

PENGARUH KONSENTRASI ION Fe^{3+} YANG BERBEDA TERHADAP KANDUNGAN KLOOROFIL *a* DAN *b*, KAROTENOID DAN ANTIOKSIDAN DARI *Chlorella* sp.

Dian Iriani¹⁾, Bustari Hasan¹⁾, Sumarto¹⁾

Email : *dhian.iriani@gmail.com*

Diterima : 24 Desember 2016 Disetujui : 06 Januari 2017

ABSTRACT

This research was aimed to determine the effect of iron (Fe^{3+}) concentration on chlorophyll *a* and *b* content, carotenoid content and antioxidant capacity of *Chlorella* sp. The source of Fe^{3+} obtained from $FeSO_4 \cdot 7H_2O$. The varying concentration of Fe^{3+} in Basal media was 0.35, 4.89, 9.44, and 13.99 mg/L. The harvesting of *Chlorella* sp. was conducted in 3 times: 7th day, 14th day, and 21st day of cultivation periode. The *Chlorella* sp. was harvested by centrifugation 4800 rpm for 10 minutes. Chlorophyll *a*, *b*, and carotenoid content were determined by using spectrophotometer with absorbance (Abs) 480, 630, 645, 665 nm and antioxidant capacity was analysed using % DPPH scavenging capacity. Based on the research results shown that the highest amount of Chlorophyll *a* content (101.43 mg/L) and chlorophyll *b* content (49.25 mg/L) were resulted in the highest of Fe^{3+} concentration (13.99 mg/L) for 21 days of cultivation period, the highest carotenoid content (37.41 mg/L) was in 4.89 mg/L of Fe^{3+} concentration for 21 days of cultivation period, and the highest of % antioxidant capacity (32.74%) was in the lowest of Fe^{3+} concentration (0.35 mg/L) for 14 days of cultivation period.

Keywords: *Antioxidant, Basal, Carotenoid, Chlorella sp, Chlorophyll*

PENDAHULUAN

Chlorella sp. merupakan salah jenis mikroalga bersel tunggal yang hidup diperairan tawar dan laut. *Chlorella* sp. juga termasuk dalam kelompok alga hijau yang memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi sehingga sangat potensial sekali untuk dimanfaatkan baik sebagai biodisel, pakan ikan, suplemen makanan (Aslull & Omar, 2012) maupun kosmetik (Kabinawa, 2001). Berdasarkan berat keringnya *Chlorella* sp. mengandung 60%

protein, 12% lipid, 11% karbohidrat, 4% serat kasar, 7% abu, 4% air, 1% carotenoids dan 4% klorofil (Sansawa & Endo, 2004).

Klorofil merupakan salah satu jenis pigmen yang terdapat pada *Chlorella* sp. yang terdiri atas klorofil *a* dan *b* yang terdapat dalam kloroplas, sehingga dapat melakukan fotosintesis serta pigmen karotenoid yang dapat berperan dalam proses fotosintesis, dimana klorofil dan karoten ini juga digunakan dalam bidang kesehatan karena memiliki daya antioksidan yang kuat. Klorofil *a* berfungsi meneruskan cahaya ke pusat reaksi yang merubah energi cahaya menjadi energi kimia,

¹⁾ Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Riau

sedangkan klorofil *b* berfungsi sebagai pemanen cahaya dan meneruskan energi dari karotenoid ke klorofil *a* (Salisbury & Ross, 1992). Menurut Panjaitan, dkk (2008) karotenoid, seperti beta karoten dan alpha karoten, dan fucosanthin, dikenal sebagai pemadam radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel yang bersifat karsinogenik. Maka karotenoid yang memiliki aktivitas antioksidan sangat dibutuhkan untuk memadamkan radikal bebas tersebut, karena secara tidak langsung berfungsi sebagai anti karsinogenik, anti mutagenik, pencegahan dan pengurangan penyakit seperti kronarialis, inflamantori, penurunan fungsi otak, pada kulit, serta peningkatan sistem kekebalan tubuh.

