

# Peningkatan Kualitas Akuakultur Menggunakan Teknologi Biofilter Mikroalga Imobil

Rini Riffiani

*Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong, Bogor*

## Abstract

Immobilized microalgae *Chlorella pyrenoidosa* was applied initially to nutrient and heavy metal removal of wastewater. Immobilized microalgae using alginate was then developed for aquaculture application, such as controlling fish water culture quality to uptake concentration of ammonium, nitrate and to increase oxygen level in water. During immobilization, algal cells maintained their respiratory and photosynthetic activities as that in the normal condition. The objective of this research was to examine the role of immobilized *C. pyrenoidosa* on controlling water quality by measuring ammonium, nitrate, and dissolved oxygen contents. Five aquariums consisting of 40 litres of water were filled with 20 Nila tilapia (*Oreochromis niloticus*) with the average weight of 1.6 to 1.7 g. The immobilized algae cells were packaged in two nylon porous bags (pore size of 2x3 mm in diameter) and each immobilized cell had 4 millimeter in diameter. Each aquarium was added with 3000, 4000, 5000, and 6000 immobilized cells. The treatment had two replications. The results showed that the aquarium filled with 4000 beads of immobilized cells gave the best yield.

**Key words:** immobilized cells, *Chlorella pyrenoidosa*, aquaculture, ammonium, nitrate

## Pendahuluan

Akuakultur merupakan salah satu aktivitas penting untuk memenuhi kebutuhan manusia berupa produk-produk perikanan. Saat ini akuakultur telah memberikan kontribusi sebesar 37% dari total produksi ikan sedunia (FAO, 2000). Oleh karena itu, akuakultur merupakan usaha alternatif untuk memenuhi kebutuhan akan produk-produk perikanan, yang saat ini masih didominasi oleh perikanan air tawar.

Sistem akuakultur dapat menimbulkan dampak baik positif maupun negatif. Penerapan sistem intensifikasi pada budidaya tanpa memperhatikan daya dukung lingkungan dapat menghambat pertumbuhan dan mengganggu kesehatan ikan. Sebagai contoh, proses larvikultur ikan air tawar pada umumnya masih menggunakan sistem konvensional, yaitu sistem statis (*batch*). Pada sistem ini terjadi penurunan kualitas air karena relatif tidak ada pergantian air. Akibatnya, terjadi akumulasi senyawa toksik, antara lain amonia yang berasal dari ekskresi larva ikan dan sisa pakan yang diberikan (Zonneveld, 1991).

Beberapa jenis mikroalga yang diimobilisasi dilaporkan efisien untuk digunakan sebagai agen pengontrol kualitas air dalam akuakultur. Hal ini karena beberapa mikroalga memiliki kemampuan dalam meningkatkan kadar oksigen terlarut dan menurunkan kadar amonium dalam air. Mikroalga membutuhkan nitrogen dalam bentuk amonium sebagai materi organik untuk fotosintesis (Chen, 2001).

*Chlorella* sp. merupakan mikroalga berklorofil yang membutuhkan unsur hara makronutrisi berupa nitrogen dan fosfat. Mikroalga ini mampu hidup dengan baik pada lingkungan yang banyak mengandung unsur hara tinggi dan memanfaatkannya untuk kelangsungan proses fotosintesis, berkembang biak, dan melakukan aktivitas hidup lainnya (Becker, 1994). Kemampuan *Chlorella* sp. dalam memanfaatkan unsur hara diharapkan akan menurunkan kandungan senyawa toksik seperti amonium sehingga dapat meningkatkan kualitas air dalam akuakultur perikanan.

