

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Arthrospira platensis merupakan mikroalga biru-hijau yang digolongkan kedalam *Cyanobacteria*. *A. platensis* tersebar di seluruh Indonesia dan memiliki kandungan nutrisi yang tinggi yaitu protein, vitamin dan mineral serta pigmen alami berupa fikosianin, klorofil, beta karoten, dan xantofil. Kandungan pigmen fikosianin memiliki persentase paling besar didalam *A. platensis* (Mauliasari *et al.*, 2019). Mikroalga *A. platensis* merupakan organisme autotrof berwarna biru kehijauan terdiri dari sel-sel silindris yang berbentuk koloni dimana selnya berkolom membentuk filamen terpilin menyerupai spiral (*helix*) sehingga disebut juga alga biru-hijau berfilamen. Kegunaan *A. platensis* yang beragam menjadikan mikroalga ini memiliki potensi untuk dikembangkan kedepannya (Buwono & hasanah 2018).

Spesies mikroalga yang kultur menghasilkan pewarna alami salah satunya yaitu *A. platensis*, jenis pewarna alami yang terkandung pada mikroalga tersebut adalah fikosianin. Fikosianin merupakan pigmen yang dapat digunakan untuk pewarna alami dengan warna biru, pigmen ini mudah larut pada pelarut polar seperti air, Pigmen fikosianin merupakan pigmen biru yang memiliki fungsi sebagai penyimpan cadangan nitrogen pada *Cyanobacteria* (Rahmawati *et al.*, 2017). Selain itu, *A. platensis* juga menjadi produk yang dipercaya memiliki antioksidan tinggi, *A. platensis platensis* merupakan sumber antioksidan alami yang memiliki kemampuan untuk mencegah kerusakan oksidatif pada sel (Burhan *et al.*, 2021). Berbagai manfaat yang terdapat pada *A. platensis*. menjadikannya mikroalga dengan potensial pasar yang tinggi (Arrosyd *et al.*, 2024) Meskipun mempunyai kelemahan diantaranya adalah kestabilan yang kurang terhadap cahaya, panas dan pH, penambahan *A. platensis* dalam pangan fungsional sudah banyak dilakukan karena mudah diproduksi serta kaya akan nutrisi dan sumber senyawa bioaktif yang menjanjikan untuk meningkatkan karakteristik produk fungsional (Notonegoro 2018).

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Mufidatun (2012) menunjukkan bahwa pH 9 menghasilkan pertumbuhan terbaik dibandingkan pH 7,0, 8,0, 10,0, dan 11,0. Namun, *A. platensis* masih dapat tumbuh pada pH 10,0 dan 11,0, meskipun dengan pertumbuhan yang lebih rendah. Penelitian yang dilakukan oleh Mauliasari *et al* (2019) menunjukkan bahwa kandungan fikosianin dan antioksidan cenderung stabil dalam kondisi basa, sehingga penelitian ini berupaya menganalisis lebih lanjut bagaimana pH tinggi (10,0-10,8) mempengaruhi pertumbuhan serta kandungan bioaktif *A. platensis*.

Berdasarkan hal tersebut maka perlu pemahaman tentang faktor yang mempengaruhi pertumbuhan, kandungan fikosianin dan aktivitas antioksidan pada *A. platensis* diperlukan. Meskipun belum diketahui dengan pasti terkait apa yang menentukan kandungan fikosianin pada *A. platensis*, pengamatan sebelumnya menunjukkan faktor lingkungan yang mempengaruhi proses metabolisme dalam sel mikroalga, antara lain suhu dan pH (Chrismadha *et al.*, 2006). Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan pH yang berbeda dengan jarak masing-masing perlakuan

adalah 0,3, pH yang digunakan yaitu 10,2, 10,5, dan 10,8. Hal ini sesuai dengan penelitian Widawati *et al.*, (2022) yang menyatakan bahwa *A. platensis* memiliki kemampuan untuk tumbuh pada media yang memiliki alkalitas tinggi (pH 8,4–11). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pertumbuhan, kandungan fikosianin dan aktifitas antioksidan dari *A. platensis* (*Arthrospira platensis*) yang dikultur pada pH Berbeda.

Informasi yang diperoleh dari penelitian ini dapat dijadikan acuan dalam pengembangan metode untuk mengoptimalkan kandungan fikosianin pada *Arthrospira platensis* dalam konteks budidaya yang lebih efisien dan menguntungkan. Dengan demikian, hasil penelitian ini berkontribusi terhadap pengembangan teknologi budidaya yang berkelanjutan serta mendukung pencapaian beberapa Tujuan Pembangunan Berkelanjutan (*Sustainable Development Goals/SDGs*), seperti SDG 14 (Konservasi dan Pemanfaatan Laut serta Sumber Daya Laut secara Berkelanjutan) dan SDG 12 (Pola Konsumsi dan Produksi yang Berkelanjutan).

