

Pengaruh Salinitas terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan *Dunaliella salina* (Chlorophyceae: Dunaliellaceae)

Intan Budi Setiasih*, Agus Sabdono, Rini Pramesti

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof.H.Soedarto S.H, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

*Corresponding author, e-mail : intanbsraharjo.id@gmail.com

ABSTRAK: *Dunaliella salina* merupakan salah satu jenis mikroalga hijau yang mengandung berbagai senyawa bioaktif termasuk senyawa antioksidan untuk melawan radikal bebas. Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh lingkungan salah satunya adalah salinitas. Penelitian ini bertujuan mengetahui salinitas optimal untuk pertumbuhan dan aktivitas antioksidan *D. salina* berdasarkan nilai persen inhibisi. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu dan Laboratorium Biologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang pada bulan Mei - Juli 2018. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris. *D. salina* dikultur pada lima salinitas yang berbeda yaitu 20, 25, 30, 35 dan 40 ppt. Pengamatan dilakukan selama 7x24 jam, dipanen dan diekstrak dengan pelarut etanol yang selanjutnya dianalisis aktivitas antioksidannya dengan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan optimal terjadi pada salinitas 30 ppt, dan aktivitas antioksidan tertinggi dicapai pada salinitas 20 ppt ($9,88 \pm 0,59$) yang termasuk dalam kategori lemah.

Kata kunci: *Dunaliella salina*; Salinitas; Pertumbuhan; Antioksidan

The effects of salinity on growth and Antioxidant Activity of Microalgae Dunaliella salina (Chlorophyceae: Dunaliellaceae)

ABSTRACT: *Dunaliella salina* is a type of green microalgae that contains various bioactive compounds including antioxidant compounds to fight free radicals. Microalgal growth is influenced by the environmental conditions such as salinity. This study aims were to determine the optimal salinity of growth and antioxidant activity in ethanol extract based on percent inhibition values. This research was conducted in the Integrated Laboratory and Biology Laboratory of the Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Diponegoro University, Semarang in May - July 2018. The research method used was an experimental laboratory. *D. salina* was cultivated with five different salinities on 20, 25, 30, 35 and 40 ‰. Observation was carried out for 7x24 hours, harvested and extracted with ethanol solvent and then analyzed its antioxidant activity by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results showed that optimal growth of *D. salina* was 30 ‰ in salinity, and the highest antioxidant activity was 20 ‰ in salinity (9.88 ± 0.59) and included in the weak category.

Keywords: *Dunaliella salina*; Salinity; Growth; Antioxidant activity

PENDAHULUAN

Mikroalga berpotensi dalam pengembangan bidang farmasi terutama karena berberapa spesies dapat memproduksi senyawa metabolit bersifat bioaktif. Potensi metabolit mikroalga kini mulai dikembangkan peneliti khususnya dalam hubungan *Reactive Oxidative Species* (ROS) atau dikenal sebagai radikal bebas (Borowitzka, 2013). ROS merupakan faktor penuaan dan patogenesis berberapa penyakit degeneratif. Perubahan dan kerusakan jaringan organ dalam disebabkan gangguan transkripsi DNA/RNA sehingga reaksi intraseluler menyebabkan inaktivasi sel yang berakibat mengubah struktur intraseluler yang memperburuk sistem fisiologis organisme yang dapat menyebabkan kematian sel. Gangguan tersebut terjadi melalui reaksi peroksidasi lemak antara ROS dengan asam lemak tak jenuh dalam biomembran, yang menyebabkan desaturasi sehingga menghambat transkripsi DNA/RNA.

D. salina merupakan jenis mikroalga dari keluarga Chlorophyceae. Faktor lingkungan yang mempengaruhi produksi senyawa metabolit adalah: salinitas tinggi, intensitas cahaya tinggi, dan keterbatasan nitrogen. Dalam kondisi salinitas tinggi, dapat ditemukan β - karoten hingga 10% dari total berat kering. *D. salina* dalam kondisi optimal dapat menghasilkan ~ 400 mg β -karoten/m² (Finney *et al.*, 1984).

