

Pengaruh Intensitas Pencahayaan Yang Berbeda Pada Kultur *Spirulina platensis* Terhadap Kandungan Protein, Kadar Pigmen Dan Aktivitas Antioksidan

Risha Fillah Fithria¹, Budi Aryono², Muhammad Zainuddin^{2*}

¹Program Studi Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim
Jl. Menoreh Tengah X/22 Sampangan Semarang Jawa Tengah Indonesia

²Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Sain dan Teknologi, Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara
Jl. Taman Siswa, Tahunan, Jepara, Jawa Tengah 59451 Indonesia

*Corresponding author e-mail: zainudin@unisnu.ac.id

ABSTRAK: Intensitas cahaya merupakan faktor penting dalam fotosintesis. Tujuan penelitian adalah melakukan optimasi intensitas pencahayaan kultur *Spirulina platensis* untuk mendapatkan pertumbuhan, protein, biopigmen dan aktivitas antioksidan tertinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan intensitas pencahayaan berpengaruh terhadap kultur *Spirulina platensis*. Perlakuan terbaik adalah intensitas 9000 lux yaitu pertumbuhan mutlak sebesar $1,948 \text{ d} \times 10^4 \text{ sel/ml}$, laju pertumbuhan $0,171 \text{ hari}^{-1}$, jumlah generasi 2,215, waktu generasi 4,067 hari, yield 5,764 gr/gr, produktifitas 21,347 gr/L.hari, protein 12,61 %. Ekstrak *Spirulina platensis* mengandung klorofil a sebesar 9,187 mg/L, klorofil b 6,679 mg/L, total klorofil 17,167 mg/L, karotenoid 3,685 mg/L, fikosianin 0,112 mg/L, alofikosianin 0,014 mg/L, fikoeritrin 0,285 mg/L. Ekstrak *Spirulina platensis* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 111,5 ppm. Aktivitas perendaman radikal DPPH dari ekstrak dikarenakan adanya senyawa antioksidan dari klorofil, karotenoid dan fikobiliprotein.

Kata kunci: intensitas; spirulina; pertumbuhan; pigmen; antioksidan.

Effect Of Different Lighting Intensity On Spirulina platensis Cultures On Protein Content, Pigment Levels And Antioxidant Activity.

ABSTRACT: Light intensity is an important factor in photosynthesis. The aim of the research was to optimize the lighting intensity of *Spirulina platensis* culture to obtain the highest growth, protein, biopigment and antioxidant activity. The treatment of different lighting intensity affects the culture of *Spirulina platensis*. The best treatment was the intensity of 9000 lux, namely absolute growth of $1.948 \text{ d} \times 10^4 \text{ cell/ml}$, growth rate of 0.171 day^{-1} , number of generations of 2.215, generation time of 4.067 days, yield of 5.764 gr/gr, productivity 21.347 gr/L.day, protein 12,61%. *Spirulina platensis* extract contains chlorophyll a 9.187 mg/L, chlorophyll b 6.679 mg/L, total chlorophyll 17,167 mg/L, carotenoids 3.685 mg/L, phycocyanin 0.112 mg/L, allophycocyanin 0.014 mg/L, phycoerythrin 0.285 mg/L. *Spirulina platensis* extract has antioxidant activity with an IC_{50} value of 111.5 ppm. The DPPH radical scavenging activity of the extract was due to the presence of antioxidant compounds from chlorophyll, carotenoids and phycobiliproteins.

Keywords: intensity; spirulina; growth; pigment; antioxidant.

PENDAHULUAN

Radikal bebas bersifat reaktif karena memiliki elektron tak berpasangan. kondisi ini mengakibatkan radikal bebas dapat merusak struktur lipid dan protein pada membran seluler. Radikal UV menimbulkan kerusakan mitokondria oksidatif sehingga mengakibatkan peningkatan inflamasi kulit dan percepatan penuaan (Albrecht *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2019; Chaikul *et al.*, 2020).

Keberadaan radikal bebas terbentuk secara internal dalam tubuh selama metabolisme normal dan eksternal melalui lingkungan (Villaseñor-rodríguez, 2014; Pan *et al.*, 2019).

Permasalahan radikal bebas dapat diatasi dengan antioksidan. Senyawa antioksidan merupakan suatu senyawa yang mampu menghambat atau meredam reaktivitas radikal bebas dalam menimbulkan kerusakan pada struktur sel dan DNA (Arsenie *et al.*, 2020; Haddada *et al.*, 2020). Permasalahan kesehatan akibat dari radikal bebas pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh secara alami. Antioksidan endogen tersebut diantaranya seperti enzim superoksida dismutase dan glutathion peroksidase (Othman *et al.*, 2020). Pada bertambahnya usia, radikal bebas meningkat sedangkan produksi antioksidan endogen menurun. Sehingga peningkatan paparan radikal di dalam tubuh mengakibatkan kerusakan struktur sel. Jika senyawa radikal bebas dalam tubuh lebih tinggi dari antioksidan endogen maka untuk menjaga kesehatan tubuh dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau disebut dengan antioksidan eksogen (Haddada *et al.*, 2020).

Salah satu antioksidan eksogen dapat diperoleh dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang merupakan sumber senyawa antioksidan adalah mikroalga *Spirulina platensis*. *Spirulina platensis* merupakan mikroalga yang bersifat autotrof dan berkoloni membentuk filamen spiral (Chia *et al.*, 2020; Shanthi *et al.*, 2021). Senyawa antioksidan mikroalga dari golongan pigmen diantaranya klorofil, karotenoid, dan fikobiliprotein (Chia *et al.*, 2020; Ren *et al.*, 2021). Antioksidan alami dari Biopigmen *Spirulina platensis* telah digunakan dalam bidang makanan, suplemen dan kosmetik (Lafarga *et al.*, 2020; Alagawany *et al.*, 2021; Lim *et al.*, 2021). Dalam usaha untuk mencukupi kebutuhan biopigmen maka dilakukan kultur *Spirulina platensis*.

