

Pertumbuhan *Chlorella* Spp. pada Medium Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* Linn.)

Nining B. Prihantini, Alimah, Erlin Nurtiyani

Departemen Biologi FMIPA Universitas Indonesia
nprihantini@hotmail.com

Abstrak

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh medium ekstrak kulit daun lidah buaya (EKDLB) terhadap pertumbuhan mikroalga marga *Chlorella* Beijerinck. Penelitian bersifat eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap terhadap 6 perlakuan yaitu medium Beneck (kontrol positif), akuades (kontrol negatif), EKDLB 25%, EKDLB 50%, EKDLB 75%, dan EKDLB 100%. Pengamatan dilakukan selama 30 hari. Hasil uji Friedman menunjukkan adanya pengaruh medium EKDLB terhadap kerapatan *Chlorella* (sel/ml) (pada $p > 0,05$). Hasil uji Dunnett menunjukkan rerata kerapatan *Chlorella* (sel/ml) berbeda nyata ($p > 0,05$) dan sangat nyata ($p > 0,01$) pada tiap perlakuan. Pertumbuhan *Chlorella* yang optimum pada medium EKDLB terdapat pada kultur dalam konsentrasi 25%. Kerapatan sel tertinggi (sebesar 16.618.750 sel/ml) pada saat *peak* dicapai oleh kultur dalam medium Beneck dan kerapatan sel terendah (sebesar 4.537.500 sel/ml) pada medium EKDLB 100%.

Abstract

Growth of *Chlorella* Spp. on Lidah Buaya (*Aloe vera* Linn.) Leaves Extract Medium: Research on the effect of Lidah Buaya Leaves Extract Medium (LBLEM) to cell density of *Chlorella* spp had been done. Research was experimental research with complete random design to 6 treatments i.e Beneck Medium (positive control), aquadest (negative control), 25% LBLEM, 50% LBLEM, 75% LBLEM, and 100% LBLEM. Observation was done in 30 days. Friedman test showed the effect of LBLEM to cell density (cell/ml) (on $p > 0,05$). Dunnett test showed that mean of *Chlorella* (cell/ml) cell density significant different on $p > 0,05$ and $p > 0,01$ on every treatment. Optimum growth of *Chlorella* is on 25% LBLEM. Highest cell density (16,618,750 cell/ml) on peak took place on Beneck, and the lowest one (4,537,500 cell/ml) take place on 100% LBLEM.

Keywords: *Aloe vera*; *Chlorella*; microalgae; growth; physiology

I. PENDAHULUAN

Industri minuman lidah buaya KAVERA sebagai salah satu upaya otonomi perguruan tinggi negeri, mulai berkembang. Seiring dengan meningkatnya industri tersebut menyebabkan adanya limbah padat (berupa kulit daun lidah buaya) dan limbah cair yang melimpah. Dalam proses pembuatan minuman lidah buaya KAVERA di Departemen Biologi FMIPA-UI dihasilkan limbah kulit daun lidah buaya sebanyak 200—300 kg dan limbah cair sebanyak 500—1000 l per hari. Limbah tersebut dapat mengganggu lingkungan sekitar, oleh karena itu perlu dilakukan pemanfaatan limbah secara optimal.

Kulit daun lidah buaya terdiri atas 2 bagian yaitu bagian yang berwarna hijau (*rind*) dan bagian luar mesofil. *Rind* terdiri atas 15—18 lapisan sel yang di dalamnya terdapat kloroplas [1]. Bagian tersebut

memproduksi karbohidrat, lemak, protein, dan vitamin serta mengandung kristal kalsium oksalat dan kristal magnesium laktat. Sebagian karbohidrat disintesis menjadi energi dan sisanya disimpan dalam daging daun lidah buaya (bagian mesofil) [1, 2].

Lidah buaya mengandung berbagai macam nutrisi seperti glukosa, asam amino, polisakarida, Ca, Mg, Fe, Na, Zn, Mn, S, Cu, dan K [3]. Kandungan nutrisi tersebut sesuai dengan nutrisi yang biasa dibutuhkan oleh mikroalga untuk tumbuh dan berkembang.

Salah satu mikroalga Chlorophyceae bersel tunggal yang umum dikultur untuk produk protein sel tunggal (PST) adalah *Chlorella* [4]. Mikroalga tersebut mengandung lebih kurang 60% protein dan sekitar 20% karbohidrat serta asam lemak [5]. Protein *Chlorella* mengandung semua asam amino yang dibutuhkan oleh manusia dan hewan. Karena kandungan gizi yang tinggi tersebut, *Chlorella* telah dimanfaatkan sebagai

suplemen makanan, pakan alami dan pakan ternak. *Chlorella* juga digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit karena mengandung *Chlorella Growth Factor* (CGF). *Chlorella* telah banyak digunakan sebagai objek penelitian fisiologi dan biokimia karena dapat tumbuh dengan cepat pada waktu yang singkat [5].

Pertumbuhan *Chlorella* dipengaruhi oleh berbagai faktor salah satunya nutrisi. Jumlah nutrisi yang mencukupi akan mendukung pertumbuhan sel *Chlorella*. Kulit daun lidah buaya masih mengandung nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroalga, maka perlu dilakukan penelitian pendahuluan mengenai pengaruh ekstrak kulit daun lidah buaya sebagai medium pertumbuhan *Chlorella*.

