

POLA AKUMULASI Fe, K DAN Mg OLEH KULTUR *Scenedesmus dimorphus* PADA VARIASI PENAMBAHAN KONSENTRASI LARUTAN CAMPURAN LOGAM

Awalina Satya^{*}, Tjandra Chrismadha dan Mey R. Widoretno

ABSTRAK

Perubahan iklim akan sangat berpengaruh terhadap kemampuan alga yang menduduki tingkat primer pada rantai makanan untuk bertahan hidup. Tujuan eksperimen di laboratorium ini adalah mengamati trend pola bioakumulasi Fe, K dan Mg oleh kultur *Scenedesmus dimorphus* yang dibiakkan dalam Provasoli for *Haematococcus Medium* (PHM) dengan variasi penambahan volume larutan campuran logam berturut turut 1 mL, 5 mL, 10 mL dan 20 mL. Kultur alga ini dicuplik pada periode pemaparan hari ke 10, 20, dan 30 untuk penentuan biomassa, kepadatan sel, dan kandungan ketiga jenis logam tersebut baik pada larutan media tumbuh alga maupun pada matriks alganya. Pada tahap determinasi kandungan logam, setelah melewati proses sentrifugasi untuk pemisahan matriks sample, digesti dengan larutan aqua regia dilakukan terlebih dulu sebelum pengukuran dengan Zeeman background corrected-Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer (GFAAS). Penentuan biomassa dilakukan secara gravimetric setelah penyaringan dengan GF/C, sementara kepadatan sel dilakukan dengan cara pengukuran absorbans pada $\lambda 400$ nano meter. Nilai r^2 eksponensial tertinggi (0,9971 ; 0,9972 dan 0,9965) berturut-turut teramati pada bioakumulasi Mg dengan penambahan larutan campuran logam (LCL) sebanyak 20 mL ; K dan Fe dengan volume penambahan LCL 10 mL. Sebaliknya Bioakumulasi K dalam matriks sel alga cenderung memperlihatkan pola eksponensial yang paling jelas (kisaran $r^2 = 0,9169-0,9987$) pada kesemua variasi penambahan LCL. Berbeda dengan Mg, hasil analisis pictorial menunjukkan persamaan pola pada K dan Fe yaitu berkurangnya bioakumulasi dan bertambahnya biomassa seiring dengan bertambahnya waktu pada semua variasi penambahan LCL.

Kata kunci: pola akumulasi, *Scenedesmus dimorphus*, Fe, K, Mg

ABSTRACT

The climate change affects on the survival of algal life as primary producers in food web. The aim of this laboratory experiment was to observe bioaccumulation of Fe, K and Mg trend pattern by cultured *Scenedesmus dimorphus* which was grown in Provasoli for *Haematococcus Medium* (PHM) followed by addition of respectively 1 mL, 5 mL, 10 mL and 20 mL of the Mixed Trace Metals Solution (MTS). This algae culture was sampled in exposure period in 10, 20, and 30 days to determine its biomass, cell density, and those of three metals contents not only in media but also in its algae matrix. Due to metals quantification, after sample matrix separation by centrifugation process, wet digestion with aqua regia was done before measurements Zeeman background corrected-Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer (GFAAS). Biomass was measured by gravimetrically after filtration with GF/C, while cell density was determined by absorbance reading on $\lambda 400$ nano meter. The highest observed value of the exponential r^2 (0,9971 ; 0,9972 and 0,9965) respectively on Mg bioaccumulation with 20 mL ; K and Fe with 10 mL MTS added. The most clearest exponential pattern was observed in K bioaccumulation in algae matrix ($r^2 =$

^{*} Pusat Penelitian Limnologi LIPI
Email : awalina@gmail.com

0,9169-0,9987) in all of MTS added variation. Different from Mg case, pictorial analysis result show that both of K and Fe has similar bioaccumulation exponential pattern which bioaccumulation decreasing and ascending of biomass coincidently with observations period in all of MTS added variations.

Key words: accumulation pattern, *Scenedesmus dimorphus*, Fe, K, Mg

PENDAHULUAN

Perubahan iklim ini berkaitan dengan perubahan keseimbangan siklus biogeokimia, maka dampaknya terhadap perairan darat tentu sudah dapat diperkirakan juga akan berpengaruh terhadap kehidupan mulai pada tingkat *primary producers* sampai pada *top consumers* pada rantai makanan. Menurut Yu and Wang (2004), alga atau phytoplankton menduduki level terendah (*primary producers*) merupakan komponen ekosistem yang sensitive terhadap perubahan keseimbangan siklus biogeokimia perairan.

Karena kemudahannya untuk tumbuh, *Scenedesmus sp* banyak digunakan dalam eksperimen bioakumulasi di laboratorium (Buffle and De Vitre, 1994). Menurut Csuros and Csuros (2002), baik kalium (K) maupun magnesium (Mg) masing masing dikenal sebagai salah satu makro nutrient esensial untuk tumbuhan termasuk phytoplankton. K berperan dalam proses aktivasi enzim, fotosintesis, respirasi dan pemeliharaan sel. Sedangkan Mg berperan dalam struktur molekul chlorophyll, aktivasi enzim, terkait dengan sintesis Adenosine Tri Phosphate (ATP), dan dalam pengembangan sel (sintesis *Ribonucleic Acid*, RNA dan *Deoxyribonucleic acid*, DNA). Sementara Besi (Fe) berperan besar dalam sintesis *chlorophyll*, proses reduksi oksidasi dalam fotosintesis, dan respirasi (terkait dengan *cytochromes*, Fe-S protein, *ferredoxin*) juga dalam proses reduksi Nitrogen-Nitrat dan pembelahan sel (sebagai *phytoherritin*).

