

## PERTUMBUHAN *Chlorella* spp. DALAM MEDIUM EKSTRAK TAUGE (MET) DENGAN VARIASI pH AWAL

Nining Betawati Prihantini, Berta Putri, dan Ratna Yuniati

Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia

E-mail: nprihantini@hotmail.com

### Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh derajat keasaman (pH) awal Medium Ekstrak Tauge (MET) terhadap kerapatan sel mikroalga marga *Chlorella Beijerinck* pada saat *peak*. Penelitian bersifat eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri atas 5 perlakuan, yaitu nilai pH awal media 5, 6, 7, 8, dan 9. Kerapatan sel tertinggi (5.677.625 sel/ml) pada saat *peak* terjadi dalam media perlakuan pH awal 7. Kerapatan sel terendah (3.374.100 sel/ml) pada saat *peak* terjadi dalam media perlakuan pH awal 5. Hasil uji Anova (pada  $p > 0,05$ ) menunjukkan adanya pengaruh pH awal media perlakuan yang berbeda terhadap kerapatan sel *Chlorella* (sel/ml) saat *peak*. Hasil uji perbandingan berganda terhadap kerapatan sel *Chlorella* saat *peak* menunjukkan adanya perbedaan nyata ( $p > 0,05$ ) pada setiap media perlakuan, kecuali antar media perlakuan pH awal 8 dengan pH awal 9.

### Abstract

**The Growth of *Chlorella* spp. in Tauge Extract Medium (TEM) with Various Initial pH.** Research on the effect of tauge extract medium initial pH value on *Chlorella* Beijerinck cell densities at peak condition had been done. The research was an experimental study with complete random design with 5 treatments (tauge extract medium with initial pH 5,6,7,8, and 9). At peak condition the highest cell density (5.677.625 sel/ml) was occurred in medium with initial pH 7 and the lowest (3.374.100 sel/ml) in medium with initial pH 5. Anova test shown that there was an effect ( $p$  value  $> 0,05$ ) of tauge extract medium initial pH value on *Chlorella* cell densities (cell/ml) at peak condition. Multiple comparison test showed that mean of cell numbers of *Chlorella* differed among treatments ( $p$  value  $> 0,05$ ) except between media with initial pH 8 and 9.

**Keywords:** *Chlorella*, cell densities, tauge extract medium, peak, medium initial pH

## 1. Pendahuluan

Mikroalga *Chlorella* memiliki potensi sebagai pakan alami, pakan ternak, suplemen, penghasil komponen bioaktif bahan farmasi dan kedokteran. Hal tersebut disebabkan *Chlorella* mengandung berbagai nutrisi seperti protein, karbohidrat, asam lemak tak jenuh, vitamin, klorofil, enzim, serat yang tinggi [1,2]. Selain itu, *Chlorella* merupakan mikroalga kosmopolit yang sebagian besar hidup di lingkungan akuatik baik perairan tawar, laut maupun payau, juga ditemukan di tanah dan di tempat lembab [3]. Menurut Sachlan [4], sel *Chlorella* memiliki tingkat reproduksi yang tinggi, setiap sel *Chlorella* mampu berkembang menjadi 10.000 sel dalam waktu 24 jam.

Pemanfaatan *Chlorella* dilakukan menggunakan teknik kultur. Keberhasilan teknik kultur bergantung pada kesesuaian antara jenis mikroalga yang dibudidayakan dan beberapa faktor lingkungan, salah satu hal yang perlu diperhatikan adalah faktor derajat keasaman (pH) agar metabolisme sel mikroalga tidak mengganggu [5,6]. Derajat keasaman (pH) media menentukan kelarutan dan ketersediaan ion mineral sehingga mempengaruhi penyerapan nutrisi oleh sel. Perubahan nilai pH yang drastis dapat mempengaruhi kerja enzim serta dapat menghambat proses fotosintesis dan pertumbuhan beberapa mikroalga [7].

