

PENGARUH KONSENTRASI NITRAT TERHADAP PERTUMBUHAN DAN AKUMULASI NITRIT PADA KULTUR ALGA *CHLORELLA SP.*

S. H. Nasution, T. Chrismadha, Rosidah, Dan Y. Mardiaty

ABSTRAK

Chlorella sp. dikultur secara *batch* aseptik dalam botol kaca 500 ml dengan kandungan N-NO₃ (KNO₃) yang beragam dalam mediana (0 mM; 0,625 mM; 2,5 mM; dan 10 mM) masing-masing tiga ulangan. Kepadatan sel *Chlorella sp.* cenderung meningkat sejalan dengan semakin besar pemberian nitrat dalam media kultur. Kepadatan sel maksimum yang dicapai berturut-turut adalah 7 juta sel/ml pada 0 mM N-NO₃; 60,3 juta sel/ml pada 0,625 mM N-NO₃; 96,9 juta sel/ml pada 2,5 mM N-NO₃; dan 113 juta sel/ml pada 10 mM N-NO₃. Kandungan bahan organik maksimum yang dicapai adalah 0,03 g/l pada 0 mM N-NO₃; 0,19 g/l pada 0,625 mM N-NO₃; 0,24 g/l pada 10 mM N-NO₃; dan 0,26 g/l pada 2,5 N-NO₃. Kandungan khlorofil persel tertinggi terdapat pada perlakuan yang tidak diberikan penambahan nitrat (0 mM N-NO₃). Pada perlakuan N-NO₃ 2,5 mM, terdapat fenomena yang menarik dimana kandungan N-NO₂ meningkat tajam (dari 5,076 menjadi 859,763 :g/l) pada hari ke-5. Setelah hari ke-5 kandungan N-NO₂ turun kembali menjadi 10,118 :g/l. Penurunan N-NO₂ yang tajam pada perlakuan tersebut menunjukkan telah dimanfaatkannya sebagian nitrogen yang berasal dari N-NO₂ disamping dari N-NO₃. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian N-NO₃ sebesar 2,5 mM dalam media budidaya menghasilkan pertumbuhan *Chlorella sp.* yang optimal. Akumulasi N-NO₂ yang dihasilkannya setelah hari ke-5 relatif kecil. Pemanfaatan *Chlorella sp.* sebaiknya dilakukan setelah hari ke-5 untuk perlakuan 0 mM, 0,625 mM dan 2,5 mM N-NO₃ karena mulai terjadi penyerapan kembali nitrogen yang berasal dari N-NO₂ oleh *Chlorella sp.* tersebut

PENDAHULUAN

Chlorella sp. merupakan alga hijau air tawar yang penting sebagai pakan alami larva ikan maupun berbagai hewan perairan lainnya. Budidaya mikroalga masih menghadapi kendala tingginya kandungan nitrit (N-NO₂) pada fase awal pertumbuhannya yang berpengaruh buruk terhadap kesehatan anakan ikan dan udang. Pada penelitian ini dikaji hubungan konsentrasi N-NO₃ dengan pertumbuhan *Chlorella sp.* dan akumulasi N-NO₂ di dalam budidaya alga, sehingga dapat ditentukan konsentrasi N-NO₃ yang optimal bagi pertumbuhan alga dengan akumulasi N-NO₂ yang minimal.

