



STUDI POLA PERTUMBUHAN DAN KUALITAS SEL *Chlorella* sp. YANG DIHASILKAN MELALUI TEKNOLOGI PENCUCIAN BIBIT SEL

Study of Growth Patterns and Cells Quality of Chlorella sp. Produced by Cell Seed Washing Technology

Sigmund Qory Andreas, Suminto*), Diana Chilmawati

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax. +6224 7474698

ABSTRAK

Di dalam kultur massal *Chlorella* sp. sering terjadi penurunan jumlah sel secara drastis dan lama fase stasioner berselang kurang dari satu hari. Hal ini diduga karena terjadi hubungan tertutup antara bakteri kontaminan dengan *Chlorella* sp. di dalam kulturnya. Penelitian ini bertujuan untuk membersihkan *Chlorella* sp. dari bakteri kontaminan menggunakan teknologi pencucian bibit sel, sehingga dapat memperbaiki pola pertumbuhan dan kualitas sel yang dihasilkan. Metode penelitian ini adalah eksperimen, menggunakan RAL dengan 4 perlakuan dan 4 kali ulangan. Perlakuan itu adalah *Chlorella* sp. yang dikultur dengan tanpa pencucian bibit sel (A), dengan 1 kali pencucian (B), dengan 2 kali pencucian (C), dan dengan 3 kali pencucian (D). Variabel yang diamati yaitu pola pertumbuhan yang terdiri dari waktu adaptasi, laju pertumbuhan spesifik, lama waktu stasioner, kepadatan sel maksimum, kepadatan akhir kultur, dan kualitas sel dengan kandungan proteinya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pencucian bibit sel berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap pola pertumbuhan sel *Chlorella* sp., terutama pada lama waktu fase stasioner dan nilai kepadatan maksimum sel. Lama waktu fase stasioner pada bibit sel yang mengalami pencucian 3 kali terjadi selama 5,5 hari (D), lebih lama dibandingkan dengan tanpa pencucian bibit sel yaitu selama 2 hari (A) dan kepadatan maksimum sel *Chlorella* sp. perlakuan D ($5,2 \times 10^7$ sel/ml), lebih banyak dibandingkan perlakuan A ($1,4 \times 10^7$ sel/ml). Kandungan protein sel *Chlorella* sp. pada perlakuan A (52,52 %) lebih rendah dibandingkan pada perlakuan D (54,93%). Dari hasil tersebut di atas maka dapat disimpulkan bahwa pencucian bibit sel dapat memperbaiki pola pertumbuhan dan kandungan protein *Chlorella* sp. pada kulturnya.

Kata kunci : *Chlorella* sp., Pencucian bibit sel, Protein, Pola Pertumbuhan

ABSTRACT

Mass culture of Chlorella sp. often occurred drastic decrease in the number of cells and a long in the stationary phase which less than one day. It is assumed that due to close correlation of bacterial contaminants on to Chlorella sp. cells in the culture. The aim of this study was cleaned seed cells of Chlorella sp. from the bacterial contaminants by washing cells technology so as to improve the growth pattern and quality of Chlorella cells. The experiment method was employed in this research. There was Completely Randomized Design method with 4 treatments and 4 replicaties, respectively. Those treatments were Chlorella sp. cells cultured with seed cells without washed (A), with one time washed (B), with two times washed (C) and with three times washed (D). Variables observed were growth pattern of Chlorella sp. cells ie: lag phase, specific growth rate, a long time of stationary phase, maximum cells density and the end of culture density, and cells quality with their protein content. The results showed that cells seed washing was significantly effect ($p < 0.05$) on the growth pattern of Chlorella sp. cells, as specialy on the a long time of stationary phase and maximum density. The stationary phase for treatment which washed three times was 5.5 days, longer than the unwashed (2 days). Either on the cell maximum density that higher on treatment D (5.2×10^7 cell/ml) than treatment A (1.4×10^7 cell/ml). The protein content also higher on treatment D (54.93%) than treatment A (52.52%). Those could be concluded that cells seed washing to maximalised the growth patterns and protein content of Chlorella sp. cells in culture.

Key word: *Chlorella* sp., Cells Seed Washing, Protein, Growth patterns

*) Corresponding author (Email : suminto57@yahoo.com)



PENDAHULUAN

Pembenihan merupakan titik awal dalam pengembangan usaha budidaya ikan. Salah satu hal yang dibutuhkan untuk menunjang keberhasilan panti pembenihan (*hatchery*) adalah pemenuhan kebutuhan akan ketersediaan pakan alami yang kontinyu baik secara jumlah maupun kualitasnya. Salah satu jenis pakan alami (fitoplankton) yang digunakan pada kegiatan pembenihan ikan, yaitu *Chlorella* sp. (Prihantini *et al.*, 2005). Menurut penelitian sebelumnya oleh (Iriani *et al.*, 2011), bahwa di dalam sel *Chlorella* sp. mengandung protein, polisakarida, vitamin, mineral, asam lemak (Kim dan Hur, 2013), sterol, pigmen karotenoid (Sharma *et al.*, 2012). Kandungan protein dalam sel *Chlorella* sp. sekitar 51 – 58 % dan terdiri dari berbagai macam asam lemak esensial sebagai sumber nutrisi bagi larva ikan (Becker, 2007). Mengetahui pentingnya *Chlorella* sp., tidak dapat dipungkiri bahwa hampir semua *hatchery* membutuhkan ketersediaan jenis pakan alami itu (Lewaru, 2007).

