

Ekstraksi Pigmen Klorofil Total Pada Mikroalga *Dunaliella* sp. Yang Telah diberi Perlakuan Timbal Asetat

(Total Chlorophyll Pigment Extraction in Microalgae *Dunaliella* sp. Who has been treated with lead acetate)

Oscar M. Lamohamad^{1*}, Kurniati Kemer^{1*}, Desy M.H. Mantiri^{1*}, James Paulus^{1*}, Ester Angkow^{1*}, Adnan S. Wantasen^{2*},

¹Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado - Sulawesi Utara, Indonesia.

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado - Sulawesi Utara, Indonesia.

*Corresponding Author: oscarlamohamad03@gmail.com

Abstract

Heavy metals such as lead are compounds that can cause toxic effects if they enter the body of living things. *Dunaliella* sp. is one of the marine organisms that is susceptible to changes or ecological pressure so that it is the main target of being exposed to pollutants such as heavy metals and so on, so it is necessary to conduct research to determine how the effect of lead acetate compounds on the growth and total chlorophyll content of *Dunaliella* micro algae. sp. The results of this study indicate that the growth of *Dunaliella* sp microalgae on the control culture media and the lead treatment media has a very different growth, the control media has normal growth, while the total chlorophyll content of the 14th day in the control media is 80.49 µg / ml. 30 ppm 54.79 µg / ml, 50 ppm 50.02 µg / ml and 100 ppm 9.13 µg / ml. While the total chlorophyll content of the 30th day in the control media was 34.99 µg / ml, 30 ppm 44.657 µg / ml, 50 ppm 26.136 µg / ml and 100 ppm 5.58 µg / ml.

Keywords: microalgae, *Dunaliella* sp, chlorophyll, lead acetate

Logam berat seperti timbal merupakan senyawa yang dapat menimbulkan efek toksik jika masuk dalam tubuh makhluk hidup. *Dunaliella* merupakan salah satu organisme laut yang rentan terhadap perubahan atau tekanan ekologis sehingga menjadi sasaran utama terkena bahan-bahan pencemar seperti logam berat dan lain sebagainya, sehingga perlu diadakan penelitian untuk mengetahui bagaimana pengaruh senyawa timbal asetat terhadap pertumbuhan dan kandungan klorofil total dari mikro alga *Dunaliella* sp.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroalga *Dunaliella* sp pada media kultur kontrol dan media perlakuan timbal memiliki pertumbuhan yang sangat berbeda nyata, pada media kontrol memiliki pertumbuhan yang normal sedang Kandungan klorofil total hari ke-14 pada media kontrol yakni 80,49 µg/ml, 30 ppm 54,79 µg/ml, 50 ppm 50,02 µg/ml dan 100 ppm 9,13 µg/ml. Sedangkan kandungan klorofil total hari ke-30 pada media kontrol yaitu 34,99 µg/ml, 30 ppm 44,657 µg/ml, 50 ppm 26,136 µg/ml dan 100 ppm 5,58 µg/ml.

Kata Kunci: Mikroalga, *Dunaliella* sp, Klorofil, Timbal asetat

PENDAHULUAN

Alga merupakan organisme autotrof yang tidak memiliki akar, batang dan daun sejati. Tumbuhan alga hidupnya di dalam air laut dan memiliki plastisida yaitu organel sel (pigmen) yang berfungsi untuk melakukan proses fotosintesis. Alga memiliki sifat uniseluler dan multiseluler yang terdiri dalam dua kelompok, yaitu makroalga dan mikroalga. Makroalga yang berukuran besar dan dapat dilihat secara langsung dengan mata sedangkan mikroalga yang berukuran kecil harus dilihat dengan menggunakan mikroskop (Romihartono dan Juwana 2005). Mikroalga dapat memberikan informasi mengenai kondisi perairan atau disebut juga sebagai bio-indikator yaitu untuk mengevaluasi kualitas dan tingkat kesuburan suatu perairan, (Simanjuntak *dkk*, 2016).

