

**KANDUNGAN BETAKAROTEN KULTUR MIKROALGA (*Chlorella vulgaris*)
DENGAN PERBEDAAN SUMBER CAHAYA DAN
KEPADATAN AWAL INOKULUM (KAI)**

Teni Novianti

Prodi Teknologi Kelautan dan Perikanan, Universitas Nahdlatul Ulama Cirebon, Jalan
Sisingamangaraja No. 33 Lemahwunguk, Panjunan, Kota Cirebon Jawa Barat 45111

Email: teninovianti.83@gmail.com

Doi: <https://doi.org/10.31943/mangiferaedu.v4i1.37>

Received: 28 Juni 2019

Accepted: 13 Agustus 2019

Published: 23 Agustus 2019

Citasi: Novianti, T. (2019). Kandungan Betakaroten Kultur Mikroalga (*Chlorella vulgaris*) dengan Perbedaan Sumber Cahaya dan Kepadatan Awal Inokulum (KAI). *Jurnal Mangifera Edu*. 4(1): 46-61.

ABSTRACT

Chlorella vulgaris is one type of unicellular green microalgae with a cell diameter ranging from 2-8 microns. Pigments in *Chlorella vulgaris* besides functioning as antioxidant activity but also have a protective effect on retinal degeneration and strengthen the immune system. The purpose of this study was to determine the beta-carotene content of Microalgae *Chlorella vulgaris* cultured by treatment of light sources and different initial densities of inoculum. The method used was an experimental method, while the design of the study was a complete randomized factorial design consisted of 6 treatments and 3 repetitions. The treatments were light sources neon (32 watt) with an additional red LED, green LED and blue LED each for 16 watt with the *Chlorella vulgaris* inoculum initial density that was cultivated were 10×10^4 and 100×10^4 cells/ml. The result showed that the highest β -carotene content was 721,572 mg/l in the blue LED with inoculum initial density of 100×10^4 cells/ml.

Keywords : *Chlorella vulgaris*, Betacarotene content, Light Source, Inoculum Initial Density

ABSTRAK

Chlorella vulgaris termasuk salah satu jenis mikroalga hijau bersel tunggal (unicellular) yang diameter selnya berkisar antara 2-8 mikron. Pigmen pada *Chlorella vulgaris* selain berfungsi sebagai aktivitas antioksidan tetapi juga memiliki efek perlindungan terhadap degenerasi retina dan memperkuat sistem kekebalan tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan Betakaroten pada Mikroalga *Chlorella vulgaris* yang dikultur dengan perlakuan sumber cahaya dan kepadatan awal inokulum yang berbeda. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental, sedangkan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial terdiri atas 6 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuannya adalah sumber cahaya neon (32 watt) yang ditambahkan dengan LED Merah, LED Hijau dan LED Biru masing-masing 16 watt dengan KAI *C.vulgaris* yang dikultivasi yaitu 10×10^4 sel/ml dan 100×10^4 sel/ml. Hasil penelitian menunjukkan Kandungan Pigmen β -karoten tertinggi yaitu 721,572 mg/l pada LED biru dengan Kepadatan Awal Inokulum (KAI) 100×10^4 sel/ml.

Kata Kunci: *Chlrella vulgaris*, Kandungan Betakaroten, Sumber Cahaya, Kepadatan Awal Inokulum

PENDAHULUAN

Chlorella vulgaris merupakan mikroalga yang termasuk dalam kelas *Chlorophyceae*, terdapat di perairan Indonesia dan sudah dapat dibudidayakan untuk dikonsumsi oleh ikan, udang, kerang dan ikan hias sebagai pakan alami (Gusrina, 2008). Selain memiliki nilai gizi yang baik dan mudah dicerna oleh larva, penambahan pakan alami *Chlorella vulgaris* terhadap post larva udang Windu dapat meningkatkan bobot udang serta meningkatkan daya tahan tubuh sehingga larva udang Windu (*Penaeus monodon*) dapat memiliki kemampuan hidup yang lebih baik dan lebih mampu bertahan pada kematian (Kusumaningrum dan Zainuri, 2013). Hal ini dikarenakan *Chlorella vulgaris* memiliki senyawa-senyawa bioaktif alami seperti karotenoid, senyawa fenol, sulfat polisakarida dan vitamin yang salah satu fungsi dari senyawa bioaktif tersebut dapat mempengaruhi regulasi sel, respon kekebalan tubuh dan sebagai antioksidan (de Fretes *et al.*, 2012). Komponen aktif tersebut dipengaruhi oleh kondisi kultur diantaranya adalah cahaya (Rendón *et al.*, 2013).

Chlorella merupakan mikroalga yang bersifat fotoautotrof yaitu menggunakan cahaya sebagai sumber energi sehingga cahaya memiliki peran penting dan merupakan kebutuhan utama dalam mempengaruhi pertumbuhan sel serta pengaturan produksi bahan metabolit primer maupun sekunder (Benavente-Valdés *et al.*, 2016). Kualitas cahaya merupakan faktor yang dapat mempengaruhi kehidupan mikroalga, salah satunya adalah jenis atau sumber cahaya yang memiliki panjang gelombang antara 400-700 nm (Facta *et al.*, 2006). Penggunaan gelombang cahaya tertentu yang dominan dalam proses fotosintesis maupun kombinasinya memberikan peluang yang menjanjikan untuk meningkatkan produksi (biomassa) maupun kualitas (kandungan nutrisi, pigmen, senyawa bioaktif) mikroalga, sekaligus merupakan salah satu cara meningkatkan efisiensi energi (Yan *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2013). Selain itu intensitas cahaya dan nutrisi yang tersedia di media dapat berpengaruh terhadap reaksi fotosintesis (Facta *et al.*, 2006), dimana intensitas cahaya optimal bagi pertumbuhan *Chlorella vulgaris* memiliki kisaran antara 3.000-5.000 lux menggunakan lampu TL 40 watt dengan media yang terbaik untuk pola pertumbuhan adalah menggunakan media Walne (Satriaji *et al.*, 2016). Begitu pula dengan penelitian yang dilakukan oleh Prasetya *et al.* (2015), mengenai penggunaan lampu TL 36 watt sebagai sumber utama cahaya untuk pertumbuhan *Haslea ostrearia*.

