

PENGARUH JENIS MEDIA TERHADAP PERTUMBUHAN***Nannochloropsis* sp.**

Ni Kadek Eni Juniantari¹, A.A.Md. Dewi Anggreni², Ida Bagus Wayan Gunam²

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

²Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

E-mail: kadekeni12@yahoo.com¹

E-mail koresponden: dewianggreni@unud.ac.id²

ABSTRACT

The aims of this study were to 1) determine the effect of media on the growth of *Nannochloropsis* sp., 2) find out the best type of growth media of *Nannochloropsis* sp. This study used a descriptive quantitative method. The medium used in this study consist of 3 types: Agricultural, Allen-Miquel, and Guillard medium. Observation of cell biomass concentration *Nannochloropsis* sp. was used haemocytometer with three replications. The results showed that each culture medium had a different optimum harvest time. Agriculture media, Allen-Miquel, and Guillard had the optimum harvest time which was 8, 12, and 11 days cultivation respectively. The results observation of cell biomass concentration of *Nannochloropsis* sp. showed that the type of media had highly significant on growth of *Nannochloropsis* sp. Guillard media was a medium that produced highest biomass cell *Nannochloropsis* sp. of $1.4 \times 10^7 \pm 2.0$ cells/ml at 11 days cultivation.

Keywords: *Nannochloropsis* sp., Media Type, Biomassa.

PENDAHULUAN

Daerah perairan di Indonesia yang sebagian besar adalah laut, memiliki keanekaragaman hayati yang sangat melimpah. Salah satu keanekaragaman hayati tersebut adalah mikroalga. Mikroalga merupakan bentuk tumbuhan yang paling primitif berukuran seluler yang lebih dikenal dengan *fitoplankton* (alga laut bersel tunggal). *Nannochloropsis* sp. merupakan jenis alga hijau (*Chlorophyta*) yang memiliki sel berwarna kehijauan dan tidak berflagel. Selnya berbentuk bola, berukuran sedang dengan diameter 2-8 μm (Hu dan Gao, 2006). Kelebihan jenis mikroalga ini cukup mudah dikultur dalam waktu singkat dan nilai nutrisinya sangat tinggi. Chisti (2007) menambahkan bahwa, lemak dari *Nannochloropsis* sp. dapat digunakan sebagai bahan baku biodiesel, hal ini dikarenakan *Nannochloropsis* sp. memiliki kandungan lemak yang cukup tinggi (31-68%). Selain dimanfaatkan sebagai bahan baku biodiesel, lemak pada *Nannochloropsis* sp. terutama lemak dalam bentuk asam linoleat dapat digunakan sebagai zat antibakterial dan antifungi, disamping itu juga bisa dijadikan sebagai bahan aditif untuk pakan pertanian (Kawaroe *et al.*, 2010).

Faktor nutrisi adalah salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam pertumbuhan mikroalga. Nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroalga terdiri dari makronutrisi dan mikronutrisi. Makronutrisi yang dibutuhkan antara lain C, H, N, P, K, S, Mg, dan Ca, sedangkan mikronutrisi yang dibutuhkan antara lain adalah Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn, dan Si (Kawaroe *et al.*, 2010). Penambahan nutrisi pertumbuhan ke dalam media kultur mikroalga dinilai merupakan aspek yang paling berpengaruh terhadap kuantitas biomassa hasil kultivasi mikroalga.