Buffle and De Vitre (1994) menyebutkan bahwa salah satu cara untuk mengetahui interaksi logam terhadap mikroorganisme adalah melalui pengamatan terhadap response mikroorganisme tersebut terhadap keberadaan kandungan logam dalam media hidupnya. Cara termudah dalam hal tersebut adalah melalui pengamatan terhadap pertumbuhan alga (kepadatan sel dan biomassa). Informasi lainnya lagi adalah bahwa K dan Mg menurut Wuyep et al. (2007) jauh lebih mudah terbioakumulasikan dalam biomassa *Polyporus*

squamosus dibandingkan Fe, Ni Cu dan Pb yang berasal dari effluent limbah penyulingan minyak.

Dari uraian tersebut maka pengamatan terhadap pola bioakumulasi ketiga jenis logam ini dalam *Scenedesmus dimorphus* perlu untuk dilakukan sebagai studi awal dalam mempelajari siklus biogeokimia perairan darat. Tujuan dari kegiatan penelitian ini adalah untuk mengungkapkan trend pola bioakumulasi Fe, K dan Mg oleh kultur *Scenedesmus dimorphus* yang dibiakkan dalam *Provasoli for Haematococcus Medium* (PHM) dengan variasi penambahan volume larutan campuran logam. PHM dipilih untuk digunakan karena media ini paling sering digunakan dalam laboratorium kami di Puslit Limnologi-LIPI.

BAHAN DAN METODE

Sebanyak 10 mL inokulum *Scenedesmus dimorphus* dibiakkan dari stok yang tumbuh dengan baik pada umur sekitar 10 hari dimasukkan dalam media PHM yang telah diatur pHnya sekitar 6-7. PHM ini mengandung 1000 mgKNO₃/L; 200 mg K₂HPO₄/L; 200 mgMgSO₄.7H₂O/L; 50 mgNa₂SiO₃.9H₂O/L; 189 mgNa₂EDTA/L; 244 mgFeCl₃.6H₂O/L. Sementara itu Larutan Campuran Logam (LCL) mengandung 61 mg H₃BO₃/L; 41 mg MnCl₂.4H₂O; 41 mg ZnCl₂/L; 38 mg Na₂MoO₄.4H₂O/L; 6 mg CuSO₄.5H₂O/L; dan 5,1 mg CoCl₂.6H₂O/L. Volume kultur sebanyak 400 mL dalam wadah erlenmeyer 500mL berbahan *pyrex glass* dan merupakan *batch culture system* yang dialiri 10 mL gas CO₂ setiap hari. Pengadukan dilakukan tanpa aerasi untuk mengurangi evaporasi. Penyinaran dilakukan dengan menggunakan beberapa Tubular Lamp (TL) dengan flux sebesar 1500 Lux pada permukaan gelas wadah kultur. Perlakuan terdiri atas variasi penambahan volume LCL (1 mL, 5 mL, 10 mL, dan 20 mL) secara duplo. Pencuplikan sample media berikut alga dilakukan pada umur kultur 10 hari, 20 hari dan 30 hari.

Pengukuran biomassa dilakukan secara gravimetri setelah sebelumnya 5-10 mL cairan kultur disaring dengan kertas saring GF/C (APHA, 1992). Sementara itu Kepadatan sel diukur secara spektrofotometri uv-vis dengan pembacaan absorbans pada λ 400 nanometer (APHA, 1992). Determinasi Mg, K dan Fe diawali dengan pemisahan antara

matriks sample alga dari cairan medianya dengan cara sentrifugasi 2000-3000 round per minute (rpm), proses ini dianggap selesai bila telah diperoleh cairan media yang benar-benar jernih. Matriks alga kemudian dicuci dengan larutan HNO₃ 1 % agar terbebas dari logam yang menempel dipermukaan sel alga. Sample cairan media dan matriks alga (yang telah dikeringkan pada incubator bersuhu 100 °C selama satu jam dan didinginkan dalam dessicator sampai pada suhu ruang lalu ditimbang dengan sartorius balance) kemudian melalui tahap *wet digestions* dengan penambahan masing-masing sebanyak 0,5 mL HCl pekat dan 0,1 mL HNO₃ pekat sebelum di *autoclave* 30 menit pada 121°C dan 15 Psi *gauge*. Kedua jenis sample tersebut di digest dalam *reaction vessel* bertutup teflon coated yang tahan terhadap proses pengautoclavan tersebut (modifikasi dari ASTM D1971-02 (2002). Digestat yang diperoleh kemudian diukur kandungan Mg, K dan Fe nya dengan menggunakan Zeeman background corrected-Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer (GFAAS) sesuai dengan Operation Manual Hitachi High Technologies Corp (2006).

Analisis data yang diperoleh dilakukan secara pictorial dengan MS-ExcellTM untuk mengetahui pola kecenderungan hubungan yang terjadi selama observasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada eksperimen ini, maksud penambahan LCL adalah untuk mempercepat penambahan kepadatan sel dan biomassa alga (Gambar 4-6). Variasi penambahan volume LCL ini akan memungkinkan dipilihnya kuantitas penambahan yang yang tepat untuk eksperimen lanjutan yang menggunakan kultur *Scenedesmus dimorphus* di masa mendatang. Berdasarkan beberapa literatur kami berasumsi bahwa seiring dengan bertambahnya waktu pengamatan, maka baik K, Mg maupun Fe dalam larutan media PHM akan terus menurun seiring dengan peningkatan biomassa dan kepadatan sel. Sedangkan untuk bioakumulasi ketiga logam tersebut pada awalnya akan cenderung meningkat seiring dengan bertambahnya biomassa, tetapi cenderung sebaliknya bila biomassa telah mencapai

pada kuantitas maksimumnya. Pendekatan untuk membuktikan asumsi tersebut dapat ditelusur mulai Gambar 1 sampai 6.

