

MAKALAH PENDAMPING : PARALEL E



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA IV
"Peran Riset dan Pembelajaran Kimia dalam Peningkatan Kompetensi
Profesional"
Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS
Surakarta, 31 Maret 2012



KULTIVASI MIKROALGA *Chlamydomonas reinhardtii* SEBAGAI PRODUSEN PROTEIN SEL TUNGGAL DALAM BIOREAKTOR KOLAM LINTASAN TERBUKA (RACEWAY OPEN POND BIOREACTOR

Sumardiyono^{1*}

¹Program Studi S1 Teknik Kimia, Fakultas Teknik,
Universitas Setia Budi, Surakarta, Indonesia

*Korespondensi, telp. 081393525879, e-mail : dionusb@hotmail.com

ABSTRAK

Kebutuhan akan protein yang meningkat secara global dalam berbagai sektor telah mendorong perlunya mencari alternatif sumber protein baru. Protein sel tunggal merupakan protein yang disintesis oleh mikroorganisme, sehingga dikenal sebagai Protein Sel Tunggal (PST). Kemampuan mikroalga *Chlamydomonas reinhardtii* dalam memproduksi Protein Sel Tunggal menjadi dasar pertimbangan untuk memproduksi protein tersebut melalui pengembangannya dalam kultivasi secara massal. Kultivasi mikroalga dapat dilakukan dalam kolam *in vitro* untuk memperoleh kepadatan sel yang cukup pada produksi biomassa protein sel tunggal. Kultivasi mikroalga dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan antara lain : intensitas cahaya, kedalaman media, sirkulasi udara, dan kandungan nutrisi media kultivasi. Percobaan kultivasi *C. reinhardtii* dilakukan dalam bioreaktor kolam terbuka (*openpond bioreactor*) dengan media air laut. Kedalaman media divariasikan dari 10 cm hingga 14 cm dari dasar kolam dan temperaturnya dijaga pada suhu 30-50 °C. Sumber cahaya berupa lampu listrik tabung (TL) dengan daya yang divariasikan dari 8-23 Watt. Sampel diambil setiap 8 jam untuk ditentukan densitas selnya dengan meninjau absorbansi larutan pada panjang gelombang 450 nm. Dari hasil percobaan didapatkan kedalaman media kultivasi, temperatur, dan intensitas cahaya berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroalga *C. reinhardtii*. Jumlah sel mikroalga *C. reinhardtii* terbanyak didapatkan pada kedalaman media kultur 12 cm, temperatur 45 °C, dan intensitas cahaya 15 watt dengan jumlah sel sebanyak $1,65 \times 10^8$. Laju pertumbuhan mikroalga *C. reinhardtii* yang tercepat didapatkan pada kedalaman media kultur 12 cm, temperatur 40 °C, dan intensitas cahaya 23 watt dengan nilai k sebesar $2,71 \times 10^{-2}$ sel/jam. Kadar protein tertinggi didapatkan pada kedalaman media kultur 10 cm, temperatur 45 °C, dan intensitas cahaya 15 watt dengan kadar protein sebesar 4,444 mg/100 ml sampel.

Kata kunci : *bioreaktor kolam lintasan terbuka; Chlamydomonas reinhardtii; kultivasi; protein sel tunggal*

PENDAHULUAN

Kebutuhan protein yang meningkat secara global dalam berbagai sektor menyebabkan perlunya mencari alternatif sumber protein selain dari hewan dan tanaman tingkat tinggi. Protein sel tunggal merupakan protein yang disintesis oleh mikroorganisme sehingga dikenal sebagai

Single Cell Protein (SCP) atau Protein Sel Tunggal (PST). Kemampuan *Chlamydomonas reinhardtii* dalam memproduksi PST mendorong perlunya dilakukan pengembangan produksi PST secara besar-besaran melalui kultivasi biomassa *C. reinhardtii*. Mikroalga *C. reinhardtii* merupakan salah satu jenis alga hijau uniseluler yang dapat digunakan

sebagai model ekspresi protein rekombinan pada kloroplast, yang melibatkan mekanisme regulasi gen sebagai bagian dari struktur dan fungsi fotosintesis.

