

## STUDI KARAKTERISTIK FLUORESENSI *CHLORELLA* spp : PENGARUH pH TERHADAP PENGKULTURAN

Retno Wigajatri P.<sup>1</sup>, Andrianto Handoyo<sup>2</sup>, Hendrik Kurniawan<sup>1</sup> dan N.B. Prihantini<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Optoelektroteknika dan Aplikasi Laser, Fakultas Teknik,  
Universitas Indonesia, Jakarta 10430, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Teknik Fisika, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Bandung, Bandung 40132, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia

E-mail: spsopto@bit.net.id

### Abstrak

Eksperimen untuk mengamati karakteristik fluoresensi *Chlorella* spp. dengan menggunakan laser Nitrogen yang memiliki stabilitas dan frekuensi repetisi tinggi (energi 5 mJ, durasi pulsa 5 ns) telah dilakukan. Hasil percobaan menunjukkan untuk rentang konsentrasi 2.625 sel/ml hingga 2.769.000 sel/ml, intensitas fluoresensi pada  $\lambda = 687$  dan konsentrasi sel memiliki hubungan linier. Juga ditunjukkan pada kultur *Chlorella* spp usia 7 hari, variasi pH pada awal kultur berpengaruh terhadap konsentrasi sel yang dihasilkan.

### Abstract

**The Study on Fluorescence Characteristics of *Chlorella* spp: pH Influence on Culture.** Experiments for measuring the fluorescence characteristics of *Chlorella* spp. by using high stability and high repetition rate nitrogen laser of energy 5 mJ with pulse duration of 5 ns have been carried out. The results show that for a cell concentration range from 2,625 cells/ml up to 2,769,000 cells/ml, the fluorescence intensities at  $\lambda = 687$  nm have a linear relationship with the cell concentration. It has been also found that for a 7 days old *chlorella* culture, the pH variation at the starting culture influenced the cell concentration.

Keywords: *Chlorella* spp., culture, fluorescence, pH, high stability nitrogen laser

## 1. Pendahuluan

Phytoplankton yang sering dikenal dengan sebutan plankton atau alga adalah tumbuhan tingkat rendah yang banyak terdapat di perairan Indonesia, baik perairan laut maupun tawar. Diantara phytoplankton tersebut terdapat *Chlorella* spp., salah satu diantara berbagai jenis plankton yang memiliki banyak manfaat antara lain sebagai nutrisi tambahan untuk manusia, pakan ternak dan biofilter limbah. Pertumbuhan *Chlorella* spp sangat ditentukan oleh faktor lingkungan, antara lain nutrisi, pH, cahaya, suhu dan lain-lain. Karakteristik ini sangat spesifik, bergantung pada spesies masing-masing. Dengan mengamati respon pertumbuhan terhadap optimal pengkulturan.

Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan terhadap phytoplankton galur asing, terbukti bahwa plankton memiliki karakteristik optik yang spesifik [1-4], sifat

tersebut lebih lanjut dapat dimanfaatkan untuk mengamati pertumbuhan plankton dengan cepat. Studi awal tentang hal ini telah pula dilakukan terhadap galur lokal Indonesia [5-6], yaitu pengamatan terhadap karakteristik absorbansi cahaya *Chlorella* spp. Tulisan ini merupakan lanjutan dari eksperimen sebelumnya, yaitu pengamatan karakteristik fluoresensi *Chlorella* spp air tawar koleksi Lab. Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi FMIPA UI yang dikulturkan di lingkungan UI Depok, termasuk pengaruh derajat keasaman (pH) medium kultur terhadap spektrum fluoresensi yang terjadi.

## 2. Metode Penelitian

Sebelum melihat pengaruh keberadaan *Chlorella* spp di dalam air kultur terhadap spektrum fluoresensi yang dihasilkan. Perlu diperhatikan bahwa intensitas fluoresensi *Chlorella* spp terhadap panjang gelombang

laser nitrogen (337,1 nm) sangat rendah sehingga pengukuran fluoresensi dengan radiasi tunggal laser tersebut hanya akan menghasilkan spektrum *noise*. Untuk mengatasi hal tersebut, diperlukan suatu sumber laser nitrogen yang mempunyai frekuensi repetisi sangat tinggi (100 hingga 200 Hz) dengan stabilitas daya yang sangat baik. Dilakukan pengujian untuk melihat stabilitas energi dari laser nitrogen yang digunakan. Laser nitrogen pada frekuensi 100 Hz difokuskan ke fotodioda PIN kemudian output fotodioda dibaca oleh *digital sampling storage scope* (HP model 54600). Hasil eksperimen dapat dilihat pada Gambar 1. Tampak bahwa stabilitas laser nitrogen yang digunakan sangat tinggi dengan fluktuasi energi sekitar 2%, lebih baik dibandingkan laser zat padat (> 3%).

