

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

Lily M.G. Panggabean¹, Rudi Hartono², Vera Septy Sayeva² dan Sumaker Sitorus²

¹Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI

²Universitas Negeri Sultani Ageng Tirtayasa-Jurusan teknik kimia

Email: mglilyp@yahoo.com

sumakersitorus@yahoo.com

verasayeva@yahoo.com

ABSTRAK

Tumbuhan akuatik seperti mikroalga membutuhkan CO₂ untuk fotosintesis, tetapi kehadiran CO₂ dalam air menyebabkan turunnya pH. Penelitian injeksi CO₂ pada biakan mikroalga *Chlorella sp.* dan *Nannochloropsis oculata* dilakukan untuk mengetahui respons pertumbuhan kedua alga tersebut dengan pemberian CO₂. 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 CO₂, botol 2 diinjeksi dengan campuran udara dan 5% CO₂ secara kontinyu selama penyinaran dan botol 3 juga dengan 5% CO₂ 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% CO₂ secara kontinyu tumbuh lebih baik dari pada perlakuan injeksi secara interval maupun kontrol. Sedangkan pertumbuhan *N. Oculata* pada perlakuan dengan 5% CO₂ secara kontinyu lebih rendah dari kontrol dan perlakuan interval. Nilai pH pada eksperimen dengan injeksi CO₂ secara kontinyu turun hingga 6. *Chlorella sp.* dapat menyerap CO₂ yang diberikan secara kontinyu dan tidak terganggu oleh pH rendah, sedangkan penyerapan CO₂ oleh *N. Oculata* terhambat oleh pH rendah.

Kata kunci: mikroalga, CO₂, *Chlorella*, *Nannochloropsis oculata*, pH

ABSTRACT

Aquatic microalgae needs CO₂ for photosynthesis, but CO₂ reduces water pH. Research on CO₂ 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 CO₂ addition, flask 2 with continuous air injection mixed with 5% CO₂ and flask 3 with interval 2 minutes injection of air and 5% CO₂ 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 CO₂ injection has grown better than that of interval injection and control. While *N. oculata* growth was retarded by continuous 5% CO₂ injection, if compared to interval injection and control. PH was dropped to 6 at the continuous injection. *Chlorella sp.* might have absorbed CO₂ at low pH better than *N. oculata*.

Keywords : microalga, CO₂, *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, CO₂ 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% CO₂. Lee & Pirt (1984), Merchuk *et al.* (2000), Morita *et al.* (2001) dan Babcock *et al.* (2002) telah mencoba menambahkan 0.2-5% CO₂ dari udara total ke dalam sistem aerasi pada biakan mikroalga.

Chrismadha *et al.* (2006) menyatakan bahwa belum ada penelitian biofiksasi CO₂ pada mikroalga di Indonesia. Chrismadha *et al.* (2006) melakukan uji coba biofiksasi CO₂ 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 CO₂, botol 2 diinjeksi dengan campuran udara dan 5% CO₂ secara kontinyu selama penyinaran dan botol 3 juga dengan 5% CO₂ 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

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

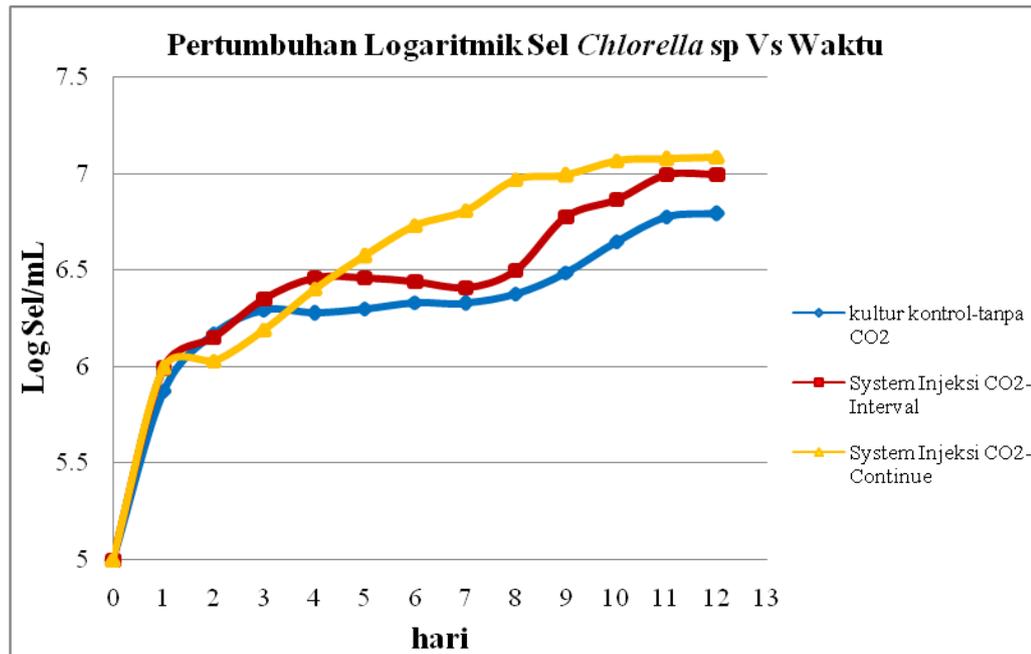
dimana N_t dan N_0 adalah jumlah sel pada awal dan akhir pertumbuhan logaritmik selama Δt . Pengukuran salinitas, pH dan suhu biakan dilakukan setiap hari, yaitu sebelum dilakukan injeksi CO₂ ke dalam sistim aerasi pagi hari dan sesudah injeksi CO₂ dihentikan pada sore hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan *Chlorella* sp.

