

Pengaruh Dosis Penambahan Bakteri (*Azospirillum* sp.) Terhadap Kelimpahan Populasi Mikroalga (*Chlorella* sp.) pada Media Kultur Limbah Cair Biogas (Setelah Proses Anaerob)

Fatma Ridha Nurlaili, Yusuf Hendrawan, Wahyunanto Agung Nugroho

Jurusan Keteknikian Pertanian - Fakultas Teknologi Pertanian - Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: fatmaridha92@gmail.com

ABSTRAK

Mikroalga merupakan mikroorganisme yang berpotensi sebagai bahan baku *biofuel* yang merupakan energi alternatif terbarukan sehingga sangat dibutuhkan dalam menangani krisis energi. Salah satu jenis mikroalga yang banyak diteliti adalah jenis *Chlorella* sp. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dosis penambahan bakteri (*azospirillum* sp.) terhadap kelimpahan populasi mikroalga (*chlorella* sp.) pada media kultur limbah cair biogas yang diambil setelah proses anaerob. Terdapat empat perlakuan dengan tiga kali pengulangan dimana masing-masing perlakuan yaitu A0 (tanpa penambahan bakteri), A3 (dengan penambahan bakteri 3×10^8 cfu/ml), A6 (dengan penambahan bakteri 6×10^8 cfu/ml), serta A9 (dengan penambahan bakteri 9×10^8 cfu/ml). Hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis penambahan bakteri maka semakin tinggi pula kelimpahan populasi mikroalga yang didapat. Populasi tertinggi terdapat pada perlakuan A9 dengan penambahan dosis bakteri sebesar 9×10^8 cfu/ml yakni dengan populasi puncak sebesar $9,24 \times 10^8$ sel/ml.

Kata kunci: Bakteri *Azospirillum* sp., Kelimpahan populasi mikroalga, Limbah cair biogas, Mikroalga *Chlorella* sp.

Dose Effect Of Bacteria (Azospirillum Sp.) Addition Toward Population Density of Microalgae (Chlorella sp.) In Biogas Wastewater Culture Media (After Anaerob Process)

ABSTRACT

Microalgae are microorganisms that has potential as biofuel material. Biofuel is alternatif and renewbale energy that is needed to solve energy crisis. One kind of microalgae which is widely used as reserach object is Chorella sp. This research aim to determine dose effect of bacteria (Azospirillum sp.) addition toward population density of microalgae (chorella sp.) Microalage was cultured in wastewater culture media which was taken after anaerob process. This reserach used four treatment with three time repetition. They were A0 (non bacteria addition), A3 (3×10^8 cfu/ml bacteria addition), A6(6×10^8 cfu/ml bacteria addition), and A9 (9×10^8 cfu/ml bacteria addition). Result showed that giving of higher dose of bacteria will give the maximum population density of microalgae also. The highest density obtained for treatment of A9 with 9×10^8 cfu/ml bacteria addition with highest density value $9,24 \times 10^8$ cell/ml.

Key words: Azospirillum sp., Biogas wastewater, Chorella sp., Population density of microalgae.

PENDAHULUAN

Kebutuhan manusia akan energi yang semakin banyak menyebabkan cadangan sumber energi fosil dunia semakin menipis. Hal ini disebabkan karena sumber energi fosil sulit diperbaharui serta pemakaiannya yang terus meningkat. Salah satu energi alternatif yang sangat potensial menggantikan sumber energi fosil adalah berasal dari biomassa yang diproses menjadi *biofuel*. Penggunaan *biofuel* sebagai sumber energi memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan sumber energi fosil diantaranya : 1). Sumber energi bersih, 2). Dapat diperbaharui/berkelanjutan. 3) Memiliki angka oktan/cetan yang tinggi sehingga penggunaannya tidak membutuhkan lagi agen anti-*knocking*. (Hidayat dan Syamsul, 2008) 4) Produksinya tidak mesti dalam skala yang sangat besar sehingga proses produksinya dapat disebar di masing-masing daerah sesuai kebutuhan (Teresa, *et al.*, 2010). Sementara itu, permasalahan lain adalah melambungnya jumlah penduduk berdampak semakin meningkatnya kebutuhan pangan dan lahan pertanian.