Tingkat pertumbuhan organisme ditentukan oleh ketersediaan unsur hara dan kondisi lingkungan. Faktor lingkungan yang penting adalah intensitas cahaya (da Fontoura Prates *et al.*, 2020; Hadiyanto *et al.*, 2021). Intensitas cahaya sangat penting bagi organisme autotrof seperti mikroalga *Spirulina platensis*. Intensitas cahaya berhubungan dengan jumlah energi yang diterima oleh mikroalga untuk melakukan proses fotosintesis (Zielinska *et al.*, 2017; Leopoldino *et al.*, 2019). Berdasarkan uraian tersebut maka penelitian ini melakukan kajian pengaruh intensitas pencahayaan yang berbeda pada kultur *Spirulina platensis* terhadap kandungan protein, kadar pigmen dan aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui taraf intensitas pencahayaan yang optimal dalam mendapatkan pertumbuhan, kadar protein, kadar pigmen dan aktivitas antioksidan *Spirulina platensis* terbaik.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah isolat murni mikroalga *Spirulina platensis*. Isolat murni *Spirulina platensis* diperoleh dari Laboratorium Budidaya Perairan, Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara. Stater *Spirulina platensis* dilakukan kultur secara bertingkat menggunakan pupuk walne yang didapatkan dari Laboratorium Pakan Hidup, BBPBAP – Jepara.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2022. Kultur dan pengambilan data pertumbuhan *Spirulina platensis* dilakukan di Laboratorium Budidaya Perairan, Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara. Pengukuran kadar protein dilakukan di Laboratorium Nutrisi Pakan Ternak, Universitas Diponegoro, Semarang. Pengukuran kadar pigmen dan aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Marine Science Techno Park (MSTP), Universitas Diponegoro, Jepara.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, pipet volume, instalasi aerasi, termometer, luxmeter, pH meter, refraktometer, spektrofotometer UV Vis, lampu TL 23 watt (1500 lux), 30 watt (4000 lux), 36 watt (6500 lux) dan 45 watt (9000 lux). Mikroskop, Sedgwick-rafter, Handcounter. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kapas, alkohol 70 %, aluminium foil, plastik wreb, aquades.

Penelitian menggunakan metode eksperimen laboratoris dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan (terdapat 12 unit eksperimen). Media kultur yang digunakan adalah air laut hasil filtrasi dengan salinitas 30 ppt. Sebanyak 12 erlenmeyer ukuran 2 liter masing - masing di isi dengan air laut 30 ppt sebanyak 1,5 L, media walne sebanyak 1%, dan diberi aerasi (Yuan *et al.*, 2019). Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan intensitas pencahayaan dalam kultur *Spirulina platensis* yaitu dengan

pencahayaan lampu TL 23 watt (1500 lux), 30 watt (4000 lux), 36 watt (6500 lux) dan 45 watt (9000 lux). Fotoperiod pencahayaan 24 jam terang. Masa kultur dilakukan pengukuran parameter kualitas media setiap hari sekali, yaitu pH, DO, salinitas serta memastikan tidak terjadi kontaminasi terhadap mikroalga *Spirulina platensis* yang telah dikultivasi (Prates *et al.*, 2020; Han *et al.*, 2021)

Penentuan Nilai Kepadatan Sel Dan Pertumbuhan

Selama kultur berlangsung dilakukan pengamatan kepadatan sel *Spirulina platensis* setiap hari. Pengamatan kepadatan dilakukan secara aseptis. Pengambilan sampel dengan mikropipet sebanyak 1000 µl. Sampel diteteskan pada hemositometer dan selanjutnya dilakukan penghitungan sel dengan menggunakan mikroskop Olympus BH-2 (Olympus, Japan) pada perbesaran total 100 kali (Soni *et al.*, 2019; Hadiyanto *et al.*, 2021). Jika kepadatan sel *Spirulina platensis* terlalu tinggi maka dilakukan pengenceran. Kepadatan spirulina (sel.mL⁻¹) didapatkan dari data jumlah sel yang dihitung ($\times 10^4$) di bagi dengan Luas lapang pandang (mm²) dan Kedalaman lapang pandang (mm). Berdasarkan data kepadatan sel, selanjutnya dilakukan penghitungan pertumbuhan sel yang meliputi pertumbuhan mutlak, jumlah generasi dan laju pertumbuhan spesifik.

Penentuan Nilai Yield dan Produksi Biomassa

Kultur *Spirulina platensis* dihentikan dengan cara melakukan pemanenan menggunakan *filter pump* dengan kertas saring (Whatman GF/C 0,45 µm). Biomassa sel basah hasil filtrasi selanjutnya di keringkan dengan menggunakan suhu 105°C. Biomassa sel hasil pengeringan di lakukan penimbangan (Almomani *et al.*, 2019; de Jesus *et al.*, 2019; Lim *et al.*, 2021). Data biomassa kering digunakan untuk menghitung nilai yield dan produktivitas.

Penentuan Kadar Protein

Kadar protein dilakukan analisis menggunakan metode Lowrey. Analisis ini menggunakan beberapa reagen yaitu reagen Lowrey A yaitu 5% Na₂CO₃, reagen Lowrey B yaitu 1% CuSO₄.5H₂O, reagen Lowrey C yaitu 2% NaKC₄H₆O₆.4H₂O dan reagen Lowrey D yang terdiri atas campuran 50 ml dari reagen Lowrey A + 1 ml reagen Lowrey B + 1 ml reagen Lowrey C. Selain itu juga diperlukan pembuatan reagen Folin ciocalteau yaitu campuran antara 1 N NaOH dan larutan standar BSA 2 mg/ml.

Uji kadar protein dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml 1 N NaOH ke 0,5 gr sampel biomassa sel *Spirulina platensis*. Selanjutnya di lakukan dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit dan ditiriskan. selanjutnya pada masing – masing sampel ditambahkan reagen Lowrey D sebanyak 2,5 ml. dilakukan fortex dan inkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. selanjutnya reaksi di hentikan dengan menambahkan reagen Folin ciocalteau sebanyak 0,5 ml. dilakukan fortex dan inkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. setelah inkubasi selanjutnya sampel siap dilakukan spektrofotometer dengan panjang gelombang 750 nm. Data Optical Density yang didapatkan dilakukan konversi dalam satuan % dengan menggunakan persamaan standart Lowrey.