Variasi perlakuan injeksi 5% CO₂ 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% CO₂ secara kontinyu dan 5% CO₂ 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% CO₂ 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% CO₂ 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% CO₂ 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% CO₂ 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.



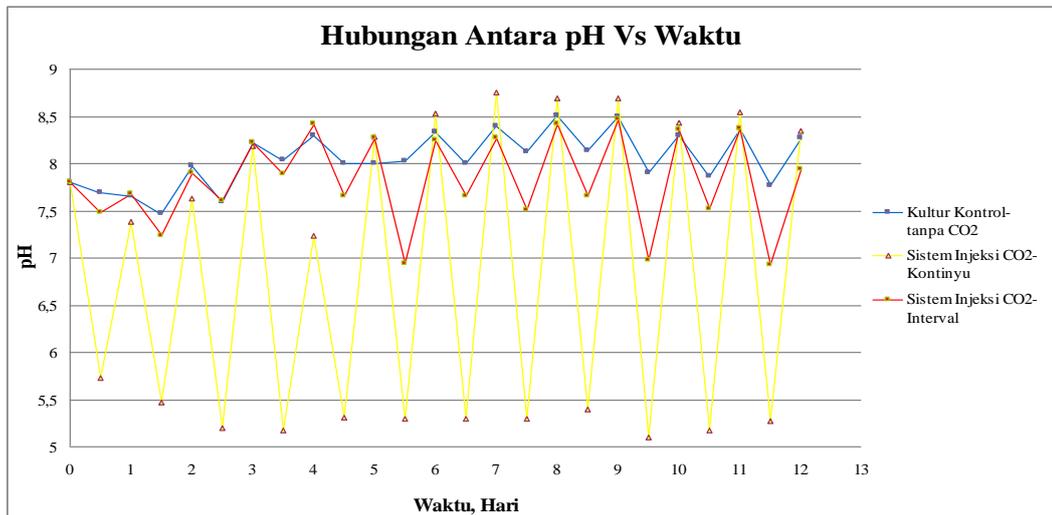
Gambar 1. Pertumbuhan *Chlorella* sp. pada berbagai perlakuan injeksi CO₂

Hasil tersebut sesuai dengan hasil perlakuan variasi CO₂ (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% CO₂ (102 juta sel/ml). Sedangkan pada *Chlorella* sp. KR-1 laju tumbuhnya paling tinggi oleh penambahan 10% CO₂ secara kontinyu dan strain tersebut masih dapat tumbuh dengan pemberian 70% CO₂ (Sung *et al.*, 1999). *Chlorella* sp. T-1 mempunyai toleransi lebih tinggi terhadap CO₂, yaitu sebesar 15% (Maeda *et al.*, 1995).

Efek samping dari penambahan CO₂ dalam kultur alga yaitu turunnya pH. Perubahan pH terjadi pada kultur *Chlorella* sp. yang diinjeksi dengan 5% CO₂ 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% CO₂ 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% CO₂ 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 CO₂. Pada sore hari, biakan *Chlorella* sp. yang diinjeksi dengan 5% CO₂ 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% CO₂ 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% CO₂ secara kontinyu tumbuh lebih baik dari pada perlakuan injeksi secara interval maupun kontrol. Dan kisaran pH yang besar pada perlakuan 5% CO₂ 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 CO₂.

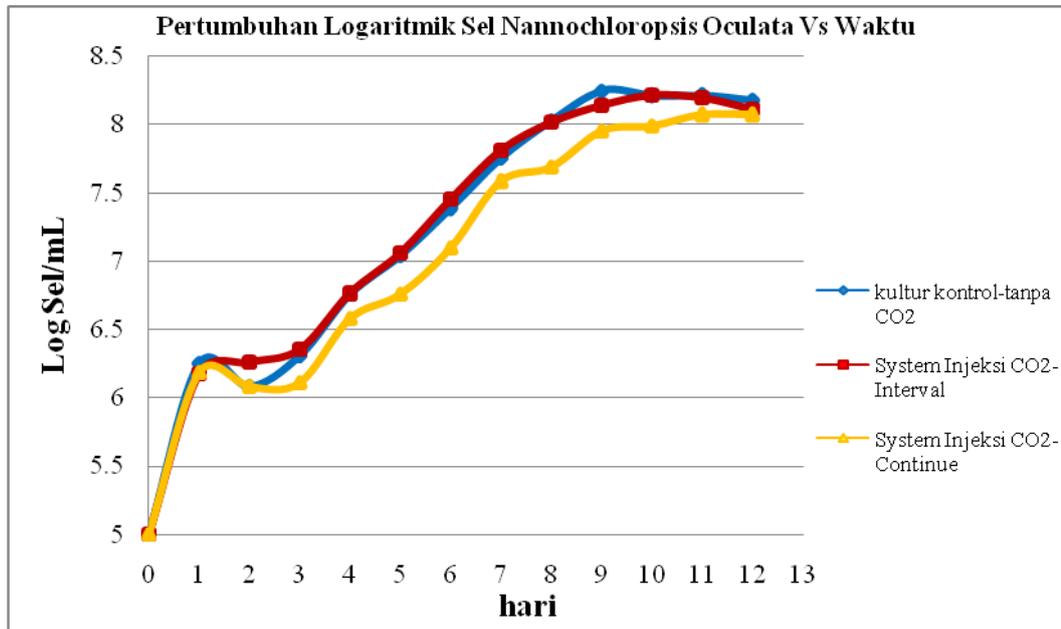
Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*