Tanaman yang kandungannya berpotensi sebagai salah satu bahan penghasil *biofuel* perlu dikembangkan sebagai salah satu upaya penyelesaian masalah diatas. Salah satu bentuk kemajuan teknologi adalah ditemukannya mikroflora (tumbuhan dengan ukuran mikro) yang salah satunya adalah mikroalga. Mikroalga merupakan salah satu organisme yang dapat dinilai ideal dan potensial untuk dijadikan sebagai bahan baku produksi *biofuel* (Li, *et al.*, 2008 ; Raja, *et al.*, 2008 ; Gouveia and Oliveira, 2009). Media kultur yang dipakai dalam penelitian ini adalah limbah cair biogas, dimana limbah ini masih menjadi masalah bagi lingkungan sekitarnya, karena pada umumnya industri ini mengalirkan limbahnya langsung ke selokan tanpa diolah terlebih dahulu. Limbah cair biogas dapat menyebabkan pencemaran yang cukup berat karena mengandung polutan organik yang cukup tinggi. Maka dari itu perlu dilakukan pengolahan limbah dengan teknologi yang tepat, aman serta relatif murah harus diterapkan dalam upaya penanganannya (Pohan, 2008).

Azospirillum sp. merupakan salah satu mikroorganisme yang dimanfaatkan dalam bidang pertanian dan disebut sebagai *Plant Growth Promoting Bacteria* (PGPB). Menurut penelitian Bashan *et al.* (2001), dan Maharsyah (2013), penambahan bakteri pendukung pertumbuhan mampu meningkatkan pertumbuhan mikroalga sehingga mikroalga dapat dimanfaatkan sebagai pengolahan limbah. Melihat hal tersebut maka penelitian ini menggunakan bakteri *Azospirillum* sp. sebagai bakteri pendukung pertumbuhan tanaman yakni mikroalga yang sangat potensial dalam pemanfaatannya sebagai penghasil *biofuel*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bibit *Chlorella* sp., Bakteri *Azospirillum* sp. sebagai bakteri penunjang pertumbuhan, media kultur limbah cair biogas setelah proses anaerob sebagai sumber nutrisi tumbuh mikroalga, aquadest sebagai cairan pengencer. Adapun alat yang digunakan untuk penelitian ini antara lain toples sebagai tempat kultur, lampu neon sebagai sumber cahaya fotosintetik, aerator sebagai penyupai udara, *Haemocytometer* sebagai alat penghitung kelimpahan populasi alga, mikroskop sebagai alat bantu melihat populasi mikroalga, gelas ukur untuk mengukur volume, *Hand counter* sebagai alat bantu menghitung, termometer untuk mengukur suhu media kultur, pH meter untuk mengukur nilai pH, *lux* meter untuk mengukur intensitas cahaya.

Metode Penelitian

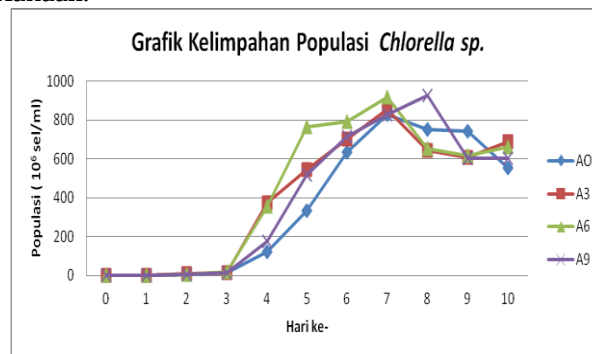
Pengkulturan *Chlorella* sp. awal dilakukan di laboratorium reproduksi ikan Fakultas Perikanan dan ilmu Kelautan hingga didapatkan kepadatan populasinya kurang lebih 10^6 sel/ml. Media kultur yakni limbah cair biogas didapatkan dari industri pengolahan biogas di desa Jabung kabupaten Malang, Jawa Timur. Limbah biogas yang telah melalui proses anaerob

