



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERBANDINGAN KANDUNGAN PROTEIN TIGA STRAIN
Nostoc YANG DITUMBUHKAN PADA MEDIUM
BG11 *N-FREE* DENGAN TIGA VARIASI NATRIUM
KARBONAT (Na_2CO_3)**

SKRIPSI

**RISDA NASUHA BACHRI
1006676230**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JULI 2015**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERBANDINGAN KANDUNGAN PROTEIN TIGA STRAIN
Nostoc YANG DITUMBUHKAN PADA MEDIUM BG11 N-
FREE DENGAN TIGA VARIASI NATRIUM KARBONAT
(Na_2CO_3)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

**RISDA NASUHA BACHRI
1006676230**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JULI 2015**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Rida Nasuha Bachri
NPM : 1006676230
Tanda Tangan :
Tanggal : 1 Juli 2015

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Rida Nasuha Bachri
NPM : 1006676230
Program Studi : Biologi
Judul Skripsi : Perbandingan Kandungan Protein Tiga Strain
Nostoc yang Ditumbuhkan pada Medium BG11 N-
free dengan Tiga Variasi Natrium Karbonat
(Na_2CO_3)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dra. Dian Hendrayanti, M.Sc. (.....)

Penguji I : Iman Santoso, M.Phil (.....)

Penguji II : Dr. Andi Salamah (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 1 Juli 2015

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah *rabbil 'aalamiin*. Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang dengan segala kasih sayang-Nya-lah penulis bisa menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam penulis hanturkan kepada Nabi Muhammad SAW, sang manusia teladan. Penulis menyadari penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dra. Dian Hendrayanti, M.Sc. selaku Pembimbing atas ilmu, bimbingan, saran, dan dukungan yang diberikan kepada Penulis. Terima kasih untuk segala nasihat dan kesabaran yang luar biasa selama membimbing Penulis.
2. Iman Santoso, M.Phil selaku penguji I dan Dr. Andi Salamah selaku penguji II atas saran, masukan, dan perbaikan yang diberikan untuk penyempurnaan skripsi ini.
3. Dr.rer.nat. Yasman selaku Ketua Departemen Biologi FMIPA UI dan Dr. Andi Salamah selaku Ketua Prodi S1 Biologi FMIPA UI.
4. Mega Atria, M.Si dan Dr. Luthfiralda Sjahfirdi M.Biomed selaku Penasihat Akademik atas perhatian, dukungan, dan saran baik di bidang akademik maupun non-akademik yang diberikan kepada penulis.
5. Dra. Nining Betawati Prihantini, M.Sc., yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun, serta membagi pengalaman dan motivasi kepada penulis.
6. Seluruh staf pengajar Departemen Biologi FMIPA UI atas ilmu dan pengalaman yang telah diberikan.
7. Seluruh karyawan Departemen Biologi FMIPA UI atas segala bantuan yang telah diberikan.
8. Laboratorium *Center of Excellence Indigenous Biological Resources Genome Studies* (CoE IBR-GS), Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi FMIPA UI, dan UI-Olympus *Bioimaging Center* (UI-OBC) yang telah mengizinkan penulis untuk menggunakan fasilitas-fasilitas yang penulis butuhkan sehingga penulis dapat memperoleh hasil penelitian yang baik.

Terima kasih pula untuk para asisten laboratorium, terutama Kak Davina (CoE IBR-GS) dan *Mbak* Ulil (UI-OBC) yang dengan sabar membantu dan mendampingi penulis selama bekerja di laboratorium.

9. Mama dan Papa yang tidak pernah lelah menyebut Penulis dalam doa. Terima kasih untuk kasih sayang tiada dua dan kesabarannya dalam menunggu kelulusan Penulis.
10. Rekan-rekan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Ka April, Ka Regy, Ka Fajar, Wiwik, Deti, Sayu, dan Endah. Terima kasih untuk semangat dan kerjasama selama penelitian.
11. Teman-teman seperjuangan di BIOGENESIS, terutama Dwi dan Ayu, serta teman-teman 5.0 yang selalu berbagi semangat setiap malam dan dini hari sehingga penulis merasa optimis untuk menyelesaikan skripsi secepatnya.
12. Semua pihak yang telah membantu Penulis dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan namanya satu-persatu.

Akhir kata, penulis berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Depok, 1 Juli 2015

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rida Nasuha Bachri
NPM : 1006676230
Program Studi : Sarjana
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

demikian pengembanan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Perbandingan Kandungan Protein Tiga Strain *Nostoc* yang Ditambahkan pada Medium BG11 *N-free* dengan Tiga Variasi Natrium Karbonat (Na_2CO_3)

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 1 Juli 2015

Yang menyatakan



(Rida Nasuha Bachri)

ABSTRAK

Nama : Risdha Nasuha Bachri
Program Studi : Biologi
Judul : Perbandingan Kandungan Protein Tiga Strain *Nostoc* yang Ditumbuhkan pada Medium BG11 *N-free* dengan Tiga Variasi Natrium Karbonat (Na_2CO_3)

Kandungan protein yang dimiliki oleh *Nostoc* berpotensi dijadikan sumber bahan makanan alternatif. Protein tersebut dapat diperoleh secara maksimal apabila strain, medium, metode penghancuran sel, dan metode pengukuran kadar protein yang digunakan tepat. Strain yang digunakan dalam penelitian adalah strain CPG8, CPG24, dan GIA13a. Terdapat tiga macam medium yang digunakan, yaitu medium kontrol BG11 *N-free*, medium A, dan medium B. Ketiga medium tersebut memiliki kandungan Na_2CO_3 yang bervariasi. Kandungan Na_2CO_3 dalam medium kontrol adalah 0,02 gr/L, kandungan Na_2CO_3 dalam medium A adalah 0,04 gr/L, dan tidak terdapat Na_2CO_3 dalam medium B. Variasi kandungan Na_2CO_3 tersebut bertujuan untuk mengurangi selubung musilage. Selubung musilage dapat menghalangi proses penghancuran sel oleh sonikator. Akibatnya, jumlah protein yang keluar dari dalam sel tidak maksimal. Filtrat hasil sonikasi diukur kadar proteinnya menggunakan metode Bradford. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar protein *Nostoc* strain CPG8, CPG24, dan GIA13a yang ditumbuhkan pada ketiga medium berbeda-beda.

Kata kunci : *Nostoc*; protein; Na_2CO_3 ; sonikasi
xii + 44 hlm : 11 gambar; 5 tabel; 3 lampiran
Daftar referensi : 38 (1965--2014)

ABSTRACT

Name : Risdha Nasuha Bachri
Study Program : Biology
Title : Protein Content Comparison of The Three *Nostoc* Strain that were Grown on BG11 N-free medium with Three Natrium Carbonate (Na_2CO_3) Variation

Protein content owned by *Nostoc* potentially is used as alternative food sources. The protein can be maximum obtained if strain, medium, cell destruction method, and protein level measuring method is used appropriately. Strains that being used in the study is CPG8, CPG24, and GIA13a strain. There are three kinds of medium, namely the control medium BG11 N-free, medium treatment A and medium treatment B. Those medium contains vary Na_2CO_3 level. Na_2CO_3 level in control medium is 0,02 gr/L, Na_2CO_3 level in medium treatment A is 0,04 gr/L, and there is no Na_2CO_3 in medium treatment B. Variation content of Na_2CO_3 aims to reduce mucilage sheath. Mucilage sheath can hinder the process of cell destruction by sonicator. As a result, the amount of protein out of the cell was not optimal. The filtrate's protein level from sonication is measured using Bradford method. The results showed that the protein content of CPG8, CPG24, and GIA13a strain that were grown in three medium is vary.

Keywords : *Nostoc*; protein; Na_2CO_3 ; sonication
xii + 44 pages : 11 figures; 5 tables; 3 appendixes
Bibliography : 38 (1965--2014)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Marga <i>Nostoc</i>	5
2.2 Siklus Calvin Benson Bassham (CBB).....	7
2.3 Selubung Musilage	8
2.4 Faktor Pertumbuhan Kultur <i>Nostoc</i>	9
2.5 Metode Pengukuran Kadar Protein	10
2.6 Metode Penghancuran Sel	12
3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	15
3.2 Alat.....	15
3.3 Bahan.....	15
3.3.1 Mikroorganisme.....	15
3.3.2 Bahan Kimia.....	16
3.4 Cara Kerja	16
3.4.1 Sterilisasi Alat.....	16
3.4.2 Pembuatan Medium Cair	17
3.4.3 Penumbuhan Biakan Stok dan Biakan Kerja <i>Nostoc</i> sp.....	17
3.4.4 Sentrifugasi	18
3.4.5 Sonikasi`	18
3.4.6 Spektrofotometri	18
3.4.7 Teknik Pengecatan Negatif	19
3.5 Penyusunan, Pengolahan dan Analisis Data.....	20
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Pengamatan Morfologi Filamen <i>Nostoc</i> strain GIA13a, CPG8, dan CPG24.....	21
4.2 Kadar Protein <i>Nostoc</i> strain GIA13a.....	27
4.3 Kadar Protein <i>Nostoc</i> strain CPG8.....	31

4.4 Kadar Protein <i>Nostoc</i> strain CPG24.....	35
4.5 Perbandingan Hasil Pengukuran Kadar Protein <i>Nostoc</i> Strain GIA13a, CPG8, dan CPG24 dengan Penelitian Terdahulu	39
5. KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
6. DAFTAR ACUAN	43



DAFTAR TABEL

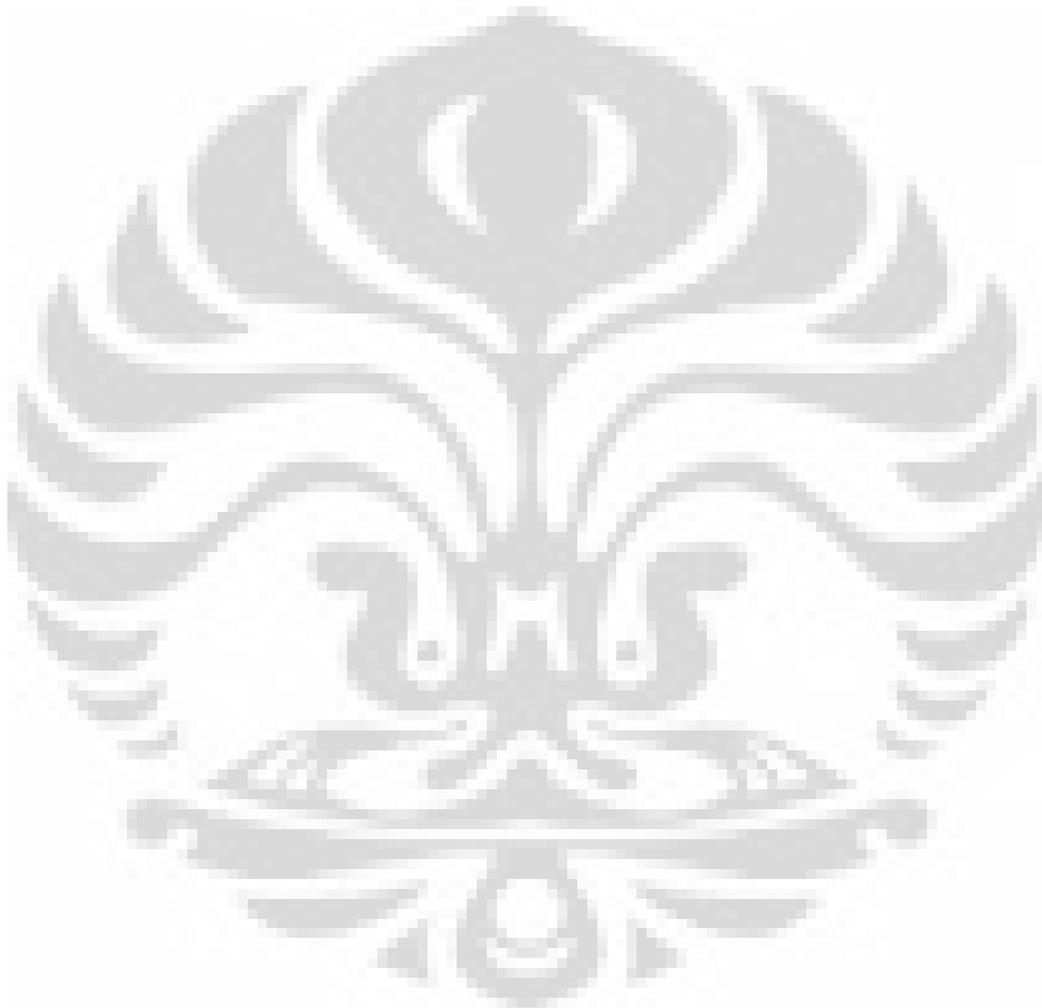
Tabel 1	Perbandingan kandungan protein dari beberapa mikroalga	2
Tabel 2.6	Metode-metode penghancuran sel bakteri	13
Tabel 3.5	Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian	20
Tabel 4.2(1)	Kondisi strain GIA13a yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, dan medium B	27
Tabel 4.2(2)	Kadar protein <i>Nostoc</i> strain GIA13a yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, dan medium B	29
Tabel 4.3(1)	Kondisi strain CPG8 yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, dan medium B	31
Tabel 4.3(2)	Kadar protein <i>Nostoc</i> strain CPG8 yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, dan medium B	33
Tabel 4.4(1)	Kondisi strain CPG24 yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, dan medium B	35
Tabel 4.4(2)	Kadar protein <i>Nostoc</i> strain CPG24 yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, dan medium B	37
Tabel 4.5	Perbandingan kadar protein <i>Nostoc</i>	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Pewarnaan negatif selubung musilage <i>Nostoc</i> sp.	3
Gambar 2.1	Morfologi <i>Nostoc</i> strain CPG8, CPG24, dan GIA13a ...	6
Gambar 2.2	Siklus Calvin Benson Bassham	7
Gambar 4.1(1)	Kondisi makroskopis <i>Nostoc</i> strain GIA13a, CPG8, dan CPG24.	21
Gambar 4.1(2)	Kondisi mikroskopis <i>Nostoc</i> strain GIA13a, CPG8, dan CPG24.	22
Gambar 4.1(3)	Selubung musilage <i>Nostoc</i> strain GIA13a yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B	24
Gambar 4.1(4)	Selubung musilage <i>Nostoc</i> strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B	25
Gambar 4.1(5)	Selubung musilage <i>Nostoc</i> strain CPG24 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema alur kerja penelitian	47
Lampiran 2	Komposisi bahan kimia yang digunakan untuk Pembuatan medium kontrol, medium A, dan medium B	48
Lampiran 3	Panduan warna Castell-Polychromos No. 9216	49



BAB 1 PENDAHULUAN

Protein merupakan salah satu sumber energi yang dibutuhkan oleh manusia. Saat ini, terdapat tiga sumber protein bagi manusia, yaitu protein hewani yang berasal dari hewan, protein nabati dari tumbuhan, dan protein sel tunggal (PST) dari mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme yang berpotensi menjadi sumber protein sel tunggal adalah mikroalga.

Mikroalga memiliki keunggulan dibandingkan sumber protein lainnya. Salah satu keunggulannya adalah mikroalga mampu menyintesis asam amino esensial dan non-esensial yang dibutuhkan oleh manusia. Selain itu, kualitas protein yang dihasilkan oleh mikroalga sebanding dengan protein dari tumbuhan (Becker 2007: 208). Sebagai contoh, menurut Blazencic (2007) (*lihat Kovac dkk. 2013: 22*), *Chlorella* mengandung protein yang kualitasnya setara dengan protein dari kedelai. Protein *Chlorella* tersebut juga setara dengan protein dari khamir dan susu.

Selain kandungan proteinnya, mikroalga juga unggul dalam hal kecepatan masa pembiakan dan luas lahan yang dibutuhkan untuk pembiakan. Mikroalga memiliki masa pembiakan yang lebih cepat dibandingkan hewan dan tumbuhan, sehingga manusia bisa mendapatkan protein dalam waktu yang lebih cepat pula. Lahan yang bisa digunakan sebagai tempat pembiakan juga tidak terbatas pada tanah saja. Pembiakan mikroalga bisa dilakukan dimana saja selama kebutuhan cahaya terpenuhi.

Meskipun kualitas protein mikroalga sangat potensial dijadikan sumber makanan alternatif, tidak semua mikroalga memiliki jumlah protein yang melimpah (Tabel 1). Tabel 1 menunjukkan perbedaan jumlah kandungan protein dari beberapa mikroalga. Perbedaan jumlah kandungan protein tersebut bisa disebabkan oleh perbedaan genetik diantara mikroalga-mikroalga tersebut .

