

PENGARUH KONSENTRASI MEDIUM EKSTRAK TAUGE (MET) TERHADAP PERTUMBUHAN *Scenedesmus* ISOLAT SUBANG

Nining Betawati Prihantini, Dini Damayanti, dan Ratna Yuniati

Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia

E-mail: ning@ui.edu; nprihantini@hotmail.com

Abstrak

Penelitian untuk mengetahui pengaruh beberapa konsentrasi Medium Ekstrak Tauge (MET) terhadap kerapatan sel mikroalga marga *Scenedesmus* Meyen selama 10 hari pengamatan telah dilakukan. Penelitian bersifat eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap terdiri atas 8 perlakuan, yaitu MET 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, akuabides, dan Medium Basal Bold (MBB). Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi MET mempengaruhi kerapatan sel *Scenedesmus*. Rerata kerapatan sel tertinggi (3.981.071 sel/mL) pada saat *peak* terjadi dalam media perlakuan MET 4% pada pengamatan hari ke-7. Rerata kerapatan sel terendah (87.096 sel/mL) pada saat *peak* terjadi dalam media perlakuan akuabides pada pengamatan hari ke-3. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan rerata kerapatan sel *Scenedesmus* (sel/ml) ($p > 0,05$) antarmedia perlakuan. Hasil uji perbandingan berganda menunjukkan rerata kerapatan sel *Scenedesmus* berbeda sangat nyata ($p > 0,05$) antara media perlakuan akuabides dengan MET 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, dan MBB.

Abstract

The effect of Tauge Extract Medium (TEM) concentration to the growth of Subang isolated *Scenedesmus*. Research on the effect of several concentration of Tauge Extract Medium (TEM) to *Scenedesmus* Meyen cell densities was conducted. The research was an experimental study with complete random design with 8 treatments, i.e. 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6% TEM, aqua bides, and Bold Basal Medium (BBM). The results showed that TEM concentration effected cell densities of *Scenedesmus*. At peak condition, the highest cell density (3.981.071 sel/mL) was occurred in 4% at the day of seven, and the lowest cell density (87.096 sel/mL) in aqua bides at the day of three. Kruskal-Wallis test showed that there were differences between the mean of cell densities on all treatment media. Multiple comparison test showed that mean of cell numbers of *Scenedesmus* differed among treatments (p value $> 0,05$) between aqua bides with 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, and BBM.

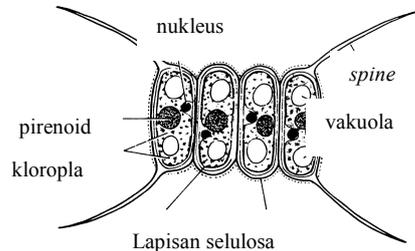
Keywords: *Scenedesmus*, cell densities, tauge extract medium, concentration

1. Pendahuluan

Scenedesmus merupakan mikroalga yang bersifat kosmopolit. Sebagian besar *Scenedesmus* dapat hidup di lingkungan akuatik seperti perairan tawar dan payau [1]. *Scenedesmus* juga ditemukan di tanah atau tempat yang lembab [2].

Sel *Scenedesmus* berbentuk silindris dan umumnya membentuk koloni (Gambar 1) [3]. Koloni *Scenedesmus* terdiri dari 2, 4, 8, atau 16 sel tersusun secara lateral [1]. Ukuran sel bervariasi, panjang sekitar 8--20 μm dan lebar sekitar 3--9 μm [4]. Struktur sel *Scenedesmus* sederhana. Sel *Scenedesmus* diselubungi oleh dinding yang tersusun atas tiga lapisan, yaitu lapisan dalam yang merupakan lapisan selulosa, lapisan tengah merupakan lapisan tipis yang strukturnya seperti membran, dan lapisan luar, yang menyelubungi sel dalam koloni. Lapisan luar berupa lapisan seperti jaring yang tersusun atas pektin dan dilengkapi oleh *bristles* [5,6].

Scenedesmus dapat melakukan reproduksi aseksual maupun seksual. Reproduksi aseksual terjadi melalui pembentukan autokoloni, yaitu setiap sel induk membentuk koloni anakan yang dilepaskan melalui sel induk yang pecah terlebih dahulu [6]. Beberapa spesies *Scenedesmus* dapat melakukan reproduksi seksual dengan pembentukan zoospora biflagel dan isogami [7].



Gambar 1. Morfologi dan struktur *Scenedesmus*

Scenedesmus dapat dimanfaatkan sebagai makanan tambahan dalam bentuk PST (Protein Sel Tunggal), pakan alami, dan pakan ternak karena memiliki kandungan gizi tinggi. *Scenedesmus* mengandung 55% protein, 13% karbohidrat, asam-asam amino, vitamin, dan serat. *Scenedesmus* juga mengandung vitamin seperti vitamin B₁, B₂, B₁₂, dan vitamin C [8].

Perbanyakan biomassa *Scenedesmus* dapat dimanipulasi menggunakan teknik kultur. Kultur mikroalga membutuhkan optimasi berbagai faktor pendukung hidup untuk memperoleh biomassa yang tinggi. Keberhasilan teknik kultur bergantung pada kesesuaian antara jenis mikroalga yang dibudidayakan dan beberapa faktor lingkungan. Brown pada tahun 1991 (*lihat* [9]) menyatakan bahwa upaya untuk meningkatkan produksi biomassa dapat dilakukan dengan memanipulasi faktor lingkungan seperti cahaya, kadar CO₂, suhu, pH, salinitas, bentuk wadah kultur, dan media.

Media kultur merupakan salah satu faktor yang penting untuk pemanfaatan mikroalga. Media kultur mengandung makronutrien dan mikronutrien yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroalga. Komposisi nutrien yang lengkap dan konsentrasi nutrien yang tepat menentukan produksi biomassa dan kandungan gizi mikroalga [10].

