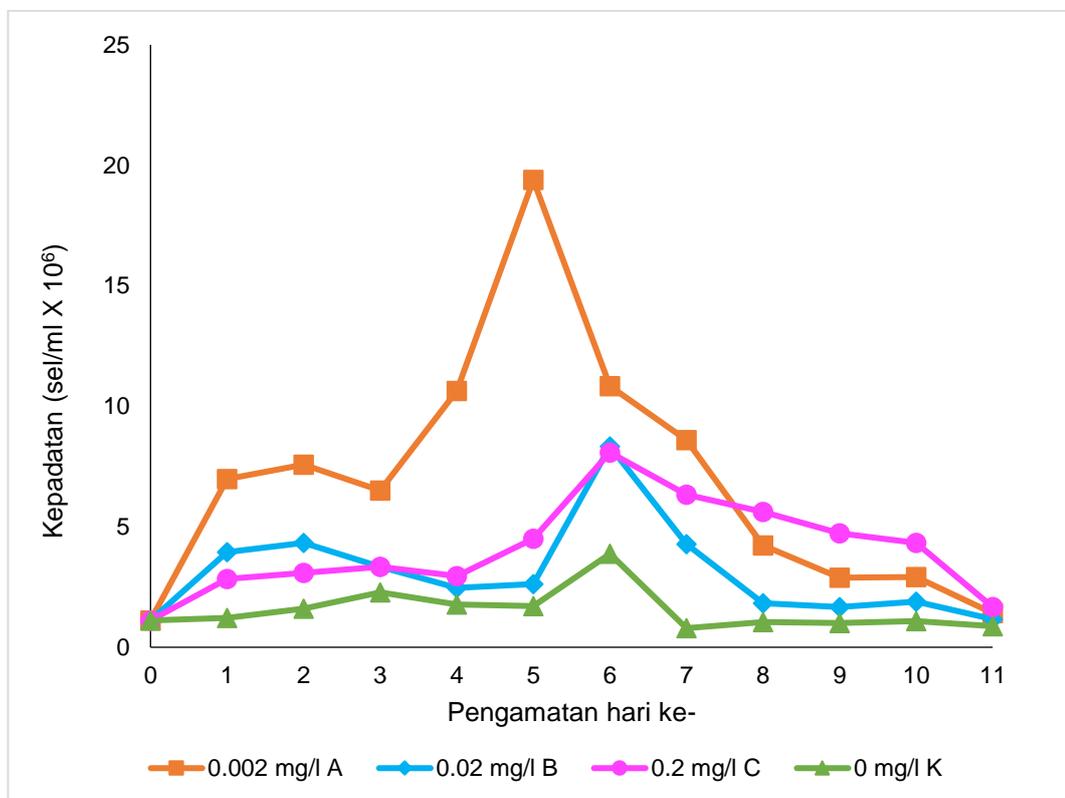


## 4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Pertumbuhan sel *Dunaliella* sp.

Penelitian ini menganalisis pengaruh kadar Vanadat yang berbeda dalam media hidup terhadap pertumbuhan *Dunaliella* sp. Konsentrasi Vanadat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0.002 – 0.2 gr/ml. Media Johnson yang merupakan media standar untuk mengkultur *Dunaliella* sp. digunakan sebagai kontrol. Hasil pengamatan pertumbuhan ditunjukkan pada Gambar 4 berikut ini.



Gambar 1. Rata-rata kepadatan sel *Dunaliella* sp.

Masing-masing media dengan perlakuan konsentrasi Vanadat yang berbeda menunjukkan kepadatan sel yang berbeda pula setiap fase selama pemeliharaan. Data hasil pengamatan lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 2. Pada semua media, kepadatan *Dunaliella* sp. meningkat sejak hari pertama pengamatan. Kondisi ini mengindikasikan bahwa pada dasarnya pada semua perlakuan dalam penelitian ini, fase adaptasi *Dunaliella* sp. berlangsung cepat

dibawah 24 jam karena seperti yang terlihat di grafik sel sudah menunjukkan kenaikan jika dibandingkan dengan kepadatan awal tebar. Hal ini sesuai dengan hasil yang dilaporkan oleh Prihantini *et al.*, 2005 bahwa fase adaptasi ini berlangsung singkat kurang dari 24 jam sehingga tidak dapat diamati.

