

Densitas dan Kadar Total Lipid Mikroalga *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Fotoperioda yang Berbeda

Hadi Endrawati, Christin Manulang dan Widianingsih

Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro email:
hadiendrawati@yahoo.co.id

Abstrak

Spirulina platensis tergolong kedalam Divisi Cyanophyta dengan kemampuan adaptasi yang baik terhadap pengaruh faktor lingkungan yang cukup bervariasi seperti suhu, salinitas, intensitas cahaya, nutrisi dan fotoperioda. Faktor lingkungan dapat mempengaruhi komposisi dan kadar lipid, protein, dan karbohidrat. Lipid berfungsi sebagai penyedia asam lemak dan sumber energi cadangan. Penelitian ini bertujuan untuk optimasi kadar total lipid dan densitas dari mikroalga *Spirulina platensis* yang dikultur pada fotoperioda berbeda. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan fotoperioda 4 jam terang 20 jam gelap, 8 jam terang 16 jam gelap, 12 jam terang 12 jam gelap, dan 24 jam terang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kepadatan *S. platensis* tertinggi pada perlakuan 24 jam terang, yaitu $(1591 \pm 16) \times 10^3$ sinusoidal/l pada fase stasioner dan kepadatan terendah pada perlakuan 4 jam terang 20 jam gelap yaitu $(1087 \pm 62) \times 10^3$ sinusoidal/l. Selanjutnya total lipid tertinggi pada fotoperioda 4 jam terang 20 jam gelap ($46,1 \pm 27,93$ %-dw) dan total lipid terendah pada perlakuan 24 jam terang sebesar ($24,8 \pm 5,23$ %-dw).

Kata kunci: *Spirulina platensis*, densitas, fotoperioda, total lipid

Abstract

Spirulina platensis is classified into division of Cyanophyta which has ability to do well adaptation toward environments factor such as temperature, salinity, light intensity, nutrient and photoperiod. The environment factors can give influence of the nutrition composition such as lipid, protein and carbohydrate. Lipid can be function as supplier of fatty acid and energy resource. This research aims to get optimum of total lipids content and density microalga *Spirulina platensis* which has been cultured in different photoperiod. This research had four treatments of photoperiod such as; 4 hours light - 20 hours dark, 8 hours light - 16 hours dark, 12 hours light - 12 hours dark and 24 hours light. The results shows that the highest density of *S. platensis* on experiment 24 hours light was $1591 \pm 16 \times 10^3$ sinusoidal/mL and lowest density on photoperiod 4 hours light - 20 hours dark $1087 \pm 62 \times 10^3$ sinusoidal/mL. The highest total lipid content was found on photoperiod 4 hours light - 20 hours dark was $46,1 \pm 27,93$ %-dw and the lowest of total lipid was found in 24 hours light treatment was $24,8 \pm 5,23$ %-dw.

Key word: *Spirulina platensis*, density, photoperiod, total lipid

Pendahuluan

Spirulina platensis adalah salah satu jenis mikroalga filamen yang berukuran mikroskopis, bersel tunggal dan dapat hidup di seluruh wilayah perairan. *S. platensis* berfotosintesis dengan memanfaatkan energi cahaya matahari untuk mengubah senyawa anorganik menjadi organik (Soewardi *et al.*, 2005). Selanjutnya sintesa biologis gula dan lemak diawali dari Siklus Calvin. Enzim

Carboxylic Acetylcoenzyme A (ACCCase) merupakan memainkan peranan penting khususnya pada diatom dalam sintesis triglyserid atau triacylglycerol (TAGSs) yang merupakan molekul yang ditemukan untuk produksi lipid pada sel mikroalga (Sheenan *et al.*, 1998 dan Fabiano *et al.*, 2006).

Lipid adalah senyawa makro molekul penyusun sel yang tersusun dari atom-atom hidrogen, karbon dan oksigen.

