

Media Pertumbuhan, Intensitas Cahaya dan Lama Penyinaran yang Efektif untuk Kultur *Microcystis* Hasil Isolasi dari Waduk Sutami di Laboratorium

(Effective Growth Medium, Light Intensity and Length of Radiation for Culturing Isolated *Microcystis* from Sutami Reservoir in Laboratory)

Catur Retnaningdyah*, Umi Marwati*, Agoes Soegianto**, Bambang Irawan**

ABSTRACT

The main objective of this research was to determine the appropriate method, in terms of media type, light intensity and length of radiation, for culturing *Microcystis* in laboratory. The treatments were natural media by filtering and sterilizing the water from Sutami reservoir and four variations of selective media, i.e. ASN III, BG11, Bold 3 N, and B12. The research on the influence of light intensity and length of radiation used BG 11 media with varied light intensity (2–3, 5–6 and 8–9 KLux) and length of radiation (12 and 24 hours per day). A control treatment was also conducted by using incubation in a greenhouse with naturally light intensity and radiation. *Microcystis* abundance was calculated every day. This abundance variable was used to calculate the rate of growth (β) and carrying capacity (γ) of *Microcystis*, which can be supported by each media treatment. The research result showed that the effective medium for culturing *Microcystis* in the laboratory was selective medium of B12 and natural medium obtained from Sutami reservoir which had been filtered and sterilized. The highest carrying capacity of *Microcystis* was found at 8-9 KLux light intensity treatment with radiation duration of 12 hours per day. However, the optimal growth rate of *Microcystis* was found in the culture at 2–9 KLux light intensity and 24 hours per day radiation duration.

Key words: *Microcystis*, growth medium, light intensity, length of radiation

PENDAHULUAN

Microcystis adalah sejenis *blue-green algae* (Cyanobacteria) yang biasa tumbuh di permukaan air. Pada kondisi yang normal *Microcystis* tidak berbahaya bagi organisme lain atau manusia. Pada kondisi tertentu seperti musim panas di daerah subtropik dengan nutrien yang tinggi, jenis ini bisa tumbuh secara cepat yang biasa disebut “*algae blooms*”. Pada kondisi *blooming* ini *Microcystis* dapat menghasilkan racun yaitu *microcystin* yang mempunyai sifat toksik terhadap tumbuhan maupun hewan sampai dapat menyebabkan kematian. (Romanowska-Duda *et al.*, 2002; Ferrão-Filho *et al.*, 2002; Oberholster *et al.*, 2004; Samino & Retnaningdyah, 2006; Gutierrez *et al.*, 2007).

Ledakan (*blooming*) populasi *Microcystis* pernah terjadi pada tahun 2002 di waduk Sutami (Karangkates) Malang Jawa Timur (Retnaningdyah *et al.*, 2002).

Microcystis bersama-sama dengan *Synedra* dan *Ceratium* pada waktu pantau bulan Oktober 2004 sampai Maret 2006 juga selalu ada dalam kelimpahan yang tinggi di waduk Sutami. Kelimpahan populasi *Microcystis* yang tinggi ini bisa mengakibatkan kematian ikan yang hidup di perairan tersebut (Samino dan Retnaningdyah, 2004 dan 2006; Retnaningdyah dan Samino, 2005 dan 2006).

Dalam rangka pengendalian *blooming Microcystis* di perairan, sangat diperlukan penelitian di laboratorium yang menggunakan *Microcystis* sebagai obyeknya. Beberapa jenis media telah diketahui dapat digunakan untuk mengkultur *Microcystis*. Peran media tersebut adalah untuk mengkondisikan seperti pada habitat yang sebenarnya. Media tersebut diformulasikan mengandung satu atau lebih komponen yang sesuai dengan jenis sel yang akan ditumbuhkan. Pada media kultur tersebut, suatu sel harus mendapatkan suplai bahan mentah atau nutrisi. Nutrisi

* Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

** Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga
E-mail: catur@ub.ac.id; ririsyifa_catur@yahoo.com

merupakan substansi yang digunakan untuk biosintesis dan pengeluaran energi untuk menunjang pertumbuhan. Apabila nutrisi yang dibutuhkan tidak tercukupi, maka sel yang akan dikulturkan tidak bisa tumbuh optimal, sehingga tidak bisa memaksimalkan pertumbuhan suatu sel. Oleh karena itu, keberadaan suatu media yang baik pada saat kultur merupakan faktor penting yang berperan untuk menyediakan nutrisi dan mendukung pertumbuhan sel atau sebagai “*growth factor*” (Isaac dan Jennings, 1995).

