

Kajian Pustaka Pengaruh Modifikasi Nitrogen terhadap Kandungan β -karoten serta Aktivitas Antioksidan *Dunaliella salina*.

Vivi Lutfi Nurfadhilah & Indra Topik Maulana & Livia Syafnir

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

email: nurfadhilah45@gmail.com, indra.topik@gmail.com, livia.syafnir@gmail.com

ABSTRACT: Green microalgae (*Dunaliella salina*) is well known as a source of carotenoids due to their extraordinary ability to produce β -carotene. Carotenoids can be used as antioxidants. *Dunaliella salina* can grow even under stress culture media conditions. Limited Nutrient will induce carotenoid production. Modification of nutrient supply such as nitrogen can affect cell growth, β -carotene content, and antioxidant activity. The research was conducted with a systematic literature review (SLR) from the PubMed, Science direct, google scholar, and Springer databases using the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses) flowchart method. Five articles were included in the inclusion criteria in this study. Cell growth decreased under nitrogen-limited conditions. Modification of nitrogen can affect the biosynthetic pathway of β -carotene. The results of the study showed that the decrease in nitrogen concentration (in the form of KNO_3 or NaNO_3) affects the decrease or increase in the level of β carotene so that fluctuating results are obtained. Antioxidant activity increased under conditions of reduced nitrogen seen from the increase in reducing power to DPPH as well as H_2O_2 decomposition as a result of increased enzyme activity of CAT, APX, PPX, PPO in response to stress conditions in culture media.

Keywords: *Dunaliella salina*, Nitrogen modification, β -carotene, Antioxidant.

ABSTRAK: Mikroalga hijau (*Dunaliella salina*) terkenal sebagai sumber karotenoid karena kemampuannya yang luar biasa dalam memproduksi β -karoten. Karotenoid dapat digunakan sebagai antioksidan. *Dunaliella salina* dapat tumbuh meskipun berada dalam kondisi media kultur stres. Pembatasan nutrisi dapat menginduksi produksi karotenoid. Modifikasi suplai nutrisi seperti nitrogen dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan sel, kadar β -karoten, dan aktivitas antioksidan. Penelitian dilakukan melalui systematic literature review (SLR) dari database PubMed, Science direct, google scholar dan Springer dengan metode diagram alir PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses). Lima artikel masuk dalam kriteria inklusi pada kajian ini. Pertumbuhan sel menurun ketika berada dalam kondisi nitrogen terbatas. Modifikasi nitrogen dapat berpengaruh pada jalur biosintesis β -karoten. Dari hasil pengkajian menunjukkan bahwa penurunan konsentrasi nitrogen (dalam bentuk KNO_3 ataupun NaNO_3) berpengaruh terhadap penurunan atau peningkatan kadar β -karoten sehingga diperoleh hasil fluktuatif. Aktivitas antioksidan meningkat pada kondisi penurunan nitrogen terlihat dari peningkatan daya reduksi terhadap DPPH maupun dekomposisi H_2O_2 akibat dari peningkatan aktivitas enzim CAT, APX, PPX, PPO sebagai respon dari kondisi stres pada media kultur.

Kata kunci: *Dunaliella salina*, Modifikasi Nitrogen, Antioksidan

1 PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan makhluk unisel yang memiliki ukuran sekitar 1 mikrometer hingga ratusan mikrometer yang dapat hidup pada air tawar maupun air laut (Hadiyanto and Azim, 2012). Mikroalga dapat menggandakan diri berlangsung dalam waktu sekitar 24 jam sekali pada fase eksponensialnya (Devi et al., 2012). *Dunaliella salina* merupakan contoh mikroalga yang dapat tumbuh meskipun berada dalam kondisi stres (Gallego-Cartagena, Castillo-Ramírez and Martínez-Burgos, 2019). *Dunaliella salina* terkenal sebagai sumber karotenoid karena kemampuannya yang luar biasa dalam memproduksi β -karoten (Pourkarimi et al., 2020). Karotenoid berperan sebagai antioksidan serta

