



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERBANDINGAN KERAPATAN SEL
DAN KANDUNGAN KLOROFIL *Synechococcus* sp. RDB001
YANG DITUMBUHKAN PADA SUHU 30 ± 5 °C DAN 50 ± 5 °C**

SKRIPSI

**RININTA DWI ANGGRIARY
0806453346**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERBANDINGAN KERAPATAN SEL
DAN KANDUNGAN KLOROFIL *Synechococcus* sp. RDB001
YANG DITUMBUHKAN PADA SUHU 30 ± 5 °C DAN 50 ± 5 °C**

SKRIPSI

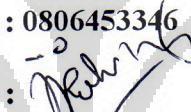
Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

**RININTA DWI ANGGRIARY
0806453346**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Rininta Dwi Anggriary
NPM : 0806453346
Tanda Tangan : 
Tanggal : 28 Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

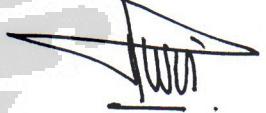
Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Rininta Dwi Anggriary
NPM : 0806453346
Program Studi : Biologi S1 Reguler
Judul Skripsi : Perbandingan Kerapatan Sel dan Kandungan Klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang Ditumbuhkan pada Suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Pengaji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi S1 Reguler, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dra. Nining B. Prihantini, M.Sc. ()

Pembimbing II : Dra. Lestari Rahayu, M.Sc. ()

Pengaji I : Drs. Wisnu Wardhana, M.Si. ()

Pengaji II : Dian Hendrayanti, S.Si., M.Sc. ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 28 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamiiin. Puji syukur kehadirat Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala nikmat, rahmat, dan karunia-Nya sehingga penulisan skripsi ini dapat diselesaikan. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Departemen Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- 1) Dra. Nining B. Prihantini, M.Sc. dan Dra. Lestari Rahayu, M.Sc. selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, pikiran, dukungan material, moral, nasehat, semangat, doa, perhatian, saran, dan nasihat yang luar biasa kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
- 2) Drs. Wisnu Wardhana, M.Si. dan Dian Hendrayanti, S.Si., M.Sc. selaku dosen penguji, Dr. Wibowo Mangunwardoyo dan Dra. Setiorini, M.Kes. selaku koordinator seminar, serta Dra. Titi Soedjiarti, S.U. selaku koordinator pendidikan. Terima kasih, karena telah memberikan bantuan, pengetahuan, koreksi, serta saran yang membangun bagi penulis.
- 3) Dr.rer.nat. Mufti P. Patria, M.Sc. dan Dra. Nining B. Prihantini, M.Sc. selaku Ketua dan Sekretaris Departemen Biologi FMIPA UI.
- 4) Drs. Wisnu Wardhana, M.Si. selaku Penasehat Akademis yang telah banyak membimbing, menasehati, mengajarkan, dan mendidik penulis dari awal perkuliahan sampai kelulusan.
- 5) Ariyanti Oetari, Ph.D. selaku penanggung jawab Laboratorium CoE IBR-GS FMIPA UI atas kerjasama dan bantuan fasilitas kepada penulis selama menyelesaikan penelitian.
- 6) Seluruh dosen Departemen Biologi FMIPA UI yang dengan sabar dan tulus telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis dan seluruh staf

Laboratorium dan karyawan Departemen Biologi FMIPA UI, khususnya Pak Taryana atas kerjasama dan bantuan kepada penulis selama menyelesaikan penelitian; Ibu Ida Haryati; Asri Martini, S.Si; Ahmad Supriadi, S.Ip; Mbak Fenti, Ir. Rusmalina; Sophia Cahya, S.Pd; Mas Dedi; Mas Arif; Pak Taryono; serta Bu Aam yang telah banyak membantu penulis selama penelitian.

- 7) Keluarga tercinta, Papa (Usman Affandie.Alm), Mama (Anggraini Rosmalia), kakak (Reyhan Emir Affandie), adik (Renita Della Anggraini), Om Caca (Mersa), keluarga besar Affandie, keluarga besar Achyanie, serta Rachmat Galuh Septyadhi dan keluarga, yang telah memberikan dukungan material, moral, nasehat, cinta, semangat, doa, serta perhatian yang luar biasa untuk kemajuan dan keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
- 8) Sahabat-sahabat yang telah banyak memberikan keceriaan dan selalu mendukung penulis dalam menyelesaikan skripsi ini Seyla Fenina, Labibah Qotrunnada, Nur El Fadhila, Mien Savira, Rithami Arita, Putri Krida Gita Prayoga, Maya Ulfa, Annisa, Bahagia Ayu Lestari, Sintia Purnadanti, Dassy Komalasari, Alvin Natalius, Sentot Tri Prabowo, Muhammad Rusli Munzir, Achmad Rizki, Edvan Arifsaputra, Abdul Jamaludin, Abdul Basir, Elmira Listyawardhani (SBM ITB-08), Andriana Asrini (Sastra Perancis UGM-08), Haridha Anindita (Silvikultur IPB-08), Wida Nur Masyitoh (Akuntasi Telkom-08), Ruth Theresia (Telkom-08), Farah Sheriana (UNPAD-08), Gestria Novirani, S.T. (Tehnik Kimia ITB-05), Nadya Sholihati Faizal, Mey Sarah Kasuma, kelompok MUMI4 dan JOSOL, serta kepada teman-teman Departemen Biologi FMIPA UI angkatan 2008 (Bi0s8ntris) yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan kebersamaan serta persahabatan yang indah kepada penulis selama ini.
- 9) Teman-teman di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Afiatri Putrika, S.Si. (BioUI-04), Raesti Wulan, S.Si. (BioUI-05), Wanda Anggi, S.Si. (BioUI-05), Maulana Akbar, S.Si. (BioUI-06), Anggi Septiani, S.Si. (BioUI-06), Mardhotillah Asma, S.Si. (BioUI-06), Maulida Oktaviani, S.Si. (BioUI-06), Quamilla Jasmine, S.Si. (BioUI-06), Angga Pratama (BioUI-09), Aprilia N. Fitrianti (BioUI-09), Fajar Addana (BioUI-09), Regi (BioUI-09), Widiatmoko (BioUI-09), dan Zenita Lintang Agustin (BioUI-10); kakak-kakak asisten di

Laboratorium CoE IBR-GS, Dafina Ghossani Nurlaili, S.Si. (BioUI-05) dan Irvan Maulana, S.Si. (BioUI-05); kakak-kakak di Departemen Biologi FMIPA UI angkatan 2001-2007; adik-adik di Departemen Biologi FMIPA UI angkatan 2009-2012; serta seluruh teman-teman yang turut membantu penulis.

- 10) Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini kurang dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis akan senang hati menerima segala kritik dan saran. Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis

2012

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama	:	Rininta Dwi Anggriary
NPM	:	0806453346
Program Studi	:	S1
Departemen	:	Biologi
Fakultas	:	Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya	:	Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non-eksklusif (Non-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah penulis yang berjudul :

Perbandingan Kerapatan Sel dan Kandungan Klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang Ditumbuhkan pada Suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir 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 : 28 Juni 2012

Yang menyatakan



(Rininta Dwi Anggriary)

ABSTRAK

Nama : Rininta Dwi Anggriary
Program Studi : S-1 Biologi Reguler
Judul : Perbandingan Kerapatan Sel dan Kandungan Klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang Ditumbuhkan pada Suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C

Penelitian tentang perbandingan kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C telah dilakukan. *Synechococcus* sp. yang digunakan merupakan isolat dari sampel air *hot spring* di daerah Rawa Danau-Banten dengan suhu air 50 °C yang ditumbuhkan dalam medium MA (pH 6). Penelitian bertujuan untuk mengetahui perbandingan rerata kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C dalam lemari inkubasi. Hasil penelitian memiliki manfaat untuk pemahaman tentang batas-batas toleransi fisiologi dan adaptasi *Synechococcus* sp. RDB001 secara *ex situ*. Pembibakan *Synechococcus* sp. RDB001 dilakukan dalam lemari inkubasi dengan suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C selama 16 hari, dari hari ke-0 (t_0) sampai hari ke-16 (t_{16}). Masing-masing perlakuan dilakukan dalam 16 kali ulangan. Analisis statistika menggunakan non parametrik uji Mann Whitney ($\alpha=0,05$) dan uji Spearman ($\alpha=0,01$). Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata ($\alpha=0,05$) pada kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C, serta tidak ada korelasi ($\alpha=0,01$) antara kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C.

Kata Kunci : *hot spring*, kandungan klorofil, kerapatan sel, *Synechococcus* sp. RDB001.

xiii+79 halaman : 24 gambar; 8 tabel
Daftar Referensi : 57 (1956–2012)

ABSTRACT

Name : Rininta Dwi Anggriary
Program Study : Biology
Title : Comparasion of Cells Density and Chlorophyll Content of *Synechococcus* sp. RDB001 Grown in Temperatures 30 ± 5 °C and 50 ± 5 °C

Research on the comparison of cell density and chlorophyll content of *Synechococcus* sp. RDB001 grown at a temperature of 30 ± 5 °C and 50 ± 5 °C was performed. *Synechococcus* sp. used a sample of isolates from the hot spring water in the Rawa Danau, Banten, the water temperature of 50 °C which was grown in MA medium (pH 6). The research aims to determine the ratio of the mean cell density and chlorophyll content of *Synechococcus* sp. RDB001 grown at a temperature of 30 ± 5 °C and 50 ± 5 °C in an incubation cabinet. The research has benefits for the understanding of the limits of physiological tolerance and adaptation of *Synechococcus* sp. RDB001 in ex situ. Breeding *Synechococcus* sp. RDB001 performed in an incubation cabinet with a temperature of 30 ± 5 °C and 50 ± 5 °C for 16 days, from day-0 (t_0) until day-16 (t_{16}). Each treatment carried out in 16 replications. Non-parametric statistical analysis using the Mann Whitney test ($\alpha=0,05$) and Spearman's test ($\alpha=0,01$). The results showed there were significant differences ($\alpha=0,05$) on the cell density of *Synechococcus* sp. RDB001 grown at a temperature of 30 ± 5 °C and 50 ± 5 °C, and no correlation ($\alpha=0,01$) between cell density and chlorophyll content of *Synechococcus* sp. RDB001 grown at a temperature of 30 ± 5 °C and 50 ± 5 °C.

Key Words : cell density, chlorophyll content, hot spring,
Synechococcus sp. RDB001

xiii+79 pages : 24 picture; 8 table
Bibliography : 57 (1956--2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN.....	1
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Cyanobacteria.....	4
2.2 Genus <i>Synechococcus</i>	6
2.3 Pertumbuhan Cyanobacteria.....	9
2.4 Kandungan Klorofil Pada Cyanobacteria	11
2.5 Faktor Pertumbuhan.....	13
2.5.1 Jumlah dan Umur Inokulum.....	13
2.5.2 Cahaya.....	14
2.5.3 Suhu.....	16
2.5.4 Medium.....	17
2.5.5 Salinitas.....	18
2.5.6 Derajat Keasaman (pH).....	19
2.6 Kolam <i>Hot Spring</i> di Rawa Danau-Banten.....	19
3. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	21
3.2 Bahan.....	21
3.2.1 Mikroorganisme.....	21
3.2.2 Medium.....	22
3.2.3 Bahan Kimia dan Bahan Habis Pakai.....	22
3.3 Peralatan.....	22
3.4 Cara Kerja.....	23
3.4.1 Rancangan Penelitian.....	23
3.4.2 Persiapan Alat.....	25
3.4.3 Pembuatan Medium MA.....	25
3.4.4 Pembuatan Biakan Stok (<i>Stock Culture</i>) dan Biakan Kerja (<i>Working Culture</i>) <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 Sebagai Starter...	27
3.4.5 Perancangan Lemari Inkubasi.....	28
3.4.6 Penginokulasian Biakan Uji.....	29

3.4.7 Peletakan Biakan Dalam Lemari Inkubasi.....	30
3.4.8 Pengukuran Parameter Pengamatan.....	32
3.4.8.1 Penghitungan Kerapatan Sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001	32
3.4.8.2 Pengukuran Kandungan Klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	34
3.4.8.3 Pengukuran Ukuran Sel dan Pengamatan Bentuk Sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	37
3.4.8.4 Pengukuran pH Medium Biakan <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	37
3.4.8.5 Pengukuran Suhu Medium Biakan <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	37
3.4.8.6 Pengukuran Fluktuasi Suhu Lemari Inkubasi.....	37
3.4.8.7 Pengukuran Fluktuasi Kelembaban Lemari Inkubasi.....	38
3.5 Penyusunan, Pengolahan, dan Analisis Data.....	38
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1 Kerapatan Sel dan Kurva Pertumbuhan <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	39
4.2 Kandungan Klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	48
4.3 Korelasi antara Kerapatan Sel dan Kandungan Klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	52
4.4 Pengamatan Biakan dan Lemari Inkubasi.....	55
4.4.1 Pengamatan Biakan.....	55
4.4.1.1 Mikroskopis Sel.....	55
4.4.1.2 Derajat Keasaman (pH) Medium Biakan.....	57
4.4.1.3 Suhu Medium Biakan.....	57
4.4.2 Pengamatan Lemari Inkubasi.....	58
4.4.2.1 Suhu Lemari Inkubasi.....	58
4.4.2.2 Kelembaban Lemari Inkubasi.....	58
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
5.1 Kesimpulan.....	60
5.2 Saran.....	60
DAFTAR REFERENSI.....	61
LAMPIRAN.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kurva daerah suhu pertumbuhan mikroorganisme.....	5
Gambar 2.2(1)	<i>Synechococcus</i> sp.....	7
Gambar 2.2(2)	<i>Synechococcus</i> sp. (Nägeli).....	7
Gambar 2.3	Kurva pertumbuhan alga dalam <i>batch culture</i>	9
Gambar 3.2.1	<i>Hot spring</i> di daerah Rawa Danau-Banten.....	21
Gambar 3.4.1	Skema kerja penelitian.....	24
Gambar 3.4.2	Skema kerja sterilisasi alat.....	25
Gambar 3.4.3	Skema kerja pembuatan medium MA.....	26
Gambar 3.4.4	Skema kerja pembuatan <i>stock culture</i> dan <i>working culture</i>	28
Gambar 3.4.5	Lemari inkubasi.....	29
Gambar 3.4.6	Skema kerja inokulasi biakan uji.....	30
Gambar 3.4.7(1)	Peletakkan biakan dalam lemari inkubasi I dan II.....	31
Gambar 3.4.7(2)	Skema peletakkan biakan dalam lemari inkubasi I dan II... ..	32
Gambar 3.4.8.1	Kamar hitung <i>Improved Neubauer</i>	33
Gambar 3.4.8.2(1)	Skema kerja pengukuran kandungan klorofil <i>Synechococcus</i> sp RDB001.....	35
Gambar 3.4.8.2(2)	Sentrifugasi.....	36
Gambar 3.4.8.2(3)	Spektrofotometer.....	36
Gambar 4.1(1)	Grafik fase pertumbuhan rerata kerapatan sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	41
Gambar 4.1(2)	Penampakan makroskopik biakan <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	45
Gambar 4.1(3)	Grafik perbandingan rerata kerapatan sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	46
Gambar 4.2(1)	Histogram rerata kandungan klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	50
Gambar 4.3	Hubungan rerata kerapatan sel dan rerata kandungan klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	54
Gambar 4.4.1.1(1)	Ukuran sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	56
Gambar 4.4.1.1(2)	Bentuk sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Daerah aktivitas suhu mikroorganisme.....	5
Tabel 2.2	Klasifikasi <i>Synechococcus</i>	8
Tabel 2.5.3	Komposisi medium MA per liter.....	17
Tabel 4.1	Rerata kerapatan sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 dengan 16 ulangan.....	40
Tabel 4.2	Rerata kandungan klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001.....	49
Tabel 4.3(1)	Perbandingan antara rerata kerapatan sel dan kandungan klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C.....	53
Tabel 4.3(2)	Perbandingan antara rerata kerapatan sel dan kandungan klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C.....	53
Tabel 4.4.2.2	Rerata pengamatan biakan dan lemari inkubasi.....	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Contoh penghitungan kerapatan sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 (sel.mL^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C.....	67
Lampiran 2	Uji Mann Whitney terhadap data rerata kerapatan sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 (sel.mL^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C.....	68
Lampiran 3	Contoh penghitungan kandungan klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 dengan Rumus Arnon.....	71
Lampiran 4	Uji Spearman terhadap data rerata kerapatan sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 (sel.mL^{-1}) dan kandungan klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 (mg.L^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C selama 8 hari pengamatan.....	72
Lampiran 5	Uji Spearman terhadap data rerata kerapatan sel <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 (sel.mL^{-1}) dan kandungan klorofil <i>Synechococcus</i> sp. RDB001 (mg.L^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C selama 8 hari pengamatan.....	75
Lampiran 6	Panduan warna Faber Castell-Polychrome Albrech Durer 120 warna.....	78

BAB 1

PENDAHULUAN

Cyanobacteria merupakan kelompok alga prokariotik fotosintetik (Bold & Wynne 1985: 34). Beberapa anggotanya mampu tumbuh dan beradaptasi dengan kondisi ekstrim (Barsanti & Gualtieri 2006: 213). Organisme tersebut diketahui mampu beradaptasi dengan suhu tinggi. Salah satu mekanisme adaptasi Cyanobacteria terhadap suhu tinggi, yaitu memiliki stabilitas panas yang tinggi dengan memproduksi protein *heat shock* (HPSs). Paparan suhu tinggi terhadap sel dapat mengurangi sintesis protein selular normal dan pada saat yang sama menginduksi sintesis protein baru, yaitu HPSs. Protein tersebut bekerja saat organisme berada dalam cekaman panas ketika enzim didenaturasi. Selain HSPs, Cyanobacteria juga diketahui memiliki *thermostability* yang memainkan peran kunci dalam proses metabolisme (Zhaoqi 1994: 363).

Cyanobacteria tidak hanya ditemukan di habitat akuatik melainkan juga ditemukan di habitat terestrial dan habitat ekstrim seperti di daerah *hot spring*, gurun pasir, danau beku, dan padang salju sehingga disebut kosmopolit (Graham & Wilcox 2000: 119). Organisme tersebut dapat pula ditemukan di lumpur, pasir, batu, pohon dan ada pula yang hidup menempel pada hewan (Bold & Wynne 1985: 3). Lingkungan yang ekstrim menyebabkan hanya beberapa spesies Cyanobacteria saja yang mampu tumbuh dan beradaptasi, sebagai contoh *Oscillatoria* sp. dan *Synechococcus* sp. (Barsanti & Gualtieri 2006: 213).

Pertumbuhan Cyanobacteria, termasuk *Synechococcus* sp. dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik. Pengaruh faktor biotik meliputi inokulum dan mikroorganisme lain (kontaminan), serta faktor abiotik meliputi suhu, intensitas cahaya, pH, salinitas, dan medium biakan (Barsanti & Gualtieri 2006: 213). Diantara beberapa faktor yang memengaruhi pertumbuhan Cyanobacteria, suhu merupakan salah satu faktor yang berpengaruh pada proses biologis Cyanobacteria. Hal tersebut akan menyebabkan penampakan bentuk morfologi dan ukuran sel (lebih kecil) yang sedikit berbeda dari Cyanobacteria air tawar (Zhaoqi 1994: 363).

Seperti diketahui bahwa berdasarkan ketahanan terhadap suhu lingkungan, Cyanobacteria dapat dikelompokkan kedalam psikrofilik, psikrotrofik, mesofilik, termofilik, dan hipertermofilik (Hunter College of The City University of New York 2004: 4). *Synechococcus* sp. merupakan spesies yang dominan dijumpai pada lingkungan suhu tinggi ($\pm 24^\circ$ -- 90°C). Bauld dan Brock (1974) menyatakan bahwa *Synechococcus* sp. yang hidup di *hot spring* mampu bertahan hidup pada kisaran suhu 50° -- 73°C (*lihat* Bold & Wynne 1985: 35). Menurut Gombos *dkk.* (1991) dan Nishiyama *dkk.* (1999), studi mengenai pengaruh suhu tinggi ($\pm 72^\circ\text{C}$) terhadap Cyanobacteria termofilik *Synechococcus vulcanus* telah dilakukan di Jepang (*lihat* Inoue *dkk.* 2000: 515). Katoh & Pietro (1967), Yamashita & Butker (1968), dan Santarius (1975) menjelaskan tentang pengaruh cekaman panas pada Cyanobacteria yang menyebabkan oksidasi pada fotosistem II (*lihat* Inoue *dkk.* 2000: 515). Sementara itu, Fork *dkk.* (1987) menemukan bahwa suhu tinggi (72°C) menyebabkan fikobiliprotein mengalami degradasi (*lihat* Inoue *dkk.* 2000: 515). Kematian sel-sel *Synechococcus vulcanus* akibat suhu tinggi tersebut berhubungan dengan denaturasi membran sel yang tidak dapat pulih kembali (Inoue *dkk.* 2000: 515).

Selain faktor suhu, cahaya diketahui juga memengaruhi pertumbuhan Cyanobacteria, karena mikroorganisme tersebut diketahui mampu melakukan fotosintesis. Klorofil a dan fikosianin merupakan pigmen fotosintetik pada Cyanobacteria (Bold & Wynne 1985: 34). Cyanobacteria tidak hanya mengandung klorofil, akan tetapi juga mengandung berbagai karotenoid, fikobilin, dan ada beberapa spesies mengandung fikoeritrin. Kombinasi fikobilin dan klorofil akan menghasilkan warna hijau biru (Wehr & Sheath 2003: 16). Menurut Alberte *dkk.* (1984), Guillard *dkk.* (1985), dan Wood *dkk.* (1985), pigmen utama yang diidentifikasi pada *Synechococcus* sp., yaitu klorofil a, zeaxantin, fikosianin, fikoeritrin, dan β -karoten (*lihat* Bidigare 1989: 177). Alberte *dkk.* (1984), Guillard *dkk.* (1985), dan Wood *dkk.* (1985) juga menyatakan bahwa klorofil a pada *Synechococcus* sp., terletak di permukaan membran tilakoid (*lihat* Bidigare 1989: 177).

Pengetahuan tentang Cyanobacteria *hot spring*, khususnya *Synechococcus* di Indonesia belum terungkap dengan baik terutama dalam kerapatan sel dan

kandungan klorofil, sehingga dibutuhkan penelitian. Strain *Synechococcus* sp. yang dominan tumbuh di *hot spring* daerah Rawa Danau-Banten (*Synechococcus* sp. RDB001) belum diketahui apakah mampu tumbuh maksimal pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C di lemari inkubasi buatan. Selama pelaksanaan penelitian, terdapat beberapa permasalahan antara lain, ruang pemeliharaan (lemari inkubasi) harus disesuaikan dengan mikrohabitat di lingkungan alami. Sehingga, penelitian masih bersifat *ex situ* yang dimodifikasi sesuai dengan sarana dan prasarana yang ada.

Penelitian bertujuan untuk mengetahui perbandingan rerata kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C dalam lemari inkubasi. Hal tersebut dapat menjadi salah satu dasar untuk penelitian lebih lanjut, seperti penelitian tingkat DNA. Hipotesis yang diajukan adalah semakin tinggi suhu yang diberikan (dibawah suhu optimal), maka kerapatan sel dan kandungan klorofil juga akan semakin tinggi.

Penelitian memiliki manfaat untuk pemahaman tentang batas toleransi fisiologis dan adaptasi pada *Synechococcus* sp. RDB001 secara *ex situ*. Dengan mengetahui hal tersebut, dapat diketahui apakah *Synechococcus* masuk ke dalam kelompok suhu pertumbuhan psikofilik, psikrotrofik, mesofilik, termofilik, dan hipertermofilik.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cyanobacteria

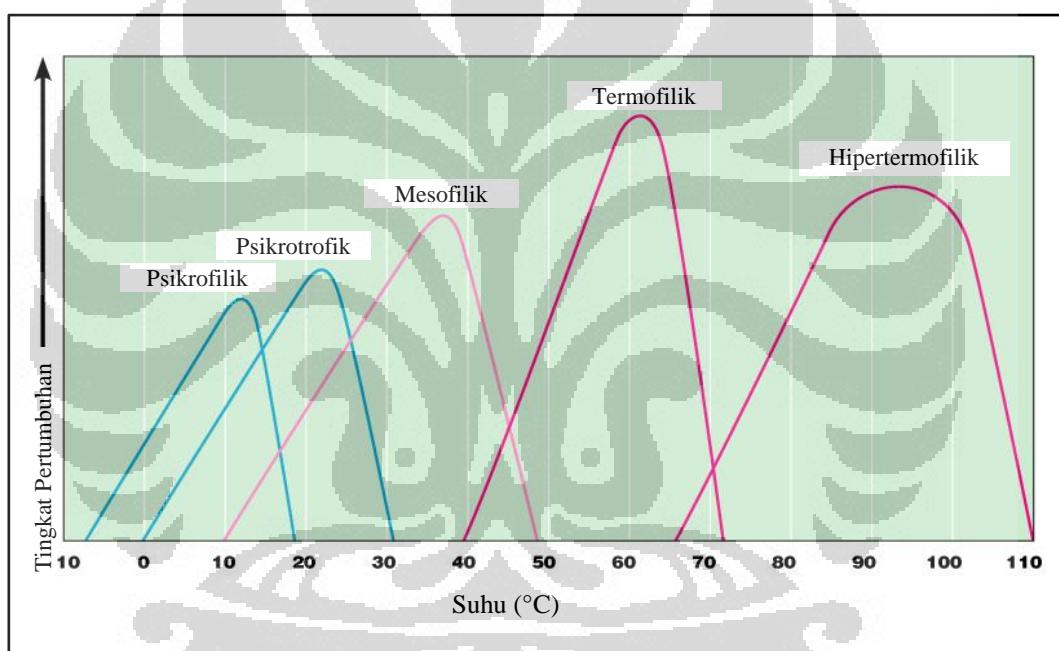
Cyanobacteria merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang dapat menempati beberapa lingkungan ekstrim (ekstrimofil). Beberapa lingkungan ekstrim diantaranya di daerah kering (gurun pasir), hipersalinitas (Laut Mati), pH rendah (acidofilik), pH tinggi (alkalin), suhu rendah (Artik dan Antartika) dan suhu tinggi (*hot spring*) (Graham & Wilcox 2000: 120). Kemampuan menempati lingkungan ekstrim pada Cyanobacteria, disebabkan Cyanobacteria dapat menoleransi kondisi lingkungan, seperti suhu, salinitas dan keadaan kering sepanjang tahun (Sze 1998: 29--30).