Kemampuan untuk melakukan fotosintesis menghasilkan karbohidrat, protein, lemak dan metabolit lainnya pada alga uniseluler menyebabkan alga uniseluler (termasuk *Chlamydomonas*) dapat diklasifikasikan sebagai bioreactor. Waktu generasi mikroalga sebagai sumber biomassa tergolong pendek, maka seluruh organ dapat dipanen dan dimanfaatkan dan perbanyakannya dapat diatur sesuai dengan target produk akhir yang diharapkan. Kultivasi mikroalga dapat dilakukan dalam kolam *in vitro* untuk memperoleh kepadatan sel yang cukup untuk produksi biomassa PST. Kultivasi mikroalga dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan antara lain : intensitas cahaya, kedalaman media kultur, sirkulasi udara, serta kandungan nutrisi media pertumbuhan. Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa penggunaan makronutrien seperti fosfat, sulfur, karbon dan nutrisi dapat mempengaruhi profil respon ekspresi gen atau tingkat metabolit [1,2]. Selain itu nutrisi yang terkandung di dalamnya akan mempengaruhi sintesis protoplasma sebagai faktor kimia utama penentu kualitas alga [3]. Oleh karena itu perlu dilakukan kajian tentang pengaruh faktor-faktor lingkungan terhadap laju pertumbuhan dan densitas sel mikroalga dalam bioreaktor.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji pengaruh cahaya, temperatur kultivasi, dan kedalaman media kultur dalam kolam terhadap laju pertumbuhan *C. reinhardtii* menggunakan media air laut dengan mengamati densitas sel dan kadar proteinnya, serta menentukan kondisi yang baik untuk kultivasi *C. reinhardtii* pada media air laut.

PROSEDUR PENELITIAN

Mikroalga yang dikaji pada penelitian ini adalah mikroalga *Chlamydomonas reinhardtii*, sedangkan bahan-bahan kimia yang digunakan adalah asam fosfat, amonium karbonat, gas CO₂, dapar asam asetat pH 5, reagen Biuret, air suling, air demineralisat, dan air laut sebagai media kultivasi. Peralatan yang digunakan terdiri dari satu unit bioreaktor kolam lintasan terbuka (*raceway open pond bioreactor*), haemotycometer, mikroskop binokuler, mikropipet, spektrofotometer UV-vis, dan alat penunjang lainnya. Skema alat utama

dalam percobaan ditunjukkan pada Gambar 1.

Kultivasi dilakukan dalam kolam kultivasi dengan media kultur yang berupa air laut dengan volum bervariasi (sesuai dengan kedalamannya). Sejumlah bibit mikroalga ditanam dalam media tersebut sambil ditambahkan nutrisi secukupnya. Untuk mendorong media kultur agar bergerak mengikuti lintasan kolam, pengaduk yang berupa baling-baling dijalankan. Sebagai sumber karbon dioksida, gas karbon dioksida dialirkan terus menerus dari tabung karbon dioksida ke dalam kolam. Variabel yang digunakan adalah kedalaman media kultivasi (10-14 cm), intensitas cahaya (lampu TL 8-23 watt), dan temperatur kultivasi (30-50°C). Jumlah sel mikroalga diamati setiap 8 jam dengan cara menghitung kepadatan sel mikroalga dalam sampel media kultur dengan mengamati absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm.

Kadar protein dalam mikroalga ditentukan dengan metode Biuret. Data waktu kultivasi dan kepadatan sel mikroalga digunakan untuk membuat kurva laju pertumbuhan mikroalga *C. reinhardtii* dengan persamaan [4].

$$k = \frac{\ln(N_t / N_o)}{(t_2 - t_1)} \quad (1)$$

dengan N_t kepadatan sel pada waktu t_2 (sel/mL), N_o kepadatan sel pada waktu t_1 (sel/mL), t_2 dan t_1 waktu pengamatan (jam).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh faktor ekologi, yang antara lain adalah : 1) proses mekanis atau abrasi, 2) proses sedimentasi atau pengendapan, 3) pengurangan penetrasi cahaya, 4) permukaan habitat untuk pertumbuhan, 5) adsorpsi dan atau desorpsi dari berbagai zat kimia, dan 6) pengaruh fluktuasi suhu. Setelah dilakukan penelitian kultivasi mikroalga *C. reinhardtii* pada media air laut dengan variabel kedalaman cairan media, intensitas cahaya dan temperatur dalam pond, maka didapatkan hasil penelitian sebagai berikut :

Pengaruh Kedalaman Media Kultivasi terhadap Kepadatan Sel

Kedalaman cairan media kultivasi dalam pond berpengaruh terhadap kepadatan sel. Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan

dalam Grafik 1, didapatkan jumlah sel terbanyak pada ketinggian 12 cm (volume cairan kultivasi 20 liter) dengan jumlah sel sebesar $165,2 \times 10^6$ sel, walaupun kalau ditinjau dari kepadatan selnya lebih rendah dibandingkan pada ketinggian 10 cm.