Mikroalga *Chlorella vulgaris* melakukan proses fotosintesis dengan memanfaatkan dan mengubah unsur-unsur anorganik menjadi bahan organik dengan bantuan cahaya matahari. Cahaya matahari yang biasa digunakan pada pertumbuhan mikroalga di alam dapat digantikan dengan pemberian lampu neon yang ditambahkan cahaya LED (*Light emitting diode*) pada kultivasi mikroalga di dalam ruangan. LED merupakan kandidat sumber cahaya artifisial yang ideal. Beberapa karakteristik penting LED sebagai sumber cahaya artifisial dalam produksi mikroalga antara lain masa penggunaan lebih lama, bebas merkuri, lebih hemat energi, dan menghasilkan cahaya monokromatis dengan panjang gelombang tertentu (Blanken *et al.*, 2013; Teo *et al.*, 2014). Selain itu penggunaan LED sebagai sumber cahaya tambahan pada kultur mikroalga dapat menginduksi stres cahaya sehingga mampu menghasilkan metabolisme sekunder beta karoten yang berpotensi sebagai antioksidan (Helena *et al.*, 2016). Oleh karena itu perlu digunakan lampu neon sebagai cahaya utama pengganti cahaya matahari untuk pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dan LED merah, hijau dan biru sebagai sumber cahaya tambahan untuk menginduksi stres cahaya yang dapat menghasilkan kandungan Beta Karoten pada mikroalga *Chlorella vulgaris*. Percobaan yang dilakukan oleh Helena *et al.*, (2016) menggunakan sumber cahaya utama neon 32 watt dan cahaya tambahan LED merah serta LED biru masing-masing 8 watt menghasilkan pertumbuhan yang optimal bagi mikroalga *Dunaliella salina* pada LED merah, sedangkan LED biru lebih optimal untuk meningkatkan kandungan β -karoten.

Selain kualitas dan kuantitas cahaya, faktor pendukung pada kondisi kultur mikroalga yang dapat meningkatkan biomasa dan menghasilkan senyawa bioaktif adalah jumlah kepadatan pada awal kultur (Lopez-Elias *et al.*, 2011; Benavente-Valdés *et al.*, 2016). Hal ini juga sesuai dengan penelitian Zainuri *et al.* (2015), bahwa kepadatan sel merupakan salah satu keberhasilan budidaya *Chlorella vulgaris* dan mikroalga pada umumnya. Hal tersebut berkaitan dengan kesempatan setiap sel mikroalga untuk menyerap cahaya dan nutrisi pada media sehingga dapat mendukung proses fotosintesis dan metabolisme. Kultivasi mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan kepadatan awal inokulum $0,9 \times 10^5$ sel/ml dan perlakuan iluminasi 100 μmol pada volume media 1 liter dapat menghasilkan metabolisme sekunder beta karoten yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan iluminasi 62,5 μmol (Seyfabadi *et al.*, 2011). Oleh karena itu perlu adanya optimalisasi kepadatan awal dan induksi stres cahaya pada kultur *Chlorella vulgaris* untuk meningkatkan biomasa dan menghasilkan senyawa bioaktif beta karoten.

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan teknik pencahayaan terbaik dengan menggunakan tiga sumber cahaya yang berbeda yaitu sumber cahaya utama neon ditambahkan LED merah (630-700 nm), LED hijau (490-560 nm) dan LED biru (430-490 nm) sebagai sumber cahaya tambahan. Intensitas cahaya yang digunakan pada lampu neon 32 watt sekitar 2.000-2.500 lux lama penyinaran selama pengamatan. Penambahan LED merah, hijau dan biru masing-masing 16 watt sebagai induksi stres cahaya sekitar 1.000-2.000 lux lama penyinaran selama 12 jam/hari. LED merupakan sumber cahaya monokromatis yang dapat menghasilkan energi cahaya hingga mencapai 80% (Agam *et al.*, 2015; Nayomi dan Rahardjo, 2013), sehingga sumber cahaya tersebut dapat merangsang metabolit sekunder betakaroten yang berpotensi sebagai antioksidan pada kondisi kultur dibawah tekanan seperti intensitas cahaya yang tinggi (Helena *et al.*, 2016).

Selain itu untuk mendukung proses fotosintesis dan metabolisme *Chlorella vulgaris* perlu adanya optimalisasi kepadatan awal inokulum. Penelitian ini menggunakan perlakuan dua kepadatan awal inokulum yang berbeda yaitu 10×10^4 sel/ml dan 100×10^4 sel/ml (Suantika *et al.*, 2009). Guna membangun kebaruan penelitian dalam produksi mikroalga yang dikultivasi pada sumber cahaya dan kepadatan awal inokulum yang berbeda dengan tujuan memberikan peningkatan kandungan betakaroten pada skala laboratorium.

METODOLOGI PENELITIAN

1. Tahapan Penelitian

Penelitian terdiri dari 3 tahap. Tahap pertama adalah kultur mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan perlakuan sumber cahaya dan kepadatan awal sel yang berbeda. Tahap kedua yaitu proses pemanenan dilanjutkan dengan pengambilan sampel *Chlorella vulgaris*. Tahap ketiga yaitu uji kandungan Beta-karoten dari mikroalga *Chlorella vulgaris*.

2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial yang terdiri atas 6 perlakuan dan 3 kali ulangan. Percobaan pertama yaitu kultur *Chlorella vulgaris* dengan pencahayaan neon dan LED biru (A_1), neon dan LED hijau (A_2), neon dan LED merah (A_3) dengan kepadatan awal inokulum 10×10^4 sel/ml (B_1). Percobaan kedua yaitu kultur *Chlorella vulgaris* dengan pencahayaan neon dan LED biru (A_1), neon dan LED hijau (A_2), neon dan LED merah (A_3) dengan kepadatan awal inokulum 100×10^4 sel/ml (B_2). Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dengan pencahayaan kultur lampu neon

32 watt sekitar 2.000-2.500 lux penyinaran selama pengamatan dan penambahan LED merah, hijau dan biru (Helena *et al.*, 2016; Syafriyudin *et al.*, 2015) diinduksi sebagai stres cahaya dengan intensitas cahaya 1.000-2.000 lux sekitar 16 watt dilakukan selama 12 jam/hari.

