

**SKRIPSI**

**PENINGKATAN KANDUNGAN  $\beta$ -KAROTEN PADA FITOPLANKTON  
*Dunaliella salina* DENGAN MEDIA SALINITAS YANG BERBEDA**



Oleh:

**JULIUS HERMAWAN**  
**NGANJUK – JAWA TIMUR**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2016**

Surat Pernyataan Keaslian Karya Tulis Skripsi

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Julius Hermawan  
NIM : 141111073  
Tempat, tanggal lahir : Nganjuk, 18 Juni 1993  
Alamat : Desa. Sugihwaras Kec. Prambon Kab. Nganjuk  
Telp./HP 082 233 973 220  
Judul Skripsi : Peningkatan Kandungan  $\beta$ -karoten pada Fitoplankton *Dunaliella salina*  
dengan Media Salinitas yang Berbeda  
Pembimbing : 1. Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP.  
2. Wahyu Tjahjaningsih, Ir., M.Si.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa hasil tulisan laporan Skripsi yang saya buat adalah murni hasil karya saya sendiri (bukan plagiat) yang berasal dari Dana Penelitian : Mandiri / Proyek Dosen / Hibah / PKM (*coret yang tidak perlu*).

Di dalam skripsi / karya tulis ini tidak terdapat keseluruhan atau sebagian tulisan atau gagasan orang lain yang saya ambil dengan cara menyalin atau meniru dalam bentuk rangkaian kalimat atau simbol yang saya aku seolah-olah sebagai tulisan saya sendiri tanpa memberikan pengakuan pada penulis aslinya, serta kami bersedia :

1. Dipublikasikan dalam Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga;
2. Memberikan ijin untuk mengganti susunan penulis pada hasil tulisan skripsi / karya tulis saya ini sesuai dengan peranan pembimbing skripsi;
3. Diberikan sanksi akademik yang berlaku di Universitas Airlangga, termasuk pencabutan gelar kesarjanaan yang telah saya peroleh (sebagaimana diatur di dalam Pedoman Pendidikan Unair 2010/2011 Bab. XI pasal 38 – 42), apabila dikemudian hari terbukti bahwa saya ternyata melakukan tindakan menyalin atau meniru tulisan orang lain yang seolah-olah hasil pemikiran saya sendiri.

Demikian surat pernyataan yang saya buat ini tanpa ada unsur paksaan dari siapapun dan dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 16 Agustus 2016  
Yang membuat pernyataan,



Julius Hermawan  
NIM. 141111073

## SKRIPSI

### **PENINGKATAN KANDUNGAN $\beta$ -KAROTEN PADA FITOPLANKTON *Dunaliella salina* DENGAN MEDIA SALINITAS YANG BERBEDA**

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan Pada  
Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga

Oleh :

**JULIUS HERMAWAN**  
NIM. 141111073

Menyetujui,

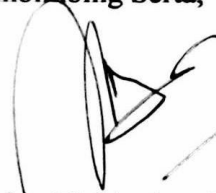
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama,



Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP.  
NIP. 19690912 199702 2 001

Pembimbing Serta,



Wahyu Tjahjaningsih, Ir., M.Si.  
NIP. 19580914 198601 2 001



## SKRIPSI

### PENINGKATAN KANDUNGAN $\beta$ -KAROTEN PADA FITOPLANKTON *Dunaliella salina* DENGAN MEDIA SALINITAS YANG BERBEDA

Oleh :

JULIUS HERMAWAN

141111073

Telah diujikan pada  
Tanggal : 13 Juli 2016

#### KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Rr. Juni Triastuti, S. Pi., M. Si.  
Anggota : Dr. Woro Hastuti Satyantini, Ir., M.Si.  
Sudarno, Ir., M.Kes  
Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP.  
Wahju Tjahjaningsih, Ir., M.Si.

Surabaya,

Fakultas Perikanan dan Kelautan  
Universitas Airlangga  
Dekan



Dr. Mirni Lamid, drh., MP.  
NIP. 19620116 199203 2 001

## RINGKASAN

**JULIUS HERMAWAN. Peningkatan Kandungan  $\beta$ -Karoten pada Fitoplankton *Dunaliella salina* dengan Media Salinitas yang Berbeda. Dosen Pembimbing : Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP. dan Wahyu Tjahjaningsih, Ir., M.Si.**

*Dunaliella salina* merupakan salah satu jenis pakan alami yang sangat potensial sebagai bahan *feed additive* dan *feed suplemen* dalam budidaya ikan. Mikroalga ini telah mendapatkan perhatian besar di beberapa perusahaan gizi, farmasi dan kosmetik karena mengandung jenis karotenoid yaitu  $\beta$ -karoten yang berfungsi sebagai zat antioksidan dan prekursor vitamin A serta dapat mengobati tumor dan kanker pada manusia. Kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina* ini dapat ditingkatkan dengan meningkatkan kadar salinitas pada media kultur, sebab *D. salina* termasuk mikroalga yang tidak memiliki dinding sel yang kaku sehingga volume atau ukuran sel dapat dengan mudah mengalami perubahan akibat tekanan osmotik dari lingkungan, sehingga dalam mempertahankan diri dari stres lingkungan tersebut *D. salina* memproduksi dan meningkatkan kandungan karotenoid sebagai bentuk sistem pertahanan diri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina* dengan media salinitas yang berbeda. Penelitian ini menggunakan metode teknik pengumpulan data yang dilakukan secara observasi langsung kemudian dianalisis dengan menggunakan metode deskriptif. Perlakuan yang digunakan adalah media dengan salinitas yang berbeda, yaitu A (20 ppt), B (30 ppt), C (40 ppt) dan D (50 ppt) masing-masing perlakuan diulang 5 kali. Parameter utama yang diamati adalah kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina*. Parameter pendukung yang diamati adalah pertumbuhan *D. salina* dan kualitas air yang terdiri dari suhu, pH, salinitas, dan DO.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan media salinitas dapat meningkatkan kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina*. Kandungan  $\beta$ -karoten tertinggi terdapat pada perlakuan B (30 ppt) yaitu sebesar 2,312 mg/L pada hari ke-10.

## SUMMARY

**JULIUS HERMAWAN. Increasing of  $\beta$ -Carotene Content in Phytoplankton *Dunaliella salina* with Different Salinity Media. Academic Advisor : Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP. and Wahyu Tjahjaningsih, Ir., M.Si.**

*Dunaliella salina* is one of natural food with big potential as feed additive and feed supplements in aquaculture. This microalgae have got great attention in the nutritional, pharmaceutical and cosmetic companies because of contain a type of carotenoid is  $\beta$ -carotene which the function as antioxidants and precursors of vitamin A and can treat tumors and cancer in humans. The content of  $\beta$ -carotene in *D. salina* can be increased by increasing salinity levels in the culture medium, because of *D. salina* including microalgae which does not have a rigid cell wall so the volume or size of the cells can easily be altered by the osmotic pressure of the environment, resulting in defend themselves from the environmental stress *D. salina* produces and increases carotenoids as a form of self defense system.

The aim of this study is to determine increasing of  $\beta$ -carotene content in phytoplankton *D. salina* with different salinity media. The research use data collection method that done direct observation and then analyzed with descriptive method. The treatments that used are media with different salinity, that is A (20 ppt), B (30 ppt), C (40 ppt) and D (50 ppt), each treatment was repeated 4 times. The main parameters measured were  $\beta$ -carotene content of *D. salina*. The secondary parameters measured were the growth of *D. salina* and water quality consisting of temperature, pH, salinity and DO.

The results showed that difference of salinity media can increase  $\beta$ -carotene content in *D. salina*. The highest  $\beta$ -carotene content of *D. salina* is in treatment B (30 ppt) is equal 2,312 mg/L on 10<sup>th</sup> day.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat, taufiq serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi tentang Peningkatan Kandungan  $\beta$ -Karoten pada Fitoplankton *Dunaliella salina* dengan Media Salinitas yang Berbeda. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya.

Akhirnya penulis berharap semoga Skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi kepada semua pihak, khususnya bagi mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya guna kemajuan serta perkembangan ilmu dan teknologi dalam bidang perikanan, terutama budidaya perairan.

Surabaya, 04 April 2015

Penulis

## UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini, dengan penuh rasa hormat penulis haturkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Mirni Lamid, drh., MP. selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya
2. Ibu Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP. selaku Dosen Pembimbing Pertama dan Ibu Wahyu Tjahjaningsih, Ir., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Kedua yang telah memberikan arahan, masukan serta bimbingan sejak penyusunan usulan hingga penyelesaian Skripsi ini
3. Ibu Dr. Rr. Juni Triastuti, S.Pi., M.Si., Dr. Woro Hastuti Satyantini, Ir., M.Si. dan Bapak Sudarno, Ir., M.Kes. sebagai Dosen Penguji yang telah memberikan masukan, kritik dan saran atas penyempurnaan Skripsi ini
4. Bapak Agustono Ir., M.Kes. selaku koordinator Skripsi yang telah memberikan bimbingannya
5. Bapak Annur Ahadi Abdillah, S.Pi., M.Si. yang telah memberikan arahan, masukan serta bimbingan sejak penyusunan usulan hingga penyelesaian Skripsi ini
6. Bapak Wahyu Tjahjaningsih, Ir., M.Si. sebagai Dosen Wali yang telah memberikan masukan, kritik dan saran atas penyempurnaan Skripsi ini
7. Seluruh dosen dan staf Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyelesaian Skripsi ini
8. Kedua orang tua tercinta Bapak Tamsir dan Ibu Lamini yang selalu menjadi sumber semangat saya selama menempuh perkuliahan serta seluruh keluarga besar yang selalu memberikan dukungan dan semangat
9. Teman-teman angkatan 2011 Prodi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
RINGKASAN .....	v
SUMMARY .....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
UCAPAN TERIMAKASIH.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Manfaat .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 <i>Dunaliella salina</i> .....	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Dunaliella salina</i> .....	4
2.1.2 Habitat dan Penyebaran <i>Dunaliella salina</i> .....	5
2.1.3 Reproduksi <i>Dunaliella salina</i> .....	6
2.1.4 Pertumbuhan <i>Dunaliella salina</i> .....	7
2.1.5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan <i>D. salina</i> .....	9
2.2 $\beta$ -karoten.....	12
2.2.1 Pengertian $\beta$ -karoten.....	12
2.2.2 Proses Pembentukan $\beta$ -karoten pada <i>Dunaliella salina</i> .....	13
2.2.3 Manfaat $\beta$ -karoten .....	15

BAB III KONSEPTUAL PENELITIAN DAN HIPOTESIS .....	16
3.1 Kerangka Konseptual .....	16
3.2 Hipotesis Penelitian .....	17
BAB IV METODOLOGI.....	19
4.1 Tempat dan Waktu.....	19
4.2 Materi Penelitian.....	19
4.2.1 Alat Penelitian .....	19
4.2.2 Bahan Peneltian .....	19
4.3 Prosedur Penelitian .....	20
4.3.1 Rancangan Peneltian.....	20
4.3.2 Prosedur Kerja .....	21
A. Persiapan Penelitian .....	21
B. Persiapan Pupuk Skala Laboratorium.....	23
C. Lingkungan dan Media <i>Dunaliella salina</i> .....	23
D. Penebaran Bibit <i>Dunaliella salina</i> .....	23
E. Penghitungan Populasi.....	24
F. Pemanenan <i>Dunaliella salina</i> .....	25
G. Ekstraksi $\beta$ -karoten pada <i>Dunaliella salina</i> .....	25
H. Penghitungan Kandungan $\beta$ -karoten pada <i>D. salina</i> .....	26
I. Pengukuran Kualitas Air .....	27
4.3.3 Parameter .....	27
A. Parameter Utama .....	27
B. Parameter Pendukung .....	27
4.3.4 Analisis Data.....	27
4.3.5 Diagram Alir Penelitian .....	28
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
5.1 Hasil.....	29
5.1.1 Pengaruh Salinitas terhadap Kandungan $\beta$ -karoten pada <i>Dunaliella salina</i> .....	29
5.1.2 Pertumbuhan <i>Dunaliella salina</i> .....	30
5.1.3 Kualitas Air.....	32
5.2 Pembahasan .....	35
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....	39
6.1 Kesimpulan .....	39
6.2 Saran .....	39
DAFTAR PUSTAKA .....	40
LAMPIRAN .....	45



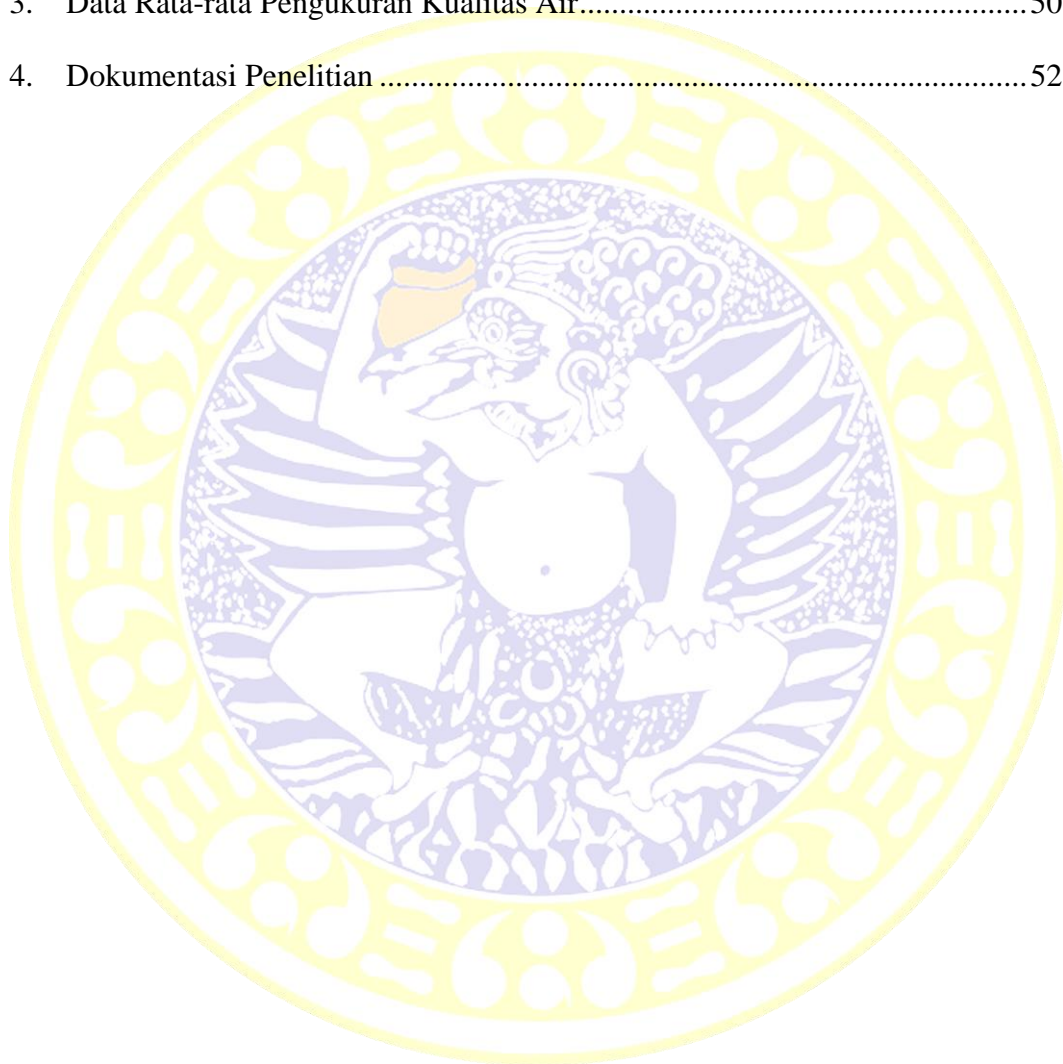


**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Struktur Sel <i>Dunaliella salina</i> .....	5
2. Tahap Reproduksi Aseksual <i>Dunaliella salina</i> .....	6
3. Pembentukan Zigot <i>Dunaliella salina</i> .....	7
4. Kurva Pertumbuhan Fitoplankton .....	8
5. Struktur Kimia $\beta$ -Karoten .....	12
6. Skema Biosintesis Karotenoid pada Ganggang Hijau .....	14
7. Bagan Kerangka Konseptual Penelitian.....	18
8. Desain Pengacakan Penelitian. ....	20
9. Diagram Alir Penelitian .....	28
10. Grafik Rata-rata Kandungan $\beta$ -karoten <i>D. salina</i> yang Dikultur dengan Salinitas yang Berbeda .....	29
11. Grafik Rata-rata Kepadatan Populasi <i>D. salina</i> .....	30

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Data Kepadatan Populasi Fitoplankton <i>Dunaliella salina</i> .....	45
2. Data Kandungan $\beta$ -Karoten pada Fitoplankton <i>Dunaliella salina</i> .....	48
3. Data Rata-rata Pengukuran Kualitas Air.....	50
4. Dokumentasi Penelitian .....	52



## I PENDAHULUAN

### 1.2 Latar Belakang

*Dunaliella salina* merupakan salah satu pakan alami yang sangat potensial sebagai bahan *feed additive* dan *feed suplemen* dalam budidaya ikan (Zainuri dkk., 2008). Menurut Rad *et al.* (2011), mikroalga ini telah mendapatkan perhatian besar di beberapa perusahaan gizi, farmasi dan kosmetik karena mengandung jenis karotenoid yaitu  $\beta$ -karoten yang berfungsi sebagai zat antioksidan dan prekursor vitamin A. Ben-Amotz (2004) menambahkan bahwa  $\beta$ -karoten yang dihasilkan oleh alga *D. salina* telah banyak diproduksi di beberapa negara seperti negara Israel, Amerika Serikat, Cina dan Chili secara besar-besaran pada kolam intensif yang dapat menghasilkan sekitar 3650 kg per tahun. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Abd El-Baky *et al.* (2007), bahwa *D. salina* mengakumulasi jumlah karotenoid yang tinggi yaitu 12,6% dari berat kering yang diantaranya terdiri dari  $\beta$ -karoten (60,4%),  $\alpha$ -karoten (17,7%), zeaxantin (13,4%), lutein (4,6%) dan kriptoxantin (3,9%) dari jumlah total karotenoid di bawah kondisi stres salinitas yang dikombinasi dengan tingkat nutrisi yang rendah.

