

BULETIN *AgroBio*

ISSN 0853-9022

Vol. 2, No. 2, 1999

JURNAL TINJAUAN ILMIAH RISET BIOLOGI DAN BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Aspek Industri Sistem Kultivasi Sel Mikroalga Imobil Hakim Kurniawan dan Lukman Gunarto	1
Enzim Selulase dari <i>Trichoderma</i> spp. Selly Salma dan Lukman Gunarto	9
Prospek Bioherbisida sebagai Alternatif Penggunaan Herbisida Kimiawi Indira Genowati dan Untung Suwahyono ...	17
Validasi Metode Analisis Kimia Ahmad Hidayat ...	22
Interaksi Poligenik Ketahanan Tanaman Padi terhadap Patogen Blas Dwinita Wikan Utami ...	29



Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

Penerbit

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Departemen Pertanian

Alamat Penerbit

Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

E-mail: borif@indo.net.id & rifcb@indo.net.id

Telepon: (0251) 339793, 337975

Faksimile: (0251) 338820

Kala Terbit

Dua nomor per volume

Penanggung Jawab

Djoko S. Damardjati
Kepala Balai Penelitian
Bioteknologi Tanaman Pangan

Redaktur Teknis

Novianti Sunarlim
Sutrisno
Ida Hanarida Somantri
Sri Widowati

Redaktur Pelaksana

Suyono
Ida N. Orbani

Buletin AgroBio (dahulu bernama **Buletin Penelitian**) memuat artikel tinjauan ilmiah hasil riset dalam bidang biologi dan bioteknologi tanaman. Naskah (boleh ditulis dalam bahasa Indonesia atau Inggris) yang diajukan untuk diterbitkan hendaknya belum pernah dipublikasikan pada media cetak manapun dan ditulis sesuai dengan "Pedoman Bagi Penulis" (lihat sampul belakang bagian dalam). Dewan Redaksi berhak menyunting naskah tanpa mengubah isi dan makna tulisan atau menolak menerbitkan suatu naskah.

Naskah dapat bersifat tinjauan ilmiah (kritis) atau tinjauan informatif (anotasi) terhadap subjek tertentu, atau gabungan antara keduanya. Tinjauan ilmiah merupakan hasil evaluasi, sintesis, dan analisis kritis tentang riset bagi kepentingan ilmu pengetahuan dan teknologi, sedangkan tinjauan informatif merupakan hasil evaluasi bagi kepentingan pengguna.

Isi naskah dapat membahas salah satu dari butir-butir berikut, yaitu: (a) status riset pada subjek tertentu, baik yang telah, sedang, maupun yang akan dikerjakan, (b) pengungkapan masalah dan pemecahannya, (c) pengembangan suatu metode atau konsepsi, dan (d) gagasan dan pendekatan yang dapat dijadikan landasan bagi suatu usulan riset. Sumber bacaan seyogyanya meliputi bahan pustaka terbitan dalam dan luar negeri yang terkini dan relevan.

Aspek Industri Sistem Kultivasi Sel Mikroalga Imobil

Hakim Kurniawan dan Lukman Gunarto

Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor

ABSTRACT

Industrial Aspects of System for Mass Production of Immobilized Microalgae. H. Kurniawan and L. Gunarto. Microalgae mass cultivation process has become an interesting issue these days due to the beneficial values and industrial application of these microorganisms. Products of microalgae have been very useful to human needs in various forms, such as food stuffs (essential fatty acids, essential amino acids, vitamins, and food colors), enzymes (proteases, phosphoglyceric kinases, amino acid oxidases, superoxide dismutases, and restriction endonucleases) as well as pharmaceutical and therapeutically agents (antibiotics, anticancer, antiviral, toxins, inhibitory enzymes, and hypocholesterolemic effects). Currently, mass production of microalgae is being done through heterotrophic and photoheterotrophic cultures either outdoors on ponds or indoor using both enclosed bioreactors and photobioreactors. These techniques could be improved by the application of biotechnology, such as use of cell immobilization technique. This technique could improve productivity of the microalgae mass production system.

Key words: Immobilized microalgae, mass production system, application in industry.

Mikroalga adalah mikroorganisme fotosintetik dengan morfologi sel yang bervariasi, baik uniselular maupun multiselular (membentuk koloni kecil). Sebagian besar mikroalga tumbuh secara fototrofik, meskipun tidak sedikit jenis yang mampu tumbuh secara heterotrofik. Ganggang hijau-biru prokariotik (*cyanobacteria*) juga termasuk dalam kelompok mikroalga (Trevan dan Mak, 1988). Dalam *Bergey's Manual of Systematic Bacteria*, kelompok mikroorganisme ini ditempatkan bersama-sama dengan klas *Oxyphotobacteria*, dalam divisi *Gracilicutes*. Hingga saat ini tidak kurang dari 30.000 jenis mikroalga telah dikenal dan dipelajari secara intensif (Metting dan Pyne, 1986).

Manfaat dan nilai komersial mikroalga bagi kepentingan industri telah cukup lama dikenal. Sejak tahun 1940 penelitian dan pengembangan secara intensif telah dilakukan di beberapa negara, baik dalam skala laboratorium maupun lapangan. Mikroorganisme fotosintetik ini telah dimanfaatkan dalam pro-

duksi biomassa, produksi energi, produksi berbagai produk bermanfaat, bioakumulasi senyawa tertentu serta berbagai proses biotransformasi. Produk-produk yang dihasilkan mikroalga sebagian besar bersifat ekstraselular, mulai dari metabolit sederhana hingga antibiotik kompleks, toksin, pigmen serta sejumlah produk bermanfaat lainnya (Trevan dan Mak, 1988).