3. Preparasi Sampel Mikroalga *Chlorella vulgaris*

Pengambilan sampel mikroalga untuk uji antioksidan dilakukan pada saat kultur mencapai awal fase stasioner (Barriyah *et al.*, 2013) yaitu sekitar hari ke-5 sampai hari ke-6 (Kusumaningrum dan Zainuri, 2013; Rahmawati *et al.*, 2013). Pada fase ini, merupakan tahap pertumbuhan yang konstan dimana laju reproduksi sama dengan laju kematian dan kepadatan sel *Chlorella vulgaris* mencapai maksimum. Meskipun pada fase stasioner nutrisi semakin berkurang, tetapi pembelahan sel masih dapat berlangsung. Hal ini disebabkan sel memiliki cadangan energi sehingga masih dapat menggunakan komponen tersebut untuk melakukan pertumbuhan dan mempertahankannya meski sangat rendah (Schlegel, 1994). Pada fase stasioner juga terjadi metabolisme sekunder yang merupakan keseluruhan proses sintesis dan perombakan produk metabolit primer. Selain itu metabolit sekunder menghasilkan komponen-komponen yang berfungsi untuk pertahanan hidup seperti senyawa fenol, alkaloid, triterpenoid (Bariyyah *et al.*, 2013).

Proses pemanenan *Chlorella vulgaris* dilakukan mengacu pada penelitian Widowati *et al.* (2017) dan Bariyyah *et al.* (2013) yang dimodifikasi dengan cara mengumpulkan biomassa dan filtrat dalam wadah botol. Filtrat dan biomassa dari hasil pemanenan dipisahkan menggunakan sentrifuge dengan kecepatan 5.500 rpm selama 15 menit. Setelah didapatkan biomassa nya kemudian ditimbang masing-masing perlakuan untuk menentukan berat basahnya.

4. Analisis Kandungan Beta Karoten

Analisis kandungan pigmen Beta-karoten mengacu pada Yulita (2014) dan Helena *et al.* (2016) yang dimodifikasi. Biomassa basah sampel *Chlorella vulgaris* sebanyak 0,1 gram dimasukan ke dalam tube atau falcon 20 ml. Larutkan dengan *n-heksan* sampai tanda batas garis dan selanjutnya di vortex sampai homogen. Setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 2.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang didapatkan diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* Awareness Technologies Stat Fax 2100 dengan rentang panjang gelombang antara 350-550 nm. Setelah didapat nilai absorbansi, kandungan beta-karoten dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{B-carotene} = \frac{\text{Abs } 350-550\text{nm} \times 3.83 \times \text{Vol Pelarut (ml)}}{\text{Berat sampel (gr)}}$$

5. Penarikan Kesimpulan

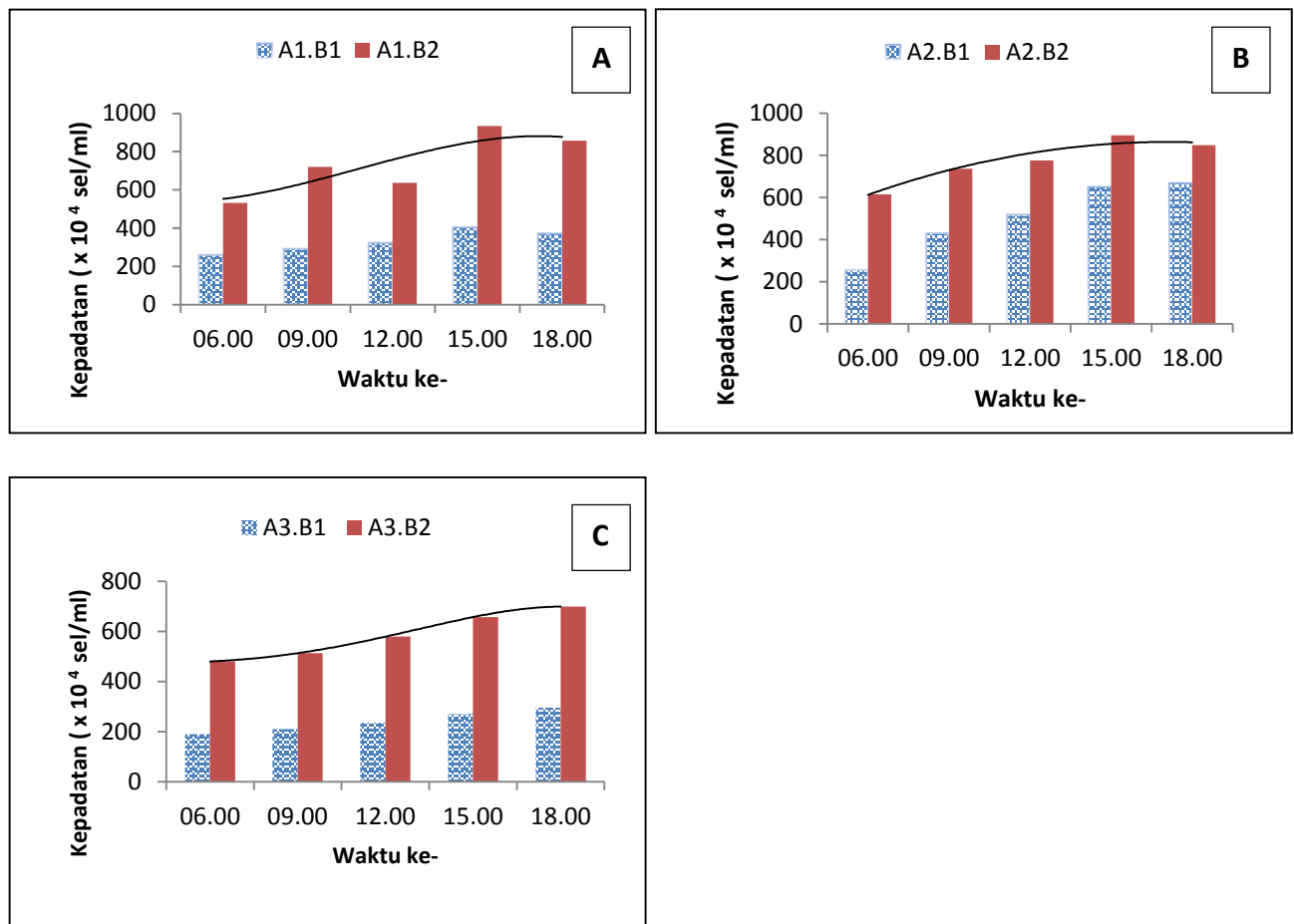
Simpulan didapatkan setelah merujuk kembali pada tujuan penulisan dan pembahasan. Simpulan mempresentasikan hasil pokok bahasan penulisan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pola Waktu Pertumbuhan Mikroalga *Chlorella vulgaris* Pada Setiap Perlakuan Sumber Cahaya dan Kepadatan Awal Inokulum Yang Berbeda