*Dunaliella salina* merupakan alga uniseluler berwarna hijau yang bersifat halofilik dan termasuk dalam filum Chlorophyta (Smith *et al.*, 2010). Bentuk selnya dapat berupa elips, bulat telur serta *pyriform* (Borowitzka and Siva, 2007). Menurut Lamers (2011), alga ini tidak memiliki dinding sel yang kaku sehingga volume atau ukuran sel dapat dengan mudah mengalami perubahan akibat tekanan osmotik dari lingkungan. *Dunaliella salina* dapat mengalami pembengkakan sel dan penyusutan sel atau plasmolisis pada kondisi salinitas yang tidak sesuai (Pisal



and Lele, 2004), sehingga *D. salina* mempertahankan diri dari stres salinitas tersebut yaitu dengan memproduksi gliserol dan karotenoid (Ramos *et al.*, 2011). Lebih dari 400 jenis karotenoid yang ditemukan di alam salah satu yang paling bermanfaat bagi manusia adalah  $\beta$ -karoten (Pisal and Lele, 2004).  $\beta$ -karoten dapat bermanfaat sebagai pewarna alami makanan, antioksidan dan sumber pro-vitamin A bagi manusia serta dapat bermanfaat dalam mengobati dan mencegah tumor dan kanker pada manusia (Emeish, 2012). Aslianti dan Nasukha (2012) menambahkan bahwa pada sektor perikanan  $\beta$ -karoten juga dimanfaatkan dalam meningkatkan pertumbuhan ikan kakap merah sehingga mempengaruhi sintasan hidup ikan dan berguna dalam meningkatkan ekspresi warna pada ikan kakap merah sehingga ikan lebih berwarna merah dan tampak lebih cerah.

Salinitas merupakan salah satu stresor lingkungan yang dapat berpengaruh terhadap peningkatan kandungan  $\beta$ -karoten *D. salina*. *Dunaliella salina* pada kondisi normal dapat menghasilkan  $\beta$ -karoten sekitar 5-15 mg/l, sedangkan pada kondisi stres lingkungan kandungan  $\beta$ -karoten *D. salina* dapat meningkat sebanyak 12% dari berat kering alga (Ben-Amotz, 2004). Menurut Shariati and Hadi (2011), fitoplankton dari genus *Dunaliella* ini telah terbukti mampu menghasilkan pigmen  $\beta$ -karoten dalam jumlah besar di bagian kloroplas.

Berdasarkan hal tersebut di atas maka dalam penelitian ini diharapkan adanya perbedaan konsentrasi salinitas yang dapat mempengaruhi peningkatan produksi  $\beta$ -karoten pada *D. salina* sehingga didapatkan konsentrasi salinitas optimum untuk mendapatkan jumlah  $\beta$ -karoten dalam *D. salina* secara maksimal.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah perbedaan konsentrasi salinitas dapat meningkatkan kandungan  $\beta$ -karoten *D. salina*?
2. Berapakah konsentrasi salinitas terbaik yang dapat menghasilkan kandungan  $\beta$ -karoten tertinggi pada kultur *D. salina*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui peningkatan kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina* dengan media salinitas yang berbeda.
2. Untuk mengetahui konsentrasi salinitas terbaik yang dapat menghasilkan kandungan  $\beta$ -karoten tertinggi pada kultur *D. salina*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan tentang jumlah kandungan  $\beta$ -karoten pada kultur *D. salina* yang diberi konsentrasi salinitas yang berbeda.

## II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Dunaliella salina*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *Dunaliella salina*

Klasifikasi *D. salina* menurut Sakthivel *et al.* (2011) adalah sebagai berikut :

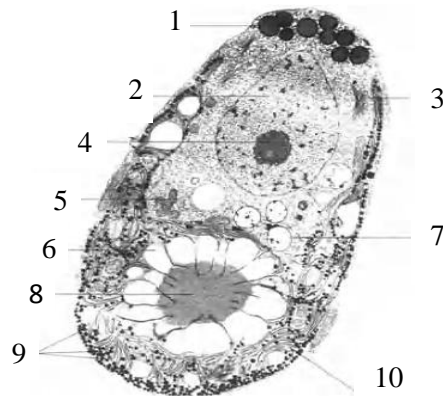
Kingdom : Plantae  
Phylum : Chlorophyta  
Class : Chlorophyceae  
Order : Volvocales  
Family : Dunaliellaceae  
Genus : *Dunaliella*  
Species : *Dunaliella salina*

*Dunaliella salina* merupakan alga uniseluler yang bersifat halofilik termasuk filum Chlorophyta (Smith *et al.*, 2010). *Dunaliella salina* memiliki bentuk sel yang bervariasi yaitu elips, bulat telur dan silinder tergantung konsentrasi kadar garam lingkungan dan mempunyai dua flagella yang sama panjang (Ben-Amotz *et al.*, 2009). Bentuk sel akan berubah menjadi bulat seperti bola pada kondisi yang tidak menguntungkan atau kondisi lingkungan yang ekstrim (Borowitzka and Siva, 2007). Lamers (2011) menjelaskan bahwa *D. salina* tidak memiliki dinding sel yang kaku sehingga volume atau ukuran sel dapat dengan mudah mengalami perubahan akibat tekanan osmotik dari lingkungan. Struktur sel terdiri dari kloroplas, *pyrenoid*, vakuola inti dan nukleus (Ben-Amotz, 2004). Kloroplas berbentuk cangkir dengan satu *pyrenoid* pusat serta memiliki organel lain yaitu *eyespot* anterior, nukleolus, badan golgi dan vakuola. *Dunaliella salina* memiliki panjang 2-28  $\mu\text{m}$  dan lebar 1-15  $\mu\text{m}$  (Ben-Amotz *et al.*, 2009). Panjang, lebar dan volume sel dapat berubah seiring dengan



meningkatnya konsentrasi salinitas di perairan (Borowitzka *and* Siva, 2007).

Struktur sel *D. salina* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Sel *Dunaliella salina* (Ben-Amotz, 2004).

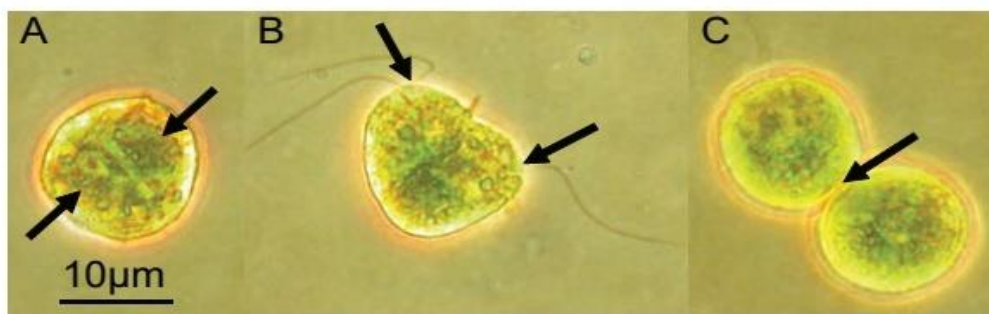
Keterangan : (1) *Eyespot* (2) Nukleus (3) Golgi (4) Nukleolus (5) Mitokondria (6) Strach (7) Vakuola (8) *Pyrenoid* (9)  $\beta$ -karoten globul (10) Kloroplas.

### 2.1.2 Habitat dan Penyebaran *Dunaliella salina*

*Dunaliella salina* memiliki habitat di perairan laut dan sering ditemukan di danau, rawa serta parit-parit dekat perairan laut (Ben-Amotz, 2004). Salinitas yang optimal untuk menunjang pertumbuhan yaitu 18-22 ppt (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). *Dunaliella salina* merupakan fitoplankton yang memiliki sifat halofilik yang artinya mampu bertahan hidup dalam lingkungan yang memiliki kadar garam tinggi (Smith *et al.*, 2010). *Dunaliella salina* juga bersifat *eurythermal* atau dapat bertahan terhadap kisaran suhu yang lebar. Alga ini dapat bertahan pada suhu rendah hingga di bawah titik beku sampai suhu tinggi yaitu 40°C (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Suhu yang optimal untuk pertumbuhan yaitu antara 10°C-30°C (Ben-Amotz, 2009) dan toleransi pH yang tinggi sampai pada pH 11 (Borowitzka *and* Borowitzka, 1988).

### 2.1.3 Reproduksi *Dunaliella salina*

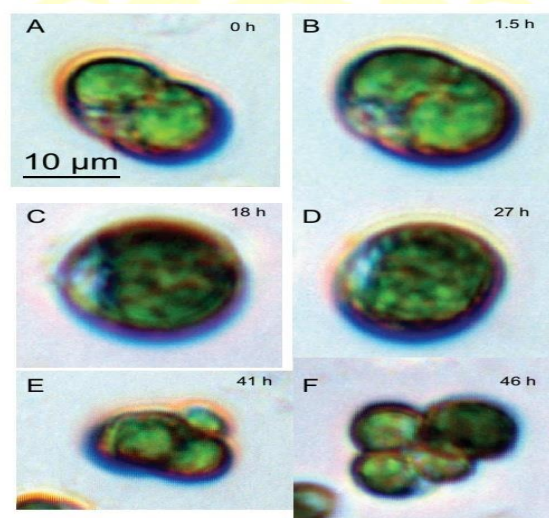
Reproduksi *D. salina* dibagi menjadi dua yaitu secara seksual dan aseksual. Reproduksi secara seksual terjadi akibat dipicu oleh perubahan kondisi lingkungan sedangkan reproduksi secara aseksual terjadi pada kondisi normal atau tidak terjadi perubahan pada kondisi lingkungan. Tahap awal reproduksi aseksual terjadi pembelahan sel pada inti sel yang memiliki *pyrenoid* dan sepasang flagella, selanjutnya melakukan penggandaan *pyrenoid*, kloroplas serta inti sel. Proses pembelahan sel belum sepenuhnya memisah, kedua sel anak masih dalam kondisi melekat pada membran sel sampai flagella memanjang dan sitoplasma memisahkan sel anak. Dua sel anak masing-masing telah memiliki flagella dan stigma (Borowitzka *and* Siva, 2007). Tahap reproduksi aseksual *D. salina* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Tahap Reproduksi Aseksual *Dunaliella salina* (Ben-Amotz *et al.*, 2009).  
Keterangan : A. Penggandaan kloroplas. B. Pembelahan sel yang masing-masing memiliki sepasang flagella. C. Dua sel anak masih melekat pada membran plasma.

Reproduksi seksual *D. salina* terjadi apabila terdapat perubahan kondisi lingkungan yang ekstrim sehingga jarang untuk dijumpai (Ben-Amotz *et al.*, 2009). Reproduksi seksual terjadi dengan cara melakukan isogami melalui konjugasi. Zigot memiliki warna hijau atau merah dengan dikelilingi oleh dinding

sporollenin yang halus dan sangat tipis. Nukleus zigot akan membelah secara meiosis. Pembelahan ini terbentuk lebih dari 32 sel yang dikeluarkan melalui retakan atau celah pada dinding sel induk. Reproduksi seksual *Dunaliella* mirip dengan reproduksi seksual pada *Chlamydomonadecea* (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Tahap pembentukan zigot *D. salina* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pembentukan Zigot *Dunaliella salina* (Ben-Amotz *et al.*, 2009).

Keterangan : A) Penggabungan dua gamet. B) Proses penggabungan. C) Zigot. D) Tahap awal zigot. E) Pembentukan dan pelepasan awal sel anak. F) Zigot melepaskan empat sel anak.

#### 2.1.4 Pertumbuhan *Dunaliella salina*

Lavens *and* Sorgeloos (1996) menjelaskan bahwa pertumbuhan fitoplankton dibagi menjadi lima fase yaitu :

##### 1. Fase *Lag*

Pertumbuhan fitoplankton pada fase ini dikaitkan dengan adaptasi fisiologis metabolisme sel pertumbuhan fitoplankton, seperti peningkatan kadar enzim dan metabolit yang terlibat dalam pembelahan sel dan fiksasi karbon.



## 2. Fase Eksponensial

Fase eksponensial ditandai dengan sel fitoplankton telah mengalami pembelahan sel dengan laju pertumbuhan relatif tetap. Pertumbuhan fitoplankton dapat maksimal tergantung pada spesies alga, nutrisi, cahaya dan temperatur.

## 3. Fase Penurunan Laju Pertumbuhan

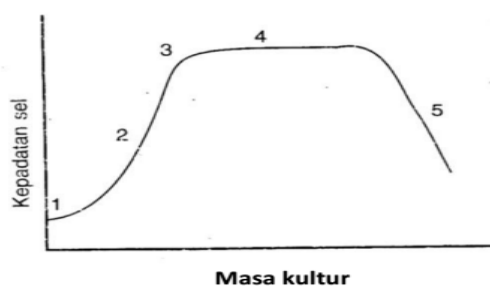
Pertumbuhan sel mulai melambat ketika nutrisi, cahaya, pH, CO<sub>2</sub> atau faktor kimia dan fisika lain mulai membatasi pertumbuhan.

## 4. Fase Stasioner

Fase stasioner ditandai dengan kematian fitoplankton hampir sama dengan laju pertumbuhannya sehingga kepadatan fitoplankton pada fase ini relatif konstan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fazeli *et al.* (2006), pembentukan  $\beta$ -karoten pada genus *Dunaliella* lebih tinggi pada fase stasioner dari pada fase eksponensial.

## 5. Fase Kematian

Fase kematian ditandai dengan kondisi kualitas air menurun dan kandungan nutrisi rendah sehingga kepadatan sel menurun dengan cepat karena laju kematian fitoplankton lebih tinggi daripada laju pertumbuhannya sampai kultur berakhir. Kurva pertumbuhan fitoplankton dapat dilihat pada Gambar 4.



Keterangan:

1. Fase *Lag*
2. Fase Eksponensial
3. Fase Penurunan Laju Pertumbuhan
4. Fase Stasioner
5. Fase Kematian

Gambar 4. Kurva Pertumbuhan Fitoplankton (Lavens *and* Sorgeloos, 1996).

### 2.1.5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan *Dunaliella salina*

Pertumbuhan fitoplankton sangat dipengaruhi oleh faktor fisika dan kimia lingkungan. Secara langsung maupun tidak langsung aspek tersebut akan mempengaruhi kehidupan fitoplankton. Menurut Wulandari (2009), faktor fisika yang mempengaruhi pertumbuhan fitoplankton diantaranya suhu dan kecerahan atau cahaya sedangkan faktor kimia yaitu pH, salinitas dan kebutuhan nutrien.