Media yang umum digunakan untuk kultur mikroalga adalah media sintetik dan alami [11]. Media sintetik terdiri dari senyawa-senyawa kimia yang komposisi dan jumlahnya telah ditentukan [12]. Medium Basal Bold (MBB) merupakan media sintetik yang umum digunakan dalam kultur mikroalga Chlorophyta [2,13]. Sedangkan media alami dibuat dari bahan-bahan alami, seperti air kelapa [14]. Media alami juga dapat diperoleh dari limbah pembuatan produk tertentu, seperti limbah pengolahan produk kacang kedelai, limbah minuman teh [15], limbah cair tahu dan tapioka [16].

Selain media tersebut diatas, ekstrak tauge juga dapat digunakan sebagai media alami bagi pertumbuhan mikroalga. Tauge kacang hijau merupakan jenis sayuran yang umum dikonsumsi, mudah diperoleh, ekonomis, dan tidak menghasilkan senyawa yang berefek toksik. Tauge kacang hijau mengandung makronutrien, mikronutrien, vitamin, asam amino, serta gula yang dibutuhkan bagi pertumbuhan mikroalga [17].

Penggunaan ekstrak tauge sebagai media kultur mikroalga yang disebut dengan Medium Ekstrak Tauge (MET) telah dilakukan terhadap *Chlorella*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa MET dapat digunakan sebagai media kultur mikroalga marga *Chlorella* [18]. Mengacu pada hasil penelitian tersebut dilakukan penelitian menggunakan MET 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6% untuk menumbuhkan mikroalga marga lain, yaitu *Scenedesmus*. Oleh karena itu, penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi MET terhadap kerapatan sel *Scenedesmus* Meyen selama 10 hari pengamatan. Hipotesis penelitian adalah konsentrasi MET berpengaruh terhadap rerata kerapatan sel *Scenedesmus*.

2. Metode Penelitian

Sampel *Scenedesmus* Meyen yang digunakan dalam penelitian berasal dari Koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA-UI hasil isolasi dari Subang, Jawa Barat. Penelitian dilakukan di Ruang Kultur Alga, Departemen Biologi FMIPA UI dengan kondisi rak kultur, yaitu suhu 22 – 23⁰ C, kelembapan 78 – 87 %, dan

intensitas cahaya 1025 – 2620 lux. Penelitian bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (Complete Random Design) yang terdiri atas delapan macam perlakuan dan tiga ulangan untuk setiap perlakuan. Perlakuan yang diberikan, yaitu. (1) Perlakuan I, MET konsentrasi 1%; (2) Perlakuan II, MET konsentrasi 2%; (3) Perlakuan III, MET konsentrasi 3%; (4) Perlakuan IV, MET konsentrasi 4%; (5) Perlakuan V, MET konsentrasi 5%; (6) Perlakuan VI, MET konsentrasi 6%; (7) Perlakuan VII, Medium Basal Bold (MBB)(kontrol positif); (8) Perlakuan VIII, Akuabides (kontrol negatif).

Penelitian dimulai dengan pembuatan medium perlakuan yang terdiri dari Medium Basal Bold (MBB) dan Medium Ekstrak taugé (MET). Pembuatan MBB sesuai dengan Nichols 1973 [19], sedangkan Proses pembuatan MET diawali dengan proses pengecambahan biji kacang hijau sehingga dihasilkan taugé. Biji kacang hijau dicuci hingga bersih kemudian direndam selama 12 jam pada suhu ruang. Biji kacang hijau ditiriskan dan disebarakan pada wadah yang berpori, kemudian dikecambahkan selama 48 jam. Selama proses perkecambahan, dilakukan penyiraman sebanyak 4--5 kali sehari.

Tahap pembuatan MET dilanjutkan dengan membuat larutan stok (b/v). Sebelum diolah, taugé kacang hijau seberat 100 g dicuci di bawah air mengalir untuk membersihkannya. Taugé tersebut kemudian direbus dalam 500 ml akuades yang mendidih selama 1 jam. Air rebusan taugé berupa ekstrak disaring menggunakan kain kassa dan kapas agar terpisah dari taugé. Selanjutnya, ekstrak taugé disterilisasi secara bertahap (tyndalisasi) pada suhu 100° C selama 1 jam, dilakukan tiga kali berturut-turut dengan selang waktu 24 jam.

Media perlakuan yang terdiri dari MET dengan konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6% dibuat dari larutan stok (v/v). Konsentrasi media 1% dibuat dengan menambahkan 1 ml stok MET dengan 99 ml akuabides. Selanjutnya, untuk MET 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6% sebanyak 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5ml, dan 6 ml stok MET dicampurkan dengan akuabides sebanyak 98, 97, 96, 95, dan 94 ml.

Selanjutnya dilakukan pemurnian kultur *Scenedesmus* menggunakan metode pengenceran. Sebanyak 1 ml biakan *Scenedesmus* dari kultur koleksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml MBB kemudian dicampur hingga homogen. Selanjutnya dari kultur tersebut diambil 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua. Proses tersebut dilakukan hingga tabung reaksi keempat. Kultur selanjutnya diletakkan di rak kultur dan diinkubasi selama 30 hari dengan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap. Kultur *Scenedesmus* yang tumbuh dengan baik dan murni (tanpa kontaminan) diperbanyak lagi secara bertahap hingga didapatkan 100 ml kultur murni *Scenedesmus*.

Sebelum digunakan sebagai inokulum, biakan kultur persediaan diremajakan pada media perlakuan. Selanjutnya biakan kultur diletakkan di rak kultur dan diinkubasi dengan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap. Sel yang telah berada dalam tahap pertumbuhan yang seragam digunakan sebagai inokulum.