Salah satu yang dapat mempengaruhi kualitas dan tingkat kesuburan perairan adalah pencemaran logam berat antara lain logam timbal (Pb). Menurut Purnomo dan Muchyiddin (2007), Pb merupakan salah satu pencemar yang dipermasalahkan karena bersifat sangat toksik dan tergolong sebagai bahan buangan beracun dan berbahaya. Bila konsentrasi logam berat melebihi ambang batas dapat menimbulkan bahaya karena tingkat toksisitasnya akan mengganggu organisme yang ada di perairan baik langsung maupun tidak langsung (Widowati *et al.*, 2008). *Dunaliella* sp merupakan salah satu organisme yang sangat rentan terhadap adanya logam timbal. sehingga perlu diadakan penelitian untuk mengetahui bagaimana pengaruh senyawa timbal asetat terhadap pertumbuhan dan kandungan klorofil total dari mikro alga *Dunaliella* sp

METODOLOGI PENELITIAN

Pembuatan Kultur Mikroalga *Dunaliella* sp.

Alga mikro yang digunakan adalah jenis *Dunaliella* sp, dalam penelitian ini di ambil dari stok yang ada di laboratorium Teknologi Akuakultur FPIK-UNSRAT. Air laut yang digunakan sebagai medium alga disaring dengan menggunakan alat penyaring air aspirator yang dilengkapi dengan kertas saring (*whatman*) berukuran pori-pori 0,45 μm dan di sterilisasi dengan *autoclave*. Kemudian air laut yang sudah disterilkan ditambahkan nutrien media walne sebanyak 1000 μl yang belum berisikan mikro alga dan diaduk hingga merata. Kemudian air laut yang sudah tercampur nutrien media walne dibagikan kedalam 5 labu erlemeyer dan ditambahkan mikro alga *Dunaliella* sp yang selanjutnya disimpan kedalam lemari kultur. Untuk mengetahui kepadatan mikroalga dapat dihitung dengan alat haemocytometer dan mikroskop 40x, pengamatan setiap hari dilakukan dengan lima kali ulangan (5x).

Pemberian Timbal Asetat

Mikroalga *Dunaliella* sp pada pertumbuhan hari ke-13 diberikan perlakuan dengan senyawa timbal asetat. Dalam 5 erlemeyer yang terisi kultur mikroalga digabungkan dalam satu wadah dan dipisahkan kembali dalam 4 erlemeyer untuk diberikan perlakuan dengan konsentrasi 30 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan kontrol. Selanjutnya disimpan ke dalam lemari kultur untuk dilakukan pengamatan setiap hari pada jam yang sama dengan lima kali ulangan dalam setiap sampel.

Ekstraksi Pigmen Klorofil Total

Ekstraksi pigmen menggunakan metode Harbone (1987), sampel mikroalga yang

pertumbuhan hari ke-14 dan hari ke 30 disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk diekstraksi di dalam ruangan gelap. Mikroalga *Dunaliella* sp. diaduk dalam larutan aseton. Sampel yang berwarna hijau dimasukan dalam labu pemisah dan dipisahkan dengan pelarut organik melalui metode Pratt (1994). Larutan organik petroleum eter pro-analisis dimasukan dan didiamkan sampai terlihat dua lapisan.

Lapisan atas : Hijau daun dalam petroleum eter.

Lapisan bawah : Hydro aseton, Putih keruh.

Lapisan yang berwarna putih keruh dalam hydro aseton dibuang dan lapisan atas diambil. Tahap ini didapat pigmen yang bersih dari aseton dan tahap selanjutnya akan dilakukan penyerapan gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer. Hasil dari spektrofotometer digunakan untuk mengetahui nilai kandungan oigmen total pada ekstraksi mikroalga *Dunaliella* sp. Menentukan kandungan klorofil total memakai panduan rumus Harborne, J.B. (1987) dihitung dengan rumus berikut:

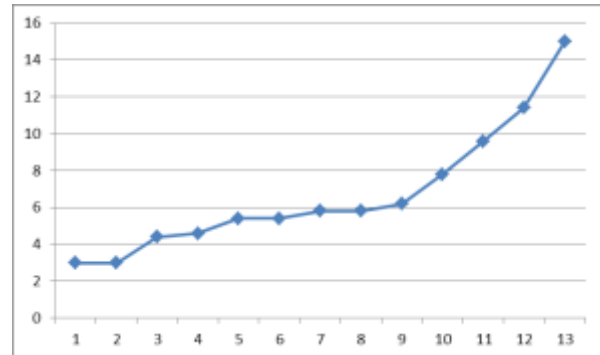
$$- \text{ Pigmen Klorofil total} = 17,3 A_{646} + 7,18 A_{633} \text{ mg/l}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan *Dunaliella* sp. Sebelum Perlakuan

Pertumbuhan *Dunaliella* sp. Sebelum Perlakuan. Hasil penelitian pengamatan pertumbuhan mikroalga *Dunaliella* sp. dilakukan dengan menghitung kepadatan mikroalga *Dunaliella* sp. tanpa pemberian senyawa timbal asetat dan dengan pemberian senyawa timbal asetat. Pada pengamatan hari ke 1 sampai ke 13 belum dilakukan pemberian senyawa timbal asetat, pertumbuhan mikroalga *Dunaliella* sp. terjadi proses penambahan jumlah sel

yang di amati setiap hari dengan menghitung kepadataan populasi sel.



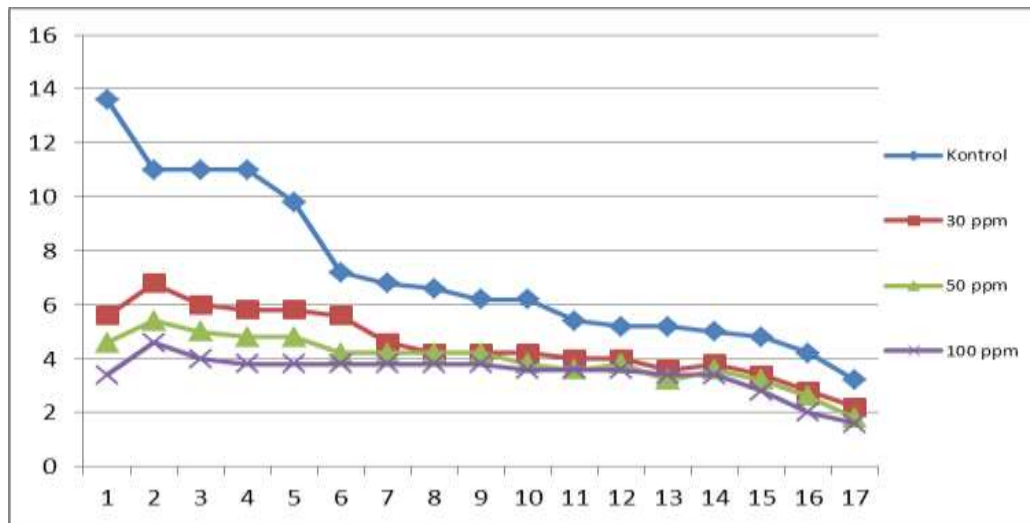
Gambar 1. Kepadatan sel *Dunaliella* sp.(sel/ml)

