

Pengaruh Pupuk Tauge Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap Kepadatan dan Kandungan Karotenoid *Dunaliella salina*

The Effect of *Phaseolus radiatus* Fertilizer at Media Culture to Density and Carotenoid Content of *Dunaliella salina*

Ici Dianita^{1*}, Saberina Hasibuan², dan Syafriadiman²

¹Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

²Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

*Email: ichidianita042@gmail.com

Abstrak

Diterima
10 Oktober 2019

Disetujui
26 Desember 2019

Dunaliella salina merupakan kelompok alga hijau yang menghasilkan pigmen (klorofil dan karotenoid) dan telah digunakan sebagai pakan alami pada pembenihan komoditas air laut. Nitrogen dan Fosfor merupakan unsur mineral yang dibutuhkan oleh *D. salina* dan dapat diperoleh dari pupuk tauge kacang hijau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan mendapatkan dosis terbaik pupuk tauge kacang hijau (*P. radiatus*) pada media kultur terhadap kepadatan dan kandungan karotenoid *D. salina*. Penelitian dilakukan pada bulan Maret–Mei 2019 di Laboratorium Pakan Alami BBPBAP Jepara Jawa Tengah. Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap. Perlakuan yang digunakan adalah P0 (kontrol) Walne (0,5 mL/L) dan pupuk tauge kacang hijau yaitu P1 (60 mL/L), P2 (120 mL/L), P3 (180 mL/L) dengan 3 kali ulangan. Kepadatan sel *D. salina* diamati selama sepuluh hari. Pengukuran karotenoid pada fase eksponensial dengan menggunakan spektrofotometer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pupuk tauge kacang hijau sebagai media kultur berpengaruh terhadap kepadatan dan kandungan karotenoid *D. salina*. Pemberian pupuk tauge menunjukkan kepadatan dan kandungan karotenoid terbaik pada perlakuan dosis 60 mL/L. Jumlah kepadatan pada fase eksponensial $476,67 \times 10^4$ sel/mL dengan kandungan karotenoid yaitu 0,967 µg/mL

Kata kunci: *Dunaliella salina*, Pupuk Tauge, Kepadatan, Karotenoid

Abstract

Dunaliella salina is a group of green algae that produces pigment (chlorophyll and carotenoids) and used as live feed in hatchery especially for marine commodities. Nitrogen and phosphorus are needed by *D. salina* can be obtained from *P. radiatus* fertilizer. The purpose of this research is to know the effect and optimal dose of *P. radiatus* fertilizer to density and carotenoid content of *D. salina*. The research was conducted on March–May in the Natural Feed Laboratory, BBPBAP Jepara Central Java. The research method was used completely randomized design. The treatments used is P0 (control) (Walne 0,5 mL/L), and *P. radiates* fertilizer is treatments P1 (60 mL/L), P2 (120 mL/L), P3 (180 mL/L), with 3 replicates. The density of *D. salina* cells is observed for ten days. Carotenoid measurement in the exponential phase using a spectrophotometer. The results showed that the *P. radiatus* fertilizer as a media culture gives an effect on the density and carotenoid content of *D. salina*. *Phaseolus radiatus* fertilizer showed the best density and carotenoid content at

dose 60 mL/L. The amount of density in the exponential phase was 476.67×10^4 cells/mL with a carotenoid content of 0.967 $\mu\text{g/mL}$.

Keyword: *Dunaliella salina*, *Phaseolus radiates*, Density, Carotenoid

1. Pendahuluan

Dunaliella salina termasuk salah satu jenis fitoplankton dalam kelas Chlorophyceae (alga hijau) yang sering disebut flagellata hijau bersel satu (*green unicellulair flagellata*) (Masithah *et al.*, 2011). *D. salina* memiliki bentuk sel yang bervariasi yaitu elips, bulat telur dan silinder tergantung konsentrasi kadar garam lingkungan dan mempunyai dua flagella yang sama panjang. *D. salina* memiliki panjang 2-28 μm dan lebar 1-15 μm (Ben-Amotz *et al.*, 2009). Panjang, lebar dan volume sel dapat berubah seiring dengan meningkatnya konsentrasi salinitas perairan (Borowitzka and Siva, 2007 dalam wahyuni 2018). *D. salina* hidup di perairan laut (Zainuddinet *et al.*, 2017). *D. salina* dapat melakukan reproduksi aseksual dan seksual. Reproduksi aseksual terjadi pada kondisi normal atau lingkungan sesuai dengan kebutuhan *D. salina* (Borowitzka and Siva, 2007 dalam Hermawan, 2016). Reproduksi seksual dapat terjadi sebagai respon dari perubahan lingkungan ekstrim seperti nutrisi yang rendah melalui proses gametogenesis dengan memproduksi isogamet yang terlihat seperti zoospora (Polle and Qin, 2009).