Di dalam sel mikroalga, komposisi atom hidrogen lebih banyak dibandingkan atom karbon dan oksigen. - Atom hidrogen pada mikroalga pada umumnya memiliki ikatan rangkap 18 sampai 32. Lipid pada mikroalga pada umumnya menghasilkan asam lemak. Asam lemak yang biasa dijumpai adalah asam palmitat, dimana asam palmitat merupakan senyawa yang berpotensi sebagai biodiesel (Becker, 1994).

Faktor lingkungan memiliki pengaruh yang besar terhadap pertumbuhan, perkembangan dan produksi lipid (Fabregas *et al.*, 1985). Produksi lipid pada mikroalgae sangatlah beragam tidak hanya berdasarkan strain namun juga karena kondisi lingkungan (Derenne *et al.*, 1992).

Spirulina platensis adalah salah satu mikroalga dari Kelas Cyanophyceae yang mampu melakukan proses fotosintesis dengan memanfaatkan energi cahaya menjadi energi ATP untuk pertumbuhan dan membentuk senyawa karbon (fiksasi CO₂). Oleh sebab itu faktor cahaya menjadi sangat penting bagi pertumbuhan dan produksi biomassa dan total lipid pada *S. platensis*. Namun energi yang diberikan oleh cahaya bergantung pada kualitas cahaya, intensitas cahaya, dan lama waktu pencahayaan (Kennish, 1990).

Kondisi lingkungan pada kultur mikroalgae memiliki hubungan langsung dengan proses fotosintesis, metabolisme, maupun reproduksi. Fotoperiod merupakan bagian dari “*stressing*” lingkungan dengan perlakuan lamanya pencahayaan yang dapat mempengaruhi densitas dan total lipid pada mikroalga *S. platensis* (Bertoni *et al.*, 1992).

Kandungan total lipid pada *S. platensis* sangat dipengaruhi oleh perbedaan suhu, salinitas, dan intensitas cahaya. *S. platensis* dapat tumbuh baik pada salinitas 20-25 ppt, sedangkan untuk kandungan total lipid maksimum dibutuhkan salinitas 10-15 ppt. Suhu optimal juga dibutuhkan untuk mendorong penumpukan lemak pada *S. platensis*. Adapun suhu yang baik untuk menghasilkan lipid maksimum berkisar, - 15^oC (Christi, 2007).

Penelitian tentang pengaruh fotoperiod terhadap densitas dan total lipid pada mikroalga *S. platensis* perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk optimalisasi kandungan total lipid pada *S. platensis* melalui perlakuan perbedaan fotoperiod pada kultur mikroalga tersebut. Dimana perbedaan fotoperiod merupakan perbedaan lamanya penyinaran terhadap kultur *S. Platensis*

Bahan dan Metode

Pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Basah, Marine Station Teluk Awur Jepara Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro pada - 20 Agustus – 20 September 2010. Kultur murni *Spirulina platensis* diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (BBPBL) Jepara.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan fotoperiod yaitu 4 jam terang dan 20 jam gelap, 8 jam terang dan 16 jam gelap, 12 jam terang dan 12 jam gelap, 24 jam terang (sebagai kontrol). Penelitian terdahulu seperti Bertoni *et al.*, (1992) menggunakan metode fotoperiod 4 jam terang 20 jam gelap disesuaikan dengan daerah kutub yang hanya menerima cahaya matahari 4 jam, 8 jam terang dan 16 jam gelap disesuaikan cuaca saat musin dingin dimana periode siang (terang) 8 jam. Perlakuan 12 jam terang 12 jam gelap disesuaikan dengan iklim tropis, sedangkan 24 jam terang merupakan kondisi di laboratorium. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Pupuk Walne digunakan dalam penelitian ini. Adapun komposisi pupuk Walne dapat dilihat pada Tabel 1, serta komposisi *trace metal* dan vitamin pada Tabel 2.

