

TEKNIK KULTUR FITOPLANKTON *Haematococcus pluvialis* DENGAN MIKRONUTRIEN ANORGANIK YANG BERBEDA

Luh Yuliani Dewi, Ni Nengah Suriadnyani, dan I Nengah Gede Suparta

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut

Jl. Br. Gondol Kec. Gerokgak Kab. Buleleng, Kotak Pos 140, Singaraja, Bali 81101

ABSTRAK

Fitoplankton *Haematococcus pluvialis* merupakan salah satu jenis fitoplankton air tawar yang memiliki kandungan *astaxantin*, yang sangat diperlukan untuk mengantisipasi pudarnya warna pada ikan budidaya terutama ikan hias, udang, dan lobster. Tujuan kegiatan ini adalah untuk mengetahui mikronutrien anorganik yang cocok dalam pengkulturan *H. pluvialis* sehingga dapat mengoptimalkan pertumbuhan dan kepadatan sel maksimal. Perlakuan dalam kegiatan ini adalah media tumbuh BOLD dengan mikronutrien anorganik P-IV metal dan modifikasi BOLD dengan mikronutrien anorganik Clewat-32. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan sel *H. pluvialis* pada media BOLD (P-IV metal) lebih tinggi (55×10^4 sel/mL) daripada penggunaan media BOLD dengan Clewat-32 (45×10^4 sel/mL).

KATA KUNCI: kultur, *Haematococcus pluvialis*, mikronutrien anorganik

PENDAHULUAN

Fitoplankton *H. pluvialis* merupakan salah satu jenis fitoplankton air tawar dari class Chlorophyceae, ordo Chlamydomonadales, family Haematococcaceae, dan genus *Haematococcus* (Anonymous, 2008). *H. pluvialis* memiliki kandungan *astaxantin*, yang merupakan pigmen carotenoid yang larut dalam lemak dan secara biologi dihasilkan oleh fitoplankton *H. pluvialis* (Campo *et al.*, 2007; Cysewski, 2004). *H. pluvialis* memproduksi *astaxantin* apabila hidup di lingkungan yang rendah nutrisi, cahaya terang atau kondisi lingkungan buruk lainnya. Diduga bahwa *H. pluvialis* memproduksi *astaxantin* sebagai perlindungan serangan sinar ultraviolet saat lingkungan tidak menguntungkan (Kurnia, 2006).

Di bidang perikanan, *astaxantin* menjadi sangat diperlukan untuk mengantisipasi pudarnya warna pada ikan budidaya terutama ikan hias, udang, dan lobster. Sementara hewan akuatik tersebut mendapatkan *astaxantin* dari pakan yang berupa zooplankton, atau krustase rendah dan mengakumulasi melalui fitoplankton. Hal yang menarik bahwa ikan dapat mengeksploitasi karotenoid sebagai senyawa yang potensial untuk antioksidan.

Pada ikan salmon dan trout, *astaxantin* diakumulasi secara selektif dari makanannya dan ditimbun di dalam daging untuk menghindari peroksidasi jaringan lemak atau hal-hal yang berbahaya dalam oksidasi selama bermigrasi secara alami (Cysewski, 2004). Pada udang, peran warna dan pigmentasi dapat menentukan produk udang menjadi lebih *luxury*. Menurut Latscha (1989), bahwa warna dan pigmentasi udang dapat menggambarkan adanya variasi pemicu pada proses fisiologi dan berdampak sangat signifikan dalam pemilihan udang untuk konsumsi. Secara visual, warna udang menjadi karakteristik yang sangat penting untuk menentukan pilihan karena berhubungan dengan kesegaran, rasa, kesehatan atau kualitas produk.