Menurut Berry dan Björkman (1980), peningkatan suhu lingkungan dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai jenis organisme fotosintetik, akan tetapi diketahui organisme fotosintetik dapat menyesuaikan diri dengan suhu pertumbuhan mereka sampai batas tertentu (*lihat* Aminaka *dkk* 2006: 1612). Cyanobacteria dapat bertahan hidup dalam batas suhu minimum, optimum, dan maksimum. Suhu minimum adalah suhu paling rendah dimana aktivitas sel masih dapat berlangsung. Suhu optimum adalah suhu paling cocok untuk aktivitas hidup mikroorganisme tersebut. Sementara itu, suhu maksimum adalah suhu yang masih dapat digunakan untuk aktivitas sel, tetapi tingkatan kegiatan fisiologis paling minimal (Jutono *dkk.* 1980: 155; Timotius 1982: 129).

Seperti halnya mikroorganisme lain, Cyanobacteria dapat dikelompokkan berdasarkan kisaran suhu pertumbuhan yang terdiri dari psikofil, mesofil, dan termofil (Tabel 2.1) (Madigan *dkk.* 1997: 321). Mikroorganisme psikofil (oligotermik), yaitu mikroorganisme yang hidup pada kisaran suhu 0°--30 °C dengan suhu optimum 15 °C (Tabel 2.1) (Madigan *dkk.* 1997: 321). Kelompok mikroorganisme mesofil (mesotermik) merupakan mikroorganisme yang tumbuh secara optimum pada suhu 25--40 °C, dengan suhu minimum 15 °C dan suhu maksimum ±55 °C (Tabel 2.1) (Madigan *dkk.* 1997: 321). Mikroorganisme termofil (politermik), yaitu mikroorganisme yang tumbuh secara optimum pada

suhu 55–65 °C dan memiliki suhu batas bawah 40 °C dan batas atas 75 °C (Tabel 2.1) (Madigan *dkk.* 1997: 321). Mikroorganisme termofil dapat dijumpai di habitat kolam *hot spring* dan tempat-tempat lain yang bersuhu lebih tinggi dari suhu 55 °C (Madigan *dkk.* 1997: 321).

Berbeda dari Madigan *dkk.* (1997), menurut Hunter College of The City University of New York (2004: 4), pengelompokan mikroorganisme secara umum berdasarkan kisaran suhu pertumbuhannya, terdiri dari psikrofilik, psikrotrofik, mesofilik, termofilik, dan hipertermofilik (Gambar 2.1). Pengelompokan tersebut memiliki kisaran yang lebih sempit, akan tetapi memiliki batas atas yang lebih tinggi.



Gambar 2.1 Kurva daerah suhu pertumbuhan Cyanobacteria

[Sumber: Modifikasi dari Hunter College of The City University of New York 2004: 4.]

Tabel 2.1 Daerah aktivitas suhu mikroorganisme

Golongan	Suhu Pertumbuhan		
	Minimum	Optimum	Maksimum
Psikrofil	0 °C	10–15 °C	30 °C
Mesofil	15–25 °C	25–37 °C	40–55 °C
Termofil	24–45 °C	55–65 °C	75–90 °C

(Madigan *dkk.* 1997: 321).

Universitas Indonesia

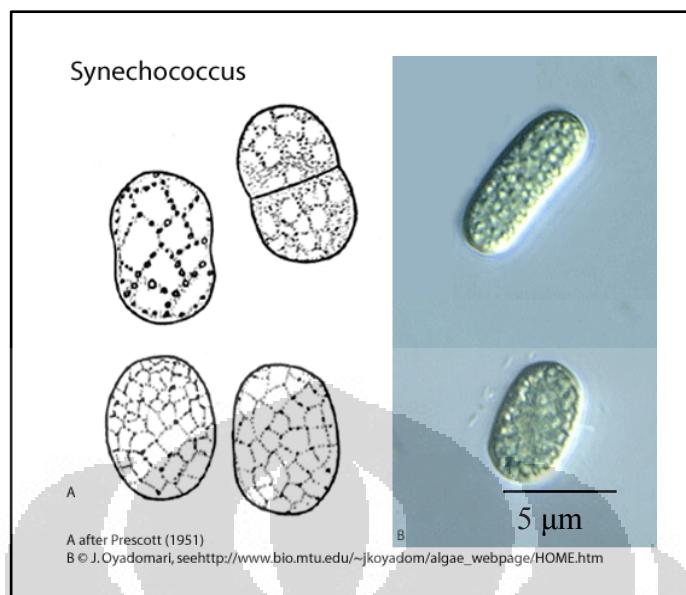
Beberapa strain *Synechococcus* sp. yang diisolasi dari berbagai lokasi, dikoleksi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UI, Depok. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, strain *Synechococcus* sp. yang berasal dari Situ Agathis Kampus UI Depok mampu tumbuh pada suhu 20 °C, 27 °C, dan 40 °C, sedangkan kemampuan tumbuh pada suhu tertentu dari strain lainnya, termasuk *Synechococcus* sp. RDB001 belum diketahui

2.2 Genus *Synechococcus*

Synechococcus merupakan organisme bersel tunggal dan dapat membentuk koloni; berbentuk bulat, lonjong, tidak beraturan; dan sebagian besar selnya tidak memiliki lendir (*mucilage*) (Whitton 2002: 57). *Synechococcus* berwarna hijau biru pucat, hijau zaitun, hijau biru terang, atau merah muda (Guiry & Guiry 2012: 1) dengan bentuk bulat, elips atau silindris (Whitton 2002: 57) (Gambar 2.2). Menurut Hodell dkk. (1978) *Synechococcus* memiliki ukuran dengan panjang 2 sampai 3 kali lebar tubuh, yang menurut Schmidt dkk. (1991) lebar sel berukuran $\pm 2 \mu\text{m}$ (lihat Haverkamp dkk. 2009: 397). Sel tersebut dapat bergerak berenang bebas dengan cara mendorong diri dengan kecepatan 25 mm.detik⁻¹ walaupun tidak ada alat gerak ekternal yang terlihat (The Regents of The University of California 2012: 1).

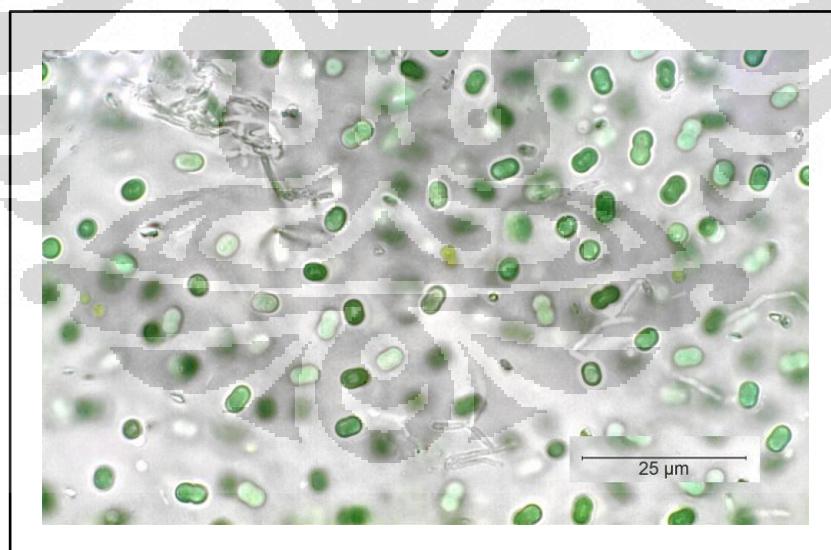
Synechococcus bereproduksi dengan cara pembelahan biner, tegak lurus dengan panjang sel. Ukuran sel anak dapat tumbuh lebih besar atau lebih kecil dari ukuran induknya. Kondisi abiotik yang kurang optimal menimbulkan sel mengalami involusi (pertumbuhan kembali menjadi bentuk yg lebih sederhana) memanjang dan berbentuk benang, yang mampu membelah secara asimetris (Guiry & Guiry 2012: 1).

Synechococcus adalah salah satu anggota dari kingdom Bacteria, phylum Cyanobacteria, class Cyanophyceae, dan order Synechococcales (Guiry & Guiry 2012: 1) (Tabel 2.2). Beberapa contoh spesies yang tergolong dalam genus *Synechococcus*, antara lain *S. elongatus* (Nägeli), *S. lividus* Copeland, *S. vulcanus* Copeland, *S. marinus* Jao, dan *S. violaceus* Grunow (Guiry & Guiry 2012: 1).



Gambar 2.2(1) *Synechococcus* sp.

[Sumber: Modifikasi dari The Royal Botanic Garden & Domain Trust 2000: 1.]



Gambar 2.2(2) *Synechococcus* sp. (Nägeli)

[Sumber: Koleksi Martin Godfrey dalam Guiry & Guiry 2012: 1.]

Klasifikasi menurut ahli *botanist* Guiry & Guiry (2012: 1) ditunjukkan dalam Tabel 2.2

Tabel 2.2 Klasifikasi *Synechococcus*

Taksa	Keterangan
Empire	Prokaryota
Kingdom	Bacteria
Subkingdom	Negibacteria
Phylum	Cyanobacteria
Class	Cyanophyceae
Subclass	Synechococcophycideae
Order	Synechococcales
Family	Synechococcaceae
Subfamily	Synechococcoideae
Genus	<i>Synechococcus</i>

(Guiry & Guiry 2012: 1).

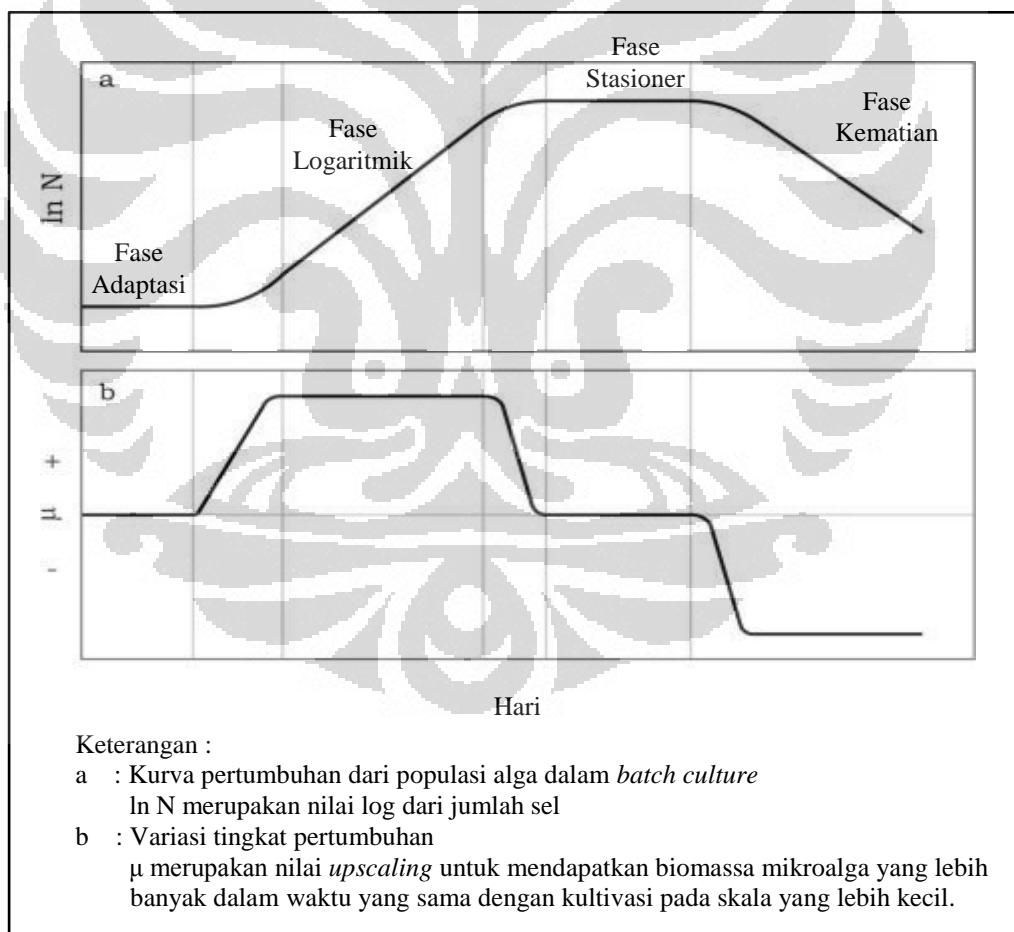
Secara umum, *Synechococcus* mendominasi habitat pada pH netral dan hidup sebagai plankton dan bentos (Bold & Wyne 1985). Hodell *dkk.* (1978) menyatakan bahwa *Synechococcus* merupakan produsen primer yang penting sebagai plankton air laut dan air tawar (*lihat* Graham & Wilcox 2000: 121). Selain hal tersebut, Hodell *dkk.* (1978) juga menyatakan bahwa *Synechococcus* ditemukan pada tepi aliran air, kolam, dan bebatuan di daerah sekitar *hot spring* (*lihat* Graham & Wilcox 2000: 121).

Beberapa spesies *Synechococcus* yang dapat bertahan pada suhu yang berbeda (± 50 – 75°C), ditemukan di Benua Amerika bagian utara, Benua Afrika, dan Benua Asia seperti di Jepang dan Indonesia (Wehr & Sheath 2003: 82). Salah satu contoh spesies *Synechococcus* yang dapat hidup sampai suhu $74,5^{\circ}\text{C}$ adalah *Synechococcus lividus* yang ditemukan di Taman Nasional Yellowstone, Amerika Serikat (Kullberg 1981: 151). Menurut Hodell *dkk.* (1978), populasi *Synechococcus lividus* di Taman Nasional Yellowstone, Amerika Serikat telah beradaptasi dengan suhu lingkungan dan tidak akan tumbuh pada suhu dibawah 54°C (*lihat* Graham & Wilcox 2000: 120–121). *Synechococcus lividus* yang diteliti oleh Sompong *dkk.* (2008: 153) menunjukkan kelimpahan yang cukup tinggi pada sumber air panas di San Kamphaeng, Pong Dued, dan Theppanom-

Thailand dengan suhu 60–75°C dan membentuk tikar hijau kuning di permukaan sumber air panas.

2.3 Pertumbuhan Cyanobacteria

Pertumbuhan *Synechococcus*, seperti pertumbuhan Cyanobacteria pada umumnya, didefinisikan sebagai pertambahan jumlah sel per unit waktu. Pertumbuhan tersebut dapat digambarkan dengan kurva pertumbuhan (Gambar 2.3). Kurva pertumbuhan terdiri atas empat fase, yaitu fase adaptasi (*lag phase*), fase logaritmik (*logarithmic phase*), fase stasioner (*stationer phase*), dan fase kematian (*death phase*) (Gandjar dkk. 2006: 39; Madigan & Martinko 2006: 152).



Gambar 2.3 Kurva pertumbuhan alga dalam *batch culture*
[Sumber: Modifikasi dari ePlantScience.com 2009: 1.]

Fase adaptasi merupakan periode penyesuaian sel Cyanobacteria dengan lingkungan yang ditandai dengan jumlah sel tidak bertambah secara signifikan, karena sel melakukan persiapan materi untuk pembelahan (Madigan & Martinko 2006: 152). Lama fase adaptasi tergantung dari umur inokulum dan jumlah inokulum yang dipakai (Fogg & Thake 1987: 13). Berdasarkan penelitian pendahuluan, fase adaptasi pada *Synechococcus* sp. koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UI, Depok yang berasal dari Situ Agathis Kampus UI Depok dengan medium pertumbuhan MA, suhu inkubasi 40 °C, dan menggunakan fotoperiodisitas 14:10, berlangsung kurang dari empat hari setelah inokulasi.

Fase logaritmik (fase log) ditandai dengan pembelahan sel yang cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik (Madigan & Martinko 2006: 152).

Kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuh mikroorganisme seperti pH dan kandungan nutrien juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara (Fogg & Thake 1987: 22--23). Pada fase log, mikroorganisme membutuhkan energi lebih banyak dari pada fase lain, karena kondisi biakan paling sensitif terhadap keadaan lingkungan (Fogg & Thake 1987: 22--23). Berdasarkan penelitian pendahuluan, fase log pada *Synechococcus* sp. koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UI, Depok yang berasal dari Situ Agathis Kampus UI Depok dengan medium pertumbuhan MA, suhu inkubasi 40 °C, dan menggunakan fotoperiodisitas 14:10, berlangsung saat biakan berumur 4--10 hari.

Fase stasioner ditandai oleh jumlah populasi sel yang relatif tetap, karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati (Stewart 1974: 849). Ukuran sel pada fase stasioner menjadi lebih kecil, karena sel tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah habis (Fogg & Thake 1987: 36). Akibat kekurangan zat nutrisi, memicu sel memasuki fase stasioner (Fogg & Thake 1987: 36). Berdasarkan penelitian pendahuluan, fase stasioner pada *Synechococcus* sp. koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UI, Depok yang berasal dari Situ Agathis Kampus UI Depok berlangsung ketika biakan berumur 11--21 hari. Fase kematian mulai terlihat ketika nutrien di dalam medium sudah habis dan energi cadangan di dalam sel habis. Fase tersebut

merupakan fase akhir dari pertumbuhan Cyanobacteria. Kecepatan kematian bergantung pada kondisi nutrien, lingkungan, dan spesies mikroorganisme (Sarles dkk. 1956: 91). Berdasarkan penelitian pendahuluan, fase kematian pada *Synechococcus* sp. koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UI, Depok yang berasal dari Situ Agathis Kampus UI Depok dengan medium pertumbuhan MA, suhu inkubasi 40 °C, dan menggunakan fotoperiodisitas 14:10, dimulai ketika biakan mencapai umur 22 hari.

2.4 Kandungan Klorofil pada Cyanobacteria

Cyanobacteria dapat berfotosintesis, karena memiliki pigmen fotosintetik. Hal tersebut yang membedakan antara Cyanobacteria dengan bakteri. Secara umum, terdapat tiga kelompok pigmen fotosintetik yang terdapat pada alga, yaitu klorofil, fikobilin, dan karotenoid (Graham & Wilcox 2000: 106--108). Menurut Alberte dkk. (1984), Guillard dkk. (1985), dan Wood dkk. (1985), pigmen utama yang diidentifikasi pada *Synechococcus* sp. adalah klorofil a, zeaxantin, fikosianin, fikoeritrin, dan β -karoten (*lihat* Bidigare 1989: 177). Alberte dkk. (1984), Guillard dkk. (1985), dan Wood dkk. (1985) juga menyatakan bahwa klorofil merupakan pigmen fotosintetik primer yang berperan penting dalam penyerapan energi cahaya pada proses fotosintesis (*lihat* Bidigare 1989: 177).

Penyerapan panjang gelombang oleh pigmen dalam fotosintesis *Synechococcus* sangat bervariasi. Hal tersebut disebabkan *Synechococcus* memiliki berbagai jenis pigmen. Panjang gelombang cahaya yang diserap *Synechococcus* untuk proses fotosintesis adalah 300--720 nm. Menurut Hauschild dkk. (1991), *Synechococcus* sp. melakukan fotosintesis dan tingkat pertumbuhan secara efisien pada cahaya merah (620--750 nm) dan putih (representasi seluruh jenis gelombang warna 300--720 nm) (*lihat* Vijaya 2009: 36). Menurut Öquist (1974) dan Lundell & Glazer (1981), intensitas cahaya yang rendah merangsang sintesis fikobilisom (*lihat* Vijaya 2009: 36). Penelitian Takano dkk. (1995), menunjukkan bahwa cahaya merah (620--750 nm) atau biru (450--495 nm) sangat penting untuk produksi fikosianin pada *Synechococcus* sp. NKBG 042902, sedangkan menurut Senge & Senger (1991), sintesis protein atau aktivasi enzim di

alga hijau uniselular dipicu oleh cahaya biru (450--495 nm) (*lihat* Vijaya 2009: 36).

Sintesis klorofil dipengaruhi oleh faktor genetika, unsur, cahaya, dan suhu (Bidwel 1974: 233). Sintesis klorofil diatur oleh gen yang terdapat pada Cyanobacteria. Unsur Mg dan Fe adalah unsur yang diperlukan untuk pembentukan struktur klorofil dan sintesis *δ-aminolevulnic acid* (Dwijoseputro 1983: 16--17). Perubahan *protochlorophyllide* menjadi *chlorophyllide a* pada tahapan sintesis klorofil memerlukan energi cahaya, dengan suhu optimum untuk sintesis klorofil adalah 26--30 °C (Bidwel 1974: 233; Dwijoseputro 1983: 16--17).

Pengukuran kandungan klorofil pada Cyanobacteria dilakukan dengan cara mengekstraksi klorofil tersebut. Klorofil dapat diekstraksi dari membran tilakoid dengan menggunakan pelarut organik aseton atau metanol, karena klorofil merupakan pigmen yang larut dalam lemak (Meeks 1974: 161--162). Prinsip ekstraksi pigmen adalah dengan mengganggu integritas sel sehingga molekul pigmen dapat keluar dari membran sel (Meeks 1974: 161--162). Setelah proses ekstraksi, pigmen dapat dipisahkan dan diukur dengan beberapa metode, diantaranya metode spektrofotometri (Meeks 1974: 161--162).

Pengukuran kandungan klorofil menggunakan metode spektrofotometri menggunakan panjang gelombang yang berbeda-beda. Menurut Davies (1976), pengukuran kandungan zeaxantin menggunakan panjang gelombang 450 nm dan untuk β-karotin 449 nm, serta menurut Kilpatrick (1985) pengukuran kandungan fikoeritrin menggunakan panjang gelombang 547 nm (*lihat* Bidigare 1989: 180). Sedangkan, klorofil a menggunakan panjang gelombang 645 dan 663 nm (Meeks 1974: 161). Kandungan klorofil diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi dari hasil spektrofotometri ke rumus Arnon:

$$\text{Klorofil a (mg.L}^{-1}\text{)} = 12,7 (\text{D}_{663\text{nm}}) - 2,69 (\text{D}_{645\text{nm}})$$

(Meeks 1974: 161--162).

2.5 Faktor Pertumbuhan

Pertumbuhan Cyanobacteria dalam biakan dipengaruhi oleh beberapa faktor, baik secara fisik, kimiawi, dan biologi. Faktor biologi, antara lain jumlah dan umur inokulum. Faktor fisik, antara lain cahaya dan suhu. Faktor kimiawi, antara lain medium, salinitas, dan pH medium (Fogg 1965: 13--15). Parameter yang optimal pada satu spesies tertentu belum tentu optimal untuk spesies lain (Barsanti & Gualtieri 2006: 213).

2.5.1 Jumlah dan Umur Inokulum

Menurut Happey-Wood (1991: 174), inokulum adalah sejumlah sel mikroalga yang masih aktif membelah diri, yang dimasukkan ke dalam medium pertumbuhan sebagai perintis populasi. Penggunaan jumlah dan umur inokulum yang tepat dalam suatu medium akan memberikan hasil yang baik atau optimum pada kerapatan sel.

Jumlah inokulum berpengaruh terhadap pertumbuhan populasi biakan (Suantika 2009: 7). Menurut Fogg & Thake (1987: 14), jumlah inokulum dapat memengaruhi lamanya adaptasi sel di dalam medium. Rendahnya jumlah inokulum menyebabkan lamanya fase adaptasi sel dalam medium (Fogg & Thake 1987: 14). Selain jumlah inokulum, umur inokulum juga memengaruhi biomassa biakan (Fogg & Thake 1987: 14). Inokulum yang berada pada fase log dapat menghasilkan biakan yang baik, sedangkan inokulum yang berada pada fase setelah fase log dapat menyebabkan hasil biakan yang kurang baik (Fogg & Thake 1987: 14). Hal tersebut terjadi karena aktivitas enzim menurun, sehingga menurunkan kemampuan pembelahan sel-sel inokulum. Selain hal tersebut, penggunaan inokulum yang berada pada fase log akan mengurangi lamanya fase adaptasi (Vasey & Powell 1984: 307).

2.5.2 Cahaya

Cahaya merupakan salah satu faktor yang berperan dalam proses fotosintesis, yaitu sebagai sumber energi (Soeder & Stengel 1974: 715). Menurut Campbell dkk. (2002: 186), sifat cahaya apabila bertemu atau mengenai materi, maka cahaya tersebut akan dipantulkan, diteruskan (ditransmisi), atau diserap (diabsorpsi). Pigmen merupakan organel yang menyerap cahaya-tampak (Campbell dkk. 2002: 186). Pigmen yang berbeda akan menyerap cahaya dengan panjang gelombang yang berbeda (Campbell dkk. 2002: 186). Apabila suatu pigmen diterangi dengan cahaya putih, warna yang terlihat adalah warna yang dipantulkan atau diteruskan oleh pigmen yang bersangkutan. Dengan kata lain, apabila suatu pigmen menyerap semua panjang gelombang, pigmen itu akan tampak hitam (Campbell dkk. 2002: 186). Kemampuan pigmen untuk menyerap berbagai panjang gelombang cahaya diukur menggunakan spektrofotometer (Campbell dkk. 2002: 186). Terkait efek warna cahaya yang diberikan saat pembiakan, Bidigare dkk. (1989: 177) meneliti tentang kadar zeaxanthin saat fotosintesis pada *Synechococcus* WH7803 (DC2) menggunakan cahaya putih dan hijau-biru. Hasil penelitian tersebut menunjukkan *Synechococcus* yang ditumbuhkan menggunakan cahaya hijau biru memiliki kandungan zeaxanthin 2 kali lipat lebih tinggi daripada *Synechococcus* yang ditumbuhkan menggunakan cahaya putih, sehingga dapat disimpulkan bahwa kandungan sel dipengaruhi oleh konsentrasi radiasi dari cahaya.

