

Pengaruh Penambahan Vitamin B₁₂ pada Media Blotong Kering terhadap Pertumbuhan Populasi *Dunaliella salina*

Effect of Adding Vitamin B₁₂ on Blotong Dry Media Against Population Growth *Dunaliella salina*

Rahayu Kusdarwati, Mustofin Akhyar dan Boedi S. Rahardja

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga
Kampus C Mulyorejo - Surabaya, 60115 Telp. 031 - 5911451

Abstract

Dunaliella salina is one natural food that is good enough for the larvae of sea urchins and also can be used as food *Brachionus plicatilis* and *Artemia* in aquaculture feed *Artemia*. Blotong is precipitated in the process of purification juice before cooking and crystallized into sugar. Purification is a process to separate the juice from dirt or fibers. Sugarcane is used as fertilizer by using oven dried first. Vitamin B₁₂ is needed some algae to build proteins and essential as a coenzyme necessary for DNA synthesis in the formation of new cells. Vitamin B₁₂ is a coenzyme B₁₂-dependent methionine synthase and vitamin B₁₂-dependent ribonucleotide reductase. Vitamin B₁₂-dependent methionine synthase function for synthesis methionin (essential amino acids), whereas vitamin B₁₂-dependent ribonucleotide reductase functions to DNA synthesis.

This study aims to determine the effect of vitamin B₁₂ in dry blotong media on the growth of *D. salina* population and to determine the optimal dosage of vitamin B₁₂ in dry blotong media which can produce the highest population growth of *D. salina*. This research used Completely Randomized Design (CRD) with seven treatments and three replications. The study used namely: Fertilizer blotong dried with the addition of vitamin B₁₂ 10 g / L (A), dose of 12 ug / L (B), the dose of 14 ug / L (C), a dose of 16 ug / L (D), dose 18 ug / L (E), a dose of 20 ug / L (F) and control treatment of dry sugarcane fertilizer without adding vitamin B₁₂ or dose 0 g / L (G).

The main parameter used is the population of *D. salina*, while supporting the water quality parameters (salinity, pH and water temperature). Data were analyzed with ANOVA (analysis of variants) and to know the differences among the treatments performed Duncan's Multiple Range Test. The results showed that the addition of vitamin B₁₂ in dry blotong media had no effect on the growth of population *D. salina* ($p > 0.05$).

Keywords: *Dunaliella salina*, vitamin B₁₂, blotong dry, population growth

Pendahuluan

Dunaliella salina merupakan salah satu pakan alami yang cukup baik untuk larva teripang. Fitoplankton ini juga dapat digunakan sebagai pakan *Brachionus plicatilis* dan pakan *Artemia* pada budidaya *Artemia* (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). *D. salina* mendapat perhatian besar di beberapa negara seperti Australia, Amerika dan Israel karena dapat menghasilkan -karoten, -karoten, gliserol dan zat anti oksidan (El Baz *et al.*, 2002). Kandungan nutrisi *D. salina* yang ditunjukkan dalam bahan kering adalah protein (57%), karbohidrat (32%) dan lemak (6%) (Bekker, 1994 dalam Putranto, 2007).

Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) berpendapat bahwa kultur fitoplankton membutuhkan unsur hara makro yang terdiri dari N, P, K, S, Si, Na, Ca maupun unsur hara mikro yang terdiri dari Fe, Zn, Mn, Cu, Mg, Co, B. Pemenuhan kebutuhan unsur hara dalam kultur fitoplankton umumnya diperoleh dari pupuk. Selain dari senyawa kimia, pupuk untuk kultur fitoplankton juga dapat berasal dari senyawa organik yang berasal dari limbah pertanian maupun berasal dari limbah

