



Pertumbuhan, Kandungan Pigmen, dan Protein *Spirulina platensis* yang Dikultur Pada $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ Dengan Dosis yang Berbeda

Growth, Pigment and Protein Production of *Spirulina platensis* Under Different $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ Concentrations

Muhammad Fakhri^{1,2*}, Prive Widya Antika¹, Arning Wilujeng Ekawati¹ dan Nasrullah Bai Arifin^{1,2}

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang

²Kelompok Riset Aquatic Biofloc, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang

*Correspondence :
mfakhri@ub.ac.id

Received : 2019-10-24

Accepted : 2019-11-20

Kata Kunci :

Karotenoid, Biomassa, Klorofil-a, Kalsium nitrat, Sianobakteria berfilamen

Keywords :

Carotenoid, Biomass, Chlorophyll-a, Calcium nitrate, Filamentous cyanobacterium

Abstrak

Spirulina platensis merupakan kelompok sianobakteria berfilamen yang telah dimanfaatkan secara komersial untuk pakan ikan dan suplemen makanan bagi manusia. Produksi *Spirulina* yang murah diperlukan ketika mempertimbangkan budidaya skala besar terutama untuk keperluan industri. Tujuan dari penelitian ini yaitu menjelaskan pengaruh kalsium nitrat $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ terhadap pertumbuhan, biomassa, pigmen, dan produksi protein *S. platensis* dan untuk menentukan konsentrasi kalsium nitrat $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ terbaik untuk produksi *S. platensis*. Mikroalga dikultur pada empat konsentrasi kalsium nitrat (1, 1,5, 2,0, dan 2,5 g/l) dengan intensitas cahaya 4.000 lux, fotoperiod pencahayaan 24:0 siklus terang: gelap dan salinitas 15 ppt selama 4 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi kalsium nitrat yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa, pigmen, dan kandungan protein *S. platensis* ($p < 0,05$). Laju pertumbuhan spesifik tertinggi 0,721/hari biomassa 1,512 g/l dihasilkan pada konsentrasi kalsium nitrat 2,5 g/l. Selain itu, alga memiliki kandungan klorofil-a, karotenoid dan protein tertinggi pada konsentrasi 2,5 g/l. Peningkatan konsentrasi kalsium nitrat dari 1 menjadi 2,5 g/l menyebabkan peningkatan produksi biomassa, pigmen dan protein *S. platensis*. Namun, tidak ada perbedaan yang signifikan antara konsentrasi kalsium nitrat 2 dan 2,5 g/l. Dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 2-2,5 g/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ dapat digunakan untuk produksi massal *S. platensis*.

Abstract

Spirulina platensis is a filamentous cyanobacterium that has been commercially used for fish feed and human food supplement. Low-cost production of *Spirulina* is needed when considering large-scale culture, especially for industrial purposes. The study aimed to explain the influence of $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ on growth, biomass, pigment, and protein

production of *S. platensis* and to determine the best calcium nitrate concentration for Spirulina production. The microalgae were cultured at four calcium nitrate concentrations (1, 1.5, 2.0, and 2.5 g/l) with a light intensity of 4,000 lux, photoperiod of 24:0 light: dark cycles, and salinity of 15 ppt for four days. The results showed that different calcium nitrate concentrations remarkably affected the growth, biomass production, pigment, and protein production of *S. platensis* ($p < 0.05$). The highest specific growth rate of 0.721/day and biomass yield of 1.512 g/l were achieved at calcium nitrate concentration of 2.5 g/l. Moreover, the algae had the highest chlorophyll-a, carotenoid, and protein content at 2.5 g/l. Increasing calcium nitrate concentration from 1 to 2.5 g/l led to an increase in biomass, pigment, and protein production of *S. platensis*. However, there was no significant difference between 2 and 2.5 g/l calcium nitrate concentrations. In conclusion, 2-2.5 g/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ concentration can be used profitably for *S. platensis* production.

PENDAHULUAN

Spirulina platensis merupakan mikroalga sianobakteria yang telah diproduksi secara komersial sebagai suplemen makanan, pakan ikan dan sebagai bahan baku antioksidan pada industri farmasi karena dapat menghasilkan produk bernilai tinggi seperti fikosianin (Estrada *et al.*, 2001) dan asam lemak esensial omega 3 dan 6 (Cohen *et al.*, 1993; Alonso dan Maroto, 2000). Selain itu, *S. platensis* mengandung protein 60-71%, lemak 8%, karbohidrat 16%, klorofil-a 1,6%, fikosianin 18%, dan β -karotena 17% (Suminto, 2009).