Sel alga yang diimobilisasi pada awalnya digunakan untuk pengolahan limbah, yaitu dalam proses penurunan kadar logam berat dari limbah industri (Chevalier dan de la Nove, 1985; Proulx dan de la Nouse, 1988; Wilkinson et al., 1990). Metode imobilisasi sel alga kemudian berkembang dan diaplikasikan dalam akuakultur, antara lain untuk mengontrol kadar amonium dan oksigen terlarut dalam air. Sel yang diimobilisasi dapat

mempertahankan aktivitas respirasi, fotosintesis, dan proses metabolisme seperti halnya alga dalam keadaan normal (Chen, 2001). Penggunaan alginat dalam proses imobilisasi mempunyai beberapa keuntungan, yaitu harganya murah, efisien, dan bersifat transparan. Keadaan imobilisasi menggunakan alginat yang transparan tidak menghalangi penetrasi cahaya ke dalam sel alga sehingga proses fotosintesisnya tidak terhambat (Becker, 1994). Penelitian ini dilakukan untuk menguji kemampuan mikroalga *C. pyrenoidosa* imobil dalam mengontrol kualitas air dengan mengukur kadar amonium, nitrat, dan oksigen terlarut, serta perubahan biomassa ikan dalam akuakultur.

## Materi dan Metode

Kultur *C. pyrenoidosa* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari koleksi Laboratorium Pertanian Universitas Padjadjaran-Jatinangor. Kultur *C. pyrenoidosa* dipelihara dan diperbanyak dalam medium agar miring *Chlorella pyrenoidosa* I (CP-1) yang mengandung (g/L)  $\text{KNO}_3$  50g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  25g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  12,5g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,3 g,  $\text{H}_3\text{BO}_4$  0,285g,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0,185g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0,022g,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0,008g,  $3(\text{NH}_4)_2\text{O}_7\text{MoO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0,017g dan disimpan dalam suhu kamar. Kultur induk *C. pyrenoidosa* pada medium agar miring Cp-1 yang telah berumur 14 hari kemudian disuspensikan dengan penambahan 10 mL larutan NaCl fisiologis 0,85% secara aseptis. Suspensi tersebut dijadikan inokulum untuk kultur kocok sel *C. pyrenoidosa*. Kultur kocok diinkubasi pada suhu kamar (26-29°C), intensitas cahaya dari 3 buah lampu fluoresen berjarak 40 cm dari biakan (3000 lux), penambahan udara dari aerator dan agitasi pada kecepatan 80 rpm serta kondisi kultur yang terjaga agar tetap aseptik. Hasil kultur kocok digunakan sebagai inokulum untuk kultur sel di dalam fermentor sistem *batch* (Kurniati, 1996).

Bahan yang digunakan untuk membuat sel imobil adalah natrium alginat 3%, sedangkan untuk pembuatan gel adalah larutan 0,5 M  $\text{CaCl}_2$ . Larutan natrium alginat disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Sel *C. pyrenoidosa* kemudian dipisahkan dari medium cair dengan disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 4500 rpm. Sel *C. pyrenoidosa* yang telah dipisahkan kemudian dicampurkan dengan larutan natrium alginat. Proses imobilisasi sel *C. pyrenoidosa* dilakukan menurut Sung-Koo Kim *et al.* (2000) seperti ditampilkan pada Gambar 1.

Campuran alginat dan sel *C. pyrenoidosa* diaduk secara homogen, lalu dilewatkan melalui pompa peristaltik dengan ujungnya berupa *syringe* yang akan membentuk bulatan-bulatan. Gel dapat terbentuk dengan cara menampung tetesan dari pompa peristaltik ke dalam larutan 0,5 M  $\text{CaCl}_2$ . Selanjutnya, gel-gel (sel imobil) yang terbentuk dicuci dengan akuades steril dan dapat langsung digunakan atau disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 4°C (Romo dan Perez-Martinez, 1997; Wulandari, 1999).

