

Pertumbuhan Mikroalga *Chlamydomonas* dalam Medium Beneck dan Air Tanah yang Mengandung Insektisida Berbahan Aktif Klorpirifos

Growth of *Chlamydomonas* Microalgae in Beneck and Soil Water Media Which Contain Chlorpiriphos Insecticide

M. Kurniasih, N.B. Prihantini & E. Nurtiyani

*Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Indonesia, Kampus UI Depok 16424*

Abstract

The research of insecticide effect to the growth of genus Chlamydomonas had been done. Research was experimental study with block random design to 9 concentrations of chlorpiriphos containing insecticide in Beneck and soil water media i.e. 0 (control), 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, and 0.40%. Observations were done for 35 days. Friedman test showed that there were some effects of media and insecticide concentrations on cell numbers of Chlamydomonas (cell/ml) in culture ($p > 0.05$). Dunnett's test showed that mean of cell numbers of Chlamydomonas (cell/ml) differ (on $p > 0.05$) and very differ (on $p > 0.01$) on every concentrations in Beneck and soil water media. Insecticide could reduced the cell size of Chlamydomonas, yet increased the number of cells on 0.05--0.30% concentrations in Beneck medium, and 0.05--0.20% concentrations in soil water medium. On peak culture, insecticide with 0.10% concentration produced the highest cell numbers i.e. 21,179,167 cell/ml in Beneck medium, and 4,087,500 cell/ml in soil water medium.

Key words: *Chlamydomonas*, chlorpiriphos containing insecticide

Diterima: 16 September 2002, disetujui 14 Desember 2002

Pendahuluan

Klorpirifos adalah prototipe dari asam tiofosfat yang merupakan salah satu bahan aktif dari insektisida organofosfat. Klorpirifos bersifat sebagai racun kontak berbentuk kristal putih yang dipergunakan untuk mengendalikan antara lain serangga *Atherigana exigua*, *Agromyza phaseoli*, *Agrotis* sp. (Nayar *et al.* 1981; Baehaki 1993). Formula empiris dari klorpirifos adalah $C_9H_{11}C_{11}N_3O_3PS$ (Nayar *et al.* 1981).

Penggunaan insektisida tersebut ternyata menimbulkan permasalahan bagi lingkungan. Klorpirifos memiliki kelarutan yang sangat rendah dalam air (0,0002 g/100 g H_2O), tetapi mudah larut dalam pelarut organik (Nayar *et al.* 1981). Sifat tersebut menyebabkan terakumulasinya klorpirifos dalam jaringan organisme yang kemudian mengakibatkan

terjadinya biomagnifikasi. Selain itu klorpirifos relatif sulit dihidrolisis dan dioksidasi, sehingga keberadaannya di lingkungan relatif stabil (Nayar *et al.* 1981).

Klorpirifos dapat dihidrolisis menjadi 3,5,6 trikloro-2 piridinol (Nayar *et al.* 1981) dengan bantuan beberapa variabel lingkungan seperti suhu, pH dan keberadaan mikroorganisme seperti bakteri yang telah lama diketahui memiliki kemampuan mengurai senyawa berbahaya dalam insektisida. Selain bakteri, beberapa mikroalga juga diketahui memiliki kemampuan yang serupa (Wright 1978).

Mikroalga yang memiliki kemampuan dalam mengurai senyawa insektisida harus memiliki daya toleransi yang tinggi sehingga mampu hidup, tumbuh dan berkembang dengan baik pada lingkungan yang tercemar insektisida. *Chlamydomonas* diketahui sebagai

salah satu dari marga mikroalga yang toleran terhadap polutan (Walsh & Merrill 1984), karena kemampuannya untuk hidup dalam air yang tercemar oleh bahan-bahan organik (Van den Hoek *et al.* 1995). *Chlamydomonas* memiliki fase dorman dengan membentuk lapisan gelatin sebagai alat proteksi diri terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan baginya. Selama dalam fase dorman *Chlamydomonas* masih dapat bereproduksi secara aseksual (Kumar & Singh 1979).

