

## **Pengaruh Salinitas Terhadap Kandungan Lutein pada Mikroalga *Botryococcus braunii***

### **Effect of Salinity on Lutein Content in Microalgae *Botryococcus braunii***

Mochamad Ali Imron<sup>1\*</sup>, Sudarno<sup>2</sup> dan Endang Dewi Masithah<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya 60115;

<sup>2</sup>Departemen Manajemen Kesehatan Ikan dan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya 60115;

<sup>3</sup>Departemen Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya 60115.

\* ali.imron141111043@gmail.com

#### **Abstrak**

Karotenoid merupakan salah satu pewarna alami berwarna kuning yang banyak terdapat pada tumbuhan atau alga. Lutein adalah salah satu jenis karotenoid yang memiliki kegunaan di bidang kesehatan. Senyawa ini memiliki kegunaan untuk mencegah degenerasi makula mata dan kerusakan retina akibat cahaya biru, melindungi kulit dari radiasi sinar UV, sebagai pewarna alami jaringan, dan sebagai prekursor vitamin A. Lutein dapat ditemukan pada jenis mikroalga. *Botryococcus braunii* merupakan salah satu mikroalga sebagai sumber lutein potensial. Salinitas merupakan salah satu faktor pembatas bagi pertumbuhan fitoplankton. Perubahan salinitas pada media kultur dapat mempengaruhi kandungan lutein *B. braunii*. Perlakuan yang digunakan adalah perbedaan salinitas pada media kultur, yaitu A (10 ppt), B (15 ppt), C (20 ppt), D (25 ppt) dan E (30 ppt). Analisis Varian (ANOVA) digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan, sedangkan Uji Jarak Berganda Duncan digunakan untuk uji lanjut. Parameter pendukung yang diamati adalah pertumbuhan *B. braunii* dan kualitas air yang meliputi pH, DO dan suhu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan salinitas media kultur *B. braunii* berpengaruh terhadap kandungan lutein *B. braunii*. Kandungan lutein tertinggi diperoleh pada perlakuan C (20 ppt) pada hari ke-6 yang mencapai 0,00350 µg/g berat basah. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa kondisi stres lingkungan kultur dapat menginduksi produksi lutein.

Kata kunci: *Botryococcus braunii*, lutein, salinitas

#### **Abstract**

Carotenoid is one of natural colorant which could be found in plants or microalgae. Lutein is one of carotenoid which has utility in the field of health. It has utility to prevent macular degeneration of the eye and retina damage due to blue light, protecting the skin from UV radiation, as a natural dye in the tissue of animals or plants and as precursors of vitamin A. Lutein could be found in microalgae. *Botryococcus braunii* is one of microalgae as a source of lutein. Salinity is a limiting factor for the growth of phytoplankton. Changes in salinity of the culture medium can affect the lutein content of *B. braunii*. The treatment is the difference salinity in the culture medium, A (10 ppt), B (15 ppt), C (20 ppt), D (25 ppt) and E (30 ppt). Data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) to determine the effect of treatment and continued by Duncan's Multiple Range Test. The supporting parameters measured were the growth of *B. braunii* and water quality include pH, DO and temperature. The results showed that the difference salinity in the culture medium of *B. braunii* effect on lutein content of *B. braunii*. The highest content of lutein obtained in treatment C (20 ppt) on the 6<sup>th</sup> day reaching 0.00350 µg/g wet weight.

Keywords : *Botryococcus braunii*, lutein, salinity

## Pendahuluan

Karotenoid merupakan pewarna alami atau pigmen warna kuning (Kusmiati, 2010). Karotenoid memiliki beberapa manfaat bagi manusia di bidang kesehatan, kecantikan dan tekstil (Dufosse *et al.*, 2005). Salah satu jenis karotenoid adalah lutein. Menurut Kusmiati (2010) lutein memiliki kegunaan di bidang kesehatan diantaranya untuk mencegah degenerasi makula mata dan kerusakan retina akibat cahaya biru, melindungi kulit dari radiasi sinar UV, sebagai pewarna alami pada jaringan hewan maupun tumbuhan dan sebagai prekursor vitamin A. Lutein adalah salah satu karotenoid yang digunakan sebagai suplemen makanan bagi manusia yang berguna melindungi terhadap oksidasi makula (Ambati *et al.*, 2010).