Kuantitas maupun kualitas yang dihasilkan dari kultur *Chlorella* sp. masih belum konsisten (fluktuatif) sebagai syarat pakan alami yang baik bagi larva ikan budidaya (Okauchi, 1991), sebagai contoh penelitian yang dilakukan oleh (Crofcheck *et al.*, 2012) mengenai pertumbuhan *Chlorella* sp., bahwa waktu adaptasi alga tersebut sangat lama yaitu hampir 96 jam, dan pada kultur sel alga tersebut hanya memiliki waktu stasioner kurang dari 1 hari (Neboh *et al.*, 2014), serta jumlah kepadatan maksimum kultur hanya mencapai rata – rata $3,72 \times 10^6$ sel/ml (Sostaric *et al.*, 2009) dan 4×10^6 sel/ml (Chimawati dan Suminto, 2010).

Hal ini diduga dikarenakan selama ini kultur *Chlorella* sp. tersebut belum *axenic* (bebas dari kontaminan) (Chilmawati, 2009), dengan demikian, keberadaan berbagai jenis bakteri kontaminan akan menjadi kompetitor *Chlorella* sp. dalam memperoleh pakan dan yang pada akhirnya berpengaruh terhadap kuantitas maupun kualitas nutrisi sel mikroalga tersebut. Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa pertumbuhan sel diatom mempunyai hubungan tertutup dengan populasi bakteri yang mengkontaminasi sel diatom (Suminto and Hirayama, 1993). Dijelaskan pada penelitian selanjutnya bahwa 11 jenis dari 12 jenis bakteri yang mendominasi didalam kultur masal sel diatom telah merusak dan berasosiasi dengan sel diatom, selama kultur (Suminto and Hirayama, 1996). Dilaporkan juga bahwa bakteri yang diisolasi dari air laut dalam telah mendorong pertumbuhan diatom, *Asterionella gracialis* (Riquelme *et al.*, 1988). Selain peran bakteri yang mampu mendorong pertumbuhan sel diatom, peneliti lain banyak menemukan bakteri yang sifatnya merusak sel diatom didalam kultur seperti *Chaetoceros ceratosporum* (Sakata *et al.*, 1991), dan mematikan sel *Skeletonema costatum* dalam kultur (Mitsutami *et al.*, 1992), dan bakterial yang mengkontaminasi dalam kultur sel *Chaetoceros gracilis*, *Isochrysis galbana*, dan *Monochrysis lutheri* selama produksi massal di *hatchery* kerang mutiara (Suminto and Hirayama, 1997).

Salah satu pendekatan yang diharapkan mampu mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan memanfaatkan teknologi pencucian bibit sel (Norris dan Ribbons, 1969). Pencucian bibit sel telah dilakukan pada berbagai jenis plankton seperti dari jenis diatom (Suminto dan Hirayama, 1996), *Nannochloropsis oculata* (Oda *et al.*, 2000), *Skeletonema* sp. (Chilmawati dan Suminto, 2013), *Chaetoceros gracilis* dan *Skeletonema costatum* (Chilmawati, 2009). Pencucian bibit sel pada *Chlorella* sp. sendiri belum pernah dilakukan, maka dari itu perlu dilakukan pencucian bibit sel *Chlorella* sp., meskipun kultur *axenic* sedikit sulit dilakukan dalam kultur secara massal akan tetapi, pencucian ini diharapkan mampu memperbaiki pola pertumbuhan dan kualitas sel bibit *Chlorella* sp. dalam kultur laboratorium.

Tujuan dari penelitian ini mengkaji pengaruh setiap tahapan teknologi pencucian bibit sel terhadap pola pertumbuhan sel *Chlorella* sp., mengkaji tahapan teknologi pencucian bibit sel, yang memberikan pertumbuhan *Chlorella* sp. terbaik, untuk pertumbuhan *Chlorella* sp., dan mengkaji kualitas (kandungan protein) sel *Chlorella* sp. dari hasil kultur dengan bibit yang sudah melalui pencucian bibit sel. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai solusi terhadap masalah kegagalan di dalam kultur massal *Chlorella* sp., untuk membantu para pembenih ikan dalam rangka peningkatan produksi benih ikan budidaya, membantu para pengusaha *hatchery* untuk menerapkan teknologi kultur masal sel mikroalga yang berkualitas baik dan secara kontinyu untuk persediaan pakan larva ikan. Kegiatan Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan pada tanggal 08 Oktober 2013 sampai dengan tanggal 08 Februari 2014 Bertempat di Laboratorium Pakan Alami Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan di dalam penelitian ini adalah fitoplankton jenis *Chlorella* sp. Bibit *Chlorella* sp. ini diperoleh dari laboratorium pakan alami BBPBAP Jepara. Peralatan yang digunakan di dalam Penelitian ini terdiri dari mikroskop *converted-binokuler*, *slide glass*, *haemocytometer*, tabung reaksi 10 ml, tabung reaksi 20 ml, *petri dish*, *autoclave*, pipet steril, *clean bench*, ruang isolasi sel mikroalga dan peralatan untuk kepentingan analisa mikrobiologi lainnya. Untuk peralatan kultur sel mikroalga (*Chlorella* sp.) akan digunakan Erlenmeyer flask volume 50 ml, 100 ml, 250 ml, dan 3 l, sedangkan untuk kultur massal akan digunakan adalah bak fiber volume 100 – 200 liter. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut dengan salinitas 28 ppm yang sudah disaring dengan kertas whatman aslesh (0,80 - 1,20 μ m) dan milipore (0,45 μ m) dengan