Dunaliella salina berperan penting dalam lingkungan perairan sebagai produsen primer, karena *D. salina* bersifat fotosintetik, mempunyai klorofil untuk menangkap energi matahari dan karbon dioksida menjadi karbon organik yang berguna sebagai sumber energi bagi kehidupan organisme air. Mikroalga ini memiliki kandungan nutrisi sebesar 6-18% lipid, 50-60% protein, 40-50% karbohidrat, dan karotenoid (Chen *et al.*, 2011). Nutrisi yang diperlukan alga dalam jumlah besar adalah karbon, nitrogen, fosfor, sulfur, natrium, magnesium, kalium dan kalsium. Sedangkan unsur hara yang dibutuhkan dalam jumlah relatif sedikit adalah besi (Fe), tembaga (Cu), mangan (Mn), seng (Zn), silikon (Si), boron (B), molibdenum (Mo), vanadium (V) dan kobalt (Co) (Chumadi *et al.*, 1992). Faktor pendukung untuk meningkatkan pertumbuhan *D. salina* adalah faktor lingkungan seperti salinitas, pH, intensitas cahaya, dan suhu. Pada penelitian Kusumaningrum dan Zainuri (2013), menyatakan bahwa karotenoid dapat digunakan sebagai pakan unggul dan meningkatkan daya tahan tubuh larva udang.

Tauge kacang hijau banyak mengandung nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroalga. Tauge kacang hijau merupakan jenis sayuran yang umum dikonsumsi, mudah diperoleh, ekonomis dan tidak menimbulkan efek yang bersifat toksik. Tauge banyak mengandung nutrisi yang dibutuhkan bagi pertumbuhan mikroalga (Prihantini *et al.*, 2007). Vitamin yang terdapat dalam tauge kacang hijau adalah vitamin C, thiamin, riboflavin, niasin, asam panthotik, folat, kolin, vitamin A, vitamin E (α - tokoferol), dan vitamin K. Mineral yang terdapat dalam tauge adalah kalsium (Ca), besi (Fe), magnesium (Mg), fosfor (P), potasium (K), sodium (Na), zinc (Zn), tembaga (Cu), mangan (Mn), selenium (Se) (Maulana, 2010). Penelitian penggunaan bahan alami sebagai media kultur dilakukan oleh Septiana (2016) menggunakan ekstrak daun lamtoro yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan kandungan karotenoid *Dunaliella* sp. Robi (2014) menyatakan bahwa pemanfaatan ekstrak tauge kacang hijau (*P. radiatus*) sebagai pupuk dapat meningkatkan populasi *Spirulina* sp

2. Bahan dan Metode

2.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal Maret-Mei 2019. Bertempat di Laboratorium Pakan Alami, Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Sedangkan untuk analisis karotenoid *D. salina* dilakukan di Lab. Chem-Mix Pratama, Kretek, Jambidan, Banguntapan, Bantul, Yogyakarta

2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Erlenmeyer, gelas ukur, *objek glass*, *cover glass*, pipet tetes, *beaker glass*, corong, sedotan, aluminium foil, *haemocytometer*, blender, saringan, timbangan analitik, *hand counter*, tong 100 L, pH meter, lux meter, parafilm, mikroskop Olympus CX43, refraktometer, lampu TL

40 watt, *autoclave*, botol sampel 150 mL, selang aerasi, spektrofotometer, rak kultur, baskom, kapas dan kain kasa serta alat tulis. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu air laut steril, pupuk tauge kacang hijau, *Dunaliella salina*, alkohol 70%, akuades, klorin 60 ppm, Na-Thiosulfat, plastic gelap, formalin 4% dan kertas label.

2.3. Metode Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), karena dalam penelitian ini semua dikondisikan sama kecuali perlakuan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah menggunakan intensitas cahaya yang berbeda sebanyak 4 perlakuan. Untuk memperkecil kekeliruan masing-masing taraf perlakuan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Perlakuan yang digunakan adalah sebagai berikut :

- P0 (kontrol) : Menggunakan pupuk Walne 0,5 mL/L
- P1 : Menggunakan ekstrak tauge kacang hijau 60 mL/L
- P2 : Menggunakan ekstrak tauge kacang hijau 120 mL/L
- P3 : Menggunakan ekstrak tauge kacang hijau 180mL/L

2.4. Persiapan Penelitian

Sterilisasi ruangan diawali dengan membersihkan ruang kultur lalu dilakukan penyemprotan alkohol 70% pada rak kultur beberapa kali sampai merata kemudian dibersihkan menggunakan tisu. Sterilisasi peralatan yaitu erlenmeyer dan selang aerasi yang dicuci menggunakan sabun dan air hingga bersih kemudian dikeringkan pada rak pengering. Sterilisasi bahan yaitu air laut dengan menambahkan larutan klorin 60 ppm kemudian didiamkan selama 24 jam dan diberi aerasi, untuk menetralkan bau klorin ditambahkan lagi larutan Na-Thiosulfat dengan dosis separuh dari dosis klorin dan diaerasi selama 24 jam. Air laut yang telah disterilkan menggunakan klorin dan Na-Thiosulfat kemudian dimasukkan ke dalam 12 erlenmeyer yang telah disterilkan sebanyak 1 L pada setiap erlenmeyer. Kemudian pada bagian mulut erlenmeyer diberi penutup kapas yang dibungkus dengan menggunakan kain kasa dan aluminium foil. Sterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 2-3 jam, ini bertujuan supaya media yang digunakan dalam pengkulturan benar-benar steril dan bebas dari kontaminasi.