Tabel 1. Perbandingan kandungan protein dari beberapa mikroalga

No.	Alga	Protein (% berat kering)
1	<i>Anabaena cylindrica</i>	43--56
2	<i>Scenedesmus obliquus</i>	50--56
3	<i>Spirogyra</i> sp.	6--20
4	<i>Spirulina platensis</i>	46--63

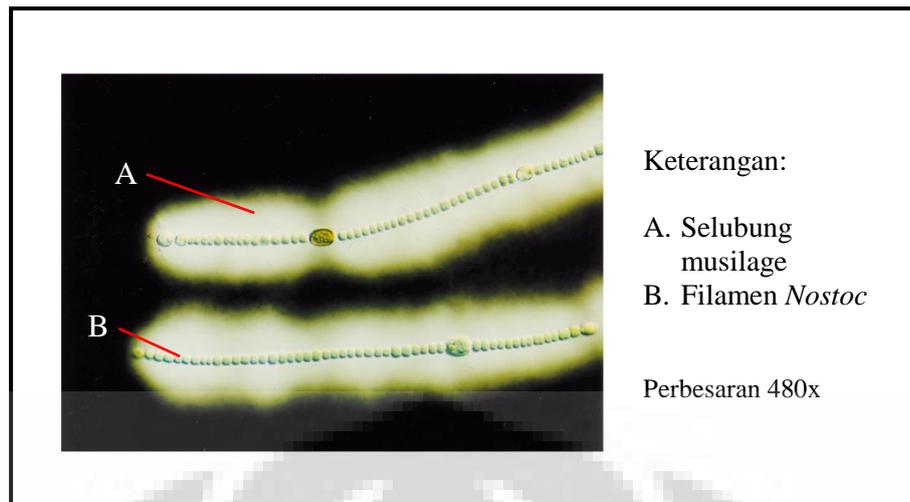
[Sumber: Becker 2007: 208.]

Perbedaan kandungan protein mikroalga tidak hanya terjadi antargenus, melainkan juga antarspesies dan antarstrain. Salah satu mikroalga tersebut adalah *Nostoc*. Beberapa spesies *Nostoc* diketahui memiliki perbedaan kadar protein. *Nostoc piscinale*, *Nostoc verrucosum*, dan *Nostoc muscorum* yang ditemukan di Rajashtan memiliki kadar protein sebesar 6,1 µg/mL, 82,0 µg/mL, dan 235 µg/mL (Tiwari dkk. 2005: 169). Beberapa strain *Nostoc* juga diketahui memiliki perbedaan kadar protein. Strain TAB7D02, GIA12-02, GIA13a, dan GIA13B koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan memiliki kadar protein sebesar 76 µg/mL, 31 µg/mL, 274 µg/mL, dan 106 µg/mL (Sinaga 2009: 57).

Nostoc adalah salah satu mikroalga yang telah dimanfaatkan sebagai bahan makanan sejak zaman dahulu (Potts 1997: 584). *Nostoc* termasuk ke dalam filum Cyanobacteria. Morfologi *Nostoc* berbentuk filamen lurus tidak bercabang yang disusun oleh sel-sel vegetatif. Sel vegetatif *Nostoc* dapat berbentuk bulat, *barrel-shaped*, atau oval (Vashishta 1999: 38). *Nostoc* memiliki pigmen fikobilin, klorofil, karoten, dan xantofil (Bold & Wyne 1985: 20 & 39). Daerah persebaran *Nostoc* sangat luas, meliputi ekosistem terestrial, akuatik, maupun bersimbiosis dengan organisme lain (Bold & Wyne 1985: 60).

Nostoc memiliki filamen yg diselubungi oleh selubung musilage (Gambar 1). Selubung musilage tersebut tersusun atas polisakarida ekstraselular, terutama dalam bentuk selulosa (Barsanti & Gualtieri 2006: 36). Selulosa tersusun atas karbon yang membentuk rantai-rantai panjang tak bercabang. Struktur paralel dan ketiadaan percabangan pada rantai-rantai tersebut menyebabkan selulosa menjadi kuat dan sulit untuk dihidrolisis (Fried & Hademenos 2006: 25).

Universitas Indonesia



Gambar 1. Pewarnaan negatif selubung musilage *Nostoc* sp.

[Sumber: De Philippis & Vincenzini 1998: 154.]

Sebelum mendapatkan kadar protein, sel *Nostoc* perlu dihancurkan terlebih dahulu. Selubung musilage bisa menghambat proses penghancuran sel tersebut. Oleh karena itu, selubung musilage perlu dikurangi kepadatannya. Pengurangan kepadatan selubung musilage tersebut dapat dilakukan melalui pengurangan sumber karbon. Sumber karbon anorganik di dalam medium adalah natrium karbonat (Na_2CO_3). Hasil pra-penelitian menunjukkan bahwa pengurangan Na_2CO_3 di dalam medium BG 11 N-free menjadi 10% dari komposisi normal berdampak positif terhadap efektifitas penghancuran sel.

Setelah kepadatan selubung musilage berhasil dikurangi, sel *Nostoc* perlu dihancurkan untuk mengeluarkan protein yang berada di dalamnya. Salah satu metode yang efektif untuk menghancurkan sel *Nostoc* adalah metode sonikasi (Kim dkk. 2009: 251). Metode sonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik pada frekuensi 20 kHz--2000 kHz (Handa 2008: 25). Gelombang ultrasonik tersebut akan menyebabkan terjadinya kavitasi sehingga sel menjadi pecah dan protein yang berada di dalam sel dapat dikeluarkan.

Protein yang telah diperoleh perlu diukur kadarnya. Terdapat banyak metode pengukuran kadar protein, diantaranya adalah metode Lowry dan metode Bradford. Metode Lowry merupakan metode yang mudah dilakukan, namun

sensitif terhadap asam etilenadiminatetraasetat (EDTA) (Ahmed 2005: 47). Asam etilenadiminatetraasetat (EDTA) adalah salah satu komposisi dalam medium BG 11 *N-free* sehingga metode Lowry kurang cocok untuk digunakan dalam penelitian ini. Oleh karena itu, dipilih metode lain yaitu metode Bradford. Metode Bradford memiliki beberapa keunggulan, yaitu waktu reaksi yang cepat (10 menit) (Bradford 1976: 248), tidak sensitif terhadap EDTA, dan hanya membutuhkan sampel yang sedikit, yaitu 5--40 µg/ml (Ahmed 2005: 53--54).

Berdasarkan studi literatur, kadar protein pada *Nostoc* dipengaruhi oleh strain, kepadatan selubung musilage, proses penghancuran sel, dan metode pengukuran kadar protein. Strain yang digunakan pada penelitian ini adalah strain CPG8, CPG24, dan GIA13a. Kepadatan selubung musilage ketiga strain tersebut dikurangi dengan cara ditumbuhkan pada medium BG11 *N-free* dengan variasi kadar Na₂CO₃, yaitu kadar normal (0,02 g/L) pada medium kontrol, dua kali kadar normal (0,04 g/L) pada medium perlakuan A, dan tanpa penambahan Na₂CO₃ (0 g/L) pada medium perlakuan B. Sel *Nostoc* tersebut dihancurkan menggunakan sonikator. Selanjutnya kadar protein diukur menggunakan metode Bradford.

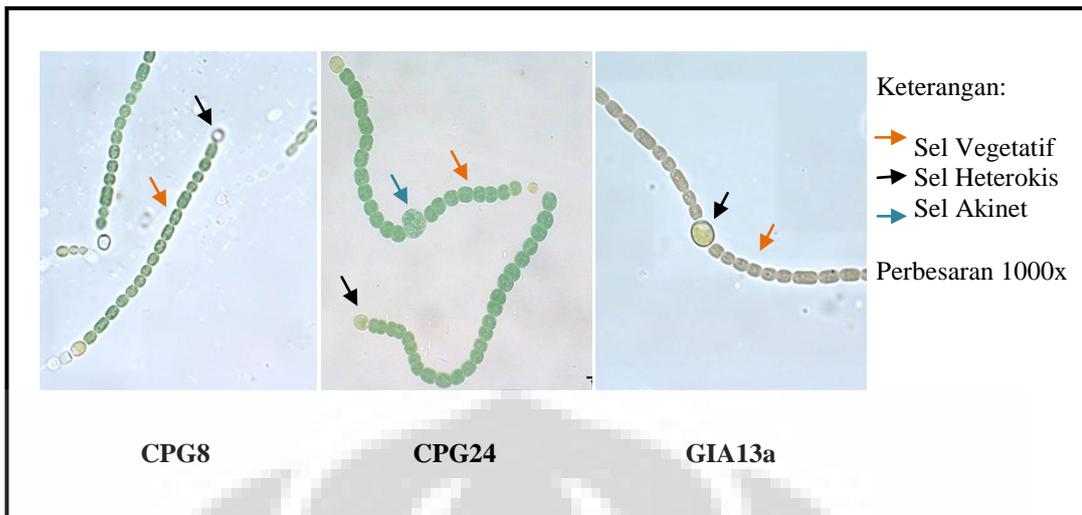
Tujuan penelitian adalah untuk membandingkan kandungan protein *Nostoc* strain CPG8, CPG24, dan GIA13a yang ditumbuhkan dalam medium kontrol, medium perlakuan A, dan medium perlakuan B. Hipotesis penelitian adalah terdapat perbedaan kadar protein pada ketiga strain *Nostoc* yang digunakan tersebut. Manfaat dari penelitian adalah menambah informasi mengenai kandungan protein yang dimiliki oleh *Nostoc*, khususnya *Nostoc* koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Universitas Indonesia.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Marga *Nostoc*

Nostoc telah dimanfaatkan oleh manusia sejak lebih dari 1600 tahun yang lalu. Hal tersebut dibuktikan oleh penemuan transkrip kuno pada masa Dinasti Jin yang menjelaskan tentang *Ge-Xian-Mi*. *Ge-Xian-Mi* adalah *Nostoc commune* yang dikonsumsi sebagai bahan makanan pokok oleh seorang alkemis dan pertapa bernama Hung Ge. Di Jerman, *Nostoc* dikenal sebagai *sternschnuppen* yang berarti "bintang jatuh". Hal tersebut disebabkan pertumbuhan *Nostoc* selalu terjadi secara cepat setelah hujan deras yang disertai petir sehingga masyarakat Jerman pada masa itu menganggap bahwa *Nostoc* diturunkan dari langit bersamaan dengan hujan yang turun. Nama "*Nostoc*" pertama kali diperkenalkan oleh ilmuwan kelahiran Swiss bernama Aureolus Philippus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, atau yang lebih dikenal sebagai Paracelsus, pada 500 tahun yang lalu. Paracelsus menggabungkan kata "*Nostrhyl*" (bahasa Inggris kuno) dan "*Nasenloch*" (bahasa Jerman) menjadi "*Nostoch*". *Nostrhyl* dan *Nasenloch* memiliki arti yang sama, yaitu hidung. Penggunaan kedua kata tersebut berhubungan dengan *mucilage* yang dihasilkan oleh *Nostoc* yang tampak mirip dengan lendir yang dihasilkan oleh hidung (Potts 1997: 584).

Nostoc adalah mikroalga uniseluler yang berkoloni membentuk filamen. Filamen *Nostoc* disusun oleh beberapa sel vegetatif yang berbentuk bulat, *barrel-shaped*, atau oval. Beberapa sel vegetatif tersebut menyusun trikome. Sel vegetatif yang menyusun trikome dapat berdiferensiasi menjadi sel heterokis dan akinet (Madigan dkk. 2011: 534). *Nostoc* merupakan organisme prokariotik karena tidak memiliki membran pemisah antara inti sel dengan sitoplasma (Gault & Marler 2009: 259). Secara taksonomi, *Nostoc* termasuk ke dalam divisi Cyanobacteria, ordo Nostocales, dan famili Nostocaceae. *Nostoc* digolongkan sebagai ordo Nostocales karena memiliki talus berbentuk filamen lurus yang tidak bercabang dan dapat membentuk sel heterokis (Whitton 2001: 90).



Gambar 2.1 Morfologi *Nostoc* strain CPG8, CPG24, dan GIA13a

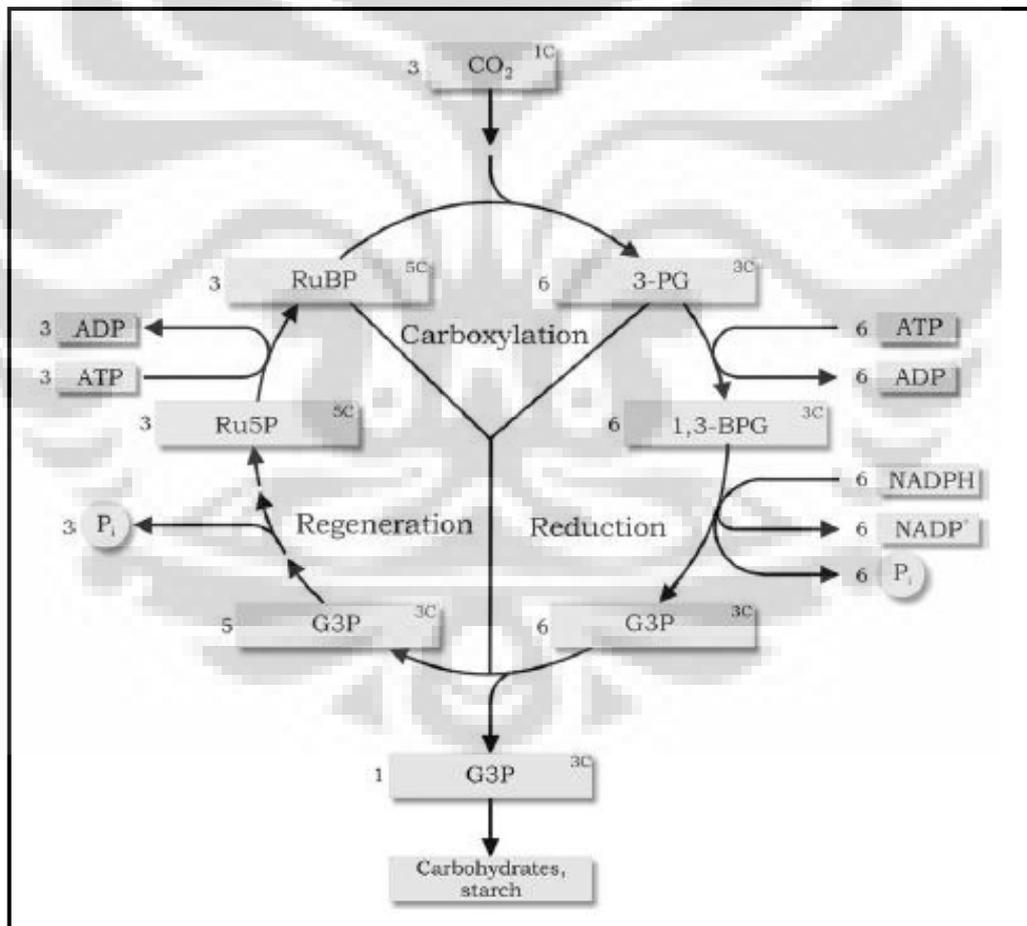
Heterokis adalah sel vegetatif berukuran besar, berdinding tebal, dan terlihat bening yang berfungsi untuk mengikat nitrogen. Heterokis memiliki polar nodul di kedua ujung. Akinet adalah sel vegetatif berdinding tebal yang berisi cadangan makanan. Akinet berfungsi seperti endospora pada bakteri karena mampu bertahan bertahun-tahun pada kondisi ekstrim (Lee 2008: 45--46). Sel heterokis dan sel vegetatif pada *strain* CPG8, CPG24, dan GIA13a ditunjukkan oleh Gambar 2.1.

Nostoc dapat melakukan reproduksi secara aseksual melalui pembentukan hormogonia, akinet, dan heterokis. Hormogonia adalah segmen kecil dari trikome yang terdiri dari beberapa sel. Trikome tersebut lepas pada bagian heterokis karena sambungan antara sel vegetatif dan heterokis terlalu lemah. Hormogonia yang telah terbentuk akan menyekresikan lapisan *mucilage* dan membentuk heterokis di ujungnya. Akinet adalah spora yang terbentuk pada kondisi kurang menguntungkan. Ketika kondisi lingkungan kembali normal, akinet akan melakukan germinasi untuk membentuk koloni baru. Bentuk akinet antar-*Nostoc* tidak sama. Heterokis juga bisa menjadi alat reproduksi pada beberapa spesies *Nostoc*. Bagian protoplas pada heterokis akan membelah dan membentuk hormogonia berukuran kecil. Polar nodul di ujung heterokis akan pecah dan melepaskan sejumlah endospora berukuran kecil dan berbentuk bulat

(Bold & Wayne 1985: 43--44).

2.2 Siklus Calvin Benson Bassham (CBB)

Siklus Calvin Benson Bassham (siklus CBB) adalah siklus yang mengubah karbon anorganik dari lingkungan menjadi karbohidrat dan pati. Siklus CBB terbagi menjadi 3 fase, yaitu fase karboksilasi, reduksi, dan regenerasi. Fase karboksilasi meliputi fiksasi CO_2 menjadi bentuk organik intermediet yang stabil, fase reduksi meliputi reduksi bentuk organik intermediet menjadi karbohidrat, dan fase regenerasi meliputi regenerasi aseptor CO_2 (Barsanti & Gualtieri 2006: 153).



Gambar 2.2. Siklus Calvin Benson Bassham

[Sumber: Barsanti & Gualtieri 2006: 154.]