Fase eksponensial untuk semua perlakuan mulai terjadi pada hari ke-1. Tetapi perlakuan A dan B mengalami penurunan kepadatan pada hari ke-3. Hal ini kemungkinan disebabkan karena umur sel yang tidak seragam sehingga sebagian besar sel *Dunaliella* sp. membutuhkan waktu untuk aktif kembali. Menurut Pelczar *et al.* (1986), kultur dengan inokulum yang sudah tua akan membutuhkan waktu untuk aktif kembali. Oleh karena itu, diperlukan interpretasi kecenderungan atau tren data yang terbentuk. Menurut Suryatin (2004), data yang kita kumpulkan tidak selalu tepat bahkan sering tidak baik sehingga kesimpulan yang diambil pun belum tentu baik. Oleh sebab itu, perlu diadakan evaluasi terhadap data untuk mencari hubungan antar data dan untuk menginterpretasikan kecenderungan data sesuai tujuan penelitiannya.

Pada semua perlakuan, kepadatan *Dunaliella* sp. meningkat sehingga mencapai puncak kepadatan. Perlakuan A mengalami puncak kepadatan sel pada hari ke-5 sedangkan perlakuan K, B dan C mengalami puncak kepadatan sel pada hari ke-6. Perbedaan ini dimungkinkan karena Vanadat dalam konsentrasi yang lebih rendah mampu dimanfaatkan dengan lebih baik oleh mikroalga sehingga pada perlakuan A dengan dosis 0.002 mg/l Vanadat mencapai puncak kepadatan lebih cepat dibandingkan perlakuan B, C dan Kontrol. Terlepas dari perbedaan waktu untuk mencapai puncak kepadatan, hasil penelitian ini masih sesuai dengan pernyataan Pradana *et al.* (2017) bahwa puncak kepadatan mikroalga tertinggi terjadi pada 126 jam (5 - 6 hari) setelah penebaran inokulan.

Setelah fase eksponensial terjadi fase kematian. Pada penelitian ini tidak terjadi fase stasioner. Hal ini sesuai dengan penelitian Budiardi *et al.* (2010),

bahwa fase stasioner tidak terlihat jelas karena fase stasioner berlangsung dengan cepat sehingga tidak teramati dalam selang waktu 24 jam. Fase kematian pada penelitian ini terjadi mulai hari ke-6 sampai hari ke-11 yang ditandai dengan kepadatan sel yang terus berkurang. Hal ini bisa terjadi karena berkurangnya nutrisi dalam media ditambah dengan kepadatan sel yang tinggi memungkinkan terjadi kompetisi sehingga mempengaruhi kemampuan pembelahan sel yang menyebabkan produksi sel semakin berkurang (Abidin dan Trihandaru, 2009).

Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar Vanadat yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan *Dunaliella* sp. Data pada Gambar 4. menunjukkan bahwa kadar Vanadat yang paling baik untuk mendukung pertumbuhan *Dunaliella* sp. adalah 0.002 gr/ml. Analisis secara statistik sidik ragam (ANOVA) dilakukan untuk mengetahui lebih jelas pengaruh yang terjadi. Hasil uji ANOVA ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji ANOVA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PERLAKUAN	587851386451576.000	3	195950462150525.340	32.247	.000
Error	583350046296759.400	96	6076562982257.910		
Total	4820527449490730.000	144			

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai *significance* lebih kecil dari 0.05 sehingga  $H_0$  ditolak atau dengan kata lain konsentrasi Vanadat yang berbeda menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan *Dunaliella* sp. Menurut Nawari (2010), apabila semua sumber variasi memiliki nilai sig < 0.05, maka disimpulkan bahwa  $H_0$  pada setiap sumber variasi yang diujikan ditolak. Data hasil uji ANOVA menunjukkan pengaruh yang nyata atau signifikan antara konsentrasi Vanadat dan pertumbuhan *Dunaliella* sp. maka selanjutnya uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau Tukey HSD digunakan untuk membandingkan seluruh

pasangan rata-rata perlakuan setelah uji Analisis Ragam di lakukan. Menurut Saefuddin *et al.* (2009), apabila hasil uji dalam analisis ragam menunjukkan tertolaknya  $H_0$  maka diperlukan uji untuk mengetahui mana diantara taraf faktor tersebut yang pengaruhnya berbeda. Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) adalah salah satu uji lanjutan untuk menelaah perbedaan tersebut. Hasil Uji Tukey HSD atau Beda Nyata Jujur (BNJ) ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Tukey HSD atau BNJ