Ekstrak Tauge merupakan salah satu sumber media alami yang dapat digunakan untuk media pertumbuhan mikroalga. Media tersebut mengandung unsur makro dan mikro, vitamin, mineral serta asam amino yang dibutuhkan bagi

pertumbuhan mikroalga [8,9]. Kisaran pH media kultur yang sesuai bagi *Chlorella* bergantung pada jenis media. Pada tahun 1955, Nielsen [10] menyatakan bahwa pH yang sesuai untuk pertumbuhan *Chlorella* berkisar antara 4,5-9,3. Oleh karena itu, dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh nilai pH awal Medium Ekstrak Tauge (MET) terhadap kerapatan sel mikroalga *Chlorella* Beijerinck pada saat *peak*.

## 2. Metode Penelitian

Sampel *Chlorella* yang digunakan dalam penelitian berasal dari koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA-UI yang merupakan hasil isolasi dari tanah di Depok. Penelitian dilakukan di Ruang Kultur Alga, Departemen Biologi FMIPA UI dengan kondisi rak kultur, yaitu suhu  $25 - 27^{\circ}\text{C}$ , kelembapan 75 – 80 %, dan intensitas cahaya 1260 – 3600 lux. Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (*Complete Random Design*) yang terdiri atas lima perlakuan. Media yang digunakan adalah *Medium Basal Bold* (MBB) [11] sebagai media kultur awal (*starter*) dan Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan nilai pH 5, 6, 7, 8, dan 9 sebagai media perlakuan.

Pembuatan Medium Ekstrak Tauge (MET) diawali dengan pembuatan larutan stok MET (b/v) yaitu 100 gram tauge direbus dalam 500 ml akuabides yang mendidih selama 1 jam. Medium Ekstrak Tauge dibuat dengan cara melarutkan ekstrak tauge ke dalam akuabides dengan masing-masing konsentrasi 4% (v/v). Pengaturan pH dilakukan dengan cara menambahkan larutan HCl 1% dan KOH 1% ke dalam media perlakuan, masing-masing perlakuan digunakan 60 ml medium dalam erlenmeyer. Setelah proses pengaturan nilai pH media dilanjutkan dengan pengukuran kembali nilai pH.

Pemurnian kultur *Chlorella* dilakukan dengan metode pengenceran secara bertingkat. Setelah didapatkan kultur *Chlorella* murni dilanjutkan dengan pembuatan kultur awal (*starter*) dan sinkronisasi kultur [12]. Sebanyak 100 ml kultur *Chlorella* berumur 30 hari diinokulasikan ke dalam 200 ml MBB kemudian kultur diinkubasi dalam rak kultur dengan fotoperiodisitas 9 jam terang dan 15 jam gelap selama 4 hari sehingga didapatkan kultur *Chlorella* dalam keadaan seragam (*autospora*).

Sebanyak 10 ml kultur *Chlorella* disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 2200 rpm. Endapan sel *Chlorella* diinokulasikan ke dalam masing-masing 60 ml media perlakuan, jumlah sel yang digunakan sebagai inokulum berkisar  $2 \times 10^6$  sel/ml. Labu kultur secara acak diletakkan ke dalam rak kultur dengan pencahayaan 2 buah lampu TL 36 watt (intensitas cahaya 1000-4000 lux) dan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap.

Penghitungan jumlah sel dilakukan secara berkala setiap 24 jam sekali dan mulai hari ke-0 ( $t_0$ ) hingga hari ke-15 ( $t_{15}$ ). Penghitungan jumlah sel dilakukan di bawah mikroskop cahaya menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer*. Data jumlah sel yang didapat selanjutnya digunakan untuk menghitung kerapatan sel. Kerapatan sel dalam 1 ml sampel dihitung dengan rumus  $k = n \times p \times 2500$ , dengan  $k$  = kerapatan sel *Chlorella* (sel/ml),  $n$  = jumlah total sel *Chlorella* pada keempat kotak kamar hitung, dan  $p$  adalah tingkat pengenceran yang digunakan [13]. Nilai pH setiap perlakuan diukur setiap 24 jam sekali pada saat sebelum dilakukan penghitungan jumlah sel *Chlorella*. Pengukuran kondisi lingkungan ruang kultur meliputi suhu ruang ( $^{\circ}\text{C}$ ), kelembapan ruang kultur (%), dan intensitas cahaya (lux). Data kerapatan sel dari kelima media perlakuan saat *peak* dianalisis menggunakan uji Anova satu faktor dan uji perbandingan berganda dari program komputer *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) 10.0 [14].