Penentuan Kadar Klorofil Dan Karotenoid

Penentuan kadar klorofil dan karotenoid dilakukan dengan melakukan ekstraksi sediaan biomassa sel *Spirulina platensis* dengan menggunakan pelarut organik aseton. ekstrasi dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 5 mg sampel *Spirulina platensis* kemudian dihaluskan dengan mortar dan ditambahkan aseton 80% sebanyak 5 ml. Selanjutnya di lakukan inkubasi selama 10 menit di suhu ruang. setelah inkubasi, sampel masing – masing dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit (Ranjitha *et al.*, 2020). Supernatan dilakukan spektrofotometri pada panjang gelombang 450 nm, 663 nm, dan 645 nm (Rizzi *et al.*, 2021). Data Optical Density yang didapatkan digunakan untuk menghitung kadar klorofil a, b dan karotenoid.

Penentuan Kadar Pigmen Fikobiliprotein

Penentuan kadar pigmen fikobiliprotein dilakukan dengan melakukan ekstraksi sediaan biomassa sel *Spirulina platensis* dengan menggunakan pelarut aquades. Ekstrasi dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 5 mg sampel *Spirulina platensis* kemudian dihaluskan dengan mortar dan

ditambahkan aquades sebanyak 5 ml. Selanjutnya di lakukan inkubasi selama 15 jam di dalam refrigerator. setelah inkubasi sampel dikeluarkan dari refrigerator dan di normalkan suhunya di ruangan. selanjutnya sampel dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit (Rathnasamy *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2019). Supernatan yang didapatkan selanjutnya dilakukan spektrofotometri pada panjang gelombang 562 nm, 615 nm, dan 652 nm (Pagels *et al.*, 2019; Purvis *et al.*, 2019). Data Optical Density yang didapatkan digunakan untuk menghitung kadar Fikosianin, Allofikosianin dan Fikoeritrin.

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan *Spirulina platensis* hasil kultur dilakukan dengan metode DPPH. Sampel yang akan direaksikan dengan DPPH terlebih dahulu disiapkan. Sampel spirulina hasil kultur dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut organik metanol dan kemudian maserat dilakukan rotary evaporasi sehingga didapatkan sediaan ekstrak *Spirulina platensis*. Pembuatan larutan ekstrak *Spirulina platensis*. dengan pelarut metanol pada konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125 dan 150 ppm. Selanjutnya sebanyak 1 ml masing-masing larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 3 ml reagen DPPH 0,1 mM. campuran larutan ekstrak dan DPPH dilakukan inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. setelah inkubasi sampel dilakukan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Sedangkan Blanko yang digunakan adalah campuran antara 1 ml pelarut metanol tanpa ekstrak ditambah reagen DPPH 0,1 mM sebanyak 3 ml (Kandi dan Charles, 2019; Romanet *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2021). Data Optical Density yang didapatkan digunakan untuk menghitung nilai persentase inhibisi.

Analisis Data

Data kepadatan sel dilakukan analisis polynomial untuk menentukan fase pertumbuhan. Data parameter pertumbuhan, kadar protein, kadar klorofil, karotenoid, dan pigmen fikobiliprotein dilakukan uji homogenitas, aditivitas dan normalitas. Selanjutnya jika memenuhi kriteria maka data dilakukan uji one way anova. Jika perlakuan memberikan pengaruh berbeda secara nyata maka dilanjutkan dengan uji Tukey. Data persen inhibisi dilakukan analisis regresi linier sederhana untuk menentukan nilai IC₅₀.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mikroalga *Spirulina platensis* merupakan plankton yang hidup sebagai produsen dan melakukan proses fotosintesis. Kultur *Spirulina platensis* skala laboratoris menggunakan lampu sebagai sumber pencahayaan. Salah satu parameter pencahayaan yang mempengaruhi proses fotosintesis dan pertumbuhan *Spirulina platensis* adalah intensitas cahaya. Penelitian ini melakukan optimasi intensitas pencahayaan dalam kultur *Spirulina platensis*. Perlakuan perbedaan intensitas pencahayaan dalam penelitian ini adalah penggunaan lampu TL 23 watt (1500 lux), 30 watt (4000 lux), 36 watt (6500 lux) dan 45 watt (9000 lux). Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan, kandungan protein, total klorofil, kadar fikobiliprotein dan aktivitas antioksidan ekstrak *Spirulina platensis*.

Kelimpahan dan Pertumbuhan *Spirulina platensis*.

Pengaruh pencahayaan dalam kultur dengan intensitas yang berbeda terhadap pola polynomial pertumbuhan *Spirulina platensis* di sajikan pada gambar 1. Berdasarkan hasil penelitian gambar 1 menunjukkan bahwa perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas yang berbeda mempengaruhi pola dan fase pertumbuhan *Spirulina platensis*.