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut, Gondol telah mengoleksi fitoplankton *H. Pluvialis* yang didapatkan dari *Culture Collection of Algae Universitas Cologne* (CCACC) Jerman, melalui CV Kyowa Concrete Technology. Percobaan kultur dengan dua jenis media yaitu media BOLD dan modifikasi media BOLD telah dilakukan dengan kandungan mikronutrien anorganik yang berbeda (Muzaki *et al.*, 2008). Pada prinsipnya perbedaan kedua media tersebut hanya pada penggunaan unsur mikronutrien anorganik yang

berupa *trace element*. Komposisi larutan BOLD sebagai media tumbuh fitoplankton *H. pluvialis* adalah menggunakan unsur mikronutrien anorganik P-IV metal, sedangkan pada media modifikasi BOLD, unsur mikronutrien P-IV metal digantikan dengan Clewat-32. Tujuan kegiatan ini adalah untuk mengetahui mikronutrien anorganik yang cocok dalam pengkulturan *H. pluvialis* yang dapat mengoptimalkan pertumbuhan dan kepadatan sel maksimal.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Kegiatan ini menggunakan 6 buah erlenmeyer bulat volume 1.000 mL. Perlakuan dalam kegiatan ini adalah media tumbuh BOLD dengan mikronutrien anorganik P-IV metal dan modifikasi BOLD dengan mikronutrien anorganik Clewat-32. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam kegiatan ini antara lain: bibit fitoplankton *H. pluvialis*, air tawar. Bahan kimia (pupuk) untuk makro nutrien (NaNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaCl , Vitamin B_{12}), mikro nutrien menggunakan P-IV metal (Na_2EDTA , $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 , $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) dan Clewat-32 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , EDTA, $(\text{HOCH}_2)_2\text{NCH}_2\text{N}$, dan $(\text{CH}_3\text{COO})_3$).

Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain: *autoclave*, *oven*, alat saring (aspirator), *membran filter* 0,2 μm , erlenmeyer bulat volume 1.000 mL: 6 buah yang dilengkapi dengan aerasi, mikro pipet, tip, *beaker glass*, gelas ukur, haemocytometer, mikroskop, dan lain-lain.

Metode

Pembuatan Larutan Pupuk dan Pemupukan

Komposisi pupuk yang digunakan sebagai media tumbuh untuk pengkulturan *H. pluvialis* adalah media BOLD dan modifikasi media BOLD. Komposisi larutan pupuk, P-IV metal dan Clewat-32, serta cara pembuatannya adalah sebagai berikut:

1. Komposisi larutan pupuk: 10 g NaNO_3 , 1 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 3 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 3 g K_2HPO_4 , 7 g KH_2PO_4 , 1 g NaCl . Masing-masing bahan dilarutkan dalam 400 mL akuades dan disterilkan dengan *autoclave* pada suhu

115°C selama 30 menit. Larutan vitamin B-12 dibuat dengan cara menimbang 0,1 g vitamin B-12, dilarutkan dengan 500 mL akuades. Selanjutnya sebanyak 2 mL larutan tersebut dilarutkan dalam 200 mL akuades.

2. Untuk mikro nutrien (P-IV metal), timbang 0,750 g Na_2EDTA , larutkan dalam 1.000 mL akuades kemudian tambahkan 97 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 41 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 5 mg ZnCl_2 , 2 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, dan 4 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$. Larutkan kembali sampai homogen dan disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 115°C selama 30 menit.
3. Timbang 40 g Clewat-32 kemudian dilarutkan dalam 400 mL akuades dan disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 115°C selama 30 menit.
4. Air tawar steril yang sudah melalui penyaringan menggunakan filter berukuran 0,2 μm sebanyak 6 buah erlenmeyer bulat volume 1.000 mL, selanjutnya dipupuk dengan larutan pupuk yang sudah disiapkan dengan komposisi seperti disajikan pada Tabel 1.

Persiapan Alat dan Air Media

Alat-alat yang akan digunakan untuk kultur fitoplankton *H. pluvialis* disterilisasi kering pada suhu 140°C selama 30 menit. Air tawar di-*autoclave* pada suhu 115°C selama 30 menit, kemudian disaring dengan membran filter 0,2 μm dan dimasukkan ke dalam 6 buah erlenmeyer bulat steril volume 1.000 mL.