#### A. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang sangat penting dalam mengatur proses kehidupan dan penyebaran organisme. Pengaruh suhu secara langsung terhadap plankton adalah meningkatkan reaksi kimia sehingga laju fotosintesis meningkat seiring dengan kenaikan suhu (Simanjuntak, 2009). *Dunaliella salina* merupakan fitoplankton yang bersifat *eurythermal* atau dapat bertahan terhadap kisaran suhu yang lebar. Alga ini dapat bertahan pada suhu rendah hingga di bawah titik beku sampai suhu tinggi yaitu 40°C (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Suhu yang optimal untuk pertumbuhan *D. salina* yaitu antara 10°C-30°C (Ben-Amotz *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian Pital and Lele (2004), peningkatan suhu yang tinggi pada kultur *D. salina* yaitu 35°C dapat berdampak baik pada peningkatan kandungan karotenoid yaitu  $\beta$ -karoten, tetapi berakibat buruk pada kandungan klorofil yang semakin menurun.

#### B. Cahaya

Energi matahari dibutuhkan oleh fitoplankton di laut dalam proses fotosintesis. Laju fotosintesis akan meningkat bila intensitas cahaya meningkat dan menurun bila intensitas cahaya berkurang, sehingga cahaya berperan sebagai

faktor pembatas utama dalam fotosintesis atau produktivitas primer (Facta, 2006). Pertumbuhan *D. salina* sangat dipengaruhi oleh besar kecilnya intensitas cahaya yang digunakan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pisal *and* Lele (2008), intensitas cahaya yang optimal untuk pertumbuhan *D. salina* adalah 1200 Lux. Intensitas cahaya 800 Lux lebih memberikan dampak terhadap peningkatan laju pertumbuhan *D. salina* dibandingkan dengan intensitas cahaya 2300 Lux. Kandungan  $\beta$ -karoten *D. salina* lebih besar pada perlakuan dengan intensitas cahaya 2300 Lux dari pada intensitas cahaya 800 Lux.

#### C. Derajat Keasaman (pH)

Umumnya air laut mempunyai nilai pH lebih besar dari tujuh yang cenderung bersifat basa, namun dalam kondisi tertentu nilainya dapat menjadi lebih rendah dari tujuh sehingga menjadi bersifat asam. Derajat keasaman suatu perairan merupakan salah satu parameter kimia yang cukup penting dalam memantau kestabilan perairan (Simanjuntak, 2009). Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty, (1998), *D. salina* dapat mentoleransi kondisi pH di air antara 9-10. Borowitzka *and* Borowitzka (1988) mengemukakan bahwa pada pH 9 adalah kondisi yang optimal untuk memproduksi  $\beta$ -karoten pada *D. salina*.

#### D. Kebutuhan Nutrisi

Pertumbuhan suatu jenis fitoplankton sangat erat kaitannya dengan ketersediaan unsur hara mikro dan makro pada perairan serta dipengaruhi oleh kondisi lingkungan perairan. Setiap unsur hara mempunyai fungsi khusus yang tercermin pada pertumbuhan dan kepadatan yang dicapai. Unsur nitrogen (N), fosfat (P) dan sulfat (S) sangat penting untuk pembentukan protein dan kalium (K)



berfungsi dalam metabolisme karbohidrat. Zat besi (Fe) dan natrium (Na) berperan untuk pembentukan klorofil serta silica (Si) dan kalsium (Ca) merupakan bahan pembentuk dinding sel dan vitamin B<sub>12</sub> banyak digunakan untuk memacu pertumbuhan melalui rangsangan fotosintetik (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1998). Menurut Pisal *and* Lele (2004), nitrogen merupakan salah satu persyaratan utama dalam media pertumbuhan *D. salina*. Rendahnya kandungan nitrogen dapat menjadikan stres yang disebabkan karena kekurangan nutrisi, sehingga untuk menyeimbangkan kondisi fisiologi *D. salina* memproduksi dan meningkatkan kandungan  $\beta$ -karoten yang berfungsi untuk melindungi sel dalam kondisi stres sehingga dapat mempertahankan pertumbuhannya.

#### E. Salinitas

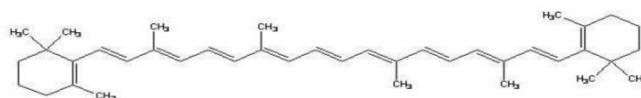
*Dunaliella salina* merupakan fitoplankton yang mampu bertahan hidup dalam lingkungan yang memiliki kadar garam tinggi (Smith, 2010). Pisal *and* Lele (2004) menjelaskan bahwa *D. salina* dapat mengalami penyusutan sel pada kondisi salinitas di luar sel lebih tinggi dari pada di dalam sel (hipertonik), sebaliknya pada kondisi salinitas yang rendah di luar sel (hipotonik) akan terjadi pembengkakan sel karena molekul air di luar akan bergerak masuk ke dalam sel. Kondisi tersebut menjadikan *D. salina* memproduksi metabolit sekunder yaitu  $\beta$ -karoten untuk mempertahankan hidup terhadap perubahan salinitas di lingkungan. Salinitas yang optimal untuk menunjang pertumbuhan *D. salina* yaitu 18-22 ppt (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1998).

## 2.2 $\beta$ -Karoten

### 2.2.1 Pengertian $\beta$ -Karoten

$\beta$ -karoten adalah salah satu jenis senyawa hidrokarbon karotenoid yang merupakan senyawa golongan tetraterpenoid. Karotenoid merupakan kelompok pigmen kuning, orange dan merah yang larut dalam lemak serta banyak diproduksi oleh bakteri, jamur dan tanaman tingkat tinggi. Secara struktural, karotenoid termasuk dalam golongan isoprenoid (Tanumihardjo, 2013). Karotenoid tersusun oleh unsur-unsur C dan H (hidrokarbon) seperti  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten dan  $\gamma$ -karoten sedangkan xantofil tersusun oleh unsur-unsur C, H dan O dari gugus hidroksil, metoksil, karboksil, keto atau epoksi seperti lutein, kriptoxantin, kaptaxantin dan zeaxantin (Wirahadikusumah, 1985 dalam Gunawan, 2009).

Struktur  $\beta$ -karoten berupa molekul simetri, yaitu separuh bagian kiri merupakan bayangan cermin dari kanannya.  $\beta$ -karoten mempunyai 40 atom karbon yang terdiri dari delapan unit isoprena dan 11 ikatan rangkap serta mempunyai dua cincin  $\beta$ -ionon yang terletak masing-masing satu cincin pada ujung molekulnya (Gunawan, 2009).  $\beta$ -karoten termasuk dalam kelompok isoprena karbon yang hanya mengandung hidrogen dan karbon.  $\beta$ -karoten memiliki rumus  $C_{40}H_{56}$  dengan berat molekul 536,9 serta memiliki warna merah (Shariati and Hadi, 2011). Struktur kimia  $\beta$ -karoten dapat dilihat pada Gambar 5.



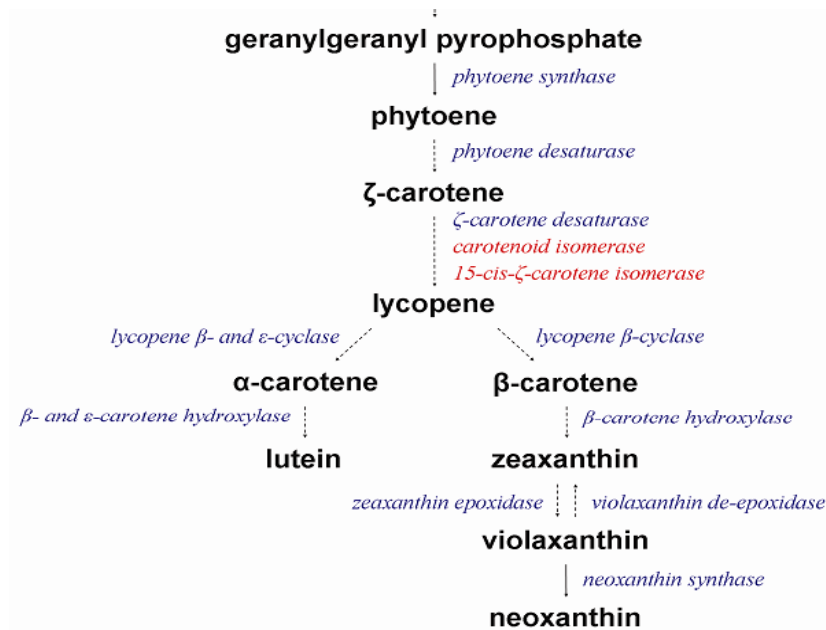
Gambar 5. Struktur Kimia  $\beta$ -Karoten (Haekal *et al.*, 2013).

### 2.2.2 Proses Pembentukan $\beta$ -Karoten pada *Dunaliella salina*

*Dunaliella salina* dapat memproduksi karotenoid dalam jumlah yang besar (Abd El-Baky *et al.*, 2007). Lebih dari 400 jenis karotenoid yang ditemukan di alam salah satu diantaranya yang paling penting manfaatnya adalah  $\beta$ -karoten (Pisal *and* Lele, 2004). Karotenoid adalah golongan isoprenoid yang dibentuk dengan penggabungan isoprene yang larut dalam lipid (Tanumihardjo, 2013). Isoprenoid pada semua organisme hidup disintesis oleh isopentenil difosfat (IPP) dan difosfat dimethylallyl (DMAPP) dengan melalui mekanisme jalur mevalonate (MVA) yang berada di dalam sitosol atau jalur 2-C-metil D-erythritol-4-fosfat (MEP) yang berada di dalam plastida (Rohmer *et al.*, 1993 *dalam* Ramos *et al.*, 2011).

Biosintesa isoprenoid pada golongan ganggang hijau hanya diproduksi melalui mekanisme jalur metil D-erythritol-4-fosfat (MEP) termasuk mikroalga *D. salina* yang menggunakan mekanisme jalur metil D-erythritol-4-fosfat (MEP) untuk mensintesis isoprenoid melalui bantuan isopentenil difosfat (IPP) dan difosfat dimethylallyl (DMAPP) (Rohmer, 1999 *dalam* Ramos *et al.*, 2011). Skema biosintesis karotenoid pada ganggang hijau dapat dilihat pada Gambar 6.





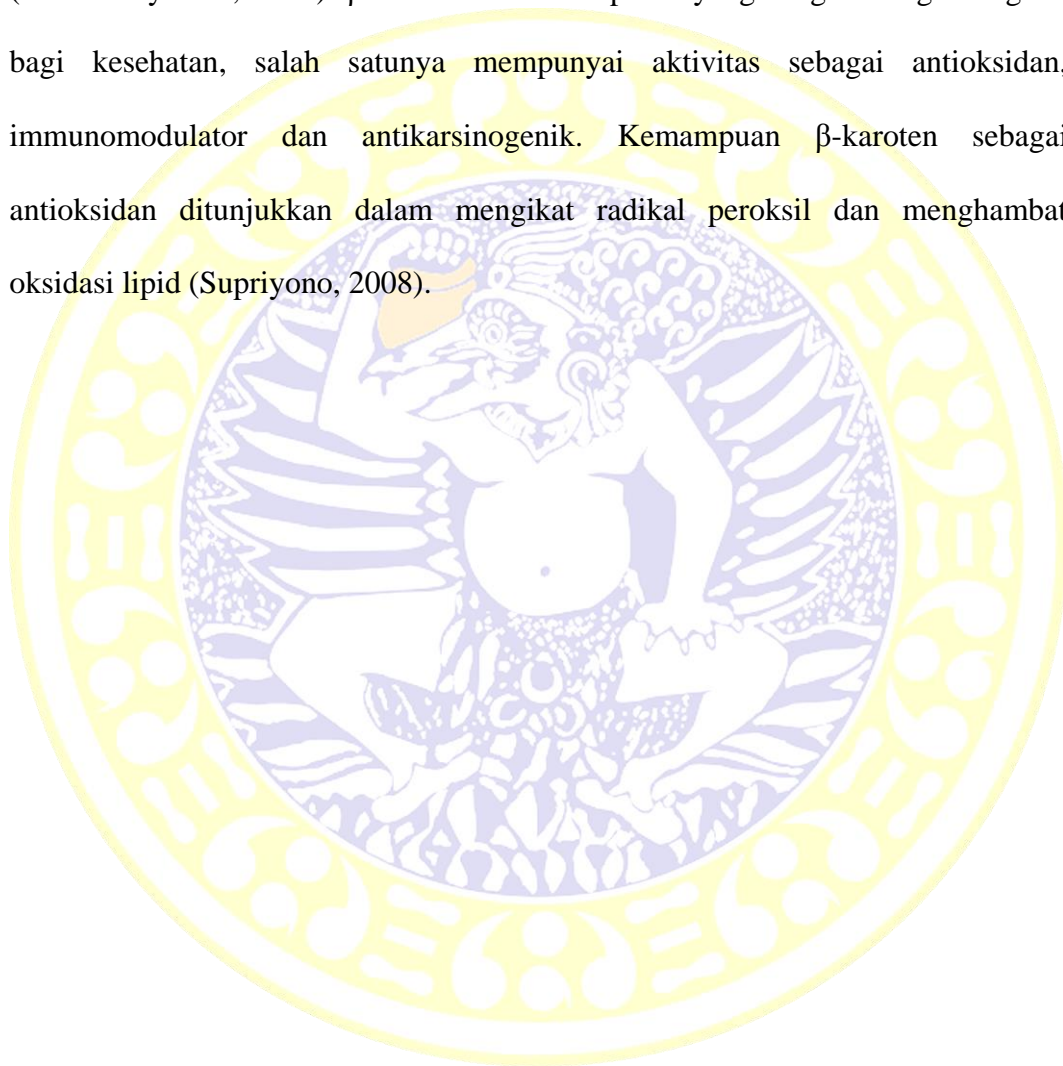
Gambar 6. Skema Biosintesis Karotenoid pada Ganggang Hijau (Lamers, 2011).

Langkah pertama dalam biosintesis karotenoid terdiri dari reaksi kondensasi molekul geranylgeranyl difosfat GGPP (C<sub>20</sub>) menjadi phytoene dengan bantuan enzim phytoene sintase (PSY), selanjutnya mengalami empat reaksi desaturasi oleh enzim phytoene desaturase (PDS) dan enzim ζ-karoten desaturase (ZDS) serta mengalami reaksi isomerisasi karotenoid (CRTISO) sehingga terbentuk lycopene. Lycopene akan mengalami dua reaksi cyclase yaitu oleh enzim β-cyclase (βLCY) yang dapat menghasilkan β-karoten dan enzim ε-cyclase (εLCY) dapat menghasilkan α-karoten (Davies, 2004).

Stres lingkungan seperti kondisi nutrisi yang rendah, cahaya tinggi dan salinitas dapat berpengaruh terhadap ekspresi enzim PSY, PDS dan LCY-b sehingga juga akan mempengaruhi akumulasi β-karoten dalam *D. salina*, sehingga kondisi stres lingkungan sangat mempengaruhi regulasi terbentuknya biosintesa karotenoid (Ramos *et al.*, 2011).

### 2.2.3 Manfaat $\beta$ -Karoten

Perubahan gaya hidup masyarakat yang cenderung tidak sehat menyebabkan di dalam tubuh banyak terkandung radikal bebas, untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas maka memerlukan antioksidan seperti  $\beta$ -karoten (Serlahwaty dkk., 2009).  $\beta$ -karoten memiliki peran yang sangat menguntungkan bagi kesehatan, salah satunya mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, immunomodulator dan antikarsinogenik. Kemampuan  $\beta$ -karoten sebagai antioksidan ditunjukkan dalam mengikat radikal peroksil dan menghambat oksidasi lipid (Supriyono, 2008).