Siklus CBB dimulai ketika karbon anorganik dari lingkungan melewati membran sel dan masuk ke dalam sitosol. Selanjutnya karbon anorganik tersebut dibawa ke dalam karboksisom dan digunakan dalam reaksi karboksilasi oleh enzim RubisCo untuk menghasilkan 2 *phosphoglyceric acid* (PGA) (Graham & Wilcox 2000: 31--34). Fase berikutnya adalah fase reduksi. Pada fase tersebut, 2 PGA yang dihasilkan dari fase karboksilasi direduksi menjadi 6 G3P (glyceraldehyde-3-phosphate). Satu G3P keluar dari siklus CBB, dan 5 lainnya masuk ke dalam fase terakhir, yaitu fase regenerasi. Pada fase ini, G3P diubah menjadi Ru5P (ribulose 5-phosphate). Selanjutnya Ru5P mengalami fosforilasi untuk menghasilkan RuBP kembali. Satu G3P yang dihasilkan dapat disimpan di dalam kloroplas sebagai pati atau keluar menuju sitoplasma untuk diubah menjadi karbohidrat (Barsanti & Gualtieri 2006: 154--155). Karbohidrat merupakan senyawa yang mengandung karbon, hidrogen, dan oksigen dengan formula umum berupa $C_n(H_2O)_n$. Karbohidrat dapat berupa gula (monosakarida, disakarida, dan polisakarida), pati, dan selulosa (Rittner & McCabe 2004:52).

2.3 Selubung musilage

Musilage adalah material organik yang disusun oleh polisakarida ekstraselular. Musilage mengembang di dalam air dan berlendir jika disentuh (Bellinger & Sigeo 2010: 250). Selubung musilage merupakan musilage yang menyelubungi sel atau koloni mikroalga. Salah satu mikroalga yang memiliki selubung musilage adalah *Nostoc*.

Selubung musilage pada *Nostoc* tebal dan luas, bertekstur kasar, dan berwarna kecoklatan (Bellinger & Sigeo 2010: 165). Polisakarida ekstraselular yang menyusun musilage *Nostoc* mengandung selulosa (Barsanti & Gualtieri 2006: 36). Selulosa adalah polisakarida yang tersusun oleh karbon yang membentuk rantai-rantai panjang tanpa cabang. Struktur paralel dan ketiadaan percabangan pada rantai-rantai tersebut menyebabkan selulosa kuat dan sulit untuk dihidrolisis (Fried & Hademenos 2006: 25).

Selubung musilage memiliki banyak fungsi. Fungsi utama selubung musilage adalah sebagai tempat penyimpanan air (Potts 1994: 783). Menurut

Chang (1980) (*lihat* Whitton & Potts 2002: 473), selubung musilage mampu memperlambat pertukaran gas dengan lingkungan. Kandungan polisakarida pada selubung musilage juga dapat menjadi sumber nutrisi bagi *Nostoc* ketika berada di habitat yang miskin nutrisi sehingga *Nostoc* dapat bertahan hidup (Tease & Walker 1987: 3337).

Pengamatan selubung musilage dapat dilakukan melalui tiga cara. Cara pertama dan paling sederhana adalah dengan menggunakan fase kontras pada mikroskop cahaya. Cara kedua adalah menggunakan teknik pewarnaan negatif. Tinta yang digunakan dalam pewarnaan negatif tidak akan mewarnai musilage. Cara ketiga adalah menggunakan mikroskop fluorescence. Sementara itu, untuk mengetahui informasi material penyusun musilage dapat menggunakan *atomic force microscopy* (AFM) (Sigeo 2005: 130).

2.4 Faktor pertumbuhan kultur *Nostoc*

Definisi pertumbuhan pada mikroorganisme adalah penambahan volume sel. Pertambahan volume sel terjadi karena adanya pertambahan protoplasma dan senyawa asam nukleat yang melibatkan sintesis DNA dan pembelahan mitosis. Pertumbuhan yang terjadi bersifat irreversibel (Gandjar dkk. 2006: 36). Pertumbuhan kultur *Nostoc* dipengaruhi oleh beberapa faktor yang meliputi nutrisi dalam medium, derajat keasaman (pH), suhu, pengadukan, cahaya, jumlah, dan umur inokulum (Fogg 1965: 13--15).

Nutrien dibutuhkan *Nostoc* sebagai bahan pembangun sel (Campbell dkk. 2002: 339--340). Terdapat dua macam nutrisi, yaitu makronutrien dan mikronutrien. Makronutrien adalah nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah banyak. Makronutrien yang dibutuhkan *Nostoc* meliputi unsur C, H, O, N, P, S, K, Na, dan Mg. Mikronutrien adalah nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit. Mikronutrien yang dibutuhkan *Nostoc* meliputi unsur Mn, B, Mo, Cu, Fe, dan Co (Fogg dkk. 1973: 133--134). Unsur C, H, dan O merupakan unsur utama penyusun protein, karbohidrat, dan lipid (Becker 1994: 25--27).

Derajat keasaman (pH) adalah tingkat asam basa suatu larutan yang diukur dengan skala 0--14. Mikroalga air tawar memiliki pH medium yang berkisar

antara 6--8 seperti habitat aslinya. Besarnya pH dipengaruhi oleh gas CO₂ yang terlarut dalam bentuk asam bikarbonat (HCO³⁻) (Graham & Wilcox 2000: 557).

Suhu memengaruhi peningkatan atau penurunan laju metabolisme sel *Nostoc* (Madigan dkk. 2012: 147, 154). Suhu yang digunakan untuk pengulturan mikroalga harus mendekati suhu habitat asli. Hal tersebut penting dilakukan karena suhu yang terlalu rendah akan memperlambat pertumbuhan sel, sementara suhu yang terlalu tinggi akan mematikan sel. Sebagian besar mikroalga dapat tumbuh dengan baik pada suhu 16°C--27°C (Barsanti & Gualtieri 2006: 213).

Pengadukan memiliki peran yang penting dalam pertumbuhan kultur. Terdapat empat fungsi pengadukan, yaitu untuk mencegah sedimentasi mikroalga, menyetarakan paparan cahaya dan nutrisi yang diterima mikroalga, mencegah stratifikasi termal, dan meningkatkan pertukaran gas antara medium dan udara. Pengadukan bisa dilakukan dengan beberapa cara, tergantung pada skala pengulturan yang digunakan. Pengadukan menggunakan tangan setiap hari dapat dilakukan pada kultur yang ditumbuhkan di Erlenmeyer, aerasi untuk kultur yang ditumbuhkan di tangki, dan *jet pumps* untuk kultur yang ditumbuhkan di kolam (Barsanti & Gualtieri 2006: 214).

2.5 Metode pengukuran kadar protein

Protein adalah senyawa yang disusun oleh 20 macam asam amino yang berikatan kovalen dalam urutan tertentu (Brock & Madigan 1991: 34). Kualitas nutrisi pada protein ditentukan oleh jenis dan proporsi asam amino penyusunnya (Becker 2007: 208). Terdapat dua golongan asam amino, yaitu asam amino esensial dan asam amino non-esensial. Asam amino esensial adalah asam amino yang diperoleh dari luar karena tidak dapat disintesis oleh tubuh. Asam amino non-esensial adalah asam amino yang dapat disintesis oleh tubuh sehingga tidak memerlukan asupan dari luar (Fessenden & Fessenden 1986: 363).

Protein dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan fungsinya, yaitu protein struktural dan protein fungsional. Protein struktural adalah protein yang berfungsi untuk menyusun struktur sel. Protein fungsional adalah protein yang berfungsi sebagai enzim (Brock & Madigan 1991: 34). Cyanobacteria memiliki kedua

macam protein tersebut. Protein struktural merupakan penyusun dinding sel, membran sel, kompleks protein-klorofil a, karotenoid, dan fikobilisom pada cyanobacteria. Sementara itu, protein fungsional pada cyanobacteria berupa enzim, diantaranya adalah DNase, phosphatase, dan protease (Coyley dkk. 2005: 560, 566--567).

Kadar protein dapat diukur dengan beberapa metode yang terbagi kedalam tiga kelompok, yaitu metode *UV absorption*, metode pewarnaan (*colorimetric*), dan metode fluoresen. Metode *UV absorption* adalah metode pengukuran kadar protein pada panjang gelombang 280 nm atau 205 nm tanpa menggunakan reagen. Metode pewarnaan adalah metode pengukuran kadar protein menggunakan pewarna tertentu. Metode fluoresen adalah metode pengukuran kadar protein menggunakan fluorescamine (Ahmed 2005: 35--68).

Metode pewarnaan merupakan kelompok metode yang sering digunakan dibandingkan kelompok metode lainnya. Terdapat enam macam metode pewarnaan, yaitu metode Biuret, metode Lowry, metode BCA (bicinchonic acid), metode Bradford, metode *colloidal gold*, dan metode Ninhydrin. Metode Lowry dan metode Bradford paling banyak digunakan dalam penelitian karena mampu menguji berbagai kondisi sampel dan mudah digunakan (Ahmed 2005: 42).

Metode Lowry adalah pengembangan dari metode Biuret. Metode Lowry memanfaatkan reaksi antara protein dengan tembaga sulfat (CuSO_4) pada kondisi basa dan pengurangan phosphomolybdotungstat oleh reagen Folin-Ciocalteu. Metode Lowry mampu mendeteksi protein pada kisaran 0,01 -- 1 mg/ml sehingga metode tersebut lebih sensitif daripada metode Biuret. Kekurangan metode Lowry adalah banyak reagen yang bisa mengganggu jalannya reaksi selama pengujian berlangsung. Reagen tersebut antara lain detergen, mercaptoetanol, dithiothreitol, asam kuat, ammonium sulfat, dan EDTA. Kekurangan lainnya adalah ketidakstabilan reagen Folin pada kondisi basa dan reagen tersebut hanya reaktif beberapa menit setelah penambahan (Ahmed 2005: 46--49).

Metode Bradford adalah metode pengukuran kadar protein yang menggunakan pewarna *Coomassie Brilliant Blue G-250* (Bradford 1976: 248). Pewarna tersebut mampu bereaksi dengan asam amino esensial dan aromatic. Terdapat dua format metode Bradford, yaitu *standard assay* dan *microassay*.

Universitas Indonesia

Standard assay mampu mendeteksi kadar protein antara 0,1--1 mg/ml sedangkan *microassay* mampu mendeteksi kadar protein antara 5--40 µg/ml. Keunggulan metode Bradford dibandingkan metode Lowry adalah total waktu yang dibutuhkan untuk melakukan metode Bradford lebih cepat (Bradford 1976: 248) dan reaksi pada metode Bradford tidak terganggu oleh reagen lain kecuali deterjen (Ahmed 2005: 53--54)

Metode pewarnaan harus menggunakan larutan standar protein sebagai acuan dalam menghitung kadar protein. Larutan standar protein yang umum digunakan adalah Bovine Serum Albumin (BSA). Larutan BSA banyak digunakan karena harganya yang murah dan tersedia dalam bentuk murni (Ahmed 2005: 42).

2.6 Metode Penghancuran Sel

Bakteri memiliki dinding sel yang kaku dengan daya tarik yang kuat akibat adanya interaksi antarmolekul. Hal tersebut menimbulkan kesulitan dalam usaha penghancuran sel bakteri. Oleh karena itu, dibutuhkan metode-metode yang signifikan untuk menghancurkan sel bakteri (Barton 2005: 33).

Berdasarkan alat atau bahan yang digunakan, terdapat dua macam metode penghancuran sel, yaitu secara kimia dan fisika. Metode penghancuran sel secara kimia melibatkan enzim atau antibiotik untuk menurunkan stabilitas dinding sel bakteri. Salah satu enzim yang biasa digunakan adalah lisozim. Sementara itu, metode penghancuran sel secara fisika melibatkan alat-alat tertentu. Alat yang paling umum digunakan adalah sonikator dan *French press*. Metode penghancuran sel lain yang pernah digunakan pada bakteri dapat dilihat pada Tabel 2.6.

Salah satu metode penghancuran sel adalah metode sonikasi. Metode sonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik pada frekuensi 20 kHz--2000 kHz untuk meningkatkan permeabilitas dinding sel *Nostoc* sehingga proses perpindahan massa senyawa bioaktif dari dalam sel *Nostoc* ke pelarut menjadi lebih cepat. Gelombang ultrasonik yang digunakan menyebabkan proses kavitasi terjadi. Kavitasi adalah peristiwa pembentukan gelembung udara dari cairan yang

Universitas Indonesia

mengalir akibat penurunan tekanan cairan tersebut sampai di bawah titik jenuh uapnya. Pecahnya gelembung udara tersebut menghasilkan gaya yang dapat menghancurkan sel (Handa 2008: 25). Menurut de Castro dan Capote (2007: 14), terdapat dua jenis sonikator komersil yang biasa digunakan untuk aplikasi analisis, yaitu *ultrasonic cleaning bath* dan *ultrasonic probes*.

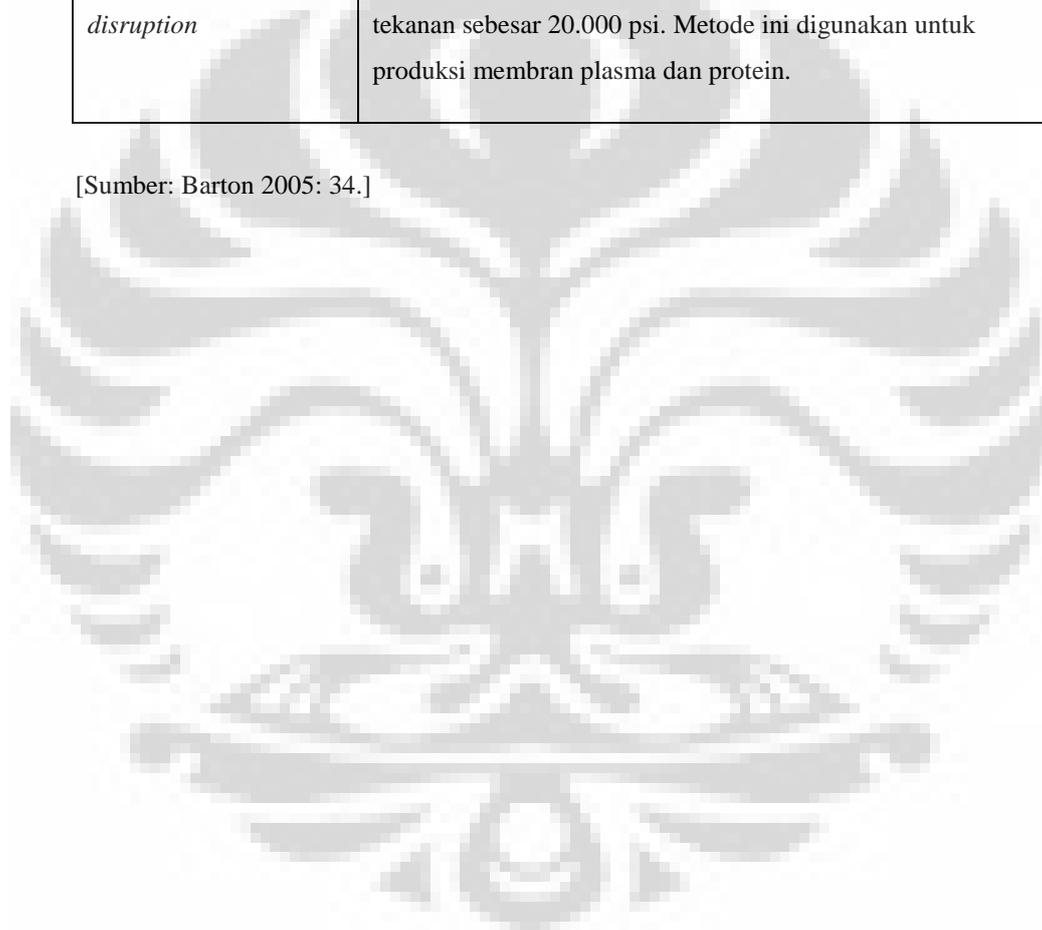
Metode penghancuran sel yang pernah dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Universitas Indonesia adalah metode *grinding*. Metode tersebut digunakan untuk mengekstraksi protein dari empat strain *Nostoc*, yaitu strain TAB7d02, GIA12-02, GIA13a, dan GIA13B. Sebelum dihancurkan, sampel *Nostoc* terlebih dahulu diinapkan di dalam freezer selama satu malam, kemudian direbus di dalam air mendidih selama 30 menit. Perebusan bertujuan untuk membuka pori-pori sel. Selanjutnya sampel tersebut dipindahkan ke mortar dan digerus (*grinding*) menggunakan alu (Sinaga 2009: 23). Metode *grinding* merupakan metode yang sederhana dan ekonomis, namun tahap perebusan yang dilakukan sebelum penggerusan beresiko merusak protein. Resiko tersebut terkait dengan sifat protein yang tidak tahan terhadap panas.

Tabel 2.6. Metode-Metode Penghancuran Sel Bakteri

Metode	Penjelasan
Autolisis	<i>Self-digestion</i> bakteri oleh enzimnya sendiri. Tidak direkomendasikan karena menyebabkan perubahan struktur sel. Jarang digunakan dalam penelitian.
<i>Osmotic lysis</i>	<i>Lysozyme</i> ditambahkan untuk menurunkan stabilitas peptidoglikan, kemudian protoplas atau speroplas yang dihasilkan dimasukkan ke dalam air hingga terjadi lisis. Metode ini dapat digunakan dengan baik jika jumlah sampel sedikit.