2.5. Pembuatan Pupuk Tauge Kacang Hijau

Tahap pembuatan pupuk tauge yang dijadikan media yaitu tauge segar (kecambah kacang hijau) yang diperoleh dari hasil pembelian dipasar Ratu Jepara. Tauge tersebut berumur 48 jam, hal ini dikarenakan peningkatan vitamin E (a-tokoferol) terjadi pada proses perkecambahan selama 48 jam (Anggrahini, 2007). Tauge sebanyak 100 g dan 500 mL akuades, kemudian dihaluskan menggunakan blender, setelah halus disaring menggunakan saringan (18 mesh). Hasil saringan tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer steril dan ditutup menggunakan kapas yang dibaluti kain kasa serta aluminium foil. Kemudian dipanaskan sampai mendidih pada suhu 100°C, sehingga akan terbentuk 2 lapisan antara larutan dan endapan. Setelah 2 jam pupuk tauge tersebut disaring kembali menggunakan kapas yang diletakkan ke dalam corong, agar hasil saringannya benar-benar bersih. Setelah itu dilakukan pemanasan kembali sampai mendidih. Hasil ekstrak tauge tersebut kemudian didinginkan sebelum digunakan.

2.6. Perhitungan dan Penebaran Bibit *D. salina*

Tahapan dalam perhitungan yaitu *haemocytometer* yang akan digunakan dibersihkan menggunakan alkohol 70% dan dikeringkan menggunakan tisu, kemudian ditutup menggunakan *cover glass*. Untuk pengukuran kepadatan sel *D. salina* dilakukan dengan cara mengambil 1 mL media kultur dari Erlenmeyer bervolume 2000 mL, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 mL akuades, lalu homogenkan. Selanjutnya ambil 1 ml sampel yang telah diencerkan tersebut, masukkan kedalam botol bervolume 3 ml, tambahkan 1 tetes formalin 4% yang berfungsi untuk mematikan sel dan diteteskan pada *Haemocytometer*, lalu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 10. Hitung kepadatan sel *D. salina* pada 25 kotak yang terlihat di *Haemocytometer* menggunakan alat bantu *hand counter*. Jumlah *D. salina* yang terhitung dikalikan 10^4 . Jumlah kepadatan sel dihitung dengan menggunakan rumus di bawah ini :

$$\text{Kepadatan sel (sel/ml)} N = \text{Jumlah total sel} \times 10^4$$

Menurut Kwangdinata *et al.* (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)

Kepadatan inokulum yang diperoleh yaitu 58×10^5 sel. Sehingga dengan mengambil 51,7 mL inokulum tersebut sama dengan 30×10^4 sel *D. salina* yang dimasukkan kedalam media kultur penelitian bervolume 1000 mL. Kondisi lingkungan yang perlu disiapkan adalah pengaturan suhu ruangan menggunakan AC yaitu 20°C-23°C.

2.7. Pengamatan Fase Pertumbuhan *D. salina*

Pengamatan fase pertumbuhan dilakukan dengan cara menghitung kepadatan sel *D. salina* 24 jam sekali selama 10 hari. Kepadatan sel dihitung dengan cara mengambil 1 mL media kultur *D. salina* pada setiap perlakuan menggunakan pipet tetes dan diberi 1 tetes formalin 4% yang berfungsi untuk mematikan sel dan ditetaskan pada *Haemocytometer*, lalu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 10. Hitung kepadatan sel *D. salina* pada 25 kotak yang terlihat di *Haemocytometer* menggunakan alat bantu *hand counter*. Jumlah *D. salina* yang terhitung dikalikan 10^4 .

2.8. Analisis Karotenoid *D. Salina*

Pengukuran kandungan karotenoid *D. salina* dilakukan pada fase eksponensial yaitu pada hari ke-6. Menurut Vo dan Tran (2014), metode analisis karotenoid dilakukan yaitu dengan mengambil sampel *D. salina* sebanyak 1 mL disentrifugasi pada kecepatan 1.000 rpm selama 5 menit hingga terbentuk 2 lapisan (supernatan dan endapan). Endapan yang diperoleh diekstraksi dengan 3 mL etanol dan 1,5 mL dietil eter, pemberian dietil eter berfungsi untuk memudahkan pembacaan sampel pada spektrofotometer. Selanjutnya vortex hingga homogen kemudian dilakukan penambahan 2 mL akuades dan 4 mL dietil eter. Campuran tersebut dikocok kuat dan disentrifugasi kembali pada kecepatan 1.000 rpm selama 5 menit. Lapisan dietil eter dipisahkan, kemudian diukur pada panjang gelombang 450 nm dengan suhu 4°C. Nilai yang diperoleh setara dengan microgram (μg) karotenoid per mL. Panjang gelombang diukur menggunakan spektrofotometer. Menurut Prieto *et al.*, (2011), rumus yang dapat digunakan dalam menentukan konsentrasi karotenoid yaitu:

$$\text{Konsentrasi karotenoid } (\mu\text{g/mL}) = 25,2 \times A_{450}$$

Keterangan:

25,2 : nilai konstanta pengukuran karotenoid

A450 : serapan pada panjang gelombang 450 nm

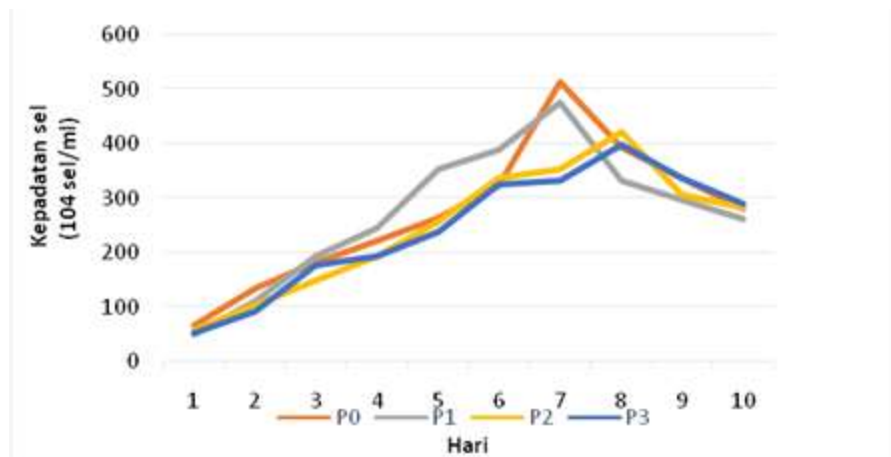
2.9. Analisis Data

Data yang diperoleh dari parameter yang diukur meliputi pertumbuhan sel *D. salina*, pH, suhu, salinitas dan kandungan karotenoid disajikan dalam bentuk tabel dan grafis. Untuk mengetahui pengaruh pupuk berbeda terhadap pertumbuhan dan kandungan karotenoid *D. salina* dalam media pupuk tauge kacang hijau (*P. radiatus*) dilakukan analisis variansi (ANOVA) dengan menggunakan uji statistik F. Apabila $p < 0,05$ maka ada pengaruh pupuk berbeda terhadap pertumbuhan dan kandungan karotenoid *D. salina* dalam media pupuk tauge kacang hijau (*P. radiatus*). Selanjutnya untuk mengetahui adanya perbedaan antara tiap perlakuan maka dilakukan rentang uji Newman-Keuls (Sudjana, 1991).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Kepadatan *D. Salina*

Penghitungan kepadatan sebagai tanda adanya proses pertumbuhan *D. salina*, dilakukan setiap hari hingga hari ke 10 dengan menggunakan *haemocytometer*. Fase kepadatan *D. salina* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik rata-rata kepadatan sel *Dunaliella salina* selama 10 hari.

Kultur *D. salina* dengan pemberian pupuk Walne dan pupuk tauge kacang hijau dapat memberikan pengaruh terhadap kepadatan *D. salina*. Pada P0 dan P1 mengalami fase adaptasi pada hari pertama. Pada P2 dan P3 fase adaptasi terjadi pada hari pertama sampai hari ke-2. Fase adaptasi ditandai dengan pertumbuhan yang tidak terlalu signifikan, hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar dan Krieg (1986) dalam Hermawan (2016), bahwa pada fase adaptasi mikroalga akan tetap tumbuh namun belum aktif bereproduksi. Menurut Prihantini *et al.* (2007) menyatakan bahwa fase adaptasi menandakan sel *D. salina* mampu menyerap dan memanfaatkan nutrisi dalam media ekstrak tauge kacang hijau untuk pertumbuhannya. Fase adaptasi biasanya terjadi ketika inokulum diinokulasikan ke dalam media baru yang berbeda komponen kimianya, sel-sel yang diinokulasi melakukan perubahan kimiawi dan fisiologis untuk menyesuaikan kembali aktivitas metabolismenya agar dapat tumbuh dalam media baru.

Pertumbuhan *D. salina* pada fase eksponensial ditandai dengan adanya peningkatan yang sangat cepat dari jumlah kepadatan *D. salina*. Fase eksponensial pada P0 dan P1 terjadi pada hari ke-2 sampai hari ke-7. Pada P2 dan P3 fase eksponensial terjadi pada hari ke-3 sampai hari ke-8. Sel inokulan pada fase ini sudah memanfaatkan nutrisi dalam media untuk pertumbuhan dan bereproduksi lebih banyak (Kabinawa, 2006), terutama N dan P. Pada penelitian ini, puncak kepadatan terjadi pada P0 (kontrol) hari ke-7 dengan jumlah kepadatan $512,63 \times 10^4$ sel/mL. Pada perlakuan P1 puncak kepadatan terjadi pada hari ke-7 dengan kepadatan $476,67 \times 10^4$ sel/mL. P2 terjadi pada hari ke-8 dengan jumlah kepadatan 422×10^4 sel/mL, dan yang terendah yaitu P3 pada hari ke-8 dengan jumlah kepadatan $399,67 \times 10^4$ sel/mL. Fase puncak kepadatan dari setiap perlakuan berbeda-beda, ini disebabkan adanya perbedaan dosis pada media pupuk tauge kacang hijau yang diberikan dan kandungan dari pupuk walne.

