

Pengaruh Variasi Fotoperiodisitas terhadap Pertumbuhan *Chlorella* dalam Medium Basal Bold

Photoperiodicity effect on *Chlorella* Growth in Bold's Basal Medium

Nining B. Prihantini*, Winny Rachmayanti, Wisnu Wardhana

Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Indonesia, Kampus UI Depok 16424
Telp. +62-21-78849009 E-mail: nprihantini@hotmail.com, nining@ui.edu

Abstract

The research of photoperiodicity effect on the cell densities of genus *Chlorella* grown in Bold's Basal Medium (BBM) had been done. Observations were done for 14 days. Research was experimental study with full random design to 8 varieties of photoperiodicity i.e. 6 h light/18 h dark (L/D) cycles, 8 h light/16 h dark (L/D) cycles, 10 h light/14 h dark (L/D) cycles, 12 h light/12 h dark (L/D) cycles, 14 h light/10 h dark (L/D) cycles, 16 h light/8 h dark (L/D) cycles, 18 h light/6 h dark (L/D) cycles, and 24 h light/0 h dark (L/D) cycles. On peak culture, 24 h light/0 h dark (L/D) cycles produced the highest cell numbers (204.680.000 cell/ml) and the lowest cell numbers were achieved by culture with 6 h light/18 h dark (L/D) cycles. Kruskall-Wallis test showed that there were some effects of photoperiodicity variations on cell numbers of *Chlorella* (cell/ml) in culture ($p>0.05$). Multiple comparison tests showed that mean of cell numbers of *Chlorella* (cell/ml) differ ($p>0.01$) on every photoperiodicity. Relationship between photoperiodicity and cell numbers of *Chlorella* was determined by regression equation $\hat{Y} = 24634821,214 + 21977643,869 X$.

Key Words: *Chlorella*, Photoperiodicity, algal physiology

Diterima: 04 Mei 2005, disetujui: 20 Juni 2006

Pendahuluan

Sebagai salah satu sumberdaya hayati, mikroalga mempunyai beragam potensi yang telah lama dimanfaatkan oleh manusia. Potensi tersebut, antara lain sebagai; a) pakan alami berbagai jenis ikan, udang, kerang, b) bahan pangan nonkonvensional, c) bahan baku dalam industri kimia dan farmasi, d) penghasil sumber energi (gas H₂, alkohol, dan hidrokarbon siklis), e) pupuk hayati (Kabinawa, 1993). Mikroalga juga dapat berperan sebagai indikator pencemaran perairan dan agen bioremediasi limbah cair (Lee & Lee, 2001).

Salah satu mikroalga yang potensial dan telah umum dibiakkan adalah marga *Chlorella Beijerinck*. Hal tersebut disebabkan *Chlorella* memiliki kandungan gizi yang tinggi, yaitu

50% protein, 20% karbohidrat, dan 20% lemak. Selain itu, *Chlorella* juga mengandung berbagai nutrisi seperti asam lemak tidak jenuh, vitamin, klorofil, enzim, serat, dan CGF (*Chlorella Growth Factor*) (Wirosaputro, 1998).

Chlorella juga banyak digunakan sebagai objek penelitian fisiologi dan biokimia karena mudah dibiakkan. *Chlorella* dapat tumbuh cepat dalam waktu yang relatif singkat (Pandey & Trivedi, 1995). Menurut Sachlan (1982), satu sel *Chlorella* dapat berkembang menjadi 10.000 sel dalam waktu 24 jam. Burlew pada tahun 1953 (dalam Kabinawa *et al.*, 1993) menyatakan bahwa *Chlorella* merupakan mikroalga pertama yang berhasil dibiakkan dalam medium dan kondisi lingkungan tertentu. Pada tahun 1988 Pauw & Guino (dalam Agustini & Kabinawa, 1993)

menyatakan bahwa *Chlorella* telah berhasil dibiakkan dalam akuakultur dan mudah tumbuh dalam medium sintetik anorganik.

Chlorella dapat dikembangkan melalui teknik kultur, meskipun demikian dalam pengembangannya masih menghadapi kendala, yaitu rendahnya produksi biomassa (Chrismadha dkk., 1998). Brown pada tahun 1991 (dalam Hadiwigeno dkk., 1993) menyatakan bahwa upaya untuk meningkatkan produksi biomassa *Chlorella* dapat dilakukan dengan memanipulasi lingkungan hidupnya seperti medium, intensitas dan panjang gelombang cahaya, lama penyinaran (fotoperiodisitas), kadar CO₂, suhu, pH, salinitas, serta bentuk wadah kultur.

