



Link buku PLANKTON-Manfaat, Bahaya & Bagaimana Mendapatkannya :

- 1) https://books.google.co.id/books?hl=en&lr=&id=wMe8EAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=info:9soYRJc1-9QJ:scholar.google.com&ots=pCENvR3I-p&sig=aCMC2B6dNEFvQd267BFE2hJwMKQ&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- 2) <https://play.google.com/store/books/details?id=wMe8EAAAQBAJ>



Hasil Pencarian Daftar hasil pencarian

9786024739553

- Judul
- Kepengarangan
- Penerbit
- ISBN

Hasil pencarian '9786024739553' berdasarkan kategori 'ISBN'

Judul	Seri	Kepengarangan	Penerbit	ISBN
Plankton [sumber elektronis] : manfaat, bahaya & bagaimana mendapatkannya		Endang Dwi Masitah ; editor, Chusnul Chotimmah	Pers Universitas Airlangga	978-602-473-955-3 (PDF)

Menampilkan 1 sampai 1 dari 1 baris

Plankton : Manfaat, Bahaya & Bagaimana Mendapatkannya



PERAN PLANKTON



PLANKTON YANG
BERBAHAYA



ISOLASI & KULTUR
PLANKTON



FAKTOR KULTUR
PLANKTON



Endang Dewi Masithah

Plankton :
Manfaat, Bahaya & Bagaimana
Mendapatkannya

Pasal 113 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta:

- (1) Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
- (2) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (3) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (4) Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

Plankton : Manfaat, Bahaya & Bagaimana Mendapatkannya

Endang Dewi Masithah



PLANKTON
Manfaat, Bahaya & Bagaimana Mendapatkannya

Endang Dewi Masithah

ISBN 978-602-473-955-3 (PDF)

© 2022 Penerbit **Airlangga University Press**
Anggota IKAPI dan APPTI Jawa Timur
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya 60115
Telp. (031) 5992246, 5992247
E-mail: adm@aup.unair.ac.id

Editor Naskah (Chusnul Chotimmah)
Layout (Mohamad Tohir)
AUP (1312/04.23)

Hak Cipta dilindungi oleh undang-undang.
Dilarang mengutip dan/atau memperbanyak tanpa izin tertulis
dari Penerbit sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apa pun.

PRAKATA

Plankton merupakan komponen penting dalam kehidupan perairan. Hal ini berkaitan dengan fungsi biologisnya menempati posisi paling awal dari piramida makanan atau rantai makanan dengan fungsinya sebagai produsen. Melalui kemampuannya melakukan fotosintesa, plankton memainkan peranan sebagai produsen primer terbesar terutama di laut. Sementara itu, zooplankton merupakan konsumen primer, yang menghubungkan antara produsen primer dengan level piramida makanan yang lebih tinggi. Dengan demikian, rantai makanan dapat berjalan di alam. Keberadaan plankton sangat menentukan tingkat kesuburan perairan sehingga tidak mengherankan bila disebutkan bahwa plankton sangat menentukan produktivitas perairan dan menentukan daya dukung (*carrying capacity*) suatu perairan untuk mendukung dihasilkannya *biomassa* atau hasil panen budidaya. Berbagai upaya dilaksanakan untuk meningkatkan kuantitas dan juga kualitas plankton sebagai pakan alami ikan dan bagaimana perannya dalam mendukung kehidupan perairan dan budidaya perikanan. Dengan demikian, penelitianpun berkembang dan menghasilkan inovasi yang berkesinambungan.

Di samping manfaat yang penting dalam kehidupan, beberapa jenis plankton juga berbahaya bagi kehidupan perairan maupun hewan atau manusia yang mengkonsumsi produk budidaya yang dihasilkan di lingkungan tercemar plankton

berbahaya. Dampak plankton berbahaya bisa disebabkan metabolit beracun yang dihasilkan, penurunan kualitas produk seperti ikan bau tanah, dominansi plankton tertentu yang nilai nutrisinya rendah ataupun penyakit yang ditimbulkan. Seiring itu pula, upaya untuk menangani plankton berbahaya juga selalu berkembang dan menghasilkan inovasi-inovasi yang terangkai sebagai perkembangan budidaya.

Mengamati potensi plankton yang besar dan beraneka ragam, inovasi pemanfaatannya juga berkembang pesat, mulai bagaimana mendapatkan isolat murni sampai rekayasa untuk meningkatkan produksi metabolit tertentu yang dikehendaki. Isolasi untuk mendapatkan kultur spesies tunggal dan rekayasa lingkungan untuk tujuan-tujuan spesifik merupakan tema-tema penelitian yang terus berkembang seiring dengan kemajuan budaya manusia untuk meningkatkan kualitas hidupnya yang lebih baik.

Buku ini membahas manfaat plankton, terutama dalam bidang perairan, utamanya perikanan, berbagai jenis plankton berbahaya dan upaya mengatasi, isolasi plankton dan kultur axenic plankton serta faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur plankton. Diharapkan, buku ini bermanfaat bagi pihak-pihak yang memerlukan referensi tentang plankton.

Penulis menyampaikan terimakasih kepada semua pihak yang turut membantu hingga terbitnya buku ini. Kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi penyempurnaan buku ini di edisi berikutnya.

Surabaya, 1 Oktober 2022

DAFTAR ISI

PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
BAB 1 PERAN PLANKTON DALAM BIDANG PERIKANAN	1
Pakan Alami Ikan	4
A. Fitoplankton sebagai Pakan Hidup.....	6
B. Zooplankton sebagai Pakan Hidup	9
Penstabil Suhu.....	11
Bioindikator	12
Agen Bioremediasi	18
DAFTAR PUSTAKA.....	21
BAB 2 JENIS-JENIS PLANKTON YANG BERBAHAYA DAN UPAYA MENGATASI	33
Jenis-jenis Plankton yang Membahayakan Kehidupan Perairan	33
Red-tide.....	35
<i>Noctiluca</i>	36
<i>Prymnesium</i> dan <i>Chrysochromulina</i>	37
<i>Pseudochattonella</i> spp.	40
<i>Dictyocha/Octactis/Vicicitus</i>	41
<i>Karenia mikimotoi</i>	42
<i>Karlodinium veneficum</i> Causing Fish Mortalities	43

<i>Pfiesteria shumwayae</i> dan <i>Luciella masanensis</i> Penyebab Kematian Ikan	44
<i>Dinophysis</i> dan <i>Prorocentrum</i> species dengan Diarrhetic Shellfish Toxins (DST)	45
<i>Alexandrium</i> spp. dan Paralytic Shellfish Toxins (PST) ...	49
<i>Alexandrium pseudogonyaulax</i> dan imina siklik terkait dan Macrocylic Polyether Toxins	52
<i>Protoceratium reticulatum</i> , <i>Gonyaulax spinifera</i> , <i>Lingulodinium polyedra</i> dan Yessotoxins terkait	54
<i>Azadinium</i> , <i>Amphidoma</i> and azaspiracids	56
<i>Microcystis aeruginosa</i>	58
Pengendalian Plankton yang Berbahaya di Perairan	59
Metode Budidaya.....	60
Perbaikan Kualitas Air	61
Perlakuan Fisik.....	62
Penggunaan Bahan Kimia.....	63
Penggunaan Bahan Alam	64
Penggunaan Mikroorganisme.....	66
DAFTAR PUSTAKA.....	67
BAB 3 ISOLASI DAN KULTUR AXENIC	91
Pengertian Kultur Axenic.....	93
Teknik Pra-Isolasi	95
Pengumpulan (<i>Collection</i>)	95
Pengayaan Sampel (<i>Enrichment of Samples</i>)	96
Metode Remosi (<i>Remotion Methods</i>).....	98
Penyaringan (<i>Filtration</i>).....	98
Sentrifugasi (<i>Centrifugation</i>).....	99

Teknik Isolasi dan Budidaya Unialgal.....	100
Isolasi Sel Tunggal	100
Isolasi pada Media Agar	103
Teknik Pengenceran	105
Metode Pemurnian Untuk Mikroalga dan Pengobatan	
Kultur Axenic	107
Pengobatan Antibiotik	107
Perlakuan enzimatik	111
Antimikrob	111
Teknik Isolasi Otomatis untuk Mikroalga	113
Pemeliharaan Kultur Axenic Mikroalga	115
Sub-Budidaya Berkala	115
Pengeringan beku	116
Kriopreservasi	117
Pengendalian Kontaminasi dan Penskalaan Kultur	
Axenic Plankton.....	119
Keuntungan dan Kekurangan dari Setiap Teknik Utama	
untuk Memperoleh Kultur Plankton Axenic	122
Kendala Utama dalam Budidaya Pakan Alami	126
DAFTAR PUSTAKA.....	128

BAB 4 FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI KULTUR

PLANKTON	139
Suhu.....	142
Lama Penyinaran (<i>photoperiod</i>)	149
Intensitas cahaya.....	151
Derajat keasaman (pH).....	155
Tingkat salinitas.....	160

Kadar Karbon Dioksida (CO ₂).....	167
Keberadaan Nutrisi (Makronutrien dan Mikronutrien) ...	173
DAFTAR PUSTAKA.....	179
TENTANG PENULIS	195

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1	Diagram alir yang telah disederhanakan terkait konsep kultur Axenic pada plankton (mikroalga) (Vu <i>et al.</i> , 2018).	93
Gambar 3.2	Langkah-langkah pemrosesan umum untuk memperoleh kultur plankton <i>axenic</i> (Fernandez-Valenzuela <i>et al.</i> , 2021).	94
Gambar 3.3	Penilaian kultur axenic menggunakan <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM), pada penelitian yang dilakukan Vu <i>et al.</i> (2018). a) <i>Ettlia</i> sp. non kultur axenic yang dimurnikan (unialgal) ; b) <i>Ettlia</i> sp. setelah kultur axenic yang dikonfirmasi menggunakan SEM (axenic). Kehadiran sel mikroalga dan bakteri terlihat jelas pada perbesaran 2.000 kali.	113
Gambar 4.1	Mekanisme fotosintesis yang terjadi pad plankton yang dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan (suhu, lama penyinaran, intensitas cahaya, tingkat salinitas, kadar CO ₂ , pH, dan keberadaan nutrisi) (Gani <i>et al.</i> , 2019).	142

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Rasio N : P Perairan dan Plankton yang Mendominasi	62
Tabel 3.1	Teknik utama yang digunakan untuk memperoleh kultur axenic pada plankton	123
Tabel 4.1	Kondisi optimal suhu untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda	148
Tabel 4.2	Kondisi optimal lama penyinaran (photoperiod) untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda.	150
Tabel 4.3	Kondisi optimal intensitas cahaya untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda....	153
Tabel 4.4	Kondisi optimal derajat keasaman (pH) untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda.....	160
Tabel 4.5	Kondisi optimal tingkat salinitas untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda....	167
Tabel 4.6	Kondisi optimal kadar karbon dioksida (CO ₂) untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda.....	173

BAB 1

PERAN PLANKTON DALAM BIDANG PERIKANAN

Organisme pakan hidup atau yang biasa disebut sebagai plankton mencakup semua tumbuhan (fitoplankton) dan hewan (zooplankton) yang hidup dimakan oleh ikan yang penting secara ekonomi. Fitoplankton umumnya dimakan oleh zooplankton. Dengan demikian, fitoplankton menjadi dasar rantai makanan dalam perairan. Plankton mampu berenang di kolom air dan selalu tersedia untuk ikan dan larva kerang yang cenderung merangsang respon makan larva karena pergerakannya (David, 2003). Dalam ekosistem perairan, plankton merupakan sumber daya yang paling berharga untuk akuakultur. Sebagian besar larva ikan, udang dan kerang di alam memakan organisme fitoplanktonik dan zooplanktonik kecil yang sesuai dengan bukaan mulut mereka. Namun, pakan ikan alami biasanya tidak melimpah di air tambak yang jernih, melainkan melimpah di tambak yang airnya berwarna kehijauan. Warna hijau menunjukkan keberadaan fitoplankton dan organisme pakan alami lainnya. Dalam jaring-jaring makanan

alami, zooplankton merupakan makanan utama bagi larva ikan laut dan secara umum diyakini bahwa copepoda dapat memenuhi kebutuhan nutrisi larva ikan (Evjemo *et al.*, 2003).

Pakan buatan yang diperuntukkan untuk larva tidak cocok jika dibandingkan dengan plankton sebagai pakan alami hidup dalam hal penerimaan, nutrisi dan faktor lainnya. Kebiasaan makan ikan di badan air alami berbeda antara spesies tetapi semua ikan memerlukan makanan hidup yang tinggi protein untuk proses pertumbuhan mereka yang lebih baik, pembiakan yang efisien bagi mereka, dan meningkatkan kelangsungan hidup mereka (Mandal *et al.*, 2009). Kemajuan dalam teknik pengayaan makanan hidup telah membantu meningkatkan pentingnya dan potensi organisme makanan hidup dalam pemeliharaan spesies larva perairan (larva ikan, udang, kerang, dll.). Keberhasilan dalam produksi pembenihan benih ikan untuk penebaran dalam sistem produksi pembesaran sangat tergantung pada ketersediaan pakan hidup yang sesuai untuk memberi makan larva, benur dan benih ikan (Lim *et al.*, 2003). Ketersediaan organisme pakan hidup dalam jumlah besar seperti rotifer laut (*Brachionus plicatilis* dan *Brachionus rotundiformis*) serta *Artemia nauplii* untuk memenuhi berbagai tahapan produksi benih telah tercatat berkontribusi pada tingkat keberhasilan produksi benih setidaknya 60 spesies ikan laut bersirip dan 18 spesies krustasea (Dhert, 1996). Prosedur umum selama budidaya larva ikan dan udang adalah menambahkan mikroalga/fitoplankton (yaitu “air hijau”) ke sistem budidaya intensif bersama dengan mangsa zooplankton (Tamaru *et al.*, 1994), telah menjadi metode pembenihan yang populer saat ini.