Kepadatan *D. salina* memiliki fase stationer, namun pada penelitian ini fase stationer terjadi dalam waktu yang cepat sehingga kepadatan dalam fase stationer tidak teramati. Hal ini sesuai dengan pendapat Kwaroe (2010), menyatakan umumnya untuk kelimpahan sel yang rendah dalam kultivasi terjadi stationer pendek sehingga menyulitkan pada saat pengamatan.

Kepadatan *D. salina* mengalami fase kematian yaitu P0 dan P1 pada hari ke-8 sampai 10, sedangkan P2 dan P3 pada hari ke-9 sampai 10. Menurut Kwaroe (2010), menyatakan bahwa fase kematian diindikasikan oleh kematian sel mikroalga yang terjadi karena adanya perubahan kualitas air kearah yang buruk. Penurunan kandungan nutrisi dalam media kultivasi dan kemampuan metabolisme mikroalga yang menurun akibat dari umur yang sudah tua. Fase ini ditandai dengan warna air media kultivasi berubah, terjadi buih di permukaan media kultivasi serta gumpalan mikroalga yang mengendap di dasar wadah kultivasi.

Hasil pengamatan selama 10 hari menunjukkan bahwa kepadatan sel *D. salina* tertinggi pada hari ke-7 dengan pemberian pupuk Walne yaitu P0 (0,5 mL/L), dan yang kedua pemberian pupuk tauge kacang hijau yaitu P1 (60 mL/L). Hal ini disebabkan pupuk yang diberikan sesuai dengan kebutuhan sel sehingga dapat mencapai puncak kepadatan tertinggi. Sedangkan pupuk tauge kacang hijau pada P2 (120 mL/L) dan P3 (180 mL/L) puncak kepadatan terjadi pada hari ke-8. Hal ini karena pupuk yang diberikan melebihi kebutuhan sel *D. salina* menyebabkan laju pertumbuhan lambat sehingga menghasilkan kepadatan yang rendah. Hal ini didukung oleh Robi (2014), mengatakan bahwa adanya perbedaan puncak kepadatan pada setiap perlakuan disebabkan oleh adanya perbedaan dosis pupuk tauge kacang hijau yang diberikan dan kandungan dari pupuk Walne. Hasil uji Anova kepadatan sel *D. salina* pada puncak kepadatan disetiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil kepadatan *Dunaliella salina* pada puncak kepadatan

Perlakuan	Puncak kepadatan 10^4 sel/ml $\pm$ Std	Hari
P0	512.63 $\pm$ 18.21547 ^c	7
P1	476.67 $\pm$ 18.77054 ^{bc}	7
P2	422 $\pm$ 50.02999 ^{ab}	8
P3	399.67 $\pm$ 20.033311 ^a	8

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Hasil uji lanjut Student Newman Keuls, menunjukkan P0 (Walne 0,5 mL/L) berbeda nyata terhadap P3 (pupuk tauge kacang hijau 180 mL/L). Namun P0 (Walne 0,5 mL/L) tidak berbeda nyata dengan P1 (pupuk tauge kacang hijau 60 mL/L) dan P1 (pupuk tauge kacang hijau 60 mL/L) tidak berbeda nyata dengan P2 (pupuk tauge kacang hijau 120 mL/L). Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh dari kandung nutrisi dalam pupuk yang meliputi makronutrien dan mikronutrien yang mampu memenuhi kebutuhan nutrisi *D. salina*. Menurut Astrid *et al.* (2013) mengatakan bahwa unsur yang paling penting dibutuhkan dalam kultur *D. salina* adalah N, P dan Fe.

P0 menggunakan pupuk Walne yang memiliki nilai puncak kepadatan tertinggi. Hal ini disebabkan karena pupuk Walne memiliki komposisi nutrisi lengkap termasuk nitrogen yang sesuai dengan kebutuhan *D. salina* sehingga *D. salina* dapat tumbuh dengan baik, sedangkan pupuk tauge kacang hijau tidak memiliki kandungan nitrogen sehingga pada media kultur *D. salina* tidak terjadi penambahan nitrogen. Widianingsih *dalam* Robi (2014), menyatakan bahwa pupuk Walne memiliki konsentrasi nutrisi optimum sehingga *D. salina* mencapai pertumbuhan maksimum.