## 3. Hasil dan Pembahasan

Hasil uji Anova satu faktor ( $\alpha = 0,05$ ) terhadap kerapatan sel saat *peak* menunjukkan adanya pengaruh perbedaan pH awal media perlakuan terhadap kerapatan sel *Chlorella* pada saat *peak*. Uji perbandingan berganda (LSD) berdasarkan SPSS 10.0 menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ) antara media perlakuan pH awal 5 dengan pH awal 6, 7, 8, dan 9, media perlakuan pH awal 6 dengan pH awal 7, 8, 9, juga pada media perlakuan pH awal 7 dengan pH awal 8, dan 9. Hasil uji perbandingan berganda tidak menunjukkan perbedaan antara media perlakuan pH awal 8 dengan 9. Perbedaan kerapatan sel tertinggi saat *peak* pada setiap media perlakuan menunjukkan perbedaan kemampuan sel *Chlorella* dalam menyerap nutrisi dan beradaptasi terhadap pH media perlakuan.

Selama masa inkubasi (15 hari) terjadi perubahan warna pada seluruh media perlakuan yang semula berwarna hijau kekuningan berubah menjadi hijau zamrud seperti diperlihatkan pada Gambar 1. Warna hijau dari kelima perlakuan media perlakuan relatif sama. Perubahan warna kultur juga diikuti dengan peningkatan kerapatan sel (Gambar 2). Peningkatan kerapatan sel *Chlorella* pada kelima media perlakuan menandakan terjadinya pemanfaatan nutrisi yang

terkandung dalam MET oleh sel-sel *Chlorella*. Nilai pH media perlakuan yang digunakan pH (5-9) diduga merupakan pH optimum sel *Chlorella* isolat Depok, sehingga pH tersebut sesuai untuk penyerapan nutrisi oleh sel dan kelangsungan aktivitas enzim yang optimum [15].

Rerata kerapatan sel tertinggi pada saat *peak* dicapai sel-sel dalam media perlakuan dengan pH awal 7 (Gambar 3). Media perlakuan tersebut merupakan MET tanpa pengaturan nilai pH. Kerapatan sel *Chlorella* tertinggi yang dicapai pada media perlakuan pH awal 7 karena nilai pH tersebut sangat mendukung pertumbuhan *Chlorella*. Penelitian Wong dan Lay [16] juga menunjukkan bahwa *Chlorella pyrenoidosa* yang ditumbuhkan dalam medium Bristol dengan pH 7 memiliki kerapatan sel yang lebih tinggi daripada media dengan pH 6,4. Pada lingkungan netral, CO<sub>2</sub> berada dalam bentuk bebas sehingga dapat berdifusi dengan mudah ke dalam sel mikroalga [5]. Hal tersebut menyebabkan CO<sub>2</sub> sebagai sumber karbon utama bagi proses fotosintesis mikroalga cukup tersedia sehingga proses metabolisme dapat berlangsung cepat dan kerapatan sel meningkat.

Rerata kerapatan sel terendah terjadi pada media perlakuan pH awal 5. Hal tersebut kemungkinan disebabkan pH awal yang asam menyebabkan terganggunya proses metabolisme sel. Pada awal inokulasi, kondisi media yang asam menyebabkan kemampuan sel menyerap nutrisi tidak optimal sehingga mempengaruhi proses pertumbuhan sel selanjutnya.

Jenis karbon anorganik yang paling banyak terdapat pada media asam (pH 4-5) adalah asam karbonat (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) [17,18]. Asam karbonat pada kisaran pH tersebut umumnya berada dalam bentuk senyawa yang sangat mudah masuk ke dalam sel sehingga membuat pH internal sel menjadi asam [19]. Proses biokimia dalam sel *Chlorella* berlangsung pada pH internal sel yang netral (pH 7,15). Kondisi pH asam mengakibatkan proses biokimia sel terganggu sehingga mempengaruhi pertumbuhan sel [20]. Hal tersebut diduga merupakan penyebab rendahnya kerapatan sel pada media perlakuan pH awal 5.