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% CO₂ secara kontinyu dan 5% CO₂ secara interval. Kemudian terjadi fase lag selama dua hari pada kedua perlakuan dengan injeksi CO₂ 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% CO₂ secara kontinu dan kontrol, sedangkan pada perlakuan injeksi 5% CO₂ secara interval, *N. oculata* mengalami pertumbuhan logaritmik hingga hari ke delapan. .

Hasil eksperimen menunjukkan bahwa diinjeksi dengan 5% CO₂ secara kontinu telah menghambat pertumbuhan *N. oculata*. Laju pertumbuhan relatif pada kontrol, perlakuan 5% CO₂ secara kontinu dan interval berturut-turut ialah 0,309, 0,34 dan 0,307. Demikian pula pencapaian kepadatan sel maksimum *N. Oculata* pada perlakuan injeksi 5% CO₂ secara kontinu (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).

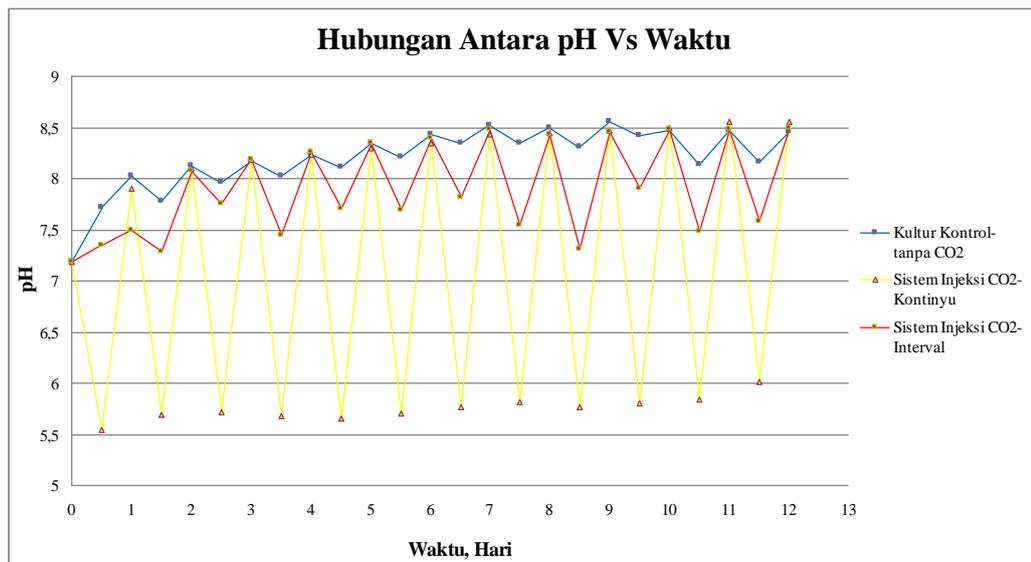
Kadar CO₂ sebesar 5% mungkin masih terlalu besar dan menghambat pertumbuhan *N. oculata*, sesuai dengan Chiu et al. (2009) yang memberikan aerasi kultur *N. oculata* dengan 2%, 5% dan 10% CO₂ secara kontinu. Mereka memperoleh percepatan pertumbuhan *N. oculata* hanya pada perlakuan dengan 2% CO₂.



Gambar 3. Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* pada berbagai perlakuan injeksi CO₂.

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% CO₂ 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% CO₂ 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 CO₂.

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% CO₂ secara kontinyu tumbuh lebih baik dari pada perlakuan injeksi secara interval maupun kontrol, meskipun pH mengalami penurunan secara drastis selama perlakuan dengan CO₂. Sedangkan pertumbuhan *N. Oculata* pada perlakuan dengan 5% CO₂ secara kontinyu lebih rendah dari

kontrol dan perlakuan interval. Tingkat pH pada eksperimen dengan injeksi CO₂ secara kontinyu turun hingga 6. *Chlorella* sp dapat menyerap CO₂ yang diberikan secara kontinyu dan tidak terganggu oleh pH rendah, sedangkan penyerapan CO₂ 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 CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresource 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. CO₂ 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. CO₂ 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