Produksi biomassa dan kandungan biokimia mikroalga dapat dipengaruhi oleh berbagai macam faktor fisika-kimia seperti salinitas (Fakhri *et al.*, 2015; Fakhri *et al.*, 2017), pH, intensitas cahaya, suhu (Bartley *et al.*, 2016) dan nutrisi (Xin *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2016). Juneja *et al.* (2013) menjelaskan bahwa nutrisi (karbon, nitrogen dan fosfor) merupakan faktor utama yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan kandungan biokimia mikroalga.

Nitrogen (N) merupakan unsur esensial yang berperan penting dalam pembentukan protein struktural dan fungsional seperti peptida, enzim, klorofil, transfer energi dan materi genetik pada sel mikroalga (Cai *et al.*, 2013; Hu, 2013).

Zhang (2014) menambahkan bahwa nitrogen memiliki peranan penting pada mekanisme seluler mikroalga. Sebagian besar mikroalga mampu memanfaatkan berbagai macam bentuk nitrogen seperti nitrat, nitrit, amonia dan urea (Becker, 1994). Nitrat merupakan sumber nitrogen yang paling banyak dimanfaatkan pada media sintetik untuk budidaya mikroalga (Grobelaar, 2004).

Sumber nitrogen untuk pertumbuhan mikroalga dapat diperoleh dalam bentuk sodium nitrat, amonium nitrat, kalsium nitrat, dan urea. Pemanfaatan nitrat sebagai sumber nitrogen mampu meningkatkan pertumbuhan maupun biomassa mikroalga (Sharma *et al.*, 2017). Sumber nitrat dimanfaatkan oleh setiap spesies mikroalga dengan kemampuan yang berbeda (Kim *et al.*, 2016).

Studi tentang pengaruh sumber nitrat dalam bentuk sodium nitrat (NaNO_3) dan amonium nitrat (NH_4NO_3) terhadap laju pertumbuhan dan biomassa *S. platensis* telah dilakukan (Costa *et al.*, 2001). Akan tetapi, informasi pemanfaatan kalsium nitrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) sebagai sumber nitrat pada budidaya *S. platensis* masih terbatas. Fabregas *et al.* (1989), menjelaskan bahwa sumber dan konsentrasi nitrat yang berbeda

mempengaruhi pertumbuhan dan komposisi biokimia mikroalga. Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan pengaruh dosis kalsium nitrat yang berbeda dan menentukan dosis kalsium nitrat terbaik terhadap pertumbuhan, biomassa, pigmen, dan protein *S. platensis*.

METODOLOGI

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan dan Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Oktober-November 2018.

Materi Penelitian

Alat yang digunakan diantaranya lampu TL, *erlenmeyer* (50 ml, 500 ml) *Pyrex Iwaki*, mikropipet *Eppendorf Research Plus*, *light meter Sunche HS1010*, vakum *pump VE115*, dan spektrofotometer (*Spectroquant Pharo 300*, Germany). Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi bibit *S. platensis* yang berasal dari Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan (BRBLPP) Gondol Bali, media Zarrouk, kalsium nitrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), dan kertas saring *Whatmann GF/C* (diameter 90 mm dan *pore size* 1,2 μm). Komposisi media Zarrouk yang digunakan pada penelitian ini adalah NaHCO_3 16,8 g/l, K_2HPO_4 0,2 g/l, K_2SO_4 1 g/l, NaCl 1 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g/l, CaCl_2 0,04 g/l, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01 g/l, EDTA 1 g/l, dan mikronutrien 1 ml/l.

Rancangan Penelitian

Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan digunakan pada penelitian ini. Perlakuan yang digunakan yaitu pemberian kalsium nitrat dengan dosis yang berbeda yang terdiri dari perlakuan A (1,0 g/l), perlakuan B (1,5 g/l), perlakuan C (2,0 g/l), dan perlakuan D (2,5 g/l). Masing-masing perlakuan

dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Penentuan dosis didasarkan pada standar komposisi sumber nitrat pada media Zarrouk (2,5 g/l) dan kebutuhan nitrat *S. platensis*.

Prosedur Kerja

Kultur stok *S. platensis* ditumbuhkan pada pupuk Zarrouk dengan konsentrasi 1 ml/l media. *S. platensis* yang berumur 3 hari digunakan sebagai inokulan. Inokulan dikultivasi ke dalam 500 ml wadah dengan total volume media dan inokulan 400 ml dengan biomassa awal sel 0,2 g/l (Borges *et al.*, 2013). Kultur diinkubasi pada suhu 29 ± 2 °C dengan pencahayaan 24:0 siklus terang/gelap, intensitas cahaya 4.000 lux, salinitas 15 ppt dan aerasi terus-menerus.