<i>Sonikasi (ultrasonic treatment)</i>	Digunakan untuk penghancuran sel yang bertujuan untuk isolasi membran, peptidoglikan, atau protein. Proses penghancuran sel hanya membutuhkan beberapa menit.
<i>Grinding</i>	Sel bakteri dihancurkan menggunakan mortar dan alu. Dapat ditambahkan pasir atau <i>glass beads</i> selama proses <i>grinding</i> .
<i>Pressure cell disruption</i>	Alat yang biasa digunakan adalah <i>French press</i> . Suspensi bakteri dimasukkan ke dalam silinder baja dan diberikan tekanan sebesar 20.000 psi. Metode ini digunakan untuk produksi membran plasma dan protein.

[Sumber: Barton 2005: 34.]



BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan data penelitian dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium *Center of Excellence Indigenous Biological Resources Genome Studies* (CoE IBR-GS), dan Laboratorium UI-Olympus Bioimaging Center Universitas Indonesia, Depok. Penelitian dilakukan selama 6 bulan, yaitu pada bulan Juni sampai dengan November 2014.

3.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam pengambilan data eksperimen meliputi Erlenmeyer (ukuran 25 mL), *beaker glass* [HARIO] (ukuran 100 mL, 500 mL dan 1000 mL), *microtubes* (2 mL), pipet volumetrik (5 mL dan 10 mL), pipet *pasteur*, timbangan analitik, *hot plate* dengan *magnetic stirrer*, kompor listrik, autoklaf, oven, inkubator, *transfer box*, gunting, spatula, botol semprot, korek api, pembakar spiritus, spidol marker, *bulb* karet, tabung sentrifugasi plastik (50 mL) [CORNING], *refrigerated centrifuge thermo scientific* [Sorvall Biofuge Primo R Centrifuge], Insonator 2014 [KUBOTA], *stabilizer*, Nanodrop 1000 *spectrophotometer*, timbangan neraca [OHAUS], dan Olympus IX73 *Research Inverted Microscope*.

3.3 Bahan

3.3.1 Mikroorganisme

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah 3 *strain Nostoc*, yaitu CPG8, CPG24, dan GIA13a. Ketiga *strain* tersebut adalah koleksi Laboratorium

Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, FMIPA Universitas Indonesia dan telah diidentifikasi secara molekuler sebagai *Nostoc* Spp.. *Strain* CPG8 dan CPG24 berasal dari Desa Ciptagelar, Kasepuhan, Jawa Barat dan *strain* GIA13a berasal dari Desa Gianyar, Bali (Hendrayanti dkk. 2012: 204--205).

3.3.2 Bahan Kimia

Media pembiakan ketiga *strain Nostoc* adalah medium cair *Blue-Green* 11 bebas nitrogen (BG 11 *N-free*). Terdapat dua variasi medium tersebut yang juga digunakan, yaitu medium A dan medium B. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian adalah akuades, spiritus, alkohol 70%, ddH₂O, dan bahan-bahan kimia yang digunakan dalam pembuatan medium cair BG 11 *N-free* normal, medium A dan medium B dapat dilihat di lampiran (Lampiran 2).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Sterilisasi Alat

Seluruh peralatan yang akan digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu. Persiapan sterilisasi dilakukan dengan membungkus peralatan-peralatan tersebut. Beaker glass, labu Erlenmeyer, dan gelas ukur dibungkus dengan dua lapisan pada bagian mulut botol, yaitu aluminium foil pada lapisan pertama dan kertas pembungkus pada lapisan kedua. Seluruh bagian pipet dibungkus dengan satu lapis kertas pembungkus. Masing-masing peralatan yang sudah dibungkus kemudian diikat dengan tali kasur dan disterilisasi dalam oven pada suhu 110°C selama 2 jam. Tabung sentrifugasi plastik disterilisasi dengan cara direndam di dalam larutan alkohol 70% selama 24 jam. Ruang *Laminar Air Flow Cabinet* (LFC) bagian dalam disterilisasi dengan cara menyemprotkan alkohol 70% secara merata kemudian dikeringkan menggunakan kertas tisu. Lampu ultraviolet (UV) dinyalakan selama 30 menit sebelum dan sesudah LFC digunakan.

3.4.2 Pembuatan Medium Cair

Medium yang digunakan dalam pembiakan ketiga *strain Nostoc* adalah medium cair BG 11 N-free ($\text{Na}_2\text{CO}_3 = 0,02$), medium A ($\text{Na}_2\text{CO}_3 = 0,04$), dan medium B ($\text{Na}_2\text{CO}_3 = 0,02$). Ketiga medium tersebut dibuat dengan terlebih dahulu menyiapkan bahan-bahan kimia yang diperlukan menggunakan timbangan analitik. Bahan kimia yang telah ditimbang dilarutkan dalam akuades hingga volume akhir 1000 mL.

Derajat keasaman ketiga medium tersebut adalah 7,2. Pengaturan pH medium dilakukan dengan menambahkan NaOH 1M hingga pH mencapai 7,2. Pengukuran pH dilakukan menggunakan kertas indikator pH dengan skala 5,2--7,2. Selanjutnya, medium dimasukkan ke dalam botol medium dan disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm.

3.4.3 Penumbuhan biakan stok dan biakan kerja *Nostoc sp.*

Biakan stok dan biakan kerja dibuat dengan menggunakan biakan *Nostoc sp.* strain CPG8, CPG24, dan GIA13a. Biakan stok dibuat dengan cara mengambil sebanyak 0,05 mL *Nostoc* yang sudah dimurnikan, kemudian diteteskan ke dalam cawan petri yang berisi medium BG 11 N-free padat. Biakan tersebut di-streak di seluruh permukaan medium. Proses tersebut dilakukan secara aseptis dan diulangi sebanyak lima kali. Seluruh biakan yang telah dibuat diinkubasi selama 14 hari.

Setelah 14 hari, sebanyak 0,1 g biakan stok diinokulasi ke dalam 25 mL *fresh medium* cair BG 11 N-free normal, medium A, dan medium B pada Erlenmeyer ukuran 100 mL. Mulut Erlenmeyer kemudian ditutup menggunakan aluminium foil dan kertas pembungkus. Setiap Erlenmeyer diberi label sesuai tanggal pengerjaan. Erlenmeyer yang berisi biakan *strain Nostoc* diinkubasi selama 21 hari di ruang kultur alga. Suhu ruangan kultur sebesar 23°C dengan intensitas cahaya sebesar 3000 luks dan periode penyinaran 14 jam terang : 10 jam gelap (Asmanina 2010: 25). Pengocokan kultur *strain Nostoc* dilakukan setiap hari kerja sampai dengan hari ke-21 agar kultur tetap homogen.

3.4.4 Sentrifugasi

Biomassa *Nostoc* disentrifugasi setelah berumur 21 hari. Sentrifugasi dilakukan selama 15 menit pada kecepatan 8000 rpm. Biomassa tersebut terlebih dahulu dipindahkan ke dalam botol sentrifugasi plastik 50 ml. Botol sentrifugasi yang sudah berisi biomassa *Nostoc* ditimbang menggunakan timbangan neraca. Setiap botol sentrifugasi harus memiliki pasangan dengan berat biomassa yang sama. Hal tersebut dilakukan agar proses sentrifugasi berjalan dengan baik. Setelah sentrifugasi selesai, bagian pellet hasil sentrifugasi diambil untuk disonikasi.

3.4.5 Sonikasi

Pellet hasil sentrifugasi ditimbang terlebih dahulu sampai berat pellet dari ketiga *strain* sama. Kemudian pellet yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam kolom sonikator. Sonikasi dilakukan menggunakan alat Insonator 2014 [KUBOTA]. Setiap pellet disonikasi selama 15 menit pada level 160 W. Hasil sonikasi dimasukkan kembali ke dalam botol sentrifugasi dan disentrifugasi lagi selama 15 menit untuk memperoleh supernatan.

3.4.6 Spektrofotometri

Supernatan yang telah diperoleh diukur kadar proteinnya menggunakan metode Bradford *microassay* dan spektrofotometri. Spektrofotometri supernatan dilakukan menggunakan alat Nanodrop 1000 *spectrophotometer*. Sebelum spektrofotometri dimulai, dilakukan beberapa persiapan terlebih dahulu. Persiapan pertama adalah pembuatan larutan blanko. Larutan blanko yang digunakan adalah 20 μL ddH₂O yang dicampur dengan 1000 μL larutan Bradford. Kemudian dilakukan persiapan sampel dengan cara mencampur 20 μL supernatan dengan 1000 μL larutan Bradford. Larutan blanko dan larutan sampel dimasukkan ke dalam *tube* masing-masing dan dibolak-balik sebanyak 10 kali. Keseluruhan proses persiapan tersebut harus dilakukan selama 10 menit.

Universitas Indonesia

Setelah 10 menit, sebanyak 2 μL larutan blanko diteteskan ke nanodrop. Blanko tersebut dianalisis menggunakan program ND-1000 V3.7.1 berdasarkan standar protein BSA yang sudah ada di dalam program. Panjang gelombang yang dilewatkan adalah 595 nm. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar protein larutan sampel dari ketiga *strain* dengan cara yang sama. Hasil yang diperoleh berupa data absorbansi dan konsentrasi protein ($\mu\text{g/mL}$).

3.4.7 Teknik Pengecatan Negatif

Teknik pengecatan negatif adalah salah satu cara yang dapat digunakan untuk pengamatan selubung musilage (Sigeo 2005:130). Prinsip pengecatan negatif adalah mewarnai latar belakang preparat, sementara filamen *Nostoc* tidak akan terwarnai. Teknik pengecatan negatif dimulai dengan membersihkan gelas objek dengan alkohol 70%. Selanjutnya sebanyak 1 tetes biakan *Nostoc* diteteskan di atas gelas objek. Biakan tersebut disebar ke permukaan gelas objek untuk memisahkan kumpulan filamen. Berikutnya sebanyak 1 tetes larutan nigrosin diteteskan, lalu campuran nigrosin dan *Nostoc* diratakan menggunakan gelas objek kedua. Campuran tersebut diratakan dengan cara meletakkan gelas objek kedua dengan sudut 45° di atas permukaan gelas objek pertama, kemudian gelas objek kedua digeser ke ujung gelas objek pertama hingga seluruh bagian permukaan kedua gelas objek menempel. Setelah itu, preparat ditunggu hingga mengering, lalu siap diamati di bawah mikroskop (Gandjar dkk. 1992: 29).

Setelah proses pengecatan berhasil dilakukan, selanjutnya dilakukan pengamatan selubung musilage *Nostoc* strain CPG8, CPG24, dan GIA13a. Hal yang diamati dari selubung musilage adalah tingkat kepadatannya. Tingkat kepadatan selubung musilage dapat dilihat dari kepekatan warnanya. Semakin pekat warna yang terlihat, maka semakin padat selubung musilage tersebut. Begitu pula sebaliknya, semakin bening warna yang terlihat, maka semakin tipis selubung musilage tersebut

3.5 Penyusunan, Pengolahan, dan Analisis Data

Data yang telah diperoleh disusun dan diolah dalam bentuk tabel, grafik, dan foto. Analisis data dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif meliputi kondisi selubung musilage dan kondisi sel yang hancur pada proses sonikasi dari ketiga *strain Nostoc* (CPG8, CPG24, dan GIA13a). Data kuantitatif meliputi volume pellet hasil sentrifugasi, volume supernatan, dan kadar protein ketiga *strain Nostoc* (CPG8, CPG24, dan GIA13a). Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.5.

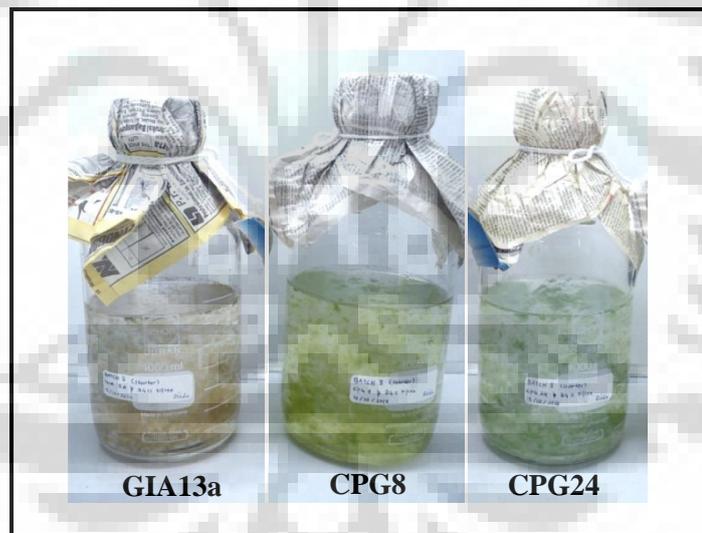
Tabel 3.5 Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian

Strain	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2
CPG8	Medium N	Medium A	Medium B
CPG24			
GIA13a			

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengamatan Morfologi Filamen *Nostoc* Strain GIA13a, CPG8, dan CPG24

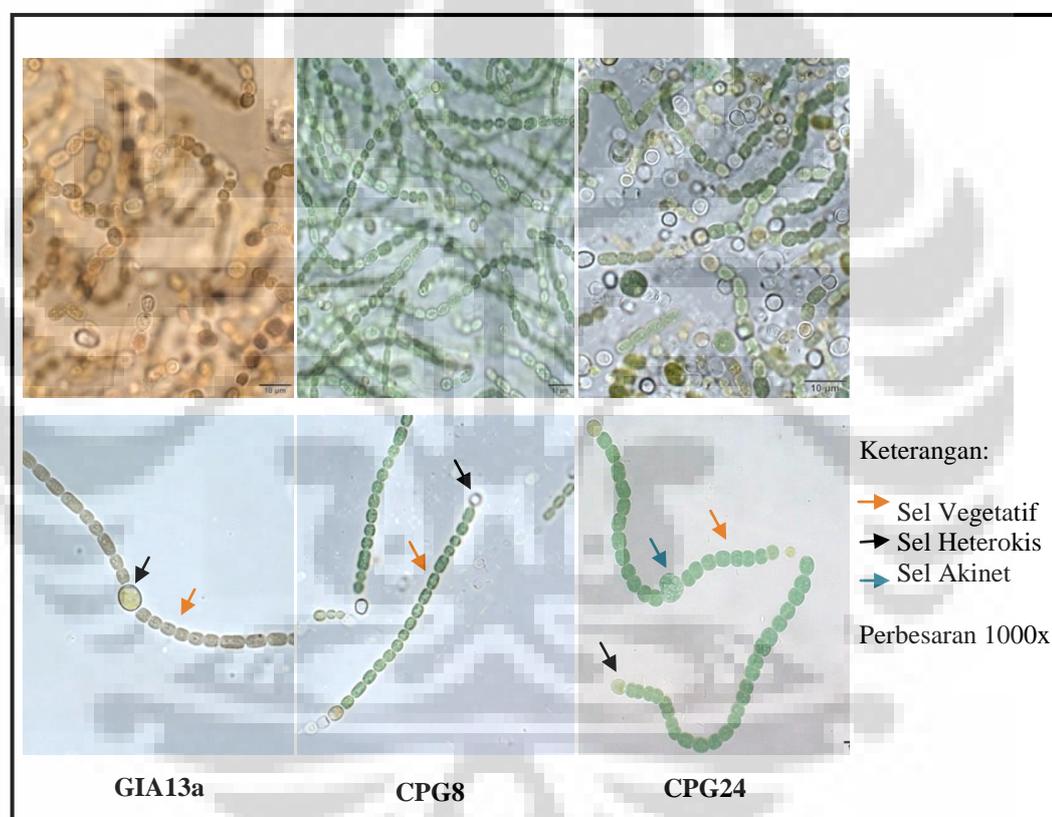
Gambar 4.1(1) menunjukkan hasil pengamatan makroskopis *Nostoc* strain GIA13a, CPG8, dan CPG24 di dalam medium kultur. Hasil pengamatan menunjukkan perbedaan warna strain GIA13a, CPG8, dan CPG24. Berdasarkan panduan warna Castell-Polychromos pada lampiran 3, strain GIA13a berwarna hijau zaitun gelap, strain CPG8 berwarna hijau zaitun, dan strain CPG24 berwarna hijau rumput.



Gambar 4.1(1) Kondisi makroskopis *Nostoc* strain GIA13a, CPG8, dan CPG24

Warna kultur dari ketiga strain hasil pengamatan sesuai dengan deskripsi Hendrayanti dkk. (2012: 207) dan Fitrianti (2014: 33) yang menyebutkan bahwa GIA13a berwarna hijau zaitun tua, strain CPG8 berwarna hijau zaitun, dan CPG24 berwarna hijau rumput. Warna yang terbentuk pada masing-masing strain

berasal dari pigmen fikobilin, klorofil, karoten, dan xantofil (Bold & Wyne 1985: 60). Komposisi pigmen di dalam setiap strain berbeda-beda sehingga warna yang tampak akan berbeda pula. Strain GIA13a menunjukkan warna hijau zaitun tua karena komposisi pigmen paling besar adalah karoten dan klorofil. Strain CPG8 yang menunjukkan warna hijau zaitun karena memiliki komposisi pigmen klorofil dan karoten paling besar. Strain CPG24 menunjukkan warna hijau rumput karena komposisi pigmen yang paling besar adalah klorofil dan fikobilin.



