

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIOPIGMENT *Dunaliella salina* PADA MEDIA KULTUR HIPOSLIN DAN HIPERSALIN

Oleh

Muhammad Zainuddin

Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Islam Nahdlatul Ulama, Jepara.

Email : zain_mz86@yahoo.com

Received February 2017, Accepted March 2017

ABSTRAK

Radikal bebas dapat membentuk stress oksidatif yang menyebabkan penyakit kronik degeneratif seperti kanker. Reaktivitas radikal bebas ini dapat diredam oleh senyawa antioksidan. Salah satu senyawa antioksidan alami adalah biopigmen. Mikroalga *Dunaliella salina* adalah jenis Chlorophyta yang diketahui sebagai sumber biopigmen pada habitat perairan laut. Dalam kultur mikroalga memiliki kendala keterbatasan dalam perekayasa media dengan tujuan produksi biopigmen. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh rekayasa media hipersalin dan hiposalin terhadap kandungan biopigmen dan aktivitas antioksidan. Perlakuan perbedaan salinitas (hiposalin dan hipersalin) memberikan pengaruh secara signifikan ($p < 0,05$) terhadap biomassa basah yaitu terendah pada perlakuan 20 ppt sebesar 9,260 gr/ml sedangkan tertinggi adalah 30 ppt sebesar 10,595 gr/ml. Berdasarkan data kadar air menunjukkan bahwa semakin tinggi salinitas maka kadar air biomassa semakin tinggi ($p < 0,05$) yaitu sebesar 96,3 – 98,1 %. Perlakuan salinitas 30 ppt memiliki kadar pigmen klorofil a, b dan karotenoid tertinggi ($p < 0,05$) yaitu sebesar 10,961; 3,636 dan 4,954 mg/l. Semakin tinggi konsentrasi BHT dan pigmen (ditiap salinitas) maka nilai % inhibisi semakin tinggi ($p < 0,05$). BHT memiliki nilai IC_{50} sebesar 8,13 ppm (antioksidan sangat kuat). Sedangkan aktivitas antioksidan pigmen terbaik adalah perlakuan 30 ppt dengan IC_{50} sebesar 22,860 ppm (antioksidan sangat kuat).

Kata kunci : mikroalga, salinitas, biomassa, pigmen, antioksidan.

ABSTRACT

Radicals can form oxidative stress that causes degenerative diseases such as cancer. The reactivity of these free radicals can be mitigated by antioxidant compounds. One of the natural antioxidant compounds is biopigment. Microalgae *Dunaliella salina* is a type of Chlorophyta that is known as a source of biopigment in marine waters habitat. In microalgae culture has limited constraints in media engineering with the purpose of biopigment production. The purpose of this study was to determine the effect of hypersalin and hyposaline media engineering on the content of biopigment and antioxidant activity. Treatment of salinity difference (hypocaline and hypersaline) gave significant effect ($p < 0.05$) to the lowest wet biomass at 20 ppt treatment of 9,260 gr / ml while the highest was 30 ppt of 10,595 gr / ml. Based on the data of water content indicated that the higher the salinity, the higher the water content of biomass ($p < 0,05$) that is equal to 96,3 - 98,1%. The 30 ppt salinity treatment had the highest levels of chlorophyll a, b and carotenoid

pigments ($p < 0.05$) of 10,961; 3,636 and 4,954 mg / l. The higher the concentration of BHT and pigment (at each salinity) the higher the % inhibition value ($p < 0.05$). BHT has an IC_{50} value of 8,13 ppm (a very powerful antioxidant). While the best pigment antioxidant activity is a 30 ppt treatment with IC_{50} of 22,860 ppm (a very powerful antioxidant).

Keywords: microalgae, salinity, biomass, pigments, antioxidants.

PENDAHULUAN

Dunaliella salina merupakan kelompok alga hijau yang mempunyai kandungan protein, lemak, dan karbohidrat sebagai sumber pangan yang baik (Becker, 2007). Mikrolaga *D. salina* menghasilkan pigmen (klorofil, karotenoid, β -karoten), asam amino, asam lemak dan gliserol. Secara umum pigmen yang ditemukan adalah klorofil, dan karotenoid. Klorofil a dapat digunakan sebagai pewarna pada bidang farmasi, senyawa turunan dari klorofil juga dapat digunakan sebagai produk kesehatan (Ferruzi & Blakeslee, 2007). Penelitian dari Netherlands Cohort Study menyatakan bahwa dengan mengkonsumsi klorofil dapat menurunkan risiko terkena kanker (Balder et al., 2006).

Karotenoid dimanfaatkan di bidang industri pangan sebagai zat pewarna aditif, antioksidan, dan sebagai pro-vitamin A. Selain itu, β -karoten mempunyai manfaat sebagai obat antikanker, obat penuaan (anti-aging), dan sistem imun (Immunomodulatory properties) (Rock, 2002; Russel, 2002).

Metabolisme mikroalga dipengaruhi oleh faktor fisika, kimia dan biologi lingkungan. Diantaranya adalah intensitas cahaya, nitrogen, nutrient dan suhu. Faktor lingkungan yang diduga mempengaruhi kandungan pigmen, biomassa dan pertumbuhan sel *D. salina* adalah salinitas. Oleh karena itu perlu adanya penelitian mengenai pengaruh salinitas terhadap kandungan pigmen (klorofil a, b dan karotenoid), biomassa dan pertumbuhan sel pada *D. salina*.