Penelitian ini menggunakan sistem kultivasi *batch* (volume 400 ml) dengan kalsium nitrat sebagai sumber N pengganti sodium nitrat pada media Zarrouk. Perlakuan 4 dosis kalsium nitrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) (1, 1,5, 2, dan 2,5 g/l) dengan tiga kali ulangan diaplikasikan pada studi ini. *Strain* dikultur pada suhu 29 ± 2 °C dengan pencahayaan kontinu 24:0 siklus terang/gelap, salinitas 15 ppt dan diberi aerasi secara kontinu. Dalam penelitian ini dilakukan pengukuran laju pertumbuhan spesifik, biomassa, klorofil, karotenoid, dan protein.

Analisis Pertumbuhan

Laju pertumbuhan spesifik (μ) dianalisis menggunakan persamaan berikut (Wahidin *et al.*, 2013):

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

dimana μ merupakan laju pertumbuhan per unit biomassa, x_1 dan x_2 = biomassa pada waktu ke-1 (t_1) dan waktu ke-2 (t_2), berturut-turut.

Waktu penggandaan sel (dt) merupakan rata-rata waktu generasi sel. Waktu penggandaan dapat dihitung menggunakan rumus berikut (Ak *et al.*, 2008):

$$dt = \frac{\ln 2}{\mu}$$

Analisis Biomassa

Konsentrasi biomassa sel *S. platensis* dianalisis menggunakan metode Janssen (1999). Sampel mikroalga yang digunakan diambil pada saat fase stasioner. Kertas saring GF/C (*mesh size* 1,2 μm) dikeringkan pada suhu 105 °C selama 2 jam hingga beratnya konstan [A]. Sampel mikroalga 25 ml difilter melalui kertas saring GF/C dan dicuci dengan 25 ml air tawar untuk menghindari kontaminasi garam yang tidak larut pada media. Kemudian kertas saring diletakkan di oven pada suhu 105 °C selama 2 jam hingga beratnya konstan. Setelah dingin, kertas saring diletakkan di desikator, kemudian beratnya ditimbang kembali [B].

$$\text{Biomassa (mg/l)} = \frac{[B]-[A] \times 1000}{\text{Volume sampel}}$$

Analisis Pigmen

Metode ekstraksi metanol digunakan untuk menganalisis kandungan klorofil a dan karotenoid *S. platensis* (Ritchie, 2006). 10 ml kultur mikroalga disentrifugasi pada 6.000 rpm selama 10 menit. Kemudian 10 ml metanol absolut ditambahkan pada pelet hasil dari sentrifugasi. Selanjutnya tabung yang berisi pelet dan pelarut dibungkus dengan aluminium foil dan diletakkan pada *water bath* dengan suhu 70 °C selama 10 menit. Sampel divortex dan dilakukan sentrifugasi 6.000 rpm selama 10 menit. Supernatan jernih diukur pada panjang gelombang 480 dan 665 nm dengan menggunakan spektrofotometer.

Kandungan klorofil a dihitung menggunakan metode Ritchie (2006) dan karotenoid dianalisis menggunakan metode Strickland dan Parsons (1972).

$$\text{Klorofil-a } (\mu\text{g/ml}) = 12,9447 \times A_{665}$$

$$\text{Karotenoid } (\mu\text{g/ml}) = 4 \times A_{480}$$

Analisis Protein

Kandungan protein dianalisis menggunakan metode Lowry *et al.* (1951). Analisis ini membutuhkan reagen A 5% Na_2CO_3 , reagen B 1% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, reagen C 2% $\text{NaKC}_4\text{H}_6\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ serta

reagen D yang terdiri atas campuran 50 ml dari reagen A + 1 ml reagen B + 1 ml reagen C. Selain itu juga diperlukan pembuatan reagen Folin ciocalteau, 1 N NaOH dan larutan standar BSA. Konsentrasi larutan BSA yang digunakan dalam uji ini sebanyak 2 mg/ml. Selanjutnya ditambahkan 0,5 ml 1 N NaOH ke dalam 0,5 ml sampel mikroalga dan dipanaskan pada suhu 100 °C selama 10 menit pada *water bath* kemudian ditunggu hingga dingin. Kemudian ditambahkan 2,5 ml reagen D ke masing-masing tabung yang berisi mikroalga, dihomogenkan hingga merata dengan vortex *mixer* selama 10 detik. Sampel didiamkan selama 10 menit, lalu ditambahkan 0,5 ml reagen Folin ciocalteau dan dihomogenkan hingga merata dengan vortex *mixer* selama 10 detik, lalu ditunggu hingga 30 menit. Pengukuran *Optical Density* menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 750 nm.

