

JURNAL

**PERTUMBUHAN *Chlamydomonas* sp. SEBAGAI LANGKAH AWAL UNTUK
UJI TOKSISITAS LOGAM BERAT**

OLEH :

YOSHUA NOBEL SIAHAAN



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019**

GROWTH OF *Chlamydomonas* sp. AS A PRELIMINARY STEP ON THE METAL TOXICITY TESTING

by :

Yoshua Nobel Siahaan¹, Budijono², Eko Purwanto², Dwi Hindarti³

Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau
Campus BinaWidya Km 12,5 Tampan, Pekanbaru City, Riau, Indonesia.
28293

Email :Siahaanyoshuanobel@gmail.com

ABSTRACT

This study is aimed to learn the capabilities of Chlamydomonas sp. as biota qualifies for metal toxicity test. This research is done for 17 days by seeing an entire living phase of Chlamydomonas sp. in the growth curve. A cell density analysis from Chlamydomonas sp. calculated using a microscope. This result indicate that there are 4 living phases of Chlamydomonas sp. it's composed of phases lag, an exponential phase, stationary phases and phases leading to death. Chlamydomonas sp. qualified as a test biota for a heavy metal toxicity test using phytoplankton according to Asean-Canada Cooperative Programme on Marine Science Phase II. This is seen from the growth of cell density that exceeds the minimum limit on the 4th day of inoculation growth curve or at the beginning of an exponential phase with density of cell $3,68 \times 10^4$ cell.mL⁻¹.

Kata Kunci : Phytoplankton, *Chlamydomonas* sp., Toxicity test

¹) Student of Fisheries and Marine Faculty, Universitas Riau

²) Lecturer of Fisheries and Marine Faculty, Universitas Riau

³) Research Centre for Oceanography, Indonesian Institute of Science

**PERTUMBUHAN *Chlamydomonas* sp. SEBAGAI LANGKAH AWAL UNTUK
UJI TOKSISITAS LOGAM BERAT**

Oleh :

Yoshua Nobel Siahaan¹, Budijono², Eko Purwanto², Dwi Hindarti³

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

Kampus BinaWidya Km 12,5 Tampan, Kota Pekanbaru, Riau, Indonesia.

28293

Email :Siahaanyoshuanobel@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan dari *Chlamydomonas* sp. sebagai syarat biota untuk uji toksisitas logam berat. Penelitian ini dilakukan selama 17 hari dengan melihat seluruh fase hidup dari *Chlamydomonas* sp. dalam bentuk kurva pertumbuhan. Analisa kepadatan sel dari *Chlamydomonas* sp. dihitung menggunakan mikroskop. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat 4 fase hidup dari *Chlamydomonas* sp. yang terdiri dari fase lag, fase eskponensial, fase stasioner dan fase menuju kematian. *Chlamydomonas* sp. memenuhi syarat sebagai biota uji untuk uji toksisitas logam berat menggunakan fitoplankton menurut *Asean-Canada Cooperative Programme on Marine Science Phase II*. Hal ini dilihat dari pertumbuhan kepadatan sel yang melebihi batas minimum (1×10^6 sel/ml) pada hari ke-4 inokulasi kurva pertumbuhan atau pada awal fase eskponensial dengan kepadatan sel $3,68 \times 10^6$ sel/ml.

Kata Kunci : Fitoplankton, *Chlamydomonas* sp., Uji Toksisitas

¹) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

²) Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

³) Peneliti Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu Pendidikan Indonesia