### III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka Konseptual

*Dunaliella salina* merupakan alga uniseluler yang berwarna hijau serta memiliki sifat halofilik dan termasuk filum Chlorophyta. Mikroalga ini adalah spesies penting dalam dunia industri karena *D. salina* dapat menghasilkan  $\beta$ -karoten dalam jumlah besar yang digunakan untuk tujuan komersial (Smith *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Abd El-Baky *et al.* (2007), bahwa *D. salina* dapat mengakumulasi pigmen karotenoid dalam jumlah yang tinggi yaitu 12,6% dari berat kering yang terdiri dari  $\beta$ -karoten (60,4%),  $\alpha$ -karoten (17,7%), zeaxantin (13,4%), lutein (4,6%) dan kriptoxantin (3,9%) dari jumlah total karotenoid di bawah kondisi stres salinitas yang dikombinasi dengan tingkat nutrisi yang rendah. Menurut Ben-Amotz (2004), kultur *D. salina* pada kondisi normal menghasilkan  $\beta$ -karoten sebanyak 5-15 mg/l dan dapat meningkat sebanyak 12% dari berat kering di bawah kondisi stres lingkungan seperti intensitas cahaya tinggi, kekurangan nutrisi, suhu tinggi dan salinitas.

Salinitas merupakan salah satu stresor lingkungan yang berpengaruh terhadap peningkatan akumulasi  $\beta$ -karoten pada *D. salina*. Kadar salinitas yang lebih tinggi di luar sel (hipertonik) dapat mengakibatkan terjadinya penyusutan sel atau plasmolisis, sedangkan salinitas yang lebih rendah di luar sel (hipotonik) dapat mengakibatkan pembengkakan sel sampai pecahnya sel karena molekul air di luar bergerak masuk ke dalam sel (Pisal *and* Lele, 2004).

Menurut Ramos *et al* (2011), *Dunaliella salina* memiliki dua cara untuk mempertahankan diri dari stres salinitas tersebut yaitu dengan memproduksi



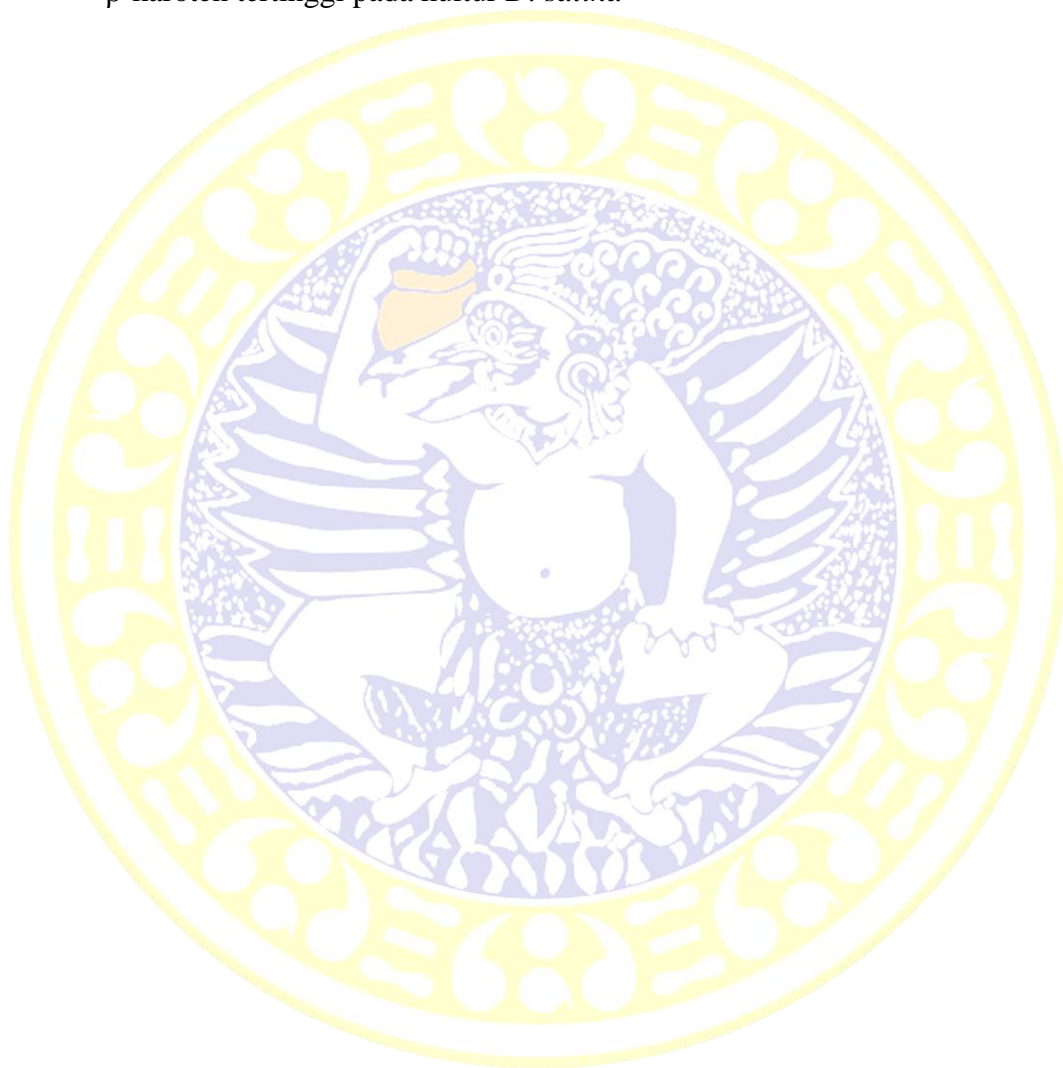
gliserol dalam jangka waktu pendek dan memproduksi karotenoid dalam jangka waktu panjang. Perubahan salinitas dapat merusak membran plasma sehingga memicu aktivasi dari enzim protein kinase dan menyebabkan terjadinya konversi pati menjadi gliserol di dalam kloroplas, apabila perubahan salinitas berlangsung dalam jangka waktu yang lama maka enzim protein kinase akan merubah ekspresi gen melalui proses transkripsi sehingga menghasilkan karotenoid. Proses biosintesis karotenoid terdiri dari pembentukan phytoene dan lycopene melalui reaksi kondensasi, desaturasi serta isomerasi selanjutnya lycopene mengalami reaksi cyclase untuk membentuk  $\beta$ -karoten dan  $\alpha$ -karoten (Davies, 2004).

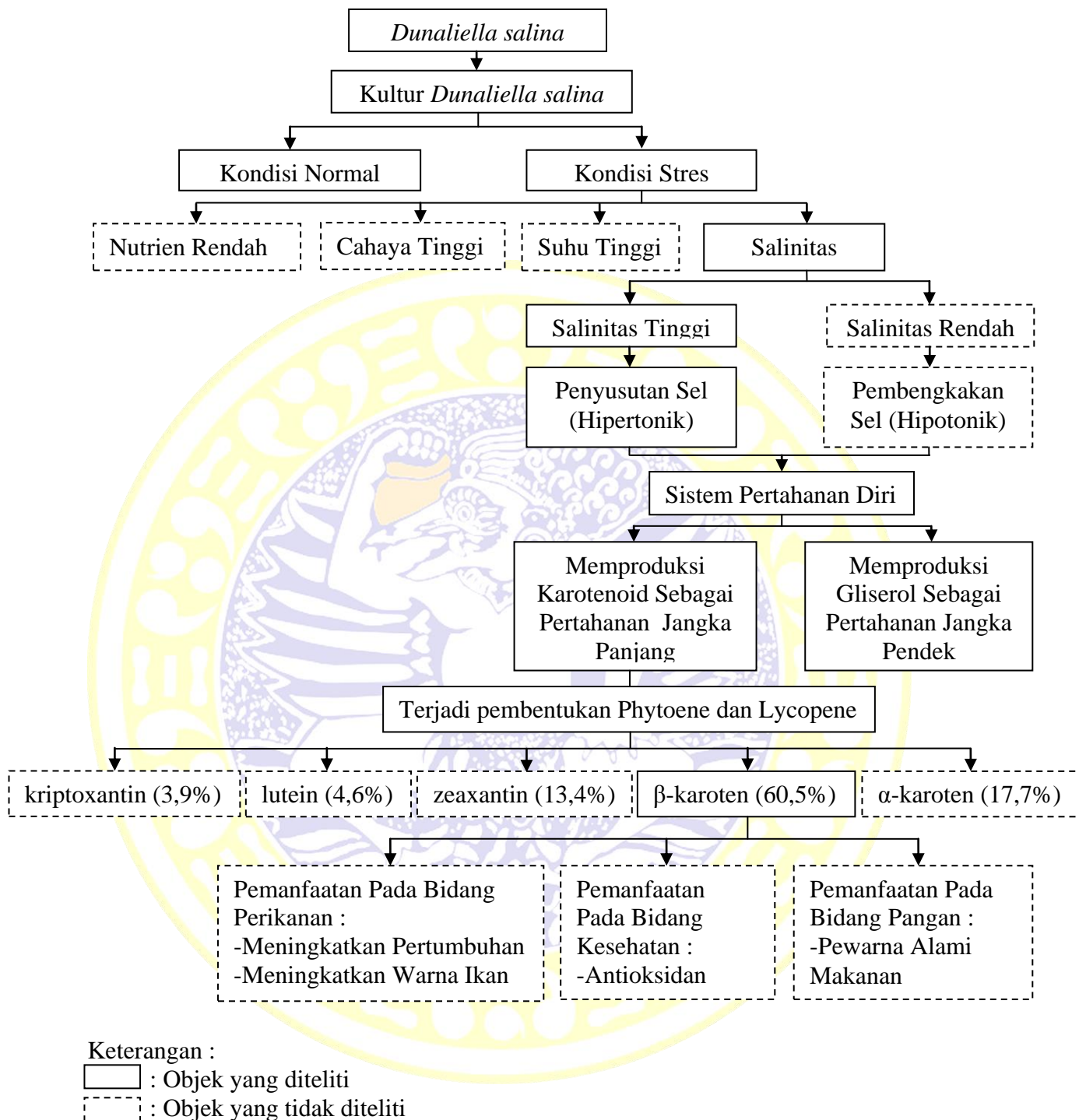
Menurut Lamers (2010), *D. salina* merupakan salah satu sumber terkaya akan  $\beta$ -karoten yang dapat digunakan sebagai pewarna alami makanan.  $\beta$ -karoten juga bermanfaat sebagai zat antioksidan dan sumber pro-vitamin A bagi manusia (Emeish, 2012). Gomez and Gonzalez (2005) menambahkan bahwa  $\beta$ -karoten merupakan bahan aditif untuk kosmetik serta berperan sebagai multivitamin pada makanan dan pakan ternak.  $\beta$ -karoten juga dapat meningkatkan pertumbuhan ikan kakap merah sehingga mempengaruhi sintasan hidup ikan dan berguna dalam meningkatkan ekspresi warna pada ikan kakap merah sehingga ikan lebih berwarna merah dan tampak lebih cerah (Aslianti dan Nasukha, 2012). Zainuri dkk. (2006) menambahkan bahwa *D. salina* memiliki potensi sebagai bahan *feed additive* atau *feed suplemen* dalam budidaya ikan.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

H1 : Perbedaan konsentrasi salinitas dapat meningkatkan kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina*

H1 : Terdapat konsentrasi salinitas terbaik yang dapat menghasilkan kandungan  $\beta$ -karoten tertinggi pada kultur *D. salina*





Gambar 7. Bagan Kerangka Konseptual Penelitian



## IV METODOLOGI

### 4.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2015 di Laboratorium Pendidikan Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya untuk kultur fitoplankton *D. salina* dan untuk pengukuran kandungan  $\beta$ -karoten dilaksanakan di Unit Layanan Pengujian Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya.

### 4.2 Materi Penelitian

#### 4.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu tabung kaca, selang aerasi, aerator, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, neraca digital, pipet tetes, mikro pipet, mikroskop binokuler, *haemocytometer*, *handtally counter*, spektrofotometer, rak kultur, refraktometer, termometer, pH pen, lux meter, *autoclave*, *cover glass*, *vortex*, *centrifuge*, gunting, *cuvet*, plastik gelap, *styrofoam*, lampu 40 Watt, *aluminium foil*.

#### 4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bibit *D. salina* dan medium Walne yang berasal dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo, air laut bersih yang berasal dari perairan Kenjeran Surabaya (30 ppt), akuades, petroleum eter (PE), alkohol, garam grosok, klorin dan Na-Thiosulfat.

### 4.3 Prosedur Penelitian

#### 4.3.1 Rancangan Penelitian

Metode penelitian digunakan untuk memecahkan suatu masalah yang dapat dilakukan dengan pengumpulan data melalui pengamatan, survei, ataupun melalui percobaan (Kusriningrum, 2012). Penelitian ini menggunakan teknik pengumpulan data yang dilakukan secara observasi langsung yaitu pendekatan atau teknik untuk mendapatkan data primer dengan cara mengamati langsung objek data (Djaelani, 2013). Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari empat perlakuan dengan lima ulangan. Perlakuan salinitas yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada penelitian yang pernah dilakukan oleh Abdillah dkk. (2014) tentang produksi total karoten pada *D. salina* dalam kondisi stres lingkungan. Penelitian tersebut didapatkan salinitas optimal dalam meningkatkan kandungan karoten *D. salina* adalah 25 ppt, sedangkan salinitas optimal dalam pertumbuhan *D. salina* adalah 20 ppt, sehingga perlakuan pada penelitian ini adalah :

Perlakuan A : kultur *D. salina* dengan salinitas 20 ppt (Kontrol)

Perlakuan B : kultur *D. salina* dengan salinitas 30 ppt

Perlakuan C : kultur *D. salina* dengan salinitas 40 ppt

Perlakuan D : kultur *D. salina* dengan salinitas 50 ppt

Desain pengacakan penelitian dapat dilihat pada Gambar 8.

B2	A5	C5	A1	A4
B4	C1	B3	D1	C2
A2	B5	A3	D3	C3
B1	D4	D5	D2	C4

Gambar 8. Desain Pengacakan Penelitian

Variabel dalam penelitian ini meliputi variable bebas, terikat dan variabel kontrol yaitu:

1. Variabel bebas : salinitas
2. Variabel terikat : kandungan  $\beta$ -karoten *D. salina*
3. Variabel kontrol : pupuk Walne, suhu, pH, cahaya

#### 4.3.2 Prosedur Kerja

##### A. Persiapan Penelitian

Persiapan kultur fitoplankton *D. salina* yaitu sterilisasi alat dan bahan yang bertujuan untuk membunuh mikroorganisme yang tidak diinginkan. Menurut Meliawaty (2012) tujuan sterilisasi adalah membunuh semua bentuk mikroorganisme hidup pada alat-alat yang disterilkan.

Peralatan yang tahan panas sebelum dilakukan sterilisasi terlebih dahulu dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan selanjutnya dibungkus dengan *aluminium foil* dan diikat menggunakan benang nylon setelah itu disterilisasi menggunakan *autoclave*. Khusus tabung reaksi ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan *aluminium foil* kemudian disterilisasi dengan *autoclave*. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1998), sterilisasi peralatan yang akan digunakan untuk isolasi dan kultur fitoplankton dapat menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Jenis peralatan yang tidak tahan panas disterilisasi dengan direndam pada larutan klorin dan dinetralkan dengan Na-Thiosulfat. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1998), perendaman yang digunakan untuk sterilisasi peralatan kultur fitoplankton menggunakan larutan



klorin 150 ppm selama 12-24 jam kemudian direndam lagi dengan Na-Thiosulfat 40-50 ppm selanjutnya dibilas dengan air hingga bersih.

Sterilisasi juga dilakukan pada media kultur yaitu air laut, sebelum disterilisasi air laut diukur kadar salinitas dengan menggunakan refraktometer. Hal ini bertujuan untuk menyesuaikan konsentrasi salinitas sebagai perlakuan. Cara meningkatkan salinitas yaitu dengan menambahkan garam grosok ke dalam air laut sampai mencapai pada salinitas yang diinginkan. Berdasarkan penelitian pendahuluan, setiap kenaikan 10 ppt ditingkatkan dengan menambahkan garam 80 gram, sedangkan untuk menurunkan salinitas yaitu dengan cara pengenceran air laut. Menurut Arrokhman dkk. (2012), pengenceran dilakukan menggunakan rumus:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

$M_1$  : salinitas air laut yang akan diencerkan (ppt)

$V_1$  : volume air laut yang akan diencerkan (L)

$M_2$  : salinitas yang diinginkan (ppt)

$V_2$  : volume air dengan salinitas yang diinginkan (L)

Air laut yang telah sesuai dengan perlakuan disterilkan dengan memberikan larutan klorin dan dinetralkan menggunakan larutan Na-Thiosulfat. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1998), sterilisasi air media kultur dapat dilakukan menggunakan larutan klorin sebanyak 60 ppm selama minimal 1 jam kemudian diberi larutan Na-Thiosulfat sebanyak 20 ppm selama minimal 1 jam. Air media kultur selanjutnya disaring dengan kertas saring sehingga air dalam kondisi yang bersih, kemudian air disimpan dalam wadah yang tidak tembus cahaya untuk mencegah pertumbuhan fitoplankton lain yang tidak dikehendaki.