Insektisida dapat meningkatkan maupun menurunkan aktivitas fotosintetik pada mikroalga, dan hal tersebut terkait dengan pengambilan ^{14}C yang terkandung dalam insektisida. Beberapa mikroalga mampu mengakumulasi kandungan insektisida. Disamping itu beberapa mikroalga juga memiliki kemampuan untuk mengurai senyawa insektisida dengan memutus cincin aromatik dan memanfaatkan kandungan ^{14}C nya (Wright 1978). Insektisida dengan konsentrasi tinggi dapat menghambat proses pengambilan ^{14}C , sebaliknya insektisida dengan konsentrasi rendah meningkatkan pengambilan ^{14}C yang akan berdampak peningkatan jumlah sel mikroalga (Mc Ewen & Stephenson 1979).

Mikroalga selain memanfaatkan ^{14}C sebagai sumber karbon, ternyata juga dapat memanfaatkan unsur lain seperti fosfor (P). Pemanfaatan unsur P dalam insektisida organofosfat oleh mikroalga dimulai dengan pemecahan struktur molekul kompleks oleh suatu enzim tertentu seperti asam fosfatase dan alkaline fosfatase. Hasilnya berupa molekul sederhana yang tidak bersifat racun yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi (Subramanian *et al.* 1994).

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh insektisida berbahan aktif klorpirifos yang ditambahkan pada medium Beneck and air tanah terhadap pertumbuhan mikroalga *Chlamydomonas* galur Subang, Jawa Barat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Chlamydomonas* galur Subang memiliki kemampuan hidup, tumbuh dan berkembang pada medium mengandung insektisida berbahan aktif klorpirifos, dengan konsentrasi tertentu.

Metode Penelitian

Lokasi dan waktu penelitian:

Penelitian dilakukan di ruang kultur alga, laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA UI pada bulan September sampai dengan Oktober 2001.

Bahan dan cara kerja:

Biakan *Chlamydomonas* yang digunakan berasal dari koleksi laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA-UI yang disolasi dari kolam alga pengolahan limbah karet hasil buangan pabrik karet di Subang Jawa Barat.

Medium Beneck perlakuan (Beneck + insektisida) dan air tanah perlakuan (air tanah + insektisida) sebanyak 45 ml dengan berbagai konsentrasi, yaitu: 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35; 0,40%; dan medium kontrol terdiri atas medium Beneck dan medium air tanah tanpa penambahan insektisida. Insektisida yang digunakan adalah insektisida berbahan aktif klorpirifos dengan formulasi Dursban 20EC mengandung 200 g klorpirifos /l.

Penelitian bersifat eksperimental dengan rancangan acak berblok (*Block Random Design*). Jumlah sampel 18, yaitu 8 sampel medium Beneck + insektisida dengan konsentrasi yang berbeda, 8 sampel medium air tanah + insektisida dengan konsentrasi yang berbeda, dan 2 medium kontrol (Beneck dan air tanah).

Sebanyak 5 ml kultur *Chlamydomonas* berkepadatan 165.625 sel/ml yang telah berumur 4 minggu dimasukkan ke dalam 45 ml medium kontrol dan medium perlakuan. Setelah itu dilakukan penghitungan jumlah sel setiap 24 jam selama 35 hari terhadap 3 tetes kultur (0,12 ml) yang dikocok hingga homogen. Penghitungan dilakukan dengan menggunakan pipet Thoma untuk sel darah putih dan kamar hitung *Improved Neubauer* (Adil 1997). Jumlah sel *Chlamydomonas* yang diperoleh merupakan rerata jumlah sel dari dua kamar hitung. Berdasarkan data jumlah sel dilakukan penghitungan kerapatan sel dan laju pertumbuhan. Jumlah sel dalam 1 ml larutan adalah larutan adalah $n \times p \times (1/0,4 \text{ mm}^3) \times$