Tabel 1. Komposisi Pupuk Walne

Komponen	Komposisi
FeCl ₂ .6H ₂ O	1,3 g
MnCl ₄ .4H ₂ O	0,36 g
H ₃ BO ₃	33,60 g
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	20 g
NaNO ₃	100 g
Larutan Trace Metal Solution	1ml
Na ₂ . EDTA	45 g

Sumber: Anderson (2000)

Larutan trace metal dibuat dengan menambahkan komponen seperti yang tertera pada Tabel 2, pada 100 mL air destilasi dan larutan stok vitamin dibuat dengan menambahkan vitamin dengan komposisinya pada 100 mL air destilasi.

Tabel 2 . Komposisi *Trace Metal* dan Vitamin

Komponen	Komposisi
Trace Metal :	
ZnCl ₂	2.1 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	2 g
CoCl ₂ .6H ₂ O	2 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.9 g
Vitamin:	
B1 (Thiamin) HCL	200 mg
B12 (Cyanocobalamin)	10 mg
Vitamin H (Biotin)	10 mg

Sumber: Anderson (2000)

Pemanenan *S. platensis* dilakukan pada waktu memasuki fase stasioner. Pada fase stasioner, kadar lipid dalam alga meningkat berdasarkan uji coba pada *Botryococcus brauni* (Qin, 1995). Oleh karena itu biomassa alga pada fase stasioner merupakan acuan dalam produksi lipid.

Aerasi juga dilakukan kontinyu selama 24 jam. Perhitungan kepadatan dilakukan dengan bantuan mikroskop binokuler dan alat Haemocytometer dengan perbesaran 400 x dengan rumusan Seafdec (1985) dalam Taw (1990) yaitu:

$$\text{Jumlah sinusidal/l} = \frac{\text{Jumlah sel dalam 4 kotak}}{\text{Jumlah kotak (4)}} \times 10^4$$

Analisa kadar total lipid dilakukan sesuai dengan metode Bethien – Diemar (1963) dalam Hermawan 2004. dengan menggunakan pelarut non-polar petroleum ether. Perhitungan prosentase berat kering total lipid sebagai berikut:

$$\% \text{ Total lipid} = \frac{(A - B)}{C} \times 100$$

Keterangan :

A = Berat labu + berat lipid setelah dilakukan ekstrasi (mg)

B = Berat labu sebelum dilakukan ekstrasi (mg)

C = Berat kering sampel.

Hasil dan Pembahasan

Spirulina platensis yang tergolong - Divisi Cyanophyta dan Kelas Cyanophyceae merupakan mikroalga prokariotik yang tidak memiliki inti sel sejati, namun memiliki sifat fisiologi yang - berbeda dengan jenis mikroalga lainnya. Berdasarkan pengamatan fotoperiod, nilai kepadatan - tertinggi terdapat pada fotoperiod 24 jam terang (1591±16 x 10³ sinusoidal/l) yang - diikuti oleh fotoperiod 12 jam terang dan 12 jam gelap dan terendah terdapat pada fotoperiod 4 jam terang dan 20 jam gelap dengan nilai (1087 ± 62) x 10³ sinusoidal/l. (Gambar 1).

Berdasarkan pengamatan perlakuan fotoperiod, nampak bahwa kandungan total lipid *S platensis* pada fase stasioner lebih besar dibandingkan dengan fase eksponensial (Gambar 2). Selanjutnya, total lipid terbesar diperoleh pada perlakuan fotoperiod 4 jam terang-20 jam gelap dengan nilai 46,1 %-dw dan perbedaan antara fase stasioner tidaklah terlalu signifikan dengan fase eksponensial (Gambar 2.).

Berdasarkan penelitian total lipid terbesar diperoleh pada perlakuan fotoperiod 4 jam terang-20 jam gelap dengan nilai 46,1 %-dw dan kemudian diikuti oleh perlakuan fotoperiod 12 jam-terang-12 jam gelap. Hal ini sesuai dengan pendapat Al-Hasan *et al.*, (1989) yang menyatakan bahwa pada saat kondisi kultur gelap (tanpa cahaya) maka kandungan total lipid dari *Spirulina* sp lebih tinggi dibandingkan dengan kondisi terang. Dengan demikian, maka media kultur *S platensis* dengan fotoperiod 4 jam terang-20 jam gelap merupakan penghasil total lipid yang terbesar dibandingkan perlakuan lainnya.

