

## Aplikasi Pakan Alami Kaya Karotenoid untuk Post Larvae *Penaeus monodon* Fab.

Hermin Pancasakti Kusumaningrum\*<sup>1</sup> dan Muhammad Zainuri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Genetika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro,

<sup>2</sup>Laboratorium Biologi laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro,  
Jl. Prof.Dr. Soedarto, Tembalang, Semarang, Indonesia. 50275 Email: gandasakti@yahoo.com

### Abstrak

Udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) merupakan komoditas unggulan Indonesia sedangkan ketersediaan benih udang windu mengalami penurunan mencapai 50% disebabkan serangan berbagai penyakit dan keterbatasan pakan. Aplikasi pakan rekombinan hasil fusi protoplas yang kaya karotenoid telah terbukti meningkatkan bobot dan kelulushidupan larva udang windu skala laboratorium. Teknik fusi protoplas telah terbukti mampu menghasilkan rekombinan yang memiliki gabungan karotenoid dari berbagai alga sehingga jumlah karotenoidnya semakin meningkat. *Dunaliella* menghasilkan karotenoid  $\beta$ -karoten dan zeaxantin dalam jumlah besar sedangkan *Chlorella* menghasilkan lutein,  $\beta$ -karoten dan astaxanthin. Tujuan khusus penelitian ini adalah mengaplikasikan pakan alami hasil fusi protoplas kedua jenis mikroalga pada larva udang windu di Balai Budidaya Air Payau Jepara untuk meningkatkan ketahanan terhadap serangan penyakit. Penelitian ini melakukan kultivasi induk dan rekombinan diikuti analisis pigmen karotenoid dan aplikasi pakan rekombinan secara *in vitro*. Aplikasinya pada skala *in vitro* telah meningkatkan berat badan udang dan kelulushidupannya dibandingkan pakan buatan dan pakan alami saja. Selain itu pertumbuhan pakan rekombinan stabil baik di air tawar maupun air asin, mampu berkembangbiak secara alami dan konsumsinya aman bagi hewan budidaya dan lingkungan.

**Kata kunci:** karotenoid, fusi protoplas, *Dunaliella salina*, *Chlorella vulgaris*,

### Abstract

#### Applications Rich Natural Carotenoids Feed for Post Larvae of *Penaeus monodon* Fab.

Tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fab.) is one of the main commodities of aquaculture products in Indonesia. The availability of Tiger shrimp larvae has decreased up to 50% due to the attack of various diseases and feed limitation. Application of feed from recombinant of protoplast fusion rich in carotenoids have been shown to increase weight and survival rate of tiger shrimp larvae on laboratory scale. Protoplast fusion technique has been shown to produce a recombinant that has combined various carotenoids from algae thus increasing their carotenoids number. *Dunaliella* produce carotenoids  $\beta$  - carotene and zeaxantin in large numbers while *Chlorella* produce lutein,  $\beta$  - carotene and astaxanthin. The specific objective of this research is to apply natural food of protoplast fusion recombinant from both of microalgae to Tiger shrimp larvae in Brackish Water Aquaculture Center Jepara to improve resistance to disease. This study conducted cultivation of parent and recombinant followed by carotenoid pigment analysis and application of recombinant feed *in vitro*. Application on a *in vitro* scale have increased body weight and shrimp survival compared to artificial food and natural food. Additionally feed recombinant growth were stable in both freshwater and saltwater. They also able to breed naturally and safe for animal consumption and environment.

**Keywords:** carotenoid, protoplast fusion, *Dunaliella salina*, *Chlorella vulgaris*

### Pendahuluan

Udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) merupakan salah satu komoditas unggulan di Indonesia dan penyumbang devisa yang besar. Ketersediaan benih udang windu semakin

mengalami penurunan akibat keterbatasan dan kenaikan harga pakan, serangan penyakit dan manajemen pakan serta lingkungan budidaya yang kurang tercermati. Harga pakan bagi hewan budidaya akuakultur cenderung terus mengalami kenaikan apalagi harga suplemen dengan nutrisi