$(1000 \text{ mm}^3/1 \text{ cm}^3) = n \times p \times 2500$, dengan n adalah jumlah sel *Chlamydomonas*, dan p adalah tingkat pengenceran yang digunakan pada pipet Thoma (Adil 1997). Penghitungan laju pertumbuhan menggunakan rumus Hirata, yaitu $(\log 19 N/N_0)/(t-t_0) \times 3,22$, dengan N adalah jumlah sel pada waktu t , N_0 adalah jumlah sel pada waktu t_0 dan 3,22 merupakan konstanta (Amin & Amini 1992).

Hasil Dan Pembahasan

a. Kerapatan sel

Kerapatan *Chlamydomonas* (sel/ml) pada medium Beneck dan air tanah pada saat inokulasi adalah 165.625 sel/ml. Rerata kerapatan *Chlamydomonas* (sel/ml) pada medium Beneck pada saat puncak (*peak*) ditunjukkan oleh Gambar 1.

Kerapatan *Chlamydomonas* (sel/ml) dalam medium Beneck dan air tanah pada saat *peak* jika dibandingkan dengan kerapatan *Chlamydomonas* (sel/ml) pada saat inokulasi sebesar 165.625 sel/ml menunjukkan adanya pertumbuhan *Chlamydomonas*, yang menandakan bahwa *Chlamydomonas* mampu beradaptasi terhadap semua konsentrasi insektisida pada medium Beneck dan air tanah. Kerapatan *Chlamydomonas* (sel/ml) pada saat *peak* pada medium Beneck dengan konsentrasi insektisida 0,05--0,30%, dan medium air tanah dengan konsentrasi insektisida 0,05--0,20% lebih tinggi dari medium kontrol Beneck dan air tanah. Hal tersebut menandakan kemungkinan terjadinya pemanfaatan insektisida oleh *Chlamydomonas*.

Adanya gugusan cincin aromatik yang terdapat dalam insektisida menyebabkan insektisida bersifat racun, dan dapat mengganggu proses metabolisme sel. Semakin tinggi konsentrasi insektisida, maka semakin besar efek racunnya dan menyebabkan kerapatan *Chlamydomonas* (sel/ml) akan semakin rendah.

Kerapatan sel yang terendah terdapat pada konsentrasi insektisida yang tinggi, yaitu pada konsentrasi insektisida 0,40% pada medium Beneck dan konsentrasi insektisida 0,35% pada medium air tanah. Sedangkan kerapatan sel tertinggi dijumpai pada

konsentrasi insektisida rendah, yaitu pada konsentrasi insektisida 0,10% pada medium Beneck maupun medium air tanah. Insektisida dengan konsentrasi 0,10% mungkin dapat dimanfaatkan *Chlamydomonas* sebagai nutrisi, yang diduga sesuai bagi *Chlamydomonas*, sehingga mampu tumbuh maksimal. Nilai kerapatan tersebut sejalan dengan penampakan warna kultur paling pekat pada konsentrasi insektisida 0,10%, dan warna kultur yang paling muda pada konsentrasi insektisida 0,40%.

Uji Friedman terhadap rerata kerapatan sel selama pengamatan menunjukkan adanya pengaruh medium dan konsentrasi insektisida terhadap kerapatan sel *Chlamydomonas*. Uji perbandingan berganda terhadap kerapatan sel pada medium kontrol Beneck dan air tanah menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ($p > 0,01$) dan nyata ($p > 0,05$) terhadap medium Beneck dan air tanah dengan konsentrasi insektisida 0,05; 0,10; 0,15; 0,30; 0,35; dan 0,40%. Sedangkan uji perbandingan berganda antar konsentrasi insektisida menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p > 0,01$), dan nyata ($p > 0,05$) pada semua konsentrasi insektisida.