pada penelitian pada hari ke 1 sampai hari ke 13 mengalami penambahan jumlah sel yang normal pada mikroalga umumnya. Kepadatan sel mikroalga *Dunaliella* sp. hari ke 1 sampai hari ke 2 memiliki jumlah kepadatan sel yang sama yaitu 3 sel/ml. pada hari ke 1 sampai hari ke 2 sel mikroalga sedang beradaptasi terhadap media tumbuhnya. Pada hari ke 3 perubahan penambahan sel terjadi disebabkan mikroalga mulai mengambil nutrient yang diberikan dalam kultur sebagai makanan untuk memulai pertumbuhan atau pembelahan sel. Pada hari ke-9 sampai ke-11 mengalami penambahan sel yang sangat pesat, dimana pertumbuhan mikroalga memasuki fase eksponensial. Pada hari ke-11 jumlah sel mikroalga yaitu 11,4 sel/ml. Pada hari ke-13 terjadi penambahan jumlah sel yang sangat signifikan yaitu dari 11,4 sel/ml menjadi 15 sel ml. Pada penelitian Balaria *dkk* (2017), fase eksponensial pada pertumbuhan mikroalga *Dunaliella* sp yang dikultur terjadi pada hari ke 9 dan pada penelitian Pranajaya *dkk* (2014) fase eksponensial pada pertumbuhan mikroalga *P. cruentum* terjadi pada hari ke-2 sampai hari ke-4. Perbedaan masa eksponensial yang terjadi disebabkan karena mikroalga mengalami masa adaptasi yang berbeda-beda terhadap media kulturnya.

Pertumbuhan *Dunaliella* sp. Setelah Perlakuan

Pemberian senyawa timbal asetat diberikan pada mikroalga *Dunaliella* sp. saat di hari ke-13 yakni pada fase eksponensial. Hari ke-14 pada media kontrol mengalami penurunan jumlah sel, yaitu dimana jumlah sel pada hari sebelumnya 15 sel/ml dan pada hari ke 14 menjadi 13 sel/ml. penurunan jumlah sel diduga karena adanya kompetisi disaat

fase optimum. Kompetisi antara sel *Dunaliella* sp. juga berpengaruh terhadap kemampuan pembelahan sel sehingga mengakibatkan produksi sel semakin berkurang (Abidin & Trihandaru, 2009). Namun jumlah sel pada media kontrol mengalami penurunan yang sangat kecil dibandingkan dengan dengan 3 media kultur lainnya. Pada 3 media kultur lainnya yaitu media kultur yang telah diberi perlakuan timbal asetat dengan konsentrasi 30 ppm, 50 ppm dan 100 ppm mengalami penurunan jumlah sel atau kematian sel yang sangat nyata.



Gambar 2. Kepadatan sel *Dunaliella* sp. (sel/ml).

Berdasarkan gambar di atas media kultur yang diberi perlakuan senyawa timbal asetat mengalami penurunan jumlah sel yang sangat drastis hal ini berbeda dengan perkembangan jumlah sel pada media kontrol. Jumlah sel pada hari ke-13 sebelum diberi perlakuan timbal aset yaitu 15 sel/ml dan hari ke-14 pada ketiga media yang sudah diberi timbal asetat ini mengalami kematian terlihat dari penurunan jumlah sel. Jumlah sel hari ke-14 pada 30 ppm yaitu 5.6 sel/ml, pada 50 ppm yaitu 4.6 sel/ml dan 100 ppm jumlah sel yakni 3.4 se/ml. Pertumbuhan sel mikroalga *Dunaliella* sp. dengan