Lima akuarium berisi 40 liter air masing-masing diisi ikan nila sebanyak 20 ekor (rata-rata berat ikan 1,6-1,7 g). Sel alga imobil dibungkus dalam kantung nilon berpori dengan diameter 3 mm). Satu akuarium sebagai kontrol, tidak diberi sel *C. pyrenoidosa*, 4 akuarium lainnya masing-masing diberi kantung nilon berpori berisi 3000, 4000, 5000, dan 6000 butir sel alga imobil. Pada bagian atas akuarium dipasang 1 buah lampu floresens berjarak 40 cm (3000 lux) dan setiap akuarium diberi aerasi. Pengambilan sampel dan pemberian pakan ikan sebanyak 5 g dilakukan setiap 24 jam selama 14 hari. Penelitian ini dilakukan dengan 4x ulangan. Pengukuran dilakukan terhadap konsentrasi amonium menurut metode Nessler, konsentrasi nitrat, konsentrasi oksigen terlarut menggunakan DO-meter YSI model 33, serta biomassa ikan dengan mengukur berat ikan sebelum dan sesudah diberi perlakuan (Chen, 2001).

Data dianalisis secara statistik menggunakan one-way ANOVA. Dilanjutkan dengan Tukey- HSD. dengan tingkat kepercayaan 95% digunakan untuk mengetahui signifikansi perbedaan rata-rata.

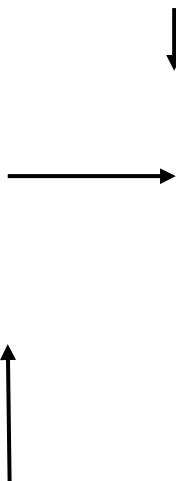


Gambar 1. Skema proses imobilisasi sel *C. pyrenoidosa*  
 Figure 1. Schematic process of immobilizing *C. pyrenoidosa* cell

### Hasil dan Pembahasan

Proses imobilisasi menggunakan kultur cair *C. pyrenoidosa* berjumlah  $5,8 \times 10^7$  sel/mL yang berumur 7 hari menghasilkan sel imobil dengan diameter 4 mm (Gambar 2). Setiap butir sel imobil berisi  $5,8 \times 10^6$  sel.

Penggunaan imobilisasi sel alga antara lain bertujuan untuk menghindari alga dari pemangsaan oleh herbivora, terutama ikan dalam kultur. Selain itu, sel alga yang diimobilisasi dapat disimpan dalam suhu yang rendah, yaitu  $4^{\circ}\text{C}$ , dan dalam keadaan gelap dapat tumbuh normal setelah 12 bulan (Faafent et al., 1994). Hal ini karena selama proses penyimpanan pada suhu rendah sel mikroalga menggunakan makanan cadangan berupa pati dan protein yang tersimpan di dalam organel pirenoid. Pirenoid terdapat di dalam kloroplas dalam bentuk butiran padat, berfungsi dalam proses pembentukan pati. Pada suhu rendah sel yang diimobilisasi mempunyai pirenoid berukuran kecil, tetapi apabila disubkultur kembali pada medium pertumbuhan, pirenoid menjadi berukuran besar kembali (Chen, 2001).

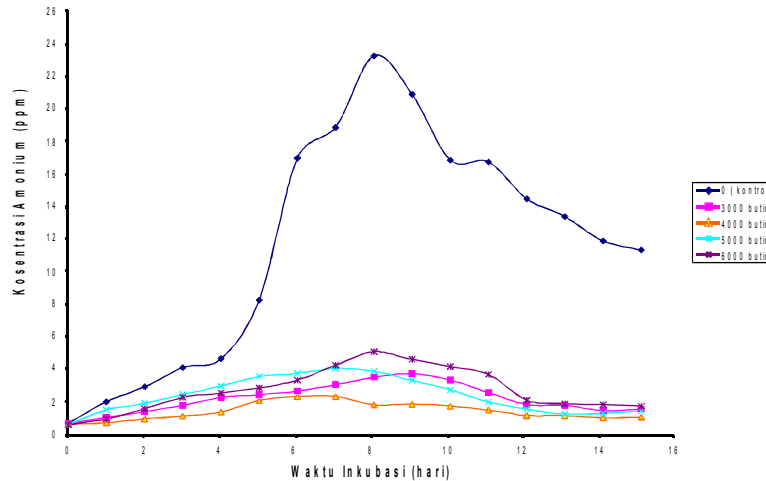


Gambar 2. Sel *C. pyrenoidosa* imobil  
 Figure 2. Immobilized *C. pyrenoidosa* cells