	PERLAKUAN	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	K	36	1595827.7778 a		
	B	36	2843975.9258 a		
	C	36		4480781.4822 b	
	A	36			6997216.6664 c
	Sig.		.145	1.000	1.000

Hasil Uji Tukey HSD atau BNJ dapat diketahui bahwa perlakuan K (Kontrol 0 mg/l Vanadat) dengan perlakuan B (0.02 mg/l Vanadat) memiliki perbedaan yang kecil ditunjukkan dengan notasi yang sama (a). Menurut Hermawan dan Setiawan (2010), notasi yang sama menunjukkan perbedaan paling kecil dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sedangkan, perlakuan C (0.2 mg/l Vanadat) dengan notasi (b) dan perlakuan A (0.002 mg/l Vanadat) dengan notasi (c) menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan antara konsentrasi Vanadat terhadap pertumbuhan *Dunaliella* sp. Dilihat dari notasi, dapat diketahui bahwa dosis Vanadat terbaik yaitu pada perlakuan A sebesar 0.002 mg/l dengan notasi (c). Apabila perlakuan dengan dosis lebih rendah tetapi mempunyai pengaruh yang sama dengan perlakuan dengan dosis yang lebih tinggi dalam meningkatkan hasil, maka perlakuan dosis yang lebih rendah tersebut lebih baik daripada perlakuan dosis yang lebih tinggi di atasnya. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Shatasivam

dan Juntawong (2013), bahwa Vanadat dibutuhkan oleh mikroalga dalam jumlah yang sedikit untuk pertumbuhannya.

#### **4.2 Produksi Beta karotena dari Mikroalga *Dunaliella* sp.**

Analisis produksi Beta karotena pada *Dunaliella* sp. didapatkan melalui proses pemisahan kultur dari media serta karakterisasi Beta karotena dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatogram*).

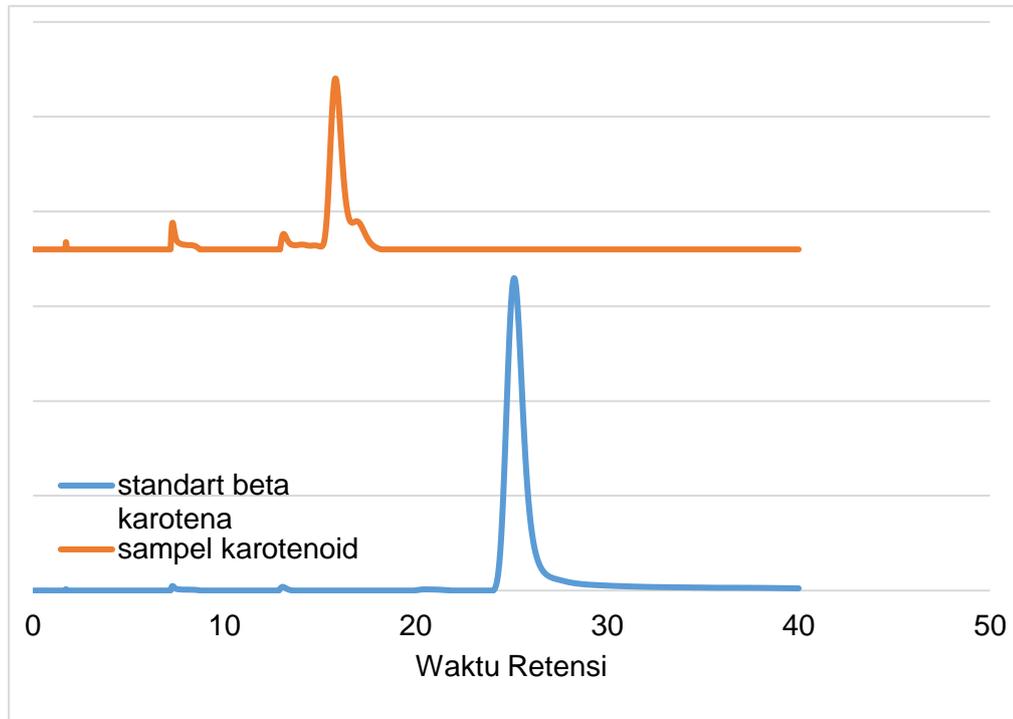
##### **4.2.1 Pemisahan Kultur *Dunaliella* sp. dari Media**