1.2. Landasan Teori

1.2.2 Aspek Biologis *Arthrospira platensis*

Bentuk *A. platensis* (Gambar 1) menyerupai benang merupakan rangkaian sel yang berbentuk silindris dengan dinding sel yang tipis, berdiameter 1-12 μm . *A. platensis* hidup sendiri dan dapat bergerak bebas (Tomaselli, 1997). *A. platensis* berwarna hijau tua di dalam koloni besar yang berasal dari klorofil dalam jumlah tinggi. *A. platensis* memiliki struktur trichoma spiral dengan filamen–filamen bersifat mortal dan tidak memiliki heterosit. Sel *A. platensis* berukuran relatif besar yaitu 110 μm , sehingga dalam proses pemanenan dengan menggunakan kertas saring lebih mudah (Borowitzka & Borowitzka, 1988).



Gambar 1. *Arthrospira platensis* (Dokumentasi Pribadi)

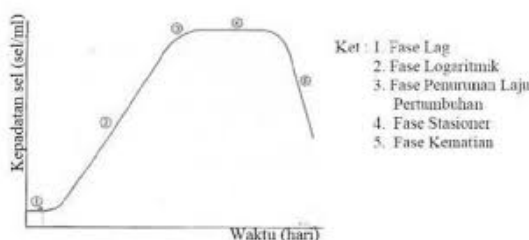
Klasifikasi *A. platensis* menurut Gomont (1892) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Cyanobacteria
Kelas	: Cyanophyceae
Ordo	: Oscillatoriales
Famili	: Microcoleaceae
Genus	: <i>Arthrospira</i>
Spesies	: <i>Arthrospira platensis</i>

Struktur sel *A. platensis* hampir sama dengan tipe sel alga lainnya dari golongan cyanobacteria. Dinding sel merupakan dinding sel gram-negatif yang terdiri dari 4 lapisan, dengan lapisan utamanya tersusun dari peptidoglikan yang membentuk lapisan koheren. Peptidoglikan berfungsi sebagai pembentukan pergerakan pada *A. platensis* yang membentuk spiral teratur dengan lebar belokan 26-28 μm , sedangkan sel-sel pada trichoma memiliki lebar 6-8 μm . Bagian 4 tengah dari nukleoplasma mengandung beberapa karboksosom, ribosom, badan silindris, dan lemak. Membran tilakoid berasosiasi dengan pikobilisom yang tersebar disekeliling sitoplasma. *A. platensis* mempunyai kemampuan untuk berfotosintesis dan mengubah energi cahaya menjadi energi kimia dalam bentuk karbohidrat (Mohanty *et al.*, 1997).

1.2.3 Aspek Kultur

a. Fase Pertumbuhan



Gambar 2. Fase pertumbuhan (Firmansyah *et al.*, 2024)

Fase pertumbuhan (Gambar 2) *A. platensis* terdiri dari empat fase utama: fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Fase lag adalah fase penyesuaian, di mana sel-sel *A. platensis* mulai beradaptasi dengan lingkungan baru tanpa menunjukkan pertumbuhan signifikan. Pada fase ini, sel-sel mempersiapkan diri untuk pembelahan sel lebih lanjut setelah inokulasi ke media baru. Setelah fase lag, *A. platensis* memasuki fase eksponensial, dimana laju pertumbuhannya sangat cepat. Sel-sel membelah secara eksponensial, sehingga jumlah sel dan biomassa meningkat pesat karena kondisi lingkungan yang optimal dan tersedia cukup nutrisi untuk mendukung pertumbuhannya (Lubis & Lubis, 2023).