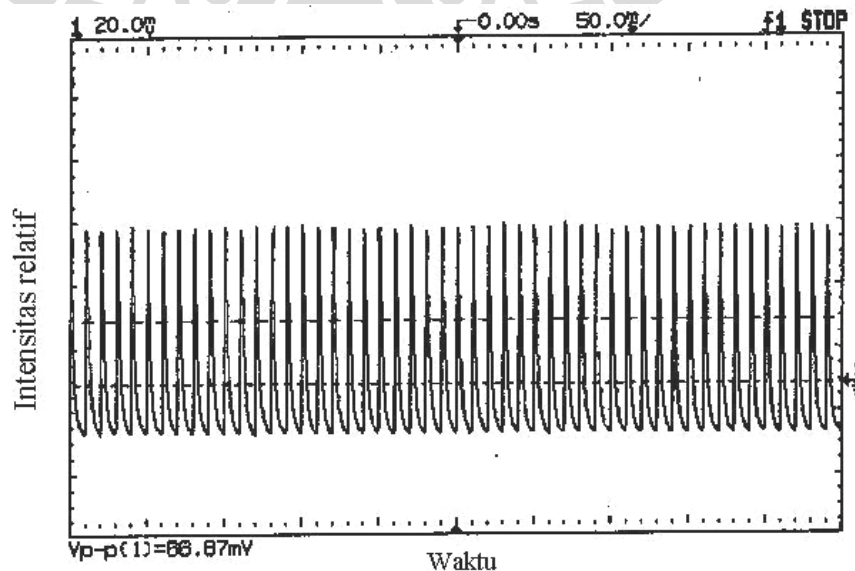
Hingga saat ini belum pernah dilakukan pengukuran lifetime *Chlorella spp* yang digunakan, karenanya pada awal pengambilan spektrum fluoresensi dilakukan penggeseran waktu tunda fotodioda pada sistem OMA (*Optical Multichannel Analyzer*) sebesar 200 ns, ternyata tidak dihasilkan spektrum fluoresensi, hal ini membuktikan bahwa radiasi fluoresensi *Chlorella spp* sangat singkat. Karenanya selama pengukuran fotodioda sistem OMA dioperasikan pada *time-integrated mode* tanpa waktu tunda sehingga spektrum yang diperoleh adalah spektrum tanpa cacah waktu. Spektrum fluoresensi akan diambil dengan menjumlahkan intensitas 100 radiasi laser nitrogen dalam satu detik.

Meskipun demikian perlu diperhatikan bahwa dengan akumulasi spektrum fluoresensi sejumlah tersebut, perbandingan sinyal dan latar belakang akan menjadi

