

Pengaruh Penggunaan Wadah Kultur yang Berbeda Terhadap Kepadatan Sel Mikroalga *Nitzschia* Skala Laboratorium

Effect of Different Culture Containers to Cell Densities of *Nitzschia* in Laboratory Scale

Mohammad Faizal Ulkhaq ^{1*}, Yeni Dwi Kharismawati ¹, Arif Habib Fasya ¹
Program Studi Akuakultur, Program Studi Diluar Kampus Utama Universitas Airlangga
Banyuwangi
*Email: m-faizalulkhaq@fpk.unair.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis wadah yang cocok untuk meningkatkan kepadatan sel mikroalga *Nitzschia* dan menghasilkan biomass yang besar. Tahapan dalam penelitian ini yaitu sterilisasi wadah dan media, pembuatan pupuk diatom dan media agar, kultur *Nitzschia* pada media agar, kultur *Nitzschia* pada tabung reaksi dan kultur *Nitzschia* pada wadah kaca dan plastik. Pengamatan kepadatan sel dilakukan selama 10 hari sambil diukur nilai kualitas air media kultur (suhu, salinitas, pH). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kepadatan sel mikroalga *Nitzschia* dalam wadah kaca lebih tinggi dibandingkan wadah plastik. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui kandungan nutrient pada mikroalga *Nitzschia* setelah dikultur pada wadah kaca.

Keyword : Kultur *Nitzschia*, Skala laboratorium, Wadah kaca, Plastik.

Abstract

The study aimed to determine the type of culture container for increasing the cell density of *Nitzschia* and producing the highly cell biomass. The stages of this study were sterilization of containers and media, making diatom fertilizers and agar media, culture of *Nitzschia* in agar medium, culture of *Nitzschia* in test tube, and culture of *Nitzschia* in glass and plastic containers. The result showed that the cell density of *Nitzschia* cultured in the glass container was higher than plastic containers. Further study was needed to determine the nutrient composition of *Nitzschia* that culture in glass containers.

Keyword : *Nitzschia* culture, Laboratory scale, Glass, Plastic container.

PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan mikroorganisme berklorofil yang mempunyai kemampuan memanfaatkan energy dari cahaya matahari dan karbondioksida untuk fotosintesis. Penggunaan mikroalga sebagai pakan alami ikan dikarenakan mikroalga memiliki ukuran tubuh yang sesuai dengan bukaan mulut ikan serta mengandung nutrien-nutrien yang sesuai dengan kebutuhan ikan (Kaparapu, 2018). Salah satu mikroalga yang dimanfaatkan sebagai pakan alami larva yaitu *Nitzschia*. Mikroalga *Nitzschia* merupakan anggota dari kelas Bacillariophyceae yang berbentuk seperti benang, berklorofil, berukuran panjang 4,1-55 μm dan lebar 1,8-8 μm (Suriyanti and Usup, 2017), sebagian besar hidup soliter, terkadang ditemukan berkoloni, dan memiliki pigmen kuning-coklat pada bagian ujung anterior dan posterior (Smida et al., 2014).

Nitzschia memiliki kandungan nutrien berupa lemak sebesar 16,84%, protein kasar 41,21%, karbohidrat 21,74%, dan abu 19,88% (Yalcin Duygu, 2019). Tingginya kandungan protein dalam *Nitzschia*

menyebabkan mikroalga ini cocok digunakan sebagai pakan alami bagi larva ikan dan udang. Selain itu, kandungan asam lemak berupa asam lemak jenuh/*saturated fatty acids* (SFAs) sebesar 27,60%, asam lemak tak jenuh tunggal/*monounsaturated fatty acids* (MUFAs) 34,30% dan asam lemak tak jenuh ganda/*polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) 38,10% sehingga mikroalga *Nitzschia* berpotensi sebagai sumber lemak dalam pakan buatan bagi larva ikan dan udang (Rodríguez-Núñez and Toledo-Agüero, 2017).

Selain sebagai pakan alami larva ikan dan udang, aplikasi pemanfaatan *Nitzschia* sudah berkembang ke beberapa bidang, diantaranya sebagai bahan baku pembuatan biodiesel (Joseph et al., 2017); produk farmasi dan makanan (Kuppusamy et al., 2017); serta sebagai antibakteri (Binea et al., 2009) dan antioksidan (Gopinath and Sampathkumar, 2014). Melihat potensi yang terkandung dalam mikroalga *Nitzschia*, maka perlu dilakukan kultur/budidaya untuk menjamin kontinuitas dalam memenuhi kebutuhan akan mikroalga *Nitzschia*.