Setelah mencapai titik tertentu, kultur *A. platensis* memasuki fase stasioner, di mana laju pertumbuhan mulai melambat dan jumlah sel mencapai keseimbangan dengan laju kematian. Fase ini terjadi karena terbatasnya sumber daya dalam media atau penumpukan produk limbah yang menghambat pertumbuhan lebih lanjut. Akhirnya, pada fase kematian, kondisi lingkungan yang buruk dan penurunan kualitas media menyebabkan laju kematian sel melebihi laju pembelahan, yang mengarah pada penurunan jumlah sel dan kualitas biomassa (Meria, 2022).

b. Nutrien

Nutrien merupakan faktor yang sangat penting untuk pertumbuhan dan komposisi biokimia mikroalga. Kondisi nutrien yang optimum diperlukan untuk mendapatkan nilai produktivitas kultur mikroalga yang tinggi disertai kualitas biomassa yang baik. Konsentrasi nutrien yang rendah dapat menyebabkan penurunan laju pertumbuhan karena sel-sel alga kekurangan unsur makanan. Pertumbuhan *A. platensis*

membutuhkan bermacam-macam nutrisi yang secara umum dibagi menjadi unsur makro dan unsur mikro. Unsur makro merupakan nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah besar yaitu terdiri atas N, P, K, Na, S, C, H, O dan Mg. Sementara itu, unsur mikro merupakan nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit yaitu terdiri atas B, Mo, Cu, Zn dan Co (Leksono & Mutiara, 2017). Komponen vitamin yang tersedia dalam media juga dapat mempercepat pertumbuhan terutama kandungan vitamin B12. Menurut Radhiyufa (2011), faktor utama dalam media sangat bergantung pada komposisi hara.

Nitrogen merupakan komponen esensial dari struktur dan fungsional protein pada sel mikroalga. Secara umum, mikroalga memiliki kemampuan yang terbatas untuk memproduksi material penyimpanan nitrogen ketika tumbuh pada kondisi nitrogen yang mencukupi kecuali sianofisin dan fikosianin. Sementara fosfor adalah makro nutrisi yang memegang peranan penting dalam proses metabolisme seluler dengan membentuk berbagai struktur dan fungsi dari komponen-komponen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroalga. Beberapa gejala dari kekurangan fosfor mirip pada kultur dengan nitrogen terbatas. Kandungan klorofil a cenderung mengalami penurunan sedangkan kandungan karbohidrat akan mengalami peningkatan pada kondisi penurunan senyawa fosfor (Kurniawan *et al.*, 2017).

c. Potensial Hidrogen (pH)

Penentuan kisaran pH media kultur penting untuk pertumbuhan *A. platensis*. Kisaran pH merupakan salah satu faktor penentu bagi pertumbuhan *A. platensis* yang dapat menentukan kemampuan biologi mikroalga dalam memanfaatkan unsur hara (Rosida, 2016). Kisaran pH berperan untuk menentukan konsentrasi CO₂ dan keseimbangan antara bikarbonat dan karbonat. Keberadaan CO₂ sebagai hasil perubahan bikarbonat menjadi karbonat berlangsung sampai absorpsi dari udara mencapai keadaan seimbang dengan penggunaan CO₂ oleh *A. platensis* pada saat pH meningkat sampai melewati ambang batas maka kecepatan metabolisme dari *A. platensis* akan menurun. Selain itu, pH juga berpengaruh terhadap penyediaan nutrisi dan keadaan fisiologis *A. platensis* (Firdaus & Fauzan, 2015). Derajat keasaman atau pH digambarkan sebagai keberadaan ion hidrogen. Variasi pH dapat mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan kultur mikroalga antara lain mengubah keseimbangan karbon anorganik, mengubah ketersediaan nutrisi dan mempengaruhi fisiologi sel. Kisaran pH untuk pertumbuhan *A. platensis* antara 8,5 –10,5 (Gunawan, 2021)

1.2.4. Kandungan Senyawa

a. Fikosianin

Fikosianin adalah pigmen biru yang ditemukan dalam *A. platensis* dan memiliki peran penting dalam proses fotosintesis mikroalga tersebut. Fikosianin termasuk dalam kelompok fikobiliprotein yang terdapat pada tubuh *A. platensis*, berfungsi sebagai penangkap cahaya dalam klorofil untuk mendukung proses fotosintesis. Pigmen ini memiliki struktur yang memungkinkan untuk menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, terutama pada spektrum merah dan hijau, yang kemudian digunakan oleh mikroalga untuk menghasilkan energi (Fretes *et al.*, 2012)

Selain perannya dalam fotosintesis, fikosianin juga dikenal memiliki sejumlah manfaat biologis, terutama dalam bidang kesehatan. Pigmen ini memiliki sifat yang

dapat membantu menangkal radikal bebas dan melindungi sel tubuh dari kerusakan oksidatif. Penelitian menunjukkan bahwa fikosianin dapat berfungsi sebagai agen antiinflamasi, imunomodulator, serta memiliki potensi dalam pengobatan beberapa kondisi medis, seperti kanker dan gangguan kardiovaskular. Selain itu, fikosianin juga digunakan sebagai pewarna alami dalam industri pangan, kosmetik, dan farmasi, berkat sifatnya yang tidak beracun dan ramah lingkungan (Kristianingsih *et al.*, 2024)