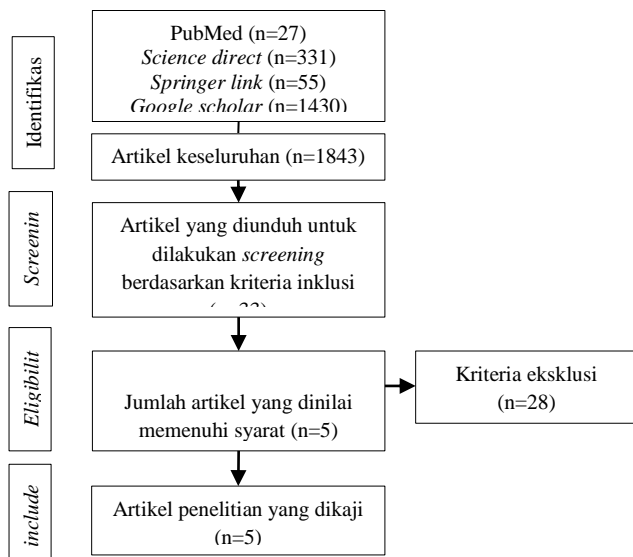
berperan mencegah penyakit degeneratif, penyakit kardiovaskular dan kanker (De Fretes et al., 2012). Pada mikroalga, karotenoid berperan sebagai pigmen aksesoris untuk menangkap energi dan transfer energi, juga sebagai proteksi komponen-komponen yang berperan dalam fotosintesis (Barsanti and Gualtieri, 2014). Kondisi kultur seperti temperatur, salinitas, intensitas cahaya dan nutrisi dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Adanya perlakuan seperti pembatasan nutrisi dapat menginduksi produksi metabolit sekunder, contohnya pada karotenoid. Keterbatasan suplai nutrisi seperti nitrogen dapat memberikan efek terhadap pertumbuhan sel, perubahan rasio pigmen fotoprotektif (β -karoten) terhadap klorofil dan mempengaruhi jalur fotosintesis (Rajesh, Rohit and Mohan, 2017).

Kondisi nutrisi dari lingkungan tempat tumbuh, akan mempengaruhi aktivitas *Dunaliella salina*. Nitrogen sebagai komponen penting dalam nutrisi media kultur tentunya akan memberikan pengaruh pada peningkatan atau penurunan pertumbuhan sel, kandungan β -karoten maupun aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh *Dunaliella salina*. rumusan masalah yang timbul yaitu bagaimana pengaruh modifikasi nitrogen terhadap pertumbuhan sel, kandungan β -karoten serta aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh *Dunaliella salina*.

2 METODOLOGI

Penelitian ini merupakan *systematic literature review* (SLR) untuk mengidentifikasi, menilai dan menginterpretasi berbagai penelitian yang relevan dengan tema penelitian terkait pengaruh modifikasi nitrogen terhadap kandungan β -karoten dan aktivitas antioksidan *Dunaliella salina*, dengan menggunakan diagram alir PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses*).

Pustaka diperoleh melalui pencarian pada basis data referensi artikel ilmiah PubMed, science direct, google scholar dan springer link. Kata kunci yang digunakan yaitu “*Dunaliella salina* and nitrogen”, “Influence nutrition to beta carotene from *Dunaliella salina*”, “Nitrogen, beta carotene and *Dunaliella salina*”, dan “Influence nitrogen to β -carotene from *dunaliella salina*”. Jumlah sampel yang diperoleh melalui proses penyaringan berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi maka artikel utama yang dikaji dan memenuhi kriteria inklusi sebanyak 5 artikel.



Gambar 1. Diagram alir PRISMA

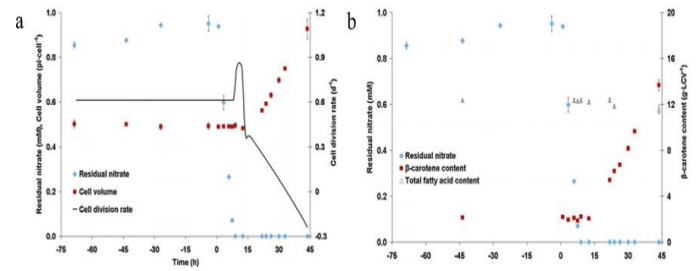
3 PEMBAHASAN DAN DISKUSI

Pada penelitian ini diperoleh hasil pencarian pada basis data referensi artikel ilmiah PubMed, *science direct*, *google scholar* dan *springer link* dihasilkan sebanyak 1843 artikel. Setelah dikeluarkan berdasarkan judul dan tema penelitian diperoleh 33 artikel yaitu 6 artikel berasal dari *science direct*, 18 artikel dari PubMed, 4 artikel dari *springer link* dan 5 artikel dari *google scholar*. Adapun kriteria inklusi yang meliputi artikel penelitian dipublikasikan tahun 2011 - 2021, berbahasa Inggris atau Bahasa Indonesia, memuat bahasan terkait tema ataupun judul penelitian yaitu mengenai pengaruh modifikasi nitrogen terhadap kandungan β -karoten dan aktivitas antioksidan *Dunaliella salina*, serta artikel berupa *research article*. Kriteria eksklusi meliputi artikel dipublikasikan di bawah tahun 2011, artikel tidak memuat bahasan terkait dengan tema ataupun judul penelitian yaitu mengenai pengaruh modifikasi nitrogen terhadap kandungan β -karoten dan ktivitas antioksidan *Dunaliella salina*, serta artikel bukan merupakan *research article*. Kemudian setelah melalui penyaringan berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi maka artikel utama yang memenuhi kriteria inklusi diperoleh sebanyak 5 artikel.