MATERI DAN METODE

Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah mikroalga *D. salina* dan menggunakan pupuk *Walne* yang didapatkan dari Laboratorium Pakan Hidup, BBPBAP – Jepara.

Metode Penelitian

Penelitian terdiri dari 6 tahap yaitu : (1). Pembuatan media kultur, (2). Kultivasi *D. salina* (eksperimen salinitas), (3). Pemanenan biomassa *D. salina* mengacu pada (Amini, 2010). (4). Analisis pigmen klorofil a, b dan karotenoid mengacu pada metode Vo (2014) dan Pisal (2005). (5). Uji aktivitas antioksidan pigmen mengacu pada Hong *et al.* (2009).

Pembuatan Media Kultur

Media kultur dibuat dengan metode pengenceran dari stok air laut salinitas 32 ppt. Pengenceran dilakukan pada kultur skala laboratorium dengan salinitas 20 ppt, 25 ppt, 30 ppt, 35 ppt, 40 ppt. Setiap perlakuan terdapat 3 pengulangan. Sehingga sebanyak 15 botol kultur masing – masing berkapasitas 500 ml diisi air laut 300 ml yang sudah ditentukan salinitasnya. Masing – masing media air laut ditambahkan 1 ml/l pupuk Walne dan diberi aerasi.

Kultivasi *Dunaliella salina* pada Salinitas yang Berbeda

Starter *D. salina* dengan kepadatan awal 112×10^4 sel/ml diinokulasikan kedalam masing – masing botol kultur sehingga mencapai kepadatan 10^5 sel/ml. Teknik pemberian stater dan pupuk walne dilakukan secara aseptis. Dilakukan pengukuran parameter kualitas media setiap hari sekali pada pukul 15.00 WIB, yaitu pH, DO, salinitas serta memastikan tidak terjadi kontaminan terhadap mikroalga *D. salina* yang telah dikultivasi.

Pemanenan Biomassa *Dunaliella salina*

Pemanenan dilakukan pada fase stasioner dengan menggunakan NaOH untuk pengendapan. Masing – masing perlakuan diberi sebanyak 0,3 gram dan dihomogenkan. Selanjutnya hasil kultur tersebut dilakukan inkubasi pengendapan selama 24 jam. Endapan biomassa yang terbentuk dilakukan pemisahan dari cairan jernihnya. Selanjutnya biomassa dicuci dengan aquades untuk menghilangkan kandungan garamnya, kemudian disaring dengan menggunakan kain satin dan dilakukan ekstraksi.

Analisis Pigmen

Ekstraksi pigmen menggunakan biomassa basah yang mengacu pada Vo (2014) dan Pital (2005). Biomassa basah *D. salina* sebesar 0,5 gram dilarutkan ke dalam pelarut aseton 10 ml hancurkan dengan vortex hingga homogen. Selanjutnya di inkubasi pada ruang gelap selama 24 jam. Setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang didapatkan dilakukan spektrofotometri. Setelah mendapatkan nilai absorbansinya maka kadar pigmen dapat diketahui melalui perhitungan :

$$\text{Kandungan karotenoid (mg/L)} = \frac{(1000 \times A_{470} - 2,770(11,75 \times A_{662} - 2,350 \times A_{645}) - 81,4(18,61 \times A_{645} - 3,960 \times A_{662}))}{227}$$

$$\text{Kandungan Klorofil a (mg/L)} = \frac{(11.85 \times A_{664}) - (1.54 \times A_{647}) - (0.08 \times A_{630})}{V_s \times d} \times V_e$$

$$\text{Kandungan Klorofil b (mg/L)} = \frac{(21.03 \times A_{647}) - (5.43 \times A_{664}) - (2.66 \times A_{630})}{V_s \times d} \times V_e$$

Keterangan : A₄₇₀, A₆₆₂, A₆₄₅, A₆₆₄, A₆₄₇, A₆₃₀ : Nilai absorbansi pada 470, 662, 645, 664, 647, 630 nm,
V_e : Volume ekstrak aseton (ml),
V_s : Volume contoh air yang disaring (liter),
d : Lebar diameter cuvet (1cm)

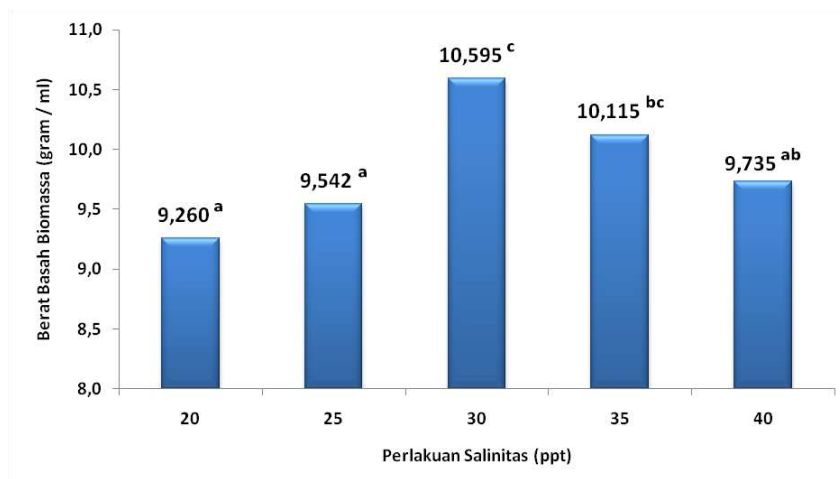
Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biopigmen Mikroalga *D. salina*