Pengetahuan mengenai respon pertumbuhan *Chlorella* terhadap faktor lingkungan tertentu dapat dijadikan dasar untuk menentukan kondisi lingkungan yang optimum dalam teknik kultur massal. Salah satu faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produktivitas *Chlorella* adalah lama penyinaran (fotoperiodisitas) yang diberikan kepada kultur (Lorenzen, 1964). Fotoperiodisitas yang diberikan kepada kultur *Chlorella* di laboratorium biasanya bertujuan untuk mendapatkan sinkronisasi kultur yang kemudian digunakan untuk mempelajari siklus sel mikroalga tersebut (Hase, 1962; Lorenzen, 1964; Fogg & Thake, 1987).

Pemberian fotoperiodisitas yang tepat terhadap kultur *Chlorella* diharapkan dapat memberikan hasil produksi biomassa yang tinggi. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pertumbuhan mikroalga marga *Chlorella* Beijerinck dengan parameter rerata kerapatan sel dalam Medium Basal Bold (MBB) menggunakan variasi fotoperiodisitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui fotoperiodisitas yang optimum bagi kerapatan sel mikroalga marga *Chlorella* Beijerinck dalam MBB selama 14 hari pengamatan.

Metode Penelitian

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di ruang kultur alga, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Biota Vol. 12 (1), Februari 2007

Departemen Biologi FMIPA-UI pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2004.

Bahan dan Cara Kerja

Sampel kultur *Chlorella* yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA-UI yang merupakan hasil isolasi dari tanah di Depok. Sedangkan medium yang digunakan sebagai medium kultur pemeliharaan dan perlakuan adalah Medium Basal Bold (Nichols, 1973).

Penelitian bersifat eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari delapan macam perlakuan dan tiga ulangan untuk setiap perlakuan. Perlakuan yang dimaksud adalah sebagai berikut: penyinaran 6 jam terang/ 18 jam gelap (6T/ 18G), 8 jam terang/ 16 jam gelap (8T/ 16G), 10 jam terang/ 14 jam gelap (10T/ 14G), 12 jam terang/ 12 jam gelap (12T/ 12G), 14 jam terang/ 10 jam gelap (14T/ 10G), 16 jam terang/ 8 jam gelap (16T/ 8G), 18 jam terang/ 6 jam gelap (18T/ 6G), dan 24 jam terang/ 0 jam gelap (24T/ 0G).

Sebanyak 10 ml kultur *Chlorella* berkerapatan 15.000.000 sel/ml diinokulasikan ke dalam 300 ml medium perlakuan. Pemeliharaan kultur perlakuan *Chlorella* dilakukan selama 14 hari. Hal tersebut didasarkan pada hasil penelitian pendahuluan yang menunjukkan bahwa dalam kurun waktu 14 hari kultur *Chlorella* telah memasuki fase stasioner. Kultur perlakuan diletakkan di dalam rak kultur tertutup dan masing-masing diberi aerasi menggunakan aerator akuarium berlubang satu. Rak kultur berukuran panjang 92 Cm, lebar 31 Cm, dan tinggi 41 Cm. Satu buah lampu TL berkekuatan 20 watt dengan rerata intensitas cahaya sebesar 1500 lux digunakan untuk pencahayaan. Lampu diletakkan sejajar di sisi belakang rak kultur dengan jarak 7,5 cm dari botol kultur. Panjang lampu 62 Cm, sedangkan banyak botol kultur untuk setiap perlakuan adalah 3 botol. Pengaturan lama penyinaran (fotoperiodisitas) bagi masing-masing perlakuan dilakukan menggunakan pengatur waktu (*timer*) elektronik secara otomatis.

Penghitungan jumlah sel *Chlorella* dilakukan secara berkala setiap 24 jam sekali

mulai hari ke-0 (t_0) hingga hari ke-14 (t_{14}). Penghitungan jumlah sel dilakukan di bawah mikroskop menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer*. Jumlah sel dihitung menggunakan empat kotak besar yang terletak di sudut luar dengan tanda W (*white*). Data jumlah sel yang diperoleh tersebut selanjutnya digunakan untuk menghitung kerapatan sel. Kerapatan sel *Chlorella* dalam 1 ml sampel dihitung dengan rumus $k = n \times p \times 2500$, dengan k = kerapatan sel *Chlorella* (sel/ml), n = jumlah total sel dalam empat kotak kamar hitung *Improved Neubauer*, dan p adalah tingkat pengenceran yang digunakan (Adil, 2002).