Penelitian dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh medium ekstrak kulit daun lidah buaya (*Aloe vera* Linn.) terhadap pertumbuhan *Chlorella*.

2. METODOLOGI

Penelitian dilakukan di Ruang Kultur Alga Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA Universitas Indonesia, Depok. Kultur *Chlorella* berasal dari koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UI yang diisolasi dari tanah di Depok. Medium yang digunakan adalah medium Beneck [6], ekstrak kulit daun lidah buaya (EKDLB) dan akuades steril. Sedangkan peralatan yang digunakan adalah peralatan yang umum digunakan dalam kultur mikroalga, saringan, penangas air, kamar hitung *improved Neubauer*, *hand counter*, timbangan analitik, kertas pH indikator universal (1-14) [Merck], *Centrifuge* [Hettich EBA], termometer ruang [Hisamatsu], higrometer [Hisamatsu], dan *lightmeter* tipe 214 USA, mikrometer [Erma].

Medium EKDLB 100 % dibuat dengan cara memotong kulit daun lidah buaya yang telah dicuci. Sebanyak 2000 g kulit daun lidah buaya ditambahkan ke dalam 2000 ml akuades kemudian direbus hingga mendidih dengan penangas air bertutup selama 1 jam. Rebusan kulit lidah buaya tersebut disaring dan diambil air perasannya, sehingga diperoleh 2000 ml EKDLB 100%. Selanjutnya ekstrak kulit daun lidah buaya ditindalisasi sebanyak 3 kali dengan autoklaf pada suhu 100° C selama 1 jam. Selanjutnya media perlakuan dibuat dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100 %. Sebagai contoh medium EKDLB 25% dibuat dengan menambahkan 200 ml EKDLB 100% dengan akuades steril sehingga volumenya 800 ml. Sedangkan untuk EKDLB 0% digunakan akuades steril sebanyak 800 ml tanpa EKDLB 100%. Setiap perlakuan dimasukkan ke dalam 4 labu Erlenmeyer sebanyak 100 ml tiap labu.

Isolasi dilakukan untuk mendapatkan kultur *Chlorella* murni. Teknik isolasi yang digunakan adalah metode pengenceran bertingkat modifikasi [7]. Kultur

Chlorella yang tumbuh baik (sel berbentuk bulat dan berwarna hijau) dan murni (tanpa kontaminan) dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 14 hari. Setelah tumbuh dengan baik biakan tersebut diperbanyak lagi secara bertahap sampai didapatkan 100 ml kultur murni *Chlorella*.

Sebanyak 100 ml kultur *Chlorella* berumur 30 hari dinokulasikan ke dalam 200 ml medium Beneck yang baru. Kultur diletakkan ke dalam rak kultur sinkronisasi dengan pemberian cahaya 9 jam terang dan 15 jam gelap selama 4 hari dengan maksud mendapatkan pertumbuhan *Chlorella* yang seragam. Kerapatan sel dihitung dengan kamar hitung *Improved Neubauer*.

Penginokulasian dilakukan dengan cara 10 ml kultur *Chlorella* disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 2200 rpm dan supernatan dibuang. Kemudian filtrat yang diperoleh disentrifugasi kembali selama 5 menit dan supernatan dibuang. Endapan yang didapat dihitung kerapatan selnya. *Chlorella* dengan kerapatan sel 2×10^6 sel/ml diinokulasikan ke dalam medium perlakuan. Kultur diletakkan pada rak kultur dan disusun secara acak serta diberi pencahayaan 2 buah lampu TL masing-masing berkekuatan 20 watt. Lampu diletakkan dari arah atas dengan jarak kurang lebih 30 cm dari labu Erlenmeyer dengan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap.

Enumerasi sel dilakukan dengan kamar hitung *Improved Neubauer*. Untuk menghitung jumlah sel digunakan 4 kotak besar yang terletak di sudut luar dengan tanda *w* yang masing-masing mempunyai luas 1 mm^2 . Volume 4 kotak adalah $4 \times 1 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm} = 0,4 \text{ mm}^3$. Jadi jumlah sel yang dalam 1 ml adalah $n \times p \times 1/0,004 = n \times p \times 2500$ sel dengan *n* adalah jumlah sel *Chlorella* pada keempat kotak dan *p* adalah pengenceran [8]. Enumerasi sel dilakukan setiap 24 jam mulai dari t_0 sampai t_{30} .

Data kerapatan sel yang diperoleh digunakan untuk menghitung laju pertumbuhan berdasarkan rumus Hirata, yaitu $K = (\log(N/N_0)/t-t_0) \times 3,22$, dengan *N* adalah jumlah sel pada waktu *t*, *N*₀ adalah jumlah sel pada waktu *t*₀ dan 3,22 merupakan konstanta [9]. Data lain yang diamati adalah pengukuran diameter sel *Chlorella*, pH medium selama masa inkubasi, dan kondisi ruang kultur yang meliputi suhu ruang (°C), kelembapan (%), dan intensitas cahaya (*foot candle*) dilakukan setiap hari selama penelitian.