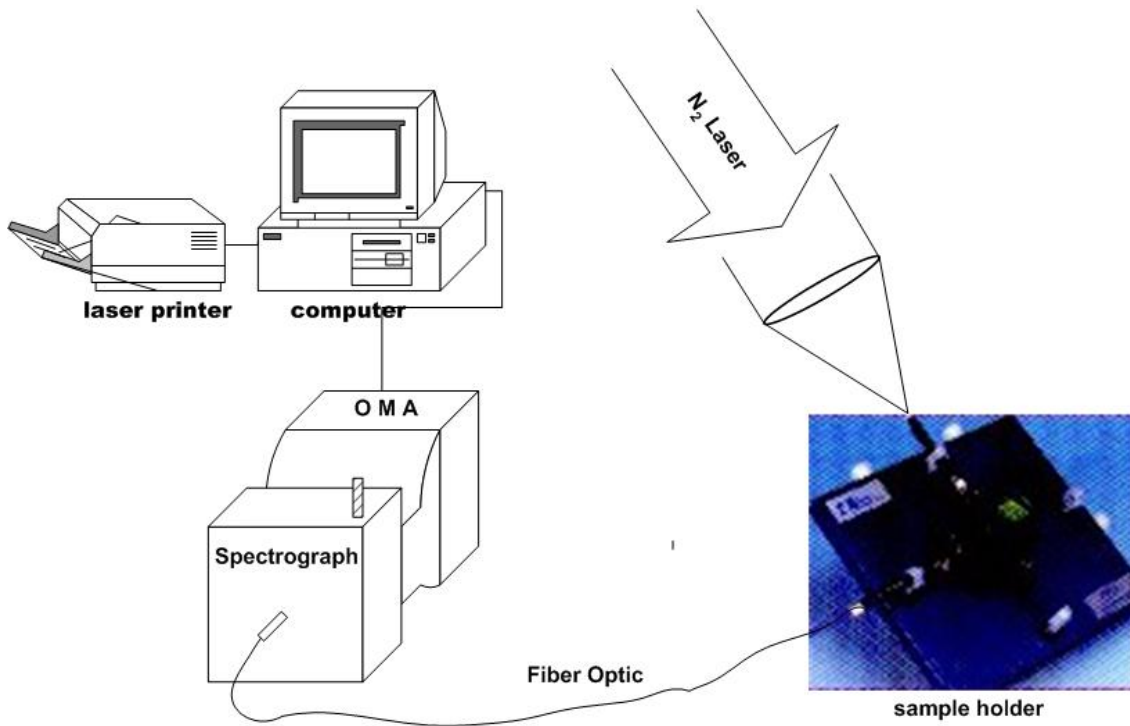
tinggi. Untuk mengatasi hal tersebut dilakukan proses perata-rataan. Proses ini dilakukan dengan cara menangkap sebanyak 100 spektra fluoresensi dalam waktu satu detik, hal ini dilakukan sebanyak sepuluh kali. Kemudian dirata-ratakan, agar harga perbandingan sinyal dan latar belakang akan meningkat.

Dengan pengamatan melalui mikroskop tampak bahwa *Chlorella spp* pada penelitian ini berbentuk bulat berdiameter antara 3,47 sampai 7,40  $\mu\text{m}$ . Sebelum dilakukan pengukuran *Chlorella spp* dipisahkan dari medium kultur menggunakan alat sentrifugal dengan putaran 13.000 rpm selama 10 menit. Kemudian air kultur tanpa *Chlorella spp* sejumlah 2,5 ml dimasukkan ke dalam kuvet dari bahan kuarsa. Selanjutnya cahaya laser  $\text{N}_2$  (laser pulsa, 337,1 nm, 5 mJ, 5ns) difokuskan dengan lensa kuarsa berjarak fokus 10 cm pada larutan tersebut (Gambar 2). Dengan bantuan serat optik (*graded index*, diameter inti 500  $\mu\text{m}$ ) yang ditempatkan tegak lurus sumbu cahaya laser, emisi fluoresensi yang sebelumnya telah dilakukan pada *filter ultra violet* (menghalangi panjang gelombang 337-337,2 nm), diukur dengan sistem OMA. Langkah berikutnya secara bertahap *Chlorella spp* dimasukkan ke dalam medium tersebut di atas dengan berbagai konsentrasi. Hasil spektrum fluoresensi *Chlorella spp* ditampilkan pada Gambar 3.

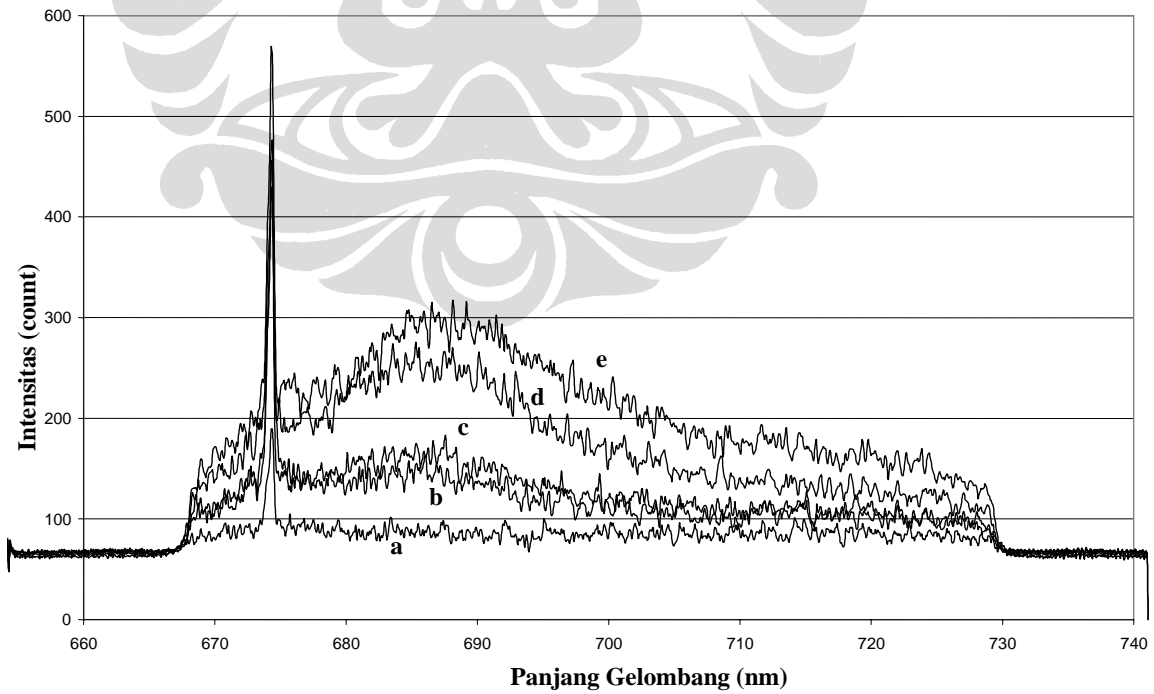
Selanjutnya akan diamati pengaruh pH terhadap *Chlorella spp*. Persiapan dilakukan dengan mengkulturkan *Chlorella spp* pada medium ekstrak tauge (MET) dengan menggunakan 6 botol steril yang