kemudian disaring dan dipisahkan dengan padatnya sehingga hanya limbah cairnya saja yang tersisa. Kemudian limbah cair ini dimasukkan kedalam toples-toples dan diberi akuades sehingga didapatkan media kultur yang sesuai dengan pertumbuhan mikroalga. Pencampuran dilakukan setelah media siap untuk dijadikan tempat tumbuh mikroalga. Kepadatan awal *Chlorella sp.* adalah 10^6 sel/ml sedangkan perlakuan untuk dosis penambahan bakteri adalah A0 (tanpa penambahan bakteri), A3 (dengan penambahan bakteri 3×10^8 cfu/ml), A6 (dengan penambahan bakteri 6×10^8 cfu/ml), serta A9 (dengan penambahan bakteri 9×10^8 cfu/ml). Pengambilan data penelitian meliputi pengambilan data jumlah kepadatan mikroalga yang dilakukan setiap hari, populasi bakteri yang dilakukan setiap dua hari sekali dan pengambilan data suhu, pH dan DO yang dilakukan 2 kali sehari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelimpahan Populasi *Chlorella sp.*

Hasil pengamatan terhadap kelimpahan populasi harian *Chlorella sp.* selama penelitian masing-masing perlakuan secara lengkap disajikan grafik rata-rata kelimpahan harian populasi *Chlorella sp.* antar perlakuan.



Gambar 1. Kelimpahan populasi *Chlorella sp.* (sel/ml) selama penelitian dengan penambahan dosis bakteri *Azospirillum sp.* yang berbeda-beda pada media limbah cair biogas.

Hasil pengamatan pada Gambar 1. menunjukkan bahwa kelimpahan populasi perhari memiliki kepadatan yang baik. Pada awal kultivasi kepadatan *Chlorella sp.* adalah sekitar 1×10^6 sel/ml. Pada pertumbuhan hari ke-0 hingga hari ke-3 pertumbuhan masih relatif kecil. Hal ini disebabkan karena *Chlorella sp.* memerlukan adaptasi dengan lingkungan barunya yakni limbah cair biogas sehingga belum terjadi perkembangbiakan. Perkembangbiakan *Chlorella sp.* meningkat secara signifikan pada hari ke-3 hingga ke 6. Kelimpahan populasi puncak rata-rata terjadi pada hari ke 7, sedangkan untuk penambahan dosis bakteri *Azospirillum sp.* 9×10^8 cfu/ml populasi puncak terjadi pada hari ke-8. Setelah fase puncak, kelimpahan populasi *Chlorella sp.* mengalami penurunan secara signifikan. Hal ini disebabkan karena tidak tersedianya nutrisi pada media kultur yang menunjang perkembangbiakan *Chlorella sp.* Pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* sesuai dengan Becker (2004) yang menyatakan bahwa terdapat lima fase pertumbuhan mikroalga yakni fase *Lag* dimana pada fase ini mikroalga masih mengalami proses adaptasi; Fase eksponensial (logaritmik) yang dimulai dengan pembelahan sel dengan laju pertumbuhan yang signifikan; fase deklansi ditandai oleh pembelahan sel tetap terjadi, namun tidak seintensif pada fase sebelumnya; fase stasioner dimana laju reproduksi dan laju kematian yang relatif seimbang serta fase kematian yang ditandai dengan angka kematian yang lebih besar dibanding angka pertumbuhannya sehingga terjadilah penurunan jumlah kelimpahan sel dalam wadah kultivasi.

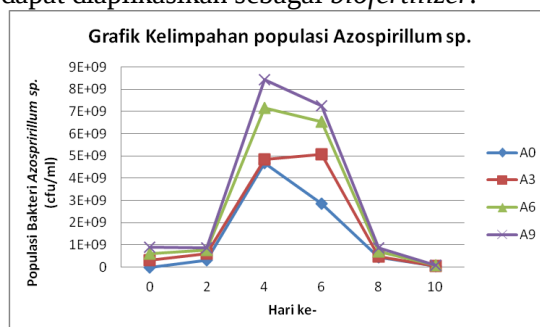
Kelimpahan populasi mikroalga *Chlorella sp.* tertinggi terdapat pada hari ke-8 perlakuan A9 pada penambahan dosis bakteri sebesar 9×10^8 cfu/ml yakni $9,24 \times 10^8$ sel/ml dimana pada perlakuan A9 ini memiliki suhu kisaran 26,7-27 °C dan pH 7,67 – 7,88. Kondisi