Pada *systematic literature review* ini membahas terkait pengaruh dari pemberian modifikasi nitrogen terhadap pertumbuhan sel, kandungan β -karoten dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari kultur mikroalga *Dunaliella salina*. Mikroalga merupakan organisme yang dapat tumbuh di sungai, danau garam, mata air serta habitat buatan seperti bendungan, kolam, kaleng, botol, pot atau lainnya. Kultivasi mikroalga dapat berlangsung dalam waktu 7 hari, 15 hari atau 24 hari (El-Baky, H. H., 2004; Tran, D. et al., 2014; Pereira and Otero, 2019). *Dunaliella salina* memiliki kandungan senyawa seperti pigmen (klorofil, β -karoten dan karotenoid), lipid, asam lemak, protein dan karbohidrat (Pavón-Suriano et al., 2018; Hadizadeh, Mehrgan and Shekarabi, 2020). Kultivasi mikroalga bertujuan untuk memperbanyak jumlah sel alga sehingga dapat diperoleh kandungan senyawa yang lebih tinggi (Barsanti and Gualtieri, 2014). Intensitas cahaya

yang optimum digunakan dalam kultur *Dunaliella salina* yaitu 5400 lux (Iffaturahmah, 2019). Oksigen dapat mempengaruhi kualitas air dan proses fotosintesis (Hadiyanto *and* Azim, 2012). Kemudian pH yang cocok dalam mendukung laju pertumbuhan sel dalam kultur *Dunaliella salina* berada dalam kisaran 6-9 dengan pH yang paling optimalnya yaitu pH 7. Konsentrasi karbondioksida yang dapat meningkatkan pertumbuhan sel mikroalga *Dunaliella salina* yaitu di bawah $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, jika lebih dari itu maka fatal bagi pertumbuhan sel (Ying, Gilmour *and* Zimmerman, 2014). Temperatur yang optimum untuk pertumbuhan sel *Dunaliella salina* yaitu $22^{\circ}\text{C} - 33^{\circ}\text{C}$ (Wu, Z. *et al.*, 2016).

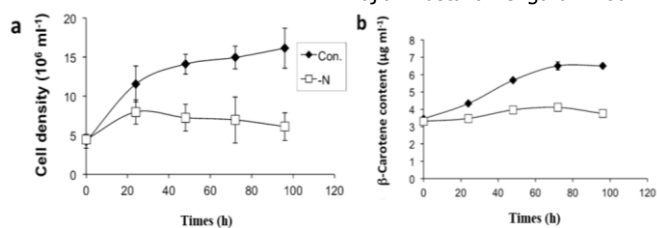
Nitrogen berperan dalam siklus calvin pada proses karboksilasi yaitu dihasilkannya senyawa intermediet stabil dimana terjadi penambahan satu karbon dari molekul CO_2 ke dalam 5-karbon akseptor (RuBp) yang dikatalisis oleh enzim RuBisCO, dimana nitrogen inilah yang memiliki peranan penting dalam pembuatan protein ini. Keterbatasan nitrogen sering terjadi pada kondisi salinitas yang tinggi dan selama periode aliran yang rendah. Pembatasan nitrogen mempengaruhi laju pertumbuhan, ketersediaan asam amino, membatasi translansi mRNA dan penurunan sintesis protein juga penurunan laju sistem respirasi. Nitrogen dalam bentuk senyawa anorganik meliputi nitrat (NO_3^-), nitrit (NO_2^-), asam nitrat (HNO_3), ammonium (NH_4^+), ammonia (NH_3), gas N_2 , dinitrogen monoksida (N_2O), nitrogen monoksida (NO) dan nitrogen dioksida (NO_2). Nitrat merupakan sumber utama nitrogen yang sering digunakan dalam kultur mikroalga (Barsanti *and* Gualtieri, 2014). Antioksidan yang diproduksi oleh tubuh berupa enzim yaitu *superoxide dismutase* (SOD), katalase, serta *glutathion peroxidase*. Sedangkan antioksidan seperti β -karoten (prekursor vitamin A), alfatokoferol dan asam askorbat merupakan antioksidan berupa vitamin. Di dalam tubuh, β -karoten dapat menstabilkan molekul radikal dengan inti karbon sehingga dapat menurunkan resiko kanker (Irianti *et al.*, 2017).