Teknik kultur *Nitzschia* telah mengalami berbagai modifikasi untuk mempercepat pertumbuhannya sehingga diperoleh biomass yang besar, diantaranya modifikasi komposisi pupuk (Lewin and Lewin, 1967); variasi suhu dan intensitas cahaya (Ramirez et al., 2015); serta variasi pH (Vitug and Baldia, 2014). Penggunaan wadah kaca mampu meningkatkan pertumbuhan pada mikroalga *Chaetoceros calcitrans* (Jannah et al., 2019) dan *Spirulina* (Wahyuni et al., 2018). Namun, pengaruh penggunaan wadah kultur yang berbeda (kaca dan plastik) pada kultur *Nitzschia* masih belum diketahui, sehingga penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis wadah yang cocok untuk meningkatkan kepadatan sel mikroalga *Nitzschia* dan menghasilkan biomass yang besar. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar bagi para pembudidaya ikan dan udang yang akan mengkultur *Nitzschia* sebagai pakan alami larva.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang dibutuhkan yaitu inokulan *Nitzschia* dari koleksi

Laboratorium Pakan Alami BPBAP Situbondo, *Bacto agar* (Merck, Jerman), air laut bersalinitas 33-34 ppt, akuades steril, air tawar, pupuk diatom, silikat, vitamin *Thiamine* dan *Cobalamine*.

Metode

Sterilisasi Wadah dan Media

Wadah kultur berupa cawan petri, tabung reaksi dan erlenmeyer disterilkan menggunakan oven (Mommert, Schwabach) pada suhu 120°C selama 20 menit. Sebelumnya dilakukan pencucian menggunakan detergen dan dikeringkan, selanjutnya dilakukan perendaman menggunakan larutan HCl 200 ppm selama 24 jam untuk membersihkan kerak dan kotoran yang masih menempel, kemudian dilakukan sterilisasi kering menggunakan oven. Peralatan berupa erlenmeyer kapasitas 1000 mL disterilkan menggunakan autoclave (Mommert, Schwabach) pada suhu 121°C, 1 atm selama 15 menit.

Sterilisasi air laut menggunakan *filter bag* bertingkat yang memiliki diameter lubang mulai dari 1 µm sampai 5 µm dan dialirkan pada drum penampung bervolume 250 liter. Selanjutnya, air laut didesinfeksi menggunakan kaporit 20

ppm selama 24 jam dan dinetralkan menggunakan natrium tiosulfat dengan dosis yang sama. Sterilisasi media berupa *Bacto agar* dilakukan dalam autoclave pada suhu 121°C, 1 atm selama 15 menit.

Pembuatan Pupuk Diatom dan Media Agar

Silikat (Si) (Merck, Jerman) sebanyak 30 g dan pupuk diatom (KNO₃ 75 g (Merck, Jerman), Na₂HPO₄ 5 g (Merck, Jerman), Na₂EDTA 5 g (Merck, Jerman), dan FeCl₃ 3,15 g (Merck, Jerman) dilarutkan masing-masing dalam 1 liter akuades secara terpisah, direbus hingga mendidih, dan disterilisasi menggunakan autoclave (Mommert, Schwabach) pada suhu 121°C, 1 atm selama 20 menit. Vitamin yang terdiri dari thiamine 100 mg dan cobalamine 5 mg (Merck, Jerman) dilarutkan dalam 1 liter akuades steril dalam wadah terpisah.

Media agar untuk kultur *Nitzschia* dibuat dengan mencampurkan pupuk Diatom/Guillard dan larutan silikat masing-masing 1 mL dalam 1000 mL air laut steril. Larutan diambil 100 mL kemudian ditambahkan 2 g *bacto agar* dan dipanaskan dalam

erlenmeyer sampai mendidih sambil terus diaduk lalu disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C, 1 atm selama 20 menit. Larutan vitamin masing-masing sebanyak 0,1 mL dicampurkan pada larutan *bacto agar* steril yang sudah hangat (\pm 30-40 °C), diaduk merata dan dituang dalam cawan petri steril.

Kultur *Nitzschia* dalam media agar

Inokulan *Nitzschia* sebelumnya diamati menggunakan mikroskop (Nikon, Jepang) untuk memastikan jenis dan kondisi *Nitzschia* masih dalam keadaan hidup kemudian ditumbuhkan pada media agar dengan metode gores. Hasil isolasi disimpan dalam rak pada suhu ruang (23°C) dibawah sinar cahaya lampu TL 40 Watt dengan jarak 15 cm dari media kultur sambil dicek pertumbuhannya setiap 24 jam selama 72-96 jam.