Jika ditinjau dari sisi produksi massal untuk kebutuhan pakan alami, maka fotoperiod yang sesuai adalah 24 jam terang, namun jika ditinjau yang lebih ekonomis fotoperiod bagi kultur *S platensis* adalah 12 jam terang-12 jam gelap. Laju fotosintesis optimal pada lamanya pencahayaan 24 jam terang dibandingkan dengan perlakuan 4 jam terang - 20 jam gelap, 8 jam terang - 16 jam gelap, 12 jam terang - 12 jam gelap, maka kandungan oksigen dalam

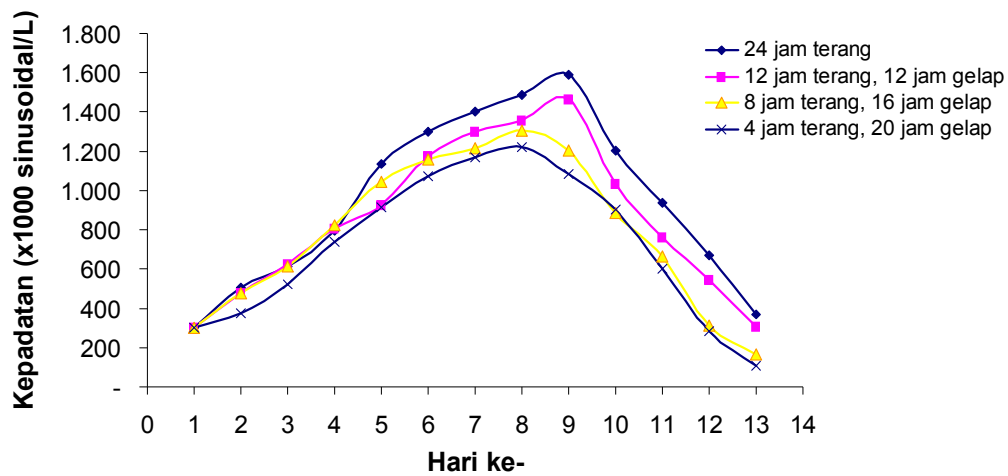
kolom air akan meningkat. Hal ini akan mengakibatkan tercapainya keseimbangan antara laju konsumsi oksigen dan laju oksigen yang dihasilkan dari proses fotosintesis (Kennish 1990; Barner 1988). Hal inilah yang menyebabkan densitas pada perlakuan 24 jam terang lebih tinggi.

Kepadatan puncak tercapai pada fase stasioner. Pada perlakuan fotoperiod kepadatan tertinggi tercapai pada hari ke-8, sementara untuk perlakuan fotoperiod pada 4 jam terang 20 jam gelap kepadatan puncak tercapai pada hari ke-7 yaitu $(1223 \pm 22) \times 10^3$ sinusoidal/l.

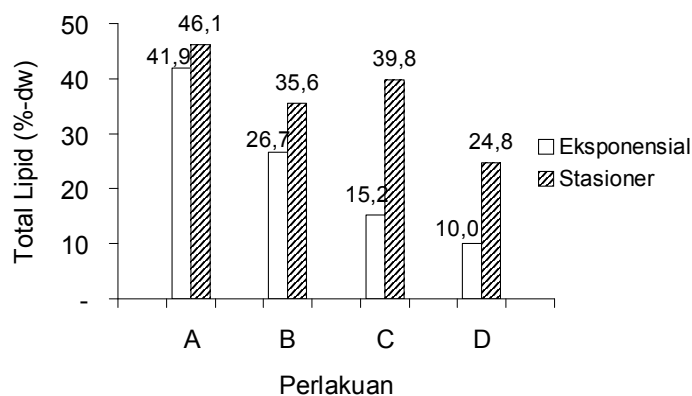
Hasil pengamatan terhadap kadar total lipid *S. platensis* dengan perlakuan perbedaan waktu pencahayaan menunjukkan persentase kadar total lipid pada fase eksponensial dan fase stasioner terbesar didapatkan pada perlakuan 4 jam terang 20 jam gelap dengan persentase rata-rata sebesar 46,1%. Kadar

total lipid terendah didapatkan pada perlakuan 24 jam terang dengan persentase rata-rata sebesar 24,8%.

