

Kultivasi Mikroalga sebagai Produsen Protein Sel Tunggal dalam Bioreaktor Kolam Lintasan Terbuka (*RACEWAY OPEN POND BIOREACTOR*)

Microalgae Chlamydomonas reinhardtii Cultivation as A Single Cell Protein in Raceway Open Pond Bioreactor

Sumardiyono ^{1*}

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Setia Budi, Surakarta
Jln. Letjen Sutoyo-Mojosongo Surakarta-57127 Telp. 0271-852578

*Corresponding Author: dionsumarjo@gmail.com

ABSTRAK : Telah dilakukan penelitian kultivasi *Chlamydomonas reinhardtii* dalam bioreaktor kolam terbuka (*open pond bioreactor*) dengan media air laut. Kultivasi dilakukan dalam media dengan kedalaman 10, 12 dan 14 cm terhadap dasar kolam, pada suhu 30, 40 dan 50°C. Sumber cahaya dihasilkan oleh lampu listrik tabung (TL) dengan daya 8, 15, 23 Watt. Pertumbuhan mikroalga diamati setiap 8 jam dengan mengukur densitas selnya menggunakan spektrofotometer. Hasil penelitian 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, suhu 45 °C, dan intensitas cahaya 15 watt dengan jumlah sel sebanyak $1,65 \times 10^8$. Laju pertumbuhan mikroalga *C. reinhardtii* tercepat didapatkan pada kedalaman media kultur 12 cm, suhu 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

ABSTRACT: Research on the cultivation of *Chlamydomonas reinhardtii* in an open pond bioreactor has been carried out using seawater media. Cultivation using media with a depth of 10, 12 and 14 cm to the bottom of the pond, at a temperature of 30, 40 and 50 ° C. The light source is produced by a tube electric lamp (TL) with a power of 8, 15, 23 Watt. Microalgae growth was observed every 8 hours by measuring the density of the cells using a spectrophotometer. The results showed that the depth of cultivation media, temperature, and light intensity affected the growth rate of *C. reinhardtii* microalgae. The highest number of *C. reinhardtii* microalgae cells was obtained at a culture media depth of 12 cm, a temperature of 45 ° C, and a light intensity of 15 watts with a cell number of 1.65×10^8 . The fastest growth rate of *C. reinhardtii* microalgae was obtained at a culture media depth of 12 cm, a temperature of 40 ° C, and a light intensity of 23 watts with a *k* value of 2.71×10^{-2} cells / hour. The highest protein content was obtained at a culture media depth of 10 cm, a temperature of 45 ° C, and a light intensity of 15 watts with a protein content of 4.444 mg / 100 ml sample.

Keywords : *Chlamydomonas reinhardtii*, race away open pond bioreactor, single cells protein cultivation

1. 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 mikroalga. Waktu generasi mikroalga sebagai sumber biomassa tergolong pendek, maka seluruh organ dapat dipanen dan dimanfaatkan. Perbanyakannya dapat diatur sesuai dengan target produk akhir yang diharapkan. Kultivasi mikroalga dapat dilakukan dalam kolam *in vitro* untuk

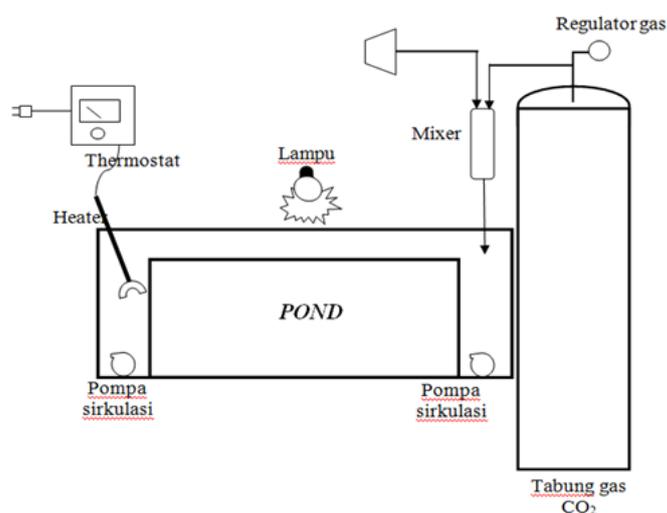
memperoleh kepadatan sel yang cukup untuk produksi biomassa PST. Kultivasi mikroalga dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan antara lain : intensitas cahaya, kedalaman media kultur, sirkulasi udara, serta kandungan nutrisi media pertumbuhan. Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa penggunaan makronutrien seperti fosfat, sulfur, karbon dan mikronutrien dapat mempengaruhi profil respon ekspresi gen atau tingkat metabolit (Lilly, 2002; Bolling, 2005). Selain itu nutrisi yang terkandung di dalamnya akan mempengaruhi sintesis protoplasma sebagai faktor kimia utama penentu kualitas alga (Sriharti dan Carolina, 1999). 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.

