

## PENGARUH INJEKSI KARBON DIOKSIDA TERHADAP PERTUMBUHAN CHLORELLA SP. DAN NANNOCHLOROPSIS OCULATA

Lily M.G. Panggabean<sup>1</sup>, Rudi Hartono<sup>2</sup>, Vera Septy Sayeva<sup>2</sup> dan Sumaker Sitorus<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI

<sup>2</sup>Universitas Negeri Sultani Ageng Tirtayasa-Jurusan teknik kimia

Email: mglilyp@yahoo.com

sumakersitorus@yahoo.com

verasayeva@yahoo.com

### ABSTRAK

Tumbuhan akuatik seperti mikroalga membutuhkan CO<sub>2</sub> untuk fotosintesis, tetapi kehadiran CO<sub>2</sub> dalam air menyebabkan turunnya pH. Penelitian injeksi CO<sub>2</sub> pada biakan mikroalga *Chlorella* sp. dan *Nannochloropsis oculata* dilakukan untuk mengetahui respons pertumbuhan kedua alga tersebut dengan pemberian CO<sub>2</sub>. Kedua strain alga berasal dari koleksi kultur mikroalga Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI setelah diadaptasikan dengan kondisi setempat, masing-masing diinokulasikan ke dalam tiga botol Duran 2l yang berisi 1,6l air laut steril 28 ppt yang diperkaya dengan medium f/2. Alga diinkubasikan pada suhu ruangan dan penyinaran 5000 luks selama 8 jam/hari. Botol 1 diinjeksi udara (aerasi) tanpa CO<sub>2</sub>, botol 2 diinjeksi dengan campuran udara dan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu selama penyinaran dan botol 3 juga dengan 5% CO<sub>2</sub> secara interval 2 menit setiap setengah jam. Pengamatan pertumbuhan alga dilakukan setiap hari melalui penghitungan kepadatan sel dengan haemocytometer. Hasil percobaan menunjukkan bahwa biakan *Chlorella* sp dalam medium f/2 yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu tumbuh lebih baik dari pada perlakuan injeksi secara interval maupun kontrol. Sedangkan pertumbuhan *N. Oculata* pada perlakuan dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu lebih rendah dari kontrol dan perlakuan interval. Nilai pH pada eksperimen dengan injeksi CO<sub>2</sub> secara kontinyu turun hingga 6. *Chlorella* sp dapat menyerap CO<sub>2</sub> yang diberikan secara kontinyu dan tidak terganggu oleh pH rendah, sedangkan penyerapan CO<sub>2</sub> oleh *N. Oculata* terhambat oleh pH rendah.

Kata kunci: mikroalga, CO<sub>2</sub>, *Chlorella*, *Nannochloropsis oculata*, pH

### ABSTRACT

Aquatic microalgae needs CO<sub>2</sub> for photosynthesis, but CO<sub>2</sub> reduces water pH. Research on CO<sub>2</sub> injection into cultures of *Chlorella* and *Nannochloropsis oculata* was carried out to examine growth responses of both algae after on. Both algal strains from Research Centre for Oceanography's culture collection were adapted to the laboratory condition and inoculated into three 2 l Duran flasks filled with 1,6 l steril 28 ppt seawater enriched with f/2 medium. They were incubated at room temperature and at 5000 lux illumination for 8 hrs/day. During light periods, flask 1 was aerated without CO<sub>2</sub> addition, flask 2 with continuous air injection mixed with 5% CO<sub>2</sub> and flask 3 with interval 2 minutes injection of air and 5% CO<sub>2</sub> every half an hour. Growth responses were examined every day by cell counting using haemocytometer. Experiments showed that *Chlorella* sp. in f/2 medium with continuous CO<sub>2</sub> injection has grown better than that of interval injection and control. While *N. oculata* growth was retarded by continuous 5% CO<sub>2</sub> injection, if compared to interval injection and control. PH was dropped to 6 at the continuous injection. *Chlorella* sp. might have absorbed CO<sub>2</sub> at low pH better than *N. oculata*.