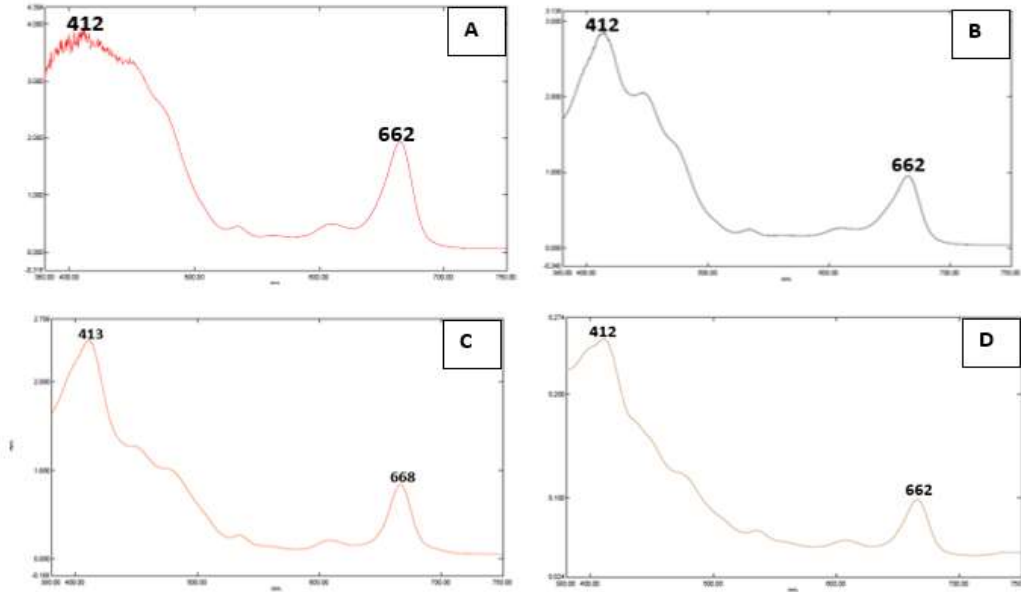
pemberian senyawa timbal asetat mengalami kematian yang cukup drastis isebabkan karena nutrien media kultur yg berkurang dan konsentrasi logam berat timbal asetat yang semakin toksik. Menurut Wong *dkk* (1995), Penurunan jumlah sel disebabkan karena logam berat sangat beracun bagi mikroalga dan dapat menghambat pertumbuhan sel apabila diberikan dalam jumlah yang berlebihan (Kemer, *dkk*, 2020).

Analisis Ekstrak klorofil Total dari *Dunaliella* sp. pada Fase Eksponensial dan Fase Kematian

1. Serapan spektrofotometer Ekstrak klorofil total *Dunaliella* sp hari ke-14

Serapan spektrofotometer pada ekstrak total *Dunaliella* sp. kontrol, perlakuan 100 ppm, 50 ppm dan 30 ppm disaat fase eksponensial menghasilkan

panjang gelombang yang berbeda, pada ekstrak kontrol memiliki panjang gelombang 412, 662 nm (gambar A); pada perlakuan 30 ppm 412, 662 nm (gambar B); pada perlakuan 50 ppm 413, 668 nm (gambar C) dan pada perlakuan 100 ppm 412, 662 Nm (gambar D).

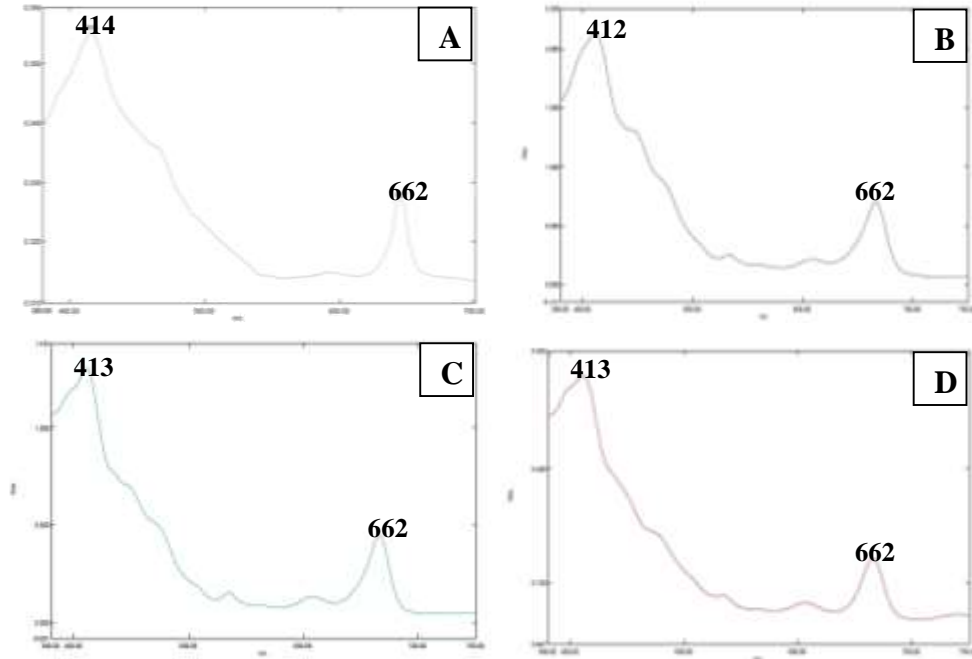


Gambar 3. Puncak gelombang spektrofotometer ekstraksi mikroalga *Dunaliella* sp. pada hari ke-14