Kultur *Nitzschia* dalam tabung reaksi

Hasil kultur *Nitzschia* dari media agar kemudian dipindahkan secara aseptis dalam tabung reaksi steril yang sudah diisi air laut steril dan ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil. Selanjutnya, tabung

reaksi diinkubasi pada rak dalam suhu ruang (23°C) yang dilengkapi dengan lampu TL 40 watt berjarak 15 cm dari tabung reaksi. Pertumbuhan kultur *Nitzschia* diamati setiap 24 jam selama 72-96 jam yang ditandai dengan semakin keruhnya media dalam tabung reaksi.

Kultur *Nitzschia* dalam wadah kaca dan plastic

Bibit *Nitzschia* dari tabung reaksi dilakukan penghitungan menggunakan metode *Big block* dengan *haemocytometer* (Assistant, Jerman). Selanjutnya, bibit dipindahkan secara aseptis dalam wadah kaca dan plastik bervolume masing-masing 10 liter dan diisi air laut steril yang sudah dicampur dengan pupuk Diatom, silikat dan vitamin sebanyak masing-masing 2,5 liter. Pemasangan aerasi dilakukan untuk menambah suplai oksigen dan membantu proses penguapan. Wadah kaca dan plastic diinkubasi pada rak dalam ruang AC bersuhu 24 °C dan pencahayaan menggunakan lampu TL 40 watt berjarak 15 cm dari wadah. Pengamatan pertumbuhan dilakukan setiap 24 jam sekali selama 10 hari dengan melakukan sampling pada pagi hari untuk dihitung

kepadatannya menggunakan *haemocytometer* (Assistant, Jerman). sambil dilakukan pengecekan kualitas air (suhu, salinitas dan pH).

Pengumpulan dan Analisis Data

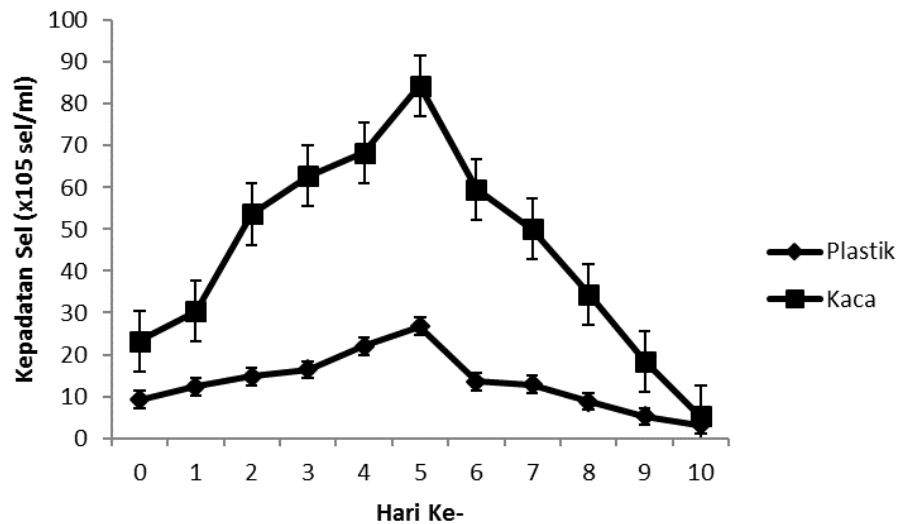
Data penelitian berupa kepadatan *Nitzschia* selama masa kultur (10 Hari) dianalisis secara deskriptif komparatif menggunakan grafik dan dihubungkan dengan parameter kualitas air (suhu, salinitas dan pH).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kepadatan sel *Nitzschia* selama masa kultur ditunjukkan pada gambar 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada wadah kaca terjadi fase adaptasi (h-0 sampai h-1) yang lebih cepat dibandingkan pada wadah plastic (h-0 sampai h-3). Hal ini menunjukkan bahwa sel *Nitzschia* lebih cepat beradaptasi pada kondisi lingkungan dalam wadah kaca. Perbedaan lamanya fase adaptasi diduga disebabkan karena perbedaan suhu dan intensitas cahaya yang masuk ke dalam wadah. Collos (1986) menyatakan bahwa faktor suhu, radiasi cahaya dan kandungan nutrient dalam media berpengaruh pada waktu adaptasi mikroalga.