Hasil analisis trendline pada hubungan antara Mg di media selama periode pengamatan menunjukkan bahwa secara eksponensial kandungan Mg dalam media cenderung turun seiring waktu hal ini kemungkinan disebabkan oleh konsumsi Mg untuk mendukung metabolisme alga semasa masa pertumbuhannya (Gambar 1a sampai 1d). Tetapi *trend reability* paling jelas terlihat pada Gambar 1b dimana penambahan volume LCL sebesar 5 mL ($r^2 = 0,999$). Penambahan LCL volume 20 mL juga jauh lebih baik ($r^2 = 0,886$) dibandingkan dengan penambahan volume LCL 1 dan 10 mL. Tetapi untuk hubungan Mg dalam sel alga terhadap biomassa alga (Gambar 1e sampai 1h) volume penambahan LCL 20 mL adalah yang terbaik (Gambar 1h). Penambahan volume LCL 5 mL maupun 10 mL menunjukkan *trend reability* yang hampir sama (Gambar 1f dan 1g).

Pada Gambar 2a sampai 2d terlihat adanya penurunan eksponensial K dalam media seiring waktu hanya jelas terlihat pada penambahan LCL 5 mL (Gambar 2b) sementara penambahan 10 mL LCL justru menunjukkan peningkatan K dalam media secara eksponensial (Gambar 2c) demikian juga dengan 20 mL LCL (Gambar 2d), mungkin hal ini disebabkan oleh dominannya konsentrasi K dalam media PHM. Tampaknya volume penambahan LCL 5 mL merupakan perlakuan yang tepat dinandingkan variasi volume yang lainnya. Sementara itu Gambar 2e sampai 2h menunjukkan bahwa hubungan bioakumulasi K dalam sel cenderung menurun seiring dengan menurunnya biomassa. *Trend reability* hubungan kedua faktor tersebut paling jelas terlihat ($r^2 = 0,999$ dan $r^2 = 0,997$) pada penambahan LCL 1 mL maupun 10 mL (Gambar 2e dan 2g) sementara Gambar 2f dan 2h menunjukkan nilai r^2 terpaut hanya sedikit dengan kedua gambar yang disebut sebelumnya.

Sama halnya yang teramati pada Mg, baik Fe dalam media versus waktu pengamatan (Gambar 3a sampai 3d) dan bioakumulasi Fe dalam sel versus biomassa (Gambar 3e sampai 3h) juga secara eksponensial menurun. Namun hanya pada penambahan LCL 10 mL saja yang menunjukkan bahwa penurunan Fe dalam media seiring waktu paling jelas terlihat (Gambar 3c). Gambar 3a, 3b dan 3d hanya menunjukkan

kecenderungan pada level sedang. Sebaliknya Gambar 3e sampai 3h membuktikan bahwa jelas terlihat secara eksponensial kecenderungan pola menurunnya bioakumulasi Fe dalam sel seiring dengan menurunnya biomassa. Pola paling jelas terlihat pada penambahan LCL 1 mL (Gambar 3e) dan 10 mL (Gambar 3g).

Gambar 1 sampai Gambar 3 (kecuali untuk K pada penambahan LCL 10 mL dan 20 mL yang cenderung secara eksponensial meningkat pada akhir pengamatan) hanya jelas menunjukkan bahwa ketiga logam tersebut cenderung menurun seiring dengan bertambahnya waktu pengamatan pada semua variasi penambahan volume LCL. Tetapi untuk menunjukkan bagaimana trend pola penurunan konsentrasi ketiga logam tersebut baik dalam media maupun dalam sel alga, kenaikan kepadatan sel, kenaikan biomassa seiring bertambahnya waktu periode pengamatan Gambar 4 sampai Gambar 6 adalah yang paling jelas dalam mendeskripsikannya karena pada gambar-gambar ini konsentrasi ketiga logam pada 0 hari pengamatan juga ikut ditampilkan.

Gambar 4a sampai 4h menunjukkan bahwa pada semua variasi penambahan LCL, baik kepadatan sel maupun biomassa cenderung untuk meningkat sedangkan Mg dalam media cenderung menurun seiring bertambahnya waktu pengamatan. Tetapi hanya pada penambahan LCL 20 mL terlihat jelas penurunan bioakumulasi Mg dalam sel (Gambar 4h).

Pola kecenderungan pengurangan K dalam medium dan peningkatan kepadatan sel seiring waktu (Gambar 5a sampai 5d) menunjukkan seolah-olah waktu pengamatan 30 hari tidaklah cukup bila dibandingkan dengan Mg maupun Fe. Tetapi hal tersebut tidak tampak pada biomassa dan bioakumulasi K seiring waktu (Gambar 5e sampai 5h). Pada keempat gambar terakhir ini terbukti bahwa seiring bertambahnya waktu pengamatan, biomassa terus bertambah sampai berakhirnya observasi sementara bioakumulasi K pada sel cenderung tinggi pada awal periode dan akhirnya menurun pada akhir periode.

Gambar 6a sampai 6d menunjukkan bahwa Kepadatan sel cenderung terus meningkat sampai pada akhir masa observasi, sedangkan Fe di media memiliki kecenderungan berbeda yaitu secara tajam menurun seiring bertambahnya waktu pengamatan. Hal ini jauh berbeda dengan Mg yang langsung menurun drastis begitu

memasuki hari ke 10 pada semua variasi penambahan volume LCL. Pada Fe hanya pada penambahan 1 mL LCL yang berpola sama dengan Mg yaitu langsung menurun pada hari ke 10 (Gambar 6a dan 6c). Waktu yang diperlukan untuk menurunkan Fe di media secara tajam menjadi 20 hari justru terjadi pada penambahan LCL 5 mL dan 20 mL (Gambar 6b dan 6d).