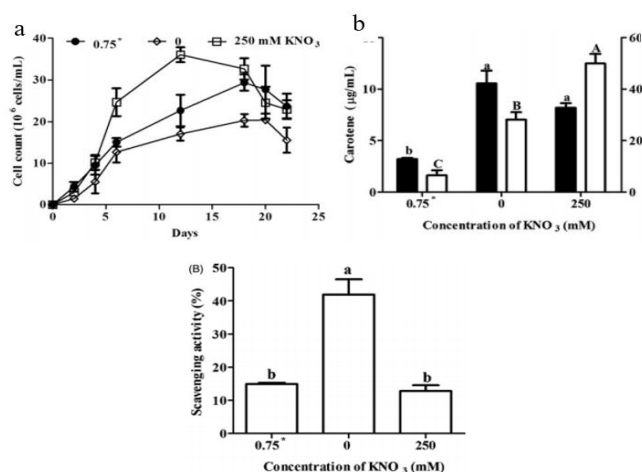
Gambar 2. Pengaruh pengosongan nitrogen terhadap (a) Pertumbuhan sel, (b) kadar β -karoten (Lamers *et al.*, 2012)

Berdasarkan beberapa hasil penelitian, variasi konsentrasi nitrogen dalam media kultur diketahui dapat mempengaruhi produksi β -karoten dan aktivitas antioksidan dari *Dunaliella salina* (Singh *et al.*, 2016; Einali *et al.*, 2013; Lamers *et al.*, 2012; Mirshekari *et al.*, 2019; Yilancioglu *et al.*, 2014). *Dunaliella salina* yang dikultur dalam medium Jhonson yang mengandung nitrogen (dalam bentuk KNO_3) sebagai media kontrol, kemudian sebagai media uji yaitu KNO_3 yang diganti dengan KCl sehingga pada $t=8$ jam terjadi pengosongan nitrogen pada media kultur. Hasil pengosongan nitrogen menunjukkan pengaruh terhadap pertumbuhan sel pada 4 jam setelah terjadi pengosongan nitrogen yaitu yang semula laju pembelahan sel nya konstan sampai $t=8$ jam sebesar $0,61 \text{ d}^{-1}$ menjadi $0,87 \text{ d}^{-1}$ tetapi kemudian menurun hingga $t=45$ jam (Gambar 2a). Di samping itu, media kultur dengan pengosongan nitrogen menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi β -karoten yang dihasilkan mikroalga *Dunaliella salina* (Gambar 2b) (Lamers *et al.*, 2012).

Terdapat dua media kultur *Dunaliella salina* dengan perbedaan kondisi nitrogen yaitu mengandung nitrogen dalam bentuk KNO_3 5 mM sebagai media kontrol dan sebagai media uji yaitu KNO_3 0 mM. Media kultur yang tidak mengandung nitrogen (dalam hal ini KNO_3 0 mM) memberikan pengaruh pertumbuhan sel lebih rendah ketika dibandingkan dengan media kontrol KNO_3 5 mM yang memiliki densitas sel lebih tinggi (Gambar 3a). Pengaruh yang sama terjadi pada kandungan β -karoten yaitu media dengan KNO_3 0 mM diperoleh kadar β -karoten lebih rendah sedangkan media kontrol KNO_3 5 mM memiliki kadar β -karoten yang lebih tinggi (Gambar 3b) (Einali *et al.*, 2013).



Gambar 3. Pengaruh Pengosongan Nitrogen Terhadap (a) Densitas Sel, (b) Kadar β -karoten (Einali *et al.*, 2013).

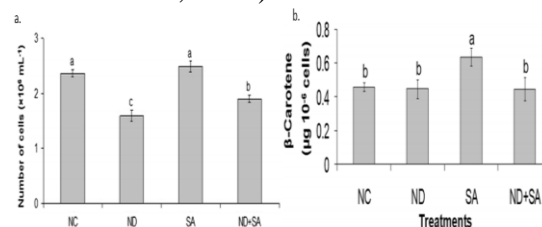


Gambar 4. Pengaruh variasi konsentrasi nitrogen terhadap (a) Pertumbuhan sel, (b) kadar β -karoten, (c) Aktivitas antioksidan (Singh, Baranwal and Reddy, 2016).

Dunaliella salina yang dikultur dalam tiga konsentrasi nitrogen (dalam bentuk KNO₃) yang berbeda yaitu KNO₃ 0 mM, KNO₃ 0,75 mM dan KNO₃ 250 mM menunjukkan pertumbuhan sel mikroalga yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi nitrogen yaitu KNO₃ 250 mM dan pertumbuhan sel menurun seiring dengan penurunan konsentrasi nitrogen yaitu KNO₃ 0 mM (Gambar 4a). Hal tersebut juga memberikan pengaruh terhadap produksi karotenoid (Gambar 4b). Pada kondisi kultur dengan KNO₃ 0 mM diperoleh kadar β -karoten yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (KNO₃ 0,75 mM), hal tersebut juga berdampak pada aktivitas antioksidan *Dunaliella salina* yang mengalami peningkatan dibandingkan pada kondisi kontrol (KNO₃ 0,75 mM). Daya reduksi terhadap DPPH juga meningkat pada kondisi KNO₃ 0 mM (Gambar 4c) (Singh, Baranwal and Reddy, 2016).