pengolahan pabrik. Salah satunya adalah blotong yang berasal dari limbah pabrik gula. Hamawi (2005) menyatakan bahwa blotong merupakan hasil endapan dalam proses pemurnian atau penampisan nira sebelum dimasak dan dikristalkan menjadi gula pasir. Vitamin B₁₂ diperlukan beberapa alga untuk membangun protein esensial dan sebagai koenzim penting untuk sintesis DNA dalam pembentukan sel baru. Vitamin B₁₂ merupakan koenzim *vitamin B₁₂-dependent methionine synthase* dan *vitamin B₁₂-dependent ribonucleotide reductase*. *Vitamin B₁₂-dependent methionine synthase* berfungsi untuk sintesis methionin (asam amino esensial) (Matthews and Banerjee, 1990) sedangkan *vitamin B₁₂-dependent ribonucleotide reductase* berfungsi untuk sintesis DNA (Croft *et al.*, 2006). Berdasarkan hal inilah maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh penambahan vitamin B₁₂ pada media blotong kering terhadap pertumbuhan populasi *D. salina*.

Metodologi

Penelitian ini telah dilaksanakan pada tanggal 10 Oktober sampai dengan tanggal 20 November 2010 di Laboratorium Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tujuh perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan vitamin B₁₂ yaitu : Pupuk blotong kering dengan penambahan vitamin B₁₂ 10 µg/L (A), dosis 12 µg/L (B), dosis 14 µg/L (C), dosis 16 µg/L (D), dosis 18 µg/L (E), dosis 20 µg/L (F) dan perlakuan kontrol yaitu pemberian pupuk blotong kering tanpa penambahan Vitamin B₁₂ atau dosis 0 µg/L (G).

Prosedur kerja penelitian meliputi persiapan alat dan bahan, sterilisasi alat dan bahan kemudian persiapan pembuatan stok blotong kering dan vitamin B₁₂. Sterilisasi alat dan air laut merupakan tahap awal kultur skala laboratorium karena kultur skala laboratorium merupakan kultur monospesies dan dimaksudkan untuk menghindari adanya kontaminasi oleh mikroorganisme lain. Peralatan yang akan digunakan dicuci sampai bersih kemudian dibilas dengan air tawar. Peralatan berukuran besar yang sudah bersih direndam dengan larutan klorin 150 ppm selama 24 jam. Setelah itu, peralatan dikeringkan di bawah sinar matahari. Peralatan yang tidak tahan panas seperti selang aerasi disimpan di tempat yang steril, sedangkan botol plastik ditutup dengan sterofom yang steril. Peralatan berukuran kecil dan terbuat dari kaca tahan panas yang akan digunakan untuk kultur disterilkan dengan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Peralatan ini harus ditutup dengan kapas dan kasa kemudian dibungkus dengan aluminium foil.

Air laut yang digunakan sebagai media kultur bersalinitas 32 ppt. Sterilisasi air laut dilakukan dengan menggunakan larutan klorin. Air laut terlebih dahulu disaring dengan kapas yang diletakkan dalam corong air lalu disterilkan dengan memberikan klorin sebanyak 60 ppm dan diaerasi selama 24 jam lalu Na Thiosulfat 20 ppm diberikan untuk menghilangkan sisa-sisa bau klorin. Menurut Ekawati (2005), air laut yang telah steril disimpan dalam wadah yang tidak tembus cahaya dan tertutup. Hal ini dimaksudkan agar tidak tumbuh lumut atau mikroorganisme lain.

Blotong dikeringkan menggunakan oven dengan suhu berkisar antara 60-70°C selama 24 jam. Blotong yang sudah kering kemudian digiling dan disaring untuk memisahkan dari kotoran dan serat. Selanjutnya, blotong tersebut dilarutkan dalam

aquades. Larutan blotong kemudian disaring dengan kertas saring dan disterilkan menggunakan *autoclave*. Dosis blotong kering yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,5 mg/L. Pembuatan larutan pupuk blotong untuk kultur *D. salina* dapat menggunakan rumus (Satyantini dan Masithah, 2008) :

$$Q = \frac{V}{P} \times K \quad (\text{Satyantini dan Masithah, 2008})$$

Keterangan:

Q = berat bahan yang dilarutkan (mg, gram)

V = volume pelarut/ aquadest (ml, L)

P = volume penggunaan dalam media kultur (ml/L)

K = konsentrasi pupuk yang diketahui (ppm, mg/L)

Vitamin B₁₂ yang digunakan adalah vitamin B₁₂ murni yang berbentuk serbuk. Vitamin B₁₂ kemudian dilarutkan dalam aquades 200 ml yang sudah disterilkan terlebih dahulu dengan dosis penggunaan 2 ml/L media kultur. Pembuatan stok larutan vitamin B₁₂ menggunakan rumus yang sama dengan pembuatan larutan blotong. Lingkungan kultur dapat mempengaruhi pertumbuhan *D. salina*, oleh karena itu lingkungan dikondisikan sama untuk setiap perlakuan. Lingkungan kultur *D. salina* yang diharapkan dalam penelitian adalah suhu 25 – 30°C, salinitas 30 - 32 ppt, intensitas cahaya 1300 – 2300 lux, pH 7 – 9 dan photoperiod 18 jam dalam keadaan terang dan 6 jam dalam keadaan gelap (Borowitzka, 1990). *D. salina* yang digunakan untuk penelitian diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau Jepara. Media kultur yang telah siap selanjutnya dimasukkan ke dalam botol kultur, diaerasi dan ditambahkan nutrient. Bibit *D. salina* murni kemudian dimasukkan ke dalam botol sesuai dengan jumlah kepadatan sebesar 500.000 sel/ml. Penghitungan jumlah bibit *D. salina* yang diperlukan untuk kultur, dapat menggunakan rumus sebagai berikut (Ekawati, 2005):

$$V1 = \frac{N2 \times V2}{N1} \quad (\text{Ekawati, 2005})$$

Keterangan:

V1 = Volume bibit untuk penebaran awal (ml)

N1 = Kepadatan bibit/ stock *Dunaliella salina* (sel/ ml)

V2 = Volume media kultur yang dikehendaki (ml)

N2 = Kepadatan bibit *Dunaliella salina* yang dikehendaki (sel/ ml)

Pengamatan pertumbuhan *D. salina* dilakukan setiap hari selama 8 hari setelah penebaran awal. Penghitungan dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer* dan untuk memudahkan penghitungan digunakan *handcounter*. Penghitungan menggunakan metode “*Big Block*” karena ukuran sel *D. salina* lebih dari 6 µm.

Cara penghitungan sebagai berikut, terlebih dahulu menghitung sel fitoplankton mulai dari sisi kiri kotak ke arah kanan kotak dan menghitung sel yang berada di dalam garis atau yang mendekati garis batas bagian dalam kotak. Langkah selanjutnya menjumlahkan penghitungan pada blok A, B, C, D pada bidang penghitungan bagian atas dan bagian bawah pada *haemocytometer*. Langkah yang terakhir menghitung kepadatan fitoplankton (sel/mL) dengan menggunakan rumus penghitungan “*Big Block*” (Satyantini dan Masithah, 2008):

$$\text{Kepadatan fitoplankton (sel/ml)} = \frac{nA + nB + nC + nD}{4}$$

Keterangan :

nA, nB, nC, nD = jumlah sel fitoplankton pada blok A, B, C, D

4 = jumlah blok yang dihitung

Tabel 1. Rata-rata pertumbuhan populasi *D. salina* (sel/ml) x 10⁵

Perlakuan	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
A	5	17,16	14,5	7,3	5,16
B	5	16,5	15	9,67	9,33
C	5	18	13,67	11,16	9,33
D	5	9,5	12,67	11	7
E	5	19,33	14,16	8,5	6,16
F	5	15,16	14,33	8,67	8
G (kontrol)	5	17	15,16	10,16	8,33