Produksi fikosianin dalam *A. platensis* sangat bergantung pada kondisi lingkungan seperti pH, intensitas cahaya, suhu, dan ketersediaan nutrisi dalam media kultur. Fikosianin biasanya diproduksi lebih banyak dalam kondisi stres, seperti saat kadar nutrisi terbatas atau pada pH yang ekstrim. Oleh karena itu, pengaturan parameter-parameter tersebut sangat penting dalam proses budidaya *A. platensis* untuk mendapatkan hasil ekstraksi fikosianin yang optimal. Dalam penelitian, fikosianin diekstraksi menggunakan berbagai metode, seperti homogenisasi sel dengan menggunakan pelarut, diikuti dengan proses sentrifugasi untuk memisahkan pigmen dari bahan seluler lainnya. Hasil ekstraksi ini kemudian dapat dianalisis menggunakan spektrofotometer untuk menentukan konsentrasi fikosianin yang terkandung dalam sampel (Arumsari, 2021).

b. Antioksidan

A. platensis dikenal sebagai salah satu sumber alami yang kaya akan senyawa bioaktif, termasuk antioksidan. Sebagai mikroalga, *A. platensis* mengandung berbagai jenis senyawa yang memiliki kemampuan untuk melawan kerusakan akibat radikal bebas, yang merupakan penyebab utama kerusakan seluler dan penuaan dini. Beberapa komponen antioksidan yang terdapat dalam *A. platensis* termasuk fikosianin, β -karoten, vitamin C, vitamin E, dan asam linoleat (Muahiddah & Affandi, 2023).

Fikosianin, yang merupakan pigmen biru yang dominan dalam *A. platensis* bukan hanya berfungsi sebagai penangkap cahaya dalam proses fotosintesis, tetapi juga berperan sebagai antioksidan yang efektif. Fikosianin memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif di dalam tubuh. Selain itu, β -karoten, salah satu bentuk provitamin A, juga memiliki sifat antioksidan yang kuat dan dapat membantu melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif serta mendukung sistem kekebalan tubuh (Afanah, 2024).

Keberagaman senyawa antioksidan dalam *A. platensis* ini menjadikannya sebagai makanan fungsional yang bermanfaat dalam meningkatkan kesehatan dan mencegah penyakit terkait stres oksidatif, seperti kanker, penyakit jantung, dan gangguan degeneratif lainnya. Oleh karena itu, banyak penelitian yang mengeksplorasi potensi *A. platensis* dalam bidang medis dan kesehatan, khususnya untuk mengatasi permasalahan yang berkaitan dengan penuaan dan penyakit yang disebabkan oleh ketidakseimbangan radikal bebas dalam tubuh. Secara keseluruhan, *A. platensis* dapat menjadi sumber alami yang efektif untuk meningkatkan kapasitas antioksidan dalam tubuh, yang pada gilirannya dapat berkontribusi terhadap peningkatan kesehatan secara umum (As'ari *et al.*, 2024).

1.3. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pH terhadap pertumbuhan, kandungan fikosianin dan antioksidan *A. platensis* (*Arthrospira platensis*), selanjutnya dibuktikan melalui eksperimen dengan memberikan perbedaan perlakuan pH.

Hasil dari penelitian ini diharapkan menjadi acuan dalam pengembangan teknologi kultur *A. platensis* yang lebih efisien dan menguntungkan. Kultur *A. platensis* memiliki potensi besar dalam menghasilkan fikosianin, pigmen alami yang berfungsi sebagai pewarna alami, selain itu *A. platensis* juga memiliki potensi sebagai sumber antioksidan. Hasil penelitian ini juga diharapkan menjadi sumber literatur untuk penelitian selanjutnya dalam mengoptimalkan kondisi kultur guna meningkatkan kandungan fikosianin dan antioksidan pada *A. platensis*

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di pada bulan September 2024-Februari 2025 mulai dari persiapan kultur dan pemeliharaan *A. platensis* yang dilakukan di Laboratorium Pakan Alami dan Laboratorium Mikrobiologi Laut Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin.