Plankton mengandung semua nutrisi yang dibutuhkan oleh larva ikan, udang dan kerang seperti protein esensial, lipid, karbohidrat, vitamin, mineral, asam amino dan asam lemak (New, 1998) dan karenanya umum disebut sebagai “kapsul nutrisi hidup”. Menyediakan pakan hidup yang tepat pada waktu yang tepat memainkan peran utama dalam mencapai pertumbuhan maksimum dan kelangsungan hidup bagi larva ikan dan kerang muda. Untuk mencapai produksi dan profitabilitas maksimum, komponen nutrisi pakan alami hidup harus diidentifikasi dan diukur. Status gizi organisme pakan alami hidup dapat ditingkatkan melalui berbagai teknik pengayaan dan bioenkapsulasi. Telah disepakati oleh semua peneliti di bidang akuakultur bahwa produksi organisme pakan alami hidup terus menjadi langkah awal yang sangat penting dalam intensifikasi akuakultur, baik secara horizontal maupun vertical (Das *et al.*, 2012).

Produktivitas dari suatu perairan dipengaruhi oleh beberapa faktor yang merupakan parameter suksesnya budidaya, yaitu *carrying capacity* kolam dan lingkungan, kualitas air serta manajemen pakan. Penelitian Nindarwi, dkk (2019) yang melakukan penelitian tentang hubungan rasio N:P dengan produktivitas tambak mendapatkan bahwa rasio N:P yang berfluktuasi akan mengindikasikan penurunan produktivitas perairan yang diikuti dengan penurunan biomas hasil panen. Rasio N:P yang berfluktuasi akan disertai dengan ketidakstabilan komposisi dan kepadatan plankton. Secara keseluruhan, fungsi kompleks dari plankton di perairan menjadi

tidak maksimal untuk menciptakan daya dukung perairan, sehingga produktivitas tambak menjadi rendah.

Pakan Alami Ikan

Keberhasilan budidaya bergantung pada stok budidaya (larva ikan) yang sehat. Stok sehat yang bebas penyakit dapat dipertahankan dengan memberi asupan nutrisi berupa pakan hidup pada stok yang dibudidayakan bersama dengan pakan buatan tambahan. Pakan buatan tambahan umumnya belum mampu memenuhi semua unsur yang dibutuhkan untuk pertumbuhan ikan. Sehingga, ikan, udang dan kerang harus tetap diberi pakan hidup (Fitoplankton atau Zooplankton). Untuk mendapatkan hasil yang baik dari pemeliharaan larva ikan, udang dan kerang, mereka harus diberi makan dengan pakan yang kaya nutrisi. Pemeliharaan larva adalah salah satu fase dalam bidang akuakultur yang paling berisiko, namun jika dikelola dengan baik maka bisa menjadi salah satu usaha yang paling menguntungkan. Perencanaan dan strategi khusus diperlukan untuk mengatasi risiko kematian yang tinggi selama fase pemeliharaan ini. Zooplankton diperlukan sebagai makanan pertama bagi banyak organisme budidaya yang dibudidayakan, bagi sebagian organisme lainnya itu berkontribusi pada pertumbuhan yang lebih cepat dan dapat mengupayakan kelangsungan hidup yang lebih tinggi. Larva ikan, udang dan kerang tidak bisa diberi pakan tambahan buatan. Mereka membutuhkan makanan hidup berukuran kecil untuk nutrisi dan kesesuaian bukaan mulut mereka. Makanan hidup adalah makanan tinggi protein yang mudah

dicerna oleh organisme budidaya seperti ikan, udang dan kerang. Makanan hidup ini dapat dibeli, yang harganya relatif mahal dan mungkin terkadang ketersediaan stoknya tidak pasti jika sedang diperlukan. Hal tersebut juga akan meningkatkan biaya produksi. Namun, sebenarnya makanan hidup ini dapat dibudidayakan dengan mudah dan ekonomis. Makanan hidup termasuk organisme fitoplanktonik dan zooplanktonik. Fitoplankton terdiri dari organisme yang mengandung klorofil, misalnya: *Microcystis*, *Volvox*, *Eudorina*, *Oscillatoria*, dll. dan tanaman non fotosintesis atau saproplankton misalnya bakteri dan jamur, sedangkan zooplankton terdiri dari plankter yang berasal dari golongan hewan. Di daerah tropis, zooplankton utamanya terdiri dari golongan protozoa (misalnya *Arcella* sp., *Diffugia* sp., *Actinophrys* sp., *Vorticella* sp. dll.), golongan rotifera (misalnya *Brachionus* spp., *Keratella* sp., *Asplanchna brightwelli*, *Polyarthra vulgaris*, *Filinia opoliensis*, dll.) dan bentuk planktonik krustasea (*Artemia* spp.), cladoceran (*Moina* spp., *Daphnia* spp., *Ceriodaphnia* sp. dll.), ostracoda (*Cypris*, *Stenocypris*, *Eucypris*, dll.) dan copepoda (*Mesocyclops leuckarti*, *M. hyalinus*, *Microcyclops varicans*, *Heliodiaptomus viduus*, dll.) dan larvanya (Das et al., 2012).

Mikroalga dimanfaatkan sebagai pakan hidup untuk semua tahap pertumbuhan moluska bivalvia, untuk tahap larva/juvenil awal abalon, krustasea, beberapa spesies ikan dan bahkan bagi zooplankton dalam rantai makanan akuakultur. Selama empat dekade terakhir, beberapa ratus spesies mikroalga telah diteliti sebagai makanan organisme perairan, namun mungkin hanya kurang dari dua puluh spesies saja yang telah umum digunakan

secara luas dalam bidang akuakultur. Mikroalga harus memiliki spesifikasi khusus agar berguna sebagai pakan hidup dalam bidang akuakultur (Kawamura *et al.*, 1998). Mikroalga memiliki peran penting dalam akuakultur sebagai sarana pengayaan zooplankton untuk pakan ikan, udang, moluska dan larva lainnya. Selain mampu menyediakan protein (asam amino esensial) dan energi, mereka menyediakan nutrisi penting lainnya seperti vitamin, asam lemak tak jenuh ganda esensial (PUFA), pigmen dan sterol, yang ditransfer melalui rantai makanan. Di alam, zooplankton merupakan salah satu makanan utama larva ikan. Dua kelompok zooplankton yang paling dominan adalah golongan Rotifera dan Copepoda. Kedua kelompok ini adalah mangsa yang paling disukai larva udang dan ikan, serta merupakan pakan hidup yang paling banyak digunakan oleh para pembudidaya pada tahap pembenihan. Budidaya larva intensif sebagian besar jenis ikan laut sangat bergantung pada pasokan zooplankton yang besar dan berkelanjutan (Das *et al.*, 2012).

A. Fitoplankton sebagai Pakan Hidup

Fitoplankton atau yang umum disebut alga, merupakan tumbuhan bersel tunggal atau bersel banyak yang memiliki klorofil. Ketika bersel banyak, umumnya mereka dalam keadaan berkoloni atau berserabut. Kebanyakan dari mereka hidup di perairan. Selain memiliki klorofil, mereka juga menunjukkan berbagai pigmen karotenoid yang memberi warna yang berbeda pada kenampakan fisik mereka. Menurut sifat pigmen fotosintesis, ganggang (alga) selanjutnya diklasifikasikan

menjadi tiga divisi seperti *Chlorophyta* (ganggang hijau), *Phaeophyta* (ganggang coklat) dan *Rhodophyta* (ganggang merah). Ganggang coklat dan merah sebagian besar hidup di perairan laut sedangkan ganggang hijau umumnya banyak ditemukan di perairan tawar dan tipe mengambang bebas. Ganggang coklat mengandung yodium dan algin. Beberapa ganggang merah merupakan bahan baku agar-agar, terkadang juga digunakan dalam pembuatan es krim dan media kultur mikroorganisme. *Chlorophyta* (ganggang hijau) berfungsi sebagai produsen utama dan mata rantai pertama dalam rantai makanan perairan, baik di ekosistem air tawar maupun laut (Das *et al.*, 2012).

Penggunaan mikroalga sebagai kemungkinan sumber makanan protein telah diketahui dan disepakati oleh para peneliti pada pertengahan abad ke-20. Pada awalnya perhatian utama diberikan pada produksi protein sel tunggal untuk konsumsi manusia. Namun kemudian, banyak diaplikasi ke berbagai bidang mulai dari bidang pengolahan air limbah, daur ulang nutrisi, biokonservasi energi matahari, bahkan sebagai pakan utama pada fase tertentu dalam bidang akuakultur. Dalam beberapa tahun terakhir, kultur massal alga bersel tunggal seperti golongan diatom (mis. *Chaetoceros* dan *Skeletonema*) dan fitoplankter kecil (mis. *Isochrysis*, *Tetraselmis* dan *Chlorella*) menjadi sangat populer untuk menjadi pakan hidup bagi larva ikan, larva udang, moluska pada pembenihan di bidang akuakultur (Das *et al.*, 2012).

Pentingnya mikroalga dalam pembenihan di bidang akuakultur tidak hanya dikarenakan keberadaannya nutrisinya namun lebih dari itu, yakni karena ukurannya yang kecil

mulai dari 5 hingga 25 mikron yang dapat memenuhi persyaratan ukuran pakan ideal yang baik untuk tahap awal di berbagai jenis hewan air (ikan, udang, moluska, dll.). Saat ini, mikroalga digunakan sebagai sumber makanan penting untuk membesarkan semua tahap moluska kerang laut (kerang dan tiram), gastropoda (abalon, keong), larva ikan (ikan cod, halibut, tilapia) dan udang (*Penaeus* sp.). Mikroalga juga merupakan sumber makanan penting bagi organisme pakan hidup dari golongan zooplankton (rotifera, copepoda, cladocerans, udang air asin, dll.) yang digunakan dalam pembenihan di bidang akukultur. Mikroalga sering dipasok bersamaan dengan rotifera selama pemberian makanan pertama larva ikan laut. Teknik pengkombinasian pakan alami yang seperti ini biasanya akan dapat meningkatkan kelangsungan hidup serta pertumbuhan ikan yang dibudidayakan (Das *et al.*, 2012). Dua jenis pengkombinasian pakan hidup (Fitoplankton dan Zooplankton) telah banyak digunakan untuk produksi rotifera; sel alga hidup seperti *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis tetrathele* dan *Chlorella vulgaris*, dan makanan tambahan seperti ragi roti (Maruyama *et al.*, 1997). Pentingnya mikroalga sebagai makanan larva ikan juga karena dapat merangsang sintesis enzimatis dan berfungsi sebagai pakan awal pada larva muda organisme yang dibudidayakan. Selain itu, juga berfungsi sebagai pengkondisi air dengan menghilangkan zat nitrogen (Das *et al.*, 2012).

Nilai nutrisi dari setiap spesies mikroalga untuk organisme budidaya tertentu bergantung pada ukuran selnya, daya cerna, produksi senyawa beracun, dan komposisi biokimia. Mikroalga yang tumbuh hingga fase pertumbuhan akhir-logaritmik

umumnya mengandung 30 hingga 40% protein, 10 hingga 20% lipid, dan 5 hingga 15% karbohidrat (Brown *et al.*, 1997). Ketika dikultur hingga fase stasioner, komposisi proksimat mikroalga dapat berubah secara signifikan (Harrison, 1990). PUFA yang berasal dari mikroalga, yaitu asam docosahexaenoic (DHA), asam eicosapentaenoic (EPA) dan asam arakidonat (AA) diketahui penting untuk berbagai larva organisme budidaya (Sargeant *et al.*, 1997). Kandungan vitamin dapat bervariasi antar jenis mikroalga. Asam askorbat (Vit. C) menunjukkan variasi terbesar, yaitu 1 hingga 16 mg/g berat kering (Brown dan Miller, 1992).

Keunggulan fitoplankton sebagai pakan ikan juga ditunjukkan oleh Satyantini, dkk (2019) yang memberikan ekstrak *Spirulina platensis* pada pakan gurami (*Osphronemus gourami*) yang telah diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Dengan pemberian ekstrak *Spirulina platensis*, maka ketahanan ikan gurami terhadap infeksi *Aeromonas hydrophila* serta kelulushidupannya meningkat. Hal ini disebabkan *Spirulina platensis* mengandung fikosianin dan beta karoten dapat memberikan efek stimulator sehingga dapat meningkatkan respon imun pada ikan.

B. Zooplankton sebagai Pakan Hidup

Copepoda yang berhasil dibudidayakan telah banyak digunakan secara efektif dalam larvikultur canggih untuk banyak jenis ikan laut. Penggunaan copepoda dalam bidang akuakultur telah berkembang sejak tahun 1980-an (Schipp, 2006). Penggunaan zooplankton khususnya golongan copepoda yang dibudidayakan sebagai pakan alami bergantung pada subkultur

dari tiga ordo penting yaitu calanoida, harpacticoida, dan cyclopoida. Sedangkan tujuh ordo copepoda lainnya, bersifat merugikan karena sebagai parasit bagi ikan, sehingga sangat tidak cocok jika digunakan sebagai pakan hidup. Larva dari banyak jenis ikan laut membutuhkan mangsa dengan lebar sekitar 50–100 μm sebagai pakan, hal ini sangat erat kaitannya dengan bukaan mulut dari larva ikan itu sendiri. Berdasarkan hasil banyak penelitian yang telah dilakukan, persyaratan yang berkaitan dengan ukuran sel pakan hidup tersebut hanya dapat dipenuhi dengan penggunaan copepoda, karena ukurannya yang bervariasi selama durasi metamorfosisnya namun relatif masih sesuai dengan bukaan mulut larva ikan. Copepoda menawarkan berbagai macam ukuran, spesies, dan karakteristik dan mengandung protein dengan tingkatan yang relatif tinggi, asam lemak tak jenuh, karotenoid, dan senyawa penting lainnya. Selain itu, keberadaan DHA dan EPA yang tinggi pada copepoda memberikan keyakinan yang tinggi untuk digunakan oleh banyak perusahaan pakan hidup yang berteknologi tinggi.