*Botryococcus braunii* adalah mikroalga yang digunakan terutama untuk produksi hidrokarbon, ekso-polisakarida dan karotenoid (Ambati *et al.*, 2010). Hasil analisis HPLC dari ekstrak karotenoid *B. braunii* pada penelitian Rao *et al.* (2007) menunjukkan bahwa lutein adalah karotenoid utama diikuti dengan  $\beta$ -carotene dan memiliki kandungan violaxanthin, astaxanthin dan zeaxanthin rendah.

Fitoplankton memiliki faktor pembatas pertumbuhan, diantaranya ialah salinitas. Perubahan salinitas pada media kultur dapat menyebabkan perubahan tekanan osmosis dalam sel fitoplankton. Fluktuasi osmolaritas media kultur menyebabkan sel melakukan penyesuaian diri dan memicu gen memproduksi protein yang terikat dalam karbon dan mengasimilasi besi serta biosintesis karotenoid (Ramos *et al.*, 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan Salinitas terhadap kandungan lutein *Botryococcus braunii* dan mengetahui salinitas terbaik dalam pembentukan lutein pada *B. braunii*.

## Bahan dan Metode

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain *autoclave*, botol kaca, haemocytometer, mikroskop, refraktometer, pH paper, DO meter, termometer, *water bath*, *Fume Hood*, spektrofotometer. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah inokulan *Botryococcus braunii*, pupuk Walne, dan vitamin B<sub>12</sub> yang berasal dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo, Jawa Timur,

air tawar dan air laut, serta bahan kimia lain untuk analisis.

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebagai rancangan percobaan, karena dalam penelitian ini semua dikondisikan sama kecuali pada perlakuan (Kusriningrum, 2012). Terdapat lima perlakuan dengan empat ulangan sehingga terdapat 20 satuan percobaan.

### **Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi peralatan yang terbuat dari kaca seperti erlenmeyer, tabung reaksi, botol kultur dan gelas ukur disterilkan dengan *autoclave*. Sebelum digunakan peralatan dicuci dan disikat dengan detergen kemudian dibilas air tawar, tunggu kering, setelah itu ditutup rapat dengan aluminium foil dan plastik, sedangkan tabung reaksi dan pipet ditutup kapas, dibungkus aluminium foil dan plastik. Setelah itu diatur rapi dalam autoclave, autoclave ditutup rapat dan dioperasikan pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm, selama 15 menit (Sari dan Manan, 2012). Peralatan yang tak tahan panas seperti selang aerasi, batu aerasi, pipet tetes disterilkan

dengan menggunakan klorin 60 ppm dan untuk menghilangkan bau klorin ditambahkan Na-thiosulfat 20 ppm (Djarajah, 1995).

### **Pembuatan Media Kultur**

Media kultur yang digunakan adalah air dengan salinitas 10, 15, 20, 25, dan 30 ppt. Untuk mendapatkan media tersebut maka dilakukan pengenceran air laut dengan air tawar sampai didapatkan salinitas yang akan digunakan dengan menggunakan rumus Arrokhman dkk. (2012). Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan refraktometer.

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan:

M1 : salinitas air laut yang akan diencerkan (‰)

M2 : salinitas yang diinginkan (‰)

V1 : volume air laut yang akan diencerkan (L)

V2 : volume air dengan salinitas yang diinginkan (L)

### **Kultur *Botryococcus braunii***

Kultur dilakukan pada botol kaca yang berisi 500 ml medium. Media kultur yang digunakan terdiri dari Walne dan vitamin masing-masing sebanyak 1 ml/L dan media air dengan salinitas yang telah ditentukan sesuai dengan perlakuan yang digunakan. Ke-

padatan bibit plankton pada awal kultur yang digunakan yaitu  $5,5 \times 10^5$  sel/ml. Menurut Satyantini dan Masyithah (2010), penghitungan jumlah bibit plankton yang diperlukan untuk kultur menggunakan rumus:

$$N = \frac{X \times Y}{V}$$

Keterangan:

- N : Volume inokulum (ml)
- X : Media volume kultur (ml)
- Y : Kepadatan bibit plankton yang dikehendaki (sel/ml)
- V : Kepadatan inokulum (bibit) yang ada (sel/ml)

Walne dan vitamin dimasukkan ke dalam botol yang sudah berisi media air dengan salinitas yang sudah ditentukan, kemudian diberi aerasi agar Walne dan vitamin dapat bercampur dengan media secara merata. Kemudian inokulum dimasukkan kedalam botol. Kepadatan fitoplankton mulai dihitung sejak hari pertama hingga akhir kultur selama 12 hari. Penghitungan fitoplankton dihitung setiap hari (24 jam) sekali.