Selain penelitian yang dilakukan Bidigare dkk. (1989), penelitian tentang pengaruh cahaya juga dilakukan oleh Miller dkk. (1998: 3893). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa suhu tergantung pada intensitas cahaya. Kedua faktor tersebut terlibat dalam pengurangan efisiensi kuantum radiasi jenuh dan radiasi kurang jenuh pada suhu batas atas atau batas bawah. *Synechococcus* sp. juga lebih rentan dihambat oleh radiasi UV ketika berada pada suhu tidak optimal saat fotosintesis. Hasil menunjukkan bahwa populasi *Synechococcus* sp. yang mampu bertahan pada suhu mematikan, mengakibatkan banyak kerusakan yang lebih besar, baik oleh sinar tampak atau radiasi UV. Meskipun demikian, sel

tersebut kemungkinan dapat menghindari persaingan dengan mikroorganisme fotoautotrof lain ketika kondisi di bawah suhu optimal.

Intensitas cahaya memainkan peranan penting dalam faktor pertumbuhan Cyanobacteria, tetapi besar intensitas cahaya dapat bervariasi disesuaikan dengan kedalaman tempat pembiakan dan kerapatan biakan. Semakin dalam dan semakin pekat warna biakan, maka intensitas cahaya harus ditingkatkan agar dapat menembus biakan (Barsanti & Gaultieri 2005: 213). Mays (1996) menyatakan bahwa yang memengaruhi penetrasi cahaya kedalam air diantaranya kecerahan (*lihat* Merizawati 2008: 5). Kecerahan tersebut juga dipengaruhi oleh kekeruhan dan warna air. Mays (1996) juga menyatakan bahwa tingkat tembus cahaya sebanding dengan tingkat kecerahan (*lihat* Merizawati 2008: 5). Semakin tinggi kecerahan, semakin dalam tembus cahaya matahari. Menurut Mays (1996), kekeruhan yang tinggi menyebabkan fitoplankton termasuk *Synechococcus* sp. tidak dapat melakukan fotosintesis secara efektif (*lihat* Merizawati 2008: 5).

Cahaya yang diterima Cyanobacteria tidak boleh terlalu kuat dan juga terlalu lemah (Barsanti & Gaultieri 2006: 213). Cahaya yang kuat akan menghasilkan intensitas cahaya yang tinggi. Intensitas cahaya terlalu tinggi (baik sinar matahari langsung ataupun cahaya buatan) dapat mengakibatkan fotoinhibisi (Barsanti & Gaultieri 2006: 213). Intensitas dan kualitas cahaya dapat dimanipulasi dengan filter (Barsanti & Gaultieri 2006: 213). Selain hal tersebut, fotoperiodisitas (terang/gelap) juga berpengaruh terhadap penyerapan unsur medium (Darley 1982: 37).

Sistem fotoperiodisitas (maksimum 16 jam terang/8 jam gelap, biasanya 14 jam terang/10 jam gelap atau 12 jam terang/12 jam gelap) digunakan karena spesies Cyanobacteria tidak tumbuh baik di bawah pencahayaan konstan meskipun fitoplankton tumbuh normal pada pencahayaan konstan (Barsanti & Gaultieri 2006: 213). Semakin lama fase terang maka semakin banyak cahaya yang dapat dimanfaatkan oleh Cyanobacteria untuk melakukan fotosintesis. Penyerapan nutrien pada fase terang 10–15 kali lebih besar daripada fase gelap (Darley 1982: 37). Penelitian menggunakan pencahayaan 14 jam terang/10 jam gelap, karena berdasarkan penelitian pendahuluan sistem tersebut menghasilkan biakan dengan laju pertumbuhan yang cepat. Intensitas cahaya yang digunakan

pada penelitian sebesar 2500 lux, diukur menggunakan lux meter setiap hari pada jam yang sama. Intensitas cahaya 2500 lux digunakan karena sesuai dengan intensitas cahaya pada habitat asli di Rawa Danau-Banten.

2.5.3 Suhu

Suhu dapat memengaruhi peningkatan atau penurunan laju metabolisme sel. Suhu tinggi diketahui menyebabkan banyak kerusakan diantaranya; inaktivasi evolusi oksigen, kerusakan detasemen fikobilisom dari pusat reaksi kompleks PSII, denaturasi fikobiliprotein dari fikobilisom, reaksi inaktivasi pemisahan PSII, meningkatkan permeabilitas membran sel dan tilakoid, dan kematian sel (Inoue dkk. 2000: 520). Menurut Nishiyama dkk. 1993, Inoue dkk. 2001, dan Yamasaki dkk. 2002, termostabilitas fotosintesis Cyanobacteria juga meningkat ketika ditumbuhkan pada suhu tinggi (*lihat* Aminaka dkk. 2006: 1612).

Meeks & Castenholz (1971) melaporkan bahwa sel *Synechococcus* sp. yang diisolasi dari suhu 70 °C tumbuh secara optimal pada suhu 65 °C, akan tetapi tingkat pertumbuhan pada suhu tersebut lebih rendah jika dibandingkan dengan sel *Synechococcus* sp. yang dapat tumbuh pada suhu 65 °C, tetapi tidak dapat tumbuh pada suhu 70 °C (*lihat* Miller dkk. 1998: 3893). Menurut Meeks & Castenholz (1971), apabila jenis strain tersebut berkembang dari nenek moyang *Synechococcus* sp. yang tumbuh pada suhu yang lebih rendah, kemungkinan strain tersebut telah mengorbankan tingkat pertumbuhan optimum dalam proses perpanjangan kisaran suhu pada suhu yang lebih tinggi (*lihat* Miller dkk. 1998: 3893). Kerangka filogenetik membuktikan bahwa garis keturunan *Synechococcus* yang tahan panas, berevolusi dari *Synechococcus* yang kurang tahan panas dengan meningkatkan suhu batas atas, akan tetapi terjadi penurunan luas kisaran suhu pertumbuhan (Miller dkk. 2000: 4222).

Peningkatan suhu dengan batas tertentu dapat juga meningkatkan laju pertumbuhan. Peningkatan suhu sebesar 10 °C akan meningkatkan laju reaksi kimia menjadi dua kali lipat (Wolfe 1995: 92). Suhu biakan Cyanobacteria yang ideal merupakan suhu yang sesuai dengan habitat asli Cyanobacteria tersebut. Oleh karena itu, suhu optimal setiap spesies Cyanobacteria dapat berbeda-beda

(Barsanti & Gualtieri 2006: 213). Sementara itu, *Synechococcus* sp. RDB001 pada habitat asli di Rawa Danau Banten tumbuh pada suhu 50 °C.

2.5.4 Medium

Ketersediaan unsur dalam medium berpengaruh terhadap kandungan sel. Penggunaan medium yang sesuai dapat meningkatkan kualitas sel. Pertumbuhan yang baik dari suatu biakan Cyanobacteria, salah satunya disebabkan keseimbangan antara unsur esensial baik unsur makro maupun unsur mikro. Medium yang digunakan pada penelitian adalah medium MA (Tabel 2.5.3). Medium MA terdiri atas berbagai unsur, baik unsur makro maupun unsur mikro. Unsur makro meliputi C, O, H, N, S, P, K, Ca, Na, Cl, dan Mg, sedangkan unsur mikro meliputi Fe, Mn, Zn, Cu, Co, Mo, B, asam sitrat, dan *ferric ammonium citrate*. Unsur-unsur tersebut berfungsi dalam menyusun senyawa kimia tertentu, sebagai bahan pembangun sel serta bagian-bagiannya, dalam metabolisme, dan dalam proses enzimatis (Reynolds 1984: 157).

Tabel 2.5.3 Komposisi medium MA per liter

No.	pH 6	Takaran (g.L ⁻¹)
1	NaNO ₃	0,05
2	Na ₂ SO ₄	0,04
3	KNO ₃	0,1
4	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,05
5	β-Na ₂ glycophosphate	0,1
6	Buffer Bicine	5
7	PIV metals	
	- Na ₂ EDTA. 2H ₂ O	0,1
	- FeCl ₃ .6H ₂ O	0,196
	- MnCl _{2.5} H ₂ O	0,036
	- ZnCl ₂	0,022
	- CoCl ₂ .6H ₂ O	0,004
	- Na ₂ MoO _{4.1} H ₂ O	0,0025
8	Aquades	951

(NIES 2000: 32)

Selain unsur makro, unsur mikro, dan tris metal, didalam pembuatan medium biakan diperlukan pula penambahan vitamin untuk mengoptimalkan pertumbuhan. Medium MA mengandung EDTA yang berfungsi sebagai agen pengkelat. Agen pengkelat mempunyai afinitas yang tinggi terhadap unsur mikro khususnya ion-ion logam sehingga dapat mempertahankan kelarutan ion-ion logam tersebut dan mengurangi toksitasnya (Fogg & Thake 1987 :33).

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu, medium MA merupakan medium yang paling baik untuk pertumbuhan dan peningkatan biomassa *Synechococcus* sp. koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UI, Depok yang berasal dari Situ Agathis, Kampus UI Depok. Hal tersebut sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa medium MA merupakan medium umum yang digunakan untuk biakan Cyanobacteria, karena kerapatan fosfor dan nitrogen yang cukup tinggi. Apabila terjadi defisiensi fosfor dan nitrogen maka akan menyebabkan keterlambatan pertumbuhan (Watanabe & Oishi 1985: 1342). Kekurangan unsur didalam medium biakan juga merupakan salah satu faktor penting yang membatasi pertumbuhan dan kontrol kualitas nutrisi produksi biomassa.

2.5.5 Salinitas

Cyanobacteria dengan habitat air tawar memiliki toleransi terhadap salinitas yang cukup rendah, sedangkan Cyanobacteria laut memiliki toleransi yang cukup ekstrim untuk menghadapi perbedaan salinitas yang terkandung dalam medium pertumbuhan. Sebagian besar spesies Cyanobacteria tumbuh paling baik pada salinitas yang sedikit lebih rendah dibandingkan dengan salinitas pada habitat asli. Nilai kisaran salinitas untuk biakan Cyanobacteria adalah sekitar $12\text{--}40 \text{ g.L}^{-1}$ dan kisaran salinitas optimal untuk biakan Cyanobacteria adalah sekitar $20\text{--}24 \text{ g.L}^{-1}$ (Barsanti & Gualtieri 2006: 214). Toleransi salinitas untuk *Synechococcus* sp. dari *hot spring* Rawa Danau, Banten belum diketahui besarnya.

2.5.6 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) digunakan untuk menyatakan kekuatan asam atau basa suatu zat. Cyanobacteria dapat berlimpah pada daerah dengan pH netral ataupun basa (Bold & Wynne 1985: 32--33). Kisaran nilai pH untuk sebagian besar biakan Cyanobacteria adalah antara 7--9 dengan nilai pH optimal sebesar 8,2--8,7 meskipun ada beberapa spesies yang tahan pada kondisi lingkungan sangat asam atau sangat basa. Larutan penyanga atau *buffer* yang sesuai dengan medium dan spesies Cyanobacteria diberikan agar pH konstan selama pertumbuhan (Barsanti & Gualtieri 2006: 213--214 & 228). Pada penelitian, pH biakan diukur menggunakan kertas pH universal setiap hari pada jam yang sama dan dicatat untuk mengetahui fluktuasinya.

Berdasarkan data penelitian pendahuluan diketahui strain *Synechococcus* sp. koleksi Departemen Biologi FMIPA UI yang berasal dari Situ Agathis Kampus UI Depok diketahui tumbuh optimal pada pH ± 6 dengan jumlah sel yang terbanyak dan laju pertumbuhan cepat dibandingkan dengan pH $\pm 7,4$, atau pH $\pm 8,2$. Kolam *hot spring* di Rawa Danau-Banten memiliki nilai pH ± 6 . Oleh karena itu, *Synechococcus* sp. RDB001 akan ditumbuhkan pada medium pertumbuhan yang memiliki nilai pH ± 6 .

2.6 Kolam *Hot Spring* di Rawa Danau-Banten

Kolam *hot spring* merupakan suatu wilayah manifestasi panas bumi di permukaan yang terbentuk akibat sistem hidrotermal di bawah permukaan dengan kisaran suhu ± 50 -- 100 °C. Manifestasi tersebut diperkirakan terjadi karena adanya perambatan panas dari bawah permukaan atau karena adanya rekahan-rekahan yang memungkinkan fluida panas bumi (uap dan air panas) mengalir ke permukaan. Manifestasi panas bumi di permukaan (*geothermal surface manifestation*), diantaranya mata air panas (*hot spring*), kubangan lumpur panas (*mud pools*), serta semburan air panas dan uap air ke udara secara periodik (*geyser*) (Saptadji 2006: 3). Tipe air panas ditentukan berdasarkan kandungan relatif anion Cl, SO₄ dan HCO₃ (Herdianita & Julinawati 2007: 110).

Indonesia merupakan negara yang memiliki potensi panas bumi terbesar di dunia, yaitu sekitar 40% dari total cadangan panas bumi dunia. Salah satu contoh *hot spring* di Indonesia adalah *hot spring* di Rawa Danau-Banten dengan suhu air 50 °C. Herdianita & Julinawati (2007: 107) telah meneliti tentang hidrogeokimia panas bumi di Cidanau yang terletak di Kabupaten Serang-Pandeglang, Provinsi Banten. Cidanau disebut juga Danau Danu atau Rawa Danau yang merupakan cagar alam berupa hutan rawa dan tempat konservasi air. Rawa Danau terletak di sekitar 15 km selatan Anyer, 30 km barat Serang, atau sekitar 240 km dari Bandung. Hasil penelitian Herdianita & Julinawati (2007: 107) menyebutkan bahwa Rawa Danau merupakan air panas bikarbonat (HCO_3) yang mengalami sedikit pencampuran dengan air Cl. Secara fisika, Rawa Danau mempunyai kandungan isotop stabil $\delta^{18}\text{O}$ dan δD yang menyerupai kandungan isotop stabil air meteorik, sehingga dapat disimpulkan air tersebut merupakan air meteorik hasil pemanasan proses volkanomagmatik tanpa proses pencampuran dengan fluida magmatik dengan suhu berkisar 180–280 °C. Berdasarkan informasi yang telah disebutkan, Rawa Danau-Banten merupakan habitat yang cocok untuk beberapa jenis mikroorganisme termofilik, khususnya *Synechococcus* sp. sehingga tingkat keragamannya cukup tinggi.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Departemen Biologi FMIPA UI, yaitu di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan; Laboratorium Genetika; Laboratorium Mikrobiologi; dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Ruang Biakan Jaringan, Departemen Biologi FMIPA UI, Depok serta Laboratorium CoE IBR-GS FMIPA UI, Depok. Penelitian berlangsung selama 5 bulan dari Januari--Mei 2012.

3.2 Bahan

3.2.1 Mikroorganisme

Mikroorganismne yang digunakan dalam penelitian adalah Cyanobacteria dari genus *Synechococcus*. Isolat berasal dari sampel air *hot spring* di daerah Rawa Danau, Banten dengan suhu air 50 °C yang di *sampling* pada tahun 2011. Selanjutnya, isolat tersebut diberi kode RDB001 (Rawa Danau, Banten isolat nomor 1). Identifikasi *Synechococcus* sp. RDB001 secara molekular telah dilakukan (Komunikasi Pribadi Prihantini 2012). Titik lokasi pengambilan sampel (6°08'04.17"S dan 106°00'26.89"E) berada di dalam kawasan Cagar Alam Rawa Danau, Banten dengan ketinggian 1014 kaki (=309,0672 m) (Google Earth 2012: 1).



Gambar 3.2.1 *Hot spring* di daerah Rawa Danau-Banten
[Sumber: Dokumentasi Pribadi 2011.]

3.2.2 Medium

Medium yang digunakan untuk biakan *Synechococcus* sp. RDB001 dalam penelitian adalah medium MA. Istilah MA merupakan singkatan dari *Microcystis Aeruginosa*, karena medium tersebut pertama kali digunakan untuk biakan *Microcystis aeruginosa*. Medium MA merupakan medium umum yang digunakan untuk biakan Cyanobacteria, karena jumlah fosfor dan nitrogen yang cukup tinggi (Watanabe & Oishi 1985: 1342). Komposisi medium MA terdapat pada Tabel 2.4.3.

3.2.3 Bahan Kimia dan Bahan Habis Pakai

Bahan yang digunakan meliputi bahan kimia dan bahan habis pakai. Bahan kimia yang digunakan, antara lain alkohol 70% [One Med], aseton 85%, akuades steril, milli-Q, dan spiritus. Bahan habis pakai yang digunakan, antara lain kapas, kertas serap, kertas serap [Kim Wipes], label tempel, kertas pH universal 1--14 [merck], kertas aluminium foil [Klin pak], kertas surat kabar, tali kasur, spidol marker, dan korek api.

3.3 Peralatan

Peralatan yang digunakan selama penelitian meliputi alat gelas, alat uji, alat pendukung, dan lemari inkubasi. Alat gelas yang digunakan, yaitu Erlenmeyer [Iwaki] (200 mL, 500 mL, dan 1000 mL), botol medium 1000 mL [Duran], corong, pipet Pasteur, pipet volumetrik [Iwaki] (1 mL, 5 mL, dan 10 mL), kamar hitung [*Improved Neubauer Assistant Germany*], dan termometer suhu 100 °C [AND]. Alat uji yang digunakan, yaitu spektrofotometer *UV vis* [NANODROP 1000], sentrifugasi [Heraeus Labofuge 200], mikrosentrifugasi [Legend Micro 17], vortex [BIO RAD BR 2000], autoklaf besar [Hirayama model HL 36 AE], autoklaf kecil [Hirayama HA 240 MIV], *magnetic stirrer*, mikroskop monokuler [Nikon], oven [Heraseus Instruments], dan timbangan digital [PRECISA], *microplate multiple well plate* 24, dan *transfer box*. Alat pendukung

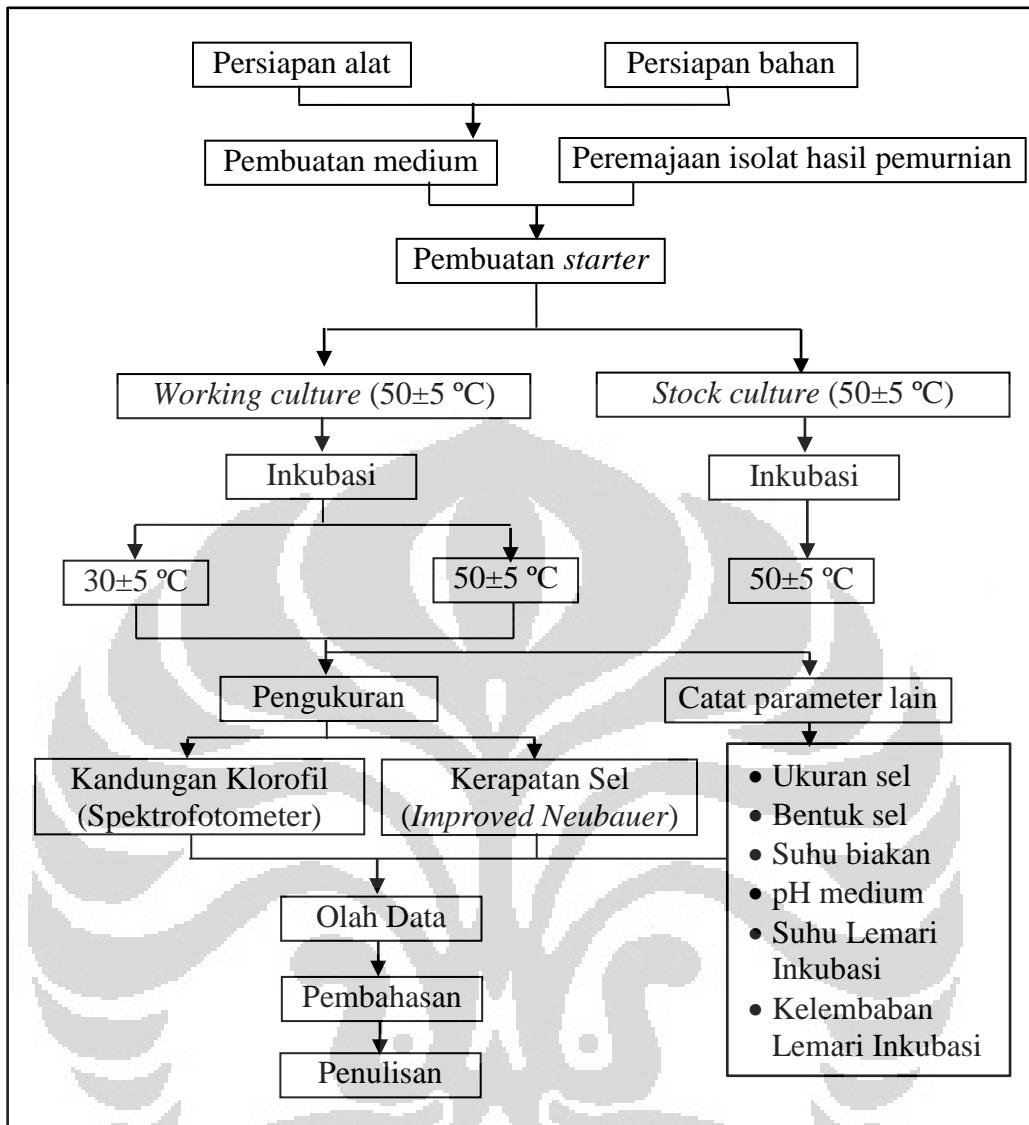
yang digunakan, yaitu termometer udara 100 °C [Mingel], lux meter [LX-101 Lutron], alat hitung (*counter*), *timer*, buku catatan, kamera digital [Nikon Coolpix S1000pj], pensil, pembakar spirtus, gunting, penggaris, dan korek api. Lemari inkubasi yang digunakan, yaitu lemari inkubasi I (30 ± 5 °C) dan lemari inkubasi II (50 ± 5 °C).

Sebagai penjelasan tambahan, tempat yang digunakan untuk inkubasi terbuat dari lemari besi yang dimodifikasi sedemikian rupa, sehingga didalam lemari tersebut bersuhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C. Perancangan lemari dapat dilihat pada Gambar 3.4.5. Pada bagian dalam lemari, terdapat 3 sekat rak yang terbuat dari kaca dengan tebal 2 inci (=5,08 cm) (Gambar 3.4.5 titik c) dan di beri pencahayaan yang berasal dari lampu TL [Philips] (Gambar 3.4.5 titik b₁, b₂, dan b₃), dan lampu pijar [Philips] (Gambar 3.4.5 titik a₁, a₂, a₃, a₄, a₅, dan a₆).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Rancangan Penelitian

Perlakuan yang diberikan pada *Synechococcus* sp. RDB001 selama 16 hari, yaitu menggunakan 2 suhu (30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C) dengan 16 kali ulangan. Jumlah perlakuan dan ulangan dibuat berdasarkan rumus Frederer, yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, dengan t adalah jumlah perlakuan dan n adalah jumlah ulangan. Secara garis besar, alur penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.4.1.



Gambar 3.4.1 Skema kerja penelitian

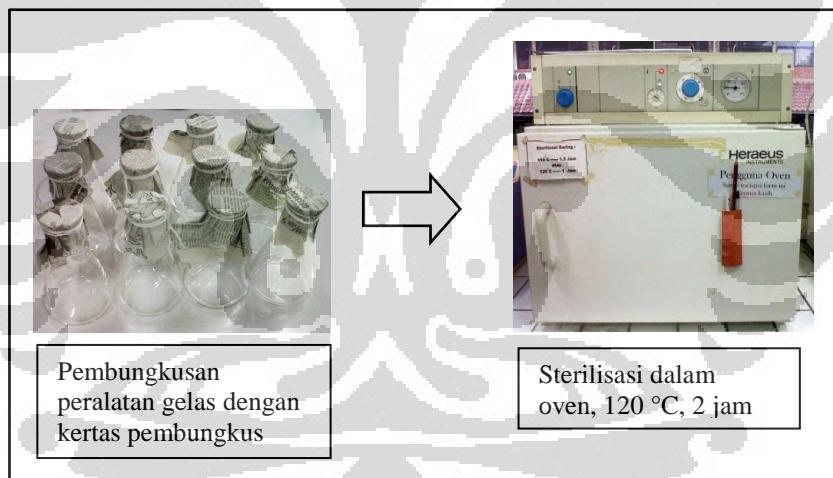
Penelitian bersifat deskriptif menggunakan analisis statistik non parametrik uji Mann Whitney dengan taraf nyata (α) 0,05 (Zar 1974: 109--114). Uji Mann Whitney bertujuan untuk membandingkan rerata peringkat kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 (sel.mL^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dengan suhu 50 ± 5 °C selama 16 hari pengamatan.

Selain analisis uji Mann Whitney, digunakan juga uji Spearman dengan $\alpha=0,05$ (Zar 1974: 243--244). Uji Spearman bertujuan untuk menguji hipotesis korelasi antara rerata kerapatan sel (sel.mL^{-1}) dengan kandungan klorofil

Synechococcus sp. RDB001 (mg.L^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C selama 8 hari pengamatan ($t_0, t_1, t_2, t_3, t_7, t_9, t_{14}$, dan t_{16}).

3.4.2 Persiapan Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian harus berada dalam keadaan steril. Seluruh alat gelas disterilisasi secara kering menggunakan oven selama 2 jam dengan suhu 120 °C dan peralatan gelas harus dibungkus terlebih dahulu menggunakan aluminium foil dan kertas surat kabar (Gambar 3.4.2). Tujuan mensterilisasi alat adalah untuk menghindari dan mengurangi kemungkinan terjadi kontaminasi pada biakan saat penelitian berlangsung. Kondisi steril merupakan keadaan yang bebas dari semua kehidupan mikroorganisme baik sel-sel vegetatif maupun sel-sel generatif (Anderson 1973: 133).