## **B. Persiapan Pupuk Skala Laboratorium**

Pupuk teknis skala laboratorium yang digunakan sebagai media kultur adalah pupuk Walne yang didapatkan dari BBAP Situbondo. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1998), komposisi pupuk Walne adalah  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  45 gram,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  20 gram,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  1,5 gram,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  33,6 gram,  $\text{MnCl}_2$  0,36 gram,  $\text{NaNO}_3$  100 gram, trace metal solution 1 ml, vitamin 1 ml dan akuades. Larutan pupuk yang telah siap disimpan di dalam kulkas.

## **C. Lingkungan dan Media Kultur *Dunaliella salina***

Menurut Masithah dkk. (2011), lingkungan kultur dapat mempengaruhi pertumbuhan *D. salina*, oleh karena itu lingkungan dikondisikan sama untuk setiap perlakuan. Kultur *D. salina* dalam penelitian ini diinkubasi pada suhu 25-30°C dan intensitas cahaya sebesar 1200 lux menggunakan lampu 40 Watt satu buah dengan periode gelap 12 jam dan terang 12 jam. Menurut Pital and Lele (2008), intensitas cahaya yang optimal untuk pertumbuhan *D. salina* adalah 1200 lux. Posisi lampu sebagai sumber cahaya diletakkan di samping botol kultur, besarnya intensitas cahaya bisa diatur dengan mengatur jarak antara lampu dengan media kultur dalam botol serta dengan menggunakan alat ukur lux meter.

## **D. Penebaran Bibit *Dunaliella salina***

Penanaman bibit *D. salina* dilakukan setelah menghitung kepadatan stok dengan cara mengambil sampel plankton dari media stok dan menghitung di bawah mikroskop dengan *haemocytometer* dan dibantu dengan menggunakan *handtally counter* untuk mempermudah penghitungan populasi sampel. Bibit *D.*

*salina* dimasukkan ke media dengan kepadatan  $10^5$  sel/ml. Kepadatan optimum untuk kultur *D. salina* adalah  $10^5$  (Mamduh dkk., 2013). Menurut Kwangdinata dkk. (2013), penghitungan jumlah bibit plankton yang diperlukan untuk kultur menggunakan rumus:

$$V_1 = \frac{N_2 \times V_2}{N_1}$$

Keterangan:

$V_1$  : volume bibit untuk penebaran awal (ml)

$N_1$  : kepadatan bibit plankton (sel/ml)

$V_2$  : volume media kultur yang dikehendaki (ml)

$N_2$  : kepadatan bibit plankton yang dikehendaki (sel/ml)

#### E. Penghitungan Populasi

Pengamatan pertumbuhan dilakukan setelah penebaran awal sampai terbentuknya warna merah sebagai tanda telah terjadinya akumulasi  $\beta$ -karoten. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kepadatan populasi *D. salina* sampai terbentuknya  $\beta$ -karoten. Penghitungan populasi dilakukan mulai dari hari pertama penebaran bibit sampai hari ke-14 atau panen. Penghitungan kepadatan populasi menggunakan *haemocytometer* dengan metode *big block*, karena ukuran diameter sel *D. salina* lebih besar dari  $6 \mu\text{m}$ . Cara menghitung sel fitoplankton dari sisi kiri kotak ke arah kanan kotak dan menghitung sel yang berada di dalam garis atau yang mendekati garis batas bagian dalam kotak kemudian penghitungan pada blok A, B, C, D dijumlahkan. Menurut Kwangdinata dkk. (2013), kepadatan fitoplankton (sel/ml) dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kepadatan fitoplankton (sel/ml)} = \frac{nA + nB + nC + nD}{4} \times 10^4$$

Keterangan :

$nA, nB, nC, nD$  : jumlah kepatan fitoplankton pada blok A,B, C dan D

Konstanta 4 : jumlah blok yang dihitung



#### **F. Pemanenan *Dunaliella salina***

Berdasarkan pola pertumbuhan fitoplankton, proses pemanenan harus dilakukan pada saat yang tepat yaitu pada saat fitoplankton tersebut mencapai puncak populasi (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1998). Pemanenan fitoplankton *D. salina* dilakukan secara parsial yaitu pada hari ke-2, ke-4, ke-6, ke-8, ke-10, ke-12 dan ke-14 (Pisal and Lele, 2004). Hal ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan fase pertumbuhan diantara semua perlakuan dan untuk mengetahui perkembangan pembentukan  $\beta$ -karoten pada *D. salina*. Proses pemanenan *D. salina* dilakukan sampai pada fase stasioner. Kusumaningrum dan Zainuri (2013) menjelaskan bahwa terjadi peningkatan total pigmen karotenoid pada fase stasioner karena pigmen yang dihasilkan digunakan untuk pertahanan hidup sel saat nutrisi dalam medium mulai menipis, sehingga fitoplankton *D. salina* meningkatkan pembentukan metabolit sekunder yaitu  $\beta$ -karoten sebagai bentuk pertahanan hidup. Pemanenan *D. salina* dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 10 ml ke dalam tabung reaksi kemudian disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 5°C-15°C (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1998), selanjutnya dilakukan penghitungan kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina*.

#### **G. Ekstraksi $\beta$ -karoten pada *Dunaliella salina***

Maulida dan Zulkarnaen (2010) menjelaskan bahwa ekstraksi adalah suatu metode yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah massa bahan sebagai tenaga pemisah. Menurut Nielsen (2009), ekstraksi kandungan  $\beta$ -karoten dapat dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sampel hasil panen *D. salina* menggunakan pipet,

ditambahkan dengan 8 ml akuades dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Hasil campuran diambil 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml alkohol 96 % dan 10 ml petroleum eter (PE) kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex* dan disentrifuse selama 5 menit, setelah disentrifuse akan terbentuk dua lapisan yaitu supernatan dibagian bawah dan lapisan petroleum eter (PE) dibagian atas. Lapisan petroleum eter (PE) yang terbentuk dipisahkan dan diberi tanda sebagai lapisan I sedangkan sisanya ditambahkan lagi dengan 10 ml petroleum eter (PE). Campuran dihomogenkan lagi selama 2 menit menggunakan *vortex* kemudian disentrifuse selama 5 menit. Lapisan petroleum eter (PE) yang terbentuk dipisahkan lagi dan diberi tanda sebagai lapisan II. Lapisan I dan II dihomogenkan dan diambil 2 ml untuk dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 480 nm, 645 nm dan 663 nm.

#### H. Penghitungan Kandungan $\beta$ -karoten pada *Dunaliella salina*

Menurut Dhanam *and* Dhandayuthapani (2013), penghitungan kandungan  $\beta$ -karoten pada fitoplankton *D. salina* ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer. Hasil ekstraksi berupa lapisan petroleum eter (PE) yang terbentuk selanjutnya dimasukkan ke dalam *cuvet* dan dibaca menggunakan spektrofotometer dengan blanko yaitu larutan petroleum eter (PE). Berikut rumus perhitungan kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina* (Kleinegris *et al.*, 2011).

$$\beta\text{-karoten (mg/L)} = \frac{(\text{Abs } 453 - \text{Abs } 665) \times 3,657 \times 3 \times X}{3,91}$$

Keterangan :

Abs 453 : Absorbansi pada panjang gelombang 453 nm

Abs 665 : Absorbansi pada panjang gelombang 663 nm

3,657 : Faktor kalibrasi pada analisis kandungan  $\beta$ -karoten

X : Faktor pengencer untuk mengukur absorbansi pada spektrofotometer

## I. Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari, pada pagi dan sore hari. Parameter kualitas air yang diamati meliputi suhu, pH, salinitas dan DO (*Dissolved Oxygen*). Pengukuran suhu menggunakan termometer, pengukuran pH dengan pH meter dan pengukuran salinitas dengan refraktometer.

### 4.3.3 Parameter

#### A. Parameter Utama

Parameter utama yang diamati adalah kandungan  $\beta$ -karoten *D. salina*. Kandungan  $\beta$ -karoten diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 450 nm.

#### B. Parameter Pendukung

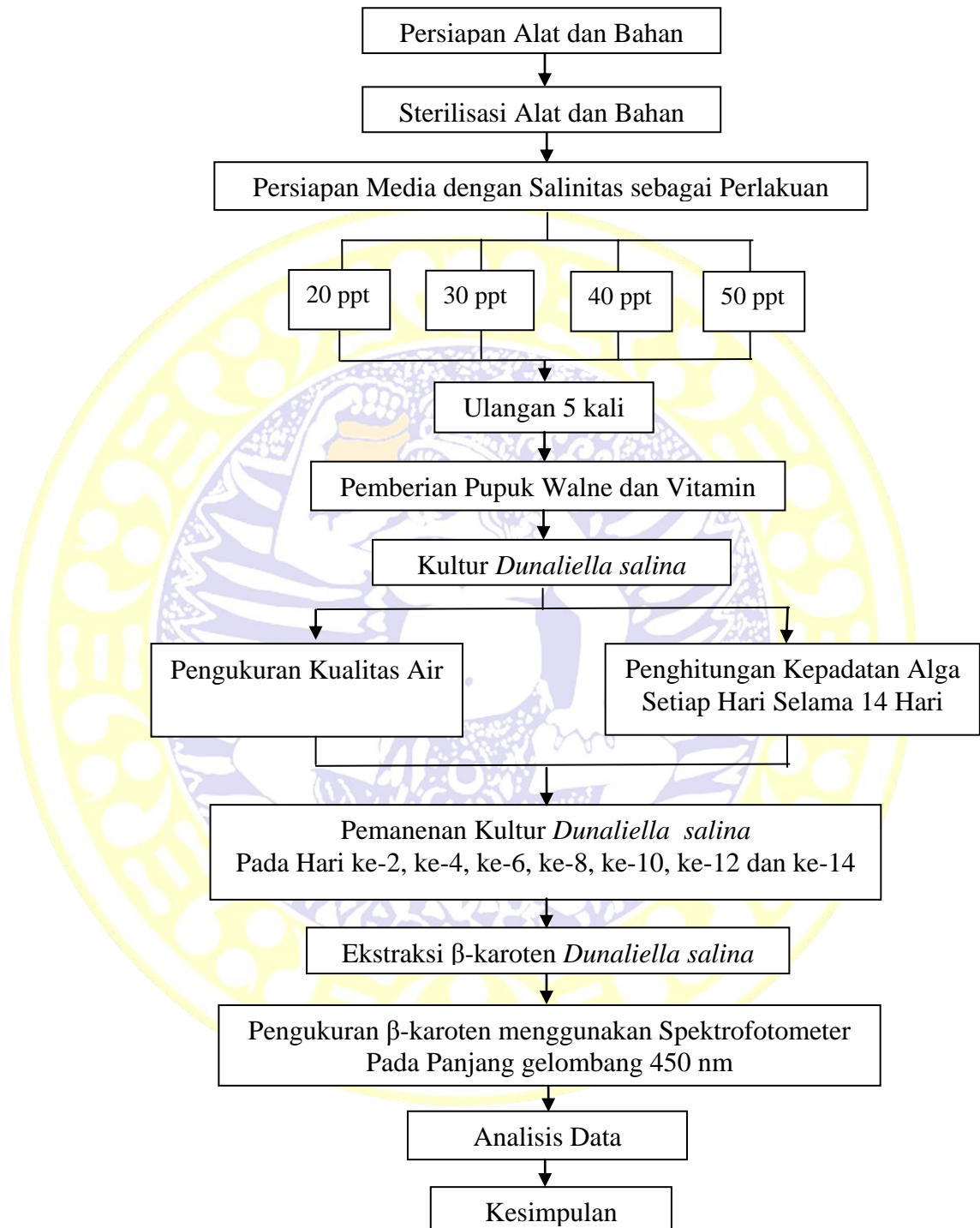
Parameter pendukung dari penelitian ini adalah pertumbuhan populasi *D. salina* selama 14 hari dan kualitas air yaitu suhu, pH, salinitas dan DO (*Dissolved Oxygen*).

### 4.3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari proses kultur dan penghitungan kandungan  $\beta$ -karoten kemudian dianalisa dengan menggunakan metode deskriptif. Menurut Dharminto (2007), metode deskriptif merupakan taraf menganalisis dan menyajikan fakta secara sistematis sehingga dapat lebih mudah untuk dipahami dan disimpulkan. Data tersebut disajikan dalam tabel dan gambar. Diagram alir dapat dilihat pada Gambar 9.



#### 4.3.5 Diagram Alir Penelitian



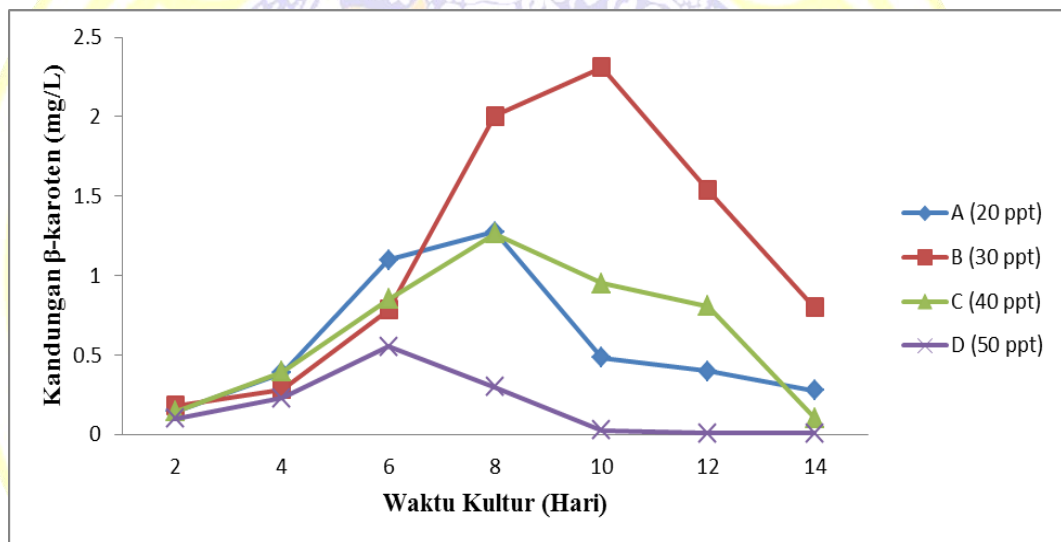
Gambar 9. Diagram Alir Penelitian

## V HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Hasil

#### 5.1.1 Kandungan $\beta$ -karoten *Dunaliella salina* pada Media Salinitas yang Berbeda

Hasil pengamatan penghitungan kandungan  $\beta$ -karoten dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Sampel diambil pada hari ke-2, ke-4, ke-6, ke-8, ke-10, ke-12 dan ke-14. Berikut grafik rata-rata kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina* selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik Rata-rata Kandungan  $\beta$ -karoten *D. salina* yang Dikultur dengan Salinitas yang Berbeda

Berdasarkan grafik rata-rata kandungan  $\beta$ -karoten, dapat diketahui bahwa kandungan  $\beta$ -karoten tertinggi terdapat pada perlakuan B (30 ppt) yaitu pada hari ke-10 sebesar 2,312 mg/L, sedangkan perlakuan A (20 ppt) dan perlakuan C (40 ppt) terjadi pada hari ke-8 yaitu 1,275 mg/L dan 1,2648 mg/L dan perlakuan D (50 ppt) kandungan  $\beta$ -karoten tertinggi terjadi pada hari ke-6 yaitu 0,5525 mg/L.