Pada penelitian ini digunakan tiga jenis media kultur yaitu media Pertanian, media Allen-Miquel, dan media Guillard. Media Pertanian digunakan dalam penelitian ini karena komponen-komponen media tersebut harganya relatif lebih murah dibanding media Guillard dan Allen-Miquel namun kandungan nutrisi yang terdapat pada media Pertanian tidak selengkap media Guillard dan Allen-Miquel yaitu adanya makro dan mikro nutrisi (Geldenhuys *et al.*, 1987 dalam Prabowo, 2009). Selain hal tersebut, alasan menggunakan jenis media tersebut karena jenis media tersebut biasa digunakan untuk kultivasi mikroalga dan diketahui menghasilkan biomassa sel yang tinggi. Namun demikian, belum pernah dilakukan penelitian mengenai pengaruh ketiga jenis media tersebut terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis media terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp., serta menentukan jenis media yang paling baik untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan dan Laboratorium Analisis Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai dari bulan April-Agustus 2014.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Ohaus pioneer), autoclaf (Tommy), selang aerasi, lampu TL (Phillips), aerator (Boyu S-4000 b), kain saring, tutup silikon, mikroskop (Cole Parmer), haemocytometer (Neubauer Improved), cover glass (Matsumita Glass), botol kaca 1 liter, toples plastik, hand counter (Joyko), termometer (Iwaki), lux meter, oven (Ecocell), corong plastik, digital salt meter (Waterproof), spatula, alat-alat gelas, lemari pendingin (Sharp), pipet volum (Iwaki), spat, pipet tetes (Iwaki), cuk rol, desikator, dan gunting.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah starter mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diisolasi dari perairan laut Bali dan dikultivasi di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan FTP Universitas Udayana. Bahan-bahan kimia meliputi : Na₂EDTA, sodium nitrate (NaNO₃), boric acid (H₃BO₃), sodium di-hydrogen orthophosphate (NaH₂PO₄.2H₂O), manganous chloride (MnCl₂.4H₂O), ferric chloride (FeCl₃), ZA, Urea, TSP, KNO₃, Na₂HPO₄.12H₂O, CaCl₂.2H₂O, HCL, Na₂CO₃, MgSO₄.7H₂O, K₂HPO₄.3H₂O, Fe(OH)₃, C₆H₈O₇, Na₂SiO₃.H₂O, vitamin B12 (IPI) setia 1 tablet mengandung 50 mcg vitamin B12, vitamin B₁ (IPI) setiap 1 tablet mengandung 25 mg vitamin B1, ZnCl₂, cobaltous chloride (CoCl₂.6H₂O), ammonium molybdate ((NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O), Na₂MoO₄.2H₂O, ZnSO₄.7H₂O, Co(NO₃)₂.6H₂O, cupric sulphate (CuSO₄.5H₂O), ZnCl₂, aquades, air laut, alkohol 70%, klorin, Na-tiosulfat, dan tawas.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan menggunakan satu perlakuan yaitu jenis media. Media yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 jenis, yaitu: Media Pertanian, Guillard, dan Allen-Miquel. Pengamatan terhadap konsentrasi biomassa sel *Nannochloropsis* sp. dilakukan menggunakan *haemocytometer* dengan tiga kali ulangan. Masing-masing perlakuan dianalisis dengan menggunakan metoda deskriptif kuantitatif.

Pelaksanaan Penelitian

Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan seperti botol kaca 1 liter yang digunakan dalam kultivasi mikroalga terlebih dahulu dicuci hingga bersih menggunakan air tawar dan deterjen yang biasa digunakan dilaboratorium, setelah itu dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Kawaroe *et al.*, 2010). Selang aerasi, toples plastik, batu aerasi, kain penutup, dan peralatan lainnya setelah dicuci dengan air tawar dan deterjen, disemprot dengan menggunakan alkohol dan dibilas dengan menggunakan air steril (BBPPBL Gondol, 2013). Untuk air laut disterilisasi dengan menggunakan klorin dengan perbandingan klorin dan air laut 0,06 ml/l air laut dan dinetralkan dengan menggunakan Na-tiosulfat dengan perbandingan 0,02 ml/l air laut (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995). Media kultur mikroalga disterilisasi dengan menggunakan autoclaf pada suhu 115°C selama 30 menit (BBPPBL Gondol, 2013).

Pembuatan Media

Pada penelitian ini media yang digunakan untuk kultivasi mikroalga *Nannochloropsis* sp. adalah Pertanian, Allen-Miquel, dan Guillard. Masing-masing media dibuat dengan metode yang berbeda-beda. Pembuatan media Guillard menurut metode yang digunakan Jati *et al.*, (2012), media Pertanian, Allen-Miquel, dan Vitamin pembuatannya sesuai dengan metode BBPPBL Gondol, (2013).