Fe merupakan salah satu jenis ion yang berperan dalam pembentukan klorofil. Menurut Yuwono (2008) bahwa Klorofil disusun oleh besi (Fe). Besi tersebut dapat diserap dalam bentuk khelat Fe. Fungsi Fe adalah sebagai penyusun klorofil dan berperan dalam perkembangan kloroplas, sehingga ada korelasi antara ketersediaan Fe dan kadar klorofil. Kekurangan Fe akan menghambat terbentuknya klorofil. Allen dkk (2011), menambahkan bahwa ion logam Fe memainkan peran sangat penting dalam regulasi metabolisme sel sebagai unsur esensial pada mikroalga. Kekurangan ion logam Fe akan menekan pertumbuhan sel dan Behrenfeld, dkk (2006), menegaskan bahwa besi memiliki fungsi penting dalam mengatur biomassa fitoplankton.

Dalam kultivasinya pada media Basal, *Chlorella* sp. membutuhkan ion Fe. Menurut Artati (2012) bahwa Fe (II) merupakan

salah satu unsur anorganik yang sangat dibutuhkan *Chlorella* sp. dalam pertumbuhannya. Ion logam Fe (besi) merupakan logam esensial yang terlibat dalam proses fotosintesis dan sebagai kofaktor antioksidan enzim. Dalam bentuk padatan besi merupakan logam abu-abu yang mengkilat, sedangkan dalam bentuk cairan, besi dapat terionisasi menjadi Fe²⁺ dan Fe³⁺. Pada umumnya besi ditemukan dalam bentuk Fe³⁺ karena lebih stabil dibandingkan Fe²⁺ (Ria & Jarot, 2015).

Berdasarkan hal diatas, maka penulis tertarik melakukan penelitian tentang Pengaruh konsentrasi ion Fe³⁺ yang berbeda terhadap kandungan klorofil *a* dan *b*, karotenoid dan antioksidan dari *Chlorella* sp, adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ion Fe³⁺ yang berbeda terhadap kandungan klorofil *a* dan *b*, karotenoid dan kapasitas antioksidan dari *Chlorella* sp.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Chlorella* sp. Larutan Potassium nitrate (KNO₃), Dipotassium phosphate (KH₂PO₄), Magnesium sulphate (MgSO₄.7H₂O), Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), Boric Acid (H₃BO₃), Calcium chloride dihydrate (CaCl₂.2H₂O), Zinc Sulphate heptahydrate (ZnSO₄.7H₂O), Iron (II) sulfate heptahydrate (FeSO₄.7H₂O), Copper(II) sulfate (CuSO₄.5H₂O), Manganese chloride (MnCl₂.4H₂O), Molybdic Oxide (MoO₃), Cobalt (II) nitrate hexahydrate (Co(NO₃)₂.6H₂O), 90%

acetone, methanol, 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH).

Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Botol plastik, Spectrophotometer, freeze dryer, kertas saring Whatman GF/C, tube, refrigerator, vortex, sentrifuse, water bath, sonicator, timbangan, oven, tisu, stop watch.

Kultur *Chlorella* sp.

Chlorella sp. dikultur pada media Basal menurut Yuan (2002). Komposisi bahan-bahan kimia untuk kultur *Chlorella* sp. dapat dilihat pada Tabel 1. Pencahayaan dilakukan dengan menggunakan sebuah lampu 36 W, 2350 Lux.

Jarak lampu dengan kultur *Chlorella* sp. 20 cm, pH 6.1, suhu kultur 25°C ± 2, dengan kelembaban 51% dan tekanan udara 2.7 m/s². Inokulum *Chlorella* sp. diambil pada kultivasi hari ke 7.

Sumber Fe³⁺ didapat dari FeSO₄.7H₂O yang merupakan salah satu bahan kimia yang digunakan dalam pembuatan media Basal. Dengan perhitungan matematik yang sederhana maka didapat konsentrasi Fe³⁺ 0.35, 4.89, 9.44, dan 13.99 mg/L. Oksigen digunakan selama periode kultur *Chlorella* sp. Dimana ion Fe²⁺ dirubah menjadi ion Fe³⁺ dalam proses oksidasi.

Tabel 1. Komposisi kimia media Basal (Yuan, 2002)

Komponen	Konsentrasi (g/L dH ₂ O*)
KNO ₃	1.25
KH ₂ PO ₄	1.25
MgSO ₄ .7H ₂ O	1.00
EDTA	0.50
H ₃ BO ₃	0.1142
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.1110
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.0882
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.0498
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.0157
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.0142
MoO ₃	0.0071
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.0049

*dH₂O = distilled water

Pemanenan *Chlorella* sp.