Penambahan insektisida dengan konsentrasi rendah dapat memicu pertumbuhan sel *Chlamydomonas*, karena kandungan ^{14}C dan P yang terdapat dalam insektisida mungkin berfungsi sebagai tambahan nutrisi bagi sel *Chlamydomonas*. Ikatan cincin aromatik berupa rantai karbon siklik dapat diputus oleh *Chlamydomonas* dengan melepaskan komponen ekstraselulernya. Ikatan gugus fosfat dapat dipecah oleh enzim asam fosfatase dan enzim alkalin fosfatase yang merupakan komponen seluler yang dikeluarkan oleh mikroalga melalui membran sel (Hellebust 1974; Subramanian *et al.* 1994). Karbon-14 yang diserap oleh *Chlamydomonas* melalui proses difusi dalam bentuk CO_2 , selanjutnya akan masuk ke dalam siklus Calvin yang merupakan reaksi gelap pada proses fotosintesis. Hasil akhir dari proses tersebut adalah glukosa akan digunakan untuk pertumbuhan sel *Chlamydomonas*. Pada proses respirasi, glukosa akan dipecah menjadi piruvat kemudian didekarboksilasi menghasilkan asetil ko-A yang akan melalui siklus Krebs untuk

memproduksi ATP. ATP dapat dipergunakan oleh *Chlamydomonas* salah satunya untuk pertumbuhan dan perkembangan sel. Kandungan unsur P yang terdapat dalam insektisida berguna untuk pembentukan ATP pada proses fotofosforilasi, yang akan digunakan untuk mereduksi CO₂ pada siklus Calvin. Selain itu unsur P secara tidak langsung juga berkaitan dengan perkembangan pigmen asesori pada mikroalga.

b. Kurva pertumbuhan

Kurva pertumbuhan mikroalga *Chlamydomonas* pada masing-masing kultur menunjukkan pola pertumbuhan yang berbeda-beda (Gambar 2 & 3). Pola pertumbuhan pada kurva sejalan dengan laju pertumbuhan pada kultur *Chlamydomonas*. Nilai laju pertumbuhan tersebut dapat digunakan untuk menentukan fase-fase yang dialami oleh kultur *Chlamydomonas*. Awal fase log dapat ditentukan berdasarkan kenaikan nilai laju pertumbuhan. Fase log akan berakhir dan kultur memasuki fase stasioner yang ditunjukkan oleh nilai laju pertumbuhan yang tertinggi.

Berdasarkan nilai laju pertumbuhan, diketahui bahwa pada konsentrasi insektisida rendah, kultur *Chlamydomonas* mengalami fase lag yang singkat. Sebaliknya pada konsentrasi insektisida tinggi, kultur *Chlamydomonas* mengalami fase lag yang sangat panjang. Misalnya pada konsentrasi insektisida 0,05% pada medium Beneck fase log dimulai pada hari ke-5, sedangkan pada konsentrasi insektisida 0,40% fase log baru dimulai pada hari ke-30. Fase lag menandakan waktu adaptasi yang dibutuhkan *Chlamydomonas* untuk dapat memanfaatkan kandungan ¹⁴C dan P yang terdapat dalam insektisida.

Laju pertumbuhan kultur *Chlamydomonas* pada hari ke-1--7 pada medium air tanah lebih tinggi jika dibandingkan dengan medium Beneck. Hal tersebut terkait dengan kebutuhan akan unsur P. Asam fosfatase dan alkalin fosfatase akan disintesis pada saat sel mengalami defisiensi unsur P. Pengambilan unsur P pada sel yang mengalami defisiensi akan lebih cepat dan

lebih banyak jika dibandingkan dengan sel yang kebutuhannya akan unsur P tercukupi (Jansson 1988), dan pada air tanah yang digunakan kemungkinan kekurangan akan unsur P. Menurut Prinson et.al. pada tahun 1952 (Kuhl 1974) defisiensi dari unsur P dapat menghambat produksi berat kering, pembelahan sel, produksi O₂ dari fotosintesis, dan sintesis klorofil. Defisiensi unsur P pada kultur *Chlamydomonas* pada medium air tanah dapat terlihat setelah kultur berumur lebih dari 14 hari, yang ditunjukkan oleh kultur yang berwarna kuning dan kerapatan sel yang rendah.