Pengamatan pertumbuhan berdasarkan pola waktu (jam) tertinggi pada sel *C.vulgaris* dilakukan setiap tiga jam sekali dalam kurun waktu 12 jam per hari dari fase adaptasi hingga fase kematian, karena kultur diperlukan untuk perbanyak jumlah sel sehingga sebelum memasuki fase kematian sebagian massa sel dipanen terlebih dahulu untuk diambil biomassa untuk sampel analisa betakaroten. Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 1 dapat diketahui bahwa *Chlorella vulgaris* melakukan fotosintesis berdasarkan pola waktu yang diamati setiap tiga jam sekali dalam kurun waktu 12 jam perharinya. Laju pertumbuhan tertinggi pada LED Merah terjadi saat pukul 15:00, kedua pukul 18:00, ketiga pukul 09:00, keempat pukul 12:00 dan terendah adalah pukul 06:00. Laju pertumbuhan mikroalga *Chlorella vulgaris* berdasarkan pengamatan pada pola waktu tersebut berbeda dengan yang terjadi alam. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Syafriyudin *et al.* (2015), proses fotosintesis paling tinggi terjadi pada tengah hari yaitu dimulai dari pukul 11:00 sampai 14:00 dan akan menurun tajam jika tertutup awan. Setelah beranjak sore pukul 18:00 tidak berlangsung secara optimal karena tidak ada cahaya matahari. Begitu pula dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Facta *et al.* (2006), bahwa kelimpahan optimal mikroalga *Dunaliella salina* terjadi mulai pukul 09:00 pada perlakuan on-off yaitu satu intensitas cahaya secara tetap dari pukul 06:00 sampai dengan 18:00. Sedangkan pada perlakuan siklus cahaya berpola intensitas matahari terjadi peningkatan ukuran kloroplas kira-kira mulai pukul 11:00 dan dengan peningkatan intensitas cahaya matahari di waktu berikutnya menyebabkan mikroalga mengalami evaporasi dan suhu media yang meningkat sehingga metabolisme menjadi tidak terkendali sehingga kelimpahan menurun sampai pukul 17:00. Proses fotosintesa yang dilakukan oleh mikroalga sangat dipengaruhi oleh kloroplas yang akan menyerap intensitas cahaya melalui energi foton yang mengenainya. Dengan

terjadinya pelepasan energi foton tersebut maka mikroalga cenderung naik ke permukaan untuk mendapatkan cahaya guna proses fotosintesis sekaligus menyerap nutrisi seperti nitrat, sulfat dan fosfat serta mengeluarkan oksigen. Pada tahap selanjutnya kloroplas akan menjadi lebih besar hingga membentur dinding sel dan selanjutnya mikroalga cenderung mulai turun dari permukaan karena terjadi perubahan berat jenis dan proses pengeluaran oksigen akan menurun (Boney, 1989). Semakin aktifnya kloroplas maka semakin banyak pula klorofil yang dibutuhkan untuk menyerap energi cahaya tersebut, dengan demikian klorofil yang terbentuk akan semakin banyak (Satriaji *et al.*, 2016).



Gambar 1. Pola Waktu (Jam) Tertinggi *Chlorella vulgaris* pada setiap waktu pengamatan Sumber Cahaya dan KAI yang Berbeda

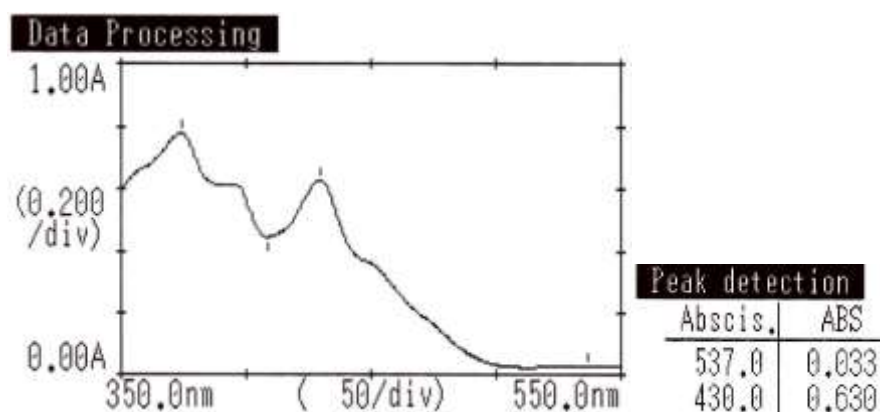
Keterangan : A1 = LED Merah, A2 = LED Hijau, A3 = LED Biru, B1 = KAI 10×10^4 sel/ml, B2 = KAI 100×10^4 sel/ml

Lakitan (2010) menjelaskan bahwa, Prinsip dasar penyerapan cahaya adalah setiap molekul dapat menyerap satu foton pada waktu tertentu dan foton ini menyebabkan terjadinya eksitasi pada satu elektron dalam suatu molekul. Terjadinya fotosintesis karena

adanya energi dalam bentuk elektron yang tereksitasi pada berbagai pigmen disalurkan ke pigmen pengumpul energi yang disebut sebagai pusat reaksi diantaranya adalah molekul klorofil a yang berasosiasi dengan protein tertentu dan komponen-komponen membran lainnya. Dengan demikian pemberian sumber cahaya LED yang dinyalakan pada saat pagi hari dan dimatikan pada saat pukul 18.00 memberikan stimulasi pada *C.vulgaris* untuk berfotosintesis secara terus menerus dan pemberian perlakuan LED merah pada kultivasi *C.vulgaris* merupakan spektrum cahaya yang mampu menambah laju dari fotosintesis (volume/waktu).