Pertumbuhan *Microcystis* juga dipengaruhi oleh intensitas cahaya dan lama penyinaran. Cyanobacteria lebih banyak dijumpai di daerah dengan intensitas cahaya yang tinggi, terutama pada pertengahan musim kemarau. Selain itu, cahaya juga berfungsi dalam memanasi air sehingga terjadi perubahan suhu pada perairan, dimana semakin lama dan besar intensitas cahaya, maka suhu air akan semakin meningkat. Perubahan suhu mempengaruhi tingkat kesesuaian perairan sebagai habitat, karena setiap organisme perairan memiliki kisaran suhu minimum dan maksimum bagi kehidupannya (Closs *et al.*, 2006). *Microcystis* memberikan respon yang bermacam-macam terhadap cahaya pada beberapa penelitian pada tempat yang berbeda. Penelitian yang dilakukan di Afrika Selatan menunjukkan bahwa laju pertumbuhan optimum *Microcystis aeruginosa* di laboratorium terjadi pada perlakuan intensitas cahaya sekitar 3,6-18,0 klux (Oberholster *et al.*, 2004). Sedangkan pada penelitian yang dilakukan di Jepang menunjukkan bahwa laju pertumbuhan optimum *Microcystis aeruginosa* terjadi pada intensitas cahaya 2-3 klux dengan suhu sekitar 30° C (Chu *et al.*, 2007).

Berdasarkan hal tersebut di atas dan juga berkaitan dengan kepentingan metode pembiakan di laboratorium yang paling optimum bagi pertumbuhan *Microcystis* dari Waduk Sutami, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan jenis media serta menentukan intensitas cahaya dan lama penyinaran yang dapat mendukung kelimpahan maksimum dan laju pertumbuhan *Microcystis* tertinggi di laboratorium. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai dasar untuk metode kultur *Microcystis* di laboratorium terutama bagi yang menggunakan *Microcystis* sebagai obyek penelitian.

MATERI DAN METODE

Pengambilan sampel *Microcystis* dilakukan di waduk Sutami Malang. Analisis kualitas kimia air dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Diversitas Hewan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Perum Jasa Tirta I Malang. Pemurnian

Microcystis. dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, sedangkan inkubasi perlakuan pengaruh media pertumbuhan, intensitas cahaya dan lama penyinaran terhadap pertumbuhan *Microcystis* dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Diversitas Hewan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilakukan pada bulan Juni sampai Oktober 2007. Adapun langkah penelitian ini adalah sebagai berikut:

Eksplorasi dan pemurnian *Microcystis*

Eksplorasi dimaksudkan untuk mendapatkan sampel *Microcystis* yang akan dipakai untuk kultur *Microcystis* di laboratorium. Eksplorasi dilakukan di waduk Sutami dengan menggunakan jaring plankton yang ditarik mendarat pada permukaan perairan yang banyak mengandung *Microcystis*. Sampel dimasukkan ke dalam botol steril dan disimpan dalam *coolbox* selama perjalanan. Di laboratorium sampel disimpan dalam *refrigerator* sampai dilakukan pemurnian atau purifikasi.

Pemurnian dilakukan dengan cara menyaring sampel air hasil eksplorasi dengan saringan *nylon* yang mempunyai ukuran 405 lubang per inci kemudian dibilas dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) steril untuk mempertahankan kondisi sel-sel *Microcystis* selama penyaringan. Untuk pembuatan stok *Microcystis*, sel-sel *Microcystis* yang tersaring lalu dipilih di bawah mikroskop dan secara aseptis dimasukkan ke dalam media selektif yang akan dipakai untuk perlakuan. Kepadatan *Microcystis* untuk stok inokulum adalah 10⁶ sel.ml⁻¹. Kultur stok inokulum ini selanjutnya digunakan untuk perlakuan penelitian.

Uji pengaruh variasi media terhadap pertumbuhan *Microcystis*

Untuk mengetahui pengaruh jenis media selektif terhadap pertumbuhan *Microcystis* maka dilakukan eksperimen dengan mengamati laju pertumbuhan individu *Microcystis* pada media alami yang diambil dengan menyaring air waduk Sutami dan disterilkan serta berbagai variasi media selektif cair yaitu ASN III, BG11, Bold 3 N, dan B12 dengan komposisi seperti di dijelaskan oleh Atlas (2004), Pasteur (2007) dan Shirai *et al.* (1989). Volume media tiap-tiap perlakuan sebesar 100 mL dimasukkan dalam botol gelas berukuran 150 mL. Inkubasi dilakukan di bawah cahaya buatan dengan intensitas cahaya 5-8 Klux secara terus menerus 24 jam per hari. Kadar aktual nitrat dan ortofosfat media perlakuan diukur pada awal dan akhir percobaan. Kelimpahan *Microcystis* dan kualitas media seperti pH, konduktivitas, intensitas cahaya dan suhu

dihitung setiap hari. Penentuan kualitas media tersebut diukur menurut **Clesceri et al.** (1998).

Uji pengaruh intensitas cahaya dan lama penyinaran terhadap kelimpahan *Microcystis*

Pada uji ini, biakan *Microcystis* dalam 100 mL media BG 11 cair dibagi ke dalam dua kelompok lama penyinaran, yaitu 12 jam.hari⁻¹ dan 24 jam.hari⁻¹. Masing-masing kelompok perlakuan diinkubasi pada tiga intensitas cahaya buatan yaitu 2–3 klux, 5–6 klux dan 8–9 klux dengan sumber cahaya dari lampu neon merek Osram 23 watt. Sebagai kontrol dalam penelitian ini adalah perlakuan yang diinkubasi pada intensitas cahaya alam. Kelimpahan *Microcystis* dan kualitas media seperti pH, konduktivitas, intensitas cahaya dan suhu dihitung setiap hari. Penentuan kualitas media tersebut diukur menurut **Clesceri et al.** (1998).