Kesimpulan

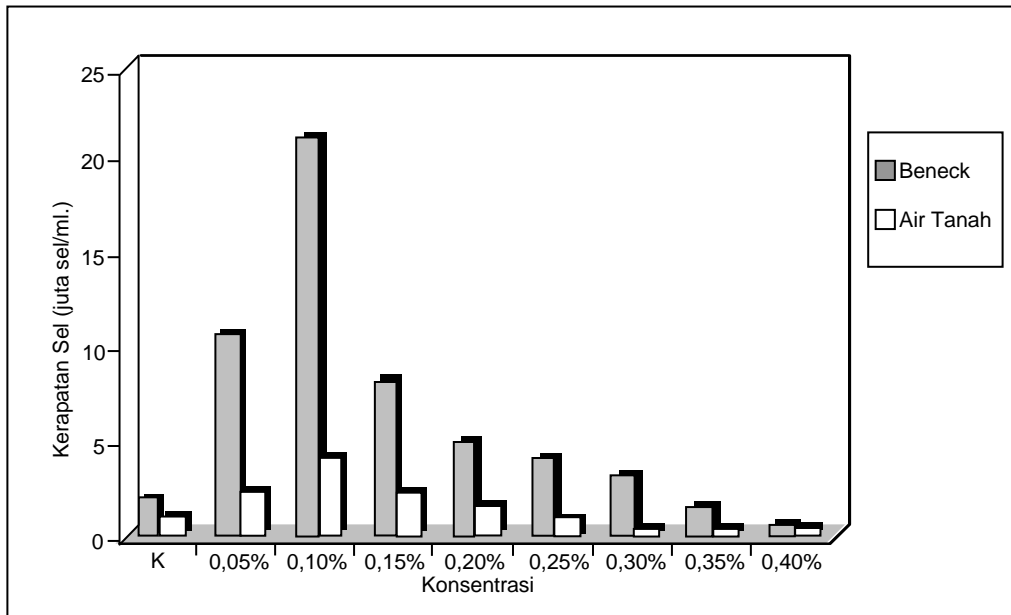
Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada medium Beneck, kerapatan *Chlamydomonas* (sel /ml) tertinggi saat *peak*, sebesar 21.179.167 sel /ml, diperoleh dari konsentrasi insektisida 0,10%, sedangkan kerapatan sel terendah saat *peak*, sebesar 520.833 sel /ml, diperoleh dari konsentrasi insektisida 0,40%.
2. Pada medium air tanah, kerapatan sel tertinggi saat *peak*, sebesar 4.087.500 sel /ml, diperoleh dari konsentrasi insektisida 0,10%, sedangkan kerapatan sel terendah saat *peak*, sebesar 338.750 sel /ml, yang diperoleh dari konsentrasi insektisida 0,35%.