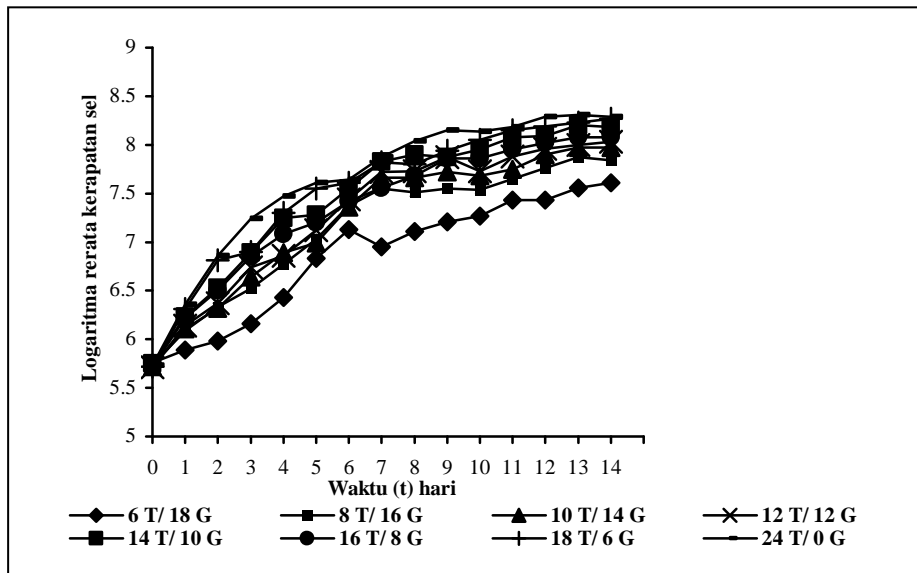
Kadar klorofil kultur perlakuan *Chlorella* diukur menggunakan metode Vonshak 1990 (dalam Hendrayanti, 1995) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 10 ml sampel kultur perlakuan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang sedangkan endapannya diambil. Endapan biomassa sel *Chlorella* ditambahkan aseton 90% sehingga volume akhir menjadi 10 ml, kemudian dimasukkan beberapa butir *glass bead* untuk memecah dinding sel *Chlorella*. Suspensi tersebut kemudian divorteks selama 20 menit dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 1000

rpm selama 5 menit. Supernatan diambil untuk diperiksa menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 663 dan 645 nm, sedangkan endapannya dibuang. Nilai absorbansi yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam rumus penghitungan kadar klorofil berdasarkan Meeks (1974), yaitu Total klorofil (mg/l) = $20,2 \lambda_{645nm} + 8,02 \lambda_{663nm}$; Klorofil a (mg/l) = $12,7 \lambda_{663nm} - 2,69 \lambda_{645nm}$; Klorofil b (mg/l) = $22,9 \lambda_{645nm} - 4,64 \lambda_{663nm}$.

Hasil dan Pembahasan

Kurva Pertumbuhan

Kurva pertumbuhan *Chlorella* dalam BBM dengan variasi fotoperiodisitas selama 14 hari pengamatan disajikan dalam bentuk grafik transformasi rerata kerapatan sel ($\log x$) (Gambar 1). Kurva pertumbuhan *Chlorella* pada masing-masing perlakuan menunjukkan pola yang hampir sama, hanya terdapat perbedaan dalam waktu dan kerapatan sel yang dicapai pada saat *peak*. Pola kurva pertumbuhan tersebut dapat digunakan untuk menentukan fase-fase yang dialami oleh kultur *Chlorella*.



Gambar 1. Rerata kerapatan sel mikroalga marga *Chlorella* dalam Medium Basal Bold dengan variasi fotoperiodisitas selama 14 hari pengamatan