Penghitungan kepadatan *B. braunii* menggunakan alat hitung haematocytometer dengan metode “*Big Block*” (Satyantini dkk., 2014).

$$\text{sel/ml} = \frac{nA + nB + nC + nD}{4} \times 10^4$$

Keterangan : nA, nB, nC, nD: jumlah kepadatan fitoplankton pada blok A,B, C,D. Konstanta 4: jumlah blok yang dihitung

### Penghitungan Kandungan Lutein

Penghitungan kandungan lutein *B. braunii* dilakukan pada hari ke-2, ke-4, ke-6, ke-8, ke-10 dan ke-12. Ekstraksi kandungan lutein pada *Botryococcus braunii* dengan metode yang digunakan oleh Madhavi and Kagan (2002) yaitu sampel dimaserasi dengan pelarut n-heksan selama minimal 24 jam, kemudian hasil ekstraksi disaponifikasi. Sampel kultur *B. braunii* diambil sebanyak 5 ml, kemudian disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 3.000 rpm untuk memisahkan biomasa sel dan cairan. Hasil sentrifus dibuang supernatannya, dan diambil endapan-nya. Biomasa sel ditimbang menggunakan timbangan analitik. Biomassa yang diperoleh dimaserasi menggunakan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1:1 (biomasa : n-heksan) selama 24 jam. Kemudian n-heksan diuapkan di pemanas air hingga diperoleh ekstrak heksan. Hasil ekstrak heksan ditambahkan dengan isopropanol dengan perbandingan 1:3 (hasil ekstrak : isopropanol) diaduk dan dipanaskan sam-

pai suhu 60 °C. Larutan yang terbentuk ditambah larutan NaOH 50% dengan perbandingan 1:2 (hasil ekstrak : larutan NaOH 50%) diaduk homogen dan dipanaskan pada suhu 60 °C selama 10 menit sampai terbentuk larutan semi-solid, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Larutan semisolid yang terbentuk ditambahkan sejumlah air sebanyak 50%, diaduk hingga homogen pada suhu ruang. Pencucian dengan air terus dilanjutkan sampai lutein dan karotenoid lainnya terpisah ditandai dengan adanya endapan kristal yang halus, kemudian disentrifus. Endapan dikumpulkan dan dicuci dengan campuran isopropanol-air (1:14), diulangi 2-3 kali sampai supernatan hampir tidak berwarna lagi. Kemudian sisa larutan pencuci yang tertinggal diuapkan di penangas air pada suhu 40 °C sehingga terbentuk ekstrak lutein *crude*.

Menurut Hajare *et al.* (2013) absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 446 nm. Konsentrasi lutein dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Lutein } (\mu\text{g/g}) = \frac{A \times V \times \text{faktor pengenceran}}{\epsilon \times W}$$

Keterangan :

- A : Absorbansi pada 446 nm
- V : Volume ekstrak (ml)
- ε : Koefisien absorbansi (2589)

W : Berat sampel (g)

### Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran kualitas air pada *Botryococcus braunii* dilakukan setiap hari. Parameter kualitas air yang diamati meliputi suhu, pH dan Oksigen terlarut atau *Dissolved Oxygen* (DO). Pengukuran suhu menggunakan termo-meter, pengukuran pH menggunakan pH meter dan pengukuran DO menggunakan DO meter. Pengukuran terhadap suhu, pH dan DO dilakukan dua kali sehari selama kultur pada pukul 07.00 dan 16.00 WIB.

### Analisis Data

Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila pemberian perlakuan menunjukkan adanya pengaruh terhadap hasil pengamatan, maka akan dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (*Duncan's multiple range test*) untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan satu dengan perlakuan yang lain (Kusriningrum, 2012).

### Hasil dan Pembahasan

#### Pertumbuhan *Botryococcus braunii*

Hasil pengamatan berupa penghitungan kepadatan populasi *Botryo-*

*coccus braunii* selama 12 hari. Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan dengan salinitas yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kepadatan populasi *B. braunii* pada hari ke-1 sampai ke-6 ( $p>0,05$ ). Perlakuan dengan salinitas yang berbeda memberikan pengaruh.