Perbedaan masa adaptasi juga dipengaruhi oleh perbedaan strain mikroalga yang dikultur dikarenakan perbedaan respon fisiologi dan biokimia dalam sel (Li et al., 2017).

memanfaatkan cahaya untuk melakukan fotosintesis dan menghasilkan ATP (*Adenosine Tri Phosphate*) dan NADPH (*Nicotinamide Adenin Dinucleotide*



Gambar 1. Kepadatan sel mikroalga *Nitzschia* yang dikultur dalam wadah kaca dan plastik

Fase puncak pertumbuhan *Nitzschia* pada wadah kaca dan plastik sama-sama terjadi pada hari ke-5 masa kultur. Peningkatan populasi pada wadah kaca lebih besar (4x lipat) dibandingkan wadah plastik (3x lipat) dari jumlah populasi awal. Hal ini menunjukkan bahwa kecepatan pertumbuhan pada wadah kaca lebih tinggi dibandingkan dalam wadah plastik. Perbedaan kecepatan pertumbuhan ini diduga karena perbedaan jumlah cahaya yang masuk dalam wadah, yang berpengaruh pada kecepatan sel untuk membelah dan memperbanyak diri. Mikroalga

Phosphate-oxidase) yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel (Cheirsilp and Torpee, 2012). Selain itu, selama fase eksponensial mikroalga *Nitzschia* akan memanfaatkan nutrisi yang terkandung dalam pupuk/media untuk mencapai pertumbuhan yang optimal (Pan et al., 1991).

Jumlah sel pada akhir masa kultur menunjukkan nilai yang sama antara wadah kaca dan wadah plastik. Hal ini menunjukkan bahwa siklus hidup mikroalga *Nitzschia* mulai dari masa adaptasi sampai masa deklinasi berjalan normal. Hasil penelitian Gopinathan (1986) menunjukkan

bahwa masa puncak pertumbuhan mikroalga *Nitzschia* terjadi pada hari ke 5-8 dan fase kematian terjadi pada hari ke 9-10 dengan kepadatan yang mendekati populasi awal. Hal ini terjadi karena semakin menurunnya kemampuan sel *Nitzschia* untuk bermetabolisme serta kandungan nutrient dalam media yang menurun (De Jong and Admiraal, 1984).

Hasil pengukuran parameter kualitas air (Tabel 1) menunjukkan nilai yang sesuai dengan kisaran pertumbuhan optimal dari mikroalga *Nitzschia*. Kisaran nilai kualitas air yang dibutuhkan untuk pertumbuhan optimal dari mikroalga *Nitzschia* berada pada kisaran suhu 20-30 °C (Lengyel et al., 2015); salinitas berkisar 22-37 ppt (Bagmet et al., 2017) dan pH berkisar 7-9 (Vitug and Baldia, 2014).

Tabel 1. Kisaran nilai kualitas air selama kultur *Nitzschia*

Parameter	Hasil pengukuran
Suhu (°C)	21-23
Salinitas (ppt)	32-36
pH	8

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kepadatan sel mikroalga *Nitzschia* dalam wadah kaca lebih tinggi dibandingkan wadah

plastik. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui kandungan nutrient pada mikroalga *Nitzschia* setelah dikultur pada wadah kaca

DAFTAR PUSTAKA

- Bagmet, V.B., Abdullin, S.R., Kuluev, B.R., Davidovich, O.I., Davidovich, N.A., 2017. The effect of salinity on the reproduction rate of *Nitzschia palea* (Kützing) W. Smith (Bacillariophyta) clones. Russ. J. Ecol. 48, 287–289.
- Binea, H.K., Kassim, T.I., Binea, A.K., 2009. Antibacterial Activity of Diatom *Nitzschia palea* (Kuetz.)W. Sm. Extract. Iraqi J. Biotech 8, 562–566.
- Cheirsilp, B., Torpee, S., 2012. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. Bioresour. Technol. 110, 510–516.
- Collos, Y., 1986. Time-lag algal growth dynamics: biological constraints on primary production in aquatic environments. Mar. Ecol. Prog. Ser. 33, 193–206.
- De Jong, L., Admiraal, W., 1984. Competition between three estuarine benthic diatom species in mixed cultures. Mar. Ecol. Prog. Ser. 18, 269–275.
- Gopinath, M., Sampathkumar, P., 2014. Antioxidant Activity From Ethanolic Extract of Diatom *Nitzschia longissima*. World J. Pharm. Pharm. Sci. 3, 1139–1149.
- Gopinathan, C.P., 1986. Differential growth rates of micro-algae in various culture media. Indian J. Fish. 33, 450–456.
- Jannah, M., Ulkhaq, M.F., Azhar, M.H., Suciyo, Soemarjati, W., 2019. Growth Performance of Laboratory-Scale *Chaetoceros calcitrans* in Different Containers, in: IOP