Uraian tersebut diatas mengindikasikan bahwa perbedaan karakteristik setiap logam baik dalam berinteraksi dengan sesama logam penyusun media maupun dengan kebutuhan akan jenis logam tersebut untuk proses metabolisme alga berpengaruh terhadap pola bioakumulasi Mg, K dan Fe dalam penelitian ini.

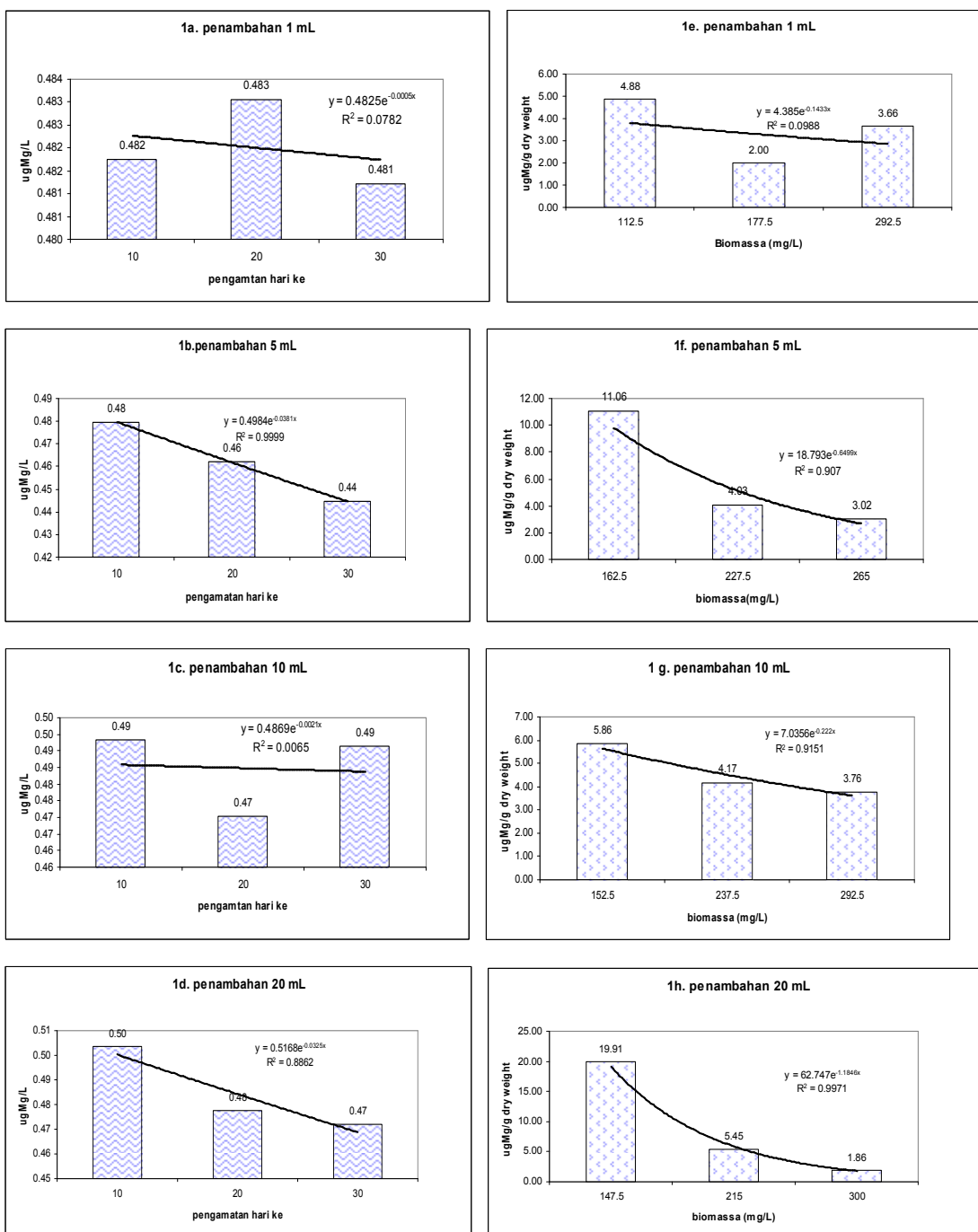
KESIMPULAN

Hasil yang kami peroleh menunjukkan bahwa setiap logam membutuhkan volume penambahan LCL yang berbeda beda agar jelas untuk diamati trend pengurangan kandungan logam dalam medianya seiring pertambahan waktu pengamatan sekaligus pengurangan bioakumulasi versus pertambahan biomasanya (Mg pada penambahan LCL 5 mL dan 20 mL, Kalium hanya pada penambahan LCL 5 mL dan Besi hanya pada penambahan LCL 10 mL). Fakta ini dapat menjadi dasar untuk eksperimen laboratorium lanjutan yang relevan dengan penyerapan Mg, K dan Fe secara lebih detail di masa mendatang.