Keywords : microalga, CO<sub>2</sub>, *Chlorella*, *Nannochloropsis oculata*, pH

## PENDAHULUAN

Gas-gas rumah kaca termasuk diantaranya yaitu emisi karbon dioksida dari pembakaran bahan bakar fosil terakumulasi di atmosfer mengakibatkan pemanasan dan perubahan cuaca di bumi. Di sisi lain, CO<sub>2</sub> merupakan kebutuhan utama bagi tumbuhan termasuk mikroalga. Mengalirkan udara ke dalam media kultur dengan sistem aerasi dapat memberi karbon yang dibutuhkan untuk fotosintesis alga. Tetapi udara bebas hanya mengandung 0.033% CO<sub>2</sub>. Lee & Pirt (1984), Merchuk *et al.* (2000), Morita *et al.* (2001) dan Babcock *et al.* (2002) telah mencoba menambahkan 0.2-5% CO<sub>2</sub> dari udara total ke dalam sistem aerasi pada biakan mikroalga.

Chrismadha *et al.* (2006) menyatakan bahwa belum ada penelitian biofiksasi CO<sub>2</sub> pada mikroalga di Indonesia. Chrismadha *et al.* (2006) melakukan uji coba biofiksasi CO<sub>2</sub> pada dua jenis mikroalga air tawar *Chlorella pyrenoidosa* dan *Ankistrodesmus*. Dalam penelitian ini, uji coba dilakukan pada strain laut *Chlorella* sp dan *Nannochloropsis oculata* dari Koleksi kultur mikroalga di Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI (Panggabean, 2007).

## BAHAN DAN METODE

*Chlorella* sp. strain Ancol yang diisolasi pada tahun 1994 dan *Nannochloropsis oculata* dari koleksi kultur mikroalga Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI yang telah diadaptasikan dengan suhu ruangan dalam botol erlenmeyer 250 ml dengan volume kultur 100mL sebagai biakan 'starter'. Pada akhir pertumbuhan logaritmik biakan starter diinokulasikan ke dalam tiga botol Duran 2l yang berisi 1,6l air laut 28 ppt yang diperkaya dengan medium f/2 (Guillard, 1975). Mereka diinkubasikan pada suhu ruangan dan penyinaran 5000 luks selama 8 jam/hari. Botol 1 diinjeksi udara (aerasi) tanpa CO<sub>2</sub>, botol 2 diinjeksi dengan campuran udara dan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu selama penyinaran dan botol 3 juga dengan 5% CO<sub>2</sub> secara interval 2 menit setiap setengah jam. Pengamatan pertumbuhan alga dilakukan setiap hari dengan penghitungan kepadatan sel alga dengan haemocytometer hingga memasuki fase stasioner awal, dimana pertumbuhan sudah mulai berkurang karena kekurangan nutrisi dalam media.

Kepadatan sel alga diplotkan dalam kurva logaritmik dan laju tumbuh dari masing-masing perlakuan dihitung dengan rumus

$$\frac{\log N_t - \log N_0}{\Delta t}$$

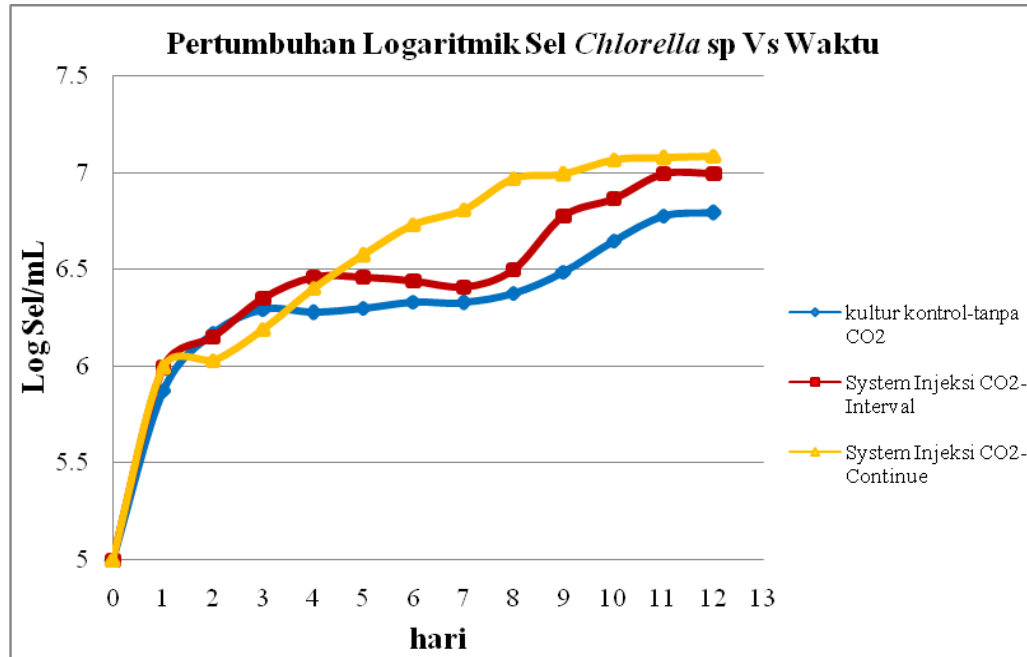
dimana  $N_t$  dan  $N_0$  adalah jumlah sel pada awal dan akhir pertumbuhan logaritmik selama  $\Delta t$ . Pengukuran salinitas, pH dan suhu biakan dilakukan setiap hari, yaitu sebelum dilakukan injeksi CO<sub>2</sub> ke dalam sistim aerasi pagi hari dan sesudah injeksi CO<sub>2</sub> dihentikan pada sore hari.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pertumbuhan *Chlorella* sp.