Salinitas dianggap mempengaruhi karena mengakibatkan adanya tekanan osmosis melalui pertukaran ion (Djunaedi *et al.*, 2017). Tekanan osmosis ini juga memicu perubahan protein menjadi asam piruvat yang digunakan sebagai bahan dasar pembentukan lutein (Imron *et al.*, 2016). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh salinitas terhadap pertumbuhan dan aktivitas antioksidan *D. salina*, Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi mengenai salinitas terbaik untuk pertumbuhan sel dan aktivitas antioksidan pada *D. salina* dan menjadi penunjang referensi dalam produksi antioksidan industri farmakologi.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan adalah *D.salina*. Media pertumbuhan disterilisasi dengan autoklaf pada temperatur 121°C pada tekanan 1 atm selama 20 menit. Alat yang digunakan disterilisasi dengan menggunakan lampu UV 20 watt selama 2 jam dan alkohol 70%. Larutan stock steril dengan salinitas 40 ppt diencerkan menjadi salinitas 20, 25, 30, 35, dan 40 ppt. Pengukuran salinitas menggunakan rumus (Rahma *et al.*, 2014). Kultivasi Zainuddin *et al.* (2017) dengan perbandingan 1:2 (*D. salina* : air laut steril) dan ditambahkan pupuk Walne sebanyak 1,5 mL ke dalam kultiva (dosis 1 mL/L). Pengamatan setiap 24 jam selanjutnya sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam botol vial, selanjutnya dihitung dengan sedgewick rafter.

Pemanenan biomassa dengan cara mengambil 5 mL sampel dan dimasukkan ke dalam botol vial yang dibungkus dengan aluminium foil dan disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit (Imron *et al.*, 2016). Supernatan dibuang dan endapan yang terbentuk ditimbang menggunakan timbangan analitik sehingga didapatkan berat biomassa basah.

Ekstraksi dilakukan dengan melakukan maserasi biomassa basah dengan pelarut ethanol selama 3x24 jam dengan perbandingan 1:10 (gram biomassa basah : mililiter pelarut ethanol), sampel disonifikasi selama 15 menit pada gelombang 50 kHz pada suhu ruang dan disaring. Hasil filtrat yang terbentuk dievaporasi dengan rotatory evaporator pada suhu 39°C. Pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Persen penghambatan atau aktivitas antioksidan dihitung menggunakan persamaan (Sanchez *et al.*, 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

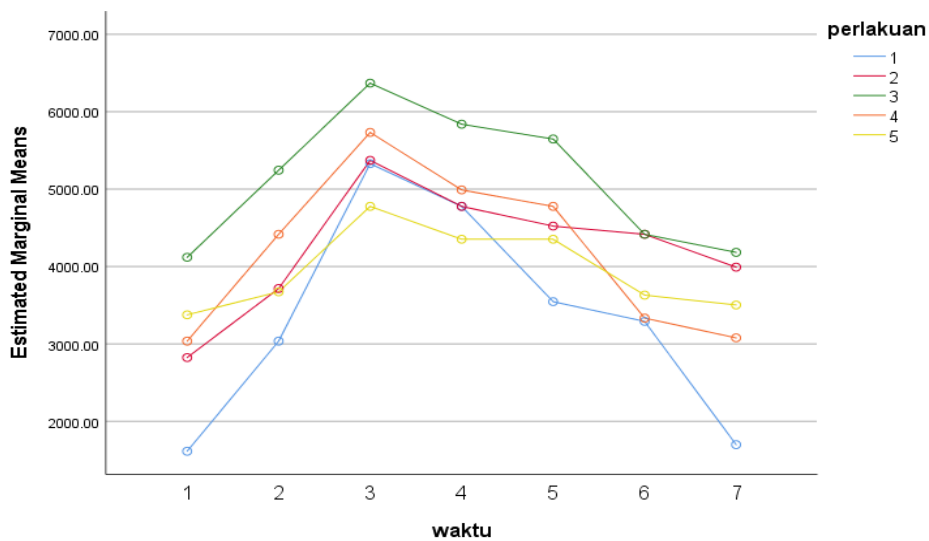
Hasil analisis pengaruh salinitas terhadap pertumbuhan *D. salina* dapat dilihat pada Gambar 1. Dari gambar tersebut dapat dilihat bahwa kepadatan sel tertinggi *D. salina* pada semua perlakuan dicapai pada hari ke-3 perlakuan C (30 ‰), sehingga salinitas 30 ‰ merupakan media tumbuh yang optimum. Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa hanya perlakuan salinitas 30 ‰ menunjukkan beda nyata dengan perlakuan salinitas 40 ‰. Sedangkan perlakuan salinitas 20, 25, 35 dan 40 ‰ tidak menunjukkan beda nyata (Tabel 1).