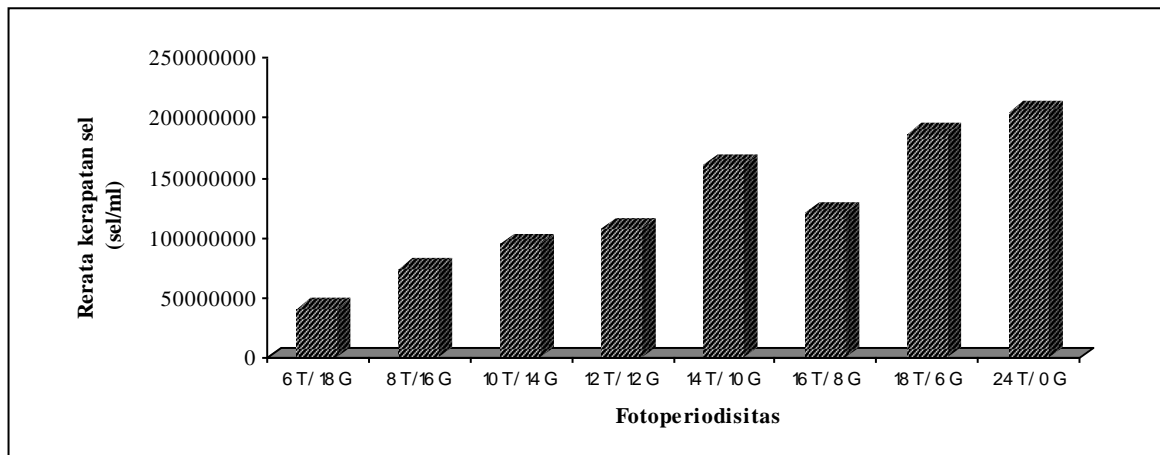
Pola kurva pertumbuhan *Chlorella* pada semua perlakuan fotoperiodisitas tidak memperlihatkan adanya fase adaptasi. Pengamatan yang dilakukan 24 jam setelah inokulasi menunjukkan terjadinya peningkatan kerapatan sel pada semua perlakuan (Gambar 1). Hal tersebut dapat terjadi karena pada waktu pengamatan (24 jam setelah inokulasi) fase adaptasi kemungkinan telah terlewati.

Medium kultur dan kondisi lingkungan yang digunakan kemungkinan berpengaruh terhadap lama fase adaptasi. Penggunaan media kultur (MBB) dan kondisi lingkungan yang sama seperti pemeliharaan kultur sebelumnya memungkinkan sel-sel mikroalga yang diinokulasikan mampu bertahan hidup dan berada dalam kondisi siap untuk melakukan pembelahan sel. Inokulasi sejumlah sel-sel mikroorganisme, termasuk mikroalga, ke dalam media dan kondisi lingkungan yang sama seperti pada pemeliharaan kultur sebelumnya menyebabkan tidak terlihatnya fase adaptasi dan fase eksponensial segera berlangsung (Madigan *et al.*, 1997).

Fase eksponensial pada semua perlakuan mulai terlihat pada hari ke-1 hingga hari ke-13 (Gambar 1). Proses perbanyakan sel *Chlorella* selama fase eksponensial berlangsung sangat cepat sehingga menghasilkan pertambahan

populasi yang sangat cepat pula. Pertambahan populasi sel *Chlorella* yang sangat cepat tersebut kemungkinan terjadi karena terciptanya kondisi lingkungan yang sesuai bagi pertumbuhan *Chlorella*. Kebutuhan nutrisi sel *Chlorella* dapat dipenuhi melalui penggunaan MBB sebagai media kultur. Cahaya yang dibutuhkan dalam proses fotosintesis dapat dipenuhi oleh penggunaan sumber cahaya dengan intensitas yang sesuai (1500 lux) meskipun dengan pemberian fotoperiodisitas yang berbeda-beda.

Setelah mencapai puncak, pada kurva pertumbuhan terlihat adanya penurunan rerata kerapatan sel yang tidak signifikan (Gambar 1). Hal tersebut dapat dilihat pada kultur dengan pemberian fotoperiodisitas 8 T/ 16 G, 14 T/ 10 G, 16 T/ 8 G, dan 24 T/ 0 G. Penurunan rerata kerapatan sel belum terlihat pada keempat kultur perlakuan lainnya (fotoperiodisitas 6 T/ 18 G, 10 T/ 14 G, 12 T/ 12 G, dan 18 T/ 6 G) namun pertambahan kerapatan sel yang signifikan sudah tidak lagi terjadi. Kedua hal tersebut menandakan bahwa semua kultur perlakuan mulai memasuki fase stasioner. Fase stasioner ditandai dengan tidak adanya pertambahan maupun pengurangan kerapatan sel secara signifikan (Madigan *et al.*, 1997).



Gambar 2. Rerata kerapatan sel *Chlorella* dalam *Medium Basal Bold* pada saat *peak* dengan berbagai variasi fotoperiodisitas

Pencapaian fase stasioner oleh suatu kultur mikroalga berkaitan dengan berkurangnya sejumlah besar nutrisi dalam media kultur dan terjadinya mekanisme autoinhibisi (Fogg & Thake, 1987). Berkurangnya ketersediaan nutrisi seperti nitrat dan besi dapat menjadi faktor pembatas pertumbuhan (Fogg & Thake, 1987). Mekanisme autoinhibisi dapat terjadi karena akumulasi berlebih senyawa-senyawa sisa metabolisme yang dihasilkan oleh sel-sel mikroalga. Apabila mekanisme autoinhibisi terjadi dalam suatu kultur mikroalga, maka pertumbuhan akan berhenti saat mencapai kerapatan sel tertentu (Fogg & Thake, 1987).