Penghitungan kelimpahan sel *Microcystis*

Penghitungan sel *Microcystis* dilakukan untuk kultur stok inokulum dan kultur perlakuan. Langkah-langkah penghitungan adalah sebagai berikut: 1 mL kultur *Microcystis* diambil secara aseptis, dididihkan selama enam menit, didinginkan kemudian dihitung jumlah selnya (**Joung et al.**, 2006). Penghitungan jumlah sel menggunakan *haemocytometer* dan mikroskop binokuler (*Olympus*) pada perbesaran 400×. Sel *Microcystis* yang dihitung adalah yang terdapat dalam satu kotak besar *haemocytometer* dengan volume $1 \times 10^{-4} \text{ cm}^3$.

Analisis data

Model kurva pertumbuhan *Microcystis* dicari dengan membuat kurva standar non linear dalam bentuk kurva logistik atau sigmoid. Pembuatan kurva fit dilakukan dengan program *Genstat for Windows* dengan rumus:

$$Y_i = \alpha + \frac{\gamma}{1 + e^{(-\beta(X_i - \mu))}} + \xi_i$$

Keterangan:

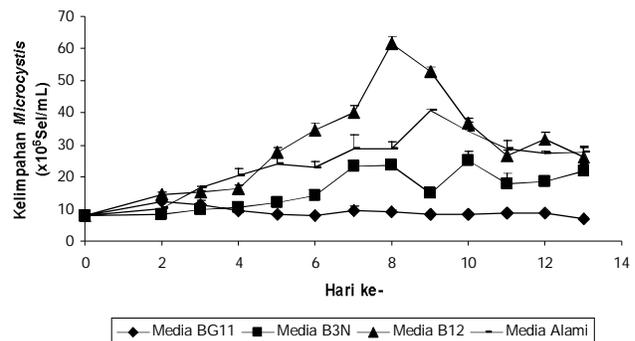
- Y_i : Kelimpahan *Microcystis* pada waktu ke-i
- α : Rata-rata jumlah awal *Microcystis* (Asimtot yang paling rendah)
- γ : Kelimpahan maksimum *Microcystis* yang didukung oleh media
- e : 2,71828
- μ : Konstanta
- β : Laju pertambahan jumlah individu *Microcystis* pada potensi biotik
- X_i : Waktu yang digunakan untuk pertumbuhan (dari 0 sampai ke-i)

Untuk melihat perbedaan laju pertambahan jumlah individu (β) dan kelimpahan *Microcystis* maksimum (γ) yang bisa didukung oleh media serta kualitas media antar perlakuan maka dilakukan uji beda pada $\alpha = 0,05$ yang dilakukan dengan menggunakan paket program *SPSS for Windows release 13*.

HASIL DAN DISKUSI

Respons Pertumbuhan *Microcystis* dari Waduk Sutami pada Beberapa Variasi Media Pertumbuhan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pola pertumbuhan *Microcystis* di laboratorium sangat dipengaruhi oleh jenis media pertumbuhan yang dipakai (Gambar 1). Kelimpahan *Microcystis* pada perlakuan media ASN III tidak bisa diamati oleh karena *Microcystis* mati dengan penampakan warna morfologi menjadi putih. Hal ini disebabkan karena media ASN III mengandung NaCl dengan kadar yang tinggi (25 g/L media) sehingga tidak cocok untuk pertumbuhan organisme perairan tawar. Menurut **Pasteur** (2007), media ASN-III mengandung senyawa Na, Cl, Mg dan Ca dengan kandungan nitrat yang rendah.

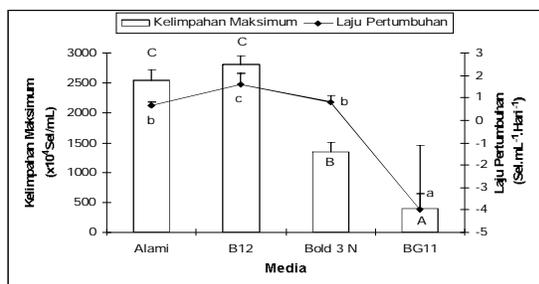


Gambar 1. Pola pertumbuhan *Microcystis* pada berbagai variasi media dengan lama penyinaran 24 jam per hari.

Media B12, Bold 3N dan media alami dari perairan waduk Sutami yang disaring dan disterilisasi pada penelitian ini mampu mendukung pertumbuhan *Microcystis* dengan baik. Menurut **Holt et al.** (2002), media untuk memperbanyak mikroorganisme harus mengandung sumber karbon yang berperan dalam peningkatan biomassa dan sekaligus sebagai sumber energi. Mikroorganisme bersifat autotrop seperti *Microcystis* menggunakan sumber karbon dari karbondioksida dan senyawa bikarbonat. Selain senyawa karbon, dalam suatu media juga diperlukan senyawa nitrogen (misalnya protein, pepton, dan asam amino), fosfat dan jenis logam seperti magnesium dan besi. Fosfat

digunakan sebagai buffer untuk menjaga pH media dan sebagai batas toleransi pertumbuhan suatu mikroorganisme. Selain itu penambahan faktor pertumbuhan atau “*growth factor*” juga diperlukan dalam pembuatan media. Faktor pertumbuhan tersebut berupa vitamin, asam amino, asam lemak dan *trace metal*. Menurut **Pasteur** (2007), media dasar seperti BG-II, ASN-III dan B12 dirancang untuk memelihara kultur Cyanobacteria dengan baik. Masing-masing media tersebut dicampur dengan campuran metal (A5 + Co), yang merupakan *growth factor* bagi media tersebut. Media Bold 3 N dicampur dengan *PIV Metal Solution*.

