

**PENGARUH MODIFIKASI MEDIA F/2 TERHADAP PERTUMBUHAN SERTA
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MIKROALGA *Nannochloropsis oculata***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN**

Oleh:

**MOH. AULIA GHAFARI
NIM. 145080600111031**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH MODIFIKASI MEDIA F/2 TERHADAP PERTUMBUHAN SERTA
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MIKROALGA *Nannochloropsis oculata***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Kelautan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh:

**MOH. AULIA GHAFARI
NIM. 145080600111031**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

SKRIPSI

**PENGARUH MODIFIKASI MEDIA F/2 TERHADAP PERTUMBUHAN SERTA
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MIKROALGA *Nannochloropsis oculata***

Oleh:

Moh. Aulia Ghafari

NIM. 145080600111031

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 4 Desember 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing I

Defri Yona, S. Pi., M. Sc. Stud., D. Sc.
NIP. 197812292003122002

Tanggal: 17 DEC 2018

Menyetujui,
Dosen Pembimbing II

an.

Dr. Ratih Pangestuti
NIP. 198310272014012001

Tanggal:

17 DEC 2018

Mengetahui,
Ketua Jurusan PSPK

Dr. Eng. Abu Bakar Sambah, S.Pi., MT
NIP. 19780717 200502 1 004

Tanggal:

17 DEC 2018

PERTANYAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mohammad Aulia Ghafari

NIM : 145080600111031

Program Studi: Ilmu Kelautan

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam pembuatan laporan skripsi ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri yang dibimbing oleh dosen pembimbing skripsi dan pembimbing lapang. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa laporan ini adalah hasil plagiasi, maka saya bersedia untuk menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai dengan hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Desember 2018

Mohammad Aulia Ghafari

NIM. 145080600111031

Judul : **PENGARUH MODIFIKASI MEDIA F/2 TERHADAP PERTUMBUHAN
SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MIKROALGA *Nannochloropsis
oculata***

Nama Mahasiswa : Mohammad Aulia Ghafari

NIM : 145080600111031

Program Studi : Ilmu Kelautan

PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : Defri Yona, S.Pi., M.Sc.Stud., D.Sc

Pembimbing 2 : Dr. Ratih Pangestuti

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D

Dosen Penguji 2 : Syarifah Hikmah Julinda Sari, S.Pi., M.Sc

Tanggal Ujian : 4 Desember 2018

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa laporan penelitian ini tidak akan tersusun dengan baik tanpa adanya bantuan maupun dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Keluarga besar penulis atas segala dukungan baik moril maupun materil.
2. Ibu Defri Yona, S.Pi., M.Sc.Stud., D.Sc. selaku pembimbing pertama penulis atas saran dan bimbingannya yang sangat membangun.
3. Ibu Dr. Ratih Pangestuti selaku pembimbing kedua sekaligus pembimbing lapang penulis yang telah meluangkan banyak waktu dan pikirannya untuk membimbing selama penelitian.
4. Instansi Pusat Penelitian Oseanografi LIPI yang telah bersedia menerima penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium Marikultur Mikroalga dan Produk Alam Laut milik P2O LIPI.
5. Bapak Indyaswan Tegar Suryaningtyas, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing lapang penulis yang telah meluangkan banyak waktu dan pikirannya untuk membimbing selama penelitian.
6. Peneliti – peneliti lain yang berada di Pusat Penelitian Oseanografi LIPI khususnya Ibu Serly Sapulette dan Anggeri L. S. atas bimbingan dan saran selama berjalannya penelitian.
7. Keluarga kecil Kumis Kucing 29 A dan keluarga besar Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya atas segala do'a dan dukungannya.

PENGARUH MODIFIKASI MEDIA F/2 TERHADAP PERTUMBUHAN SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MIKROALGA *Nannochloropsis oculata*

Mohammad Aulia Ghafari¹, Defri Yona², Ratih Pangestuti³

ABSTRAK

Mikroalga merupakan tumbuhan berukuran mikroskopis yang hidup di perairan, baik laut maupun tawar. Mikroalga memiliki berbagai kandungan, salah satunya antioksidan. *Nannochloropsis oculata* merupakan mikroalga yang banyak ditemukan di perairan laut. Salah satu media kultur yang banyak digunakan ialah media f/2. Belum diketahui kadar media f/2 yang paling optimum untuk pertumbuhan serta aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata*. Atas dasar tersebut, penelitian ini bertujuan untuk (1) mengetahui pengaruh modifikasi media f/2 terhadap pertumbuhan mikroalga *N. oculata* dan (2) mengetahui pengaruh modifikasi media f/2 terhadap pertumbuhan mikroalga *N. oculata*. Penelitian ini terdiri atas beberapa prosedur; kultivasi, pengamatan pertumbuhan, ekstraksi, dan pengujian antioksidan. Pertumbuhan (kepadatan sel dan biomassa) tertinggi mikroalga *N. oculata* ditemukan pada media f/2 + 0.5 ml, dan terendah pada media f/2 - 0.5 ml. Aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* terkuat ditemukan pada media f/2 + 1 ml, dan terlemah pada media f/2 - 0.5 ml. Modifikasi media memberikan hasil yang berbeda – beda pada kepadatan sel, biomassa, serta aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata*, namun uji statistika membuktikan pengaruh yang diberikan oleh perbedaan komposisi media tidak signifikan terhadap pertumbuhan (kepadatan sel dan biomassa) maupun aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* ($P \geq 0.05$).

Kata Kunci: Mikroalga, Antioksidan, Media F/2, *Nannochloropsis oculata*

F/2 MEDIA MODIFICATION EFFECTS ON GROWTH AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES FROM MICROALGAE *Nannochloropsis oculata*

Mohammad Aulia Ghafari¹, Defri Yona², Ratih Pangestuti³

ABSTRACT

Microalgae are microscopic plants that live both in marine and fresh water. Microalgae have various contents, one of which is antioxidant. *Nannochloropsis oculata* is a common microalgae that found in marine waters. F/2 medium is one of the most widely used media for microalgae culture. The most optimum f/2 media composition for growth and antioxidant activity of microalgae *N. oculata* is unknown. Therefore, the aims of this study are (1) to determine the effect of f/2 medium modification to the growth of microalgae *N. oculata* and (2) to determine the effect of f/2 medium modification to the antioxidant activity of microalgae *N. oculata*. This study consist of several procedures; cultivation, growth observation (cell density and biomass), extraction, and antioxidant testing. The highest growth (cell density and biomass) of microalgae *N. oculata* was found in the f / 2 + 0.5 ml media, while the lowest was f / 2 - 0.5 ml media. The strongest antioxidant activity of *N. oculata* microalgae was found on f / 2 + 1 ml media, and the weakest was the media f / 2 - 0.5 ml. Media modification gave different results on cell density, biomass, and antioxidant activity of microalgae *N. oculata*, but statistical tests has proven the effect given by differences in media composition is not significant on growth (cell density and biomass) and antioxidant activity of microalgae *N. oculata* ($P \geq 0.05$).

Keywords: Microalgae, Antioxidant, F/2 Medium, *Nannochloropsis oculata*

(¹) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

(²) Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

(³) Peneliti Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena berkat limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul 'Pengaruh Modifikasi Media F/2 Terhadap Pertumbuhan Serta Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Nannochloropsis oculata*'. Laporan skripsi ini berisi hasil penelitian penulis dalam melihat pengaruh modifikasi media kultur terhadap mikroalga *Nannochloropsis oculata* ditinjau dari pertumbuhan dan aktivitas antioksidannya.

Penulis menyadari dalam penulisan laporan skripsi ini masih banyak kekurangan dan kesalahan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk menyempurnakan kekurangan tersebut. Semoga nantinya hasil dari penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak.

Malang, September 2018

Penulis

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Kegunaan	3
1.4.1 Bagi Pemerintah.....	3
1.4.2 Bagi Masyarakat	3
1.4.3 Bagi Akademisi	3
1.5 Tempat, Waktu/Jadwal Pelaksanaan	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Mikroalga	5
2.1.1 Mikroalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	6
2.2 Media F/2.....	8
2.3 Antioksidan	10
3. METODOLOGI	11
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	11
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	11
3.3 Prosedur Penelitian.....	12
3.4 Pengumpulan Data	13
3.4.1 Kultur Mikroalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	13
3.4.2 Ekstraksi Mikroalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	16
3.4.3 Pengujian Antioksidan Mikroalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	17
3.5 Analisis Data.....	18
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4.1 Pertumbuhan Mikroalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	19
4.2 Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	22
4.3 Hubungan Pertumbuhan dengan Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	29
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	32
5.1 Kesimpulan.....	32
5.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pemanfaatan Mikroalga <i>N. oculata</i>	7
2. Komposisi dan Fungsi Media F/2	9
3. Konsentrasi Stok dan Konsentrasi Molar Komponen Media f/2.....	9
4. Konsentrasi Stok dan Konsentrasi Molar Komponen Larutan <i>Trace Metal</i>	9
5. Konsentrasi Stok dan Konsentrasi Molar Komponen Larutan Vitamin.....	10
6. Peralatan Yang Digunakan Dalam Penelitian.....	11
7. Bahan Yang Digunakan Dalam Penelitian	12
8. Jumlah Masing - Masing Komponen di Setiap Perlakuan.....	15
9. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Nannochloropsis oculata</i> Dengan Penelitian Lain	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Nannochloropsis oculata</i> (Phycokey, 2018).....	6
2. Prosedur Penelitian.....	13
3. Grafik Kepadatan Sel Mikroalga <i>N. oculata</i>	19
4. Grafik Biomassa Mikroalga <i>N. oculata</i>	20
5. Grafik Nilai Inhibisi Radikal Bebas Mikroalga <i>N. oculata</i>	23
6. Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	23
7. Perbandingan Pertumbuhan Dengan Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Penghitungan Kepadatan Sel ($\times 10^6$)	37
2. Penghitungan Biomassa (gr/30 ml)	37
3. Grafik Inhibisi Antioksidan Mikroalga <i>N. oculata</i> Media F/2	38
4. Grafik Inhibisi Antioksidan Mikroalga <i>N. oculata</i> Media F/2 - 0.5 ml	38
5. Grafik Inhibisi Antioksidan Mikroalga <i>N. oculata</i> Media F/2 + 0.5 ml	39
6. Grafik Inhibisi Antioksidan Mikroalga <i>N. oculata</i> Media F/2 + 1 ml	39
7. Struktur Data Uji Statistika (Kepadatan Sel).....	40
8. Struktur Data Uji Statistika (Biomassa)	41
9. Struktur Data Uji Statistika (Aktivitas Antioksidan).....	42
10. Uji Statistika Pengaruh Perbedaan Media Terhadap Kepadatan Sel.....	43
11. Uji Statistika Pengaruh Perbedaan Media Terhadap Biomassa	44
12. Uji Statistika Pengaruh Perbedaan Media dan Konsentrasi Terhadap Aktivitas Antioksidan	45
13. Dokumentasi Penelitian	46

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang terletak di wilayah tropis dan memiliki wilayah perairan lebih luas dibandingkan dengan daratan. Wilayah tropis merupakan kondisi lingkungan yang optimum bagi banyak biota, khususnya di perairan laut. Eksplorasi serta penelitian mengenai sumber daya alam yang ada di lautan masih jarang dilakukan di Indonesia. Salah satu sumber daya alam potensial yang masih kurang diteliti ialah mikroalga. Mikroalga merupakan tumbuhan uniseluler yang berukuran renik, dan termasuk dalam kelas alga. Mikroalga memiliki diameter antara 3 – 30 μm (Abdurrachman *et al.*, 2013).