Daftar Pustaka

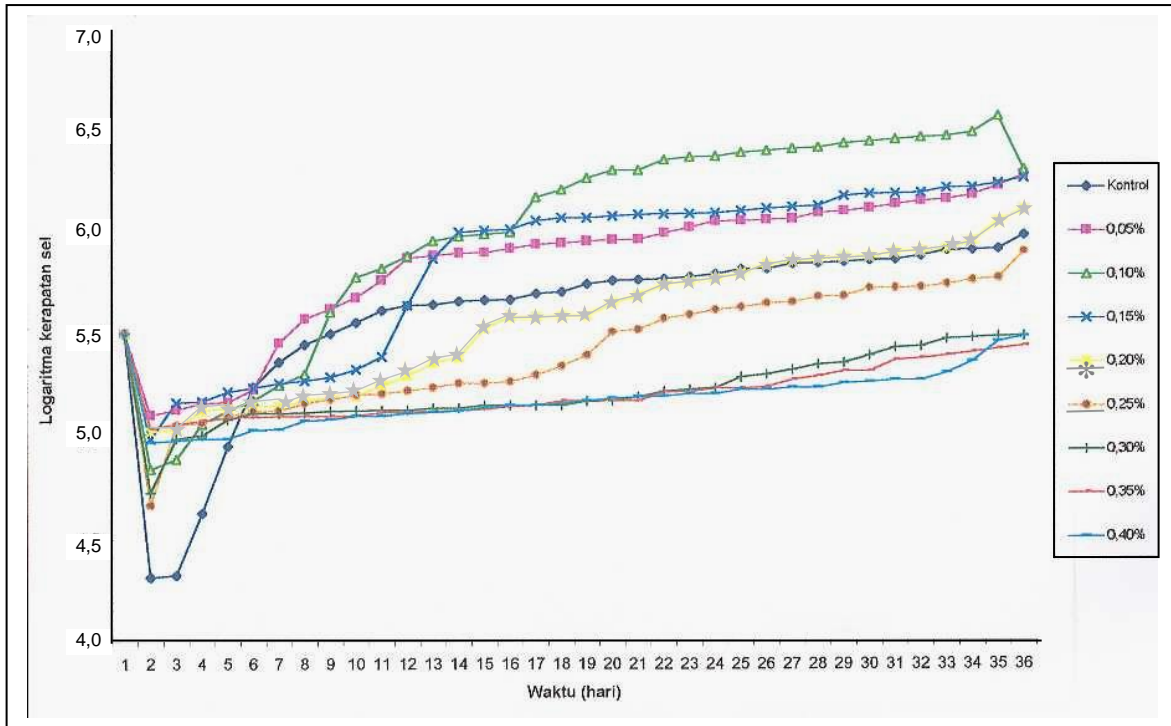
- Adil, I.M. 1997. *Penuntun Praktikum Fisiologi Hewan*. Jurusan Biologi. FMIPA UI, Depok.
- Amin, M. & S. Amini. 1992. *Rasionalisasi Pupuk Komersil pada Budidaya Fitoplankton*.
- Prosiding Lokakarya Penelitian dan Studi Khusus*: 528-543.
- Baehaki.1993.*Insektisida Pengendalian Hama Tanaman*. Angkasa, Bandung.

- Hellebust, J.A. 1974. Extracellular Products. *In: Stewart. 9ed.). Algal Physiology and Biochemistry.* University of California Press, California: 838-863.
- Jansson, M. 1988. Phosphate uptake and utilization by bacteria and microalgae. *In: Persson, G. & M. Jansson. (eds.). 1988. Phosphorus in freshwater ecosystem.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 177-189.
- Kuhl, A. 1974. Phosphorus. *In: Stewart, W.D.P. (ed.). 1974. Algal Physiology and Biochemistry.* University of California Press, California: 636-654.
- Kumar, H.D. & H.N. Singh. 1979. *A Textbook on Algae.* Macmillan Press Ltd., London.
- Mc. Ewen, F.I. & G.r. Stephenson. 1979. *The Use and Significance of Pesticides in the Environment.* John Wiley & Sons, New York.
- Nayar, K.K., T.N. Ananthkrishnan & B.V. David. 1982. *General and Applied Entomology.* Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi.
- Subramanian, G., S. Sekar & S. Sampoonam. 1994. Biodegradation and Utilization of Organophosphorus Pesticide by Cyanobacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation* 33: 129-143.
- van den Hoek, C., D. G. Mann, & H. M. Jahns. 1995. *Algae. Anintroduction to Phycology.* Cambridge University Press, Melbourne.
- Vashishta, B.R. 1978. *Botany for Degree Students: Algae.* 7th ed. S. Chand & Comp. Ltd., Ram Nagar.
- Walsh, G.E. & R.G. Merrill. 1984. Algal Bioassays of Industrial and Energy Process Effluents. *In: Shubert. L.E. (ed.). 1984. Algae as Ecological Indicators.* Academic Press Inc., London: 329-360.
- Wright, S.J.L. 1978. Interaction of Pesticides With Microalgae. *In: Wright, S.J. & I.R. 1978. Pesticides Microbiology: microbial Aspects of Pesticide Behavior in the Environment.* Academic Press, London: 535—590.
- Zar, J.H. 1974. *Biostatistical Analysis.* Prentice-Hall, inc., London