Hasil perhitungan terhadap laju pertumbuhan (β) dan kelimpahan *Microcystis* maksimum (γ) pada tiap media perlakuan dapat dilihat pada *Gambar 2*. Hasil uji Brown Forsythe menunjukkan bahwa perbedaan media pertumbuhan berpengaruh secara bermakna terhadap laju pertumbuhan *Microcystis*. Media selektif B12 menghasilkan laju pertumbuhan tertinggi bermakna dibandingkan dengan media yang lain. Media alami dan Bold 3N menghasilkan laju pertumbuhan yang sama dan nyata lebih rendah dibandingkan dengan media B12. Media BG 11 menghasilkan laju pertumbuhan negatif yang lebih rendah bermakna dibandingkan dengan perlakuan media yang lain.



Gambar 2. Laju pertumbuhan (β) dan jumlah individu *Microcystis* maksimum (γ) yang dapat didukung oleh berbagai variasi media pertumbuhan dengan lama penyinaran 24 jam per hari.

Keterangan: Huruf kapital yang sama menunjukkan beda kelimpahan maksimum tidak bermakna berdasarkan uji Tukey HSD. Huruf kecil yang sama menunjukkan beda laju pertumbuhan tidak bermakna berdasarkan uji t.

Hasil Anova menunjukkan bahwa kelimpahan maksimum *Microcystis* secara bermakna dipengaruhi oleh media pertumbuhan. Berdasarkan uji lanjutan dengan Tukey HSD dapat disimpulkan bahwa media alami dan media selektif B12 mendukung kelimpahan maksimum

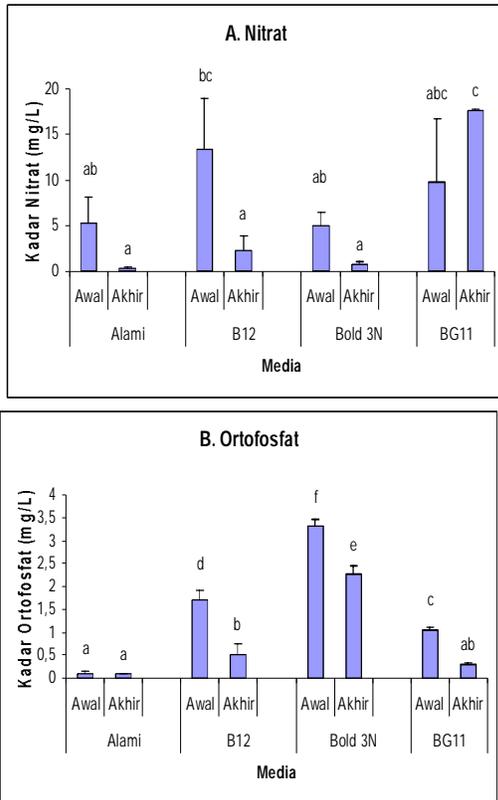
Microcystis tertinggi bermakna dibanding media lain. Media Bold 3N dan BG11 berturut-turut mendukung kelimpahan maksimum *Microcystis* pada tingkat sedang dan rendah.

Berdasarkan hasil analisis data tersebut dapat disimpulkan bahwa jenis media pertumbuhan yang sesuai untuk pertumbuhan *Microcystis* di laboratorium adalah media selektif B12 dan media alami yang berasal dari habitat asli *Microcystis* tumbuh yaitu waduk Sutami dengan perlakuan sterilisasi terlebih dahulu. Kedua media tersebut mampu mendukung kelimpahan maksimum dan juga laju pertumbuhan tertinggi. Kandungan bahan organik dan nutrisi yang tinggi di perairan waduk Sutami mampu mendukung pertumbuhan *Microcystis* di media alami. Perbedaan komposisi antara media B12 dengan media lain adalah ditamahnya vitamin B12. Menurut **Pasteur** (2007), vitamin B12 pada media B12 berperan merangsang pertumbuhan beberapa *Microcystis* terutama untuk menjaga kondisi fisiologis media. Menurut **Reynolds** (2006), vitamin B12 (*cyanocobalamine*) merupakan suplemen penting untuk kultur *axenic* beberapa jenis algae. Vitamin B12 memicu reaksi rekombinasi intramolekuler termasuk pelepasan ikatan C-C.

Kadar nutrisi seperti nitrat dan fosfat terlarut juga diduga sebagai faktor penyebab meningkatnya pertumbuhan *Microcystis* (**Retnaningdyah et al.**, 2010 dan 2011). Hasil analisis terhadap kadar nitrat di media pada awal perlakuan menunjukkan bahwa media B12 mengandung nitrat yang paling tinggi (13,4 mg/L) yang diikuti oleh media BG 11 (9,8 mg/L). Media alami dan Bold 3N berturut-turut mengandung nitrat 5,2 dan 4,9 mg/L (*Gambar 3*).