Aktivitas antioksidan ekstrak biopigmen mikroalga *D. salina* ditentukan dengan metode DPPH. Larutan pereaksi DPPH yang digunakan dibuat dengan melarutkan kristal DPPH dalam pelarut aseton dengan konsentrasi 0,05 mM yang dibuat segar, dilakukan pada suhu rendah serta terlindung dari cahaya. Perlakuan konsentrasi uji antioksidan menurut Hong *et al.* (2008) yang dimodifikasi. Uji aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak biopigmen dan kontrol (+) BHT. Ekstrak biopigmen mikroalga *D. salina* dan antioksidan sintetik BHT dilakukan pengenceran pada konsentrasi 5, 10, 25, 50 dan 100 ppm. Masing – masing 0,2 ml ekstrak ditambahkan radikal DPPH sebanyak 3,8 ml. Campuran larutan yang telah direaksikan tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit, kemudian masing-masing larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan 0,2 ml

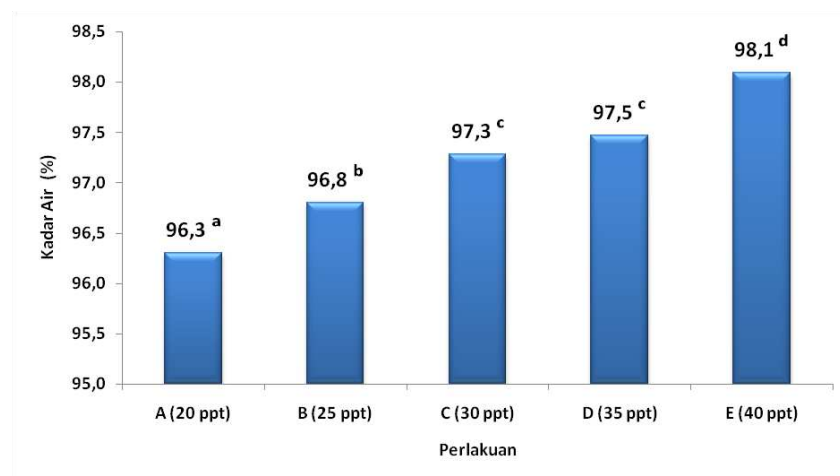
metanol dengan 3,8 ml larutan DPPH ditabung reaksi maka menjadi larutan yang mengandung DPPH 0,05 mM. Persentase penghambatan aktivitas radikal bebas diperoleh dari nilai absorbansi sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian telah berhasil dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Perairan Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara. Materi yang digunakan adalah stater mikroalga *D. salina* dari BBPBAP Jepara. Penelitian menggunakan perlakuan perbedaan salinitas yaitu 20 ppt, 25 ppt, 30 ppt, 35 ppt dan 40 ppt dalam kultur dengan pupuk walne. Kultur dilakukan panen pada fase pertumbuhan stasioner. Berdasarkan data pertumbuhan pada parameter berat basah biomassa (gambar 1) menunjukkan bahwa perlakuan media hiposalin dan hipersalin memberikan pengaruh terhadap biomassa mikroalga *D. salina* secara signifikan ($p < 0,05$). Perlakuan salinitas 30 ppt memiliki nilai berat basah biomassa tertinggi yaitu 10,595^c yang disebut salinitas optimal dalam pertumbuhan. Perlakuan salinitas hiposalin yaitu 20 dan 25 ppt memiliki nilai berat basah biomassa sebesar 9,260^a dan 9,542^a berbeda lebih rendah signifikan ($p < 0,05$) dari 30 ppt. Selain itu perlakuan salinitas hipersalin yaitu 35 dan 40 ppt memiliki nilai berat basah biomassa sebesar 9,735^{ab} dan 10,115^{bc} juga berbeda lebih rendah signifikan ($p < 0,05$) dari 30 ppt. Hal tersebut diduga karena salinitas berpengaruh terhadap tekanan osmotik. Mikroalga *D. salina* dapat menolerir terhadap tekanan salinitas yang ekstrim dengan cara membentuk zat organik yang aktif secara osmotik pada sel (Soeder dan Stengel, 1974). Morfologi *D. salina* yang tidak memiliki dinding sel, sehingga sel dilindungi oleh membran plasma tipis atau disebut dengan periplast yang memungkinkan dapat mengalami perubahan ukuran, bentuk sel dan biomassa sel secara cepat terhadap tekanan osmotik (Venkatsan et al., 2013).