Keterangan :

A = dosis blotong kering 0,5 ppm + vitamin B₁₂ 10 µg/L

B = dosis blotong kering 0,5 ppm + vitamin B₁₂ 12 µg/L

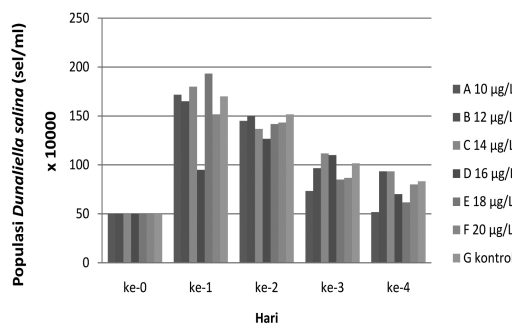
C = dosis blotong kering 0,5 ppm + vitamin B₁₂ 14 µg/L

D = dosis blotong kering 0,5 ppm + vitamin B₁₂ 16 µg/L

E = dosis blotong kering 0,5 ppm + vitamin B₁₂ 18 µg/L

F = dosis blotong kering 0,5 ppm + vitamin B₁₂ 20 µg/L

G = dosis blotong kering 0,5 ppm (tanpa penambahan vitamin B₁₂)



Gambar 6. Grafik pertumbuhan populasi *D. salina*

Parameter utama dalam penelitian adalah kepadatan populasi *D. salina*. Perhitungan kepadatan populasi *D. salina* dilakukan setiap hari. Parameter pendukung dalam penelitian adalah suhu, pH, salinitas. Penghitungan terhadap suhu, pH, salinitas dilakukan setiap hari. Parameter pendukung digunakan untuk melengkapi data dari parameter utama.

Hasil dan Pembahasan

Pengamatan jumlah populasi *D. salina* dilakukan setiap hari mulai dari hari pertama sampai dengan hari keempat. Berikut adalah tabel rata-rata pertumbuhan populasi *D. salina* (sel/ml) masing-masing perlakuan selama penelitian ditampilkan pada Tabel 1.

Dari data Tabel 1. dapat dijadikan grafik untuk melihat peningkatan pertumbuhan *D. salina*. Berikut adalah grafik pertumbuhan populasi *D. salina* masing-masing perlakuan selama penelitian ditampilkan pada Gambar 6.

Gambar 6. menunjukkan pada hari pertama setelah penebaran awal seluruh perlakuan mengalami peningkatan jumlah populasi. Perlakuan E menempati urutan tertinggi dan yang menempati urutan terendah perlakuan D. Walaupun perlakuan E tertinggi dan perlakuan D terendah pada hari pertama, akan tetapi pada hari kedua jumlah populasi perlakuan D mengalami peningkatan dibandingkan keenam perlakuan lainnya yang mengalami penurunan. Pada hari ketiga sampai hari keempat seluruh perlakuan mengalami penurunan dan pada akhirnya fase kematian terjadi pada hari keempat. Pada Hasil ANAVA dapat dilihat bahwa perlakuan dosis vitamin B12 tidak memberikan pengaruh yang nyata dari hari pertama sampai dengan hari keempat. Pada hasil ANAVA tidak terdapat perbedaan yang nyata di antara hasil perlakuan terhadap hasil pengamatan ($F_{Hitung} < F_{Tabel}$).

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kualitas air setiap hari. Kualitas air merupakan faktor penunjang untuk pertumbuhan populasi *Dunaliella salina*. Kualitas air yang diukur adalah salinitas, pH dan suhu air. Nilai salinitas selama penelitian berkisar antara 32-41 ppt, pH berkisar antara 8-9 dan suhu air berkisar antara 28-30°C.