Pembuatan Starter *Nannochloropsis* sp. pada Berbagai Jenis Media

Starter *Nannochloropsis* sp. dibuat masing-masing sebanyak 1 liter (starter untuk kultivasi penentuan kurva pertumbuhan dan waktu panen optimum) dan dibuat sebanyak 5 liter (starter untuk produksi biomassa) dengan perbandingan starter dan air laut yaitu 30:70. Masing-masing tempat yang sudah berisi air laut dan starter ditambahkan media kultur sesuai dengan perlakuan. Media Guillard ditambahkan sebanyak 1 ml/l (Jati *et al.*, 2012), media Pertanian ditambahkan sebanyak 1 ml/l (BBPPBL Gondol, 2013), sedangkan media Allen-Miquel ditambahkan solution A sebanyak 2 ml/l, solution B sebanyak 1 ml/l, dan Klewat sebanyak 3 ml/l (BBPPBL Gondol, 2013), dan Vitamin ditambahkan 1 ml/l kultur (BBPPBL Gondol, 2013). Pengamatan kepadatan biomassa starter dilakukan pada hari ke-7 (saat melakukan kultivasi untuk menentukan kurva pertumbuhan dan waktu panen optimum serta untuk produksi biomassa) dengan menggunakan *haemocytometer*.

Kultivasi *Nannochloropsis* sp. untuk Menentukan Kurva Pertumbuhan dan Waktu Panen Optimum

Kultivasi *Nannochloropsis* sp. bertujuan untuk meningkatkan kelimpahan sel dan laju pertumbuhan. Starter mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang diisolasi dari perairan laut Bali dan dikultivasi di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan, FTP, Universitas Udayana kemudian dikultur dengan perbandingan air laut dan starter *Nannochloropsis* sp. sebesar 70:30 dengan kepadatan awal starter yang digunakan sebesar $2,5 \times 10^6$ sel/ml. Salinitas air yang digunakan dalam kultivasi ini sebesar 28-30‰, intensitas cahaya yang digunakan sebesar 2.500-2.800 lux, dan suhu yang digunakan sebesar 28-30°C. Kultivasi dilakukan dalam botol kaca 1 liter yang sudah steril. Botol yang telah berisi air laut dan starter, masing-masing ditambahkan media kultur sesuai dengan perlakuan. Media Guillard ditambahkan sebanyak 1 ml/l (Jati *et al.*, 2012), media Pertanian ditambahkan sebanyak 1 ml/l (BBPPBL Gondol, 2013), sedangkan media Allen-Miquel ditambahkan solution A sebanyak 2 ml/l, solution B sebanyak 1 ml/l, dan Klewat sebanyak 3 ml/l (BBPPBL Gondol, 2013), dan Vitamin ditambahkan 1 ml/l kultur (BBPPBL Gondol, 2013). Aerasi diberikan secara terus-menerus selama proses kultivasi. Selama proses kultivasi dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan

Nannochloropsis sp. Pengamatan dilakukan setiap hari (1x24 jam) dengan menggunakan *haemocytometer*. Hasil pengamatan digunakan sebagai kurva pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dan kemudian ditentukan waktu pemanenan optimum. Waktu pemanenan optimum ditentukan pada saat kultur *Nannochloropsis* sp. berada pada akhir fase eksponensial karena pada akhir fase eksponensial, *Nannochloropsis* sp. mengalami puncak pertumbuhan dan kelimpahan biomassa/kepadatan sel, sehingga kandungan nutrisi pada sel *Nannochloropsis* sp. menjadi lebih baik (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995; Kawaroe *et al.*, 2010).

Produksi Biomassa *Nannochloropsis* sp. pada Berbagai Jenis Media

Pada tahapan ini dilakukan kultivasi *Nannochloropsis* sp. sebanyak 15 liter dengan menggunakan toples plastik yang sudah steril. Perbandingan air laut dan starter *Nannochloropsis* sp. adalah 70:30 dimana, 70% air laut dicampurkan dengan 30% starter mikroalga (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995; Kawaroe *et al.*, 2010). Kepadatan awal starter yang digunakan dalam kultivasi kelompok I sebesar $2,4 \times 10^6$ sel/ml, kelompok II sebesar $2,2 \times 10^6$ sel/ml, dan kelompok III sebesar $2,3 \times 10^6$ sel/ml. Salinitas air yang digunakan dalam kultivasi ini sebesar 28-30‰, intensitas cahaya yang digunakan sebesar 2.500-2.800 lux, dan suhu yang digunakan sebesar 28-30°C. Masing-masing toples plastik yang sudah berisi air laut dan starter ditambahkan media kultur sesuai dengan perlakuan. Media Guillard ditambahkan sebanyak 1 ml/l (Jati *et al.*, 2012), media Pertanian ditambahkan sebanyak 1 ml/l (BBPPBL Gondol, 2013), sedangkan media Allen-Miquel ditambahkan solution A sebanyak 2 ml/l, solution B sebanyak 1 ml/l, dan Klewat sebanyak 3 ml/l (BBPPBL Gondol, 2013), dan Vitamin ditambahkan 1 ml/l kultur (BBPPBL Gondol, 2013). Pengamatan terhadap biomasa sel *Nannochloropsis* sp. dilakukan dua kali yaitu pada hari ke-0 (awal proses kultivasi) dan pada saat panen sesuai waktu panen optimum dengan menggunakan *haemocytometer*.