**Kandungan Lutein *Botryococcus braunii***

Hasil pengamatan berupa penghitungan kandungan lutein *Botryococcus braunii* pada hari ke-2, ke-4, ke-6, ke-8, ke-10 dan ke-12. Data rata-rata kandungan lutein *B. braunii* dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa setiap perlakuan dengan salinitas yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap

kandungan lutein *B. braunii* pada hari ke-2, ke-6 dan ke-8 ( $p>0,05$ ). Perlakuan dengan salinitas yang berbeda memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap kandungan lutein *B. braunii* pada hari ke-4, ke-10 dan ke-12 ( $p<0,05$ ).

Kandungan lutein tertinggi *B. braunii* diperoleh pada perlakuan C pada hari ke-6 yang mencapai 0,00350 µg/g berat basah. Kandungan lutein tertinggi pada perlakuan tersebut diperoleh pada fase eksponensial. Hal ini sesuai dengan penelitian Tonegawa *et al.* (1997) yaitu kandungan lutein tertinggi terdapat pada fase eksponensial dan juga fase stasioner. Grafik rata-rata kandungan lutein dapat dilihat pada Gambar 1.

**Kualitas Air**

Pengukuran kualitas air dilakukan dua kali sehari selama kultur pada pagi

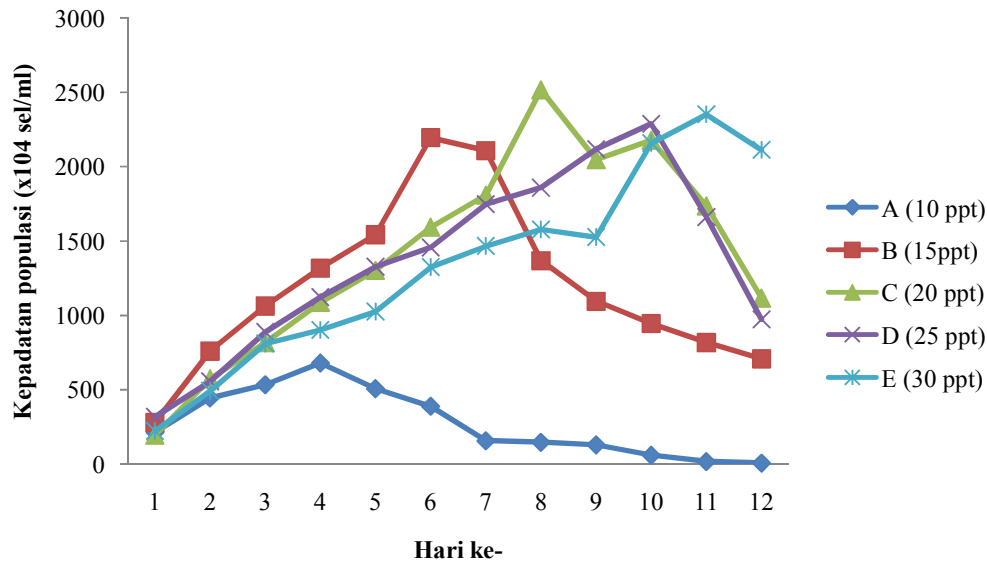
Tabel 1. Rata-rata kandungan lutein *Botryococcus braunii*

Hari ke-	Kandungan Lutein (µg/g berat basah)				
	A (10 ppt)	B (15 ppt)	C (20 ppt)	D (25 ppt)	E (30 ppt)
2	0,00073 <sup>a</sup> ± 0,00061	0,00100 <sup>a</sup> ± 0,00070	0,00080 <sup>a</sup> ± 0,00042	0,00093 <sup>a</sup> ± 0,00038	0,00065 <sup>a</sup>
4	0,00063 <sup>b</sup> ± 0,00041	0,00133 <sup>ab</sup> ± 0,00059	0,00105 <sup>b</sup> ± 0,00054	0,00158 <sup>ab</sup> ± 0,00015	0,00233 <sup>a</sup>
6	0,00078 <sup>a</sup> ± 0,00043	0,00200 <sup>a</sup> ± 0,00051	0,00350 <sup>a</sup> ± 0,00352	0,00163 <sup>a</sup> ± 0,00045	0,00113 <sup>a</sup>
8	0,00068 <sup>a</sup> ± 0,00013	0,00345 <sup>a</sup> ± 0,00230	0,00163 <sup>a</sup> ± 0,00078	0,00203 <sup>a</sup> ± 0,00182	0,00168 <sup>a</sup>
10	0,00051 <sup>b</sup> ± 0,00003	0,00145 <sup>a</sup> ± 0,00083	0,00160 <sup>a</sup> ± 0,00074	0,00078 <sup>ab</sup> ± 0,00005	0,00130 <sup>al</sup>
12	0,00003 <sup>d</sup> ± 0,00005	0,00118 <sup>b</sup> ± 0,00051	0,00170 <sup>a</sup> ± 0,00001	0,00073 <sup>c</sup> ± 0,00005	0,00133 <sup>al</sup>

