PENGARUH SALINITAS TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA DAN KLOROFIL-a DUNALIELLA SP.

Muhammad Fakhri^{a,b,*}, Laksmana Wisnu^a, Arning Wilujeng Ekawati^a

^aProgram Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya,
Jl. Veteran, Malang, Indonesia

^bKelompok Kajian Aquatic Biofloc, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya,
Jl. Veteran, Malang, Indonesia

*Koresponden penulis : mfakhri@ub.ac.id

Abstrak

Dunaliella sp. merupakan mikroalga hijau yang kaya beta karoten dan klorofil, bersifat *euryhaline*, dan telah banyak dimanfaatkan untuk budidaya ikan dan udang. Salah satu strategi yang dilakukan untuk meningkatkan produktivitas mikroalga adalah dengan melakukan optimasi kondisi lingkungan. Salinitas merupakan faktor esensial yang mempengaruhi pertumbuhan dan kandungan biokimia *Dunaliella*. Tujuan penelitian ini adalah untuk menjelaskan pengaruh salinitas yang berbeda dan menentukan salinitas terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil-a *Dunaliella* sp. Salinitas yang berbeda yaitu 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt, dan 35 ppt digunakan pada penelitian ini. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa salinitas yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil-a *Dunaliella* sp. ($p < 0,05$). Salinitas terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil-a *Dunaliella* sp. diperoleh pada salinitas 15 ppt yang menghasilkan konsentrasi sel maksimum sebesar $9,86 \times 10^6$ sel/ml, biomassa 0,52 g/l, dan klorofil-a 11,26 mg/l. Laju pertumbuhan yang tinggi berhubungan dengan biomassa dan kandungan klorofil-a *Dunaliella* sp. Dapat disimpulkan bahwa salinitas yang berbeda memberikan pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil-a *Dunaliella* sp. Disarankan menggunakan salinitas 15 ppt untuk menghasilkan pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil-a *Dunaliella* sp. yang optimal.

Kata kunci: *euryhaline*, konsentrasi sel, laju pertumbuhan spesifik, mikroalga hijau, salinitas

Abstract

Dunaliella sp. is a euryhaline green microalga that is a source of beta carotene and chlorophyll and has been widely applied in fish and shrimp cultivation. One of the strategies to improve microalgae productivity is by optimizing environmental conditions. Salinity is one of the essential parameters that remarkably influence the growth and biochemical content of *Dunaliella*. The aim of this study was to explain the effect of different salinity and determine the best salinity for growth, biomass production, and chlorophyll-a of *Dunaliella* sp. Different salinities of 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt, and 35 ppt were used in this study. The results of this study indicated that salinity affects growth, biomass production, and chlorophyll-a content of *Dunaliella* sp. ($p < 0.05$). The best salinity for growth, biomass production, and chlorophyll-a content of *Dunaliella* sp. was obtained at a salinity of 15 ppt which resulted in a maximum cell concentration of 9.86×10^6 cells/ml, biomass 0.52 g/l, and chlorophyll-a 11.26 mg/l. The high growth rate is related to the biomass and chlorophyll-a content of *Dunaliella* sp. It can be concluded that salinity has a significant effect on growth, biomass production, and chlorophyll-a *Dunaliella* sp. It is recommended to use a salinity of 15 ppt for optimal growth and chlorophyll a content of *Dunaliella* sp.

Keywords: euryhaline, cell concentration, green microalgae, salinity, specific growth rate

PENDAHULUAN

Mikroalga adalah mikroorganisme autotrof, yang memanfaatkan energi cahaya dan nutrisi anorganik (karbondioksida, nitrogen, fosfor) untuk menghasilkan biomassa [1]. Dalam akuakultur, mikroalga

dimanfaatkan sebagai pakan alami untuk larva ikan, udang dan kerang karena mengandung asam lemak tak jenuh misalnya, asam *eicosapentaenoic* (EPA), asam arakhidonat dan asam *docosahexaenoic* (DHA) [2]. *Dunaliella* sp. merupakan mikroalga hijau (Chlorophyta) uniseluler [3]

Article history:

Diterima / Received 27-08-2020

Disetujui / Accepted 30-10-2020

Diterbitkan / Published 31-10-2020

©2020 at <http://jfmr.ub.ac.id>

dan memiliki kandungan protein 57%, lemak 6%, karbohidrat 32% [4] dan total karoten 0,19 ppm [5]. Selain itu, [6] menjelaskan bahwa *Dunaliella* merupakan tiga sumber produk penting yaitu gliserol, β -karoten, dan protein.