Data yang diperoleh berupa kerapatan sel selama 30 hari terlebih dahulu diuji dengan uji normalitas *Khi-Kuadrat* [10]. Sebelum dilakukan uji normalitas, data terlebih dahulu ditransformasi ke dalam log *x*, yang bertujuan untuk memperkecil kisaran data. Data yang diuji tidak berdistribusi normal, sehingga langsung dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik *Friedman* terhadap rerata kerapatan sel untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh medium ekstrak kulit daun lidah buaya terhadap kerapatan *Chlorella*

[11]. Adanya pengaruh medium ekstrak kulit daun lidah buaya terhadap kerapatan *Chlorella* (sel/ml) menandakan adanya perbedaan, kemudian data dianalisis lebih lanjut dengan uji Dunnett untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rerata kerapatan sel antar perlakuan [12].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Kerapatan sel dalam kultur *Chlorella*

Hasil penelitian pertumbuhan *Chlorella* pada medium ekstrak kulit daun lidah buaya (EKDLB) dapat

dilihat pada data rerata kerapatan sel. Data kerapatan sel *Chlorella* selama 30 hari pengamatan setelah ditransformasi ke dalam log x dapat dilihat pada Tabel 1. Kemudian data ditabulasi ke dalam data kerapatan sel *Chlorella* pada saat *peak* (Tabel 2). Berdasarkan Tabel 1, kerapatan sel setelah inokulasi bertambah pada semua perlakuan. Jumlah sel *Chlorella* yang bertambah bervariasi pada setiap perlakuan. Sedangkan Tabel 2 menunjukkan rerata kerapatan sel *Chlorella* saat *peak* adalah Akuades (kontrol 1) sebesar 6.875.000 sel/ ml dicapai pada hari ke-14,25 (348 jam), medium Bencek

Tabel 1. Hasil transformasi data (logaritma) kerapatan sel *Chlorella* pada enam perlakuan EKDLB

Medium (hari)	Akuades	Bencek	EKDLB 25%	EKDLB 50%	EKDLB 75%	EKDLB 100%
0	6,278039	6,2751673	6,2737245	6,2700963	6,2751673	6,265702
1	6,429853	6,7947929	6,4978795	6,5429032	6,4403186	6,4076033
2	6,523828	6,8174827	6,5483126	6,3722214	6,3097632	6,3430391
3	6,540955	6,8341027	6,5972837	6,4651969	6,2612629	6,3037359
4	6,665405	6,8433496	6,7291141	6,50515	6,3802112	6,2914244
5	6,661576	6,7613169	6,9262138	6,6976107	6,4139281	6,308431
6	6,68686	6,7381362	6,9357591	6,8382586	6,5903681	6,3924771
7	6,74964	6,85865	6,9357591	6,8620195	6,5181025	6,5386051
8	6,722737	6,8493426	6,8633229	6,9588922	6,4926731	6,3387054
9	6,768314	6,8943507	6,8295048	6,5143817	6,3973968	6,3057543
10	6,737143	6,9241177	6,9308536	6,6907497	6,5521357	6,3646682
11	6,729873	6,9340248	6,9852299	6,6957005	6,5882717	6,4935452
12	6,768083	6,8708792	6,9780092	6,7333979	6,6412882	6,4970161
13	6,784662	6,9424731	6,9937117	6,784216	6,6309361	6,5330727
14	6,801704	6,9742814	7,0075344	6,8127045	6,6400464	6,5626645
15	6,818515	6,9732722	7,008334	6,8264797	6,6010409	6,6477496
16	6,814788	7,0401571	6,9985045	6,7952281	6,6697816	6,6296644
17	6,798046	7,0450784	6,9673139	6,8244513	6,607455	6,6303007
18	6,797181	7,0925452	6,9555976	6,8178958	6,5858131	6,6051029
19	6,777472	7,1377101	6,9143101	6,7152197	6,5444556	6,4847446
20	6,718605	7,1726394	6,8152041	6,6798252	6,502171	6,3273589
21	6,685462	7,2060665	6,7162643	6,5989956	6,463333	6,3424227
22	6,67152	7,2154227	6,692957	6,5861652	6,4860761	6,4595809
23	6,674402	7,2176484	6,707304	6,5278715	6,4452149	6,4011851
24	6,695153	7,1979694	6,7038285	6,5135505	6,469822	6,4283373
25	6,719124	7,1955537	6,6504897	6,5147967	6,5903681	6,4505378
26	6,717566	7,1771756	6,6677447	6,4461875	6,6347291	6,3807764
27	6,737391	7,1575134	6,7515678	6,415495	6,657713	6,4807254
28	6,69652	7,1277121	6,7356488	6,4807254	6,6571156	6,5600561
29	6,7349	7,0945148	6,7582494	6,5513737	6,6706517	6,5740313
30	6,750123	7,071767	6,7828756	6,5879213	6,6350437	6,5861652

(kontrol 2) sebesar 16.618.750 pada hari ke-22,75 (546 jam), EKDLB 25% sebesar 10.353.125 sel/ml pada hari ke-13,25 (318 jam), EKDLB 50% sebesar 9.403.125 sel/ml pada hari ke-9,25 (222 jam), EKDLB 75% sebesar 5.078.125 sel/ml pada hari ke-

11,5 (276 jam), dan EKDLB 100% sebesar 4.537.500 sel/ml pada hari ke-15,5 (372 jam).