2. Kandungan Pigmen Betakaroten pada Mikroalga *Chlorella vulgaris*

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, hasil spektrum UV-Vis senyawa β -karoten *C.vulgaris* dilakukan pembacaan nilai absorbansi. Prinsip pembacaan absorbansi ini adalah berdasarkan aktivitas serapan molekul betakaroten terhadap sinar pada panjang gelombang tertentu. Semakin besar nilai absorbansi molar suatu zat maka semakin banyak cahaya yang diserap oleh suatu senyawa. Sebelum dilakukan perhitungan kadar pigmen, terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang serapan optimum β -karoten yaitu berkisar pada rentang panjang gelombang 350-550 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 2. Puncak pada panjang gelombang dengan nilai absorbansi tertinggi tersebut merupakan serapan optimum yang digunakan untuk mengukur kandungan pigmen β -karoten. Berdasarkan hasil penelitian panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 430 nm dan nilai tersebut masih sesuai dengan kisaran data dari berbagai literatur. Pada panjang gelombang tersebut merupakan serapan optimum molekul betakaroten yang dapat menyerap sinar secara optimal sehingga dapat menghasilkan nilai pembacaan absorbansi yang jelas dan tepat. Setelah diketahui nilai absorbansinya, maka dapat dihitung kadar Betakaroten dalam sampel *Chlorella vulgaris*. Adapun hasil analisis kandungan betakaroten yang diperoleh menunjukkan perbedaan nilai betakaroten mikroalga *C.vulgaris* pada perlakuan sumber cahaya dan kepadatan awal inokulum yang berbeda (Tabel 1).



Gambar 2. Panjang Gelombang Maksimum Senyawa β -karoten *C. vulgaris*

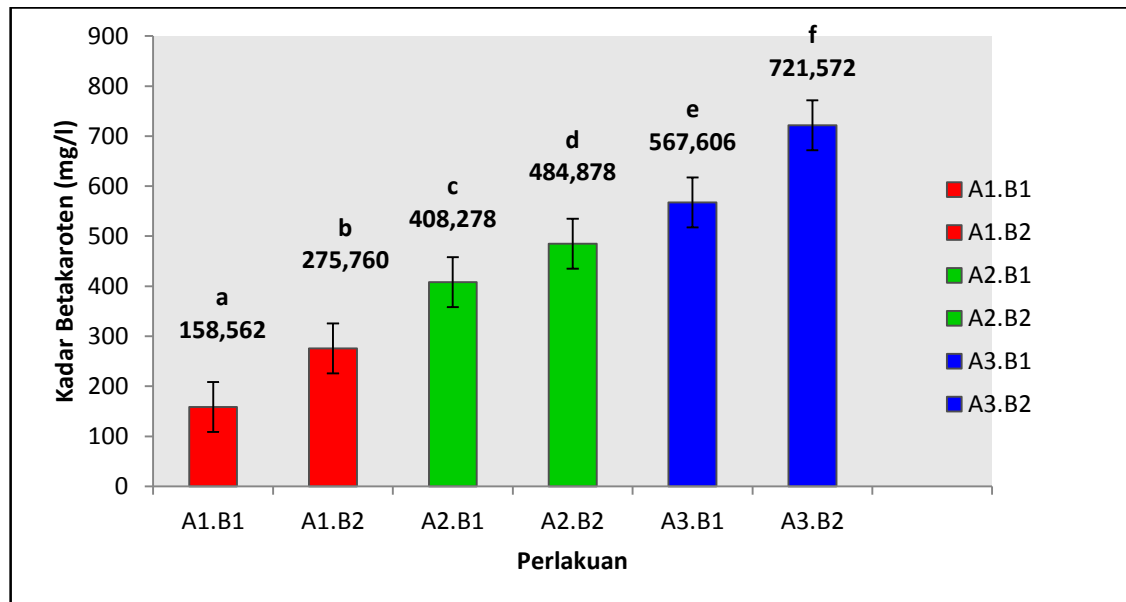
Tabel 1. Hasil Analisis Kandungan Pigmen β -karoten *Chlorella vulgaris*

Perlakuan	Absorbansi (A ₄₃₀ nm)			Kandungan β -karoten (mg/l)
	Ulangan ke-1	Ulangan ke-2	Rerata	
A1.B1	0,190	0,223	0,207	158,562
A1.B2	0,359	0,361	0,36	275,760
A2.B2	0,535	0,530	0,533	408,278
A2.B2	0,630	0,635	0,633	484,878
A3.B1	0,739	0,742	0,741	567,606
A3.B2	0,942	0,942	0,942	721,572

Keterangan : A1 = LED Merah, A2 = LED Hijau, A3 = LED Biru, B1 = KAI 10×10^4 sel/ml, B2 = KAI 100×10^4 sel/ml

Nilai absorbansi tertinggi pada A₄₃₀ nm adalah 0,942 pada perlakuan A3.B2 (LED Biru*KAI 100×10^4 sel/ml) dan nilai absorbansi terendah yaitu pada perlakuan A1.B1 (LED Merah*KAI 10×10^4 sel/ml) dengan hasil sebesar 0,207. Hasil nilai absorbansi akan berpengaruh pada kandungan pigmen β -karoten yang dihasilkan oleh mikroalga. Semakin tinggi nilai absorbansi maka akan semakin banyak cahaya yang diabsorpsi oleh senyawa β -karoten sehingga menghasilkan kandungan betakaroten yang tinggi. Hal tersebut berkaitan dengan nilai absorbansi merupakan karakteristik suatu zat yang menginformasikan berapa banyak cahaya yang diserap oleh molekul zat tersebut pada panjang gelombang tertentu.

Nilai absorbansi kemudian dikonversi kedalam rumus sehingga didapatkan kandungan pigmen β -karoten tertinggi sebesar 721,572 mg/l pada perlakuan A3.B2 dan betakaroten terendah pada perlakuan A1.B1 mempunyai kandungan β -karoten 158,562 mg/l. Hasil perhitungan nilai absorbansi kemudian di plot dalam grafik yang dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kadar Pigmen Betakaroten *Chlorella vulgaris* berdasarkan sumber cahaya dan KAI yang berbeda

Keterangan : A1 = LED Merah, A2 = LED Hijau, A3 = LED Biru, B1 = KAI 10×10^4 sel/ml, B2 = KAI 100×10^4 sel/ml

Berdasarkan hasil uji statistik tiap perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Hasil analisis varian (Anova) memiliki nilai signifikansi sampel $0,000 < \text{signifikansi level } 0,05$ menunjukkan bahwa pada selang kepercayaan 95% sampel mikroalga *C. vulgaris* yang diujikan berbeda nyata sehingga pada setiap perlakuan memiliki pengaruh pada kadar pigmen. Selain itu memperlihatkan bahwa nilai F hitung lebih besar dari F tabel yaitu $26,855 > 4,667$ yang berarti bahwa terdapat perbedaan nyata antar perlakuan. Hal ini mengindikasikan bahwa perlakuan selama kultivasi *C. vulgaris* berdasarkan sumber cahaya dan kepadatan awal inokulum yang berbeda mampu memberikan pengaruh terhadap kandungan betakaroten.