Hasil pengukuran amonium pada kultur ikan setelah 14 hari dengan konsentrasi sel yang berbeda tertera pada Gambar 3, yang menunjukkan bahwa penambahan *C. pyrenoidosa* imobil mampu menurunkan konsentrasi amonium pada kultur ikan. Pemberian alga imobil sebanyak 4000 butir paling efektif dalam menurunkan konsentrasi amonium bila dibandingkan dengan pemberian alga imobil sebanyak 3000, 5000 dan 6000 butir. Hal ini menunjukkan bahwa daya dukung lingkungan pada akuarium dengan 4000 alga imobil lebih optimal bila dibandingkan dengan pemberian 5000 dan 6000 alga imobil. Pemberian alga yang terlampaui melimpah dapat menyebabkan kompetisi di antara sesama alga terhadap nutrisi, cahaya, dan faktor-faktor lainnya yang menyebabkan ketidakefektifan jumlah sel yang diberikan. Pemberian 3000 sel alga imobil kurang efektif dalam penurunan konsentrasi amonium karena jumlah sel alga imobil yang terlalu sedikit. Uji statistik menunjukkan bahwa seluruh perlakuan berbeda nyata bila dibandingkan dengan kontrol.

Pada kontrol, tanpa penambahan *C. pyrenoidosa*, terlihat adanya akumulasi amonium yang sangat tinggi. Hal ini disebabkan oleh tidak terdapatnya *C. pyrenoidosa* imobil yang dapat menyerap amonium sebagai sumber nitrogen. Pada hari ke-9 terjadi penurunan konsentrasi amonium. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya proses oksidasi amonium menjadi nitrit yang merupakan tahap pertama proses nitrifikasi. Proses ini dapat dilakukan oleh bakteri *Nitrosomonas* yang dapat tumbuh secara alami dalam kultur ikan.

Pertumbuhan bakteri *Nitrosomonas* secara alamiah dipicu oleh kehadiran amonium sebagai sumber makanannya. Sebelum bakteri ini tumbuh, amonium terakumulasi dalam akuarium. Pada saat *Nitrosomonas* mulai tumbuh, secara perlahan amonia menurun karena amonia mulai dikonsumsi oleh bakteri tersebut. Bakteri *Nitrosomonas* membutuhkan waktu sekitar 10-14 hari untuk dapat mengubah amonia menjadi nitrit (Chen, 2001).



Gambar 3. Perubahan konsentrasi amonium pada kultur ikan dengan perlakuan sel *C. pyrenoidosa* imobil pada berbagai konsentrasi, suhu 23-25°C, aerasi 1,2 L/menit, intensitas cahaya 3000-4000 lux

Figure 3. The change of ammonium concentration in fish culture with various immobilized *C. pyrenoidosa* cell concentrations at 24-25°C, aeration of 1.2 L/minute, light intensity of 3000-4000 lux

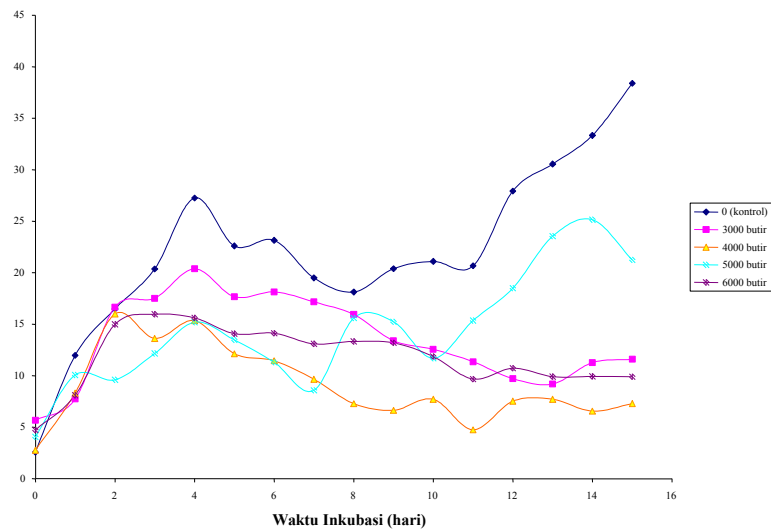
Hasil pengukuran nitrat pada kultur ikan setelah 14 hari menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi nitrat baik pada kontrol maupun pada perlakuan di awal inkubasi (Gambar 4). Hal ini karena amonium terlebih dahulu digunakan oleh *C. pyrenoidosa* sebagai sumber nitrogen. Pemanfaatan amonium lebih besar bila dibandingkan dengan pemanfaatan nitrat oleh *C. pyrenoidosa* (MacDonald, 1978).