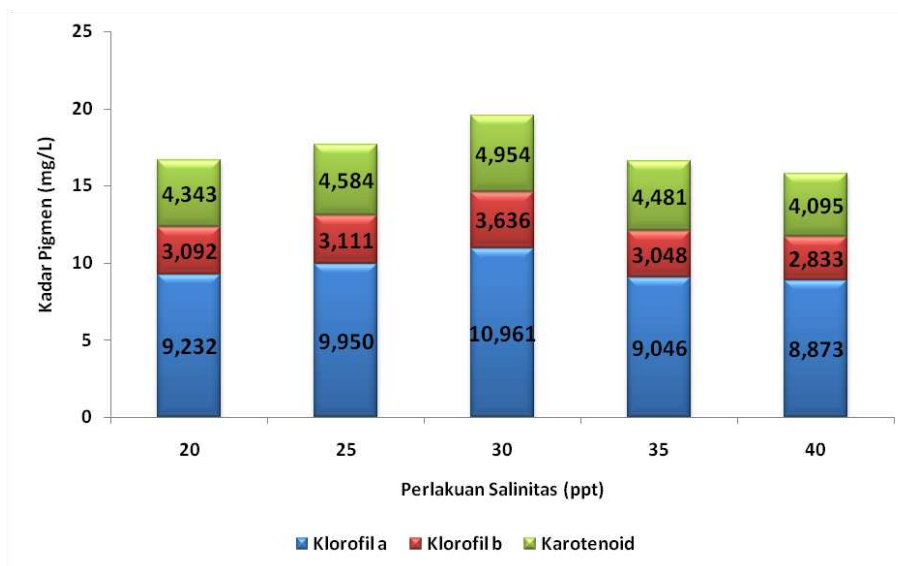


Gambar 1. Berat basah biomassa hasil kultur *D. salina* pada perlakuan perbedaan salinitas.



Gambar 2. Kadar air biomassa *D. salina* pada perlakuan perbedaan salinitas.

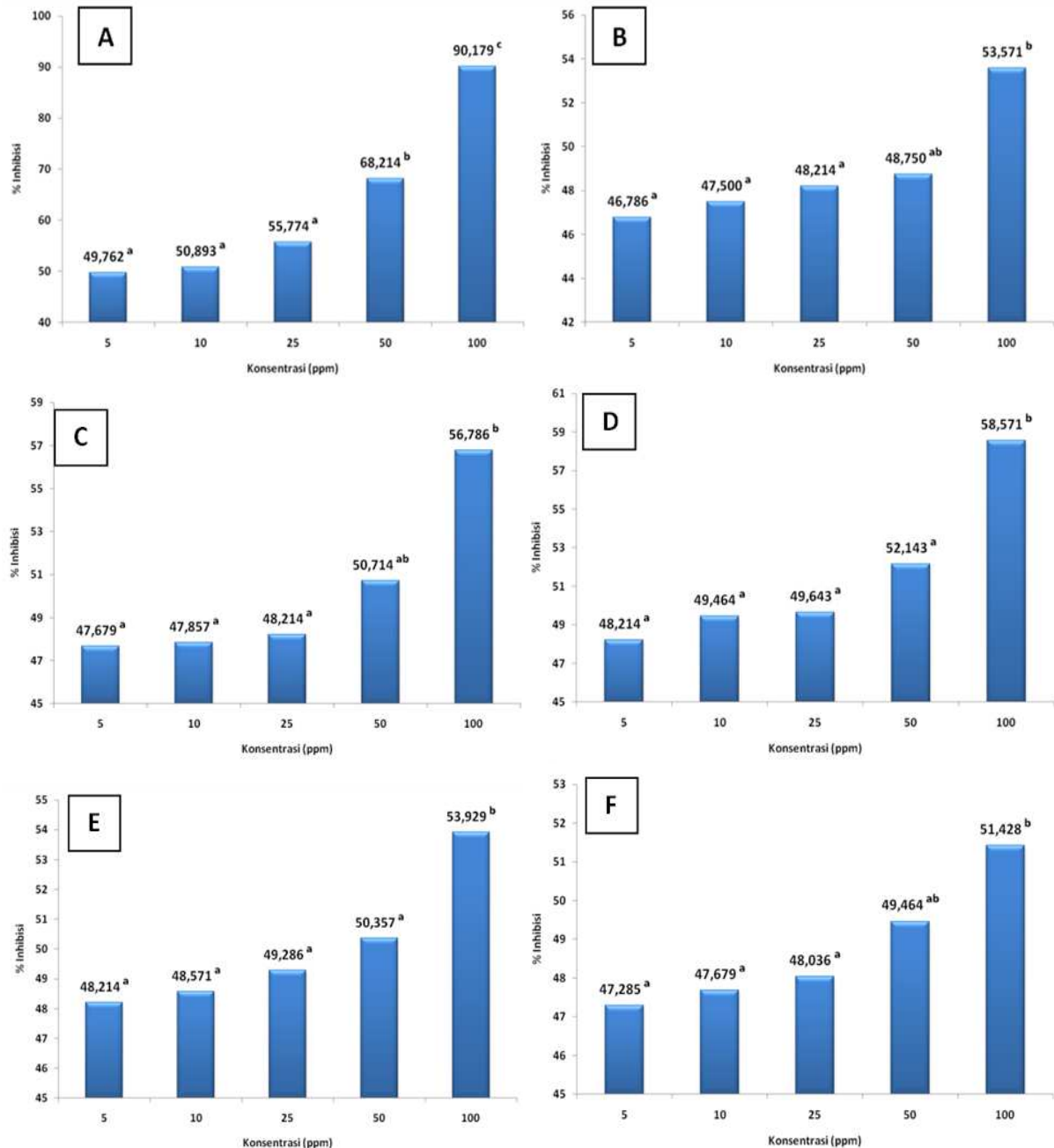
Biomassa panen hasil kultur ditiap perlakuan salinitas selanjutnya dilakukan pengeringan dan didapatkan kadar air. Berdasarkan data kadar (gambar 2) menunjukkan bahwa perlakuan media hiposalin dan hipersalin memberikan pengaruh terhadap kadar air mikroalga *D. salina* secara signifikan ($p < 0,05$) dimana semakin tinggi salinitas maka memiliki kadar air menjadi semakin tinggi. Nilai kadar air yang didapat berkisar $96,3^a - 98,1^d$. Pada salinitas tinggi sel mampu bertahan hidup karena adanya bantuan gliserol yang berfungsi sebagai mendukung tekanan osmotik untuk menyeimbangkan proses osmolaritas pada sel bagian luar (extracellular). Salinitas yang tinggi menyebabkan bertambahnya cairan yang ada pada sel sehingga akan mempengaruhi proses fotosintesis (Avron, 1992).