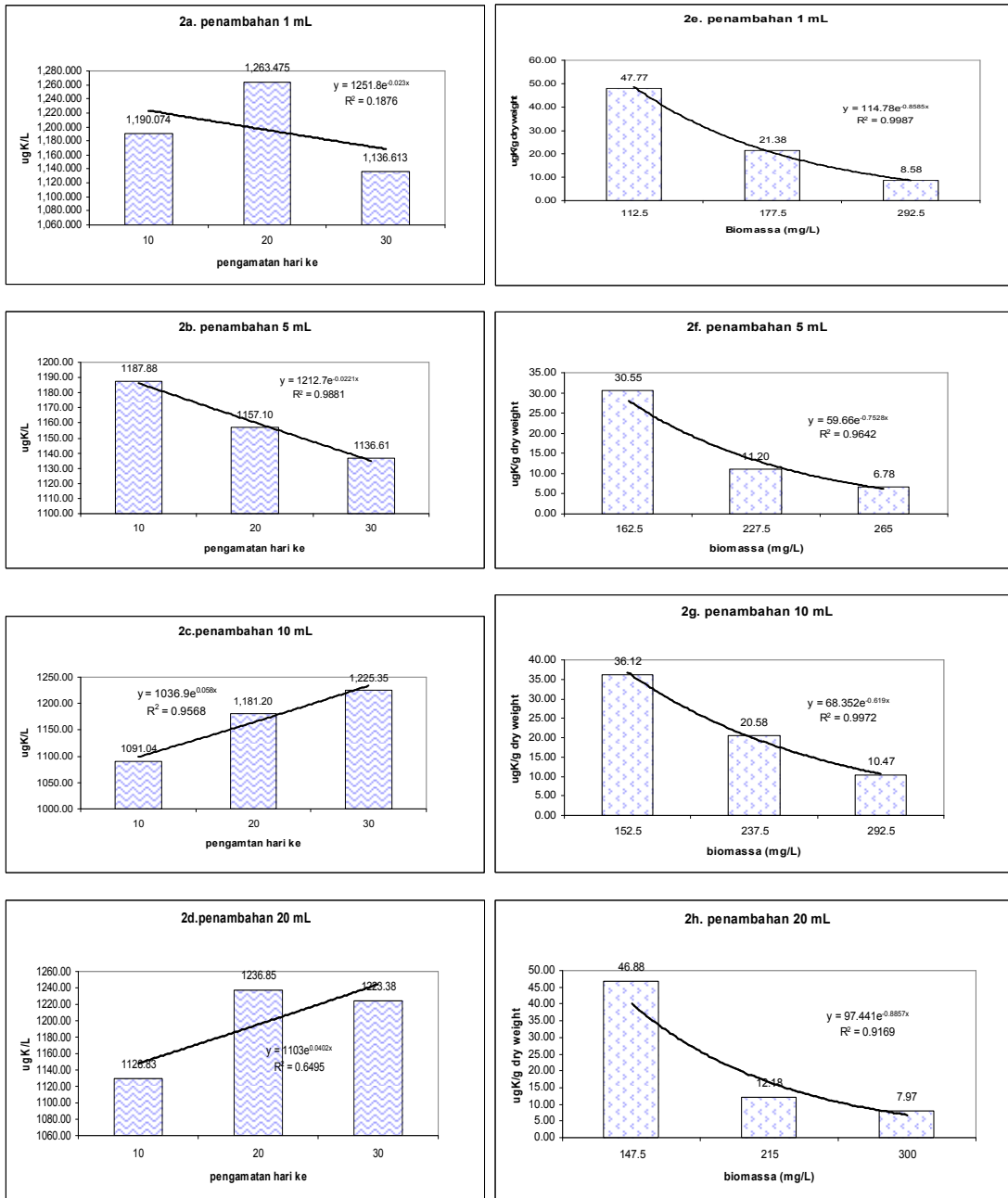
DAFTAR PUSTAKA

- Environmental Protection Agency. 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18 th ed., Government Printing Office, Washington, D.C (APHA-AWWA-WPCF).
- ASTM D1971-02 .2002. Standard Practises for Digestion of Water samples for determination of metals by flame atomic absorption, Graphite furnace atomic absorption, plasma emission spectroscopy or plasma mass spectrometry. Annual book of ASTM Standards, Vol 11.01
- Buffle, J. and R.R. De Vitre.1994. Uptake of trace metals by aquatic organisms dalam Chemical and Biological regulation of aquatic system. Lewis Publisher. CRC Press. Boca Raton Florida.