BAHAN DAN METODE

Chlorella sp yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi dari Laboratorium Planktonologi Puslitbang Limnologi LIPI. Inokulum didapat dari kultur berumur 2 minggu yang tumbuh dengan media PHM (Tabel 1) di dalam botol kaca 500 ml yang dilengkapi aerasi. Sebanyak 10 ml kultur tersebut disentrifus secara aseptik pada 1000 rpm selama 15 menit, dan diambil sel-selnya yang mengendap untuk inokulum, sementara supernatannya di buang untuk mengurangi faktor konsentrasi N-NO₃ dan N-NO₂ yang terbawa dari inokulum tersebut. Selanjutnya percobaan dilakukan dengan mengkultur alga tersebut secara *batch* aseptik dalam botol kaca 500 ml yang dilengkapi aerasi, dengan media PHM 400 ml selama 12 hari. Sumber cahaya didapat dari 2 buah lampu TL 40 watt dengan intensitas cahaya pada permukaan botol kultur 10.000 luks. Suhu ruang percobaan terukur 29-32° C, sementara pH kultur 5,5 - 8,0. Perlakuan konsentrasi N-NO₃ diberikan dengan memodifikasi konsentrasi N-NO₃ dari media PHM, yaitu 0, 1/16, 1/4, dan 1 kali media PHM normal, setara dengan konsentrasi N-NO₃ 0 mM, 0,625 mM, 2,5 mM dan 10 mM, masing-masing dengan tiga kali ulangan. Selama 4 hari pertama dilakukan sampling setiap hari untuk pengukuran konsentrasi N-NO₃ dan N-NO₂, yang selanjutnya dilakukan dua kali seminggu. Disamping itu juga dilakukan sampling dua kali seminggu untuk analisa konsentrasi sel, biomasa, serta khlorofil.

Kepadatan sel kultur dihitung di bawah mikroskop pada haematositometer. Berdasarkan hasil penghitungan tersebut kemudian dihitung laju tumbuh sel-selnya dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

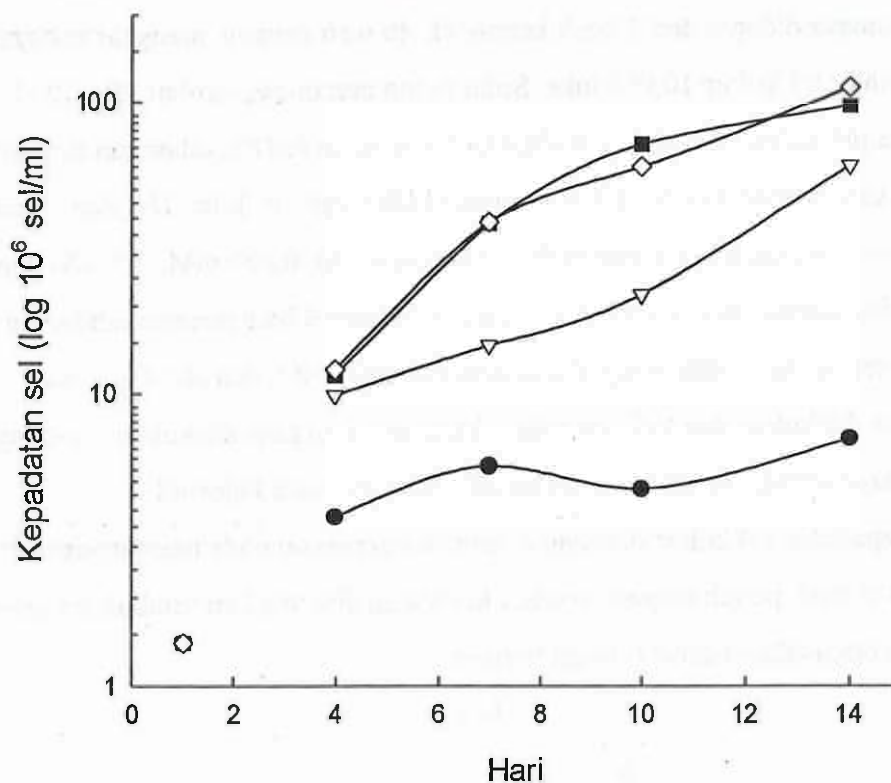
$$\mu = \frac{\ln x_t/x_0}{t}$$

dimana: μ adalah laju tumbuh (pembelahan sel/hari), x_t kepadatan sel pada hari t (sel/ml), x_0 kepadatan awal sel (sel/ml) dan t adalah waktu (hari).

Berat organik kultur ditentukan dengan menyaring 10 ml sampel melalui filter Whatman GF/A yang sebelumnya telah dipanaskan pada 450 °C semalam. Filter selanjutnya dioven pada 100 °C selama 1 jam, disimpan dalam desikator dan ditimbang. Untuk menentukan berat organik filter kemudian diabukan pada suhu 450

°C semalam, dan setelah disimpan dalam desikator selama 5 jam, filter tersebut ditimbang kembali. Berat organik alga didapat dengan mengurangi berat filter setelah pemanasan 100 °C dengan beratnya setelah diabukan.