Pemanenan *Chlorella* sp. dilakukan selama 3 kali, yakni pada hari ke 7, 14 dan hari ke 21 periode kultivasi. *Chlorella* sp. dipanen dengan sentrifugasi 4800 rpm selama 10 min dan dicuci sebanyak 2 kali dengan air suling, lalu disentrifus lagi. Sel *Chlorella* sp. dikeringkan

menggunakan *freezes dryer* selama 2 hari.

Pengujian Kandungan Klorofil *a*, *b* dan Karotenoid

Pengujian kandungan Klorofil *a*, *b* dan karotenoid dilakukan menurut (Strickland & Parson, 1972), dimana kandungan klorofil *a*, *b* dan karotenoid diuji dengan menggunakan

Spectrophotometer dengan panjang gelombang (Abs) 480, 630, 645, 665 nm. Sebanyak 100 mL *Chlorella* sp. disaring menggunakan kertas Whatman GF/C, setelah itu letakkan kertas pada tabung dan diekstrak dengan menggunakan 10 ml aseton

90%. Tabung disimpan dalam kulkas selama 24 jam. Kemudian tabung disentrifus 2000 rpm selama 10 menit pada suhu 4^o C , setelah itu ukur panjang gelombang 480, 630, 645, dan 665 nm. Hitung konsentrasi pigmen dengan formula dibawah ini:

$$\text{Klorofil } a \text{ (mg/L)} = 11.6 \text{ Abs}_{665} - 1.31 \text{ Abs}_{645} - 0.14 \text{ Abs}_{630}$$

$$\text{Klorofil } b \text{ (mg/L)} = 20.7 \text{ Abs}_{645} - 4.34 \text{ Abs}_{665} - 4.42 \text{ Abs}_{630}$$

$$\text{Karotenoid (mg/L)} = 4 \text{ Abs}_{480}$$

Pengujian Antioksidan (% DPPH scavenging capacity)

Persiapan Sample

Sebanyak 0.2 g (berat kering) *Chlorella* sp. diekstrak dengan 2.5 ml methanol dan divortex selama 5 detik. Kemudian sample diletakkan didalam waterbath dengan suhu 60^oC selama 60 menit, setelah itu disaring ekstraknya dengan kertas saring Whatman.

Persiapan Larutan DPPH Solution

Sebanyak 50 ml methanol ditambahkan kedalam 0.025g DPPH, lalu dilarutkan dengan ultrasonic dan diencerkan sebanyak 10 kali.

Analisis DPPH

Tambahkan 2 ml larutan DPPH kedalam 100 µL sample dalam tube. Lalu tambahkan 2 ml methanol kedalam 100 µL sampel (sampel blank) dalam tube. Tambahkan 2 ml larutan DPPH solution kedalam 100 µL methanol (kontrol) dalam tube. Setelah itu divortex selama 5 detik dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruangan dan simpan ditempat gelap. Setelah diinkubasi, ukur panjang gelombang pada 517 nm. Hasilnya dihitung sebagai % scavenging dengan rumus:

$$\% \text{ Scavenging} = \frac{\text{OD kontrol} - (\text{OD sampel} - \text{OD sampel blank})}{\text{OD kontrol}} \times 100$$

Analisis Data

Semua data diekspresikan sebagai rata-rata ± standar deviasi, kandungan klorofil *a*, klorofil *b*, karotenoid dan kapasitas antioxidant dianalisa dengan menggunakan two-way ANOVA. Data yang signifikan diuji dengan menggunakan Duncan New Multiple Range pada tingkat kepercayaan 95%, dan uji statistik menggunakan software SPSS 15.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Klorofil *a*

Analisa kandungan klorofil *a* (Tabel 1) pada kultivasi hari ke 7 menunjukkan bahwa kandungan klorofil *a* paling tinggi (37.27 mg/L) terdapat pada perlakuan dengan menggunakan konsentrasi Fe³⁺ 13.99 mg/L yang secara signifikan lebih tinggi (*p*<0.05) dibandingkan perlakuan kontrol (9.44 mg/L), sedangkan, kandungan klorofil *a* paling rendah didapat pada perlakuan kontrol. Pada kultivasi hari ke 14, kandungan klorofil *a* yang dihasilkan

adalah berkisar 45.87 – 63.25 mg/L, dimana jumlah kandungan klorofil *a* paling tinggi didapat dari perlakuan dengan menggunakan konsentrasi Fe³⁺ 0.35 mg/L dan secara signifikan

lebih tinggi ($p < 0.05$) dibandingkan perlakuan kontrol (Tabel 2).