Pemanfaatan mikroalga di Indonesia sudah mulai berkembang, dan pemanfaatannya meliputi mikroalga sebagai sumber pangan fungsional, sebagai bahan kosmetik, bahan biogas/biodiesel, sumber antioksidan, serta antibakteri. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Keberadaan antioksidan dapat melindungi tubuh dari berbagai penyakit degeneratif dan kanker, serta membantu menekan proses penuaan. Antioksidan yang umum digunakan saat ini merupakan antioksidan sintetik yang mana bahan – bahannya tidak alami. Antioksidan sintetik diduga dapat memberikan dampak negatif bagi tubuh manusia, seperti keracunan dan menyebabkan kanker. Pengembangan antioksidan dari bahan alami menjadi penting karena dampak negatif yang dihasilkan antioksidan berbahan dasar sintetik (Bariyyah *et al.*, 2013).

Salah satu mikroalga yang umum ditemukan di perairan laut ialah *Nannochloropsis oculata*. *N. oculata* merupakan salah satu dari enam mikroalga

yang tergolong genus *Nannochloropsis*, bersel tunggal, dan tergolong pada kelas Eustigmatophyceae. *N. oculata* merupakan salah satu sumber asam lemak (omega-3) alami (Kagan dan Matulka, 2015). Kandungan asam lemak dari mikroalga *N. oculata* akan meningkat ketika diberi perlakuan pembatasan karbon di media tumbuhnya (Zavřel *et al.*, 2018). Selanjutnya dari Kagan dan Matulka (2015), minyak turunan yang berasal dari *N. oculata* sudah dikategorikan aman untuk dikonsumsi (*food grade*). Adapun kandungan nutrisi dari *N. oculata* yaitu tinggi protein, asam lemak, dan pigmen antioksidan. *N. oculata* sudah dimanfaatkan sebagai pakan dalam budidaya perairan.

Diperlukan proses kultivasi baik skala laboratorium maupun industri dalam pemanfaatan mikroalga *N. oculata* untuk kebutuhan komersil. Media yang paling umum digunakan untuk kultur mikroalga laut ialah media f/2, dengan komponen NaNO_3 , NaH_2PO_4 , Na_2SiO_3 , vitamin, dan *trace metal* (Reyimu dan Özçimen, 2017). Seluruh kandungan tersebut memiliki standar sebesar 1 ml per komponen per liter air laut. Komponen media f/2 memiliki kandungan yang penting bagi pertumbuhan mikroalga, seperti nitrogen dan fosfat yang terkandung pada NaNO_3 dan NaH_2PO_4 .

Penelitian tentang komposisi media f/2 yang paling optimal untuk pertumbuhan serta aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* menjadi alasan peneliti untuk melakukan modifikasi media f/2. Dari hasil modifikasi media f/2 peneliti meninjau pengaruhnya terhadap pertumbuhan melalui perhitungan kepadatan sel, perhitungan biomassa, serta pengujian aktivitas antioksidan. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan acuan untuk pemanfaatan mikroalga yang berasal dari perairan Indonesia, salah satunya ialah *N. oculata*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh modifikasi media f/2 terhadap pertumbuhan mikroalga *N. oculata*?
2. Bagaimana pengaruh modifikasi media f/2 terhadap aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata*?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui pengaruh modifikasi media f/2 terhadap pertumbuhan mikroalga *N. oculata*
2. Mengetahui pengaruh modifikasi media f/2 terhadap aktivitas antioksidan *N. oculata*

1.4 Kegunaan

1.4.1 Bagi Pemerintah

Manfaat yang didapat oleh pemerintah/instansi terkait dari penelitian ini adalah didapatnya data mengenai pertumbuhan paling optimal dari mikroalga *N. oculata* serta data aktivitas antioksidan untuk selanjutnya dilakukan pemanfaatan secara komersil sebagai pangan fungsional.

1.4.2 Bagi Masyarakat

Manfaat yang didapat oleh masyarakat ialah pengetahuan tambahan mengenai mikroalga, khususnya spesies *N. oculata* memiliki banyak manfaat untuk kehidupan manusia, salah satunya karena memiliki kemampuan antioksidan..

1.4.3 Bagi Akademisi

Manfaat yang didapat oleh akademisi dari penelitian ini ialah data dan metode dari penelitian ini bisa dijadikan acuan atau pembanding untuk penelitian serupa (referensi).

1.5 Tempat, Waktu/Jadwal Pelaksanaan

Penelitian dilakukan di Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (P2O-LIPI), yang berlokasi di Jalan Pasir Putih 1 Ancol Timur, Jakarta Utara. Laboratorium yang digunakan pada penelitian ini ialah laboratorium marikultur mikroalga dan laboratorium produk alam laut. Penelitian direncanakan mulai bulan Juni hingga Agustus 2018.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

Mikroalga atau fitoplankton merupakan kelompok tumbuhan yang termasuk dalam kelas alga. Disebut mikroalga karena tumbuhan ini berukuran mikroskopis, umumnya memiliki diameter antara 3-30 μ meter. Mikroalga mampu hidup secara soliter maupun berkoloni di perairan, dimana mikroalga ditemukan di perairan laut maupun tawar. Mikroalga termasuk pada mikroorganisme fotosintetik, dimana mikroalga mampu memanfaatkan sinar matahari dan karbon dioksida untuk menghasilkan oksigen dan biomassa yang sangat penting bagi ekosistem perairan (Abdurrachman *et al.*, 2013). Habitat mikroalga berada di perairan tawar, dan laut. Distribusi vertikal mikroalga terbagi menjadi empat, yaitu yang hidup di zona euphotik (ephiplankton), zona disphotik (mesoplankton), zona aphotik (bathylankton), dan bentik (hypoplankton).

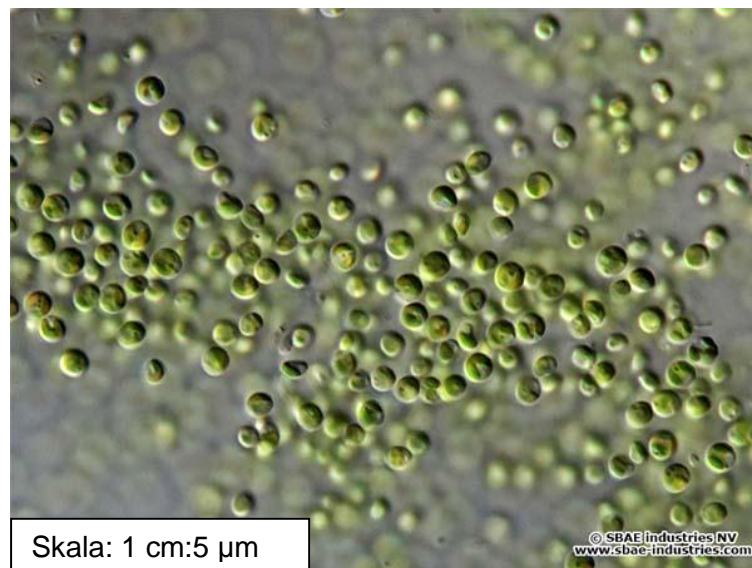
Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh beberapa faktor baik fisika maupun kimia. Faktor fisika meliputi suhu, intensitas cahaya, pH, dan salinitas, sedangkan faktor kimia merupakan nutrisi atau unsur hara (makronutrien dan mikronutrien). Faktor fisika dibutuhkan oleh mikroalga, namun setiap spesies memiliki nilai optimal yang berbeda – beda dari setiap komponennya (suhu, intensitas cahaya, pH, dan salinitas). Nutrien yang dibutuhkan oleh mikroalga terbagi atas makronutrien (C, O, H, N, P, K, Mg, S, Cl) dan mikronutrien (Mn, Fe, Zn, Cu, Mo) (Yanuhar, 2016).

Mikroalga merupakan tumbuhan yang paling efisien dalam menangkap, memanfaatkan energi matahari, dan CO₂ untuk keperluan fotosintesis (Kasrina *et al.*, 2012). Mikroalga dominan berkontribusi untuk memproduksi biomassa di

dalam ekosistem perairan. Mikroalga merupakan sumber mikronutrien, vitamin, minyak, dan beberapa elemen mikro untuk komunitas perairan.

2.1.1 Mikroalga *Nannochloropsis oculata*

N. oculata merupakan salah satu dari enam mikroalga yang tergolong genus *Nannochloropsis*, bersel tunggal, dan tergolong pada kelas Eustigmatophyceae (Kagan dan Matulka, 2015). *N. oculata* merupakan mikroalga yang umum ditemukan di perairan laut. *N. oculata* merupakan organisme fototrofik, hidup mengambang, memiliki diameter 2 – 4 μm , dan tumbuh di suhu sekitar 11 – 16°C. *N. oculata* tumbuh di air laut dengan salinitas optimal 25 – 30 ppt, pH 7 – 8 dan intensitas cahaya 100 – 10000 lux (Yanuhar, 2016). Gambar 1 menunjukkan mikroalga *Nannochloropsis oculata* dengan skala 1 cm : 5 μm .



Gambar 1. *Nannochloropsis oculata* (Phycokey, 2018)

Adapun klasifikasi mikroalga *N. oculata* adalah sebagai berikut:

Empire :Eukaryota
Kingdom :Chromista
Phylum :Ochrophyta
Class :Eustigmatophyceae
Order :Eustigmatales
Family :Monodopsidaceae
Genus :Nannochloropsis
Species :Nannochloropsis oculata

Sumber: (Algaebase, 2018)

Genus *Nannochloropsis* memiliki enam spesies yang sulit dibedakan dengan metode taksonomi karena morfologinya yang sederhana. *N. oculata* memiliki ciri – ciri berwarna kehijauan, tidak berflagel, dan berbentuk bola. *N. oculata* memiliki satu kloroplas di setiap selnya, dan hanya memiliki satu klorofil (klorofil a). Pigmen utama pada *N. oculata* ialah violaxanthin (Yanuhar, 2016).

N. oculata merupakan salah satu mikroalga potensial sebagai *biofuel* (Zavřel *et al.*, 2018). Zat – zat yang terkandung pada mikroalga *N. oculata* adalah protein, asam lemak, dan pigmen antioksidan (Kagan dan Matulka, 2015).

Mikroalga *N. oculata* sudah dimanfaatkan untuk berbagai hal, beberapa pemanfaatan mikroalga *N. oculata* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pemanfaatan Mikroalga *N. oculata*

No.	Pemanfaatan	Oleh
1	Antibakteri	Surendhiran <i>et al.</i> (2014), Kellam dan Walker (1989)
2	Pakan Budidaya Perairan	Kagan dan Matulka (2015)
3	Substitusi Lemak ASI	He <i>et al.</i> (2017)
4	Biogas (Bioethanol/Biodiesel)	Reyimu dan Ozcimen (2017), McKennedy <i>et al.</i> (2016)

2.2 Media F/2

Diperlukan nutrisi pada media tanam agar kultur mikroalga dapat hidup selama minimal 14 hari, dimana waktu tersebut umumnya merupakan awal dari fase stasioner pertumbuhan mikroalga (Öffentlichkeitsarbeit, 2008). Menurut Reyimu dan Ozcimen (2017), media f/2 merupakan media yang umum digunakan untuk kultur mikroalga, dengan kandungan NaNO_3 , NaH_2PO_4 , Na_2SiO_3 , vitamin, dan *trace metal*. Penggunaan media f/2 terhadap mikroalga yang tidak tergolong diatom, komponen yang mengandung silikat (Na_2SiO_3) tidak perlu ditambahkan karena yang membutuhkan silikat sebagai sumber nutrisi adalah mikroalga yang tergolong diatom (Guillard dan Ryther, 1962).