Penginkulasian sel *Scenedesmus* dilakukan dengan cara sebagai berikut. Kerapatan sel yang diinokulasikan sebesar 50.000 sel/ml disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan biomassa mikroalga *Scenedesmus* dari media. Supernatan dibuang dan endapan sel diinokulasikan ke dalam 60 ml media perlakuan. Selanjutnya labu kultur perlakuan diletakkan di rak kultur dan diberi pencahayaan dari dua buah lampu TL masing-masing berkekuatan 36 watt. Lampu diletakkan sejajar di samping kiri dan kanan rak kultur dengan jarak kurang lebih 10 cm dari labu kultur dengan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap. Penghitungan jumlah sel untuk mendapatkan data kerapatan sel dilakukan setiap 24 jam sekali mulai t_0 (hari ke-0) hingga t_{10} (hari ke-10). Sebanyak 1 ml kultur diambil secara aseptik dari tiap-tiap labu kultur menggunakan pipet Pasteur dan diletakkan ke dalam botol sampel. Selanjutnya, kultur diletakkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer*. Sel dihitung dengan bantuan mikroskop. Sel *Scenedesmus* yang dihitung adalah seluruh sel yang hidup, berwarna hijau, baik dalam bentuk uniseluler atau koloni.

Data jumlah sel yang diperoleh dari hasil penghitungan jumlah sel menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer* pada *Haemocytometer*, selanjutnya digunakan untuk menghitung kerapatan sel. Kerapatan sel *Scenedesmus* dihitung dengan rumus $k = n \times p \times 2500$, dengan k = kerapatan sel *Scenedesmus* (sel/ml), n = jumlah total sel dalam 4 kotak kamar hitung *Improved Neubauer* (white), dan p adalah tingkat pengenceran yang digunakan [20]. Laju pertumbuhan dihitung menggunakan rumus Hirata, yaitu $k = \log_{10} (N_t - N_0) / (t) \times 3,22$ dengan k = laju pertumbuhan, N_t = kerapatan sel pada waktu t (sel/ml), N_0 = kerapatan sel pada saat awal inokulasi, dan t = waktu (hari) [21].

Nilai pH kultur setiap perlakuan diukur setiap 24 jam sekali pada kesempatan yang bersamaan dengan dilakukannya penghitungan jumlah sel *Scenedesmus*. Pengukuran pH dilakukan dengan cara menyelupkan kertas pH ke dalam sampel kultur yang akan dihitung hingga seluruh warna indikator pada ujung kertas pH terbasahi media, kemudian mencocokkan warna yang terbentuk pada kertas pH dengan warna pada kemasan pH indikator.

Pengukuran kadar klorofil dilakukan pada hari pertama (t_0) dan hari terakhir (t_{10}). Pengukuran dilakukan dengan cara sebagai berikut. Sebanyak 10 ml sampel kultur disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang sedangkan endapannya diambil. Endapan biomassa sel *Scenedesmus* ditambahi aseton 90% sehingga volume akhir menjadi 10 ml lalu dimasukkan kedalamnya beberapa butir *glass bead*. Penggunaan *glass bead* bertujuan untuk memecah dinding sel *Scenedesmus*. Suspensi tersebut kemudian divorteks selama 20 menit dan disentrifugasi kembali. Supernatan kemudian diambil untuk diperiksa menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 663 nm dan 645 nm, sedangkan endapannya dibuang. Nilai absorbansi yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam rumus penghitungan kadar klorofil berdasarkan Meeks [22].

Kondisi lingkungan ruang kultur dicatat setiap hari selama penelitian berlangsung. Pencatatan tersebut meliputi suhu ruang ($^{\circ}\text{C}$) diukur dengan termometer udara, kelembapan ruang kultur (%) diukur dengan higrometer, dan intensitas cahaya (lux) di sekitar rak kultur diukur dengan luxmeter.

Data kerapatan sel setelah 10 hari pengamatan terlebih dahulu ditransformasikan ke dalam bentuk log x untuk memperkecil kisarannya. Data tersebut kemudian diuji dengan uji normalitas Khi-kuadrat [23], dan uji homogenitas Bartlett [24]. Hasil uji tersebut menyimpulkan bahwa data penelitian tidak berdistribusi normal dan homogen. Pengujian dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antara konsentrasi media perlakuan terhadap rerata kerapatan sel [25]. Hasil uji menunjukkan bahwa konsentrasi Medium Ekstrak Tauge (MET) berpengaruh terhadap kerapatan sel *Scenedesmus*. Data dianalisis lebih lanjut dengan uji perbandingan berganda untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rerata kerapatan sel antar perlakuan [26].

3. Hasil dan Pembahasan

Kerapatan Sel *Scenedesmus*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kultur yang ditumbuhkan dalam MET, MBB, dan akuabides menghasilkan rerata kerapatan sel yang berbeda. Hal tersebut menandakan bahwa media perlakuan yang digunakan berpengaruh terhadap rerata kerapatan sel *Scenedesmus*. Rerata kerapatan sel *Scenedesmus* selama penelitian pada masing-masing media perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Pengaruh media perlakuan terhadap kerapatan sel *Scenedesmus* juga dibuktikan dengan uji statistik. Hasil uji Kruskal-Wallis terhadap rerata kerapatan sel (log x) selama 10 hari pengamatan (Gambar 2) menunjukkan adanya pengaruh media perlakuan terhadap rerata kerapatan sel *Scenedesmus*. Hasil uji perbandingan berganda, menunjukkan perbedaan sangat nyata antara medium akuabides dengan MET 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, dan MBB. Perbedaan nyata terjadi antara MET 5% dengan MET 2% dan MET 1%, MET 1% dengan MET 2% dan MBB, MBB dengan MET 3%. Tidak terdapat perbedaan nyata antara MET 6% dengan MET 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan MBB; antara MET 5% dengan MET 3%, 4%, dan MBB; antara MET 1% dengan MET 3% dan MET 4%; antara MET 2% dengan MET 3%, MET 4%, dan MBB; antara MBB dengan MET 4%; serta antara MET 3% dengan MET 4%.