Kepadatan sel terendah pada salinitas tinggi perlakuan 40 ‰, menunjukkan penurunan pertumbuhan, yang diduga penurunan kinerja fotosintesis disebabkan oleh klorofil yang terdisintegrasi akibat ion Na⁺ yang berlebih (Ashraf & Harris, 2013). Singh & Kashtriya (2002) salinitas tinggi membuat lingkungan sekitar sel menjadi lebih pekat dari keadaan normal sehingga sel cenderung menarik ion dan sel kekurangan air menyebabkan kandungan klorofil dalam mikroalga berkurang untuk menyeimbangkan keadaan cairan di dalam sel. Kebeish *et al.* (2014) salinitas tinggi mengakibatkan sel memiliki ion berlebih yang bersifat toksik. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Zainuddin *et al.* (2017) bahwa kepadatan sel tertinggi dicapai oleh *D. salina* pada salinitas 30 ‰. Hal ini disebabkan karena pengaruh lingkungan media pemeliharaan, seperti suhu, tingkat keasaman media (pH), dan salinitas (Masithah *et al.*, 2011). Salinitas berpengaruh terhadap pertumbuhan, karena salinitas berbeda pada setiap perlakuan berpengaruh terhadap tekanan osmotik. Bentuk adaptasi lingkungan yang dilakukan pada salinitas tinggi adalah membentuk zat organik aktif secara osmotik pada sel, menyebabkan konversi

glukosa menjadi gliserol melalui proses glikolisis atau pemecahan gula sehingga glukosa dapat dipakai secara optimum untuk pertumbuhan sel (Jaeger *et al.*, 2018).

D. salina dilindungi membrane plasma tipis (periplast), memungkinkan terjadinya perubahan bentuk, ukuran dan biomassa sel dengan cepat (Venkatsan *et al.*, 2013). Peningkatan kadar garam dalam lingkungan media pertumbuhan mempengaruhi turunnya laju fotosintesis, karena salinitas tinggi mengganggu pertumbuhan *D. salina* berupa perubahan rasio ionik akibat permeabilitas membran dan tekanan ion (Mata *et al.*, 2010). Salinitas tinggi, menyebabkan konsentrasi ion eksternal meningkat. Untuk mencapai kesetimbangan, ion akan memasuki sel dan air akan meninggalkan sel. Pada kasus yang parah, membrane sel, organel intraseluler, dan enzim akan rusak. Sedangkan pada salinitas menurun, untuk mencapai keseimbangan ion, air akan masuk dalam sel untuk mengurangi konsentrasi ion, jika air masuk terlalu banyak sel akan rusak (Lobban & Harrison 1987).

Hasil analisis statistika pengaruh salinitas terhadap aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 2. Dari table tersebut terlihat bahwa nilai persen inhibisi tertinggi pada salinitas 20 ‰. Hal ini diduga karena salinitas tinggi mampu menurunkan nilai absorbansi DPPH sejumlah $9,88 \pm 0,597$ % dari absorbansi awal sebelum dicampurkan ekstrak. Hasil ini menunjukkan bahwa *D. salina* melakukan proses pembentukan karotenoid (Jupin & Lamant,1999), yang berperan dalam pertahanan terhadap senyawa-senyawa reaktif yang mengganggu fungsi sel. *D. salina* mengalami tekanan osmotik akibat perbedaan salinitas pada media kultivasi. Salinitas pada media kultivasi berpengaruh terhadap pembentukan karotenoid. Hal ini diduga karena ion Na⁺ dan Cl⁻ mengganggu keseimbangan osmotik antar bagian dalam sel dengan lingkungan luar sel (Imron *et al.*, 2016). Ketidakseimbangan ini akan mendorong sel untuk beradaptasi dengan mengeluarkan metabolit sekunder untuk mendukung penyesuaian hidup sel terhadap peningkatan salinitas.



Gambar 1. Grafik Kepadatan *D. salina* Harian pada Perlakuan Salinitas yang Berbeda (Keterangan 1 = 20 ppt, 2 = 25 ppt, 3 = 30 ppt, 4 = 35 ppt, 5 = 40 ppt)

Tabel 1. Hasil uji tingkat II BNJ Kepadatan Hari Ketiga *D. salina* pada Salinitas Berbeda

Salinitas (‰)	Rerata ± Sd (%)
20	5329,08 ± 156,50 ^{ac}
25	5371,54 ± 262,04 ^{ac}
30	6369,42 ± 441,97 ^{ab}
35	5732,48 ± 122,57 ^{ac}
40	4777,07 ± 122,58 ^c