Kepadatan sel yang lebih tinggi ini terjadi karena semakin tinggi ketinggian media kultivasi, maka cahaya yang bisa masuk ke dalam media lebih sedikit. Cahaya dibutuhkan oleh mikroalga sebagai energi dalam reaksi fotosintesis dan sintesis sel. Oleh karena itu, semakin banyak cahaya yang masuk, maka akan mengakibatkan reaksi fotosintesis dan sintesis sel akan berjalan lebih baik, yang pada akhirnya akan meningkatkan kepadatan sel [5]. Jika kedalaman media kultur lebih dangkal, maka cahaya yang tersedia lebih banyak, tetapi jumlah nutrient yang tersedia lebih sedikit. Konsekuensinya, nutrient mudah berkurang dan total biomassa yang dihasilkan menjadi rendah. Peningkatan kedalaman media kultur akan meningkatkan jumlah dari biomassa karena volume media kultur lebih besar dan lebih banyak nutrient yang tersedia untuk pertumbuhan.

C. reinhardtii merupakan mikroorganisme yang motil dan fototaktik, yang memungkinkan *Chlamydomonas reinhardtii* untuk berkembang pada tempat yang memiliki cahaya yang cukup (relatif dangkal) [6].

Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Kepadatan Sel

Karena pertumbuhan sel dipengaruhi oleh keberhasilan proses fotosintesis, maka intensitas cahaya berpengaruh juga terhadap kepadatan sel. Dari hasil percobaan, maka pada intensitas cahaya 15 Watt didapatkan kepadatan sel yang terbesar. Hal ini dapat dilihat pada Grafik 2, 3, dan 4.

Cahaya memiliki efek yang sangat signifikan terhadap pertumbuhan dan komposisi internal mikroalga [7]. Bilamana sel mikroalga dikenai cahaya dengan intensitas cahaya yang terlalu tinggi, fotosintesis akan terhambat, oleh karena itu tingkat pertumbuhan kultur alga menurun. Proses ini dikenal sebagai penghambatan fotosintesis. Pengaruh ini disebabkan oleh reaksi foto oksidasi didalam sel, dimana kelebihan cahaya tidak dapat diserap ke dalam alat fotosintesis [7]. Sinar UV dibutuhkan *C. reinhardtii* untuk melakukan fotosintesis. Dengan kata lain semakin dalam cairan ketinggian kultivasi

mikroalga, maka jumlah cahaya yang masuk semakin berkurang, dan pertumbuhan mikroalga juga akan berkurang [8].

Tetapi kebutuhan sinar UV ini ada ambang batasnya, sehingga dari penelitian didapatkan bahwa hasil kultivasi terbaik dicapai pada intensitas cahaya 15 W, suhu $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, dengan ketinggian 12 cm yang menghasilkan jumlah sel sebanyak $1,65 \times 10^8$. Sinar UV yang berlebihan akan menyebabkan kematian dari sel *C. reinhardtii* [7].

Alga dimungkinkan bisa tumbuh dalam kondisi nutrisi rendah ketika alga menerima intensitas cahaya yang tinggi pada bagian atas level permukaan cairan, dan mempunyai potensi tingkat pertumbuhan lebih tinggi dibandingkan ketika berada pada bagian dengan sedikit cahaya. (Wang, 1974).

Pengaruh Temperatur Kultivasi terhadap kepadatan Sel

Tergantung pada jenis alga yang dibudidayakan, maka temperatur kultivasi sangat berpengaruh terhadap kepadatan sel. Dari hasil penelitian, maka pada temperatur $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ akan didapatkan kepadatan sel yang terbesar. Hal ini dapat dilihat pada Grafik 5. Suhu optimal pertumbuhan mikroalga *C. reinhardtii* di media air tawar adalah dibawah $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ [9]. Hasil penelitian yang berbeda dengan literatur disebabkan karena media kultivasi yang digunakan berbeda, dimana pada penelitian ini digunakan media kultivasi air laut yang memiliki salinitas 27 g/liter.