Tabel 2. Kandungan Klorofil *a* (mg/L) dari *Chlorella* sp. yang dikultur dengan konsentrasi Fe³⁺ yang berbeda

Konsentrasi Fe ³⁺ (mg/L)	Kandungan Klorofil <i>a</i> (Rata-rata ± SD) (mg/L)		
	Waktu (Hari)		
	7	14	21
0.35	43.24±3.63 ^{bc}	63.25±3.26 ^e	68.78±5.17 ^e
4.89	38.42±1.91 ^{ab}	51.35±5.51 ^d	87.24±1.65 ^f
9.44	36.37±3.44 ^a	45.87±4.74 ^{cd}	98.14±1.60 ^g
13.99	37.27±3.92 ^c	49.85±4.19 ^f	101.43±1.14 ^g

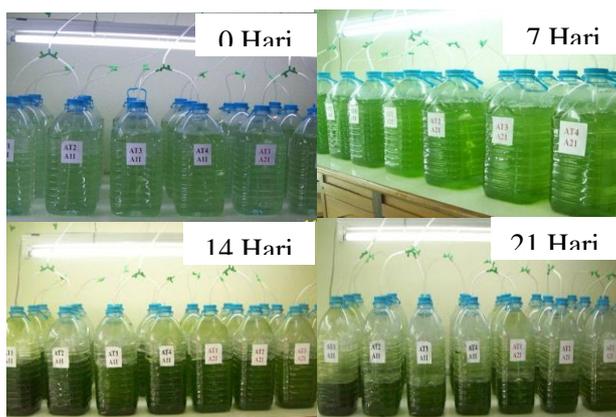
Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata tiap perlakuan pada tingkat kepercayaan 0.05.

Analisis kandungan klorofil *a* pada kultivasi hari ke 21 menunjukkan bahwa jumlah kandungan klorofil *a* semakin meningkat. Dimana klorofil *a* paling tinggi (101.43 mg/L) dihasilkan pada perlakuan dengan konsentrasi Fe³⁺ 13.99 mg/L, ini lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol (9.44 mg/L). bagaimanapun, tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0.05$) dibandingkan perlakuan kontrol. Jumlah kandungan klorofil *a* paling rendah (68.78 mg/L) terdapat pada konsentrasi Fe³⁺ 0.35 mg/L, secara signifikan lebih rendah ($p < 0.05$) dibandingkan perlakuan kontrol. Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh penambahan konsentrasi ion Fe dalam kultivasi *Chlorella* sp. Chrismadha, dkk (2006) dan Lakitan (2011) menjelaskan bahwa unsur Fe berperan sebagai kofaktor pada pembentukan klorofil, sehingga secara tidak langsung, unsur besi

dapat mempengaruhi sintesis klorofil.

Kandungan klorofil *a* semakin meningkat dengan bertambahnya masa kultivasi, ini juga terlihat dari warna biomassa *Chlorella* sp. yang semakin hijau pada akhir periode kultivasi. Menurut Prihantini, dkk (2007) menyatakan bahwa gradiasi warna hijau selain menunjukkan peningkatan warna sel, juga mengindikasikan kadar klorofil yang terkandung dalam sel. Untuk melihat warna biomassa *Chlorella* sp. selama 21 hari kultivasi dapat dilihat pada gambar 1.

Sartika, dkk (2014) menambahkan bahwa kandungan klorofil dapat menjadi parameter pertumbuhan dalam menentukan biomassa mikroalga. Dimana pada hari ke-20 pertumbuhan *Chlorella* sp. yaitu 4×10^6 sel/ ml (Iriani, dkk 2011).