Penurunan kerapatan sel juga dapat disebabkan berkurangnya intensitas cahaya yang dapat diterima oleh sel *Chlorella* akibat adanya fenomena pembentukan bayangan oleh sel-sel mikroalga tersebut dalam kultur (*self-shading*). Fenomena tersebut terjadi karena kultur semakin padat, sehingga hanya sel-sel yang berada di permukaan (sisi atas dan samping botol kultur) saja yang dapat menerima cahaya dalam jumlah yang cukup (Fogg & Thake 1987). Sel-sel yang berada di bagian lebih dalam menjadi kekurangan cahaya yang dibutuhkan dalam proses fotosintesis sehingga metabolisme sel berjalan lebih lambat dan pada akhirnya berpengaruh terhadap kerapatan sel (Reynolds, 1984; Fogg & Thake 1987).

Kerapatan sel

Rerata kerapatan sel *Chlorella* pada saat inokulasi berkisar antara 517.778—569.722 sel/ml. Rerata kerapatan sel *Chlorella* pada saat *peak* (puncak) ditunjukkan pada Gambar 2.

Berdasarkan hasil penghitungan, rerata kerapatan sel setelah inokulasi meningkat pada semua perlakuan fotoperiodisitas. Peningkatan rerata kerapatan sel *Chlorella* (sel/ml) pada kedelapan kultur perlakuan menunjukkan adanya pemanfaatan energi cahaya bagi pertumbuhan mikroalga tersebut. Cahaya merupakan faktor utama dalam proses fotosintesis yang dilakukan oleh sel-sel *Chlorella*. Cahaya diserap oleh pigmen-pigmen fotosintetik yang terdapat di dalam kloroplas kemudian diubah menjadi energi kimia dalam

bentuk ATP dan NADPH melalui reaksi terang. Energi kimia tersebut kemudian digunakan untuk mereduksi karbondioksida (CO₂) menjadi senyawa-senyawa organik melalui reaksi gelap (Sze, 1993; Madigan *et al.*, 1997). Senyawa-senyawa organik yang dihasilkan melalui proses fotosintesis adalah glukosa, lemak, asam amino, dan asam karboksilat (Clegg & Mackean, 2000). Senyawa organik tersebut antara lain berperan sebagai senyawa pembangun (*building blocks*) komponen-komponen sel *Chlorella*.

Sebagai salah satu produk fotosintesis, glukosa merupakan senyawa karbon organik esensial bagi pertumbuhan sel *Chlorella*. Glukosa dapat langsung diuraikan melalui proses respirasi dan dapat pula disimpan dalam bentuk pati sebagai cadangan energi. Penguraian glukosa melalui proses respirasi akan menghasilkan energi dalam bentuk ATP. Energi tersebut kemudian digunakan untuk menyintesis senyawa-senyawa makromolekul lain serta berperan dalam berbagai reaksi metabolisme yang mendukung proses pertumbuhan dan pembelahan sel, sehingga pada akhirnya akan meningkatkan kerapatan sel.

Pemberian variasi fotoperiodisitas terhadap kultur *Chlorella* ternyata memberikan hasil kerapatan sel (sel/ml) yang berbeda-beda. Hal tersebut ditegaskan oleh hasil uji Kruskal-Wallis terhadap data rerata kerapatan sel selama 14 hari pengamatan yang menunjukkan adanya pengaruh variasi fotoperiodisitas terhadap kerapatan sel *Chlorella*. Selain itu, hasil uji perbandingan berganda terhadap data rerata kerapatan sel selama 14 hari pengamatan menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ($p > 0,01$) antarperlakuan.

Hasil kerapatan sel (sel/ml) yang berbeda-beda tersebut disebabkan oleh perbedaan lama periode terang dan gelap yang diberikan kepada kultur. Periode terang yang diberikan kepada masing-masing kultur perlakuan (6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, dan 24 jam) berpengaruh terhadap dua tahap awal yang terjadi selama siklus hidup sel *Chlorella*, yaitu tahap pertumbuhan (*growth phase*) dan tahap pematangan awal (*early ripening phase*). Kedua tahap tersebut hanya akan terjadi bila tersedia cahaya dalam jumlah yang mencukupi.