diameter 4,7 cm dengan bantuan *Vaccum – pump*, yang digunakan sebagai media kultur sel mikroalga (*Chlorella* sp.). Komposisi media yang digunakan untuk kultur *Chlorella* sp. adalah media Erd – Schreiber sedangkan untuk kultur bakteri menggunakan media Zobel dan untuk kultur massal menggunakan pupuk teknis.

Pencucian bibit sel *Chlorella* sp. menggunakan media Erd-Schreiber, pertama menginventarisasi sel plankton yang diambil dari Laboratorium Pakan Alami (BBPBAP Jepara) ke dalam botol flasco 50 ml berisi media Erd-Schreiber. Sel *Chlorella* sp. kemudian ditanam di dalam media EV agar plate dengan mengambil 0,1 ml sel mikroalga menggunakan *micropipet* ke dalam media agar EV dan menumbuhkannya pada suhu 25 °C dan pencahayaan lampu neon 2000 lux selama 7 hari. Setelah 7 hari, dicek di bawah mikroskop CX21FS1 untuk diambil sel *Chlorella* sp. yang relatif bersih dari koloni bakteri dengan menggunakan pipet tetes yang telah diruncingkan ujungnya dengan cara membakar di atas bunsen, dan menariknya dengan pinset. Kemudian memasukkannya dengan cara ditiup ke dalam tabung reaksi 20 ml yang sudah berisi media EV cair 7 ml, kemudian menumbuhkannya selama 5-6 hari. Setelah sel *Chlorella* sp. sudah tumbuh padat, kemudian mengambil 1 ml dengan menggunakan *micropipet* dan memasukkannya untuk ditumbuhkan ke dalam Erlenmeyer flask 50 ml berisi media EV cair 30 ml, sehingga didapatkan hasil sel *Chlorella* sp. pencucian satu kali kemudian metode pencucian ini diulang sebanyak tiga kali.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Sugiyono (2012) menyatakan bahwa penelitian eksperimen dapat diartikan sebagai metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain, dimana dalam kondisi yang terkendalikan. Perlakuan dalam penelitian ini yaitu : 1) perlakuan A tanpa pencucian; 2) perlakuan B pencucian satu kali; 3) perlakuan C pencucian dua kali; 4) perlakuan D pencucian tiga kali. Penelitian ini dimulai dengan melakukan sterilisasi alat-alat laboratorium (*glass ware*), penyaringan air laut, pembuatan *soil extract*, dan pembuatan media.

Data pengamatan pola pertumbuhan *Chlorella* sp. meliputi durasi waktu adaptasi, laju pertumbuhan spesifik, lama fase stasioner, kepadatan sel maksimum, kepadatan akhir kultur, dan kepadatan bakteri kontaminan. Perhitungan durasi waktu adaptasi adalah dengan cara menghitung regresi linier selama fase eksponensial (Suminto dan Hirayama, 1996) ditunjukkan sebagai :

$$Y = Ak + B$$

Dimana: Y = kepadatan sel (log jumlah sel/ml)

A = waktu (hari)

B = konstanta

Lama waktu adaptasi (*lag phase*) dihitung sebagai A pada waktu penanaman inokulan atau kepadatan inokulasi ($Y = 5 \times 10^4$ sel/ml).

Laju pertumbuhan spesifik dihitung sebagai nilai k, (Fogg, 1965) dimana:

$$k = \frac{\log(W_t - W_0)}{\Delta t}$$

Keterangan : W_t = kepadatan pada fase eksponensial akhir (jumlah sel/ml)

W_0 = kepadatan pada fase eksponensial awal (jumlah sel/ml)

Δt = selisih hari fase eksponensial akhir dan eksponensial awal

Kultur massal dilakukan untuk persiapan uji kandungan protein *Chlorella* sp. pertama menyiapkan bibit sel *Chlorella* sp. dari hasil pencucian 1, 2, dan 3 dan tanpa pencucian untuk ditanam kedalam erlenmeyer flask 100 ml yang berisi 50 ml media Erd-Schreiber, kemudian dilanjutkan kultur pada volume 250 ml dan 3 liter, setelah itu dipindahkan pada bak fiber volume 200 liter. Pemanenan kultur *Chlorella* sp. dilakukan setelah sel mencapai fase puncak yaitu sekitar 6 – 7 hari dengan cara mengendapkan menggunakan penambahan NaOH kemudian memisahkan sel *Chlorella* sp. dengan air lalu mengoven endapan sel *Chlorella* sp. yang didapatkan dengan suhu 35 °C selama 2 – 3 hari hingga menjadi bentuk flake, sampel kemudian dipisahkan dan diuji protein dengan metode Kjeldahl-Mikro di Laboratorium Uji Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, FTP, UGM Yogyakarta (Legowo *et al.*, 2005).