Variasi perlakuan injeksi 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu dan interval menghasilkan response pertumbuhan *Chlorella* sp. yang berbeda (Gambar 1). *Chlorella* mengalami percepatan pertumbuhan sel dalam 24 jam setelah inokulasi, dimana dari kepadatan awal 100.000 sel/ml menjadi 750.000 sel/ml, 987.500 sel/ml dan 987.500 sel/ml berturut-turut pada kontrol, injeksi 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu dan 5% CO<sub>2</sub> secara interval. Tetapi *Chlorella* sp. kemudian mengalami fase lag dan diikuti dengan pertumbuhan eksponensial yang berikutnya. Fase lag hanya berlangsung 24 jam pada perlakuan injeksi 5% CO<sub>2</sub> kontinyu dan interval, sedangkan pada kontrol fase lag berlangsung sangat lama hingga hari ke delapan.

Ditinjau dari laju pertumbuhan logaritmik dan capaian kepadatan sel tertinggi, *Chlorella* sp. yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu mengalami pertumbuhan logaritmik hingga hari ke delapan (laju pertumbuhan 0,156) dengan pencapaian kepadatan sel maksimum yaitu pada hari ke 12 sebesar 12.141.250 sel/ml. Sementara *Chlorella* sp yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara interval mengalami pertumbuhan logaritmik hanya sampai hari ke empat (laju pertumbuhan 0,105) dan mengalami fase lag kembali hingga hari kedelapan dan kemudian mengalami pertumbuhan logaritmik kembali (laju pertumbuhan 0,164). Capaian kepadatan sel maksimal pada perlakuan injeksi 5% CO<sub>2</sub> secara interval yaitu 9.927.500 sel/ml. Kontrol juga mengalami fase lag yang panjang hingga hari ke delapan baru mengalami pertumbuhan logaritmik (laju pertumbuhan 0,133) dengan kepadatan sel maksimal 6.201.250 sel/ml.



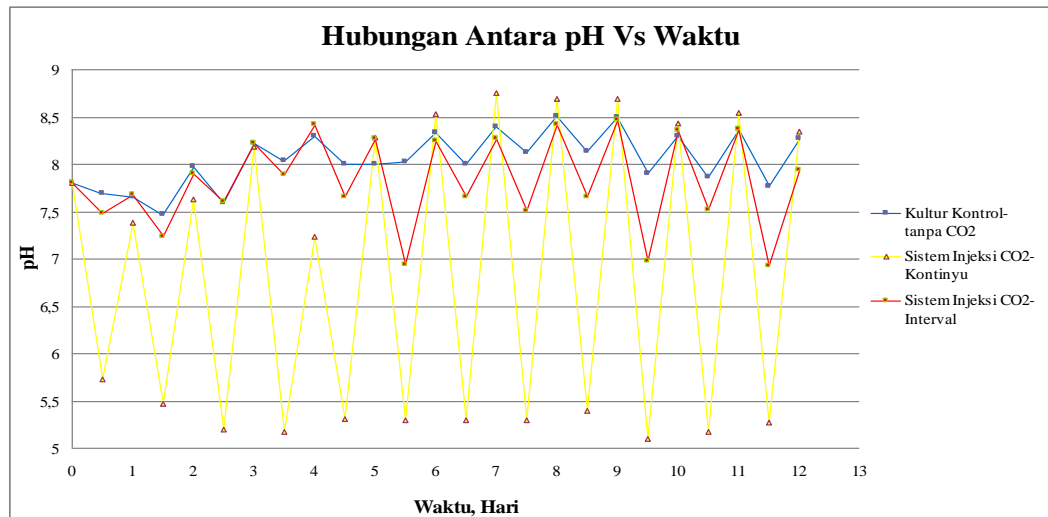
Gambar 1. Pertumbuhan *Chlorella* sp. pada berbagai perlakuan injeksi CO<sub>2</sub>