2. METODE 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 demineralisata, 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 Gambar1.



Gambar 1. Rangkaian Alat Percobaan

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 ditambah nutrisi secukupnya. Pengaduk berupa baling-baling digunakan untuk mendorong media kultur agar bergerak mengikuti lintasan kolam. Gas CO₂ sebagai sumber karbon dialirkan secara kontinu dari tabung gas CO₂ ke dalam kolam. Variabel yang digunakan adalah kedalaman media

kultivasi (10, 12, 14 cm), intensitas cahaya lampu TL(8, 15, 23 watt), dan suhu kultivasi (30, 40, 50°C). Jumlah sel mikroalga diamati setiap 8 jam dengan 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 Hirata *et al* (1981).

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

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

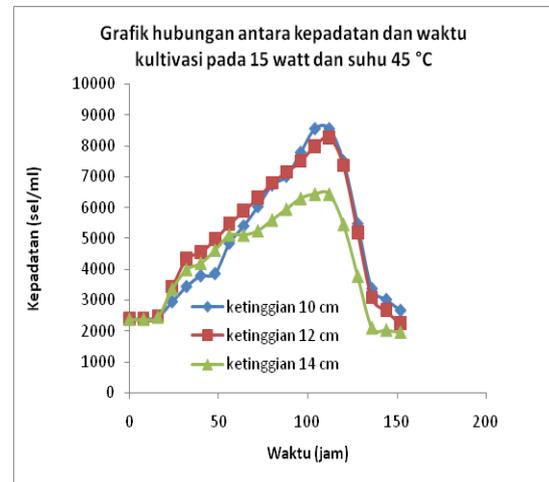
Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh faktor ekologi, antara lain 1) proses mekanis atau abrasi, 2) proses sedimentasi atau pengendapan, 3) pengurangan penetrasi cahaya, 4) permukaan habitat untuk pertumbuhan, 5) adsorpsi dan atau desorpsi dari berbagai zat kimia, dan 6) pengaruh fluktuasi suhu.

3.1. Pengaruh Kedalaman Media Kultivasi terhadap Kepadatan Sel

Kedalaman cairan media kultivasi dalam bioreaktor berpengaruh terhadap kepadatan sel. Hasil penelitian ditunjukkan pada Gambar 2 di mana jumlah sel terbanyak pada ketinggian 12 cm (volume cairan kultivasi 20 liter) dengan jumlah sel sebesar $165,2 \times 10^6$ sel, walaupun bila ditinjau dari kepadatan selnya lebih rendah dibandingkan pada ketinggian 10 cm. Semakin besar kedalaman media kultivasi, maka cahaya yang masuk ke dalam media lebih sedikit, cahaya kesulitan menjangkau dengan kedalaman yang semakin besar.

Cahaya dibutuhkan oleh mikroalga sebagai energi dalam reaksi fotosintesis dan sintesis sel. Semakin banyak cahaya yang masuk, mengakibatkan reaksi

fotosintesis dan sintesis sel akan berjalan lebih baik, yang pada akhirnya akan meningkatkan kepadatan sel (Huisman dan Weissing,1995).



Gambar 2. Grafik hubungan antara kepadatan dan waktu kultivasi pada kultivasi dengan berbagai kedalaman media kultivasi, 15 watt dan suhu 45 °C.

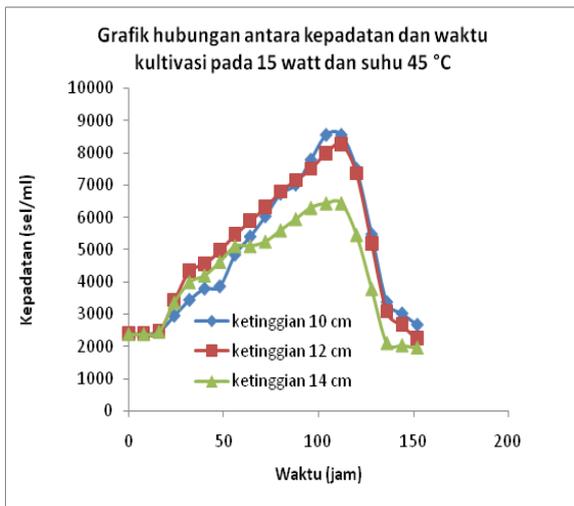
Jika kedalaman media kultur lebih dangkal, maka cahaya yang tersedia lebih banyak, tetapi jumlah nutrisi yang tersedia lebih sedikit. Konsekuensinya, nutrisi mudah berkurang dan total biomassa yang dihasilkan menjadi rendah. Peningkatan kedalaman media kultur akan meningkatkan jumlah dari biomassa karena volume media kultur lebih besar dan lebih banyak nutrisi yang tersedia untuk pertumbuhan.