Tabel 1. Data rerata kerapatan sel *Scenedesmus* dalam media perlakuan MET, MBB, dan akuabides

P erlakuan	Rerata kerapatan sel mikroalga marga <i>Scenedesmus</i> (sel/ml) hari (t) ke-										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
MET 1%	53.703	31.458	90.208	243.333	178.125	472.500	693.750	918.750	812.830	776.247	741.310
MET 2%	48.286	63.958	47.542	321.667	367.500	503.750	1.187.500	1.348.962	1.122.018	1.174.897	1.096.478
MET 3%	48.929	43.541	108.750	331.667	481.875	1.485.000	1.627.500	2.353.750	2.396.250	1.862.087	1.621.810
MET 4%	47.188	47.083	60.764	331.667	823.125	1.268.750	1.405.883	3.981.071	3.019.951	2.570.395	2.454.708
MET 5%	47.857	35.833	50.000	142.500	312.500	518.750	490.000	577.500	898.750	541.250	501.187
MET 6%	50.357	37.083	50.000	139.167	225.000	318.750	428.750	512.861	660.693	616.595	537.031
BBM (+)	52.480	87.096	144.543	436.515	630.957	1.174.897	1.103.292	851.138	776.247	691.830	575.439
Akuabides	47.863	26.915	53.703	87.096	29.512	26.915	19.952	16.218	15.848	14.125	10.471

Keterangan

= Rerata kerapatan sel *Scenedesmus* saat *peak*

Gambar 2. Grafik logaritma rerata kerapatan sel *Scenedesmus* dalam media perlakuan MET, MBB, dan akuabides

Rerata kerapatan sel (Tabel 1) meningkat selama 10 hari pengamatan, kecuali pada kultur yang ditumbuhkan dalam akuabides. Peningkatan rerata kerapatan sel tersebut menandakan bahwa sel-sel *Scenedesmus* dapat beradaptasi dan tumbuh dalam MET maupun MBB. Hal tersebut menandakan nutrisi dalam MET dapat diserap dan dimanfaatkan oleh sel *Scenedesmus* untuk pertumbuhannya. Media perlakuan MET mengandung nutrisi organik seperti karbohidrat, protein, dan lemak yang dibutuhkan sebagai sumber energi bagi *Scenedesmus*. Karbohidrat, protein, dan lemak bila diuraikan menjadi monomer-monomer penyusunnya, pada akhirnya akan menjadi asetil KoA. Selanjutnya, asetil KoA masuk ke dalam siklus Krebs, dilanjutkan dengan rantai transpor elektron yang akan menghasilkan ATP. Energi yang terkandung dalam ATP tersebut digunakan untuk pertumbuhan dan pembelahan sel *Scenedesmus*.

Media perlakuan MET juga mengandung nutrisi anorganik seperti K, P, Ca, Mg, Na, Fe, Zn, Mn, dan Cu [27]. Nutrisi anorganik yang tergolong makronutrien, yaitu K, P, Ca, Mg, dan Na dibutuhkan oleh sel *Scenedesmus* sebagai komponen penyusun sel. Mikronutrien seperti Fe, Zn, Mn, dan Cu dibutuhkan oleh sel baik sebagai kofaktor enzim, maupun sebagai komponen pembentuk klorofil. Emerson dan Lewis (1939) melaporkan bahwa Mn, Zn, Cu, Mo, B, Ti, Cr, dan Co yang terdapat dalam media kultur akan mengefektifkan fotosintesis pada *Chlorella pyrenoidosa* [28]. Fotosintesis yang berlangsung efektif akan mempengaruhi produk yang dihasilkan. Kemungkinan yang sama juga terjadi pada kultur *Scenedesmus* dalam penelitian ini.

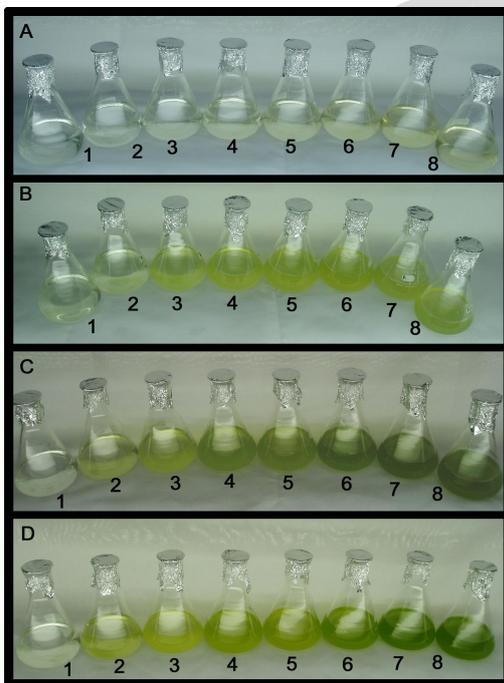
Di dalam MET juga terdapat beberapa vitamin (tiamin, riboflavin, piridoksin, niasin, triptofan, asam pantotenat, folasin, vitamin C, dan K). Vitamin berperan sebagai *growth factor* dalam pertumbuhan alga. Droop (1962) menyatakan bahwa vitamin yang dibutuhkan bagi pertumbuhan alga, antara lain tiamin, kobalamin, dan biotin [29]. Tiamin berfungsi dalam reaksi α -dekarboksilasi dan transketolase. Kobalamin berfungsi untuk sintesis deoksiribosa. Biotin berfungsi dalam sintesis asam lemak, β -dekarboksilasi, dan fiksasi karbondioksida [12].

Peningkatan rerata kerapatan sel juga dapat dilihat dari perubahan warna kultur. Warna kultur mikroalga merupakan warna pigmen utama yang terdapat dalam sitoplasma sel, yaitu klorofil. Pada pengamatan hari ke-0 (saat inokulasi), kultur *Scenedesmus* yang ditumbuhkan dalam MET, MBB, dan akuabides terlihat bening (Gambar 3A). Kondisi tersebut disebabkan karena jumlah sel inokulum belum sebanding dengan volume media. Selain itu, perbandingan antara volume media dengan kadar klorofil belum dapat memberikan warna pada kultur. Pada hari ke-0, kadar klorofil juga belum terdeteksi dengan alat Spectronic 20 Milton Roy Company. Pada hari ke-3 pengamatan, kultur *Scenedesmus* yang ditumbuhkan dalam MET dan MBB terlihat berwarna hijau muda (Gambar 3B). Pada pengamatan hari ke-6 (Gambar 3C), kultur dalam MBB, MET 1%, MET 2%, dan MET 3% berwarna hijau muda, kultur dalam MET 4% berwarna hijau apel, dan