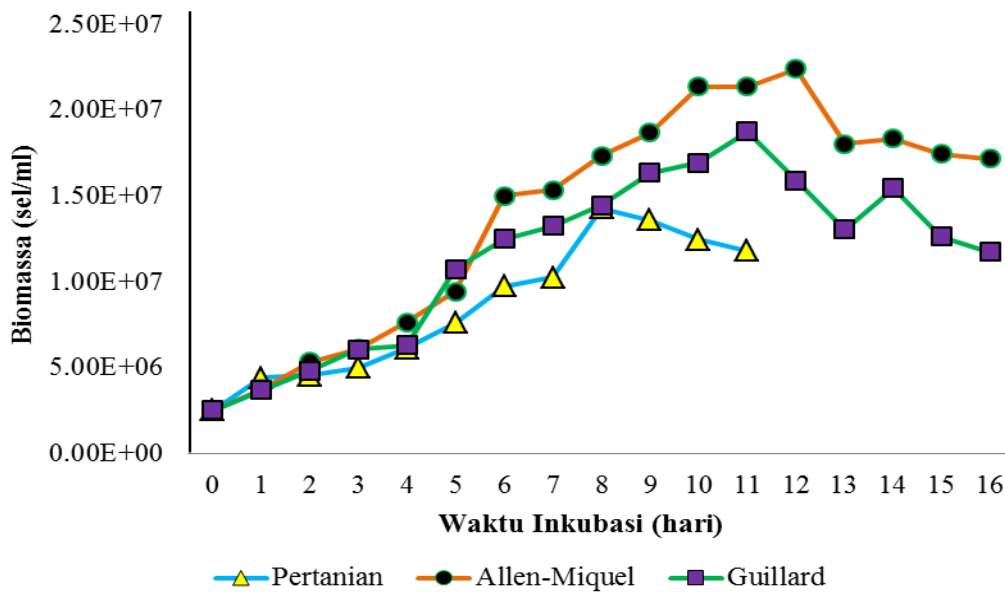
Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah pertumbuhan dan waktu panen optimum *Nannochloropsis* sp. (berupa kurva) dan konsentrasi biomassa *Nannochloropsis* sp. dengan menggunakan *haemocytometer* di bawah pembesaran mikroskop 10 x 40 (BBPPBL Gondol, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva Pertumbuhan dan Waktu Panen Optimum *Nannochloropsis* sp.

Pengamatan biomassa atau kepadatan sel *Nannochloropsis* sp. untuk penentuan kurva pertumbuhan dan waktu panen optimum dilakukan setiap hari hingga biomassa atau kepadatan sel mengalami fase stasioner. Kurva pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. pada berbagai jenis media dapat dilihat pada Gambar 1.