Seiring dengan perkembangan bioteknologi mikroalga, saat ini perhatian mulai ditujukan untuk penghasiian produk bermanfaat yang bernilai ekonomi tinggi, di antaranya adalah pigmen seperti fikobiliprotein, asam amino (Metting dan Pyne, 1986; Trevan dan Mak, 1988), enzim seperti *acetamidase* (Gresshoff, 1981), protease (Kellam dan Walker, 1987), asam amino oksidase, superoksidase dismutase dan endonuklease restriksi (Kun, 1990; Metting dan Pyne, 1986), inhibitor enzim seperti glikosidase inhibitor (Cannell *et al.*, 1987; Cannell dan Walker, 1987) dan senyawa pengatur tumbuh (*plant growth regulator*) (Metting dan Pyne, 1986). Beberapa produk lain terutama yang memiliki arti penting

dalam bidang farmasetika, seperti antibiotik (Cannell dan Walker, 1986; Cannell *et al.*, 1988a; 1988b; Kellam dan Walker, 1989), toksin (Lincoln *et al.*, 1991; Metting dan Pyne, 1986), antitumor, *hypocholesterolemic effects* dan antivirus, terutama virus *HIV-1* (Kun, 1994). Semakin meningkatnya tuntutan kebutuhan terhadap produk-produk tersebut di pasar dunia, mengakibatkan sistem kultivasi sel mikroalga semakin banyak diminati dan dipelajari.

Sejumlah industri mulai mengembangkan sistem fermentasi heterotrofik, dengan melibatkan berbagai teknik peningkatan produktivitas dan efisiensi produksi. Kultivasi sel yang semula dilangsungkan dalam skala besar dengan sistem *outdoor* pada kolam-kolam, mulai dialihkan dengan menggunakan bioreaktor-bioreaktor, baik bioreaktor tertutup (*enclosed bioreactor*) maupun bioreaktor tembus cahaya (*photobioreactor*) (Kun, 1990; Trevan dan Mak, 1988).

Imobilisasi sel merupakan salah satu teknologi yang dewasa ini banyak diterapkan dalam industri fermentasi (bioproses) karena memiliki beberapa kelebihan. Penerapan teknik imobilisasi sel dapat meningkatkan produktivitas dan efisiensi produksi. Keuntungan penggunaan sel hidup yang diimobilkan dalam proses biokatalitik/bioproses, di antaranya adalah (1) Mempermudah proses pemisahan biokatalis dari produknya, (2) Memungkinkan penggunaan ulang (*reuse*) dari biokatalis yang bersangkutan, (3) Mampu mempertinggi kerapatan sel di dalam bioreaktor, dan (4) Dapat diterapkan dengan baik pada sistem bioreaktor kontinyu. Dalam tulisan ini, akan dibahas mengenai produk-produk bermanfaat yang dihasilkan oleh mikroalga, teknik imobilisasi sel yang berhasil diterapkan pada sel

mikroalga, dan seputar perkembangan penggunaan sel mikroalga yang diimobilkan dalam industri fermentasi.

PRODUK-PRODUK BERMANFAAT YANG DIHASILKAN MIKROALGA

Mikroalga diketahui mampu menghasilkan berbagai jenis produk bermanfaat. Produk-produk mikroalga bersifat unik, beberapa di antaranya tidak dijumpai pada tanaman atau mikroba yang lainnya. Secara umum, produk-produk tersebut dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu (1) Bahan-bahan untuk pangan, (2) Senyawa bioaktif, dan (3) Produk-produk bermanfaat yang lain

Bahan-bahan untuk Pangan

Kelompok mikroalga yang banyak digunakan untuk tujuan ini adalah mikroalga uniselular *Chlorella* dan mikroalga filamen *Spirulina*. Nilai produksi yang dihasilkan berkisar US\$ 100 per kilogram, dengan skala produksi 2.000 metrik ton berat kering per tahun. Jepang dan Taiwan adalah negara yang telah mengembangkan pemanfaatan *Chlorella* dan *Spirulina* secara komersial. Produk yang dihasilkan berupa biomassa sel, yang dikenal sebagai makanan penyehat (*health food*) (Benemann *et al.*, 1987). Produk yang dipasarkan sebagai suplemen gizi tersebut saat ini telah diperjualbelikan di Indonesia dalam bentuk tablet/pil (Sumantera, 1993).

Mikroalga halotoleran *Dunaliella* dilaporkan mampu mengakumulasi pigmen β -karoten dalam jumlah besar. Pada kondisi optimum, lebih dari 10% berat kering biomassa merupakan β -karoten (Ben-Amotz dan Avron, 1990). Demikian pula dengan *Spirulina platensis* penghasil pigmen *phycocyanin*. Pada kultur fotoheterotrofik, produksi maksimum *phycocyanin*

dapat mencapai 13% berat kering sel (Chen *et al.*, 1996). Jenis lain adalah *Lavendula vera* penghasil pigmen biru (Yongsmith *et al.*, 1989) serta *Haematococcus lacustris* (Kun, 1990) dan *H. pluvialis* (Cordero *et al.*, 1996) penghasil *asthaxanthin*. Pigmen-pigmen tersebut merupakan pigmen alami yang digunakan sebagai pengganti pewarna makanan sintetis, yang diketahui sebagian besar bersifat karsinogenik.

Beberapa asam lemak esensial yang dihasilkan mikroalga di antaranya adalah asam γ -linoleat oleh *S. platensis* dan *Ochromonas danica*, asam arakhidonat oleh *Porphyridium cuentum* dan *O. danica* serta asam eikosapentanoat oleh *Monodus subterraneus* (Kun, 1990).