3. Pengaruh Perlakuan Sumber Cahaya dan Kepadatan Awal Inokulum Yang Berbeda Terhadap Kandungan Betakaroten Mikroalga *Chlorella vulgaris*

Penelitian ini menggunakan sumber cahaya LED (*light emitting diode*). Menurut Fu *et al.* (2013), LED memiliki konversi yang tinggi dari listrik ke cahaya dengan efisiensi energi yang lebih baik. Selain itu penerapan LED menandai kemajuan besar pada pencahayaan untuk pertumbuhan mikroalga karena mampu menghasilkan panjang gelombang relatif sempit sehingga menghasilkan warna tertentu yang efektif terhadap fotosintesis dan merangsang sintesis karotenoid. Diperkuat dengan hasil penelitian yang

dilakukan oleh Helena *et al.* (2016), sumber cahaya LED selain dapat menghasilkan pertumbuhan optimal pada mikroalga *Dunaliella salina* tetapi juga mampu menstimulasi kandungan pigmen β -karoten sebesar 4-767 mg dan hasil yang tertinggi diperoleh dari perlakuan sumber cahaya neon ditambahkan dengan LED biru. Sesuai dengan hasil yang diperoleh selama penelitian yaitu kandungan β -karoten tertinggi pada *C. vulgaris* dihasilkan pada sumber cahaya neon yang ditambahkan pada perlakuan LED biru (A3) 721,572 mg/l, kedua pada perlakuan sumber cahaya LED hijau (A2) 484,878 mg/l dan ketiga perlakuan sumber cahaya LED merah (A1) 158,562 mg/l.

Berdasarkan hasil penelitian, sumber cahaya yang diberikan selama kultivasi dapat menstimulasi pembentukan pigmen dan LED biru lebih efektif dalam meningkatkan akumulasi β -karoten pada *C. vulgaris* dari pada sumber cahaya lainnya. Hal tersebut berkaitan dengan spektrum aksi yang menggambarkan keefektifan relatif dari panjang gelombang cahaya. Diperkuat dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Fu *et al.* (2013), perlakuan sumber cahaya LED biru dapat merangsang sintesis karotenoid pada mikroalga *D.salina* dibandingkan LED merah. Akan tetapi LED Merah lebih optimal dalam pola pertumbuhan mikroalga hijau. Pembentukan pigmen karotenoid di alam pada makroalga selain dipengaruhi oleh cahaya dan stres lingkungan lainnya tetapi juga dipengaruhi oleh kedalaman. Menurut Nybakken (1992), setelah gelombang cahaya menembus permukaan laut, spektrum cahaya merah dan ungu lebih cepat diserap oleh fitoplankton, sedangkan spektrum cahaya hijau dan biru pada panjang gelombang sedang dan pendek diserap lebih lambat dan dapat menembus air lebih dalam. Oleh karena itu perbedaan kemampuan pigmen fotosintesis dalam memanfaatkan cahaya matahari dan spektrum cahaya di laut merupakan salah satu faktor yang dapat membedakan sebaran jenis organisme fotosintetik seperti fitoplankton di perairan laut. Pada perairan yang dangkal atau lapisan permukaan laut semua jenis organisme fitoplankton dapat berkembang dengan baik dengan pertumbuhan yang optimal sehingga variasi pigmen yang dihasilkan kurang berperan, akan tetapi pada daerah oseanik atau laut yang lebih dalam dengan intensitas cahaya yang rendah dan spektrum cahaya yang terbatas memiliki variasi pigmen yang sangat besar sehingga fitoplankton mengeluarkan metabolit sekunder sebagai pertahanan hidupnya untuk pertumbuhan dan perkembangan organisme fotosintesis.

Dengan demikian cahaya merupakan faktor utama yang menentukan pembentukan pigmen β -karoten pada *C. vulgaris* sehingga terdapat interaksi dalam menggerakkan

fotosintesis dan metabolisme sekunder. Proses terbentuknya β -karoten karena adanya sumber cahaya yang diberikan. Klorofil menyerap energi foton dari cahaya dan elektron pada klorofil akan terlepas ke orbit luar. Elektron ini akan ditangkap oleh penerima elektron yaitu *plastokuinon*. Unit penangkapan elektron disebut fotosistem β -karoten yang terbentuk dari klorofil b yang terjadi didalam kloroplas. Kloroplas mempunyai sistem membran dalam yang terorganisasi menjadi kantong pipih berbentuk cakram yang disebut tilakoid. Tumpukan tilakoid disebut grana dan tiap tilakoid merupakan ruang tertutup yang berfungsi sebagai tempat pembentukan ATP. Disekeliling tilakoid terdapat cairan yang disebut stroma dan stroma tersebut mengandung enzim yang berperan dalam reaksi fotosintesis (Salisbury dan Roos., 1995). Hal ini didukung dengan pernyataan Campbell dan Reece (2010); Fu *et al.* (2013), yang menyatakan bahwa karotenoid seperti β -karoten dan lutein memainkan peran sentral dalam PS II, memanen cahaya biru dan mentransfer energi ke pusat-pusat reaksi fotosistem serta melindungi fotosintesis terhadap *photooxidative* yang menyebabkan kerusakan dengan berkurangnya kandungan oksigen karena terpapar cahaya berlebih.

Campbell dan Reece (2010) menjelaskan bahwa pigmen utama yang terdapat pada membran tilakoid terdiri dari tiga tipe pigmen yang mampu menyerap spektrum cahaya yaitu : klorofil a, berpartisipasi langsung dalam reaksi terang yang mengubah energi matahari menjadi energi kimia dalam bentuk ATP; klorofil b, merupakan pigmen aksesori yang dapat menyerap cahaya dan mentransfer energinya ke klorofil a yang kemudian mengawali reaksi terang; karotenoid, yaitu hidrokarbon yang mempunyai warna berbagai campuran kuning dan jingga. Diperkuat dengan penjelasan dari Salisbury dan Roos (1995). tiga pigmen tersebut memiliki spektra absorpsi yang berbeda-beda yaitu klorofil-a berwarna biru hijau menyerap paling banyak cahaya violet-biru dan merah; klorofil-b berwarna hijau kuning karena paling efektif menyerap cahaya biru dan merah; karotenoid berwarna kuning dan jingga karena pigmen tersebut sangat efektif menyerap cahaya violet dan biru-hijau. Lakitan (2010) menjelaskan bahwa ada dua jenis pigmen karotenoid yaitu karoten (murni hidrokarbon) dan xanthofil (mengandung oksigen). Spektrum serapan β -karoten diukur pada kisaran panjang gelombang antara 390-510 nm dalam pelarut heksan dan mencapai spektrum serapan puncak pada panjang gelombang 440 nm.