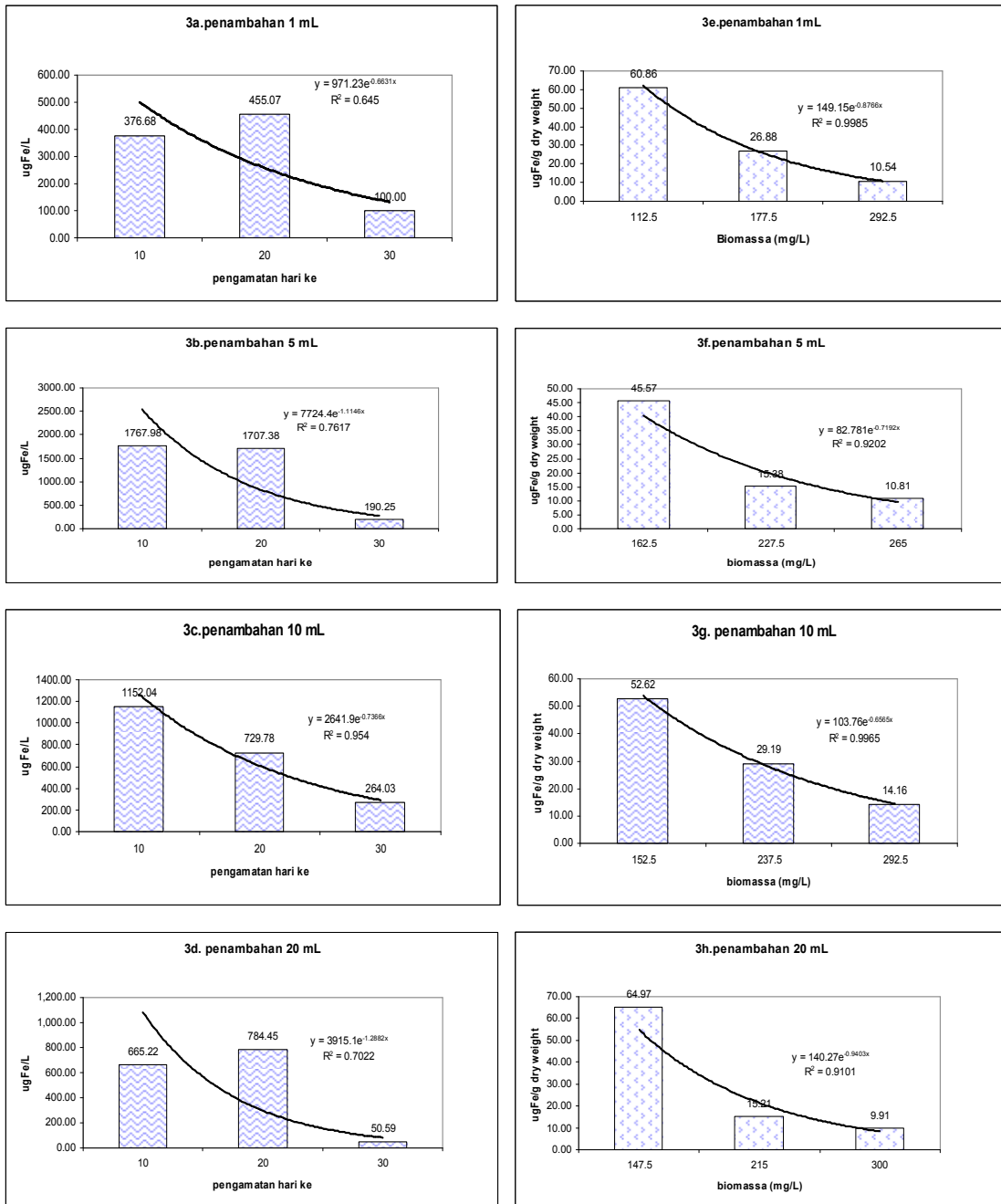
- Csuros, M. and Csuros, C. 2002 Metals and Plants dalam Environmental Sampling and Analysis for metals. Hal 324., Lewis Publishers. 372 pp
- Hitachi High Technologies Corp . 2006. Model z-2000 series polarized Zeeman atomic absorption spectrophotometer, Operation Manual:Graphite Furnace Atomizer.5 th ed. Japan.
- Wuyep, P.A, Chuma A.G, Awodi, S and Nok, A.J .2007. Biosorption of Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, and Pb metals from petroleum refinery effluent by calcium alginate immobilized mycelia of *Polyporus squamosus*. Scientific Research and Essay Vol.2 (7), pp.217-221.
- Yu, R.Q and Wang, WX .2004. Biological uptake of Cd, Se(IV) and Zn by *Chlamydomonas reinhardtii* in response to different phosphate and nitrate additions. Aquatic microbial ecology.Vol.35:163-173.



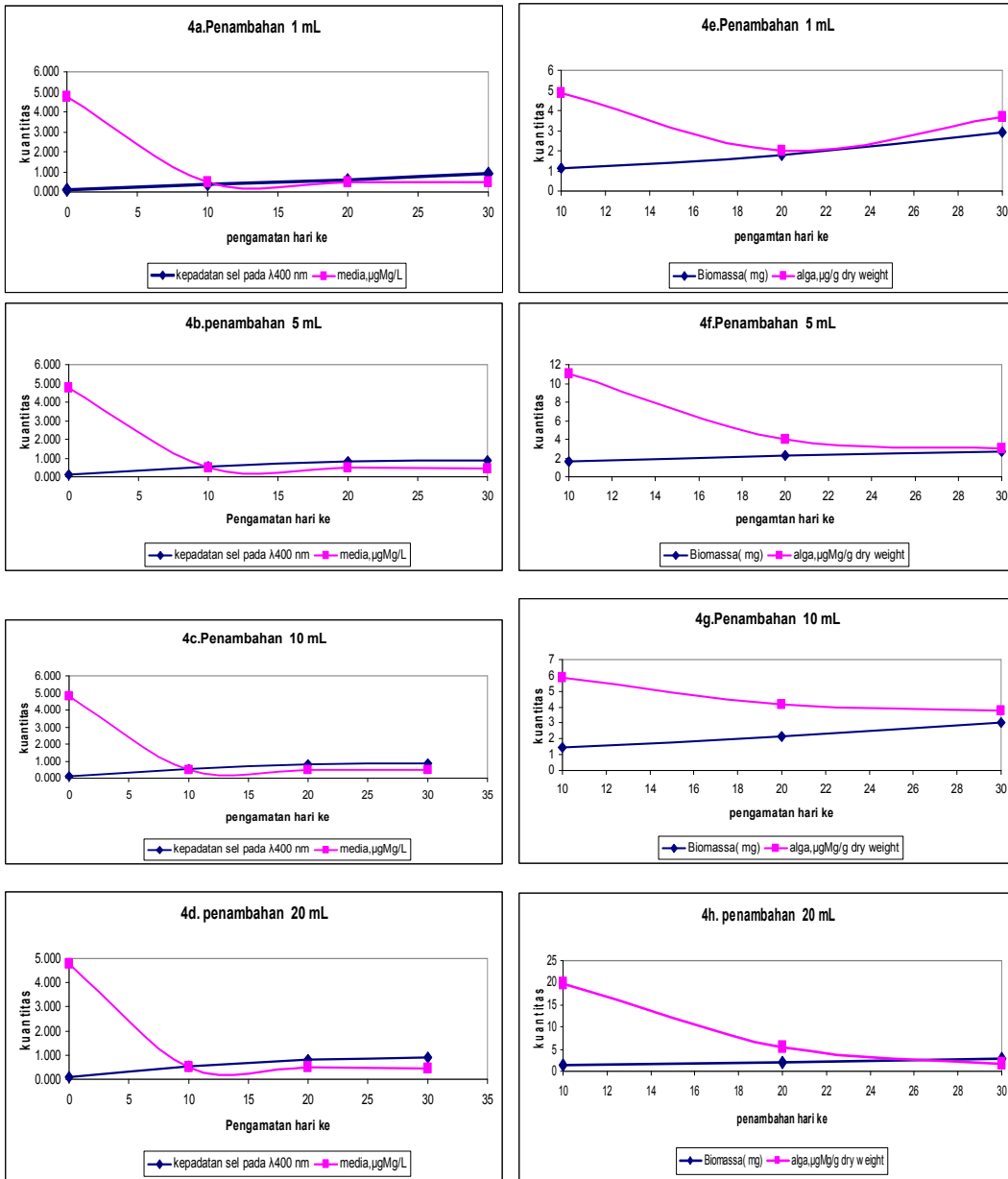
Gambar 1. Hasil analisis trend line konsentrasi Mg dalam media terhadap periode pengamatan) dalam 4 variasi penambahan LCL (1a-1d).Sementara 1e-1f menggambarkan trendline antara Mg dalam sel alga terhadap biomassa alga pada 4 variasi penambahan volume LCL.