Gambar 4.1(2) Kondisi mikroskopis *Nostoc* strain GIA13a, CPG8, dan CPG24

Gambar 4.1.1(2) menunjukkan hasil pengamatan mikroskopis *Nostoc* strain GIA13a, CPG8, dan CPG24. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan sel-sel penyusun filamen dan bentuk dari sel-sel penyusun filamen. Terdapat 3 jenis sel yang ditemukan, yaitu sel vegetatif, sel heterokis, dan sel akinet. Sel vegetatif dan sel heterokis ditemukan pada ketiga strain, namun sel akinet hanya

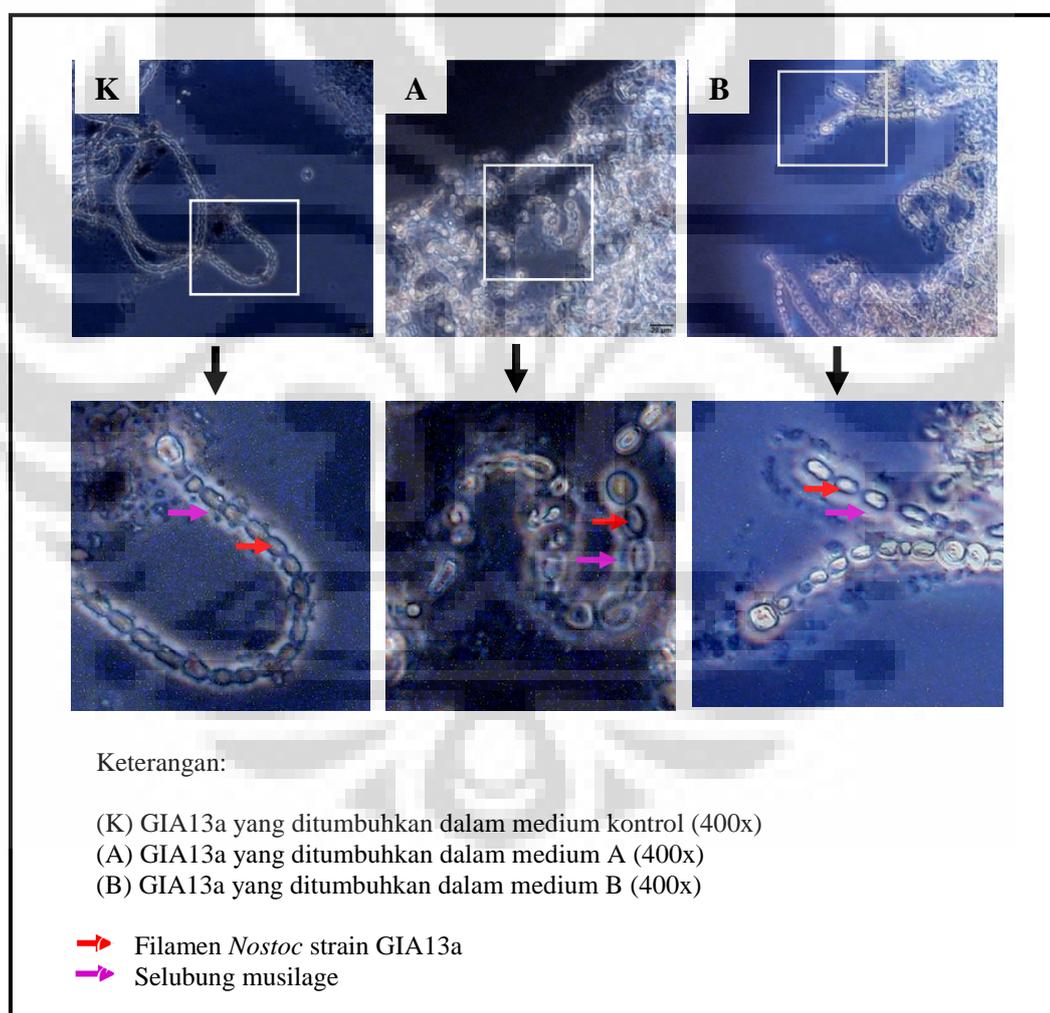
ditemukan pada strain CPG24. Bentuk sel-sel tersebut berbeda-beda pada setiap strain. Sel vegetatif strain CPG8 dan GIA13a berbentuk oval, sedangkan sel vegetatif strain CPG24 berbentuk bulat. Sel heterokis strain CPG8 dan CPG24 berbentuk bulat hingga oval dan terletak di bagian terminal filamen, sedangkan sel heterokis strain GIA13a berbentuk bulat dan terletak di bagian interkalar filamen. Sel akinet pada strain CPG24 berbentuk bulat dan berada di bagian interkalar filamen. Bentuk dari sel vegetatif dan sel heterokis yang ditemukan sesuai dengan deskripsi Hendrayanti dkk. (2012: 207).

Sel vegetatif, sel heterokis, dan sel akinet yang ditemukan pada strain GIA13a, CPG8, dan CPG24 saling berhubungan membentuk trikum yang diselubungi oleh suatu struktur yang disebut selubung musilage (Bellinger & Sigeo 2010:165). Trikum dan selubung musilage tersebut secara keseluruhan disebut filamen. Filamen *Nostoc* tampak lurus dan tidak bercabang, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.1(2). Pada Gambar 4.1(2), tidak tampak adanya selubung musilage. Selubung musilage dapat diamati menggunakan teknik preparasi tertentu (Sigeo 2005: 130).

Pengamatan selubung musilage *Nostoc* dapat dilakukan menggunakan teknik pengecatan negatif (Sigeo 2005: 130). Teknik pengecatan negatif dilakukan dengan cara mencampurkan strain *Nostoc* dengan tinta cina pada gelas objek, kemudian campuran tersebut disebar ke seluruh permukaan gelas objek menggunakan gelas objek lainnya (Gandjar dkk. 1992: 29). Tinta cina hanya akan mewarnai latar belakang objek, sementara filamen *Nostoc* dan selubung musilagenya tidak akan terwarnai.

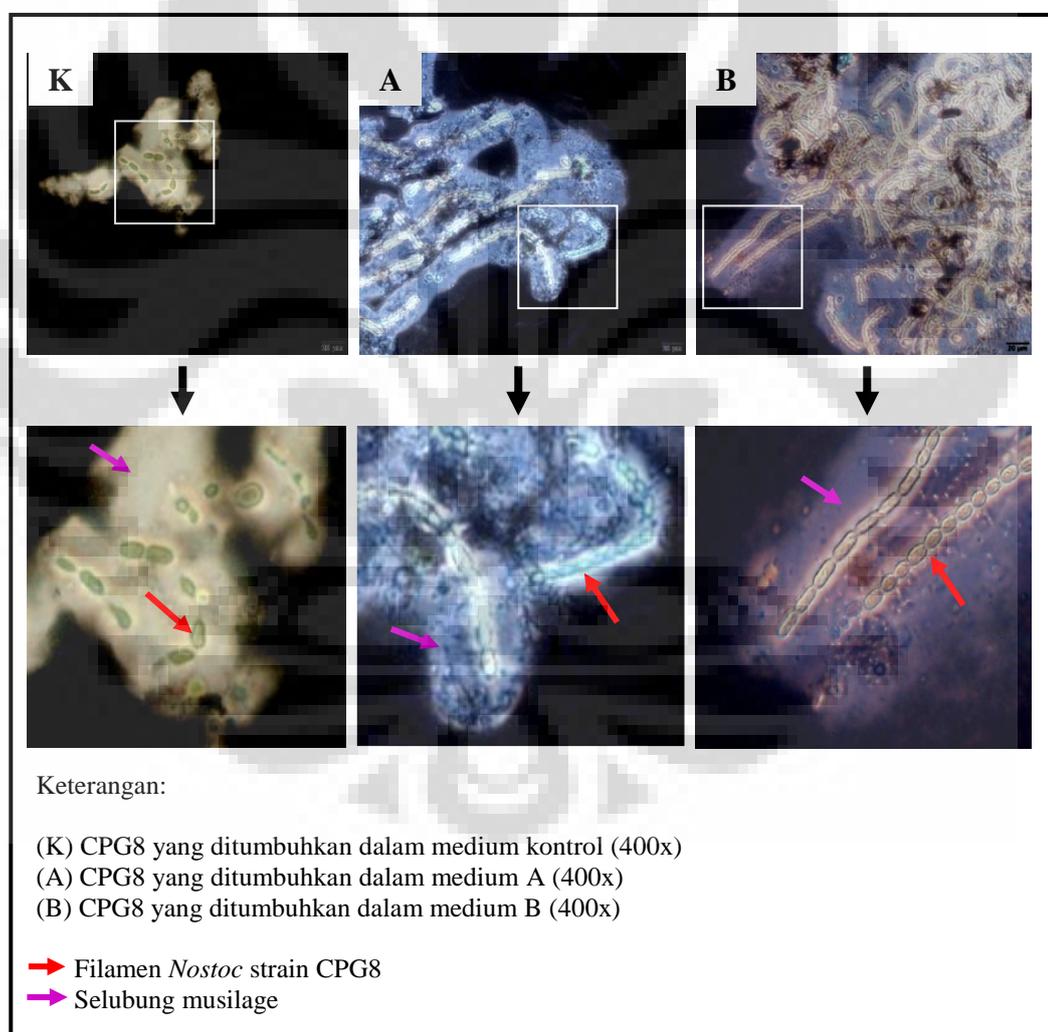
Teknik pengecatan negatif digunakan dalam pengamatan selubung musilage *Nostoc* strain GIA13a, CPG8, dan CPG24. Hal yang diamati dari selubung musilage tersebut adalah tingkat kepadatannya. Tingkat kepadatan selubung musilage dapat dilihat dari kepekatan warnanya. Semakin pekat warna yang terlihat, maka semakin padat selubung musilage tersebut, begitu pula sebaliknya. Hasil pengamatan kepadatan selubung musilage ketiga strain tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.1(3), 4.1(4), dan 4.1(5).

Gambar 4.1(3) menunjukkan kondisi selubung musilage *Nostoc* strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium kontrol, medium A, dan medium B. Selubung musilage strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium kontrol dan medium B tampak tidak berbeda jauh. Selubung musilage tampak mengelilingi filamen secara merata, namun selubung tersebut tipis dan kurang padat. Sementara itu, selubung musilage strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium A hanya terlihat di bagian ujung filamen, sementara bagian lainnya terlihat hampir tidak diselubungi oleh musilage.



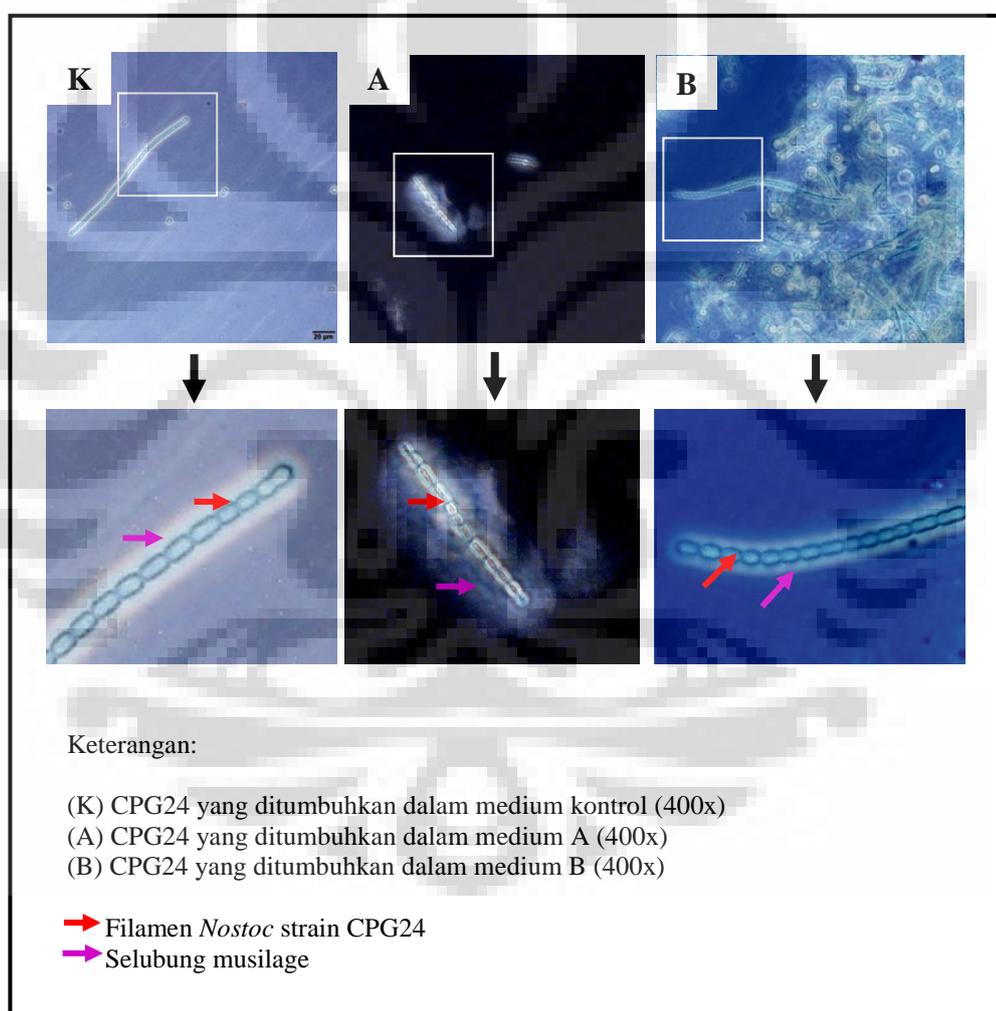
Gambar 4.1(3) Selubung musilage *Nostoc* strain GIA13a yang ditumbuhkan dalam medium kontrol, medium A, dan medium B

Gambar 4.1(4) menunjukkan kondisi selubung musilage *Nostoc* strain CPG8 yang ditumbuhkan di medium kontrol, medium A, dan medium B. Kepadatan selubung musilage strain CPG8 yang ditumbuhkan di medium B tampak paling tinggi dibandingkan medium A dan medium kontrol. Kepadatan selubung musilage strain CPG8 yang ditumbuhkan di medium A tampak paling rendah karena terdapat banyak bagian yang berhasil ditembus oleh tinta cina. Tingkat kepadatan selubung musilage strain CPG8 yang ditumbuhkan di medium kontrol berada di antara medium A dan medium B.



Gambar 4.1(4) Selubung musilage *Nostoc* strain CPG8 yang ditumbuhkan dalam medium kontrol, medium A, dan medium B

Gambar 4.1(5) menunjukkan kondisi selubung musilage *Nostoc* strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium kontrol, medium A, dan medium B. Selubung musilage strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium kontrol tampak paling padat dibandingkan medium yang lain. Selubung musilage strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium A memiliki tingkat kepadatan yang paling rendah. Tingkat kepadatan selubung musilage strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium B berada di antara medium kontrol dan medium A.

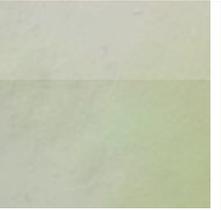
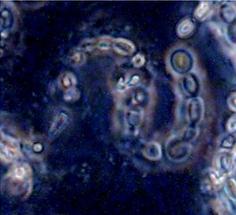
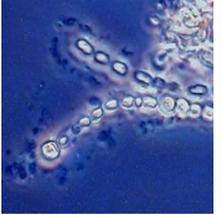


Gambar 4.1(5) Selubung musilage *Nostoc* strain CPG24 yang ditumbuhkan dalam medium kontrol, medium A, dan medium B

4.2 Kadar Protein *Nostoc* strain GIA13A

Tabel 4.2(1) menunjukkan kondisi strain GIA13a hasil pengamatan yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B. Hasil yang pertama teramati adalah biomassa dari strain GIA13a. Biomassa tersebut diperoleh dari pellet hasil sentrifugasi pertama. Strain GIA13a yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol memiliki biomassa sebanyak 2 mL. Strain GIA13a yang ditumbuhkan di dalam medium A memiliki biomassa yang hampir sama dengan yang ditumbuhkan di medium kontrol, yaitu sebanyak 2,2 mL. Strain GIA13a yang ditumbuhkan di dalam medium B memiliki biomassa paling banyak, yaitu 4,7 mL. Keberadaan biomassa menunjukkan adanya pertumbuhan strain GIA13a. Volume biomassa yang banyak menunjukkan tingkat pertumbuhan yang baik.