Untuk analisa kandungan N-NO₃ dan N-NO₂, suspensi kultur disaring dengan saringan Whatman GF/A, dan konsentrasi N-NO₃ dalam air media yang telah disaring tersebut selanjutnya ditentukan dengan metode *brucine* (Merck), sedangkan konsentrasi N-NO₂-nya ditentukan dengan metode kolorimetri (APHA 1995).

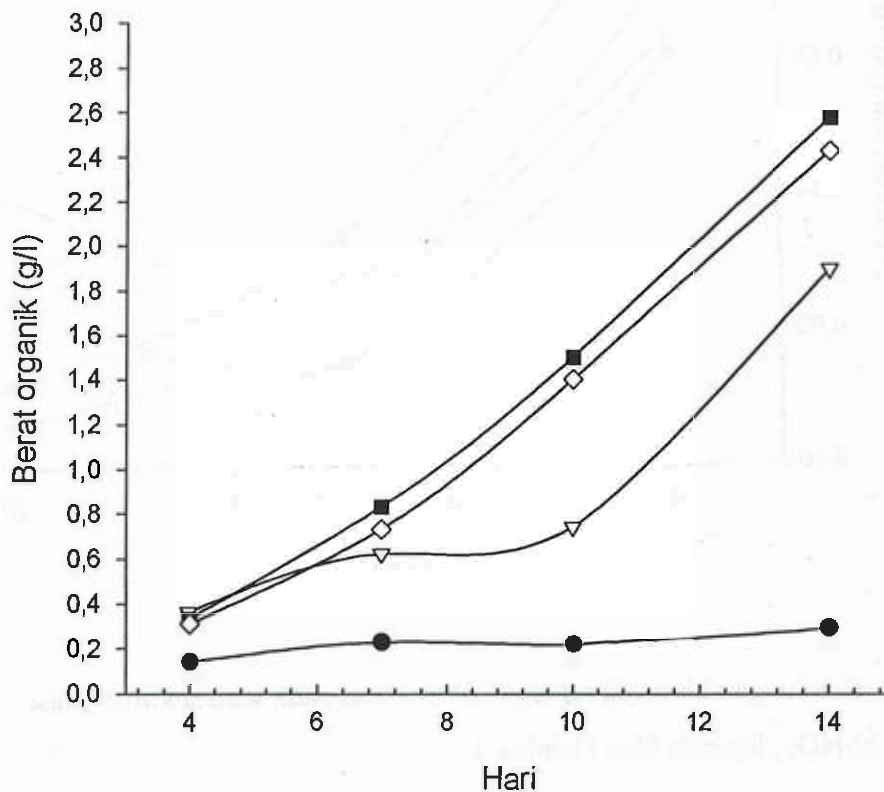


Gambar 1. Kurva pertumbuhan kepadatan sel *Chlorella sp* pada variasi konsentrasi N-NO₃; legenda: ● = kontrol, ∇ = 0,625 mM N-NO₃, ■ = 2,5 mM N-NO₃, □ = 10 mM N-NO₃

Kandungan khlorofil kultur ditentukan dengan metode ekstraksi dengan larutan 90% aseton (Jeffrey & Humprey 1975).