Kebutuhan artemia (*Artemia salina*) sebagai pakan alami akan semakin meningkat dari tahun ke tahun seiring meningkatnya aktifitas budidaya untuk memenuhi kebutuhan pangan masyarakat. Pemenuhan artemia selama ini lebih sering dilakukan melalui pembelian cyste artemia kaleng yang diimpor dari Amerika atau China. Pemberian artemia ini memerlukan waktu karena melalui proses penetasan yang menggunakan klorin (dekapsulasi), disamping itu harganya mahal. Alternatif pemenuhan kebutuhan artemia adalah melalui budidaya langsung (non dekapsulasi). Artemia yang dibudidayakan

secara langsung di tambak memiliki beberapa keuntungan yaitu kualitas produksinya terawasi melalui pengawasan kualitas air tambak, waktu penyediaan lebih singkat dan juga penghematan devisa untuk impor. Nugraha, dkk (2019) mendapatkan bahwa penggunaan artemia tanpa dekapsulasi menghasilkan laju pertumbuhan cukup tinggi pada udang vannamei stadia PL1-PL10 yaitu sebesar 5,23%. Hal ini membuktikan bahwa artemia yang dibudidayakan secara lokal dan diberikan langsung, secara kualitas sebagai pakan tidak kalah dibandingkan dengan kualitas impor. Dengan menggunakan artemia lokal, maka banyak keuntungan yang bisa didapat dari segi manajemen pembenihan. Disamping kepraktisan kerja karena tidak memerlukan tahap dekapsulasi, tidak memerlukan penyimpanan dan dari segi biaya lebih ekonomis.

Penstabil Suhu

Tsani, dkk (2000) mendapati bahwa perairan tambak dengan kepadatan plankton yang memadai memiliki fluktuasi suhu lebih rendah (suhu lebih stabil) dibandingkan tambak dengan kepadatan plankton kurang. Hal ini disebabkan plankton merupakan molekul padatan. Molekul padat dan molekul cair memiliki perbedaan dalam hal kecepatan menyerap dan melepas panas. Perairan tambak dengan kepadatan plankton cukup, pada pagi hari ketika matahari terbit, akan menyerap panas lebih lama dibanding molekul air (cair). Sementara ketika matahari mulai terbenam, molekul plankton akan melepas panas lebih lambat dibanding molekul air. Dengan demikian, ketika pagi hari matahari terbit, peningkatan suhu perairan pada tambak

yang memiliki kepadatan plankton cukup, tidak berlangsung cepat. Sementara ketika matahari terbenam, penurunan suhu berlangsung secara perlahan karena molekul plankton melepas panas secara perlahan. Dengan demikian, fluktuasi suhu harian tidak terjadi secara ekstrim. Kondisi suhu perairan yang stabil tentu sangat kondusif bagi metabolisme dan kehidupan ikan secara keseluruhan.

Bioindikator

Fitoplankton menduduki produsen primer pada rantai makanan akuatik. Produksi biologis dapat digunakan sebagai indeks status trofik dan potensi sumber daya perikanan di perairan manapun (Jhingran, 1992). Produktivitas lingkungan perairan berkorelasi langsung, dengan kepadatan fitoplankton (Narasimha, 2013) karena mereka memainkan peran penting sebagai produsen utama dan dengan demikian dapat mempengaruhi tingkat trofik yang lebih tinggi dengan menyediakan basis nutrisi untuk zooplankton dan selanjutnya invertebrata lainnya, kerang dan ikan bersirip (Emmanuel dan Onyema, 2007). Faktor fisika-kimia juga berhubungan langsung dengan produksinya. Pertumbuhan dan keanekaragaman fitoplankton dapat dikendalikan oleh perubahan suhu musiman dan peningkatan suhu air (Schabhuttl, 2013).

Suhu merupakan faktor penting yang mengatur aktivitas biogeokimia di lingkungan perairan. Variasi produktivitas musiman terkait dengan variasi suhu dan kondisi fotik (Sondergaard dan Sand-Jensen, 1979 ; Spencer dan King, 1989 ; Senthilkumar dan Sivakumar, 2008 ; Mary Kensa, 2011). Suhu

perairan juga mempengaruhi ledakan populasi pada mikroalga sehingga juga mempengaruhi kekayaan spesies plankton di suatu perairan (Stomp *et al.*, 2011 ; Barbieri *et al.*, 1999). Cahaya merupakan faktor penting untuk pertumbuhan fitoplankton melalui proses fotosintesis. Dengan demikian, kekeruhan yang tinggi dapat mengurangi ketersediaan cahaya yang akan mengganggu proses fotosintesis dan menghasilkan pertumbuhan serta kepadatan fitoplankton yang rendah (Ariyadej *et al.*, 2004). Fitoplankton memiliki korelasi yang signifikan dengan parameter DO, TDS, BOD, alkalinitas, pH, CO₂, fosfat dan nitrat (Philipose, 1959 ; Gonzalves dan Joshi, 1964 ; Gasse *et al.*, 1983). Anggota dari kelas Chlorophyceae yang mendominasi perairan telah diketahui karena pH, alkalinitas, DO, TDS dan BOD yang tinggi (Hosmani, 1988 ; Thirugnanamoorthy dan Selvaraju, 2009). Nitrat dan fosfat membentuk korelasi positif dengan kepadatan fitoplankton. Faktor-faktor tersebut mendukung pertumbuhan Cyanophyceae yang sangat besar dan terkadang menyebabkan terjadinya ledakan populasi alga (Senapati *et al.*, 2011 ; Philipose, 1959). Dinophycean dan Chlorophycean mendominasi pada kondisi pH dan nilai alkalinitas rendah, sedangkan nilai yang lebih tinggi dari faktor ini (pH dan alkalinitas) di perairan maka akan mendukung pertumbuhan golongan diatom (Barbieri *et al.*, 1999).

Mustapha (2010) menunjukkan bahwa total fitoplankton berkorelasi positif dengan kandungan fosfat, nitrat, DO, sulfat, karbon dioksida, alkalinitas total, pH, konduktivitas dan TDS. Hanya transparansi/kecerahan dan suhu yang menunjukkan korelasi negatif terhadap fitoplankton. Sharma

(2010) menemukan korelasi positif antara plankton kelas Chlorophyceae dan DO, pH dan kalsium sedangkan; kalsium memiliki korelasi negatif dengan kelas Bacillariophyceae selama musim dingin (Jakhar, 2013).

Zooplankton di perairan India terdiri dari kumpulan beragam kelompok taksonomi utama. Banyak dari bentuk-bentuk ini memiliki kumpulan lingkungan dan fisiologis yang berbeda. Jumlah, jenis dan persebaran organisme yang ada di setiap habitat perairan memberikan petunjuk tentang kondisi lingkungan yang ada di habitat tersebut. Terlihat banyak faktor lingkungan yang saling berinteraksi untuk menyediakan kondisi bagi pertumbuhan zooplankton baik secara spasial maupun musiman (Khanna *et al.*, 2009). Menurut Trivedy dan Goel (1984), kelebihan jumlah TDS dalam perairan cenderung mengganggu keseimbangan ekologis yang dapat mengakibatkan kematian lemas pada fauna air bahkan dengan adanya kadar DO yang tinggi. Mustapha (2010) melaporkan bahwa zooplankton umumnya berkorelasi positif dengan senyawa fosfat, nitrat, DO, konduktivitas dan TDS, sedangkan berkorelasi negatif dengan karbon dioksida (CO_2), transparansi (kecerahan), suhu dan alkalinitas total. Peningkatan alkalinitas yang progresif mendukung produksi zooplankton bersama dengan kehadiran simultan DO dan air sadah (Bhati dan Rana, 1987; Kumar dan Dutta, 1994 ; Bais dan Agarwal, 1995 ; Joshi, 2011). Kelimpahan Ostracoda menunjukkan korelasi positif yang signifikan dengan pH dan korelasi negatif dengan kesadahan. Zooplankton memiliki korelasi positif yang signifikan hanya dengan pH dan berkorelasi negatif dengan kekeruhan, fosfat dan nitrat (Joseph

dan Yamakanamardi, 2011). Keanekaragaman dan kepadatan zooplankton tergantung pada kondisi nutrisi badan air, faktor abiotik, DO, rantai makanan, kimia tanah-air dan menyatakan bahwa untuk memantau ekosistem perairan dan keutuhan air, zooplankton telah umum digunakan sebagai bioindikator (Dhembare, 2011). Suhu air, kekeruhan, kecerahan dan oksigen terlarut disukai populasi rotifera (Chandraseker, 1996). Faktor interspesifik dan intraspesifik mempengaruhi distribusi dan kelimpahan zooplankton dan ketersediaan fitoplankton mempengaruhi keberadaan zooplankton dengan mempengaruhi fertilitas betina (Ahmad *et al.*, 2011). Zooplankton maksimum diamati pada musim dingin, hal ini mungkin karena suhu rendah, kandungan DO tinggi dan kecepatan arus yang rendah (Khanna *et al.*, 2000 ; Khanna dan Bhutiani, 2003 ; Purushothama *et al.*, 2011).

Zooplankton telah banyak direkomendasikan sebagai bioindikator regional eutrofikasi danau (Burns dan Galbraith, 2007 ; Pinto-Coelho, 2005 ; Pinto-Coelho *et al.*, 2005), pengasaman (Pinto-Coelho *et al.*, 2005), gangguan pertanian (Dodson *et al.*, 2005). Di antara golongan zooplankton, rotifera adalah salah satu golongan zooplankton yang paling cepat merespon perubahan lingkungan dan telah umum digunakan sebagai indikator perubahan kualitas air (Gannon dan Stemberger, 1978). Rotifer dianggap sebagai bioindikator kualitas air (Sladeczek, 1983 ; Saksena *et al.*, 2006) dan kepadatan rotifer yang tinggi telah dilaporkan menjadi karakteristik danau eutrofik (Balakrishna *et al.*, 2013). Shayestehfar *et al.* (2010) telah berhasil mengamati korelasi negatif antara suhu udara dan air dengan DO dan

hubungan terbalik DO dengan Cladocera, Ostracoda, Copepoda, Rotifera. Sinha dan Sinha (1993) melaporkan korelasi positif jumlah zooplankton dengan suhu, DO, klorida dan fosfat. Namun, hubungan terbalik dari total zooplankton dengan suhu, korelasi positif dengan CO₂ bebas dan DO dan berkorelasi negatif dengan total kekerasan (kesadahan), fosfat dan nitrat telah dilaporkan oleh Salaskar dan Yeragi (2003). Jhingran (1992) mencatat korelasi positif terjadi antara total zooplankton dengan potasium, kekerasan total dan zat besi. Zooplankton adalah bioindikator yang lebih disukai untuk mendeteksi pola penyebaran kontaminasi antropogenik dan untuk memahami penggabungan dan pergerakan limbah nitrogen ke dalam rantai makanan pelagis dan bentik (Xu dan Zhang, 2012). Polusi berdampak buruk bagi banyak organisme yang merupakan anggota rantai makanan dan peka terhadap perubahan lingkungan. Derajat pencemaran tidak hanya ditentukan oleh parameter fisika-kimia tetapi juga oleh keberadaan organisme perairan (Dirican *et al.*, 2009).

Plankton akhir-akhir ini telah digunakan sebagai bioindikator untuk memantau ekosistem perairan dan keutuhan perairan (Beaugrand *et al.*, 2000 ; Li *et al.*, 2000). Ukuran komunitas zooplankton utama terpilih dapat menunjukkan status trofik danau dan juga dapat membantu untuk memahami pergeseran status trofik (Ferdous dan Mukhtadir, 2009) dan dapat digunakan sebagai bioindikator perubahan lingkungan karena terdiri dari organisme dengan sensitivitas lingkungan yang tinggi (Pinto-Coelho *et al.*, 2005). Telah dilaporkan bahwa keragaman dan kepadatan fitoplankton berperan sebagai indikator biologis

(Vareethiah dan Haniffa, 1998 ; Bianchi *et al.*, 2003 ; Hoch *et al.*, 2008) untuk mengevaluasi kualitas air dan status eutrofikasi (Adoni *et al.*, 1985; Ponmanickam *et al.*, 2007) dan cara yang memenuhi syarat untuk studi pencemaran air (Ahmad, 1996).

Alga sebagai indikator polusi telah dilaporkan dapat dilakukan dari kelas Cyanophyceae, Bacillariophyceae dan Chlorophyceae (Nwankwo, 2008 ; Chellappa *et al.*, 2008 ; Rajagopal *et al.*, 2010). Alga bereaksi dengan cepat dan dapat diprediksi terhadap berbagai polutan dan dapat menunjukkan sinyal peringatan dini tentang kondisi badan air yang memburuk (Mc Cormick dan Carins, 1994). Menurut Gannon dan Stemberger (1978), anggota komunitas zooplankton banyak digunakan sebagai bioindikator pencemaran lingkungan karena dapat dengan mudah dikumpulkan, diidentifikasi dan juga merespon dengan cepat terhadap kondisi stres termasuk pemuatan nutrisi (Pace, 1986), pengasaman (Sprules, 1977) dan kepadatan ikan (Canfield dan Jones, 1996). Diatom digunakan dalam penilaian dan pemantauan lingkungan karena memiliki rentang dan toleransi untuk pH, konsentrasi nutrisi, sedimen tersuspensi, dan gangguan manusia lainnya (Laskar dan Gupta, 2009) sehingga berfungsi sebagai bioindikator pencemaran air yang baik (Singh *et al.*, 2010). Beberapa spesies Ostracoda dapat mentoleransi dan berkembang di danau yang sangat tercemar karena kemampuan beradaptasi yang lebih baik dan menyebabkan penurunan persaingan dari spesies lain (Padmanabha dan Belagali, 2008) sehingga bertindak sebagai indikator biologis yang baik. Menurut Kumar dkk. (2011), rotifera adalah spesies toleran hara yang secara total nubmer

serta keanekaragaman terlihat tipikal untuk produktivitas tinggi dan lahan basah eutrofik. Beberapa anggota Rotifera dan Cladocera telah ditetapkan sebagai indikator pencemaran (Mallik *et al.*, 2011 ; Virani dan Makode, 2011 ; Patrick *et al.*, 2012 ; Ekhande *et al.*, 2013).