C. reinhardtii merupakan mikroorganisme yang motil dan fotokatalitik, yang memungkinkan *Chlamydomonas reinhardtii* untuk berkembang pada tempat yang memiliki

cahaya yang cukup (relatif dangkal) (Ozby, 2002).

3.2. Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Kepadatan Sel

Karena pertumbuhan sel dipengaruhi oleh keberhasilan proses fotosintesis, maka intensitas cahaya berpengaruh juga terhadap kepadatan sel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, intensitas cahaya 15 Watt didapatkan kepadatan sel yang terbesar. Hasil penelitian ditunjukkan pada Gambar 3, 4, dan 5.

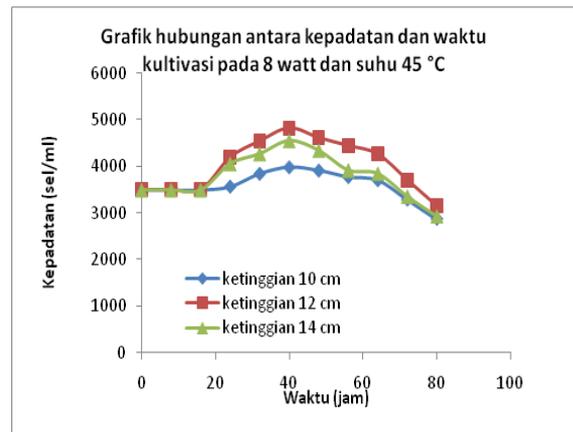


Gambar 3. Grafik hubungan antara kepadatan dan waktu kultivasi pada 15 watt dan suhu 45 °C

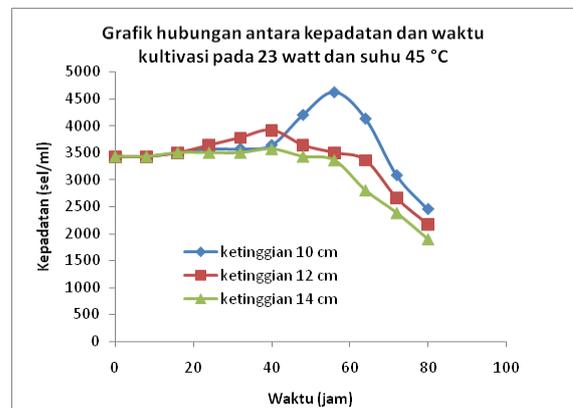
Cahaya memiliki efek yang sangat signifikan terhadap pertumbuhan dan komposisi internal mikroalga (Barnes and Mann, 1999). Bilamana sel mikroalga dikenai cahaya dengan intensitas cahaya yang terlalu tinggi, fotosintesis akan

terhambat, oleh karena itu tingkat pertumbuhan kultur alga menurun.

Proses ini dikenal sebagai penghambatan fotosintesis. Pengaruh ini disebabkan oleh reaksi foto oksidasi di dalam sel, di mana kelebihan cahaya tidak dapat diserap ke dalam alat fotosintesis (Barnes and Mann, 1999).



Gambar 4. Grafik hubungan antara kepadatan dan waktu kultivasi pada 15 watt dan suhu 45 °C



Grafik 5. Grafik hubungan antara kepadatan dan waktu kultivasi pada 23 watt dan suhu 45 °C

Sinar UV dibutuhkan *C. reinhardtii* untuk melakukan fotosintesis. Semakin dalam cairan ketinggian kultivasi

mikroalga, maka jumlah cahaya yang masuk semakin berkurang, dan pertumbuhan mikroalga juga akan berkurang (Wang, 1974).