esensial. Kecenderungan penggunaan pakan alami untuk alasan kesehatan semakin meningkatkan kebutuhan dan harga pakan alami  $\beta$ -karoten komersial. Estimasi kebutuhan untuk  $\beta$ -karoten alam adalah 10-100 ton.th<sup>-1</sup> dengan harga lebih dari 750 €.kg<sup>-1</sup> (Mendoza et al., 2008). Padahal konsumsi pakan menghabiskan hampir 60% dari biaya budidaya. Penyediaan nutrisi pakan merupakan aspek yang sangat menentukan dalam budidaya hewan akuakultur karena sangat berpengaruh terhadap produksi dan nilai jual. Kebutuhan nutrisi karotenoid dalam budidaya akuakultur sangatlah tinggi, misalnya kebutuhan astaxantin komersial adalah 3000  $\mu$ g.g<sup>-1</sup>. Karotenoid utamanya dibutuhkan untuk meningkatkan pigmentasi dan kelulushidupan hewan budidaya akuakultur (Zainuri et al., 2003; Kusumaningrum et al., 2004; Zainuri et al., 2008a,b,c).

Hewan budidaya tersebut membutuhkan suplemen antioksidan seperti karotenoid namun tidak mampu mensintesisnya *de novo*. Selama ini pemenuhan kebutuhan akan karotenoid lebih didominasi oleh produksi karotenoid sintetik dengan harga tinggi mencapai 2,000 \$.kg<sup>-1</sup> contohnya astaxantin. Antisipasi yang dilakukan petani adalah menggunakan pakan alami diantaranya mikroalga karena harganya terjangkau yaitu Rp. 50,000-100,000 L<sup>-1</sup>.

Permasalahan yang muncul adalah mikroalga yang mampu menghasilkan karotenoid pada lingkungan budidaya sangat terbatas jumlah dan jenisnya, dibatasi oleh musim, tidak tersedia setiap saat dan rawan kontaminasi. Selain itu, penggunaan mikroalga saja belum dapat mencukupi kebutuhan karotenoid yang dibutuhkan oleh hewan budidaya karena jumlahnya sangat sedikit.

## Materi dan Metode

### Kultivasi organisme

Media pertumbuhan cair untuk *Dunaliella* dan *Chlorella* adalah media Walne dengan komposisi: EDTA 45 g.L<sup>-1</sup>, FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 1.3 mg.L<sup>-1</sup>, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 33.6 g.L<sup>-1</sup>, MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O 0.36 g.L<sup>-1</sup>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 100 g.L<sup>-1</sup>, Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 g.L<sup>-1</sup>, B<sub>12</sub> vitamin 0.001 ppm, air steril sampai 1 L. Sterilisasi dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit 15 lb in<sup>-2</sup> (103 kPa dan 120°C). Medium digunakan dengan menambahkan 0.5 ml medium dalam 1l air laut. Semua bahan diperoleh dari Laboratorium Genetika Jurusan Biologi FMIPA UNDIP. Kultur alga ditumbuhkan dalam medium cair dengan menggunakan aerator 2-4 ppm dan illuminasi homogen sebesar 1000-2000 lux atau 60 mmols.

m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> dan agitasi 150-200 rpm (Jesus dan Filho, 2010).

### Fusi protoplas (Uppalaty dan Fujita, 2002)

Isolasi protoplas. Sel dengan kepadatan 10<sup>7</sup> direndam dalam larutan bufer sodium suksinat (pH 4,5); 0.7 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0.6 M KCl dan 0.1 M 2-merkaptotanol. Protoplas diperoleh dengan menambahkan 2-3 mg.ml<sup>-1</sup> lisozim selama 2-3 jam. Proses Fusi protoplas. Protoplas kedua sel difusikan dengan cara dicampur dalam larutan bufer fosfat (pH 6) yang mengandung 35% PEG (polyethylene glycol) dan 0.1 ml CaCl<sub>2</sub> selanjutnya diinkubasi selama 45 menit. Regenerasi protoplas dilakukan dengan menumbuhkan mutan pada medium agar lunak dan diinkubasi selama 5-7 hari.

Analisis pigmen rekombinan hasil fusi. Rekombinan dianalisis dengan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya filtrat diambil dan ditambah n-heksana lalu dikocok. Pigmen yang terkandung dalam n-heksana ditambah dengan air distilasi untuk menghilangkan aseton. Air dalam ekstrak dihilangkan dengan melakukan penambahan 5-10 gram Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.100 ml<sup>-1</sup>. Ekstrak ini diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 470 nm (E<sup>1%</sup><sub>1cm</sub> = 1600). Pengukuran pigmen dinyatakan sebagai konsentrasi dalam miligram pigmen per gram berat kering sel.