Hasil pemisahan kultur *Dunaliella* sp. dari media didapatkan massa *pellet* sebesar 8.22 gr. Massa kering yang didapat sebesar 0.48 gr melalui metode *freeze Dry*, kemudian dimaserasi sehingga didapat massa senyawa karotenoid sebesar 0.01 gr. Persentase Beta karotena yang didapat sebesar 0.0011 %. Dari hasil tersebut, dapat diketahui bahwa mikroalga *Dunaliella* sp. terbukti mengandung senyawa Beta karotena didalamnya, hanya saja hasil yang didapatkan tergolong sangat sedikit apabila dibandingkan dengan penelitian Tafreshi dan Shariati (2009) yang menyatakan bahwa kandungan beta karotena dalam *Dunaliella* dapat mencapai 14 % dari massa kering. Kemungkinan ini bisa disebabkan karena dalam proses ekstraksi yang dilakukan menggunakan kultur murni *Dunaliella* sp. dengan kondisi kultur yang memang optimal untuk pertumbuhannya, sedangkan sebaliknya menurut Raja *et al.* (2007), bahwa produksi Beta karotena dari *Dunaliella* sp. akan meningkat pada kondisi yang kurang optimal atau kondisi stres seperti penyinaran dan salinitas yang ekstrim.

##### **4.2.2 Karakterisasi Beta karotena dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatogram*)**

Karakterisasi HPLC digunakan untuk menganalisis kandungan Beta karotena dalam produk hasil isolasi, dimana produk hasil isolasi dibandingkan

dengan standar Beta karotena dan diamati berdasarkan waktu retensinya. Hasil karakterisasi senyawa karotenoid dan standar Beta karotena dengan menggunakan kromatografi HPLC ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 2. Kromatogram HPLC standar Beta karotena dan karotenoid hasil isolasi

Berdasarkan kromatogram HPLC diatas diketahui bahwa antara standar Beta karotena dan senyawa karotenoid hasil isolasi memiliki perbedaan waktu retensi sehingga untuk menentukan jenis karotenoid yang terkandung dalam senyawa karotenoid hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan pendekatan jurnal dan studi literatur terkait topik tersebut. Hasil studi literatur tentang waktu retensi dan bentuk isomer dapat dilihat pada Tabel 3. dan hasil uji HPLC pada senyawa Beta karotena dapat dilihat pada Tabel 4.

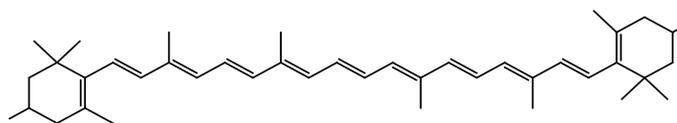
Tabel 3. Hasil Studi Literatur

Waktu Retensi	Isomer	Referensi
7.6	All-trans Zeaxanthin	Hu <i>et al.</i> , (2008)
19.1	13- <i>cis</i> -Beta karotena	
12.31	13- <i>cis</i> -Beta karotena	Lin and Chen, (2003)

