

## Karakteristik Pertumbuhan *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. Growth Characteristics of *Tetraselmis* sp. and *Nannochloropsis* sp.

Muhammad Fakhri<sup>1\*</sup> & Nasrullah B. Arifin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Malang 65145

<sup>2</sup>Laboratorium Nutrisi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Malang 65145

\*Penulis untuk korespondensi, e-mail: mfakhri@ub.ac.id

### Abstrak

Pemantauan pertumbuhan mikroalga (*Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp.) merupakan salah satu faktor penting dalam budidaya ikan dan udang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik pertumbuhan *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. dengan mengukur kerapatan optik menggunakan metode spektrofotometri. Penyerapan 600 nm digunakan untuk kedua spesies. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan maksimum dicapai pada hari ke 6 untuk kedua mikroalga dengan nilai OD masing-masing  $1,734 \pm 0,013$  dan  $1,329 \pm 0,002$  untuk *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp.. *Tetraselmis* sp. memiliki tingkat pertumbuhan maksimum 0,74/hari dan waktu penggandaan 22,43 jam sedangkan *Nannochloropsis* sp. memiliki tingkat pertumbuhan maksimum 0,86/hari dan waktu penggandaan 19,25 jam. Penelitian ini menunjukkan bahwa absorbansi 600 nm cocok untuk mengetahui pertumbuhan mikroalga hijau dan metode spektrofotometri yang dapat digunakan secara efisien untuk memantau pertumbuhan mikroalga.

**Kata kunci:** Densitas optik, laju pertumbuhan, mikroalga, spektrofotometri, waktu penggandaan

### Abstract

Monitoring of microalgae growth (*Tetraselmis* sp. and *Nannochloropsis* sp.) is one of the essential factors in fish and shrimp cultures. The purpose of this study was to determine the growth characteristics of *Tetraselmis* sp. and *Nannochloropsis* sp. by measuring optical density using spectrophotometry method. Absorbance of 600 nm was used for both species. The results showed that the maximum growth was achieved at day 6 for both microalgae with OD value of  $1.734 \pm 0.013$  and  $1.329 \pm 0.002$  for *Tetraselmis* sp. and *Nannochloropsis* sp., respectively. *Tetraselmis* sp. had a maximum growth rate of 0.74/day and doubling time of 22.43 hours while *Nannochloropsis* sp. had a maximum growth rate of 0.86/day and doubling time of 19.25 hours. This study shows that absorbance of 600 nm is suitable for determine the growth of green microalgae and spectrophotometry method can be used efficiently to monitor microalgal growth.

**Keywords:** Doubling time, growth rate, microalgae, optical density, spectrophotometry

### Pendahuluan

Budidaya mikroalga merupakan bagian yang sangat penting dalam perkembangan teknologi budidaya moluska, krustacea dan ikan (Sirakov *et al.*, 2015) karena dijadikan sebagai sumber pakan alami untuk pertumbuhan organisme budidaya (Yaakob *et al.*, 2014; Freire *et al.*, 2016). Beberapa spesies mikroalga telah dipelajari sebagai sumber nutrisi pada budidaya, tetapi hanya sedikit dari jumlah mikroalga tersebut yang dapat dimanfaatkan (Guedes & Malcata, 2012).

Mikroalga harus memiliki karakteristik spesifik seperti ketersediaan strain, kemudahan kultivasi, laju pertumbuhan tinggi, karakteristik sel (seperti ukuran

yang sesuai untuk dimakan), komposisi nutrisi, mudah dicerna, dan tidak mengandung racun pada tahap pertumbuhan yang berbeda (Brown & Robert, 2002). *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. merupakan mikroalga laut yang menjadi sumber pakan utama pada larva dan juvenile moluska, udang, ikan dan zooplankton (Borowitzka, 1997; Camacho-Rodríguez *et al.*, 2013) karena memiliki kandungan protein dan asam lemak tak jenuh yang tinggi (Hermawan, 2004), dan laju pertumbuhan yang cepat (Fakhri *et al.*, 2015).