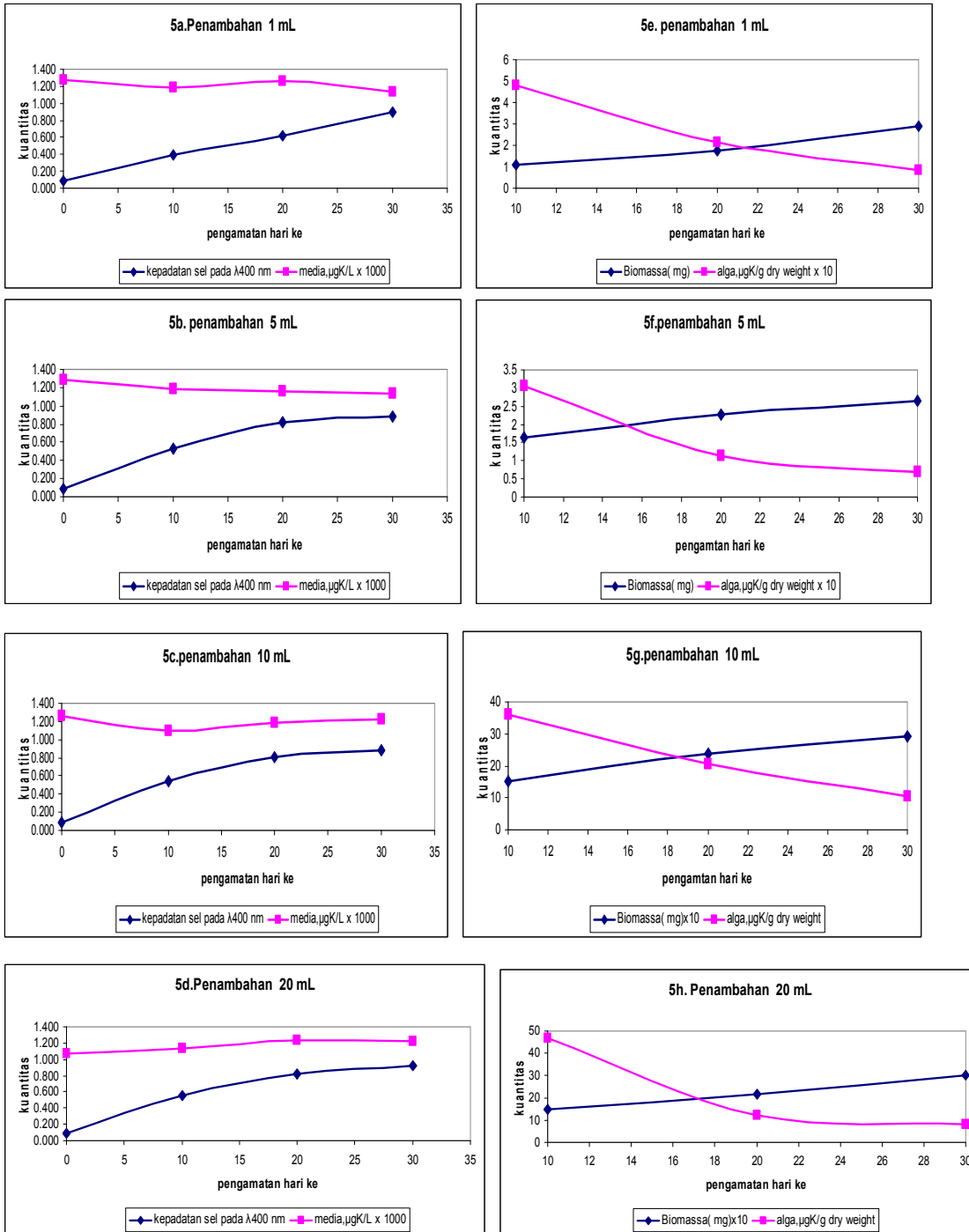
Gambar 2. Hasil analisis trend line konsentrasi K dalam media terhadap periode pengamatan) dalam 4 variasi penambahan LCL (2a-2d).Sementara 2e-2f menggambarkan trendline antara K dalam sel alga terhadap biomassa alga pada 4 variasi penambahan volume LCL.