Tabel 2. Data nilai kadar klorofil kultur *Scenedesmus* pada pengamatan hari ke-10

Media perlakuan	Total klorofil (mg/L)	Klorofil a (mg/L)	Klorofil b (mg/L)
MET 1%	1,70212	0,4066	1,29796
MET 2%	2,91944	0,87788	2,04632
MET 3%	3,08074	0,92524	2,16052
MET 4%	3,46424	0,94301	2,52662
MET 5%	8,02224	1,98819	6,04602
MET 6%	10,18896	2,33298	7,87068
MBB	1,15702	0,41041	0,74866
Akuabides	-	-	-

Keterangan: - = tidak terdeteksi



Keterangan:

- A. Pengamatan makroskopis hari ke-0
 B. Pengamatan makroskopis hari ke-3
 C. Pengamatan makroskopis hari ke-6
 D. Pengamatan makroskopis hari ke-10

1. Akuabides
 2. M
 3. MET 3%
 4. MET 4%
 5. MET 5%
 6. MET 6%

Gambar 3. Visual makroskopik kultur *Scenedesmus* Meyen dalam media perlakuan MET, MBB, dan akuabides

kultur dalam MET 5% dan MET 6% berwarna hijau lumut. Pada pengamatan hari ke-10 (Gambar 3D), kultur dalam MBB dan MET 1% berwarna hijau muda, kultur dalam MET 2%, dan MET 3% berwarna hijau apel dan kultur dalam MET 4%, 5%, 6% berwarna hijau tembaga (berdasarkan panduan warna Castell-Polychromes 9216). Perubahan warna hijau kultur mulai dari hijau muda hingga hijau tembaga menunjukkan bahwa populasi sel meningkat seiring dengan bertambahnya umur kultur.

Gradasi warna hijau kultur selain menunjukkan peningkatan populasi sel, juga mengindikasikan kadar klorofil yang terkandung dalam sel. Pada pengamatan hari ke-10, dilakukan pengukuran kadar klorofil. Hasil pengukuran menunjukkan peningkatan konsentrasi MET menghasilkan kadar klorofil yang meningkat pula. Kadar klorofil (Tabel 2)

masing-masing media perlakuan sebagai berikut. MET 1% (1,70212 mg/l), MET 2% (2,91944 mg/l), MET 3% (3,08074 mg/l), MET 4% (3,46424 mg/l), MET 5% (8,02224 mg/l), MET 6% (10,18896 mg/l), MBB (1,15702 mg/l), dan dalam media perlakuan akuabides tidak terdeteksi.

Kultur yang ditumbuhkan dalam MET 6% menghasilkan klorofil dengan kadar tertinggi, yaitu sebesar 10,18896 mg/l. Hal tersebut terjadi kemungkinan karena unsur-unsur komponen pembentuk klorofil tersedia dalam jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan MET konsentrasi yang lebih rendah (1%, 2%, 3%, 4%, dan 5%). Media perlakuan MET dan MBB mengandung nutrisi yang diperlukan untuk pembentukan klorofil, antara lain N, Mg, Fe, Mn, dan Zn. Asam amino glisin dan derivatnya yaitu asam δ -amino levulinat (ALA) merupakan prazat molekul klorofil. Magnesium (Mg) merupakan komponen klorofil. Besi (Fe) berperan dalam sintesis klorofil dan sintesis protein-protein penyusun kloroplas. Mangan (Mn) merupakan komponen struktural membran kloroplas. Seng (Zn) diperlukan dalam proses pembentukan klorofil dan mencegah kerusakan molekul klorofil [30,31].

Rerata kerapatan sel tertinggi saat *peak* dicapai oleh kultur dalam MET 4% (3.981.071 sel/ml). Rerata kerapatan sel lebih rendah dicapai oleh kultur dalam MET 3% (2.396.250 sel/ml), MET 2% (1.348.962 sel/ml), MBB (1.174.897 sel/ml), MET 1% (918.750 sel/ml), MET 5% (898.750 sel/ml), MET 6% (660.693 sel/ml). Rerata kerapatan sel paling rendah dicapai oleh kultur dalam akuabides, yaitu sebesar 87.096 sel/ml (Tabel 1). Waktu yang diperlukan untuk mencapai *peak* bervariasi antara 3--8 hari.

Hasil kerapatan sel (sel/ml) yang berbeda-beda tersebut disebabkan oleh perbedaan konsentrasi MET. Data tersebut di atas menunjukkan bahwa konsentrasi MET yang optimum untuk pertumbuhan sel *Scenedesmus* terdapat pada kisaran 2--4%. Kerapatan sel pada MET 2--4% lebih tinggi dibandingkan kerapatan sel dalam MBB (kontrol positif). Medium Ekstrak Tauge 4% menghasilkan kerapatan sel tertinggi (3.981.071 sel/ml) saat *peak*. Kemungkinan konsentrasi dan kelengkapan komposisi nutrisi yang terlarut dalam MET 4% sesuai dengan kebutuhan sel *Scenedesmus* sehingga *Scenedesmus* tumbuh baik. Hasil penelitian didukung penelitian Chrismadha & Nofdianto (1994) yang memperlihatkan adanya suatu konsentrasi optimum untuk mencapai pertumbuhan mikroalga yang maksimum [10].

Medium Ekstrak Tauge 1% menghasilkan kerapatan sel rendah (918.750 sel/ml) dibandingkan dengan MET 2%, 3%, dan 4% (Tabel 1). Konsentrasi nutrisi di dalam MET 1% semakin berkurang akibat pengenceran. Hal tersebut kemungkinan menyebabkan konsentrasi dan kelengkapan komposisi nutrisi yang ada dalam MET 1% tidak mencukupi kebutuhan sel *Scenedesmus*. Berdasarkan O'Kelley tahun 1968, kekurangan unsur N dan Mg (makronutrien) mempengaruhi pembentukan klorofil [22]. Sementara itu, kekurangan mikronutrien seperti Mn dapat mempengaruhi proses fotosintesis karena Mn merupakan aktivator enzim pada reaksi terang fotosintesis [30,32]. Hal tersebut akan mempengaruhi laju fotosintesis. Laju fotosintesis menentukan kuantitas produk (karbohidrat) yang dihasilkan. Karbohidrat hasil fotosintesis oleh mikroalga selain digunakan untuk pertumbuhan juga untuk respirasi selular. Apabila hasil fotosintesis berkurang, maka karbohidrat yang tersisa setelah sebagian digunakan dalam proses respirasi tidak mencukupi untuk pertumbuhan sel.