PENDAHULUAN

Mikroalga adalah mikroorganisme bersel satu yang umumnya memiliki pertumbuhan secara autotroph, menggunakan CO₂ sebagai sumber karbon, dan cahaya untuk fotosintesis. Mikroalga dapat menambah nilai gizi pada makanan dan mempunyai pengaruh positif terhadap kesehatan manusia (Spolaore *et al.*, 2006). Mikroalga memiliki komponen aktif yang dimanfaatkan dalam bidang industri pangan, kosmetik. Komponen aktif mikroalga antara lain fenol, terpenoid, sterol, flavonoid dan polisakarida. Selain itu, mikroalga juga mengandung pigmen (klorofil, *phycobilinsome*, karoten) tokoperol, EPA dan DHA (El-Baky *et al.*, 2008). Komponen aktif mikroalga mempunyai aktivitas antimikroba (Abedin dan Taha, 2008), antitumor dan antimikroba (Taskin *et al.*, 2010) dan aktivitas antivirus, antibakteri, antioksidan (Triaji *et al.*, 2013). Komponen aktif dan pigmen yang terkandung pada mikroalga bersifat tidak stabil dan sensitif terhadap lingkungan. Kondisi lingkungan yang tidak sesuai salah satunya dengan tingginya logam berat pada perairan akan mempengaruhi komposisi kimia pada mikroalga. *Chlamydomonas* sp. adalah salah satu spesies fitoplankton yang menerima dampak tersebut dan perlu untuk diujikan pada toksisitas logam berat tersebut, namun pada uji toksisitas logam berat diperlukan syarat untuk menggunakan mikroalga. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan pertumbuhan dari *Chlamydomonas* sp. dalam memenuhi syarat uji toksisitas logam berat dilihat dari kepadatan sel setiap harinya dalam bentuk kurva pertumbuhan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Laut dan Ekotoksikologi, Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta Utara, pada bulan Maret – April 2019.

Dalam penelitian ini dilakukan pengamatan kurva pertumbuhan dengan 2 ulangan yaitu A dan B. Dilakukan nya pengamatan pada kurva pertumbuhan untuk mempelajari fase pertumbuhan dan mengetahui fase eksponensial *Chlamydomonas* sp dimana pada fase ini digunakan sebagai syarat dalam memulai uji toksisitas.

Sterilisasi dan Persiapan

Semua peralatan yang digunakan dalam penelitian sebelumnya dibilas terlebih dahulu menggunakan deterjen non fosfat dan direndam 15 menit pada larutan HNO₃ 10% lalu dibilas dengan akuades. Lalu dibilas dengan larutan aseton dan akuades kembali. Air laut yang digunakan pada seluruh kegiatan penelitian ini sebelumnya telah disaring dengan kertas saring 0,45 µm dan disterilkan dengan autoklaf selama ± 20 menit, tekanan 1,5 Pa pada suhu 121°C (ASTM, 2006).

Pembuatan Media Kultur

Media kultur pada penelitian ini menggunakan media Walne dengan penambahan EDTA. Pembuatan media Walne menurut Walne (1971) adalah mencakup 3 larutan, yaitu pembuatan larutan *Trace Metal Solution*, larutan vitamin dan larutan nutrien. Formulasi pada ketiga larutan tersebut dapat dilihat pada Tabel 1, 2 dan 3. Pembuatan media Walne dilakukan dengan menambahkan 1 mL larutan stok nutrien dan 0,1 mL

larutan vitamin pada 1 L air laut yang sudah steril.

Tabel 1. Komposisi Trace Metal Solution

| No. | Komponen | Per 100 mL |
|-----|--|------------|
| 1. | ZnCl ₂ | 2,1 g |
| 2. | CoCl ₂ .6H ₂ O | 2,0 g |
| 3. | (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O | 0,9 g |
| 4. | CuSO ₄ .5H ₂ O | 2,0 g |

Tabel 2. Komposisi Vitamin

| No. | Larutan vitamin | Per 100 mL |
|-----|---------------------------------|------------|
| 1. | Vitamin B12 (Cyanocobalamin) | 10 mg |
| 2. | Vitamin B1 (Thiamin.HCl) | 10 mg |
| 3. | Biotin | 200 mg |

Tabel 3. Komposisi Larutan Nutrien

| No. | Larutan nutrient | Per 1000 ml |
|-----|---|-------------|
| 1. | FeCl ₃ .6H ₂ O | 1,3 g |
| 2. | MnCl ₂ .4H ₂ O | 0,36 g |
| 3. | H ₃ BO ₃ | 33,6 g |
| 4. | EDTA (<i>disodium salt</i>) | 45 g |
| 5. | NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O | 20 g |
| 6. | NaNO ₃ | 100 g |
| 7. | Trace Metal Solution (1) | 1 ml |

Kultur Awal *Chlamydomonas* sp.