Analisis Data

Analisa statistik dilakukan menggunakan *software* SPSS 16.0. Data dianalisis menggunakan one-way ANOVA untuk mengevaluasi adanya perbedaan signifikan dan pengaruh dosis kalsium nitrat yang berbeda terhadap biomassa, pigmen dan protein *S. platensis*. Setelah dinyatakan berbeda dilanjutkan dengan uji BNT. Selang kepercayaan diekspresikan sebagai $p < 0,05$.

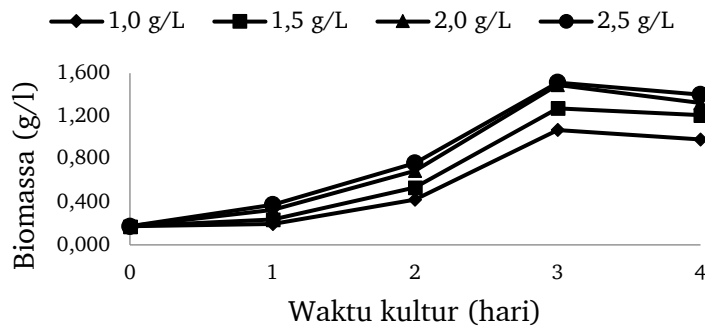
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Kalsium Nitrat Terhadap Pertumbuhan dan Biomassa *S. platensis*

Pertumbuhan sel *S. platensis* pada media Zarrouk dengan dosis kalsium nitrat yang berbeda (1, 1,5, 2, dan 2,5 g/l) dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil menunjukkan bahwa sel yang dikultur pada dosis kalsium nitrat yang berbeda menunjukkan pola pertumbuhan yang sama dan biomassa tertinggi dicapai pada hari ke-3. Selain itu, kurva pertumbuhan

memperlihatkan bahwa sel tidak mengalami fase lag pada semua perlakuan dan mikroalga masuk ke fase logaritmik secara cepat. Hal ini mengindikasikan

bahwa *S. platensis* mampu beradaptasi dengan cepat pada media yang mengandung kalsium nitrat.



Gambar 1. Pertumbuhan *S. platensis* pada dosis kalsium nitrat yang berbeda selama 4 hari periode kultur.

Laju pertumbuhan spesifik, waktu penggandaan, dan biomassa *S. platensis* disajikan pada Tabel 1. Hasil menunjukkan bahwa penambahan dosis kalsium nitrat yang berbeda berpengaruh signifikan terhadap laju pertumbuhan spesifik, waktu penggandaan, dan biomassa *S. platensis* ($p < 0,05$). Peningkatan dosis kalsium nitrat dari 1 hingga 2,5 g/l menghasilkan peningkatan laju pertumbuhan sebesar 16% dan biomassa *S. platensis* sebesar 29,2% serta mampu mempercepat proses penggandaan sel. Laju pertumbuhan spesifik tertinggi dan konsentrasi biomassa tertinggi 1,512 g/l diperoleh pada dosis kalsium nitrat sebesar 2,5 g/l. Akan tetapi, hasil ini tidak menunjukkan perbedaan signifikan jika dibandingkan

dengan dosis kalsium nitrat 2,0 g/l ($p > 0,05$).

Hasil ini sesuai dengan studi Costa *et al.* (2001) yang menemukan bahwa peningkatan dosis sodium nitrat dari 0,01 M ke 0,03 M mampu meningkatkan laju pertumbuhan spesifik sebesar 23,8% dan biomassa *S. platensis* sebesar 21,7%. Hasil yang sama juga dijelaskan oleh Kumar *et al.* (2012) yang mengungkapkan bahwa peningkatan dosis kalium nitrat dari 0,2 mM ke 3,2 mM mampu meningkatkan biomassa *Spirulina* sebesar 2 kali lipat. Çelekli dan Yavuzatmaca (2009) menambahkan bahwa pemberian sodium nitrat pada dosis 2,5 g/l mampu meningkatkan produksi biomassa *S. platensis* sebesar 2,626 g/l.

Tabel 1. Laju pertumbuhan spesifik, waktu penggandaan, dan biomassa *S. platensis*.