Senyawa Bioaktif

Produksi senyawa bioaktif oleh mikroalga mulai dilaporkan sekitar tahun 1930-an, dengan ditemukannya senyawa antibiotik dan toksin mikroalga. Namun demikian, secara tradisional pemanfaatan mikroalga bagi kepentingan kesehatan telah berkembang sejak tahun 1500. Beberapa jenis yang telah dikenal di antaranya adalah *Cladophora glomerata* sebagai obat luka bakar, *Pleurococcus neeglis* dan *Trentapholia iolithus* sebagai obat antibakteri, *Rhizoclonium rivulare* sebagai salep dan *Nostoc* untuk obat kanker dan penyakit tulang (Metting dan Pyne, 1986).

Beberapa jenis metabolit, termasuk di dalamnya amino primer dan sekunder seperti spermidin, 2-phenylethylamine dan tyramine pada *Scenendesmus glutus*, histidin dan histamin pada *Euglena*, *Scenendesmus* dan *Chlorella*, serta *Euglena* yang mensekresikan senyawa *diamine* dan *polyamine*. *Neospangiococcum saccatum* mampu menghasilkan 1,3-diamino-propane dalam konsentrasi

yang sangat tinggi, senyawa yang sangat jarang disintesis oleh kelompok mikroorganisme yang lainnya (Metting dan Pyne, 1986).

Sebagian besar senyawa antibiotik mikroalga belum teridentifikasi dengan jelas, namun diketahui merupakan asam-asam lemak, asam-asam organik, bromofenol, inhibitor fenol, lipoprotein, tanin, terpenoid, polisakarida, dan alkohol. Campuran asam lemak yang disebut *Chlorellin* (dari *Chlorella*), ternyata memperlihatkan sifat antibakteri. Senyawa yang sama juga ditemukan pada *Asterionella japonica* dan *Phaeocystis pouchetii* (Metting dan Pyne, 1986).

Mikroalga mensintesis sterol dan *nonisoprenoid*. Mikroalga juga mensintesis semua asam amino yang diperlukan untuk sintesis protein, termasuk di dalamnya D-alanin, D-glutamin, dan asam-asam β -amino. Produksi polisakarida sulfat juga telah dikembangkan pada skala industri, karena senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas biologi. Program skrining terus dilakukan guna mendapatkan isolat penghasil produk-produk yang memiliki arti penting dalam bidang farmasi dan pengobatan. Mikroalga *Spirogyra varians*, *Zygnema cylindricum*, *Mesotaenium caldariorum*, dan *Mougetia* sp. diketahui memiliki aktivitas inhibitor enzim α -glukosidase yang jarang sekali ditemukan pada jenis mikroalga lain. Isolat yang sama juga mampu menghasilkan senyawa antibakteri yang efektif terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Mycobacterium phlei*, *Micrococcus flavus*, *Proteus vulgaris*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Cannell dan Walker, 1987). Dari program skrining lebih lanjut berhasil didapatkan 41 isolat (Cannell *et al.*, 1988a) dan 27 isolat baru mikroalga (Kellam dan Walker, 1989) yang memiliki aktivitas anti-

bakteri melawan sejumlah bakteri gram positif.

Metting dan Pyne (1986) melaporkan bahwa senyawa *debromophysiatoxin* dari *Lyngbya majuscula* dan beberapa senyawa yang dihasilkan oleh *Oscillatoria* memiliki aktivitas spesifik melawan leukemia pada tikus. Demikian pula senyawa *tubercidin* dari *Tolypothrix brysoidea*.

Kelompok senyawa bioaktif yang lain adalah senyawa pengatur tumbuh tanaman (*plant growth regulator*/PGR). PGR adalah senyawa yang mampu mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Dari sekian banyak jenis mikroalga, *cyanobacteria* yang paling banyak dipelajari kemampuannya dalam menghasilkan dan men-sekresikan senyawa pengatur tumbuh tanaman. Aktivitas senyawa pengatur tumbuh tanaman pada *cyanobacteria* telah banyak digunakan sebagai pupuk hayati, berikut kemampuan fiksasi nitrogennya. Namun demikian, belum banyak hasil studi yang lebih definitif mengenai karakteristik dari senyawa pengatur tumbuh pada mikroalga.

Produk-produk Bermanfaat Lainnya

Produk-produk bermanfaat lain yang dihasilkan mikroalga di antaranya adalah hidrokarbon, alkohol polihidrat, enzim (Kellam dan Walker, 1987; Kun, 1990; Metting dan Pyne, 1986), hidrogen (Kuwada dan Ohta, 1987; Miura *et al.*, 1982; 1992; Niyomrit *et al.*, 1989), amoniak (Ramos *et al.*, 1982b; Robinson *et al.*, 1986) dan flokulan (Barr-Or dan Shilo, 1987). Jenis senyawa masing-masing kelompok produk tersebut disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Produk-produk bermanfaat yang dihasilkan oleh mikroalga