Gambar 1. Hasil pengujian kestabilan laser  $\text{N}_2$  untuk 50 pulsa



Gambar 2. Set up pengukuran karakteristik fluoresensi medium kultur tanpa dan dengan *Chlorella spp.*



Gambar 3. Spektrum fluoresensi medium kultur tanpa (a) dan dengan *Chlorella spp* (b-e)

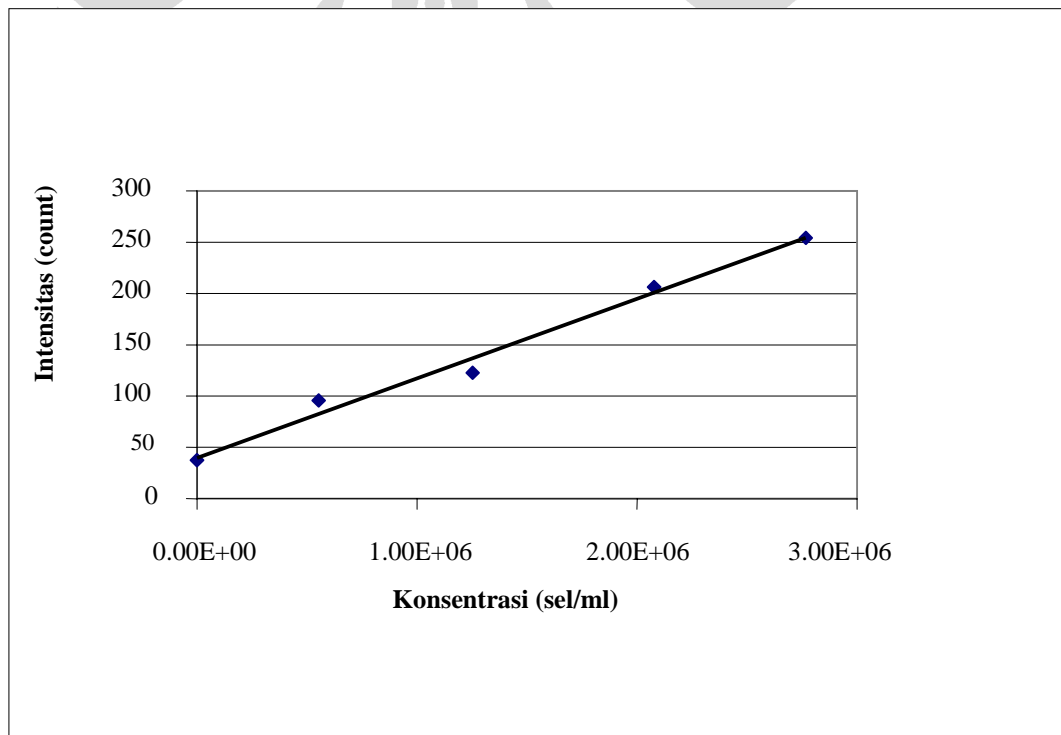
berbeda. Masing-masing botol diatur pH awalnya yaitu 4, 5, 6, 7, 8 dan 9 dengan cara memberikan larutan HCl 1% dan KOH 1% pada 150 ml larutan kultur tanpa menggunakan larutan penyangga. Kemudian ke dalam masing-masing botol tersebut dimasukkan *Chlorella spp* dengan jumlah yang sama yaitu  $10^6$  sel/ml, jumlah sel dihitung secara langsung dengan mikroskop menggunakan *hemacytometer (Impropved Neubauer)* dan *handcounter*. Untuk pencahayaan digunakan dua buah lampu merkuri masing-masing dengan intensitas 36 watt yang dipasang di kedua sisi botol kultur pada jarak 2,5 cm dengan siklus 10 jam gelap dan 14 jam terang. Suhu ruang pada kisaran 25-26 °C. Pertumbuhan *Chlorella spp* diamati setelah 7 (tujuh) hari.