Gambar 1. *Chlorella* sp. selama kultivasi

Kandungan Klorofil b

Analisa kandungan klorofil b (Tabel 3) dari *Chlorella* sp. yang dikultur dengan konsentrasi Fe³⁺ berbeda pada hari ke 7 menunjukkan bahwa kandungan klorofil b paling tinggi (34.22 mg/L) pada konsentrasi Fe³⁺ 0.35 mg/L, ini secara signifikan lebih tinggi (*p*<0.05) dibandingkan perlakuan kontrol (9.44 mg/L). Sedangkan pada perlakuan kontrol (9.44 mg/L) menunjukkan

kandungan klorofil b paling rendah (20.32 mg/L). Kultivasi *Chlorella* sp. pada hari ke 14 menghasilkan klorofil b sebanyak 18.46 – 38.15 mg/L. sama dengan hasil kultivasi hari ke 7, kandungan klorofil b paling tinggi dihasilkan pada konsentrasi Fe³⁺ 0.35 mg/L dan signifikan lebih tinggi (*p*<0.05) dibandingkan perlakuan kontrol. Kandungan klorofil b (18.46 mg/L) paling rendah dihasilkan pada perlakuan kontrol.

Tabel 3. Kandungan Klorofil b (mg/L) dari *Chlorella* sp. yang dikultur dengan konsentrasi Fe³⁺ yang berbeda

Konsentrasi Fe ³⁺ (mg/L)	Kandungan Klorofil b (Rata-rata ± SD) (mg/L)		
	Waktu (Hari)		
	7	14	21
0.35	34.22±3.49 ^{cd}	38.15±1.31 ^{cd}	35.31±4.79 ^{cd}
4.89	27.70±1.57 ^b	19.18±4.93 ^a	39.67±0.56 ^{cd}
9.44	20.32±0.38 ^a	18.46±3.92 ^a	40.46±1.34 ^d
13.99	33.80±5.02 ^c	26.91±5.06 ^b	49.25±2.05 ^e

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata tiap perlakuan pada tingkat kepercayaan 0.05.

Analisa kandungan klorofil b pada kultivasi hari ke 21 menunjukkan bahwa jumlah kandungan klorofil b paling tinggi

dihasilkan pada perlakuan dengan konsentrasi Fe³⁺ paling tinggi (13.99 mg/L), secara signifikan lebih tinggi (*p*<0.05) dibandingkan dengan perlakuan kontrol (9.44 mg/L). Kandungan klorofil b paling rendah

(35.31 mg/L) didapat pada perlakuan konsentrasi Fe³⁺ yang paling rendah (0.35 mg/L).

Peningkatan kandungan klorofil *a* dan klorofil *b* stabil pada kultivasi hari ke 21. Dimana dengan semakin meningkatnya kandungan ion Fe³⁺ juga meningkatkan kandungan klorofil *a* dan *b*. Ini disebabkan karena Fe merupakan unsur hara mikro yang esensial bagi tanaman dan pembentuk klorofil. Sartika, dkk (2014) menambahkan bahwa konsentrasi besi (Fe) dapat mempengaruhi pembentukan klorofil mikroalga. ion Fe³⁺ (besi) memegang peranan penting dalam sistem enzim dan diperlukan untuk sintesis klorofil (Rorong & Suryanto, 2010). Dan Sahrawat, 2003 menambahkan bahwa Kekurangan Fe menyebabkan terhambatnya pembentukan klorofil, penyusunan protein menjadi tidak sempurna dan penurunan jumlah ribosom. Kekurangan Fe juga menyebabkan penurunan kadar

pigmen, dan mengakibatkan pengurangan aktivitas enzim.

Kandungan Karotenoid

Analisa kandungan karotenoid (Tabel 4) pada kultivasi hari ke 7 menunjukkan bahwa kandungan karotenoid paling tinggi (19.85 mg/L) didapat dari perlakuan kontrol (9.44 mg/L Fe³⁺), sementara kandungan karotenoid paling rendah dihasilkan dari perlakuan menggunakan konsentrasi Fe³⁺ 13.99 mg/L, ini tidak signifikan lebih rendah ($p>0.05$) dibandingkan perlakuan kontrol. Kultivasi hari ke 14, kandungan karotenoid berkisar 15.40 – 25.20 mg/L. kandungan karotenoid paling tinggi (25.20 mg/L) dihasilkan dari perlakuan dengan konsentrasi Fe³⁺ 0.35 mg/L Fe³⁺ dan ini secara signifikan lebih tinggi ($p<0.05$) dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Kandungan karotenoid paling rendah (15.40 mg/L) didapat dari perlakuan kontrol.