### Analisis produksi karotenoid

Pembuatan kurva pertumbuhan dan produksi pigmen. Produksi pigmen dilakukan pada media Walne pH 6 yang telah disterilkan dengan autoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Media diinokulasi dengan 5% v/v starter yang memiliki kepadatan 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> sel.ml<sup>-1</sup>. Setiap biakan diinkubasi selama 120 jam pada rotary shaker dengan kecepatan 180 rpm. Pengukuran pertumbuhan dan produksi pigmen dilakukan setiap 12 jam inkubasi. Pengukuran produksi pigmen. Kultur sebanyak 2 ml dimasukkan dalam tabung eppendorf lalu disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 4500 rpm lalu dibuang supernatannya. Pelet dicuci dengan akuades dan ditambah dengan 0.1 M sodium fosfat pH 7 sebanyak 1 ml dan *dimethyl sulfoxide* (DMSO) sebanyak 1 ml yang telah dipanaskan pada suhu 55°C. Campuran dikocok selama 15 menit kemudian ditambah 2 ml pelarut organik (diethyl eter) lalu dikocok kembali kemudian disentrifugasi. Pigmen yang terdapat pada fasa atas diambil, selanjutnya dievaporasi untuk menghilangkan pelarut organik. Setelah kering ditambahkan pelarut organik (methanol dengan volume sesuai dengan jumlah pigmen yang dihasilkan. Pengukuran pigmen

karotenoid dilakukan menurut metode modifikasi dari An *et al.* (1989) dalam Johnson dan Schroeder (1996) dan korelasi Lichtenthaler (Henriques *et al.*, 2007).

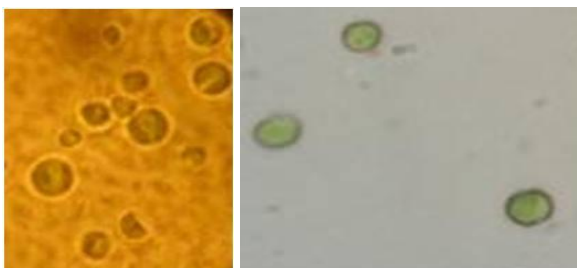
### Aplikasi pakan pada post larva udang windu

Pakan yang digunakan pada penelitian ini ada 2 jenis, yaitu: pakan buatan (A), berupa pelet dengan sel rekombinan dan pakan alami *Dunaliella*, berupa pelet dengan sel rekombinan dan pakan alami *Chlorella*. Pakan alami *Dunaliella* dan *Chlorella* menggunakan kepadatan 2700 individu per ml. Pakan buatan merupakan formulasi pakan udang, dengan penambahan variasi konsentrasi rekombinan. Biota yang diuji adalah udang windu PL-60 dengan berat awal 0.2–0.5 gram. Pemeliharaan dilakukan dalam akuarium berukuran 25 cm x 60 cm x 35 cm, dengan volume air 10 liter. Kepadatan setiap akuarium adalah 5 ekor. Pemberian pakan dilakukan sejumlah 5% dari berat tubuh, dan diberikan dua kali sehari untuk pakan buatan. Pakan alami tetap dengan kepadatan 2700 ind.ml<sup>-1</sup>. Pemeliharaan dilakukan selama lima minggu. Pengukuran kualitas air media meliputi salinitas, temperatur, oksigen terlarut dan pH dilakukan setiap hari.

## Hasil dan Pembahasan

### Kultivasi induk *C. vulgaris* dan *D.salina*

*C. vulgaris* adalah mikroalga penghasil beta-karoten dan lutein alami sebagai pigmen utama dengan produksi 860 µg.g<sup>-1</sup> dari seluruh pigmen yang dihasilkan. Kedua induk *D. salina* dan *C. vulgaris* memiliki gambaran morfologis dan ukuran sel yang cukup berbeda (Gambar 1). Kultivasi pada kultur cair dilakukan untuk isolasi dan fusi protoplas.