Sebelumnya inokulan didapatkan dari Laboratorium Marikultur, P2O-LIPI dengan membuat media air laut steril yang sudah dihomogenkan dengan media walne + EDTA dalam perbandingan 1 ml Walne + EDTA : 1 Liter air laut steril. Lalu dikulturkan pada ruang kultur bersuhu 27±1°C dengan aerasi dan pencahayaan lampu ± 4000 lux terus menerus, dan erlenmeyer dilapisi aluminium foil agar tidak terjadi kontaminasi. Setelah proses tersebut, kultur awal ditunggu sampai umur 4 hari dengan pengadukan sebanyak 2x sehari yaitu pagi dan sore hari agar tidak terjadi pengendapan fitoplankton dan oksigen terdistribusi dengan baik. Lalu kultur yang telah berumur 4 hari dihitung

kepadatannya, kemudian dilakukan penghitungan dengan rumus pengenceran yang nantinya memulai inokulan baru yaitu kurva awal pertumbuhan dengan kepadatan awal sel (*initial cell density*) 1 x 10⁴ sel/ml dan dilakukan pengadukan 2 x sehari serta diberikan aerasi serta pencahayaan yang sama saat inokulan sebelumnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva Pertumbuhan *Chlamydomonas* sp.

Hasil pengamatan kurva pertumbuhan pada *Chlamydomonas* sp. dilakukan selama 17 hari pengamatan yang terdapat pada Gambar 1 dengan menggunakan media Walne+EDTA sebagai nutrisi pertumbuhannya. Berdasarkan Gambar 1, pada hari ke-0 sampai hari ke-3 *Chlamydomonas* sp. mengalami fase lag/adaptasi. Pada hari ke-4 sampai hari ke-8 *Chlamydomonas* sp. mengalami fase logaritmik/eksponensial. Pada hari ke-9 sampai hari ke-13 *Chlamydomonas* sp. mengalami fase stasioner. Pada hari ke-15 sampai hari ke-17 *Chlamydomonas* sp. mengalami fase menuju kematian. Pengkulturan ini bertujuan untuk mempelajari fase-fase pertumbuhan dan mengetahui fase eksponensial dari *Chlamydomonas* sp..

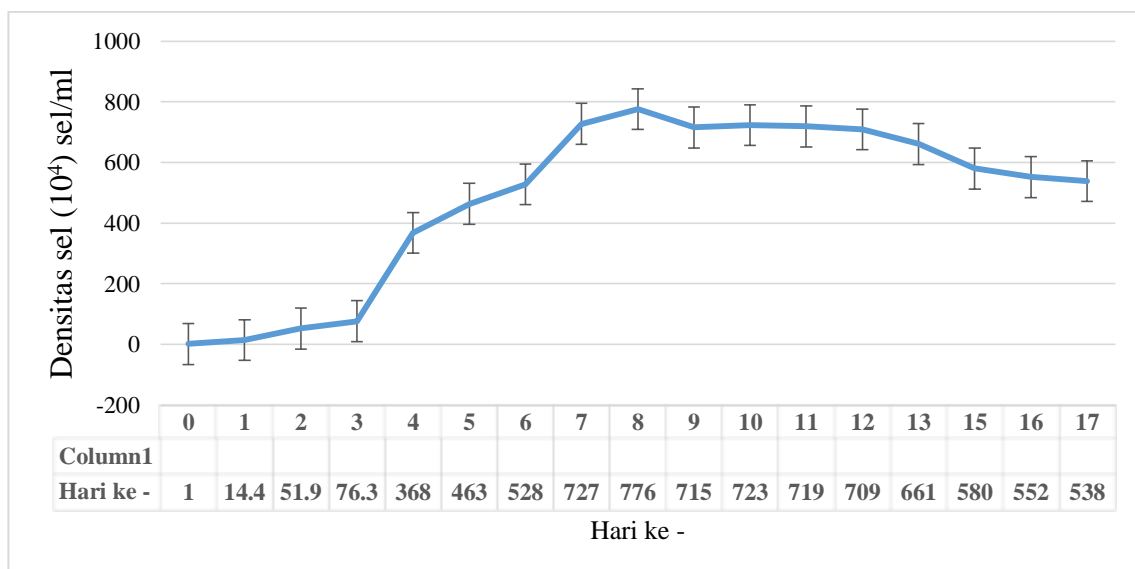
Menurut Utomo *dalam* Ru'yatin *et al.* (2015) menjelaskan bahwa fase eksponensial merupakan fase dimana fitoplankton sedang giat-giatnya melakukan pembelahan sel sehingga pertumbuhan dan rerata jumlah sel mengalami peningkatan beberapa kali lipat. Hadiyanto dan Azim (2012) juga menjelaskan bahwa fase eksponensial ditandai dengan terjadinya pertumbuhan yang cepat, aktivitas metabolik konstan, laju pembelahan konstan dan keadaan pertumbuhan seimbang antara *supply* makanan dan kenaikan mikroalga.