Microcystis memanfaatkan nitrat yang digunakan sebagai sumber energi dalam menghasilkan sel-sel baru dan koloni (**Dokulil & Teubner**, 2000; **Reynolds**, 2006). Nitrat adalah bentuk senyawa nitrogen stabil yang merupakan salah satu unsur penting untuk *synthesis protein* tumbuhan dan hewan. Pada konsentrasi yang tinggi nitrat dapat menstimulasi pertumbuhan ganggang yang tak terbatas (bila beberapa syarat lain seperti konsentrasi fosfat terpenuhi).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar nitrat di akhir penelitian mengalami penurunan kecuali perlakuan media BG11. Hal ini menunjukkan bahwa nitrat tersebut dimanfaatkan secara langsung untuk pertumbuhan *Microcystis*. Pada media BG 11, tingginya kadar nitrat pada akhir perlakuan diduga berasal dari degradasi bahan organik yang berasal dari *Microcystis* yang mati mengingat laju pertumbuhan *Microcystis* pada media ini bersifat negatif. Kadar nitrat yang tinggi di akhir perlakuan pada media BG 11 ini juga berpengaruh terhadap nilai konduktivitas. Hasil



Gambar 3. Kadar nitrat dan ortofosfat pada awal dan akhir perlakuan pengaruh media terhadap pola pertumbuhan *Microcystis*
Keterangan: Huruf yang sama menunjukkan beda tidak bermakna berdasarkan uji Tukey HSD.

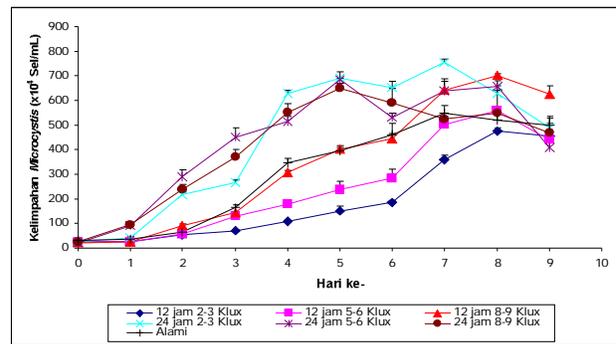
uji Brown Forsythe yang dilanjutkan dengan uji Games Howell menunjukkan bahwa media BG 11 mempunyai nilai konduktivitas tertinggi yang bermakna (1,99 mS/cm), sedangkan media Bold 3 N mempunyai nilai terendah bermakna (0,14 mS/cm). Nilai konduktivitas media yang lain berkisar di antaranya (0,32 mS/cm untuk media alami dan 0,34 mS/cm untuk media B12). Nilai pH (8,6-8,9) dan suhu (29,2-29,7° C) selama perlakuan secara umum tidak ada perbedaan yang bermakna.

Kadar ortofosfat di media pada awal perlakuan termasuk tinggi yaitu berkisar antara 0,084 mg/L di media alami dan 3,305 mg/L di media Bold 3N. Hasil Anova menunjukkan bahwa kadar ortofosfat mengalami penurunan bermakna di akhir perlakuan kecuali pada media alami, yang berarti terjadi pemanfaatan fosfat untuk pertumbuhan *Microcystis*. Menurut Reynolds (2006), fosfor merupakan

komponen asam nukleat yang mengatur sintesis protein dan tranformasi ATP yang merupakan sumber tenaga untuk transpor intraseluler, sehingga fosfor merupakan unsur esensial untuk kehidupan plankton termasuk *Microcystis*. Menurut Sharpley (2003), di ekosistem perairan unsur fosfor (P) merupakan nutrisi pembatas yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit.

Respons Pertumbuhan *Microcystis* dari Waduk Sutami pada Beberapa Variasi Intensitas Cahaya dan Lama Penyinaran

Kurva pertumbuhan *Microcystis* pada berbagai variasi intensitas cahaya buatan yang dilakukan di laboratorium dengan lama penyinaran 12 jam dan 24 jam per hari dan intensitas cahaya alami yang dilakukan di rumah kaca dapat dilihat pada Gambar 4. Pada perlakuan lama penyinaran 12 jam.hari⁻¹, perbedaan intensitas cahaya buatan memberikan pengaruh yang sama terhadap fase pertumbuhan *Microcystis*, yaitu fase lag selama satu hari dan fase eksponensial selama 7 hari. Perlakuan intensitas cahaya alam mengalami fase pertumbuhan yang sama dengan perlakuan lama penyinaran 12 jam.hari⁻¹. Perlakuan lama penyinaran 24 jam.hari⁻¹ memberikan pengaruh yang cepat terhadap fase pertumbuhan *Microcystis* dimana fase eksponensial Selama 5-7 hari terjadi tanpa fase lag. Kelimpahan *Microcystis* pada perlakuan lama penyinaran 24 jam selalu lebih tinggi dibandingkan dengan lama penyinaran 12 jam untuk semua variasi intensitas cahaya.