Rerata kerapatan sel lebih rendah pada konsentrasi MET 5% (898.750 sel/ml) dan MET 6% (660.693 sel/ml). Hal tersebut kemungkinan terjadi karena nutrisi yang terkandung dalam konsentrasi media tersebut, melebihi nutrisi yang seharusnya dibutuhkan oleh *Scenedesmus*. Selain itu, konsentrasi nutrisi dalam media mempengaruhi transpor nutrisi ke dalam sel *Scenedesmus*. Menurut Fogg & Thake (1987), laju penyerapan nutrisi mengikuti persamaan sebagai berikut. $V = V_{\max} \cdot S / K_s + S$, dengan V = Laju penyerapan nutrisi, V_{\max} = Laju maksimum, S = konsentrasi nutrisi, dan K_s = suatu konstanta numerik yang ekuivalen dengan konsentrasi nutrisi dimana $V = \frac{1}{2} V_{\max}$ [33].

Berdasarkan persamaan tersebut, semakin tinggi konsentrasi nutrisi maka laju penyerapan nutrisi semakin besar. Pada MET 5% dan 6% laju penyerapan nutrisi semakin besar sehingga nutrisi di dalam sel berlebih. Kelebihan nutrisi tertentu tidak menyebabkan gangguan yang berarti pada metabolisme sel *Scenedesmus*. Akan tetapi, kelebihan nutrisi yang termasuk ke dalam logam seperti Cu dan Mn dapat mengganggu metabolisme sel. Kadar Cu yang tinggi dapat mengganggu transpor elektron pada fotosintesis [28]. Kadar Cu tersebut kemungkinan mempengaruhi pembentukan NADPH yang dibutuhkan untuk mereduksi CO₂ pada siklus Calvin [30]. Sebaliknya, kerapatan sel saat *peak* dalam MET 4%, 3%, dan 2% lebih tinggi dibandingkan pada MBB. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut kelengkapan nutrisi di dalam MET tersebut, mendukung pertumbuhan *Scenedesmus* sehingga menghasilkan kerapatan sel yang tinggi. Medium Basal Bold hanya mengandung senyawa anorganik, sedangkan MET mengandung senyawa anorganik, organik dan beberapa vitamin.

Kultur dalam media perlakuan akuabides menghasilkan kerapatan sel terendah (87.096 sel/ml) pada saat *peak*. Hal tersebut terjadi karena dalam akuabides murni tidak terdapat nutrien yang sudah hilang akibat proses penyulingan. Proses penyulingan dua kali, menghasilkan akuabides dengan tingkat kemurnian 99% dan terbebas dari kontaminan seperti mikroorganisme, senyawa organik, dan anorganik [34]. Akibatnya, sel-sel *Scenedesmus* yang diinokulasikan ke dalam akuabides sejak hari ke-0 hingga hari ke-10 tidak mendapatkan nutrien yang dibutuhkan bagi pertumbuhan sehingga cenderung menurun kerapatannya (Tabel 1).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kerapatan sel *Scenedesmus* dalam MET tidak sebanding dengan kadar klorofil yang dikandungnya. Kadar klorofil yang tinggi tidak diikuti dengan kerapatan sel yang tinggi pula. Hal yang sama juga terjadi pada penelitian Rachmayanti (2004), yaitu kerapatan sel yang tinggi tidak selalu menghasilkan klorofil yang tinggi [35]. Kemungkinan yang terjadi adalah kadar klorofil dalam tiap individu sel *Scenedesmus* pada MET 6% lebih banyak dibandingkan kadar klorofil dalam individu sel *Scenedesmus* pada konsentrasi yang lebih rendah. Hal tersebut, terlihat dari warna sel *Scenedesmus* yang ditumbuhkan dalam MET 6% berwarna lebih hijau dibandingkan dengan sel *Scenedesmus* dalam MET konsentrasi yang lebih rendah.

Media perlakuan MET 6% menghasilkan kadar klorofil yang tinggi, karena unsur-unsur pembentuk klorofil tersedia dalam jumlah yang lebih banyak dibandingkan pada MET konsentrasi lebih rendah, akan tetapi kerapatan sel paling rendah. Kemungkinan hal tersebut berkaitan dengan penyerapan nutrien-nutrien pembentuk molekul klorofil seperti Fe dan Mg yang tergolong nutrien logam. Menurut Topperwien (2005) penyerapan nutrien logam dipengaruhi oleh permukaan sel mikroalga [36]. Permukaan sel mikroalga memiliki berbagai gugus fungsional yang memiliki afinitas tinggi bagi ion-ion logam sehingga mempermudah penyerapan melewati membran sel. Sementara itu, nutrien non logam yang konsentrasinya cukup tinggi dalam MET 6% tetapi dibutuhkan dalam pertumbuhan dan pembelahan sel agak sulit diserap oleh sel. Akibatnya dalam MET 6% proses sintesis klorofil oleh sel lebih optimal dibandingkan dengan pertumbuhan dan proses pembelahan sel.

Kurva pertumbuhan *Scenedesmus*

Data rerata kerapatan sel *Scenedesmus* selama 10 hari pengamatan ditransformasikan ke dalam bentuk logaritma. Data yang telah ditransformasikan tersebut kemudian digunakan untuk membuat kurva pertumbuhan (Gambar 2). Kurva pertumbuhan pada media perlakuan MET dan MBB menunjukkan kecenderungan yang hampir sama, hanya terdapat perbedaan dalam waktu pencapaian kerapatan sel pada saat *peak*. Media perlakuan akuabides menunjukkan kecenderungan yang berbeda dengan media perlakuan MET dan MBB.