Pupuk tauge kacang hijau yang tertinggi yaitu terdapat pada P1 dengan dosis 60 mL/L merupakan dosis terbaik untuk pertumbuhan *D. salina* dan mendapatkan jumlah kepadatan tertinggi. Hal ini dikarenakan dosis pupuk tauge sesuai dengan kebutuhan sel *D. salina*. Nitrogen dan fosfor merupakan faktor penting dalam proses fotosintesis. Hasil dari proses fotosintesis tersebut akan menghasilkan glukosa dan energi yang digunakan dalam metabolisme sel sehingga pertumbuhan *D. salina* mengalami peningkatan dan mencapai kepadatan maksimum. Menurut Prihantini *et al.* (2007) menyatakan bahwa pupuk tauge kacang hijau memiliki vitamin yang berperan sebagai *growth factor* dalam pertumbuhan alga. Media perlakuan dengan menggunakan pupuk tauge kacang hijau mengandung nutrisi organik seperti karbohidrat, protein dan lemak yang dibutuhkan sebagai sumber energi. Karbohidrat, protein dan lemak bila diuraikan menjadi monomer-monomer penyusunnya pada akhirnya menjadi asetil KoA, selanjutnya asetil KoA masuk ke dalam siklus krebs, dilanjutkan dengan rantai transpor elektron yang akan menghasilkan ATP. Energi yang terkandung dalam ATP digunakan untuk pertumbuhan dan pembelahan sel *D. salina* (Prihantini *et al.*, 2007).

Jumlah kepadatan *D. salina* terendah yaitu pada P3 dengan dosis 180 mL/L, hal ini dikarenakan dosis yang diberikan melebihi kebutuhan *D. salina*. Berdasarkan data dari United State Environmental Agency (USEPA) *dalam* Robi (2014) bahwa pupuk tauge kacang hijau memiliki tembaga (Cu) dan seng (Zn) yang merupakan unsur yang berbahaya yang bersifat toksisitas (racun) yang menurunkan pertumbuhan alga. Menurut Weissner (1962) *dalam* Prihantini *et al.* (2007), mengatakan bahwa kelebihan nutrisi tertentu tidak menyebabkan gangguan yang berarti pada metabolisme sel, akan tetapi kelebihan nutrisi yang termasuk ke dalam logam seperti Cu dan Mn dapat mengganggu metabolisme sel.

3.2. Kandungan Karotenoid *D. Salina*

Analisa kandungan karotenoid pada *D. salina* dilakukan pada hari ke-6 setiap perlakuan. Hasil rata-rata kandungan karotenoid *D. salina* pada semua perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil kandungan karotenoid *Dunaliella salina* pada hari ke-6

Perlakuan	Dosis	Karotenoid $\mu\text{g/ml} \pm \text{Std}$
P0	0,5 ml/L	1,01 $\pm$ 0,723 ^b
P1	60 ml/L	0,97 $\pm$ 0,11 ^b
P2	120 ml/L	0,91 $\pm$ 0,11 ^b
P3	180 ml/L	0,62 $\pm$ 0,44 ^a

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Hasil uji ANAVA dengan pemberian pupuk tauge kacang hijau yang berbeda berpengaruh terhadap kandungan karotenoid *D. salina*. Hasil uji lanjut Student Newman Keuls, menunjukkan P0 (walne 0,5 mL/L) berbeda nyata terhadap P3 (pupuk tauge kacang hijau 180 mL/L). Namun, P0 (walne 0,5 mL/L) tidak berbeda nyata dengan P1 (pupuk tauge kacang hijau 60 mL/L) dan P2 (pupuk tauge kacang hijau 12 mL/L).

Karotenoid diuji pada fase eksponensial dapat diketahui bahwa kandungan karotenoid tertinggi yaitu pada P0 (kontrol) sebesar 1,01 $\mu\text{g/mL}$ dan diikuti dengan peningkatan kandungan karotenoid dari P1 sebesar 0,97 $\mu\text{g/mL}$, P2 sebesar 0,91 $\mu\text{g/mL}$, P3 sebesar 0,62 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Mendoza *et al.* (2008), pembentukan karotenoid pada mikroalga dipengaruhi oleh beberapa parameter antara lain kecepatan pembelahan sel, kepadatan sel, produksi biomassa, perbandingan jumlah klorofil dan ukuran sel.

Pada P1 didapatkan kandungan karotenoid tertinggi. Hal ini disebabkan karena pupuk tauge kacang hijau memiliki kandungan nitrogen yang rendah. Menurut Pisal dan 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 β -karoten yang berfungsi untuk melindungi sel dalam kondisi stres sehingga dapat mempertahankan pertumbuhannya. Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan kandungan karotenoid tertinggi terdapat pada P0 sebesar 1,0133 $\mu\text{g/mL}$ kemudian diikuti P1 sebesar 0,967 $\mu\text{g/mL}$, P2 sebesar 0,907 $\mu\text{g/mL}$ dan yang terendah pada P3 sebesar 0,62 $\mu\text{g/mL}$.