Media f/2 mengandung dua nutrisi yang sangat penting untuk pertumbuhan mikroalga, yaitu fosfat dan nitrat dari NaH_2PO_4 dan NaNO_3 . Menurut Petersen dan Risberg (2008), unsur P dan N merupakan nutrisi yang sangat penting di ekosistem perairan. Unsur P dibutuhkan mikroalga untuk mengubah cahaya matahari menjadi energi, pertumbuhan sel, dan reproduksi. Unsur N dibutuhkan mikroalga untuk mensintesa protein. Antioksidan mikroalga dipengaruhi oleh kandungan sulfat (SO_4) (Hafsa *et al.*, 2017). Kandungan sulfat di media f/2 terdapat pada dua senyawa *trace metal* (ZnSO_4 dan CuSO_4).

Komposisi dan fungsi setiap komponen media f/2 dapat dilihat pada Tabel 2. Konsentrasi stok, dan konsentrasi molar dari setiap komponen media f/2 dapat dilihat pada Tabel 3. Komponen vitamin dan *trace metal* tersusun atas beberapa komponen, dimana Tabel 4 menjelaskan komponen penyusun vitamin, serta konsentrasi stok dan konsentrasi molar setiap komponen penyusunnya. Tabel 5 menjelaskan komponen penyusun *trace metal*, serta konsentrasi stok dan konsentrasi molar setiap komponen penyusunnya.

Tabel 2. Komposisi Dan Fungsi Media F/2

No.	Bahan	Fungsi
1	NaNO ₃	Sintesa protein (Peterson dan Risberg, 2008)
2	NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O	Reproduksi (Peterson dan Risberg, 2008)
3	Na ₂ SiO ₃ . H ₂ O	Sumber silikat (diatom) (Guillard dan Ryther, 1962)
4	Vitamin B ₁₂	Kofaktor reaksi reduksi – oksidasi dan perpindahan metil (Croft <i>et al.</i> , 2006)
5	Biotin	Kofaktor sintesis asam lemak (Croft <i>et al.</i> , 2006)
6	Thiamin HCl	Kofaktor metabolisme (karbohidrat dan asam amino) (Croft <i>et al.</i> , 2006)
7	FeCl . 6H ₂ O	Katalisator reaksi oksidasi – reduksi (Yanuhar, 2016)
8	Na ₂ EDTA . 2H ₂ O	Pengikat logam (Yanuhar, 2016)
9	MnCl ₂ . 4H ₂ O	Katalisator transpor elektron fotosintesis (Yanuhar, 2016)
10	ZnSO ₄ . 7H ₂ O	Katalisator hidrasi CO ₂ (Yanuhar, 2016)
11	COCl ₂ . 6H ₂ O	Katalisator dalam fotosistem II (Yanuhar, 2016)
12	Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	Katalisator reduksi nitrat (Yanuhar, 2016)
13	CuSO ₄ . 5H ₂ O	Katalisator transpor elektron (Yanuhar, 2016)

Tabel 3. Konsentrasi Stok dan Konsentrasi Molar Komponen Media f/2

No.	Komponen	Konsentrasi (stok)	Jumlah	Konsentrasi (molar) di Media Akhir
1	NaNO ₃	75 g/L dH ₂ O	1 mL	8,82 x 10 ⁻⁴ M
2	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	5 g/L dH ₂ O	1 mL	3,62 x 10 ⁻⁵ M
3	Na ₂ SiO ₃ 9H ₂ O	30 g/L dH ₂ O	1 mL	1,06 x 10 ⁻⁴ M
4	Larutan <i>trace metal</i>	(lihat Tabel 4.)	1 mL	---
5	Larutan vitamin	(lihat Tabel 5.)	0,5 mL	---

Tabel 4. Konsentrasi Stok dan Konsentrasi Molar Komponen Larutan *Trace Metal*

No.	Komponen	Konsentrasi (stok)	Jumlah	Konsentrasi (molar) di Media Akhir
1	FeCl ₃ 6H ₂ o	---	3,15 g	1,17 x 10 ⁻⁵ M
2	Na ₂ EDTA 2H ₂ O	---	4,36 g	1,17 x 10 ⁻⁵ M
3	CuSO ₄ 5H ₂ O	9,8 g/L dH ₂ O	1 mL	3,93 x 10 ⁻⁸ M
4	Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	6,3 g/L dH ₂ O	1 mL	2,60 x 10 ⁻⁸ M
5	ZnSO ₄ 7H ₂ O	22,0 g/L dH ₂ O	1 mL	7,65 x 10 ⁻⁸ M
6	CoCl ₂ 6H ₂ O	10,0 g/L dH ₂ O	1 mL	4,20 x 10 ⁻⁸ M
7	MnCl ₂ 4H ₂ O	180,0 g/L dH ₂ O	1 mL	9,10 x 10 ⁻⁷ M

Tabel 5. Konsentrasi Stok dan Konsentrasi Molar Komponen Larutan Vitamin

No.	Komponen	Konsentrasi (stok)	Jumlah	Konsentrasi (molar) di Media Akhir
1	Thiamine HCL (vit. B ₁)	---	200 mg	$2,96 \times 10^{-7}$ M
2	Biotin (vit. H)	1,0 g/L dH ₂ O	1 mL	$2,05 \times 10^{-9}$ M
3	Cyanocobalamin (vit. B ₁₂)	1,0 g/L dH ₂ O	1 mL	$3,69 \times 10^{-10}$ M

2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki peranan penting dalam menjaga kesehatan karena dapat menangkap molekul radikal bebas sehingga menghambat reaksi oksidatif dalam tubuh (Adawiah *et al.*, 2016). Antioksidan sangat diperlukan oleh tubuh untuk mengatasi dan mencegah stres oksidatif (Werdhasari, 2014). Serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas mulai dari penyakit kardiovaskuler, penyakit degeneratif, hingga kanker (Rosahdi *et al.*, 2015).

Antioksidan terbagi menjadi dua jenis, yaitu alami dan buatan (sintetik). Antioksidan alami banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan, sayur-sayuran dan buah-buahan (Sayuti and Yenrina, 2015), sedangkan yang termasuk dalam antioksidan sintetik yaitu butil hidroksilanisol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT), propil gallat, dan etoksiquin (Sayuti and Yenrina, 2015). Antioksidan alam telah lama diketahui menguntungkan untuk digunakan dalam bahan pangan karena umumnya derajat toksisitasnya rendah (Cahyadi, 2008). Mikroalga merupakan tumbuhan mikroskopis yang memiliki klorofil, dimana klorofil selain diperlukan untuk melakukan fotosintesis, juga diketahui berpotensi sebagai antioksidan (Rosahdi *et al.*, 2015).

3. METODOLOGI

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian meliputi kultur mikroalga (pembuatan media tanam, penanaman kultur, pengamatan pertumbuhan mikroalga), ekstraksi, pengujian antioksidan, serta penyusunan laporan skripsi. Penelitian dimulai pada bulan Juli 2018 di Laboratorium Marikultur Mikroalga dan Laboratorium Produk Alam Laut Pusat Penelitian Oseanografi (P2O) LIPI, Ancol, Jakarta.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 6, sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 6. Peralatan Yang Digunakan Dalam Penelitian

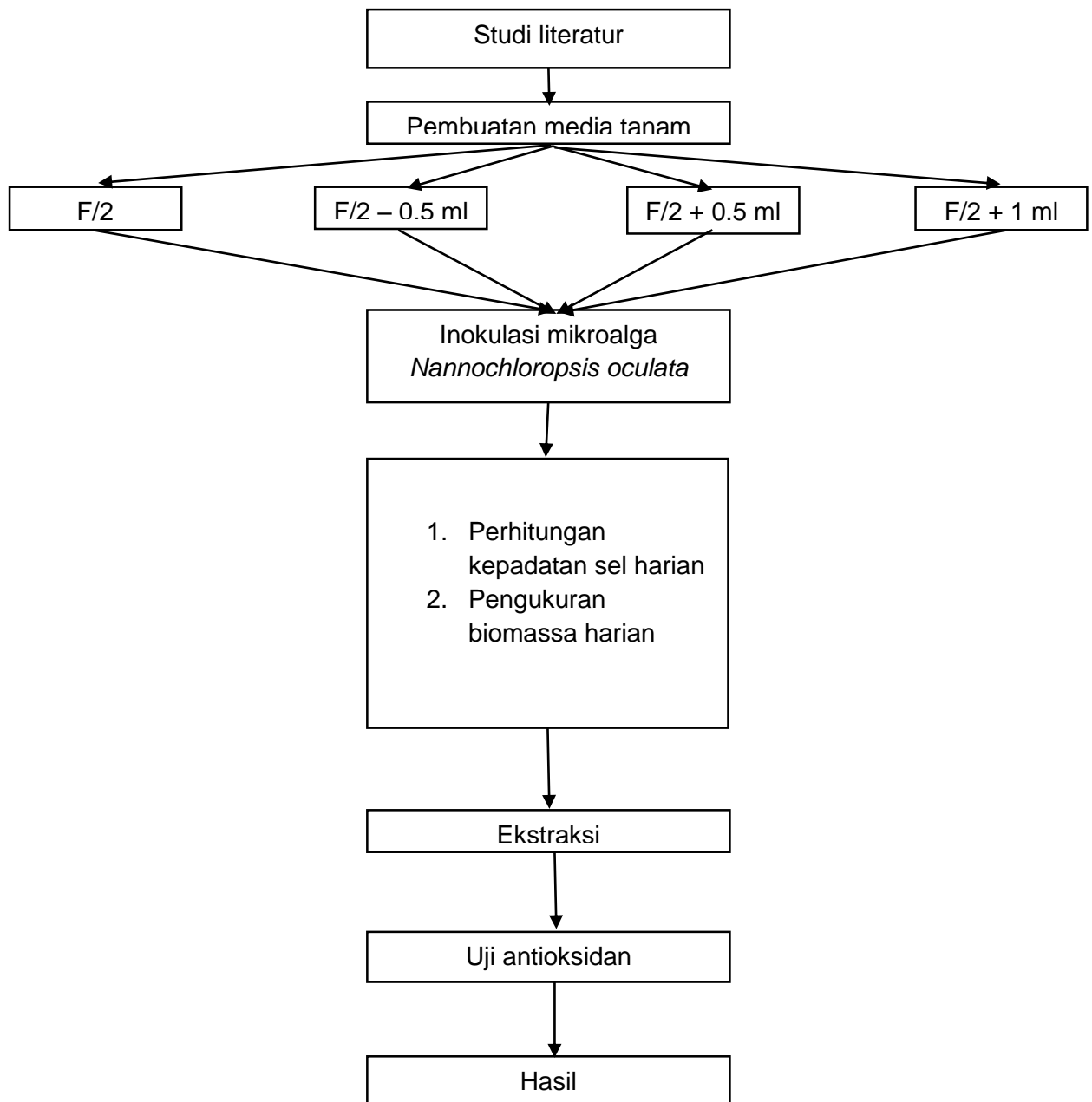
No.	Alat	Fungsi
1	Autoklaf	Untuk sterilisasi basah
2	Oven	Untuk sterilisasi kering
3	Botol 1 Liter	Untuk wadah kultur dan wadah ekstraksi
4	Mikroskop	Untuk melihat kepadatan mikroalga
5	<i>Haemocytometer</i>	Untuk penghitungan kepadatan sel mikroalga
6	Mikro Pipet + tip	Untuk meneteskan larutan
7	Lampu lux	Untuk pencahayaan
8	Aerator	Untuk memberikan udara di botol kultur
9	Sentrifugator	Untuk memisahkan sampel dengan air
10	Tabung sentrifus 50 ml	Untuk wadah sampel sesudah sentrifus
11	Erlenmeyer	Untuk wadah sampel ekstraksi
12	Spatula	Untuk mengaduk sampel dengan larutan
13	Gelas ukur	Untuk mengukur volume larutan
14	Freezer	Untuk penyimpanan sampel
15	Kertas saring	Untuk menyaring ekstrak
16	<i>Vacuum pump</i>	Untuk menghisap air sampel
17	Timbangan analitik	Untuk menimbang sampel
18	Tabung vial	Untuk wadah sampel pengenceran
19	Rak tabung vial	Untuk tempat tabung vial
20	<i>Microplate reader</i>	Instrumentasi pengujian
21	<i>Microplate</i>	Untuk wadah sampel
22	Komputer	Untuk pengolahan data
23	<i>Vortex mixer</i>	Untuk menghomogenkan sampel