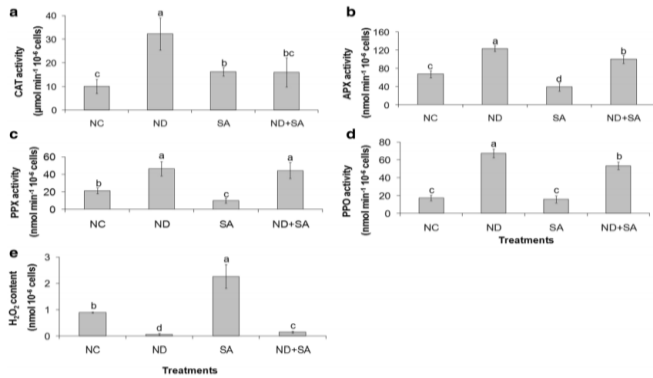
Penelitian lainnya melaporkan bahwa *Dunaliella salina* yang dikultur pada kondisi defisiensi nitrogen dan penambahan asam salisilat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan sel,

kandungan β -karoten dan aktivitas antioksidan. Pemberian perlakuan berbeda yaitu pada kondisi media mengandung nitrogen atau *N-containing* (NC) KNO₃ 5 mM, defisiensi nitrogen atau *N-deficient* (ND) KNO₃ 0 mM, asam salisilat (SA) 0,1 mM dan kombinasi defisiensi nitrogen dengan asam salisilat (ND+SA) KNO₃ 0 mM + asam salisilat 0,1 mM. Kultur *Dunaliella salina* dengan kondisi defisiensi nitrogen (ND) tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan sel yaitu jumlah sel pada ND < (ND+SA) < NC < SA (Gambar 5a). Hal tersebut memberikan hasil yang sama pada media dengan defisiensi nitrogen (ND) terhadap kandungan β -karoten yaitu tidak menunjukkan perubahan yang signifikan jika dibandingkan dengan kultur kontrol (NC) dimana kandungan β -karoten pada media dengan (ND+SA) < ND = NC < SA (Gambar 5b) (Mirshekari *et al.*, 2019).



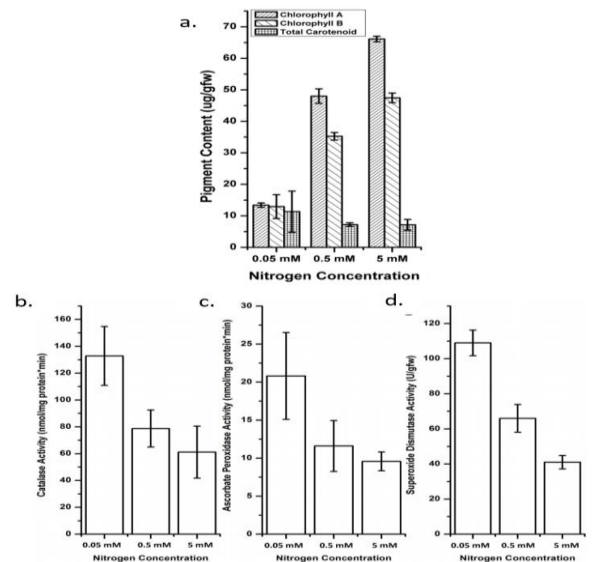
Gambar 5. Pengaruh defisiensi nitrogen terhadap (a) Pertumbuhan sel, (b) kadar β -karoten (Mirshekari *et al.*, 2019).

Berbeda hal nya dengan aktivitas empat enzim antioksidan *catalase* (CAT), *ascorbate peroxidase* (APX), *pyrogallol peroxidase* (PPX) dan *polyphenol oxidase* (PPO) pada perlakuan media defisiensi nitrogen (ND) (Gambar 6), yaitu menunjukkan peningkatan aktivitas yang cukup tinggi jika dibandingkan terhadap kontrol (NC) serta perlakuan media kultur lainnya yaitu SA dan ND+SA. Kehadiran H₂O₂ dapat menimbulkan kerusakan oksidatif pada kondisi lingkungan kultur. Diperolehnya kandungan H₂O₂ yang mengalami penurunan cukup rendah pada media defisiensi nitrogen (ND) atau KNO₃ 0 mM ketika dibandingkan terhadap media kontrol NC, SA dan ND+SA, hal tersebut diakibatkan karena adanya peningkatan aktifitas enzim antioksidan dalam dekomposisi H₂O₂ pada media dengan KNO₃ 0 mM (ND) (Mirshekari *et al.*, 2019).



Gambar 6. Pengaruh defisiensi nitrogen terhadap (a) Aktivitas CAT, (b) Aktivitas APX, (c) Aktivitas PPX, (d) Aktivitas PPO, (e) Kandungan H₂O₂ (Mirshekari *et al.*, 2019).