2 Serapan Spektrofotometer Ekstrak klorofil total *Dunaliella* sp hari ke-30.

Serapan spektrofotometer pada ekstrak total *Dunaliella* sp. perlakuan 30 ppm, 50 ppm dan 100 ppm disaat fase kematian menghasilkan panjang

gelombang yang berbeda, pada ekstrak kontrol memiliki dua puncak gelombang dengan panjang gelombang yaitu 414,663 nm (gambar A); perlakuan 30 ppm 412, 662 nm (gambar B); pada perlakuan 50 ppm 413, 662 nm (gambar C); dan pada perlakuan 100 ppm 413, 662 nm (gambar D). Hasil spektogram dari masing-masing ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Puncak gelombang spektrofotometer ekstraksi mikroalga *Dunaliella* sp. pada hari ke-30.

Spektogram dari masing-masing ekstrak tersebut dapat menentukan kandungan klorofil total yang terdapat pada masing-masing ekstrak. Menentukan kandungan klorofil total memakai panduan

rumus Harborne, J.B. (1987) dihitung dengan rumus berikut:
 klorofil total = $17,3 A_{646} + 7,18 A_{633}$ mg/l

Tabel 1. Nilai kandungan klorofil total mikroalga *Dunaliella* sp

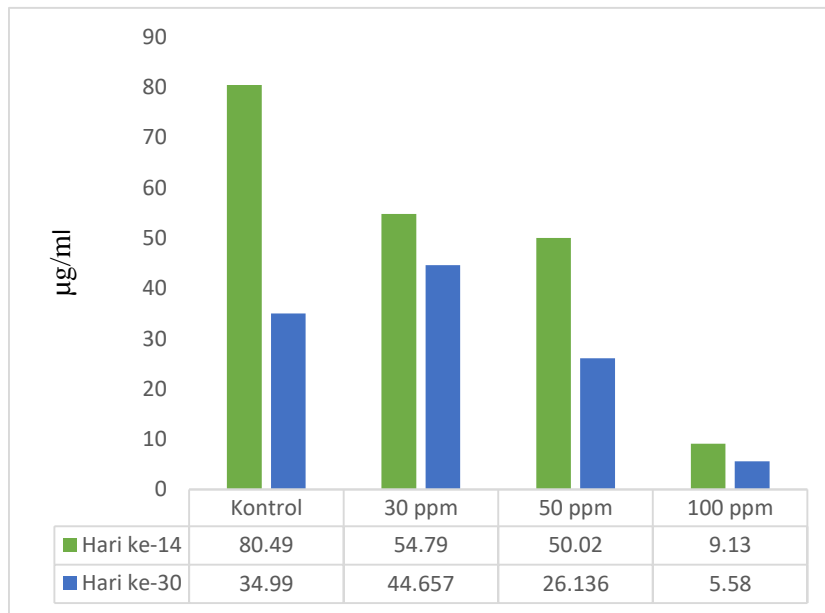
Hari Ke-14	Kandungan klorofil Total ($\mu\text{g/ml}$)			
	Kontrol	30 ppm	50 ppm	100 ppm
	80,49	54,79	50,02	9,13

Hari Ke-30	Kandungan klorofil Total ($\mu\text{g/ml}$)			
	Kontrol	30 ppm	50 ppm	100 ppm
	34,99	44,657	26,136	5,58