Tabel 7. Bahan Yang Digunakan Dalam Penelitian

No.	Bahan	Fungsi
1	Larutan asam	Untuk pengasaman alat
2	Aquades	Untuk pembilasan dari pengasaman
3	<i>Nannochloropsis oculata</i>	Untuk sampel yang akan diamati
4	Air laut steril	Untuk media <i>N. oculata</i>
5	NaNO ₃ , NaH ₃ PO ₄ , Thiamine HCl, Biotin, Cyanocobalamin, FeCl . 6H ₂ O, Na ₂ EDTA 2H ₂ O, MnCl ₂ . 4H ₂ O, ZnSO ₄ 7H ₂ O, CoCl ₂ 6H ₂ O, CuSO ₄ 5H ₂ O, Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	Untuk nutrisi <i>N. oculata</i>
6	Etanol PA	Untuk pelarut biomassa <i>N. oculata</i>
7	Metanol PA	Untuk pelarut ekstrak <i>N. oculata</i>
8	Aseton PA	Untuk pelarut biomassa <i>N. oculata</i>
9	Alkohol	Untuk steril
10	DPPH 1mM	Untuk pengerjaan antioksidan

3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dimulai dengan studi literatur, untuk menentukan metode yang digunakan. Prosedur berikutnya ialah persiapan media kultur (media f/2). Kelima komponen penyusun media f/2 memiliki standar 1 mililiter per komponen per liter air laut. Bentuk modifikasi media f/2 pada penelitian ini ialah mengurangi (f/2 – 0.5 ml) serta menambahkan (f/2 + 0.5 ml dan f/2 + 1 ml) setiap komponen penyusun media f/2. Setelah media siap, kultur mikroalga *N. oculata* diinokulasikan ke media. Pengaruh modifikasi media f/2 terhadap pertumbuhan dilihat dari perhitungan kepadatan sel dan perhitungan biomassa yang dilakukan setiap harinya dimulai dari hari pertama hingga hari panen. Selanjutnya dilakukan ekstraksi kultur dengan metode sentrifugasi dan maserasi. Setelah ekstrak didapat, dilakukan pengujian antioksidan dengan metode DPPH dengan alat bantu *microplate reader*. Seluruh data yang didapat pada penelitian ini dirangkum dalam laporan skripsi. Prosedur penelitian ini dapat dilihat di Gambar 2.



Gambar 2. Prosedur Penelitian

3.4 Pengumpulan Data

3.4.1 Kultur Mikroalga *Nannochloropsis oculata*

Tahapan kultur mikroalga meliputi pembuatan media tanam dan pengamatan pertumbuhan. Tahapan ini bertujuan untuk menyiapkan kultur mikroalga hingga siap diekstraksi, untuk selanjutnya diuji antioksidan

3.4.1.1 Pembuatan Media Kultur

Pembuatan media kultur mikroalga *N. oculata* dilakukan untuk memperbanyak kepadatan sel mikroalga. Media yang umum digunakan untuk kultur mikroalga ialah media f/2, dengan kandungan NaNO_3 , NaH_2PO_4 , Na_2SiO_3 , vitamin, dan *trace metal* (Reyimu dan Özçimen, 2017). Pada penelitian ini tidak menggunakan Na_2SiO_3 karena mikroalga yang dikultur tidak membutuhkan silikat sebagai nutriennya. Masing – masing komponen penyusun media f/2 tersebut dicampurkan ke air laut steril sebanyak 1 ml per komponen penyusun media f/2 per 1 liter air laut steril (media f/2 normal). Peneliti melakukan modifikasi media f/2 dengan mengurangi serta menambahkan setiap komponen penyusun media f/2. Berturut – turut bentuk modifikasinya ialah mengurangi komponen penyusun media f/2 menjadi 0.5 ml per komponen media f/2 per 1 liter air laut f/2 (media f/2 – 0.5 ml), menambahkan komponen media f/2 0.5 ml per komponen per 1 liter air laut (media f/2 + 0.5 ml), serta menambahkan komponen media f/2 sebesar 1 ml per komponen penyusun media f/2 per 1 liter air laut (media f/2 + 1ml). Rincian jumlah nutrisi setiap komponen yang dimasukkan ke air laut steril dapat dilihat pada Tabel 8. Setelah nutrisi dimasukkan ke air laut steril, sebaiknya didiamkan terlebih dahulu selama minimal 24 jam dengan asumsi seluruh nutrisi terhomogenisasi dengan air laut steril. Setelah itu pindahkan kultur mikroalga *N. oculata* ke media yang sudah siap ditanami mikroalga. Dilakukan tiga kali pengulangan dari setiap perlakuan media. Kultur awal sebanyak 400 ml dibagi ke media baru yang sudah siap ditanami kultur masing – masing sebanyak 25 ml dengan kepadatan awal 0.8×10^6 sel/ml. Kultivasi dilakukan dalam suhu 25°C , salinitas 26 ppt, dan intensitas cahaya (12 jam) 1300 lux.

Tabel 8. Jumlah Masing - Masing Komponen di Setiap Perlakuan

No.	Komponen	f/2	f/2 – 0.5 ml	f/2 + 0.5 ml	f/2 + 1 ml
1	NaNO ₃	1 mL	0.5 mL	1.5 mL	2 mL
2	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	1 mL	0.5 mL	1.5 mL	2 mL
3	Na ₂ SiO ₃ 9H ₂ O	1 mL	0.5 mL	1.5 mL	2 mL
4	Larutan <i>trace metal</i>	1 mL	0.5 mL	1.5 mL	2 mL
5	Larutan vitamin	1 mL	0.5 mL	1.5 mL	2 mL

3.4.1.2 Pengamatan Pertumbuhan Mikroalga *Nannochloropsis oculata*

Pengamatan pertumbuhan mikroalga *N. oculata* dilakukan untuk mengetahui pengaruh modifikasi media f/2 terhadap pertumbuhan mikroalga *N. oculata*. Variabel yang diamati yaitu kepadatan sel dan biomassa. Kepadatan sel diukur dengan menghitung jumlah sel per milliliter menggunakan *haemocytometer neurbauer* di mikroskop (Rafaelina *et al.*, 2016). Pada penelitian ini kepadatan sel dihitung menggunakan mikroskop dan *haemocytometer neurbauer* setiap 24 jam sekali. Setiap harinya sampel diambil menggunakan pipet tetes lalu dimasukkan ke dalam *haemocytometer neurbauer*. *Haemocytometer neurbauer* memiliki dua bagian utama yaitu kotak besar dan kotak kecil. Kotak besar berjumlah empat, dan kotak kecil berjumlah lima. Kotak besar digunakan ketika jumlah sel yang terlihat pada mikroskop masih renggang, sedangkan kotak kecil digunakan ketika sel sudah mulai padat. Penghitungan sel dilakukan secara manual dengan alat bantu *counter*, lalu dikalkulasikan ke dalam rumus. Setelah dikalkulasikan, kepadatan sel ditulis dalam satuan sel/ml. Rumus dari kotak besar ialah:

$$\frac{(Kotak a + kotak b + kotak c + kotak d)}{4} \times 10^4$$

sedangkan rumus untuk kotak kecil ialah:

$$(kotak a + kotak b + kotak c + kotak d + kotak e) \times 5 \times 10^4.$$

Biomassa mikroalga dapat diukur dengan menyaring sampel pada kertas filter whatman GF/A yang telah ditimbang sebelumnya (Chrimadha *et al.*, 2006).

Kertas saring whatman GF/A memiliki ukuran pori 1.6 μm . Setelah sampel tersaring, kertas dioven terlebih dahulu pada suhu 100°C selama satu jam. Pada penelitian ini, kertas saring yang digunakan ialah whatman GF/C yang memiliki pori 1.2 μm , dan dikeringkan dalam suhu 60°C selama 24 jam. Banyaknya sampel yang diambil untuk disaring yaitu 30 ml. Alat yang digunakan untuk mengukur biomassa selain kertas saring ialah *vacuum pump* untuk menyedot kering air sampel. Berat kering sampel ialah selisih antara berat kertas saring yang berisi sampel dengan berat kertas saring kosong yang telah ditimbang sebelum dilakukan penyaringan. Hasil dari pertumbuhan (kepadatan sel dan biomassa) dari mikroalga *N. oculata* merupakan rata – rata dari setiap pengulangan (tiga pengulangan).

3.4.2 Ekstraksi Mikroalga *Nannochloropsis oculata*

Setelah memasuki masa panen (kurang lebih 14 hari), kultur mikroalga *N. oculata* selanjutnya diekstraksi. Ekstraksi tahap pertama menggunakan sentrifugasi, untuk memisahkan pelet dan supernatannya. Sentrifugasi kultur mikroalga bertujuan untuk memisahkan biomassa mikroalga dengan supernatannya (Bariyyah *et al.*, 2013). Sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 3000 RPM dalam waktu 15 menit. Pada penelitian ini, sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 3000 RPM dalam waktu 7 menit, karena keterbatasan alat yang tidak mampu bekerja terlalu lama.

Setelah selesai, pelet hasil sentrifugasi dikeringkan terlebih dulu untuk selanjutnya dimaserasi bertahap menggunakan pelarut aseton dan etanol. Maserasi ekstrak mikroalga untuk pengujian antioksidan dapat dilakukan menggunakan pelarut etanol (Rafaelina *et al.*, 2016). Biomassa yang telah kering dicampurkan dengan aseton lalu selanjutnya dimaserasi selama 24 jam dalam kondisi gelap. Setelah sampel kering, dilanjutkan ke maserasi tahap kedua

menggunakan etanol, lalu dibiarkan hingga kering. Sampel kering dipindahkan ke *microtube* sebanyak masing – masing 10 miligram untuk selanjutnya diencerkan menggunakan metanol. Ekstrak diencerkan menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05. setelah diencerkan, sampel siap untuk diuji antioksidannya.