Seperti pada pengukuran sebelumnya, dilakukan pemisahan *Chlorella spp* dari larutan kulturnya dengan menggunakan alat sentrifugal dengan kecepatan 13.000 rpm. Kemudian endapan *Chlorella spp* dilarutkan kembali dengan larutan aquabidestilata dan diukur seperti pada Gambar 1. Selanjutnya untuk setiap harga intensitas pada  $\lambda = 687$  nm dari masing-masing pH diamati. Jumlah sel pada masing-masing kultur dihitung dengan cara seperti sebelumnya. Hasilnya ditunjukkan pada Gambar 4.

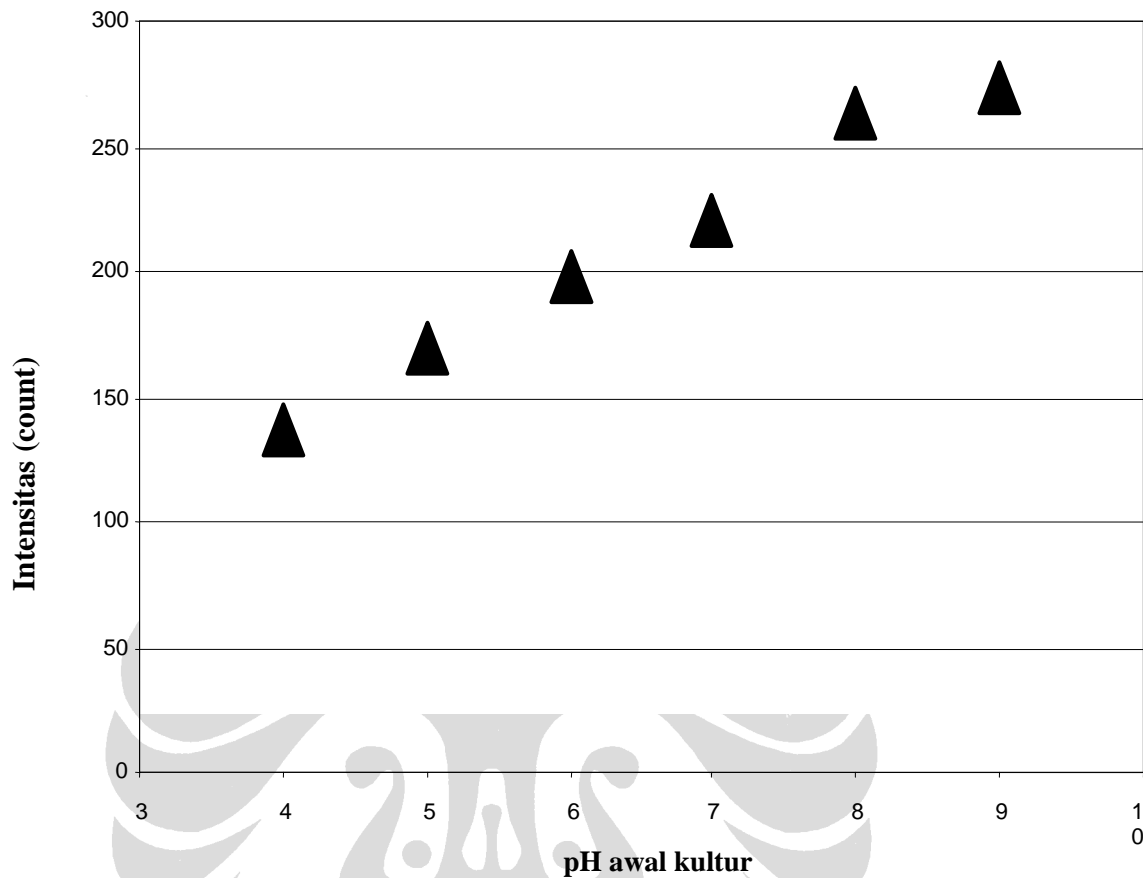
### 3. Hasil dan Pembahasan

Dari hasil pengukuran pada rentang panjang gelombang 660-720 nm didapat dua puncak intensitas, yaitu pada  $\lambda = 674$  dan 687 nm. Intensitas tinggi yang terjadi pada  $\lambda = 674$  nm diakibatkan lolosnya cahaya orde kedua laser nitrogen, sedangkan intensitas fluoresensi pada  $\lambda = 687$  nm terjadi akibat kandungan *chlorophyll a*, yang dimiliki oleh *Chlorella spp*. Jika hasil ini dibandingkan dengan hasil peneliti terdahulu [3] sebesar 685 nm untuk *chlorella galur asing*, ternyata hasilnya tidak berbeda jauh. Tampak pula bahwa peningkatan intensitas fluoresensi pada panjang gelombang 687 nm seiring dengan meningkatnya jumlah *Chlorella spp* dalam medium kultur.

Selanjutnya ingin dilihat hubungan antara jumlah sel *Chlorella spp* dan intensitas fluoresensi yang dihasilkan. Dilakukan penghitungan jumlah sel secara langsung dengan mikroskop seperti pada sebelumnya. Intensitas diambil pada panjang gelombang 687 nm. Hasilnya ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva intensitas fluoresensi vs konsentrasi *Chlorella spp*. pada  $\lambda = 687$  nm



Gambar 5. Intensitas fluoresensi larutan *Chlorella spp* dengan berbagai variasi pH