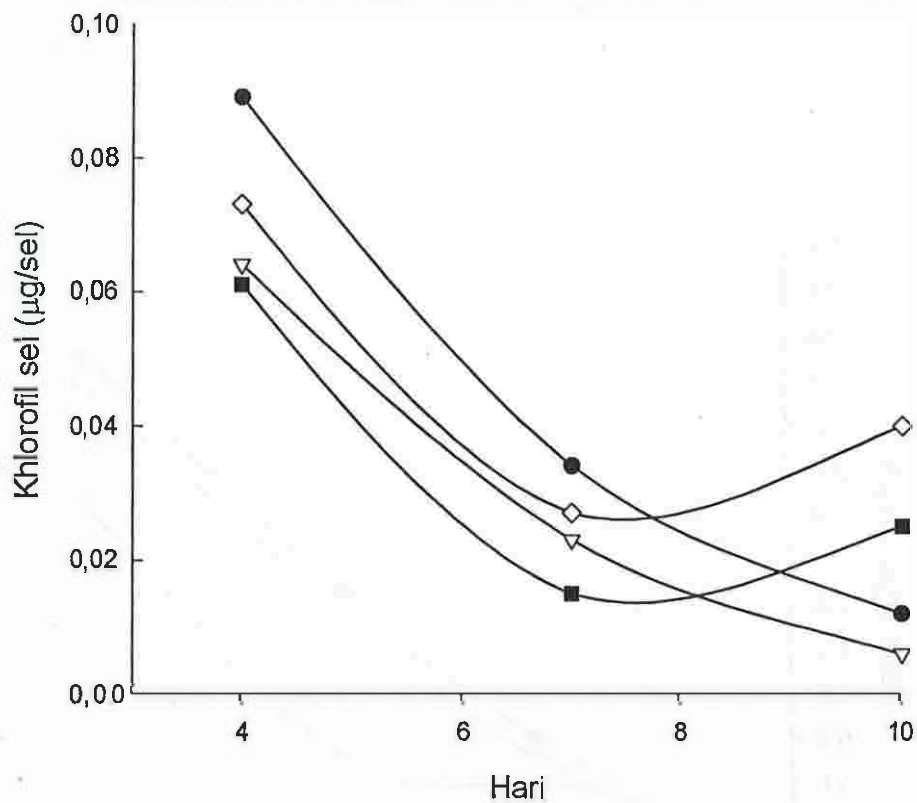
HASIL DAN PEMBAHASAN

Laju pertumbuhan *Chlorella* sp. berbanding lurus dengan kepadatan sel dan kandungan bahan organik (Gambar 1 dan 2). Semakin tinggi laju pertumbuhan sel



Gambar 2. Biomasa kultur alga *Chlorella* sp pada variasi konsentrasi N-NO₃; legenda lihat Gambar 1.

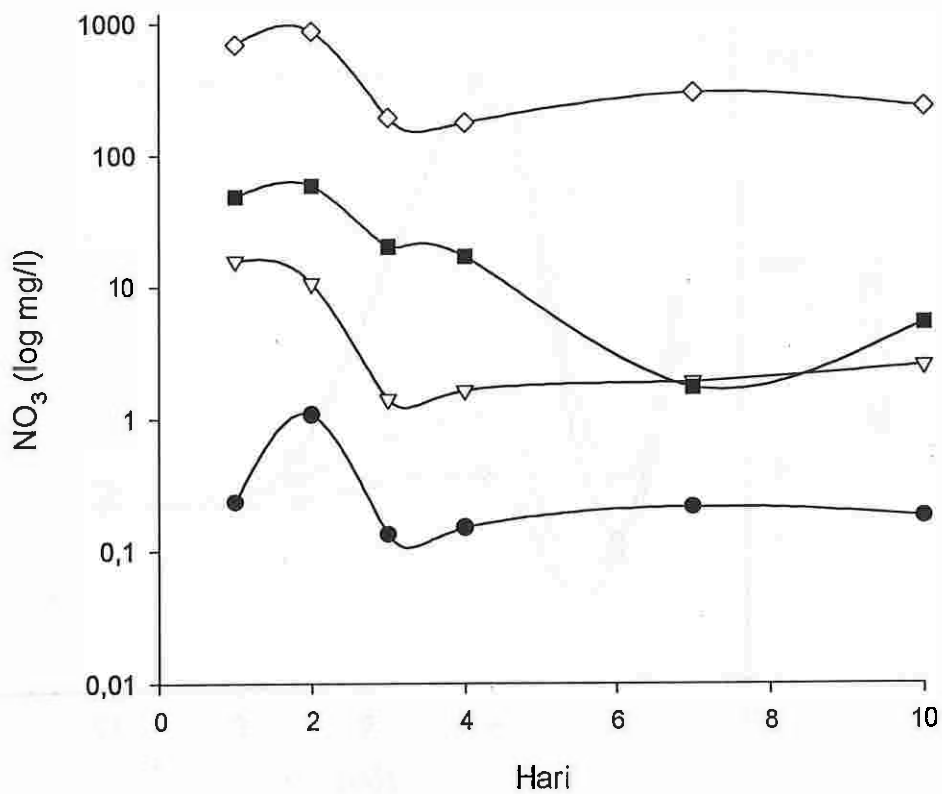
Chlorella sp. maka semakin tinggi pula kepadatan sel dan kandungan bahan organiknya. Kepadatan sel alga cenderung meningkat sejalan dengan semakin besar pemberian nitrat (N-NO₃) dalam media kultur. Namun demikian pertumbuhan *Chlorella* sp. optimal terjadi pada perlakuan N-NO₃ 2,5 - 10 mM. Pada Gambar 1, kurva pertumbuhan kedua perlakuan tersebut berhimpit. Hal ini menunjukkan kepadatan sel pada kedua perlakuan tersebut relatif sama. Kepadatan sel maksimum