Tabel 4.2(1) Kondisi strain GIA13a yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, dan medium B

	GIA13a		
	Medium Kontrol	Medium A	Medium B
Biomassa (mL)	2	2,2	4,7
Kondisi biomassa pascasonikasi			
	Encer	Encer	Encer
Kondisi sel pasca sonikasi (1000x)			
Kondisi selubung musilage (400x)			

Universitas Indonesia

Strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium B memiliki biomassa paling banyak dibandingkan GIA13a yang ditumbuhkan di medium A dan kontrol. Hal tersebut diduga dapat terjadi karena GIA13a mampu memanfaatkan CO₂ dari lingkungan sebagai sumber karbon untuk mendukung pertumbuhannya (Graham & Wilcox 2000: 31--34). Untuk mendukung pertumbuhan biomassa, CO₂ harus diubah menjadi glukosa. Perubahan CO₂ menjadi glukosa tersebut terjadi melalui reaksi fotosintesis (Barsanti & Gualtieri 2006: 137). Glukosa tersebut diubah menjadi ATP melalui serangkaian reaksi dari glikolisis sampai dengan transpor elektron. ATP hasil reaksi-reaksi tersebut dimanfaatkan oleh strain GIA13a untuk pertumbuhan sel.

Strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium A seharusnya memiliki biomassa yang lebih banyak daripada yang ditumbuhkan di medium B karena terdapat sumber karbon tambahan di dalam medium A dalam bentuk karbonat (HCO₃⁻). Karbonat (HCO₃⁻) adalah karbon anorganik selain CO₂ yang dapat dimanfaatkan oleh *Nostoc* (Graham & Wilcox 2000: 31--34). Perbedaan hasil penelitian tersebut mungkin disebabkan oleh keterbatasan jumlah RuBisCo di dalam biomassa. *Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase* (RuBisCo) adalah enzim yang menggunakan CO₂ sebagai reaktan untuk sintesis *phosphoglyceric acid* (PGA). *Phosphoglyceric acid* adalah bahan untuk sintesis karbohidrat dan pati melalui siklus Calvin Benson Bassham (siklus CBB). Karbohidrat dan pati tersebut dapat digunakan untuk mendukung berbagai aktivitas sel, salah satunya untuk penambahan biomassa. Oleh karena itu, jumlah karbon yang melimpah belum tentu meningkatkan jumlah biomassa, melainkan dipengaruhi pula oleh jumlah enzim RubisCo yang tersedia.

Tabel 4.2(1) juga menunjukkan kondisi biomassa dan kondisi sel setelah sonikasi. Kondisi biomassa strain GIA13a yang ditumbuhkan pada ketiga medium tampak sama, yaitu encer. Jika dilihat di bawah mikroskop, kondisi sel strain GIA13a pada setiap medium setelah sonikasi menunjukkan tingkat kehancuran sel yang hampir sama. Sebagian besar sel hancur secara sempurna, bahkan hampir tidak terlihat adanya sisa sel yang belum hancur.

Tingkat kehancuran sel tersebut berhubungan dengan kondisi selubung musilage. Meskipun sampel yang digunakan untuk pengamatan selubung

Universitas Indonesia

musilage berbeda dengan sampel yang digunakan untuk pengukuran kadar protein, dapat diasumsikan bahwa kondisi selubung musilage pada sampel untuk analisis kadar protein sama dengan kondisi musilage hasil pengamatan (Gambar 4.1(3)). Pada gambar tersebut, terlihat bahwa strain GIA13a yang ditumbuhkan pada ketiga medium memiliki selubung musilage yang sangat tipis dan kurang padat. Kondisi selubung musilage tersebut memudahkan proses penghancuran sel, sehingga hasil sonikasi menjadi sangat halus tanpa sisa sel yang masih utuh.

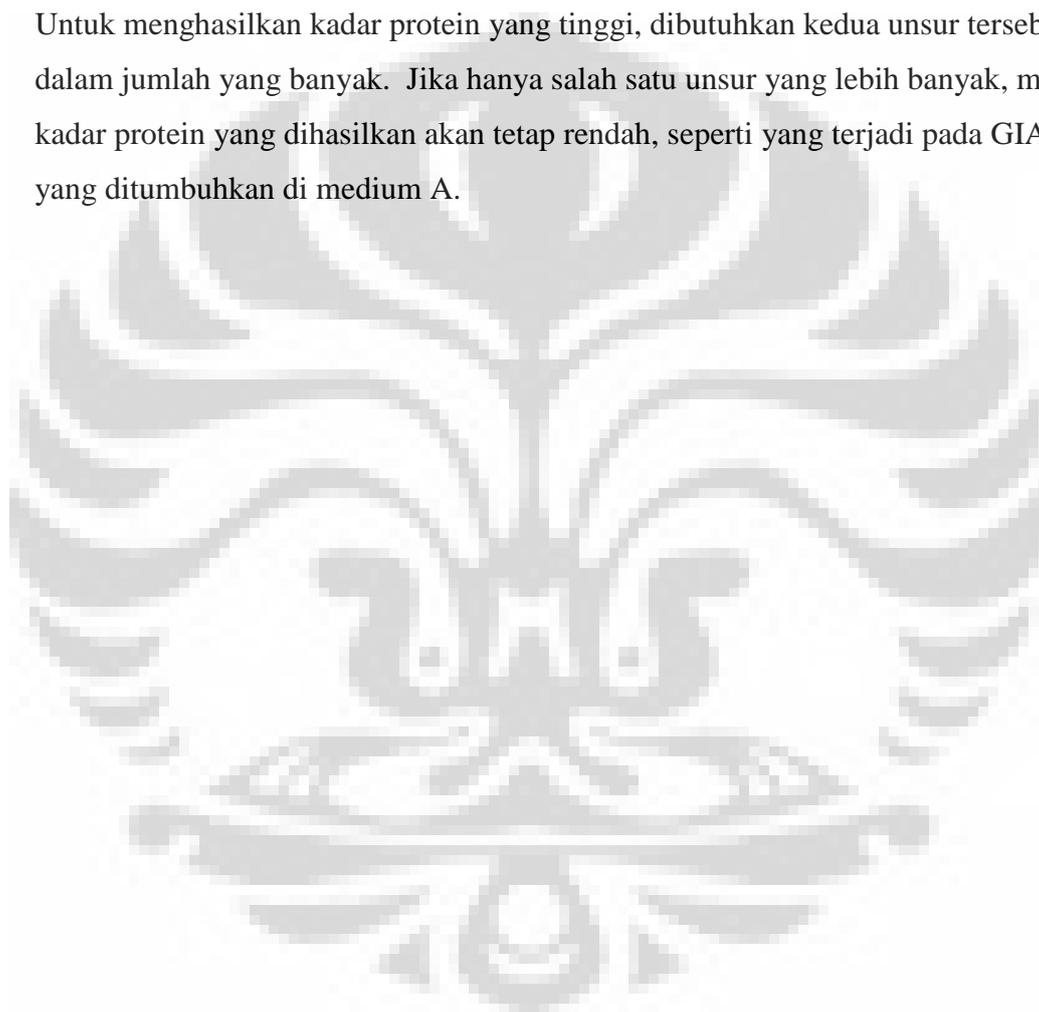
Tabel 4.2(2) Kadar protein *Nostoc* strain GIA13a yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, dan medium B ($\mu\text{g/mL}$)

Batch	GIA13a		
	Medium kontrol	Medium A	Medium B
1	798	197	1410
2	125	298	357
3	296	463	677
\bar{x}	319,33	406,33	814,66

Tabel 4.2(2) menunjukkan kadar protein strain GIA13a yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B. Strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium B memiliki kadar protein paling tinggi, yaitu 814,66 $\mu\text{g/mL}$. Kadar protein strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium A dan medium kontrol hampir sama, yaitu 406,33 $\mu\text{g/mL}$ dan 319,33 $\mu\text{g/mL}$.

Tingginya kadar protein strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium B dan rendahnya kadar protein strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium A dan medium kontrol dapat disebabkan oleh perbedaan jumlah biomassa. Setiap sel pada biomassa melakukan aktivitas sintesis protein untuk memenuhi kebutuhan proteinnya. Maka dari itu, semakin banyak biomassa, semakin tinggi kadar protein yang dihasilkan. Hasil tersebut didukung dengan rendahnya kepadatan musilage strain GIA13a yang ditumbuhkan di ketiga medium. Kepadatan musilage yang rendah menyebabkan proses penghancuran sel berjalan dengan baik (Tabel 4.2(1)) dan kemungkinan adanya protein yang masih terperangkap di dalam sel menjadi semakin rendah sehingga kadar protein yang diperoleh menjadi sesuai dengan kadar yang seharusnya.

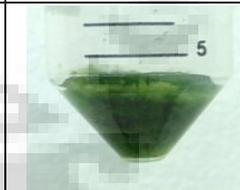
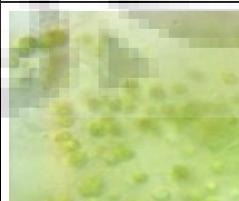
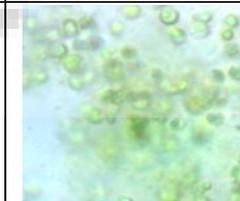
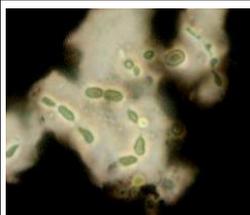
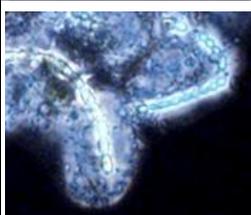
Kadar protein strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium A seharusnya lebih tinggi daripada kadar protein strain GIA13a yang ditumbuhkan di medium B karena jumlah karbon, salah satu unsur penyusun protein, di medium A lebih banyak dibandingkan medium B. Akan tetapi, hasil penelitian tidak sesuai dengan pernyataan tersebut. Perbedaan hasil penelitian tersebut diduga disebabkan oleh jumlah nitrogen (N) yang lebih sedikit daripada jumlah karbon (C). Nitrogen dan karbon merupakan dua unsur penting yang menyusun protein. Untuk menghasilkan kadar protein yang tinggi, dibutuhkan kedua unsur tersebut dalam jumlah yang banyak. Jika hanya salah satu unsur yang lebih banyak, maka kadar protein yang dihasilkan akan tetap rendah, seperti yang terjadi pada GIA13a yang ditumbuhkan di medium A.



4.3 Kadar Protein *Nostoc* strain CPG8

Tabel 4.3(1) menunjukkan biomassa strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B. Strain tersebut memiliki volume biomassa yang berbeda-beda pada setiap medium. Strain CPG8 yang ditumbuhkan di medium B memiliki volume biomassa yang hampir sama dengan yang ditumbuhkan di medium kontrol, yaitu 4 mL dan 3,6 mL. Strain CPG8 yang ditumbuhkan di medium A memiliki volume biomassa paling kecil, yaitu 2,5 mL. Sama seperti strain GIA13a, biomassa strain CPG8 juga menunjukkan adanya pertumbuhan strain CPG8. Volume biomassa yang banyak menunjukkan tingkat pertumbuhan yang baik.

Tabel 4.3(1) Kondisi strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B

	CPG8		
	Medium Kontrol	Medium A	Medium B
Biomassa (mL)	3,6	2,5	4
Kondisi biomassa pascasonikasi			
	Kental	Kental	Kental
Kondisi sel pascasonikasi (1000x)			
Kondisi selubung musilage (400x)			

Strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium A seharusnya memiliki volume biomassa yang lebih besar dibandingkan dengan yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol dan medium B. Hal tersebut disebabkan medium A mengandung karbon anorganik tambahan berupa ion karbonat (HCO_3^-) yang jumlahnya lebih besar dibandingkan dengan kedua medium tersebut. Akan tetapi, hasil penelitian yang ditunjukkan melalui Tabel 4.3(1) tidak sesuai dengan pernyataan tersebut. Ketidaksesuaian tersebut mungkin terjadi karena kemampuan strain CPG8 dalam memanfaatkan CO_2 sebagai sumber karbon dari lingkungan untuk menghasilkan energi bagi pertumbuhan (Graham & Wilcox 2000: 31--34). Oleh karena itu, meskipun medium kontrol dan medium B mengandung karbon anorganik (HCO_3^-) yang lebih sedikit dibandingkan dengan medium A, volume biomassa strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam kedua medium tersebut lebih besar.

Biomassa strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol dan B lebih besar dibandingkan dengan yang ditumbuhkan di dalam medium A juga dapat disebabkan oleh faktor lain, yaitu jumlah RuBisCo di dalam biomassa sel (Graham & Wilcox 2000: 31--34). *Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase* (RuBisCo) merupakan enzim yang menggunakan CO_2 sebagai reaktan untuk sintesis *phosphoglyceric acid* (PGA). *Phosphoglyceric acid* adalah bahan untuk sintesis karbohidrat dan pati melalui siklus Calvin Benson Bassham (siklus CBB). Karbohidrat dan pati dapat dimanfaatkan oleh *Nostoc* untuk mendukung berbagai aktivitas sel, salah satunya untuk penambahan biomassa. Strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium A diduga memiliki jumlah RuBisCo yang lebih sedikit dibandingkan dengan medium kontrol dan B sehingga meskipun ketersediaan karbon di dalam medium A lebih besar, akan tetapi biomassa selnya lebih rendah karena jumlah RuBisCO yang sedikit.

Tabel 4.3(1) juga menunjukkan kondisi biomassa dan kondisi sel setelah sonikasi. Kondisi biomassa strain CPG8, baik yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, maupun medium B, memiliki struktur yang kental setelah sentrifugasi. Kondisi sel strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol dan medium A menunjukkan tingkat kehancuran sel yang sama-sama

baik. Sementara itu, kondisi sel strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium B menunjukkan masih terdapat banyak sisa sel yang belum hancur.

Tingkat kehancuran sel tersebut berhubungan dengan kondisi selubung musilage (Fried & Hademenos 2006: 25). Meskipun sampel yang digunakan untuk pengamatan selubung musilage berbeda dengan sampel yang digunakan untuk pengukuran kadar protein, dapat diasumsikan bahwa kondisi selubung musilage pada sampel untuk analisis kadar protein sama dengan kondisi musilage hasil pengamatan (Gambar 4.1(4)). Strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium B menunjukkan masih terdapat banyak sel yang belum hancur karena selubung musilage sel tersebut menunjukkan kepadatan yang tinggi. Strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol dan A menunjukkan tingkat kehancuran sel yang lebih baik dibandingkan dengan yang ditumbuhkan di dalam medium B karena selubung musilage pada sel yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol dan medium A lebih tipis dibandingkan dengan yang ditumbuhkan di dalam medium B.

Tabel 4.3(2) Kadar protein *Nostoc* strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B ($\mu\text{g/mL}$)

Batch	Kadar Protein CPG8 ($\mu\text{g/mL}$)		
	Medium kontrol	Medium A	Medium B
1	1539	1120	0
2	602	380	125
3	175	125	125
\bar{x}	771,66	541,66	125

Tabel 4.3(2) menunjukkan kadar protein strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B. Strain CPG 8 yang ditumbuhkan di medium kontrol dan medium A memiliki kadar protein yang tidak berbeda jauh, yaitu 771,66 $\mu\text{g/mL}$ dan 541,66 $\mu\text{g/mL}$. Kadar protein strain CPG8 yang ditumbuhkan di medium B adalah yang paling sedikit, yaitu 125 $\mu\text{g/mL}$.

Tingginya kadar protein strain CPG8 yang ditumbuhkan di medium kontrol dapat terjadi karena memiliki biomassa yang banyak dengan selubung musilage yang tidak terlalu padat (Tabel 4.3(1)). Biomassa yang banyak memiliki

aktivitas sintesis protein yang tinggi untuk mengimbangi kebutuhannya sehingga kadar protein yang dihasilkan akan tinggi. Kadar protein yang tinggi tersebut dapat keluar dengan baik saat proses penghancuran sel karena selubung musilage yang menyelubungi biomassa tidak terlalu padat.

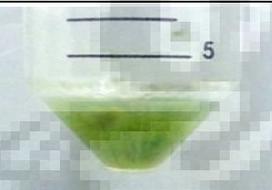
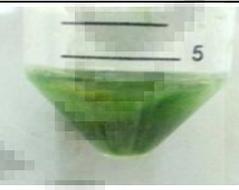
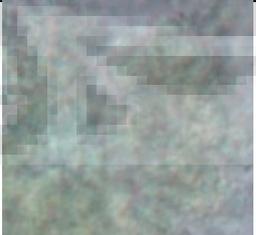
Hal sebaliknya terjadi pada strain CPG8 yang ditumbuhkan di medium B. Strain CPG8 yang ditumbuhkan di medium B memiliki biomassa yang hampir sama dengan yang ditumbuhkan di medium kontrol, akan tetapi kadar proteinnya justru yang paling sedikit. Hasil tersebut terkait dengan selubung musilage yang sangat padat pada biomassa CPG8 yang ditumbuhkan di medium B, sehingga proses penghancuran sel tidak berjalan dengan baik karena masih banyak sel yang belum hancur (Tabel 4.3(1)). Protein masih berada di dalam sel yang belum hancur sehingga tidak terukur saat proses pengukuran kadar protein.