Lalu menurut ACCPMS-II (1995) menambahkan bahwa jika kultur spesies fitoplankton tidak mencapai kepadatan 1×10^6 sel/ml dalam 4-7 hari maka spesies fitoplankton tersebut tidak cocok untuk uji pertumbuhan selama 96 jam. Dalam penelitian ini kepadatan sel pada hari ke-4 mencapai $367,95 \times 10^4$ sel/ml atau $3,68 \times 10^6$ sel/ml. Hal ini serupa dengan fitoplankton lainnya seperti *Nitzschia* sp. (Larasati, 2017), *Porphyridium* sp. (Margareta, 2018), *Nannochloropsis* sp. (Wardani, 2018) yang disajikan pada Tabel 4, dimana pada ketiga fitoplankton ini terjadi fase eksponensial yang dimulai hari ke-4 dengan kepadatan awal 1×10^4 sel/ml.

Tabel 4. Kepadatan sel pada kurva pertumbuhan umur 4 hari dari beberapa fitoplankton

| No. | Jenis Fitoplankton | $\times 10^4$ sel/ml |
|-----|----------------------------|----------------------|
| 1. | <i>Chlamydomonas</i> sp. | 367,95 |
| 2. | <i>Nitzschia</i> sp. | 38,75 |
| 3. | <i>Porphyridium</i> sp. | 137,7 |
| 4. | <i>Nannochloropsis</i> sp. | 161,67 |

Berdasarkan hal tersebut, *Chlamydomonas* sp. dapat diterima sebagai biota uji sehingga pengujian toksisitas logam berat Cu dan Cd menggunakan *Chlamydomonas* sp. dapat dilakukan pada hari ke-4 atau awal dari fase eksponensial karena kondisi pertumbuhan *Chlamydomonas* sp. sedang optimal sehingga dapat diharapkan pada hasil uji, penurunan tingkat pertumbuhan terjadi karena pengaruh paparan logam berat. Kondisi yang direkomendasikan untuk uji toksisitas menggunakan fitoplankton disajikan pada Tabel 5.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *Chlamydomonas* sp.

Tabel 5. Kondisi yang Direkomendasikan untuk Uji Toksisitas Pertumbuhan Fitoplankton

| No. | Kondisi Uji | Perlakuan |
|-----|---|---|
| 1. | Tipe uji | Statis, tidak diperbaharui |
| 2. | Temperatur | 27 ± 1°C |
| 3. | Pencahayaan | Pencahayaan kontinu |
| 4. | Kualitas cahaya | Kondisi pencahayaan laboratorium |
| 5. | Intensitas cahaya | 400 ± 40 foot candle |
| 6. | Ukuran tabung uji | Erlenmeyer 250 ml |
| 7. | Volume larutan uji | 100 ml |
| 8. | Umur kultur fitoplankton yang digunakan | 4-7 hari |
| 9. | Kepadatan awal kultur | 10 ⁴ sel/ml |
| 10. | Jumlah ulangan per konsentrasi | 3 |
| 11. | Banyaknya pengadukan | 2 kali sehari |
| 12. | Air pelarut | Media pertumbuhan fitoplankton tanpa EDTA |
| 13. | Faktor pengenceran | Logaritmik |
| 14. | Durasi uji | 96 jam |
| 15. | Pengaruh yang diukur | Pertumbuhan (jumlah sel) |
| 16. | Nilai akhir (End point) | IC ₅₀ |
| 17. | Kriteria uji yang dapat diterima | Rata-rata pertumbuhan pada kontrol setelah 96 jam mencapai 2x10 ⁵ sel/ml |