Pengaruh media kultur mikroalga dengan variasi nitrogen dalam bentuk NaNO₃ 0,05 mM, NaNO₃ 0,5 mM dan NaNO₃ 5 mM memberikan pengaruh peningkatan pertumbuhan sel *Dunaliella salina* seiring dengan peningkatan konsentrasi nitrogen yaitu media kontrol yang mengandung NaNO₃ 5 mM, sedangkan media dengan konsentrasi nitrogen paling rendah yaitu NaNO₃ 0,05 mM menunjukkan pertumbuhan sel yang rendah. Berbeda halnya dengan kadar β -karoten yang dihasilkan oleh *Dunaliella salina*, yaitu media kultur dengan konsentrasi nitrogen paling rendah pada NaNO₃ 0,05 mM menghasilkan kadar β -karoten lebih tinggi ketika dibandingkan terhadap media kultur dengan konsentrasi nitrogen lainnya yaitu NaNO₃ 5 mM sebagai media kontrol dan NaNO₃ 0,5 mM (Gambar III.7a). Pada media kultur yang mengalami kehabisan nitrogen dapat memicu akumulasi ROS (*reactive oxygen species*) sehingga enzim antioksidan seperti *catalase* (CAT), *ascorbate peroxidase* (APX) dan *superoxide dismutase* (SOD) mengalami peningkatan aktivitas pada kondisi media kultur dengan konsentrasi nitrogen NaNO₃ 0,05 mM ketika dibandingkan terhadap kontrol yaitu NaNO₃ 5 mM (Gambar 7b,7c,7d). Peningkatan aktivitas CAT, APX dan SOD berperan dalam mencegah stres oksidatif. Oleh karena itu kondisi stres oksidatif dapat diinduksi oleh adanya pengosongan nitrogen (Yilancioglu *et al.*, 2014).



Gambar 7. Pengaruh variasi konsentrasi nitrogen terhadap (a) Kadar β -karoten, (b) Aktivitas CAT, (c) Aktivitas APX, (d) Aktivitas SOD (Yilancioglu *et al.*, 2014).

β -karoten terbuat dari struktur dasar Geranylgeranyl pyrophosphate atau GGPP dikatalisis oleh enzim fitoena sintase (PYS) menjadi fitoena. Fitoena diubah menjadi ζ -karoten oleh fitoena desaturase, kemudian menjadi likopen dengan bantuan ζ -karoten desaturase dan karotenoid isomerase. Pada setiap tahapan terjadi peningkatan ikatan rangkap terkonjugasi. Likopen mengalami siklisasi oleh enzim likopen β -siklase sehingga membentuk β -karoten (Merdekawati, Kawur and A. B., 2017). β -karoten dapat dijadikan sebagai antioksidan karena adanya ikatan rangkap ($>C=C<$) yang dapat bekerja dengan menghambat (Scavenging) ataupun memutus reaksi rantai (chainbreaking) radikal bebas (Parwata, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian beberapa artikel tersebut maka dapat disimpulkan bahwa kondisi defisiensi ataupun pengosongan nitrogen dalam kultur dapat menurunkan aktivitas pertumbuhan sel *Dunaliella salina*. Kondisi kultur ekstrem baik pengosongan nitrogen ataupun konsentrasi nitrogen yang tinggi dapat meningkatkan produksi β -karoten pada mikroalga *Dunaliella salina*. Akumulasi β -karoten pada *Dunaliella salina* dapat dipengaruhi oleh kondisi nitrogen pada media kultur sehingga berpengaruh terhadap aktivitas

Tabel 3. SLR Pengaruh modifikasi nitrogen terhadap aktivitas pertumbuhan sel, kadar β -karoten dan aktivitas antioksidan *Dunaliella salina*.

No.	Kondisi Kontrol	Modifikasi Nitrogen	Pertumbuhan Sel	Kadar β -Karoten	Aktivitas Antioksidan	Referensi
1.	KNO ₃ 37,75 mM		0,61 sel/d	2,2x10 ³ μ g/ml	-	(Lamers <i>et al.</i> , 2012)
		KNO ₃ 0 mM	0,87 sel/d	13,6x10 ³ μ g/ml	-	
2.	KNO ₃ 5 mM		17x10 ⁶ sel/mL	6,5 μ g/mL	-	(Einali <i>et al.</i> , 2013)
		KNO ₃ 0 mM	9x10 ⁶ sel/mL	3,8 μ g/mL	-	
3.	KNO ₃ 0,75 mM		22x10 ⁶ sel/mL	3 μ g/mL	15%	(Singh <i>et al.</i> , 2016)
		KNO ₃ 0 mM	17x10 ⁶ sel/mL	10,5 μ g/mL	42%	
		KNO ₃ 250 mM	36x10 ⁶ sel/mL	8 μ g/mL	13%	
4.	NC: KNO ₃ 5 mM		2,4x10 ⁶ sel/mL	0,5x10 ⁻⁶ μ g/mL	Kontrol CAT \rightarrow 10x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ APX \rightarrow 70x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ PPX \rightarrow 20x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ PPO \rightarrow 18x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ ND	(Mirshakari <i>et al.</i> , 2019)
		ND: KNO ₃ 0 mM	1,6x10 ⁶ sel/mL	0,5x10 ⁻⁶ μ g/mL	CAT \rightarrow 33x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ APX \rightarrow 125x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ PPX \rightarrow 45x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ PPO \rightarrow 65x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ SA	
		SA: Asam salisilat 0,1 mM	2,5x10 ⁶ sel/mL	0,65x10 ⁻⁶ μ g/mL	CAT \rightarrow 17x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ APX \rightarrow 40x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ PPX \rightarrow 10x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ PPO \rightarrow 16x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ ND+SA	
		ND+SA: 0,1 mM Asam salisilat + KNO ₃ 0 mM	1,9x10 ⁶ sel/mL	0,45x10 ⁻⁶ μ g/mL	CAT \rightarrow 16x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ APX \rightarrow 100x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ PPX \rightarrow 45x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ PPO \rightarrow 55x10 ⁻⁶ μ mol sel mL ⁻¹ NaNO ₃ 5 mM	
					CAT \rightarrow 60 μ mol/g APX \rightarrow 9 μ mol/g SOD \rightarrow 40 μ mol/g NaNO ₃ 0,05 mM	
					CAT \rightarrow 132 μ mol/g APX \rightarrow 21 μ mol/g SOD \rightarrow 109 μ mol/g NaNO ₃ 0,5 mM	
					CAT \rightarrow 79 μ mol/g APX \rightarrow 12 μ mol/g SOD \rightarrow 68 μ mol/g	