Data di analisis dengan menggunakan analisis ragam uji F untuk mengetahui apakah perlakuan yang diujicobakan berpengaruh terhadap pola pertumbuhan dan nilai nutrisi dari sel mikroalga *Chlorella* sp. (Steel dan Torrie, 1993). Apabila diketahui terdapat perbedaan yang nyata, dilakukan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar masing – masing perlakuan (Srigandono, 1990).

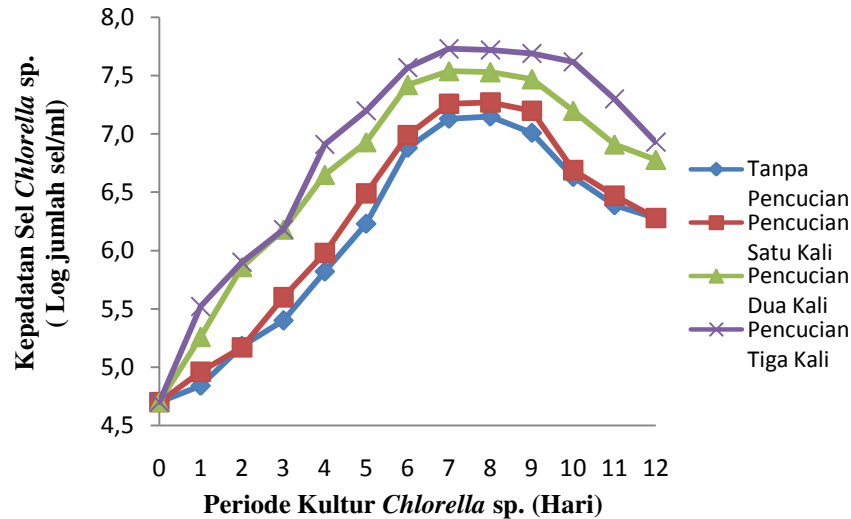


HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Pola Pertumbuhan *Chlorella* sp.

Hasil perhitungan kelimpahan *Chlorella* sp. secara grafik dapat dilihat pada gambar berikut ini :



Gambar 1. Pola pertumbuhan *Chlorella* sp. selama 12 hari kultur

Kelimpahan *Chlorella* sp. merupakan hasil pengamatan selama 12 hari masa kultur. Hasil yang tergambar pada grafik, menunjukkan bahwa kelimpahan *Chlorella* sp. pada awal penebaran semua perlakuan memiliki kepadatan yang sama yaitu sebanyak 5×10^4 sel/ml. Terlihat pada grafik bahwa untuk perlakuan A meningkat secara eksponensial sampai hari ke-7 dan mengalami puncak kelimpahan selnya pada hari ke-8. Setelah puncak kelimpahan sel terjadi penurunan dari hari ke-9 sampai pada akhir kultur hari ke-12. Perlakuan B memiliki pola yang sama dengan A tetapi fase stasionernya sedikit lebih lama (1 hari), sedangkan pada perlakuan C terdapat perbedaan dimana *Chlorella* sp. mencapai fase stasioner pada hari ke-6 dan puncak populasi pada hari ke-7 setelah itu menurun secara signifikan mulai hari ke-10 sampai akhir pengamatan. Perlakuan D memperlihatkan bahwa *Chlorella* sp. mencapai fase stasioner pada hari ke-6 dan puncak kepadatan pada hari ke-7 kemudian baru menurun kepadatannya secara signifikan pada hari ke-11.

Variabel pola pertumbuhan *Chlorella* sp. yang diamati pada penelitian ini meliputi lama waktu adaptasi (*lag phase*), laju pertumbuhan spesifik, lama fase stasioner (*stationary phase*), kepadatan sel maksimum dan kepadatan akhir kultur, untuk nilai variabel pola pertumbuhan pada masing – masing perlakuan pencucian bibit sel di dalam kultur *Chlorella* sp. tersaji dalam Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Variabel Pola Pertumbuhan *Chlorella* sp. pada masing – masing Perlakuan Pencucian bibit sel

Perlakuan	Variabel Pola Pertumbuhan				
	Lama waktu adaptasi (hari)	Laju Pertumbuhan Spesifik (per hari)	Lama Fase Stasioner (hari)	Kepadatan Sel Maksimum (Log sel/ml)	Kepadatan Akhir Kultur (Log sel/ml)
A	$0,99 \pm 0,01^a$	$0,41 \pm 0,01^a$	$2,00 \pm 0,00^a$	$7,17 \pm 0,03^a$	$6,28 \pm 0,04^a$
B	$0,97 \pm 0,01^a$	$0,41 \pm 0,01^a$	$3,00 \pm 0,00^b$	$7,29 \pm 0,06^b$	$6,28 \pm 0,11^a$
C	$0,87 \pm 0,02^b$	$0,42 \pm 0,03^a$	$4,50 \pm 0,57^c$	$7,57 \pm 0,03^c$	$6,78 \pm 0,06^b$
D	$0,85 \pm 0,01^b$	$0,47 \pm 0,03^b$	$5,50 \pm 0,57^d$	$7,75 \pm 0,01^d$	$6,93 \pm 0,05^c$