Perlakuan 4 jam terang 20 jam gelap kepadatan *S. platensis* tidak optimal. Hal ini timbul akibat *S. platensis* untuk mempertahankan kelangsungan hidup (Schenk *et al.*, 2008) dibanding memperbanyak sel. Energi yang dihasilkan dari proses fotosintesis lebih banyak disimpan sebagai cadangan makanan. Keadaan tersebut sebagai bentuk proses adaptasi *Spirulina platensis* untuk mempertahankan hidup pada lingkungan yang ekstrim atau pada keadaan di luar kondisi optimal untuk tumbuh. Chu *et al.* (1982) menyatakan karbohidrat meningkat seiring dengan umur mikroalga yang disertai dengan menurunnya nutrisi dalam media kultur. Jumlah karbohidrat yang berlebih akan disimpan dalam bentuk lipid (Anna dan Titin, 1994).



Gambar 1. Pertumbuhan *Spirulina platensis* pada media pemeliharaan dengan perbedaan fotoperiod.



Gambar 2. Kandungan Total lipid (%-dw) *Spirulina platensis* pada media dengan Fotoperiod yang berbeda. A (fotoperiod 4 jam terang-20 jam gelap); B (fotoperiod 8 jam terang-16 jam gelap); C (fotoperiod 12 jam terang-12 jam gelap) dan D (24 jam terang).

Perbandingan kadar total lipid berbeda secara signifikan antara perlakuan 4 jam terang 20 jam gelap apabila dibandingkan dengan perlakuan 20 jam terang. Ada kecenderungan kadar total lipid berbeda secara signifikan antara fotoperiod yang relatif singkat dan fotoperiod yang memiliki rentang waktu yang panjang/lama. Dapat disimpulkan bahwa perlakuan fotoperiod berpengaruh pada kadar total lipid yang dihasilkan oleh *S. platensis*.

Kesimpulan

Fotoperiod memberi pengaruh terhadap densitas dan total lipid pada mikroalga *S. platensis* yang dikultur pada media selama 13 hari. Fotoperiod dengan periode waktu yang panjang menyebabkan peningkatan densitas. Densitas tertinggi terdapat pada perlakuan 24 jam terang yaitu sekitar $(1591 \pm 16) \times 10^3$ sinusoidal/l, dan kadar total lipid pada perlakuan 24 jam terang yaitu 24,8%-dw. Densitas terendah terdapat pada perlakuan 4 jam terang dan 20 jam gelap yaitu sekitar $(1087 \pm 62) \times 10^3$ sinusoidal/l, sedangkan pada perlakuan 4 jam terang - 20 jam gelap memiliki total lipid tertinggi yaitu 46,1%-dw. Perlakuan fotoperiod pada mikroalga *S. platensis* menunjukkan bahwa kepadatan tertinggi tidak berarti kandungan lipid tertinggi.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terimakasih kepada Ditjen Dikti melalui LPPM Undip atas diberikannya kesempatan dengan mendanai proyek penelitian ini melalui proyek Hibah Kompetensi Batch 2 dengan no. Kontrak 234/SP2H/PP/DP2M/III/ 2010, tanggal 01 Maret 2010; Tak lupa disampaikan pula terima kasih kepada Pengelola Field Station Marine sciences, Jurusan Ilmu Kelautan UNDIP, Ir. Retno Hartati, MSc dan Ir. Ervia Yudiati, MSc. dan semua pihak yang telah berperan dalam penelitian ini