Berdasarkan Tabel 1 hari ke-14 dapat dilihat perbedaan kandungan klorofil total *Dunaliella* sp pada 4 media kultur berbeda yang diekstrak pada hari ke 14, dimana mikroalga berada diantara fase eksponensial dan fase stasioner. Hari ke-14 adalah hari pertama pengamatan jumlah sel setelah diberi perlakuan timbal asetat. Pada saat dilakukan pengamatan mikroalga pada keempat media kultur mengalami perbedaan pertumbuhan yang sangat nyata. Hal yang sama juga terjadi pada jumlah kandungan klorofil total dari keempat media kultur tersebut mengalami perbedaan yang sangat nyata. Kandungan klorofil total pada mikroalga yang dikultur pada empat media yang berbeda memiliki nilai yang berbeda. Pada media kontrol memiliki kandungan klorofil total yaitu 80,49 $\mu\text{g/ml}$, pada perlakuan 30 ppm 54,79 $\mu\text{g/ml}$, perlakuan 50 ppm 50,02 $\mu\text{g/ml}$, dan pada media perlakuan 100 ppm yakni 9,13 $\mu\text{g/ml}$.

Perlakuan pemberian senyawa timbal asetat dengan konsentrasi 100 ppm memiliki nilai kandungan klorofil total paling sedikit dibandingkan dengan perlakuan dengan konsentrasi 50 ppm dan 30 ppm. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada hari pertama pemberian timbal asetat juga memberikan dampak terhadap nilai dari kandungan klorofil total yang dikandung oleh mikroalga *Dunaliella* sp. semakin besar konsentrasi logam berat timbal asetat yang diberikan maka semakin besar pengaruhnya terhadap nilai kandungan klorofil total pada mikroalga *Dunaliella* sp tersebut.

Kandungan klorofil total pada ekstrak hari ke 30, wadah kontrol mengalami penurunan yang cukup drastis dari 80,49 $\mu\text{g/ml}$ menjadi 34,99 $\mu\text{g/ml}$ jumlah kandungan yang menurun yaitu sebesar 45.5 $\mu\text{g/ml}$ penurunan yang terjadi sangat besar dibandingkan dengan ekstrak yang diberi senyawa timbal.



Gambar 5. Diagram perbandingan Kandungan klorofil total *Dunaliella* sp pada media kontrol, 30 ppm, 50 ppm dan 100 ppm.

Berdasarkan grafik di atas dapat dilihat bahwa terjadi perbedaan antara jumlah kandungan klorofil total pada hari ke-14 dan ke-30. Pada hari ke-14 Kandungan klorofil total tertinggi terjadi pada media kontrol dan jumlah kandungan klorofil total terendah terjadi pada media kultur dengan pemberian timbal senyawa asetat 100 ppm sedangkan pada hari ke-30 kandungan klorofil total tertinggi terdapat pada media kultur yang diberi perlakuan timbal asetat. Penurunan jumlah kandungan klorofil total hari ke-14 dan hari ke-30 pada media kontrol yaitu sebesar 45,5 µg/ml, 30 ppm yaitu 10,133 µg/ml, 50 ppm 23.884 µg/ml dan 100 ppm mengalami penurunan sebesar 3.55 µg/ml. Hal yang sama juga terjadi pada penelitian Balaria *dkk* (2016), dimana pada fase eksponensial jumlah kandungan pigmen tertinggi terdapat pada media kontrol namun pada fase kematian jumlah kandungan tertinggi terdapat pada media perlakuan.

Pada media kontrol jumlah kandungan klorofil total dari hari 14 ke hari 30 mengalami penurunan lebih dari setengah, hal ini berbeda dengan 3 media