Selama tahap pertumbuhan (*growth phase*) berlangsung, ketersediaan cahaya dimanfaatkan oleh sel *Chlorella* untuk berfotosintesis dengan aktif sehingga menghasilkan peningkatan ukuran autospora. Selain itu, ketersediaan cahaya untuk proses fotosintesis juga dibutuhkan oleh sel *Chlorella* dalam mempersiapkan proses pembelahan sel (tahap pematangan awal/ *early ripening phase*). Periode gelap yang diberikan kepada kultur berperan dalam proses pembelahan sel (Lorenzen 1964; Kaftan *et al.*, 1999).

Hasil penghitungan rerata kerapatan sel menunjukkan bahwa peningkatan rerata kerapatan sel *Chlorella* pada saat *peak* (puncak) berbanding lurus dengan peningkatan lama pemberian periode terang pada kultur. Hal tersebut ditegaskan oleh persamaan regresi linier sebagai berikut: $\hat{Y} = 24634821,214 + 21977643,869 X$, dimana Y adalah kepadatan sel dan X adalah fotoperiodesitas. Kepadatan sel tergantung pada fotoperiodesitas sebesar $aX + b$. Pengecualian terjadi pada kultur dengan pemberian fotoperiodisitas 14 T/ 10 G yang memiliki kerapatan sel pada saat *peak* lebih tinggi (160.140.000 sel/ml) dibanding kultur dengan pemberian fotoperiodisitas 16 T/ 8 G (121.040.000 sel/ml). Kultur dengan pemberian periode terang 16 jam lebih lama daripada kultur dengan pemberian periode terang 14 jam, meskipun demikian kepadatan sel dari kultur (16 jam terang) lebih rendah.

Semakin lama periode terang yang diberikan kepada kultur akan menyebabkan peningkatan kapasitas fotosintesis. Hal tersebut berpengaruh terhadap energi yang dihasilkan untuk melakukan proses pertumbuhan dan persiapan pembelahan sel (Clegg & Mackean, 2000). Oleh karena itu, semakin lama periode terang yang diberikan kepada kultur akan

menghasilkan kerapatan sel (sel/ml) yang semakin tinggi.

Pemberian periode terang secara kontinu (24 T/ 0 G) pada kultur *Chlorella* menghasilkan rerata kerapatan sel tertinggi saat *peak*, yaitu sebesar 204.680.000 sel/ml. Hal itu disebabkan kultur dengan pemberian fotoperiodisitas 24 T/ 0 G memiliki kapasitas fotosintesis tertinggi dibanding kultur perlakuan lainnya. Sel-sel *Chlorella* pada kultur tersebut menghasilkan lebih banyak energi yang tersimpan dalam bentuk senyawa karbon organik esensial (glukosa). Energi tersebut digunakan oleh sel-sel *Chlorella* untuk melakukan proses pertumbuhan dan pembelahan sel. Pemberian periode terang secara kontinu menyebabkan autospora yang dihasilkan oleh sel induk akan mulai berfotosintesis dengan aktif dan siap memulai siklus hidup berikutnya.

Kerapatan sel yang tinggi pada kultur dengan pemberian fotoperiodisitas 24 T/ 0 G ternyata tidak didukung oleh kualitas selnya. Pengamatan yang dilakukan pada hari ke-14 menunjukkan bahwa sel-sel *Chlorella* pada kultur tersebut kurang berwarna hijau dibandingkan sel-sel perlakuan lainnya. Hasil pengukuran kadar klorofil pada kultur tersebut juga memberikan hasil yang paling rendah (Tabel 1). Hal tersebut diduga berkaitan dengan berkurangnya sejumlah besar nutrisi dalam medium kultur, terutama unsur nitrogen (N). Pemberian periode terang secara kontinu kemungkinan berpengaruh terhadap peningkatan penyerapan sumber nitrogen dalam medium kultur oleh sel *Chlorella*. Penyerapan nitrat dan nitrit tergantung pada ketersediaan cahaya dan berkaitan dengan aktivitas fotosistem II di dalam kloroplas (Soeder & Stengel, 1974). Nitrogen (N) merupakan salah satu komponen penyusun klorofil. Apabila kultur mengalami defisiensi unsur tersebut maka proses sintesis klorofil akan terganggu dan mengakibatkan penurunan kandungan klorofil sel *Chlorella*.