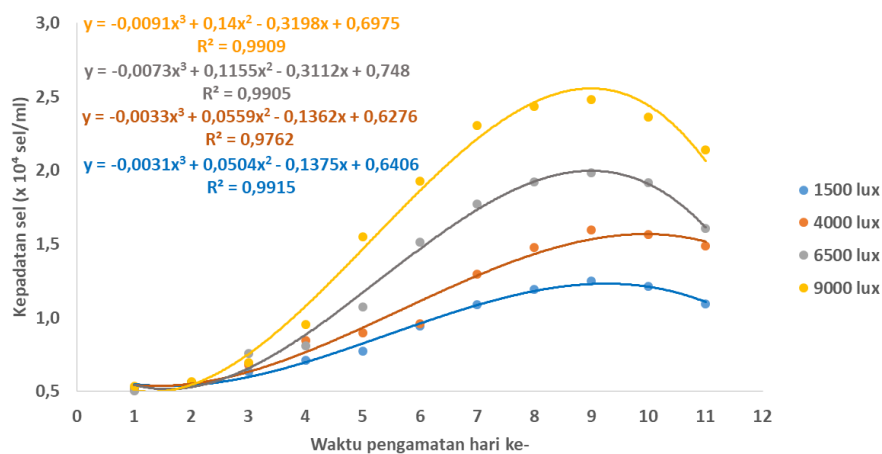
Pemberian perlakuan intensitas cahaya 1500 lux dan 4000 lux memiliki pola yang sama yaitu fase penyesuaian terjadi pada hari ke satu hingga hari ke empat. Fase eksponensial pada hari ke 4 hingga hari ke 9. selanjutnya hari ke 9 hingga hari ke 11 adalah fase stasioner. Fase kematian mulai terlihat pada hari ke 11. Pemberian perlakuan intensitas cahaya 6500 lux dan 9000 lux memiliki pola yang sama yaitu fase penyesuaian terjadi pada hari ke satu hingga hari ke tiga. Fase eksponensial pada hari ke 3 hingga hari ke 9. selanjutnya fase stasioner tidak terlihat dengan baik karena terjadi kurang dalam rentang waktu satu hari. Waktu pengamatan hari ke 10 dan 11 terlihat terjadi penurunan populasi sel, kondisi ini merupakan fase kematian.

Pola pertumbuhan tersebut dipengaruhi oleh kondisi kimia dan lingkungan kultur. Fase awal kultur terjadi pertumbuhan yang lambat, hal itu disebabkan oleh keberadaan konsentrasi nutrisi. Konsentrasi nutrisi pada media baru jauh lebih tinggi dari konsentrasi nutrisi pada media asal sehingga *Spirulina platensis* pada awal kultur perlu adaptasi. Selanjutnya kepadatan sel *Spirulina platensis* akan mengalami peningkatan hingga kepadatan yang maksimal (puncak pertumbuhan), setelah itu mengalami penurunan jumlah populasinya karena faktor kematian.

Data kepadatan sel yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai parameter pertumbuhan yaitu pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan, jumlah generasi dan waktu generasi. Hasil perhitungan parameter pertumbuhan tersebut disajikan pada gambar 2. Hasil penelitian pada gambar 2 menunjukkan bahwa perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas yang berbeda berpengaruh signifikan ($p < 0,05$) secara nyata terhadap parameter pertumbuhan. Perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 1500 lux memiliki nilai pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan dan jumlah generasi terendah yaitu sebesar $0,724 \times 10^4$ sel/ml; $0,096 \text{ hari}^{-1}$; dan 1,248.

Perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 9000 lux memiliki nilai pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan dan jumlah generasi tertinggi yaitu sebesar $1,948 \times 10^4$ sel/ml; $0,171 \text{ hari}^{-1}$; dan 2,215. Berdasarkan hasil analisis regresi dan korelasi yang disajikan pada gambar 2 menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara intensitas cahaya terhadap parameter pertumbuhan. Hasil penelitian gambar 2.a dan 2.b menunjukkan hubungan linier positif antara intensitas cahaya terhadap pertumbuhan mutlak dan laju pertumbuhan yaitu semakin tinggi intensitas cahaya maka pertumbuhan mutlak dan laju pertumbuhan semakin tinggi dengan persamaan $y = 0,4067x + 0,2926$ dengan R^2 sebesar 0,9966 dan $y = 0,0249x + 0,074$ dengan R^2 sebesar 0,9891. Hasil penelitian gambar 2.c menunjukkan hubungan linier positif antara intensitas cahaya terhadap jumlah generasi yaitu semakin tinggi intensitas cahaya maka jumlah generasi semakin tinggi dengan persamaan $y = 0,3232x + 0,9612$ dengan R^2 sebesar 0,9891.

Penelitian ini melakukan pengambilan data biomassa sel kering pada awal dan puncak pertumbuhan sel. Data biomassa sel kering hasil pengukuran tersebut digunakan untuk menghitung nilai yield dan produktifitas yang disajikan pada gambar 3. Hasil penelitian pada gambar 3 menunjukkan bahwa perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas yang berbeda berpengaruh signifikan ($p < 0,05$) secara nyata terhadap nilai yield dan produktifitas. Perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 1500 lux memiliki nilai yield dan produktifitas terendah yaitu sebesar 1,390 gr/gr dan 5,150 gr/L. Hari. Sedangkan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 9000 lux memiliki nilai yield dan produktifitas tertinggi yaitu sebesar 5,764 gr/gr dan 21,347 gr/L. Hari. Hasil penelitian gambar 3.a dan 3.b menunjukkan hubungan linier positif antara intensitas cahaya terhadap yield dan produktifitas yaitu semakin tinggi intensitas cahaya maka nilai yield dan produktifitas semakin tinggi dengan persamaan $y = 1,4703x - 0,1961$ dengan R^2 sebesar 0,9958 dan $y = 5,4454x - 0,7262$ dengan R^2 sebesar 0,9958.

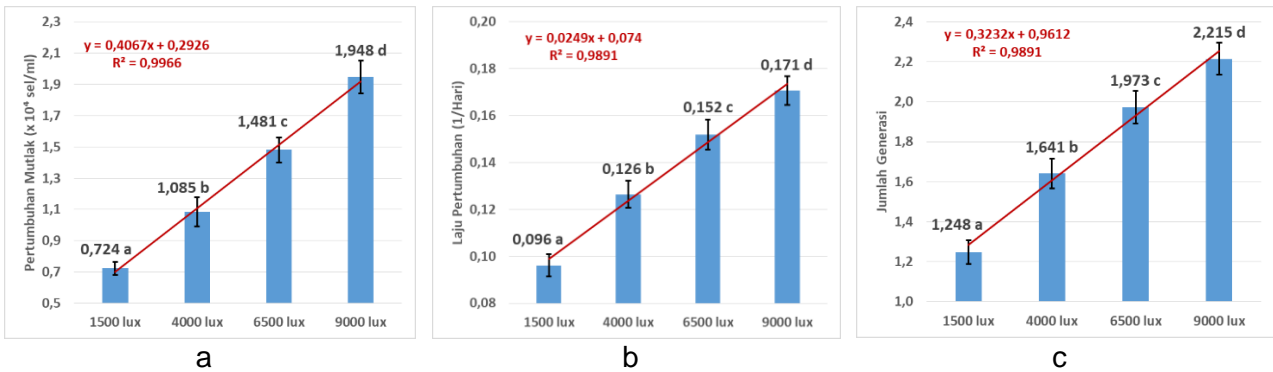


Gambar 1. Pengaruh pencahayaan dengan intensitas yang berbeda terhadap pola polynomial pertumbuhan *Spirulina platensis*.