Gambar 4. Pola pertumbuhan *Microcystis* pada berbagai variasi lama penyinaran dan Intensitas cahaya buatan

Madigan *et al.* (2003) menjelaskan bahwa fase lag merupakan fase dimana sel-sel mikroorganisme mengalami proses adaptasi terhadap lingkungan baru. Pada fase ini, sel akan mengalami perbesaran. Fase selanjutnya adalah fase eksponensial, dimana terjadi pembelahan sel. Pembelahan akan terus berlanjut hingga akhirnya dicapai fase stasioner,

di mana jumlah sel yang hidup sama dengan sel yang mati. Kematian sel dapat diakibatkan oleh terbatasnya faktor nutrisi untuk pertumbuhan sel.

Kondisi terpaparnya *Microcystis* sepanjang hari diduga menyebabkan tidak terjadinya fase lag karena pada penyinaran 24 jam.hari⁻¹, *Microcystis* menerima energi cahaya terus-menerus sehingga pertumbuhan terjadi lebih cepat. Hal ini bisa terjadi seperti yang juga diamati **Chu et al.** (2007) bahwa pada suhu 30° C *Microcystis aeruginosa* mengalami fase eksponensial selama empat hari tanpa fase lag.

Hasil penghitungan terhadap rata-rata nilai laju pertumbuhan intrinsik (β) serta jumlah individu *Microcystis* maksimum (γ) yang bisa didukung pada masing-masing perlakuan melalui program Genstat dapat dilihat pada *Gambar 5*. Interaksi lama penyinaran dengan variasi intensitas cahaya berpengaruh secara bermakna terhadap nilai laju pertumbuhan *Microcystis* (hasil uji Brown Forsythe) dan kelimpahan maksimum *Microcystis* (hasil Anova dua arah). Hasil uji lanjutan dengan Games Howell menunjukkan bahwa interaksi lama penyinaran 24 jam pada intensitas cahaya 2–3 KLux dan 8–9 KLux mampu menghasilkan laju pertumbuhan tertinggi bermakna (2,03 dan 1,53 Sel/mL/hari) dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Lama penyinaran 12 jam dengan intensitas cahaya 8-9 KLux mampu mendukung kelimpahan maksimum *Microcystis* tertinggi bermakna ($717,5 \times 10^4$ Sel/mL).

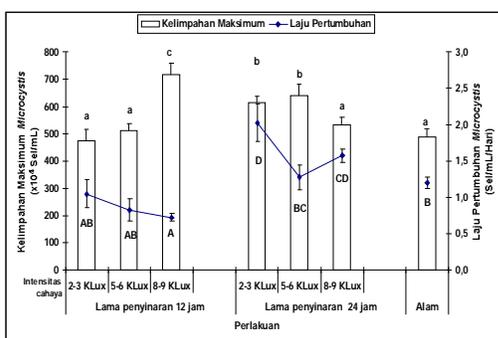
Hasil ini dapat dipakai untuk rekomendasi penelitian berikutnya. Kultur *Microcystis* secara efektif di laboratorium

dapat dilakukan dengan inkubasi pada intensitas cahaya buatan minimal 8–9 KLux dan lama penyinaran 12 jam per hari jika yang diinginkan adalah kelimpahan maksimum yang tinggi, sedangkan apabila yang diinginkan adalah laju pertumbuhan *Microcystis* yang optimal, maka kultur dilakukan pada intensitas cahaya 2–9 KLux dengan lama penyinaran 24 jam per hari.

Menurut **Raps et al.** (1983) Cahaya merupakan sumber energi utama bagi Cyanobacteria, termasuk *Microcystis*. Jika ketersediaan cahaya terbatas, maka persediaan nutrisi akan menurun sehingga pertumbuhan *Microcystis* akan terhambat. *M. aeruginosa* berwarna hijau kekuningan pada intensitas cahaya tinggi dan berwarna biru kehijauan pada intensitas cahaya rendah. Perubahan warna ini terutama berhubungan dengan perubahan dalam klorofil a dan sel *phycocyanin*. Total kandungan karotenoid setiap sel secara relatif tetap walaupun terdapat perubahan intensitas cahaya.

Menurut **Reynolds** (2006), cahaya diperlukan dalam proses fotosintesis untuk menghasilkan energi (heksosa) dan oksigen dari karbondioksida dan air dengan reaksi dapat diringkas sebagai berikut: $H_2O + CO_2 + \text{cahaya} = 1/6 (C_6H_{12}O_6) + O_2$. Energi cahaya digunakan dalam proses transfer elektron ke CO_2 lewat reduksi *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADP) menjadi NADPH. Elektron diekstraksi dari air yang terjadi dalam fotosistem II dan diangkut lewat siklus kuinon dan dilepas ke fotosistem I. Elektron diterima oleh ferredoksin yang menyebabkan reduksi NADP menjadi NADPH sehingga memungkinkan sel melakukan sintesis komponen molekuler. Pada kondisi yang ideal, reaksi cahaya dalam fotosintesis mengikuti reaksi berikut: $2NADP + 3ADP + 3P + 2H_2O + 8e^- \rightarrow 2NADPH + 3ATP + 3P + 2H^+ + O_2$. Selanjutnya NADPH digunakan untuk pembentukan glukosa melalui siklus calvin dengan reaksi: $CO_2 + 2NADPH + 3ATP + 2H^+ \rightarrow 1/6 C_6H_{12}O_6 + H_2O + 2NADP + 3ADP + 3P$.