Coutteau (1996) mengungkapkan bahwa fase pertumbuhan plankton ada empat fase yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Berdasarkan hasil penelitian di atas, fase adaptasi pada hari pertama seluruh perlakuan termasuk kontrol mengalami peningkatan populasi. Fase adaptasi adalah fase fitoplankton akan mengalami proses sintesis protein baru dan umumnya kepadatan sel akan meningkat (Coutteau, 1996). Sehingga pada fase ini sel fitoplankton akan mulai mengalami peningkatan. Pada fase adaptasi, perlakuan E dengan dosis vitamin B₁₂ 18 µg/L memberikan pertumbuhan *D. salina* yang tertinggi pada hari pertama dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Pada hari kedua seluruh perlakuan mengalami penurunan. Lain halnya dengan perlakuan D pada hari kedua masih mengalami peningkatan populasi. Hal ini diduga karena pada perlakuan D, fitoplankton masih dapat memanfaatkan nutrisi yang terkandung pada media. Pada hari kedua selain perlakuan D, perlakuan lainnya mengalami penurunan. Hal ini diduga proses penyerapan nutrisi yang berasal dari pupuk blotong dan vitamin B₁₂ tidak dimanfaatkan seluruhnya oleh *D. salina* karena metabolisme sel nya terganggu

akibat dari faktor lingkungan yang kurang mendukung (Borowitzka, 1990).

Pada hari ketiga dan keempat terjadi fase penurunan jumlah populasi *D. salina* pada seluruh perlakuan, seharusnya pada hari ketiga dan keempat pertumbuhan *D. salina* berada dalam fase eksponensial. Pada penelitian Chilmawati dan Suminto (2008), menunjukkan bahwa *Chlorella* sp. yang dikultur menggunakan media pupuk komersil selama 10 hari mengalami fase eksponensial pada hari keempat dan terus mengalami peningkatan sampai hari keenam dan ketujuh. Dari penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa pertumbuhan *D. salina* terhambat. Fase eksponensial yaitu fase fitoplankton mengalami perkembangan sel yang cepat dan konstan. Pada kondisi kultur yang optimum, laju pertumbuhan sel pada fase ini mencapai maksimal (Coutteau, 1996). Hal ini diduga adanya faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan *D. salina*. Menurut pendapat Ekawati (2005), pertumbuhan *D. salina* dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan antara lain : suhu, salinitas, pH, cahaya. Pertumbuhan *D. salina* yang tidak optimal ini diduga karena nilai salinitas yang berfluktuasi. Sutomo (1991) menyatakan bahwa naik atau turunnya salinitas sangat berpengaruh terhadap tekanan osmose dan mekanisme osmoregulasi yang dapat mempengaruhi proses metabolisme yang dapat mengakibatkan penurunan pertumbuhan populasi. Selain itu, Mironyuk dan Einor (1986) dalam Sutomo (1991) berpendapat bahwa salinitas yang cenderung meningkat akan menghambat proses fotosintesis. Soeder dan Stengel (1974) dalam Sutomo (1991) mengemukakan bahwa naiknya salinitas dapat menghambat proses respirasi dan pembentukan sel baru.

Pada Gambar 6. dapat dilihat bahwa adanya pengaruh penambahan vitamin B₁₂ pada media kultur. Jika dibandingkan dengan kontrol terbukti bahwa vitamin B₁₂ mampu meningkatkan pertumbuhan *D. salina*. Namun pada perlakuan kontrol pertumbuhan *D. salina* cukup bagus karena mampu mengimbangi pertumbuhan pada perlakuan lainnya dan penurunan populasi cukup stabil. Jadi dapat disimpulkan bahwa tanpa penambahan vitamin B₁₂ pada media kultur, fitoplankton masih dapat tumbuh. Karena pada pupuk blotong kering terdapat unsur hara yang dibutuhkan fitoplankton untuk pertumbuhan, sehingga penambahan vitamin B₁₂ tidak begitu diperlukan. Namun penambahan vitamin B₁₂ juga dapat dijadikan alternatif lain untuk peningkatan jumlah populasi fitoplankton.