Dosis 180 ml/L pada P3 menghasilkan kandungan karotenoid terendah, hal ini dapat disebabkan karena jumlah pupuk yang diberikan melebihi kebutuhan *D. salina*. Nutrien yang diberikan pada media kultur dalam jumlah berlebih dapat bersifat racun sehingga dapat menghambat pertumbuhan fitoplankton, tingkat efektivitas pemanfaatan nutrien dan dapat juga disebabkan kondisi media kultur yang semakin keruh akibat penumpukan pupuk organik. Menurut Utami (2014), Semakin tinggi konsentrasi pupuk *Sesbania grandiflora* yang diberikan maka tingkat kekeruhan juga semakin tinggi, menyebabkan pemanfaatan cahaya oleh fitoplankton untuk fotosintesis semakin berkurang.

3.3. Parameter Kualitas Air

Parameter kualitas air sangat mempengaruhi pertumbuhan *D. salina*. Parameter yang diukur meliputi suhu, pH dan salinitas. Kisaran nilai kualitas air secara umum selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kisaran Nilai Kualitas Air Kultur *D. salina*

No	Parameter	Hasil				Optimum
		P0	P1	P2	P3	
1	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	20-23	20-23	20-22	20-22	20-23*
2	Salinitas	30-35	30-35	30-33	30-32	30-38**
3	pH	8,1-8,6	8,1-8,7	8,2-8,6	8,2-8,7	6-9***

Sumber: * (Tafreshi dan Shariati, 2009); ** (Kusdarwati *et al.*, 2011); *** (Celekli dan Donmez 2009)

Hasil kualitas air selama kultur menunjukkan bahwa suhu mengalami kenaikan pada waktu yang tidak dapat ditentukan. Hal ini disebabkan karena pada umumnya suhu dapat dikendalikan dengan bantuan alat seperti AC di ruang kultur agar tidak terjadi stratifikasi suhu yang terlalu tinggi. Stratifikasi suhu yang terlalu tinggi ini

diduga karena ada perubahan cuaca yang ekstrem pada saat proses pemeliharaan, meskipun pada penelitian dilakukan didalam ruangan yang dapat dikontrol, namun pengaruh letak ruangan kultur yang menghadap sinar matahari dapat mempengaruhi suhu (Wahyuni, 2018). Intensitas cahaya tinggi dapat menyebabkan suhu media kultur meningkat. Suhu yang tinggi dapat mempengaruhi metabolisme sel. Ini berefek pada pertumbuhan, seperti pendapat Pariawan (2014), bahwa rata-rata pertumbuhan tergantung pada temperatur. Metabolisme enzim berfungsi sebagai biokatalisator dan sangat dibutuhkan keberadaannya. Enzim merupakan biokatalisator yang mampu mempercepat jalannya reaksi tanpa ikut bereaksi. Salah satu sifat enzim yaitu sangat peka terhadap faktor-faktor yang menyebabkan denaturasi protein misalnya suhu. Pada penelitian ini didapatkan hasil yang sesuai dengan suhu optimum yaitu 20-23°C.

Perubahan suhu tersebut akan mempengaruhi salinitas media kultur karena berkaitan dengan proses penguapan yang mengakibatkan garam pada media kultur mengalami pengkristalan. Salinitas pada media kultur *D. salina* yaitu 30-35 ppt. jika salinitas mengalami kenaikan karena adanya perubahan suhu maka akan dilakukan pengenceran untuk mengembalikan salinitas awal yaitu 30 ppt. Salinitas yang terlalu ekstrem akan menyebabkan pertukaran ion yang terlalu tinggi antara lingkungan dengan cairan didalam sel sehingga dapat mengganggu proses metabolisme organisme fotosintetik (Djunaedi *et al.*, 2017). Menurut Zainuddin *et al.* (2017), kadar garam yang berubah-ubah dalam air dapat menimbulkan hambatan bagi kultur mikroalga. Salinitas yang terlalu tinggi menyebabkan terganggunya tekanan osmotik kulturan. Namun pada penelitian ini didapatkan salinitas sesuai dengan kadar optimum yang dibutuhkan oleh *D. salina*. Jika salinitas mengalami kenaikan karena adanya perubahan suhu maka akan dilakukan pengenceran untuk mengembalikan salinitas awal yaitu 30 ppt.

Perubahan nilai pH yang drastis dapat menghambat proses fotosintesis dan pertumbuhan mikroalga (Prihantini *et al.*, 2005). Bila temperatur naik akibatnya pH turun dan kadar oksigen juga turun (Yanti, 2016). pH pada media kultur *D. salina* selama penelitian berkisar 8,1-8,7 artinya masih dibawah normal bagi pertumbuhan *D. salina*.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa pemberian pupuk tauge kacang hijau berpengaruh terhadap kepadatan dan kandungan karotenoid *D. salina*. Perlakuan yang terbaik yaitu pada P1 dengan dosis pupuk tauge kacang hijau 60 ml/L sebanyak $476,67 \times 10^4$ sel/mL. Kandungan karotenoid tertinggi terdapat pada P1 dengan dosis pupuk tauge kacang hijau 60 ml/L sebesar 0,967 µg/mL.