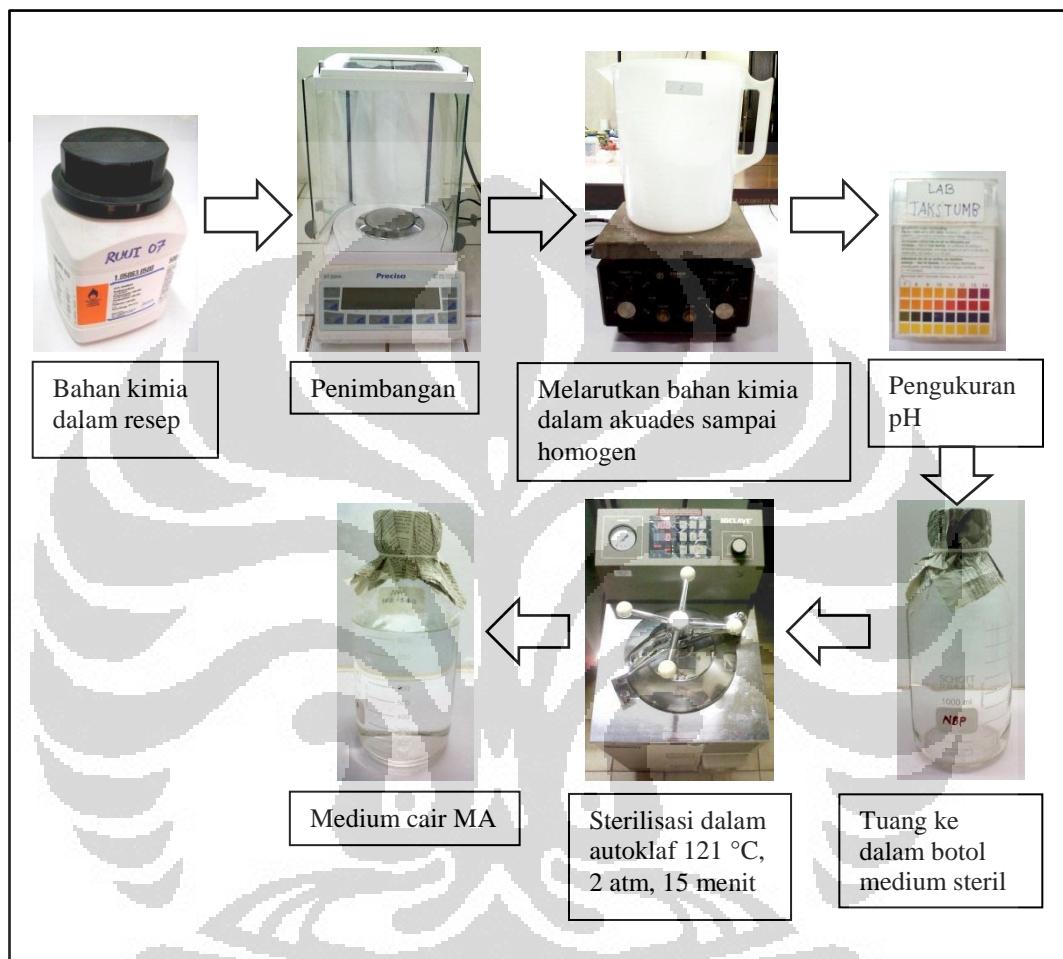


Gambar 3.4.2 Skema kerja sterilisasi alat

3.4.3 Pembuatan Medium MA

Berdasarkan NIES (2000: 32), komposisi medium MA terdiri atas makronutrien, mikronutrien, vitamin, dan *buffer*. Seluruh komposisi diolah dengan melarutkan 0,5 g Bicine; 5 mL $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 10 mL KNO_3 ; 5 mL NaNO_3 ; 4 mL Na_2SO_4 ; 5 mL $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 10 mL $\beta\text{-Na}_2$ glycerophosphate; 5 mL

$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,5 mL $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,5 mL $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,5 mL ZnCl_2 ; 0,5 mL $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,8 mL $\text{Na}_2\text{MoO}_{4,1}\text{H}_2\text{O}$; dan 2 mL H_3BO_3 ke dalam 951 mL akuades (Tabel 2.4.3).



Gambar 3.4.3 Skema kerja pembuatan medium MA

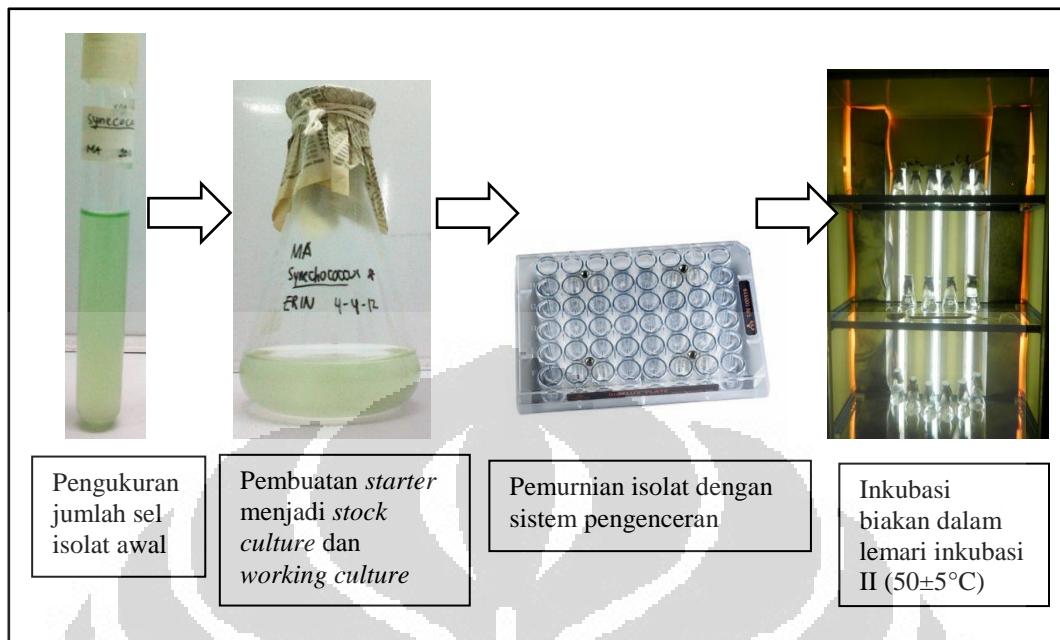
Seluruh bahan kimia dicampur sampai homogen dengan bantuan pengaduk *magnetic stirrer*, kemudian pH medium diukur menggunakan kertas pH universal. Larutan medium yang tepat takar menghasilkan pH 8,6, akan tetapi medium yang digunakan dalam penelitian dimodifikasi, sehingga menghasilkan pH 6. Medium yang digunakan harus berada dalam keadaan steril. Larutan medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 120 °C dengan tekanan 2 atm selama 15--20 menit. Medium MA yang dibutuhkan sebanyak 1000 mL untuk *stock culture*, 500 mL untuk *starter*, dan untuk biakan uji membutuhkan 32 x 172 mL medium MA.

Universitas Indonesia

3.4.4 Pembuatan Biakan Stok (*Stock Culture*) dan Biakan Kerja (*Working Culture*) *Synechococcus* sp. RDB001 Sebagai *Starter*

Sebelum membuat biakan uji, terlebih dahulu harus membuat *stock culture* dan *working culture* dari biakan *Synechococcus* sp. RDB001. Biakan tersebut dibuat menjadi 2 *stock culture* yang terdiri dari 1 *stock culture* untuk *working culture* dan 1 *stock culture* untuk disimpan dalam lemari inkubasi II dengan suhu 50 ± 5 °C. Pembuatan *stock culture* dilakukan dengan memasukan biakan dengan kerapatan sel $0,25 \times 10^6$ sel.mL⁻¹ ke dalam medium MA pada labu Erlenmeyer 500 mL, sehingga hasil akhir gabungan medium dan biakan menjadi 400 mL.

Synechococcus sp. RDB001 untuk *working culture* dilakukan peremajaan dengan memasukkan biakan dengan kerapatan sel $0,25 \times 10^6$ sel.mL⁻¹ ke dalam medium MA pada labu Erlenmeyer 500 mL, sehingga hasil akhir gabungan medium dan biakan menjadi 400 mL. Setelah dilakukan peremajaan, kemudian dilakukan pemurnian dengan sistem pengenceran menggunakan *microplate*. Hasil pemurnian biakan *Synechococcus* sp. RDB001 dibuat menjadi *starter* yang siap guna dan bebas kontaminan. *Starter* tersebut dibuat dengan memasukkan biakan dengan kerapatan sel $0,15 \times 10^6$ sel.mL⁻¹ ke dalam medium MA pada labu Erlenmeyer 1000 mL, sehingga hasil akhir gabungan medium dan biakan menjadi 400 mL. *Starter* kemudian ditumbuhkan di dalam lemari inkubasi II pada suhu 50 ± 5 °C dengan intensitas cahaya 2500 lux selama 16 hari. Fotoperiodisitas 14 jam terang/10 jam gelap diatur dengan alat pengatur waktu (*timer*) (Gambar 3.4.4)

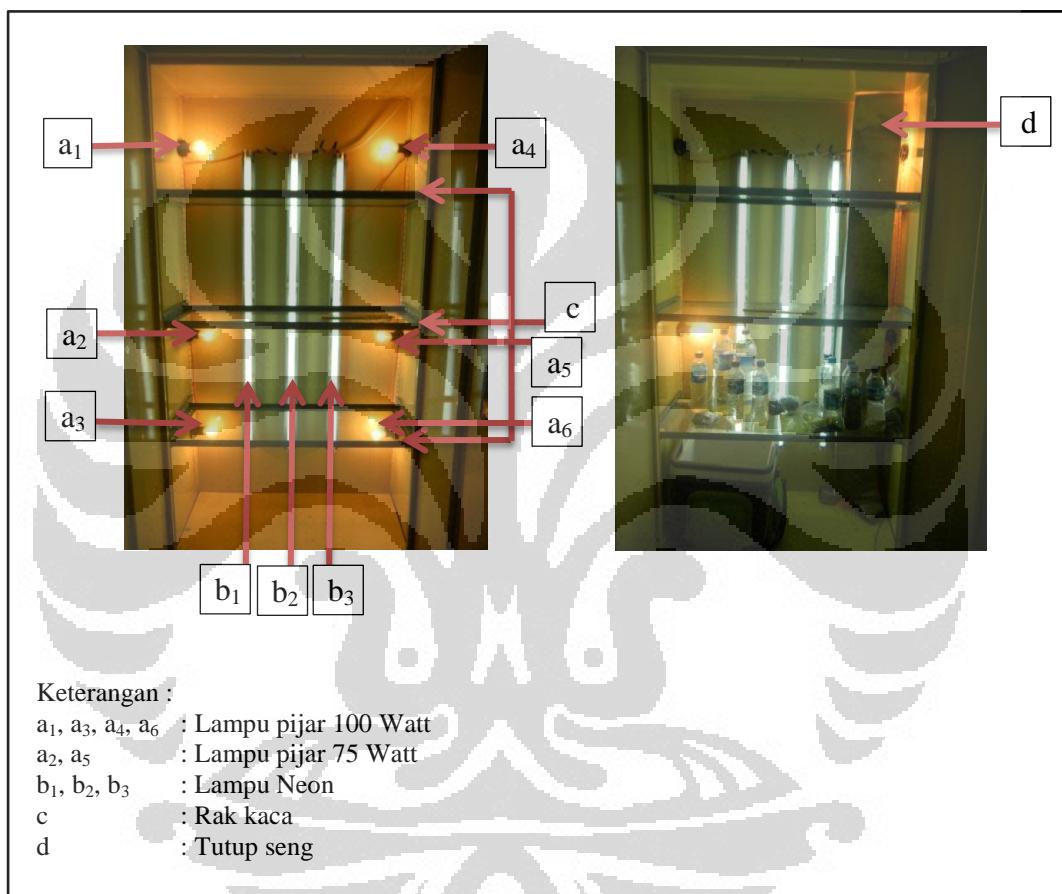


Gambar 3.4.4 Skema kerja pembuatan *stock culture* dan *working culture*

3.4.5 Perancangan Lemari Inkubasi

Lemari inkubasi dirancang sedemikian rupa, sehingga menghasilkan panas $30\pm5^{\circ}\text{C}$ dan $50\pm5^{\circ}\text{C}$. Panas pada lemari inkubasi I ($30\pm5^{\circ}\text{C}$) berasal dari pencahayaan dengan menggunakan 3 buah lampu neon 36 Watt yang dipasang pada badan belakang lemari yang tersusun sejajar secara vertikal (Gambar 3.4.5 titik b₁, b₂, dan b₃). Sementara itu, panas pada lemari inkubasi II ($50\pm5^{\circ}\text{C}$) berasal dari pencahayaan dengan menggunakan 3 buah lampu neon yang dipasang pada badan belakang lemari dan tersusun sejajar secara vertikal (Gambar 3.4.5 titik b₁, b₂, b₃); 4 buah lampu pijar 100 Watt yang masing-masing dipasang pada sudut kanan atas (Gambar 3.4.5 titik a₄), sudut kiri atas (Gambar 3.4.5 titik a₁), sudut kanan bawah (Gambar 3.4.5 titik a₆), dan sudut kiri bawah lemari (Gambar 3.4.5 titik a₃); serta 2 buah lampu pijar 75 Watt yang masing-masing dipasang pada sisi kanan tengah (Gambar 3.4.5 titik a₅) dan sisi kiri tengah lemari (Gambar 3.4.5 titik a₂). Ketiga lampu pijar (a₁, a₂, dan a₃) ditutup bersamaan secara vertikal menggunakan 1 lembar seng, dan ketiga lampu pijar (a₄, a₅, dan a₆) juga ditutup

bersamaan secara vertikal menggunakan 1 lembar seng (Gambar 3.4.5 titik d). Tujuan penutupan lampu pijar menggunakan seng adalah agar cahaya yang keluar dari lampu pijar tertutupi dan hanya panas dari lampu pijar yang didapatkan, sehingga dapat menjaga kestabilan intensitas cahaya 2500 lux dan meningkatkan suhu dalam lemari inkubasi II. Fotoperiodisitas biakan diberikan 14 jam terang dan 10 jam gelap (14T/10G) yang diatur dengan alat pengatur waktu (*timer*).

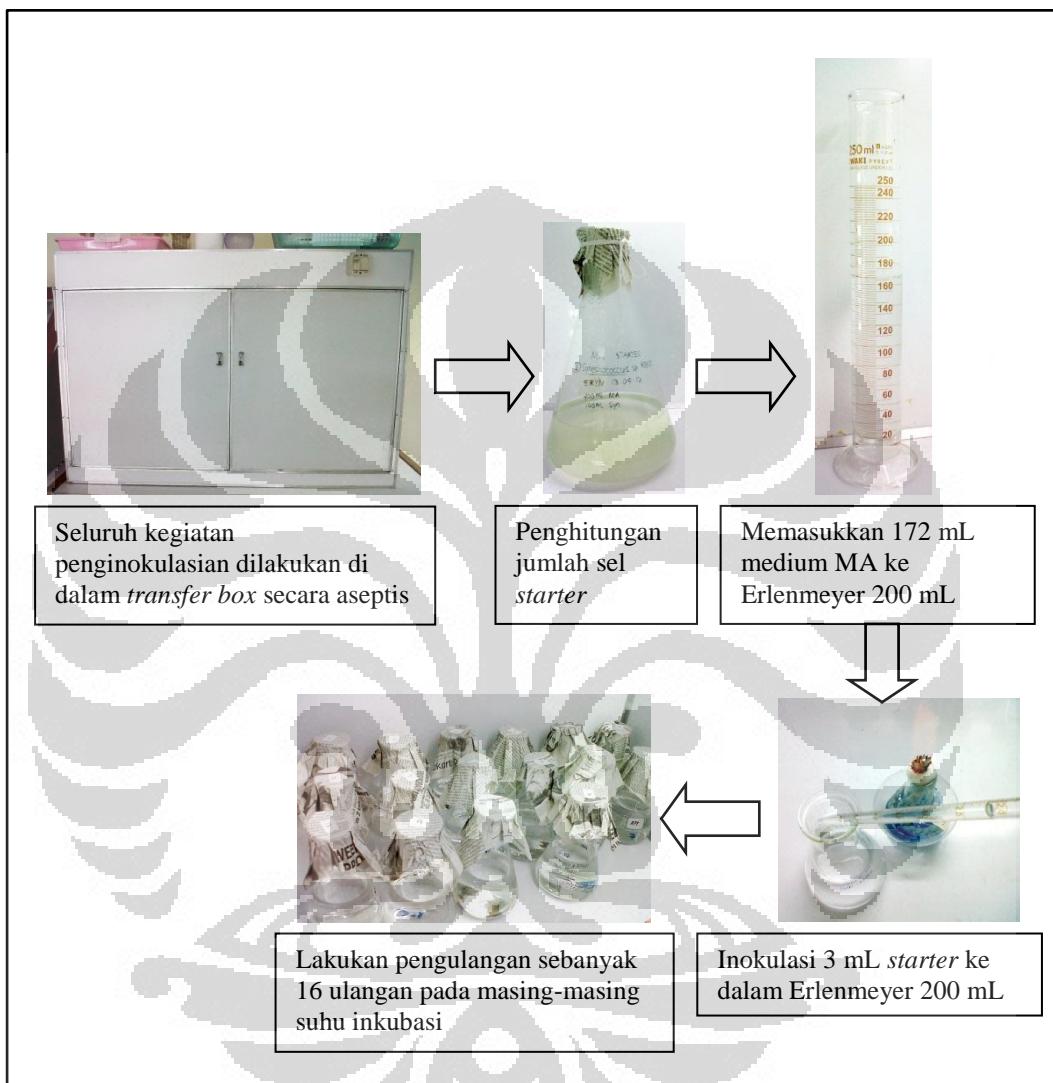


Gambar 3.4.5 Lemari inkubasi
[Sumber: Dokumentasi Pribadi 2012.]

3.4.6 Penginokulasian Biakan Uji

Proses penginokulasian biakan harus dilakukan secara aseptis. Sebanyak $0,15 \times 10^6$ sel.mL⁻¹ *starter Synechococcus* sp. RDB001 diinokulasikan ke dalam Erlenmeyer 200 mL yang telah berisi 172 mL medium MA. Pengulangan biakan uji dilakukan sebanyak 16 kali pada masing-masing suhu inkubasi (30 ± 5 °C dan

50 ± 5 °C), sehingga total biakan uji terdapat dalam 32 buah Erlenmeyer. Fotoperiodisitas 14T/10G diatur dengan alat pengatur waktu (*timer*) (Gambar 3.4.6).

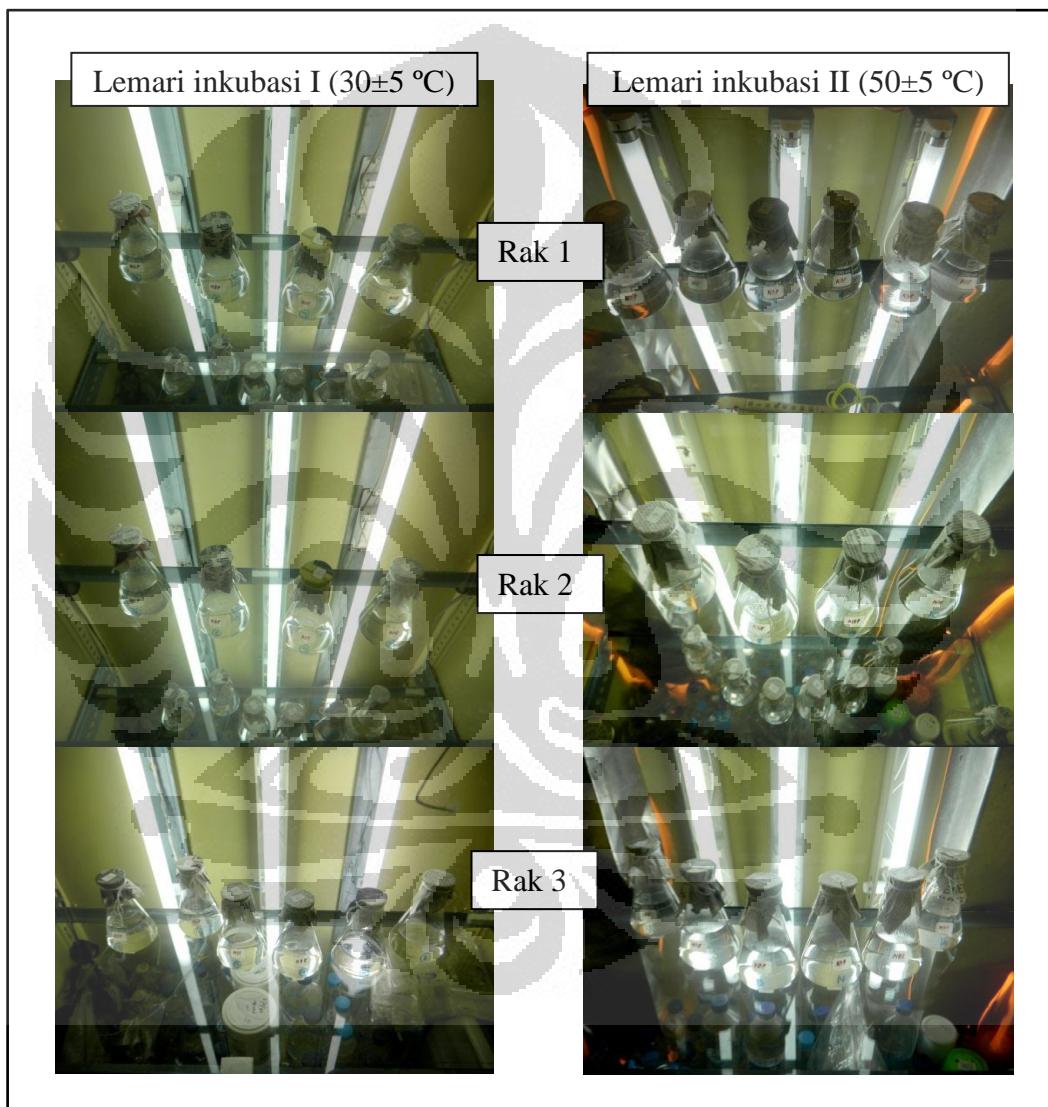


Gambar 3.4.6 Skema kerja inokulasi biakan uji

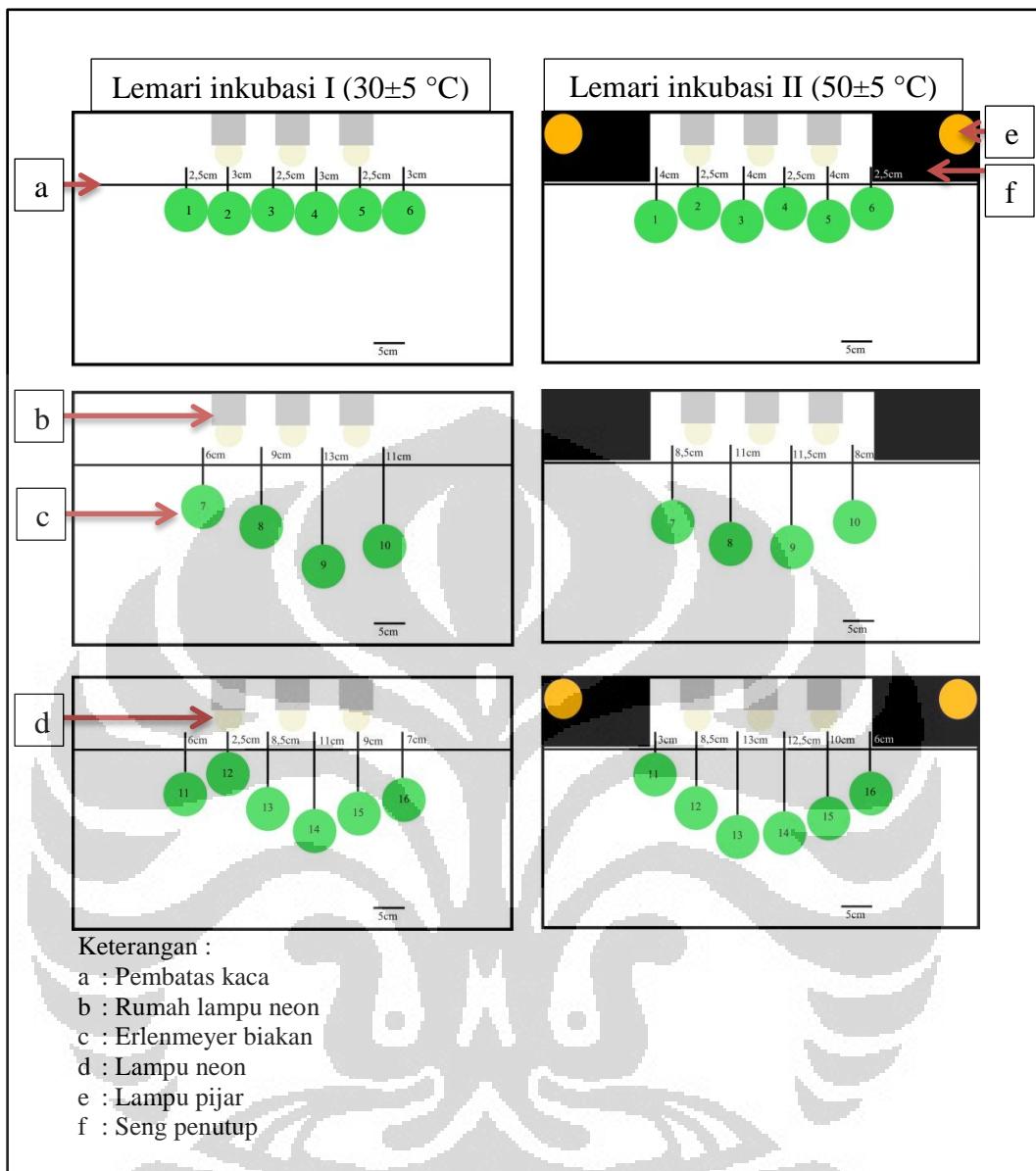
3.4.7 Peletakan Biakan Uji dalam Lemari Inkubasi

Peletakan biakan uji dalam lemari inkubasi diletakkan diatas 3 rak kaca yang berbeda. Peletakan biakan diatur dengan mengukur jarak antara biakan dengan sumber cahaya menggunakan penggaris dan lux meter agar pada setiap

biakan mendapatkan intensitas cahaya yang sama 2500 lux. Jarak antara lampu ke biakan uji pada rak 1 berjarak $\pm 2\text{--}8$ cm, pada rak 2 berjarak $\pm 7\text{--}11$ cm dan pada rak 3 berjarak $\pm 3\text{--}13$ cm (Gambar 3.4.7(2)). Sebanyak 32 Erlenmeyer biakan uji dari isolat *Synechococcus* sp. RDB001 ditumbuhkan pada 2 suhu yang berbeda. Sebanyak 16 Erlenmeyer ditumbuhkan pada lemari inkubasi I (30 ± 5 °C) dan 16 Erlenmeyer berikut ditumbuhkan pada lemari inkubasi II (50 ± 5 °C).