Kalsium nitrat (g/l)	Laju pertumbuhan spesifik (/hari)	Waktu penggandaan (/hari)	Biomassa (g/l)
1,0	0,605 ± 0,003 ^a	1,144 ± 0,005 ^a	1,070 ± 0,010 ^a
1,5	0,663 ± 0,004 ^b	1,045 ± 0,006 ^b	1,272 ± 0,016 ^b
2,0	0,715 ± 0,001 ^c	0,968 ± 0,001 ^c	1,490 ± 0,002 ^c
2,5	0,721 ± 0,002 ^c	0,961 ± 0,003 ^c	1,512 ± 0,012 ^c

Keterangan: Notasi berbeda menunjukkan adanya pengaruh di setiap perlakuan, selang kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Nitrogen berperan penting untuk pertumbuhan mikroalga dan unsur dasar pembentukan DNA, RNA, dan enzim serta

berperan dalam biosintesis asam nukleat dan transfer energi yang mempengaruhi pembentukan klorofil dan laju

fotosintesis. Nitrogen dalam keadaan berlebih maupun rendah pada mikroalga dapat menghambat pertumbuhan sel mikroalga. Penambahan nitrogen yang sesuai serta faktor lingkungan yang mendukung menghasilkan proses fotosintesis yang optimal sehingga dapat meningkatkan laju pertumbuhan dan menghasilkan konsentrasi biomassa yang tinggi (Becker, 1994). Nyabuto *et al.* (2015) menambahkan bahwa nitrogen merupakan salah satu elemen penting untuk pertumbuhan, perkembangan, reproduksi, dan kegiatan fisiologis *Spirulina*. Sumber nitrogen mempengaruhi kegiatan fotosintesis sehingga peningkatan proses fotosintesis akan berpengaruh terhadap peningkatan biomassa mikroalga.

Nitrat adalah sumber nitrogen utama yang diasimilasi oleh *Spirulina* sp. untuk mendukung pertumbuhan selnya (Suantika dan Hendrawandi, 2009). Nitrat diubah menjadi nitrit oleh enzim nitrit reduktase yang kemudian dikonversi menjadi ion amonium sehingga dapat dimanfaatkan oleh *Spirulina*. Pemanfaatan nitrat yang optimal akan meningkatkan laju pertumbuhan spesifik *S. platensis* (Widyantoro *et al.*, 2018). Selain itu, Nyabuto *et al.* (2015) melaporkan bahwa pemanfaatan sumber nitrogen dalam bentuk nitrat mampu meningkatkan biomassa *Spirulina*.

Kalsium (Ca) merupakan salah satu nutrisi makro yang penting untuk pertumbuhan mikroalga (Pratiwi *et al.*, 2015). Selain itu, penambahan unsur hara kalsium dapat mempercepat proses pembelahan sel, sehingga dapat meningkatkan biomassa *S. platensis* (Regista *et al.*, 2017). Hal ini disebabkan oleh pemanfaatan ion kalsium dapat mempengaruhi pertumbuhan dan produksi biomassa alga. Penambahan ion kalsium mampu meningkatkan penyerapan gliserol oleh sel dan dimanfaatkan oleh sel mikroalga. Setelah gliserol berada di dalam sel akan diubah menjadi gliseraldehid 3 fosfat oleh gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenase sebelum masuk ke jalur glikolisis. Aktivitas

gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenase dipengaruhi oleh ion kalsium. Kemudian peningkatan gliseraldehid 3 fosfat berlanjut asetil KoA melalui piruvat. Asetil KoA bersama ion magnesium berperan dalam mempertahankan pertumbuhan dan produksi lipid (Singh *et al.*, 2016).

Pengaruh Kalsium Nitrat terhadap Klorofil-a dan karotenoid *S. platensis*

Kandungan klorofil-a dan karotenoid pada dosis kalsium nitrat yang berbeda disajikan pada Tabel 2. Hasil menunjukkan bahwa pemberian dosis kalsium nitrat yang berbeda berpengaruh signifikan terhadap klorofil-a dan karotenoid *S. platensis* ($p < 0,05$). Peningkatan dosis kalsium nitrat dari 1 hingga 2,5 g/l menghasilkan peningkatan klorofil-a dan karotenoid *S. platensis*. Kandungan klorofil-a dan karotenoid tertinggi masing-masing sebesar 10,123 mg/l dan 5,346 mg/l dihasilkan pada dosis kalsium nitrat 2,5 g/l. Akan tetapi, hasil ini tidak menunjukkan perbedaan signifikan jika dibandingkan dengan dosis kalsium nitrat 2,0 g/l ($p > 0,05$) dimana menghasilkan klorofil-a 10,013 mg/l dan karotenoid 5,306 mg/l.

Çelekli dan Yavuzatmaca (2009) melaporkan bahwa peningkatan dosis sodium nitrat dari 2 g/l ke 2,5 g/l meningkatkan kandungan klorofil-a *S. platensis* dimana kandungan klorofil-a tertinggi diperoleh sebesar 29,92 mg/l. Nyabuto *et al.* (2015) melaporkan bahwa *Spirulina* yang diberi dosis sodium nitrat sebesar 2,5 g/l menghasilkan klorofil-a sebesar 2,54 mg/l.