3.4.3 Pengujian Antioksidan Mikroalga *Nannochloropsis oculata*

Metode uji antioksidan yang paling umum dilakukan ialah dengan metode DPPH (Rosahdi *et al.*, 2015). Pengujian antioksidan menggunakan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dibantu dengan alat *microplate reader*. DPPH merupakan senyawa kimia yang tersusun atas molekul radikal bebas yang stabil. DPPH umum digunakan sebagai senyawa penguji kemampuan antioksidan dalam skala laboratorium. Sampel yang telah siap untuk diuji dimasukkan ke sumur 96 *well plate* sebanyak 160 µl ditambahkan dengan DPPH 40 µliter (tiga kali pengulangan) serta 160 µl berisikan sampel saja (satu kali pengulangan), dan juga disiapkan kontrol negatifnya. Kontrol negatif pada pengujian kali ini tersusun atas DPPH 40 µliter ditambahkan dengan metanol 160 µl. Setelah itu *well plate* diinkubasi 30 menit pada suhu ruang, lalu dimasukkan ke dalam *microplate reader*. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm. Rata – rata nilai absorbansi sampel yang ditambahkan DPPH lalu dikurangi dengan nilai absorbansi sampel saja, nilai tersebut akan menjadi nilai absorbansi dari sampel. Rumus untuk menentukan persentase inhibisi adalah % *hambatan* =

$$\left[1 - \left(\frac{As}{Ao}\right)\right] \times 100\%$$

Keterangan

Ao : Absorbansi kontrol negatif

As : Absorbansi sampel

Dari nilai tersebut selanjutnya dimasukkan ke persamaan garis (regresi linier) untuk menghitung IC_{50} (*inhibition concentration 50%*) dalam satuan mg/ml. Dari fungsi regresi $y=bx+a$, ganti nilai y dengan 50 untuk mendapatkan nilai IC_{50} sampel hasil pengukuran absorbansi antioksidan. Pengukuran dilakukan sebanyak dua kali, lalu diambil rata – ratanya.

3.5 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara statistik parametrik (*one way ANOVA* dan rancangan acak lengkap faktorial). Analisis data statistik dilakukan untuk membuktikan ada atau tidaknya pengaruh modifikasi media f/2 terhadap pertumbuhan dan aktivitas antioksidan dari mikroalga *N. oculata*. Sebelum dilakukan uji parametrik, perlu dilakukan uji normalitas terlebih dulu. Uji normalitas diperlukan untuk membuktikan bahwa data yang ada bernilai wajar (di dalam rata – rata) dan cenderung berpola (Matondang, 2012). Struktur data uji statistika pada penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 7, Lampiran 8, dan Lampiran 9. Analisa data statistik pada penelitian ini menggunakan perangkat lunak *Minitab 17*.

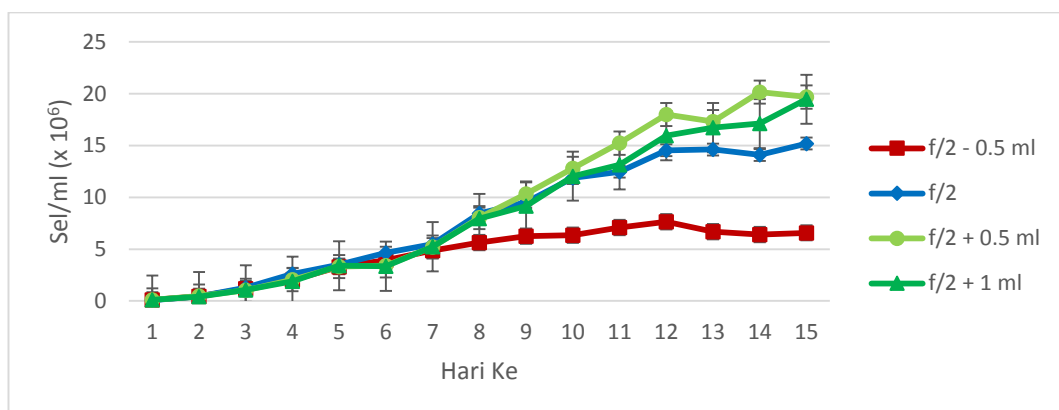
Hipotesis dari pengaruh modifikasi media f/2 terhadap pertumbuhan ialah perbedaan konsentrasi media tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan (kepadatan sel dan biomassa) mikroalga *N. oculata*, sedangkan hipotesis dari pengaruh modifikasi media f/2 terhadap aktivitas antioksidan ialah perbedaan konsentrasi media tidak berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata*. Pengujian statistika *one way* menggunakan nilai pertumbuhan mikroalga (kepadatan sel atau biomassa) *N. oculata* sebagai respon, dengan faktor konsentrasi media f/2. Pengujian statistika rancangan acak lengkap faktorial menggunakan nilai inhibisi mikroalga *N. oculata* sebagai respon, dengan faktor berturut – turut konsentrasi media f/2 dan konsentrasi pengenceran sampel.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

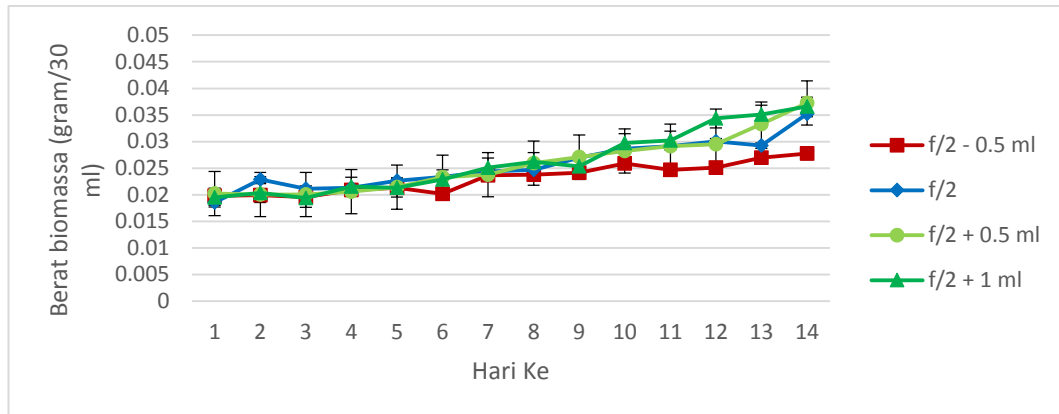
4.1 Pertumbuhan Mikroalga *Nannochloropsis oculata*

Dari hasil kultivasi mikroalga *N. oculata* selama 15 hari, didapat hasil kepadatan sel serta biomassa tertinggi ada pada perlakuan f/2 + 0.5 ml (kepadatan sel 19.68×10^6 sel/ml dan biomassa 0.0373 gr/30 ml). Adapun perlakuan f/2 – 0.5 ml menghasilkan nilai terendah untuk kepadatan sel dan biomassa (6.58×10^6 sel/ml dan 0.0277 gr/30 ml). Media f/2 normal menghasilkan kepadatan sel 15.18×10^6 sel/ml dan biomassa 0.0352 gr/30 ml, sedangkan media f/2 + 1ml menghasilkan kepadatan sel dan biomassa yang lebih tinggi dari f/2 normal namun lebih rendah dibandingkan dengan f/2 + 0.5 ml (19.45×10^6 sel/ml dan 0.0366 gr/30 ml). Grafik kepadatan sel dan biomassa berturut – turut dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4.

Analisis statistika ANOVA *one way* dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan media terhadap kepadatan sel dan biomassa. Hasil uji statistika menyatakan bahwa perbedaan media tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kepadatan sel dan biomassa mikroalga *N. oculata* ($P \geq 0.05$).



Gambar 3. Grafik Kepadatan Sel Mikroalga *N. oculata*



Gambar 4. Grafik Biomassa Mikroalga *N. oculata*

Pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis* sp. dipengaruhi oleh nitrat dan fosfat (Brahmantara *et al.*, 2015). Nitrat berguna untuk metabolisme mikroalga, adapun fosfat berfungsi untuk reproduksi dan transfer energi. Selain NaNO_3 dan NaH_2PO_4 , komponen penyusun media f/2 lainnya juga dibutuhkan mikroalga untuk nutrisi hidupnya, karena mikroalga membutuhkan banyak nutrisi baik makronutrien maupun mikronutrien (Sari *et al.*, 2012). Namun karena fungsi dari nitrat dan fosfat sangat penting untuk pertumbuhan mikroalga, menurut Dinata *et al.* (2017), kedua makronutrien tersebut dibutuhkan dalam jumlah yang optimum.

Penelitian ini membuktikan bahwa ketika nutrisi media kultivasi mikroalga dimodifikasi (dikurangi dan ditambahkan), akan mempengaruhi kepadatan sel dan biomassa mikroalga *N. oculata* karena ketika pemberian media f/2 dikurangi menjadi 0.5 ml per komponen per liter maka hasil kepadatan sel dan biomassa mikroalga *N. oculata* akan lebih kecil jika dibandingkan dengan pemberian media f/2 normal (1 ml per komponen per liter), walaupun ketika dibuktikan dengan uji statistika ANOVA *one way* perbedaan konsentrasi media tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan mikroalga *N. oculata*, pengaruh yang terjadi masih tergolong normal.

Penambahan kadar pemberian f/2 (1.5 dan 2 ml per komponen per liter) akan menghasilkan kepadatan sel dan biomassa yang lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian media f/2 normal. Dari penelitian ini juga dapat dikatakan bahwa penambahan media f/2 + 0.5 ml per komponen per liter lebih baik dibandingkan dengan penambahan 1 ml per komponen per liter karena hasil kepadatan sel dan biomassa setelah masa kultivasi, penambahan 0.5 merupakan media dengan kepadatan sel dan biomassa tertinggi. Hasil penelitian ini dapat memunculkan asumsi bahwa mikroalga *N. oculata* memiliki kadar nutrisi optimum untuk pertumbuhannya (kepadatan sel dan biomassa).

Belum ada penelitian yang meninjau pengaruh modifikasi media f/2 terhadap pertumbuhan mikroalga *N. oculata*, namun beberapa penelitian telah meninjau pengaruh perbedaan pemberian kadar nitrat dan fosfat yang umumnya terkandung pada NaNO_3 dan NaH_2PO_4 terhadap pertumbuhan mikroalga pada tahap kultivasi tingkat laboratorium. Brahmantara *et al.* (2015) melakukan penelitian tentang perbedaan pemberian nitrat dan fosfat terhadap produksi biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. dengan media f/2. Komponen penyusun media f/2 lainnya (*trace metal* dan vitamin) tidak ikut dimodifikasi seperti pada penelitian ini (tetap menggunakan komposisi media f/2 normal; Tabel 3.). Didapatkan hasil penambahan nitrat dan fosfat yang paling optimal terhadap produksi biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. berturut – turut 178.14 gr/l dan 13.34 gr/l.