Keterangan:

- Nilai dengan tanda superscript yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$)
- Nilai dengan tanda superscript yang sama, menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

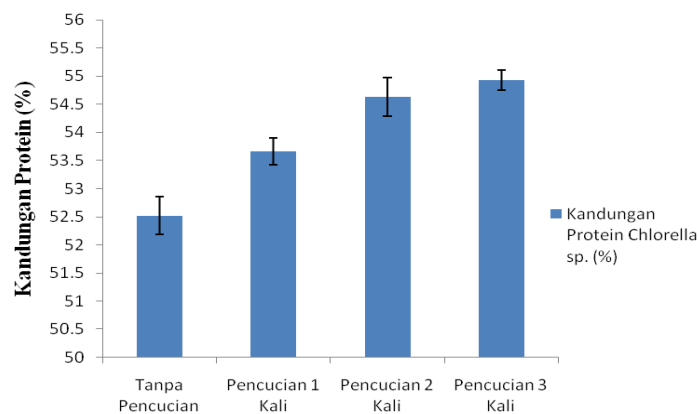
Berdasarkan nilai yang tersaji dalam tabel di atas dapat dilihat bahwa untuk variabel lama waktu adaptasi terdapat perbedaan rata – rata nilai antar setiap perlakuan. Perlakuan A rata – rata membutuhkan lama waktu adaptasi terlama ($0,99 \pm 0,01$ hari) dan Perlakuan D membutuhkan rata – rata waktu adaptasi tercepat yaitu $0,85 \pm 0,01$ hari. Rata – rata nilai untuk variabel laju pertumbuhan spesifik pada pencucian *Chlorella* sp. menunjukkan bahwa perlakuan A dan B memiliki nilai terendah yaitu $0,41 \pm 0,01$ per hari dan perlakuan D memiliki nilai tertinggi yaitu rata – rata $0,47 \pm 0,03$.



Lama fase stasioner di dalam pola pertumbuhan *Chlorella* sp. merupakan salah satu variabel yang diamati, dimana berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada perlakuan A memiliki lama fase stasioner paling pendek yaitu rata – rata $3,00 \pm 0,00$ hari dan untuk perlakuan D memiliki waktu terpanjang yaitu rata – rata $7,00 \pm 0,00$ hari. Variabel kepadatan sel maksimum menunjukkan bahwa rata – rata nilai terendah adalah pada perlakuan A yaitu $7,17 \pm 0,03$ log sel/ml dan tertinggi pada perlakuan D yaitu $7,75 \pm 0,01$ log sel/ml. Variabel kepadatan akhir juga menunjukkan pola yang sama dengan variabel lain dimana kepadatan terendah pada perlakuan A dan B yaitu rata – rata $6,28 \pm 0,04$ log sel/ml dan kepadatan akhir tertinggi adalah pada perlakuan D yaitu rata – rata $6,93 \pm 0,05$ log sel/ml.

Kandungan Protein *Chlorella* sp.

Histogram kandungan protein *Chlorella* sp. dapat dilihat pada Gambar 2, dimana perlakuan A mengandung protein dengan jumlah paling rendah yaitu sekitar 52,52 %, perlakuan B rata – rata 53,66 %, perlakuan C rata – rata 54,62 % dan perlakuan D memiliki jumlah protein tertinggi yaitu sekitar 54,93 %.



Gambar 2. Kandungan Protein dari *Chlorella* sp., Tanpa dan Setelah Mengalami Beberapa Kali Pencucian bibit sel

PEMBAHASAN

Pola Pertumbuhan *Chlorella* sp.

Pola pertumbuhan *Chlorella* sp. merupakan salah satu variabel yang menjadi kajian dalam penelitian ini. Secara umum pola pertumbuhan plankton membentuk grafik dengan 5 fase pertumbuhan (Suminto, 2005). Pengamatan pola pertumbuhan sel mikroalga *Chlorella* sp. pada penelitian ini dilakukan setiap 24 jam sekali dengan lama masa pertumbuhan 12 hari. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pencucian bibit sel, dengan membuat faktor kualitas air (suhu, pH, salinitas) dan intensitas cahaya antar semua perlakuan sama.