Rerata kerapatan sel *Chlorella* saat *peak* pada enam perlakuan bervariasi dari yang terendah 4.537.500 sel/ml pada medium EKDLB 100% sampai

yang tertinggi 16.618.750 sel/ml pada medium Beneck. Rerata waktu yang diperlukan untuk mencapai *peak* juga bervariasi dari yang tercepat 9,25 hari (222 jam) pada medium EKDLB 50% sampai yang terlama 22,75 hari (546 jam) pada medium Beneck.

Berdasarkan uji normalitas Khi-Kuadrat diperoleh hasil bahwa distribusi data kerapatan sel *Chlorella* tidak berdistribusi normal. Data kerapatan sel tersebut kemudian ditransformasikan ke dalam logaritma (Tabel 1) agar kisaran data menjadi kecil. Data yang telah ditransformasi tersebut diuji dengan uji normalitas Khi-Kuadrat dan diperoleh hasil bahwa

data tidak berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji Friedman terhadap rerata kerapatan sel untuk mengetahui adanya pengaruh medium EKDLB terhadap kerapatan *Chlorella* (sel/ml) dan hasilnya adalah ada pengaruh medium EKDLB terhadap kerapatan *Chlorella* (sel/ml) (pada $p > 0,05$). Hasil uji perbandingan berganda antara enam perlakuan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dan sangat nyata ($p > 0,01$) pada semua perlakuan, kecuali pada akuades dan EKDLB 50%, Medium Beneck dan EKDLB 25%, EKDLB 50% dan 75%, serta EKDLB 75% dan 100%.

Tabel 2. Data kerapatan sel *Chlorella* pada enam perlakuan EKDLB yang berbeda pada saat *peak*.

Perlakuan	Waktu peak (hari)	Kerapatan (sel/ml)
Akuades	14,25	6.875.000
Beneck	22,75	16.618.750
EKDLB 25%	13,25	10.353.125
EKDLB 50%	9,25	9.403.125
EKDLB 75%	11,5	5.078.125
EKDLB 100%	15,5	4.537.500

3.2. Warna kultur, Kurva pertumbuhan, dan ukuran sel *Chlorella*

Warna kultur *Chlorella* yang berbeda menunjukkan adanya pertumbuhan kultur *Chlorella* yang berbeda pada medium yang digunakan. Warna kultur yang bertambah hijau dan jumlah sel yang bertambah menandakan pertumbuhan yang baik. Pertumbuhan kultur *Chlorella* yang baik dipengaruhi oleh kandungan nutrisi dalam medium, sehingga semakin cukup kandungan nutrisi dalam medium untuk tumbuh dan berkembang maka warna kultur semakin hijau.

Sel *Chlorella* yang berwarna hijau pada medium Beneck dan EKDLB juga menandakan kandungan klorofil yang banyak. Menurut Sze [13], pigmen fotosintesis yang mendominasi sel alga, memberi warna khusus pada alga, sehingga warna hijau pada sel dapat menjadi petunjuk tingginya kandungan klorofil dalam sel.

Klorofil dalam sel dipengaruhi oleh beberapa unsur seperti N, Fe, dan Mg. Ketiga unsur tersebut merupakan unsur yang sangat penting bagi pembentukan klorofil dan apabila kekurangan akan mengakibatkan kurangnya sintesis dan kandungan klorofil [14]. Kultur *Chlorella* pada medium akuades