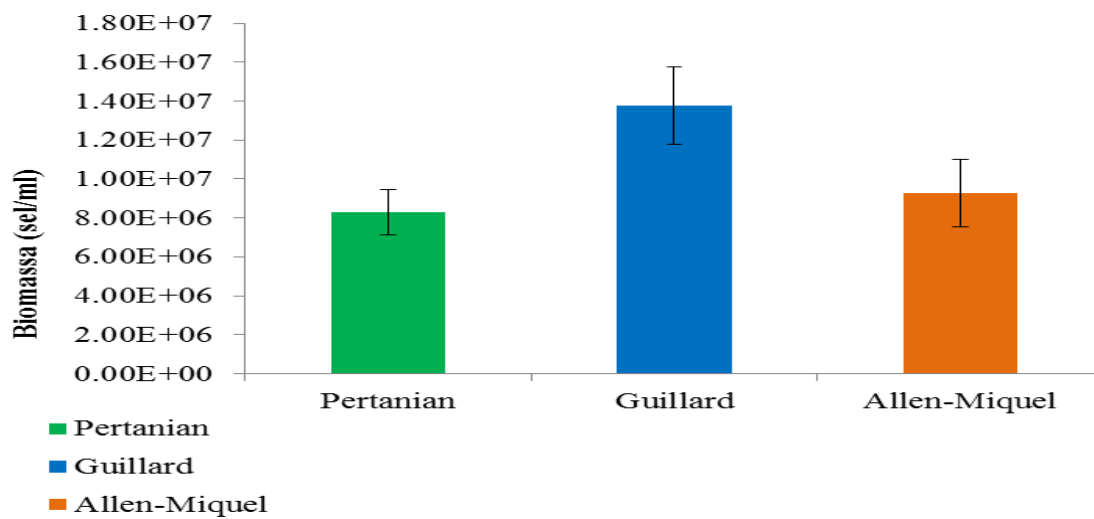
Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. pada Berbagai Jenis Media

Gambar 1 menunjukkan bahwa kultur *Nannochloropsis* sp. pada berbagai jenis media mengalami fase lag (fase adaptasi). Pada media Pertanian dan Allen-Miquel fase adaptasinya terjadi dari hari ke-0 sampai hari ke-5 kultivasi dan pada media Guillard fase adaptasinya terjadi dari hari ke-0 sampai hari ke-4 kultivasi. Perbedaan lamanya masa adaptasi diduga karena adanya perbedaan kepekatan antara media kultur dengan cairan tubuh sel alga, dalam masa adaptasi sel-sel memulihkan enzim dan konsentrasi substrat ke tingkat yang diperlukan untuk pertumbuhan serta masuknya unsur hara ke dalam sel *phytoplankton* terjadi melalui proses difusi sebagai akibat perbedaan konsentrasi antara media kultur dengan cairan tubuh (Chilmawati dan Suminto, 2010). Andersen (2005), menyatakan bahwa jenis media yang sesuai dengan media tumbuh mikroalga dapat mempercepat proses adaptasi mikroalga dan hal itu dapat menyebabkan mikroalga dapat tumbuh dengan cepat.

Fase ekponensial pada kultur *Nannochloropsis* sp. dengan menggunakan media Pertanian fase ekponensial terjadi pada hari ke-6 sampai hari ke 8 dengan konsentrasi biomassa sel pada akhir fase ekponensial sebesar $1,4 \times 10^7$ sel/ml, pada media Allen-Miquel fase ekponensial terjadi pada hari ke-5 hingga hari ke-12 dengan konsentrasi biomassa sel pada akhir fase ekponensial yaitu $2,2 \times 10^7$ sel/ml, dan media Guillard fase ekponensialnya terjadi pada hari ke-4 hingga hari ke-11 dengan konsentrasi biomassa sel pada akhir fase ekponensial yaitu sebesar $1,9 \times 10^7$ sel/ml. Media Pertanian dan Guillard mencapai akhir fase ekponensial (hari ke 8 dan 11) lebih cepat dari pada media Allen-Miquel (hari ke-12). Perlakuan Media Allen-Miquel lebih lambat mencapai akhir fase ekponensial karena unsur hara yang terdapat pada media Allen-Miquel kurang dimanfaatkan secara optimal pada fase ekponensial (Chilmawati dan Suminto, 2010). Selain itu, perbedaan akhir fase ekponensial disebabkan oleh perbedaan komponen penyusun masing-masing media yang digunakan. Pada media Allen-Miquel ketersediaan konsentrasi nutriennya lebih banyak dibandingkan dengan media Pertanian dan Guillard, sehingga senyawa-senyawa tersebut dapat digunakan dalam waktu yang lebih lama dan penyesuaian terhadap senyawa tersebut juga membutuhkan waktu yang lebih lama sehingga media Allen-Miquel lambat mencapai akhir fase ekponensialnya (Chilmawati dan Suminto, 2010). Selain. Menurut Fogg (1965) terhentinya fase ekponensial disebabkan karena berkurangnya nutrien.