Tabel 1. Kadar klorofil total, klorofil a, dan klorofil b tiap perlakuan pada hari ke-14 pengamatan

Variasi fotoperiodisitas	Total klorofil (mg/l)	Klorofil a (mg/l)	Klorofil b (mg/l)
6 T/ 18 G	3,04064	1,20032	2,18372
8 T/ 16 G	3,01332	1,30686	2,37246
10 T/ 14 G	3,29582	1,44581	2,62406
12 T/ 12 G	3,13452	1,38306	2,50986
14 T/ 10 G	3,41702	1,52201	2,76146
16 T/ 8 G	3,54534	1,47897	2,68722
18 T/ 6 G	3,30294	1,32657	2,41242
24 T/ 0 G	2,66992	1,09096	1,98316

Kultur *Chlorella* dengan pemberian periode terang-gelap (6 T/ 18 G, 8 T/ 16 G, 10 T/ 14 G, 12 T/ 12 G, 14 T/ 10 G, 16 T/ 8 G, 18 T/ 6 G) ternyata memberikan hasil kerapatan sel (sel/ml) yang lebih rendah dibanding kultur dengan pemberian periode terang secara kontinu. Kerapatan sel *Chlorella* (sel/ml) semakin rendah seiring dengan semakin lama periode gelap yang diberikan kepada kultur.

Periode gelap yang diberikan pada kultur mengakibatkan terjadinya penurunan kapasitas fotosintesis. Reaksi terang dalam proses fotosintesis tidak akan terjadi dalam kondisi gelap, namun proses respirasi akan terus berlangsung. Hal tersebut kemungkinan menyebabkan jumlah CO₂ yang dihasilkan melalui respirasi lebih besar daripada jumlah yang digunakan untuk fotosintesis. Sejumlah CO₂ akan dilepaskan ke luar sel *Chlorella* dalam kondisi gelap melalui proses respirasi tanpa digunakan kembali oleh sel tersebut (Clegg & Mackean, 2000). Semakin lama periode gelap yang diberikan kepada kultur maka akan semakin banyak CO₂ yang dilepaskan ke luar sel, sedangkan senyawa karbon organik esensial (glukosa) yang dibentuk semakin sedikit. Oleh karena itu, semakin lama periode gelap yang diberikan kepada kultur maka akan semakin sedikit energi yang dapat digunakan untuk proses pertumbuhan dan pembelahan sel *Chlorella*. (Perlu dibentuk data pendukung (CO₂ dan glukosa)

Pemberian periode terang-gelap pada kultur *Chlorella* juga menyebabkan pengurangan biomassa sel. Hal tersebut disebabkan hilangnya sejumlah biomassa sel dalam keadaan gelap melalui proses respirasi (Lee & Lee, 2001). Sel *Chlorella* akan menggunakan komposisi biokimia selnya dalam proses metabolisme untuk mendapatkan energi dalam keadaan tanpa cahaya (periode gelap). Hal tersebut akan menyebabkan penurunan berat sel (Ogbonna *et al*, 1999). Oleh karena itu, semakin lama periode gelap yang diberikan kepada kultur *Chlorella* maka jumlah biomassa yang hilang dalam keadaan gelap juga akan semakin besar. Hal tersebut kemungkinan menyebabkan semakin lama periode gelap yang diberikan kepada kultur

Chlorella akan memberikan hasil kerapatan sel (sel/ml) yang semakin rendah.

Kultur dengan pemberian fotoperiodisitas 14 T/ 10 G ternyata menghasilkan kerapatan sel pada saat *peak* yang lebih tinggi (160.140.000 sel/ml) dibanding kultur dengan pemberian fotoperiodisitas 16 T/ 8 G (121.040.000 sel/ml), namun tetap lebih rendah dibanding kultur dengan pemberian fotoperiodisitas 18 T/ 6 G (186.468.750 sel/ml) dan 24 T/ 0 G (204.680.000 sel/ml). Pemberian fotoperiodisitas 14 T/ 10 G digunakan dalam pemeliharaan kultur koleksi *Chlorella* hasil isolasi dari tanah di Depok. Pemberian fotoperiodisitas yang sama seperti saat pemeliharaan kultur koleksi kemungkinan menyebabkan kultur *Chlorella* telah beradaptasi dengan baik pada fotoperiodisitas tersebut.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fotoperiodisitas berpengaruh terhadap kerapatan sel mikroalga marga *Chlorella* Beijerinck yang ditumbuhkan dalam Medium Basal Bold (MBB). Semakin lama periode terang diberikan kepada kultur perlakuan, kerapatan sel semakin meningkat. Fotoperiodisitas optimum bagi kerapatan sel mikroalga marga *Chlorella* Beijerinck dalam MBB selama 14 hari pengamatan adalah 24 T/ 0 G. Fotoperiodisitas tersebut menghasilkan kerapatan sel tertinggi (204.680.000 sel/ml) pada saat *peak*. Kadar klorofil yang tertinggi (3,54534 mg/l) pada pengamatan hari ke-14 dicapai oleh kultur dengan pemberian fotoperiodisitas 16 T/ 8 G, sedangkan kadar klorofil yang terendah (2,66992 mg/l) dicapai oleh kultur dengan pemberian fotoperiodisitas 24 T/ 0 G.