Produk yang dihasilkan	Jenis mikroalga
Asam lemak esensial:	
Asam γ -linoleat	<i>Spirulina platensis</i> , <i>Ochromonas danica</i>
Asam arakhidonat	<i>Porphyridium cruentum</i> , <i>O. danica</i>
Asam eikosapentanoat	<i>Monodus subterraneus</i>
Sterol:	
Dinosterol	<i>Cryptothecodinium cohnii</i> , <i>Gonyaulax tamarensis</i>
Kholesterol	<i>O. danica</i> , <i>Chaetocerus simplex</i> , <i>Astasia longa</i>
Ergosterol	<i>Naematococcus pluvialis</i> , <i>Chlorella candida</i> , <i>Cyanidium caldarium</i>
2, Dehydrocholesterol	<i>Porphyridium cruentum</i>
Poriferasterol	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , <i>C. ellipsoides</i>
Chondriasterol	<i>Euglena gracilis</i> , <i>Nostoc commune</i>
Cionasterol	<i>Monodus subterraneus</i> , <i>Tribonessa aequale</i> , <i>Anabaena cylindrica</i>
Brassicasterol	<i>Amphora</i> sp.
Stigmasterol	<i>Amphora</i> sp.
Hidrokarbon:	
<i>n</i> -bensicosahexaene	red, brown, green microalgae
<i>n</i> -pentadecane	brown microalgae
<i>n</i> -heptadecane	red algae
Olefin	red, brown, green microalgae
7,9-dimetil heksadekana	cyanobacteria
7-metil-heptadekana	cyanobacteria
Karotenoid:	
β -karoten	<i>Dunaliella bardawil</i>
Diadinoxanthin	<i>Vacularea virescens</i>
Lutein	<i>C. pyrenoidosa</i>
Astaxanthin	<i>Haematococcus lacustris</i>
Phycobiliprotein/phycobillin:	
Phycocyanin	<i>Spirulina</i> sp.
Enzim:	
Fosfoliserat kinase	<i>S. platensis</i>
Endonuklease restriksi	
Aca I	<i>A. catanula</i>
Acy I	<i>A. catanula</i>
Afa I & II	<i>A. flosaqua</i>
Aos I & II	<i>A. oscillaricides</i>
Ava I, II & III	<i>A. variabilis</i>
Avr I & II	<i>A. variabilis</i>
Mia	<i>Mastigocladus laminosus</i>
Mst I & II	<i>Microcoleus</i> sp.
Asam amino oksidase	<i>C. vulgaris</i> , <i>Anacystis nidulans</i>
Superoksida dismutase	<i>Spirulina</i> sp., <i>Porphyridium</i> sp.
Alkohol polihidrat:	
Glisserol	<i>Asteromonas gracilis</i>
Manitol	<i>Dunaliella</i> sp.
Sorbitol	<i>Monallantus salina</i>
Sikloheksanatetrol	<i>Klebsormidium marinum</i> , <i>Monochrysis luteri</i>
Glikosida:	
Galaktogliserida	<i>Syneccococcus</i> sp.
Floridosida, isofloridosida	<i>O. malhamensis</i>
Polisakarida :	
Carrageenan	<i>Porphyridium</i> spp.
Pati	<i>Chlorella</i> spp.
Asam polihidroksibutirat	<i>S. platensis</i>
Toksin:	
Anatoksin A	<i>A. flosaqua</i>
Saxitoxin	<i>Aphanizomenon flosaqua</i> , <i>Gonyulax tamarensis</i>
Microcystin	<i>Microcystis aeruginosa</i>
Debromophysiatoxin	<i>Lyngbya majuscula</i>
Lyngbyatoxin A	<i>L. majuscula</i>
Ascillatoxin	<i>Oscillatoria nigrovidis</i> , <i>Schizothrix claciola</i>
12-methoxybogamine	<i>Peridinium polenicum</i>
Choline sulphate	<i>Amphidinium kleosii</i> , <i>A. rhynchocephalum</i>

Sumber: Metting dan Pyne, 1986

TEKNIK IMOBILISASI SEL MIKROALGA

Teknik imobilisasi sel pertama kali dipelajari pada tahun 1960-an, dengan ditemukannya teknik imobilisasi enzim. Terbatasnya reaksi yang dapat dikatalisis oleh enzim imobil merupakan salah satu masalah yang ditemui dalam imobilisasi enzim. Teknik tersebut selanjutnya berkembang dengan imobilisasi sel viabel, yang terbukti mampu mengkatalisis reaksi multi-tahap berkat peran sistem multi-enzim yang termuat di dalam sel (Nunez dan Lema, 1987).

Menurut Nunez dan Lema (1987), ada empat metode yang dapat diterapkan dalam imobilisasi sel, yaitu (1) Imobilisasi tanpa bahan pembawa (*carrierless immobilization*), yaitu pembentukan agregat-agregat sel dengan menggunakan senyawa flokulan yang mampu mempengaruhi sifat ionik sel, seperti polielektrolit dan mineral hidrokoloid, (2) Penggabungan secara kovalen (*covalent coupling*), yaitu perlakuan dengan senyawa tertentu yang mengakibatkan terbentuknya ikatan silang (*crosslink*), (3) Adsorpsi ke dalam bahan pembawa padat yang bersifat inert, dan (4) Perangkapan sel (*entrapment*) ke dalam bahan inert yang bersifat semipermeabel seperti hidrogel, serat atau membran.

Ada dua metode yang dapat diterapkan untuk mengimobilkan sel mikroalga, yaitu adsorpsi (*adsorption*) dan perangkapan sel secara aktif (*active entrapment*). Dalam hal ini, beberapa hal yang perlu diperhatikan adalah retensi viabilitas sel, kemampuan fotosintesis, kerapatan sel yang tinggi, kontinuitas produktivitas, rendahnya tingkat pelepasan sel dari matriks pengimobil dan stabilitas sel yang diimobilkan selama preparasi. Matriks pengimobil juga harus memiliki beberapa sifat seperti tidak tok-

sik terhadap sel, tembus cahaya (khusus bagi imobilisasi sel mikroalga fotosintetik), stabilitas sifat di dalam media pertumbuhan dan ketahanan akibat pertumbuhan sel (Trevan dan Mak, 1988).

Adsorpsi sel ke dalam bahan pembawa merupakan teknik imobilisasi sel yang paling sederhana. Pada teknik ini, sel dilekatkan pada permukaan materi berpori seperti arang, resin atau potongan-potongan kecil kayu, atas dasar mekanisme bahwa bahan pembawa tersebut dapat berinteraksi dengan sel secara fisik atau melalui ikatan polar. Kemampuan adhesif sel pada bahan pembawa dapat ditingkatkan dengan cara menambahkan agensia aktif permukaan atau agensia pengikat silang seperti glutaraldehid.