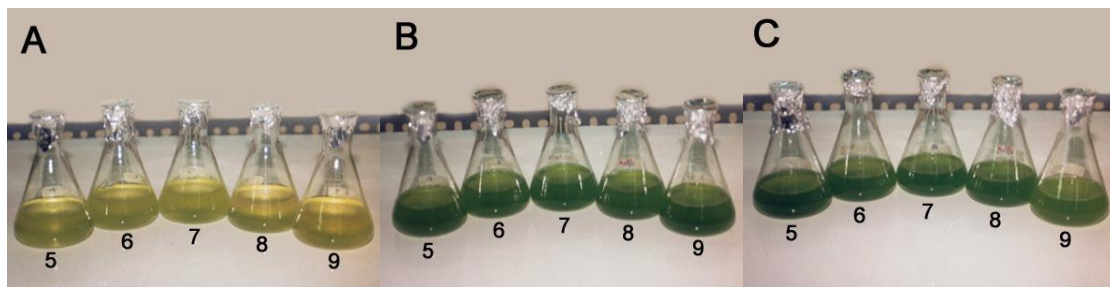
Beberapa penelitian yang lain memperlihatkan bahwa pH mempengaruhi konsentrasi dan mobilitas logam berat dalam sel *Chlorella* [16,21]. Salah satu logam berat tersebut adalah tembaga (Cu). Kelarutan Cu meningkat pada media yang asam, Cu terserap oleh sel dalam jumlah banyak, akibatnya Cu dalam sel *Chlorella* menjadi toksik. Hal tersebut diduga sebagai faktor yang juga menyebabkan kerapatan sel pada media perlakuan pH awal 5 menjadi rendah.

Kerapatan sel saat *peak* dalam media perlakuan pH awal 8 dan 9 lebih rendah dibandingkan kerapatan sel media perlakuan pH awal 7. Hal tersebut terjadi karena pada media basa, enzim yang berperan untuk membentuk amonium (sumber nitrogen) untuk metabolisme mikroalga tidak dapat bekerja sehingga proses metabolisme sel terganggu dan kerapatan sel menjadi rendah [18].

Secara umum sejak pengamatan hari ke-1 hingga hari ke-9 seluruh media perlakuan mengalami peningkatan pH (Gambar 4). Hal tersebut kemungkinan disebabkan adanya aktivitas fotosintesis mikroalga. Pada saat fotosintesis, CO<sub>2</sub> bebas merupakan jenis karbon anorganik utama yang digunakan mikroalga. Mikroalga juga dapat menggunakan ion karbonat (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) dan ion bikarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) [17]. Penyerapan CO<sub>2</sub> bebas dan bikarbonat oleh mikroalga menyebabkan penurunan konsentrasi CO<sub>2</sub> terlarut dan mengakibatkan peningkatan nilai pH [22].

Peningkatan nilai pH pada media perlakuan pH awal 5, 6, dan 7 juga dapat disebabkan terjadinya penguraian protein dan persenyawaan nitrogen lain. Amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), dan nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) merupakan bentuk senyawa nitrogen organik yang telah mengalami penguraian [23]. Pada umumnya, senyawa nitrogen yang digunakan dalam metabolisme sel mikroalga berupa amonium. Amonium dihasilkan melalui proses disosiasi amonium hidroksida. Amonium hidroksida merupakan amonia yang terlarut dalam air. Menurut Goldman dan Horne [17], reaksi pembentukan amonium adalah sebagai berikut: NH<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O ↔ NH<sub>4</sub>OH ↔ NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + OH<sup>-</sup>. Bila reaksi di atas bergerak ke kanan maka konsentrasi amonium di dalam media akan meningkat dan pH media menjadi basa.