Daftar Pustaka

- Andersen, R.A. 2005. Algal Culturing Technique. Elsevier Academic Press. Uk.
- Al-Hasan, R.H., Ali, A.M., Radwan, S.S. 1989. Effect of Light and Dark Incubation on the Lipid and Fatty Acid Composition of Marine Cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* Vol. 135; pp 865-872
- Anna, P. dan Titin, S.F.M. 1994. Dasar-dasar Biokimia: Edisi Revisi. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press) Jakarta.
- Becker, E. W. 1994. Microalgae Biotechnology and Microbiology, Cambridge: Cambridge University Press
- Belcher, H dan E. Swale. 1982. Culturing Algae. A Guide for School and Colleges. Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP). Institute of Terrestrial Ecology. Cambridge University press. UK. 25 p.
- Bertoni, E.P., Sprenkle, M., Hanifin, J.P., Stetson, M.H., dan Brainard, G.C. 1992. Effect of short photoperiod on ATPase in the testis of the immature siberian hamster. *Biol. Report* 1992:509-513
- Chisti, Y. 2007, "Biodiesel From Microalgae", *Biotechnology Advances*, Vol.25, hal. 294-306.
- Chu, F.E., Dupuy, J.L. dan Webb, K.L. 1982. Polysaccharide Composition of Five Algae Species Used as Food Larvae of the American Oyster, *Crassostrea virginia*. *Aquaculture*. 29: 241-252
- Derenne, S., P. Metzger, C. Largeau, P.F. Van Berge, J.P. Gatellier, J.S.S Damste, J.W. De Leeuw and C. Berkaloff. 1992. Similar morphological and chemical variations of in Ordovician sediments and cultured *Botryococcus braunii* as a response to changes in salinity. *Organic geochemistry*. 19, 299-313.

- Fabiano Cleber Bertoldi, F.C, E. Sant'Anna, M. V. da Costa Braga and J. L.B. Oliveira. 2006. Lipids, fatty acids composition and carotenoids of *Chlorella vulgaris* cultivated in hydroponic wastewater. GRASAS Y ACEITES, 57 (3), JULIO-SEPTIEMBRE, 270-274
- Fabregas, J., C. Herrero, J. Abalde dan B. Cabezas. 1985. Growth Chlorophyll and Protein of the Marine Microalga *Isochrysis galbana* in Bath Culture with Different Salinities and High Nutrient Concentrations. *Aquaculture* 50: 43 – 56
- Fogg, G.E. 1975. Algal Cultured and Phytoplankton Ecology. 2nd Ed. The University of Wisconsin Press, USA.
- Kennish, M.J. 1990. Ecology of Estuaries; Volume II Biological Aspect. CRC Press. Boca Raton, Ann Arbor, Boston, 155-269 pp.
- Qin, J.G. 2005. Bio_Hydrocarbon from algae: Impacts of temperature. Light and salinity on algae growth. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. Australia. RIRDC Publication No, 05/025.
- Rubio,C.F., F.García Camacho, J.M. Fernández Sevilla, Y.Chisti, Molina Grima E. 2003. Mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnol Bioeng.* 81:459–73.
- Sambas, A.M. 2007. Analisis Korelasi, Regresi, dan Jalur dalam Penelitian. Pustaka Setia.Bandung..
- Schenk, PM., S.R. Thomas-Hall, E. Stephen, U.C. Marx, J.H. Mussgnug, C. Posten, O. Kruse and B. Hankamer. 2008. Second Generation Biofuel: High-Efficiency Microalgae for Biofuel Production. *Bioenerg. Res.* Vol. 1: pp. 20-43.
- Sriharan, S., D. Bagga & T.P. Sriharan. 1990. Effects of Nurients andTemperature on Lipid and Fatty Acid Production in the Diatom *Hantzschia* DI-60. *Applied Biochemistry and Biotechnology* Vol. (24/25): 309-316.