**Gambar 1.** Induk *C. vulgaris* (atas) dan induk *D. salina* (bawah) (1000 x)

Kultivasi *D. salina* dilakukan pada media air laut. Pertumbuhan optimum *D. salina* pada suhu 26-27°C dibawah perlakuan iluminasi dan aerasi, pH optimum pertumbuhan 7.2. *Dunaliella salina*

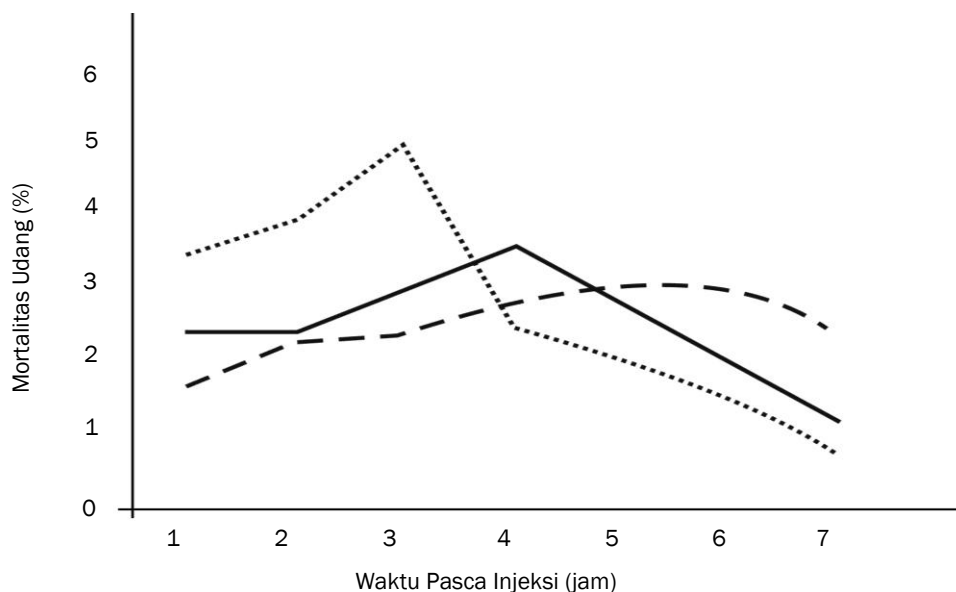
bersifat halofilik. Sel berbentuk oval, pergerakan sangat aktif dengan dua flagel di ujung. Pada fase logaritmik sel berwarna hijau cerah dan pada fase stasioner berubah warna menjadi hijau kekuningan yang diduga berkaitan dengan pembentukan karotenoid. Pertumbuhan *D. salina* dalam medium Walne memiliki siklus hidup tujuh hari yang diperlihatkan pada Gambar 2. Kerapatan sel tertinggi dicapai pada hari ke-3 dan mulai menurun pada hari ke-4.

### Pertumbuhan fusan

Kultivasi fusan dilakukan pada media air payau. Pertumbuhan fusan terjadi pada suhu 26-29°C dengan perlakuan iluminasi dan aerasi yang diperlihatkan pada Gambar 2. Menurut Garcia *et al.* (2007) mikroalga *D. viridis* tumbuh optimal pada suhu 26°C sedangkan *D. salina* pada 22°C. Pertumbuhan pada suhu yang lebih tinggi akan mendorong produksi karotenoid yang lebih besar. Sel fusan pada fase logaritmik berwarna hijau cerah dan pada fase stasioner berubah warna menjadi hijau kekuningan yang berkaitan dengan pembentukan karotenoid. Pertumbuhan induk *D. salina* dan *C. vulgaris* serta fusan dalam medium Walne memiliki siklus hidup tujuh hari. Kepadatan sel tertinggi pada fusan terletak pada hari ke 4. Hasil ini berbeda dengan kedua induk dimana *D. salina* mempunyai kepadatan sel tertinggi di hari ke-3 dan *C. vulgaris* pada hari ke-5. Sel fusan mempunyai beberapa bentuk dan ukuran sel terkait dengan jumlah sel induk yang berfusi.