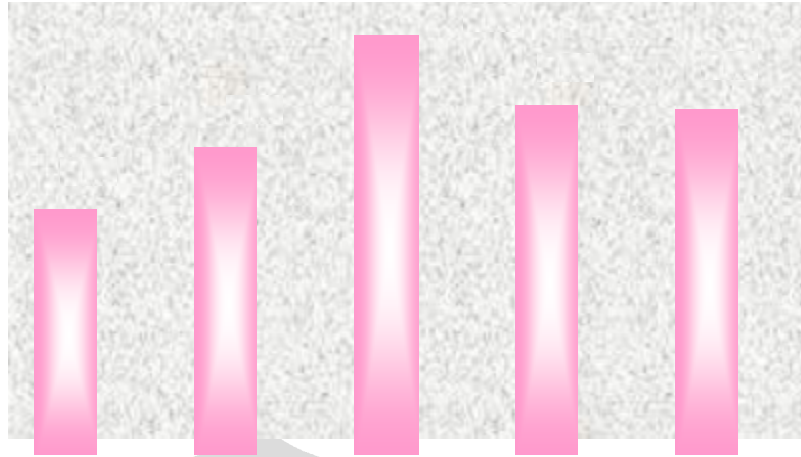
Seluruh media perlakuan pada pengamatan hari ke-10 hingga hari ke-15 tidak lagi mengalami peningkatan nilai pH (Gambar 3). Pada pengamatan hari ke-9 nilai pH media perlakuan pH awal 5 meningkat menjadi 6,5,



Keterangan: A: Hari ke-0  
B: Hari ke-7  
C: Hari ke-14

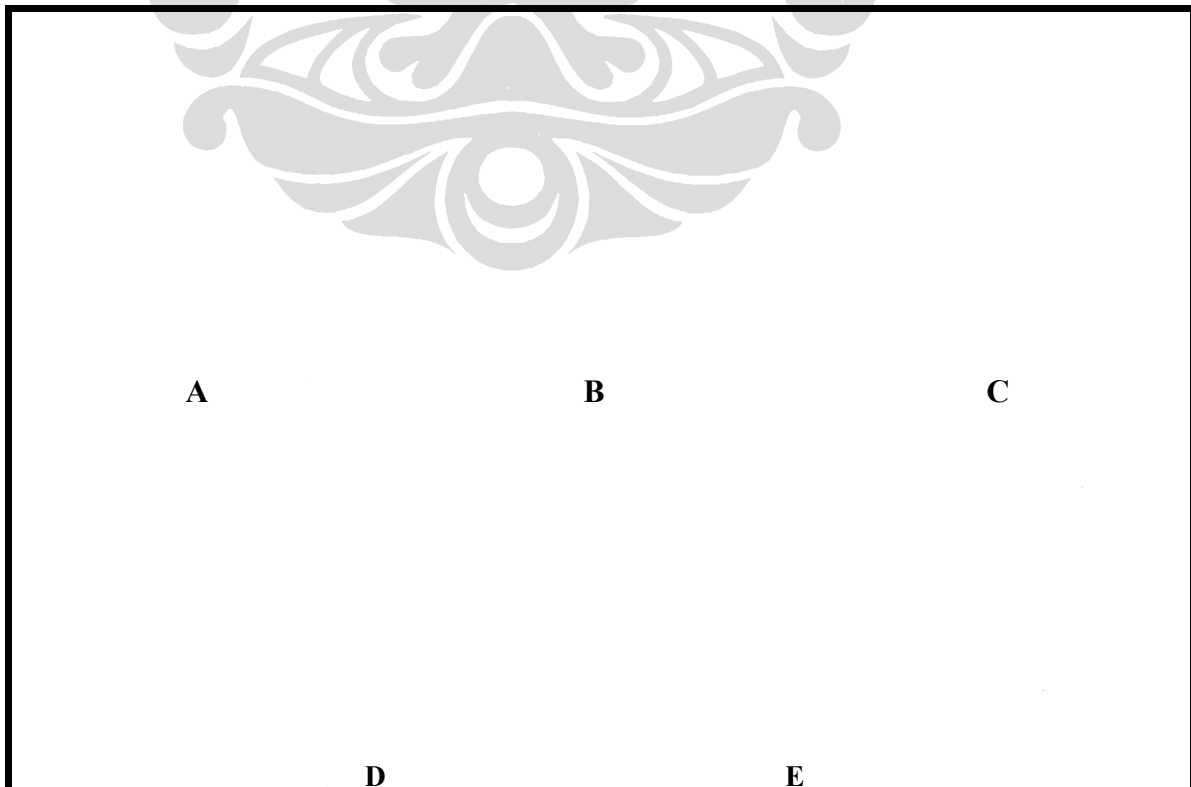
**Gambar 1.** Kultur mikroalga marga *Chlorella* dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan nilai pH awal berbeda