Salah satu kendala utama dalam budidaya mikroalga adalah mahalnya biaya operasional (Guedes & Malcata, 2012). Untuk alasan ini, berbagai upaya telah dilakukan dalam bentuk penelitian, pengembangan

dan komersialisasi beberapa aspek proses produksi mikroalga (Sevigné-Itoiz *et al.*, 2012). Akan tetapi, walaupun monitoring dan kontrol pertumbuhan sel merupakan tahap esensial pada teknologi mikroalga, penelitian secara detail banyak diabaikan (Havlik *et al.*, 2013). Monitoring pertumbuhan menjadi sangat penting untuk menjaga kesehatan kultur dan menghindari sedimentasi bahan organik. Beberapa kondisi penting seperti intensitas cahaya, kontrol suhu, dan konsentrasi nutrisi harus dilakukan secara optimal karena mempengaruhi sistem fisiologi mikroalga (Khoeyi *et al.*, 2012) dan untuk mencegah kerugian ekonomi (Brown *et al.*, 1997).

Pengembangan sistem yang sederhana dan efisien untuk monitoring pertumbuhan sel sangat penting untuk memperoleh viabilitas komersial dan sistem ini harus memiliki karakteristik seperti mudah, cepat, stabil, dan selektif (Havlik *et al.*, 2013). Dalam parameter yang digunakan menganalisa pertumbuhan sel, pengukuran biomassa merupakan metode dasar yang digunakan untuk mengukur penyusunan produk dan konsumsi substrat (Li *et al.*, 2014). Akan tetapi, pengukuran langsung yang dilakukan dengan penentuan berat kering atau penghitungan sel menggunakan mikroskop bersifat jenuh dan membutuhkan waktu yang relatif lama (Ribeiro-Rodrigues *et al.*, 2011).

Penggunaan *optical density* (OD) merupakan metode tidak langsung yang telah luas digunakan untuk pengukuran biomassa, karena dapat secara langsung berkorelasi dengan jumlah sel pada media dan secara mudah beradaptasi dengan sistem pengukuran otomatis, menjadikan metode OD ini sebagai alat yang bermanfaat dalam monitoring dan kontrol pertumbuhan dan biomassa mikroalga (Ribeiro-Rodrigues *et al.*, 2011). Secara umum, OD ditentukan menggunakan spektrofotometer. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan karakteristik pertumbuhan *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. dengan mengukur OD menggunakan metode spektrofotometrik.

## Metode Penelitian

### Strain dan Media Pertumbuhan Mikroalga

*Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. diperoleh dari Laboratorium Nutrisi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Media yang digunakan adalah media Walne dengan konsentrasi 1 mL per liter media.

### Kondisi Kultur

Kultur *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. yang berumur 4 hari pada fase eksponensial digunakan sebagai inokulum. Inokulum dikultivasi ke dalam

0,5 L Erlenmeyer dengan total volume media dan inokulum yaitu 0,35 L dimana konsentrasi awal sel yang digunakan yaitu OD 0,189 ( $5 \times 10^5$  sel/mL) untuk *Tetraselmis* sp. dan OD 0,154 ( $5 \times 10^5$  sel/mL) untuk *Nannochloropsis* sp. Kultur di inkubasi pada suhu  $29 \pm 2^\circ\text{C}$  dan diberi aerasi dengan laju aliran 0,01 mL/menit. Salinitas 15 ppt untuk *Tetraselmis* sp. dan 10 ppt untuk *Nannochloropsis* sp. digunakan pada studi ini. Kultur diberi pencahayaan secara kontinyu dengan intensitas cahaya 4.500 lux. Semua kultur dilakukan tiga kali ulangan.

### Analisa Pertumbuhan

Pertumbuhan mikroalga diamati dengan mengukur OD menggunakan spektrofotometer (Spectroquant Pharo 300) pada panjang gelombang 600 nm. Laju pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\mu = \frac{\ln(x_2) - \ln(x_1)}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

dimana  $\mu$  merupakan laju pertumbuhan per unit *optical density*,  $x_1$  dan  $x_2$  = *optical density* pada waktu ke-1 ( $t_1$ ) dan waktu ke-2 ( $t_2$ ), berturut-turut.