Meskipun kelimpahan maksimum *Microcystis* tertinggi diperoleh pada lama penyinaran selama 12 jam per hari dengan intensitas cahaya perlakuan tertinggi yaitu 8-9 KLux, akan tetapi hal yang sebaliknya terjadi pada laju pertumbuhan yang mana dengan semakin tinggi intensitas cahaya justru dapat menurunkan laju pertumbuhan *Microcystis*. Menurut **Chu et al.** (2007) laju pertumbuhan yang tinggi tidak selalu diiringi dengan kelimpahan yang tinggi pula. Hal ini disebabkan pada intensitas cahaya yang tinggi dapat mengakibatkan stres cahaya pada *Microcystis aeruginosa*. Selain itu, peningkatan pH diduga merupakan salah satu penyebab kematian sel-sel *Microcystis aeruginosa* setelah



Gambar 5. Laju pertumbuhan (β) dan jumlah individu *Microcystis* maksimum (γ) yang dapat didukung pada berbagai variasi intensitas cahaya dengan lama penyinaran.

Keterangan: Huruf yang sama menunjukkan beda tidak bermakna pada tiap variabel berdasarkan uji Tukey HSD (kelimpahan maksimum) dan uji Games-Howell (laju pertumbuhan).

mengalami fase eksponensial. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH media pada awal pengamatan bersifat netral dengan kisaran pH 7–8. Setelah inkubasi beberapa hari terjadi peningkatan nilai pH sampai mencapai sekitar pH 10. Pada perlakuan intensitas cahaya buatan dengan lama penyinaran 24 jam.hari⁻¹, pH 10 dicapai pada hari ketiga pengamatan dan untuk perlakuan intensitas cahaya alam dicapai setelah hari kelima pengamatan. Pada perlakuan intensitas cahaya buatan penyinaran 12 jam.hari⁻¹ mencapai pH 10 saat hari ketujuh pengamatan.

Cahaya juga berfungsi dalam memanasi air sehingga terjadi perubahan suhu pada perairan. Menurut **Ramirez dan Bicudo** (2005), intensitas cahaya dapat mempengaruhi suhu lingkungan. Semakin tinggi intensitas cahaya maka suhu lingkungan akan meningkat. Rata-rata suhu media pada lama penyinaran 24 jam lebih tinggi bermakna (28,27° C) dibandingkan dengan perlakuan lama penyinaran 12 jam (27,53° C). Suhu media pada perlakuan lama penyinaran alam berbeda tidak bermakna dengan kedua perlakuan lama penyinaran yang lain dengan rata-rata suhu media sebesar 30,47° C. Perlakuan intensitas cahaya 5–6 KLux dan 8–9 KLux mengakibatkan suhu media yang lebih tinggi bermakna (28,13° C dan 28,21° C) dibandingkan dengan perlakuan intensitas cahaya 2–3 KLux (27,36° C). Secara keseluruhan, suhu media rata-rata selama pengamatan masih berada dalam kisaran hidup *Microcystis*, yaitu 20–35° C (**Dokulil dan Teubner**, 2000).

Peningkatan suhu mampu meningkatkan respirasi dan metabolisme *Microcystis*. Hal ini mengakibatkan penurunan kelarutan gas dalam media seperti O₂ dan CO₂. *Microcystis* merupakan organisme yang dapat melakukan proses fotosintesis. Proses fotosintesis di dalam media dapat memanfaatkan CO₂ bebas atau ion bikarbonat (HCO₃⁻) sebagai sumber karbon. Pada intensitas cahaya tinggi, laju pertumbuhan yang cepat mempengaruhi *Microcystis* dalam pemanfaatan karbon. Pertumbuhan *Microcystis* yang pesat mengurangi keberadaan karbondioksida yang bersifat asam sehingga pH media meningkat. Selain itu, peningkatan pH juga diakibatkan akumulasi senyawa OH⁻ yang dihasilkan dari proses hidrolisis ion bikarbonat. Proses pertumbuhan akan berlangsung hingga pH mencapai 10–11 dikarenakan pada pH tersebut karbondioksida bebas sudah tidak dapat ditemukan (**Reynolds**, 2006).

SIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa media buatan B12 dan media alami berasal dari habitat asli *Microcystis*