Selain perlakuan sumber cahaya yang berbeda, penelitian ini juga menggunakan dua perlakuan Kepadatan awal inokulum yang berbeda yaitu 10×10^4 sel/ml dan 100×10^4 sel/ml. Berdasarkan hasil penelitian Kepadatan awal inokulum 100×10^4 sel/ml selain memiliki

pertumbuhan yang lebih optimal tetapi juga menghasilkan kandungan betakaroten yang lebih besar dibandingkan dengan KAI 10×10^4 sel/ml. Hal tersebut berkaitan dengan kesempatan atau peluang setiap sel untuk menyerap nutrisi pada media kultur, dengan kata lain pada kepadatan awal 100×10^4 sel/ml terjadi kompetisi atau persaingan dalam mendapatkan nutrisi selama masa kultur yang dapat memicu tekanan pada sel *C.vulgaris*. Selain itu Kepadatan Awal Inokulum 100×10^4 sel/ml lebih efektif dalam menyesuaikan dengan kondisi kultur karena sel yang diinokulasikan berasal dari fase lag sehingga memiliki adaptasi yang lebih baik, ditunjukkan dengan fase puncak yang lebih cepat dan mempunyai kemampuan yang cukup baik untuk menyesuaikan diri pada kondisi stres cahaya hingga fase stasioner. Berdasarkan hasil penelitian, *C.vulgaris* yang dikultivasi berdasarkan sumber cahaya dan kepadatan awal inokulum yang berbeda menghasilkan kandungan β -karoten tertinggi sebesar 721,572 mg/l. Hasil tersebut lebih besar dari penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya oleh Yulita (2014) yaitu pada kondisi kultur dengan sumber cahaya TL 36 watt dan fotoperiod selama 24 jam menghasilkan kandungan pigmen β -karoten pada *C.vulgaris* sebesar 437 mg/l. Hal ini dikarenakan kondisi lingkungan selama kultur seperti perlakuan sumber cahaya dan kepadatan awal inokulum yang berbeda dapat mempengaruhi senyawa β -karoten yang dihasilkan oleh *C.vulgaris*. Diperkuat dengan penelitian yang dilakukan Fathi dan Asem (2013), dengan perlakuan salinitas yang berbeda yaitu menghasilkan kandungan pigmen β -karoten tertinggi pada perlakuan salinitas 30 ppt yaitu sebesar 3,40 μ g/ml selama kultivasi 10 hari, sedangkan perlakuan salinitas 10 ppt menghasilkan betakaroten terendah pada *Chlorella* sp yaitu sebesar 2,40 μ g/ml. Kusumaningrum dan Zainuri (2013), menjelaskan bahwa sintesis betakaroten *C.vulgaris* akan meningkat dalam kondisi fisiologis kurang seimbang dalam sel yang disebabkan oleh berbagai faktor tekanan lingkungan sebagai upaya untuk melindungi sel dan mempertahankan pertumbuhan serta adaptasi terhadap lingkungan. Produksi pigmen karotenoid *C.vulgaris* yang dihasilkan mencapai 95 μ g/ml dengan kepadatan awal inokulum 100×10^5 - 100×10^6 sel/ml pada intensitas cahaya 1.000-2.000 lux.

SIMPULAN

Perlakuan sumber cahaya dan kepadatan awal inokulum yang berbeda berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kandungan pigmen betakaroten mikroalga *Chlorella vulgaris*. Kadar pigmen betakaroten tertinggi pada perlakuan sumber cahaya LED Biru dengan kepadatan awal inokulum 100×10^4 sel/ml mampu meningkatkan akumulasi Betakaroten mencapai 721,572 mg/l. LED Biru memiliki foton energetik yang baik dan KAI 100×10^4 sel/ml memiliki stimulasi stres sel mikroalga yang dapat menginduksi metabolit sekunder *Chlorella vulgaris* sehingga mampu menghasilkan pigmen karotenoid lebih besar dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agam, B.B., Yushardi dan T. Prihandono. (2015). Pengaruh Jenis dan Bentuk Lampu Terhadap Intensitas Pencahayaan dan Energi Buangan Melalui Perhitungan Nilai Efikasi Luminus. *Jurnal Pendidikan Fisika*. 3(4): 384-389.
- Bariyyah, S.K., A.G. Fasya., M.Abidin dan A.Hanapi. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella sp.* *Jurnal Alchemy UIN Maulana Malik Ibrahim Malang*. 2(2): 150-204.
- Benavente-Valdés, J.B., C. Aguilar., J.C Contreras-Esquivel., A. Méndez-Zavala dan J. Montañez. (2016). Strategies to enhance the production of photosynthetic pigments and lipids in chlorophyceae species. *Biotechnology Reports*. 10: 117–125.
- Blanken, W., M. Cuaresma., R. H.Wijffels dan M. Janssen. (2013). Cultivation of microalgae on artificial light comes at a cost. *Journal Algal Researc*. 2(4): 333-340.
- Boney A.D, (1989). *Studies in Biology Phytoplankton*. Second edition, Chapman and Hall Inc, New York, 128p.
- Campbell, N.A dan J.B Reece. (2010). *Biologi. Edisi 8 Jilid 1*. Erlangga: Jakarta.
- De Fretes, H., AB. Susanto., B. Prasetyo dan L.Limantara. (2012). Karotenoid dari Mikroalga dan Makroalga : Potensi Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. XXIII(2): 221-228.
- Facta, M., M. Zainuri., Sudjadi dan E. P. Sakti. (2006). Pengaruh Pengaturan Intensitas Cahaya yang Berbeda Terhadap Kelimpahan *Dunaliella sp.* dan Oksigen Terlarut dengan Simulator TRIAC dan Mikrokontroler AT89S52. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 11 (2), 67-71. ISSN 0853 – 7291.
- Fathi, M dan A. Asem. (2013). Investigating the impact of NaCl salinity on growth, β -carotene, and chlorophyll a in the content life of halophytes of algae *Chlorella sp.* *Journal of the Bioflux Society*. 6(3): 241-245.