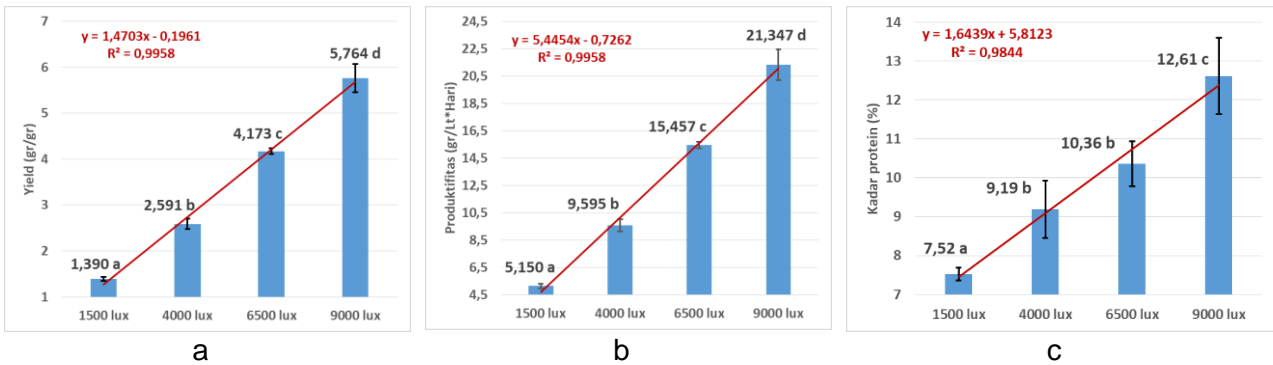
Perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 1500 lux memiliki nilai persen protein kasar terendah yaitu sebesar 7,52 %. Hari. Sedangkan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 9000 lux memiliki nilai persen protein kasar tertinggi yaitu sebesar 12,61 % dengan persamaan $y = 1,6439x - 5,8123$ dengan R^2 sebesar 0,9844.

Kandungan Klorofil *Spirulina platensis*

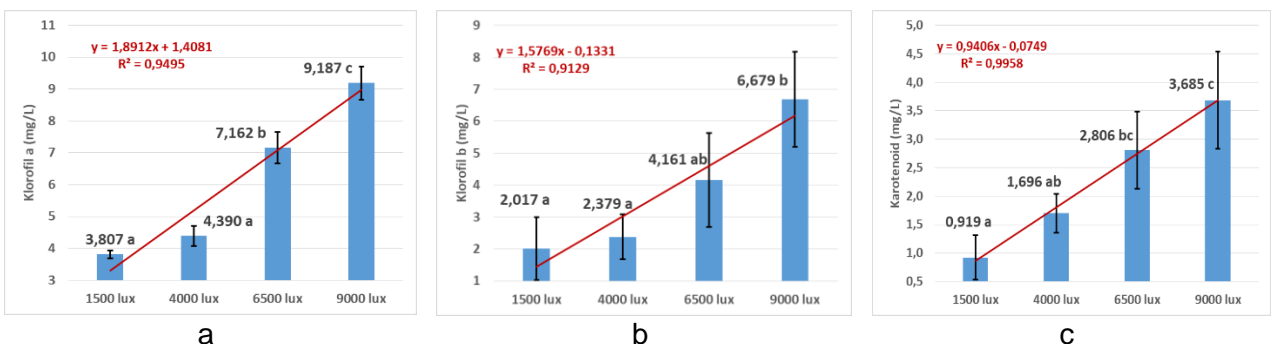
Hasil penelitian pada gambar 4 menunjukkan bahwa perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas yang berbeda berpengaruh signifikan ($p < 0,05$) secara nyata terhadap nilai kadar klorofil a, klorofil b dan karotenoid.



Gambar 2. Pengaruh pencahayaan intensitas yang berbeda terhadap : (a). Pertumbuhan mutlak; (b). Laju pertumbuhan; (c). Jumlah generasi pertumbuhan *Spirulina platensis*.



Gambar 3. Pengaruh pencahayaan dengan intensitas yang berbeda terhadap : (a). Yield; (b). Produktifitas kultur; (c). Kadar protein *Spirulina platensis*.



Gambar 4. Pengaruh pencahayaan dengan intensitas yang berbeda terhadap : (a). Kadar klorofil a; (b). Kadar klorofil b; (c). Kadar karotenoid *Spirulina platensis*.