KESIMPULAN

Pada kurva pertumbuhan dari *Chlamydomonas* sp. terdapat 4 fase pertumbuhan yaitu fase lag/adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase menuju kematian selama 17 hari pengamatan kepadatan sel. Fase eksponensial dari kurva pertumbuhan *Chlamydomonas* sp. dimulai pada hari ke-4 sampai hari ke-8. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa *Chlamydomonas* sp. memenuhi syarat sebagai biota uji untuk uji toksisitas dengan fase eksponensial pada hari ke-4 sesuai dengan syarat dari ACCPMS-II (1995)

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Dr. Dwi Hindarti, M.Sc selaku pembimbing selama penulis melakukan penelitian dan Pak Hardi selaku teknisi Laboratorium Kimia Laut dan Ekotoksikologi, Pusat

Penelitian Oseanografi LIPI, yang telah membantu penulis menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abedin RMA, Taha HM. 2008. Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalga, evaluation of medium components by Plackett-Burman design for antimicrobial activity of *Spirulina platensis*. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry* 3 (1): 22-31.
- Asean Canada Cooperative Programme on Marine Science-II 1995. Draft Protocol For Sub Lethal Toxicity Tests Using Tropical Marine Organism. ASEAN-Canada Cooperative Programme on Marine Science-Phase II. Regional Workshop on Chronic Toxicity Testing, Burapha University,

- Institute of Marine Science, Thailand: 14-19 p.
- ASTM (American Standard Testing and Material). 2006. Annual Book of ASTM Standards: Section Eleven, Water and Environmental Technology. Library of Congress Catalog. Baltimore. MD. USA.
- El-Baky HHA, El Baz FK, El Baroty. 2008. Evaluation of marine alga *Ulva lactuca* L. as a source of natural preservative ingredient. *American-Eurasian Journal. Agricultural and Environment Science* 3 (3): 434-444.
- Hadiyanto, Azim, M. 2012. Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan, 1st ed. UPT UNDIP Press Semarang. Semarang.
- Larasati, A.W. 2017. Toksisitas Tembaga (Cu) dan kadmium (Cd) Terhadap Pertumbuhan, Kadar Klorofil-a, dan Karotenoid Fitoplankton *Nitzschia* sp. (Skripsi). Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Margareta, H. 2018. Uji Toksisitas Logam Berat Cd dan Cu Terhadap Pertumbuhan *Porphyridium* sp. Universitas Brawijaya. Malang. (Tidak Diterbitkan).
- Ru'yatin, I.S. Rohyani dan L. Ali. 2015. Pertumbuhan *Tetraselmis* dan *Nannochloropsis* pada skala laboratorium. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1 (2) : 269-299.
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. 2006. Comercial applications of microalgae. *Journal Bioscience and Bioengineering* 101 (2): 87-96.
- Taskin E, Caki Z, Ozturk M. 2010. Assessment of *in vitro* antitumoral and antimicrobial activities of marine algae harvested from the eastern Mediterranean sea. *African Journal of Biotechnology* 9 (27): 4272-4277.
- Triaji, M.R., O.K, Rajasa., I. Widowati dan Widianingsih. 2013. Analisis Pigmen R-Fikoeritrin Kultur Mikroalga *Porphyridium cruentum* Pada Fotoperiod dan Nutrient Berbeda. Semin.Nas. Ke-III Has.-Has. Penelit. Perikan. Dan Kelaut. Fak. Perikan. Dan Ilmu Kelaut. Univ. Diponegoro
- Wardani, W. K . 2018. Uji Toksisitas Cd dan Cu Terhadap *Nannochloris* sp. FMIPA-UGM. Yogyakarta. Yogyakarta (Tidak Diterbitkan)