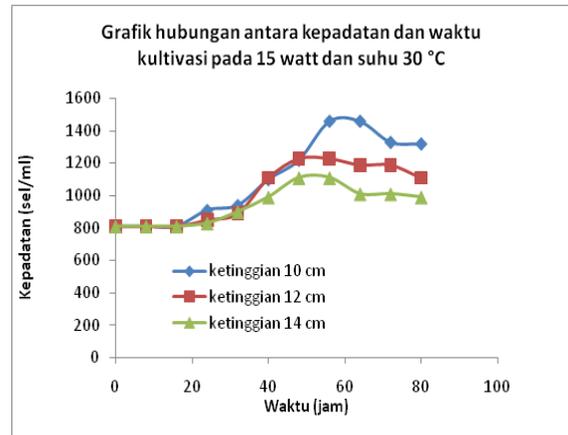
Tetapi kebutuhan sinar UV ini ada ambang batasnya, sehingga dari penelitian didapatkan bahwa hasil kultivasi terbaik dicapai pada intensitas cahaya 15 W, suhu 45°C, dengan ketinggian 12 cm yang menghasilkan jumlah sel sebanyak $1,65 \times 10^8$. Sinar UV yang berlebihan akan menyebabkan kematian dari sel *C. reinhardtii* (Barnes and Mann, 1999).

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).

3.3. 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°C akan didapatkan kepadatan sel yang terbesar. Hal ini dapat lihat pada Gambar 6. Suhu optimal pertumbuhan mikroalga *C.reinhardtii* di media air tawar adalah dibawah 35°C (Droste and Ronald, 1997). 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.



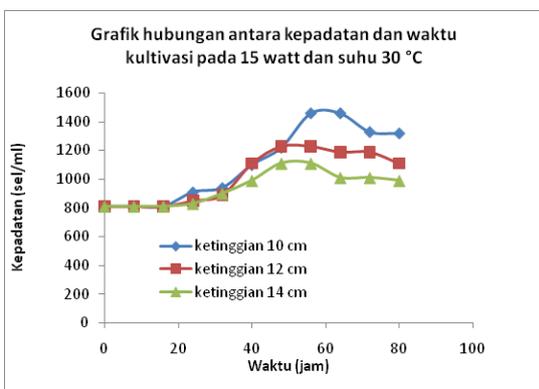
Gambar 6. Grafik hubungan antara kepadatan dan waktu kultivasi pada 23 watt dan suhu 45 °C

Kebutuhan sinar UV ada ambang batasnya, sehingga dari penelitian didapatkan bahwa hasil kultivasi terbaik dicapai pada intensitas cahaya 15 W, suhu 45°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* (Barnes and Mann, 1999).

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).

3.4 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 °C akan didapatkan kepadatan sel yang terbesar. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 7. Suhu optimal pertumbuhan mikroalga *C.reinhardtii* di media air tawar adalah di bawah 35 °C (Droste and Ronald, 1997). 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.



Gambar 7. Grafik hubungan antara kepadatan dan waktu kultivasi pada 15 watt dan suhu 30 °C

Hasil penelitian terbaik didapatkan pada kultivasi dengan temperatur 45 °C. Hasil ini disebabkan karena pada suhu tersebut ada nutrisi 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 nutrisi juga semakin besar.

3.5. Penentuan Laju Pertumbuhan Mikroalga

Dengan persamaan Hirata, 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 °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 di dalam sel, di mana kelebihan cahaya tidak dapat diserap ke dalam alat fotosintesis (Barnes and Mann, 1999).

3.6. 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 $1,65 \times 10^8$.

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.

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

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian kultivasi mikroalga *C. reinhardtii* dalam media air laut, dapat diambil kesimpulan bahwa kedalaman media kultivasi, suhu kultivasi, 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 sebesar $1,65 \times 10^8$.

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.

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

Barnes, R. and Mann, K. (1999). *Fundamentals of Aquatic Ecology*. Blackwell Science. Cambridge. UK: 270

Bolling, C. and Fiehn, O. (2005). Metabolite profiling of *Chlamydomonas reinhardtii* under nutrient deprivation. *Plant Physiol.*, 139(4), 1995-2005.

Droste and Ronald, L. (1997). *Theory and Practice of Water and Wastewater Treatment*. John Wiley and Sons Inc, USA.

Hirata, H, Andarias, I. and Yamasaki, S. (1981). *Effect of Salinity Temperature on Growth of The Marine Phytoplankton Chlorella*. Kaghosima Univ.

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

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.

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

Wang, W.C. (1974). *Effect of Turbidity on Algal Growth, Circular 121, State of Illinois Department of Registration and Education, 1-12*