Hasil tersebut sesuai dengan hasil perlakuan variasi CO<sub>2</sub> (0,05%, 2%, 5% dan 10%) oleh Chrismadha *et al.* (2006) pada strain air tawar *Chlorella vulgaris*, kepadatan sel tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan 5% CO<sub>2</sub> (102 juta sel/ml). Sedangkan pada *Chlorella* sp. KR-1 laju tumbuhnya paling tinggi oleh penambahan 10% CO<sub>2</sub> secara kontinyu dan strain tersebut masih dapat tumbuh dengan pemberian 70% CO<sub>2</sub> (Sung *et al.*, 1999). *Chlorella* sp. T-1 mempunyai toleransi lebih tinggi terhadap CO<sub>2</sub>, yaitu sebesar 15% (Maeda *et al.*, 1995).

Efek samping dari penambahan CO<sub>2</sub> dalam kultur alga yaitu turunnya pH. Perubahan pH terjadi pada kultur *Chlorella* sp. yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu, interval dan kontrol (Gambar 2). Media kultur *Chlorella* sp. mempunyai pH awal 7,8, dan pada umumnya pH biakan *Chlorella* sp. naik pada pagi hari dan turun pada sore hari, dimana fluktuasi pH tertinggi terjadi pada perlakuan injeksi 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu. Kisaran pH pagi hari masing-masing 7,23-8,75; 7,68-8,42 dan 7,65-8,51, berturut-turut pada biakan *Chlorella* sp. yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu, secara interval dan kontrol. Naiknya pH pada malam hingga pagi hari berkaitan dengan aktifitas penyerapan nitrogen oleh sel-sel *Chlorella* sp (Bahrens, 2005) dan pada siang hari pH turun kembali oleh penambahan CO<sub>2</sub>. Pada sore hari, biakan *Chlorella* sp. yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu pH turun hingga mencapai 5,1-5,73, sementara pH

terendah pada perlakuan dengan injeksi interval 6,94-7,89 dan pada kontrol 7,47-8,14. Terlihat bahwa biakan *Chlorella* sp. yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu mengalami penurunan pH paling drastis dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Hasil eksperimen menunjukkan bahwa biakan *Chlorella* sp dalam medium f/2 yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu tumbuh lebih baik dari pada perlakuan injeksi secara interval maupun kontrol. Dan kisaran pH yang besar pada perlakuan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu tidak mengganggu pertumbuhan *Chlorella* sp. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa *Chlorella* termasuk alga yang tahan terhadap kisaran pH yang besar, bahkan *Chlorella* sp.KR-1 laju tumbuhnya masih stabil pada pH 4.2 (Sung *et al.*, 1999).



Gambar 2. Perubahan pH di dalam biakan *Chlorella* sp.pada berbagai perlakuan injeksi CO<sub>2</sub>.

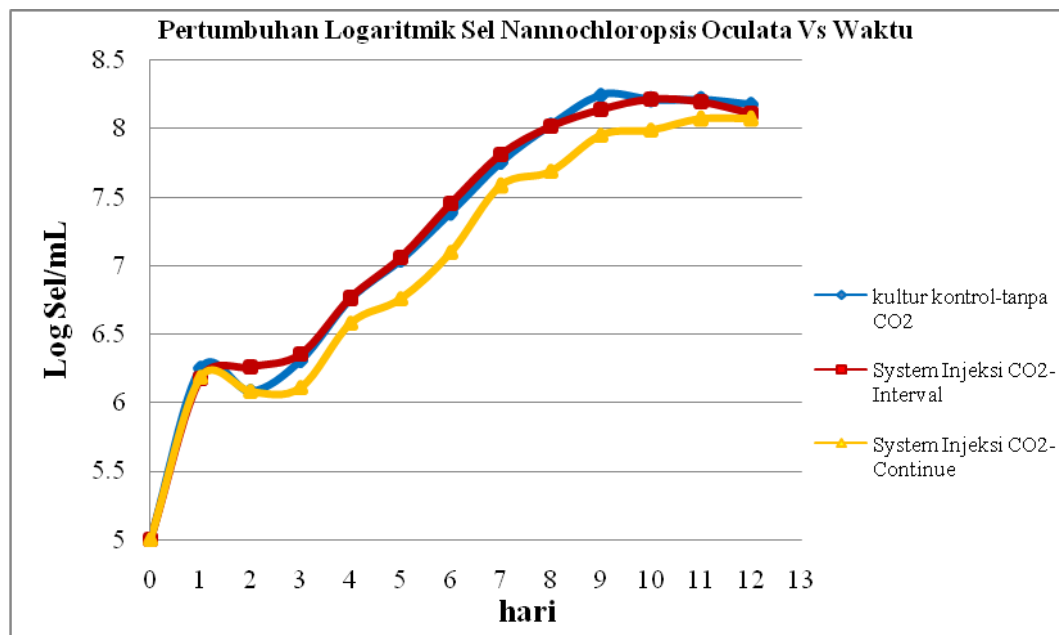
### Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*