Terjadinya akumulasi nitrat pada awal inkubasi diduga karena sebagian besar amonium dapat dimanfaatkan oleh *C. pyrenoidosa* secara langsung dan sebagian lagi mengalami proses oksidasi yang disebabkan oleh adanya donor oksigen yang berasal dari aerasi. Pengocokan oleh udara tersebut dapat mengoksidasi amonium karena amonium merupakan struktur yang tidak stabil. Oksidasi amonium menjadi nitrit kemudian menjadi nitrat menyebabkan terjadinya akumulasi nitrat yang dapat meningkatkan kadar nitrat (Grant dan Long, 1985).

Pemberian alga imobil sebanyak 4000 butir paling efektif menurunkan konsentrasi nitrat pada kultur ikan. Tanpa penambahan *C. pyrenoidosa* akan mengakibatkan adanya akumulasi nitrat yang sangat tinggi. Hal ini disebabkan oleh tidak terdapatnya *C. pyrenoidosa* imobil yang dapat menyerap nitrat sebagai sumber nitrogen bagi alga. Uji statistik menunjukkan bahwa seluruh perlakuan berbeda nyata bila dibandingkan dengan kontrol.

Preferensi adanya penyerapan amonium lebih dahulu bila dibandingkan dengan nitrat karena amonium dapat melalui membran sel secara langsung, sedangkan nitrat mengalami proses translokasi ion karena membran tidak bersifat permeabel untuk nitrat. Pori ion yang terdapat pada membran ganda fosfolipid (*ionophorus*) akan mempermudah terjadinya difusi ion, dalam hal ini nitrat bertukar posisi dengan ion klorida. Difusi nitrat

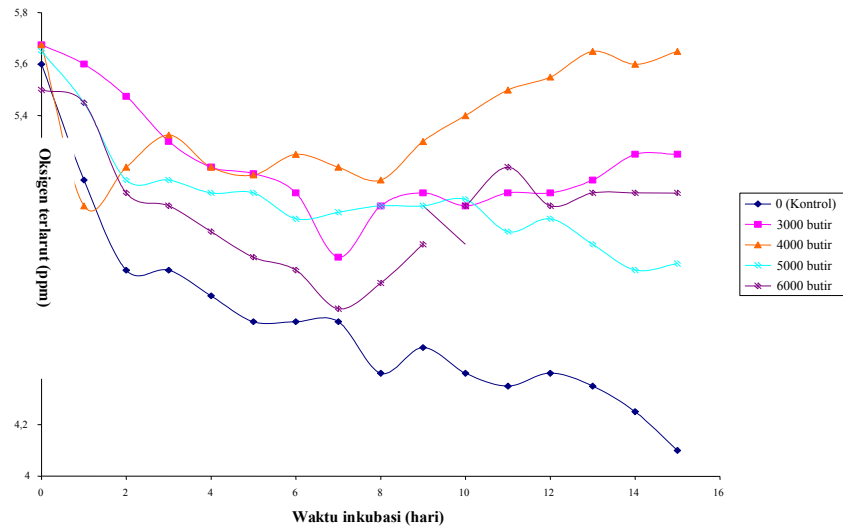
terjadi dengan mudah apabila konsentrasi internal ion mendekati konsentrasi eksternal. Di dalam sel, nitrat secara kontinu direduksi menjadi amonium (Nielsen dan MacDonald, 1978).