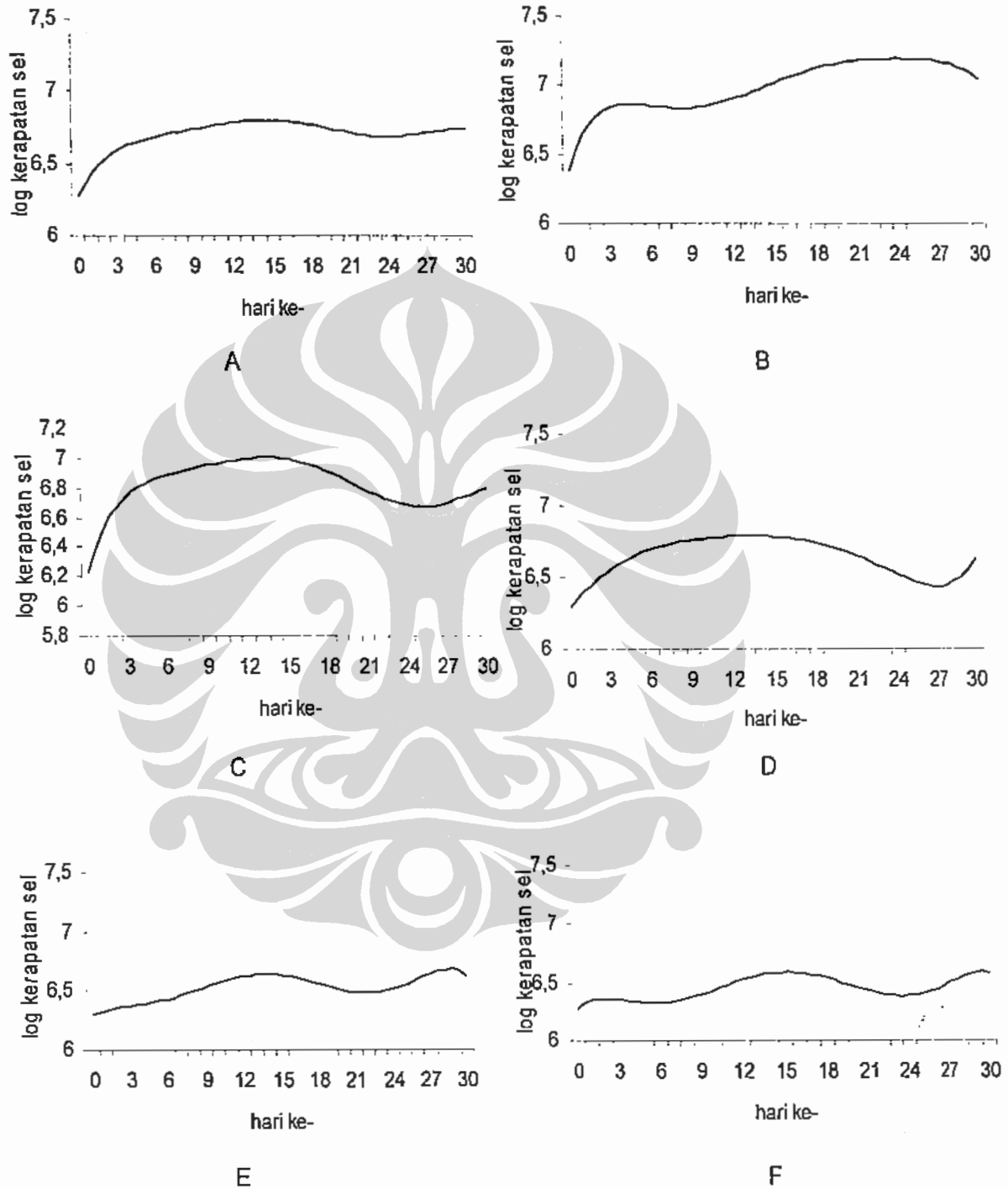
yang berwarna hijau kekuningan dan ukuran sel yang lebih kecil menunjukkan pertumbuhan yang kurang baik. Warna kekuningan pada sel *Chlorella* tersebut menandakan bahwa kandungan klorofil dalam sel sedikit. Hal tersebut disebabkan kurangnya unsur N, Fe, dan Mg dalam medium sehingga terjadi klorosis.

Warna coklat pada medium EKDLB disebabkan adanya proses *browning* pada daun lidah buaya. Menurut Suryowidodo [15], adanya antrakuinon yang teroksidasi di dalam daun lidah buaya menyebabkan perubahan warna menjadi kecoklatan. Pemanasan pada medium menyebabkan reaksi tersebut terjadi lebih cepat. Pada pengamatan makroskopik warna coklat tersebut menghalangi warna sel-sel *Chlorella* yang hijau.

Berdasarkan kurva pertumbuhan (Gambar 1), pola pertumbuhan pada semua perlakuan berbeda kecuali pada perlakuan akuades dan EKDLB 25%. Kedua kurva memiliki kesamaan pola, tetapi waktu dan jumlah sel pada saat *peak* berbeda. Pola pertumbuhan pada semua perlakuan menunjukkan tidak adanya fase lag. Pola pertumbuhan pada perlakuan akuades, Beneck, EKDLB 25% dan 50% menunjukkan fase log yang lama. Waktu selama fase log pada perlakuan akuades, EKDLB 25% dan 50% kurang lebih 9, 10 dan 8 hari. Pola pertumbuhan pada kultur dalam medium Beneck

menunjukkan fase log yang lebih lama dibandingkan kultur dalam medium EKDLB 75% dan 100%. Fase

stasioner hanya terlihat lama pada medium akuades dan EKDLB 25%.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan sel *Chlorella* pada enam perlakuan EKDLB. A: Akuades; B: Beneck; C: EKDLB 25%; D: EKDLB 50%; E: EKDLB 75%; F: EKDLB 100%