Gambar 3.4.7(1) Peletakan biakan dalam lemari inkubasi I dan II
[Sumber: Dokumentasi Pribadi 2012.]



Gambar 3.4.7(2) Skema peletakan biakan dalam lemari inkubasi I dan II

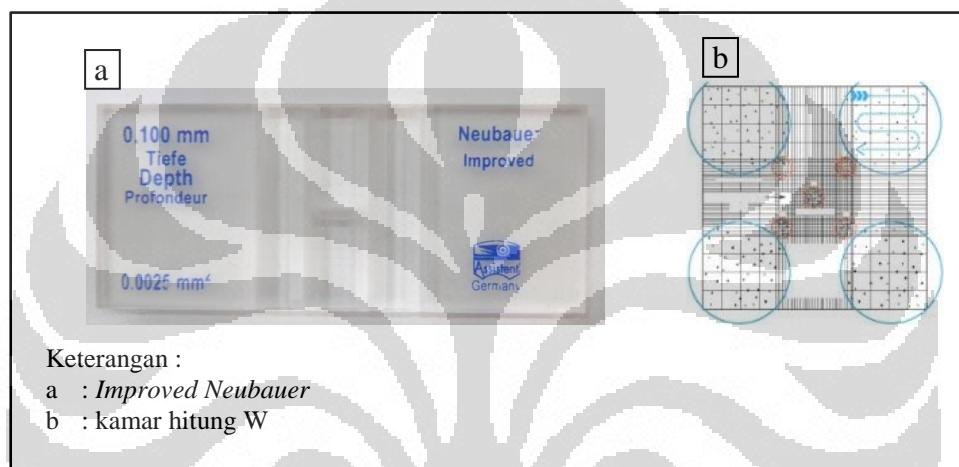
3.4.8 Pengukuran Parameter Pengamatan

3.4.8.1 Penghitungan Kerapatan Sel *Synechococcus* sp. RDB001

Penghitungan kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 dilakukan dengan metode kamar hitung *Improved Neubauer* (Gambar 3.4.8.1). Pengamatan mikroskopik terus dilakukan setiap 24 jam pada hari ke-0 (t_0) sampai hari ke-16 (t_{16}) secara teratur dan waktu yang konstan. Pengamatan t_0 dihitung setelah

inokulasi. Data jumlah sel yang didapat digunakan untuk menghitung kerapatan sel dalam 1,0 mL. Sel yang dihitung adalah sel yang berada di 4 kotak besar yang terletak di sudut luar kamar *Improved Neubauer* dengan tanda W (*white*).

Masing-masing kotak tersebut memiliki volume 1,0 mm³. Menurut Adil (2001: 7), kerapatan sel dalam 1,0 mL sampel dihitung dengan rumus $k = n \times p \times 2500$, dengan k = kerapatan sel Cyanobacteria (sel.mL⁻¹), n = jumlah total sel individu pada keempat kotak kamar hitung, dan p adalah tingkat pengenceran yang digunakan. Penghitungan dilakukan sebanyak 16 ulangan setiap perlakuan.

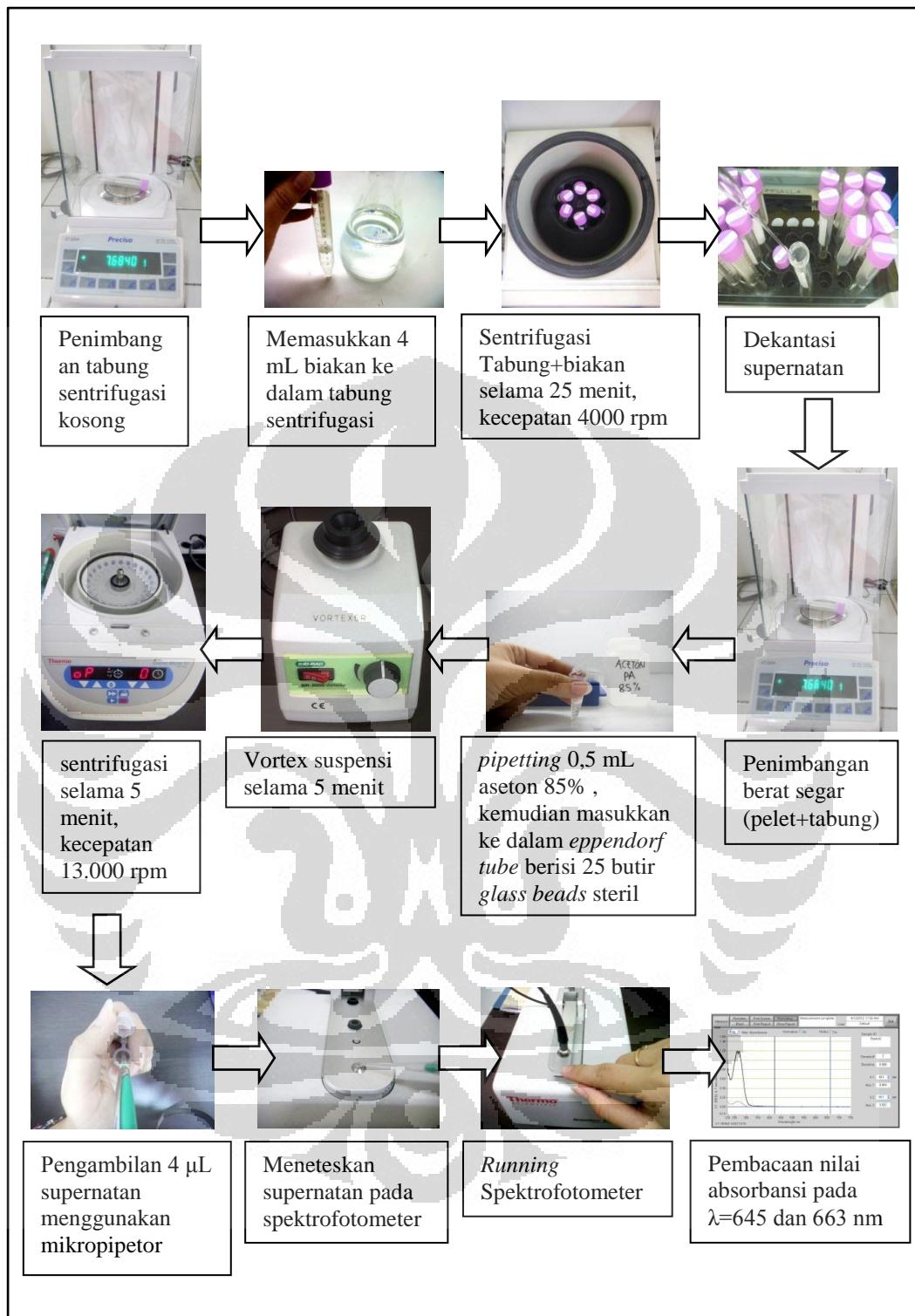


Gambar 3.4.8.1 Kamar hitung *Improved Neubauer*
[Sumber: Dokumentasi Pribadi 2012.]

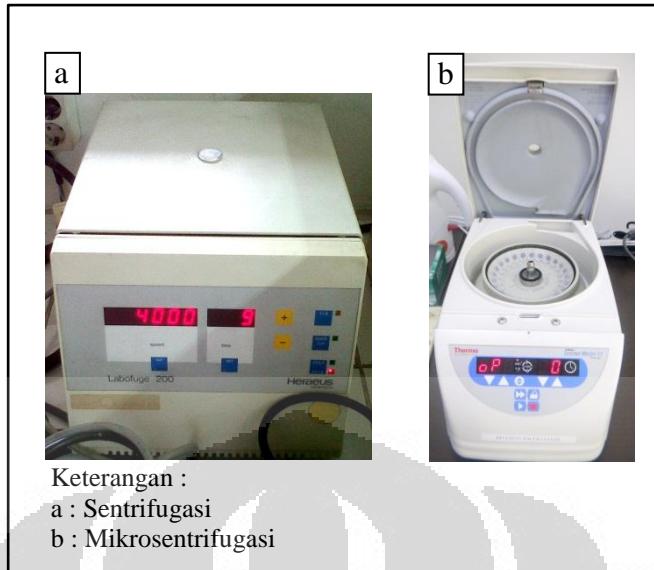
Pembuatan kurva tumbuh *Synechococcus* sp. RDB001 dilakukan pada biakan uji dengan volume biakan 172 mL dan jumlah sel awal $0,15 \times 10^6$ sel.mL⁻¹, sehingga total volume biakan uji 175 mL. Kurva tumbuh merupakan hubungan antara kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 (sumbu Y) pada selang waktu tertentu (sumbu X). Melalui kurva tumbuh, dapat diketahui pola pertumbuhan *Synechococcus* sp. RDB001 pada medium MA dan umur biakan saat mencapai fase log untuk membuat inokulum aktif yang akan digunakan dalam proses pembiakan selanjutnya.

3.4.8.2 Pengukuran Kandungan Klorofil *Synechococcus* sp. RDB001

Pengukuran kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 dilakukan tidak setiap hari seperti penghitungan kerapatan sel. Pengukuran kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 mengikuti fase-fase pertumbuhan *Synechococcus* sp. RDB001, taitu hari pertama (t_1), kedua (t_2), ketiga (t_3), ketujuh (t_7), kesembilan (t_9), ke-14 (t_{14}), dan ke-16 (t_{16}) dan setiap pengukuran dilakukan pada waktu yang konstan. Langkah awal pengukuran kandungan klorofil, yaitu menimbang terlebih dahulu tabung sentrifugasi kosong yang berukuran 15 mL. Setelah itu, sebanyak 4 mL biakan uji dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi, lalu di sentrifugasi selama 25 menit dengan kecepatan 4000 rpm (Gambar 3.4.8.2(2) titik a). Supernatan yang terbentuk kemudian di dekantasi, lalu timbang berat segar biakan (pelet dan tabung sentrifugasi). Setelah ditimbang, tambahkan 0,5 mL aseton 85% sebagai pelarut organik kedalam tabung sentrifugasi, lalu campur antara aseton dan pelet dengan metode *pipetting* sampai homogen. Setelah terlihat homogen, pindahkan campuran tersebut ke dalam *eppendorf tube* 1,5 mL yang telah berisi 25 butir *glass beads* steril. Campuran dalam *eppendorf tube* tersebut dihomogenkan kembali menggunakan *vortex* selama ± 5 menit, kemudian sentrifugasi *eppendorf tube* selama 5 menit dengan kecepatan 13.000 rpm menggunakan mikrosentrifugasi (Gambar 3.4.8.2(2) titik b). Supernatan yang terbentuk diambil sebanyak 4 μL , lalu diteteskan pada lubang spektrofotometer *UV vis* NANODROP 1000 (Gambar 3.4.8.2(3)) dan diukur konsentrasi klorofilnya dengan panjang gelombang 645 nm dan 663 nm. Skema kerja dapat dilihat pada Gambar 3.4.8.2(1).



Gambar 3.4.8.2(1) Skema kerja pengukuran kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001



Gambar 3.4.8.2(2) Sentrifugasi
[Sumber: Dokumentasi Pribadi 2012.]



Gambar 3.4.8.2(3) Spektrofotometer
[Sumber: Dokumentasi Pribadi 2012.]

3.4.8.3 Pengukuran Ukuran Sel dan Pengamatan Bentuk Sel *Synechococcus* sp. RDB001

Pengukuran ukuran sel *Synechococcus* sp. RDB001 bersifat kuantitatif, sedangkan pengamatan bentuk sel bersifat kualitatif. Pengukuran tersebut menggunakan mikroskop monokuler. Pengukuran dan pengamatan bentuk sel dilakukan pada akhir penelitian (t_{16}). Hasil pengamatan diabadikan dalam bentuk foto.

3.4.8.4 Pengukuran pH Medium Biakan *Synechococcus* sp. RBD001

Pengukuran pH biakan *Synechococcus* sp. RBD001 bersifat kuantitatif. Pengukuran tersebut menggunakan kertas pH universal dan dilakukan setiap 24 jam pada hari ke-0 (t_0) sampai hari ke-16 (t_{16}) secara teratur dan waktu yang konstan dengan mencelupkan kertas pH universal ke dalam biakan uji. Nilai pH dicatat sampai pengamatan berakhir.

3.4.8.5 Pengukuran Suhu Medium Biakan *Synechococcus* sp. RBD001

Pengukuran suhu biakan *Synechococcus* sp. RBD001 bersifat kuantitatif. Pengukuran tersebut menggunakan termometer air dan dilakukan setiap 24 jam pada hari ke-0 (t_0) sampai hari ke-16 (t_{16}) secara teratur dan waktu yang konstan. Pengukuran dilakukan dengan menyelupukan termometer steril kedalam biakan uji selama 1 menit dan dicatat suhunya selama pengamatan berlangsung.

3.4.8.6 Pengukuran Fluktuasi Suhu Lemari Inkubasi

Pengukuran fluktuasi suhu lemari inkubasi bersifat kuantitatif. Pengukuran tersebut menggunakan termometer udara. Pengukuran tersebut dilakukan setiap 24 jam pada hari ke-0 (t_0) sampai hari ke-16 (t_{16}) secara teratur dan waktu yang konstan dengan meletakkan termometer suhu pada ruang lemari inkubasi. Perubahan suhu yang terjadi selama pengamatan dicatat.

3.4.8.7 Pengukuran Fluktuasi Kelembaban Lemari Inkubasi

Pengukuran fluktuasi kelembaban lemari inkubasi bersifat kuantitatif. Pengukuran tersebut menggunakan higrometer udara. Pengukuran tersebut dilakukan setiap 24 jam pada hari ke-0 (t_0) sampai hari ke-16 (t_{16}) secara teratur dan waktu yang konstan dengan meletakkan termometer suhu pada ruang lemari inkubasi. Perubahan kelembaban yang terjadi selama pengamatan dicatat.

3.5 Penyusunan, Pengolahan, dan Analisis Data

Data yang diperoleh disusun dalam bentuk grafik, histogram, tabel dan foto. Analisis data dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis data secara kualitatif meliputi pengamatan mikroskopik sel (bentuk sel). Analisis data secara kuantitatif meliputi penghitungan kerapatan sel (sel.mL^{-1}) untuk pembuatan kurva pertumbuhan, penghitungan kandungan klorofil (mg.L^{-1}), ukuran sel (μm), pH medium (1--14), suhu biakan ($^{\circ}\text{C}$), fluktuasi suhu lemari inkubasi ($^{\circ}\text{C}$), dan fluktuasi kelembaban lemari inkubasi (%).

Berdasarkan data yang diperoleh, analisis data pembuatan kurva tumbuh, dapat menentukan pembagian fase-fase pertumbuhan *Synechococcus* sp. RDB001, yaitu fase adaptasi, fase log, fase stasioner, dan fase kematian. Kurva tumbuh merupakan grafik pertumbuhan antara kerapatan sel (sumbu Y) terhadap waktu tumbuh (sumbu X). Software Microsoft Excel 2010 merupakan alat bantu untuk mengetahui dan menentukan fase-fase pertumbuhan *Synechococcus* sp. RDB001, serta pembuatan grafik, histogram, dan tabel hasil data pengamatan. Analisis korelasi antara kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 diperoleh dari data variable terikat (kerapatan sel (sel.mL^{-1})) dan variable bebas (kandungan klorofil (mg.L^{-1})).

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kerapatan Sel dan Kurva Pertumbuhan *Synechococcus* sp. RDB001

Pengukuran kerapatan sel biakan *Synechococcus* sp. RDB001 dilakukan pada t_0 sampai dengan t_{16} . Inokulum *Synechococcus* sp. RDB001 yang digunakan berasal dari *working culture* yang berumur 9 hari pada fase log akhir, dengan rerata kerapatan sel, yaitu $0,15 \times 10^6$ sel.mL⁻¹. Hal tersebut sesuai dengan Vasey & Powell (1984: 307) dan Fogg & Thake (1987: 14) yang menyatakan bahwa penggunaan inokulum pada fase log bertujuan untuk mempercepat proses adaptasi sel di dalam medium baru. Inokulum yang berada pada fase log dapat menghasilkan biakan yang baik, sedangkan inokulum yang berada pada fase setelah fase log dapat menyebabkan hasil biakan yang kurang baik. Hal tersebut disebabkan aktivitas enzim menurun, sehingga menurunkan kemampuan pembelahan sel-sel inokulum (Vasey & Powell 1984: 307). Oleh karena itu, kemungkinan bahwa kurva tumbuh *Synechococcus* sp. RDB001 dipengaruhi oleh kerapatan sel dan umur inokulum.

Gambar 4.1(1) dan Tabel 4.1 menunjukkan adanya perbedaan rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 antara yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dengan yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C. Rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 pada hari pertama pengamatan (t_1) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C mengalami penurunan, apabila dibandingkan dengan jumlah inokulum awal (t_0) (Tabel 4.1). Setelah itu, pada hari kedua pengamatan (t_2), sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C mengalami peningkatan rerata kerapatan sel (Tabel 4.1). Rerata kerapatan sel pada t_2 tidak begitu berbeda dengan rerata kerapatan sel pada t_1 . Rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 pada hari ketiga pengamatan (t_3) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C juga mengalami peningkatan, meskipun pada kedua suhu perlakuan menghasilkan perbedaan jumlah rerata kerapatan sel (Tabel 4.1). Rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp.

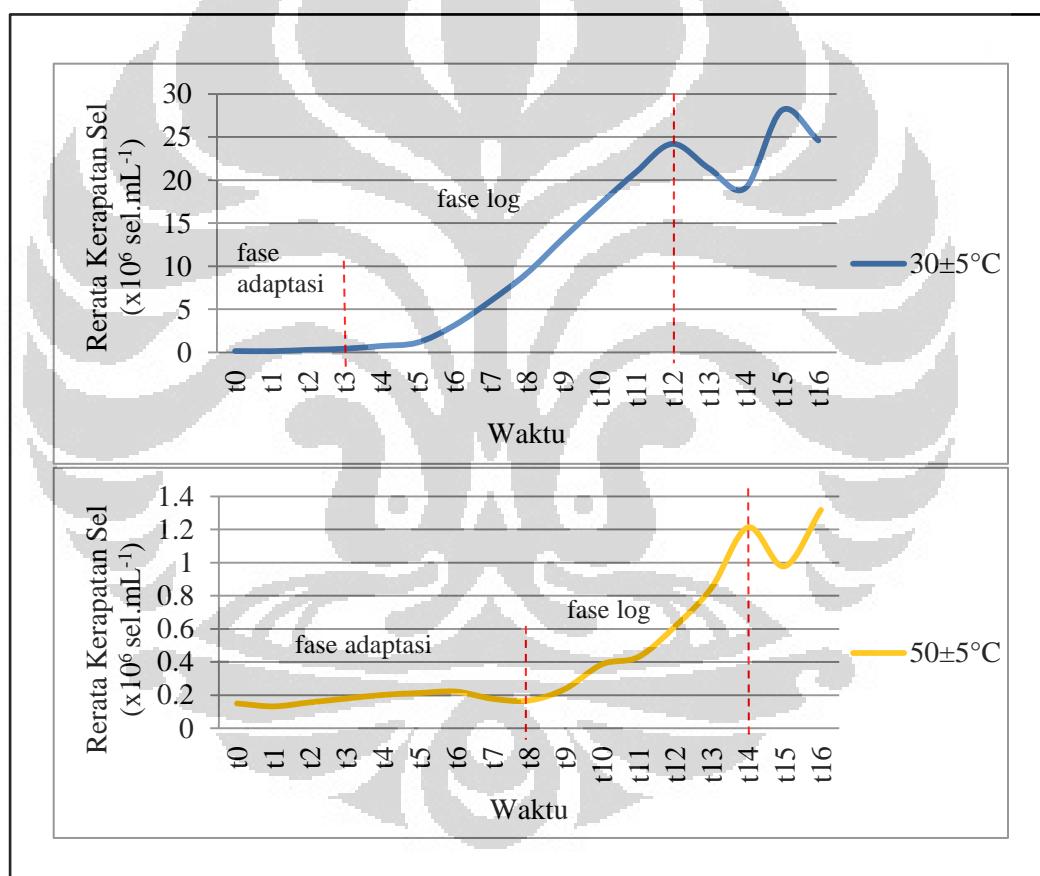
RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C pada t_3 mulai mengalami peningkatan rerata kerapatan sel yang tinggi, sedangkan pada sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C terjadi pada t_8 . Berdasarkan Gambar 4.1(1) dan Tabel 4.1, dapat disimpulkan bahwa kemungkinan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C mengalami fase adaptasi selama 3 hari (t_1-t_3), sedangkan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C mengalami fase adaptasi selama 8 hari (t_1-t_8).

Tabel 4.1 Rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 dengan 16 ulangan

Umur Biakan (hari)	Rerata Kerapatan Sel ($\times 10^6$ sel.mL$^{-1}$)	
	30 ± 5 °C	50 ± 5 °C
t_0	$0,15000 \pm 0$	$0,15000 \pm 0$
t_1	$0,13515 \pm 0,00455$	$0,13219 \pm 0,00870$
t_2	$0,28313 \pm 0,06724$	$0,15638 \pm 0,02708$
t_3	$0,41563 \pm 0,09041$	$0,17944 \pm 0,04939$
t_4	$0,73750 \pm 0,40944$	$0,20156 \pm 0,07512$
t_5	$1,12750 \pm 0,57018$	$0,21281 \pm 0,08620$
t_6	$3,09250 \pm 1,10438$	$0,22141 \pm 0,10128$
t_7	$5,94000 \pm 1,54237$	$0,17813 \pm 0,06948$
t_8	$9,15500 \pm 1,81288$	$0,16750 \pm 0,04479$
t_9	$13,24440 \pm 3,22954$	$0,23975 \pm 0,18798$
t_{10}	$17,16560 \pm 4,07548$	$0,38625 \pm 0,60671$
t_{11}	$20,92130 \pm 3,95395$	$0,43063 \pm 0,80124$
t_{12}	$24,20750 \pm 5,33926$	$0,61500 \pm 1,27019$
t_{13}	$21,36380 \pm 4,78726$	$0,84813 \pm 1,90141$
t_{14}	$19,08380 \pm 4,90953$	$1,21313 \pm 2,92573$
t_{15}	$28,11440 \pm 9,09857$	$0,97813 \pm 2,17354$
t_{16}	$24,60560 \pm 7,46444$	$1,31875 \pm 3,14631$

Perbedaan lama fase adaptasi pada *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C, kemungkinan disebabkan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C mengalami cekaman paparan panas yang berasal dari cahaya lampu pijar 4 x 100 Watt dan 2 x 75 Watt. Menurut Wada dkk. 1994 dan Nishiyama dkk. 1999, cekaman paparan panas mengakibatkan pengurangan fluiditas membran tilakoid sel *Synechococcus*

sp. RDB001 (Inoue dkk. 2001: 1140). Hal tersebut kemungkinan juga dialami pada sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $50\pm5^{\circ}\text{C}$, sehingga sel *Synechococcus* sp. RDB001 membutuhkan waktu yang lebih untuk menyesuaikan dengan lingkungan. Selain akibat pengurangan fluiditas membran tilakoid, kemungkinan peningkatan suhu menyebabkan sel *Synechococcus* sp. RDB001 menyintesis protein HSPs dan pigmen fotosintetik (fikobilin dan karoten) yang mampu mengurangi paparan panas. Meskipun demikian, dalam penelitian tidak dilakukan penghitungan secara kuantitatif kadar protein HSPs dan jumlah pigmen tersebut.



Gambar 4.1(1) Grafik fase pertumbuhan rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001

Setelah melewati fase adaptasi, sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $30\pm5^{\circ}\text{C}$ dan $50\pm5^{\circ}\text{C}$ mengalami peningkatan rerata kerapatan sel yang cukup tinggi, apabila dibandingkan dengan pengamatan pada t_0 . *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $30\pm5^{\circ}\text{C}$ terjadi

Universitas Indonesia

peningkatan rerata kerapatan sel yang cukup tinggi, yaitu sebesar ± 60 kali lipat, dari t_4 sebesar $0,73750 \pm 0,40944 \times 10^6$ sel.mL⁻¹ sampai t_{12} , yaitu sebesar $24,2075 \pm 5,33926 \times 10^6$ sel.mL⁻¹ (Tabel 4.1). Rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 tertinggi pertama yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C terjadi pada t_{12} , yaitu $24,2075 \pm 5,33926 \times 10^6$ sel.mL⁻¹.

Berbeda dengan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C, *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C mengalami peningkatan rerata kerapatan sel yang tidak begitu tinggi. Peningkatan rerata kerapatan sel tersebut hanya sebesar ± 6 kali lipat, dari t_9 sebesar $0,23975 \pm 0,18798 \times 10^6$ sel.mL⁻¹ sampai t_{14} , yaitu sebesar $1,21313 \pm 2,92573 \times 10^6$ sel.mL⁻¹ (Tabel 4.1). Rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 tertinggi pertama yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C terjadi pada t_{14} , yaitu $1,21313 \pm 2,92573 \times 10^6$ sel.mL⁻¹.

Berdasarkan Gambar 4.1(1) dan Tabel 4.1, dapat disimpulkan bahwa kemungkinan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C mengalami fase log selama 9 hari (t_4 – t_{12}), sedangkan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C mengalami fase log selama 6 hari (t_9 – t_{14}). Kecepatan fase log pada sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C (6 hari) dibandingkan pada suhu 30 ± 5 °C (9 hari), tidak diikuti dengan kenaikan rerata kerapatan sel yang meningkat tinggi (hanya 6 kali lipat) dibandingkan pada suhu 30 ± 5 °C (60 kali lipat).