Tabel 4. Kandungan Karotenoid (mg/L) dari *Chlorella* sp. yang dikultur dengan konsentrasi Fe³⁺ yang berbeda

Konsentrasi Fe ³⁺ (mg/L)	Kandungan Karotenoid (Rata-rata ± SD) (mg/L)		
	Waktu (Hari)		
	7	14	21
0.35	16.86±1.11 ^a	25.20±2.98 ^b	18.27±0.91 ^a
4.89	17.89±2.25 ^a	16.28±2.47 ^a	37.41±0.36 ^d
9.44	19.85±1.38 ^a	15.40±5.07 ^a	30.96±0.27 ^c
13.99	13.56±0.64 ^a	17.36±5.31 ^a	31.52±0.81 ^c

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata tiap perlakuan pada tingkat kepercayaan 0.05.

Analisa kandungan karotenoid pada kultivasi hari ke 21 menunjukkan bahwa kandungan karotenoid paling tinggi (37.41 mg/L) dihasilkan pada perlakuan dengan konsentrasi Fe³⁺ 4.89 mg/L, ini secara signifikan lebih tinggi

($p<0.05$) dibandingkan dengan perlakuan kontrol (9.44 mg/L). Kandungan karotenoid paling rendah (18.27 mg/L) dihasilkan dari konsentrasi Fe³⁺ 0.35 mg/L, dan signifikan lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kontrol.

Seperti halnya dengan klorofil, karotenoid juga merupakan kelompok pigmen dan antioksidan yang dapat meredam radikal bebas. Dimana kedua pigmen ini berperan aktif dalam fotosintesis. Sama halnya dengan klorofil *a* dan *b* bahwa kandungan karotenoid juga lebih tinggi pada kultivasi hari ke-21. Kandungan karotenoid *Chlorella* sp. selama kultivasi secara keseluruhan lebih tinggi dari penelitian Cifuentes, dkk (2003) yaitu 4.88 mg/L, dan 4.7 mg/L (Singh, dkk, 2017). Ini disebabkan karena adanya ion Fe. Ion Fe berfungsi untuk memainkan peran sangat penting dalam regulasi metabolisme sel sebagai unsur esensial, sebagai tambahan nutrisi dan membantu proses fotosintesis (Matsuzawa dkk, 2004; Pessaraki, 2005; Millaleo dkk, 2010; Allen dkk, 2011).

Kapasitas Antioksidan (% DPPH Scavenging Capacity)

Analisa % DPPH scavenging capacity (Tabel 5) pada kultivasi hari ke 7 menunjukkan bahwa kapasitas % DPPH scavenging capacity paling tinggi

(31.56 %) dihasilkan dari perlakuan kontrol. Sedangkan % DPPH scavenging capacity paling rendah (25.66 %) dihasilkan dari perlakuan Fe³⁺ 0.35 mg/L, ini secara signifikan lebih rendah ($p < 0.05$) dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Kultivasi hari ke 14, nilai antioksidan berkisar 21.63 – 32.74 %, dimana kandungan antioksidan paling tinggi dihasilkan dari perlakuan Fe³⁺ 0.35 mg/L Fe³⁺ dan tidak signifikan lebih rendah ($p > 0.05$) dibandingkan perlakuan kontrol. Kandungan antioksidan paling rendah dihasilkan dari perlakuan konsentrasi Fe³⁺ 13.99 mg/L, secara signifikan lebih rendah dibandingkan perlakuan kontrol.

Analisa % DPPH scavenging pada kultivasi hari ke 21 menunjukkan bahwa kandungan antioksidan paling tinggi (23.48 %) didapat dari perlakuan dengan konsentrasi Fe³⁺ 4.89 mg/L, ini secara signifikan lebih tinggi ($p < 0.05$) dibandingkan perlakuan kontrol (9.44 mg/L). Sedangkan kandungan antioksidan paling rendah (19.79 %) dihasilkan dari perlakuan dengan konsentrasi Fe³⁺ 13,99 mg/L (Tabel 5).

Tabel 5 % DPPH scavenging dari *Chlorella* sp. yang dikultur dengan konsentrasi Fe³⁺ yang berbeda

Konsentrasi Fe ³⁺ (mg/L)	% DPPH scavenging (Rata-rata ± SD)		
	Waktu (Hari)		
	7	14	21
0.35	25.66±0.83 ^e	32.74±0.44 ^h	21.98±0.73 ^c
4.89	27.90±0.66 ^f	32.38±0.54 ^{gh}	23.48±0.36 ^d
9.44	31.56±0.17 ^{gh}	31.56±0.42 ^{gh}	20.72±0.16 ^{ab}
13.99	31.25±0.86 ^g	21.63±1.29 ^{bc}	19.79±0.91 ^a

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata tiap perlakuan pada tingkat kepercayaan 0.05.