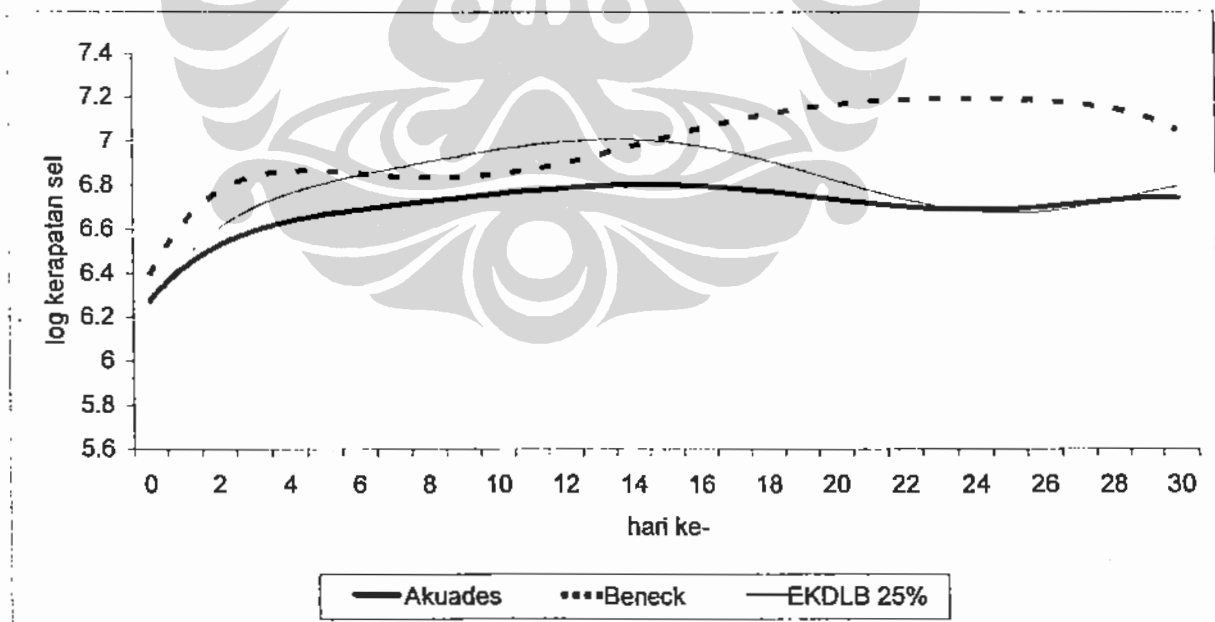
Pola pertumbuhan kultur *Chlorella* pada semua perlakuan tidak terlihat adanya fase lag. Hal tersebut disebabkan karena pada waktu pengamatan (24 jam setelah inokulasi) fase lag kemungkinan telah terlewati, jumlah inokulum cukup dan sebanding dengan waktu pengamatan, serta sel-sel *Chlorella* yang diinokulasikan dapat cepat beradaptasi dengan medium kultur yang baru. Selain itu fase lag yang tidak terlihat dapat juga disebabkan karena kultur yang diinokulasi ke dalam medium yang sama berada dalam pertumbuhan eksponensial (fase log). Hal tersebut terjadi pada kultur dalam medium Beneck dan sesuai dengan pendapat Brock & Madigan [16], bahwa jika kultur dalam fase eksponensial diinokulasi ke dalam medium yang sama maka fase lag tidak terlihat dan pertumbuhan eksponensial berlanjut.

Pola pertumbuhan pada kultur dalam medium akuades, Beneck, EKDLB 25% dan 50% terlihat adanya fase log yang lama. Pada fase tersebut sejumlah sel *Chlorella* membelah dengan cepat. Akibatnya jumlah sel bertambah dengan cepat pula. Pertumbuhan tersebut tidak berjalan terus dan fase stasioner akan dicapai sewaktu jumlah total sel tidak lagi bertambah [17]. Fase stasioner pada kultur dalam medium akuades dan EKDLB 25% terlihat lebih lama dibanding dalam medium lain. Sel-sel *Chlorella* tersebut dapat memanfaatkan nutrisi dalam medium walaupun kadarnya sudah berkurang dan sel-sel tersebut memiliki

cadangan energi yang besar sehingga sel masih dapat hidup.

Berdasarkan kurva pertumbuhan terlihat bahwa kultur *Chlorella* yang ditumbuhkan pada medium EKDLB 25% dapat tumbuh dengan baik dibandingkan dengan kontrol akuades (Gambar 2). Bila dibandingkan dengan kontrol Beneck kerapatan dan ukuran sel pada medium tersebut hampir sama yang disebabkan karena nutrisi dalam medium EKDLB 25% dapat digunakan oleh *Chlorella* seperti dalam medium Beneck. Hal tersebut sesuai pula dengan hasil uji statistik yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata dengan kontrol akuades dan tidak ada perbedaan nyata dengan kontrol Beneck.

Pertumbuhan yang baik pada medium EKDLB 25% disebabkan nutrisi yang terdapat dalam medium dapat digunakan oleh sel *Chlorella* untuk tumbuh. Asam amino yang terdapat dalam medium EKDLB dipecah dalam sel sehingga dihasilkan asetil ko-A. Selanjutnya senyawa tersebut akan diubah menjadi ATP melalui siklus Krebs dan sistem transpor elektron. ATP diperlukan sebagai sumber energi untuk metabolisme sel. Zat organik lain yang terkandung dalam medium EKDLB adalah gula (glukosa, fruktosa, dan polisakarida) dan vitamin. Finkle *dkk.* pada tahun 1950 (lihat [18]) menyatakan bahwa hanya glukosa dan galaktosa yang mampu mendukung pertumbuhan *Chlorella*. Glukosa berfungsi sebagai sumber karbon tambahan dan mendukung proses metabolisme sel.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan *Chlorella* pada medium EKDLB 25% dan kontrol.