Gambar 4. Perubahan konsentrasi nitrat pada kultur ikan dengan perlakuan sel *C. pyrenoidosa* imobil pada berbagai konsentrasi, suhu 23<sup>o</sup>-25<sup>o</sup>C, aerasi 1,2 L/menit, intensitas cahaya 3000-4000 lux

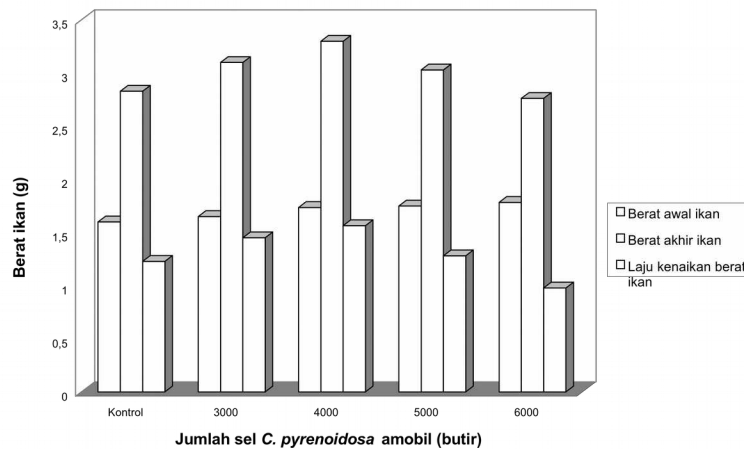
Figure 4. The change of nitrate concentration in fish culture with various immobilized *C. pyrenoidosa* cell concentrations at 24-25°C, aeration of 1.2 L/minute, light intensity of 3000-4000 lux

Pengamatan terhadap oksigen terlarut setiap hari bertujuan untuk mengetahui perubahan oksigen terlarut selama inkubasi. Perubahan oksigen terlarut menjadi salah satu tolok ukur kualitas air dalam kultur ikan karena berhubungan erat dengan kemampuan mikroalga dalam melakukan fotosintesis. Pada Gambar 5 terlihat bahwa optimasi dengan pemberian alga imobil sebanyak 4000 butir memiliki nilai rata-rata oksigen terlarut paling besar, yaitu 5,36 ppm. Konsentrasi oksigen terlarut pada kontrol lebih rendah bila dibandingkan dengan perlakuan pemberian alga imobil. Rata-rata oksigen terlarut pada kontrol lebih kecil dari 5 ppm, sedangkan pada seluruh perlakuan dengan penambahan *C. pyrenoidosa* imobil rata-rata lebih besar dari 5 ppm. DO normal pada kultur ikan air tawar yaitu > 5 ppm. Hal ini menunjukkan adanya kemampuan *C. pyrenoidosa* untuk berfotosintesis yang menghasilkan peningkatan oksigen terlarut (Pandey dan Trivedi, 1995). Aktivitas *C. pyrenoidosa* dalam melangsungkan proses fotosintesis ini mempengaruhi ketersediaan oksigen terlarut dalam kultur ikan sebagai produk akhir dalam proses ini.



Gambar 5. Perubahan konsentrasi oksigen terlarut pada kultur ikan dengan perlakuan sel *C. pyrenoidosa* imobil pada berbagai konsentrasi, suhu 23<sup>o</sup>-25<sup>o</sup>C, aerasi 1.2 L/menit, intensitas cahaya 3000-4000 lux

Figure 5. The change of dissolved oxygen concentration in fish culture with various immobilized *C. pyrenoidosa* cell concentrations, at 24-25<sup>o</sup>C, aeration of 1.2 L/minute, light intensity of 3000-4000 lux



Gambar 6. Kenaikan berat ikan pada kultur ikan dengan perlakuan sel *C. pyrenoidosa* imobil dengan berbagai konsentrasi, suhu 23<sup>o</sup>-25<sup>o</sup>C, aerasi 1.2 L/menit, intensitas cahaya 3000-4000 lux