Kecepatan pertumbuhan dipengaruhi oleh produksi karotenoid. Fungsi utama karotenoid adalah sebagai fotoprotektor dan pigmen aksesoris pengumpul cahaya. Fungsi fotoprotektor sangat penting karena akan mencegah kerusakan akibat fotooksidasi. Hal ini berarti bila tersedia oksigen, fotosintesis tidak dapat berlangsung tanpa adanya karotenoid. Bila klorofil terkena cahaya maka akan segera mengalami fotooksidasi. Dalam proses ini klorofil sangat peka akan kerusakan karena klorofil akan membentuk triplet yang bila berikatan dengan oksigen akan membentuk oksigen tunggal (*singlet oxygen*).

Oksigen tunggal merupakan oksidan kuat yang akan mengoksidasi klorofil, asam lemak, protein dan asam nukleat sehingga menyebabkan kematian organisme. Karotenoid dapat mencegah proses fotooksidasi yang berbahaya ini dengan mencegah terbentuknya triplet klorofil sehingga tidak dapat menghasilkan oksigen tunggal. Selain itu, karotenoid juga akan segera menetralkan oksigen tunggal melalui proses detoksifikasi. Pada *D.salina* menurut Mendoza *et al.* (2008) dan peneliti lain, produksi karotenoid ditentukan oleh beberapa



**Gambar 2.** Pertumbuhan Induk *D. salina*, Induk *C. vulgaris* dan fusan  
 Keterangan : ..... : *C. vulgaris*, \_\_\_\_\_ : fusan, - - - : *D. salina*

paramater yaitu kecepatan pembelahan sel, kandungan karotenoid sel, produksi biomassa, perbandingan jumlah klorofil dan karotenoid, ukuran sel dan kompleksitas sel. Semua hal tersebut akan berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan. Produksi karotenoid pada mikroalga karotenogenik seperti *D. salina* dalam kondisi cekaman, akan berakibat pada hambatan pembelahan sel dimana kadar salinitas yang semakin meningkat akan meningkatkan produksi  $\beta$ -karoten.

**Produksi karotenoid fusan *D. salina* dan *C. vulgaris***

Hasil pengukuran produksi pigmen total fusan *D. salina* memperlihatkan peningkatan produksi dibanding induk. *D. salina* merupakan mikroalga produsen karotenoid alami terutama  $\beta$ -karoten dan zeaxantin. Karotenoid yang berasal dari *D. salina* mengandung campuran  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten, dan beberapa carotenoid lain dan lemak. Diantara  $\beta$ -karoten tersebut sekitar 54%, 37%, dan 9% berada dalam bentuk all-trans, 9- trans & dan 13- trans dan bentuk lain (Olson, 1994). Produksi pigmen total mikroalga *C. vulgaris* mencapai  $95 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  bks sedangkan produksi pigmen total *D. salina* mencapai  $102 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  bks. Produksi pigmen total fusan *D. salina* dan *C. vulgaris* mencapai  $112 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  bks. Produksi karotenoid semakin meningkat seiring dengan tahap menuju kematian sel. Hal ini menunjukkan bahwa fusi protoplas itu mampu meningkatkan jumlah karotenoid yang dimulai pada saat fase stasioner, seperti yang dikemukakan oleh Kusumaningrum (2008) bahwa produksi pigmen total *Dunaliella* sp. semakin meningkat sejalan dengan bertambahnya usia sel sampai menuju

kematian, sehingga karotenoid merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan setelah produksi klorofil dan pertumbuhan menurun sampai menuju fase kematian. Peningkatan total pigmen pada saat fase stasioner dikarenakan pigmen yang dihasilkan digunakan untuk pertahanan hidup sel saat nutrisi dalam medium mulai menipis. Produksi karotenoid pada *C. vulgaris* mempunyai waktu dan pola yang berbeda. Gouveia et al. (1996) memperlihatkan pada saat pertumbuhan sel *C. vulgaris* meningkat, karotenoid yang akan dihasilkan adalah neoxantin, violaxantin, lutein, klorofila, klorofil-b dan b-karoten. Pada saat sel mulai berubah warna, maka karotenoid yang terbentuk adalah violaxantin, lutein, astaxantin, klorofil-a, klorofil-b, cantaxantin dan astaxantin ester. Hal ini berarti, b-karoten dihasilkan pada awal pertumbuhan yaitu selama fase logaritmik bersamaan dengan klorofil-a kemudian konsentrasinya akan menurun saat jalur karotenogenik mulai berjalan. Setelah fase logaritmik terjadi transformasi oksidatif b-karoten menjadi cantaxantin dan hidroksilasinya menjadi zeaxantin atau lutein. Komponen ini akan menjadi prekursor bagi hidroksilasi atau oksidasi astaxantin. Fusi protoplas antara dua spesies induk yang mampu menghasilkan karotenoid pada waktu yang berbeda akan meningkatkan peluang bagi fusan untuk menghasilkan karotenoid dengan jumlah dan jenis yang lebih tinggi.