Hu dan Gao (2006) melakukan kultur mikroalga *Nannochloropsis* sp. pada media f/2 dengan perlakuan perbedaan kandungan NaNO_3 (150, 600, dan 3000 μmol) dan NaH_2PO_4 (6, 25, dan 120 μmol). Hasil kultivasi setelah 11 hari menunjukkan biomassa tertinggi bukan pada penambahan kandungan NaNO_3 dan NaH_2PO_4 tertinggi. Hasil penelitian Hu dan Gao (2006) menguatkan asumsi bahwa mikroalga *Nannochloropsis* sp. memiliki kadar nutrisi optimum untuk

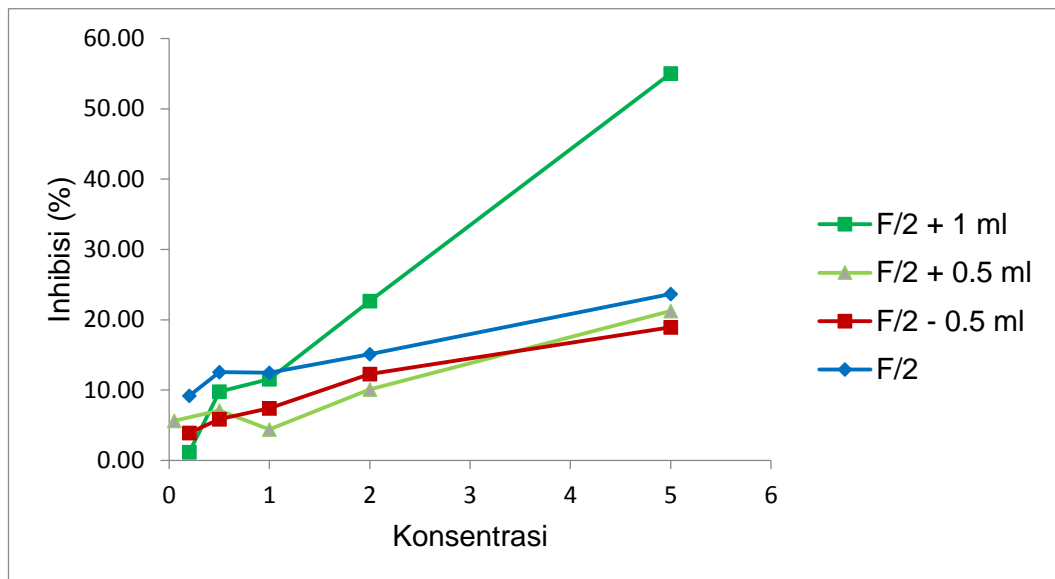
pertumbuhannya, belum tentu penambahan konsentrasi kadar fosfat dan nitrat berbanding lurus dengan pertumbuhannya (biomassa).

Berlawanan dengan penelitian ini, penelitian yang dilakukan oleh Dinata *et al.* (2017) dan Mahat *et al.* (2015) menemukan hasil ketika kultivasi mikroalga *N. oculata* diberikan tambahan konsentrasi NaNO_3 dan NaH_2PO_4 , semakin tinggi konsentrasinya maka biomassa mikroalga *N. oculata* yang dihasilkan akan semakin tinggi. Konsentrasi penambahan kandungan NaNO_3 dan NaH_2PO_4 yang diberikan oleh Dinata *et al.* (2017) berturut – turut 200 gr/l, 150 gr/l, 100 gr/l, 50 gr/l dan 25 gr/l, 20 gr/l, 15 gr/l, 10 gr/l, adapun penelitian Mahat *et al.* (2015) memberikan penambahan kadar fosfatnya saja dengan konsentrasi 0 gr/l, 0.1 gr/l, 0.2 gr/l, 0.5 gr/l, 1 gr/l, dan 2 gr/l. Faktor yang mempengaruhi perbedaan hasil dari penelitian ini dengan penelitian Dinata *et al.* (2017) dan Mahat *et al.* (2015) ialah perbedaan media yang digunakan, dimana Mahat *et al.* (2015) hanya menambahkan fosfat sebagai nutrisi pada media kultur mikroalga, dan Dinata *et al.* (2017) menggunakan media Walne dalam kultivasi mikroalga *N. oculata*. Media Walne memiliki komponen penyusun yang berbeda dengan media f/2, diasumsikan nilai optimal kandungan fosfat dan nitratnya juga berbeda.

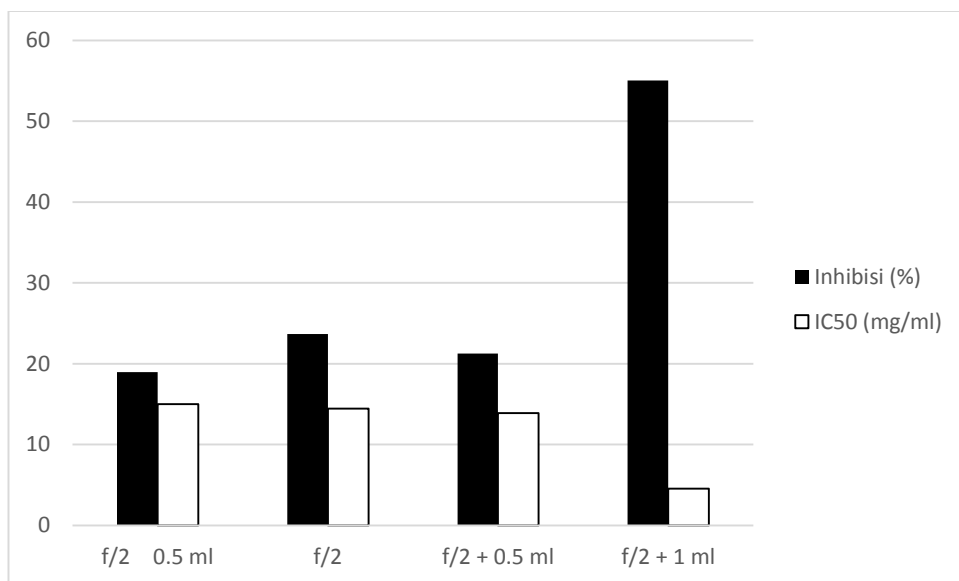
4.2 Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Nannochloropsis oculata*

Aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* ditentukan melalui nilai persentase inhibisi dan nilai IC_{50} yang dikalkulasi dari absorbansi sampel pada *microplate reader*. Gambar 5 menunjukkan grafik hasil kalkulasi nilai inhibisi dari setiap perlakuan. Dari hasil tersebut, didapat nilai regresi untuk menentukan nilai IC_{50} dari seluruh sampel. Gambar 6 menunjukkan aktivitas antioksidan dari mikroalga *N. oculata* dalam nilai inhibisi dan IC_{50} . Seluruh nilai persentase inhibisi didapat dari pengenceran konsentrasi tertinggi (5 mg/ml). Menurut Anam *et al.* (2014), semakin tinggi nilai persentase inhibisi, akan semakin baik kemampuan

sampel dalam menghambat radikal bebas. Menurut Agustini (2012), semakin rendah nilai IC₅₀ sampel maka semakin baik aktivitas antioksidan suatu sampel.



Gambar 5. Grafik Nilai Inhibisi Radikal Bebas Mikroalga *N. oculata*



Gambar 6. Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Nannochloropsis oculata*

Ditinjau dari seluruh perlakuan, media f/2 + 1 ml memiliki aktivitas antioksidan terkuat (inhibisi 55.03 % dan IC₅₀ 4.53 mg/ml). Pengurangan media f/2 (f/2 – 0.5 ml) memiliki aktivitas antioksidan terlemah dengan inhibisi 18.94 %

dan IC_{50} 14.99 mg/ml. Media f/2 normal memiliki nilai inhibisi 23.66 % dan IC_{50} 14.46 mg/ml, dan untuk media f/2 + 0.5 ml nilai inhibisi dan IC_{50} berturut – turut 21.26 % dan 13.88 mg/ml.

Vitamin E (kadar 0.12 mg/ml) dapat menjadi pembanding baik atau tidaknya kemampuan menghambat radikal bebas (antioksidan) suatu sampel (Hafsa *et al.*, 2017). Nilai persentase inhibisi vitamin E 0.12 mg/ml sebesar 90.31 % dengan IC_{50} 0.040 mg/ml. Jika dibandingkan dengan kemampuan antioksidan mikroalga *N. oculata* media f/2 + 1 ml (persentase inhibisi 55.02 % dan IC_{50} 4.53 mg/ml), dapat dikatakan penambahan kadar komponen media f/2 sebesar 2 kali lipat akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang cukup baik pada mikroalga *N. oculata*, dan lebih baik pula apabila dibandingkan dengan media f/2 normal.

Berdasarkan standar, aktivitas antioksidan tergolong sangat aktif pada nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$, aktif pada nilai $IC_{50} 10 - 100 \mu\text{g/ml}$, dan tidak aktif pada nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$ (Muharni *et al.*, 2013). Aktivitas antioksidan terkuat dari penelitian ini memiliki nilai IC_{50} 4.53 mg/ml (4.530 $\mu\text{g/ml}$), dimana tergolong tidak aktif. Disimpulkan bahwa berdasarkan standar yang ada, aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* tergolong tidak aktif (sangat lemah).

Uji statistika rancangan acak lengkap faktorial dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi media dan konsentrasi pengenceran ekstrak terhadap aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata*, didapat hasil bahwa konsentrasi media tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* ($P \geq 0.05$). Dari uji lanjutan didapat bahwa yang mempengaruhi aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* ialah konsentrasi pengenceran. Dapat disimpulkan, pengaruh yang diberikan oleh perbedaan konsentrasi media f/2 terhadap aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* masih tergolong normal (tidak signifikan).

Belum ada penelitian yang meninjau aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* dengan perlakuan modifikasi media f/2. Dari penelitian ini, dapat diasumsikan penambahan kadar nutrisi yang optimal dapat meningkatkan aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata*, karena jika dilihat dari hasil aktivitas antioksidan pada penelitian ini, penambahan media menjadi f/2 + 1 ml memiliki aktivitas yang tinggi dan cukup berbeda jika dibandingkan dengan 3 perlakuan lainnya.

Kemampuan alga sebagai antioksidan dipengaruhi oleh berat molekul polisakarida, komposisi monosakarida, dan kandungan sulfat (Hafsa *et al.*, 2017). Ditinjau dari hasil penelitian ini, dapat dikatakan kandungan sulfat mempengaruhi aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata*. Media f/2 memiliki kandungan sulfat pada senyawa ZnSO₄ dan CuSO₄ yang merupakan komponen penyusun larutan *trace metal*. Hasil aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* (baik inhibisi maupun IC₅₀) terendah terdapat pada pengurangan media f/2 (0.5 ml per komponen per liter) dimana dapat dikatakan kandungan sulfatnya juga lebih rendah. Aktivitas antioksidan tertinggi ditemukan pada penambahan media f/2 (2 ml per komponen per liter) dimana kandungan sulfatnya juga lebih tinggi dibanding media f/2 normal.

Kandungan ZnSO₄ pada media f/2 normal memiliki konsentrasi 7.65×10^{-8} M, sedangkan CuSO₄ sebesar 3.93×10^{-8} M (Tabel 4.). Media f/2 normal tidak memiliki perbedaan aktivitas antioksidan yang mencolok dengan media f/2 – 0.5 ml dan f/2 + 0.5 ml baik persentase inhibisi maupun nilai IC₅₀. Penelitian ini dapat memberikan asumsi bahwa penambahan kandungan ZnSO₄ dan CuSO₄ pada media f/2 sebanyak dua kali lipat (konsentrasi 14.3×10^{-8} M dari ZnSO₄ dan 7.86×10^{-8} M dari CuSO₄) akan meningkatkan aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata*, walau pengaruhnya tidak signifikan setelah diuji statistika.