Agen Bioremediasi

Fitoplankton dapat difungsikan juga sebagai agen penyerap polutan, termasuk kelebihan vitamin, xenobiotik, dan logam berat dari air limbah. Proses ini dikenal sebagai fitoremediasi. Metode pengolahan menghasilkan keluaran berupa biomassa fitoplankton, yang dapat digunakan untuk memasok bahan kimia, pakan, pakan ternak, biofuel, atau biogas (Muñoz dan Guieysse, 2006). Fitoplankton memiliki kapasitas untuk mengurangi molekul nutrisi dan bahan organik dalam air limbah, dengan eliminasi masing-masing sebesar 75% kandungan amonia, 84% kandungan nitrit, dan 89% kandungan fosfor (Kumar *et al.*, 2017). Remediasi air limbah dan fiksasi CO₂ oleh fitoplankton akan menghilangkan berbagai bahan kimia dari air dan dapat memperbaiki kualitas lingkungan perairan. Selain itu, penggunaan fitoplankton untuk menghilangkan kandungan nitrogen, fosfor, dan ion logam dari air limbah telah dikonfirmasi mampu dilakukan, dan biomassa dari fitoplankton yang dihasilkan setelah proses remediasi dapat dimanfaatkan untuk pembuatan biofuel atau untuk beragam produk inovatif. Karena pasokan air yang kaya nutrisi dalam air limbah komersial dan rumah tangga, air limbah dapat diadaptasi untuk budidaya fitoplankton sebagai alternatif atau melengkapi bio-proses

lumpur aktif. Pencernaan biomassa fitoplankton, atau sisa biomassa setelah pemrosesan awal untuk minyak dan produk berbiaya tinggi lainnya, dapat digunakan untuk menghasilkan metana untuk produksi listrik. Fitoplankton sering tergabung dalam kolam maturasi untuk pengolahan tersier air limbah rumah tangga, dan mungkin juga tergabung dalam struktur pengolahan air limbah skala kecil hingga menengah (Pachiappan *et al.*, 2018).

Teknologi yang dikenal sebagai *Advanced Integrated Wastewater Pond Structures* (AIWPS) tersedia secara komersial (Oswald Green Technologies, North Carolina, USA) (Oswald, 1994). Desain umum termasuk kolam fakultatif, yang bisa cukup dalam dan mendukung peningkatan permukaan fitoplankton, dan kolam alga tingkat tinggi (HRAPs), yang bisa dangkal dan bergantung pada pencampuran mekanis untuk memaksimalkan produksi fitoplankton dan penghilangan oksigen. HRAP adalah reaktor dengan harga paling masuk akal untuk pengelolaan limbah cair dan penangkapan energi matahari, serta digunakan untuk mengolah limbah dari peternakan. Biomassa fitoplankton dapat dipanen dari HRAP untuk pakan ternak, dan dapat menjadi faktor dalam pendekatan terpadu untuk daur ulang limbah ternak, di mana remediasi air limbah alga merupakan langkah kedua setelah pengolahan anaerobik awal air limbah yang kaya nutrisi organik (Ogbonna *et al.*, 2000 ; Olguin, 2003). Biasanya, tidak ada upaya yang dilakukan untuk mengatur komposisi spesies alga di kolam pengolahan air limbah, tetapi termasuk dalam spesies unik yang mengendap, mengapung, atau berflokulasi secara sempurna dan dapat secara substansial

memfasilitasi pemanenannya. Spesies *Chlorella*, *Ankistrodesmus*, dan *Scenedesmus* telah umum digunakan untuk menangani air limbah yang mengandung polutan alami dari pabrik *pulp*, kertas dan pembuatan minyak zaitun (Muñoz dan Guieysse, 2006).

Fitoplankter heterotrofik secara teratur dikalahkan oleh mikroorganisme yang tingkat pertumbuhannya lebih besar, namun, fitoplankton dan mikroorganisme dapat digabungkan menjadi konsorsium yang mampu membersihkan air limbah. Meskipun produksi oksigen fotosintetik oleh fitoplankton akan mengurangi kebutuhan aerasi luar air, polutan yang mudah menguap harus terurai secara aerobik tetapi tidak boleh menguap selama proses aerasi mekanis (Olguin, 2003; Muñoz dan Guieysse, 2006). Fitoplankton menghasilkan oksigen yang digunakan oleh bakteri yang dapat mendegradasi polutan alami yang berbahaya. Proses perbaikan ini terbukti layak dan efektif untuk dilakukan (Muñoz dan Guieysse, 2006). Biomassa yang dihasilkan selama pengolahan air limbah tidak dimanfaatkan untuk manusia atau pakan ternak, namun biomassa dapat digunakan untuk produksi senyawa kimia berharga tinggi, tetapi kemungkinan besar biomassa yang tersisa setelah pengolahan air limbah dengan bakteri fitoplankton akan digunakan untuk produksi biometana dan mitigasi CO₂ (Pachiappan *et al.*, 2018).

DAFTAR PUSTAKA

- Adesalu, T.A. and Nwankwo, D.I. 2008. Effect of water quality indices on phytoplankton of a sluggish Tidel Creek in Lagos, Nigeria. *Pakistan J. Biol. Sci.*, 11: 836-844.
- Adoni, A., Joshi, D.G., Gosh, K., Chourasia, S.K., Vaishya, A.K., Yadav, M., Verma, H.G. 1985. Work book on limnology. Pratibha Publisher, Sagar.
- Ahmad, M.S. 1996. Ecological survey of some algal flora of polluted habitats of Darbhanga. *J. Environ. Pollut.*, 3: 147-151.
- Ahmad, U., Parveen, S., Khan, A.A., Kabir, H.A., Mola, H.R.A., Ganai, A.H. 2011. Zooplankton population in relation to physico-chemical factors of a sewage fed pond of Aligarh (UP), India, *Biology and Medicine*, 3 (2): 336-341.
- Ariyadej, C., Tansakul, R., Tansakul, P. and Angsupanich, S. 2004. Phytoplankton diversity and its relationships to the physico-chemical environment in the Banglang Reservoir, Yala Province. *J. Sci. Technol.*, 2004, 26(5): 595-607.
- Bais, V.S. and Agrawal, W.L. 1993. Seasonal Variation of Nutrient content in *Hydrilla verticollata*. *J. Freshwater Biol.*, 3: 259-265.
- Balakrishana, D., Reddy, T.R., Reddy, K.V., Samatha, D. 2013. Physico-chemical parameters and plankton diversity of Ghanpur lake, Warangal, A.P., India. *International Journal of Zoology Research*, 3(1): 44-48.
- Barbieri, A., Veronesi, M., Simona, M., Malursardi, S. and Straskrabova, V. 1999. Limnological survey in eight high

- mountain lakes located in Lago Maggiore watershed (Switzerland). *J. Limnol.*, 58(2): 179-192.
- Beaugrand, G., F. Ibanez and P.C. Reid. 2000. Spatial, seasonal and long-term fluctuations of plankton in relation to hydroclimatic features in the English channel, Celtic Sea and Bay of Biscay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 200: 93-102.
- Bhati, D.P.S. and Rana, K.S. 1987. Zooplankton in relation to abiotic components in the fort moat of Bharatpur. *Proc. Nat. Acad. Sci. India*, 57 (13): 237-242.
- Brown, M. R., Miller, K. A. 1992. The ascorbic acid content of eleven species of microalgae used in mariculture. *Journal of Applied Phycology*, 4: 205-215.
- Burns C.W. and Galbraith L.M. 2007. *J. Plankton Res.*, 29, 127-139.
- Canfield, T.H. and Jones, J.R. 1996. Zooplankton abundance, biomass and size distribution in selected mid western water bodies and relation with trophic state. *J. Freshwat. Ecol.*, 11: 171-181.
- Chandrasekar, S. A. 1996. Ecological studies on Sarrornagar lake Hyderabad with special reference to zooplankton communities. Ph.D. Thesis, Osmania Univ. Hyderabad AP.
- Chellapa, N.T. Borba, J.M., Rocha, O. 2008. Phytoplankton community and physicalchemical characteristics of water in the public reservoir of Cruzeta, RN, Brazil. *Braz. J. Biol.*, 68: 477-494.
- Das, P., S.C. Mandal., S.K. Bhagabati., M.S. Akhtar., dan S.K. Singh. 2012. Important Live Food Organisms And Their Role In Aquaculture. *Frontiers in Aquaculture*. 69–86.

- David A. B. 2003. Status of marine aquaculture in relation to live prey: past, present and future. *In: Josianne, G. S and Lesley, A. M. (Eds.), Live feeds in marine aquaculture. Blackwell publishing, UK, pp. 1-16.*
- Dhembare, Anant J. 2011. Statistical approaches for computing diversity and density of zooplankton with water factors in Mula Dam, Rahuri, MS, India. *European Journal of Experimental Biology*, 1 (2):68-76.
- Dhert, P. 1996. Rotifers. *In: Lavens, P. and Sorgeloos, P. (Eds.), Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper, vol. 361. FAO, Rome, pp. 49– 78.*
- Dirican, S., Musul, H. and Cilek, S. 2009. Some physico-chemical characteristics and Rotifers of Camligoze Dam lake, Susehri, Sivas, Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 8(4).
- Dodson S.I., Lillie R.A. and Will-Wolf S. 2005. *J. Ecol. Appl.*, 15, 1191-1198.
- Ekhande, A.P., Patil, J.V., Patil, R.D., Padate, G.S. 2013. Water quality monitoring- Study of seasonal variation of rotifer and their correlation with physicochemical parameters of Yashwant Lake, Toranmal (M.S.) India. *Scholars Research Library*, 5(1): 177-181.
- Emmanuel, B.E. and Onyema, I.C. 2007. The plankton and fishes of a tropical in Creek in South Western Nigeria. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.*, 7: 105-113.
- Evjemo, J. O., Reitan, K. I., Olsen, Y. 2003. Copepods as live food organisms in the larval rearing of halibut larvae

- (*Hippoglossus hippoglossus* L.) with special emphasis on the nutritional value. *Aquaculture*, 227(1-4): 191-210.
- Ferdous, Z. and Muktadir, A.K.M. 2009. A Review: Potentiality of Zooplankton as Bioindicator. *American Journal of Applied Science*, 6(10): 1815-1819.
- Gannon, J.E. and Stemberger, R.S. 1978. Zooplankton (especially crustacean and rotifers) as indicators of water quality. *Trans Amer. Micros. Soc.*, 97(1): 16-35.
- Gasse, F., Talling, J.F & Kilham, P. 1983. Diatoms assemblages in East Africa: classification, distribution and ecology. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 16: 3-34.
- Gonzalves, E.A. and Joshi, D.B. 1964. The seasonal succession of the algae in tank of Bandra. *Journal of Bombay Natural History Society*, 46 (1544): 154-176.
- Hoch, M.P., Dillon, K.S., Coffin, R.B. and Cifuentes, L.A. 2008. Sensitivity of bacterioplankton nitrogen metabolism to eutrophication in sub-tropical coastal water of Key West Florida. *Mar. Pollut. Bull.*, 56: 913-926.
- Hosmani, S.P. 1988. Seasonal changes in phytoplankton communities in a fresh water pond at Dharwad, Karnataka, India. *Phycos.*, 27: 82-87.
- Jakhar, P. 2013. Role of Phytoplankton and Zooplankton as Health Indicators of Aquatic Ecosystem: A Review. *IJIRS*. 2(12): 489-500.
- Jhingran, V.G. 1992. *Fish and Fisheries of India*. Hindustan Publishing Corporation, New Delhi, India.
- Joseph, B. and Yamakanamardi, S.M. 2011. Monthly changes in the abundance and biomass of zooplankton and water

- quality parameters in Kukkarahalli lake of Mysore, India. *Journal of Environment Biology*, 32: 551-557.
- Joshi, P.S. 2011. Studies on zooplanktons of Rajura Lake of Buldhana district, Maharashtra India. *Science Research Reporter*, 1(3): 132 -137.
- Kawamura, T., Roberts, R. D., Nicholson, C. M. 1988. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone *Haliotis iris*. *Aquaculture*, 160: 81-88.
- Khanna, D. R. and Bhutiani, R. 2003. Ecological status of Sitapur pond at Hardwar (Uttarnchal), India. *Indain J. Env and Eco. Pla.* 4(1-3): 109-122.
- Khanna, D. R., Bhutiani, R., Gagan Matta., Singh, V., Kumar, D. and Ahraf, J. 2009. A study of Zooplankton diversity with special reference to their concentration in River Ganga at Haridwar. *Env. Con. J.* 10(3): 15-20.
- Khanna, D. R., Gautam, A., Chug, T. and Sarkar, P. 2000. Impact of abiotic factors on the planktonic population of pond. *Env. Cons. J.* 1(1): 41-46.
- Kumar, S. and Datta, S.P.S. 1994. Population Dynamics of Cladocera in a subtropical pond, Jammu, India. *J. Environ. Hlth*, 36(1): 19-23.
- Kumar, S., P. Santhanam, P. Prabhavathi, B. Kanimozhi, M. Abirami, Min S. Park, and Mi-Kyung Kim. 2017. Optimal conditions for the treatment of shrimp culture effluent using immobilized marine microalga *Picochlorum maculatum* (PSDK01). *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences.* <https://doi.org/10.1007/ s40011-017-0855-y>.