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p<0,05$ ).

hari pukul 07.00 dan sore hari pukul 16.00. Pengukuran suhu air selama penelitian berkisar antara 28,62 0C – 31,75 0C, pH berkisar antara 7-9,25 dan DO berkisar antara 5,7 – 8,47 mg/L.

mikroalga mengalami fase kematian yang ditandai dengan kepadatan populasi yang terus berkurang. *B. braunii* yang dikultur pada salinitas yang berbeda mengalami fase pertumbuhan



Gambar 1. Grafik rata-rata pertumbuhan populasi *Botryococcus braunii* yang dikultur selama masa pengamatan terhadap salinitas yang berbeda

Agustini (2014) menyatakan bahwa kultur mikroalga dalam skala laboratorium, dimana keberadaan nutrisi terbatas dan tidak ada penambahan dari luar, mikroalga mengalami beberapa fase. Dimulai dari fase lag dimana mikroalga beradaptasi terhadap lingkungannya. Selanjutnya mikroalga mengalami fase eksponensial yang ditandai dengan peningkatan pertumbuhan yang signifikan. Kemudian fase stasioner yaitu laju pertumbuhan dan laju kematian seimbang. Hingga akhirnya

yang berbeda seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Perbedaan fase pertumbuhan *B. braunii* disebabkan oleh perbedaan salinitas pada setiap perlakuan. Pada perlakuan dengan salinitas yang lebih tinggi akan mengalami fase pertumbuhan yang lebih lambat. Hal ini dikarenakan peningkatan konsentrasi garam pada media kultur yang didominasi oleh ion Na<sup>+</sup> dan Cl<sup>-</sup> dapat mengganggu keseimbangan osmotik antara bagian dalam sel dengan lingkungan luarnya

dan menyebabkan air dalam sel banyak keluar (Erdmann and Hagemann, 2001). Kondisi ini akan menyebabkan sel kesulitan untuk menarik air dari media sekitarnya. Sel akan merespon dengan menarik ion sedangkan penarikan osmotik air dari vakuola sel terus berlanjut hingga menyebabkan sel menyusut dari dinding sel. Keadaan ini menyebabkan sel mengalami kelebihan ion dan berakibat toksik pada sel sehingga menyebabkan pertumbuhan terhambat dan kematian (Hart *et al.*, 1991).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh dari perlakuan dengan salinitas yang berbeda terhadap kandungan lutein. Hal ini dikarenakan peningkatan konsentrasi garam pada media kultur yang didominasi oleh ion  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  dapat mengganggu keseimbangan osmotik antara bagian dalam sel dengan lingkungan luarnya dan menyebabkan air dalam sel banyak keluar. Dari hilangnya air dan ion, sel melakukan proses penyesuaian diri atau aklimatisasi untuk mempertahankan hidup. Salah satunya adalah mengeluarkan metabolit sekunder untuk mendukung aklimatisasi terhadap peningkatan salinitas (Erdmann and Hagemann, 2001).

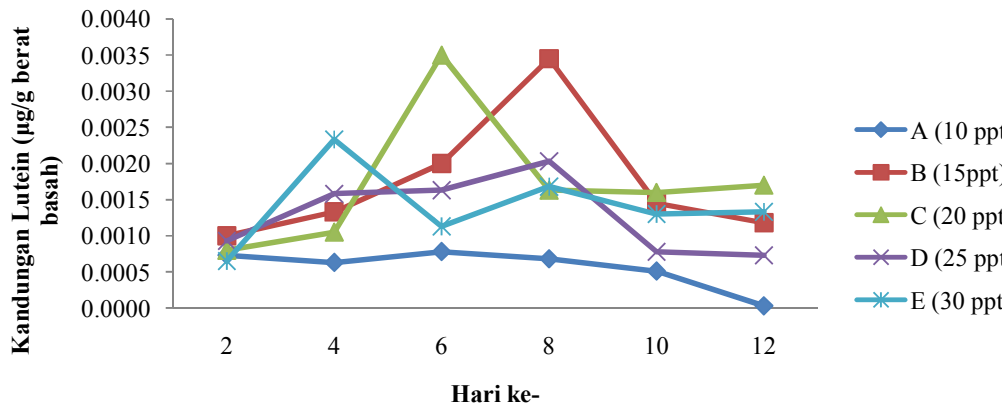
Perbedaan salinitas akan menimbulkan fluktuasi osmolaritas media yang menghasilkan perubahan tatanan lipid membran plasma, sehingga memicu aktivasi dari protein kinase dan akhirnya menyebabkan konversi pati menjadi gliserol dalam kloroplas. Protein akan dipecah menjadi asam piruvat yang digunakan sebagai bahan dasar pembentukan IPP pada jalur MEP. Pada golongan alga hijau (Chlorophyta) hanya jalur MEP yang menyediakan