Beberapa penelitian mengenai kemampuan antioksidan mikroalga *N. oculata* telah dilakukan sebelumnya, dengan media, pelarut, dan konsentrasi yang bervariasi. Nilai persentase inhibisi mikroalga *N. oculata* terhadap radikal bebas dari beberapa penelitian sebelumnya dibandingkan dengan penelitian ini, dan dirangkum pada Tabel 9.

Nilai inhibisi antioksidan mikroalga *N. oculata* tertinggi didapat dari penelitian Sangeetha *et al.* (2018) sebesar 64.71 %. Penelitian Sangeetha *et al.* (2018) menggunakan pelarut yang sama dengan penelitian ini (metanol), namun Sangeetha *et al.* (2018) tidak melakukan kultivasi mikroalga *N. oculata* terlebih dahulu, dan konsentrasi ekstrak ketika pengujian antioksidan juga berbeda. Penelitian ini jika dibandingkan dengan penelitian Sangeetha *et al.* (2018) akan memunculkan asumsi bahwa adanya perlakuan kultivasi akan mengurangi kemampuan antioksidan mikroalga *N. oculata*, karena penelitian dari Sangeetha *et al.* (2018) yang tanpa melakukan kultivasi, menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini (f/2 + 1 ml).

Konsentrasi ekstrak yang diuji oleh Sangeetha *et al.* (2018) lebih kecil jika dibandingkan dengan penelitian ini (Sangeetha *et al.* (2018) 500 µg/ml; penelitian ini 5 mg/ml). Perbedaan konsentrasi ekstrak memunculkan asumsi bahwa penelitian Sangeetha *et al.* (2018) lebih baik dari penelitian ini karena selain tanpa kultivasi, konsentrasi ekstrak yang digunakan lebih kecil (500 µg/ml) sudah menghasilkan aktivitas antioksidan yang kuat. Pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak terhadap aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* dibuktikan dari penelitian Hafsa *et al.* (2017), dimana ekstrak mikroalga *N. oculata* dengan konsentrasi 1 mg/ml memiliki aktivitas antioksidan yang lebih lemah dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 10 mg/ml.

Hafsa *et al.* (2017) menguji aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* yang telah dikultur pada media f/2 normal. Konsentrasi ekstrak yang diuji sebesar

10 mg/ml dengan pelarut *distilled water*. Nilai persentase inhibisi ekstrak mikroalga *N. oculata* terhadap radikal bebas 59.28 %. Penelitian ini memiliki hasil nilai inhibisi tertinggi pada media 2 f/2 dengan 55.03 %, lebih rendah dibandingkan dengan hasil Hafsa *et al* (2017). Dengan perbedaan media, penelitian Hafsa *et al.* (2017) menjadi lebih baik dibandingkan dengan penelitian ini karena tidak perlu adanya penambahan konsentrasi media dapat menghasilkan aktivitas antioksidan yang cukup baik, namun perbedaan konsentrasi ekstrak yang diuji perlu menjadi perhatian, karena ada kemungkinan ketika mikroalga *N. oculata* hasil kultivasi dengan media f/2 + 1 ml diuji antioksidannya pada konsentrasi ekstrak 10 mg/ml akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan hasil Hafsa *et al.*

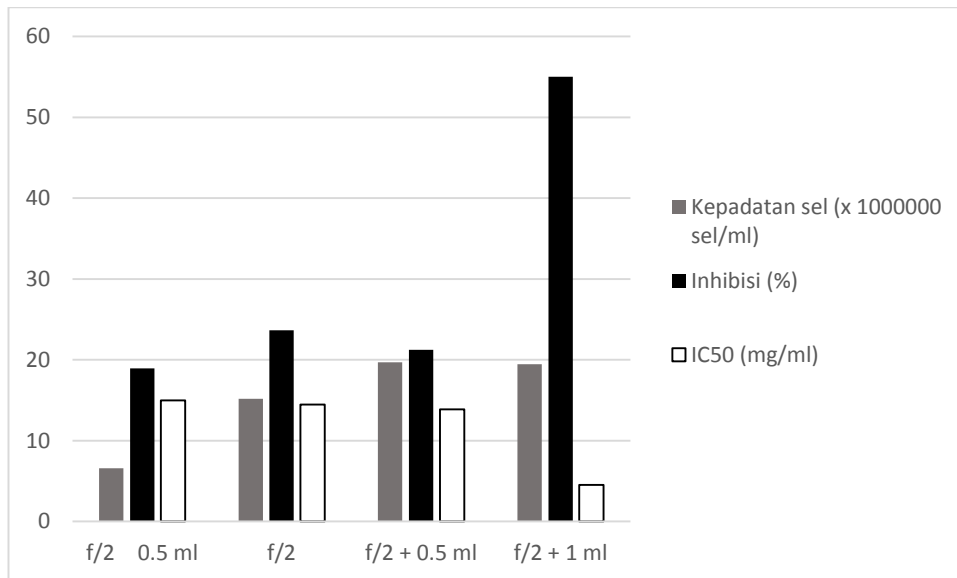
Selain perbedaan konsentrasi, pemilihan pelarut pada ekstraksi mikroalga *N. oculata* untuk pengujian antioksidan juga penting. Pelarut yang digunakan Hafsa *et al.* (*distilled water*) berbeda dengan pelarut yang digunakan pada penelitian ini (metanol). Pigmen yang ada pada mikroalga dapat diekstraksi secara spesifik (Sedjati *et al.*, 2012). Pigmen pada alga terbagi menjadi klorofil, karotenoid, dan fikobilin. Ekstraksi klorofil dan karotenoid dapat dilakukan dengan pelarut organik (metanol, etanol, aseton) sedangkan fikobilin diekstraksi menggunakan pelarut air atau larutan penyangga (*buffer*). Pigmen karotenoid pada mikroalga memiliki peranan penting pada aktivitas antioksidan (Fretes *et al.*, 2012). Dapat disimpulkan, pelarut yang digunakan pada penelitian ini (metanol) lebih tepat untuk pengujian antioksidan jika dibandingkan dengan penelitian Hafsa *et al.* (*distilled water*).

Tabel 9. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Nannochloropsis oculata* Dengan Penelitian Lain

No.	Peneliti	Media	Pelarut	Konsentrasi	Persentase inhibisi (%)
1	Sangeetha <i>et al.</i> (2018)	-	Metanol	500 µg/ml	64.71
2	Feller <i>et al.</i> (2018)	Conway	<i>Supercritical</i> / CO ₂	-	33.8
3	Feller <i>et al.</i> (2018)	Conway	<i>Subcritical</i> <i>n-butane</i>	-	19
4	Ebrahimzadeh <i>et al.</i> (2018)	Walne	Metanol	400	21.68
5	Ebrahimzadeh <i>et al.</i> (2018)	Walne	Etil asetat	400	39.03
6	Hafsa <i>et al.</i> (2017)	f/2	<i>Distilled Water</i>	10 mg/ml	59.28
7	Hafsa <i>et al.</i> (2017)	f/2	<i>Distilled Water</i>	1 mg/ml	24.79
8	Penelitian ini	f/2 – 0.5 ml	Metanol	5 mg/ml	18.94
9	Penelitian ini	f/2	Metanol	5 mg/ml	23.66
10	Penelitian ini	f/2 + 0.5 ml	Metanol	5 mg/ml	21.26
11	Penelitian ini	f/2 + 1 ml	Metanol	5 mg/ml	55.03

4.3 Hubungan Pertumbuhan dengan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Nannochloropsis oculata*

Gambar 7 menunjukkan pertumbuhan (kepadatan sel dan biomassa) dan aktivitas antioksidan (persentase inhibisi dan nilai IC₅₀) dari mikroalga *N. oculata* hasil kultivasi menggunakan media f/2 dengan 4 perlakuan.



Gambar 7. Perbandingan Pertumbuhan Dengan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Nannochloropsis oculata*

Ditinjau dari Gambar 7, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi pertumbuhan (kepadatan atau biomassa), belum tentu aktivitas antioksidannya juga tinggi. Hasil kultivasi menggunakan media f/2 + 0.5 ml menghasilkan pertumbuhan yang paling baik (kepadatan sel dan biomassa), namun ditinjau dari aktivitas antioksidannya cukup rendah, bahkan tidak jauh berbeda dengan perlakuan media f/2 – 0.5 ml dan f/2 normal.

Belum ada penelitian sebelumnya yang menganalisa pengaruh modifikasi media f/2 terhadap pertumbuhan dan aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* serta menganalisa hubungan antara pertumbuhan dengan aktivitas antioksidannya. Faktor pertumbuhan mikroalga tidak selalu berbanding lurus

dengan kandungan yang terdapat pada mikroalga (lipid, pigmen) (Nur, 2014). Faktor eksternal seperti nutrisi, suhu, intensitas cahaya, salinitas, dan pH dapat mempengaruhi komponen yang terdapat pada mikroalga secara spesifik. Lamela (2000) melakukan kultivasi mikroalga *Spirulina maxima* dengan perlakuan perbedaan salinitas. Salinitas yang lebih tinggi menghasilkan pigmen fikosianin yang tinggi, namun rendah pigmen klorofil-a dan biomassa. Salinitas yang lebih rendah cenderung menghasilkan biomassa yang lebih tinggi, serta tinggi pigmen klorofil-a. Kandungan fikosianin pada salinitas rendah cenderung rendah. Widjaja *et al.* (2009) melakukan kultivasi mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan perlakuan pengurangan nitrogen pada media kultivasi, menghasilkan lipid mikroalga *Chlorella vulgaris* yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultivasi normal.

Jika dikaitkan dengan hasil penelitian ini, dapat diasumsikan bahwa beberapa kandungan yang terdapat pada media f/2 yaitu unsur N dan P, serta SO₄ dalam kadar yang optimal dapat berpengaruh langsung terhadap beberapa faktor tertentu, seperti pertumbuhan dan aktivitas antioksidan. Namun penambahan komponen yang terfokus pada peningkatan pertumbuhan mikroalga *N. oculata* belum tentu ikut meningkatkan aktivitas antioksidannya, seperti yang terjadi pada perlakuan media f/2 + 0.5 ml dimana nilai pertumbuhannya paling tinggi dibanding tiga perlakuan lainnya, namun aktivitas antioksidannya lebih lemah jika dibandingkan dengan perlakuan f/2 + 1 ml dan f/2 normal. Apabila ingin mendapatkan hasil kultivasi yang tinggi kepadatan sel dan biomasanya tanpa melihat aktivitas antioksidannya, media f/2 + 0.5 ml merupakan media yang paling baik diantara keempat perlakuan pada penelitian ini. Kepadatan sel dan biomassa yang dihasilkan pada media f/2 + 1 ml hanya sedikit dibawah hasil kultivasi yang menghasilkan kepadatan sel dan biomassa tertinggi pada penelitian ini (f/2 + 0.5), dan media f/2 + 1 ml menghasilkan aktivitas antioksidan yang jauh lebih kuat dibandingkan dengan ketiga perlakuan lainnya. Dapat

dikatakan, apabila ingin mendapatkan hasil kepadatan sel dan biomassa tinggi serta aktivitas antioksidan yang kuat, media f/2 + 1 ml merupakan media yang paling baik diantara keempat perlakuan pada penelitian ini.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Modifikasi media f/2 memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan serta aktivitas antioksidan dari mikroalga *N. oculata*, namun pengaruh yang diberikan tidak signifikan. Pada pertumbuhan, baik kepadatan sel maupun biomassa, hasil tertinggi didapatkan pada media f/2 + 0.5 ml, sedangkan terendah pada media f/2 – 0.5 ml. Aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* yang paling kuat diperoleh pada media f/2 + 1 ml, sedangkan terlemah didapat pada media f/2 – 0.5 ml. Tidak ada hubungan antara pertumbuhan dengan aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* karena mikroalga memiliki nilai nutrisi optimal yang berbeda untuk masing – masing variabel (pertumbuhan dan aktivitas antioksidan).