Gambar 3. Kandungan khlorofil sel alga *Chlorella sp* pada variasi konsentrasi N-NO₃; legenda lihat Gambar 1.

yang dicapai berturut-turut adalah 7 juta sel/ml pada 0 mM N-NO₃; 60,3 juta sel/ml pada 0,625 mM N-NO₃; 96,9 juta sel/ml pada 2,5 mM N-NO₃; dan 113 juta sel/ml pada 10 mM N-NO₃.

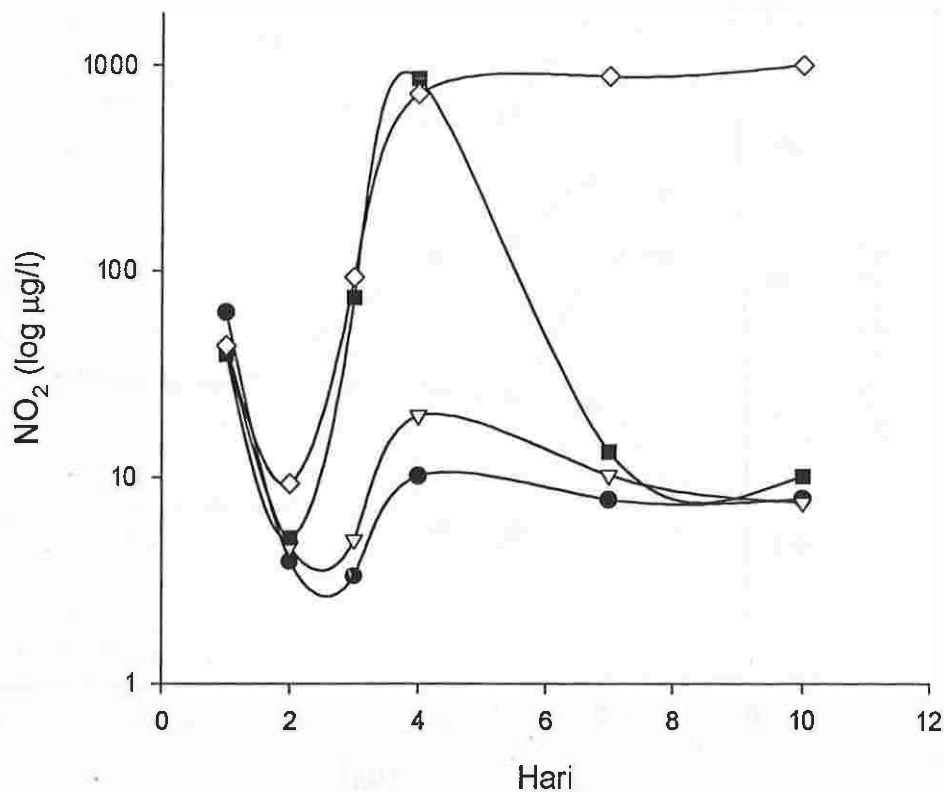
Hasil analisis kandungan bahan organik masing-masing perlakuan juga memperlihatkan kecenderungan semakin besar kandungan bahan organik sejalan dengan kandungan N-NO₃ yang diberikan. Pada perlakuan N-NO₃ 2,5 mM dan 10 mM, kandungan bahan organiknya relatif sama. Kandungan bahan organik