perlakuan lainnya yang mengalami penurunan tidak sampai setengah jumlah kandungan dari hari ke 14. Penurunan jumlah kandungan klorofil total yang tidak terlalu besar pada media perlakuan disebabkan karena mikroalga mempertahankan kandungan klorofilnya untuk mempertahankan hidup. Hal ini menurut Nio (2012) disebabkan karena pigmen klorofil berfungsi dalam proses fotosintesis dimana pigmen klorofil terletak pada kloroplas, sel-sel tersebut memiliki kemampuan menyerap energi cahaya. Mane *dkk* (2010) dalam Hatta (2013) mengatakan adanya peningkatan kandungan klorofil pada lingkungan yang memiliki kondisi stres di antaranya adalah untuk mempertahankan hidup. Suyitno (2008) menyatakan meningkatnya kandungan pigmen bersamaan dengan meningkatnya proses fotosintesis. Hal ini diasumsikan bahwa pada wadah yang diberi senyawa timbal mengalami peningkatan konsentrasi kandungan klorofil total untuk mempertahankan hidup *Dunaliella* sp.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Efek senyawa timbal asetat pada pertumbuhan mikroalga *Dunaliella* sp yaitu menyebabkan kematian jumlah sel yang sangat drastis, namun masih ada beberapa sel *Dunaliella* sp yang mampu bertahan hidup.
2. Kandungan klorofil total hari ke-14 pada media kontrol yakni 80,49 µg/ml, 30 ppm 54,79 µg/ml, 50 ppm 50,02 µg/ml dan 100 ppm 9,13 µg/ml. Sedangkan kandungan klorofil total hari ke-30 pada media kontrol yaitu 34,99 µg/ml, 30 ppm 44,657 µg/ml, 50 ppm 26,136 µg/ml dan 100 ppm 5,58 µg/ml.
3. Pada hari ke-14 kandungan klorofil total tertinggi terdapat pada media kontrol diikuti pada media perlakuan 30 ppm, 50 ppm dan kandungan terendah terdapat pada 100 ppm. Pada fase ini semakin besar konsentrasi logam berat timbal asetat semakin kecil kandungan klorofil total yang terkandung. Sedangkan pada hari ke-30 kandungan klorofil total tertinggi terdapat pada media kultur perlakuan senyawa timbal asetat dan jumlah penurunan kandungan klorofil total terbesar terdapat pada media kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, D. & Trihandaru, S. (2009). Monitoring densitas optik *Dunaliella salina* dengan *optical densitometer* sederhana serta uji kandungan klorofil. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains IV*. (hlm. 602). Salatiga, Indonesia: Departement of Science and Math, UKSW Salatiga.
- Balaria, G. Y., Kemer, K., & Mantiri, D.H. M. (2017). Pemisahan Pigmen Pada Mikroalga *Dunaliella salina* Yang Telah Diberi Senyawa Timbal Asetat. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Volume 1 Nomor 1 Tahun 2017.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Diterjemakan Oleh : Padawinata K. & I. Soediro. Penerbit ITB Bandung.
- Hatta, M. 2013. *Kajian Pengaruh Salinitas terhadap Pertumbuhan, Kandungan Polifenol, dan Respons Fotosintesis Pada Tanaman Vetiveria zizanioides (L.) Nash*. Di akses 5 Desember 2020 dari <https://emhatta.wordpress.com/2013/04/2>.
- Kemer K., Mantiri D. M. H., Rompas R. M., Rimper J. R., Margyaningsih N. I., 2020 Transmission electron microscope analysis upon growth of lead acetate treated microalga, *Dunaliella* sp. *AACL Bioflux* 13(2) : 849-856.
- Nio. S.A. 2012. *Evolusi Fotosintesis pada Tumbuhan*. *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol.12. No.1
- Romihartono, K dan Juwana, S. 2005. *Biologi Laut. Ilmu Pengetahuan Tentang Bioat Laut*. Djambatan. Jakarta.
- Simanjuntak G., Mantiri D., Kemer K., 2016 Pengaruh Senyawa Merkuri Klorida HgCl₂ Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Pigmen Klorofil Mikroalga *Botryococcus braunii*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Volume 2 Nomor 1 Tahun 2016.

Suyitno, A.M. 2008. *Klorofil/ Pihmen Fotosintesis*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Yogyakarta.

Widowati, W. 2008. Efek Toksik Logam Pencegahan dan Penanggulangan

Pencemaran. Yogyakarta: Penerbit Andi Nomor 1 tahun 2018.

Wong, S.L., Wainwright., Pimenta. J. 1995. *Aquatic Toxicology*. Elsevier Science Inc; USA.