Konsentrasi Biomassa sel *Nannochloropsis* sp. yang Dikultur pada Berbagai Jenis Media pada Akhir Fase Ekponensial

Nannochloropsis sp. yang dikultur pada berbagai jenis media memiliki konsentrasi biomassa sel yang berbeda-beda pada akhir fase ekponensial. Data hasil analisis konsentrasi biomassa *Nannochloropsis* sp. dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Biomassa Sel *Nannochloropsis* sp. pada Akhir Fase Ekponensial yang Dikultur pada Berbagai Jenis Media

Berdasarkan data pada Gambar 2, *Nannochloropsis* sp. yang dikultur pada media Guillard menghasilkan konsentrasi biomasa sel tertinggi yaitu sebesar $1,4 \times 10^7 \pm 2,0$ sel/ml dan media Pertanian menghasilkan konsentrasi biomasa sel terendah yaitu sebesar $0,8 \times 10^7 \pm 1,2$ sel/ml. Perbedaan jumlah konsentrasi biomassa sel *Nannochloropsis* sp. yang dihasilkan oleh kultur *Nannochloropsis* sp. yang dikultur pada berbagai jenis media disebabkan oleh ketersediaan nutrisi penyusun masing-masing media. Pada media Guillard yang digunakan dalam penelitian ini ketersediaan unsur hara makro dan mikro nutrienya lebih lengkap dibandingkan dengan media Allen-Miquel dan media Pertanian. Ketersediaan unsur hara makro dan mikro nutrisi yang lengkap dapat mempengaruhi pertumbuhan biomassa sel *Nannochloropsis* sp.. Pada media Guillard unsur-unsur Fe, Mn, Cl, dan Zn lebih lengkap tersedia dari pada media Allen-Miquel dan Pertanian. Unsur-unsur tersebut digunakan untuk proses fotosintesis, dimana hasilnya digunakan untuk pertumbuhan (Fogg, 1965). Media Pertanian menghasilkan biomassa sel *Nannochloropsis* sp. terendah karena pada media ini tidak tersedianya unsur hara mikronutrien, sedangkan peranan unsur hara mikronutrien dalam laju sangat besar, yaitu bersama-sama makro nutrisi melakukan proses respirasi dan metabolisme (Chilmawati dan Suminto, 2010).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *Nannochloropsis* sp. yang dikultivasi pada berbagai jenis media memiliki pertumbuhan dan waktu panen optimum yang berbeda-beda. Media Pertanian, Allen-Miquel, dan Guillard memiliki waktu panen optimum berturut-turut yaitu pada hari ke-8, 12, dan 11. Media Guillard merupakan media yang paling baik untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dengan jumlah biomassa tertinggi sebesar $1,4 \times 10^7 \pm 2,0$ sel/ml pada hari ke-11 kultivasi.

Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai modifikasi media Guillard untuk meningkatkan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut, Gondol. 2013. Provinsi Bali.
- Chilmawati, D. and Suminto. 2010. *Penggunaan Media Kultur yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Chlorella sp.* Jurnal Saintek Perikanan Vol. 6, No. 1, 2010, 71 – 78.
- Chisti, Y. 2007. *Biodiesel from microalgae.* Biotechnology Advances 25(3):294-306.
- Fogg, G.E. 1965. *Algae Culture and Phytoplankton Ecology.* The University of Wisconsin Press. Madison, Milk Wauhe.
- Hu, H & K. Gao. 2006. *Response of growth and fatty acid compositions of Nannochloropsis sp. to environmental factors under elevated CO2 concentration.* Biotechnol. Lett., 28:987–992.
- Isnanstyo, A. dan Kurniastuti. 1995. *Teknik Kultiur Phytoplankton dan Zooplankton.* Kansius. Jogjakarta.
- Jati, F. Hutabarat, J. dan Herawati, V.E. 2012. *Pengaruh Penggunaan Dua Jenis Media Kultur Teknis yang Berbeda Terhadap Pola Pertumbuhan, Kandungan Protein dan Asam Lemak Omega 3 EPA (Chaetoceros gracilis).* Journal Of Aquaculture Management and Technology. Vol.1 No.1:221-235.
- Kawaroe, M., T. Partono, A. Sunudin, D.S. Wulan, dan D. Augustine. 2010. *Mikroalga : Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar.* IPB Press. Bogor.
- Prabowo, D.A. 2009. *Optimasi Pengembangan Media untuk Pertumbuhan Chlorella sp. Pada Skala Laboratorium.* Skripsi. IPB. Bogor..