**Gambar 2.** Grafik logaritma rerata kerapatan sel mikroalga marga *Chlorella* dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan nilai pH awal berbeda.



**Gambar 4.** Diagram batang rerata kerapatan sel mikroalga marga *Chlorella* pada saat *peak* dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan nilai pH awal berbeda

perlakuan pH awal 6 dan 7 meningkat menjadi 8,5, dan perlakuan pH awal 8 meningkat menjadi 9, sedangkan pada perlakuan pH awal 9 meningkat menjadi 9,5. Menurut Cole [24], pH yang tidak dapat meningkat lagi disebabkan adanya sistem *buffer* alami berupa gas CO<sub>2</sub> terlarut yang terdapat dalam media kultur. Gas CO<sub>2</sub> terlarut yang terdapat dalam media akan menjadi asam karbonat yang akan terurai menjadi ion-ion karbonat dan ion bikarbonat. Reaksi kesetimbangan antara CO<sub>2</sub> terlarut, asam karbonat, ion bikarbonat, dan ion karbonat akan menyebabkan nilai pH bergeser pada kisaran 6-9 dan tidak meningkat lagi [22].



Keterangan:	A: pH awal 5
	B: pH awal 6
	C: pH awal 7
	D: pH awal 8
	E: pH awal 9

Gambar 4. Grafik nilai pH media perlakuan selama 15 hari pengamatan

Kurva pertumbuhan (Gambar 2) *Chlorella* selama 15 hari pengamatan menunjukkan bahwa sel *Chlorella* tidak mengalami fase adaptasi. Fase adaptasi kemungkinan terjadi sangat singkat yaitu sebelum 24 jam (pengamatan hari ke-1).

Menurut Fogg dan Thake [25], salah satu faktor yang menentukan lamanya fase adaptasi adalah umur kultur yang digunakan sebagai inokulum. Fase adaptasi akan menjadi lebih singkat atau bahkan tidak terlihat apabila sel-sel yang diinokulasikan berasal dari kultur yang berada dalam fase eksponensial. Fase adaptasi tidak terlihat secara jelas pada semua media perlakuan kemungkinan juga disebabkan sel-sel yang diinokulasikan cepat beradaptasi terhadap media kultur yang baru, mampu tumbuh dan membelah dengan cepat.

Sel-sel pada kelima media perlakuan tidak mencapai waktu *peak* pada saat yang sama. Media perlakuan pH awal 5 mencapai *peak* pada hari ke-9, media perlakuan pH awal 6,7,8, mencapai *peak* pada hari ke-10, sedangkan media perlakuan pH awal 9 mencapai *peak* pada hari ke-11. Waktu pencapaian *peak* yang berbeda-beda disebabkan perbedaan nilai pH awal dari masing-masing media perlakuan.

Setelah mencapai *peak*, jumlah sel *Chlorella* cenderung tetap yang menandakan kultur mulai memasuki fase stasioner. Lamanya fase stasioner dari kelima media perlakuan berkisar dari hari ke-10 sampai 14. Fase stasioner terjadi karena nutrisi dalam media sudah sangat berkurang sehingga tidak mencukupi untuk pertumbuhan dan pembelahan sel.