Gambar 3. Kadar pigmen *D. salina* pada perlakuan perbedaan salinitas.

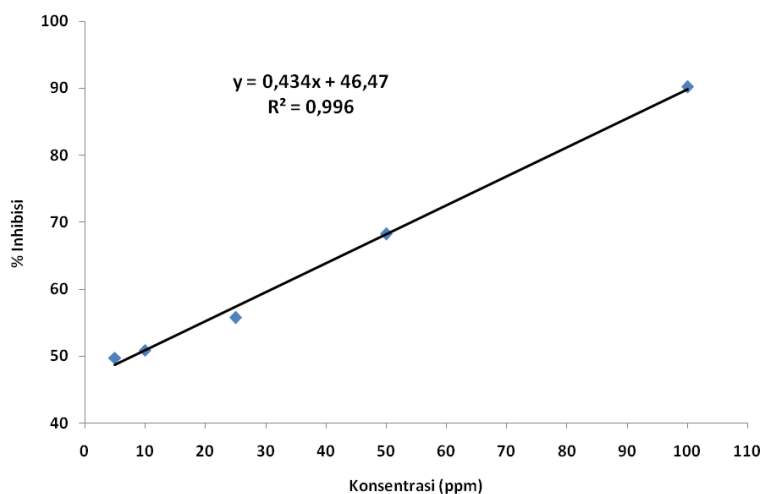
Biomasa basah yang didapatkan dari hasil kultur dilakukan ekstraksi pigmen dengan menggunakan pelarut organik polar aseton. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dan supernatan disektro untuk deteksi absorbansi pigmen. Berdasarkan data kadar pigmen (gambar 3) menunjukkan bahwa terdeteksi keberadaan pigmen klorofil a, b dan karotenoid. Perlakuan perbedaan salinitas pada media kultur menunjukkan berpengaruh terhadap kadar klorofil a, b dan karotenoid. Perlakuan salinitas 30 ppt memiliki nilai kadar klorofil a, b dan karotenoid tertinggi daripada perlakuan yang lain yaitu sebesar 10,961 mg/l, 3,636 mg/l, 4,954 mg/l. Sedangkan kadar klorofil a, b dan karotenoid terendah terdapat pada perlakuan 40 ppt yaitu sebesar 8,873 mg/l, 2,833 mg/l, 4,095 mg/l. Hal ini didukung dengan pernyataan Heidari et al. (2000); Gomez et al. (2003) yang menyatakan bahwa pigmen klorofil a akan meningkat seiring dengan bertambahnya salinitas. Setelah *D. salina* memproduksi pigmen klorofil a mencapai optimum, jumlah klorofil a mengalami penurunan pada saat salinitas 35 ppt dan 40 ppt, hal ini dikarenakan adanya pembentukan pigmen karotenoid sebagai metabolit sekunder yang diproduksi oleh sel *D. salina* pada saat kondisi tekanan yang tinggi sebagai upaya untuk melindungi sel (Pisal, 2005). Ekstrak pigmen pada masing – masing perlakuan salinitas dilakukan uji aktivitas antioksidan. Keberadaan senyawa antioksidan dalam suatu bahan dapat diketahui melalui uji aktivitas antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan dalam ekstrak pigmen *D. salina* dilakukan dengan menggunakan metode DPPH.

Pengujian dengan DPPH dapat digunakan untuk menguji kemampuan senyawa antioksidan sebagai proton penangkal senyawa radikal atau donor hidrogen (Singh dan Rajini, 2004).