Kandungan antioksidan *Chlorella* sp. selama kultivasi paling tinggi adalah 32.74±0.44%. Hasil uji aktivitas

antioksidan dengan metode DPPH ini menunjukkan nilai yang hampir sama dengan hasil penelitian Dini, dkk

(2015) yaitu 32,84 ± 0,91%, dan lebih tinggi dengan penelitian yang dilakukan oleh Hemalata dkk (2013) yaitu 23,08%. Mayasari, dkk (2012) mengatakan bahwa ion logam Fe merupakan logam esensial yang terlibat dalam proses fotosintesis dan sebagai kofaktor antioksidan enzim.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian konsentrasi ion Fe³⁺ yang berbeda (0.35, 4.89, 9.44, 13.99) dalam kultivasi *Chlorella* sp. mempengaruhi kandungan klorofil *a* dan *b*, karotenoid dan kapasitas antioksidan dari *Chlorella* sp. Kandungan klorofil *a* setiap perlakuan meningkat selama periode kultivasi (Hari ke 7, 14 dan 21). Kandungan klorofil *a* dan *b* paling tinggi terdapat pada konsentrasi ion Fe³⁺ paling tinggi (13.99 mg/L) pada hari ke 21 periode kultivasi. Kandungan karotenoid meningkat selama periode kultivasi pada konsentrasi ion Fe³⁺ paling tinggi (13.99 mg/L). Kapasitas antioksidan pada kultivasi hari ke 21 paling tinggi terdapat pada konsentrasi ion Fe³⁺ 4.89 mg/L.

Saran

Untuk penelitian berikutnya disarankan melakukan penelitian mengenai produk pangan berbasis *Chlorella* sp. yang tinggi akan klorofil *a* dan *b* dengan periode kultivasi *Chlorella* sp. selama 21 hari dengan konsentrasi Fe³⁺ 13,99 mg/L.

DAFTAR PUSTAKA

Allen, J. F, de Paula, B.M.W. Puthiyaveetil, S, dan Nield, J. 2011. Review: A Structural Phylogenetic

Map for Chloroplast Photosynthesis. *Trends in Plant Science*, 16 (12): 645-655.

Alsull, M, dan Omar, W.M.W. 2012. Responses of *Tetraselmis* sp. and *Nannochloropsis* sp. isolated from Penang National Park coastal waters, Malaysia, to the Combined Influences of Salinity, Light and Nitrogen Limitation. *International Conference on Chemical, Ecology and Environmental Sciences (ICEES 2012)*.

Artati. 2012. Pengaruh Konsentrasi Ion Mg²⁺ dan Fe²⁺ dalam Medium Kultur Terhadap Produksi Klorofil dan Protein oleh Fitoplankton *Tetraselmis chuii* dan *Porphyridium cruentum*. Thesis, Program Pascasarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makasar.

Behrenfeld, M.J., Worthington, K., Sherrell, R.M., Chavez, F.P., Strutton, P., McPhaden, M., dan Shea, D.M. 2006. Controls on Tropical Pacific Ocean Productivity revealed through Nutrient Stress Diagnostics. *Nature*, 442: 1025–1028.

Cifuentes A.S, Gonzalez, MA, Vargas, S, Hoeneisen, M, dan Gonzalez, N. 2003. Optimization of Biomass, Total Carotenoids and Astaxanthin Production in *Haematococcus pluvialis* Flotow Strain Steptoe