Kurva pertumbuhan *Scenedesmus* pada media perlakuan MET 1%, 3%, 5%, 6%, dan akuabides memperlihatkan adanya fase adaptasi (Gambar 2). Rerata kerapatan sel pada hari ke-1 yang menurun dibandingkan dengan jumlah sel inokulum diasumsikan sebagai fase adaptasi. Populasi sel dalam MET 2% dan 4% kemungkinan juga mengalami adaptasi, tetapi berlangsung kurang dari 24 jam sehingga tidak teramati pada pengamatan.

Fase adaptasi pada kultur yang ditumbuhkan dalam MET terjadi karena media perlakuan (MET) berbeda dengan media pemeliharaan (MBB). Hal tersebut sesuai dengan Stanier *dkk.* (1970), yang menyatakan bahwa fase adaptasi biasanya terjadi ketika inokulum diinokulasikan ke dalam media baru yang berbeda komponen kimiawinya [37]. Sel-sel yang diinokulasi mula-mula melakukan perubahan kimiawi dan fisiologis untuk menyesuaikan kembali aktivitas metabolismenya agar dapat tumbuh dalam media baru.

Kurva dan laju pertumbuhan di dalam media perlakuan MBB tidak memperlihatkan fase adaptasi. Hal tersebut mungkin disebabkan fase adaptasi berlangsung kurang dari 24 jam sehingga tidak teramati pada pengamatan. Pada hari ke-1 rerata kerapatan sel di dalam MBB mengalami peningkatan. Selain itu, tidak adanya fase adaptasi juga disebabkan media perlakuan (MBB) sama dengan media pemeliharaan. Menurut Madigan *dkk.* (2000) inokulasi sejumlah sel mikroorganisme ke dalam media dan kondisi lingkungan yang sama seperti pada pemeliharaan kultur sebelumnya, menyebabkan fase adaptasi tidak terlihat [38]. Oleh karena itu, dalam kurva pertumbuhan, kultur lebih cepat memasuki fase eksponensial.

Fase eksponensial pada media perlakuan MET terlihat pada hari ke-2 hingga hari ke-8. Sedangkan pada media perlakuan MBB fase eksponensial terlihat pada hari ke-1 hingga hari ke-5. Pada fase eksponensial terjadi peningkatan rerata kerapatan sel. Proses perbanyakan sel pada saat memasuki fase eksponensial berlangsung cepat sehingga populasi sel bertambah. Pertambahan populasi sel *Scenedesmus* yang pesat tersebut kemungkinan terjadi karena kandungan nutrien di dalam MET dan MBB masih terdapat dalam konsentrasi yang tinggi sehingga proses pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung cepat.

Kurva pertumbuhan memperlihatkan kultur mencapai saat *peak* yang berbeda pada masing-masing media perlakuan. Jumlah sel dalam media perlakuan MET 1%, 2%, dan 4% mencapai *peak* pada hari ke-7. Jumlah sel dalam MET 3%, 5%, dan 6% mencapai *peak* pada hari ke-8. Dalam media perlakuan MBB jumlah sel mencapai *peak* pada hari ke-5. Jumlah sel di dalam MBB mencapai waktu *peak* tercepat disebabkan karena MBB mengandung mineral-mineral anorganik dalam bentuk ion yang lebih mudah diserap oleh sel dibandingkan dengan mineral di dalam MET yang kompleks karena berbentuk persenyawaan. Selain itu, sel *Scenedesmus* juga lebih mudah memanfaatkan mineral-mineral anorganik tersebut bagi pertumbuhannya.

Setelah mencapai *peak*, rerata kerapatan sel mulai menurun, yang menandakan kultur mulai memasuki fase stasioner. Fase stasioner pada kultur mikroalga berkaitan dengan berkurangnya sejumlah besar nutrisi dalam media dan akumulasi senyawa-senyawa beracun sisa metabolisme [37]. Selain itu, penurunan terjadi akibat berkurangnya intensitas cahaya yang diterima oleh *Scenedesmus* akibat adanya fenomena pembentukan bayangan (fenomena *self-shading*) oleh sel-sel mikroalga tersebut dalam kultur.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi MET berpengaruh terhadap rerata kerapatan sel *Scenedesmus*. Konsentrasi MET optimum bagi kerapatan sel mikroalga marga *Scenedesmus* selama 10 hari pengamatan adalah MET 4% (v/v). Media perlakuan tersebut menghasilkan kerapatan sel tertinggi (3.981.071 sel/ml) pada saat *peak* dan kerapatan sel terendah pada media perlakuan akuabides (87.096 sel/ml). Perlu dilakukan analisis kandungan gizi *Scenedesmus* yang ditumbuhkan dalam MET sebagai pembandingan agar diperoleh nilai yang pasti untuk pemanfaatan *Scenedesmus* sebagai suplemen makanan.