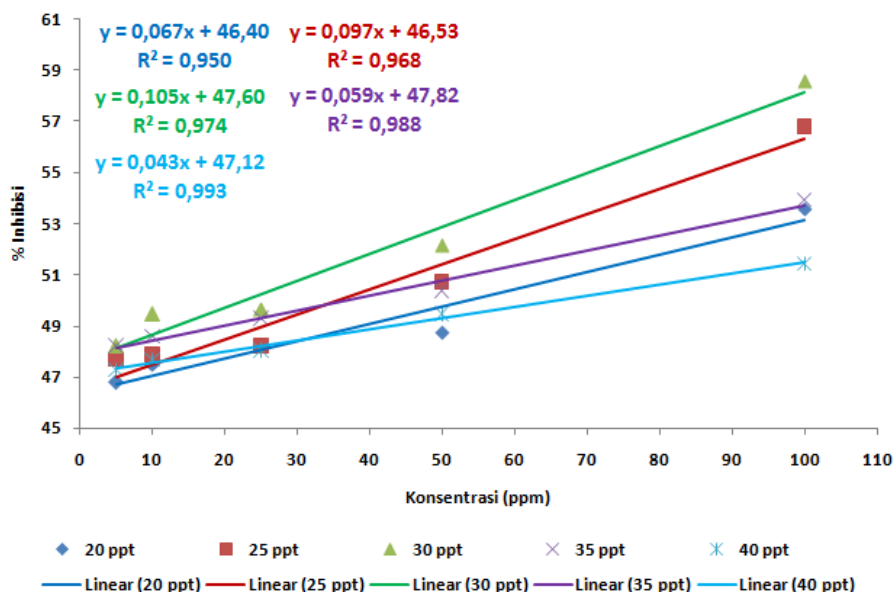


Gambar 4. (a). Persen inhibisi kontrol positif BHT; Persen inhibisi ekstrak pigmen *D. salina* pada perlakuan : (b). salinitas 20 ppt, (c). salinitas 25 ppt, (d). salinitas 30 ppt, (e). salinitas 35 ppt dan (f). salinitas 40 ppt.

Berdasarkan data persen inhibisi gambar 4 menunjukkan bahwa kontrol positif BHT perlakuan perbedaan konsentrasi memberikan aktivitas yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Kontrol positif BHT memiliki hubungan linier antara perbedaan konsentrasi dengan nilai inhibisi yaitu semakin tinggi konsentrasi BHT 5, 10, 25, 50 dan 100 ppm maka nilai persen inhibisi aktivitas antioksidan semakin besar yaitu 49,762^a; 50,893^a; 55,774^a; 68,214^b dan 90,179^c. BHT adalah antioksidan sintetis yang digunakan sebagai pembanding pada penelitian ini. Antioksidan sintetis ini biasa dicampurkan ke dalam bahan pangan karena efektif menghambat aktivitas radikal bebas dan bersifat sinergis dengan antioksidan lainnya. Namun penggunaan antioksidan sintetis dapat menyebabkan keracunan pada dosis tertentu. Kadar maksimum BHT dalam bahan pangan adalah 200 ppm (Ketaren, 1986). Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Persentase penghambatan tinggi dan nilai IC_{50} yang rendah membuktikan bahwa BHT bersifat sebagai antioksidan yang kuat. Hal ini disebabkan BHT terbuat dari senyawa-senyawa kimia yang merupakan senyawa antioksidan.



Gambar 10. Persen inhibisi kontrol (+) BHT dalam larutan radikal DPPH.



Gambar 11. Regresi linier sederhana dari % inhibisi perlakuan perbedaan salinitas.

Berdasarkan data pada gambar tersebut menunjukkan bahwa semua perlakuan salinitas memiliki hubungan linier antara perbedaan konsentrasi dengan nilai inhibisi yaitu semakin tinggi ekstrak pigmen 5, 10, 25, 50 dan 100 ppm maka nilai persen inhibisi aktivitas antioksidan semakin besar yaitu untuk salinitas 20 ppt memiliki persen inhibisi sebesar 46,786^a; 47,500^a; 48,214^a; 48,750^{ab} dan 53,571^b. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka persentase aktivitas antioksidannya semakin tinggi pula. Ekstrak pigmen D salina dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan karena ekstrak tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning pucat saat dilakukan pencampuran ke larutan DPPH. Tingkat diskolorisasi warna ungu DPPH mengindikasikan aktivitas penghambatan radikal bebas oleh sampel antioksidan. Elektron ganjil pada radikal bebas DPPH menghasilkan penyerapan kuat maksimum pada panjang gelombang 517 nm dan berwarna ungu. Warna ungu berubah menjadi warna kuning ketika elektron ganjil radikal DPPH menjadi berpasangan dengan hydrogen dari antioksidan penangkal radikal bebas untuk membentuk DPPH-H (Abdille *et al.*, 2004).

Salinitas 25 ppt memiliki persen inhibisi sebesar 47,679^a; 47,857^a; 48,214^a; 50,714^{ab} dan 56,786^b. Salinitas 30 ppt memiliki persen inhibisi sebesar 48,214^a; 49,464^a; 49,643^a; 52,143^a dan 59,571^b. Salinitas 35 ppt memiliki persen inhibisi sebesar 48,214^a; 48,571^a; 49,286^a; 50,357^a dan 53,929^b. Salinitas 40 ppt memiliki

persen inhibisi sebesar 47,285^a; 47,679^a; 48,036^a; 49,464^{ab} dan 51,428^b. Semakin tingginya konsentrasi ekstrak pigmen D salina yang digunakan menghasilkan persentase penghambatan radikal bebas yang tinggi pula. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Hanani (2005) diacu dalam Prabowo (2009), yang menyatakan bahwa persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

Tabel 1. Nilai IC₅₀ BHT dan ekstrak pigmen D salina pada kultur berbeda salinitas.