Kadar protein strain CPG 8 yang ditumbuhkan di medium A seharusnya adalah yang paling tinggi karena jumlah karbon, salah satu unsur penyusun protein, di medium A lebih banyak dibandingkan medium B (Barsanti & Gualtieri tahun?: hal?). Akan tetapi, hasil penelitian tidak sesuai dengan pernyataan tersebut. Perbedaan hasil penelitian tersebut diduga disebabkan oleh jumlah nitrogen (N) yang lebih sedikit daripada jumlah karbon (C) sehingga kadar protein yang dihasilkan oleh strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium A tidak lebih tinggi dibandingkan dengan yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol. Meskipun demikian, kadar protein strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium A lebih besar dibandingkan yang ditumbuhkan di dalam medium B. Hal tersebut dimungkinkan karena selubung musilage pada strain CPG8 yang ditumbuhkan di dalam medium A lebih tipis dibandingkan yang ditumbuhkan di dalam medium B.

4.4 Kadar Protein *Nostoc* strain CPG24

Tabel 4.4(1) menunjukkan volume biomassa strain CPG24 ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B. Strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium B dan medium A memiliki volume biomassa yang hampir sama, yaitu 3,8 mL dan 3,6 mL. Sementara itu, strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium kontrol memiliki volume biomassa paling kecil, yaitu 2,5 mL. Seperti pada strain GIA13a dan CPG8, volume biomassa juga menunjukkan adanya pertumbuhan strain CPG24 dan volume biomassa yang banyak menunjukkan tingkat pertumbuhan yang baik.

Tabel 4.4(1) Kondisi strain CPG24 yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, dan medium B

	CPG24		
	Medium Kontrol	Medium A	Medium B
Biomassa (mL)	2,5	3,6	3,8
Kondisi biomassa pascasonikasi			
	Encer	Agak encer	Agak encer
Foto sel pasca sonikasi (1000x)			
Kondisi selubung musilage (400x)			

Meskipun volume biomassa strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium B dan medium A hampir sama, namun CPG24 yang ditumbuhkan di medium B tetap lebih banyak dibandingkan yang ditumbuhkan di medium A. Hal tersebut mungkin berhubungan dengan kemampuan strain CPG24 dalam memanfaatkan CO₂ dari lingkungan sebagai sumber karbon anorganik untuk mendukung pertumbuhannya (Graham & Wilcox 2000:31--34), seperti yang terjadi pada strain GIA13a dan CPG8. Selain itu, strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium A seharusnya tetap memiliki volume biomassa yang paling banyak dan strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium B seharusnya memiliki volume biomassa paling sedikit meskipun mampu memanfaatkan CO₂ dari lingkungan. Hal tersebut terkait dengan kandungan HCO₃⁻ sebagai sumber karbon tambahan yang terdapat di medium A, sementara medium B tidak memiliki sumber karbon tambahan. Perbedaan hasil penelitian dengan pernyataan tersebut dapat disebabkan oleh keterbatasan jumlah RuBisCo di dalam biomassa. Enzim RuBisCo menggunakan CO₂ untuk sintesis PGA yang merupakan bahan untuk sintesis karbohidrat dan pati melalui siklus Calvin Benson Bassham. Karbohidrat dan pati tersebut dapat dimanfaatkan untuk penambahan biomassa. Oleh karena itu, diduga bahwa strain CPG24 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol dan B mampu memanfaatkan CO₂ dari lingkungan dengan baik dan memiliki kandungan RuBisCo yang cukup banyak, sedangkan strain CPG24 yang ditumbuhkan di dalam medium A memiliki kandungan RuBisCo yang lebih sedikit, meskipun mampu memanfaatkan CO₂ dari lingkungan dan memiliki kandungan HCO₃⁻ paling tinggi.

Tabel 4.4(1) juga menunjukkan kondisi biomassa sel dan kondisi sel setelah sonikasi. Kondisi biomassa strain CPG24 yang ditumbuhkan di dalam medium A dan B tampak agak encer, sementara strain CPG24 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol tampak encer. Jika dilihat di bawah mikroskop, kondisi sel strain CPG24 setelah sonikasi menunjukkan tingkat kehancuran sel yang berbeda-beda di dalam setiap medium. Strain CPG24 yang ditumbuhkan di dalam medium A memiliki tingkat kehancuran sel paling baik karena tidak terlihat sisa-sisa sel yang belum pecah. Sementara itu, hasil sonikasi strain CPG24 yang ditumbuhkan pada medium kontrol dan medium B menunjukkan bahwa masih

Universitas Indonesia

banyak sisa-sisa sel yang belum hancur. Jumlah sel yang belum hancur pada strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium B lebih banyak daripada yang ditumbuhkan di medium kontrol.

Perbedaan tingkat kehancuran sel pada strain CPG24 tersebut berhubungan dengan kondisi selubung musilage (Fried & Hademenos 2006: 25). Meskipun sampel yang digunakan untuk pengamatan selubung musilage berbeda dengan sampel yang digunakan untuk pengukuran kadar protein, dapat diasumsikan bahwa kondisi selubung musilage pada sampel untuk analisis kadar protein sama dengan kondisi musilage hasil pengamatan (Gambar 4.1(5)). Jika gambar kehancuran sel CPG24 yang terdapat pada Tabel 4.4(1) dibandingkan dengan kondisi selubung musilage pada Gambar 4.1(5), terlihat bahwa semakin padat selubung musilage, maka semakin baik proses penghancuran sel. Hal tersebut dibuktikan dengan kondisi strain CPG24 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol yang selubung musilagenya paling padat memiliki sisa sel yang belum hancur paling banyak. Selanjutnya, strain CPG24 yang ditumbuhkan di dalam medium B, selubung musilagenya cukup padat sehingga sel-selnya hancur tetapi masih terdapat sel-sel yang belum hancur. Kemudian, strain CPG24 yang ditumbuhkan di dalam medium A tampak bahwa selubung musilagenya paling tipis sehingga menunjukkan tingkat kehancuran sel paling baik.

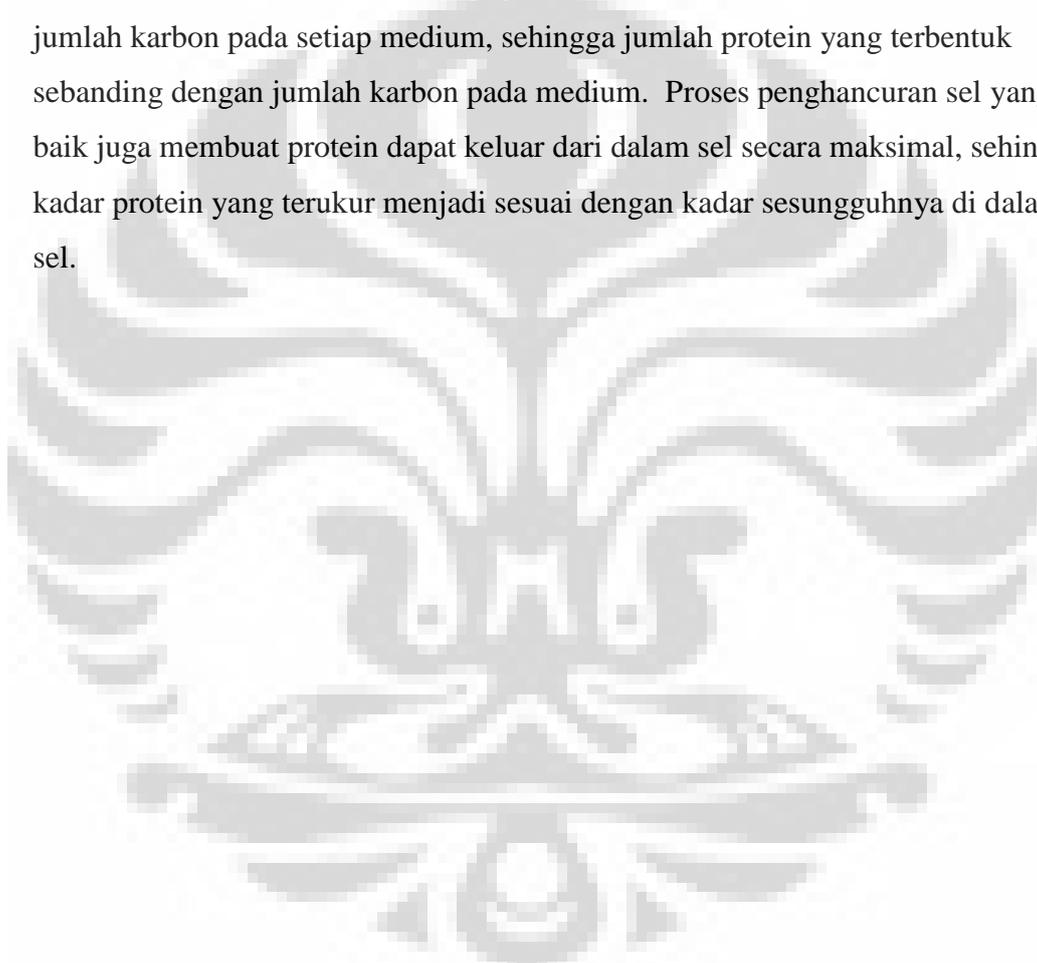
Tabel 4.4(2) Kadar protein *Nostoc* strain CPG24 yang ditumbuhkan pada medium kontrol, medium A, dan medium B ($\mu\text{g/mL}$)

Batch	Kadar Protein CPG24 ($\mu\text{g/mL}$)		
	Medium kontrol	Medium A	Medium B
1	0	611	0
2	659	1168	192
3	281	0	285
\bar{x}	470	889,5	238,5

Tabel 4.4(2) menunjukkan kadar protein strain CPG24 yang ditumbuhkan di dalam medium kontrol, medium A, dan medium B. Strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium A memiliki kadar protein paling tinggi, yaitu 889,5 $\mu\text{g/mL}$. Kadar protein strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium kontrol berada

pada urutan kedua, yaitu 470 $\mu\text{g/mL}$. Sementara itu, kadar protein paling sedikit dihasilkan oleh strain CPG24 yang ditumbuhkan di medium B, yaitu 238,5 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil pengukuran kadar protein menunjukkan urutan demikian diduga disebabkan oleh jumlah karbon tambahan berupa karbonat (HCO_3^-) yang terdapat di dalam masing-masing medium. Medium A mengandung karbonat 2 kali lebih banyak daripada medium kontrol, sementara medium B tidak mengandung karbonat sama sekali. Karbon dan nitrogen merupakan unsur-unsur penyusun protein. Pada strain CPG24, diduga jumlah nitrogen yang tersedia mengimbangi jumlah karbon pada setiap medium, sehingga jumlah protein yang terbentuk sebanding dengan jumlah karbon pada medium. Proses penghancuran sel yang baik juga membuat protein dapat keluar dari dalam sel secara maksimal, sehingga kadar protein yang terukur menjadi sesuai dengan kadar sesungguhnya di dalam sel.



4.5 Perbandingan hasil pengukuran kadar protein *Nostoc* strain CPG8, CPG24, dan GIA13a dengan penelitian terdahulu

Tabel 4.5 Perbandingan Kadar Protein *Nostoc*

	Sumber <i>Nostoc</i>	Strain <i>Nostoc</i>	Usia	Medium	Teknik Ekstraksi	Metode Pengukuran Kadar Protein	Kadar Protein GIA13a
Tiwari dkk. (2005: 169)	Rajashtan	<i>N. piscinable</i>	30 hari	BG 11 N-free	Tidak dijelaskan	Tidak dijelaskan	6,1 µg/mL
Tiwari dkk. (2005: 169)	Rajashtan	<i>N. verrucosum</i>	30 hari	BG 11 N-free	Tidak dijelaskan	Tidak dijelaskan	82,0 µg/mL
Tiwari dkk. (2005: 169)	Rajashtan	<i>N. muscorum</i>	30 hari	BG 11 N-free	Tidak dijelaskan	Tidak dijelaskan	235 µg/mL
Sinaga (2009: 34)	Gianyar, Bali	GIA13a	21 hari	BG 11 N-free	Heat-shock	Lowry	274 µg/mL
Penelitian ini	Gianyar, Bali	GIA13a	21 hari	BG 11 N-free	Sonikasi	Bradford	406,33 µg/mL
Penelitian ini	Gianyar, Bali	CPG8	21 hari	BG 11 N-free	Sonikasi	Bradford	771,66 µg/mL
Penelitian ini	Gianyar, Bali	CPG24	21 hari	BG 11 N-free	Sonikasi	Bradford	470 µg/mL

Tabel 4.5 menunjukkan perbandingan kadar protein yang diperoleh pada penelitian ini dengan penelitian terdahulu. Tiwari dkk. (2005: 169) melakukan pengukuran kadar protein pada tiga spesies *Nostoc*, yaitu *N. piscinable*, *N. verrucosum*, dan *N. muscorum*. Kadar protein ketiga spesies tersebut secara berurutan adalah 6,1 µg/mL, 82,0 µg/mL, dan 235 µg/mL. Sinaga (2009: 169) melakukan pengukuran kadar protein pada *Nostoc* strain GIA13a dengan

Universitas Indonesia

menggunakan metode Lowry. Kadar protein yang diperoleh Sinaga (2009: 169) adalah 274 $\mu\text{g/mL}$.

Perbedaan hasil pengukuran kadar protein antara Sinaga (2009: 34), Tiwari dkk (2005: 169), dan penelitian ini dapat disebabkan oleh perbedaan spesies *Nostoc* yang digunakan. Setiap spesies *Nostoc* memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Perbedaan karakteristik tersebut bisa disebabkan oleh perbedaan kondisi habitat asal *Nostoc*, karena karakteristik yang tampak pada suatu spesies merupakan kombinasi dari gen dan habitat spesies tersebut. Kondisi habitat dapat berpengaruh terhadap proses metabolisme yang terjadi di dalam sel *Nostoc*.

Selain perbedaan spesies, metode pengukuran kadar protein yang digunakan juga dapat memengaruhi kadar protein yang akan terukur. Terdapat banyak metode pengukuran kadar protein. Setiap metode pengukuran kadar protein tersebut memiliki kekurangan dan kelebihan yang berbeda-beda, sehingga jenis metode yang digunakan harus disesuaikan dengan kondisi sampel. Sebagai contoh, salah satu bahan yang menyusun medium BG11 *N-free* adalah EDTA, sehingga perlu digunakan metode Bradford untuk pengukuran kadar proteinnya. Hal tersebut karena metode Bradford tidak sensitif terhadap EDTA sehingga hasil pengukuran kadar protein yang didapatkan menjadi baik dan mewakili data yang sesungguhnya. Penelitian ini menggunakan metode yang sesuai, yaitu metode Bradford, sementara Sinaga (2009: 34) menggunakan metode Lowry yang sensitif terhadap EDTA. Efek dari perbedaan metode pengukuran kadar protein yang digunakan tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.5. Pada tabel tersebut, terlihat bahwa *Nostoc* dari strain yang sama, yaitu GIA13a, dan sumber yang sama, menghasilkan kadar protein yang berbeda ketika diukur dengan metode pengukuran protein yang berbeda. Sinaga (2009: 34) yang menggunakan metode Lowry hanya dapat menghasilkan protein sebesar 274 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan penelitian ini yang menggunakan metode Bradford mampu menghasilkan protein yang lebih besar, yaitu 406,33 $\mu\text{g/mL}$. Maka dari itu, dapat disimpulkan bahwa metode Bradford lebih efektif dalam mengukur kadar protein dari *Nostoc* strain GIA13a.

Karena kaya akan protein, *Nostoc* telah dijadikan bahan pangan sejak 1600 tahun yang lalu. Salah satu *Nostoc* yang pernah dijadikan sebagai bahan pangan

Universitas Indonesia

adalah *Nostoc muscorum* (Eyster 1958: 27). Berdasarkan Tabel 4.5, diketahui bahwa kadar protein *N. muscorum* adalah 235 µg/mL (Tiwari dkk. 2005: 169), lebih rendah dibandingkan kadar protein dari strain GIA13a (406,33 µg/mL), CPG24 (470 µg/mL), dan CPG8 (771,66 µg/mL). Maka dari itu, dapat disimpulkan bahwa strain GIA13a, CPG24, dan CPG8 berpotensi untuk dieksplorasi lebih lanjut terkait pemanfaatannya di bidang pangan.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Kadar protein *Nostoc* strain CPG8, CPG24, dan GIA13a pada masing-masing medium berbeda-beda.
2. Kepadatan selubung musilage mempengaruhi tingkat penghancuran sel, namun belum tentu mempengaruhi kadar protein. Terdapat faktor lain yang dapat mempengaruhi kadar protein, antara lain metabolisme sel.
3. Pengaruh kadar natrium karbonat (Na_2CO_3) di dalam medium terhadap kepadatan selubung musilage ketiga strain *Nostoc* kurang signifikan.

5.2 Saran

1. Waktu sonikasi perlu ditambah untuk strain CPG8 dan CPG24.
2. Perlu dilakukan metode pengukuran kadar protein secara kualitatif untuk mengetahui keberadaan protein yang terbawa pellet karena terperangkap di dalam selubung musilage.
3. Kadar protein dan biomassa perlu diukur pada setiap periode untuk mengetahui pengaruh pertumbuhan sel terhadap kadar protein.