Hasil penelitian baik didapatkan pada kultivasi dengan temperatur $45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Hasil ini disebabkan karena pada suhu tersebut ada nutrient yang dibutuhkan oleh *C. reinhardtii* dapat larut dengan sempurna sehingga dapat cepat terserap oleh sel. Suhu yang lebih tinggi akan menyebabkan kematian dari sel *C. reinhardtii* walaupun kelarutan nutrient juga semakin besar.

Penentuan Laju Pertumbuhan Mikroalga

Dengan persamaan Hirata et al, laju pertumbuhan (*k*) mikroalga *C. reinhardtii* dapat dihitung. Hasil percobaan dan perhitungan laju pertumbuhan mikroalga *C. reinhardtii* dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari hasil percobaan dan perhitungan didapatkan laju pertumbuhan tertinggi pada suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, intensitas cahaya 23 Watt, dan ketinggian media kultur 12 cm. Hal ini disebabkan cahaya

memiliki efek yang sangat signifikan terhadap pertumbuhan dan komposisi internal mikroalga. Bilamana sel mikroalga dikenai cahaya dengan intensitas cahaya yang terlalu tinggi, fotosintesis akan terhambat, oleh karena itu tingkat pertumbuhan kultur alga menurun. Proses ini dikenal sebagai penghambatan fotosintesis. Pengaruh ini disebabkan oleh reaksi foto oksidasi didalam sel, dimana kelebihan cahaya tidak dapat diserap ke dalam alat fotosintesis [7].

Penentuan Kondisi Budidaya yang Baik

Dalam penentuan kondisi budidaya mikroalga *C. reinhardtii*, tidak dilakukan analisis optimasi menggunakan RSM, dikarenakan dengan menghitung jumlah sel dari mikroalga sudah dapat diketahui kondisi yang baik. Dengan mengkalikan kepadatan sel dengan volume media kultivasi, akan didapatkan jumlah sel. Jumlah sel/batch kultivasi diperoleh pada kultivasi dengan kedalaman media kultur 12 cm, temperatur 45 °C, dan intensitas cahaya 15 watt dengan jumlah sel sebanyak $1,65 \times 10^8$.

Dari analisis hasil penetapan kadar protein dengan metode Biuret, didapatkan hasil seperti pada Tabel 2. Dari hasil percobaan didapatkan bahwa Kadar protein tertinggi didapatkan pada kedalaman media kultur 10 cm, temperatur 45 °C, dan intensitas cahaya 15 watt dengan kadar protein sebesar 4,444 mg/100 ml.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian kultivasi mikroalga *C. reinhardtii* dalam media air laut, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

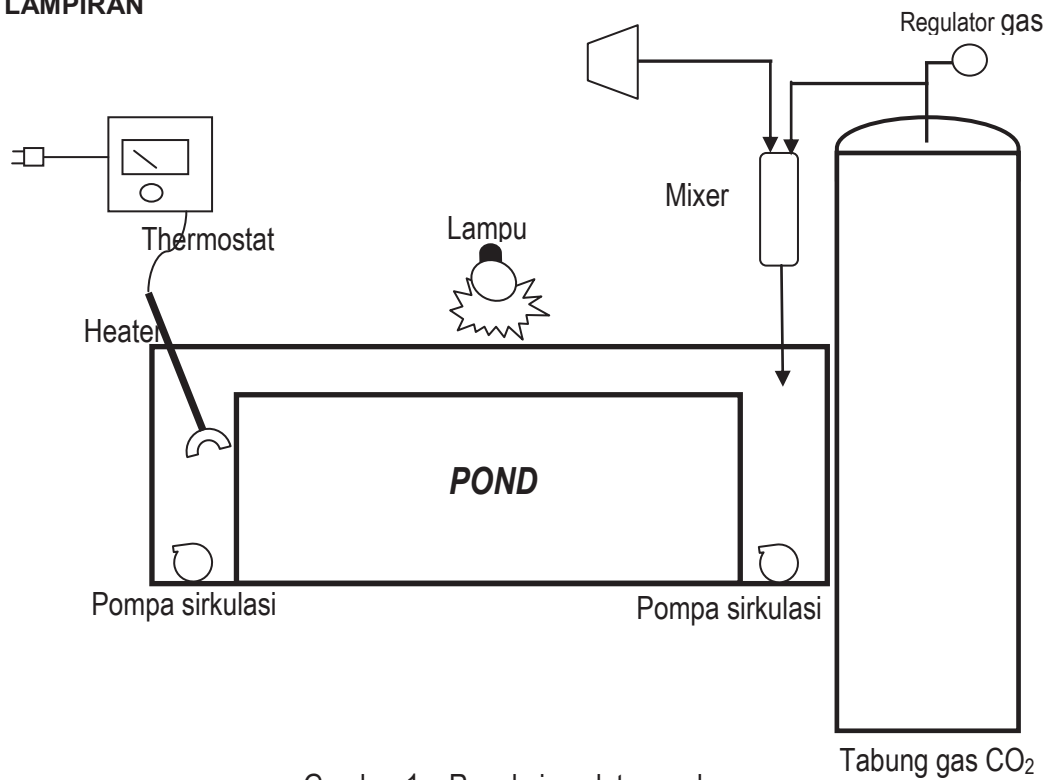
1. Kedalaman media kultivasi, temperatur kultivasi, dan intensitas cahaya berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroalga *C.reinhardtii*.
2. Jumlah sel mikroalga *C. reinhardtii* terbanyak didapatkan pada kedalaman media kultur 12 cm, temperatur 45 °C, dan intensitas cahaya 15 watt dengan jumlah sel sebesar $1,65 \times 10^8$.
3. Laju pertumbuhan mikroalga *C.reinhardtii* yang terbaik didapatkan pada ketinggian media kultur 12 cm, temperatur 40 °C, dan intensitas cahaya 23 watt dengan nilai k sebesar $2,71 \times 10^{-2}$ sel/jam.
4. Kadar protein tertinggi didapatkan pada kedalaman media kultur 10 cm,