Perlakuan	$y = a + b \cdot x$	R ²	R	IC ₅₀ (ppm)	Kriteria IC ₅₀
BHT	$y = 46,47 + 0,434 \cdot x$	0,996	0,998	8,13	Sangat kuat
20 ppt	$y = 46,40 + 0,067 \cdot x$	0,950	0,975	53,73	Kuat
25 ppt	$y = 46,53 + 0,097 \cdot x$	0,9680	0,984	35,77	Sangat kuat
30 ppt	$y = 47,60 + 0,105 \cdot x$	0,9740	0,987	22,860	Sangat kuat
35 ppt	$y = 47,82 + 0,059 \cdot x$	0,9880	0,994	36,950	Sangat kuat
40 ppt	$y = 47,32 + 0,043 \cdot x$	0,9930	0,996	66,980	Kuat

Data persen inhibisi selanjutnya dilakukan analisis regresi linier sederhana untuk melakukan prediksi nilai konsentrasi dalam melakukan peredaman radikal DPPH 50 % (IC₅₀). Analisis regresi linier kontrol positif BHT disajikan pada gambar 10. Persamaan regresi linier kontrol positif BHT adalah $y = 0,434 \cdot x + 46,47$ dengan nilai koefisien determinan (R²) sebesar 0,996 dan koefisien korelasi (R) sebesar 0,998. Berdasarkan tabel 1 menunjukkan bahwa kontrol positif BHT memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik daripada ekstrak pigmen. Nilai IC₅₀ kontrol positif BHT sebesar 8,13 ppm dengan kriteria tergolong sebagai antioksidan sangat kuat.

Analisis regresi linier ekstrak pigmen D salina pada salinitas 20, 25, 30, 35 dan 40 ppt disajikan pada gambar 10 (a) hingga (f). Data nilai IC₅₀ dan kriteria antioksidan pada ekstrak pigmen D salina pada salinitas 20, 25, 30, 35 dan 40 ppt disajikan pada tabel 1. Berdasarkan garis linier gambar 10 dan IC₅₀ tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan ekstrak pigmen dari salinitas berbeda menunjukkan tren linier persen inhibisi yang berbeda dan nilai aktivitas antioksidan yang berbeda. Berdasarkan garis tren linieritas gambar 10 menunjukkan bahkan perlakuan 30 ppt memiliki tren linier persen inhibisi paling tinggi dari pada perlakuan salinitas yang lain. Sedangkan perlakuan salinitas 40 ppt memiliki tren linier persen inhibisi yang paling rendah. Ekstrak pigmen perlakuan salinitas 20 ppt memiliki persamaan regresi linier $y = 0,067 \cdot x + 46,40$ dengan nilai koefisien determinan (R²)

sebesar 0,950 dan koefisien korelasi (R) sebesar 0,975. Nilai IC₅₀ ekstrak pigmen perlakuan salinitas 20 ppt sebesar 53,73 ppm dengan kriteria tergolong sebagai antioksidan kuat. Aktivitas antioksidan ekstrak pigmen D salina dinyatakan dengan persentase penghambatan (% inhibisi) dan nilai IC₅₀. Persentase penghambatan adalah kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas, yang berhubungan dengan konsentrasi suatu bahan. IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50 % (Molyneux, 2004).

Ekstrak pigmen perlakuan salinitas 25 ppt memiliki persamaan regresi linier $y = 0,097 \cdot x + 46,53$ dengan nilai koefisien determinan (R^2) sebesar 0,968 dan koefisien korelasi (R) sebesar 0,984. Nilai IC₅₀ ekstrak pigmen perlakuan salinitas 25 ppt sebesar 35,77 ppm dengan kriteria tergolong sebagai antioksidan sangat kuat. Persamaan regresi linier perlakuan salinitas 30 ppt adalah $y = 0,105 \cdot x + 47,60$ dengan nilai koefisien determinan (R^2) sebesar 0,974 dan koefisien korelasi (R) sebesar 0,987. Nilai IC₅₀ ekstrak pigmen perlakuan salinitas 30 ppt sebesar 22,86 ppm dengan kriteria tergolong sebagai antioksidan sangat kuat. Persamaan regresi linier perlakuan salinitas 35 dan 40 ppt adalah $y = 0,059 \cdot x + 47,82$ dan $y = 0,043 \cdot x + 47,32$ dengan nilai koefisien determinan (R^2) sebesar 0,988 dan 0,993 serta koefisien korelasi (R) sebesar 0,994 dan 0,996. Nilai IC₅₀ ekstrak pigmen perlakuan salinitas 35 dan 40 ppt sebesar 36,95 ppm dan 66,98 ppm dengan kriteria tergolong sebagai antioksidan sangat kuat dan kuat. Antioksidan dapat secara efektif mendonorkan sebuah elektron kepada radikal bebas. Apabila radikal bebas telah mendapatkan elektron dari antioksidan maka radikal bebas akan menjadi stabil. Setelah antioksidan mendonorkan sebuah elektronnya, antioksidan akan berubah menjadi radikal bebas, akan tetapi dalam fase ini tidak berbahaya karena mampu menyesuaikan perubahan kehilangan elektron tanpa berubah menjadi reaktif (Helwig, 2008).