Suhu yang digunakan dalam penelitian ini berkisar ± 25 °C, hal ini disesuaikan dengan suhu optimal yang diperlukan oleh *Chlorella* sp. untuk tumbuh optimal (Sostaric *et al.*, 2009), (Cahyaningsih *et al.*, 2009). pH media PA (*pure analis*) (Erd – Screiber) yang digunakan untuk kultur *Chlorella* sp. berkisar antara 7,6 – 7,8, nilai ini sesuai dengan kebutuhan sel mikroalga untuk dapat tumbuh optimum yaitu 7,5 – 8,5 (Amini, 2005). Salinitas juga salah satu variabel yang dibuat sama antar semua perlakuan yaitu 28 ppt. Menurut Shah *et al.*, (2003) dan Chalid *et al.* (2010) kehidupan mikroalga laut jenis *Chlorella* sp. cukup toleran pada lingkungan dengan kadar garam 0 – 70 ppt. Kultur mikroalga dalam penelitian ini semua perlakuan mendapatkan intensitas cahaya yang sama yaitu 2000 lux, dimana sumber cahaya menggunakan dua lampu TL 40 watt. Seperti pada penelitian sebelumnya bahwa *Chlorella* sp. memerlukan sekitar 1000 – 4000 lux untuk optimalisasi pertumbuhannya (Sari dan Manan, 2012; Wijanarko *et al.*, 2006).

Berdasarkan hasil pengamatan, perlakuan pencucian bibit sel memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pola pertumbuhan *Chlorella* sp. Perlakuan pencucian ternyata mampu memperpendek fase adaptasi (*lag phase*), memperpanjang fase stasioner (*stationary phase*) dengan kepadatan sel maksimum (*Maximum Cell Density*) yang tinggi. Perlakuan pencucian bibit sel memberikan lama waktu adaptasi (*lag phase*) yang semakin pendek dimana hasil yang sama juga disampaikan oleh Chilmawati (2009) pada jenis *Chaetoceros* sp. dan *Skeletonema* sp.

Chlorella sp. yang mendapatkan perlakuan pencucian memiliki waktu adaptasi lebih cepat, yang berarti bahwa masa adaptasi sel mikroalga terhadap media kultur semakin cepat, sehingga memberikan laju pertumbuhan spesifik (*Specific Growth Rate*) yang lebih besar karena sel mikroalga dapat memanfaatkan kandungan nutrisi yang ada dalam media kultur secara optimal. Seperti halnya yang disampaikan oleh Lewaru (2007) karena di dalam masa adaptasi, sel – *Chlorella* sp. memulihkan enzim dan konsentrasi substrat ke tingkat yang diperlukan untuk pertumbuhan serta masuknya unsur hara ke dalam sel fitoplankton melalui proses difusi



maka dari itu optimalnya waktu *lag phase* dipengaruhi oleh berkurangnya kontaminan mikroorganisme lain (bakteri) sebagai kompetitor di dalam media hidupnya (Chilmawati, 2009).

Pencucian sel juga memberikan hasil yang positif terhadap fase stasioner dan kepadatan maksimum sel, dimana ternyata mampu memperpanjang fase stasioner (*stationary phase*) dengan kepadatan sel maksimum (*Maximum Cell Density*) yang tinggi, seperti halnya dengan penelitian yang sudah dilakukan oleh Suminto dan Hirayama (1996) pada *Chaetoceros gracilis* dan Rinawati (2009) pada *Skeletonema* sp. dan Chilmawati (2009) pada *Skeletonema* sp. dan *Chaetoceros* sp. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa dengan berkurangnya jumlah kepadatan bakteri (sebagai kontaminan) di dalam media kultur *Chlorella* sp. dapat mengoptimalkan pertumbuhan dari plankton yang dikultur (Chilmawati, 2009; Suminto dan Hirayama, 1993).

Kandungan Protein *Chlorella* sp.

Penelitian pencucian *Chlorella* sp. selain untuk mendapatkan pakan alami yang bebas dari bakteri kontaminan, tetapi juga untuk mendapatkan mikroalga yang berkualitas, dari segi kandungan nutrisinya dan kualitas morfologi selnya. Subandiyono dan Hastuti (2010) mengemukakan bahwa relevansinya adalah protein merupakan salah satu komponen makro-nutrien yang sangat penting, dikarenakan memiliki peranan utama dalam pertumbuhan ikan terutama saat larva, ikan sangat butuh protein yang tinggi.

Berdasarkan analisa kandungan protein yang dilakukan di Laboratorium Fakultas Teknologi Pertanian UGM, bahwa kandungan protein meningkat seiring peningkatan jumlah pencucian. Pencucian tiga kali memiliki nilai protein paling tinggi ($54,93 \pm 0,18$ %) dibandingkan dengan pencucian satu dan dua serta tanpa pencucian. Menurut Hernadiemas (2012), inti sel atau nukleus yang terdapat dalam mikroalga mengandung sebagian besar materi genetik sel dengan bentuk DNA linier panjang yang membentuk kromosom dengan berbagai jenis protein.

Bakteri di dalam media kultur mikroalga selain sebagai kontaminan dan kompetitor makanan, juga dapat bersifat merusak sel mikroalga seperti nukleus, dinding sel, mitokondria dan sebagainya. Nukleus yang rusak dapat menurunkan kandungan protein di dalam sel *Chlorella* sp. (Suminto dan Hirayama, 1996). Hal inilah yang menyebabkan kandungan protein *Chlorella* sp. pada perlakuan tanpa pencucian lebih rendah dibandingkan kandungan protein *Chlorella* sp. yang telah mengalami perlakuan pencucian.