Perbedaan lama fase log yang terjadi pada *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C, kemungkinan dipengaruhi oleh metabolisme sel dan ketahanan sel terhadap suhu tinggi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Fogg & Thake (1987: 22–23) yang menyatakan bahwa fase log merupakan fase saat mikroorganisme membutuhkan energi yang lebih banyak dari fase lain, karena kondisi biakan paling sensitif terhadap keadaan lingkungan. Penelitian menggunakan kondisi lingkungan dengan suhu tinggi (50±5 °C), sehingga kecepatan pertumbuhan sel *Synechococcus* sp. RDB001 pada fase log akan terhambat.

Setelah fase log, pengamatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C masih menunjukkan peningkatan

dan penurunan rerata kerapatan sel (fluktuasi). *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C terus mengalami fluktuasi rerata kerapatan sel pada t_{13} sampai dengan t_{16} . Sementara itu, *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C mengalami fluktuasi rerata kerapatan sel pada t_{15} sampai dengan t_{16} . Gambar 4.1(1) menunjukkan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C pada t_{13} dan t_{14} mengalami penurunan kerapatan sel yang kemudian kembali meningkat pada t_{15} dan kembali turun pada t_{16} . Grafik pada Gambar 4.1(1), mirip dengan grafik hasil penelitian Waditee dkk. (2002: 4113) yang juga mengalami fluktuatif kerapatan sel. Hal tersebut disebabkan adanya cekaman fikobillin pada sel-sel *Synechococcus* PCC 7942 yang sebelumnya dipelihara di rumah kaca kemudian dipindahkan pada medium BG11 dengan penambahan kadar 0,5M NaCl.

Fluktuasi rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 30 ± 5 °C kemungkinan disebabkan oleh kematian sel. Meskipun demikian, materi organik dari sel-sel yang mati menyebabkan nutrien dalam medium pertumbuhan meningkat, sehingga nutrien tersebut digunakan oleh sel yang hidup untuk peningkatan pembelahan sel berikutnya. Setelah terjadi fluktuasi rerata kerapatan sel pada hari ke-16 pengamatan pada kedua suhu perlakuan, kemungkinan sel akan memasuki fase stasioner dan kemudian akan memasuki fase kematian. Berdasarkan Gambar 4.1(1), kurva pertumbuhan *Synechococcus* sp. RDB001 selama 16 hari pengamatan pada kedua suhu perlakuan baru terlihat 2 fase, yaitu fase adaptasi dan fase logaritmik (log). Sementara itu, fase stasioner dan fase kematian belum terlihat pada penelitian.

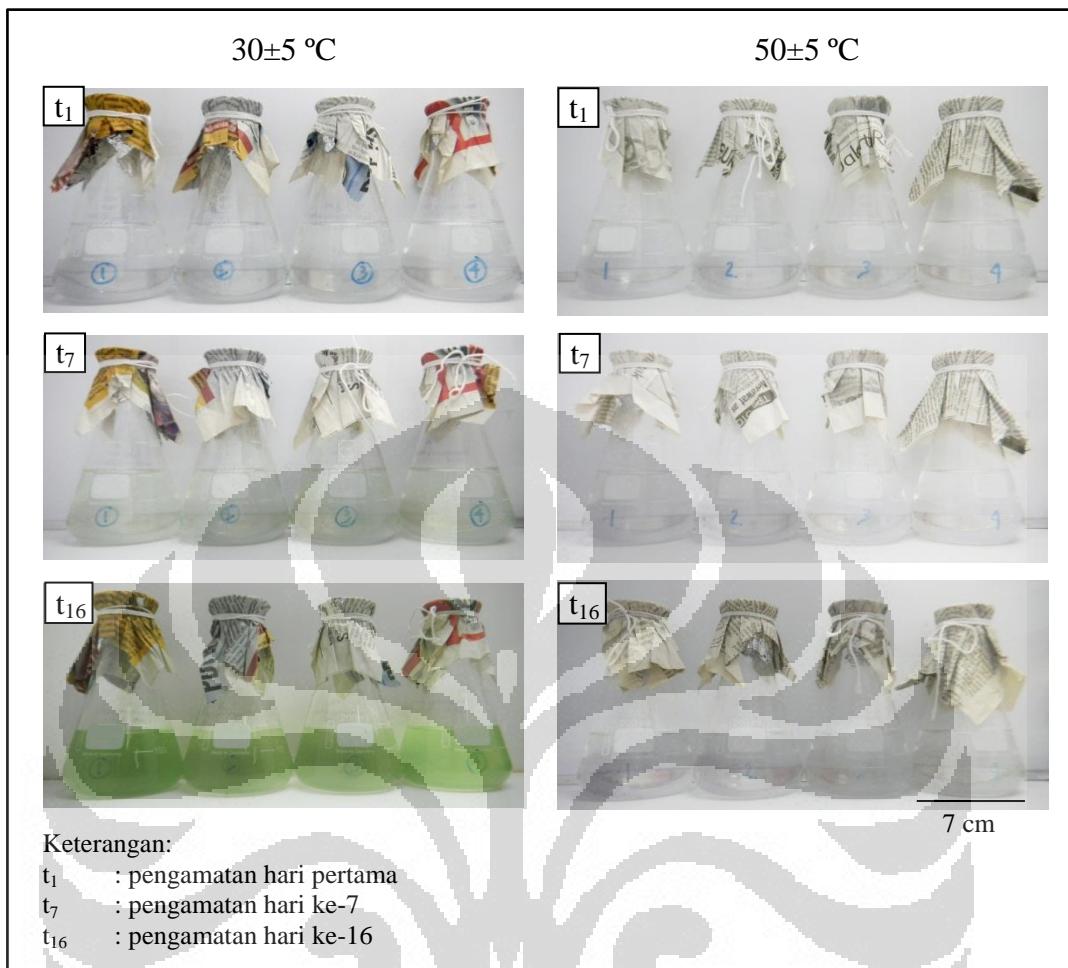
Selain tersaji dalam bentuk grafik dan tabel, data rerata kerapatan sel juga ditampilkan dalam bentuk foto penampakan makroskopik biakan *Synechococcus* sp. RDB001 (Gambar 4.1(2)) untuk mendukung data pada Tabel 4.1. Hasil pengamatan makroskopik biakan selama 16 hari pengamatan menunjukkan perbedaan warna yang cukup signifikan antara biakan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C. Hasil pengamatan makroskopik biakan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C pada hari pertama (t_1), masih

menunjukkan warna bening dan tidak ada perbedaan warna pada kedua suhu perlakuan (Gambar 4.1(2)), meskipun rerata kerapatan sel pada biakan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C berbeda (Tabel 4.1). Kemungkinan, hal tersebut disebabkan sel-sel belum mengalami metabolisme secara maksimal karena masih melakukan penyesuaian dengan lingkungan.

Perbedaan warna makroskopik biakan mulai terlihat berbeda pada pengamatan hari ke-7. Pengamatan makroskopik biakan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C terlihat sedikit keruh dibandingkan dengan makroskopik biakan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C yang terlihat masih bening (Gambar 4.1(2)). Hal tersebut mendukung data pada Tabel 4.1, bahwa rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C lebih tinggi dibandingkan dengan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C.

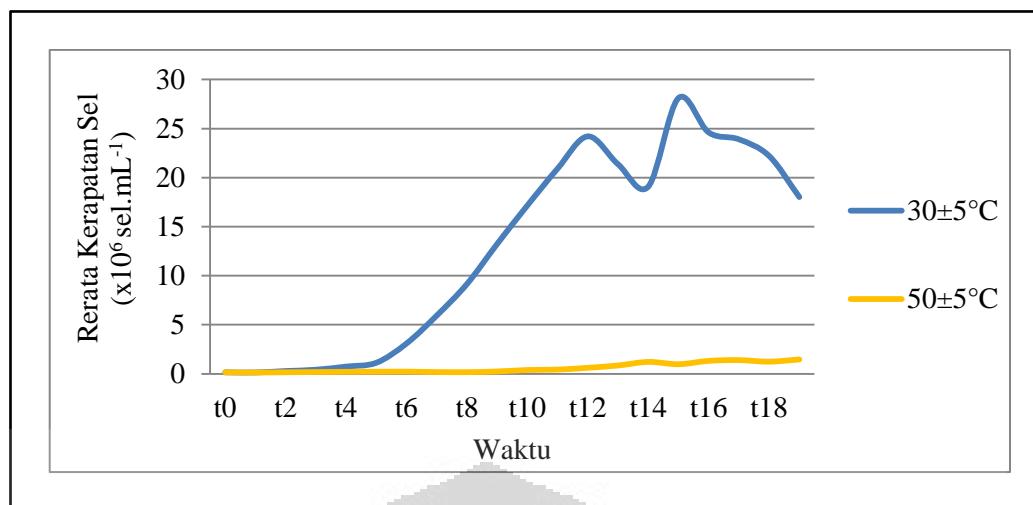
Perbedaan warna makroskopik biakan yang signifikan, terlihat pada pengamatan hari ke-16. Penampakan makroskopik biakan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C berwarna hijau daun (*leaf green* 112) (Lampiran 6), sedangkan penampakan makroskopik biakan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C tetap berwarna bening (Gambar 4.1(2)). Penampakan warna makroskopik biakan menunjukkan jumlah rerata kerapatan sel dalam biakan. Semakin pekat penampakan warna makroskopik biakan, maka semakin tinggi rerata kerapatan sel tersebut. Hal tersebut mendukung data pada Tabel 4.1.

Penampakan makroskopik biakan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C berbeda cukup signifikan selama 16 hari pengamatan. Hal tersebut kemungkinan terkait adanya fotoinhibisi dan *photobleaching* pada sel yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C. *Photobleaching* mengakibatkan kerusakan klorofil, sehingga warna makroskopik biakan tidak terlihat hijau. Menurut Schmetterer & Peschek (1981), suhu tinggi diatas 48 °C dapat memicu *photobleaching* (lihat Borbely dkk. 1984: 1126).



Gambar 4.1(2) Penampakan makroskopik biakan *Synechococcus* sp. RDB001

Perbedaan kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ dan $50\pm 5^{\circ}\text{C}$ diperkuat dengan analisis statistika non parametrik Uji Mann Whitney dengan taraf nyata (α) 0,05 (Zar 1974: 110). Hasil analisis statistika tersebut menyimpulkan bahwa ada perbedaan rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ dengan rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $50\pm 5^{\circ}\text{C}$, pada $\alpha = 0,05$ (Lampiran 2).



Gambar 4.1(3) Grafik perbandingan rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001

Berdasarkan data penelitian, rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $50\pm 5^\circ\text{C}$ lebih rendah daripada rerata kerapatan sel yang ditumbuhkan pada suhu $30\pm 5^\circ\text{C}$ (Gambar 4.1(3)), meskipun isolat tersebut berasal dari *hot spring* Rawa Danau, Banten dengan suhu air 50°C . Hal tersebut tidak sesuai dengan hipotesis awal yang menyatakan bahwa semakin tinggi suhu yang diberikan (dibawah suhu optimal), maka kerapatan sel dan kandungan klorofil akan meningkat.

Penyebab ketidak sesuaian hasil penelitian dengan hipotesis awal, kemungkinan *Synechococcus* sp. RDB001 merupakan spesies fakultatif termofilik. Sifat fakultatif termofilik merupakan sifat yang toleran dengan kisaran suhu yang lebih luas dibandingkan dengan sifat termofilik *Synechococcus* lain. Bergey (1919) menyatakan bahwa fakultatif termofilik merupakan sel yang mampu tumbuh pada suhu kamar (20°C) dan suhu maksimum pada 60°C (lihat Gaughran 1947: 191). Sementara itu, menurut Fischer (1900) dan Imsenecki & Solnzeva (1945), penggolongan fakultatif termofilik masuk kedalam kelompok *eurithermal* termofilik meskipun, tidak terdapat perbedaan kisaran suhu dengan fakultatif termofilik (lihat Gaughran 1947: 191). Fischer (1900) dan Imsenecki & Solnzeva (1945) menerangkan bahwa kelompok *eurithermal* termofilik dapat tumbuh pada suhu 60°C dan tumbuh dengan cepat pada suhu $28\text{--}30^\circ\text{C}$ (lihat Gaughran 1947: 191). Inoue dkk. (2001: 1140) menyimpulkan bahwa sensitivitas suhu pada fotosistem II menentukan batas-batas pertumbuhan pada suhu tinggi

Universitas Indonesia

dan suhu rendah pada organisme fotosintetik. Oleh karena itu, kemungkinan *Synechococcus* sp. RDB001 tumbuh secara optimum pada suhu 30 ± 5 °C, meskipun isolat tersebut berasal dari *hot spring* Rawa Danau, Banten dengan suhu air 50 °C.

Selain sifat fakultatif termofilik dan sensitivitas suhu di fotosistem II, kemungkinan toleransi suhu terhadap pertumbuhan sel menjadi salah satu faktor penyebab rendahnya rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C. Hasil penelitian T.D Brock & M.L Brock (1967 & 1968) menunjukkan bahwa suhu optimal untuk pertumbuhan dan fotosintesis *Synechococcus* sp. *hot spring* Hunter-Oregon berkisar 63–67 °C, lebih rendah dari suhu rata-rata habitat aslinya 70 °C (*lihat* Miller dkk. 1998: 3893). Hasil uji laboratorium yang dilakukan T.D Brock & M.L Brock (1967 & 1968), menyatakan bahwa Cyanobacteria tersebut mengalami stress kronis suhu di alam (*lihat* Miller dkk. 1998: 3893). Kemungkinan *Synechococcus* sp. RDB001 juga mengalami stress kronis suhu di alam, meskipun ada faktor mikro habitat yang memang tidak terpenuhi di dalam lemari inkubasi. Oleh karena itu, *Synechococcus* sp. RDB001 tumbuh optimal pada suhu 30 ± 5 °C, lebih rendah dari suhu air di Rawa Danau, Banten (50 °C).

Kemungkinan lain, *Synechococcus* sp. RDB001 memang memiliki suhu optimal 30 ± 5 °C. Apabila suhu diberikan diatas suhu optimal, maka kerapatan sel akan menurun. Hal tersebut didukung oleh penelitian Meeks & Castenholz (1971) yang menunjukkan bahwa kerapatan sel *Synechococcus* sp. menurun secara bertahap saat suhu diatas optimal sebelum mencapai suhu batas atas. Evolusi dari respon suhu terhadap fotosintesis pada *Synechococcus* sp. termofilik telah menunjukkan respon yang berbeda dari yang diusulkan oleh Brock (1967), yang menyatakan bahwa suhu tinggi pada *Synechococcus* sp. dapat mengoptimalkan pertumbuhan dan fotosintesis selama suhu di bawah batas atas. Brock (1967) berpendapat, apabila suhu di atas batas atas, maka akan mematikan sel tersebut. (*lihat* Miller dkk. 1998: 3898).

Selain berkaitan dengan toleransi suhu, kemungkinan respon protein *heat shock* (HSPs) juga menjadi salah satu faktor dalam pertumbuhan sel *Synechococcus* sp. RDB001. Penelitian yang dilakukan oleh Borbély (1985:

1125) terhadap *Synechococcus* sp. strain PCC 6301 menunjukkan bahwa respon sel saat terjadi *heat shock* pada suhu 47 °C mengakibatkan pertumbuhan sel menurun. Berdasarkan penelitian tersebut, kemungkinan *Synechococcus* sp. RDB001 juga mengalami respon yang sama ketika ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C. Pertumbuhan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C menurun, sehingga rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C lebih rendah daripada rerata kerapatan kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30±5 °C.

4.2 Kandungan Klorofil *Synechococcus* sp. RDB001

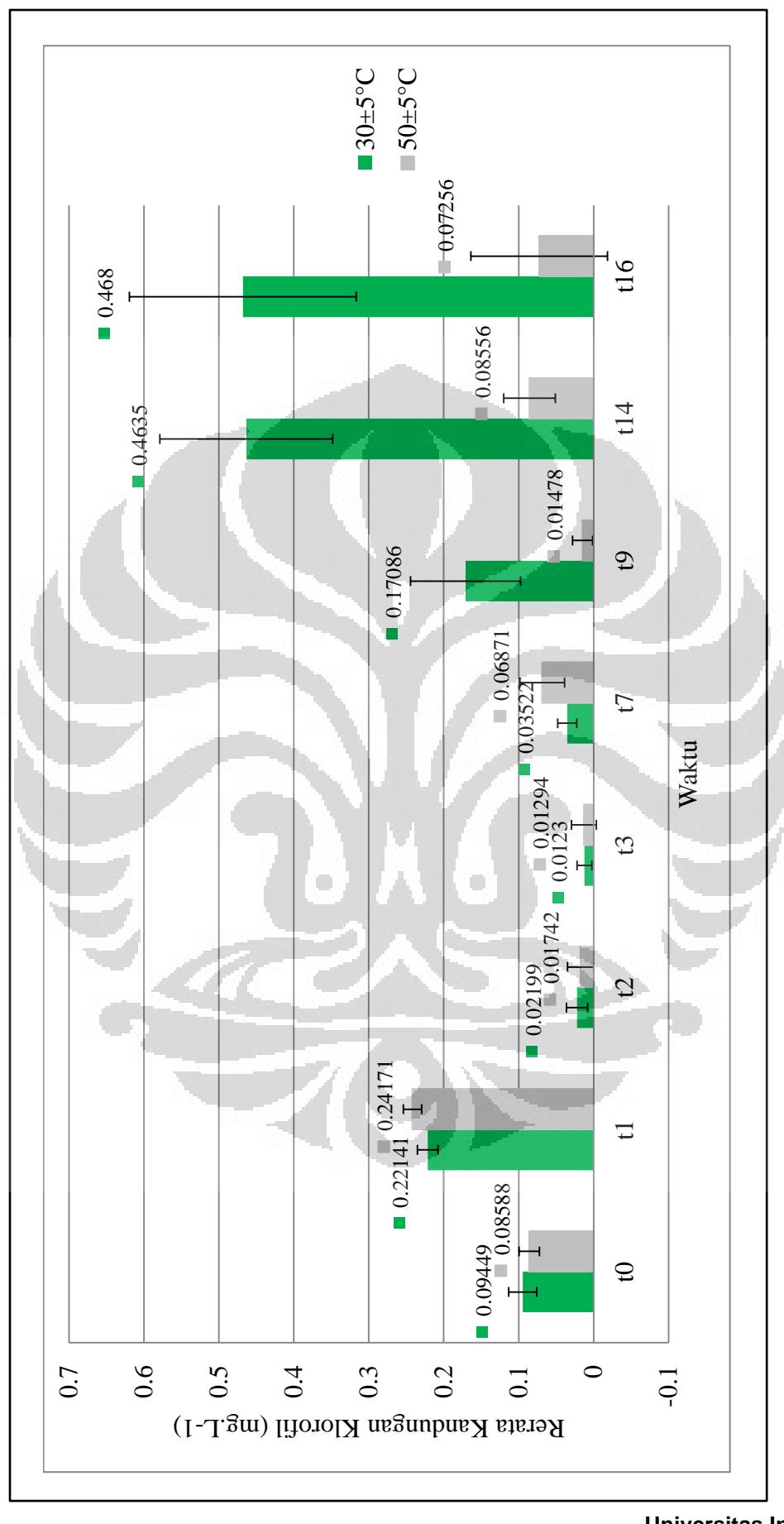
Pengukuran kandungan klorofil biakan *Synechococcus* sp. RDB001 dilakukan pada t₀, t₁, t₂, t₃, t₇, t₉, t₁₄, dan t₁₆. Hasil pengukuran rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 pada hari pertama inokulasi (t₀) yang ditumbuhkan pada suhu 30±5 °C sebesar 0,09449±0,0187 mg.L⁻¹ dan pada suhu 50±5 °C sebesar 0,08588±0,01359 mg.L⁻¹ (Tabel 4.2). Apabila dibandingkan antara rerata kandungan klorofil biakan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30±5 °C dan 50±5 °C (Gambar 4.2), maka rerata kandungan klorofil tersebut pada pengamatan t₀ hampir sama (Tabel 4.2).

Selama pengamatan, terlihat fluktuasi pada rerata kandungan klorofil, baik yang ditumbuhkan pada suhu 30±5 °C maupun pada suhu 50±5 °C. Hasil pengamatan hari pertama (t₁), sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30±5 °C dan 50±5 °C mengalami peningkatan rerata kandungan klorofil. Peningkatan rerata kandungan klorofil pada t₁ yang terjadi pada *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C, kemungkinan disebabkan karena adanya HSPs yang meningkat ketika awal pemberian suhu tinggi (Borbély 1985: 1125). Selanjutnya, pada t₂ terjadi penurunan rerata kandungan klorofil pada kedua suhu perlakuan dan terus turun sampai t₃. Penurunan kandungan klorofil pada kedua suhu perlakuan tersebut, kemungkinan disebabkan sel sedang melakukan penyesuaian dengan lingkungan, sehingga pembentukan klorofil belum optimal.

Tabel 4.2 Rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001

Umur Biakan (hari)	Rerata Kandungan Klorofil (mg.L⁻¹)	
	30±5 °C	50±5 °C
t ₀	0,09449 ± 0,01870	0,08588 ± 0,01359
t ₁	0,22141 ± 0,01377	0,24171 ± 0,01218
t ₂	0,02199 ± 0,01408	0,01742 ± 0,01740
t ₃	0,01230 ± 0,00996	0,01294 ± 0,01668
t ₇	0,03522 ± 0,01268	0,06871 ± 0,02988
t ₉	0,17086 ± 0,07356	0,01478 ± 0,01338
t ₁₄	0,46350 ± 0,11532	0,08556 ± 0,03444
t ₁₆	0,46800 ± 0,15131	0,07256 ± 0,09115

Setelah pengamatan pada hari ke 3 (t₃), pengamatan pada t₇ dan t₉ menunjukkan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30±5 °C meningkat cukup tinggi dari 0,03522±0,01268 mg.L⁻¹ menjadi 0,17086±0,07356 mg.L⁻¹ (Tabel 4.2). Sementara pengamatan pada t₇ dan t₉ rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C mengalami penurunan, dari 0,06871±0,02988 mg.L⁻¹ menjadi 0,01478±0,01338 mg.L⁻¹. Peningkatan yang cukup tinggi terlihat pada *Synechococcus* sp. RDB001 baik yang ditumbuhkan pada suhu 30±5 °C maupun 50±5 °C pada Gambar 4.2 ketika pengamatan t₁₄. Setelah itu, rerata kandungan klorofil sel *Synechococcus* sp. RDB001 pada kedua suhu perlakuan kembali mengalami penurunan pada t₁₆ (Tabel 4.2).



Gambar 4.2 Histogram perbandingan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001

Universitas Indonesia

Rerata kandungan klorofil tertinggi dari *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dicapai pada t_{14} ($0,46350\pm0,11532$ mg.L $^{-1}$) dan terendah pada t_3 ($0,01230\pm0,00996$ mg.L $^{-1}$). Rerata kandungan klorofil tertinggi tersebut kemungkinan disebabkan adanya peningkatan aktivitas metabolisme sel yang menyebabkan peningkatan kandungan klorofil pada tilakoid. Oleh karena hal tersebut, maka nilai kandungan klorofil yang terbaca pada spektrofotometer besar (Lampiran 4). Rendahnya rerata kandungan klorofil pada t_3 kemungkinan disebabkan pada t_3 sel baru mulai memasuki fase log, sehingga sel terkonsentrasi untuk persiapan pembelahan dan klorofil belum terbentuk optimal.

Rerata kandungan klorofil tertinggi dari *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C dicapai pada t_1 ($0,24171\pm0,01218$ mg.L $^{-1}$) dan terendah pada t_{16} ($0,07256\pm0,09115$ mg.L $^{-1}$) (Tabel 4.2). Rerata kandungan klorofil tertinggi tersebut kemungkinan disebabkan, karena adanya respon HSPs yang meningkat ketika awal pemberian suhu tinggi (Borbély 1985: 1125). Sedangkan, rerata kandungan klorofil yang terendah kemungkinan, disebabkan lamanya inkubasi pada suhu tinggi yang berkepanjangan menyebabkan penghambatan pada fotosistem II (Inoue dkk. 2000: 517). Oleh karena hal tersebut, maka rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 menjadi rendah pada t_{16} . Kemungkinan lain, peningkatan dan penurunan kandungan klorofil berkaitan dengan peningkatan aktivitas metabolisme sel, adanya unsur Mg untuk pembentukan klorofil, perubahan *protochlorophyllide* menjadi *chlorophyllide a*, atau faktor mikro habitat lain pada *hot spring* di Rawa Danau-Banten.

Berdasarkan hasil penelitian, Gambar 4.2 menunjukkan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C cenderung lebih tinggi, yaitu dari $0,01230\pm0,00996$ mg.L $^{-1}$ sampai dengan $0,46800\pm0,15131$ mg.L $^{-1}$ dibandingkan dengan *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C, yaitu dari $0,01294\pm0,01668$ mg.L $^{-1}$ sampai dengan $0,24171\pm0,01218$ mg.L $^{-1}$. Hasil penelitian yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Bidigare dkk. (1989: 181) bahwa besar kandungan klorofil a pada *Synechococcus* sp. WH7803 yang

diberikan sinar putih, yaitu $306,4 \pm 2,0$ ng pigmen.mL⁻¹ biakan ($=0,3064 \pm 0,002$ mg.L⁻¹).

4.3 Korelasi antara Kerapatan Sel dan Kandungan Klorofil

***Synechococcus* sp. RDB001**

Peningkatan kerapatan sel, umumnya diikuti oleh peningkatan kandungan klorofil. Klorofil merupakan pigmen yang berperan penting pada fotosintesis yang akan menghasilkan karbohidrat yang kemudian akan digunakan dalam metabolisme sel untuk menunjang pertumbuhan dan perbanyakannya sel (Alberts dkk. 1994: 96; Clegg & Mackean 2000: 262). Berdasarkan penelitian, korelasi antara rerata kerapatan sel dan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C selama 8 hari pengamatan (t_0 , t_1 , t_2 , t_3 , t_7 , t_9 , t_{14} , dan t_{16}) menunjukkan pola yang berbeda (Gambar 4.3). Kenaikan rerata kerapatan sel tidak selalu diikuti kenaikan rerata kandungan klorofil.