prekursor untuk semua isoprenoid. Jalur MEP menggunakan piruvat dan gliseraldehida-3-fosfat sebagai substrat dan melibatkan delapan enzim plastid untuk pembentukan IPP. Dalam plastida, setelah pembentukan IPP oleh jalur MEP, terjadi tiga reaksi kondensasi berturut-turut yang dikatalisasi oleh prenyltransferases menyebabkan pembentukan geranylgeranyl difosfat (GGPP) yang merupakan prekursor dari semua karotenoid (Ramos *et al.*, 2011).

Dua molekul GGPP (C<sub>20</sub>) mengalami kondensasi oleh enzim phytoene sintase (PSY) menjadi phytoene (Sandmann, 2001 dalam Ramos *et al.*, 2011). Kemudian mengalami reaksi desaturasi oleh enzim phytoene desaturase (PDS) dan  $\zeta$ -karoten desaturase

(ZDS) serta isomerisasi oleh enzim karotenoid isomerase (CrtISO) dan 15-cis- $\zeta$ -isomerase (ZISO) (Li *et al.*, 2007 dalam Ramos *et al.*, 2011) sehingga membentuk lycopene. Lycopene akan

sesuai dengan penelitian Tonegawa *et al.* (1997) yaitu kandungan lutein tertinggi terdapat pada fase eksponensial dan juga fase stasioner.



Gambar 2. Grafik rata-rata kandungan lutein *Botryococcus braunii* yang dikultur selama masa pengamatan terhadap salinitas yang berbeda

mensintesis  $\alpha$ -karoten dan  $\beta$ -karoten dengan bantuan enzim cyclases (lycopene  $\epsilon$ -cyclase [LCY-e] dan lycopene  $\beta$ -cyclase [LCY-b]). Kemudian terjadi reaksi hidroksilasi lebih lanjut pada  $\alpha$ -karoten sehingga terbentuk lutein, sedangkan pada  $\beta$ -karoten terbentuk violanxanthin (Bouvier *et al.*, 2005 dalam Ramos *et al.*, 2011).

Kandungan lutein tertinggi *B. braunii* diperoleh pada perlakuan C pada hari ke-6 yang mencapai 0,00350  $\mu\text{g/g}$  berat basah. Kandungan lutein tertinggi pada perlakuan tersebut diperoleh pada fase eksponensial. Hal ini

Pada fase eksponensial sel sudah menyesuaikan diri dengan media sekitarnya dan mengalami keadaan homeostatis, sehingga sel dapat tumbuh dengan optimal. Selain itu pada fase eksponensial keberadaan nutrisi masih mencukupi sehingga sel dapat menyerap nutrisi lebih cepat untuk memenuhi kebutuhan metabolisme sel (Agustini, 2014).

Perlakuan C menghasilkan lutein dalam jumlah tertinggi dan tercepat bila dibandingkan dengan perlakuan lain seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2. Pada perlakuan C *B. braunii* mengalami fase pertumbuhan lebih cepat di-

bandingkan perlakuan dengan Salinitas yang lebih tinggi. Selain itu jumlah kepadatan populasi dan kandungan lutein *B. braunii* pada perlakuan C lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa dengan meningkatnya kepadatan populasi *B. braunii*, kandungan luteinnya akan semakin tinggi, seperti pernyataan Agustini (2014) bahwa semakin tinggi populasi mikroalga atau kepadatan biomassa pada mikroalga *B. braunii* maka semakin tinggi kadar karotenoidnya. Semakin tinggi kadar karotenoid, maka semakin tinggi pula kandungan lutein, karena lutein merupakan jenis karotenoid terbesar pada *B. braunii* (Rao *et al.*, 2007).