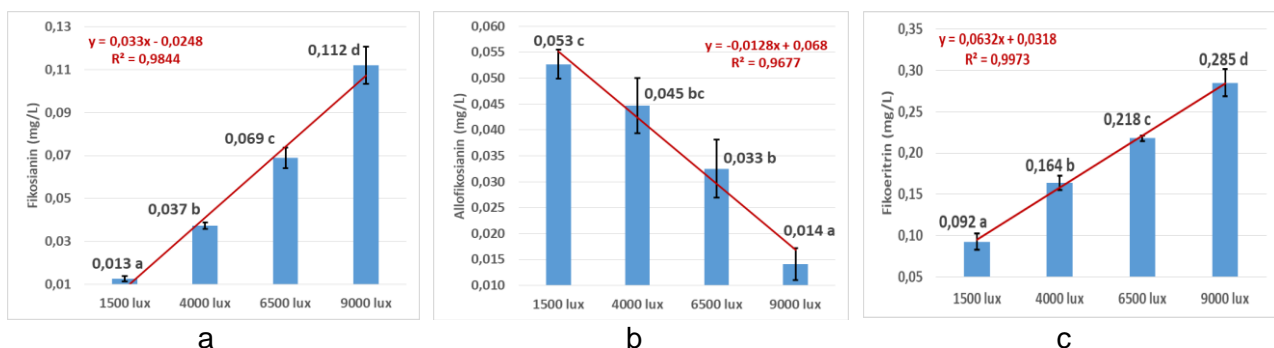
Perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 1500 lux memiliki nilai kadar klorofil a, klorofil b dan karotenoid terendah yaitu sebesar 3,807 mg/L; 2,017 mg/L; 9,866 mg/L dan 0,919 mg/L. Sedangkan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 9000 lux memiliki nilai kadar klorofil a, klorofil b dan karotenoid tertinggi yaitu sebesar 9,187 mg/L; 6,679 mg/L; 17,167 mg/L dan 3,685 mg/L. Hasil penelitian gambar 4.a, 4.b dan 4.c menunjukkan hubungan linier positif antara intensitas cahaya terhadap nilai kadar klorofil a, klorofil b dan karotenoid yaitu semakin tinggi intensitas cahaya maka nilai kadar klorofil a, klorofil b dan karotenoid semakin tinggi dengan persamaan kadar klorofil a sebagai berikut $y = 1,8912x + 1,4081$ dengan R^2 sebesar 0,9495; klorofil b dengan persamaan $y = 1,5769x - 0,1331$ dengan R^2 sebesar 0,9129; karotenoid dengan persamaan $y = 0,9406x - 0,0749$ dengan R^2 sebesar 0,9958.

Kandungan Pigmen Fikobiliprotein *Spirulina platensis*

Hasil penelitian pada gambar 5 menunjukkan bahwa perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas yang berbeda berpengaruh signifikan ($p < 0,05$) secara nyata terhadap nilai kadar pigmen fikobiliprotein. Perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 1500 lux memiliki nilai kadar pigmen fikosianin dan fikoeritrin terendah yaitu sebesar 0,013 mg/L dan 0,092 mg/L. Sedangkan terhadap kadar pigmen allofikosianin memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar 0,053 mg/L. Perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 9000 lux memiliki nilai kadar pigmen fikosianin dan fikoeritrin tertinggi yaitu sebesar 0,112 mg/L dan 0,285 mg/L. Sedangkan terhadap kadar pigmen allofikosianin memiliki nilai terendah yaitu sebesar 0,014 mg/L.

Hasil penelitian gambar 5.a dan 5.c menunjukkan hubungan linier positif antara intensitas cahaya terhadap nilai kadar pigmen fikosianin dan fikoeritrin yaitu semakin tinggi intensitas cahaya maka nilai kadar pigmen fikosianin dan fikoeritrin semakin tinggi dengan persamaan $y = 0,033x - 0,0248$ dengan R^2 sebesar 0,9844 dan $y = 0,0632x + 0,0318$ dengan R^2 sebesar 0,9973. Hasil penelitian gambar 5.b menunjukkan hubungan linier negatif antara intensitas cahaya terhadap kadar pigmen allofikosianin yaitu semakin tinggi intensitas cahaya maka kadar pigmen allofikosianin semakin rendah dengan persamaan $y = -0,0128x + 0,068$ dengan R^2 sebesar 0,9677.

Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa kadar pigmen tertinggi pada *Spirulina platensis* adalah fikosianin berikutnya diikuti oleh allofikosianin dan fikoeritrin. *Spirulina platensis* memiliki produktivitas penghasil protein yang tinggi dan mengandung pigmen biru (phycocyanin) hingga mencapai 20% dari bobot keringnya (Yazdanabad *et al.*, 2021). Faktor lain yang menyebabkan perbedaan pertumbuhan dan kandungan pigmen pada *Spirulina platensis* adalah lama pencahayaan dan Intensitas cahaya. pencahayaan yang terlalu tinggi akan menyebabkan pudarnya kandungan klorofil-a pada *Spirulina platensis*. selain itu, kadar mineral media juga berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kandungan pigmen mikroalga. Kurangnya nutrisi pada media tumbuh akan berpengaruh pada pembentukan klorofil (Ray *et al.*, 2022).



Gambar 5. Pengaruh pencahayaan dengan intensitas yang berbeda terhadap : (a). Kadar fikosianin; (b). Kadar allofikosianin; dan (c). Kadar fikoeritrin.

Tabel 1. Pengaruh perlakuan perbedaan intensitas pencahayaan dalam kultur terhadap aktivitas antioksidan ekstrak *Spirulina platensis*.

Perlakuan	Persamaan	R ²	R	IC ₅₀ (ppm)
1500 lux	$y = 0,1345x + 6,7667$	0,983	0,991	321,4
4000 lux	$y = 0,1863x + 4,0177$	0,988	0,994	246,8
6500 lux	$y = 0,2388x + 7,2921$	0,987	0,994	178,8
9000 lux	$y = 0,3679x + 8,9786$	0,997	0,999	111,5

Aktivitas Antioksidan *Spirulina Platensis* Dengan Metode DPPH

Biomassa kering sel hasil kultur dan preparasi sampel di lakukan ekstraksi dengan menggunakan pelarut organik polar. ekstrak yang didapatkan selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal DPPH.

Berdasarkan persamaan regresi linier antara konsentrasi ekstrak *Spirulina platensis* dengan nilai persen inhibisi, selanjutnya persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai konsentrasi inhibisi 50% (IC₅₀). Hasil perhitungan nilai IC₅₀ disajikan pada tabel 1. Berdasarkan hasil penelitian tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas yang berbeda berpengaruh signifikan ($p < 0,05$) secara nyata terhadap nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan. Terdapat hubungan linier positif antara intensitas cahaya terhadap nilai IC₅₀ yaitu semakin tinggi intensitas cahaya maka nilai IC₅₀ semakin rendah. Perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 1500 lux memiliki nilai IC₅₀ tertinggi yaitu sebesar 321,4 ppm. Sedangkan perlakuan pencahayaan dalam kultur dengan intensitas 9000 lux memiliki nilai IC₅₀ terendah yaitu sebesar 111,5 ppm.