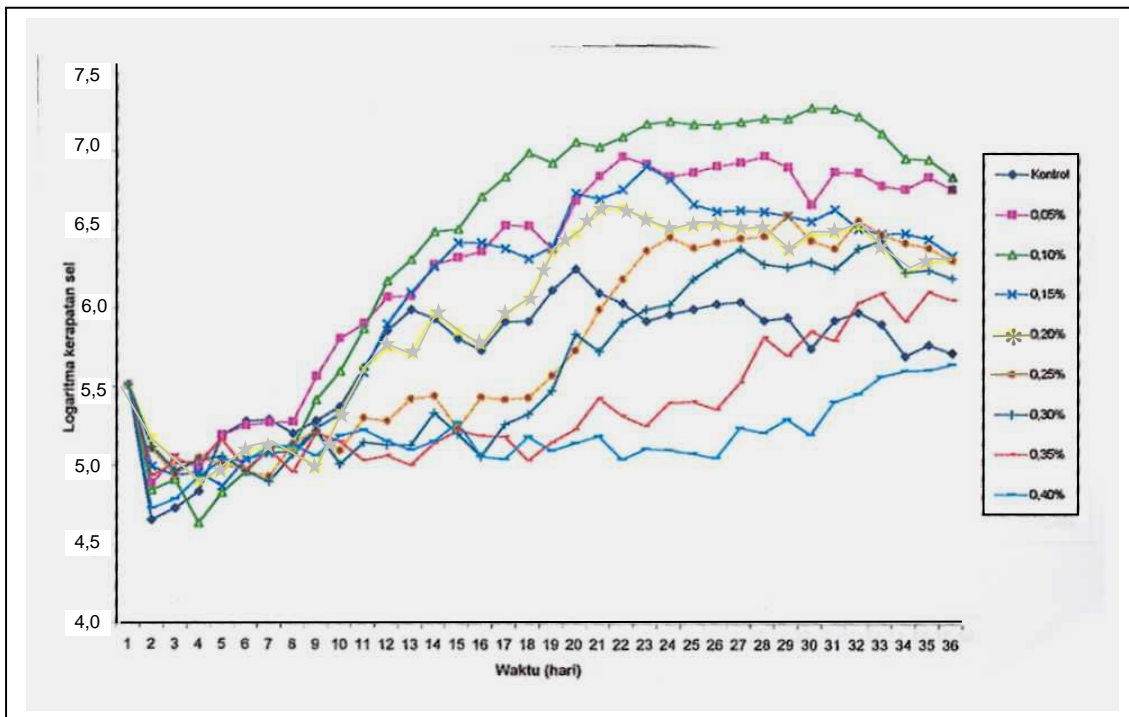


Gambar 1. Diagram Batang Kerapatan sel Chlamydomonas pada saat peak pada 8 konsentrasi insektisida dan kontrol (K).

Pertumbuhan Chlamydomonas dalam Medium Bencek dan Air Tanah



Gambar 2. Kurva pertumbuhan sel Chlamydomonas dalam medium Bencek selama 35 hari pengamatan



Gambar 3. Kurva pertumbuhan sel Chlamydomonas dalam medium air tanah selama 35 hari pengamatan