- Laskar, H.S. and Susmita, G. 2009. Phytoplankton diversity and dynamics of Chalta floodplain lake, Barak Valley, Assam, North East India- a seasonal study. *Journal of Environmental Biology*, 30(6): 1007-1012.
- Li, M., A. Gargett and K. Denman. 2000. What determines seasonal and interannual variability of phytoplankton and zooplankton in strongly estuarine systems? Application to the semienclosed estuary of Strait of Georgia and Juan de Fuca Strait. *Estuarine Coastal Shelf Sci.*, 50: 467-488.
- Lim, C. L., Dhert, P., Soregloos, P. 2003. Recent developments in the application of live feeds in the freshwater ornamental fish culture. *Aquaculture*, 227:319-331.
- Mallik, R., Sinha, S.K., Abhishek. 2011. Zooplankton biodiversity and pollution indicator species in Damodar river of Jharia coalfield, Dhanbad (Jharkhand). *The Ecoscan*, 1: 329- 334.
- Mandal, S. C., Das, P., Singh, S. K., Bhagabati, S. K. 2009. Feeding of aquarium fishes with natural and artificial foods: available options and future needs. *Aqua International*, 3: 20-23.
- Maruyama, I., Nakao, T., Shigeno, I., Ando, Y., Hirayama, K. 1997. Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass culture of marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 358: 133-138.
- Mary Kensa, V. 2011. Inter-relationship between physic-chemical parameters and phytoplankton diversity of two perennial ponds of Kulasekharam area, Kanyakumari district, Tamilnadu. *Plant Science Feed*, 1(8): 147-154.

- Mc Cormick, P.V. and Carins, J.R. 1994. Algae as an indicator of environmental change. *J. Appl. Phycol.*, 6: 509-526.
- Muñoz, R., and B. Guieysse. 2006. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research* 40: 2799–2815. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.011>.
- Mustapha, M.K. 2010. Seasonal Influence of Limnological Variables on Plankton Dynamics of a Small, Shallow, Tropical African Reservoir. *Asian j.exp. Biol. Sci.*, 1(1): 60-79.
- Narasimha, R.K. and Benarjee, G. 2013. Physico-chemical factors influenced Plankton biodiversity and fish Abundance-a case study of nagaram tank of Warangal, Andhra Pradesh.
- New, M. B. 1998. Global aquaculture: Current trends and challenges for the 21st century. *In: Anans do Aquacultura Brasil 98*, Vol. I. Nov.2-6, Recife.
- Nindarwi, D.D., **E.D. Masithah**, D. Zulian, A.L.A. Suyoso. 2019. The Dynamic Relationship of Phytoplankton Abundance and Diversity in Relation to White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Feed Consumption in Intensive Ponds. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 236, 012119. 1st International Conference on Fisheries and Marine Science. 6 October 2018, Surabaya, Indonesia.
- Nugraha, R.P., 2018. Manajemen Pakan Alami Artemia salina pada Pembenihan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Balai Besar Perikanan BUdidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga.

- Ogbonna, J.C., H. Yoshizawa, and H. Tanaka. 2000. Treatment of high strength organic wastewater by a mixed culture of photosynthetic microorganisms. *Journal of Applied Phycology* 12: 277–284.
- Olguin, E.J. 2003. Phycoremediation: Key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnology Advances* 22: 81–91.
- Oswald, W.J., F. Bailey Green, and T.J. Lundquist. 1994. Performance of methane fermentation pits in advanced integrated wastewater pond systems. *Water Science and Technology* 30: 287–295.
- Pace, M.J. 1986. An empirical analysis of zooplankton community size structure across lake trophic gradients. *Limnol. Oceanogr.*, 31: 45-55.
- Pachiappan, P., Santhanam, P., Begum, A., & Balaji Prasath, B. 2018. *An Introduction to Plankton. Basic and Applied Phytoplankton Biology*, 1–24. doi:10.1007/978-981-10-7938-2_1
- Padmanabha, B. and Belagali, S.L. 2008. Ostracods as indicators of pollution in the lakes of Mysore. *Journal of Environmental Biology*, 29(3): 415-418.
- Patrick, A.E.S., Kadotgasan, J.M., Naveendrakumar, G. 2012. Study to detect impacts of pollution on the distribution of Zooplankton in the Northern tropical ponds in Sri Lanka. *Scholars Research Library*, 4(6): 2552-2556.
- Philipose, M.T. 1959. Chlorococcales, New Delhi, ICAR.
- Pinto-Coelho R.M., Bezerra-Neto J.F. and Morais C.A., Jr. 2005. *Braz. J. Biol.*, 65, 325-338.

- Ponmanickam, P., Rajagopal, T., Rajan, M.K., Achiraman, S., Palanivelu, K. 2007. Assessment of drinking water of Vembakottai reservoir, Virudhunagar, Tamilnadu, *J. Exp. Zool. India*, 10, 485-488.
- Purushothama, R., Sayeswara, H.A., Goudar, M.A. and Kumar, K.H. 2011. Physico-chemical profile and zooplankton community composition in Brahmana Kalasi Tank, Sagara, Karnataka, India. *The Ecoscan*, 5(1&2): 43-48.
- Rajagopal, T., Thangamani, A., Sevakodiyone, S.P., Sekar, M., Archunan, G. 2010. Zooplankton diversity and physico-chemical conditions in three perennial ponds of Virudhunagar, Tamilnadu, *J. Environ. Biol.*, 31: 265-272.
- Saksena D.N., Vengayil D.T. and Kulkarni N. 2006. *J. Zool. Soc. India*, 37(1-2), 7-16.
- Salaskar, P.B., and Yeragi, S.G. 2003. Seasonal fluctuations of plankton population correlated with physico-chemical factors in Powai Lake, Mumbai, Maharashtra". *J.Aqua.Biol.*, 18(1): 19-22.
- Satyantini, W.H., Agustono, Arimbi, W. Rahmawati , **E. D. Masithah**. 2019. The Addition of *Spirulina platensis* Extract in Feed on Gill Histopathology and Survival Rate of *Osphronemus gouramy* After Infected with *Aeromonas hydrophila*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 1036, 012008
- Schabhüttl, S., Hingsamer, P., Weigelhofer, G., Hein, T., Weigert, A. and Striebel, S. 2013. Temperature and species richness effects in phytoplankton communities. *Oecologia*, 171(2): 527–536.

- Schipp, G. 2006. The use of Calanoid copepods in semiintensive, tropical marine fish larviculture. En: Editores: Cruz Sua'rez, L.E., D.R. Marie, M.T. Salazar, M.G. Nieto Lo'pez, D.A. Villarreal Cavazos, A.G. Ortega. Avances en Nutricio'n Acuicola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutricio'n Acuicola. 15-17 November, 84-94. Universidad Auto'noma de Nuevo Leo'n, Me'xico.
- Senapati, T., Ghosh, S., Mandal, T. 2011. Variation in phytoplankton diversity and its relation with physico-chemical parameters of a semi-lentic water body of Golapbag, West Bangal, India. *International Journal of Current Research*, 3(7): 053-055.
- Senthilkumar, R. and Sivakumar, K. 2008. Studies on phytoplankton diversity in response to abiotic factors in Veeranam Lake in the Cuddalore district of Tamilnadu. *Journal of Environmental Biology*, 29(5): 747-752.
- Sharma, K.K., Verma, P, Shvetambri. 2010. Phytoplankton diversity and seasonal fluctuations in Surinsar wetland, Jammu (J & K) - A Ramasar site. *International Journal of Applied Environmental Sciences*, 22: 267-276.
- Shayestehfar, A., Noori, M., Shirazi, F. 2010. Environmental factor effects on the seasonally changes of zooplankton density in Parishan Lake (Khajoo Spring Site), Iran. *Asian J. Exp. Biol. Sci.*, 1(4): 840-844.
- Singh, M., Lodha, P., Singh, G.P. 2010. Seasonal diatom variations with reference to physico-chemical properties of water of Mansagar lake of Jaipur, Rajasthan. *Research Journal of Agricultural Sciences*, 1(4): 451-457.

- Sinha K. K., and. Sinha, D.K. 1993. Seasonal trends in physico-chemical factors and zooplankton in a fresh water pond of Munger, Bihar. *J. Ecobiol.*, 5(4): 299-302.
- Sladeczek V. 1983. *Hydrobiologia*, 100, 169-201.
- Sondergaard, M., Sand-Jense, K. 1979. Physico-chemical environment, phytoplankton biomass and production in oligotrophic softwater lake Kalgaard, Denmark. *Hydrobiologia*, 63: 241-253.
- Spencer, C.N. and King, D.L. 1989. Role of light, carbondioxide and nitrogen in regulation of buoyancy, growth and bloom formation of *Anabaena flosaquae*. *Journal of Plankton Research*, 11: 283-296.
- Sprules, W.G. 1977. Crustacean zooplankton communities as indicators of limnological conditions: An approach using principal component analysis. *J. Fish. Res. Board C.*, 8: 962-976.
- Stomp, M., Huisman, J., Mittelbach, G.G., Litchman, E. and Klausmeier, C.K. 2011. Large-scale biodiversity patterns in freshwater phytoplankton. *Ecology*, 92(11): 2096–2107.
- Tamaru, C. S., Murashige, R., Lee, C. S. 1994. The paradox of using background phytoplankton during the larval culture of striped mullet, *Mugil cephalus* L. *Aquaculture*, 119: 167-174.
- Thirugnanamoorthy, K. and Selvaraju, M. 2009. Phytoplankton diversity in relation to physic-chemical parameters of Gnanaprekasam Temple Pond of Chidambaram in Tanmilnadu, India. *Recent Research in Science and Techonology*, 1(5): 235-238.

- Trivedi, R. K. and Goel P. K. 1984. Chemical and Biological Methods for Water Pollution Studies. Environmental publ., Karad, India.
- Tsani, M.R.N., E.D. Masithah, B.S. Rahardjo and DD Nindarwi. 2000. Dynamic Study on The Effect of Calcium Hydroxide and Sodium Bicarbonate Treatment on the N/P Ratio and Plankton Abundance. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 236, 012042. 1st International Conference on Fisheries and Marine Science. 6 October 2018, Surabaya, Indonesia.
- Vareethiah, K. and Haniffa, M.A. 1998. Phytoplankton pollution indicators of coir retting. J. Environ. Pollut., 3: 117-122.
- Virani, R.S., Makode, P.M. (2011). Role of rotifer diversity in a tropical lentic ecosystem with reference to eutrophication. Biosci. Biotech. Res. Comm., 4(1): 55-64.
- Xu, J., Zhang, M. 2012. Primary consumers as bioindicator of nitrogen pollution in lake planktonic and benthic food webs. Ecological Indicators, 14: 189-196.

BAB 2

JENIS-JENIS PLANKTON YANG BERBAHAYA DAN UPAYA MENGATASI

Jenis-jenis Plankton yang Membahayakan Kehidupan Perairan

Plankton berbahaya atau yang umum disebut *Harmful Algae* telah menjadi subjek kepentingan ilmiah dan sosial selama berabad-abad. Karena terjadinya ledakan dinoflagellata beracun di suatu perairan diketahui terkadang akan mampu mengubah warna air menjadi merah atau merah kecoklatan, yang masih dikenal sebagai "*Red-tide*". Darwin melakukan pengamatan mikroskopis terhadap air yang berubah warna akibat ledakan populasi dinoflagellata di lepas pantai Chili selama pelayaran HMS Beagle (Sebagian air yang ditempatkan dalam gelas berwarna kemerahan pucat dan, diperiksa di bawah mikroskop, terlihat berkerumun dengan animalcula kecil melekat dan sering meledak. Bentuknya oval dan dikerutkan di tengah oleh cincin cilia melengkung bergetar) (Graneli dan Tuner, 2006).

Beberapa dinoflagellata *red-tide* dan alga berbahaya lainnya menghasilkan racun kuat yang dapat menyebabkan kematian

ikan atau keracunan pada kerang. Termasuk di dalamnya adalah PSP (keracunan kerang parolitik), DSP (keracunan kerang diare), ASP (keracunan kerang amnesik), dan NSP (keracunan kerang neurotoksik), serta toksin lain yang belum terkarakterisasi (Turner dan Tester 1997 ; Wright dan Cembella 1998 ; Cembella 2003). Toksisitas tersebut dapat menyebabkan keracunan kerang, menyebabkan kematian manusia, serta keracunan vektor dimana racun terakumulasi dan diangkut melalui jaring makanan pelagis dengan bentuk interaksi memakan, yang menyebabkan kematian ikan, burung laut, atau mamalia laut lainnya. Dalam beberapa kasus, ledakan populasi alga beracun dari flagelata khususnya genus *Chrysochromulina* atau *Prymnesium* dapat mengganggu seluruh ekosistem (Edvardsen dan Paasche, 1998).

Selain toksisitas, ada efek samping lain yang mendorong penggunaan istilah yang lebih inklusif yakni "*Harmful Algae* atau ganggang berbahaya". Efek tambahan tersebut termasuk pemuatan organik yang menyebabkan anoksia, seperti pada ledakan populasi *Ceratium tripos* tahun 1976 di lepas pantai New York atau tahun 1987–1988. Ledakan populasi *Ceratium* spp. di Kattegat, kotornya pantai erat kaitannya dengan ledakan populasi secara besar-besaran dari spesies *Phaeocystis* spp. di lepas Eropa utara, iritasi insang ikan yang menyebabkan kematian lemas oleh duri *Chaetoceros* spp., atau gangguan ekosistem yang disebabkan karena *brown-tide* di Teluk Narragansett, tanggul Long Island, atau Laguna Madre di Texas. Ledakan populasi plankton beracun pada suatu perairan dapat membawa dampak ekonomi yang sangat besar (Graneli dan Tuner, 2006).