media kultur semacam ini menunjang pertumbuhan *Chlorella sp.* secara optimal. Nilai pH optimal untuk pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* menurut Basmi *et al.* (1993) antara 7,5-8,5. Kenaikan pH diduga terjadi seiring kenaikan salinitas kultur. Kelimpahan populasi tertinggi ini sesuai dengan (Bashan *et al.*, 2001) bakteri *Azospirillum* menjadi agen pendukung pertumbuhan (agen biokontrol) dan dapat berinteraksi dengan mikroalga untuk meningkatkan populasi mikroalga. Ketika agen pendukung pertumbuhan diaplikasikan ke media, sel-sel agen pendukung pertumbuhan mampu melakukan proses dekomposisi senyawa-senyawa yang diekskresikan ikan atau udang, sisa pakan, sisa-sisa bahan organik lain dan mengkonversikan menjadi CO₂, nitrat, serta fosfat yang dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan mikroalga. Oksigen yang terlarut dibebaskan ke media dari proses fotosintesis mikroalga yang akan dipakai untuk proses respirasi dari sel-sel agen biokontrol. Serta pada bakteri *Azospirillum* dapat mengeluarkan hormon pertumbuhan yaitu IAA (*Indole Acetic Acid*).

Perlakuan A0 dan A3 diketahui kepadatan puncak diperoleh pada hari ke-7, namun meskipun sama-sama memiliki kepadatan puncak pada hari ke-7 kepadatan populasi dari perlakuan tanpa penambahan bakteri *Azospirillum* relatif lebih kecil daripada penambahan bakteri dengan dosis 3x10⁸ cfu/ml. Dimana kepadatan puncak yang didapat dari perlakuan A0 yakni 8,28x10⁸ sel/ml sedangkan untuk perlakuan A3 bernilai 8,53x10⁸ sel/ml. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Bashan *et al.* (2001) yang menyatakan bahwa bakteri *Azospirillum* menjadi agen pendukung pertumbuhan (agen biokontrol) dan dapat berinteraksi dengan mikroalga untuk meningkatkan populasi mikroalga. Pada hasil penelitian, diketahui bahwa pada perlakuan A0 meskipun media limbah cair biogas tidak ditambahkan bakteri *Azospirillum*, namun pada pengujian diketahui terdapat sejumlah populasi bakteri *Azospirillum* yang berkembang biak. Hal ini menunjukkan selain ada bakteri *metanogenik* dan *non metanogenik*, pada limbah cair biogas ternyata terdapat pula bakteri *Azospirillum* sesuai dengan (Widawati, 2012) dalam Maharsyah (2013) beberapa mikroba yang bersifat nonpatogenik dan nonsimbiotik yang efektif menambat nitrogen di udara serta mampu melarutkan P terikat pada Ca, Al, dan Fe dalam tanah, dapat hidup dalam berbagai ekosistem di alam.

Kelimpahan Populasi *Azospirillum sp.*

Penelitian menunjukkan bahwa populasi bakteri *Azospirillum sp.* yang dihitung setiap dua hari sekali memiliki populasi yang berbeda-beda. Populasi tertinggi terdapat pada perlakuan A9 pada hari ke-empat, dimana perlakuan A9 adalah dengan penambahan bakteri awal sejumlah 9x10⁸ cfu/ml. Kelimpahan populasi puncak tertinggi secara berurutan terdapat pada perlakuan A9, A6, A3 kemudian A0. Pada perlakuan A0 (tanpa penambahan bakteri *Azospirillum sp.* diawal) diketahui bahwa terdapat sejumlah populasi bakteri yang tumbuh dan berkembang. Hal ini membuktikan bahwa dalam limbah cair biogas terdapat sejumlah bakteri *Azospirillum sp.* yang hidup dan berkembangbiak. Sesuai dengan pernyataan Eckert *et al.* (2001) bahwa bakteri *Azospirillum* hidup bebas dalam tanah baik disekitar maupun dekat dengan perakaran. Potensinya telah diketahui oleh peneliti memiliki banyak manfaat baik dalam tanah maupun pada tanaman, sehingga dapat diaplikasikan sebagai *biofertilizer*.