- (Nevada, USA) under Laboratory Conditions. Chile. *Biol Res*, 36: 343-357.
- Chrismadha, T, Panggabean, L.M, dan Mardiaty, Y. 2006, Pengaruh Konsentrasi Nitrogen dan Fosfor Terhadap Pertumbuhan, Kandungan Protein, Karbohidrat dan Fikosianin pada Kultur *Spirulina fusiformis*. *Berita Biologi*, 8 (3): 163-169.
- Dini, F, Sri, A, Susiana, M, dan Rini, S. 2015. Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina* sp., *Chlorella* sp., dan *Nannochloropsis* sp. *JPB Kelautan dan Perikanan*, 10 (2): 101–109.
- Hemalatha, A, Girija, K, Parthiban, C, Saranya, K, dan Anantharaman, P. 2013. Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of a Marine Diatom, *Navicula clavata* and Green Microalgae, *Chlorella marina* and *Dunaliella salina*. *Advances in Applied Science Research*, 4 (5): 151-157.
- Iriani, D, Suriyaphan, O, dan Chaiyanate, N. 2011. Effect of Iron Concentration on Growth, Protein Content and Total Phenolic Content of *Chlorella* sp. Cultured in Basal Medium. *Sains Malaysiana*, 40(4): 353–358.
- Kabinawa, I.N.K. 2001. Mikroalga sebagai Sumber Daya Hayati (SDH) Perairan dalam Perspektif Bioteknologi. Bogor: Puslitbang Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Lakitan, B. 2011. Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan, Rajawali Pers, Jakarta.
- Matsuzawa, T, Sera, K, Futatsugawa, S, dan Shiraiwa, Y. 2004. Abstract: Change in element composition of microalgal cells under iron-deficient conditions: basic study on homeostasis of element utilization, *NMCC Annual Report*, 12:103.
- Mayasari, E, Raya, I, dan Natsir, H. 2012. The Effect of Fe²⁺ dan Mn²⁺ Ions toward β -Carotene Productivity by Phytoplankton *Isochrysis aff galbana* (T-iso). *Marina Chimica Acta*, 13 (2): 7-12.
- Millaleo, R, Reyes-Diaz, M, Ivanov, A.G, Mora, M.L, dan Alberdi, M. 2010. Manganese as Essential and Toxic Element for Plants: Transport, Accumulation and Resistance and Mechanisms. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10 (4): 470 – 481.
- Panjaitan, T.D,B, Prasetyo, L, dan Limantara. 2008. Peranan Karotenoid Alami dalam Menangkal Radikal Bebas Di dalam Tubuh. Program Magister Biologi. Universitas Kristen Satya Wacana. Malang.
- Pessaraki, M. 2005. *Handbook of Photosynthesis-Chapter 44:*

- Heavy Metal Toxicity Induced Alteration in Photosynthetic Metabolites in Plants*, 2nd edition, CRC Press, USA: 2.
- Prihantini, N.B, Damayanti, D, dan Yuniati, R. 2007. Pengaruh Konsentrasi Medium Ekstrak Tauge terhadap Pertumbuhan *Scenedesmus* Isolat Subang. *Makara, Sains*, 11: 1-9.
- Ria, F.W, dan Djarot, S.K.S. 2015. Analisis Pengaruh Ion Zn(II) pada Penentuan Fe³⁺ dengan Pengompleks 1,10-Fenantrolin pada Ph Optimum menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4 (2): 2337-3520.
- Rorong, J.A., dan Suryanto, E. 2010. Analisis Fitokimia Enceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) dan Efeknya sebagai Agen Photoreduksi Fe³⁺. *Chem. Prog*, 3 (1): 33-41.
- Sahrawat, K.L. 2003. Iron Toxicity In Wetland Rice: Occurrence and Management Through Integration Of Genetic Tolerance With Plant Nutrition. *Journal of the Society of Soil Science*, 51(4): 409-417.
- Salisbury, F.B, dan Ross, C.W. 1992. Fisiologi Tumbuhan. Bandung. Penerbit ITB
- Sansawa, H., dan Endo, H. 2004. Production of Intracellular Phytochemicals in *Chlorella* under Heterotrophic Conditions. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 98: 437-444.
- Sartika, Mukarlina dan Setyawati, T.R. 2014. Kandungan Klorofil dan lipid *Nannochloropsis oculata* yang dikultur dalam Media Limbah Cair Karet. *Protobiont*, 3 (3): 25 -30.
- Singh, R., Birru, R., dan Sibi, G. 2017. Nutrient Removal Efficiencies of *Chlorella vulgaris* from Urban Wastewater for Reduced Eutrophication. *Journal of Environmental Protection*, 8: 1-11.
- Strickland, J.D.H., dan Parsons. 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Ottawa.
- Yuan, J.P., Chen, F., Liu, X., dan Li, X.Z. 2002. Carotenoid Composition in the Green Microalga *Chlorococcum*. *Food Chemistry*, 76: 319-325.
- Yuwono, N.W, dan Afandhie, R, 2008. Ilmu Kesuburan Tanah. Yogyakarta: Kanisius.