Karena dapat langsung digunakan, sel *Chlorella* dapat lebih cepat membangun komponen-komponen selnya untuk pertumbuhan, seperti pembentukan ATP sebagai sumber energi, ribosom untuk pembentukan protein, dan sintesis berbagai enzim untuk pembelahan sel [19, 17]. Vitamin yang dibutuhkan bagi pertumbuhan alga hanya tiamin (B_1), kobalamin (B_{12}), dan biotin [20]. Vitamin B_{12} yang terdapat pada medium EKDLB dapat berfungsi sebagai *growth factor*. Zat anorganik yang terkandung dalam medium EKDLB yang dapat mendukung pertumbuhan *Chlorella* terdiri atas K, Mg, Fe, Na, Zn, Mn, Ca, dan S. Unsur K berperan sebagai katalisator dalam proses fotosintesis dan membantu dalam pembentukan karbohidrat dan protein. Unsur Mg dan Fe diperlukan untuk sintesis klorofil dan transfer elektron di dalam jalur respirasi dan fotosintesis [21].

Pertumbuhan alga selain dipengaruhi oleh nutrisi juga dipengaruhi oleh zat-zat yang dapat menghambat pertumbuhan. Dalam medium EKDLB zat-zat yang dapat menghambat pertumbuhan alga adalah antrakuinon dan saponin. Antrakuinon merupakan senyawa quinon yang penting dalam transpor elektron pada rantai respirasi dan fotosintesis, tetapi dalam jumlah banyak dapat meracuni mikroorganisme [22]. Sedangkan saponin dapat menurunkan tegangan permukaan larutan sehingga cairan lebih mudah masuk ke dalam sel. Saponin bersifat sebagai pembersih dan dapat menghancurkan membran plasma sehingga sel dapat menjadi lisis [23].

Kandungan antrakuinon dan saponin dalam medium EKDLB 25% kemungkinan berada dalam konsentrasi yang rendah dan dapat ditolerir oleh sel-sel *Chlorella*. Sedangkan pada medium EKDLB 50% konsentrasi zat penghambat pertumbuhan *Chlorella* mulai berpengaruh. Hasil uji statistik yang menunjukkan pertumbuhan yang tidak berbeda nyata dengan kontrol akuades dan berbeda nyata dengan kontrol Beneck. Selain itu pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa kerapatan sel *Chlorella* yang ditumbuhkan dalam medium EKDLB 75% dan 100% lebih rendah dibanding dengan medium kontrol. Hal itu disebabkan karena konsentrasi kandungan antrakuinon dan saponin dalam medium EKDLB kemungkinan sangat tinggi sehingga sel-sel *Chlorella* yang tidak dapat beradaptasi mengalami kematian.

Sel *Chlorella* yang ditumbuhkan dalam medium EKDLB 25% dan 50% berukuran sama dengan ukuran sel dalam medium Beneck, sedangkan sel dalam medium EKDLB 75% dan 100% memiliki ukuran lebih besar daripada ukuran sel dalam medium kontrol. Berdasarkan pengamatan maka dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi medium EKDLB maka ukuran sel semakin besar. Ukuran sel dipengaruhi oleh kandungan nutrisi di dalam medium. Penggunaan senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen untuk

menyusun komponen sel dapat meningkatkan ukuran [24]. Asam amino sebagai senyawa yang mengandung nitrogen, didegradasi menjadi amonia yang akan terakumulasi dalam vakuola sehingga ukuran sel membesar. Selain itu pembesaran sel kemungkinan disebabkan oleh banyaknya saponin dalam medium yang dapat menurunkan tegangan permukaan larutan sehingga cairan lebih mudah masuk ke dalam sel. Banyaknya cairan di dalam sel menyebabkan sel mengembang dan ukuran sel terlihat lebih besar.

Ukuran sel *Chlorella* dalam medium 75% dan 100% yang lebih besar dari sel yang ditumbuhkan dalam medium kontrol juga kemungkinan karena sel-sel *Chlorella* yang mengandung lebih kurang 2-32 autospora berada dalam keadaan dorman. Kondisi lingkungan yang tidak sesuai bagi pertumbuhan alga menyebabkan pada beberapa alga Chlorophyceae mengalami periode dormansi. Sel-sel alga yang berada dalam keadaan dorman tersebut tetap mengalami pembelahan sel tetapi tanpa pemecahan dinding sel induk. Apabila kondisi lingkungan memungkinkan untuk pertumbuhan maka sel-sel anakan akan dikeluarkan dari sel induk [25].

Derajat keasaman (pH) medium pada medium Beneck tetap, sedangkan pada medium EKDLB terdapat kenaikan pH dari 5 menjadi 8. Kenaikan pH medium dapat disebabkan oleh penguraian senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen seperti asam amino, menjadi amonia. Konsentrasi amonia yang meningkat akan menyebabkan pH medium menjadi basa. Kisaran pH 5-8 tersebut masih termasuk pH yang optimum bagi pertumbuhan *Chlorella*.