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1. Alat

Adapaun alat yang digunakan pada penelitian sebagai berikut pada Tabel 1:

Tabel 1. Alat penelitian

Nama Alat	Spesifikasi	Kegunaan
Mikroskop	Olympus stero sz61	Pengamatan Pertumbuhan
Rak Kultur	Stainless Steel	Tempat Kultur <i>A. platensis</i>
Erlenmeyer	Pyrex 500 mL	Wadah Kultur
Toples	Kaca 2 L	Wadah Kultur
Galon	19 L	Wadah Kultur
Oven	Memmert UF30	Sterilisasi Kering
Autoclave	GEA YX-24L	Sterilisasi Basah
Digital Scale	Balance ME204	Menimbang
Tabung Reaksi	Iwaki 15 mL	Menyimpan Larutan
Gelas Beker	Iwaki 100 mL	Mencampur Larutan
Laminar Air Flow	ABL-LAF90	Meja Kerja Steril
Vortex	VMX-3000V	Menghomogenkan Larutan
Sentrifuge	MPW-380, 280 V	Memisahkan Cairan
Lux Meter	Kuber AS-803	Mengukur Intensitas Cahaya
pH Meter	PH-009(I)A	Mengukur pH
Hot Plate Stirrer	Thermo Scientific	Menghomogenkan Larutan
Gelas Ukur	Iwaki 100 mL	Menakar Larutan
Mikro Pipet	Dragonlab	Mengambil Cairan
Selang Aerasi	Plastik	Pengadukan, Suplai Oksigen
Lampu	Neon 6 Panel	Sumber Cahaya
Sedgewick Rafter	Counting Chamber	Menghitung <i>A. platensis</i>
Cover Glass	Kaca	Menutup Preparat
Spektrofotometer	UV-Vis	Mengukur Absorbansi
Vacum Pump	Rocker 300	Menyedot Udara
Cawan Petri	Onemed 90mm	Wadah Media
Freeze Dryer	Zirbus	Mengeringkan Sampel
Kain Saring	100–200 μ m	Menyaring <i>A. platensis</i>
Kulkas	Sharp	Menyimpan Sampel
Tube	10 mL	Wadah Untuk Sentrifuge

2.2.2 Bahan

Adapun Bahan yang digunakan dalam penelitian sebagai berikut pada Tabel 2:

Tabel 2. Bahan penelitian

Bahan	Kegunaan
<i>A. platensis</i> (<i>Arthrospira platensis</i>)	Objek Penelitian
Aluminium Foil	Melapisi dan Menutupi
Handscoon	Melindungi tangan
Masker	Mencegah Kontaminasi
Aquades	Pelarut Media
Tip	Mengambil Sampel
Kertas Whatman No.41	Menyaring <i>A. platensis</i>
SAG-Germany	Nutrisi Tumbuh <i>A. platensis</i>
NaOH	Menaikkan pH Media Kultur

2.3 Organisme Uji

A. platensis yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Mikroalga Terintegrasi, Pusat Riset Limnologi dan Sumber Daya Air-BRIN, KST Soekarno, Cibinong, Bogor. *A. platensis* tersebut dikemas dalam tube 250 mL, kemudian dikultur dan diperbanyak di Hatchery Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar. Pengembangan di hatchery sebelum penelitian bertujuan agar *A. platensis* dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan penelitian dan jenis media yang digunakan. Penyediaan stok *A. platensis* dilakukan dengan pemeliharaan menggunakan Erlenmeyer volume 500 mL dengan volume kultur 300 mL sebanyak 9 unit.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Sterilisasi

Dalam penelitian ini, digunakan dua metode sterilisasi, yaitu sterilisasi basah dan sterilisasi kering. Sterilisasi basah dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15–20 menit. Metode ini digunakan untuk mensterilkan media kultur dan bahan-bahan yang tidak tahan terhadap suhu tinggi kering, seperti media berbasis air dan bahan plastik tertentu. Tujuannya adalah untuk membunuh mikroorganisme, termasuk spora, yang dapat menyebabkan kontaminasi pada kultur yang akan dilakukan. Sementara itu, sterilisasi kering dilakukan dengan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Metode ini digunakan untuk mensterilkan alat-alat laboratorium yang terbuat dari kaca atau logam, seperti erlenmeyer, tabung reaksi, dan cawan petri.

2.4.2 Pembuatan Media SAG-Germany

SAG-Germany medium adalah media pertumbuhan spesifik yang digunakan untuk kultur *A. platensis*. Medium ini diformulasikan untuk menyediakan nutrisi esensial yang mendukung pertumbuhan optimal *A. platensis* dalam kondisi laboratorium atau budidaya skala besar. SAG-Germany (Tabel 3) sering digunakan dalam penelitian dan produksi *A. platensis* karena komposisinya yang telah terbukti mampu mendukung pertumbuhan optimal mikroalga ini.