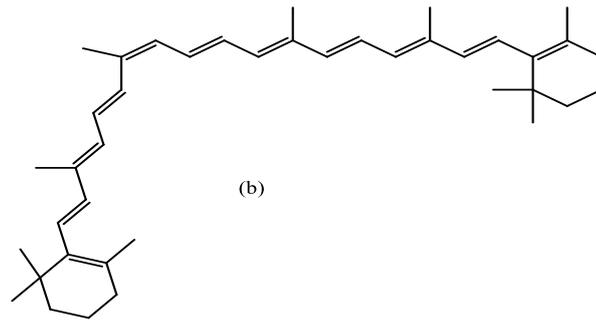
Tabel 4. Hasil Uji HPLC pada senyawa Beta karotena

Waktu Retensi	Prediksi Isomer	Kadar (%)
7,289	All-trans Zeaxanthin	-
15,774	13- <i>cis</i> -Beta karotena	0.0011
25,135	<i>all-trans</i> -Beta karotena	100

Hu *et al.* (2008) menggunakan HPLC dengan kondisi operasional, menggunakan kolom C30 (250 x 4,6 mm, 5 µm) dengan pelarutnya metanol:acetonitril:air (84/14/2,v/v/v) /metilen klorida (75/25,v/v), laju alir 1 mL/min, detektor 450 nm. Sedangkan pada penelitian Lin dan chen (2003), kondisi operasional yang digunakan yaitu kolom C30 (250 x 4,6 mm, 5 µm) dengan pelarutnya 1-butanol-acetonitril (30:70, v/v) (A) dan metilen klorida (B) dimana elusi gradiennya umumnya 99 % A dan 1% B, kemudian dinaikan menjadi 4 % B pada menit ke 20, 10 % B pada menit ke 50 kemudian diturunkan menjadi 1 % B pada menit ke 55, laju alir 2 ml/min dengan detektor 476 nm. Hasil studi literatur yang dilakukan berdasarkan perbandingan waktu retensinya menunjukkan bahwa Beta karotena yang terkandung dalam *Dunaliella* sp. kemungkinan pada bentuk 13-*cis*-Beta karotena. Hasil ini sesuai dengan pendapat Schieber dan Carle (2005), bahwa *Dunaliella salina* diketahui mengandung Beta karotena dalam bentuk *cis*-isomers (9-*cis*- dan 13-*cis*-Beta karotena). Struktur hasil prediksi senyawa dalam sampel karotenoid ditunjukkan pada Gambar 6.



(a)



Gambar 3. Struktur senyawa (a) *all-trans*-Beta karotena, (b) *13-cis*-Beta karotena

### 4.3 Kualitas Air

Analisis terhadap kualitas air diperlukan sebagai parameter penunjang untuk mendukung parameter utama. Parameter kualitas air yang diamati meliputi suhu dan salinitas.

#### 4.3.1 Suhu

Hasil pengukuran suhu selama penelitian berkisar antara 26-32 °C (Lampiran 3). Kisaran suhu ini masih terbilang baik untuk kultur mikroalga khususnya fitoplankton. Menurut Ekawati (2005), suhu air yang baik untuk *Dunaliella salina* berkisar antara 20-40 °C. Suhu air dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang berasal dari lampu dan juga radiasi sinar matahari. Menurut Endrawati dan Rianiatsih (2013), suhu air sangat berperan dalam kultur mikroalga di laboratorium, karena sangat mempengaruhi metabolisme sel.

#### 4.3.2 Salinitas

Hasil pengukuran salinitas pada semua perlakuan diperoleh kisaran antara 70-110 ppt (Lampiran 4). Kadar salinitas selama pemeliharaan dikondisikan pada salinitas ekstrim yang bertujuan untuk merangsang akumulasi karotenoid pada *dunaliella* sp. karena pada kondisi stres lingkungan (salinitas tinggi) diketahui bahwa *dunaliella* sp. akan memproduksi dan mengakumulasi karotenoid khususnya Beta

karotena dalam jumlah banyak (Ben-Amotz dan Avron, 1992). Kisaran salinitas tersebut masih dalam batas yang bisa ditoleransi oleh *dunaliella* sp. Menurut Abu-Rezq *et al.* (2010), salinitas yang optimal untuk pertumbuhan *Dunaliella salina* adalah pada salinitas 45 ppt tetapi *Dunaliella salina* dapat hidup pada salinitas media yang sangat tinggi hingga mencapai salinitas 160 ppt.