Seperti pada *Chlorella* sp., *Nannochloropsis oculata* juga mengalami percepatan pertumbuhan sel dalam 24 jam setelah inokulasi, dimana dari kepadatan awal 100.000 sel/ml menjadi 1.787.500 sel/ml, 1.540.000 sel/ml dan 1.512.500 sel/ml berturut-turut pada kontrol, perlakuan injeksi 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu dan 5% CO<sub>2</sub> secara interval. Kemudian terjadi fase lag selama dua hari pada kedua perlakuan dengan injeksi CO<sub>2</sub> dan satu hari pada kontrol sebelum *N.oculata* mengalami pertumbuhan eksponensial kembali (Gambar 3.). Pertumbuhan logaritmik *N.oculata* terjadi hingga hari ke sembilan pada perlakuan

injeksi 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu dan kontrol, sedangkan pada perlakuan injeksi 5% CO<sub>2</sub> secara interval, *N. oculata* mengalami pertumbuhan logaritmik hingga hari ke delapan. .

Hasil eksperimen menunjukkan bahwa diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu telah menghambat pertumbuhan *N. oculata*. Laju pertumbuhan relatif pada kontrol, perlakuan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu dan interval berturut-turut ialah 0,309, 0,34 dan 0,307. Demikian pula pencapaian kepadatan sel maksimum *N. Oculata* pada perlakuan injeksi 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu (117.425.000 sel/ml pada hari ke 11) lebih rendah dari perlakuan interval (164.725.000 sel/ml pada hari ke 10) dan yang tertinggi yaitu pada kontrol (176.687.500 sel/ml pada hari ke 9).

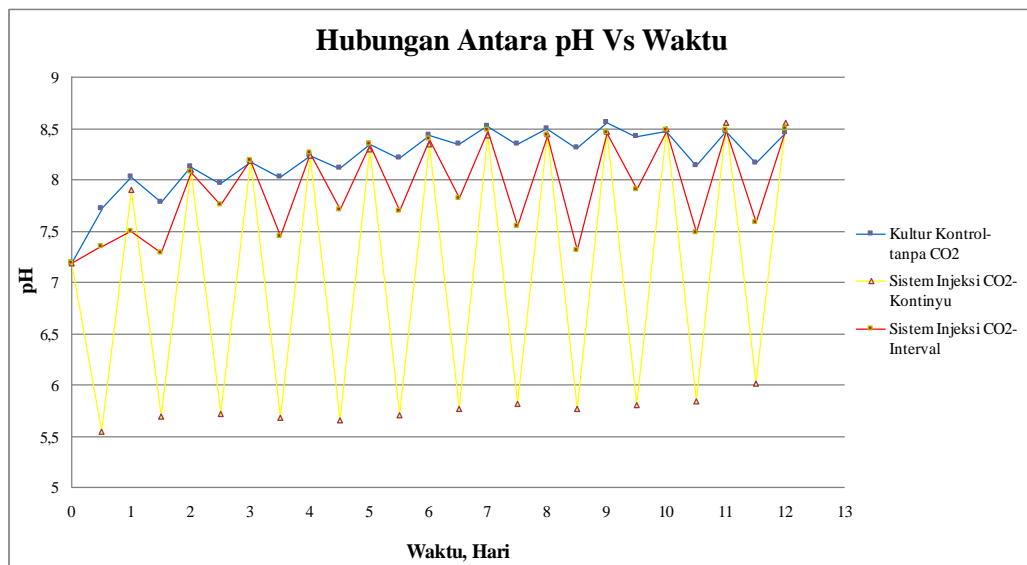
Kadar CO<sub>2</sub> sebesar 5% mungkin masih terlalu besar dan menghambat pertumbuhan *N. oculata*, sesuai dengan Chiu et al. (2009) yang memberikan aerasi kultur *N. oculata* dengan 2%, 5% dan 10% CO<sub>2</sub> secara kontinyu. Mereka memperoleh percepatan pertumbuhan *N. oculata* hanya pada perlakuan dengan 2% CO<sub>2</sub>.