- Fu, W., Ó. Guðmundsson., G. Paglia., G. Herjólfsson., Ó.S. Andrésón., B. Ø. Pálsson and S. Brynjólfsson. (2013). Enhancement of carotenoid biosynthesis in the green microalga *Dunaliella salina* with light-emitting diodes and adaptive laboratory evolution. *Journal Appl Microbiol Biotechnol.* 97: 2395–2403.
- Gusrina. (2008). *Budidaya Ikan Jilid 2*. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional.
- Helena, S., M. Zainuri, dan J. Suprijanto. (2016). Microalgae *Dunaliella salina* (Teodoresco, 1905) Growth using the LED Light (Light Limiting Dioda) and Different Media. *Aquatic Procedia*, 7: 226 – 230.
- Kusumaningrum, H. P. dan M. Zainuri. (2013). Aplikasi Pakan Alami Kaya Karotenoid untuk Post *Larvae Penaeus monodon* Fab. *Jurnal Ilmu Kelautan.* 18(3): 143-149. ISSN 0853-7291.
- Lakitan, B. (2010). *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo. 206 hlm.
- Lopez-Elias, J.A., E. Esquer-Miranda., M. Martinez-Porchas., M.C. Garza-Aguirre., M. Rivas-Vega dan N. Huerta-Aldaz. (2011). The Effect of Inoculation Time and Inoculum Concentration On The Productive Response of *Tetraselmis Chuii* (Butcher, 1958) Mass Cultured In F/2 and 2-F Media. *Arch. Biol. Sci., Belgrade.* 63(3): 557-562.
- Nayomi, H dan A. Rahardjo. (2013). *Peluang Pemanfaatan Lampu LED Sebagai Sumber Penerangan*. Laporan Penelitian Program Studi Teknik Elektro. Universitas Indonesia.
- Nybakken, J.W. (1992). *Biologi Laut : Suatu Pendekatan Ekologis*. Jakarta: Gramedia.
- Prasetya, F.S., I. Safitri., I. Widowati., B. Cognie, P. Decottignies, R. Gastineau and M. Moranças., E. Windarto., R. Tremblay and Jean-Luc Mouget. (2015). Does allelopathy affect co-culturing *Haslea ostrearia* with other microalgae relevant to aquaculture?. *Journal of Applied Phycology.* DOI 10.1007/s10811-015-0779-y.
- Rahmawati, N., M. Zainuri dan H.P. Kusumaningrum. (2013). Aplikasi Pakan Kaya Karotenoid Hasil Fusi Protoplasm Intergenera *Dunaliella salina* dan *Chlorella vulgaris* pada Udang Windu (*Penaeus monodon* F.) Stadia PL-20 Di Desa Asempapan, Pati, Jawa Tengah. *Jurnal Bioma.* 15(2): 46-52.
- Rendón S.M., G.J.C Roldan dan R.P. Voroney. (2013). Effect of Carbon Dioxide Concentration on the Growth Response of *Chlorella vulgaris* Under Four Different Led Illumination. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries.* 2: 125-131.
- Salisbury, F.B dan C. W. Roos. (1995). *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2*. Bandung: ITB Press. 173 hlm.

- Satriaji, D.E., M. Zainuri dan I.Widowati. (2016). Study of Growth and C, N, P Content of Microalgae *Chlorella vulgaris* Cultivated in Different Culture Media and Light Intensity. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*, 78: 4–2.
- Schlegel, S. (1994). *Mikrobiologi Umum*. Tedja Baskara, penerjemah. Yogyakarta: Gajahmada University Press.
- Seyfabadi, J., Z. Ramezanpour and Z. A Khoeyi. (2011). Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal Appl Phycol*, 23, 721–726. DOI 10.1007/s10811-010-9569-8.
- Suantika,G., P. Adityawati., D.I Astuti dan Y. Sofyan. (2009). Pengaruh Kepadatan Awal Inokulum terhadap Kualitas Kultur *Chaetoceros gracilis* (Schütt) pada Sistem Batch. *Jurnal Matematika Dan Sains*, 14 (1).
- Syafriyudin., S. Priyambodo., S. Saudah dan N.T. Ledhe. (2015). Pengaruh Variabel Warna Lampu LED Terhadap Pertumbuhan Tanaman Krisan. *Proseding Seminar Nasional Teknik Industri “Sustainable Manufacturing”*. Jawa Timur: UPN. 1-9.
- Teo, C.L., A. Idris., S. Wahidin dan L.W. Lai. (2014). Effect of Different Light Wavelength on the Growth of Marine Microalgae. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*. 67(3): 97–100.
- Widowati, I., M. Zainuri., H.P. Kusumaningrum., R. Susilowati., Y. Hardivillier., V. Leignel., N. Bourgougnon and Jean-Luc Mouget. (2017). Antioxidant activity of three microalgae *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* and *Isochrysis galbana* clone Tahiti. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* , 55(2017), 012067 : 1-6.
- Yan, C., L. Zhang., X. Luo., dan Z. Zheng. (2013). *Effects of various LED light wavelengths and intensities on the performance of purifying synthetic domestic sewage by microalgae at different influent C/N ratios*. *Ecol. Eng* 51: 24-32.
- Yulita, E. (2014). Pemanfaatan Limbah Cair Industri Karet Remah Sebagai Media Pertumbuhan *Chlorella Vulgaris* untuk Pakan Alami Ikan. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. 25(1): 1-11.
- Zainuri, M, Sunaryo & H. P. Kusumaningrum. (2015). Production of Microalgae *Dunaliella* and *Chlorella* in vivo to Support Sustainable Aquaculture Natural Food. *International Journal of Marine and Aquatic Resource Conservation and Co-existence (IJMARCC)*. 1(2): 1-6.
- Zhao, Y., J. Wang., H. Zhang., C. Yan dan Y. Zhang. (2013). Effects of various LED light wavelengths and intensities on microalgae-based simultaneous biogas upgrading and digestate nutrient reduction process. *Bioresource Technology*. 136: 461-468.