Kultur Fitoplankton *H. pluvialis*

Fitoplankton *H. pluvialis* diinokulasikan ke dalam 6 buah botol erlenmeyer bulat yang sudah berisi air media, dengan kepadatan awal yang sama antar perlakuan (225.000 sel/mL). Botol erlenmeyer yang telah terisi media dan inokulan *H. pluvialis* selanjutnya diletakkan dalam ruang fitoplankton dengan pencahayaan (2.500-3.500 lux) dan suhu 23°C-24°C. Tiap botol erlenmeyer dilengkapi aerasi dengan udara yang telah difilter melalui membran mikro filter 0,45 μm . Pengamatan kepadatan sel *H. pluvialis* dihitung setiap 2 hari sekali menggunakan *haemocytometer*.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil pengamatan terhadap kondisi dan keragaan sel fitoplankton *H. pluvialis* secara mikroskopis menunjukkan sel yang sehat,

Tabel 1. Dosis pupuk untuk kultur *H. pluvialis* dalam volume 1.000 mL

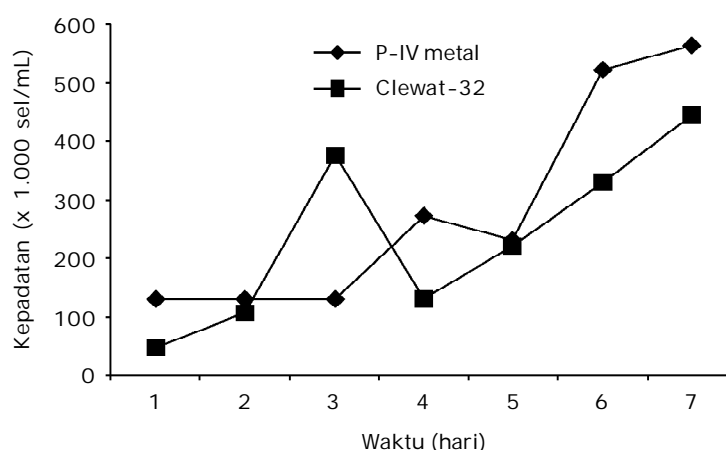
Jenis nutrien/ pupuk	BOLD's media (mL)	Modifikasi BOLD's media (mL)
NaNO ₃	30	30
CaCl ₂ 2 H ₂ O	10	10
Mg SO ₄ 7 H ₂ O	10	10
K ₂ HPO ₄	10	10
KH ₂ PO ₄	10	10
NaCl	10	10
Vitamin B ₁₂	1	1
P-IV metal	6	-
Clewat-32	-	6
Air tawar steril	940	940

gerakan aktif, dinding sel, serta protoplasma sel berwarna hijau baik yang menggunakan mikronutrien P-IV metal atau Clewat-32, juga tidak terjadi kontaminasi dari sel lain. Hal ini mengindikasikan bahwa *H. pluvialis* berkembang dan tumbuh dengan kondisi kultur yang memadai pada kedua media kultur yang berbeda.

Hasil pengamatan pertumbuhan fitoplankton *H. pluvialis* dengan mikronutrien anorganik berbeda diperoleh pola pertumbuhan sel yang relatif berbeda pula (Gambar 1). Nampak bahwa pada hari ke-3 pertumbuhan sel *H. pluvialis* dengan mikronutrien Clewat-32 mencapai populasi tinggi (38x10⁴ sel/mL), sementara pertumbuhan sel dengan P-IV metal

masih rendah yaitu 13x10⁴ sel/mL. Namun, pada hari ke-7 dihasilkan populasi tertinggi berkisar 55x10⁴ sel/mL pada kultur dengan menggunakan P-IV metal, sedangkan pengkulturan dengan Clewat-32 hanya sebesar 45x10⁴ sel/mL.