Harmful Algae (HA) serta spesies lain dari fitoplankton dan organisme lain semuanya mengikuti agenda autekologi mereka sendiri, yang bersama-sama terdiri dari drama sinekologi komunitas. Selanjutnya, fitoplankton HA hanya terdiri dari sebagian kecil dari semua spesies fitoplankton. Dari 5.000 spesies fitoplankton hidup yang diketahui namanya (Sournia *et al.*, 1991), spesies HAB yang diketahui terdiri dari sekitar 300 spesies yang dapat menyebabkan perubahan warna pada perairan, dan hanya sekitar 80 spesies yang menghasilkan racun yang dapat menyebabkan keracunan kerang pada manusia (Hallegraeff, 2003).

Red-tide

Red-tide merupakan suatu fenomena di mana permukaan laut berwarna merah karena adanya blooming dari spesies *Gymnodinium brevis*, *G. sanguineus*, dan *Gonyaulax xantenella* (filum Pyrrophyta atau Dinoflagellata) dan memiliki sifat beracun, karena dapat memproduksi toksin yang berbahaya bagi organisme perairan. Fenomena *red-tide* umumnya akan diikuti dengan kematian organisme perairan seperti ikan, hal ini dikarenakan ikan-ikan tersebut memakan plankton agen *red-tide* ini yang beracun. Kejadian seperti ini sangat sering terjadi di berbagai lokasi seperti yang pernah terjadi di Pantai Florida dan Peru dan terkadang pernah ditemukan di pantai-pantai California dan Jepang.

Red-tide yang sering terjadi di pantai Florida dan Peru memiliki pola dalam kemunculannya, terjadi kira-kira 5 tahun sekali, di mana pada tahun tersebut kondisi air laut banyak

mengandung unsur nitrat dan fosfat. Dibarengi dengan jutaan kematian ikan di perairan tersebut dan dibiarkan membusuk hingga akhirnya mengotori pantai. *Red-tide* tidak saja merugikan nelayan tapi juga organisme pantai lainnya dan wisata. Kerang tidak akan mengalami kematian jika makan *Gonyaulax*, akan tetapi orang yang memakan kerang yang telah terpapar akan sakit karena keracunan. Jika terjadi *red-tide* di perairan Peru, maka terjadi bencana alam yang lebih besar daripada di Florida. Jutaan ikan sarden mati dan terapung-apung di laut. Burung pemakan sarden juga akan banyak yang mati, karena memakan bangkai ikan sarden yang telah terpapar. Kematian burung yang terjadi di Peru akan mengurangi produksi guano (emas putih burung laut) di negara tersebut. Menurut para ahli kelautan, *red-tide* yang terjadi di Peru disebabkan bila arus laut yang berasal dari Kutub Selatan (membawa banyak mineral) bertemu dengan arus laut panas dari barat.

Noctiluca

Noctiluca merupakan plankton holozoik dari filum Pyrophyta (Dinoflagellata) dan merupakan kompetitor makanan bagi ikan. *Noctiluca* bersifat kosmopolit dan hanya terdapat satu jenis yaitu *Noctiluca milliaris*. *Noctiluca* juga merupakan zooflagellata yang dapat memakan diatom yang merupakan produsen primer terpenting, hal ini lah yang menyebabkan kompetisi makanan antara *Noctiluca* dengan ikan pemakan diatom. Umumnya ketika terjadi ledakan populasi *Noctiluca* di suatu perairan maka secara simultan akan terjadi pengurangan jumlah tangkapan ikan secara signifikan. *Noctiluca* juga tidak disukai oleh burayak ikan

dan makrozooplankton. Makrozooplankton umumnya tidak memakan *Noctiluca* karena bentuknya seperti bola dengan diameter 1-1,5 mm. *Noctiluca* selain menjadi kompetitor makanan bagi ikan juga dapat menyebabkan kematian pada ikan (c).

Noctiluca sering dijumpai pada tambak yang memiliki salinitas sama dengan air laut. Umumnya *Noctiluca* terdapat di pantai tropis yang subur di seluruh dunia. *Noctiluca* memiliki keistimewaan karena dapat bersinar (fosforescens) bila bersinggungan dengan udara. Selain itu *Noctiluca* memiliki simbiosis pada tubuhnya yang berupa alga hijau (Cryptophyceae) yang disebut juga dengan nama zooxanthellae. Sedangkan simbiosis alga yang hidup dalam hewan air tawar diberi nama zoochlorella. Penamaan ini sering tidak cocok dikarenakan simbiosis bukanlah *Chlorella* tapi jenis alga lain. Perairan laut di sekitar pasar ikan sering kali terlihat berwarna biru hijau karena banyak mengandung zooxanthellae yang terdapat dalam *Noctiluca* pada waktu *blooming*. Perairan laut di pantai yang berwarna hijau biru yang disebabkan oleh simbiosis *Noctiluca* sudah terkenal di seluruh dunia. *Noctiluca* selalu ditemukan di perairan Teluk Jakarta dan Jepara, walaupun tidak dalam keadaan *blooming*. *Blooming Noctiluca* menandakan perairan disekitarnya sangat subur, tetapi akan dihindari oleh ikan (Wardhana, 2003).

Prymnesium dan Chrysochromulina

Sedikitnya telah dicatat terdapat >20 spesies *Prymnesium* dan hampir 50 spesies *Chrysochromulina* yang berhasil dideskripsikan (Guiry and Guiry, 2020). Semuanya adalah

flagelata fototrofik yang termasuk dalam ordo Prymnesiales dalam filum Haptophyta. Secara umum, prymnesiophytes bersifat mixotrophic sampai taraf tertentu dan beberapa spesies bersifat fagotrofik, cara menangkap mangsanya dengan menggunakan haptonema mereka. Mikroskop elektron sering diperlukan untuk mengidentifikasi taksa *Prymnesium* dan *Chrysochromulina* pada tingkat spesies. Pada Mei-Juni 1988 *P. polylepis* tercatat mengalami ledakan populasi besar-besaran di Kattegat, Skagerrak dan Laut Utara bagian timur (Dahl *et al.*, 1989 ; Edvardsen dan Paasche, 1998 ; Kaas *et al.*, 1992 ; Lekve *et al.*, 2006 ; Skjoldal dan Dundas, 1991). Ledakan populasi yang terjadi dapat mengganggu ekosistem dan sangat mempengaruhi komunitas plankton (Nielsen *et al.*, 1990), serta flora dan fauna benthik, dan membunuh ikan liar bahkan ikan budidaya dalam suatu perairan. Namun, efek jangka panjang dari ledakan populasi mikroalga beracun pada populasi ikan pesisir dan komunitas benthik tidak teramati (Gjosaeter *et al.*, 2000). Sementara pada tahun 1988, kejadian ledakan populasi mikroalga beracun diketahui disebabkan oleh rasio N:P yang luar biasa tinggi dari nutrisi anorganik dan periode paparan matahari yang panjang disertai cuaca yang sangat cerah.

Pada paruh kedua Mei 1991, kejadian ledakan populasi mikroalga berbahaya dari spesies *Chrysochromulina leadbeateri* terjadi di Vestfjorden dan sekitarnya di utara Norwegia, yang menyebabkan kematian salmon di beberapa peternakan ikan. Antara bulan Mei dan bulan Juni 2019, *C. leadbeateri* dilaporkan kembali telah menyebabkan kematian ikan di area yang sama di Vestfjorden dan lebih jauh ke utara dekat Tromsø. Pada kejadian

tahun 1991, total kerugian adalah 742 ton salmon dengan perkiraan nilai 3,5 juta \$US (Aure dan Rey, 1992 ; Rey, 1991). Dampak ekonomi tentunya jauh lebih luas pada tahun 2019 yakni lebih dari 8,2 juta kilogram salmon ternak mati ditaksir kerugiannya mencapai >100 juta \$US (Karlsen *et al.*, 2019).

Flagellata *Prymnesium parvum* N. Carter telah menyebabkan kematian ikan di seluruh dunia (Edwardsen dan Paasche, 1998). Di perairan Norwegia, *P. parvum* telah dilaporkan dari Oslofjorden (Skagerrak) di selatan hingga Svalbard di utara. Namun, ledakan populasi *P. parvum* hanya dilaporkan dari sistem Sandsfjorden (di Ryfylke) di Norwegia barat, di mana salinitas lapisan payau permukaan biasanya berkisar antara 4 hingga 7 selama musim panas. Ledakan populasi pertama dari *Prymnesium parvum* yang dilaporkan pada tahun 1989, telah membunuh 750 metrik ton salmon dan *trout* yang dalam keramba, dengan kerugian ekonomi yang signifikan bagi industri budidaya ikan salmon dan *trout* (Johnsen dan Lein, 1989 ; Kaartvedt *et al.*, 1991). Ledakan berikutnya juga terjadi pada tahun-tahun selanjutnya dan mengakibatkan jumlah ikan yang dibudidayakan di daerah tersebut menurun drastis. Menyusul penurunan angka kejadian *P. parvum* pada awal tahun 2000-an, pada tahun 2005, budidaya ikan diperkenalkan kembali pada daerah tersebut. Kemudian secara tiba-tiba pada tahun 2007 ledakan populasi *P. parvum* terjadi kembali dan berhasil membunuh setidaknya 135 metrik ton ikan yang dikurung (Johnsen *et al.*, 2010). Ledakan populasi *Chrysochromulina* dan *Prymnesium* menyebabkan kematian ikan liar di wilayah Kyrkjfjorden, sebuah teluk kecil dengan pertukaran air terbatas, di Kepulauan Stockholm, pada tahun 1991 dan 1992.

***Pseudochattonella* spp.**

Pseudochattonella spp. merupakan flagelata heterokont yang berasal dari kelas Dictyochophyceae, telah banyak ditemukan secara luas kasusnya, termasuk di Kattegat-Skagerrak, Laut Pedalaman Seto, Jepang (Hara, 1994), Selandia Baru (MacKenzie *et al.*, 2011) dan di Chile (Mardones *et al.*, 2019). Ledakan populasi spesies *Pseudochattonella* telah dikonfirmasi bertanggung jawab atas kematian ikan-ikan di Eropa utara yang telah tercatat dalam sejarah selama beberapa dekade terakhir. Misalnya, kematian ikan secara masal pada bulan Mei 1979 di Loch Striven di pantai barat Skotlandia dikaitkan dengan “*flagellate x*” yang tidak dikenal dalam sebuah laporan (Tett, 1980), hal ini disebabkan kemiripannya dengan spesies *Pseudochattonella*, namun hal ini belum bisa dibuktikan secara pasti. Peristiwa ledakan populasi *Pseudochattonella* sp. pertama kali dilaporkan terjadi di Kattegat-Skagerrak-timur Laut Utara pada tahun 1998 (Aure *et al.*, 2001 ; Waite dan Lindahl, 2006). Menjelang akhir tahun 1997, ledakan populasi *Pseudochattonella* sp. juga diamati di Teluk Århus, di Kattegat bagian Denmark. Kematian ikan liar (*garfish* *Belone belone* L., makarel Atlantik (*Scomber scombrus* L.) dan *herring* (*Clupea harengus* L.), serta salmon yang dibudidaya (*Salmo salar* L.) dilaporkan pada tahun 1998. Sejak kejadian itu, *Pseudochattonella* diketahui telah mengalami ledakan populasi yang berulang secara luas di Kattegat dan Skagerrak, sehingga menyebabkan kematian ikan. Awalnya, spesies penyebab berasal dari spesies *Chattonella aff. verruculosa* dari afiliasi taksonomi yang tidak pasti, kemudian berganti nama menjadi *Verrucophora* (Edvardsen *et al.*, 2007) beberapa waktu setelahnya, namun saat

ini telah ditempatkan dalam genus *Pseudochattonella* (Eikrem, 2009) berdasarkan pengkajian secara morfologi dan secara molekuler dari dua sampel genus *Pseudochattonella* yang telah menyebabkan kematian ikan di daerah Kattegat-Skagerrak: yakni spesies *Pseudochattonella farcimen* dan *Pseudochattonella verruculosa*. Sejak tahun 1998, *Pseudochattonella farcimen* telah menjadi pembentuk dictyochophyte yang paling dominan, dengan pola ledakan populasi yang selalu terjadi di musim semi (Andersen *et al.*, 2015 ; Eckford-Soper dan Daugbjerg, 2016 ; Jakobsen *et al.*, 2012). Ledakan populasi dari plankton genus ini selama tahun 2001–2019 telah banyak menyebabkan kematian ikan trout pelangi (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) di tambak ikan akuakultur air terbuka di Denmark. Perkiraan total kematian ikan pada tahun 2006, 2007 dan 2019 secara berurutan adalah 38 ton, 68 ton dan > 400 ton. Selain kematian ikan, pengamatan dari ledakan populasi *Pseudochattonella* selama awal musim semi telah diketahui juga berdampak pada penundaan pelepasan ikan ke lokasi akuakultur di laut dalam beberapa tahun selama periode 1998–2019 yang mengakibatkan hilangnya produksi industri mariculture.

Dictyocha/Octactis/Vicicitus

Dictyocha spp. merupakan flagelata fototrofik dengan penyusun cangkang silika yang juga termasuk dalam kelas Dictyochophyceae, genus *Dictyocha* baru-baru ini diketahui telah dipecah menjadi genera *Octactis* dan *Dictyocha* (Chang *et al.*, 2017). Di Eropa bagian utara, *Dictyocha fibula* dan *Octactis speculum* biasanya sering diamati dalam program pemantauan

fitoplankton yang dilakukan selama musim gugur. Fase sel telanjang pada siklus hidup *Dictyocha / Octactis* telah banyak dikaitkan dengan kematian ikan (Henriksen *et al.*, 1993 ; Jochem dan Babenerd, 1989 ; Lomsland *et al.*, 2010; Moestrup dan Thomsen, 1990). Anggota pembunuh ikan lain dari ordo Dictyochales, yakni spesies *Vicicitus globosus* (Chang, 2015 ; Chang *et al.*, 2012) telah diamati di Skagerrak bagian selatan dan barat pantai Norwegia (Lomsland *et al.*, 2010). Dalam HAEDAT, satu kematian ikan yang mempengaruhi akuakultur, telah banyak dikaitkan dengan bentuk telanjang dari *Octactis spekulum*, dilaporkan pada tahun 2004 di Laut Belt di Baltik selatan, namun uniknya tidak pernah ada insiden kematian ikan yang disebabkan *Octactis spekulum* yang tercatat di Laut Utara dan pesisir yang berdekatan.