Perangkapan sel ke dalam bahan pembawa merupakan teknik imobilisasi yang lebih banyak digunakan daripada adsorpsi, karena kehilangan sel dari matriks pengimobil dapat lebih ditekan. Perangkapan terjadi karena ukuran sel lebih besar daripada ukuran pori bahan pembawa (agensia perangkap), sementara di pihak yang lain difusi substrat dan produk dapat berlangsung bebas. Beberapa polimer alami dan sintetik telah banyak digunakan sebagai matriks pengimobil sel mikroalga. Polimer alami seperti alginat, agar dan *K-carrageenan* terbukti tidak berpengaruh buruk terhadap viabilitas sel yang diimobilkan. Tiga jenis polimer sintetik juga telah dikembangkan, yaitu *polyacrylamide*, serum albumin-glutaraldehid, *polyvinyl (PV)* dan *polyurethane (PU)*. *Polyacrylamide* diketahui tidak cocok diterapkan pada mikroalga *Anacystis* dan *Rhodospirillum*, karena bersifat meracun. Demikian pula serum albumin-glutaraldehid terhadap *Anabaena* dan *Scenedesmus*. *Polyurethane* tidak berha-

sil diterapkan dengan baik pada sel *Anabaena*, sementara pada kasus yang lain justru berhasil dilakukan pada sel *Porphyridium*, *Chlorella*, dan *Scenedesmus* (Trevan dan Mak, 1988).

Teknik/cara perangkapan sel sangatlah sederhana. Sel yang akan diimobilkan mula-mula disuspensikan dan dicampur dengan suspensi pembentuk gel pada konsentrasi tertentu. Campuran tersebut selanjutnya ditetaskan dengan cara melewatkannya pada kolom jarum, dan ditampung dengan larutan pengeras (*hardener*), sehingga terbentuk manik-manik. Ukuran diameter manik-manik akan sangat tergantung pada ukuran kolom jarum. Dari beberapa agensia perangkap, perangkapan sel menggunakan gel natrium alginat merupakan cara perangkapan sel mikroalga yang banyak diterapkan. Sejumlah matriks lain sebagian besar bersifat racun dan tingkat pelepasan sel dari matriks pengimobil cukup tinggi.

Menurut Smidsrod dan Skjak-Braek (1990), tahapan persiapan pembuatan gel dan pengimobilan sel menggunakan natrium alginat adalah sebagai berikut:

Penyiapan Larutan Natrium Alginat

Larutan kalsium alginat dibuat dengan cara mensuspensikan N-alginat dalam akuades atau bufer, pada konsentrasi 2-4% (b/v). Suspensi selanjutnya diaduk selama 6 jam menggunakan *magnetic stirrer* atau digojoy menggunakan *rotary shaker* pada suhu kamar selama semalam.

Sterilisasi

Larutan alginat dapat disterilkan dengan otoklaf atau secara penyaringan. Namun temperatur yang tinggi dapat mengakibatkan terjadinya depolimerisasi, sehingga steri-

lisasi dengan penyaringan merupakan cara yang dianjurkan. Alginat dengan tingkat kemurnian yang tinggi dapat disaring secara langsung menggunakan membran penyaring berukuran 0,22 μm atau menggunakan seri membran penyaring dengan tingkatan ukuran 1,2; 0,8; 0,45; dan 0,22 μm . Selain diperoleh manik-manik dengan tingkat kebeningan yang tinggi, prosedur tersebut sekaligus mampu menghilangkan materi-materi pencemar seperti protein dan polifenol.

Pencampuran dengan Sel

Larutan alginat yang telah disterilkan selanjutnya dicampur dengan suspensi sel pada volume yang sama. Suspensi sel dibuat dengan cara mencampurkan biomassa sel dalam larutan bufer isotonic. Bufer yang digunakan sebaiknya bukan fosfat, sitrat, EDTA atau bufer lain yang mengandung kation divalen karena dapat berakibat buruk terhadap stabilitas manik-manik gel yang akan terbentuk.

Imobilisasi Sel

Manik-manik gel dibentuk dengan cara meneteskan suspensi alginat yang telah dicampur dengan sel (diameter kolom jarum diatur pada ukuran 0,22-0,1 mm) ke dalam larutan yang mengandung 20-100 mM ion Ca^{++} . Larutan yang digunakan biasanya adalah CaCl_2 . Gel manik-manik yang jatuh ke dalam larutan CaCl_2 akan mengeras dalam 5-30 menit, tergantung pada ukuran gel manik-manik yang terbentuk.

Gel natrium alginat memperlihatkan kecenderungan dapat dirusak oleh ion pengkelasi seperti fosfat dan sitrat (bahan yang sering ditambahkan sebagai nutrisi pada media pertumbuhan). Namun dengan adanya sel, manik-manik menjadi tahan terhadap perusakan

oleh fosfat. Stabilitas manik-manik dapat dipelihara dengan cara menurunkan kondisi kemasaman media kultur pada pH 7,0-5,5 dan mengurangi konsentrasi fosfat dan sitrat sampai 10 mM.

Berdasarkan hasil studi pada berbagai jenis sel mikroalga yang diimobilkan, diketahui bahwa sel mikroalga filamen lebih cocok diimobilkan secara adsorpsi. Teknik imobilisasi dengan perangkapan sel secara aktif sesuai diterapkan pada sel mikroalga uniselular atau yang membentuk koloni kecil (Trevan dan Mak, 1988). Penerapan teknis imobilisasi sel mikroalga disajikan pada Tabel 2.