- Conference Series: Earth and Environmental Science. pp. 3–8.
- Joseph, M.M., Renjith, K.R., John, G., Nair, S.M., Chandramohanakumar, N., 2017. Biodiesel prospective of five diatom strains using growth parameters and fatty acid profiles. *Biofuels* 8, 81–89.
- Kaparapu, J., 2018. Application of Microalgae in Aquaculture. *Phykos* 48, 21–26.
- Kuppusamy, P., Soundharrajan, I., Srigopalram, S., Yusoff, M.M., Maniam, G.P., Govindan, N., Choi, K.C., 2017. Potential pharmaceutical and biomedical applications of Diatoms microalgae - An overview. *Indian J. Geo-Marine Sci.* 46, 663–667.
- Lengyel, E., Kovács, A.W., Padisák, J., Stenger-Kovács, C., 2015. Photosynthetic characteristics of the benthic diatom species *Nitzschia frustulum* (Kützinger) Grunow isolated from a soda pan along temperature-, sulfate- and chloride gradients. *Aquat. Ecol.* 49, 401–416.
- Lewin, J., Lewin, R.A., 1967. Culture and Nutrition of Some Apochlorotic Diatoms of the Genus *Nitzschia*. *J. Gen. Microbiol.* 46, 361–367.
- Li, Z., Haifeng, L., Zhang, Y., Shanshan, M., Baoming, L., Zhidan, L., Na, D., Minsheng, L., Buchun, S., Jianwen, L., 2017. Microalgae production for bioenergy from post hydrothermal liquefaction wastewater: Effects of strain, nutrients concentration and inoculum size on microalgae culture. *Int. J. Agric. Biol. Eng.* 10, 194–204.
- Pan, Y., Subba Rao, V., Warnock, R.E., 1991. Photosynthesis and growth of *Nitzschia pungens* f. multiseriata Hasle, a neurotoxin producing diatom. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 154, 77–96.
- Ramirez, E.E., Gonzalez, M.A., Cifuentes, A.S., Inostroza, I., Urrutia, R.E., 2015. Culture and growth of two benthic diatoms species isolated from the Salar del Huasco (North of Chile, 20° S) at different conditions of temperature, light and nutrient. *Gayana. Botánica* 72, 165–176.
- Rodríguez-Núñez, K., Toledo-Agüero, P., 2017. Fatty acids profile and nutritional composition of two tropical diatoms from the Costarican pacific coast. *Grasas y Aceites* 68, 1–8.
- Smida, D.B., Lundholm, N., Kooistra, W.H.C.F., Sahraoui, I., Ruggiero, M.V., Kotaki, Y., Ellegaard, M., Lambert, C., Mabrouk, H.H., Hlaili, A.S., 2014. Morphology and molecular phylogeny of *Nitzschia bizertensis* sp. nov.-A new domoic acid-producer. *Harmful Algae* 32, 49–63.
- Suriyanti, S.N., Usup, G., 2017. Morphology and Molecular Phylogeny of a the Marine Diatom *Nitzschia dentatum* sp. Nov. and *N. johorensis* sp. Nov. (Bacillariophyceae) from Malaysia. *Bangladesh J. Plant Taxon* 24, 183–196.
- Vitug, L.V.D., Baldia, S.F., 2014. Enhancement of some culture conditions for optimizing growth and lipid production in the diatom *Nitzschia palea*. *Acta Manila. Ser. A.* 62, 25–34.
- Wahyuni, N., Masithah, E.D., Soemarjati, W., Ulkhaq, M.F., 2018. Pola Pertumbuhan Mikroalga *Spirulina* sp. Skala Laboratorium yang Dikultur Menggunakan Wadah yang Berbeda. *Maj. Ilm. Bahari Jogja* 16, 89–97.
- Yalcin Duygu, D., 2019. Determination of Growth Kinetics and Biochemical Composition of *Nitzschia palea* (Kützinger) W. Smith Isolated from Freshwater Sources in Turkey. *Trak. Univ. J. Nat. Sci.* 20, 63–70.