Gambar 2. Kelimpahan populasi bakteri *Azospirillum sp.* dalam kultur selama penelitian dengan dosis penambahannya yang berbeda-beda

Gambar 2. Menunjukkan dalam pertumbuhannya, bakteri *Azospirillum* sp. mengalami kenaikan hingga titik puncak tertentu kemudian mengalami penurunan. Penurunan jumlah populasi bakteri terjadi pada hari ke 5, hal ini diduga karena kondisi media kultur yang tidak memungkinkan untuk bertahan. Dalam penelitian diketahui pH media kultur berkisar antara 7,5-9 sedangkan suhunya berkisar antara 24,4 – 27,1 °C. Alin (2008) menyatakan bahwa pertumbuhan *Azospirillum* optimum pada suhu 32°C-36°C dengan pH diantara 6.8-7.9. Keuntungan lain dari bakteri ini, yaitu apabila ada di daerah rizhosfer maka bakteri ini tidak dapat menambat nitrogen, maka pengaruhnya adalah meningkatkan penyerapan nitrogen yang ada didalam tanah.

Suhu Media Kultur

Suhu merupakan salah satu faktor yang terpenting dalam kultur tipe *Batch*. Secara umum suhu optimal dalam kultur mikroalga berkisar antara 25-35 °C. suhu dalam kultur diatur sedemikian rupa bergantung pada media yang digunakan. Suhu dibawah 16°C dapat menyebabkan penurunan laju pertumbuhan sedangkan suhu diatas 36°C dapat menyebabkan kematian (Taw, 1990). Pada penelitian diketahui bahwa suhu media kultur berkisar antara 2,4 – 27,1 °C. Peningkatan suhu juga terjadi seiring dengan peningkatan jumlah populasi mikroalga. Hal ini disebabkan oleh hasil metabolisme dari mikroalga yang semakin meningkat. Tangguh (2011) menyatakan semakin tinggi suhu maka laju reaksi akan semakin besar, sehingga sel akan tumbuh lebih cepat.

pH Media Kultur

Hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan bahwa pH media kultur selama penelitian berkisar antara 7,67 – 8,57. PH mengalami kenaikan yang selanjutnya diikuti penurunan dan kenaikan lagi diakhir penelitian. Perubahan pH terjadi seiring dengan perubahan populasi mikroalga dan bakteri. Selain itu, kenaikan pH diduga karena seiring adanya pemanfaatan nitrogen dari unsur-unsur pupuk yang terdapat pada limbah cair biogas. Sesuai dengan pernyataan Morel (1983) dalam Maharsyah (2013), pada kisaran pH 7-9 terdapat dua kemungkinan pemanfaatan nitrogen dari nutrient dalam medium oleh sel mikroalga, yaitu pemanfaatan nitrogen dalam bentuk nitrat dan ammonium. pH media kultur selama penelitian masih dianggap baik dan dalam ambang batas normal. Sesuai dengan pernyataan Prihatini *et al* (2005) dalam Maharsyah (2013) menyatakan bahwa rentang pH kultur yang terukur tersebut pada rentang pertumbuhan yang baik yaitu 4,5-9,3.

Desolved Oxygen (DO)