Gambar 4. Perilaku N-NO₃ kultur alga *Chlorella sp* pada variasi konsentrasi N-NO₃ awal; legenda lihat Gambar 1.

maksimum yang dicapai adalah 0,03 g/l pada 0 mM N-NO₃; 0,19 g/l pada 0,625 mM N-NO₃; 0,24 g/l pada 10 mM N-NO₃; dan 0,26 g/l pada 2,5 N-NO₃.

Kandungan khlorofil *Chlorella sp.* persel pada masing-masing perlakuan tidak menunjukkan pola hubungan yang khas (Gambar 3). Hasil menunjukkan bahwa kandungan khlorofil persel tertinggi terdapat pada perlakuan yang tidak diberikan penambahan nitrat (0 mM N-NO₃). Diduga kandungan khlorofil dipengaruhi oleh kepadatan sel. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Chrismadha *et. al.* (1997)



Gambar 5. Perilaku N-NO₂ kultur alga *Chlorella sp* pada variasi konsentrasi N-NO₃; legenda lihat Gambar 1.

bahwa pola pertumbuhan *Ankistrodemus convolutus* berbanding terbalik dengan kepadatan khlorofil per sel. Pada keadaan kepadatan sel maksimum, cahaya menjadi kendala sehingga jumlah khlorofil berkurang.

Kandungan N-NO₃ selama pengamatan pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4. Pada kultur kontrol yang tidak diberi N-NO₃ ternyata masih dapat dideteksi kandungan N-NO₃ pada hari pertama kultur yaitu 0,234 mg/l. N-NO₃ yang terbawa dari suspensi inokulum ini dengan cepat terserap habis sejalan dengan pertumbuhan jumlah sel di dalam kulturnya. Richardson *et. al.* menyatakan bahwa kemampuan alga terus tumbuh pada kondisi tanpa nitrogen selama persediaan nitrogen di dalam selnya mencukupi. Sehingga tidak mengherankan pada kultur

kontrol masih dapat dilihat pertumbuhan alga yang cukup signifikan.

Kandungan N-NO₂ berhubungan erat dengan N-NO₃. Alga tingkat rendah dapat melakukan fotosintesis dengan menggunakan nitrogen dari N-NO₂ pada tingkat N-NO₃ tertentu. Pada perlakuan N-NO₃ 2,5 mM, terdapat fenomena yang menarik (Gambar 5) dimana kandungan N-NO₂ meningkat tajam (dari 5,076 menjadi 859,763 :g/l) pada hari ke-5. Namun setelah hari ke-5 kandungan N-NO₂ turun kembali menjadi 10,118 :g/l. Sedangkan pada perlakuan N-NO₃ 10 mM, kandungan N-NO₂ pada hari ke-5 terus meningkat hingga hari ke-10 sebesar 1.007,700 :g/l. Penurunan N-NO₂ yang tajam pada perlakuan 2,5 mM N-NO₃ tersebut menunjukkan telah dimanfaatkannya sebagian nitrogen yang berasal dari N-NO₂ disamping dari N-NO₃. Pada kandungan N-NO₃ 16,950 :g/l dengan kepadatan sel 11,58 juta sel/ml, diduga kandungan N-NO₃ merupakan pembatas sehingga *Chlorella* sp. memanfaatkan N-NO₂ sebagai sumber nitrogen.

Penambahan N-NO₃ sebesar 2,5 mM dalam media budidaya menghasilkan pertumbuhan *Chlorella* yang optimal. Pemanfaatan *Chlorella* sebaiknya dilakukan setelah hari ke-5 untuk perlakuan 0 mM, 0,625 mM dan 2,5 mM N-NO₃ karena mulai terjadi penyerapan kembali nitrogen yang berasal dari N-NO₂ oleh *Chlorella* sp. tersebut.