5.2 Saran

Perlu ada penelitian lebih lanjut (perbedaan nilai modifikasi) untuk mengetahui kadar media f/2 yang paling optimal terhadap pertumbuhan (kepadatan sel dan biomassa) serta aktivitas antioksidan mikroalga *N. oculata* agar pemanfaatannya bisa dioptimasi. Selain itu juga bisa dilakukan uji lainnya untuk mengetahui pengaruh modifikasi media f/2 terhadap kemampuan mikroalga *N. oculata* yang lain (antibakteri, kandungan pigmen).

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrachman, O., Mutiara, M., Buchori, L., 2013. Pengikatan Karbon Dioksida Dengan Mikroalga (*Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas* sp., *Spirulina* sp.) Dalam Upaya Untuk Meningkatkan Kemurnian Biogas. J. Teknol. Kim. Dan Ind. 2, 5.
- Adawiah, A., Sukandar, D., Muawanah, A., 2016. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. J. Kim. Val. 0. <https://doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3155>
- Agustini, N.W.S., 2012. Aktivitas Antioksidan Dan Uji Toksisitas Hayati Pigmen Fikobiliprotein Dari Ekstrak *Spirulina platensis*. Semin. Nas. IX Pendidik. Biol. UNS.
- Algaebase, 2018. *Nannochloropsis oculata* (Droop) D.J.Hibberd :: Algaebase [WWW Document]. URL http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=59454 (accessed 10.5.18).
- Anam, C., Agustini, T.W., Romadhon, 2014. Pengaruh Pelarut Yang Berbeda Pada Ekstraksi *Spirulina platensis* Serbuk Sebagai Antioksidan Dengan Metode Soxhletasi. J. Pengolah. Dan Bioteknol. Has. Perikan. 3, 7.
- Bariyyah, S.K., Hanapi, A., Fasya, A.G., Abidin, M., 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella* sp. Hasil Kultivasi Dalam Medium Ekstrak Tauge. ALCHEMY. <https://doi.org/10.18860/al.v0i0.2890>
- Brahmantara, I.B.G., Anggreni, A.A.M.D., Gunam, I.B.W., 2015. Pengaruh Konsentrasi Penambahan Sodium Nitrat Dan Sodium Fosfat Pada Media Guillard Terhadap Konsentrasi Biomassa Mikroalga *Nannochloropsis* sp. J. Rekayasa Dan Manaj. Ind. 3, 9.
- Cahyadi, wisnu, 2008. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan, 2nd ed. Bumi Aksara.
- Chrimadha, T., Panggabean, L.M., Mardiaty, Y., 2006. Pengaruh Konsentrasi Nitrogen Dan Fosfor Terhadap Pertumbuhan, Kandungan Protein, Karbohidrat Dan Fikosianin Pada Kultur *Spirulina fusiformis*. Ber. Biol. 8, 7.
- Croft, M.T., Warren, M.J., Smith, A.G., 2006. Algae Need Their Vitamins. Eukaryot. Cell 5, 1175–1183. <https://doi.org/10.1128/EC.00097-06>
- Dinata, K.D.W., Anggreni, A.A.M.D., Antara, N.S., 2017. Pengaruh Konsentrasi Natrium Nitrat dan Natrium Dehidrogen Fosfat pada Media Walne Terhadap Konsentrasi Biomassa dan Protein *Nannochloropsis oculata*. J. Rekayasa Dan Manaj. Agroindustri 5, 9.
- Ebrahimzadeh, M.A., Khalili, M., Dehpour, A.A., 2018. Antioxidant activity of ethyl acetate and methanolic extracts of two marine algae, *Nannochloropsis*

- oculata* and *Gracilaria gracilis* - an in vitro assay. Braz. J. Pharm. Sci. 54. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000117280>
- Feller, R., Matos, Â.P., Mazzutti, S., Moecke, E.H.S., Tres, M.V., Derner, R.B., Oliveira, J.V., Junior, A.F., 2018. Polyunsaturated ω -3 and ω -6 fatty acids, total carotenoids and antioxidant activity of three marine microalgae extracts obtained by supercritical CO₂ and subcritical n-butane. J. Supercrit. Fluids 133, 437–443. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.11.015>
- Fretes, H. de, Susanto, A., Prasetyo, B., Limantara, L., 2012. Karotenoid Dari Makroalgae Dan Mikroalgae: Potensi Kesehatan Aplikasi Dan Bioteknologi. J. Teknol. Dan Ind. Pangan 23, 221–228. <https://doi.org/10.6066/jtip.2012.23.2.221>
- Guillard, R.R.L., Ryther, J.H., 1962. Studies Of Marine Planktonic Diatoms: *I. cyclotella*, *Nana hustedt*, And *Detonula confervacea* (CLEVE) GRAN. Can. J. Microbiol. 8, 229–239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
- Hafsa, M.B., Ben, I., Garrab, M., Aly, R., Gagnon, J., Naghmouchi, K., 2017. Antimicrobial, antioxidant, cytotoxic and anticholinesterase activities of water-soluble polysaccharides extracted from microalgae *Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis oculata*. J. Serbian Chem. Soc. 82, 509–522. <https://doi.org/10.2298/JSC161016036B>
- He, Y., Qiu, C., Guo, Z., Huang, J., Wang, M., Chen, B., 2017. Production of new human milk fat substitutes by enzymatic acidolysis of microalgae oils from *Nannochloropsis oculata* and *Isochrysis galbana*. Bioresour. Technol. 238, 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.041>
- Hu, H., Gao, K., 2006. Response of Growth and Fatty Acid Compositions of *Nannochloropsis* sp. to Environmental Factors Under Elevated CO₂ Concentration. Biotechnol. Lett. 28, 987–992. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9026-6>
- Kagan, M.L., Matulka, R.A., 2015. Safety assessment of the microalgae *Nannochloropsis oculata*. Toxicol. Rep. 2, 617–623. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.03.008>
- Kasrina, Irawati, S., Jayanti, W.E., 2012. Ragam Jenis Mikroalga di Air Rawa Kelurahan Bentiring Permai Kota Bengkulu Sebagai Alternatif Sumber Belajar Biologi SMA. J. Exacta X, 36–44.
- Kellam, S.J., Walker, J.M., 1989. Antibacterial activity from marine microalgae in laboratory culture. Br. Phycol. J. 24, 191–194. <https://doi.org/10.1080/00071618900650181>
- Lamela, T., 2000. Phycocyanin production in seawater culture of *Arthrospira maxima*. Cienc. Mar. 26, 13.
- Mahat, K., Jamaluddin, H., Mohd. Zain, N.A., 2015. The Effect Of Different Phosphate Concentration On Growth, Lipid Productivity And Methyl

Palmitate Methyl Ester Production By *Nannochloropsis oculata*. J. Teknol. 77. <https://doi.org/10.11113/jt.v77.6915>

- Matondang, Z., 2012. Pengujian Normalitas Data 8.
- McKennedy, J., Önenç, S., Pala, M., Maguire, J., 2016. Supercritical carbon dioxide treatment of the microalgae *Nannochloropsis oculata* for the production of fatty acid methyl esters. J. Supercrit. Fluids 116, 264–270. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.06.003>
- Muharni, Elfita, Amanda, 2013. Aktivitas Antioksidan Senyawa (+) Morelloflavon Dari Kulit Batang Tumbuhan Gamboge (*Garcinia xanthochymus*). Pros. Semirata FMIPA Univ. Lampung.
- Nur, M.M.A., 2014. Potensi Mikroalga sebagai Sumber Pangan Fungsional di Indonesia (overview). Eksergi XI, 6.
- Öffentlichkeitsarbeit, G.-A.-U.G.-, 2008. Experimental Phycology and Culture Collection of Algae (EPSAG) - Georg-August-Universität Göttingen [WWW Document]. URL <http://www.uni-goettingen.de/en/45175.html> (accessed 10.5.18).
- Peterson, F., Risberg, J., 2008. Nutrients: Phosphorus, Nitrogen Sources, Impact on Water Quality 2.
- Phycokey, 2018. Phycokey - *Nannochloropsis* images [WWW Document]. URL http://cfb.unh.edu/phycokey/Choices/Eustigmatophyceae/NANNOCHLOROPSIS/Nannochloropsis_Image_page.html (accessed 10.5.18).
- Rafaelina, M., Rustam, Y., Amini, S., 2016. Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. 12, 10.
- Reyimu, Z., Özçimen, D., 2017. Batch cultivation of marine microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis suecica* in treated municipal wastewater toward bioethanol production. J. Clean. Prod. 150, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.02.189>
- Rosahdi, T.D., Susanti, Y., Suhendar, D., 2015. Uji Aktivitas Daya Antioksidan Biopigmen Pada Fraksi Aseton Dari Mikroalga *Chlorella vulgaris* 9, 16.
- Sangeetha, P., Anuradha, V., Suganya, V., Bhuvana, P., 2018. In Vitro Antioxidant And Radical Scavenging Activity Of Marine Microalga *Nannochloropsis oculata*. WORLD J. Pharm. Pharm. Sci. 7, 15.
- Sari, A.S.P., Ratnasari, E., Wisanti, 2012. Pengaruh Pemberian Jenis Pupuk yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan Populasi dan Kadar Lemak *Nannochloropsis oculata*. Lentera Biol. 1, 7.
- Sayuti, K., Yenrina, R., 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press.
- Sedjati, S., Yudiati, E., Suryono, 2012. Profil Pigmen Polar dan Non Polar Mikroalga Laut *Spirulina* sp. dan Potensinya sebagai Pewarna Alami. Ilmu Kelaut. 17, 6.

- Surendhiran, D., Vijay, M., Sirajunnisa, A.R., Subramaniyan, T., Shellomith, A.S., Thamilselvam, K., 2014. A green synthesis of antimicrobial compounds from marine microalgae *Nannochloropsis oculata*. *J. Coast. Life Med.* <https://doi.org/10.12980/JCLM.2.2014APJTB-2014-0138>
- Werdhasari, A., 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Biotek Medisiana Indones.* 1, 10.
- Widjaja, A., Chien, C.-C., Ju, Y.-H., 2009. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 40, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2008.07.007>
- Yanuhar, U., 2016. Mikroalga Laut *Nannochloropsis oculata*.
- Zavřel, T., Szabó, M., Tamburic, B., Evenhuis, C., Kuzhiumparambil, U., Literáková, P., Larkum, A.W.D., Raven, J.A., Červený, J., Ralph, P.J., 2018. Effect of carbon limitation on photosynthetic electron transport in *Nannochloropsis oculata*. *J. Photochem. Photobiol. B* 181, 31–43. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.02.020>