KESIMPULAN

Perlakuan perbedaan intensitas pencahayaan berpengaruh terhadap kultur *Spirulina platensis*. Perlakuan terbaik adalah intensitas 9000 lux yaitu pertumbuhan mutlak sebesar $1,948 \text{ d} \times 10^4 \text{ sel/ml}$, laju pertumbuhan $0,171 \text{ hari}^{-1}$, jumlah generasi 2,215, waktu generasi 4,067 hari, yield 5,764 gr/gr, produktifitas 21,347 gr/L.hari, protein 12,61 %. Ekstrak *Spirulina platensis* mengandung klorofil a sebesar 9,187 mg/L, klorofil b 6,679 mg/L, total klorofil 17,167 mg/L, karotenoid 3,685 mg/L, fikosianin 0,112 mg/L, alofikosianin 0,014 mg/L, fikoeritrin 0,285 mg/L. Ekstrak *Spirulina platensis* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 111,5 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara dan LPPM Universitas Wahit Hasim yang telah memeberikan pendanaan penelitian dalam skema Penelitian Kolaborasi Antar Perguruan Tinggi Dalam Negeri. Peneliti mengucapkan terima kasih atas dukungan fasilitas penelitian pada Laboratorium Prodi Budidaya Perairan UNISNU Jepara, Laboratorium MSTP Undip Jepara, BBPBAP Jepara.

DAFTAR PUSTAKA

- Alagawany, M., Taha, A.E., Noreldin, A., El-Tarabily, K.A. & Abd El-Hack, M.E. 2021. Nutritional applications of species of *Spirulina* and *Chlorella* in farmed fish: A review. *Aquaculture*. 42: 1–11. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.736841
- Albrecht, S., Elpelt, A., Kasim, C., Reble, C., Mundhenk, L., Pischon, H., Hedtrich, S., Witzel, C., Lademann, J., Zastrow, L. & Beckers, I. 2019. Quantification and characterization of radical production in human, animal and 3D skin models during sun irradiation measured by EPR spectroscopy. *Free Radical Biology and Medicine*, 31:1–23. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.12.022
- Almomani, F., Judd, S., Bhosale, R.R., Shurair, M., Aljaml, K. & Khraisheh, M. 2019. Intergraded wastewater treatment and carbon bio-fixation from flue gases using *Spirulina platensis* and

- mixed algal culture. *Process Safety and Environmental Protection*, 124:240–50. DOI: 10.1016/j.psep.2019.02.009
- Arsenie, L.V., Lacatusu, I., Oprea, O., Bordei, N., Bacalum, M. & Badea, N. 2020. Azelaic acid-willow bark extract-panthenol–Loaded lipid nanocarriers improve the hydration effect and antioxidant action of cosmetic formulations. *Industrial Crops and Products*, 154 : p.112658. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112658
- Chaikul, P., Sripisut, T., Chanpirom, S. & Ditthawutthikul, N. 2020. Anti-skin aging activities of green tea (*Camelliasinensis* (L) Kuntze) in B16F10 melanoma cells and human skin fibroblasts. *European Journal of Integrative Medicine*, 40: p.101212. DOI: 10.1016/j.eujim.2020.101212
- Chia, S.R., Chew, K.W., Leong, H.Y., Manickam, S., Show, P.L. & Nguyen, T.H.P., 2020. Sonoprocessing-assisted solvent extraction for the recovery of pigment-protein complex from *Spirulina platensis*. *Chemical Engineering Journal*, 398: p.125613. DOI: 10.1016/j.cej.2020.125613
- da Fontoura Prates, D., Duarte, J.H., Vendruscolo, R.G., Wagner, R., Ballus, C.A., da Silva Oliveira, W., Godoy, H.T., Barcia, M.T., de Moraes, M.G., Radmann, E.M. & Costa, J.A.V. 2020. Role of light emitting diode (LED) wavelengths on increase of protein productivity and free amino acid profile of *Spirulina* sp. cultures. *Bioresource technology*, 306: p.123184. DOI: 10.1016/j.biortech.2020.123184
- de Jesus, C.S., de Jesus Assis, D., Rodriguez, M.B., Menezes Filho, J.A., Costa, J.A.V., de Souza Ferreira, E. & Druzian, J.I. 2019. Pilot-scale isolation and characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from cell-free medium of *Spirulina* sp. LEB-18 cultures under outdoor conditions. *International journal of biological macromolecules*, 124: 1106-1114. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.016
- Haddada, M.B., Gerometta, E., Chawech, R., Sorres, J., Bialecki, A., Pesnel, S., Spadavecchia, J. & Morel, A.L. 2020. Assessment of antioxidant and dermoprotective activities of gold nanoparticles as safe cosmetic ingredient. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 189: p.110855. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2020.110855
- Hadiyanto, H., Khoironi, A., Dianratri, I., Suherman, S., Muhammad, F. & Vaidyanathan, S., 2021. Interactions between polyethylene and polypropylene microplastics and *Spirulina* sp. microalgae in aquatic systems. *Heliyon*, 7(8): p.e07676. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e07676
- Han, P., Lu, Q., Zhong, H., Xie, J., Leng, L., Li, J., Fan, L., Li, J., Chen, P., Yan, Y. & Wei, F., 2021. Recycling nutrients from soy sauce wastewater to culture value-added *Spirulina maxima*. *Algal Research*, 53: p.102157. DOI: 10.1016/j.algal.2020.102157
- Kandi, S. & Charles, A.L. 2019. Statistical comparative study between the conventional DPPH spectrophotometric and dropping DPPH analytical method without spectrophotometer: Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis. *Food chemistry*, 287: 338-345. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.02.110
- Lafarga, T., Fernández-Sevilla, J.M., González-López, C. & Acién-Fernández, F.G. 2020. *Spirulina* for the food and functional food industries. *Food Research International*, 137: p.109356. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109356
- Leopoldino, C.C.L., de Mendonça, F.M., de Lima Siqueira, P.H. & Borba, É.L., 2019. The disposal of fluorescent lamps of industries of the metropolitan region of Belo Horizonte-MG. *Journal of cleaner production*, 233: 1486-1493. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.06.192
- Lim, H.R., Khoo, K.S., Chew, K.W., Chang, C.K., Munawaroh, H.S.H., Kumar, P.S., Huy, N.D. & Show, P.L. 2021. Perspective of *Spirulina* culture with wastewater into a sustainable circular bioeconomy. *Environmental Pollution*, 284: p.117492. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.117492
- Othman, A., Norton, L., Finny, A.S. & Andreescu, S., 2020. Easy-to-use and inexpensive sensors for assessing the quality and traceability of cosmetic antioxidants. *Talanta*, 208: p.120473. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120473
- Pagels, F., Guedes, A.C., Amaro, H.M., Kijjoa, A. & Vasconcelos, V. 2019. Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications. *Biotechnology Advances*, 37(3):422-443. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.02.010
- Pan, B., Li, H., Lang, D. & Xing, B. 2019. Environmentally persistent free radicals: occurrence, formation mechanisms and implications. *Environmental Pollution*, 248:320-331.