KESIMPULAN

Berdasarkan data berat basah biomassa, kadar klorofil a, b dan karotenoid serta aktivitas antioksidan maka dapat diketahui bahwa salinitas 30 ppt yang paling optimal untuk melakukan kultur dalam usaha produksi biomassa dan biopigmen sebagai agen antioksidan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada LPPM UNISNU Jepara yang telah mensupport dalam biaya penelitian pada program penelitian reguler universitas. Selain itu juga, mengucapkan terimakasih kepada Ka Prodi Budidaya Perairan UNISNU Jepara atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk dapat mengerjakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdille HMD, Singh RP, Jayaprakasha GK, Jena BS. 2004. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. *Journal of Food Chemistry*. 90: 891-896.
- Amini, S. dan R. Susilowati. 2010. Produksi Biodiesel dari Mikroalga *Botryococcus braunii*. *Squalen*, 5(1).
- Avron, M. 1992. Osmoregularity, in *Dunaliella*: Physiology, Biochemistry and Biotechnology, edited by M. Avron dan A Ben Amotz. CRC Press, Boca Raton, Florida, 135-164.
- Balder, H.F., J. Vogel, M.C.J.F. Jansen, M.P. Weijenberg, P.A. Van den Brandt, S. Westenbrink, R. Van der Meer dan R.A. Goldbohm. 2006. Heme and chlorophyll intake and risk of colorectal cancer in the Netherlands cohort study. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 15:717-725.
- Becker, E.W. 2007. Microalgae as a Source of Protein. *Biotechnol. Adv.*, 25:207-210.
- Ferruzzi, M.G., J. Blakeslee. 2007. Digestion, Absorption, and Cancer Preventive Activity of Dietary Chlorophyll Derivatives. *Nutrition Research*, 27:1-12.
- Gomez, P.I., A. Barriga, A. Cifuentes, dan M.A. Gonzalez. 2003. Effect of Salinity on The Quantity and Quality of Carotenoids Accumulated by *Dunaliella salina* (Strain CONC-2007) and *Dunaliella bardawil* (Strain ATCC 30861) Chlorophyta. *Bio. Res.*, 36:185-192.
- Hanani E, Mun'im B, Sekarini R. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callispongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2(3):127-133.

- Heidari, R., H. Riahi, dan S. Saadatmand. 2000. Effect of Salt and Irradiance Stress on Photosynthetic Pigments and Proteins in *Dunaliella salina* Teodoresco. J. Sci. I.R., 11(2):1-5.
- Helwig B. 2008. Antioxidants. <http://www.exrx.net/nutrition/antioxidants/html>. [24 Juli 2016].
- Hong Ye, Zhou Chunhong, Sun Yi, Zhang Xin, Liu Jun, Hu Qiuhui, Zeng Xiaoxiong, 2009, Antioxidant Activities Invitro of Ethanol Extract From Brown Seaweed *Sargassum pallidum*, Eur Food Res Technol 230:101-109.
- Ketaren S. 1986. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta: UI
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioksidan activity. Songklanakarin J Sci Technol. 26(2):211-219.
- Pisal, S. Dipak and S. S. Lele. 2005. Carotenoid Production from Microalga, *Dunaliella Salina*. Indian Journal of Biotechnology, 10(4):476-483.
- Prabowo TT. 2009. Uji aktivitas antioksidan dari keong matah merah (Cerithidea Rock, C.L. 2002. Carotenoids and Cervical, Breast, Ovarian, and Colorectal Cancer. Epidemiology and Clinical Trials. Pure Appl Chem., (74):1451-1459.
- Russell, R.M. 2002. B-carotene and Lung Cancer. Pure Appl Chem., (74):1461-1467.
- Singh RP, Rajini BS. 2004. Antioxidant Activity Of The Extracts From Dillenia Indica Fruits. Journal of Food Chemistry. 90: 891-896.
- Soeder, C. and E. Stengel. 1974. Physico-chemical Factors Affecting Metabolism and Growth Rate. In: Algal physiology and chemistry, pp. 714-740, W. D. P. Stewart (ed.). Univ. of California Press, Berkeley and Los Angeles, California.
- Venkatesh, S., M.S. Swamy, C. Senthil, S. Bhaskar and R. Rengasamy. 2013. Culturing Marine Green Microalgae *Dunaliella salina* Teod. And *Dunaliella tertiolecta* Masjuk in Dewalné's Medium for Valuable Feeds Stock. Journal of Modern Biotechnology, 2(2):40-45.
- Vo, Trung and Duc Tran. 2014. Carotene and Antioxidant Capacity of *Dunaliella salina* Strains. World Journal of Nutrition and Health, 2 (2):21-23.