Keterangan: simbol huruf yang berbeda menunjukkan signifikansi perlakuan

Tabel 2. Hasil uji tingkat II BNJ antioksidan spesifik alga *D. salina* pada salinitas berbeda

Salinitas (‰)	Rerata ± Sd (%)
20	9,88 ± 0,59 ^a
25	8,86 ± 0,12 ^{ab}
30	7,35 ± 1,31 ^{bc}
35	8,27 ± 0,47 ^{ab}
40	6,33 ± 0,60 ^c

Keterangan: simbol huruf yang berbeda menunjukkan signifikansi perlakuan

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa salinitas berpengaruh terhadap pertumbuhan dan aktivitas antioksidan *D. salina*. Pertumbuhan optimal *D. salina* dicapai pada perlakuan salinitas 30 ‰. Sedangkan aktivitas antioksidan tertinggi dicapai pada perlakuan salinitas 20 ‰. Nilai aktivitas ini termasuk dalam kategori lemah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashraf, M. & Harris, P.J.C. 2013. Photosynthesis Under Stressful Enviroments: An Overvie. *Photosyntetica*, 51(2):163-190. doi: 10.1007/s11099-013-0021-6
- Borowitzka, M.A. & Moheimani, N.R. 2013. *Algae for Biofuel and Energy*. Springer. New York. Pp. 17-28.
- De Jaeger, L., Carreres, B.M., Springer, J., Schaap, P.J., Eggink, G., Dos Santos, V.A.M., Wijffels, R.H. & Martens, D.E. 2018. *Neochloris oleoabundans* is worth its salt: Transcriptomic analysis under salt and nitrogen stress. *PLoS one*, 13(4):0194834. doi: 10.1371/journal.pone.0194834
- Djamil, R. & Anelia, T., 2009, Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 7(2):65–71.
- Djunaedi, A., Chrisna, A.S. & Sardjito. 2017. Kandungan Pigmen Polar dan Biomassa pada Mikroalga *Dunaliella salina* dengan Salinitas yang Berbeda. *Jurnal Kelautan Tropis*, 20(1):1-6. doi: 10.14710/jkt.v20i1.1347
- Imron, M.A., Sudarno & Mastihah, E.D. 2016. Pengaruh Salinitas Terhadap Kandungan Lutein pada Mikroalga *Botryococcus braunii*. *Journal Marine and Coastal Science*, 5(1):36-48.
- Jupin, H., & Lamant. A. 1999. *La Photosynthese*. Dunod. French
- Kebeish, R., El-Ayouty, Y. & Hussein, A. 2014. Effect of Salinity on Biochemical Traits and Photosynthesis-Related Gene Transcription in *Chlorella vulgaris*. *Egypt Journal Botany*, 54(2):281-294. doi: 10.21608/ejbo.2014.492
- Lobban, C.S., & Harrison, P.J. 1987. *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge University Press
- Masithah, E.D., Ariesma, N., & Cahyon, Y. 2011. Pengaruh Pemberian Bakteri *Bacillus pumilus* Pada Rumen Sapi Sebagai Pupuk Terhadap Pertumbuhan *Dunaliella salina*. *Jurnal Kelautan*, 4(1): 82-89.
- Mata, T.M., Martins, A.A., & Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and othe application: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 217-232. doi: 10.1016/j.rser.2009.07.020
- Rahma, H.N., Prayitno, S.B. & Haditomo, A.H.C., 2014. Infeksi white spot syndrom virus (WSSV) pada udang windu (*Penaeus monodon fabr.*) yang dipelihara pada salinitas media yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(3):26-34.
- Sanchez, C., Laurrauri, J.A., & Saura, F. 1998. A Procedure To Measure The Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 76(2),270-276. doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9.

- Singh, D.P. & Kashtriya, K. 2002. NaCl-induced Oxidative Damage in The Cyanobacterium *Anobena doliolum*. *Journal Microbiology*. 44:411-417.
- Venkatsen, S., Swamy M.S., Senthil, C., Bhaskar, S & Rengasamy, R. 2013. Culturing Marine Green Microalgae *Dunaliella salina* Teod. And *Dunaliella tertiolecta* Masjuk in Dewalne's Medium for Valuable Feeds Stock. *Journal of Modern Biotechnology*. 2(2):40-45.
- Zainuddin, M., Hamid, N., Murdiarti, L., Kursistyanto, N., & Aryono, B. 2017. Pengaruh Media Hiposalin dan Hipersalin Terhadap Respon Pertumbuhan dan Biopigmen *Dunaliella salina*. *Jurnal Enggano*, 2(1):46-57.