Pada perlakuan dengan salinitas yang lebih tinggi, produksi lutein *B. braunii* lebih lambat dan lebih rendah jika dibandingkan pada perlakuan C, karena pada salinitas yang lebih tinggi yaitu pada salinitas 25 dan 30 ppt, fase pertumbuhan *B. braunii* lebih lambat dan jumlah kepadatan populasinya lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan C. Pada salinitas yang lebih tinggi terdapat hambatan dalam proses pertumbuhan dan reproduksi akibat dari proses adaptasi mikroalga tersebut (Widianingsih *dkk.*, 2012). Ketika sel

berada pada media dengan salinitas yang tinggi, sel akan kesulitan untuk menarik air dari media sekitarnya dan hanya bisa menarik ion. Jika terus berlanjut sel akan kelebihan ion yang berakibat toksik pada sel, sehingga pertumbuhannya terhambat dan dapat menyebabkan kematian (Hart *et al.*, 1991). Terbukti dari hasil penelitian ini, yaitu pada perlakuan D dan E *B. braunii* mengalami fase pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan dengan perlakuan lain dan produksi luteinnya lebih lambat dan lebih rendah.

Hasil pengukuran suhu pada penelitian ini yaitu berkisar antara 28,62 0C – 31,75 0C. Suhu tersebut merupakan suhu yang optimal untuk pertumbuhan *Botryococcus braunii* karena menurut Yoshimura *et al.* (2013) suhu optimum untuk pertumbuhan *Botryococcus braunii* adalah antara 23 0C sampai 30 0C. Selain itu pada penelitian Amini *dkk.* (2011) juga menunjukkan suhu harian rata-rata berkisar antara 25 – 30 0C. Suhu sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan, jika suhu terlalu rendah maka akan menghambat pertumbuhan dan jika suhu terlalu tinggi dapat mematikan pada fitoplankton (Lavens *and* Sorgeloos, 1996).

Oksigen terlarut (DO) mempengaruhi nilai pH akibat adanya proses fotosintesis dan respirasi. Jika oksigen terlarut rendah maka kandungan CO<sub>2</sub> terlarut akan meningkat. Kandungan CO<sub>2</sub> pada proses fotosintesis berkontribusi terhadap peningkatan pH (Banerjee, 2002). Perubahan pH berpengaruh terhadap penurunan biomassa dan destruksi klorofil (Agustini, 2014). Hasil pengukuran pH pada penelitian ini berkisar antar 7 – 9,25 dan DO berkisar antara 5,7 – 8,47 mg/L. Hasil pengukuran kualitas air tersebut menunjukkan bahwa pH dalam penelitian ini layak dan baik untuk mendukung metabolisme serta pertumbuhan sel *B. braunii* karena menurut Rai *et al.* (2007) pH yang dapat ditoleransi yaitu berkisar antara 7 – 9,5 dan pertumbuhan optimalnya pada pH 8,5.

### Kesimpulan

Kesimpulan yang diambil dari penelitian ini yaitu perbedaan salinitas pada media kultur *B. braunii* memberikan pengaruh terhadap kandungan lutein *B. braunii*. Kandungan lutein tertinggi *B. braunii* diperoleh pada perlakuan C (20 ppt) hari ke-6 pada fase eksponensial yang mencapai 0,00350 µg/g berat basah.

### Daftar Pustaka

- Agustini, N. W. S. 2014. Kandungan Pigmen Astaxanthin dari Mikroalga *Botryococcus braunii* pada Berbagai Penambahan Nitrogen dan Phosphor. Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS, 7 Juni 2014. Solo. pp. 156-164.
- Ambati, R. R., S. Ravi and R. G. Aswathanarayana. 2010. Enhancement of Carotenoid in Green Alga-*Botryococcus braunii* in Various Autotrophic Media Under Stress Conditions. International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Science 4(2) : 87-92.
- Amini, S., Sugiyono dan E. Saadudin. 2011. Kandungan Minyak *Botryococcus braunii*, *Nannochloropsis* sp., dan *Spirulina platensis* pada Umur yang Berbeda. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Vol. 6 No. 1 : 39-44
- Arrokhman, S., N. Abdulgani dan D. Hidayati. 2012. Survival Rate Ikan Bawal Bintang (*Trachinotus blochii*) dalam Media Pemeliharaan Menggunakan Rekayasa Salinitas. Jurnal Sains dan Seni ITS Vol. 1, No. 1: 32-35.
- Banerjee, A., R. Sharma, Y. Chisti and U. C. Banerjee. 2002. *Botryococcus braunii*: a Renewable Source of Hydrocarbons and Other Chemicals. Critical Reviews in Biotechnology 22 (3): 245-279.
- Djarajah, A.S. 1995. Pakan Ikan Alami. Kanisius. Yogyakarta. Hal 27-29.
- Dufosse, L., A. Yaron, S. M. Arad, P. Blanc, K. N. C. Murthy, and G. A. Ravishankar. 2005. Microorganisms and Microalgae as Sources of Pigments for Food Use: a Scientific Oddity or an Industrial Reality. Trends in Food Science and Technology 16: 389-406.