Swandewi *et al.* (2017) menjelaskan bahwa pembentukan klorofil oleh mikroalga dipengaruhi oleh kandungan nitrogen (N) dalam media tumbuh yang digunakan selama proses kultur. Jumlah nitrogen yang optimal pada media kultur meningkatkan proses metabolisme sel dan sintesis klorofil. Peningkatan kandungan klorofil menyebabkan proses fotosintesis berjalan optimal sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan mikroalga.

Pemberian sumber N dalam bentuk urea dengan dosis 2,5 g/l mampu meningkatkan klorofil sebesar 14,0 mg/g (Ajayan *et al.*, 2012).

Tabel 2. Kandungan klorofil-a, karotenoid, dan protein *S. platensis*.

Kalsium nitrat (g/l)	Klorofil-a (mg/l)	Karotenoid (mg/l)	Protein (mg/l)
1,0	5,398±0,073 ^a	2,338±0,034 ^a	557,47±5,29 ^a
1,5	7,676±0,732 ^b	3,158±0,030 ^b	709,52±6,17 ^b
2,0	10,013±0,082 ^c	5,306±0,002 ^c	908,35±0,88 ^c
2,5	10,123±0,018 ^c	5,346±0,018 ^c	913,35±1,76 ^c

Keterangan: Notasi berbeda menunjukkan adanya pengaruh di setiap perlakuan, selang kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

Kepadatan sel yang semakin tinggi akan menghasilkan klorofil-a yang semakin tinggi. Adanya cahaya selama proses fotosintesis akan melibatkan klorofil untuk membentuk energi berupa NADPH₂, ATP, dan oksigen. Klorofil dan cahaya bekerja sama dalam reaksi foto fosforilasi di dalam reaksi terang. Klorofil digunakan sebagai bagian dari pusat inti dan digunakan dalam reaksi bersama pigmen protein (Masojidek *et al.*, 2013).

Pemberian nitrogen berupa sodium nitrat sebesar 48 mg/l mampu meningkatkan karotena mikroalga hingga 2,46 mg/g (Menegol *et al.*, 2017). Menurut Ponnuswamy *et al.* (2013), tingginya laju fotosintesis mikroalga akan mempengaruhi tingkat produksi karotenoid *S. platensis*. Pigmen fotosintesis memiliki hubungan dengan kepadatan sel. Semakin tinggi konsentrasi sel dalam media kultur maka semakin tinggi pula produksi pigmen fotosintesis yang dihasilkan sehingga produksi karotenoid yang dihasilkan juga meningkat.

Pengaruh Kalsium Nitrat terhadap Protein *S. platensis*

Kandungan protein *S. platensis* pada dosis kalsium nitrat yang berbeda disajikan pada Tabel 2. Hasil menunjukkan bahwa pemberian dosis kalsium nitrat yang berbeda berpengaruh signifikan terhadap kandungan protein *S. platensis* ($p < 0,05$). Peningkatan dosis kalsium nitrat dari 1 hingga 2,5 g/l menghasilkan peningkatan produksi

protein. Kandungan protein tertinggi sebesar 913,35 mg/l diperoleh pada dosis kalsium nitrat 2,5 g/l. Akan tetapi, hasil ini tidak menunjukkan perbedaan signifikan jika dibandingkan dengan dosis kalsium nitrat 2,0 g/l ($p > 0,05$) dimana menghasilkan 908,35 mg/l kandungan protein.

Peningkatan kadar protein dapat dipengaruhi oleh unsur hara dalam media kultur seperti nitrogen. Nitrogen merupakan komponen utama untuk pembentukan protein dan perbanyakan sel. Mikroalga mampu melakukan proses fotosintesis dan menghasilkan energi yang dapat dibentuk menjadi protein (Christiani *et al.*, 2017). Peningkatan kandungan protein mikroalga sebesar 42% dapat terjadi dengan adanya penambahan nitrogen pada media kultur mikroalga dengan konsentrasi sebesar 0,5 g/l (Padmanabhan *et al.*, 2010).

Bagian klorofil pada mikroalga akan membentuk energi yang akan dibawa pada reaksi fotosistem 2 dan fotosistem 1 dimana klorofil berfungsi sebagai salah satu bagian dari pusat reaksi bersama dengan pigmen protein dan menghasilkan ATP dan NADPH. Sehingga klorofil sangat berhubungan dengan protein dimana klorofil dan pigmen aktif lainnya berperan pada pengambilan cahaya dan transfer elektron. Tinggi rendahnya protein juga dipengaruhi oleh kandungan nutrisi khususnya nitrat pada lingkungan hidup mikroalga (Masojidek *et al.*, 2013).