Dari Gambar 4 tampak bahwa untuk konsentrasi *Chlorella spp* antara 2.625 sel/ml hingga 2.769.000 sel/ml, intensitas fluoresensi yang dihasilkan berbanding lurus dengan konsentrasi *Chlorella spp* pada medium kultur. Selanjutnya dilakukan pengamatan pengaruh pH awal kultur terhadap pertumbuhan *Chlorella spp* dengan mengamati karakteristik fluoresensi yang dihasilkan. Keenam larutan *Chlorella spp* berumur 7 (tujuh) hari diukur seperti pada Gambar 1 dan intensitas pada  $\lambda = 687$  nm diamati. Hasilnya ditunjukkan pada Gambar 5.

Pada Gambar 5 ditunjukkan bahwa intensitas fluoresensi yang dihasilkan berbeda untuk masing-masing harga pH awal dan meningkat seiring dengan peningkatan derajat keasaman pada saat awal kultur. Intensitas tertinggi ditunjukkan pada pengukuran hasil kultur dengan pH awal 9, bersesuaian dengan konsentrasi 20.075.000 sel/ml. Sedangkan intensitas terendah ditunjukkan pada pengukuran dengan pH 4, bersesuaian dengan konsentrasi 4.918.750 sel/ml.

#### 4. Kesimpulan

Dari hasil eksperimen yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa intensitas fluoresensi *Chlorella spp* galur UI Depok dalam air kultur pada  $\lambda = 687$  nm meningkat secara linier pada rentang konsentrasi 2.625 hingga 2.769.000 sel/ml. Untuk rentang pH antara 4 hingga 9, peningkatan derajat keasaman pada awal kultur meningkatkan intensitas fluoresensi yang terjadi, yang artinya semakin tinggi konsentrasi *Chlorella spp* yang dihasilkan.

#### Daftar Acuan

- [1]. J. Hilton, E. Rigg, G. Jaworski, J. of Plankton Research 11 (1989) 65.
- [2]. I. Poryvkina, S. Babichenko, S. Kaitala, H. Kuosa, A. Shalajonok, J. of Plankton Research 16 (1994) 1315

- [3]. E.J. D'Sa, S.E. Lohrenz, Appl. Optic 38 12 (1999) 2524.
- [4]. H.M. van Den Hoek, C.D.G Mann, H.M Jahns, Algae: Introduction to Phycology, Cambridge University Press, Melbourne, 1995, p.321
- [5]. Retno Wigajatri, A. Handojo, H. Kurniawan, N.B. Prihantini, M.R.T. Siregar, J. Fis. A5 (2002) 05371
- [6]. Retno Wigajatri, A. Handojo, H. Kurniawan, N.B. Prihantini, M.R.T. Siregar, Proc. of International Conf. On Optoelectronics and Laser Application ICOLA'02, Jakarta, 2002, p.B62