Setelah fase stasioner kerapatan sel mengalami penurunan yang menandakan kultur telah memasuki fase kematian. Pada penelitian, penurunan kerapatan sel tidak terjadi secara signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan nutrisi dalam media masih mendukung sel untuk bertahan hidup. Penurunan kerapatan sel juga disebabkan karena intensitas cahaya yang dapat ditangkap oleh sel dalam kultur berkurang akibat populasi sel yang semakin padat. Bila cahaya yang ditangkap oleh *Chlorella* berkurang maka laju fotosintesis berjalan lambat, sehingga mengakibatkan pertumbuhan sel menurun.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nilai derajat keasaman (pH) awal MET berpengaruh terhadap kerapatan sel *Chlorella* pada saat *peak*. Kerapatan sel tertinggi (5.677.625 sel/ml) saat *peak* adalah pada MET dengan pH awal 7 yang dicapai pada pengamatan hari ke-10, sedangkan kerapatan sel terendah (3.374.100 sel/ml) diperoleh pada MET dengan pH awal 5 pada pengamatan hari ke-9. Derajat keasaman (pH) awal 7 sebaiknya digunakan dalam aplikasi selanjutnya yang menggunakan Medium Ekstrak Tauge (MET).

#### Daftar Acuan

- [1] S. Wirosaputro, *Chlorella: Makanan Kesehatan Global* Buku I, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 1998.
- [2] D. Steenblock, *Chlorella: Makanan Sehat Alami*, terjemahan, Muhilal dan U. L. Siagian, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 2000.
- [3] B.R. Vashishta, *Botany Part I: Algae*, 8th ed., S. Chand & Company Ltd., New Delhi, 1999.
- [4] M. Sachlan, *Planktonologi*, Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Diponegoro, Semarang, 1982.
- [5] C.S. Reynolds, *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*, Cambridge University Press, Cambridge, 1984.
- [6] T. Christmadha, Nofdianto, Rosidah, Y. Mardianti, *Prosiding Hasil Penelitian dan Pengembangan Limnologi*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Limnologi LIPI, Cibinong, 1998, p.350.
- [7] D.S. Anderson, R. Davis, M.S. Ford, *Journal of Phycology* 29 (1993) 264.
- [8] A.E. Richmond, *CFC Critical Review in Biotechnology* 4 (1986) 368.
- [9] Danish Institute for Food And Veterinary Research, *Danish Food Composition*, <http://foodcomp.dk/fcdb.det>, 2004.

- [10] M. Gibbs, In: R.A. Lewin (Ed.), *Physiology and Biochemistry of Algae*, Academic Press, New York, 1962, p.61.
- [11] H.W. Nichols, In: J.R Stein (Ed.), *Handbook of Physiological Methods, Culture Methods & Growth Measurement*, Cambridge University Pres, Cambridge, 1973, p.7.
- [12] H. Lorenzen, In: E. Zeuthen (Ed.), *Synchrony in Cell Division and Growth*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1964, p.571.
- [13] E.I. Adil, *Penuntun Praktikum Fisiologi Hewan*, Jurusan Biologi FMIPA-UI, Depok, 2001, p.57.
- [14] S. Santoso, *SPSS versi 10: Mengolah Data Statistik Secara Profesional*, PT Elex Media Komputindo Gramedia, Jakarta, 2000.
- [15] E. W. Becker, *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*, Cambridge University Press, Cambridge, 1994.
- [16] M. H. Wong, C. C. Lay, *Enviromental Pollution Seri A 23 (1980) 247*.
- [17] C.R. Goldman, A. J. Horne, *Limnology*, McGraw-Hill, Inc., Auckland, 1983.
- [18] L.E. Graham, L.W. Wilcox, *Algae*, Prentice Hall, Inc., New Jersey, 2000.
- [19] A.C. Giese, *Cell Physiology*, 4th ed., Saunders Company, Philadelphia, 1973.
- [20] A.E. Lane, J.E. Burris, *Plant Physiol* 68 (1981) 439.
- [21] C. Soeder, E. Stengel, In: W.D.P. Stewart (Ed.), *Algal Physiology and Biochemistry*, Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1974, p.714.
- [22] P. Sze, *A Biology of the Algae*, 2nd ed., Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, 1993.
- [23] W.M. Darley, *Algal Biology: a Physiological Approach*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1982.
- [24] G.A. Cole, *Textbook of Limnology*, Waveland Press Inc., Illinois, 1994.
- [25] G.E. Fogg, B. Thake, *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*, 3rd ed., The University of Wisconsin Press, Wisconsin, 1987.