Nilai DO pada penelitian diketahui naik pada hari pertama namun pada hari berikutnya cenderung turun. Nilai DO berkisar antara 3,70 hingga 5,88 mg/l. Kenaikan dan penurunan DO diduga dipengaruhi oleh peningkatan jumlah populasi, dimana semakin banyak jumlah populasi mikroalga dalam kultur maka semakin banyak pula menghasilkan O₂ dari hasil fotosintesis. Namun pada penelitian, kandungan O₂ diketahui semakin menurun pada hari kedua hingga akhir kultur. Diduga penurunan ini terjadi akibat adanya respirasi dari bakteri yang membutuhkan O₂. Pada akhir penelitian, nilai DO semakin kecil akibat adanya populasi mikroalga dan bakteri yang mengalami kematian dan mengendap didasar media. Bakteri dan alga yang mati ini akan didekomposisi oleh mikroba aerob yang membutuhkan banyak O₂. Dekomposisi mikroalga dan bakteri ini menguraikan sejumlah sel-sel yang telah mati menjadi nutrient yang dapat digunakan kembali sebagai nutrisi bagi media kultur. Dalam prosesnya membutuhkan sejumlah O₂ sehingga dari proses inilah menyebabkan defisiensi O₂ dalam kultur.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang “pengaruh dosis penambahan bakteri (*Azospirillum* sp.) terhadap kelimpahan populasi mikroalga (*Chlorella* sp.) pada media kultur limbah cair biogas (setelah proses anaerob)” disimpulkan bahwasemakin tinggi dosis penambahan bakteri maka semakin besar pula kepadatan populasi mikroalga dalam media kultur. Kepadatan tertinggi mikroalga diperoleh pada perlakuan A9 dengan dosis penambahan bakteri sebesar 9×10^8 cfu/ml dengan nilai kepadatan puncak sebesar $9,24 \times 10^8$ sel/ml. Sedangkan populasi terendah didapat pada perlakuan A0 tanpa penambahan bakteri dengan nilai kepadatan populasi $8,28 \times 10^8$ sel/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Alin. 2008. *Uji Efektifitas Pupuk Organik Hayati (Bio-Organic Fertilizer) dalam Mensubstitusi Kebutuhan Pupuk pada Tanaman Caisin (Brassica Chinensis)*. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Bashan, L.E., Hernandez, J.P., Morey, T., & Bashan, Y. 2001. *Removal of Ammonium and Phosphorus Ions from Synthetic Wastewater by The Microalgae Chlorella vulgaris Coimmobilized in Alginate Beads with The Microalgae Growth-Promoting Bacterium Azospirillum brasiliense*. Water Res. 36: 2941-2948
- Basmi J., 1993. *Planktonologi : Perkembangan Fitoplankton Sebagai Indikator Perubahan Tingkat Kesuburan Perairan*. Jurusan Ilmu Perairan Pasca Sarjana. IPB Bogor
- Becker, W. 2004. *Microalgae in Human and Animal Nutrition*, p.312-35. In Richmond, A. (ed.), *Handbook of Microalgae Culture*. Blackwell, Oxford
- Eckert, B., Weber, O.B., Kirchhof, G., Halbritter, A., Stoffells, M., and Hartmann, A. (2001), *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C₄-grass *Mischanthus*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51, 17-26
- Hidayat N, dan Syamsul, H., 2008, *Generasi Ketiga BBM dari Kolam Hijau*, Gatra, Jakarta.
- Li Y, Horsman M, Wu N, Lan C.Q, and Dubois-Calero N., 2008, *Biofuels From Microalgae. Biotechnology Progress* ; 24 (4) : 815–820
- Maharsyah, Taif. 2013. *Efektifitas Penambahan Plant Growth Promoting Bacteria (Azospirillum sp.) dalam Meningkatkan Pertumbuhan Mikroalga (Chlorella sp.) pada Media Limbah Cair Tahu Setelah Proses Anaerob*. SKRIPSI. Universitas Brawijaya, Malang
- Pohan, Nurhasmawati. 2008. *Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu dengan Proses Biofilter Aerobik*. USU e-Repository
- Tangguh, Wijoseno. 2011. *Skripsi : Uji Pengaruh Variasi Media Kultur Terhadap Tingkat Pertumbuhan dan Kandungan Protein, Lipid, Klorofil, dan Karotenoid pada Mikroalga Chlorella vulgaris Buitenzorg*. Fakultas Teknik. Universitas Indonesia Depok
- Taw, N. 1990. *Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murni dan Massal Mikroalga. Proyek Pengembangan Udang*. United Nations Development Programme. Food and Agriculture Organizations of the United Nations
- Teresa M. M., Antonio A. M. dan Caetano, N.S. 2010, *Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review, Renewable and Sustainable Energy*, 14 217-232.