isopentenyl pyrophosphate (IPP) isomerase, yang mana terlibat pada jalur biosintesis β -karoten (Jian-guo *et al.*, 1996). Di samping itu penurunan kadar β -karoten juga dapat terjadi pada kondisi pengosongan nitrogen yang dapat diakibatkan oleh beberapa faktor lingkungan atau kondisi media kultur, maka dari itu pengaruh dari modifikasi nitrogen memberikan hasil fluktuatif terhadap kadar β -karoten yang dihasilkan. Aktivitas antioksidan dari hasil penelitian beberapa artikel tersebut menunjukkan bahwa defisiensi atau pengosongan nitrogen pada media kultur *Dunaliella salina* memberikan pengaruh terhadap peningkatan aktivitas antioksidan sebagai respon dari stres oksidatif yang diinduksi oleh pengosongan nitrogen.

4 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian *Systematic Literature Review* (SLR) di atas maka dapat disimpulkan bahwa defisiensi nitrogen pada kultur dapat menurunkan aktivitas pertumbuhan sel

Dunaliella salina. Kondisi media kultur dengan modifikasi nitrogen memberikan hasil fluktuatif terhadap produksi β -karoten *Dunaliella salina*. Defisiensi atau pengosongan nitrogen memberikan pengaruh terhadap peningkatan aktivitas antioksidan.

ACKNOWLEDGE

Dengan terlaksananya dan diselesaikannya penelitian ini, penulis ucapkan terima kasih terhadap seluruh pihak yang telah memberikan kesempatan, saran, dan perbaikan, sehingga melalui penelitian ini penulis berharap dapat memberikan sedikit informasi bagi pembaca.

DAFTAR PUSTAKA

- Barsanti, L. and Gualtieri, P. (2014) *Algae Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. Pisa: CRC Press.
- De Fretes, H. *et al.* (2012) *Karotenoid dari Makroalgae dan Mikroalgae: Potensi*

- Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi, Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana. doi: 10.6066/jtip.2012.23.2.221.
- Devi, S. et al. (2012) *Culture and Biofuel Producing Efficacy of Marine Microalgae Dunaliella salina and Nannochloropsis sp*, *Journal of Algal Biomass Utilization JABU*. India: Bharatidasan University.
- Einali, A. et al. (2013) *Cyclic Electron Transport Around Photosystem I and Its Relationship to Non-photochemical Quenching in the Unicellular Green Alga Dunaliella salina Under Nitrogen Deficiency*, *Journal of Plant Research*. Jepang: The Botanical Society of Japan and Springer. doi: 10.1007/s10265-012-0512-8.
- El-Baky, H. H., et al. (2004) *Production of Antioxidant by the Green Alga Dunaliella salina*, *Int. J. Agri. Biol.* Mesir: Cairo University.
- Gallego-Cartagena, E., Castillo-Ramírez, M. and Martínez-Burgos, W. (2019) *Effect of Stressful Conditions on the Carotenogenic Activity of A Colombian Strain of Dunaliella salina*, *Saudi Journal of Biological Science*. Riyadh: King Saud University. doi: 10.1016/j.sjbs.2019.07.010.
- Hadiyanto and Azim, M. (2012) *Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan*. Semarang: UNDIP Press.
- Hadizadeh, Z., Mehrgan, M. S. and Shekarabi, S. P. H. (2020) *The Potential Use of Stickwater from A Kilka Fishmeal Plant in Dunaliella salina Cultivation*, *Environmental Science and Pollution Research*. Iran: Springer. doi: 10.1007/s11356-019-06926-w.
- Iffaturahmah, I. (2019) *Analisis Kepadatan dan Kandungan Lemak Mikroalga Dunaliella sp. pada Media dengan Intensitas Cahaya Lampu TL yang Berbeda*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Irianti, T. et al. (2017) *Antioksidan*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Jian-guo, L. et al. (1996) *Effect of Nitrate and Phosphate on Accumulation of β -carotene Isomers in Dunaliella salina*, *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. China: Institute of Oceanology. doi: 10.1007/BF02850375.
- Lamers, P. P. et al. (2012) *Carotenoid and Fatty Acid Metabolism in Nitrogen-Starved Dunaliella salina, A Unicellular Green Microalga*, *Journal of Biotechnology*. Netherlands: Elsevier B.V. doi: 10.1016/j.jbiotec.2012.04.018.
- Liu, J., Sun, Z. and Gerken, H. (2016) *Recent Advances in Microalgal Biotechnology*, *Biotechnology Advances*. USA: OMICS Goups. doi: 10.1016/0734-9750(90)91993-Q.
- Maulana, I.T., et al. (2021) *Pengembangan Sari Nanas Tinggi Aktivitas Antioksidan Menggunakan Pendekatan Half Factorial Design*. *Jurnal Media Pharmaceutica Indonesiana*.
- Merdekawati, W., Kawur, F. F. and A. B., S. (2017) *Karotenoid Pada Algae: Kajian Tentang Biosintesis, Distribusi serta Fungsi*. Jakarta: BIOMA Biologi UNJ Press. doi: 10.21009/Bioma13(1).3.
- Mirshekari, M., Einali, A. and Valizadeh, J. (2019) *Metabolic Changes and Activity Pattern of Antioxidant Enzymes Induced by Salicylic Acid Treatment in Green Microalga Dunaliella salina under Nitrogen Deficiency*, *Journal of Applied Phycology*. Iran: Springer nature B.V. doi: 10.1007/s10811-018-1715-8.
- Parwata, M. O. A. (2016) *Bahan Ajar Antioksidan, Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*. Bali: Universitas Udayana.
- Pavón-Suriano, S. G. et al. (2018) *Evaluation of Colour Temperatures in the Cultivation of Dunaliella salina and Nannochloropsis Oculata in the Production of Lipids and Carbohydrates*, *Environmental Science and Pollution Research*. Mexico: Springer. doi: 10.1007/s11356-017-9764-0.
- Pereira, S. and Otero, A. (2019) *Effect of Light Quality on Carotenogenic and Non-Carotenogenic Species of the Genus Dunaliella Under Nitrogen Deficiency*, *Algal Research*. Spanyol: Elsevier B.V. doi: 10.1016/j.algal.2019.101725.
- Pourkarimi, S. et al. (2020) *Factors Affecting Production of Beta-carotene from Dunaliella salina Microalgae*, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Iran: Elsevier Ltd. doi:

10.1016/j.bcab.2020.101771.

- Rajesh, K., Rohit, M. V and Mohan, S. V. (2017) *Microalgae-Based Carotenoids Production*. India: Elsevier B.V. doi: 10.1016/B978-0-444-63784-0.00007-2.
- Singh, P., Baranwal, M. and Reddy, S. M. (2016) *Antioxidant and Cytotoxic Activity of Carotenes Produced by Dunaliella salina Under Stress, Pharmaceutical Biology*. India: Taylor & Francis. doi: 10.3109/13880209.2016.1153660.
- Tran, D. *et al.* (2014) *Growth, Antioxidant Capacity and Total Carotene of Dunaliella salina DCCBC15 in A Low Cost Enriched Natural Seawater Medium, World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vietnam: Springer. doi: 10.1007/s11274-013-1413-2.
- Wu, Z. *et al.* (2016) *The Effects of Light, Temperature, and Nutrition on Growth and Pigment Accumulation of Three Dunaliella salina Strains Isolated from Saline Soil, Jundishapur Journal of Microbiology*. Bangkok: Kasetsart University. doi: 10.5812/jjm.26732.
- Yilancioglu, K. *et al.* (2014) *Oxidative Stress is A Mediator for Increased Lipid Accumulation in A Newly Isolated Dunaliella salina Strain*. Istanbul: Plos One. doi: 10.1371/journal.pone.0091957.
- Ying, K., Gilmour, D. J. and Zimmerman, W. B. (2014) *Effects of CO₂ and pH on Growth of the Microalga Dunaliella salina, Journal of Microbial and Biochemical Technology*. UK: University of Sheffield. doi: 10.4172/1948-5948.1000138.
- Azhar Salma Fadhilah, Y Kiki Mulkiya, Kodir Reza Abdul. (2021). *Pengaruh Waktu Aging dan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Black Garlic yang Dibandingkan dengan Bawang Putih (Allium sativum L.)*. Jurnal Riset Farmasi, 1(1), 16-23.