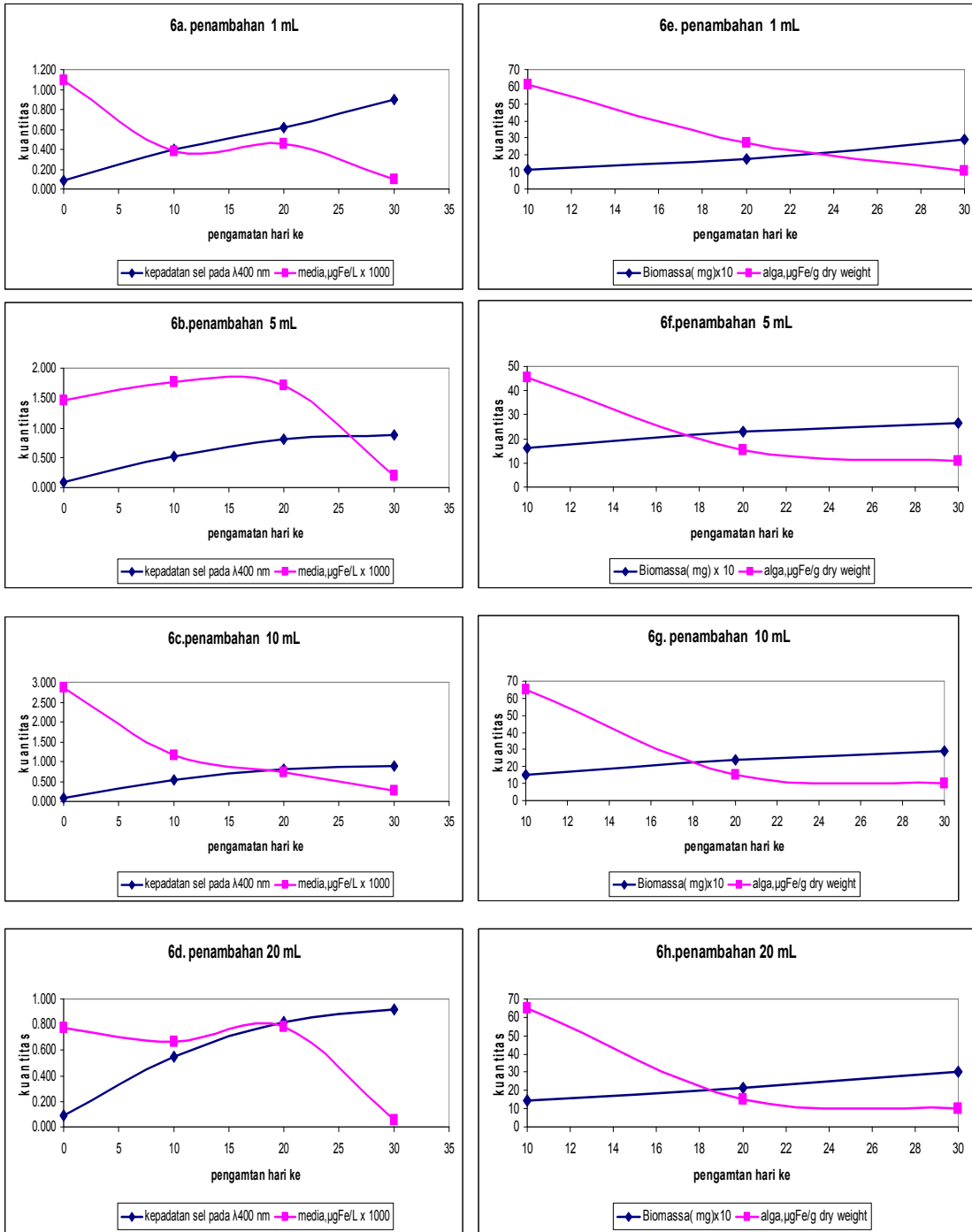
Gambar 3. Hasil analisis trend line konsentrasi Fe dalam media terhadap periode pengamatan) dalam 4 variasi penambahan LCL (3a-3d).Sementara 3e-3f menggambarkan trendline antara Fe dalam sel alga terhadap biomassa alga pada 4 variasi penambahan volume LCL.



Gambar 4. Kecenderungan pengurangan kandungan Mg dalam media dan peningkatan kepadatan sel terhadap lamanya waktu pengamatan (4a-4d). Serta kecenderungan penurunan kandungan Mg dalam sel dan peningkatan biomassa terhadap lamanya waktu pengamatan (4e-4h). Kesemuanya dalam 4 variasi penambahan volume LCL.



Gambar 5. Kecenderungan pengurangan kandungan K dalam media dan peningkatan kepadatan sel terhadap lamanya waktu pengamatan (5a-5d). Serta kecenderungan penurunan kandungan K dalam sel dan peningkatan biomassa terhadap lamanya waktu pengamatan (5e-5h). Kesemuanya dalam 4 variasi penambahan volume LCL.



Gambar 6. Kecenderungan pengurangan kandungan Fe dalam media dan peningkatan kepadatan sel terhadap lamanya waktu pengamatan (6a-6d). Serta kecenderungan penurunan kandungan Fe dalam sel dan peningkatan biomassa terhadap lamanya waktu pengamatan (6e-6h). Kesemuanya dalam 4 variasi penambahan volume LCL.