KESIMPULAN

Pemberian kalsium nitrat dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan, pigmen, dan kandungan protein *S. platensis*. Selain itu, pemberian dosis kalsium nitrat terbaik untuk pertumbuhan, pigmen, dan kandungan protein *S. platensis* yaitu 2 g/l-2,5 g/l.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajayan, K.V., Selvaraju, M. and Thirugnanamoorthy, K., 2012. Enrichment of chlorophyll and phycobiliproteins in *Spirulina platensis* by the use of reflector light and nitrogen sources: An in-vitro study. *Biomass and Bioenergy*, 47, pp. 436-441.
- Ak, I., Cirik, S. and Goksan, T., 2008. Effect of light intensity, salinity, and temperature on growth in Camalt1 strain of *Dunaliella viridis* Teodoresco from Turkey. *Journal of Biological Sciences*, 8(8), pp. 1356-1359.
- Alonso, D. and Maroto, F., 2000. Plant as 'chemical factories' for the production of polyunsaturated fatty acids. *Biotechnology Advances*, 18(6), pp. 481-497.
- Bartley, M.L., Boeing, W.J., Daniel, D., Dungan, B.N. and Schaub, T., 2016. Optimization of environmental parameters for *Nannochloropsis salina* growth and lipid content using the response surface method and invading organisms. *Journal of Applied Phycology*, 28(1), pp. 15-24.
- Becker, E.W., 1994. *Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press. New York.
- Borges, J.A., Rosa, G.M., Meza, L.H.R., Henrard, A.A., Souza, M.R.A.Z. and Costa, J.A.V., 2013. *Spirulina* sp. LEB-18 culture using effluent from the anaerobic digestion. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 30(2), pp. 277-287.
- Cai, T., Park, S.Y. and Li, Y., 2013. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19, pp. 360-369.
- Çelekli, A. and Yavuzatmaca, M., 2009. Predictive modeling of biomass production by *Spirulina platensis* as function of nitrate and NaCl concentrations. *Bioresource Technology*, 100(5), pp. 1847-1851.
- Christiani, C., Insan, A.I. dan Hidayah, H.A., 2017. Pertumbuhan mikroalga hasil budidaya skala laboratorium dengan media kultur limbah cair tapioka. *Prosiding Seminar Nasional*, 7, pp. 17-18.
- Cohen, Z., Reungjitchachawali, M., Siangdung, W. and Tanticharoen, M., 1993. Production and partial purification of γ -linolenic acid and some pigments from *Spirulina platensis*. *Journal of Applied Phycology*, 5(1), pp. 109-115.
- Costa, J.A.V., Cozza, K.L., Oliveira, L. and Magagnin, G., 2001. Different nitrogen sources and growth responses of *Spirulina platensis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(5), pp. 439-442.
- Estrada, J.E.P., Bescos, P.B. and Villar del Fresno, A.M., 2001. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Il Farmaco*, 56(5-7), pp. 497-500.
- Fabregas, J., Abalde, J., Cabezas, B., and Herrero, C., 1989. Changes in protein, carbohydrates and gross energy in the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) by nitrogen concentrations as nitrate, nitrite and urea. *Aquaculture Engineering*, 8(4), pp. 223-39.
- Fakhri, M., Arifin, N.B., Budianto, B., Yuniarti, A. and Hariati, A.M., 2015. Effect of salinity and photoperiod on growth of microalgae *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. *Nature Environment and Pollution Technology*, 14(3), pp. 563-566.
- Fakhri, M., Arifin, N.B., Yuniarti, A. and Hariati, A.M., 2017. The influence of salinity on the growth and