temperatur 45 °C, dan intensitas cahaya 15 watt dengan kadar protein sebesar 4,444 mg/100 ml.

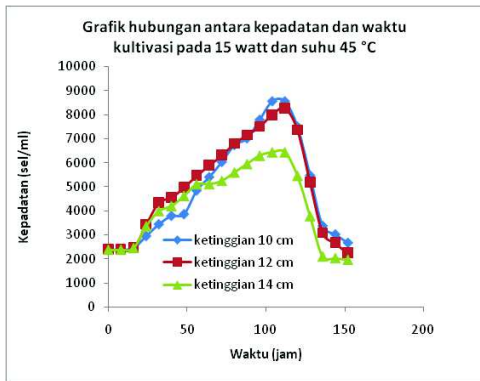
DAFTAR PUSTAKA

- [1] Lilly JW, Maul JE, Stern DB (2002). The *Chlamydomonas reinhardtii* organellar genomes respond transcriptionally and post-transcriptionally to abiotic stimuli. *Plant Cell*, 14(11), 2681-2706.
- [2] Bolling, C. and Fiehn, O. (2005). Metabolite profiling of *Chlamydomonas reinhardtii* under nutrient deprivation. *Plant Physiol.*, 139(4), 1995-2005.
- [3] Sriharti dan Carolina (1995). *Kualitas Algae bersel tunggal Chlorella sp pada berbagai media*. Seminar Ilmiah Hasil, Penelitian dan Pengembangan Bidang Fisika Terapan 1994 / 1995.
- [4] Hirata, H, Andarias, I. and Yamasaki, S. (1981). *Effect of Salinity Temperature on Growth of The Marine Phythoplankton Chlorella*. Kagoshima Univ.
- [5] Huisman, J. and Weissing F.J. (1995). Competition for Nutrient and Light in A Mixed Water Column: Theoretical Analysis. *The American Naturalist*, 146, 536-564
- [6] Ozbay, H., (2002). An Experimental Approach to Examining the Effect of Water depth and Lemna minor L. on Algal Growth, *Turk J Bot.*, 26: 5-11
- [7] Barnes, R. and Mann, K. (1999). *Fundamentals of Aquatic Ecology*. Blackwell Science. Cambridge. UK: 270
- [8] Wang, W.C. (1974). *Effect of Turbidity on Algal Growth, Circular 121, State of Illinois Department of Registration and Education, 1-12*
- [9] Droste and Ronald, L. (1997). *Theory and Practice of Water and Wastewater Treatment*. John Wiley and Sons Inc, USA.