Fusan yang membentuk gabungan lebih dari satu sel berpotensi menyerap cahaya lebih banyak sehingga akan meningkatkan produksi karotenoid. Cahaya merupakan faktor utama yang menentukan pembentukan pigmen. Jika cahaya

yang tersedia itu jumlahnya berlebihan, maka karotenoid bersifat sebagai fotoprotektor. Jika cahaya kurang mencukupi maka klorofil akan dibantu pigmen karotenoid dalam penyerapan cahaya yang tidak dapat diserap oleh klorofil. Selanjutnya energi yang dihasilkan akan dikirim ke kloroplas dan energi eksitasi akan terperangkap transfer elektron. Karotenoid juga berfungsi sebagai penstabil struktur protein dan fasilitator perakitan kompleks pigmen-protein, regulator aliran dan pertukaran energi dan elektron serta oksigen tunggal, dan donor elektron untuk kompleks protein pigmen. Klorofil dan karotenoid akan disintesis secara seimbang di dalam kloroplas. Pada saat keseimbangan ini berubah akibat naiknya karotenoid, maka struktur plastida akan berubah dan sebagai akibatnya klorofil akan terdegradasi. Pigmen yang dihasilkan nantinya tidak klorofil tetapi karotenoid (Frank, 2004; Kusumaningrum, 2008). Sel akan mempertahankan kestabilan rekombinan dan produksi karotenoid untuk menyesuaikan dengan kesetimbangan di dalam sel, karena sel memiliki kapasitas yang terbatas dalam membawa dan mempertahankan rekombinan (Gouveia dan Emphis, 2003).

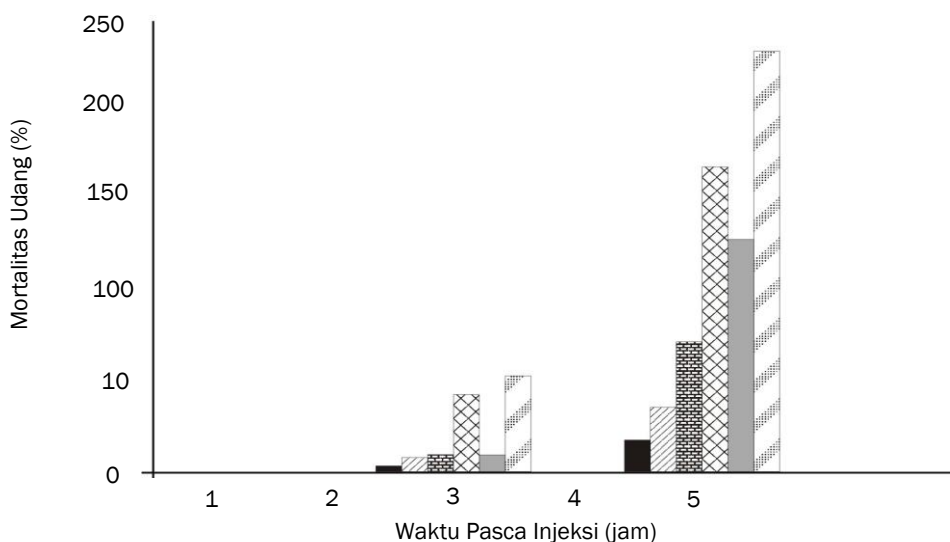
**Aplikasi pakan in vitro untuk menguji ketahanan terhadap penyakit**

Penelitian telah mengaplikasikan pakan fusan secara *in vitro* terhadap larva udang *Penaeus monodon* Fab. PL 60. Efek pemberian pakan secara *in vitro* terhadap bobot larva udang diperlihatkan pada Gambar 3. Aplikasi pakan terhadap udang

memperlihatkan bahwa pakan secara keseluruhan penambahan pakan alami mikroalga *D. salina* dan *C. vulgaris* terhadap post larva udang windu telah meningkatkan bobot udang.