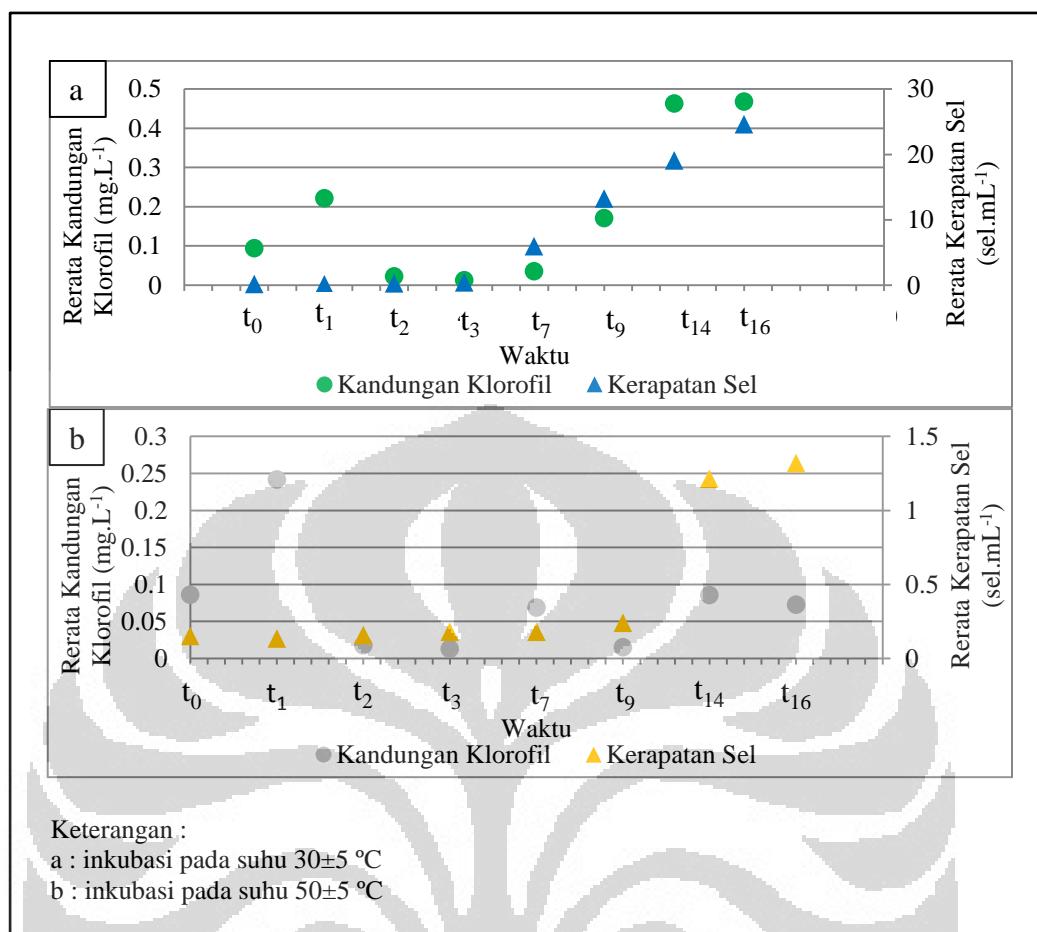
Synechococcus sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C, pada t_7 , t_9 , t_{14} , dan t_{16} memiliki pola kenaikan yang sama pada rerata kerapatan sel dan rerata kandungan klorofil (Tabel 4.3(1)). Akan tetapi, *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C hanya terjadi pada t_{14} (Tabel 4.3(2)). Perbedaan pola kenaikan tersebut, kemungkinan disebabkan adanya degradasi fikobilin pada suhu tinggi. Fork dkk (1987) menemukan bahwa suhu tinggi (72 °C) menyebabkan fikobiliprotein mengalami degradasi (*lihat* Inoue dkk. 2000: 515). Selain hal tersebut, perbedaan rerata kerapatan sel dan rerata kandungan klorofil kemungkinan disebabkan oleh kadar klorofil yang memiliki prosentase hanya 1,5% dari berat kering bahan organik atau sama dengan 1 banding 67 berat biomassa (Fu dkk. 2007: 490). Oleh karena itu, pada penelitian peningkatan kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 tidak selalu diikuti dengan peningkatan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 baik yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C maupun 50 ± 5 °C.

Tabel 4.3(1) Perbandingan antara rerata kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C

Umur Biakan	Rerata Kerapatan Sel ($\times 10^6$ sel.mL$^{-1}$)	Rerata Kandungan Klorofil (mg.L$^{-1}$)
t ₀	0,15000 ± 0	0,09449 ± 0,0187
t ₁	0,13515 ± 0,00455	0,22141 ± 0,01377
t ₂	0,28313 ± 0,06724	0,02199 ± 0,01408
t ₃	0,41563 ± 0,09041	0,01230 ± 0,00996
t ₇	5,94000 ± 1,54237	0,03522 ± 0,01268
t ₉	13,2444 ± 3,22954	0,17086 ± 0,07356
t ₁₄	19,0838 ± 4,90953	0,46350 ± 0,11532
t ₁₆	24,6056 ± 7,46444	0,46800 ± 0,15131

Tabel 4.3(2) Perbandingan antara rerata kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C

Umur Biakan	Rerata Kerapatan Sel ($\times 10^6$ sel.mL$^{-1}$)	Rerata Kandungan Klorofil (mg.L$^{-1}$)
t ₀	0.15000 ± 0	0.08588 ± 0.01359
t ₁	0.13219 ± 0.0087	0.24171 ± 0.01218
t ₂	0.15638 ± 0.02708	0.01742 ± 0.0174
t ₃	0.17944 ± 0.04939	0.01294 ± 0.01668
t ₇	0.17813 ± 0.06948	0.06871 ± 0.02988
t ₉	0.23975 ± 0.18798	0.01478 ± 0.01338
t ₁₄	1.21313 ± 2.92573	0.08556 ± 0.03444
t ₁₆	1.31875 ± 3.14631	0.07256 ± 0.09115



Gambar 4.3 Hubungan rerata kerapatan sel dan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001

Korelasi antara rerata kerapatan sel dan rerata kandungan klorofil

Synechococcus sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ dan $50\pm 5^{\circ}\text{C}$ diperkuat dengan analisis statistika non parametrik menggunakan Uji Spearman (Zar 1974: 243--244) (Lampiran 4 & 5). Hasil analisis statistika tersebut menyimpulkan bahwa tidak ada korelasi antara rerata kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 baik yang ditumbuhkan pada suhu $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ maupun pada suhu $50\pm 5^{\circ}\text{C}$. Kenaikan rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 tidak berpengaruh terhadap kenaikan rerata kandungan klorofil.

4.4 Pengamatan Biakan dan Lemari Inkubasi

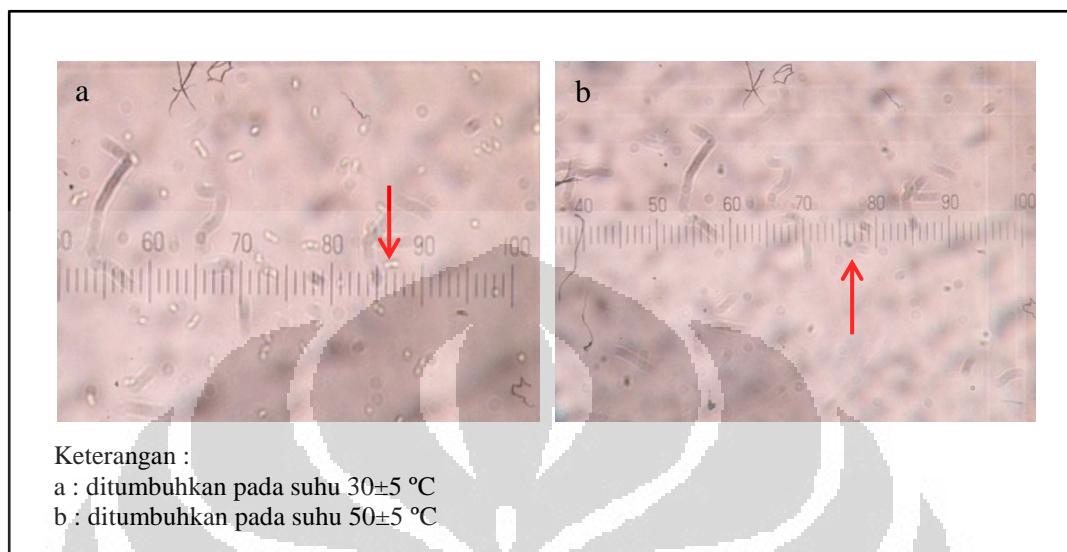
4.4.1 Pengamatan Biakan

4.4.1.1 Mikroskopik Sel

Selain memengaruhi kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001, pemberian suhu (30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C) juga memengaruhi sel *Synechococcus* sp. RDB001 secara mikroskopik. Parameter yang diamati untuk pengamatan mikroskopik sel *Synechococcus* sp. RDB001 adalah ukuran dan bentuk sel. *Synechococcus* sp. RDB001 diukur menggunakan mikrometer okuler yang telah dikalibrasi dengan mikrometer objektif dengan perbesaran mikroskop 10×40 . Bagian sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang diukur adalah lebar dan panjang sel. Pengukuran sel tersebut dilakukan pada 50 sel *Synechococcus* sp. RDB001.

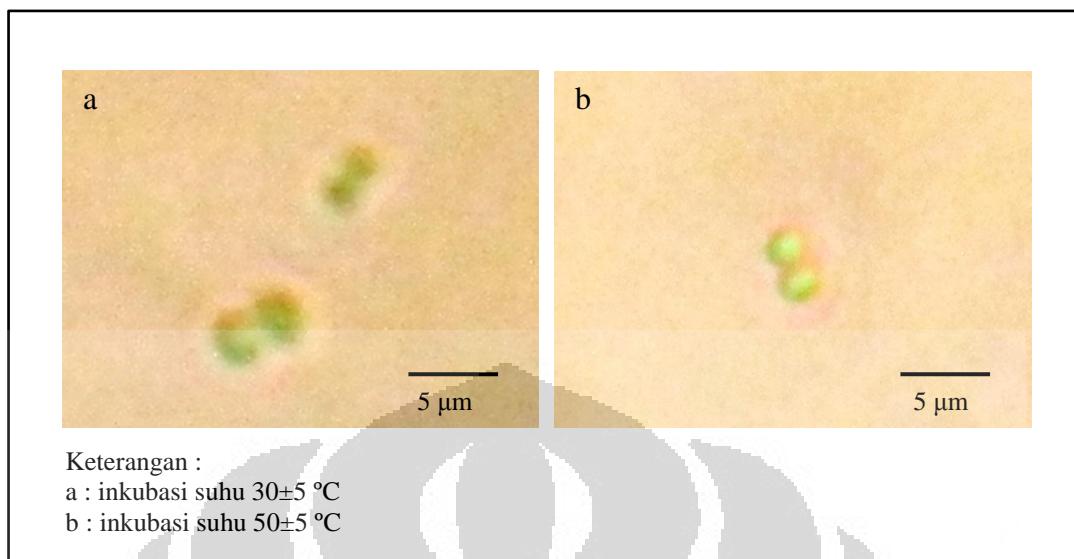
Gambar 4.4.1.1(1) merupakan hasil pengamatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang berumur 16 hari secara mikroskopik dengan perbesaran mikroskop 10×40 . *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C memiliki lebar sel berkisar $1,5\text{--}2,5\mu\text{m}$ dan panjang sel berkisar $3\text{--}5\mu\text{m}$, sedangkan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C memiliki lebar sel berkisar $1\text{--}2\mu\text{m}$ dan panjang sel berkisar $2\text{--}4,5\mu\text{m}$. Schmidt dkk. (1991) menyatakan bahwa lebar sel *Synechococcus* sp. berukuran $< 2\mu\text{m}$ (lihat Haverkamp dkk. 2009: 397). Perbedaan panjang dan lebar ukuran sel pada *Synechococcus* sp. RDB001 kemungkinan disebabkan oleh cekaman panas dari cahaya yang diberikan. Hal tersebut didukung oleh penelitian Kullberg (1981: 151) yang menunjukkan bahwa *Synechococcus lividus* ditemukan tumbuh dengan baik pada suhu tinggi dan cahaya terang dengan rata-rata perubahan panjang sel sekitar $0,132\mu\text{m}$ per $1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Perbandingan perubahan panjang sel terhadap suhu, yaitu $0,218\text{--}0,050\mu\text{m}$ per $1\text{ }^{\circ}\text{C}$, ketika diberikan cahaya $650\text{--}159\text{ kal.cm}^{-2}$ per hari. Oleh karena itu, perbedaan panjang dan lebar sel *Synechococcus* sp. RDB001 kemungkinan besar disebabkan oleh cekaman panas dari cahaya yang

diberikan. Akan tetapi, peranan perubahan panjang sel terhadap kerapatan dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 tidak diteliti pada penelitian.



Gambar 4.4.1.1(1) Ukuran sel *Synechococcus* sp. RDB001

Selain ukuran sel, bentuk sel pada pengamatan mikroskopik sel *Synechococcus* sp. RDB001 juga diamati. Pengamatan bentuk sel *Synechococcus* sp. RDB001 dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 40. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa seluruh sel, baik yang ditumbuhkan pada suhu $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ dan $50\pm 5^{\circ}\text{C}$ memiliki bentuk sel bulat lonjong (Gambar 4.4.1.1(2)) dan berwarna hijau daun (*leaf green* 112) (Lampiran 6). Hal tersebut sesuai Whitton (2002: 57) yang menyatakan bahwa *Synechococcus* sp. memiliki bentuk bulat, elips atau silindris. Akan tetapi, peranan bentuk sel terhadap kerapatan dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 tidak diteliti pada penelitian



Gambar 4.4.1.1(2) Bentuk sel *Synechococcus* sp. RDB001

4.4.1.2 Derajat Keasaman (pH) Medium Biakan

Pengukuran pH medium dilakukan bersamaan dengan pengambilan sampel biakan. Hasil penelitian pengukuran pH selama 16 hari pengamatan menunjukkan pH medium yang konstan, yaitu pH 6 (Tabel 4.4.2.2). Hal tersebut menunjukkan kondisi medium yang sama dengan kondisi pH pada habitat di air *hot spring* Rawa Danau-Banten, yaitu pH 6. Oleh karena itu, kemungkinan rerata kerapatan sel dan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 tidak dipengaruhi oleh pH medium.

4.4.1.3 Suhu Medium Biakan

Pengukuran suhu medium biakan dilakukan bersamaan dengan pengambilan sampel biakan. Hasil penelitian pengukuran suhu medium biakan selama 16 hari pengamatan menunjukkan terjadi fluktuasi suhu medium biakan. Rerata suhu medium biakan yang ditumbuhkan pada lemari inkubasi I ($30\pm5^{\circ}\text{C}$) selama 16 hari pengamatan sebesar $\pm32,5^{\circ}\text{C}$ dan pada lemari inkubasi II

(50 ± 5 °C) sebesar $\pm44,5$ °C (Tabel 4.4.2.2). Fluktuasi suhu medium biakan kemungkinan disebabkan fluktuasi suhu yang terjadi pada lemari inkubasi. Oleh karena itu, kemungkinan fluktuasi suhu medium biakan memengaruhi rerata kerapatan sel dan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001.

4.4.2 Pengamatan Lemari Inkubasi

4.4.2.1 Suhu Lemari Inkubasi

Penelitian menunjukkan hasil bahwa terjadi fluktuasi suhu pada lemari inkubasi I dan II selama 16 hari pengamatan. Rerata suhu pada lemari inkubasi I adalah $\pm34,5$ °C dan pada lemari inkubasi II $\pm46,4$ °C (Tabel 4.4.2.2). Fluktuasi suhu terjadi kemungkinan disebabkan panas dari lampu pijar yang kurang stabil, banyak pembukaan lemari yang dilakukan selama pengamatan, serta kondisi lingkungan yang membuat lemari inkubasi menyerap atau melepas panas keluar lemari inkubasi. Lemari inkubasi dapat menyerap atau melepas panas, karena badan lemari inkubasi terbuat dari besi yang merupakan konduktor yang cukup baik untuk menghantarkan panas. Oleh karena itu, kemungkinan fluktuasi kondisi lemari inkubasi yang berubah-ubah menyebabkan fluktuasi rerata kerapatan sel dan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001.

4.4.2.2 Kelembaban Lemari Inkubasi

Penelitian menunjukkan hasil bahwa tidak terjadi fluktuasi kelembaban dalam lemari inkubasi. Selama 16 hari pengamatan, kelembaban lemari inkubasi konstan, yaitu 86% pada lemari inkubasi I (30 ± 5 °C) dan 87% pada lemari inkubasi II (50 ± 5 °C) (Tabel 4.4.2.2). Akan tetapi, pengaruh kelembaban terhadap rerata kerapatan sel dan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 tidak iteliti pada penelitian.

Tabel 4.4.2.2 Data pengamatan biakan dan lemari inkubasi

Umur Biakan (hari)	pH medium		Suhu Biakan (°C)		Suhu Lemari (°C)		Kelembaban (%)	
	30±5 °C	50±5 °C	30±5 °C	50±5 °C	30±5 °C	50±5 °C	30±5 °C	50±5 °C
t ₀	6	6	32	44	34	46	87	86
t ₁	6	6	33	45	35	47	87	86
t ₂	6	6	32	45	34	47	87	86
t ₃	6	6	32	45	34	47	87	86
t ₄	6	6	32	45	34	47	87	86
t ₅	6	6	34	44	36	46	87	86
t ₆	6	6	32	44	34	46	87	86
t ₇	6	6	33	45	35	47	87	86
t ₈	6	6	34	45	36	47	87	86
t ₉	6	6	32	45	34	47	87	86
t ₁₀	6	6	32	44	34	46	87	86
t ₁₁	6	6	32	44	34	46	87	86
t ₁₂	6	6	33	44	35	46	87	86
t ₁₃	6	6	33	44	35	46	87	86
t ₁₄	6	6	33	44	35	46	87	86
t ₁₅	6	6	31	44	33	46	87	86
t ₁₆	6	6	33	44	35	46	87	86
Rerata	6	6	32,5	44,4	34,5	46,4	87	86

BAB 5 **KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan

1. *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $50\pm5^{\circ}\text{C}$ tidak mengalami pertumbuhan optimum pada parameter rerata kerapatan sel dan kandungan klorofil.
2. Perbandingan rerata kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $30\pm5^{\circ}\text{C}$ lebih tinggi daripada *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $50\pm5^{\circ}\text{C}$.

5.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut dari variasi cahaya terhadap kerapatan sel dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001.
2. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai faktor mikro habitat *Synechococcus* sp. RDB001 di dalam lemari inkubasi.
3. Perlu penelitian mengenai protein HSPs dan jumlah pigmen *Synechococcus* yang mungkin mampu mengurangi paparan suhu tinggi.

DAFTAR REFERENSI

- Adil, E.I.M. 2001. *Penuntun praktikum fisiologi hewan*. Departemen Biologi FMIPA UI, Depok: xii + 45 hlm.
- Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, & J.D. Watson. 1994. *Biologi molekuler sel: mengenal sel*. Ed. ke-2. terj. dari *Molecular biology of the cell*. 2nd ed., oleh Kantjono, A.T. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta: xxiv + 346 hlm.
- Aminaka, R., Y. Taira, Y, Kashino, H. Koike, & K. Satoh. 2006. Acclimation to the growth temperature and thermosensitivity of photosystem II in a mesophilic cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC6803. *Plant Cell Physiology* **47**(12): 1612--1621.
- Anderson, D.A. 1973. *Introduction to microbiology*. C.V. Mosby Company, Saint Louis: x + 391 hlm.
- Art-Paints.com. 2012. Faber Castell Albrecht Durer Watercolor Paints. 3 hlm.
<http://www.art-paints.com/Paints/Watercolor/Faber-Castell/Faber-Castell-Albrecht-Durer.html>, 26 Mei 2012, pk. 20.56.
- Barsanti, L. & P. Gualtieri. 2006. *Algae: Anatomy, biochemistry, and biotechnology*. TCRC Press, London: 301 hlm.
- Bidigare, R.R., O. Schofield, & B.B. Prézelin. 1989. Influence of zeaxanthin on quantum yield of photosynthesis of *Synechococcus* clone WH7803 (DC2). *Marine Ecology Program Series* **56**: 177--188.
- Bidwell, R.G.S. 1979. *Plant physiology*. 2nd ed. Macmillan Publishing, New York: xx + 726 hlm.
- Bold, C.H. & M.J. Wynne. 1985. *Introduction to the algae structure and reproduction*. 2nd ed. Prentice-Hall, Inc, London: xvi + 720 hlm.
- Borbély, G., G. Suranyi, A. Korzc, & Z. Pàlfai. 1984. Effect of heat shock on protein synthesis in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 6301. *Journal of Bacteriology* **161**(3): 1125--1130.

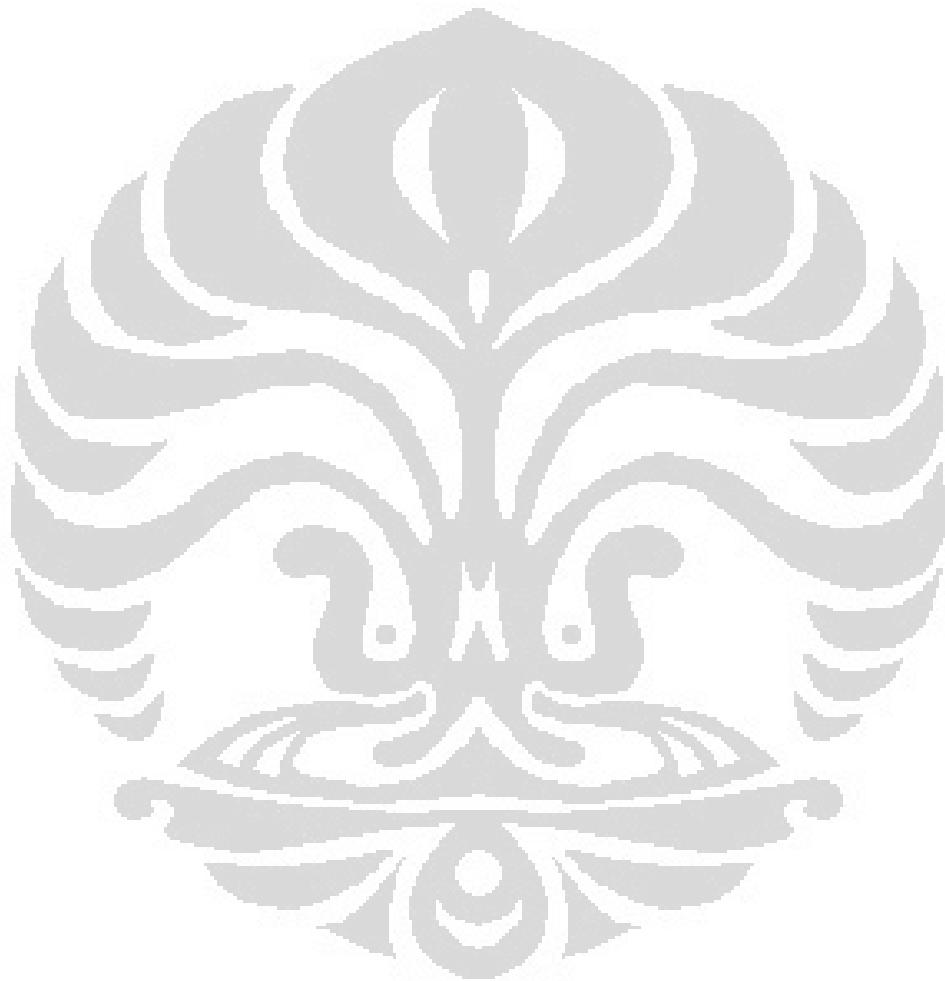
- Campbell, N.A., J.B. Reece, & L.G. Mitchell. 2002. *Biologi*. Ed. ke-5. jilid 1. terj. dari *Biology* 5th ed. Editor A. Safitri, L. Simarmata, & H.W. Hardani. Erlangga, Jakarta: xxii+438 hlm+I-5.
- Clegg, C.G. & D.G. Mackean. 2000. *Advanced biology: principles & applications*. John Murray Publishers Ltd., London: vi + 74 hlm.
- Darley, W.M. 1982. *Algal biology: a physiological approach*. Dalam Wilkinson, J.F. (ed.). 1982. *Basic microbiology vol 9*. Blackwell Scientific Publication, London: viii + 168 hlm.
- Dwidjoseputro, D. 1983. *Pengantar fisiologi tumbuhan*. PT. Gramedia, Jakarta: xv + 232 hlm.
- ePlantScience.com. 2009. Algal culturing. 1 hlm.
http://www.eplantscience.com/botanical_biotecnology_biology_chemistry/algae/algal_culturing/batch_cultures.php, 18 Mei 2012, pk. 22.45.
- Fu, F., M.E. Warner, Y. Zhang, Y. feng, & D.A. Hutchins. 2007. Effects of increased temperature and CO₂ on photosynthesis growth, and elemental rations in marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus* (Cyanobacteria). *Journal of Phycology* **43**: 485--496.
- Fogg, G.E. & B. Thake. 1987. *Algal cultures and phytoplankton ecology*. 3rd ed. The University of Wisconsin Press, Wischonsin: xv + 269 hlm.
- Fogg, G.E. 1965: *Algal cultures and phytoplankton ecology*. The University of Wisconsin Press, Wisconcin: xiii + 126 hlm.
- Gandjar, I., I.R. Koentjoro, W. Mangunwardoyo, & L. Soebagya. 2006. *Pedoman Praktikum mikrobiologi dasar*. Jurusan Biologi FMIPA-UI, Depok: vii + 87 hlm.
- Gaughran, E.R.L. 1947. The thermophilic microorganisms. *Journal of Bacteriology* **11**(3): 189--255.
- Google earth. 2012. Cagar Alam rawa Danau, Serang. 1 hlm.
<https://maps.google.co.id/maps?hl=id.>, 18 Maret 2012, pk. 12.45.
- Graham, L.E. & L.W. Wilcox. 2000. *Algae*. Prentice-Hall, Inc, London: xvi + 640 hlm + S 12

- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2012. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. 3 hlm. <http://www.algaebase.org>, 07 Mei 2012, pk. 23.17.
- Happey-Wood, C.M. 1991. Ecology of freshwater planktonic green algae. *Dalam Sandgreen, C.D. (ed.). 1991. 1st ed. Paperback ed. Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton.* Cambridge University Press, Cambridge: 175--226.
- Haverkamp, T.H.A., D. Schouten, M. Doeleman, U. Wollenzien, J. Huisman, & L.J. Stal. 2009. Colorful microdiversity of *Synechococcus* strains (picocyanobacteria) isolated from the Baltic Sea. *The ISME Journal*. **3**: 397--408.
- Herdianita, N. R. & T. Julinawati. 2007. Hidrogeokimia air panas bumi daerah Cidanau dan sekitarnya, Anyer, Provinsi Banten berdasarkan manifestasi permukaannya. *Jurnal Geoaplika* **2**(3): 105--119.
- Hunter College of The City University of New York. 2004. Growth rates. 4 hlm. http://diverge.hunter.cuny.edu/~weigang/Images/06-01_growthrates_1.jpg, 20 April 2012, pk. 08.44.
- Inoue, N., T. Emi, Y. Yamane, Y. Kashino, H. Koike, & K. Satoh. 2000. Effects of high-temperature treatments on a thermophilic Cyanobacterium *Synechococcus vulgaris*. *Plant Cell Physiology* **41**(4): 515--522.
- Jutono, J., S. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun, Suhadi, & Susanto. 1980. *Pedoman praktikum mikrobiologi umum*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta: xii + 232 hlm.
- Kullberg, R.G. 1981. Effects of light and temperature on cell length of *Synechococcus lividus* (cyanophyta). *Transactions of the American microscopical society* **100**(2): 151--158.
- Madigan, M.T. & J.M. Martinko. 2006. Brock: *Biology of microorganisms*. 11th ed. Prentice Hall, New York: xxv + 992 hlm.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko & J. Parker. 1997. *Brock biology of microorganisms*. 8th ed. Prentice Hall International Inc., New Jersey : xviii + 986 hlm.