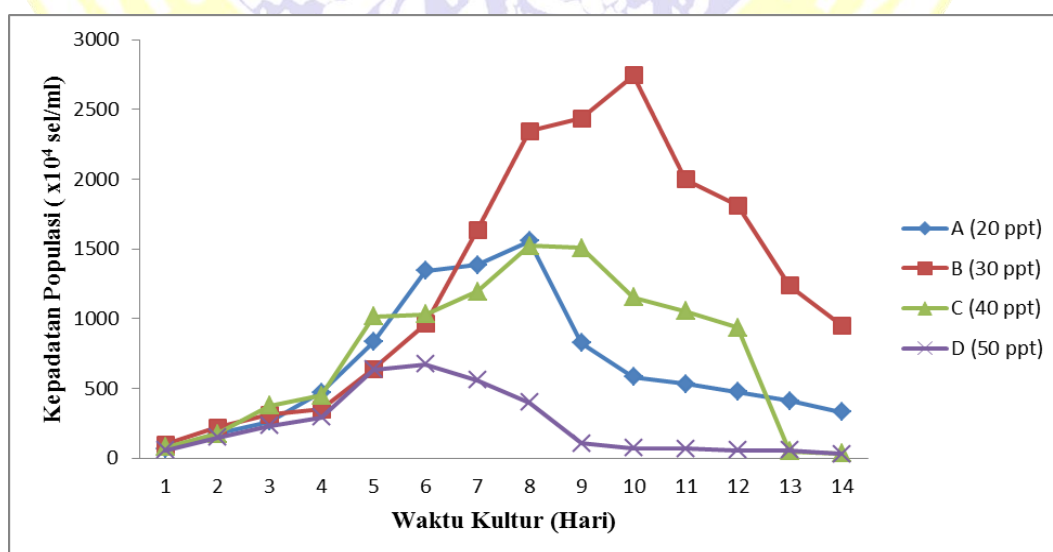
Berikut data rata-rata kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina* selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Kandungan  $\beta$ -karoten *D. salina* yang Dikultur dengan Salinitas yang Berbeda

Hari ke-	Kandungan $\beta$ -karoten (mg/L)			
	A (20 ppt)	B (30 ppt)	C (40 ppt)	D (50 ppt)
Ke-2	0,1445	0,1819	0,1445	0,1003
Ke-4	0,3859	0,2856	0,3961	0,2295
Ke-6	1,0999	0,7871	0,8500	0,5525
Ke-8	1,2750	2,0060	1,2648	0,2992
Ke-10	0,4845	2,3120	0,9520	0,0255
Ke-12	0,3995	1,5385	0,8075	0,0085
Ke-14	0,2771	0,8007	0,1037	0,0085

### 5.1.2 Pertumbuhan *Dunaliella salina*

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh data sekunder berupa data kepadatan pertumbuhan *D. salina*. Pertumbuhan *D. salina* dihitung setiap hari selama 14 hari pemeliharaan dengan menggunakan alat *haemocytometer*. Data kepadatan populasi dapat dilihat pada Tabel 2 dan untuk grafik kepadatan populasinya dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik Rata-rata Kepadatan Populasi *D. salina*



Berdasarkan Gambar 11, dapat dilihat bahwa kepadatan *D. salina* mengikuti pola pertumbuhan kultur fitoplankton secara umum, yaitu fase lag, eksponensial, stasioner dan kematian. Perlakuan A (20 ppt) dan C (40 ppt) mikroalga *D. salina* mengalami fase lag pada hari ke-1, fase eksponensial pada hari ke-2 sampai hari ke-7. Hari ke-8 mengalami fase stasioner kemudian pada hari ke-9 sampai hari ke-14 *D. salina* mengalami fase kematian. Perlakuan B (30 ppt) mikroalga *D. salina* mengalami fase lag pada hari ke-1, fase eksponensial pada hari ke-2 sampai hari ke-9. Hari ke-10 mengalami fase stasioner kemudian hari ke-11 sampai hari ke-14 *D. salina* mengalami fase kematian, sedangkan perlakuan D (50 ppt) terjadi fase lag pada hari ke-1, kemudian mengalami fase eksponensial pada hari ke-2 sampai hari ke-5. Hari ke-6 *D. salina* mengalami fase stasioner dan setelah itu pada hari ke-7 sampai hari ke-14 mikroalga mengalami penurunan kepadatan atau fase kematian.

Tabel 2. Data Kepadatan Populasi *D. salina* ( $\times 10^4$  sel/ml)

Hari ke-	Populasi ( $\times 10^4$ sel/ml) pada perlakuan			
	A (20 ppt)	B (30 ppt)	C (40 ppt)	D (50 ppt)
Ke-1	69,1000	96,4000	78,1500	57,8000
Ke-2	172,0500	218,6000	174,3500	145,5000
Ke-3	263,0000	309,1000	376,5000	232,4000
Ke-4	469,5500	349,6000	448,1000	293,5000
Ke-5	831,3500	637,9500	1015,8500	635,9000
Ke-6	1344,2000	963,9500	1031,0500	672,5500
Ke-7	1385,2000	1634,8500	1195,1500	558,5500
Ke-8	1555,8500	2345,3000	1523,1000	399,0000
Ke-9	823,2000	2434,9500	2434,9500	105,9500
Ke-10	582,4000	6154,3000	1151,4000	69,9500
Ke-11	530,8500	1998,3500	1054,0000	66,9000
Ke-12	475,3000	1810,3500	935,7000	54,6500
Ke-13	410,8000	1237,5500	49,8500	54,7500
Ke-14	328,4500	949,7000	31,7500	31,0500

### 5.1.3 Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari pada pagi dan sore hari selama masa pemeliharaan. Parameter kualitas air yang diukur adalah suhu, pH, salinitas dan *dissolved oxygen* (DO). Adapun hasil kisaran pengukuran data kualitas air dapat dilihat pada Tabel. 3, sedangkan untuk data keseluruhan dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 3. Kisaran Kualitas Air selama Masa Pemeliharaan *D. salina*

No	Parameter	Hasil	Satuan
1	Suhu	28,2-30,8	°C
2	pH	7,5-8,6	-
3	Salinitas	20-50	ppt
4	<i>Dissolved Oxygen</i> (DO)	6,3-6,9	mg/L

## 5.2 Pembahasan

*Dunaliella salina* merupakan alga uniseluler berwarna hijau yang bersifat halofilik dan termasuk dalam filum Chlorophyta (Smith *et al.*, 2010). Alga ini tidak memiliki dinding sel yang kaku sehingga volume atau ukuran sel dapat dengan mudah mengalami perubahan akibat tekanan osmotik dari lingkungan (Lamers, 2011). *Dunaliella salina* mempertahankan diri dari stres salinitas tersebut dengan memproduksi metabolit sekunder yaitu  $\beta$ -karoten (Ramos *et al.*, 2011).

Salinitas adalah salah satu stresor lingkungan yang berpengaruh terhadap peningkatan akumulasi  $\beta$ -karoten pada *D. salina*. Kadar salinitas yang lebih tinggi (hipertonik) dapat menyebabkan penyusutan pada sel dan kadar salinitas yang lebih rendah (hipotonik) dapat mengakibatkan pembengkakan sel (Pisal *and* Lele, 2004).

Kondisi tersebut menjadikan *D. salina* memproduksi metabolit sekunder yaitu  $\beta$ -karoten untuk mempertahankan hidup terhadap perubahan salinitas di lingkungan. Kusumaningrum dan Zainuri (2013) menambahkan bahwa terjadi peningkatan total pigmen karotenoid pada fase puncak karena pigmen yang dihasilkan digunakan untuk pertahanan hidup sel saat nutrisi dalam medium mulai menipis.

Menurut Ramos *et al* (2011), *D. salina* memiliki dua cara untuk mempertahankan diri dari stres salinitas tersebut yaitu dengan memproduksi gliserol dalam jangka waktu pendek dan memproduksi karotenoid dalam jangka waktu panjang. Perubahan salinitas dapat merusak membran plasma sehingga memicu aktivasi dari enzim protein kinase dan menyebabkan terjadinya konversi pati menjadi gliserol di dalam kloroplas, apabila perubahan salinitas berlangsung dalam jangka waktu yang lama maka enzim protein kinase akan merubah ekspresi gen melalui proses transkripsi sehingga menghasilkan karotenoid.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa kandungan  $\beta$ -karoten tertinggi pada *D. salina* terdapat pada perlakuan B (30 ppt) yaitu sebesar 2,312 mg/L pada hari ke-10, sedangkan kandungan  $\beta$ -karoten pada perlakuan normal yaitu A (20 ppt) memiliki jumlah tertinggi sebesar 1,275 mg/L yang diperoleh pada hari ke-8. Hal tersebut menunjukkan bahwa salinitas dapat meningkatkan kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina* terbukti bahwa kandungan  $\beta$ -karoten pada perlakuan B (30 ppt) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan A (20 ppt) sebagai kontrol atau kondisi normal.



Menurut Ben-Amotz (2004), mikroalga *D. salina* pada kondisi normal dapat menghasilkan  $\beta$ -karoten sekitar 5-15 mg/l, sedangkan pada penelitian ini hasil  $\beta$ -karoten yang didapat pada perlakuan normal yaitu 20 ppt menunjukkan bahwa kandungan  $\beta$ -karoten kurang dari 5-15 mg/l yang diduga karena adanya kontaminan pada beberapa ulangan pada perlakuan A (20 ppt).

Shariati *and* Hadi (2011) menyatakan bahwa kondisi stres lingkungan seperti salinitas yang tinggi dapat menyebabkan fisiologi sel *D. salina* tidak seimbang sehingga *D. salina* memproduksi  $\beta$ -karoten sebagai bentuk pertahanan diri dari stres lingkungan yaitu dengan cara menangkal radikal bebas dan racun berbahaya yang masuk ke dalam sel. Akan tetapi, berdasarkan penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa pada perlakuan C (40 ppt) dan perlakuan D (50 ppt) terlihat adanya penurunan jumlah kandungan  $\beta$ -karoten yaitu paling tinggi masing-masing sebesar 1,2648 mg/L dan 0,5525 mg/L yang diperoleh pada hari ke-6.

Hal tersebut diduga bahwa mikroalga *D. salina* memiliki batas-batas toleransi terhadap stres salinitas yang diberikan sehingga kondisi stres salinitas yang terlalu tinggi tersebut dapat mempengaruhi penurunan kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina* karena sel *D. salina* telah mengalami plasmolisis serta kematian sel yang diakibatkan stres salinitas yang terlalu tinggi. Dugaan tersebut didukung oleh Shariati *and* Hadi (2011) yang menyatakan bahwa mikroalga *D. salina* merupakan mikroalga yang halotoleran tetapi *D. salina* memiliki batas-batas dalam mentoleransi perubahan kondisi salinitas yang ekstrim.

Ben-Amotz *et al.* (2009) menjelaskan bahwa mikroalga *D. salina* tidak dapat mentoleransi stres salinitas di atas 80 ppt. Namun pada penelitian ini menunjukkan bahwa nilai ambang batas salinitas yang tidak dapat ditoleransi oleh mikroalga *D. salina* yaitu di atas 40 ppt. Hal tersebut dikarenakan pada salinitas 40 ppt sel *D. salina* telah mengalami plasmolisis yang ditandai dengan endapan yang muncul pada media kultur.

Menurut Hadi (2012), kepadatan mikroalga merupakan salah satu parameter pertumbuhan yang dapat digunakan sebagai acuan untuk mengetahui apakah mikroalga tersebut tumbuh atau tidak. Pertumbuhan fitoplankton terdiri atas empat fase yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Semua perlakuan mengalami fase lag pada hari ke-1. Menurut Ayustama dan Eka (2011), pada fase lag tersebut sel mikroalga masih dalam tahap adaptasi sebagai upaya penyesuaian diri dari perubahan kondisi lingkungan media awal ke media yang baru. Isnansetyo dan Kurniastuti (1995) menambahkan bahwa fase lag terjadi kurang dari 24 jam setelah penambahan inokulan ke dalam media kultur, pada fase lag ukuran sel akan meningkat serta mengalami metabolisme sel tetapi belum mengalami pembelahan.

Fase eksponensial terjadi setelah fase lag yaitu pada hari ke-2 sampai hari ke-7 (untuk perlakuan A dan C) dan hari ke-2 sampai hari ke-9 (untuk perlakuan B) serta hari ke-2 sampai hari ke-5 (untuk perlakuan D). *Dunaliella salina* pada fase eksponensial ini mengalami pertumbuhan secara cepat. Hal ini ditandai dengan jumlah sel yang melimpah dibanding hari-hari sebelumnya. Menurut

Ayustama dan Eka (2011), pada fase ini struktur sel masih normal secara nutrisi terjadi keseimbangan antar nutrisi dalam media.

Fase stasioner terjadi pada hari ke-8 (perlakuan A dan C), ke-10 (perlakuan B) dan ke-6 (perlakuan D). Fase ini terjadi karena nutrisi dalam media sudah sangat berkurang sehingga tidak mencukupi untuk pertumbuhan dan pembelahan sel (Prihantini dkk., 2005). Fase stasioner merupakan akhir dari produksi biomassa sel. Menurut Setyaningsih (2011), pada fase stasioner konsentrasi maksimum biomassa tercapai. Prihantini dkk. (2005), menambahkan bahwa setelah fase stasioner kepadatan sel mengalami penurunan yang menandakan kultur telah memasuki fase kematian (Prihantini dkk., 2005). Fase kematian kultur terjadi setelah fase stasioner pada setiap perlakuan dan terjadi sampai hari ke-14 masa pemeliharaan. Fase ini ditandai dengan warna air kultur berubah, terjadi buih di permukaan media kultur dan warna yang pudar serta gumpalan sel alga yang mengendap di dasar kultur (Ayustama dan Eka, 2011). Perbedaan lama fase dalam setiap perlakuan disebabkan oleh beberapa faktor seperti suhu, intensitas cahaya dan nutrisi. Secara kasat mata hal tersebut dapat dilihat dari jumlah kepadatan sel yang ditandai dengan perubahan warna kultur. Pertumbuhan mikroalga dapat ditandai dengan semakin bertambah jumlah sel pada media kultur (Setyaningsih, 2011).

Salinitas merupakan salah satu faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi jumlah kepadatan populasi mikroalga *D. salina* pada kultur. Hal ini sesuai dengan pernyataan Abu-Rezq (2011) bahwa kondisi salinitas yang abnormal pada kultur mikroalga dapat mempengaruhi tinggi dan rendahnya



jumlah kepadatan populasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa jumlah kepadatan tertinggi diperoleh pada perlakuan B (30 ppt) yaitu sebesar  $6154,3 \times 10^4$  sel/ml pada hari ke-10, sedangkan perlakuan A (20 ppt) dan C (40 ppt) mengalami puncak kepadatan pada hari ke-8 dengan kepadatan masing-masing  $1555,85 \times 10^4$  sel/ml dan  $1523,1 \times 10^4$  sel/ml serta perlakuan D (50 ppt) yang mengalami puncak kepadatan pada hari ke-6 sebesar  $672,5 \times 10^4$  sel/ml.

Berdasarkan hasil penelitian juga didapat bahwa pada salinitas 30 ppt jumlah kepadatan sel *D. salina* meningkat dibandingkan perlakuan yang lain (20 ppt, 40 ppt dan 50 ppt) karena pada salinitas 30 ppt ini mikroalga *D. salina* masih dapat mentoleransi stres salinitas yang diberikan sehingga pertumbuhan cenderung normal dan sebagai sistem adaptasi dalam menghadapi stres salinitas *D. salina* membentuk  $\beta$ -karoten, sedangkan jumlah kepadatan sel *D. salina* pada salinitas 40 ppt dan 50 ppt cenderung menurun sebab mikroalga *D. salina* telah mengalami plasmolisis akibat tekanan osmotik yang terlalu tinggi dan tidak dapat ditoleransi. Hal tersebut berdampak pada kematian sel sehingga produksi  $\beta$ -karoten juga mengalami penurunan.

Kondisi lingkungan di dalam media pemeliharaan dapat mempengaruhi pertumbuhan *D. salina*. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data kualitas air yaitu suhu, pH, *Dissolved Oxygen* (DO) dan salinitas yang diukur setiap hari pada pagi dan sore hari. Data rata-rata suhu berkisar antara  $28,2-30,8^{\circ}\text{C}$ , kisaran suhu tersebut dapat dikategorikan masih sesuai dengan lingkungan hidup *D. salina*. Ben-Amotz *et al.* (2009) menyatakan bahwa suhu yang optimum untuk pertumbuhan *D. salina* yaitu antara  $10^{\circ}\text{C}-30^{\circ}\text{C}$ . Tafreshi *and* Shariati (2009)

menambahkan bahwa suhu optimal kultur *D. salina* skala laboratorium adalah berkisar antara 25°C-35°C. Suhu mempengaruhi aktifitas metabolisme organisme, selain itu suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan biota air. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu dan dapat menyebabkan kematian bila peningkatan suhu tersebut melebihi batas optimum organisme yang dapat diterima (Rizky, 2010).