- Erdmann, N and M. Hagemann. 2001. Salt Acclimation of Algae and Cyanobacteria: A Comparison. In: L.C Rai and J.P Gaur. Algal Adaptation to Environmental Stress. Physiological, Biochemical and Molecular Mechanism. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. German. pp. 324-350.
- Hajare, R., A. Ray, Shreya, Tharachand C., M. Avadhani M. N. and I. Selvaraj C. 2013. Extraction and Quantification of Antioxidant Lutein from Various Plant Sources. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 22(1): 152-157.
- Hart, B. T., P. Bailey, R. Edwards, K. Hortle, K. James and A. McMahon. 1991. A Review of the Salt Sensitivity of the Australian Freshwater Biota. Hydrobiologia 210: 105-144.
- Kusmiati. 2010. Peningkatan Produksi Lutein dari Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* untuk Penyediaan Bahan Baku Kosmetika dan Uji Efektifitas sebagai Antioksidan (In Vivo). Laporan Akhir Program Intensif Peneliti dan Perakayasa LIPI.
- Kusriningrum. 2012. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya. Hal 43-69.
- Lavens, P. and P. Sorgeloos. 1996. Manual on The Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Technical Paper 361. p. 10-15.
- Madhavi, D. L. and D. I. Kagan. 2002. Process for The Isolation of Mixed Carotenoids from Plants. U.S. Patent Documents.
- Rai, U. N., S. Dwivedi, V.S. Baghel, R.D. Tripathi, O.P. Shukla and M.K. Shukla. 2007. Morphology and Cultural Behavior of *Botryococcus protuberans* with Notes on The Genus. Journal of Environmental Biology 28 (2) : 181-184
- Ramos, A. A., J. Polle, D. Tran, J. C. Cushman, E. S. Jin and J. C. Varella. 2011. The Unicellular Green Alga *Dunaliella salina* Teod. as a Model for Abiotic Stress Tolerance: Genetic Advances and Future Perspectives. Algae, 26(1): 3-20.
- Rao, A. R., C. Dayananda, R. Sarada, T.R. Shamala and G.A. Ravishankar. 2007. Effect of Salinity on Growth of Green Alga *Botryococcus braunii* and its Constituents. Bioresource Technology 98: 560-564.
- Sari I. dan A. Manan. 2012. Pola Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* pada Kultur Skala Laboratorium, Intermediet, dan Massal. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan Vol. 4 No. 2: 123-127.
- Satyantini, W. H dan E. D. Masithah. 2010. Buku Praktikum Budidaya Pakan Alami. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 28-49.
- Satyantini, W. H., E. D. Masithah, M. A. Alamsjah dan S. Andriyono. 2014. Penuntun Praktikum Budidaya Pakan Alami. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Tonegawa, I., S. Okada, M. Murakami and K. Yamaguchi. 1998. Pigment Composition of The Green Microalga *Botryococcus braunii* Kawaguchi-1. Fisheries Science 64 (2): 305-308.
- Widianingsih, R. Hartati, H. Endrawati dan Hilal M. 2012. Kajian Kadar total Lipid dan Kepkatan *Nitzschia* sp. yang Dikultur Dengan Salinitas yang Berbeda. Jurnal Fakultas Perikanan UNDIP vol 7 No. 01. Hal 29-37

Yoshimura, T., S. Okada and M. Honda.  
2013. Culture of The Hydrocarbon  
Producing Microalga *Botryococcus*  
*braunii* Strain Showa: Optimal  
CO<sub>2</sub>, Salinity, Temperature, and  
Irradiance Conditions. *Bioresource*  
*Technology* 133 : 232–239.