Tabel 3. Media SAG-Germany

Komposisi	Senyawa	Jumlah
Solution 1	NaHCO ₃	136,1 gr
	NaCo ₃	40,3 gr
	K ₂ HPO ₄	5 gr
Solution 2	NaNo ₃	25 gr
	K ₂ SO ₄	10 gr
	Nacl	10 gr
	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2 gr
	CaCl ₂ .7H ₂ O	0,4 gr
	EDTA (Triplex III, Merck)	0,8 gr
Micronutrient	H ₃ BO ₃	2,86 gr
	Na ₂ Mo ₇ O ₄	0,0177 gr
	CuSO ₄ .4H ₂ O	0.079 gr
	ZnSo ₄ .4H ₂ O	0,222 gr
	MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81 gr

Untuk menyiapkan 1 liter medium, diperlukan takaran yang tepat agar komposisinya sesuai dengan kebutuhan. Pertama, sebanyak 100 mL Solution 1 digunakan sebagai komponen utama, yang berfungsi sebagai sumber nutrisi dasar dalam medium. Selanjutnya, ditambahkan 50 mL Solution 2 yang berperan dalam melengkapi kebutuhan nutrisi tambahan agar pertumbuhan mikroorganisme atau organisme target dapat optimal. Selain itu, 5 mL mikronutrien juga dimasukkan ke dalam campuran untuk menyediakan unsur hara esensial dalam jumlah kecil tetapi sangat penting bagi perkembangan sel *A. platensis* yang akan dikultur. Setiap larutan ini diukur menggunakan gelas ukur agar konsentrasi dalam medium tetap terjaga dan tidak mengalami perubahan yang dapat memengaruhi hasil akhir.

Setelah ketiga larutan utama dicampurkan, langkah berikutnya adalah menambahkan aquades hingga volume total mencapai 1 liter. Proses pencampuran harus dilakukan secara perlahan sambil diaduk untuk memastikan seluruh larutan homogen dan tidak ada endapan yang terbentuk.

2.4.3 Pengaturan Potensial Hidrogen (pH)

Medium yang telah disiapkan kemudian dapat digunakan sesuai dengan kebutuhan eksperimen atau kultur yang dilakukan, pH media diatur sesuai perlakuan dengan menambahkan NaOH teknis, nilai pH disesuaikan pada tahap awal, mencapai tiga kondisi eksperimental: pH 10,2; 10,5; dan 10,8. Penyesuaian dilakukan dengan menambahkan larutan NaOH teknis secara bertahap dengan pengadukan konstan dan pembacaan pH menggunakan pH meter. Menurut literatur, pH awal merupakan faktor utama yang menentukan kondisi alkalinitas kultur, nilai awal yang tepat sudah cukup memberikan kondisi yang optimal (Yi *et al.*, 2024).

2.4.4 Metode Kultur

Penelitian ini menggunakan metode *batch culture* dengan pemeliharaan *A. platensis* dalam wadah erlenmeyer berkapasitas 500 mL, yang disusun pada rak kultur dengan aerasi menggunakan filter kertas Whatman No. 41 serta intensitas cahaya 2.000-2.500 lux, *A. platensis* dikultur pada suhu 25°C. Media kultur disiapkan dalam erlenmeyer 500 mL, masing-masing diberikan starter *A. platensis* sebanyak 25 mL. Proses kultur berlangsung selama 12 hari, dengan masa panen pada hari ke 12. Kultur dilakukan dengan perbandingan 1:10, untuk wadah 500 mL digunakan 30 mL *A. platensis* dan 270 mL media. Uji aktifitas antioksidan memerlukan biomassa *A. platensis* yang cukup banyak sehingga setelah kultur dalam erlenmeyer, proses dilanjutkan ke skala toples 2 L untuk memperbanyak sampel, setelah itu, kultur diperbesar ke wadah galon dengan volume 15 L.

Pengamatan dilakukan setiap hari menggunakan mikroskop untuk mengetahui pertumbuhan *A. platensis* dengan menghitung kepadatan sel menggunakan *Sedgewick Rafter*. Data pertumbuhan diperoleh melalui pengukuran harian menggunakan mikroskop olympus stereo SZ61 dengan satuan 1.0 mm dan pembesaran 29.7-40. Data yang diperoleh kemudian dianalisis untuk menentukan pH terbaik bagi pertumbuhan, kandungan fikosianin dan aktifitas antioksidan.