Pengukuran nilai rata-rata pH pada penelitian berkisar antara 7,5-8,6. Berdasarkan hasil tersebut dapat diartikan bahwa nilai pH dalam kondisi normal, hal ini didasarkan pada pernyataan Tafreshi and Shariati (2009), bahwa *D. salina* memiliki toleransi pH yang tinggi yaitu 0-11 dan pH yang optimum untuk kultur pertumbuhan mikroalga *D. salina* yaitu antara 9-11. Menurut Borowitzka dan Borowitzka (1988), pH pada media kultur akan berpengaruh pada pertumbuhan dan metabolisme termasuk ketersediaan CO<sub>2</sub> untuk proses fotosintesis.

Nilai *Dissolved Oxygen* (DO) merupakan kadar oksigen terlarut didalam air. Oksigen terlarut sangat dibutuhkan oleh semua organisme hidup untuk pernapasan, proses metabolisme atau pertukaran zat yang kemudian menghasilkan energi untuk pertumbuhan dan berkembang biak (Salmin, 2005). Pengukuran nilai rata-rata DO pada penelitian berkisar antara 6,3-6,9 mg/L. Kisaran DO tersebut dapat dikategorikan masih sesuai dengan lingkungan hidup *D. salina*. Menurut Tafreshi and Shariati (2009), nilai *Dissolved Oxygen* (DO) yang optimum untuk pertumbuhan *D. salina* yaitu antara 6-8 mg/L. Adapun nilai salinitas pada penelitian tetap berada pada kondisi normal yang sesuai dengan perlakuan (20 ppt, 30 ppt, 40 ppt dan 50 ppt) serta tidak terjadi fluktuasi salinitas pada media kultur.

## VI KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

1. Perbedaan konsentrasi salinitas sebagai stresor lingkungan dapat meningkatkan kandungan  $\beta$ -karoten pada kultur *D. salina*
2. Salinitas terbaik untuk memperoleh kandungan  $\beta$ -karoten tertinggi pada *D. salina* adalah pada salinitas 30 ppt dengan jumlah  $\beta$ -karoten 2,312 mg/L pada hari ke-10

### 6.2 Saran

1. Peningkatan produksi  $\beta$ -karoten pada *D. salina* juga dapat dilakukan dengan injeksi stres lingkungan lainnya baik berupa stres suhu, cahaya serta nutrisi yang diberikan, sebab mikroalga *D. salina* akan memproduksi metabolit sekunder yaitu salah satunya  $\beta$ -karoten apabila berada pada kondisi lingkungan yang tidak normal sebagai bentuk sistem pertahanan diri terhadap lingkungan.
2. Kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina* dapat diaplikasikan diberbagai bidang diantaranya bidang kesehatan yaitu sebagai antioksidan, sehingga diharapkan ada penelitian lanjutan mengenai efektivitas antioksidan dari  $\beta$ -karoten pada *D. salina*.
3. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai peningkatan kandungan  $\beta$ -karoten pada *D. salina* dengan *range* konsentrasi salinitas yang lebih pendek sehingga didapatkan hasil kandungan  $\beta$ -karoten yang maksimal.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Abdillah, A. A., M. A. Alamsjah., H. Pramono., N. Sugianti and J. Hermawan. 2014. Antioxidant Production from *Dunaliella salina* Under Salinity Stress and Light Stress. The Proceeding of the Fourth International Fisheries Symposium. Surabaya. pp. 156-164.
- Abd El-Baky, H., F. K. El Baz and G. S. El-Baroty. 2007. Production of Carotenoid from Marine Microalgae and its Evaluation as Safe Food Colorant and Lowering Cholesterol Agents. Journal Agriculture and Environment. 2 (6): 792-800.
- Abu-Rezq, T. S., S. Al-Hooti and D. A. Jacob. 2010. Optimum Culture Conditions Required for The Locally Isolated *Dunaliella Salina*. Journal of Algal Biomass Utilization. 1 (2): 12-19.
- Arrokhman, S., N. Abdulgani dan D. Hidayati. 2012. Survival Rate Ikan Bawal Bintang (*Trachinotus blochii*) dalam Media Pemeliharaan Menggunakan Rekayasa Salinitas. Jurnal Sains dan Seni ITS. 1 (1): 32-35.
- Aslianti, T dan A. Nasukha. 2012. Peningkatan Kualitas Warna Benih Ikan Kakap Merah *Lutjanus sebae* Melalui Pakan yang Diperkaya dengan Minyak Buah Merah *Pandanus conoideus* Sebagai Sumber Beta-Karoten. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut. Gondol. 4 (2): 171-181.
- Ayustama, A. L. S dan E. A. W. Sari. 2011. Proses Produksi Mikroalga dalam Photobioreaktor Mini Pond Secara Batch untuk Bahan Bakar Biodisel. Skripsi. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. 65 hal.
- Ben-Amotz, A. 2004. Industrial Production of Microalgal Cell-Mass and Secondary Products-Major Industrial Species, Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology Edited by Amos Richmond Copyright. pp. 285-292.
- Ben-Amotz, A., J. E. W. Polle and D.V. S. Rao. 2009. The Alga *Dunaliella* : Biodiversity, Physiology, Genomics and Biotechnology. Science Publisher. America. pp. 357-493.
- Borowitzka, M. A and L. J. Borowitzka. 1988. Micro-Algal Biotechnology. Cambridge University Press. Cambridge. New York. pp. 27-58.
- Borowitzka, M. A and C. J. Siva. 2007. The Taxonomy of the Genus (Chlorophyta, Dunaliellales) with Emphasis on The Marine and Halophilic Species. Journal Applied Phycology. 19: 567-590.

- Davies, K., A. Cuttriss and B. Pogson. 2004. Plant Pigments and Their Manipulation. Blackwell Publishing. Victoria. Australia. pp. 57-91.
- Dhanam, D. S and K. Dhandayuthapani. 2013. Optimization of  $\beta$ -Carotene Production by Marine Microalga *Dunaliella salina*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2 (3): 37-43.
- Dharminto, D. 2007. Metode Penelitian dan Penelitian Sampel <http://eprints.undip.ac.id/>. 17/12/2013. 8 hal.
- Djaelani, A. R. 2013. Teknik Pengumpulan Data dalam Penelitian Kualitatif. Fakultas Pendidikan Teknologi dan Kejuruan. Institut Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Veteran Semarang. Majalah Ilmiah Pawiyatan, XX (1):1-11.
- Emeish, S. 2012. Production of Natural  $\beta$ -Carotene from *Dunaliella* Living in the Dead Sea. Jordan Journal of Earth and Environmental Sciences. 4 (2): 23-27.
- Facta, M., M. Zainuri., Sudjadi dan P. Sakti. 2006. Pengaruh Pengaturan Intensitas Cahaya yang Berbeda terhadap Kelimpahan *Dunaliella* sp. dan Oksigen Terlarut dengan Simulator TRIAC dan Mikrokontroller AT89S52. Ilmu kelautan. 11 (2): 67-71.
- Fazeli, M. R., H. Tofighi., N. Samadi and H. Jamalifar. 2006. Effects of Salinity on  $\beta$ -Carotene Production by *Dunaliella tertiolecta* DCCBC26 Isolated from The Urmia Salt Lake, North of Iran. 97: 2453–2456.
- Gunawan, E. 2009. Profil Peningkatan Recovery Pada Proses Pemekatan  $\beta$ -Karoten dari Minyak Sawit Kasar dengan Metode Pengulangan Fraksinasi Pelarut. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 65 hal.
- Gomez, P. I and M. A. Gonzalez. 2005. The Effect of Temperature and Irradiance on The Growth and Carotenogenic Capacity of Seven Strains of *Dunaliella salina* (Chlorophyta) Cultivated Under Laboratory Conditions. Biology Research. 38: 151-162.
- Hadi, K. 2012. Kandungan DHA, EPA dan AA dalam Mikroalga Laut dari Spesies *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureus* dan *Porphyridium cruentum* yang Dikultivasi secara Heteretrof. Skripsi. Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. 84 hal.
- Haekal, F. E., M. M. Hefny and A. M. Abd El-Tawab. 2013. Electrochemical Behavior of Titanium in Saline Media Containing Alga *Dunaliella salina* and Its Secretions. International Journal Electrochemical Science. 8: 4610-4630.

- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Kanisius. Yogyakarta. 40-83 hal.
- Kleinegris, D. M. M., M. Janssen., W. A. Brandenburg and R. H. Wijffels. 2011. Continuous Production of Carotenoids from *Dunaliella salina*. Journal Elsvier. 48 : 253-259.
- Kusriningrum. 2012. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya. 84-86 hal.
- Kusumaningrum, H. P dan M. Zainuri. 2013. Aplikasi Pakan Alami Kaya Karotenoid Untuk Post Larva *Penaeus monodon* Fab. Jurnal Ilmu Kelautan. 18(3):143-149.
- Kwangdinata, R., I. Raya dan M. Zakir. 2013. Produksi Biodiesel dari Lipid Fitoplankton *Nannochloropsis* sp. Melalui Metode Ultrasonik. Marina Chimica Acta. 4 (2): 28-36.
- Lamers, P. P. 2011. Metabolomics of Carotenoid Accumulation in *Dunaliella salina*. Thesis. Wageningen University. Wageningen. Netherlands. 176 p.
- Lavens, P and Sorgeloos, P. 1996. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. Italy. pp. 7-48.
- Mamduh, A., E. D. Masithah dan M. A. Alamsjah. 2013. Pengaruh Pemberian Pupuk *Azolla pinnata* Terhadap Kandungan Klorofil Pada *Dunaliella salina*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. 73 hal.
- Masithah, E. D., N. Choiriyah dan Prayogo. 2011. Pemanfaatan Isi Rumen Sapi yang Difermentasikan dengan Bakteri *Bacillus pumilus* terhadap Kandungan Klorofil pada Kultur *Dunaliella salina*. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan. Surabaya. 3 (1): 97-102.
- Maulida, D dan N. Zulkarnaen. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran, N-Heksana, Aseton dan Etanol. Skripsi. Fakultas Teknik Kimia. Universitas Diponegoro. 65 hal.
- Meliawaty, F. 2012. Efisiensi Sterilisasi Alat Bedah Mulut Melalui Inovasi Oven dengan Ozon dan Infrared. Jurnal Kristen Maranatha. 11 (2): 147- 167.
- Nielsen, S. 2009. Food Analysis Fouth Edition. Purdue University. West Lafayette. USA. 195 p.
- Pisal, D. S. and S. S. Lele. 2004. Carotenoid Production from Microalgae *Dunaliella salina*. Indian Journal of Biotechnology. 4: 476-483.



- Prihantini, N. B., B. Putri dan R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan Variasi pH Awal. Jurnal Makara Sains. Depok. 9 (1): 1-6.
- Rad, F. A, N. Aksoz and M. A. Hejazi. 2011. Effect of Salinity on Cell Growth and  $\beta$ -Carotene Production in *Dunaliella* sp. Isolates from Urmia Lake in Northwest of Iran. African Journal of Biotechnology. 10 (12): 2282-2289.
- Ramos, A. A., J. Polle., D. Tran., J. C. Cushman., E. Jin and J. C. Varela. 2011. The Unicellular Green Alga Teod as a Model for Abiotic Stress Tolerance: Genetic Advances and Future Perspectives. Algae. The Korean Society of Phycology. 26 (1): 3-20.
- Rizky, N. M. 2010. Optimasi Kultivasi Mikroalga Laut *Nannochloropsis oculata* dengan Perlakuan Pupuk Urea untuk Produksi Lemak Nabati. Skripsi. Fakultas Perikanan, Universitas Brawijaya, Malang. 72 hal.
- Sakthivel, R., S. Elumalai and M. M. Arif. 2011. Microalgae Lipid Research, Past, Present: A Critical Review for Biodiesel Production in The Future. Journal of Experimental Sciences 2 (10): 29-49.
- Salmin. 2005. Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) Sebagai Salah Satu Indikator untuk Menentukan Kualitas Perairan. Jurnal Oseana. 30 (3): 21-26.
- Serlahwaty, D., Y. Farida dan T. Asriyana. 2009. Penetapan Kadar B-Karoten dalam Buah Paprika Merah, Kuning dan Hijau (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.) Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Seminar Nasional PATPI. Hal 1-7.
- Setyaningsih, I., A. T. Saputra dan Uju. 2011. Komposisi Kimia dan Kandungan Pigmen *Spirulina fusiformis* pada Umur Panen yang Berbeda dalam Media Pupuk. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 14 (1): 63-69.
- Shariati, M and M. R. Hadi. 2011. Microalgal Biotechnology and Bioenergy in *Dunaliella*. In : A. Carpi (Ed). Progress in Molecular and Environmental Bioengineering-From Analysis and Modeling to Technology Applications. Intech. Europa. pp. 483-506.
- Simanjuntak, M. 2009. Hubungan Faktor Lingkungan Kimia, Fisika Terhadap Distribusi Plankton di Perairan Belitung Timur, Bangka Belitung. Jurnal Perikanan. 11 (1): 31-45.

- Smith, D. R., R. W. Lee., J. C. Cushman., J. K. Magnuson., D. Tran and J. E. W. Polle. 2010. The *Dunaliella salina* Organelle Genomes: Large Sequences, Inflated with Intronic and Intergenic DNA. *BMC Plant Biology*. 10 (83): 1-14.
- Tanumihardjo, S. A and S. A. Arscott. 2013. *Carotenoid and Human Health*. Humana Press. New York. pp. 3-19.
- Tafreshi, A. H and Shariati. 2009. *Dunaliella Biotechnology: Methods and Applications*. *Journal of Applied Microbiology*. 107 (1) : 14-35.
- Wulandari, D. 2009. *Keterikatan antara Kelimpahan Fitoplankton dengan Parameter Fisika Kimia di Estuari Sungai Brantas (Porong) Jawa Timur*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 76 hal.
- Zainuri, M., H. P. Kusumaningrum and E. Kusdiyantini. 2006. *Microbiological and Ecophysiological Characterization of Green Algae *Dunaliella* sp. for Improvement of Carotenoid Production*. Faculty of Fisheries and Marine Sciences. Diponegoro University. pp. 1-12.