Untuk perhitungan waktu generasi atau penggandaan menggunakan rumus berikut:

$$td = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,693}{\mu} \quad (2)$$

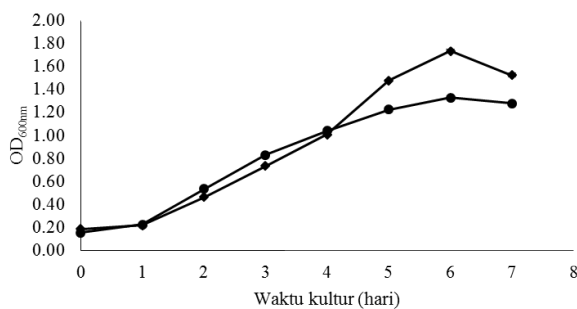
## Hasil dan Pembahasan

*Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. tergolong dalam kelompok mikroalga hijau sehingga panjang gelombang yang digunakan untuk mengukur *optical density* pada studi ini adalah 600 nm (Wang *et al.*, 2015). Karakteristik pertumbuhan *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. dapat dilihat pada Gambar 1. Pertumbuhan kedua spesies menunjukkan tidak mengalami fase lag dan masuk ke fase logaritmik secara cepat yang mengindikasikan bahwa sel mampu beradaptasi dengan baik. Hal ini sesuai dengan studi Wang *et al.*, (2009) yang menyatakan bahwa mikroalga hijau *Chlorella* sp. tidak mengalami fase lag dan dengan cepat beradaptasi tanpa mengalami stress. Barsanti dan Gualtieri (2010) menjelaskan bahwa penggunaan sel inokulum pada fase logaritmik atau eksponensial menyebabkan fase lag mikroalga menjadi sangat singkat.

Pertumbuhan *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. menunjukkan pola yang sama dimana fase eksponensial terjadi pada hari ke-3 dan fase stasioner pada hari ke-6. Fogg & Thake (1987) menjelaskan bahwa lamanya fase eksponensial mikroalga ini tergantung pada ukuran inokulum, laju pertumbuhan, kapasitas medium di perairan dan sistem kultur

mikroalga yang digunakan. Pertumbuhan tertinggi terjadi pada hari ke-6 dengan nilai OD  $1,734 \pm 0,013$  ( $5,25 \times 10^6$  sel/ml) untuk *Tetraselmis* sp. dan OD  $1,329 \pm 0,002$  ( $11,08 \times 10^6$  sel/ml) untuk *Nannochloropsis* sp.. Fakhri *et al.* (2015) melaporkan bahwa dengan menggunakan metode penghitungan sel pada kedua spesies tersebut diperoleh karakteristik pertumbuhan yang sama dengan studi ini. Hasil ini menunjukkan bahwa metode spektrofotometri dengan pengukuran OD berkorelasi langsung dengan konsentrasi sel mikroalga di media (Ribeiro-Rodrigues *et al.*, 2011).

Pada *Tetraselmis* sp. diperoleh laju pertumbuhan maksimum yaitu 0,74/hari, sedangkan *Nannochloropsis* sp. memiliki laju pertumbuhan maksimum yaitu 0,86/hari. Berdasarkan nilai laju pertumbuhan yang didapatkan maka waktu penggandaan *Tetraselmis* sp. yaitu 22,43 jam dan *Nannochloropsis* sp. yaitu 19,25 jam. Dari hasil ini dapat diindikasikan bahwa *Nannochloropsis* sp. memiliki laju pertumbuhans pesifik yang lebih tinggi dan waktu penggandaan yang lebih cepat dibandingkan *Tetraselmis* sp. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Alsull dan Omar (2012) bahwa laju pertumbuhan spesifik *Nannochloropsis* sp. yaitu 0,86/hari, tetapi lebih tinggi dibandingkan dengan Pal *et al.* (2011) yang melaporkan bahwa laju pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. yaitu 0,80/hari. Pada *Tetraselmis* sp., laju pertumbuhan pada studi ini lebih tinggi dari pada penelitian yang dilakukan oleh Michels *et al.* (2014), dimana laju pertumbuhan *Tetraselmis* sp. sebesar 0,68/hari.



Gambar 1. Karakteristik pertumbuhan *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. selama periode kultur 7 hari.

Keterangan : ●— *Nannochloropsis*; ◆— *Tetraselmis*

### Kesimpulan

Berdasarkan pengukuran dengan metode spektrofotometri, pertumbuhan *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. menunjukkan pola yang sama dan tidak mengalami fase lag. Kedua

spesies mencapai pertumbuhan tertinggi pada hari ke-6. Metode pengukuran spektrofotometri ini dapat digunakan secara efisien untuk memonitor pertumbuhan mikroalga karena dapat berkorelasi langsung dengan konsentrasi sel.

### Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya yang telah memberikan bantuan dana sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

### Daftar Pustaka

- Alsull, M. & W. Omar. 2012. Responses of *Tetraselmis* sp. and *Nannochloropsis* sp. isolated from Penang National Park Coastal Waters, Malaysia, to the combined influences of salinity, light and nitrogen limitation. International Conference on Chemical, Ecology and Environmental Sciences, Bangkok, pp. 142-145
- Barsanti, L. & P. Gualtieri. 2010. Algae : Anatomy, Biochemistry and Biotechnology. Taylor and Francis Group. CRC Press. pp. 347.
- Borowitzka, M.A. 1997. Algae for aquaculture: Opportunities and constraints. Journal of Applied Phycology. 9: 393-401.
- Brown, M. & R. Robert. 2002. Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile pacific oyster (*Crassostrea gigas*). Aquaculture. 207: 289-309.
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman & G.A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture. 151(1-4): 315-331.
- Camacho-Rodríguez, J., M.C. Cerón-García, C.V. González-López, J.M. Fernández-Sevilla, A. Contreras-Gómez & E. Molina-Grima. 2013. A low-cost culture medium for the production of *Nannochloropsis gaditana* biomass optimized for aquaculture. Bioresource Technology. 144: 57-66.
- Fakhri, M., N.B. Arifin, B. Budianto, A. Yuniarti & A.M Hariati. 2015. Effect of salinity and photoperiod on growth of microalgae *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. Nature Environment and Pollution Technology. 14(3): 563-566.
- Fogg, G. E. & B. Thake. 1987. Algal Cultures and Phytoplankton Ecology. The University of Wisconsin Press. 219 pp.
- Freire, I., A. Cortina-Burgueño, P. Grillea, M.A.

- Arizcun, E. Abellán, M. Segura, F.W. Sousa & A. Otero. 2016. *Nannochloropsis limnetica*: A freshwater microalga for marine aquaculture. *Aquaculture*. 459:124-130.
- Guedes, A.C. & F.X. Malcata. 2012. Nutritional value and uses of microalgae in aquaculture. In: Muchlisin, Z.A. (ed.), *Aquaculture*, InTech, Croatia. pp. 59-78.
- Havlik, I., P. Lindner, T. Scheper & K.F. Reardon. 2013. On-line monitoring of large cultivations of microalgae and cyanobacteria. *Trends Biotechnology*. 31(7): 406–414.
- Hermawan, A. 2004. The protein, lipid and fatty acids contents of *Tetraselmis* sp. with various culture media. Tesis. Kasetsart University, Thailand.
- Khoeyi, Z.A., Seyfabadi J. & Z. Ramezanzpour. 2012. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Aquaculture International*. 20: 41–49.
- Michels, M.H.A., P.M. Slegers, M.H. Vermue & R.H. Wijffels. 2014. Effect of biomass concentration on the productivity of *Tetraselmis suecica* in a pilot-scale tubular photobioreactor using natural sunlight. *Algal Research*. 4: 12-18.
- Pal, D., I. Khozin-Goldberg, Z. Cohen & S. Boussiba. 2011. The effect of light, salinity and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis* sp. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 90: 1429–1441.
- Ribeiro-Rodrigues, L.H., A. Arenzon, M.T. Raya-Rodriguez & N.F. Fontoura. 2011. Algal density assessed by spectrophotometry: a calibration curve for the unicellular algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*. 3(8): 225-228.
- Sevigné-Itoiz, E., C. Fuentes-Grünwald, C.M. Gasol, E. Garcés, E. Alacid, S. Rossi & J. Rieradevall. 2012. Energy balance and environmental impact analysis of marine microalgal biomass production for biodiesel generation in a photobioreactor pilot plant. *Biomass Bioenergy*. 39: 324-335.
- Sirakov, I., K. Velichkova, S. Stoyanova & Y. Staykov. 2015. The importance of microalgae for aquaculture industry. Review. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 2(4): 81-84.
- Wang, D., Y. Li, X. Hu, W. Su & M. Zhong. 2015. Combined enzymatic and mechanical cell disruption and lipid extraction of green alga *Neochloris oleoabundans*. *International Journal of Molecular Sciences*. 16: 7707-7722.
- Wang, L., M. Min, Y. Li, P. Chen, Y. Chen, Y. Liu, Y. Wang & R. Ruan. 2010. Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 162(4): 1174-1186.
- Yaakob, Z., E. Ali, A. Zainal, M. Mohamad & M.S. Takriff. 2014. An overview: biomolecules from microalgae for animal feed and aquaculture. *Journal of Biological Research*. 21: 1-10.