Gambar 3 juga memperlihatkan bahwa pakan buatan yang ditambah dengan *Chlorella* memperlihatkan pertumbuhan yang lebih tinggi dibanding pakan dengan penambahan *Dunaliella*, bahkan melebihi pakan yang ditambah fusan *Dunaliella*. Hal ini disebabkan selain karotenoid, *Chlorella* juga menghasilkan protein dalam jumlah yang cukup tinggi. Namun bila dicermati kenaikan bobot udang dengan penambahan fusan *Dunaliella* maupun *Chlorella* memperlihatkan pengaruh peningkatan yang sangat cepat terhadap bobot udang. Peningkatan bobot larva udang yang tertinggi dicapai dengan penambahan pakan hasil fusi protoplas antara *D. salina* dan *C. vulgaris*.

Apabila dilihat dari kelulushidupan udang, penambahan pakan alami juga membuat udang lebih bertahan pada kematian. Larva udang yang tidak diberi tambahan pakan alami membuat udang lebih cepat mati. Larva udang yang diberi pakan tambahan kedua jenis mikroalga baik induk maupun fusan masih tetap hidup. Patut dicermati bahwa peningkatan bbot tertinggi dan kelulushidupan udang dicapai pasca penambahan pakan fusan *Chlorella* dan *Dunaliella*. Kemampuan hidup dan bertahan dari kematian disebabkan pakan alami *Dunaliella salina* merupakan organisme yang mengakumulasi sejumlah besar  $\beta$ -karoten dalam selnya.



**Gambar 3.** Aplikasi pakan *in vitro* pada larva udang

Keterangan : ■ : pakan buatan, ▨ : pakan buatan + Dunaliella, ▩ : pakan buatan + fusan Dunaliella, ▤ : pakan buatan + Chlorella, ▥ : pakan buatan + fusan Chlorella, ▦ : pakan buatan + fusan Chlorella dan Dunaliella

Menurut Jesus dan Filho (2010), karotenoid *D.salina* dihasilkan dalam kondisi cekaman dimana pembelahan sel terhambat. Kondisi cekaman tersebut diduga akibat terbentuknya sel fusan itu sendiri yang menyebabkan pembelahan sel secara normal terganggu. Induk *D. salina* merupakan mikroalga yang mampu hidup pada kisaran salinitas yang tinggi dimana mikroalga lainnya dan organisme penyebab penyakit tidak mampu hidup.

Pisal dan Lele (2005) dan Mendoza et al. (2008) juga menyatakan bahwa sintesis beta karoten *D. salina* akan meningkat dalam kondisi fisiologis yang kurang seimbang dalam sel yang disebabkan oleh berbagai faktor tekanan lingkungan sebagai upaya untuk melindungi sel dan mempertahankan pertumbuhan serta adaptasi terhadap lingkungan. Caranya adalah dengan meningkatkan produksi beta karoten untuk menangkal radikal bebas yang berbahaya dan racun lainnya yang masuk ke dalam tubuhnya. Hal ini menyebabkan *Dunaliella* lebih mampu bertahan terhadap kondisi lingkungan ekstrim dibandingkan dengan mikroalga lainnya.

Hasil penelitian secara keseluruhan memperlihatkan produksi pigmen karotenoid yang meningkat pada fusan interspesies. Produksi jenis karotenoid pada waktu yang berbeda hasil penggabungan pola metabolisme antara *Dunaliella* dan *Chlorella* juga meningkatkan peluang bagi fusan untuk lebih tahan terhadap berbagai kondisi lingkungan. Hal ini juga diindikasikan dengan meningkatnya bobot dan penurunan kematian larva. Keunggulan yang sangat potensial dari fusan dan hasil aplikasinya semakin meningkat potensi dan peluang yang lebih besar dalam penggunaannya sebagai pakan.

## Kesimpulan

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa fusi protoplas telah memperoleh fusan dengan produksi karotenoid rekombinan interspesies yang meningkat sehingga dapat meningkatkan bobot larva udang. Fusan berpotensi sebagai pakan unggul untuk diaplikasikan pada larva udang sehingga akan meningkatkan ketahanan terhadap penyakit.