Faktor lingkungan seperti cahaya, nutrisi, suhu, pH dan salinitas mempengaruhi pertumbuhan dan komposisi kimia mikroalga [7]. Salinitas merupakan salah satu faktor paling penting yang mempengaruhi pertumbuhan, produktivitas mikroalga [8], [9], dan kandungan pigmen mikroalga [10].

Adaptasi dari setiap mikroalga terhadap salinitas adalah spesies-spesifik dan tergantung pada karakteristik fisiologis spesies [11] dan asal spesies [12]. [13] melaporkan bahwa salinitas berpengaruh terhadap pertumbuhan dan pigmen *Dunaliella* sp. [14] mengungkapkan bahwa *Chlorella* sp. menunjukkan pertumbuhan optimum ketika dikultur pada salinitas rendah. Akan tetapi, [15] melaporkan bahwa pertumbuhan *D. viridis* meningkat dengan meningkatnya salinitas.

Dunaliella merupakan organisme fotosintesis dominan di banyak lingkungan garam dan dapat beradaptasi dengan hampir seluruh rentang salinitas (*euryhaline*) [16] dari 10 hingga 50 ppt [17]. Namun, kisaran salinitas yang optimum menjadi faktor penting dalam pertumbuhan dan perkembangan *Dunaliella* sp. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk menentukan salinitas terbaik untuk menghasilkan produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp. yang optimal.

METODE

Strain dan Media Pertumbuhan Mikroalga

Bibit *Dunaliella* sp. diperoleh dari kultur murni Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut (BBRPBL) Gondol, Bali. Media yang digunakan adalah air laut dengan menggunakan pupuk Walne dan vitamin.

Stok *Dunaliella* sp. dikultur pada erlenmeyer 500 ml dengan media 300 ml air salinitas 15 ppt dengan menggunakan pupuk Walne 1 ml/l. Penyediaan inokulan *Dunaliella* sp. dilakukan selama 4 hari hingga fase logaritmik. Proses kultur inokulan dilakukan pada suhu 28°C dengan

intensitas cahaya 4.500 lux, lama penyinaran 24:0 siklus terang/gelap dan dilakukan aerasi secara kontinyu.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan salinitas yang berbeda yaitu 5, 15, 25 dan 35 ppt dan pengulangan sebanyak 3 kali. Penentuan salinitas dilakukan dengan cara mengencerkan air laut hingga mencapai salinitas yang diinginkan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. *Dunaliella* sp. dikultur dengan konsentrasi awal sel 2×10^5 sel/ml, pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$, lama penyinaran 24:0 siklus terang/gelap, intensitas cahaya 4.500 lux dan dilakukan aerasi secara terus menerus. Pengukuran konsentrasi sel dilakukan setiap hari sedangkan analisa biomassa dan klorofil-a dilakukan ketika sel mencapai konsentrasi sel tertinggi.

Analisis Pertumbuhan

Perhitungan konsentrasi sel *Dunaliella* sp. dilakukan menggunakan metode penghitungan konsentrasi sel menggunakan 0,1 mm deep Neubauer haemocytometer.

Laju pertumbuhan spesifik dianalisa dengan menggunakan rumus dari [15] yaitu:

$$\mu = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{t_2 - t_1}$$

dimana μ merupakan laju pertumbuhan spesifik (/hari) kultur, x_1 dan x_2 = konsentrasi sel pada waktu ke-1 (t_1) dan waktu ke-2 (t_2), berturut-turut.

Analisis Biomassa

Sampel mikroalga yang digunakan untuk analisis biomassa diperoleh Ketika mikroalga mencapai konsentrasi sel maksimal. Kertas saring GF/C (diameter 90 mm) dioven pada suhu 105°C selama 2 jam hingga beratnya konstan (A). Sampel suspensi mikroalga 25 ml difilter melalui kertas saring GF/C dan dicuci dengan 25 mL akuades untuk menghindari kontaminasi garam. Kemudian kertas saring dioven pada suhu 105°C selama 2 jam. Setelah dingin, kertas saring diletakkan di desikator selama 30-60 menit, kemudian beratnya ditimbang kembali (B) [18].