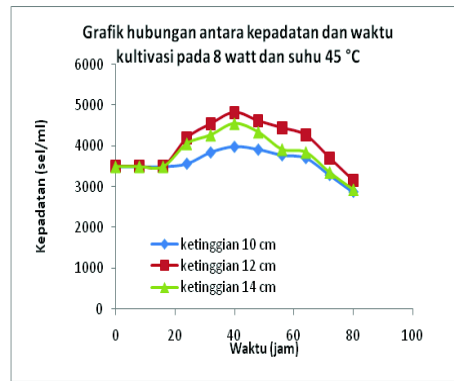
LAMPIRAN



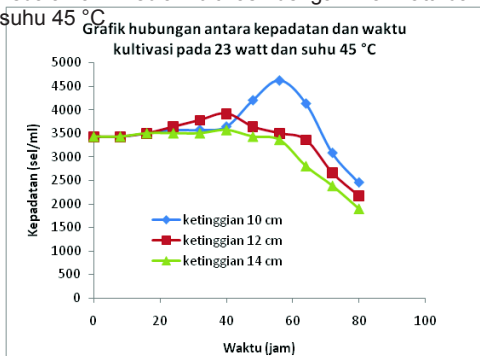
Gambar 1. Rangkaian alat percobaan



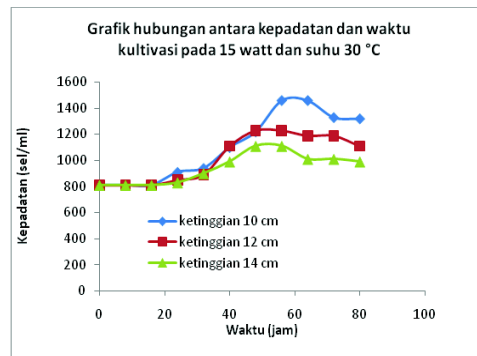
Grafik 1. Grafik hubungan antara kepadatan dan waktu kultivasi pada kultivasi dengan berbagai kedalaman media kultivasi dengan 15 watt dan suhu 45 °C



Grafik 2. Grafik hubungan antara kepadatan dan waktu kultivasi pada 15 watt dan suhu 45 °C



Grafik 3. Grafik hubungan antara kepadatan dan waktu kultivasi pada 23 watt dan suhu 45 °C



Grafik 4. Grafik hubungan antara kepadatan dan waktu kultivasi pada 15 watt dan suhu 30 °C

Tabel 1. Laju pertumbuhan mikroalga *Chlamydomonas reinhardtii*

Suhu (°C)	Intensitas Cahaya (Watt)	Ketinggian Media Kultur (cm)	k (sel/jam)
30	8	12	$3,73 \times 10^{-3}$
35	8	12	$2,47 \times 10^{-2}$
40	8	12	$9,91 \times 10^{-3}$
45	8	12	$1,34 \times 10^{-2}$
50	8	12	$1,73 \times 10^{-2}$
30	15	12	$1,31 \times 10^{-2}$
35	15	12	$1,17 \times 10^{-2}$
40	15	12	$1,11 \times 10^{-2}$
45	15	12	$1,30 \times 10^{-2}$
50	15	12	$8,13 \times 10^{-3}$
30	23	12	$2,42 \times 10^{-2}$
35	23	12	$1,17 \times 10^{-2}$
40	23	12	$2,71 \times 10^{-2}$
45	23	12	$4,72 \times 10^{-3}$
50	23	12	$6,32 \times 10^{-3}$

Tabel 2. Kadar protein mikroalga hasil kultivasi

suhu	watt	ketinggian (cm)	absorbansi	kepadatan (Sel/ml)	Kadar Protein (mg/100 ml)
30	8	10	0.309	2065	2.671
30	8	14	0.326	2220	2.680
30	15	12	0.545	3700	3.730
30	23	12	0.806	6690	3.917
35	8	10	0.670	5950	4.227
35	23	14	0.592	4240	3.489
40	23	10	0.452	4830	3.711
45	15	10	0.918	8540	4.444
50	8	12	0.800	2800	2.894

Tanya Jawab :

Nama Penanya : A. Ign. Kristijanto

Pertanyaan :

1. Suhu 45 derajat Celcius paling optimum pertumbuhan direinkarnasi. Apakah dilakukan pemanasan ?
2. Sistem batch atau sistem Intermittent yang digunakan ?

Jawaban :

1. Dilakukan pemanasan dengan heater yang diatur dengan termostat.
2. Sistem batch untuk phospatnya tapi untuk CO nya kontinyu.