Suhu air pada penelitian ini berkisar antara 28-30°C, sedangkan menurut pendapat Ekawati (2005) suhu air yang baik untuk pertumbuhan *D. salina* berkisar antara 20-40°C. Jadi, dapat dikatakan bahwa suhu air pada penelitian ini masih dalam kondisi optimal. Suhu air juga dapat dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang berasal dari lampu dan juga radiasi oleh sinar matahari.

Borowitzka (1990) menyatakan bahwa *D. salina* dapat tumbuh baik pada pH antara 8-9, sedangkan pada penelitian ini pengukuran pH air menunjukkan bahwa pH air berkisar 8-9. Hal ini dapat dilihat bahwa pH dalam penelitian ini baik untuk pertumbuhan *D. salina*.

Redjeki dan Ismail (1993) dalam Tjahjo, dkk. (2002) menyatakan, salinitas yang optimal untuk kultur *D. salina* berkisar antara 30–38 ppt, tetapi salinitas selama penelitian berkisar antara 32–41 ppt. Dapat disimpulkan bahwa nilai salinitas selama penelitian tidak optimum untuk pertumbuhan *D. salina*.

Kesimpulan

Penambahan vitamin B₁₂ pada media blotong kering tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan populasi *D. salina* ($p > 0,05$) dan pada penelitian ini, tidak ada dosis vitamin B₁₂ terbaik yang dapat menghasilkan pertumbuhan populasi *D. Salina* tertinggi.

Dalam kultur fitoplankton perlu diperhatikan faktor lingkungan agar dapat menunjang keberhasilan dalam kultur fitoplankton. Penambahan vitamin B₁₂ dapat dijadikan alternatif untuk memacu pertumbuhan fitoplankton.

Daftar Pustaka

- Borowitzka, M. A. 1990. The Mass Culture of *Dunaliella salina*. <http://www.fao.org>. 09/12/2009. 16 hal.
- Chilmawati, D. dan Suminto. 2008. Penggunaan Media Kultur yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *Chlorella sp.* Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang. 8 hal.
- Coutteau, P. 1996. Manual on The Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No. 361. Roma. pp. 7-16
- Croft, M. T., Martin J. W., and Alison G. S. 2006. Algae Need Their Vitamins. American Society for Microbiology. Vol 5 no.8. p 1175-1183.
- Ekawati, A. W. 2005. Diktat Kuliah Budidaya Pakan Alami. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. hal. 3 – 48.
- El Baz, F. K., Ahmed M, Aboul E, Gamal S. 2002. Accumulation of Antioxidant Vitamins in *Dunaliella salina*. www.sciencedirect.com. 24/02/2010. 4 pp.
- Hamawi, M. 2005. Blotong, Limbah Busuk Berenergi. Majalah SALAM. Jakarta. 2 hal.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. hal. 46 – 85.
- Matthews, R. G dan R. V. Banerjee. 1990. Cobalamin-Dependent Methionine Synthase. Biophysics Research Division and Department of Biological Chemistry, The University of Michigan, Ann Arbor. USA. p 1450-1459.
- Putranto, A. 2007. Menuju Swasembada Bahan Bakar Murah. <http://ahmadsamantho.wordpress.com/2008/09/05/menuju-swasembadabahan-bakar-murah>. 14/04/2010. 14 hal.
- Satyantini, W.H dan E. D. Masithah. 2007. Diktat Penuntun Praktikum Budidaya Pakan Alami. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. hal. 28.
- Sutomo. 1991. Pengaruh Salinitas dan pH Terhadap Pertumbuhan *Chlorella sp.*
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi – LIPI. Jakarta. 9 hal.
- Tjahjo, W., Lidia E. dan Hanung, S. 2002. Biologi Fitoplankton. dalam Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. 2002. Balai Budidaya Laut, Direktorat
- Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan. Bandar Lampung. Hal.3 – 23.