RANCANGAN BIOREAKTOR

Hingga kini hasil studi dan informasi mengenai rancangan bioreaktor untuk kultivasi sel imobil

mikroalga fotosintetik masih sangat terbatas. Seperti diketahui bahwa tidak sedikit jenis mikroalga yang memiliki kemampuan menggunakan senyawa inorganik atau sumber karbon sederhana. Dengan demikian, tampaknya para ahli dan kalangan industri lebih tertarik untuk mengembangkan sistem fermentasi heterotrofik, karena lebih menguntungkan dalam beberapa hal. Di samping lebih mempermudah dalam melakukan optimasi dan manipulasi sejumlah faktor kultural, produktivitas sistem fermentasi mikroalga secara heterotrofik terbukti lebih tinggi dibandingkan dengan sistem fotoautotrof (Chen *et al.*, 1996).

Pada prinsipnya, bioreaktor yang digunakan untuk kultivasi sel mikroalga imobil tidak berbeda dengan sel mikroalga bebas. Hanya

Tabel 2. Penerapan teknik imobilisasi sel mikroalga

Jenis mikroalga	Teknik imobilisasi sel
<i>Botryococcus brauni</i>	Alginat
<i>Chorella emersonii</i>	Alginat
<i>C. vulgaris</i>	Polyurethane foam
<i>Euglena gracilis</i>	Alginat
<i>Scenendesmus obliquus</i>	Polyurethane foam, Albumin/glutaraldehyd, Alginat
<i>Anacystis nidulans</i>	Agarosa
<i>B. braunii</i>	Alginat
<i>C. emersonii</i>	Alginat
<i>C. vulgaris</i>	Agarosa
<i>Dunaliella parva</i>	Alginat
<i>D. tertiolecta</i>	Alginat
<i>Porphyridium cruentum</i>	Polyurethane foam
<i>Prototheca zopfii</i>	Agarosa
<i>Anabaena azollae</i>	PU foam/ PV foam/alginat
<i>A. cylindrica</i>	PU foam/glass beads
<i>Anabaena</i> sp. N-7363	Agarosa/carrageenan
<i>Chlorogloea fitchii</i>	PU foam
<i>Mastigocladus laminosus</i>	Agarosa/alginat/PU foam/PV foam
<i>Nostoc muscorum</i>	Agarosa/PU foam
<i>Oscillatoria limnetica</i>	PU foam
<i>Ascillatoria miami</i> BG7.	Agarosa
<i>Phormidium</i> spp.	Agarosa/alginat/PU foam
<i>Porphyridium purpureum</i>	PU foam
<i>Scenendesmus obliquus</i>	Alginat/PU foam
<i>Anabaena</i> spp.	Alginat/PU foam/PV foam
<i>Mastigocladus laminosus</i>	Alginat/PU foam/PV foam
<i>Scenendesmus</i> spp.	Alginat/PU foam/PV foam
<i>Anacystis nidulans</i>	Agarosa
<i>C. pyrenoidosa</i>	Alginat
<i>C. vulgaris</i>	Agarosa

Sumber: Trevan dan Mak, 1988

saja sel mikroalga yang diimobilkan memiliki pilihan tipe bioreaktor yang lebih banyak. Beberapa tipe bioreaktor bagi sel imobil mikroalga telah diusulkan dan dikenal, di antaranya adalah *tall vertical glass tube*, *long serpentin glass tube* (Benemann *et al.*, 1987) dan *tubular loop photobioreactor* (Kun, 1990) (untuk kultivasi sel mikroalga fotoheterotrofik), serta *packed bed bioreactor*, *fluidized bed bioreactor*, dan *airlift bioreactor* (Trevan dan Mak, 1988) (untuk kultivasi sel mikroalga heterotrofik). Bioreaktor bertipe tertutup seperti *packed bed bioreactor*, *fluidized bed bioreactor*, dan *airlift bioreactor* telah banyak diterapkan pada sistem fermentasi heterotrofik oleh bakteri dan khamir.

Di antara ketiga tipe fotobioreaktor, *tubular loop photobioreactor* paling meluas diterapkan pada kultivasi sel mikroalga (Kun, 1990). Bagian utama bioreaktor tersebut berupa pipa gelas panjang yang membentuk kelokan (*loop*) dalam satu bidang. Bioreaktor ini dilengkapi dengan sumber cahaya, klep pengatur pemasukan gas, pengatur dan pengukur intensitas cahaya, pengatur suhu, reservoir amoniak, reservoir *trace element*, pompa sirkulasi, pH meter, reservoir nutrien, reservoir antifoam dan perangkat mikrokomputer. Udara yang diperkaya dengan CO₂ terus dipasok ke dalam kultur guna menjamin optimalnya pertumbuhan sel. Untuk menghindari timbulnya ruang kosong akibat injeksi gas CO₂ secara langsung ke dalam bioreaktor, maka pasokan gas CO₂ dilakukan melewati *gas exchanger* yang dihubungkan ke dalam tube fermentor.

APLIKASI KULTIVASI SEL MIKROALGA IMOBIL PADA INDUSTRI FERMENTASI

Sel mikroalga viabel yang diimobilkan telah digunakan untuk

berbagai keperluan, baik dalam skala laboratorium maupun skala komersial. Sel imobil *Phorpyridium* diketahui mampu menghasilkan dan mensekresikan polisakarida, demikian pula penghasilan asam glikolat oleh sel imobil *Chlorella* dan produksi amoniak oleh *Mastigocladus* (Ramos *et al.*, 1982a). Produksi hidrogen oleh *Phormidium*, *Lyngbya* dan *Chlamydomonas* juga telah berhasil dilangsungkan (Kuwada dan Ohta, 1987; Miyamoto *et al.*, 1989; Ramos *et al.*, 1982a) baik secara imobil maupun koimobil. Aplikasi sel imobil mikroalga yang lainnya adalah untuk produksi pigmen biru oleh *Lavendula vera* (Yongsmith *et al.*, 1989), produksi senyawa hidrokarbon oleh *Botryococcus braunii* (Smidrod dan Skjak-Braek, 1990) dan proses bioakumulasi *chlorinated hydrocarbon chlordecone* oleh *Prototheca* (Ramos *et al.*, 1982a) produksi gliserol oleh *Dunaliella parva* dan *D. tertiolecta* serta produksi hidrokarbon oleh *Botryococcus braunii* dan *Prototheca zopfii* (Trevan dan Mak, 1988).