Daftar Acuan

- [1] L.E. Graham, L.W. Wilcox, *Algae*, Prentice Hall, Inc., New Jersey, 2000, p.618.
- [2] C.H. Bold, M.J. Wynne, *Introduction of the algae structure and reproduction*. 2nd ed. Prentice Hall Inc., London, 1985, p736.
- [3] Bell, P.R. 1992. *Green plants: their origin and diversity*. Dioscorides Press, Portland: p315.
- [4] A. Pentecost, *Introduction to freshwater algae*. Richmond Publishing Co, Ltd., Surrey, 1984, p254.
- [5] J.D. Pickett-Heaps, *Green algae: structure reproduction and evolution in selected genera*. Sinauer Associated Inc., Publisher, Massachusetts, 1974, p 613.
- [6] Van Den Hoek, D.G. Mann, H.M. Johns, *Algae: an introduction to phycology*. Cambridge University Press, Cambridge, 1995, p643.
- [7] T. Hori, *An illustrated atlas of the life history of algae*. Uchida Rokakuho Publishing Co., Ltd., Tokyo, 1993, p384.
- [8] C. Meske, *Fish Aquaculture : tecnology and experiments*. Pergamon Press, Oxford, 1985, p247.
- [9] S.F. Hadiwigeno, Cholik, F. Sukardi, Peranan bioteknologi mikroalga dalam rangka menunjang pengembangan industri perikanan. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Mikroalga*, Bogor, 1995, 7--17.
- [10] T.Chriomadha, Nofdianto., Pengaruh konsentrasi nutrisi terhadap pertumbuhan dan produktivitas *Chlorella* sp. pada kultur semikontinyu. *LIMNOTEK* 2(1) (1994) 33--43.
- [11] I. Setyaningsih, Pemisahan senyawa bioaktif dari beberapa jenis mikroalga dan aplikasinya pada bahan pangan. Fakultas Perikanan IPB, Bogor, 1999, p 58.
- [12] T.D. Brock, M.T. Madigan. 1991. *Biology of microorganism*. 6th ed. Prentice Hall Inc., New Jersey, 1991, p893.
- [13] S.N. Pandey, P.S. Trivedi. *A text book of algae*. Vikas Publishing House PVT. LTD., New Delhi, 1995, p349.
- [14] Hasanah, Y, Pengaruh penambahan beberapa konsentrasi glukosa terhadap pertumbuhan *Chlorella pyrenoidosa* Chick pada medium air kelapa. Skripsi S1 FMIPA-UI Jurusan Biologi, Depok, 1997, p60.
- [15] M. H. Wong, C. C. Lay, The comparison of soy-bean wastes, used tea-leaves and sewage sludge for growing *Chlorella pyrenoidosa*, *Environmental pollution Seri A*(23) (1980) 247--259.
- [16] N.W.S. Agustini, N.W.S. & D. Susilaningsih., Pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus* sp. dalam limbah cair tahu dan tapioka. *Prosiding Seminar Biologi XIV & Kongres Nasional Biologi XI*, Jakarta, 1997, 281--287.
- [17] A.E. Richmond, Microalgae culture.CFC Critical Review in Biotechnology 4(4) (1986) 368--438.
- [18] N.B. Prihantini, B. Putri, R. Yuniati, Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam medium ekstrak taoge (MET) dengan variasi pH awal. *Makara*, Seri Sains, vol.7 No.2 (2006).

- [19] H.W. Nichols, Growth media freshwater, In: J.R. Stein (ed.), Handbook of physiological methods, culture methods & growth measurement, Cambridge University Press, Cambridge, 1973, 7--24.
- [20] E.I. Adil, Penuntun praktikum fisiologi hewan. Jurusan Biologi FMIPA-UI, Depok, 2001, p.57.
- [21] M. Amin, S. Amini, Rasionalisasi pupuk komersil pada budidaya fitoplankton. *Prosiding Lokakarya Penelitian Komoditas dan Studi Khusus*, Jakarta, 1992, 528--543.
- [22] J.C. Meeks, Chlorophylls. *Dalam: Stewart (ed.). 1974. Algal physiology and biochemistry*. University of California Press, California, 1974, 161—175.
- [23] Sudjana, *Metode statistik*. 6 th ed. Penerbit Tarsito, Bandung, 1996, p513.
- [24] R.G.D. Steel, J.H.Torrie. Prinsip dan prosedur statistik : suatu pendekatan biometrik. Terj. dari *Principles and procedures of statistic*. Oleh Sumantri, B. PT. Gramedia, Jakarta, 1993, p769.
- [25] J.H. Zar, *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall Inc., London, 1974, p 636.
- [26] I.E. Conover, *Practical non parametric statistic*. 2nd ed. John Willey & Sons, New York, 1980, p509.
- [27] Danish Institute for Food And Veterinary Research, Danish Food Composition, <http://foodcomp.dk/fcdb.det>, 2004.
- [28] W. Weissner, Inorganic micronutrient. *Dalam: Lewin, R.A. (ed.). 1962. Physiology and biochemistry of algae*. University of California Press, California, 1962, 267--284.
- [29] R.M. Droop, Organic micronutrients. *Dalam: Lewin, R. A. (ed.). 1962. Physiology and biochemistry of algae*. Academic Press, New York, 1962, 141--159.
- [30] R.M. Devlin, *Plant physiology*. 2nd ed. Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1969, p457.
- [31] R.G.S. Bidwell, *Plant physiology*. 2nd ed. MacMillan Publishing Co., Inc., New York, 1979, p737. [32] J.C. O'Kelley, Inorganic nutrients. *Dalam: Stewart, W.D.P. (ed.). 1974. Algal physiology and biochemistry*. University of California Press, California, 1974, 610--625.
- [33] G.E. Fogg, B. Thake, *Algal cultures and phytoplankton ecology*, 3rd ed., The University of Wisconsin Press, Wisconsin, 1987, p.294.
- [34] W.C. Pierce, E.L. Haenisch, D.T. Sawyer, *Quantitative analysis*. 4th ed. John Willey & Sons, Inc., New York, 1958, p510.
- [35] W.Rachmayanti, Pengaruh variasi fotoperiodisitas terhadap kerapatan sel mikroalga marga *Chlorella* Beijerinck yang ditumbuhkan dalam Bold's Basal Medium selama 14 hari pengamatan. Skripsi S1 FMIPA-UI Jurusan Biologi, Depok, 2005, p121.
- [36] S. Topperwien, Bioaccumulation of metals by *Scenedesmus vacuolatus* in function of various parameters relevant for natural waters: comparison to analytical methods under laboratory and field conditions, <http://www.internal.eawag.ch/~toeppest/research-plan.pdf>, 2005.
- [37] R.Y. Stanier, M. Doudoroff, E.A. Adelberg, *The microbial world*. 3rd ed. Prentice-Hall Inc., New Jersey, 1970, p880.
- [38] T.M. Madigan, J.M. Martinko, J. Parker, *Brock biology of micro organisms*. 9th ed. Prentice-Hall Inc, New Jersey, 2000, p1011