Berat kertas saring = A

$$\begin{aligned} \text{Berat kertas saring + alga} &= B \\ \text{Berat kering/biomassa (g/l)} &= \\ \frac{[B] - [A] \times 1000}{\text{Volume sampel}} \end{aligned}$$

Analisis Klorofil

Klorofil-a dianalisa dengan menggunakan modifikasi metode [19] dan [20]. Diambil 5 ml sampel tabung/falcon yang steril dan dibungkus aluminium foil tertutup rapat. Disentrifugasi 5 ml kultur mikroalga pada 6.000 rpm selama 10 menit dan dibuang supernatan dilakukan proses *freezing-thawing* masing-masing 15 menit (hingga membeku dan mencair) selama 3 siklus dan ditambahkan 5 ml metanol absolut pada pellet, dipanaskan pada suhu 70°C selama 15 menit, divortex sampai homogen. Diinkubasi pada suhu 4°C dalam keadaan gelap selama 24 jam. Sampel divortex dan dilakukan sentrifugasi 6.000 rpm selama 10 menit. Kemudian diambil supernatan untuk diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 665 nm dan 652 nm. Perhitungan klorofil a (mg/l) menurut [21]:

$$\text{Chl a} = -8,0962 \times \text{OD}_{652} + 16,5169 \times \text{OD}_{665}$$

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan uji one-way ANOVA dan uji BNT melalui SPSS 16. Selang kepercayaan yang digunakan $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Pertumbuhan dan Biomassa

Data laju pertumbuhan, konsentrasi sel maksimum, dan produksi biomassa *Dunaliella* sp. pada salinitas 5, 15, 25, dan 35 ppt dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa salinitas yang berbeda berpengaruh terhadap laju pertumbuhan sel dan produksi biomassa *Dunaliella* sp. ($p < 0,05$). Laju pertumbuhan spesifik dan konsentrasi sel maksimum tertinggi diperoleh pada perlakuan salinitas 15 ppt yaitu masing-masing sebesar 0,77 /hari dan $9,86 \times 10^6$ sel/ml sedangkan yang terendah dihasilkan pada salinitas 5 ppt yaitu dengan nilai masing-masing sebesar 0,68 /hari dan $3,89 \times 10^6$ sel/ml. Peningkatan

salinitas dari 5 menjadi 15 ppt meningkatkan pertumbuhan *Dunaliella* sp., akan tetapi jika salinitas ditingkatkan hingga 35 ppt menyebabkan konsentrasi sel dan laju pertumbuhan menjadi menurun. Selain itu, pola yang sama juga diamati pada produksi biomassa *Dunaliella* sp. pada salinitas yang berbeda. Biomassa *Dunaliella* sp. pada salinitas 5, 25, dan 35 ppt lebih rendah dibandingkan salinitas 15 ppt. Hasil menunjukkan bahwa 15 ppt merupakan salinitas terbaik untuk pertumbuhan dan biomassa *Dunaliella* sp., walaupun mikroalga dapat tumbuh dengan baik pada salinitas lainnya.

Hasil pada penelitian ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya yaitu pada salinitas lebih dari 15 ppt akan terjadi penurunan pertumbuhan dan produksi biomassa, hal ini serupa dengan respon dari *Synechococcus* sp., dan *Dunaliella salina* terhadap salinitas tinggi [22], [23]. Adaptasi dari setiap mikroalga terhadap salinitas adalah spesies-spesifik dan tergantung pada karakteristik fisiologis spesies [11] dan asal spesies [12]. Pada penelitian ini semakin tinggi salinitas menyebabkan pertumbuhan akan terhambat, hal ini sesuai dengan pernyataan [24], bahwa dengan meningkatnya konsentrasi garam dalam medium, kerja sel *Dunaliella* menjadi lebih terhambat sehingga hampir tidak ada reaksi berlangsung dalam sitoplasma pada salinitas tinggi, hanya proses pembentukan gliserol yang tetap aktif dalam sel. *Dunaliella* menyesuaikan tekanan osmotik melalui metabolisme gliserol intraseluler [25]. [26] menambahkan bahwa mikroalga akan mengeluarkan energi lebih banyak. Ketika mencoba untuk mempertahankan tekanan turgor, dan ini mengakibatkan penurunan produktivitas atau penurunan pertumbuhan. Respon mikroalga terhadap perubahan salinitas diatur dalam dua tahap. Tahap pertama ditandai dengan perubahan yang cepat dalam tekanan turgor atau perubahan volume yang disebabkan oleh fluktuasi air yang masuk atau keluar dari organisme mengikuti gradien osmotik. Tahap kedua merupakan penyesuaian konsentrasi sel sampai mencapai keadaan stabil.