Suhu ruang kultur selama penelitian berkisar antara 22-25°C. Suhu tersebut masih berada dalam kisaran suhu yang sesuai untuk pertumbuhan *Chlorella*, karena menurut Taw [26], *Chlorella* dapat tumbuh optimum pada suhu 21-30°C.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Pertumbuhan *Chlorella* yang optimum pada medium EKDLB adalah pada konsentrasi 25%.
2. Semakin tinggi konsentrasi medium EKDLB, maka kerapatan sel *Chlorella* semakin rendah.
3. Semakin tinggi konsentrasi medium EKDLB, maka ukuran sel *Chlorella* dalam kultur semakin besar.
4. Rerata kerapatan sel tertinggi pada saat *peak* diperoleh pada medium Beneck (16.618.750 sel/ml) yang dicapai pada 22 hari 18 jam, sedangkan kerapatan sel terendah diperoleh pada perlakuan EKDLB 100% (4.537.500 sel/ml) pada 15 hari 12 jam.

DAFTAR ACUAN

- [1] Danhof, I.E., *Aloe vera handling and constituent variability*. 3 hlm.
<http://www.wholeleaf.com/aloeverabiologicalvalactivity.html>. 01 Juni 2001, pk. 16.30.
- [2] Davis, R.H., *Biological activity of aloe vera*. 3 hlm.
<http://wholeleaf/aloeverainfo/aloeverabiologicalvalactivity.html>. 19 Maret 2001, pk. 20.20.
- [3] AloeVera Company UK. 2001. *Properties of Aloe Vera constituents*. 3 hlm.
<http://www.aloevera.co.uk/aloeprop.html>. 19 Maret 2001, pk. 20.17
- [4] Hariyum, A., *Pembuatan protein sel tunggal*. PT. Wacana Utama Pramesti & PEMDA DKI Jakarta, Jakarta, 1986.
- [5] Steenblock, D., *Chlorella: makanan sehat alami*. Terj. dari: *Chlorella: Natural medicinal algae*, oleh Muhilal & V.L. Siagian. Penerbit Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 1994.
- [6] Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian, *Petunjuk teknis: Budidaya pakan alami ikan dan udang*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jakarta, 1990.
- [7] Guillard, R.R.L., Methods for microflagellates and nannoplankton. In: J.R. Stein (Ed.). *Handbook of phycological methods: Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge University Press, London, 68 – 85, 1973.
- [8] Adil, E.I.M., *Penuntun praktikum fisiologi hewan*, Jurusan Biologi FMIPA UI, Depok, 1994.
- [9] Amin, M. & Sri Amini, Rasonalisasi pupuk komersil pada budidaya fitoplankton. *Prosiding Lokakarya Penelitian Komoditas dan Studi Khusus*, 528—543, 1992.
- [10] Sudjana, *Metoda statistik*. 6th ed. Penerbit Tarsito, Bandung, 1996.
- [11] Steel, R.G.D. & J.H. Torrie, Principles procedures statistic: Suatu pendekatan biometrik. Terj. dari: *Principles and procedures of statistik* oleh Sumantri, B. P.T. Penerbit Gramedia, Jakarta, 1993.
- [12] Zar, J.H., *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, Inc. London, 1974.
- [13] Sze, P., *A biology of algae*. 2nd ed. Wm.C. Brown. Publ., Dubuque: ix + 259 hlm, 1986.
- [14] Meeks, J.C., Chlorophylls. Dalam: Stewart (ed.). 1974. *Algal physiology and biochemistry*. University of California Press, California, 161—175, 1974.
- [15] Suryowidodo, C.H. 1988. Lidah buaya (*Aloe vera* Linn.) sebagai bahan baku industri. *Warta IHP*. 5(2), 66—71, 1996.
- [16] Brock, T.D. & M. T. Madigan, *Biology of microorganisms*. 6th ed. Prentice Hall, Inc., New Jersey, 1991.
- [17] Nester, M.A., L. Brawn, A. Eichler & E.R. Fritsch, *Freshwater alga of the united state*. Academic Press. New York, 1973.
- [18] Danforth, W.F., Substrate asimilation and heterotropy. Dalam: Lewin, R. A. (ed.). 1962. *Physiology and biochemistry of algae*. Academic Press, New York, 99—123, 1962.
- [19] Fogg, G.E., *Algal culture and phytoplankton ecology*. 2nd ed. The University of Wisconsin Press, Ltd., London, 1970.
- [20] Dropp, M.R. 1962. Organic micronutrien. Dalam: Lewin, R. A. (ed.), *Physiology and biochemistry of algae*. Academic Press, New York, 1962.
- [21] Salisbury, F.B. & C.W. Ross, *Plant physiology*. 4th ed. Wadsworth Publishing Company, Belmont, 1992.
- [22] Bidwell, *Plant physiology*. 2nd ed. Macmillan Publishing co. Ltd., New York, 1979.
- [23] Mills, S. & K. Bone, *Principles and practice of phytotherapy: modern herbal medicine*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 2000.
- [24] Syrett, P.J., Nitrogen assimilation. Dalam: Lewin, R. a. (Ed.). 1962. *Physiology and biochemistry of algae*. Academic Press, New York, 171—183, 1962.
- [25] Bold, C.H. & M.J. Wyne, *Introduction of the algae: structure and reproduction*. 2nded. Prentice Hall. Inc, London, 1985.
- [26] Taw, N., *Petunjuk Pemeliharaan kultur murni dan massa mikroalga. Proyek pengembangan budidaya udang*. United Nations Development Program Food and Agricultural Organizations of United Nations, 34 hlm, 1990.