tumbuh yaitu waduk Sutami yang dilakukan penyaringan dan sterilisasi terlebih dahulu mampu mendukung pertumbuhan *Microcystis* lebih baik dengan nilai laju pertumbuhan (r) dan kelimpahan maksimum (K) paling tinggi. Kultur *Microcystis* dapat dilakukan secara efektif di laboratorium dengan memberikan intensitas cahaya buatan sebesar 8–9 KLux dan lama penyinaran 12 jam per hari jika yang ditargetkan adalah kelimpahan maksimum yang tinggi. Apabila yang diinginkan adalah laju pertumbuhan *Microcystis* yang optimal, maka kultur dilakukan pada intensitas cahaya 2–9 KLux dengan lama penyinaran 24 jam per hari. Sumber intensitas cahaya buatan tersebut adalah dari lampu neon merek Osram 23 watt dengan membuat variasi jarak yang berbeda terhadap unit kultur.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas RM**, 2004. Handbook of Microbiological Media. Third Edition. CRC Press Inc., New York.
- Chu Z, Jin X, Iwami N, Inamori Y**, 2007. The effect of temperature on growth characteristics and competitions of *Microcystis aeruginosa* and *Oscillatoria mougeotii* in a shallow, eutrophic lake simulator system. *Hydrobiol* 581: 217–223.
- Closs G, Downes B, Boulton A**, 2006. A Scientific Introduction Freshwater Ecology. Blackwell Publishing, Malden USA.
- Clesceri LS, Greenberg AE, Eaton AD**, 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water. 20th Ed., Washington.
- Dokulil MT, Teubner K**, 2000. Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiol*, 438: 1–12.
- Ferrão-Filho AS, Domingos P, Azevedo SMFO**, 2002. Influences of a *Microcystis aeruginosa* Kützing bloom on zooplankton populations in Jacarepaguá lagoon (Rio de Janeiro, Brazil), *Limnol*, 32: 295–308.
- Gutierrez RMP, Torres GF, Flores AM, Flores JMM**, 2007. *Microcystis aeruginosa*: pharmacology and phytochemistry, *Pharmacol* 1: 57–116.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST**, 2002. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippincott Williams and Wilkin, Baltimore.
- Isaac S and Jennings D**, 1995. *Microbial Culture*. - (eds.) Oxford, U.K.
- Joung SH, Kim CJ, Ahn CY, Jang KY, Boo SM, Oh HM**, 2006. Simple method for a cell count of the colonial Cyanobacterium *Microcystis* sp. *J of Microbiol* 44: 562–565.

- Madigan MT, Martinko JM, Parker J**, 2003. Brock Biology of Microorganisms. Tenth Edition. Prentice-Hall. New Jersey.
- Oberholster PJ, Botha**, dan **Grobbelaan**, 2004. Microcystis spp.: source of toxic microcystins in drinking water. Afr J Biotechnol 3: 159–168.
- Pasteur**, 2007. Medium Culture of Cyanobacteria. <http://www.pasteur.fr/recherche/banques/PCC/Media.htm>. Diakses tanggal 26 Februari 2007.
- Ramirez JJ, Bicudo CEM**, 2005. Diurnal and spatial (vertical) dynamics of nutrients (N, P, Si) in four sampling days (summer, fall, winter and spring) in a tropical shallow reservoir and their relationships with the phytoplankton community. Braz J Biol 65: 141–157.
- Raps S, Wiman K, Siegelman HW, Falkowsky PG**, 1983. Adaptation of Cyanobacterium Microcystis aeruginosa to light intensity. Plant Physiol 72: 829–832.
- Retnaningdyah C, Prayitno, Rosyitawati Y, Dewi MYC, Hartini AN**, 2002. Potensi mikroalga sebagai bioindikator tingkat pencemaran bahan organik di perairan waduk. Proceeding of National Seminar on Research and Studies Research Grant. Ministry of National Education, Directorate General of Higher Education, TPSDP, Jakarta.
- Retnaningdyah C, Samino S**, 2005. Monitoring dinamika komunitas fitoplankton dan zooplankton di waduk Sutami Malang Periode 2005. Laporan Penelitian. Kerjasama Perum Jasa Tirta I dengan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Retnaningdyah C, Samino S**, 2006. Monitoring Dinamika komunitas fitoplankton dan zooplankton di waduk Sutami Malang Periode Bulan Januari-Maret 2006. Laporan Penelitian Kerja sama Perum Jasa Tirta I dengan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Retnaningdyah C, Suharjo, Soegianto A, Irawan B**, 2010. Daya dukung dan laju pertumbuhan Microcystis hasil isolasi dari waduk Sutami pada berbagai variasi konsentrasi nitrat dan fosfat di media selektif B-12, Biota: 15: 354–362.
- Retnaningdyah C, Suharjo, Soegianto A, Irawan B**, 2011. Blooming stimulation of Microcystis in Sutami reservoir using nutrients nitrate and phosphate in different ratio, J Trop Life Sci: 1: 42–46.
- Reynolds CS**, 2006. The Ecology of Phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge.
- Romanowska-Duda Z, Mankiewicz J, Tarczyńska M, Walter Z, Zalewski M**, 2002. The effect of toxic Cyanobacteria (blue green algae) on water plants and animal cells. J Environ Stud 11: 561–566.
- Samino S, Retnaningdyah C**, 2004. Monitoring dinamika komunitas fitoplankton dan zooplankton di waduk sutami malang periode bulan Oktober sampai Desember 2004. Laporan Penelitian. Kerja sama Perum Jasa Tirta I dengan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Samino S, Retnaningdyah C**, 2006. Evaluasi sifat toksik Microcystis spp. Terhadap beberapa ikan dari waduk sutami untuk pengembangan Early Warning System dalam blooming mikroalga. Laporan Penelitian. Kerja sama Perum Jasa Tirta I dengan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Sharpley AN**, 2003. Agriculture and Phosphorus Management: the Chesapeake Bay. CRC Press LLC, Boca Raton.
- Shirai M, Matumaru K, Ohotake A, Takamura Y, Aida T, Nakano M**, 1989. Development of a solid medium for growth and isolation of axenic *Microcystis* strains (Cyanobacteria). App Environ Microbiol 55: 2569–2571.