Tabel 1. Laju pertumbuhan spesifik, konsentrasi sel maksimum dan biomassa *Dunaliella* sp. pada salinitas yang berbeda

Parameter	Salinitas (ppt)			
	5	15	25	35
Laju pertumbuhan spesifik (/hari)	0,59±0,01 _a	0,77±0,02 _c	0,72±0,01 _b	0,68±0,01 _b
Biomassa (g/l)	0,36±0,43 _a	0,53±0,01 _d	0,47±0,02 _c	0,41±0,01 _b
Konsentrasi sel maksimum (x 10 ⁶ sel/ml)	3,89±0,26 _a	9,86±0,64 _d	7,32±1,21 _c	6,41±0,73 _b

^anotasi berbeda menunjukkan adanya pengaruh, notasi yang sama menunjukkan tidak adanya pengaruh (p<0,05)

Pengaruh Salinitas yang Berbeda Terhadap Kandungan Klorofil-a

Kandungan klorofil *Dunaliella* sp. pada salinitas yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil mengindikasikan bahwa salinitas yang berbeda berpengaruh signifikan terhadap kandungan klorofil-a *Dunaliella* sp. (p<0,05). Peningkatan salinitas dari 15 menjadi 35 ppt mengakibatkan penurunan kandungan klorofil-a sebesar 32,65% dengan konsentrasi klorofil-a (11,27 mg/l) tertinggi dihasilkan pada salinitas 15 ppt. Hasil ini sesuai dengan [27], yang menemukan bahwa konsentrasi klorofil menurun ketika salinitas ditingkatkan dari 25 ppt menjadi 35 ppt pada *Nannochloropsis oculata*. [28] juga melaporkan bahwa salinitas yang rendah menghasilkan kandungan klorofil-a tertinggi pada *Tetraselmis chuii*. [29] menjelaskan bahwa konsentrasi klorofil berhubungan dengan konsentrasi sel mikroalga, dimana semakin tinggi konsentrasi sel menghasilkan nilai klorofil yang tinggi.

Gambar 1. Kandungan klorofil-a *Dunaliella* sp. pada salinitas yang berbeda

KESIMPULAN

Optimasi salinitas merupakan factor utama untuk meningkatkan produksi mikroalga. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 15 ppt merupakan salinitas terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil-a *Dunaliella* sp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya atas dukungan dana penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] M. Janssen, "Cultivation of microalgae: effect of light / dark cycles on biomass yield," *Unpubl. Master's thesis Wageningen Univ. Wageningen Netherlands*, vol. 1191, no. 2006, p. 184, 2002.
- [2] K. I. Reitan, J. R. Rainuzzo, G. Øie, and Y. Olsen, "A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae," *Aquaculture*, vol. 155, no. 1-4, pp. 207-221, 1997, doi: 10.1016/S0044-8486(97)00118-X.
- [3] M. A. Borowitzka, *Dunaliella: Biology, Production, and Markets*. 2013.
- [4] E. W. 1994. Becker, "Microalgae Biotechnology and Microbiology," p. p 177-180., 1994.
- [5] R. Darsi, S. Agus dan D. S. Ade, "Karakteristik Kimiawi dan Potensi Pemanfaatan *Dunaliella salina* dan *Nannochloropsis* sp.," no. 1996, pp. 14-25, 2012.
- [6] L. Dufossé et al., "Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: A scientific oddity or an industrial reality?," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 16, no. 9, pp. 389-406, 2005, doi: 10.1016/j.tifs.2005.02.006.
- [7] W. J. Henley, K. M. Major, and J. L. Hironaka, "Response to salinity and