- Purvis, K., Brittain, K., Joseph, A., Cisek, R. & Tokarz, D. 2019. Third-order nonlinear optical properties of phycobiliproteins from cyanobacteria and red algae. *Chemical Physics Letters*, 731: p.136599. DOI: 10.1016/j.cplett.2019.136599
- Ranjitha, S., Aroulmoji, V., Selvankumar, T., Sudhakar, C. & Hariharan, V. 2020. Synthesis and development of novel sensitizer from spirulina pigment with silver doped TiO₂ nano particles for bio-sensitized solar cells. *Biomass and Bioenergy*, 141: p.105733. DOI: 10.1016/j.biombioe.2020.105733
- Rathnasamy, S.K., Sri Rajendran, D., Balaraman, H.B. & Viswanathan, G. 2019. Functional deep eutectic solvent-based chaotic extraction of phycobiliprotein using microwave-assisted liquid-liquid micro-extraction from *Spirulina (Arthrospira platensis)* and its biological activity determination. *Algal Research*, 44: p.101709. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101709
- Ray, A., Nayak, M. and Ghosh, A., 2022. A review on co-culturing of microalgae: A greener strategy towards sustainable biofuels production. *Science of the Total Environment*, 802, p.149765. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149765
- Ren, H.T., Jing Zhao, X., Huang, Y. & Li Xiong, J., 2021. Combined effect of *Spirulina* and ferrous fumarate on growth parameters, pigmentation, digestive enzyme activity, antioxidant enzyme activity and fatty acids composition of Yellow River carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Reports*, 21: p.100776. DOI: 10.1016/j.aqrep.2021.100776
- Rizzi, V., Gubitosa, J., Fini, P., Fraix, A., Sortino, S., Agostiano, A. & Cosma, P., 2021. Development of *Spirulina* sea-weed raw extract/polyamidoamine hydrogel system as novel platform in photodynamic therapy: Photostability and photoactivity of chlorophyll a. *Materials Science and Engineering: C*, 119: p.111593. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111593
- Rodrigues, R.D.P., de Lima, P.F., de Santiago-Aguiar, R.S. & Rocha, M.V.P., 2019. Evaluation of protic ionic liquids as potential solvents for the heating extraction of phycobiliproteins from *Spirulina (Arthrospira) platensis*. *Algal Research*, 38:p.101391. DOI: 10.1016/j.algal.2018.101391
- Romanet, R., Sarhane, Z., Bahut, F., Uhl, J., Schmitt-Kopplin, P., Nikolantonaki, M. & Gougeon, R.D. 2021. Exploring the chemical space of white wine antioxidant capacity: A combined DPPH, EPR and FT-ICR-MS study. *Food Chemistry*, 355: p.129566.
- Shanthi, G., Premalatha, M. & Anantharaman, N. 2021. Potential utilization of fish waste for the sustainable production of microalgae rich in renewable protein and phycocyanin-*Arthrospira platensis/Spirulina*. *Journal of Cleaner Production*, 294: p.126106. DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.126106
- Soni, R.A., Sudhakar, K. & Rana, R.S. 2019. Comparative study on the growth performance of *Spirulina platensis* on modifying culture media. *Energy Reports*, 5: 327-336. DOI: 10.1016/j.egyr.2019.02.009
- Vigliante, I., Mannino, G. & Maffei, M.E. 2019. OxiCyan®, a phytocomplex of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and spirulina (*Spirulina platensis*), exerts both direct antioxidant activity and modulation of ARE/Nrf2 pathway in HepG2 cells. *Journal of Functional Foods*, 61: p.103508.
- Yang, J., Chen, J., Hao, Y. & Liu, Y. 2021. Identification of the DPPH radical scavenging reaction adducts of ferulic acid and sinapic acid and their structure-antioxidant activity relationship. *Lwt*, 146: p.111411. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111411
- Yazdanabad, S.K., Samimi, A., Shokrollahzadeh, S., Kalhori, D.M., Moazami, N., González, M.J.I., Sobczuk, T.M. & Grima, E.M., 2021. Microalgae biomass dewatering by forward osmosis: Review and critical challenges. *Algal Research*, 56: p.102323.
- Yuan, D., Yao, M., Wang, L., Li, Y., Gong, Y. & Hu, Q. 2019. Effect of recycling the culture medium on biodiversity and population dynamics of bio-contaminants in *Spirulina platensis* mass culture systems. *Algal research*, 44: p.101718. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101718
- Zhao, S., Miao, D., Zhu, K., Tao, K., Wang, C., Sharma, V.K. & Jia, H. 2019. Interaction of benzo [a] pyrene with Cu (II)-montmorillonite: generation and toxicity of environmentally persistent free radicals and reactive oxygen species. *Environment international*, 129: 154-163. DOI: 10.1016/j.envint.2019.05.037
- Zielinska, O.A., Mayhorn, C.B. & Wogalter, M.S. 2017. Connoted hazard and perceived importance of fluorescent, neon, and standard safety colors. *Applied ergonomics*, 65: 326-334. DOI: 10.1016/j.apergo.2017.07.011