Hal lain yang menyebabkan perbedaan kandungan protein antar perlakuan adalah adanya persaingan dalam memperoleh makanan sehingga menyebabkan pembelahan serta pertumbuhan sel menjadi terganggu. Chilmawati (2009) menyatakan bahwa, tingginya populasi bakteri yang berasosiasi di dalam kultur plankton menyebabkan penurunan nilai nutrisi sel plankton. Pencucian bibit sel menghasilkan penyediaan kultur stok relatif murni berkurang dari kontaminasi bakteri atau mikroorganisme lain sehingga meningkatkan kuantitas maupun kualitas produksi sel plankton tersebut, baik dari segi anatomi maupun nilai nutrisinya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat diambil selama penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Tahap pencucian bibit sel berpengaruh terhadap pola pertumbuhan *Chlorella* sp.
2. Pencucian bibit sel tiga kali memberikan pertumbuhan *Chlorella* sp. terbaik dibandingkan dengan perlakuan lainnya.
3. Teknologi pencucian bibit sel berpengaruh terhadap kualitas sel (kandungan protein) *Chlorella* sp. yang dihasilkan.

Berdasarkan hasil dan kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini, maka saran yang dapat disampaikan adalah perlu untuk dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai jenis bakteri dan perannya sebagai pendukung atau penghambat pertumbuhan sel *Chlorella* sp., sehingga dapat diseleksi untuk dikembangkan sebagai agen probiotik

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan bagian dari payung penelitian yang dibiayai oleh Ditlitabmas Ditjen Dikti Kemendikbud Th. Anggaran 2013, melalui DIPA UNDIP dengan nomer DIPA – 023.04.2.189815/2013 tanggal 5 Desember 2012. Kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Bpk. Djuyoto, Ibu Nur Cholifah, Panji Budianto, Wawan Setiawan, Vika Ratna Noviani, Yelliana Fatmawati Suwarno dan Bpk. Marsudi yang telah membantu dalam penelitian ini. Disampaikan pula terimakasih kepada Kepala Laboratorium Budidaya Perairan, Laboratorium Pakan Alami BBPAP Jepara dan LPWP Undip, Jepara.

DAFTAR PUSTAKA

- Amini, S. 2005. Konsentrasi Unsur Hara pada Media dan Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dengan Pupuk Organik Teknis dan Analis. Jurnal Perikanan (J-Fish Sci.) UGM, Yogyakarta, 8(2) : 201 – 206.
- Becker, W. 2007. *Microalgae in Human and Animal Nutrition. Handbook of Microalgae Culture*. Biotechnology and Applied Phycology, Blackwell Publishing, Oxford : 312 – 351.