Karenia mikimotoi

Karenia mikimotoi, merupakan dinoflagellata fototropik yang mengandung kloroplas yang tidak biasa yang berasal dari prymnesiophyte (Horiguchi, 2006 ; Tangen dan Bjørnland, 1981 ; Zapata *et al.*, 2012). *Karenia mikimotoi* merupakan spesies yang diketahui memiliki sebaran yang luas di perairan beriklim sedang dan dikenal sebagai spesies pembunuh ikan yang utama (Davidson *et al.*, 2009 ; Silke *et al.*, 2005). Di Eropa utara, *K. mikimotoi* pertama kali dikenal sebagai *Gyrodinium aureolum* tetapi hal ini telah dikonfirmasi terkait kesalahan dalam pengidentifikasiannya. Akhir-akhir ini, julukan “*European fish-killing taxon*” telah disematkan ke *Gymnodinium mikimotoi* dan/atau *Gymnodinium nagasakiense*. Saat ini, *K. mikimotoi* telah

tervalidasi sebagai agen pembunuh ikan *rainbow trout*. Ketika perairan terpapar dengan konsentrasi tinggi dari ledakan populasi *K. Mikimotoi* maka kejadian mortalitas pada ikan *rainbow trout*, *Oncorhynchus mykiss*, dapat terjadi dengan cepat (Mitchell dan Rodger, 2007 ; Roberts *et al.*, 1983). Dugaan terkait mekanisme toksik dari *K. Mikimotoi* diusulkan oleh Gentien dan Arzul (1990), terkait dengan potensi gangguan membran dari turunan asam lemak yang tidak biasa yang dihasilkan oleh *K. mikimotoi*, tetapi hal ini masih bersifat dugaan dan perlu dibuktikan lebih lanjut lagi. Ledakan populasi *K. mikimotoi* telah diketahui menyebabkan kematian ikan dan invertebrata benthik di Eropa utara sejak tahun 1966 yakni ketika perairan berwarna coklat dan kematian ikan diamati di sepanjang pantai selatan Norwegia (Braarud dan Heimdal, 1970). Ledakan populasi secara luas juga pernah terjadi di Norwegia pada akhir tahun 1970-an dan 1980-an (Dahl *et al.*, 1982 ; Dahl dan Tangen, 1993 ; Tangen, 1977). Ledakan populasi secara besar-besaran juga pernah dilaporkan terjadi di perairan Skotlandia (Davidson *et al.*, 2009), dari perairan Irlandia (Raine *et al.*, 2001 ; Silke *et al.*, 2005) dan Selat Inggris (Barnes *et al.*, 2015 ; Hartman *et al.*, 2014), khususnya pada periode air bertingkat yang tampaknya mendukung pertumbuhan *K. mikimotoi* secara tidak terkendali.

***Karlodinium veneficum* Causing Fish Mortalities**

Karlodinium merupakan genus dinoflagellata mixotrophic dengan beberapa anggotanya yang dikenal sebagai penyebab kematian ikan secara masal. *Karlodinium veneficum* telah dilaporkan menyebabkan kematian ikan liar di pantai Swedia

Baltic Proper pada tahun 2012, dan di pantai Finlandia yakni Teluk Finlandia pada tahun 2015 juga menyebabkan kematian ikan liar dengan kepadatan sel 14×10^6 sel/L. Dinoflagellata athecate berukuran kecil (<8–12 μm), plankton jenis ini biasa ditemukan di ekosistem perairan pesisir, namun masih belum mendapatkan perhatian yang baik untuk diteliti bahkan juga sering salah diidentifikasi. Spesies *Karlodinium* dapat diidentifikasi dengan teknik molekuler, seperti peristiwa yang terjadi di Teluk Finlandia pada tahun 2015. Beberapa senyawa toksik (karlotoksin) yang diproduksi oleh mereka telah dicirikan memiliki sifat hemolitik, ichthyotoxic, dan sitotoksik (Place *et al.*, 2012).

***Pfiesteria shumwayae* dan *Luciella masanensis* Penyebab Kematian Ikan**

Spesies Dinoflagellata *Pfiesteria shumwayae* dan *Luciella masanensis* telah diketahui menyebabkan kematian ikan *rainbow trout* *Oncorhynchus mykiss* di peternakan ikan resirkulasi di Denmark pada tahun 2012 (Moestrup *et al.*, 2014). Sementara kematian ikan karena *P. shumwayae* terjadi di tambak air payau sedangkan *L. masanensis* menyebabkan kematian ikan di tambak darat menggunakan air laut yang dipompa. Kedua spesies dinoflagellata ini berukuran kecil dan cukup sulit untuk diidentifikasi, dengan riwayat hidup yang samar dan rumit, karena itulah jarang sekali dilaporkan, namun spesies ini diprediksi memiliki kemungkinan hidup di perairan dasar di daerah beriklim sedang yang telah tersebar seluruh dunia.

***Dinophysis* dan *Prorocentrum* species dengan Diarrhetic Shellfish Toxins (DST)**

Di Eropa utara, Diarrhetic Shellfish Toxins (DST) diproduksi oleh beberapa spesies *Dinophysis* (Dahl dan Johannessen, 2001) dan oleh bentik *Prorocentrum lima*. Anggota toksigenik lain dari genus *Prorocentrum* juga telah diketahui misalnya *P. concavum* dan *P. hoffmannianum* yang umumnya ditemukan di perairan subtropis dan tropis (Dur'an-Riveroll *et al.*, 2019), tetapi spesies ini sangat langka atau hampir tidak pernah ditemukan di perairan Eropa utara. *Prorocentrum lima* bersifat epifit, hidup di substrat berpasir atau berbatu di sepanjang pantai, dan mampu melekat pada makroalga dan lamun (misalnya makroalga, *Zostera marina*).

Dinofisis merupakan dinoflagellata planktonik, mixotrophic yang memiliki riwayat hidup yang kompleks dan beragam, mode nutrisi alternatif, pigmentasi variabel dan mekanisme fotosintesis, serta ekologi dan perilaku yang menolak generalisasi (Reguera *et al.*, 1995 ; Reguera *et al.*, 2012). Tiga spesies *Dinofisis* yang diketahui bersifat toksigenik di antaranya adalah *Dinofisis acuta*, *Dinofisis acuminata* dan *Dinofisis norvegica* yang paling sering dilaporkan dalam program pemantauan di Eropa utara.

Toksisitas sel (atau kandungan toksin) dari sel *Dinofisis* telah terbukti sangat beragam dan bergantung pada kepadatan sel (Lindahl *et al.*, 2007). Sel-sel *Dinofisis* mampu berenang bebas meskipun tampak canggung (Lassus *et al.*, 1990 ; Smayda, 2010), dan sering diamati pada lapisan bawah permukaan yang padat di perairan bertingkat, seperti lapisan bawah permukaan di fyord Swedia (Lindahl *et al.*, 2007). Spesies *Dinofisis* terkadang

juga dapat terinfeksi oleh parasit, misalnya parasit dinoflagellata *Amoebophrya koeppen* (Salomon *et al.*, 2003) dan parasit *Parvilucifera* (Lee dan Park, 2017), tetapi hanya sedikit yang diketahui terkait efek pada toksisitas sel. Dinoflagellata heterotrofik dari genus *Fragilidium* dilaporkan mampu memakan *Dinofysis* melalui penelanan (Rodriguez *et al.*, 2014), dan karenanya genus *Fragilidium* dapat bertindak sebagai vektor DST dalam jaring makanan planktonik laut. Spesies dinoflagellata heterotrofik *Phalacroma rotundatum* (*Dinophysis rotundata*) sepertinya bukan penghasil DST setidaknya hal ini teramati di perairan Atlantik Utara (Cembella, 1989 ; Gonz'alez-Gil *et al.*, 2011; Pleasance *et al.*, 1990), meskipun kemungkinan vektor toksin lemah melalui phagotrophy (Gonz'alez-Gil *et al.*, 2011). Spesies ini tetap berada dalam Daftar Referensi Taksonomi Mikroalga Berbahaya IOC-UNESCO (Moestrup *et al.*, 2020), tetapi *Phalacroma rotundatum* belum pernah dikaitkan dengan peristiwa DST di Eropa Utara.

Kelompok DST termasuk asam okadaat (OA) dan >30 analog dinofisitoksin (DTX) alami, tetapi tidak semuanya merupakan racun diaregenik. Okadaic acid (OA), dinophysistoxin-1 (DTX1), dan dinophysistoxin-2 (DTX2) merupakan anggota dominan dari kelompok DST yang paling umum ditemukan pada kerang di Eropa Utara, tetapi analog lain (misalnya, asil-ester) juga dapat hadir di *Dinofysis* dan/atau diproduksi melalui biotransformasi dalam kerang (Blanco, 2018; Dur'an-Riveroll *et al.*, 2019).

Turunan lakton makrosiklik, seperti pektenotoksin (PTX), yang sebelumnya dianggap termasuk dalam "kelompok DST" yang dapat disintesis oleh berbagai spesies *Dinophysis*, tetapi tidak diketahui keterkaitannya dengan *Prorocentrum* (Duran-

Riveroll *et al.*, 2019). Banyak analog PTX dengan toksisitas spesifik yang tidak pasti sering terjadi bersamaan dengan DST yang sebenarnya, dan sebagiannya dapat diproduksi oleh biokonversi pada kerang setelah mengkonsumsi sel *Dinophysis*. PTX tidak menyebabkan diare, dan tidak ada toksisitas oral pada mamalia (termasuk manusia) yang telah diidentifikasi, tetapi PTX dimasukkan sebagai toksin yang muncul dalam fraksi “toksin lipofilik” untuk selanjutnya diuji pada tikus DSP dan dianalisis LC-MS/MS. PTX termasuk dalam batas peraturan UE saat ini dengan besaran Toxicity Equivalency Factor (TEF) sebesar 1, relatif terhadap OA.

Peristiwa alga berbahaya yang terkait dengan DST adalah peristiwa paling umum yang dilaporkan ke HAEDAT oleh Swedia, Norwegia, Denmark, Jerman, Belanda, dan Belgia. Namun demikian, insiden Keracunan Kerang Diare (DSP) jarang dilaporkan di wilayah tersebut, sebagian besar peristiwa DSP yang tercatat mengacu pada tingkat DST di atas batas peraturan dalam kerang bivalvia dan mengakibatkan penutupan area pemanenan kerang. Saat ini batas peraturan DST di Eropa adalah 160 µg OA setara dengan per kg daging kerang (EFSA, 2009), dan ini tampaknya memberikan *margin* keamanan bagi manusia.

Risiko DSP tetap menjadi masalah utama terkait phycotoxin di Belanda (van der Fels-Klerx *et al.*, 2012), Norwegia dan Swedia (Persson *et al.*, 2020). Peristiwa DSP yang dikonfirmasi di Belanda dilaporkan pertama kali pada awal tahun 1961 (Kat, 1983a), dan kemudian di Swedia pada tahun 1983 (Haamer, 1997 ; Krogh *et al.*, 1985). Sedangkan, peristiwa DSP pertama yang dikonfirmasi

di Norwegia terjadi pada tahun 1984 (Dahl dan Yndestad, 1985), meskipun ada laporan yang tidak terdokumentasi sejak tahun 1870 dan 1971 (Tangen dan Dahl, 1999). DSP juga menjadi perhatian utama terkait phycotoxin di Belgia, dengan peristiwa yang menyebabkan penutupan aktivitas pemanenan kerang pada tahun 2001 dan 2008. Di Helgoland, di German Bight, DST ditemukan di kerang biru *M. edulis* pada tahun 2000 (Kl'opper *et al.*, 2003). *Dinophysis tripos* pertama kali tercatat dari Helgoland Roads jangka panjang di Laut Utara bagian selatan pada tahun 2014 (Kraberg *et al.*, 2019). Spesies yang berpotensi toksigenik ini di Norwegia telah meningkat kelimpahannya (Johnsen dan Lømsland, 2010a) dan peningkatan kelimpahan sel di Swedia tercatat sejak tahun 2014, tetapi risiko DST terkait belum diteliti lebih lanjut.

Konsentrasi DST tahunan pada kerang telah menunjukkan penurunan di sepanjang pantai Selatan Norwegia (Naustvoll *et al.*, 2012) dan di sepanjang pantai Skagerrak, Swedia (Persson *et al.*, 2020), dalam beberapa tahun terakhir. Hal ini diketahui bertepatan dengan penurunan jumlah sel *Dinophysis acuta* yang dilaporkan dari program pemantauan fitoplankton berbahaya. Pada akhir 1980-an, tingkat DST tertinggi di *M. edulis* diamati pada musim gugur (Edebo *et al.*, 1991), tetapi sejak saat itu puncak tingkat DST pada spesies kerang ini tampaknya telah bergeser dari musim gugur menuju musim panas kembali (Naustvoll *et al.*, 2012 ; Persson *et al.*, 2020). Pada tahun 2002, peristiwa HAB yang tidak biasa terjadi di daerah Flekkefjord di Norwegia selatan. *Cancer pagurus*, umumnya dikenal sebagai kepiting yang dapat dikonsumsi, namun kepiting jenis ini mengandung DST yang

tinggi di jeroan mereka khususnya insang, setelah memakan kerang yang mengandung DST (Castberg *et al.*, 2004 ; Torgersen *et al.*, 2005). Jika memakan kepiting yang telah terpapar DST yang dibawa oleh kerang yang mengandung DST, maka manusia akan menunjukkan gejala klinis seperti sindrom DSP.