Kecepatan pertumbuhan sel mikroalga yang diimobilkan umumnya lebih rendah dibandingkan dengan sel bebas. Urea diketahui merupakan sumber nitrogen yang efektif bagi kultur mikroalga. Pada kultur sel *Chlorella* yang diimobilkan dengan kalsium alginat, urea tidak hanya meningkatkan produksi asam glikolat, namun juga membantu penyebaran pertumbuhan sel pada bagian tengah manik-manik kalsium alginat. Stabilitas gel juga meningkat, demikian pula terjadi penurunan pelepasan sel dari matriks pengimobilnya. Salah satu faktor pembatas pada kultur sel *Chlorella* yang diimobilkan adalah pasokan CO₂. Manakala urea terserap ke dalam manik-manik, maka terjadi pemecahan menghasilkan CO₂ dan amoniak,

sehingga pertumbuhan sel dan stabilitas gel meningkat (Trevan dan Mak, 1988).

Pada beberapa kasus, produktivitas sel mikroalga yang diimobilkan dilaporkan meningkat, meskipun penyebab secara pasti baru merupakan dugaan. Meningkatnya penghasilan hidrokarbon oleh sel *Botryococcus* imobil diduga berkaitan dengan menurunnya kecepatan pertumbuhan akibat pengimobilan sel. Produksi hidrogen oleh *Anabaena* meningkat tiga kali lipat, dimungkinkan karena terlindungnya sel dari efek gaya gesekan selama aerasi dan agitasi (Trevan dan Mak, 1988).

Trevan dan Mak (1988) mempelajari *Anabaena azollae* untuk produksi hidrogen dengan menggunakan sel bebas dan sel yang diimobilkan. Hasilnya menunjukkan bahwa pada umumnya imobilisasi sel berakibat meningkatnya produktivitas. Karena terjadi perubahan metabolisme sel. Produksi amoniak oleh *Mastigocladus laminosus* juga diketahui meningkat drastis apabila sel diimobilkan dengan menggunakan *polyvinyl (PV)*.

Dibandingkan dengan sistem kultivasi sel mikroalga bebas, masalah utama yang dihadapi dalam penerapan teknik imobilisasi sel adalah relatif lebih tingginya masukan biaya. Dengan demikian teknik imobilisasi sel tersebut merupakan salah satu cara untuk meningkatkan produktivitas dan efisiensi produksi yang layak diterapkan untuk menghasilkan produk-produk yang bernilai ekonomi tinggi. Sebagian besar produk-produk tersebut merupakan senyawa yang banyak digunakan dalam bidang teknologi pangan dan farmasetika. Beberapa jenis produk tersebut saat ini telah dikembangkan baik untuk keperluan riset maupun dalam skala komersial, seperti senyawa-senyawa isotopik (>US\$ 1.000/kg),

phycobiliprotein (>US\$ 10.000/kg), β -karoten (US\$ 300-500/kg), *xanthophyll* (US\$ 200-500 /kg) serta senyawa antikanker dan antibiotik dengan nilai ekonomi yang sangat tinggi (Trevan dan Mak, 1988) (Tabel 3).

KESIMPULAN

Imobilisasi sel mikroalga merupakan salah satu dari sekian banyak teknologi yang tersedia untuk meningkatkan produktivitas. Dalam rangka penerapan teknologi tersebut menuju pengembangan skala komersial, maka diperlukan upaya penelitian mengenai pengaruh teknik imobilisasi terhadap karakteristik fisiologis sel, perancangan fotobioreaktor yang lebih efisien serta kajian mengenai aspek genetis mikroalga berikut kemungkinan manipulasinya. Beberapa penggunaan sel mikroalga imobil yang telah dilakukan merupakan model untuk menghasilkan produk yang mampu bersaing di pasar. Beraneka ragamnya produk (metabolit) yang dihasilkan oleh sel mikroalga memungkinkan teknologi tersebut dapat dikembangkan di masa mendatang. Penelitian lebih lanjut mengenai peran faktor kultural juga diperlukan, mengingat masih terbatasnya hasil studi mengenai optimasi produksi metabolit oleh mikroalga. Demikian pula dengan sejumlah produk mikroalga yang belum sepenuhnya terkaraktisasi.

Tabel 3. Implikasi industri sistem kultivasi sel mikroalga

Jenis produk	Penggunaan	Nilai produk	Genus mikroalga	Kandungan produk	Status
Senyawa isotopik <i>Phycobiliprotein</i>	Pengobatan, riset	> US\$ 1000/kg	Banyak	>5%	Komersial
	Pewarna makanan	> US\$ 100/kg	<i>Blue-green</i>	1-5%	Komersial
Bahan farmasetika	Riset	> US\$ 10.000/kg	<i>Red</i>		Komersial
	Antikanker	-	<i>Blue-green</i>	0,1-1%	Riset
β -karoten <i>Xanthophyll</i>	Antibiotik	Sangat tinggi	Banyak		
	Suplemen makanan	> US\$ 500/kg	<i>Dunaliella</i>	5%	Komersial
	Suplemen pakan ternak	US\$ 200-500/kg	<i>Green microalgae</i>	0,5%	Riset