## Ucapan Terima Kasih

Tim Peneliti mengucapkan terimakasih pada Direktorat Jenderal Perguruan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah membiayai penelitian ini sesuai dengan surat perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian Multi

Tahun TA. 2013 No: 154a-12/UN7.5/PG/2013 tanggal 15 Pebruari 2013. Kepada seluruh pihak yang membantu sampai selesainya penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- Frank, H.A. 2004. Carotenoids in Photosynthesis. Department of Chemistry, University of Connecticut, Storrs, CT 06269-3060. USA :1-8
- Garcia, F., Y. Freile-Pelegriñ & D. Robledo. 2007. Physiological characterization of *Dunaliella* sp. (Chlorophyta, Volvocales) from Yucatan, Mexico. *Bioresource Tech.* 98:1359–1365.
- Gouveia, L., V. Veloso, A. Reis, H. Fernandes, J. Novais & J. Empis. 1996. Evolution of pigment Composition in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Tech.* 57:157-163.
- Gouveia, L & J. Empis. 2003. Relative stabilities of microalgal carotenoids in microalgal extracts, biomass and fish feed: effect of storage conditions. *Innovative Food Sci. Emerging Tech.* 4:227–233.
- Henriques M., A. Silva & J. Rocha. 2007. Extraction and quantification of pigments from a marine microalga: a simple and reproducible method. In: A. Méndez-Vilas (Ed.). *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. Formatex. P:586-593.
- Jesus, S. & R.M. Filho. 2010. Modeling Growth of Microalgae *Dunaliella salina* under Different Nutritional Conditions. *American J. Biochem. Biotechnol.* 6(4):279-283.
- Johnson, E.A. & Schroeder, W.A. 1996. Advances in Biochemical Engineering /Biotechnology. In: A. Fiechter (ed.) *Microbial Carotenoids*. Springer-Verlag, Berlin. P:141-145.
- Kusumaningrum, H.P., J. Soedarsono, E. Kusdiyantini & T. Yuwono. 2004. The Effect of Various Salinity Level to the Growth and Characterization of *Dunaliella* sp Isolated from Jepara Waters. *Ilmu Kelautan.* 9(3):136-140.
- Kusumaningrum, H.P. 2008. Karakterisasi Alga Hijau *Dunaliella* sp. dan Isolat Sianobakteria serta Deteksi Gen DXS Penyandi. Disertasi
- Mendoza, H., A. Jara, K. Freijanes, L. Carmona, A.Ai.Ramos, V.S. Duarte, & J.C.S. Varela. 2008. Characterization of *Dunaliella salina* strains by flow cytometry: a new approach to select carotenoid hyperproducing strains. *Electronic J. Biotechnol.* 11(4):1-13

- Olson, J.A. 1994. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. *Pure Appl. Chem.* 66(5):1011-1016,
- Pisal, D.S. & S.S. Lele. 2005. Carotenoid Production from Microalga, *Dunaliella salina*. *Indian J. Biotechnol.* 4:476-483.
- Uppalapati S.R. & Y. Fujita 2002. A simple method for mass isolation of protoplasts from species of *Monostroma*, *Enteromorpha* and *Ulva* (Chlorophyta, Ulvales). Springer. *J. Appl. Phycology.* 14(3):165-168.
- Zainuri, M, E. Kusdiyantini, Widjanarko, J. Soedarsono & T. Yuwono. 2003. Preliminary Study on the Use of Yeast *Phaffia rhodozyma* as pigment source on the Growth of Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius ). *Ilmu Kelautan.* 8 (1):47-52.
- Zainuri, M., H.P. Kusumaningrum & E. Kusdiyantini. 2008a. Microbiological and Ecophysiological Characterisation of Green Algae *Dunaliella* sp. for Improvement of Carotenoid Production. *J. Natur Indonesia.* 10(2):66-69.
- Zainuri, M., H.P. Kusumaningrum & E. Kusdiyantini. 2008b. Application of Aquaculture Natural Food Produce by Protoplast Fusion process of *Dunaliella salina* and *Phaffia rhodozyma*. *Ilmu Kelautan.* 13(3):135-140.
- Zainuri, M., H.P. H. Endrawati, H.P Kusumaningrum & E. Kusdiyantini. 2008c. Kontribusi Pakan *Chlorella* sp. dan *Tetraselmis chuii* terhadap Densitas Copepoda. *Ilmu Kelautan.* 13(1):43-46.