- heat stress in two halotolerant chlorophyte algae,” *J. Phycol.*, vol. 38, no. 4, pp. 757–766, 2002, doi: 10.1046/j.1529-8817.2002.01172.x.
- [8] M. Fakhri, N. B. Arifin, B. Budianto, A. Yuniarti, and A. M. Hariati, “Effect of salinity and photoperiod on growth of microalgae *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp.,” *Nat. Environ. Pollut. Technol.*, vol. 14, no. 3, pp. 563–566, 2015.
- [9] M. Fakhri, N. B. Arifin, A. Yuniarti, and A. M. Hariati, “The influence of salinity on the growth and chlorophyll content of *Nannochloropsis* sp. BJ17,” pp. 15–18, 2017.
- [10] A. K. Cowan and P. D. Rose, “Abscisic acid metabolism in salt-stressed cells of *Dunaliella salina*: Possible interrelationship with β -carotene accumulation,” *Plant Physiol.*, vol. 97, no. 2, pp. 798–803, 1991, doi: 10.1104/pp.97.2.798.
- [11] A. Richmond and E. W. Becker, “Handbook of Microalgal Mass Culture,” *Handbook of Microalgal Mass Culture (1986)*. pp. 245–264, 1986.
- [12] S. Banerjee, W. E. Hew, H. Khatoon, and M. Shariff, “Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory conditions,” vol. 10, no. 8, pp. 1375–1383, 2011.
- [13] L. A. Loeblich, “Photosynthesis and pigments influenced by light intensity and salinity in the halophile *Dunaliella Salina* (Chlorophyta),” *J. Mar. Biol. Assoc.*, vol. 62, no. 3, pp. 493–508, 1982.
- [14] N. S. Adenan, F. M. Yusoff, and M. Shariff, “Effect of salinity and temperature on the growth of diatoms and green algae,” *J. Fish. Aquat. Sci.*, vol. 8, no. 2, pp. 397–404, 2013, doi: 10.3923/jfas.2013.397.404.
- [15] I. Ak, T. Goksan, and S. Cirik, “Effect of light intensity, salinity and temperature on growth in Camalt1 strain of *Dunaliella viridis* Teodoresco from Turkey,” *J. Biol. Sci.*, vol. 8, no. 8, pp. 1356–1359, 2008.
- [16] U. Pick, “Adaptation of the Halotolerant Alga *Dunaliella* to High Salinity,” *Salin. Environ. - Plants - Mol.*, pp. 97–112, 2006, doi: 10.1007/0-306-48155-3_5.
- [17] H. Khatoon *et al.*, “Effects of different salinities on the growth and proximate composition of *Dunaliella* sp. isolated from South China Sea at different growth phases,” *Process Saf. Environ. Prot.*, vol. 112, pp. 280–287, 2017, doi: 10.1016/j.psep.2017.04.010.
- [18] M. Janssen *et al.*, “Specific growth rate of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* under medium duration light/dark cycles: 13-87 s,” *Progress in Industrial Microbiology*, vol. 35, no. C. pp. 323–333, 1999, doi: 10.1016/S0079-6352(99)80124-6.
- [19] A. Bennet and L. Bogorad, “Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. Journal of Cell Biology. 58: 419-435,” *J. Cell Biol.*, vol. 58, pp. 419–435, 1973, doi: 10.1016/S0022-3468(89)80710-9.
- [20] H. K. Lichtenthaler, “Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes,” *J. Methods Enzymol.*, vol. 148, pp. 350–382, 1987.
- [21] R. J. Ritchie, “Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents,” *Photosynth. Res.*, vol. 89, no. 1, pp. 27–41, 2006, doi: 10.1007/s11120-006-9065-9.
- [22] N. Rosales, J. Ortega, R. Mora, and E. Morales, “Influence of salinity on the growth and biochemical composition of the *Cyanobacterium Synechococcus*

sp,” *Ciencias Mar.*, vol. 31, no. 2, pp. 349–355, 2005, doi: 10.7773/cm.v31i2.59.

- [23] M. Takagi, Karseno, and T. Yoshida, “Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells,” *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 101, no. 3, pp. 223–226, 2006, doi: 10.1263/jbb.101.223.
- [24] K. Frank, G. Wegmann, “Physiology and biochemistry of glycerol biosynthesis in *Dunaliella*,” *Biol. Zent. Bl.*, vol. 93, pp. 707–723, 1974.
- [25] D. S. Kessley and A.D. Brown, “Salt relations of *Dunaliella*: transitional changes in glycerol content and oxygen exchange reactions on water stress,” *Microbiol.*, vol. 129, pp. 154–159, 1981.
- [26] G. O. Kirst, “Salinity tolerance of eukaryotic marine algae,” *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, vol. 41, no. 1, pp. 21–53, 1990, doi: 10.1146/annurev.pp.41.060190.000321.
- [27] N. Gu, Q. Lin, G. Li, Y. Tan, L. Huang, and J. Lin, “Effect of salinity on growth, biochemical composition, and lipid productivity of *Nannochloropsis oculata* CS 179,” *Engineering in Life Sciences*, vol. 12, no. 6, pp. 631–637, 2012, doi: 10.1002/elsc.201100204.
- [28] F. Ghezelbash, T. Farboodnia, R. Heidari, and N. Agh, “Biochemical effects of different salinities and luminance on Green Microalgae *Tetraselmis chuii*,” *Res. J. Biol. Sci.*, vol. 3, no. 2, pp. 217–221, 2008.
- [29] A. Matos, M. Junior, E. B. Neto, M. L. Koenig, and E. Eskinazi, “Chemical composition of three microalgae species for possible use in mariculture,” vol. 50, pp. 461–467, 2007.