Bila dilihat dari komposisi mikronutrien anorganik P-IV metal dan Clewat-32 kurang lebih tidak berbeda. Namun nampaknya pada Clewat-32 terdapat kandungan *trace element* yang relatif lebih lengkap, walaupun dalam jumlah kecil. Keadaan ini menyebabkan sel fitoplankton *H. pluvialis* mengalami pembelahan sel yang lebih cepat (pada hari ke-3) dan senyawa tersebut tidak dapat dimanfaatkan dalam waktu lama oleh sel-sel, sehingga laju



Gambar 1. Pola pertumbuhan fitoplankton *H. pluvialis* yang dikultur dengan mikronutrien anorganik berbeda

perkembangbiakan hari selanjutnya relatif rendah. Clewat-32 merupakan produk dagang mikronutrien yang dikemas secara kompak yang mengandung 18 unsur mikronutrien anorganik, di antaranya $\text{Fe Cl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, Zn Cl_2 , $\text{Mn Cl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , EDTA, $(\text{HOCH}_2)_2\text{NCH}_2\text{N}$, dan $(\text{CH}_3\text{COO})_3$. Sementara, pada P-IV metal unsur senyawa hanya terdiri atas 6 jenis dengan konsentrasi tertentu, sehingga stimulasi terhadap perkembangan sel *H. pluvialis* berlangsung secara perlahan dan tidak ada lonjakan kepadatan sel dalam waktu singkat.

Mikronutrien merupakan senyawa yang sangat diperlukan pada perkembangbiakan sel fitoplankton untuk membantu dalam proses metabolisme, pembentukan dinding sel, protoplasma, dan proses fisiologi lain dalam sel (Borowitzka & Borowitzka, 1988). Walaupun jumlah yang diperlukan sangat kecil, namun ketersediaan dalam media tumbuh sangat diperlukan.

KESIMPULAN

- ❖ Kultur fitoplankton *H. pluvialis* menggunakan media BOLD dengan mikronutrien anorganik (P-IV metal) memberikan kepadatan sel yang lebih tinggi daripada penggunaan media BOLD dengan Clewat-32.
- ❖ Kedua bahan tersebut (P-IV metal dan Clewat-32) mengandung mikronutrien yang sangat diperlukan pada perkembangbiakan sel fitoplankton untuk membantu dalam proses metabolisme, pembentukan dinding sel, protoplasma, dan proses fisiologi lain dalam sel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Ibu Prof. Riset Dr. Haryanti, staf peneliti, dan rekan-rekan Teknisi Litkayasa Laboratorium Bioteknologi BBPPBL-Gondol atas bantuan dan kerja samanya dalam pelaksanaan kegiatan dan penulisan makalah ini.

DAFTAR ACUAN

- Anonimous. 2008. Green algae: Physiology, Cellular, and Molecular Biology. www.bgu.ac.il/~aflaloc/highlights.html. diakses tanggal 7 Juni 2008.
- Borowitzka, M.A. & Borowitzka, L.J. 1988. Microalgae biotechnology. Cambridge University Press, 477 pp.
- Campo, J.A.D., Garcia-Gonzalez, M., & Guerrero, M.G. 2007. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Cysewski, G. 2004. Analytical Methods for Measuring Astaxanthin. *Nutritional Outlook*, 4 pp.
- Kurnia, A. 2006. Lebih jauh tentang bahan pewarna ikan (I). www.beritaipetek.com. diakses tanggal 6 Juni 2008.
- Latscha, T. 1989. The role of astaxanthin in shrimp pigmentation. *Advances in Tropical Aquaculture. AQUACOP IFREMER Actes de Colloque*, 9: 319-325.
- Muzaki, A., Fahrudin, Wardana, I K., & Haryanti. 2008. Kultur mikroalga *Haematococcus pluvialis* untuk menghasilkan *astaxantin*. *J. Ris. Akuakultur*, 3(3): 351-361.