- Meeks, J. C. 1974. *Chlorophylls*. Dalam: Stewart, W. D. P. (ed). 1974. *Algal physiology and biochemistry*. University of California Press, California: 161--175.
- Merizawati. 2008. Analisis sinar merah, hijau, dan biru (RGB) untuk mengukur kelimpahan fitoplankton (*Chlorella* sp.). Skripsi Sarjana Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Bogor: 110 hlm.
- Miller, R.S. & R.W. Castenholz. 2000. Evolution of thermotolerance in hot spring cyanobacteria of the genus *Synechococcus*. *Applied and Environmental Microbiology* **66**(10): 4222--4229.
- Miller, R.S., C.E. Wingard, & R.W. Castenholz. 1998. Effects of visible light and UV radiation on photosynthesis in a population of a hot spring cyanobacterium, a *Synechococcus* sp., subjected to high-temperature stress. *Applied and Environmental Microbiology* **64**(10): 3893--3899.
- NIES (=National Institute for Environmental Studies). 2000. Microbial Culture Collection., *Dalam*. NIES-Collection. List of strains 6th ed. M.M Watanabe, M. Kawachi, M. Hiroki, F. Kasai (Eds.) Environment Agency, Japan: v + 159 hlm.
- Reynolds, C.S. 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Britain: x + 384 hlm.
- Saptadji, N.N. 2006. Energi panas bumi (Geothermal energy). 15 hlm.
http://geothermal.itb.ac.id/wp-content/uploads/Sekilas_tentang_Panas_Bumi.pdf, 12 Mei 2012, pk. 07.20.
- Sarles, W.B., W.C. Frazier, J.B. Wilson, & S.G. Knight. 1956. *Microbiology: general and applied*. 2nd ed. Harper & Brothers, New York: ix + 491 hlm.
- Soeder, C.J. & E. Stengel. 1974. Physico-chemical factors affecting metabolism and growth rate. *Dalam*: Stewart (ed.). 1974. *Algal physiology and biochemistry*. University of California Press, Los Angeles: 714--740.
- Sompong, U., S. Anuntalabhochai, R.W. Cuttler, R.W. Castenholz. & Y. Peerapornpisal. 2008. Morphological and phylogenetic diversity of cyanobacterial populations in six hot spring of Thailand. *Science Asia* **34**: 153--162.

- Stewart, W. D. P. 1974. *Algal physiology and biochemistry*. Blackwell Scientific Publication Ltd., California: ix + 956 hlm.
- Suantika, G. 2009. Pengaruh kepadatan awal inokulum terhadap kualitas kultur *Chaetoceros gracilis* (Schütt) pada sistem batch. *JURNAL MATEMATIKA DAN SAINS* **14**(1): 1--8.
- Sze, P. 1998. *A biology of the algae*. 3rd ed. WCB. McGraw-Hill, Boston: viii + 278 hlm.
- The Regents of the University of California. 2012. *Prochlorococcus* sp. 1 hlm. <http://genome.jgi-psf.org/synw8/synw8.home.html>, 27 Januari 2011, pk. 09.00.
- The Royal Botanic Garden & Domain Trust. 2000. Australian freshwater algae: *Synechococcus* sp. 1 hlm. http://www.rbgsyd.nsw.gov.au/_data/assets/image/0004/48451/synechococcus2.gif, 2 Oktober 2011, pk. 16.18.
- Timotius, K. H. 1982. *Mikrobiologi dasar*. Universitas Satya Wacana, Salatiga: ix + 205 hlm.
- Vasey, R.B & K.A. Powell. 1982. Single cell protein biotechnology and genetic engineering review. *Journal of Microbiology* **2**: 285--311.
- Vijaya, V. & N. Anand. 2009. Blue green light enhance the pigment synthesis in cyanobacterium *Anabaena ambigua* Rao (Nostocales). *Journal of Agricultural and Biological Science* **4**(3): 36--43.
- Waditee, R., T. Hibino, T. Nakamura, A. Incharoensakdi. & T. Takabe. 2002. Overexpression of a Na⁺/H⁺ antiporter confers salt tolerance on a freshwater cyanobacterium, making it capable of growth in sea water . *PNAS* **99**(6): 4109--4114.
- Watanabe M. F. & S. Oishi. 1985. Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) under culture conditions. *Applied and Environmental Microbiology* **49**(5): 1342--1344.
- Wehr, J.D. & R.G. Sheath. 2003. *Freshwater algae of north America: ecology and classification*. Elsevier Academic Press, USA: xvi + 918 hlm.
- Whitton, B.A. 2002. Phylum Cyanophyta (Cyanobacteria). *Dalam*. Jhon, D.M., B.A.Whitton, & A.J. Brook. (eds.). 2002. *The freshwater alga flora of The*

- British Isles: an identification guide to freshwater and terrestrial algae.*
Cambridge University Press, New York: 105--109.
- Wolfe, S.L. 1995. *Introduction to cell and molecular biology*. Woodworth Publishing Co., Belmont: xvii + 820 hlm.
- Zar, J.H. 1974. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall Inc., London: xix + 620 hlm.
- Zhaoqi, Zeng. 1994. High temperature adaptation of fresh water cyanobacterium. *Journal of Lake Science* **6**(4): 356--363.



Lampiran 1

Contoh penghitungan kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 (sel.mL⁻¹) yang ditumbuhkan pada suhu 30±5 °C dan 50±5 °C

Suhu	Ulangan	Jumlah sel (n)	Pengenceran (p)	Kerapatan Sel (10 ⁶)	Rerata (sel.mL ⁻¹)	Standar Deviasi
30 °C	1	52	1	0,1300		
	2	51	1	0,1275	0,1308	
	3	54	1	0,1350		0,00312

Ulangan 1 (U₁)

Kerapatan sel (sel.mL⁻¹)

$$= n \times p \times 2500$$

$$= 52 \times 1 \times 2500$$

$$= 0,1300 \times 10^6$$

Ulangan 2 (U₂)

Kerapatan sel (sel.mL⁻¹)

$$= n \times p \times 2500$$

$$= 51 \times 1 \times 2500$$

$$= 0,1275 \times 10^6$$

Ulangan 3 (U₃)

Kerapatan sel (sel.mL⁻¹)

$$= n \times p \times 2500$$

$$= 54 \times 1 \times 2500$$

$$= 0,1350 \times 10^6$$

$$\text{Rerata kerapatan sel (sel.mL}^{-1}\text{)} = \frac{U_1+U_2+U_3}{3}$$

$$= \frac{0,1300 \times 10^6 + 0,1275 \times 10^6 + 0,1350 \times 10^6}{3}$$

$$= 0,1308 \times 10^6$$

Standard deviasi (σ)

$$= \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

Lampiran 2

Uji Mann Whitney terhadap data rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 (sel.mL^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan 50 ± 5 °C

1. Tujuan

Untuk membandingkan rerata peringkat kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 (sel.mL^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dengan rerata peringkat kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 (sel.mL^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C selama 16 hari pengamatan

2. Hipotesis

H_0 : Tidak ada perbedaan rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dengan kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C

H_a : Ada perbedaan rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dengan kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C

3. Statistika pengujian

Sampel < 20

n_1 atau n_2 yang tertinggi < 20

$$U_1 = n_1 \cdot n_2 - U_2$$

$$U_2 = n_1 \cdot n_2 - U_1$$

$$U_1 = n_1 \cdot n_2 - \frac{n_2(n_2 + 1)}{2} - \sum R_2 \quad U_2 = n_1 \cdot n_2 - \frac{n_1(n_1 + 1)}{2} - \sum R_1$$

Keterangan :

- U_1 = Penguji U_1
- U_2 = Penguji U_2
- R_1 = Jumlah rak sampel 1
- R_2 = Jumlah rak sampel 2
- n_1 = Banyak anggota sampel 1
- n_2 = Banyak anggota sampel 2

4. Taraf nyata

$$U \text{ tabel}_{(17; 17)}; \alpha=0,05 \rightarrow 87$$

5. Kriteria pengujian

Jika $U \text{ hitung} < U \text{ tabel}$, H_0 ditolak

Jika $U \text{ hitung} \geq U \text{ tabel}$, H_0 diterima

6. Hasil penghitungan

No.	$30 \pm 5^\circ\text{C}$		Rank (1)	$50 \pm 5^\circ\text{C}$		Rank (2)
1	0,15000	± 0	18.5	0,15000	± 0	18.5
2	0,13515	$\pm 0,00455$	17	0,13219	$\pm 0,0087$	12
3	0,28313	$\pm 0,06724$	20	0,15638	$\pm 0,02708$	15
4	0,41563	$\pm 0,09041$	21	0,17944	$\pm 0,04939$	16
5	0,73750	$\pm 0,40944$	22	0,20156	$\pm 0,07512$	13
6	1,12750	$\pm 0,57018$	23	0,21281	$\pm 0,0862$	14
7	3,09250	$\pm 1,10438$	24	0,22141	$\pm 0,10128$	10
8	5,94000	$\pm 1,54237$	25	0,17813	$\pm 0,06948$	9
9	9,15500	$\pm 1,81288$	26	0,16750	$\pm 0,04479$	11
10	13,2444	$\pm 3,22954$	27	0,23975	$\pm 0,18798$	8
11	17,1656	$\pm 4,07548$	28	0,38625	$\pm 0,60671$	7
12	20,9213	$\pm 3,95395$	31	0,43063	$\pm 0,80124$	6
13	24,2075	$\pm 5,33926$	33	0,61500	$\pm 1,27019$	5
14	21,3638	$\pm 4,78726$	30	0,84813	$\pm 1,90141$	4
15	19,0838	$\pm 4,90953$	29	1,21313	$\pm 2,92573$	2

Universitas Indonesia

Lanjutan

No.	$30 \pm 5^\circ\text{C}$	Rank (1)	$50 \pm 5^\circ\text{C}$	Rank (2)
16	28,11440 ± 9,09857	34	0,97813 ± 2,17354	3
17	24,60560 ± 7,46444	32	1,31875 ± 3,14631	1
		440,5		154,4

$$U_1 = 17.17 - \frac{17(17 + 1)}{2} - 154,5 \quad U_2 = 17.17 - \frac{17(17 + 1)}{2} - 440,5$$

$$U_1 = 278,5$$

$$U_2 = 1,5 \text{ (Sebagai pengujji)}$$

$$U \text{ tabel}_{(17; 17)} = 87$$

$$|1,5| < 87$$

karena U hitung < U tabel, maka H_o ditolak dan H_a diterima

7. Kesimpulan

Ada perbedaan rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $30 \pm 5^\circ\text{C}$ dengan kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu $50 \pm 5^\circ\text{C}$, pada $\alpha = 0,05$

[Sumber : Zar 1974: 110.]

Lampiran 3

Contoh penghitungan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 dengan Rumus Arnon

Suhu	Ulangan	Absorbansi		t_0 4/23/12	Rerata (mg.L ⁻¹)
		$\lambda 645$	$\lambda 663$		
30 °C	1	0,002	0,012	0,14702	
	2	0,002	0,008	0,09622	0,112256667
	3	0,003	0,008	0,09353	

Ulangan 1 (U_1)
Klorofil a (mg.L⁻¹) = $12,7_{(D663 \text{ nm})} - 2,69_{(D645 \text{ nm})}$
 = $12,7(0,012) - 2,69(0,002)$
 = 0,14702

Ulangan 2 (U_2)
Klorofil a (mg.L⁻¹) = $12,7_{(D663 \text{ nm})} - 2,69_{(D645 \text{ nm})}$
 = $12,7(0,008) - 2,69(0,002)$
 = 0,09622

Ulangan 3 (U_3)
Klorofil a (mg.L⁻¹) = $12,7_{(D663 \text{ nm})} - 2,69_{(D645 \text{ nm})}$
 = $12,7(0,008) - 2,69(0,003)$
 = 0,09353

Rerata kandungan klorofil (mg.L⁻¹) =
$$\frac{U_1 + U_2 + U_3}{3}$$

 =
$$\frac{0,14702 + 0,09622 + 0,09353}{3}$$

 = 0,112256667

[Sumber: Meeks 1974: 161.]

Lampiran 4

Uji Spearman terhadap data rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 ($\times 10^6$ sel. mL^{-1}) dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 (mg.L^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C selama 8 hari pengamatan

1. Tujuan

Untuk menguji hipotesis korelasi data rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 ($\times 10^6$ sel. mL^{-1}) dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 (mg.L^{-1}) yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C selama 8 hari pengamatan

2. Hipotesis

H_0 : Tidak ada korelasi antara rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dengan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C.

H_a : Ada korelasi antara rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dengan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C.

3. Statistika pengujian

$$\rho = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n^3 - n}$$

Keterangan :

ρ = koefisien Uji Spearman

d_i^2 = kuadrat dari peringkat $x_i - y_i$

n = jumlah sampel

4. Taraf nyata

ρ tabel pada n=8; $\alpha=0,01 \rightarrow 0,881$

5. Kriteria pengujian

Jika ρ hitung < ρ tabel, H_0 diterima H_a ditolak

Jika ρ hitung $\geq \rho$ tabel, H_0 ditolak H_a diterima

Kekuatan korelasi ρ hitung :

- 0,000 -- 0,199 = sangat lemah
- 0,200 -- 0,399 = lemah
- 0,400 -- 0,599 = sedang
- 0,600 -- 0,700 = kuat
- 0,800 -- 1,000 = sangat kuat

6. Hasil penghitungan

Sampel	Rerata Kerapatan Sel ($\times 10^6$ sel. mL^{-1})	Rank (x)	Rerata Kandungan Klorofil (mg.L^{-1})	Rank (y)	d_i	d_i^2
1	0,15000 ± 0	2	0,09449 $\pm 0,0187$	4	-2	4
2	0,13515 $\pm 0,00455$	1	0,22141 $\pm 0,01377$	6	-5	25
3	0,28313 $\pm 0,06724$	3	0,02199 $\pm 0,01408$	2	1	1
4	0,41563 $\pm 0,09041$	4	0,01230 $\pm 0,00996$	1	3	9
5	5,94000 $\pm 1,54237$	5	0,03522 $\pm 0,01268$	3	2	4
6	13,2444 $\pm 3,22954$	6	0,17086 $\pm 0,07356$	5	1	1
7	19,0838 $\pm 4,90953$	7	0,46350 $\pm 0,11532$	8	-1	1
8	24,6056 $\pm 7,46444$	8	0,46800 $\pm 0,15131$	7	1	1

46

$$\begin{aligned}
 \rho \text{ hitung} &= 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n^3 - n} \\
 &= 1 - \frac{6 \times 46}{8^3 - 8} \\
 &= 1 - \frac{(276)}{(184)}
 \end{aligned}$$

Universitas Indonesia

= -0,5 (tanda negatif menunjukkan $x_i > y_i$)

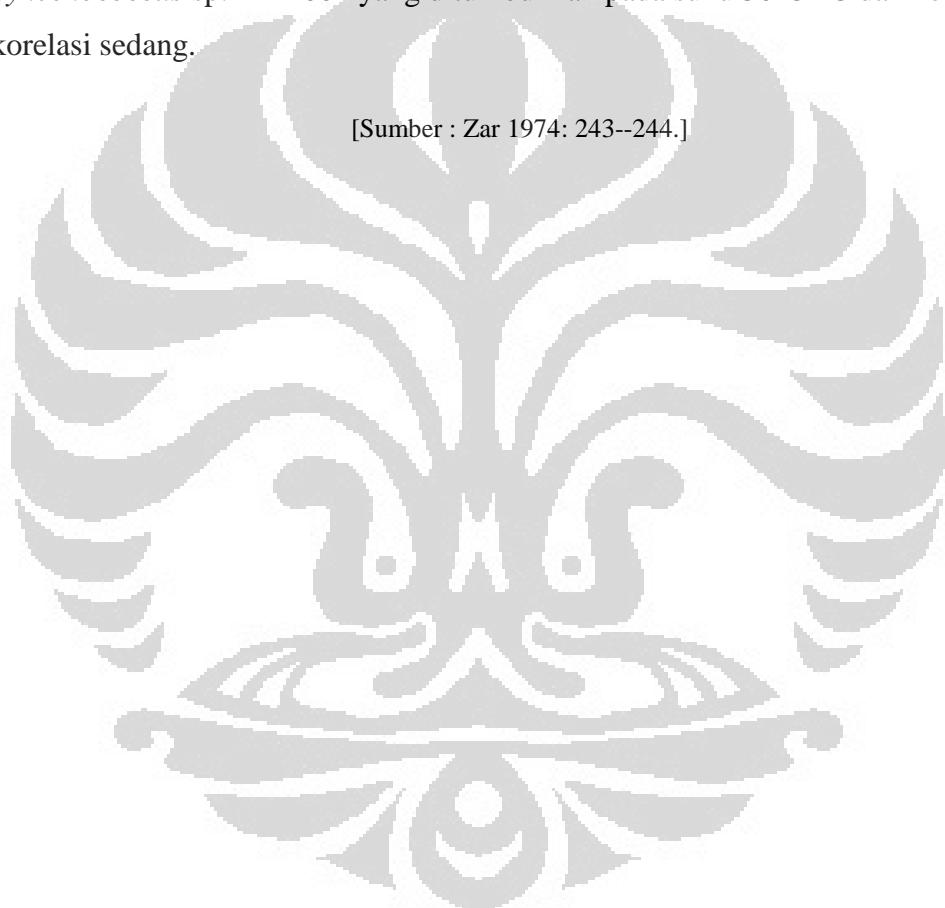
$\rho_{\text{tabel}}_{(0,01; 8)} = 0,881$

karena $\rho_{\text{hitung}} < \rho_{\text{tabel}}$, maka H_0 diterima

7. Kesimpulan

Tidak ada korelasi antara rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dengan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 30 ± 5 °C dan kekuatan korelasi sedang.

[Sumber : Zar 1974: 243--244.]



Lampiran 5

Uji Spearman terhadap data rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 (sel.mL⁻¹) dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 (mg.L⁻¹) yang ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C selama 8 hari pengamatan

1. Tujuan

Untuk menguji hipotesis korelasi data rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 (sel.mL⁻¹) dan kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 (mg.L⁻¹) yang ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C selama 8 hari pengamatan

2. Hipotesis

H_0 : Tidak ada korelasi antara rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C dengan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C.

H_a : Ada korelasi antara rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C dengan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50±5 °C.

3. Statistika pengujian

$$\rho = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n^3 - n}$$

Keterangan :

ρ = koefisien Uji Spearman

d_i^2 = kuadrat dari peringkat $x_i - y_i$

n = jumlah sampel

4. Taraf nyata

ρ tabel pada n=8; $\alpha=0,01 \rightarrow 0,881$

5. Kriteria pengujian

Jika ρ hitung < ρ tabel, H_0 diterima H_a ditolak

Jika ρ hitung $\geq \rho$ tabel, H_0 ditolak H_a diterima

Kekuatan korelasi ρ hitung :

- 0,000 -- 0,199 = sangat lemah
- 0,200 -- 0,399 = lemah
- 0,400 -- 0,599 = sedang
- 0,600 -- 0,700 = kuat
- 0,800 -- 1,000 = sangat kuat

6. Hasil penghitungan

Sampel	Rerata Kerapatan Sel ($\times 10^6$ sel. mL^{-1})	Rank (x)	Rerata Kandungan Klorofil (mg.L^{-1})	Rank (y)	d_i	d_i^2
1	0,15000 ± 0	8	0,08588 $\pm 0,01359$	7	1	1
2	0,13219 $\pm 0,00870$	5	0,24171 $\pm 0,01218$	8	-3	9
3	0,15638 $\pm 0,02708$	6	0,01742 $\pm 0,01740$	3	3	9
4	0,17944 $\pm 0,04939$	7	0,01294 $\pm 0,01668$	2	5	25
5	0,17813 $\pm 0,06948$	4	0,06871 $\pm 0,02988$	5	-1	1
6	0,23975 $\pm 0,18798$	3	0,01478 $\pm 0,01338$	4	-1	1
7	1,21313 $\pm 2,92573$	2	0,08556 $\pm 0,03444$	6	-4	16
8	1,31875 $\pm 3,14631$	1	0,07256 $\pm 0,09115$	1	0	0

62

$$\begin{aligned}
 \rho \text{ hitung} &= 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n^3 - n} \\
 &= 1 - \frac{6 \times 62}{8^3 - 8} \\
 &= 1 - \frac{(372)}{(184)}
 \end{aligned}$$

Universitas Indonesia

= -1,021 (tanda negatif menunjukkan $x_i > y_i$)
 $\rho_{\text{tabel}}_{(0,01; 8)} = 0,881$
karena $\rho_{\text{hitung}} < \rho_{\text{tabel}}$, maka H_0 diterima

7. Kesimpulan

Tidak ada korelasi antara rerata kerapatan sel *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C dengan rerata kandungan klorofil *Synechococcus* sp. RDB001 yang ditumbuhkan pada suhu 50 ± 5 °C dan kekuatan korelasi sangat kuat.

[Sumber : Zar 1974: 243--244.]

Lampiran 7

Panduan warna Faber Castell-Polychrome Albrech Durer 120 warna

WARNA	KODE	WARNA	KODE	WARNA	KODE	WARNA	KODE	KODE
Dark Red	225	Madder	142	Alizarin Crimson	226	Permanent Carmine	126	
Deep Red	223	Pale Geranium Lake	121	Scarlet Red	118	Middle Cadmium Red	217	
Indian Red	192	Deep Scarlet Red	219	Pompeian Red	191	Sanguine	188	
Terracotta	186	Venetian Red	190	Light Cadmium Red	117	Raw Umber	180	
Walnut Brown	177	Dark Cadmium Orange	115	Brown Ochre	182	Cadmium Orange	111	
Burnt Ochre	187	Orange Glaze	113	Light Yellow Ochre	183	Green Gold	268	
Earth Green Yellowish	168	May Green	170	Dark Chrome Yellow	109	Dark Cadmium Yellow	108	
Light Yellow Glaze	104	Light Cadmium Yellow	105	Dark Naples Ochre	184	Cadmium Yellow	107	
Naples Yellow	185	Cadmium Yellow Lemon	205	Light Chrome Yellow	106	Cream	102	
Ivory	103	Light Green	171	Olive Green Yellowish	173	Chrome Green Opaque	174	
Chrome Oxide Green	278	Pine Green	267	Permanent Green Olive	167	Leaf Green	112	
Grass Green	166	Permanent Green	266	Light Phthalo Green	162	Juniper Green	165	
Deep Cobalt Green	158	Hooker's Green	159	Dark Phthalo Green	264	Emerald Green	163	
Earth Green	172	Phthalo Blue	110	Helio Turquoise	155	Cobalt Green	156	

Universitas Indonesia

(Lanjutan) Panduan warna Faber Castell-Polyochrome Albrech Durer 120 warna

Chrome Oxide Green Fiery	276	Delft Blue	141	Indanthrene Blue	247	Ultramarine	120
Dark Indigo	157	Prussian Blue	246	Bluish Turquoise	149	Cobalt Blue Greenish	144
Helio Turquoise	155	Phthalo Blue	110	Cobalt Blue	143	Cobalt Turquoise	153
Middle Phthalo Blue	152	Light Phthalo Green	162	Light Ultramarine	140	Light Cobalt Turquoise	154
Sky Blue	146	Red-Violet	194	Purple Violet	136	Mauve	249
Blue Violet	137	Violet	138	Manganese Violet	160	Light Red-Violet	135
Magenta	133	Burnt Carmine	193	Middle Purple Pink	125	Fuchsia	123
Pink Carmine	127	Rose Carmine	124	Light Purple Pink	128	Light Magenta	119
Crimson	134	Dark Flesh	130	Medium Flesh	131	Cinnamon	189
Light Flesh	132	Pink Madder Lake	129	Caput Mortuum	169	Van Dyck Brown	176
Caput Mortuum Violet	263	Burnt Sienna	283	Nougat	178	Bistre	179
Copper	252	Gold	250	Black	199	Payne's Gray	181
Dark Sepia	175	Burnt Umber	280	Warm Gray V	274	Warm Gray VI	275
Cold Gray VI	235	Warm Gray IV	273	Cold Gray V	234	Cold Gray VI	235
Cold Gray III	232	Cold Gray II	231	Silver	251	Warm Gray III	272
Warm Gray II	271	Cold Gray I	230	Warm Gray I	270	White	101

Universitas Indonesia