- Cahyaningsih, S., A.N.M. Muchtar, S.J. Purnomo, I. Kusumaningrum, Pujiati, A. Haryono, Slamet dan Asniar. 2009. Teknis Produksi Pakan Alami. Departemen Kelautan dan Perikanan Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. BPAP Situbondo, 35 Hal.
- Chalid, S.Y., S. Amini, dan S.D. Lestari. 2010. Kultivasi *Chlorella* sp. pada Media Tumbuh yang Diperkaya dengan Pupuk Anorganik dan *Soil Extract*. FST, UIN Syarif Hidayatullah Press, Jakarta : 398 – 304.
- Chilmawati, D. 2009. Pengaruh Pencucian Bibit Sel terhadap Pertumbuhan dan Nilai Nutrisi Diatom, *Chaetoceros gracilis* dan *Skeletonema costatum*, serta Perkembangan Larva Udang Vaname (*L. vanamei*). [Tesis]. MSDP Prog. Pasca Sarjana UNDIP, Semarang.
- Chilmawati, D. dan Suminto. 2010. Penggunaan Media Kultur yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. Saintek Perikanan, UNDIP, Semarang, 6 (1) : 71-78.
- _____ . 2013. Pengaruh Pencucian Sel terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Sel *Skeletonema costatum*. Jurnal Saintek Perikanan, UNDIP, Semarang, 7 (2) : 16-21.
- Crofcheck, C., E.X. Shea, M. Montross, M. Crocker, R. Andrews. 2013. *Influence of Media Composition on the Growth Rate of Chlorella vulgaris and Scenedesmus acustus Utilized for CO₂ Mitigation*. Journal Biochemical Technology, Lexington USA, 4(2) : 589 – 594.
- Fogg, G.E. 1965. *Algae Culture and Phytoplankton Ecology*. The University of Winconsin Press. Madisson Milk Wauhe.
- Hernadiemas, R.F. 2012. Evaluasi Pertumbuhan dan Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris* pada Kultivasi Fotoboreaktor Outdoor Skala Pilot dengan Pencahayaan Terang Gelap Alami. [Skripsi]. Universitas Indonesia, Depok, 82 hlm.
- Iriani, D., O. Suriyaphan, and N. Chaiyanate. 2011. *Effect of Iron Concentration on Growth, Protein Content and Total Phenolic Content of Chlorella sp. Cultured in Basal Medium*. Sains Malaysiana, 40(4) : 353 – 358.
- Kim, D.G. and S.B. Hur. 2013. *Growth and Fatty Acid Compositon of Three Heterotrophic Chlorella sp.* Algae Research Articiel, Busan Korea 28(1) : 101 – 109.
- Legowo, A.M., Nurwantoro dan Sutaryo. 2005. Analisis Pangan. UNDIP Press, Semarang. 78 hlm.
- Lewaru, M.W. 2007. Pengaruh Pemberian Zat Pengatur Tumbuh pada Media Kultur PHM terhadap Kandungan Protein *Chlorella* sp. Jurnal Aquakultur Indonesia, 6(1): 37 – 42.
- Mitsutami, A., K. Takesue, M. Kirita, and Y.Ishida, 1992. *Lysis of Skeletonema costatum by Cytophaga sp. Isolated from the Coastal Water of the Ariake Sea*. Nippon Suisan Gakkaishi 58: 2159 – 2169.
- Neboh, H.A., O.K. Agwa and G.O. Abu. 2014. *Growth of Chlorella sp.on Flue Gas*. British Journal of Applied Science and Technology, 4(5) : 749 – 763.
- Norris, J.R. and Ribbons, D.W. 1969. *Methods in Microbiology*. Academic Press, London and New York, 3B. 269 – 308.
- Oda, Tatsuya, N. Komatsu, T. Muramatsu, A. Nonaka, Suminto and K. Hirayama. 2000. *Detoxifying Ability of Marine Bacterium Flavobacterium sp. Against a Toxic Contaminant in the Reagent Sodium Chloride to N. oculata*. Fisheries Science Japan, 66 : 241 – 248.
- Okauchi, M. 1991. *The Status of Phytoplankton Production as Food Organism in Japan*. In: W. Fulks and K. L. Main (Eds). *Prosceedings of a U.S. – Asia Workshop, Rotifer and microalgae Culture Systems*. The Oceanic Institute, Honolulu: 247 – 256.
- Prihantini N. B., B. Putri dan R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* sp. dalam Medium Ekstrak Tauge (*MET*) dengan Variasi pH Awal. Makara, Sains, 9(1): 1-6.
- Riquelm, C.E., K. Fukami and Y. Ishida. 1988. *Effect of Bacteria on the Growth of a Marine Diatome, Asterionella glacialis*. Bull. Jap. Soc. Microbial. Ecol. 3: 29 – 34.
- Sakata, T., Y. Fujita and H. Yasumoto, 1991. *Plaque Formation by Algicidal Saprospirai sp. on a Lawn of Chaetoceros ceratosporum*. Nippon Suisan Gakkaishi 57: 1147 – 1152.
- Sari, I.P. dan A. Manan. 2012. Pola Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* pada Kultur Skala Laboratorium, Intermediet dan Massal. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, 4(2):123-127.
- Shah, M.M.R., M.J. Alam and M.Y. Mia. 2003. *Chlorella sp.: Isolatio, Pure Culture and Small Scale Culture in Brackish – Water*. J. Sci. Ind. Res., Bangladesh, 38(3-4) : 165 – 174.
- Sharma, R., G.P. Singh dan V.K. Sharma. 2012. *Effects of Culture Conditions on Growth and Biochemical Profile of Chlorella vulgaris*. Journal Plant Pathology and Microbiology, Rajasthan, India, 3(5) : 1 – 6.
- Sostaric, M., J. Golob, M. Bricelj, D. Klinar and A. Pivec. 2009. *Studies on the Growth of Chlorella vulgaris in Culture Media with Different Carbon Sources*. Biochemical Engineering, Ljubljana, Slovenia, 23 (4) : 471 – 477.
- Srigandono, B. 1990. Rancangan Percobaan. Fakultas Peternakan, UNDIP Press. Semarang.
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu Pendekatan Masalah Biometrik. Gramedia, Jakarta.
- Subandiyono dan S. Hastuti. 2010. Buku Ajar Nutrisi Ikan. Badan Penerbit UNDIP, Semarang, 230 hlm.



- Sugiyono. 2012. Metode Penelitian Kombinasi (*Mixed Methods*). Alfabeta, Bandung. 213 hlm.
- Suminto. 2005. Buku Ajar Budidaya Pakan Alami Mikroalga dan Rotifer. FPIK Undip, Semarang. 72 hlm.
- Suminto dan K. Hirayama. 1997. *Application of a Growth – Promotion Bacteria for Stable Mass Culture of Three Marine Microalgae*. Development in Hydrobiology, Live food in Aquaculture. Kluwer Academic Publishers., Part III: 223 – 230.
- dan K. Hirayama. 1996. *Effect of Bacteria Coexistence on the Growth of a Marine Diatome Chaetoceros gracilis*. Fish. Sci., 62: 40-43.
- dan K. Hirayama. 1993. *Relation between Diatome Growth and Bacterial Population in Semi Mass Culture Tanks of Diatom*. Bull Fac. Nagasaki University, 74/75: 37 – 41.
- Waluyo, L. 2005. Mikrobiologi Umum. Universitas Muhammadiyah Malang Press, Malang.
- Wijanarko, A., Dianursanti, H., Heidi, R.W. Soemantojo and K. Ohtaguchi. 2006. *Effect of Lights Illumination Alteration on Chlorella vulgaris Buitenzorg's CO₂ Fixation in Bubble Column Photobioreactor*. International Journal of Algae. 8(1) : 53 – 60.