2.4.5 Rancangan Penelitian

Kultur *A. platensis* dilakukan dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan menggunakan 3 taraf perlakuan dengan 3 kali pengulangan sehingga total unit penelitian adalah 9 dengan kondisi modulasi pH yang dirancang sesuai dengan perlakuan pada Gambar 3 yaitu:

- Perlakuan A : Kultur *A. platensis* dengan pH 10,2
- Perlakuan B : Kultur *A. platensis* dengan pH 10,5
- Perlakuan C : Kultur *A. platensis* dengan pH 10,8

C1	B2	C2
B3	A3	B1
A2	C3	A1

Gambar 3. Tata letak wadah kultur *Arthrospira platensis* setelah pengacakan

2.4.6 Pengukuran Parameter

a. Laju Pertumbuhan

Laju pertumbuhan *A. platensis* dilakukan setiap pagi dengan cara yang sama pada saat menghitung kepadatan, yaitu dengan menghitung *A. platensis* menggunakan *Sedgewick Rafter Counting Chamber*. Menurut Yusuf (2014), pertumbuhan populasi *A. platensis* dapat dihitung dari hari pertama sampai puncak populasi dengan menggunakan rumus:

$$G = \frac{N_t - N_0}{t} \times 100\%$$

Keterangan:

- G = Laju pertumbuhan populasi *A. platensis* (%/hari)
- N_t = Kepadatan *A. platensis* pada puncak populasi (sel/mL)
- N_0 = Kepadatan *A. platensis* pada awal pemeliharaan (sel/mL)
- t = Lama pemeliharaan (hari)

b. Kepadatan Populasi

Pengukuran kepadatan populasi *A. platensis* dilakukan setiap pagi. Pengambilan sampel dilakukan menggunakan mikropipet dengan mengambil sampel sebanyak 1 mL kemudian ditempatkan pada Sedgewick Rafter Counting Chamber untuk dihitung di bawah mikroskop. Perhitungan sel pada Sedgewick Rafter dilakukan dengan menghitung jumlah total sel yang terlihat di seluruh permukaan bilik hitung. Metode yang sama diterapkan pada setiap perlakuan hingga seluruh sampel selesai dianalisis. Waktu (hari) pencapaian puncak populasi *A. platensis* ditentukan berdasarkan grafik pertumbuhan, yaitu saat terjadi peningkatan jumlah sel hingga mencapai titik maksimum, yang kemudian diikuti dengan penurunan jumlah sel pada hari berikutnya.

c. Produksi Biomassa

Produksi biomassa *A. platensis* dilakukan melalui proses panen yang dimulai dengan penyaringan kultur menggunakan kertas saring Whatman No. 41. Kultur *A. platensis* sebanyak 300 mL dari masing-masing erlenmeyer disaring untuk memisahkan biomassa dari medium pertumbuhan. Untuk mempercepat pemisahan air dari biomassa, digunakan *vacuum pump*, sehingga *A. platensis* yang tertahan di kertas saring memiliki kadar air yang lebih rendah sebelum proses pengeringan.

Setelah penyaringan selesai, kertas saring yang telah mengandung biomassa *A. platensis* kemudian dikeringkan dalam oven pada 100°C selama 1 jam hingga mencapai kondisi kering. Setelah proses pengeringan, kertas saring ditimbang untuk mengetahui berat akhir, kemudian perhitungan dilakukan dengan mengurangkan berat awal kertas saring sebelum penyaringan. Selisih berat tersebut merupakan biomassa kering *A. platensis* yang berhasil dipanen.

Rumus untuk menghitung biomassa kering *A. platensis* adalah sebagai berikut:

$$B = W_t - W_0$$

Keterangan:

- B = Biomassa kering *A. platensis* (g)
- W_t = Berat kertas saring setelah proses penyaringan (g)
- W_0 = Berat awal kertas saring sebelum penyaringan (g)

d. Kandungan Fikosianin

Ekstraksi fikosianin dilakukan menggunakan pelarut air karena fikosianin bersifat mudah larut dalam air. Selain itu, air merupakan pelarut yang aman jika dicampurkan ke dalam bahan atau produk pangan serta tidak menghasilkan efek samping (Rahmawari *et al.*, 2017). Penggunaan pelarut air dalam ekstraksi fikosianin pada *A. platensis* juga dianggap aman dan efektif dalam mengekstrak zat-zat aktif di dalamnya.