Daftar Pustaka

Adil, E.I.M. 2002. *Penuntun Praktikum Fisiologi Hewan*. Jurusan Biologi. FMIPA UI, Depok.

- Agustini, N.W.S. dan Kabinawa, I.N.K. 1993. Pengaruh Penambahan Nitrogen Terhadap Produksi Biomassa dan Pigmen *Chlorella pyrenoidosa* dalam skala laboratorium. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Mikroalga 1993*: 151-159.
- Chrismadha, T., Widiyanto, T., Mardiaty, Y. dan Rosidah. 1998. Pengaruh Intensitas Cahaya dan Kepadatan Kultur Terhadap Produktivitas Alga *Chlorella* sp. Dan *Ankistrodesmus convolutus*. *Hasil Penelitian Puslitbang Limnologi Tahun 1997/1998*, Puslitbang Limnologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong: 335-342.
- Clegg, C.J. and Mackean, D.G. 2000. *Advanced Biology: Principles and Applications*. 2nd ed. John Murray Ltd., London.
- Fogg, G.E. and Thake, B. 1987. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. 3rd ed. The University of Wisconsin Press, Wisconsin.
- Hadiwigeno, S., Cholik, F. dan Sukadi, F. 1993. Peranan Bioteknologi Mikroalga dalam Rangka Menunjang Pengembangan Industri Perikanan. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Mikroalga 1993*: 7-17.
- Hase, E. 1962. Cell division. In: Lewin, R.A. (ed.) 1962. *Physiology and Biochemistry of Algae*. Academic Press, New York.
- Hendrayanti, D. 1995. Pengaruh Penambahan Beberapa Konsentrasi Glukosa terhadap Pertumbuhan *Chlorella pyrenoidosa* Chick dalam Medium Beneck. *Skripsi Sarjana Biologi FMIPA-UI, Depok*.
- Kabinawa, I.N.K. 1993. Kultur Mikroalga: Aspek dan Prospek. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Mikroalga 1993*: 21-43.
- Kabinawa, I.N.K., Agustini, N.W.S. dan Adam, I. 1993. Pengaruh Penambahan N dan P terhadap Produksi Protein Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*. *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Mikroalga 1993*: 112-120.
- Kaftan, D., Meszaros, T., Whitmarsh, J. and Nedbal, L. 1999. Characterization of Photosystem II Activity and Heterogeneity during the Cell Cycle of the Green Alga *Scenedesmus quadricauda*. *Journal of Plant Physiology* 120 (2): 433-441.
- Lee, Kwangyong and Lee, Choul-Gyun. 2001. Effect of Light/Dark Cycles on Wastewater Treatments by Microalgae. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 6(3): 194-199.
- Lorenzen, H. 1964. Synchronization of *Chlorella* with Light-Dark Changes and Periodical Dilution of the Population to a Standard Cell Number. In: Zeuthen, E. (ed.). 1964. *Synchrony in Cell Division and Growth*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Madigan, M.T., Partinko, J.M. and Parker, J. 1997. *Brock Biology of Microorganism*. 8th ed. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliff.
- Meeks, J.C. 1974. Chlorophylls. Dalam: Stewart, W.D.P. (ed.). 1974. *Algal physiology and biochemistry*. University of California Press, Los Angeles.
- Nichols, H.W. 1973. Growth media freshwater. Dalam: Stein, J.R (ed.). 1973. *Handbook of physiological methods, culture methods & growth measurement*. Cambridge University Press, Cambridge: 7--24.
- Ogbonna, J.C., Soejima, T. and Tanaka, H. 1999. An Integrated Solar and Artificial Light System for Internal Illumination of Photobioreactors. *Journal of biotechnology* 70: 289-297.
- Pandey, S.N. and Trivedi P.S. 1995. *A Textbook of Algae*. Vikas Publishing House PVT. Ltd., New Delhi.
- Reynolds, C.S. 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Sachlan, M. 1982. *Planktonologi*. Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Diponegoro, Semarang.
- Soeder, C. and Stengel, E. 1974. Physico-chemical Factors Affecting Metabolism and Growth Rate. In: Stewart, W.D.P. (ed.). 1974. *Algal Physiology and Biochemistry*. Blackwell Scientific Publication, Oxford.
- Sze, P. 1993. *A Biology of the Algae*. 2nd ed. Wm. C. Publishers, Dubuque.
- Wirosaputro, S. 1998. *Chlorella: Makanan Kesehatan Global Alami*. Gajah Mada University Press.