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Kepadatan Populasi Fitoplankton *Dunaliella salina*

## A. Perlakuan A (20 ppt)

Hari ke-	Ulangan ( $\times 10^4$ sel/ml)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
1	62,25	88,75	54,25	75,5	64,75	69,1
2	98	173,5	195,75	196,25	196,75	172,05
3	140,75	345,5	551,75	114	163	263
4	574,25	369,25	338,75	260,25	805,25	469,55
5	863,75	622,75	679,25	866	1125	831,35
6	840	1893	1560,5	976,25	1451,25	1344,2
7	977,25	1890	1558	1044	1449	1383,65
8	1072,5	516	2463,5	2386	1341,25	1555,85
9	1161,5	46,25	1422,25	1414,25	71,75	823,2
10	219,75	35	1449	1155	53,25	582,4
11	195,25	29,25	1304,5	1085,75	39,5	530,85
12	147,75	25,25	1177,75	994,25	31,5	475,3
13	135,75	19,25	994	880,5	24,5	410,8
14	130	13,5	758,75	727,5	12,5	328,45

## B. Perlakuan B (30ppt)

Hari ke-	Ulangan ( $\times 10^4$ sel/ml)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
1	81	104,75	74,75	80,25	141,25	96,4
2	223,75	219,5	251,25	172,25	226,25	218,6
3	205,5	247,5	298,25	394,25	400	309,1
4	165,75	421	724	172,5	264,75	349,6
5	193,5	714,75	1808	168,5	305	637,95
6	923,25	634,75	1570	755	936,75	963,95
7	930,25	1643,25	1758,25	1699,5	2143	1634,85
8	763,75	3467,75	1617,75	2463	3414,25	2345,3
9	993,75	3891,5	990,75	2686,5	3612,25	2434,95
10	1418,25	3890	1893,5	2914,5	3610	2745,25
11	731,75	3360	65	2947,5	2887,5	1998,35
12	561,5	3126	47,75	2600	2716,5	1810,35
13	324,75	1980,75	30,75	1969	1882,5	1237,55
14	199	1613,5	12,25	1465	1458,75	949,7



## C. Perlakuan C (40ppt)

Hari ke-	Ulangan ( $\times 10^4$ sel/ml)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
1	62,5	84,75	73,5	98,5	71,5	78,15
2	130,25	184,75	188,5	192,25	176	174,35
3	500,75	329,25	308,5	226	518	376,5
4	233,75	591	559	406,75	450	448,1
5	650,25	1343,75	885,75	911,5	1288	1015,85
6	1048,75	692,25	863	1115,25	1436	1031,05
7	1225	86,5	1098,75	1498,5	2067	1195,15
8	1465	254,25	1300,75	1777,5	2818	1523,1
9	1507,75	862,75	1463,25	2286,25	1412	1506,4
10	651	966	930,75	1902,75	1306,5	1151,4
11	602,5	787,5	884,75	1700,5	1294,75	1054
12	534,75	648,5	800,5	1568,25	1126,5	935,7
13	31	50	47,5	61,25	59,5	49,85
14	12,75	29,25	35,75	33,25	47,75	31,75

## D. Perlakuan D (50ppt)

Hari ke-	Ulangan ( $\times 10^4$ sel/ml)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
1	55,5	58,25	66	67	42,25	57,8
2	93	189,75	229	101,25	114,5	145,5
3	224,5	249,75	332	149	206,75	232,4
4	314,5	295,5	438,75	173,25	245,5	293,5
5	580,25	540,5	890,25	570,75	597,75	635,9
6	217	770,5	1824,5	201,75	349	672,55
7	214	547,25	1477,75	200	346	557
8	152,75	447,5	1162,75	85	147	399
9	98	103,25	152,5	96	80	105,95
10	10,25	81	86	107	65,5	69,95
11	17	82	87,75	97,5	50,25	66,9
12	14	61,5	77,5	70	48	54,2
13	14	60,75	74	72,25	49,25	54,05
14	18,25	27,75	30	31,25	48	31,05

Lampiran 2. Data Kandungan  $\beta$ -Karoten pada Fitoplankton *Dunaliella salina*

## A. Hari ke-2

Perlakuan	Kandungan $\beta$ -Karoten pada Ulangan ke- (mg/L)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
A (20 ppt)	0,085	0,1275	0,17	0,17	0,17	0,1445
B (30 ppt)	0,187	0,1785	0,2125	0,1445	0,187	0,1819
C (40 ppt)	0,1105	0,153	0,153	0,1615	0,1445	0,1445
D (50 ppt)	0,0085	0,153	0,17	0,085	0,085	0,1003

## B. Hari ke-4

Perlakuan	Kandungan $\beta$ -Karoten pada Ulangan ke- (mg/L)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
A (20 ppt)	0,425	0,2975	0,306	0,221	0,68	0,3859
B (30 ppt)	0,136	0,34	0,595	0,1445	0,2125	0,2856
C (40 ppt)	0,1955	0,51	0,4675	0,425	0,3825	0,3961
D (50 ppt)	0,255	0,255	0,34	0,085	0,2125	0,2295

## C. Hari ke-6

Perlakuan	Kandungan $\beta$ -Karoten pada Ulangan ke- (mg/L)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
A (20 ppt)	0,68	1,53	1,275	0,8245	1,19	1,0999
B (30 ppt)	0,7905	0,51	1,275	0,595	0,765	0,7871
C (40 ppt)	0,85	0,595	0,68	0,935	1,19	0,85
D (50 ppt)	0,17	0,595	1,53	0,17	0,2975	0,5525

## D. Hari ke-8

Perlakuan	Kandungan $\beta$ -Karoten pada Ulangan ke- (mg/L)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
A (20 ppt)	0,85	0,425	2,04	1,955	1,105	1,275
B (30 ppt)	0,595	2,975	1,445	2,125	2,89	2,006
C (40 ppt)	1,19	0,204	1,105	1,445	2,38	1,2648
D (50 ppt)	0,1275	0,34	0,935	0,0085	0,085	0,2992

## E. Hari ke-10

Perlakuan	Kandungan $\beta$ -Karoten pada Ulangan ke- (mg/L)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
A (20 ppt)	0,17	0,0425	1,19	0,935	0,085	0,4845
B (30 ppt)	1,19	3,23	1,53	2,55	3,06	2,312
C (40 ppt)	0,51	0,765	0,765	1,615	1,105	0,952
D (50 ppt)	0,0085	0,0085	0,0085	0,0935	0,0085	0,0255

## F. Hari ke-12

Perlakuan	Kandungan $\beta$ -Karoten pada Ulangan ke- (mg/L)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
A (20 ppt)	0,17	0,017	0,935	0,85	0,0255	0,3995
B (30 ppt)	0,425	2,72	0,0425	2,21	2,295	1,5385
C (40 ppt)	0,425	0,5525	0,68	1,275	1,105	0,8075
D (50 ppt)	0,0085	0,0085	0,0085	0,0085	0,0085	0,0085

## G. Hari ke-14

Perlakuan	Kandungan $\beta$ -Karoten pada Ulangan ke- (mg/L)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
A (20 ppt)	0,1105	0,017	0,6375	0,612	0,0085	0,2771
B (30 ppt)	0,17	1,36	0,0085	1,19	1,275	0,8007
C (40 ppt)	0,017	0,0255	0,0255	0,0255	0,425	0,1037
D (50 ppt)	0,0085	0,0085	0,0085	0,0085	0,0085	0,0085



## Lampiran 3. Data Rata-rata Pengukuran Kualitas Air

## 1. Suhu

Hari ke-	Suhu pada Perlakuan (°C)							
	A		B		C		D	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
1	29,8	30,2	29,2	30,6	30,4	30,2	30,2	30,2
2	29,6	30,6	28,4	30,6	29,2	30,6	30,6	30,6
3	30	30,8	29,1	30,8	29,4	30,4	29,4	30,8
4	29,4	30,4	29,4	30,4	30,4	30,6	29,6	30,4
5	29,2	30,4	29,6	30,4	28,2	30,2	30,4	30,4
6	29,2	30,4	28,2	30,4	29,2	30,4	30,4	30,4
7	29,4	30,2	29,4	30,2	29,4	30,2	29,2	30,2
8	28,6	30,8	29,4	30,8	29,4	30,8	30,6	30,8
9	28,8	30,6	29,4	30,2	29,6	30,6	29,2	30,6
10	29,6	30,2	29,2	30,4	29,6	30,2	30,6	30,2
11	29,6	30,8	29,6	30,6	28,6	30,4	30,6	30,8
12	29,2	30,6	30	30,6	29,8	30,6	30,2	30,6
13	28,8	30,2	28,2	30,2	29,4	30,2	29,4	30,2
14	29,6	30,6	29,4	30,4	28,2	30,6	29,6	30,2

## 2. Salinitas

Hari ke-	Salinitas pada Perlakuan							
	A (20 ppt)		B (30 ppt)		C (40 ppt)		D (50 ppt)	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
1	20	20	30	30	40	40	50	50
2	20	20	30	30	40	40	50	50
3	20	20	30	30	40	40	50	50
4	20	20	30	30	40	40	50	50
5	20	20	30	30	40	40	50	50
6	20	20	30	30	40	40	50	50
7	20	20	30	30	40	40	50	50
8	20	20	30	30	40	40	50	50
9	20	20	30	30	40	40	50	50
10	20	20	30	30	40	40	50	50
11	20	20	30	30	40	40	50	50
12	20	20	30	30	40	40	50	50
13	20	20	30	30	40	40	50	50
14	20	20	30	30	40	40	50	50

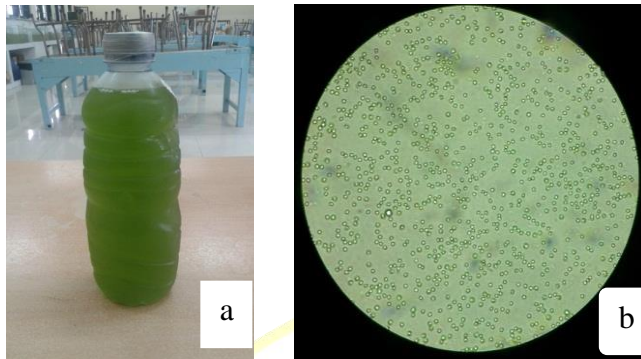
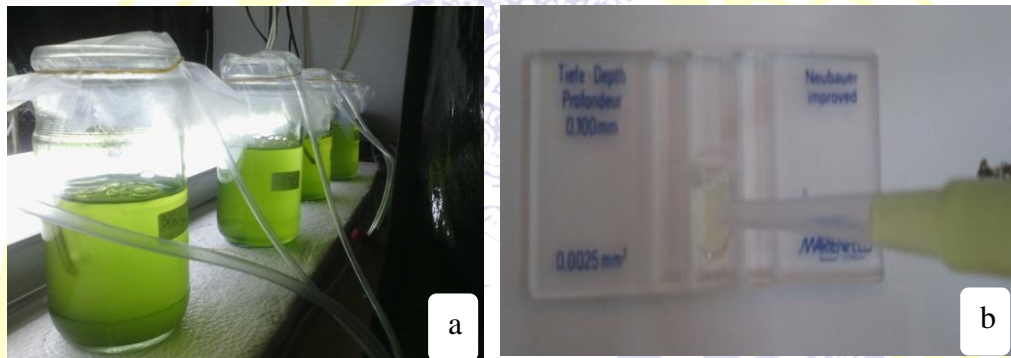
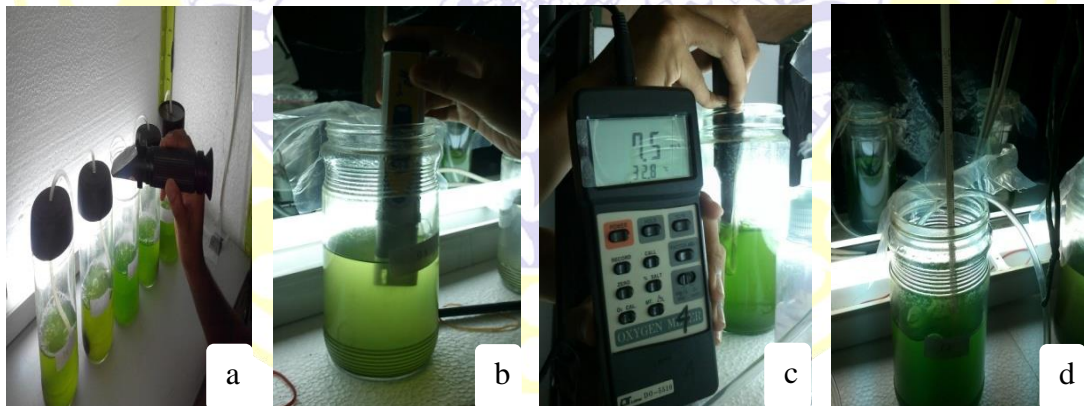
## 3. pH

Hari ke-	Nilai pH pada Perlakuan							
	A		B		C		D	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
1	8,1	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	8,1
2	8,2	8,2	8,2	8,1	8,1	8,3	8,5	8,0
3	8,2	8,2	8,1	8,3	8,3	8,5	8,2	8,5
4	8,2	8,1	8,2	8,2	8,2	8,1	8,5	8,5
5	7,0	8,1	8,0	8,1	8,1	8,2	8,2	8,4
6	7,6	7,5	7,6	7,8	8,4	8,4	8,2	8,4
7	7,7	7,7	7,8	7,9	7,9	7,9	8,3	8,3
8	7,6	7,7	7,5	7,8	8,0	8,1	8,4	8,4
9	7,5	7,8	7,9	7,9	8,1	8,1	8,2	8,3
10	7,6	7,7	7,9	7,9	8,2	8,4	8,1	8,5
11	7,2	7,3	8,0	8,1	8,1	8,1	8,3	8,3
12	7,9	7,9	8,0	8,1	8,1	8,2	8,2	8,2
13	7,9	7,9	8,0	8,0	8,3	8,3	8,5	8,5
14	7,9	7,9	8,0	8,1	8,1	8,0	8,4	8,6

## 4. Dissolved Oxygen (DO)

Hari ke-	Kandungan DO pada Perlakuan (mg/L)							
	A		B		C		D	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
1	6,6	6,7	6,6	6,8	6,8	6,9	6,6	6,6
2	6,5	6,8	6,7	6,8	6,9	6,8	6,6	6,7
3	6,7	6,9	6,8	6,9	6,8	6,8	6,7	6,7
4	6,3	6,7	6,6	6,8	6,7	6,7	6,8	6,6
5	6,4	6,6	6,7	6,7	6,8	6,5	6,6	6,7
6	6,7	6,8	6,8	6,8	6,6	6,7	6,8	6,8
7	6,8	6,5	6,4	6,6	6,6	6,5	6,7	6,7
8	6,7	6,6	6,4	6,8	6,7	6,6	6,6	6,7
9	6,8	6,7	6,5	6,7	6,8	6,7	6,7	6,8
10	6,9	6,4	6,8	6,7	6,7	6,8	6,7	6,9
11	6,6	6,5	6,6	6,8	6,8	6,7	6,6	6,8
12	6,5	6,6	6,9	6,6	6,7	6,7	6,6	6,9
13	6,8	6,3	6,7	6,7	6,8	6,8	6,7	6,8
14	6,7	6,8	6,6	6,8	6,8	6,6	6,8	6,9

## Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian

a). Bibit *Dunaliella salina* b). *Dunaliella salina* 400xa). Rak Kultur Plankton Penelitian b). *Haemocytometer*

## Pengukuran Kualitas Air

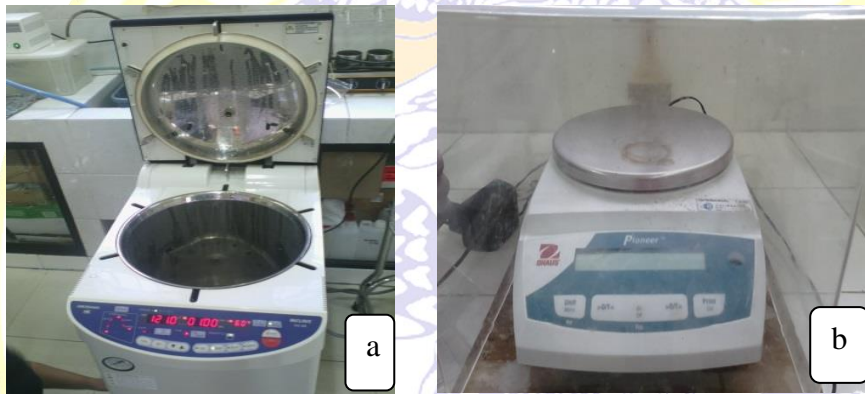
- a). Pengukuran Salinitas dengan Refraktometer
- b). Pengukuran pH dengan pH pen
- c). Pengukuran *Dissolved Oxygen* (DO) dengan DO meter
- d). Pengukuran Suhu dengan Termometer



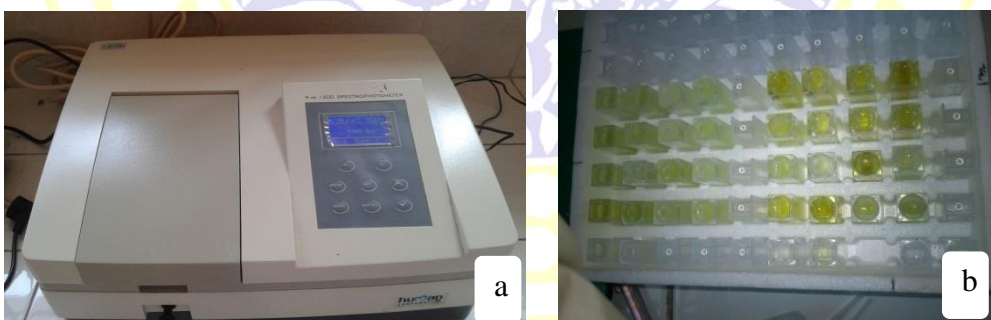
## Lampiran 4. (Lanjutan)



a). Sentrifuge b). Sampel yang divortek



a). Autoclave b). Timbangan Analitik



a). Spektrofotometer b). Sampel dalam Kuvet