Sumber: Trevan dan Mak, 1988

DAFTAR PUSTAKA

- Barr-Or, Y. and M. Shilo. 1987. Characterization of macromolecular flocculants produced by *Phormidium* sp. strain J-1 and by *Anabaenopsis circularis* PCC 6720. Appl. Environ. Microbiol. 53:2226-2230.
- Ben-Amotz, A. and M. Avron. 1990. The biotechnology of cultivating the halotolerant *Dunaliella*. TIBTech. 8: 121-12.
- Benemann, J.R, D.M. Tillett, and J.C. Weissman. 1987. Microalgae biotechnology. TIBTech. 5:47-53.
- Cannell, R.J.P. and J.M. Walker, 1986. α -glucoside inhibitory activities from freshwater algae. Biochem. Soc. Trans. 15:521.
- Cannell, R.J.P. and J.M. Walker, 1987. Glucosidase inhibitory from freshwater green algae. 621st Meeting London. 15:521.
- Cannell, R.J.P., S.J. Kellam, A.M. Owsianka, and J.M. Walker. 1987. Microalgae and cyanobacteria as a source of glycoside inhibitor. J. Gen. Microbiol. 133:1701-1705.
- Cannell, R.J.P., P. Farmer, and J.M. Walker. 1988a. Purification and characterization of pentagalloylglucose, an α -glucoside/antibiotic from the freshwater algae. Biochem. J. 255:937-941.
- Cannell, R.J.P., A.M. Owsianka, and J.M. Walker. 1988b. Result of large-scale screening programme to detect antibacterial activity from freshwater algae. Br. Phycol. J. 23: 41-44.
- Chen, F., Y. Zhang, and S. Guo. 1996. Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photoheterotrophic culture. Biotechnol. Lett. 18(5):603-608.
- Cordero, B., A. Otero, M. Patino, B.O. Arredondo, and J. Fabregas. 1996. Astaxanthin production from the green alga *Haematococcus pluvialis* with different stress conditions. Biotechnol. Lett. 18(2):213-218.
- Gresshoff, P.M. 1981. Induction and repression of acetamidase in *Chlamydomonas reinhardtii*. Aust. J. Plant Physiol. 8:525-533.
- Kellam, S.J. and J.M. Walker. 1987. An extracellular protease from the algae *Chlorella sphaerikii*. Biochem. Soc. Trans. 15:520-521.
- Kellam, S.J. and J.M. Walker. 1989. Antibacterial activity from marine microalgae in laboratory culture. Br. Phycol. J. 24:191-194.
- Kun, Y. 1990. Genetic and technological improvement with respect to mass cultivation of microalgae. In Nga and Lee (Eds.). Microbial Application in Food Biotechnology. Elsevier Applied Science, London. Pp. 61-73.
- Kun, L.Y. 1994. Beneficial microalgae. Bio/Technol. 12:707.
- Kuwada, Y. and Y. Ohta. 1987. Hydrogen production by an immobilized cyanobacterium *Lyngbya* sp. J. Ferment. Technol. 65:597-602.
- Lincoln, R.A., K. Stupinski, and J.M. Walker. 1991. Studies on a toxin produced by the cyanobacterium *Phormidium persicinum*. Biochem. Soc. Trans. 19:428S.
- Metting, B. and J.W. Pyne. 1986. Biologically active compounds from microalgae. Enzyme Microb. Technol. 8:386-394.
- Miura, Y., K. Yagi, M. Shoga, and K. Miyamoto. 1982. Hydrogen production by a green algae *Chlamydomonas reinhardtii* in an alternating light/dark cycle. Biotechnol. Bioeng. 24:1555-1563.

- Miura, Y., C. Saitoh, S. Matsuoka, and K. Miyamoto. 1992. Stable sustained hydrogen production with high molar yield through a combination of a marine green algae and a photosynthetic bacterium. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56:751-754.
- Miyamoto, K., A. Chetsumon, K. Chansa-Ngajev, and Y. Miura. 1989. Microalgal biotechnology for the production of energy and chemical. In *Microbial Utilization of Renewable Resources. Joint Seminar of Biotechnology 1989. Faculty of Engineering, Osaka University, Japan.* Pp. 241-243.
- Niyomrit, S., K. Miyamoto, W. Yamada, K. Chansa-Ngajev, and Y. Miura. 1989. Hydrogen production by green algae isolated in Central Thailand. In *Microbial Utilization of Renewable Resources. Joint Seminar of Biotechnology 1989. Faculty of Engineering, Osaka University, Japan.* Pp. 256-258.
- Nunez, M.J. and J.M. Lema. 1987. Cell immobilization: Application to alcohol production. *Enzyme Microb. Technol.* 9:642-651.
- Ramos, J.L., M.G. Guerrero, and M. Losada. 1982a. Optimization of conditions for photoproduction of ammonia from nitrate by *Anacystis nidulans*. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:1013-1019.
- Ramos, J.L., M.G. Guerrero, and M. Losada. 1982b. Sustained photoproduction of ammonia from nitrate by *Anacystis nidulans*. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:1020-1025.
- Robinson, P.K., K.H. Goulding, A.L. Mak, and M.D. Trevan. 1986. Factors affecting the growth characteristics of alginate-entrapped *Chlorella*. *Enzyme Microb. Technol.* 8: 729-733.
- Smidsrod, O. and G. Skjak-Braek. 1990. Alginate as immobilization matrix for cells. *TIBTech.* 8:71-78.
- Sumantera, I.W. 1993. Bioteknologi mikroalga: Era Baru Dunia Penelitian. *Aku Tahu.* Maret 1993:49.
- Trean, M.D. and A.L. Mak. 1988. Immobilized algae and their potential for use as biocatalysts. *TIBTech.* 6:68-73.
- Yongsmith, B., H. Nakajima, K. Sonomoto, and A. Tanaka. 1989. Production of blue pigment by immobilized *Lavendura vera*. In *Microbial Utilization of Renewable Resources. Joint Seminar of Biotechnology 1989. Faculty of Engineering, Osaka University, Japan.* Pp. 319-321.
-