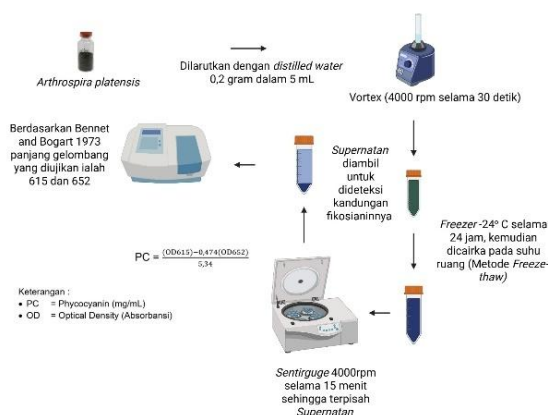
Fikosianin merupakan pigmen yang berasosiasi dengan protein dan larut dalam air, sehingga dapat dibebaskan dengan metode penghancuran mekanis, seperti perlakuan pembekuan dan pencairan kembali (*freeze-thaw*). Proses pembekuan sel *A. platensis* dalam freezer bersuhu -24°C menyebabkan denaturasi protein yang terikat pada fikosianin. Denaturasi ini memungkinkan fikosianin terekstrak dengan lebih baik pada suhu tersebut. Tujuan utama metode *freeze-thaw* adalah memberikan tekanan (*stressing*) pada sel sehingga mempercepat pelepasan pigmen setelah proses pengeringan biomassa kering *A. platensis* (Farihah *et al.*, 2014).

Pada Gambar 4 terdapat metode fikosianin. Pertama, sebanyak 0,2 g serbuk *A. platensis* dilarutkan dalam 5 mL aquades. Setelah itu, sampel dihomogenkan menggunakan vortex pada kecepatan 4000 rpm selama 30 detik dan kemudian disimpan pada freezer dengan suhu -24°C selama 24 jam. Setelah proses pembekuan, sampel yang telah dibekukan kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan dari proses sentrifugasi merupakan fikosianin yang selanjutnya akan dianalisis. Untuk analisis, absorbansi supernatan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 615 nm dan 625 nm. Perhitungan konsentrasi fikosianin (C-PC) dan rendemen dilakukan dengan mengacu pada metode yang dikembangkan oleh Bennett dan Bogorad (1973), dengan menggunakan rumus perhitungan sebagai berikut

$$\text{PC} = \frac{(\text{OD}_{615}) - 0,474(\text{OD}_{625})}{5,34}$$

Keterangan :

- PC = Fikosianin (mg/mL)
- OD = Kepadatan optik (Absorbansi)



Gambar 4. Metode fikosianin

e. Kandungan Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak fikosianin dilakukan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Sebanyak 1 mL larutan sampel yang telah dilarutkan dalam aquades dengan variasi konsentrasi (0,00; 11,25; 22,50; 45,00; 90,00) ppm serta dalam buffer fosfat dengan variasi konsentrasi (0,00; 25,70; 51,40; 102,81; 205,61) ppm dimasukkan ke dalam vial. Selanjutnya, ke dalam masing-masing vial ditambahkan 3 mL larutan DPPH 0,1 mM. Campuran larutan tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dalam kondisi gelap untuk memastikan reaksi berlangsung optimal.

Setelah proses inkubasi, pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai kontrol (blanko), digunakan larutan DPPH 0,1 mM tanpa penambahan ekstrak, yang dibuat dengan mencampurkan 1 mL larutan DPPH dengan 3 mL metanol pada setiap seri konsentrasi.

Persentase inhibisi radikal DPPH oleh ekstrak fikosianin dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Dimana :

A_0 : absorbansi blanko

A_1 : absorbansi sampel

f. Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor penting yang sangat mempengaruhi kelangsungan hidup dan pertumbuhan organisme budidaya, termasuk mikroalga *A. platensis*. Oleh karena itu, selama penelitian berlangsung, dilakukan pemantauan dan pengukuran beberapa parameter kualitas air untuk memastikan kondisi lingkungan tetap optimal bagi pertumbuhan *A. platensis*. Parameter yang diukur meliputi suhu ruang, dan intensitas cahaya. Suhu ruang digunakan sebagai referensi terhadap kondisi lingkungan tempat kultur dilakukan. Intensitas cahaya diukur menggunakan lux meter dengan tujuan memastikan *A. platensis* memperoleh pencahayaan yang cukup sesuai dengan kebutuhan fotosintesis, yaitu sekitar 2000–2500 lux.

2.4.7 Analisis Data

Data hasil penelitian diolah menggunakan analisis ragam atau *Analysis of variance* (ANOVA). Hasil anova yang signifikan ($P < 0.05$) dilanjutkan dengan uji W-Tuckey. Sebagai alat bantu untuk pelaksanaan uji statistik, digunakan paket perangkat lunak komputer program SPSS versi 23.0.