5. Referensi

- Anggrahini, S. 2007. Pengaruh Lama Pengecambahan Terhadap Kandungan A-Tokoferol dan Senyawa Proksimat Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L.) *J Agritech*. 27(4).
- Astrid, T.S., B.S. Rahardja dan E.D. Masithah. 2013. Pengaruh Konsentrasi Pupuk *Lemna minor* terhadap Populasi *Dunaliella salina*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol. 5:1.
- 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.
- Chen, C.Y., K.L. Yeh, R. Aisyah, D.J. Lee, and J.S.Chang. 2011. *Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review*", *Bioresource Technology*, 102, hlm
- Chumadi. 1992. *Pedoman Teknis Budidaya Pakan Alami Ikan dan Udang*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. 10 hlm.
- Djunaedi, A., C.A. Suryono, dan Sardjitto. 2017. Kandungan Pigmen Polar Dan Biomassa Pada Mikroalga *Dunaliella salina* dengan Salinitas Berbeda. *Jurnal Kelautan Tropis*. 20(1):1-6.
- Hermawan, J. 2016. Peningkatan Kandungan B-Karoten Pada Fitoplankton *Dunaliella salina* dengan Media Salinitas yang Berbeda. [Skripsi]. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kabinawa, I. Nyoman K. 2006. *Spirulina : Ganggang Penggempur Aneka Penyakit*. PT. AgroMedia Pustaka. Depok.
- Kawaroe, M.T., A. Prartono, Sunuddin, D.W. Sari, dan D. Augustine. 2010. *Mikroalga: Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. Penerbit Institut Pertanian Bogor Press. Bogor.
- 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.

- 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.
- Maulana, A.I.,. 2010. Pengaruh Ekstrak Tauge (*Phaseolus radiatus*) terhadap Kerusakan Sel Ginjal Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Parasetamol. *Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret*. Surakarta.
- Mendoza, H., A. Jara, K. Freijanes, L. Carmona, A.Ramos, V.S. Duarte, and J.C.S. Varela. 2008. Characterization of *Dunaliella salina* Strains by Flow Cytometry: a New Approach to Select Carotenoid Hyperproducing Strains. *Electronic J. Biotechnol.* 11(4):1-13
- Pariawan, A. 2014. Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Kandungan Karotenoid *Chlorella* sp. [Skripsi]. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Pisal, D.S. and S.S. Lele. 2004. Carotenoid Production from Microalgae *Dunaliella salina*. *Indian Journal of Biotechnology*. 4 : pp. 476-483.
- Polle, J.E.W. and S. Qin. 2009. Development of Genetics and Molecular Tool Kits for Species of the Unicellular Green Alga *Dunaliella* (Chlorophyceae). In : A. Ben-Amotz, ed. *The Alga Dunaliella Biodiversity, Physiology, Genomics and Biotechnology*. USA: Science Publisher. pp.403-409.
- Prieto, A., J.P. Canavate, and M. Garzia-Gonzalez. 2011. Assessment of Carotenoid Production by *Dunaliella salina* in Different Culture Systems and Operation Regimes. *Journal of Biotechnology*. 151, 180-185.
- Prihantini, N.B., D. Damayanti dan R. Yuniati. 2007. Pengaruh Konsentrasi Medium Ekstrak Tauge (MET) terhadap Pertumbuhan *Scenedesmus* Isolat Subang. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan IPA Universitas Indonesia Depok. 11(1): 2-9.
- Robi, N.H. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Tauge Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*) Sebagai Pupuk Untuk Meningkatkan Populasi *Spirulina* sp. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Septiana, I. 2016. Pertumbuhan dan Kandungan Karotenoid Mikroalga *Dunaliella* sp. dalam Media Ekstrak Daun Lamtoro. Skripsi. Lampung. Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Sudjana, Nana. 1991. *Tuntunan Penyusunan Karya Ilmiah*. Bandung : Sinar Baru.
- Utami, R. A. 2014. Pengaruh Pemberian Konsentrasi Pupuk Daun Turi Putih (*Sesbania grandiflora*) terhadap Kandungan Klorofil dan Karotenoid pada *Chlorella* sp. [Skripsi]. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Vo, T., and Tran, D. 2014. Carotene and Antioxidant Capacity of *Dunaliella salina* Strains. *World Journal of Nutrition and Health*. 2 (2), 21-23.
- Wahyuni, N. 2018. Pengaruh Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Pada Media Kultur terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Karotenoid *Dunaliella salina*. [Skripsi]. Banyuwangi: Universitas Airlangga.
- Yanti, N. D. 2016. Penilaian Kondisi Keasaman Perairan Pesisir dan Laut Kabupaten Pangkajene Kepulauan pada Musim Peralihan I. [Skripsi]. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Zainuddin, M., N. Hamid, L. Mudiarti, N. Kursistyanto, dan B. Aryono. 2017. Pengaruh Media Hiposalin Dan Hipersalin Terhadap Respon Pertumbuhan dan Biopigmen *Dunaliella salina*. *Jurnal Enggano*. 2(1): 46-57.