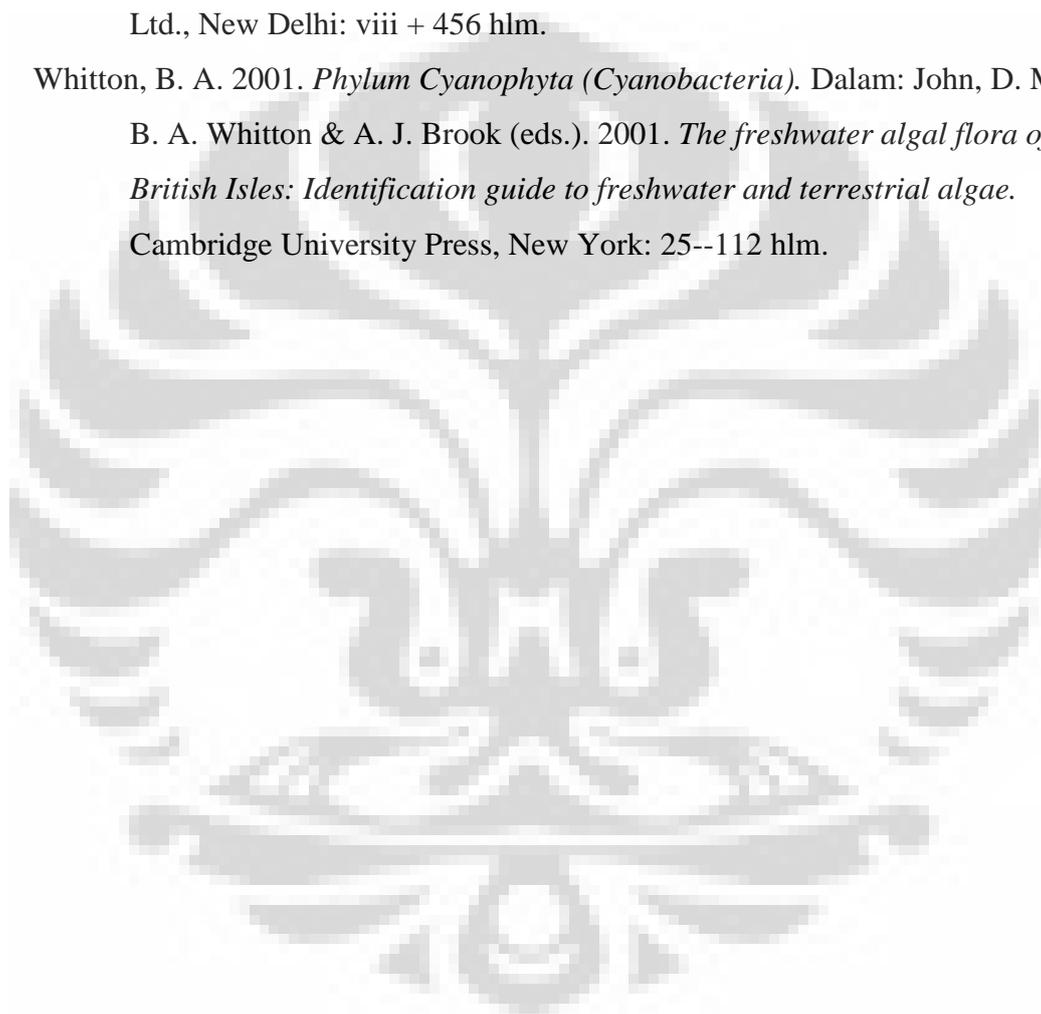
DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, H. 2005. *Principles and reactions of protein extraction, purification, and characterization*. CRC Press LLC, Boca Raton: 387 hlm.
- Barsanti, L. & P. Gualtieri. 2006. *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. Taylor & Francis Group, Boca Raton: 301 hlm.
- Barton, L. L. 2005. *Structuran and functional relationship in prokaryotes*. Springer Science+Business Media, Inc., New York: xxvii + 817 hlm.
- Becker, E. W. 1994. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press, New York: vii + 293 hlm.
- Becker, E. W. 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology advances* **25**: 207-- 210.
- Bellinger, E. G. & D. C. Sigeo. 2010. Freshwater algae indentification and use as bioindicators. Wiley-Blackwell, Great Britain: viii + 271 hlm.
- Blazencic, J. 2007. *Sistematika algi. Dalam: D. J. Kovac, J. B. Simeunovic, O. B. Babic, A. C. Misan & I. Lj. Milovanovic*. 2013. Algae in food and feed. *Food And Feed Research* **40**(1): 21--31.
- Bold, C. H. & M. J. Wynne. 1985. *Introduction to the algae structure and reproduction 2nd ed*. Prentice-Hall, Inc., London: xvi + 720 hlm.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* **72**: 248--254.
- Brock, T. D. & M. T. Madigan. 1991. *Biology of microorganism*. 6th ed. Prentice Hall Inc., New Jersey: xix + 874 hlm.
- Campbell, A. N., J. B. Reece & L. G. Mitchell. 2002. *Biologi*. Ed. Ke-5 jilid 1. terj dari *Biology*. 5th ed., oleh Lestari, R. Erlangga, Jakarta: xxi + 438 hlm.
- Chang, T. P. 1980. *Mucilage sheath as a barrier to carbon uptake in a cyanophyte*. Dalam: Whitton, B. A. & M. Potts. 2002. *The ecology of cyanobacteria their diversity in time and space*. Kluwer Academic Publishers, New York: xviii + 669 hlm.

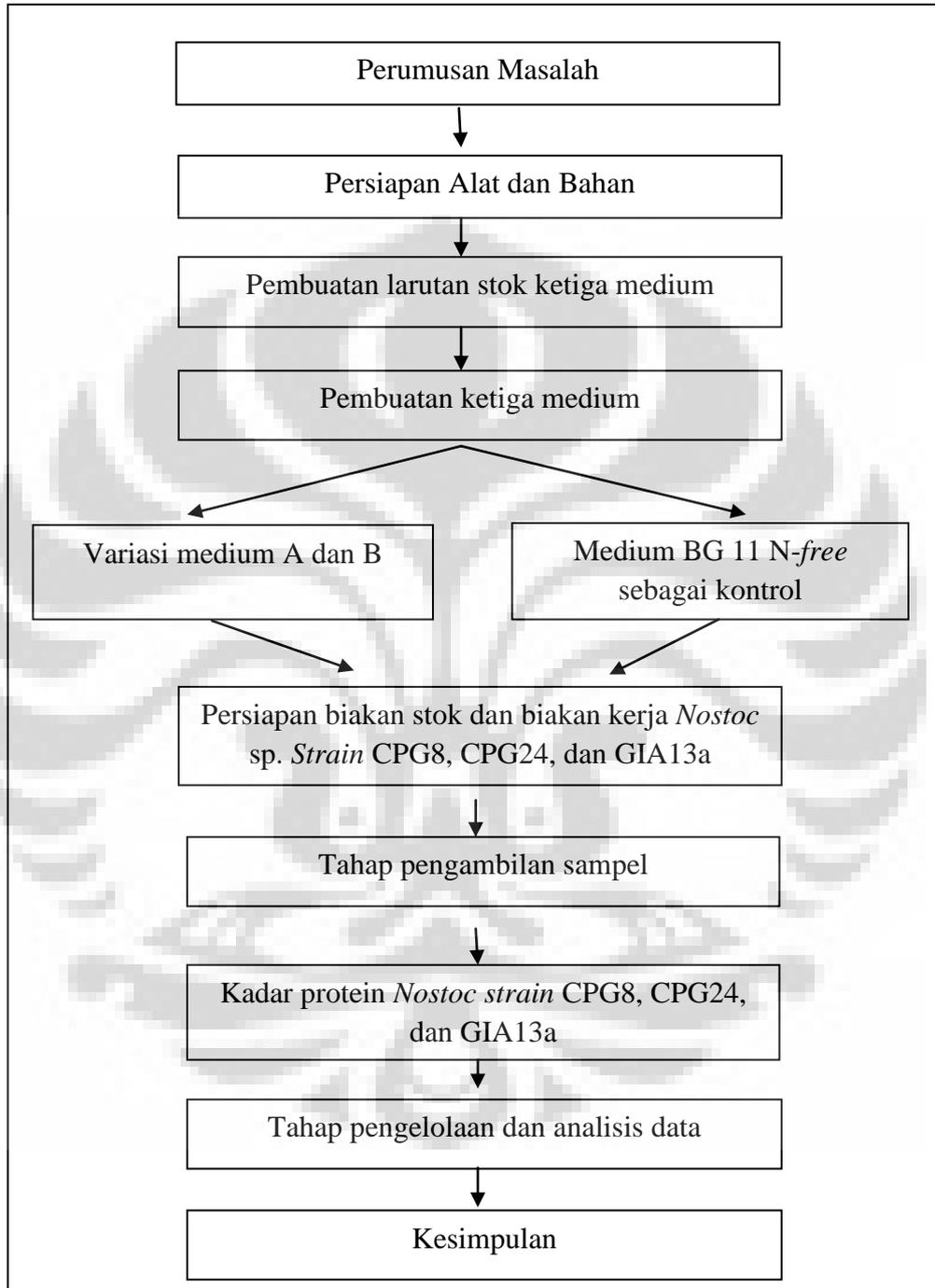
- Coyler, C. L., C. S. Kinkade, P. J. Viskari, & J. P. Landers. 2005. Analysis of cyanobacterial pigments and proteins by electrophoretic and chromatographic methods. *Anal Bioanal Chem* **382**: 559--569.
- De Castro, M. D. & F. P. Capote. 2007. *Analytical applications of ultrasound*. Elsevier, Oxford: xiv + 398 hlm.
- De Philippis, R. & M. Vincenzini. 1998. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. *FEMS microbial reviews* **22**: 151--175.
- Eyster, C. 1958. The micro element nutrition of *Nostoc muscorum*. The Ohio Journal of Sciences **58**(1): 27--33.
- Fessenden, R. J. & J. S. Fessenden. 1986. *Kimia organik jilid 2*. Terj. dari *Organic chemistry*. 3rd ed. oleh Pudjaatmaka, A. H. Penerbit Erlangga: xv + 525 hlm.
- Fitrianti, A. N. 2014. *Studi asosiasi strain Nostoc CPG8, CPG24, dan GIA13a dengan akar padi (Oryza sativa L.) varietas Ciherang secara in vitro*. Skripsi S1 Biologi FMIPA-UI, Depok: xi + 57 hlm.
- Fried, G. H. & G. J. Hademenos. 2006. *Schaum's outlines biologi*. Edisi ke-2. terj. dari *Schaum's outlines of theory and problems of biology*. 2nd ed. oleh Tyas, D. Penerbit Erlangga, Jakarta: 387 hlm.
- Fogg, G. E. 1965. *Algal cultures and phytoplankton ecology*. University of Wisconsin Press, Wisconsin: xiii + 126 hlm.
- Gandjar, I., W. Sjamsuridzal & A. Oetari. 2006. *Mikrobiologi: dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xii + 234 hlm.
- Gault, P. M. & H. J. Marler. 2009. *Handbook on cyanobacteria: biochemistry, biotechnology, and applications*. Nova Science Publishers, Inc., New York: vii + 507 hlm.
- Graham, L. E. & L. W. Wilcox. 2000. *Algae*. Prentice-Hall International (UK) Limited, London: xvi + 640 + G-14 + L-28 + SI-12 hlm.
- Handa, S. S., S. P. S. Khanuja, G. Longo & D. D. Rakesh. 2008. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. ICS UNINDO, Trieste: 259 hlm.

- Hendrayanti, D., L. R. Kusmadji, P. Yuliana, M. A. Amanina, & A. Septiani. 2012. Phylogeny of Indonesian Nostoc (cyanobacteria) isolated from paddy fields as inferred from partial sequence of 16S rRNA gene. *Makara Journal of Science* **16**(3): 203--208.
- Kim, In S., G. H. Nguyen, S. Kim, J. Lee, & Hye W. Yu. 2009. Evaluation of methods for cyanobacterial cell lysis and toxin (Microcystin-LR) extraction using chromatographic and mass spectrometric analyses. *Environmental Engineering Research* **14**(4): 250--254.
- Lee, R. E. 2008. *Phycology*. Cambridge University Press, New York: ix + 534 hlm.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, D. A. Stahl & D. P. Clark. 2012. *Brock biology of microorganism*. Pearson Education, Inc., San Francisco: xxvii + 1040 hlm.
- Nelson, D. L. & M. M. Cox. 2008. *Lehninger principles of biochemistry*. W. H. Freeman and Company, New York: viii + 1115 hlm.
- Potts, M. 1997. Etymology of the genus name Nostoc (Cyanobacteria). *International Journal of Systematic Bacteriology*. **47**(2): 584.
- Rittner, D & T. L. McCabe. 2004. *Encyclopedia of biology*. Facts On File, Inc., New York: xiv + 400 hlm.
- Sigee, D. C. 2005. *Freshwater microbiology biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment*. John Wiley & Sons Ltd., London: xiv + 524 hlm.
- Sinaga, D. A. 2009. *Pengukuran kadar klorofil dan protein empat isolat Nostoc [Vaucher 1803] Bornet et Flahault 1886 koleksi laboratorium taksonomi tumbuhan departemen biologi, FMIPA UI*. Skripsi S1 Biologi FMIPA-UI, Depok: viii + 64 hlm.
- Stanier, R. Y., R. Kunisawa, M. Mandel & G. C. Bazire. 1971. Purification and properties of unicellular bluegreen algae (Order *Chroococcales*). *Bacteriol. Rev.* **35**: 171--205.
- Talaro, K. P. & A. Talaro. 2002. *Foundations in microbiology*. 4th ed. TheMc Graw-Hill Companies, USA: xxix + 834 hlm.

- Tease, B. E. & R. W. Walker. 1987. Comparative composition of the sheath of the cyanobacterium *Gloeotheca* ATCC 27152 cultured with and without combined nitrogen. *Journal of General Microbiology*. **133**: 3331--3339.
- Tiwari, O. N., B. V. Singh, U. Mishra, A. K. Singh, D. W. Dhar, & P.K. Singh. 2005. Distribution and physiological characterization of Cyanobacteria isolated from arid zones of Rajashtan. *Tropical Ecology* (**46**)2: 65--171.
- Vashishta, B. R. 1999. *Botani for degree students: algae*. S. Ghand & Company Ltd., New Delhi: viii + 456 hlm.
- Whitton, B. A. 2001. *Phylum Cyanophyta (Cyanobacteria)*. Dalam: John, D. M., B. A. Whitton & A. J. Brook (eds.). 2001. *The freshwater algal flora of British Isles: Identification guide to freshwater and terrestrial algae*. Cambridge University Press, New York: 25--112 hlm.



Lampiran 1
Skema alur kerja penelitian



Lampiran 2
Komposisi bahan kimia yang digunakan untuk pembuatan medium A, B, dan N

No.	Bahan Kimia	Kadar (g/l)		
		Medium N	Medium A	Medium B
1.	NaNO ₃ *	1,5	1,5	1,5
1.	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,04	0,04	0,04
2.	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,075	0,075	0,075
3.	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,036	0,036	0,036
4.	Asam sitrat	0,006	0,006	0,006
5.	Ferri amonium sitrat	0,006	0,006	0,006
6.	EDTA	0,001	0,001	0,001
7.	NaCO ₃	0,02	0,04	0
8.	Larutan A5 (dalam 100 ml) terdiri dari:			
	-H ₃ BO ₃	0,286	0,286	0,286
	-MnCl ₂ .4H ₂ O	0,181	0,181	0,181
	-ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,022	0,022	0,022
	-NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,039	0,039	0,039
	-CuSO ₄ .5H ₂ O	0,0079	0,0079	0,0079
	-Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,00494	0,00494	0,00494
	Agar*	20 g	20 g	20 g

*Tidak digunakan dalam pembuatan ketiga medium

[Sumber: Stanier *dkk.* 1971: 1.]

Lampiran 3
Panduan Warna Castell-Polychromos No. 9216

101 Putih	136 Ungu koh	171 Hijau muda
104 Kuning	137 Ungu terang	173 Hijau zaitun
105 Kuning langsung	139 Ungu muda	174 Hijau cemara
106 Kuning kunyit	141 Biru Delft	175 Sepia
107 Kuning limeu	144 Biru kobalt muda	176 Coklat
108 Kuning kepodang	146 Biru langit	180 Coklat jangat
109 Kuning joner	147 Biru muda	182 Hortal coklat
113 Jingga muda	148 Biru jelah	183 Hortal emas
115 Jingga tua	149 Biru Galt	184 Hortal
117 Merah morona	150 Biru Berlin	187 Hortal reeung
118 Merah marak	151 Biru Prusia	189 Kayu manis
121 Merah dadu	153 Biru merah	190 Merah Venesia
124 Merah serah mawar	155 Belu	191 Merah Pompei
126 Merah serah tua	159 Hijau rumput	192 Merah Indian
127 Merah serah muda	161 Hijau tembaga	194 Liribayung
128 Merah mengkadu mawar	162 Hijau jelah	195 Abu-abu muda
129 Merah mengkadu jambon	163 Hijau zamrud	196 Abu-abu perak
131 Merah daging medium	167 Hijau getah	197 Nilajada
133 Merah anggur	168 Hijau lumut	198 Hitam sabak
134 Merah lombayung	170 Hijau apel	199 Hitam