Figure 6. The increasing weight fish in fish culture with various immobilized *C. pyrenoidosa* cell concentrations, at 24-25<sup>o</sup>C, aeration of 1.2 L/minute, light intensity of 3000-4000 lux

Pengamatan terhadap berat ikan pada hari ke-14 bertujuan untuk mengetahui hubungannya dengan kualitas air. Gambar 6 menunjukkan bahwa pemberian *C. pyrenoidosa* imobil sebanyak 4000 butir dapat meningkatkan berat ikan paling tinggi dengan laju kenaikan berat ikan 1,56 g/ekor selama 14 hari. Hal ini disebabkan oleh tercapainya kualitas air terbaik. Dengan tingginya penurunan kadar amonium dan nitrat, kualitas air dalam akuakultur menjadi meningkat sehingga terjadi kenaikan berat ikan.

## Kesimpulan

Penambahan sel *C. pyrenoidosa* imobil sebanyak 4000 butir mampu menurunkan kadar amonium dan kadar nitrat dengan kenaikan oksigen terlarut tertinggi dan kenaikan biomassa ikan sebesar 1,56 g/ekor selama 15 hari.

## Daftar Pustaka

- Becker, E.W. 1994. *Microalgae; Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press. Cambridge, New York.
- Chen C.Y. 2001. Immobilized microalga *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyta, Chlorococcales) for long-term storage and for application in fish culture water quality control. *Aquaculture*, 195 (1-2), 71-80.
- Chevalier, P., de la Noue, J. 1985. Wastewater nutrient removal with microalgae immobilized in carrageenan, *Enzyme Microb. Technol.*, 7, 621-624.
- Faafent, B.A., von Donk, Kallqvist, S.T. 1994. In situ measurement of algal growth potential in aquatic ecosystems by immobilized algae. *J. Appl. Phycol.*, 6, 301-308.
- FAO, 2000. PART 1. World Review of Fisheries and Aquaculture. Fisheries Resources: Trend in Production, Utilization, and Trade. <http://www.fao/DOCREP/003/X8002E/>.
- Grant, W.D. and Long, P.E. 1985. *The nature environment and biogeochemical cycle*. Volume 1. Berlin: Springer – Verlag.
- Kurniati, T., 1996. Pengaruh kadar mikronutrien Fe terhadap produksi zat pengatur tumbuh dan senyawa antibiotika pada kultur sel *Chlorella pyrenoidosa* dengan sistem terbuka. Skripsi Sarjana Biologi. ITB.
- Nielsen, R. Donald and MacDonald, I.G. 1978. *Nitrogen in the Environment*. Academic Press, INC. pp 143-169.
- Pandey, S.N. and Trivedi, P.S. 1995. *A Textbook of algae*. Mandras: Vicas Publishing House PVT.Ltd. pp 113.
- Proulx, D., de la Noue, J. 1988. Removal of macronutrients from wastewater by immobilized algae. In: Moo-young M. (ed), *Bioreactor immobilized enzymes and cells: Fundamental and application*. Elsevier Applied Science, 301-310.
- Romo, S. and Perez-Martinez, C. 1997. The use of immobilization in alginate beads for long-term storage of *Pseudanabaena galeata* (Cyanobacteria) in laboratory. *J. Phycol.*, 33, 1073-1076.
- Sung-K.K., Kong, I., and Lee, B.H. 2000. Removal of Ammonium-N from a recirculation aquacultural system using an immobilized nitrifier. *Aquacultural Engineering*, 21, 139-150.
- Wilkonson, C.S., Goulding, K.H., and Robinson, P.K. 1990. Mercury removal by immobilized algae in batch culture system. *J. Appl. Phyco.*, 2, 223-230.
- Wulandari, W. 1999. Konservasi pati dari ubijalar menjadi glukosa secara enzimatis dan selanjutnya menjadi fruktosa dengan *Streptomyces sp.* imobil. Skripsi Sarjana. Jurusan Biologi. FMIPA. ITB. Bandung.
- Zonneveld, H., Huisman, E.A., and Boon, J. 1991. *Prinsip-Prinsip Budidaya Perairan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.