- chlorophyll content of *Nannochloropsis* sp. BJ17. *Nature Environment and Pollution Technology*, 16(1), pp. 209-212.
- Grobbelaar, J.U., 2004. Algal biotechnology: real opportunities for Africa. *South African Journal of Botany*, 70(1), pp. 140-144.
- Hu, Q., 2013. Environmental effects on cell composition. In : Richmond A, Hu Q, editors *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. 2nd ed. Wiley Blackwell, West Sussex, pp. 114–122.
- Janssen, M., Kuijpers, T.C., Veldhoen, B., Ternbach, M.B., Tramper, J., Mur, L.R. and Wijffels, R.H., 1999. Specific growth rates of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* under medium duration light/dark cycles: 13 -87s. *Journal Biotechnology*. 35, pp. 323-333.
- Juneja, A., Ceballos, R.M. and Murthy, G.S., 2013. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review, *Energies*, 6, pp. 4607-4638.
- Kim, G., Mujtaba, G. and Lee, K., 2016. Effects of nitrogen sources on cell growth and biochemical composition of marine chlorophyte *Tetraselmis* sp. for lipid production. *Algae*, 31(3), pp. 257-266.
- Kumar, P., Shahi, S.K. and Sharma, P.K., 2012. Effect of various cultural factors on isolated *Spirulina* strain for lipid and biomass accumulation. *Current Discovery*, 1(1), pp. 13-18.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193, pp.265-275.
- Masojidek, J., Torzillo, G. and Koblizek, M., 2013. Photosynthesis in microalgae. *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology. Second Edition*. Blackwell Publishing. New Jersey. 17 pp.
- Menegol, T., Diprat, A.B., Rodrigues, E. and Rech, R., 2017. Effect of temperature and nitrogen concentration on biomass composition of *Heterochlorella luteoviridis*. *Food Science and Technology*, 37, pp. 28-37.
- Nyabuto, D.K., Cao, K., Mariga, A.M., Kibue, G.W., He, M. and Wang, C., 2015. Growth performance and biochemical analysis of the genus *Spirulina* under different physical and chemical environmental factors. *African Journal of Agricultural Research*, 10(36), pp. 3614-3624.
- Padmanabhan, M.R.A., Renita, A. and Stanley, S.H., 2010. Studies on the effect of nitrogen source and the growth of marine microalgae algae. *Recent Advances in Space Technology Services and Climate Change*, pp. 350-352.
- Ponnuswamy, I., Madhavan, S. and Shabudeen, S., 2013. Isolation and characterization of green microalgae for carbon sequestration, waste water treatment and bio-fuel production. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, 5(2), pp. 17-26.
- Pratiwi, N.T.M., Krisanti, M., Ayu, I.P., Iswantari, A. dan Apriadi, T., 2015. Serapan kalsium dan nutrien oleh alga berfilamen *Spirogyra* sp. pada lama penyinaran berbeda. *Limnotek*, 22(1), pp. 96-105.
- Regista, A., Litaay, M. dan Umar, M.R., 2017. Pengaruh pemberian vermikompos cair *Lumbricus rubellus* Hoffmeister pada pertumbuhan *Chlorella* sp. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*, 2(1), pp. 1-8.
- Ritchie, R.J., 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*, 89(1), pp. 27-41.
- Sharma, J., Kumar, S., Sharma, P., Gupta, S., Manju, T., Malyan, S. and

- Bishnoi, N., 2017. Effect of different nitrogen sources on growth of algal consortia. *Annals of Agri-bio Research*, 22(2), pp. 150-153.
- Singh, D., Barrow, C.J., Puri, M., Tuli, D.K. and Mathur, A.S., 2016. Combination of calcium and magnesium ions prevents substrate inhibition and promotes biomass and lipid production in thraustochytrids under higher glycerol concentration. *Algal Research*, 15, pp. 202-209.
- Strickland, J., and Parsons, T.R., 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis, second ed. Fish Res Board Can Bull.
- Suantika, G. dan Hendrawandi, D., 2009. Efektivitas teknik kultur menggunakan sistem kultur statis, semi-kontinyu, dan kontinyu terhadap produktivitas dan kualitas kultur *Spirulina* sp. *Jurnal Matematika dan Sains*, 14(2), pp. 41-50.
- Suminto, S., 2009. Penggunaan jenis media kultur teknis terhadap produksi dan kandungan nutrisi sel *Spirulina platensis*. *Jurnal Saintek Perikanan*, 4(2), pp. 53-61.
- Swandewi, I.G.A.P.A.P., Anggreni, A.A.M.D. dan Admadi, B., 2017. Pengaruh penambahan NaNO_3 dan K_2HPO_4 pada media BG-11 terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 5(1), pp. 1-17.
- Wahidin, S., Idris, A. and Shaleh, S.R.M., 2013. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. *Bioresource Technology*, 129, pp. 7-11.
- Widyantoro, H., Wijayanti, M. dan Dwinanti, S.H., 2018. Modifikasi media *Spirulina platensis* sebagai upaya pemanfaatan air limbah budidaya ikan lele. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 6(2), pp. 153-164.
- Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G. and Ying-xue, S., 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, 101(14), pp. 5494-5500.
- Zhang, C., 2014. Essential functions of iron-requiring proteins in DNA replication, repair and cell cycle control. *Protein Cell*, 5, pp. 750-760.