Gambar 3. Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* pada berbagai perlakuan injeksi CO<sub>2</sub>.

Hasil pengamatan terhadap perubahan pH harian dari masing-masing perlakuan disajikan pada Gambar 4. Media kultur *N. oculata* mempunyai pH awal 7,18. Seperti pada biakan *Chlorella* sp., pH pada kultur *N. oculata* mengalami fluktuasi, dimana pH mengalami kenaikan pada pagi hari dan turun pada sore hari.

Pada biakan *N.oculata* yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu, pH pagi dan sore hari terus mengalami kenaikan dari hari ke hari, dimana pH pagi naik 7,18 hingga 8,55 pada hari ke sebelas dan pH sore naik dari 5,54 hingga 6,01 pada hari ke sebelas. Sedangkan pH pada biakan *N.oculata* yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara interval dan pada biakan kontrol mengalami kenaikan hingga hari ke tujuh, kemudian turun naik.



Gambar 4. Perubahan pH di dalam biakan *Nannochloropsis oculata* pada berbagai perlakuan injeksi CO<sub>2</sub>.

Dalam percobaan ini *Chlorella* sp dan *N.oculata* mengalami kondisi ekstrim dimana terjadi penguapan yang sangat tinggi, sehingga salinitas dari awal 28 ppt telah naik hingga mencapai 39 ppt pada hari kesebelas. Suhu pada biakan *Chlorella* sp. Berkisar 26-29°C pada biakan *Chlorella* sp. dan 28-33°C pada biakan *N.oculata*.

## KESIMPULAN

Hasil eksperimen menunjukkan bahwa biakan *Chlorella* sp dalam medium f/2 yang diinjeksi dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu tumbuh lebih baik dari pada perlakuan injeksi secara interval maupun kontrol, meskipun pH mengalami penurunan secara drastis selama perlakuan dengan CO<sub>2</sub>. Sedangkan pertumbuhan *N. Oculata* pada perlakuan dengan 5% CO<sub>2</sub> secara kontinyu lebih rendah dari

kontrol dan perlakuan interval. Tingkat pH pada eksperimen dengan injeksi CO<sub>2</sub> secara kontinyu turun hingga 6. *Chlorella* sp dapat menyerap CO<sub>2</sub> yang diberikan secara kontinyu dan tidak terganggu oleh pH rendah, sedangkan penyerapan CO<sub>2</sub> oleh *N. Oculata* terhambat oleh pH rendah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bahrens, P.W. 2005. Photobioreactors and fermentors: the light and dark sides of growing alga. In: *Algal Culturing Techniques* (Andersen, R.A.Ed.). Elsevier Acad.Press. Pp. 189-203.
- Chiu, S.Y., Kao C.Y., Ong S.C., Chen C.H and Lin C.S. 2008. Lipid accumulation and CO<sub>2</sub> utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO<sub>2</sub> aeration. *Bioresourcce Technology* 100(2):833-838.
- Chrismadha,T., Mardiah,Y. and Hardiansyah,D. 2006. Respon fitoplankton terhadap peningkatan konsentrasi karbon dioksida udara. *Limnotek XIII*(1):1-8.
- Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: *Culture of Marine Invertebrate Animals* (Smith, W.L. & Chanley, M.H Eds.). Plenum Press, New York, pp 26-60.
- Maeda, K., Owada, M., Kimura, N., Omata, K. Karube, I. 1995. CO<sub>2</sub> fixation from the flue gas on coal-fired thermal power plant by microalgae. *Energy.convers.Mgmt* 36(6-9):717-720.
- Sung,K.D., Lee,J.S., Shin,C.S., Park,S.C. and Choi,M.J. 1999. CO<sub>2</sub> fixation by *Chlorella* sp.KR-1 and its cultural characteristics. *Biores.Technol.* 68:269-273.
- Panggabean L.M.G. 2007. Koleksi kultur mikroalgae. *Oseana* 32(2):11-20