***Alexandrium* spp. dan Paralytic Shellfish Toxins (PST)**

Alexandrium terdistribusi secara global dan muncul dari perairan laut kutub (Okolodkov, 2005) hingga laguna tropis dan subtropis payau (Lim *et al.*, 2005) dan tampaknya telah meningkat dalam penyebarannya secara global. Anggota genus dinoflagellata *Alexandrium* (Anderson *et al.*, 2012), seperti *Alexandrium minutum*, *Alexandrium ostenfeldii*, *Alexandrium pacificum*, *Alexandrium catenella*, *Alexandrium australiense* dan *Alexandrium tamiyavanichi* (Murray *et al.*, 2015a ; Murray *et al.*, 2015b), adalah produsen global utama neurotoksin yang digadang-gadang bertanggung jawab atas keracunan kerang paralitik (PSP), yang dikenal sebagai “saxitoxins” atau PST. Dinoflagellata *Gymnodinium catenatum* dan *Pyrodinium bahamense* juga menyebabkan insiden PSP, tetapi spesies ini tidak ada di wilayah Eropa Utara yang diulas di sini. Beberapa spesies *Alexandrium* toksigenik yang mampu menghasilkan racun PSP umum ditemukan di perairan Eropa Utara, di antaranya adalah *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii*, dan *Alexandrium minutum* adalah kontributor PST yang paling menonjol dalam kerang dan memiliki catatan pendistribusian dengan sejarah yang panjang dan tergambar dengan baik di wilayah tersebut. Mengikuti pembaruan terkini pada Daftar Referensi Taksonomi

Mikroalga Berbahaya IOC-UNESCO (Moestrup *et al.*, 2020), sebagian besar peristiwa PSP di wilayah Laut Utara (Laut Norwegia dan Kattegat-Skagerrak) yang lebih besar yang dilaporkan dalam HAEDAT dapat dirujuk ke *Alexandrium catenella*, sebelumnya dikenal sebagai *Alexandrium catenella*.

Racun Kerang Paralitik (PST) diproduksi oleh dinoflagellata laut yang termasuk dalam tiga genus utama dan di antara sekitar dua belas genera cyanobacteria air tawar dan air payau, distribusi dan cara kerja racun guanidinium tersebut ditinjau oleh Dur'an-Riveroll dan Cembella (2017). PST adalah neurotoksin tetrahidropurin, yang paling kuat efeknya adalah turunan karbamoil saxitoxin (STX) dan neosaxitoxin (neoSTX), yang mampu memblokir konduktansi melalui saluran ion natrium sel saraf yang menyebabkan kelumpuhan neuromuskular (Kao, 1993 ; Van Dolah, 2000). Akumulasi PST dalam spesies laut dapat menyebabkan sindrom PSP pada manusia yang mengkonsumsi makanan laut (Kao, 1993), dan transfer toksin dalam jaringan makanan laut dapat menyebabkan kematian fauna dan juga memiliki dampak yang buruk pada fungsi ekosistem (Anderson dan Garrison, 1997 ; Llewellyn, 2006).

Selain PST ("saxitoxins"), beberapa spesies *Alexandrium* menghasilkan senyawa bioaktif lainnya ("toksin") seperti cyclic imines spirolics (SPX) atau gymnodimines (GYM), dan/atau polyether macrolide goniodomins (GD). Senyawa ini dapat memainkan peran defensif dalam menghalangi pemakan tumbuhan, seperti yang telah ditunjukkan untuk saxitoxins dan copepoda (Selander *et al.*, 2006 ; Wohlrab *et al.*, 2010), atau dapat juga memiliki fungsi ekologis lain yang belum diketahui.

Laporan HAEDAT- pertama tentang peristiwa PSP di Swedia berasal dari tahun 1987 ketika kerang (*M. edulis*) di sepanjang pantai Skagerrak Swedia telah memiliki kadar PST di atas batas peraturan ($800 \mu\text{g STXeq/kg}$) antara akhir Mei dan awal Juli. Peristiwa dengan tingkat PST di atas batas peraturan juga dicatat pada tahun 1988 dan 1997. Dalam kasus-kasus awal ini, penghasil toksin dilaporkan berasal dari spesies *Gonyaulax excavatum*, tetapi sekarang dianggap sebagai *Alexandrium catenella* (Kofoid) dalam nomenklatur terbaru (Litaker *et al.*, 2018).

Selanjutnya, untuk area Skagerrak ada beberapa laporan tentang peningkatan kadar PST, misalnya $6,0 \times 10^3 \mu\text{g STXeq/kg}$ pada tahun 2010, dinoflagellata penyebabnya adalah spesies *Alexandrium catenella* (tetapi sempat dilaporkan sebagai *Alexandrium tamarense*). Pada tahun 2014, 2015 dan 2017 peristiwa PSP yang terjadi di pantai Skagerrak Swedia dengan tingkat PST maksimum $3,6 \times 10^3 \mu\text{g STXeq/kg}$ juga dilaporkan terkandung pada kerang *M. edulis*. Wabah PSP pertama kali dilaporkan oleh Norwegia pada tahun 1901 dan menyebabkan dua kematian manusia di Oslo karena mengkonsumsi kerang yang terkontaminasi (Tangen dan Dahl, 1999 ; Thesen, 1901). Laporan HAEDAT pertama tentang peristiwa PST, yaitu konsentrasi PST yang terkandung pada moluska bivalvia di atas batas yang seharusnya, di Norwegia berasal dari tahun 1987. Sejak saat itu, kadar PST yang jauh di atas batas yang ditetapkan sering tercatat pada kerang yang berasal dari Laut Norwegia, misalnya saja pada tahun 2010 dari Laut Norwegia bagian Utara (maksimum: $17,7 \times 10^3 \mu\text{g STXeq/kg}$) dan pada

tahun 2011 dari Laut Norwegia bagian Selatan (maksimum: $12,5 \times 103 \mu\text{g STXeq/kg}$), dengan tingkat tertinggi pada kerang dari Laut Norwegia pada 2017 (maksimum: $5,8 \times 104 \mu\text{g STXeq/kg}$). Penghasil toksin tersebut tercatat adalah *Alexandrium catenella* (sekali lagi dilaporkan sebagai *Alexandrium tamarense*). Peristiwa di Laut Barents pertama kali dilaporkan pada tahun 1996, dan pada tahun 2017 terdeteksi dengan kadar PST tertinggi $3,6 \times 103 \mu\text{g STXeq/kg}$.

***Alexandrium pseudogonyaulax* dan imina siklik terkait dan Macrocylic Polyether Toxins**

Mengingat afinitas filogenetiknya, kandungan nutrisi dan potensi toksigeniknya, *Alexandrium pseudogonyaulax* yang ditemukan di Eropa Utara jelas berbeda dari kelompok spesies *Alexandrium catenella* atau *Alexandrium tamarense* dan *Alexandrium ostenfeldii* atau *Alexandrium peruvianum*. Anggota kelompok *Alexandrium catenella* atau *Alexandrium tamarense* lebih sering dijumpai sebagai penghasil PST, sedangkan *Alexandrium ostenfeldii* atau *Alexandrium peruvianum* masing-masing diketahui dapat menghasilkan PST dan/atau spiroklorin (SPX), di wilayah ini (Eropa Utara). Populasi *Alexandrium pseudogonyaulax* dari Kattegat-Skagerrak baru-baru ini telah dikonfirmasi menghasilkan makrolida polieter gonioidomin A (GDA) yang sangat beracun (Krock *et al.*, 2018), yang diketahui memiliki sifat sitotoksik dan secara tidak langsung selalu dikaitkan dengan kematian ikan selama beberapa dekade. Mungkin semua spesies *Alexandrium* mampu melakukan mixotrofik terbatas, atau setidaknya asimilasi heterotrofik

nutrisi organik, tetapi spesies *Alexandrium pseudogonyaulax* menunjukkan strategi cara makan dengan perangkap lendir yang unik (Blossom *et al.*, 2017). Namun demikian, bukti awal menunjukkan bahwa GDA diproduksi secara endogen oleh *Alexandrium pseudogonyaulax* alih-alih diperoleh secara sekunder melalui proses penangkapan mangsa beracun. Di Norwegia Selatan *Alexandrium pseudogonyaulax* pertama kali ditemukan pada tahun 2001, tetapi telah menyebar secara luas sejak tahun 2010. Di Oslofjorden diamati muncul secara teratur di musim panas, kadang-kadang pada kepadatan sel tinggi “*blooming*”. Sejumlah wisatawan yang berenang ketika kondisi ledakan populasi selalu mengeluh tentang ketidaknyamanan pada kulit mereka. Sejak pengamatan pertama ledakan populasi pada tahun 2002, distribusi spatiotemporal *Alexandrium pseudogonyaulax* di Norwegia bertepatan dengan pola kejadian di sepanjang pantai Swedia Barat. Pengamatan di sepanjang pantai Swedia Kattegat-Skagerrak telah menunjukkan peningkatan kelimpahan sel *Alexandrium pseudogonyaulax* saat musim panas. Analisis data pemantauan jangka panjang dari Limfjorden, Denmark telah memvalidasi pergeseran baru-baru ini ke dominasi *Alexandrium pseudogonyaulax* atas *Alexandrium ostenfeldii*. Temuan baru ini mencatat bahwa *Alexandrium pseudogonyaulax* telah menjadi anggota terkemuka dari genus *Alexandrium* selama beberapa dekade terakhir di wilayah tersebut. Sampai saat ini, tidak ada catatan kematian ikan atau peristiwa HAB lainnya yang terkait dengan ledakan populasi *Alexandrium pseudogonyaulax*, tetapi goniodomin tidak menjadi sasaran utama pemantauan rutin dalam program pemantauan toksin akibat plankton di Eropa,

baik pada kerang atau ikan bersirip, dan karena itu risikonya belum terdefinisi dengan baik.

***Protoceratium reticulatum*, *Gonyaulax spinifera*, *Lingulodinium polyedra* dan Yessotoxins terkait**

Tiga dari empat spesies dinoflagellata gonyaulacoid (*Gonyaulacales*) dilaporkan mampu memproduksi senyawa polieter disulfat kerangka tangga yang dikenal sebagai Yessotoxins (YTX) (Krock *et al.*, 2008) yang umum di perairan pesisir Eropa Utara tiga spesies tersebut adalah *Lingulodinium polyedra*, *Protoceratium reticulatum* (syn. *Gonyaulax grindleyi*), dan *Gonyaulax spinifera*. Isolat kultur *Lingulodinium polyedra* dan *Protoceratium reticulatum* pertama kali dipastikan menjadi produsen senyawa beracun YTX pada tahun 2004 (Paz *et al.*, 2004) yang tidak lama kemudian Rhodes *et al.* (2006) menyatakan bahwa *Gonyaulax spinifera* juga mampu memproduksi senyawa beracun YTX. Baru-baru ini, spesies *Gonyaulax taylorii* juga telah dilaporkan mampu memproduksi senyawa beracun YTX yang terjadi di perairan pantai Chili (Alvarez *et al.*, 2016), tetapi spesies ini belum diketahui sebagai faktor toksik di perairan Eropa Utara.

Toksikologi dan cara kerja racun YTX pada target mamalia dan sel telah dijelaskan oleh Paz *et al.* (2008) dan Tubaro *et al.* (2010) meskipun masih bersifat dugaan dan bersifat tidak pasti. YTX sudah lama diklasifikasikan sebagai racun di antara kategori racun yang menyebabkan DSP. Namun, karena YTX tidak menyebabkan diare, atau menghambat protein fosfatase 2A, tidak seperti racun DSP yang sebenarnya, maka YTX

direklasifikasi sebagai kelompok toksin yang terpisah dari kompleks DST (European-Commission, 2002). Hingga tahun 2013, batas regulasi di Eropa terkait konsentrasi senyawa beracun YTX adalah 1,0 mg/kg daging kerang dan saat ini dinaikkan menjadi 3,75 mg/kg (European-Commission, 2013). Kandungan YTX yang tinggi telah menyebabkan beberapa penutupan panen kerang di Eropa Utara, misalnya di wilayah Swedia Barat (Persson *et al.*, 2014).

Hingga saat ini belum ada kasus keracunan terhadap manusia yang benar-benar disebabkan oleh senyawa beracun YTX, meskipun kerang yang terkontaminasi YTX, kadangkala memiliki konsentrasi YTX yang tinggi jauh melebihi batas peraturan di Eropa. Tidak ada sindrom toksin YTX yang telah dijelaskan atau ditentukan, dan potensi spesifik sebagian besar analog YTX belum diketahui. Dalam sebuah studi di mana efek gabungan asam okadaat (OA) dan YTX diuji pada hewan coba (tikus), efek yang menunjukkan sifat tumorigenik telah dibenarkan (Franchini *et al.*, 2005), menunjukkan potensi risiko sinergis paparan kronis dari pengonsumsi kerang. Imunotoksisitas YTX subakut dilaporkan dalam percobaan dengan hewan coba (tikus) (Ferreiro *et al.*, 2017) menunjukkan bahwa paparan berulang terhadap YTX dalam jumlah yang rendah juga dapat menimbulkan potensi bahaya bagi kesehatan manusia, utamanya pada populasi manusia dengan gangguan kekebalan tubuh.

YTXs pertama kali dilaporkan ditemukan pada scallop (*Patinopecten yessoensis*, yang dikumpulkan di Teluk Mutsu, Jepang) (Murata *et al.*, 1987), dan sering terdeteksi pada kerang

dari Jepang. Secara global, YTX telah ditemukan pada kerang-kerang di banyak lokasi pesisir di seluruh dunia, termasuk pesisir Selandia Baru (MacKenzie *et al.*, 1998), Tiongkok (Liu *et al.*, 2017) dan Amerika Serikat (California) (Armstrong dan Kudela, 2006), biasanya penemuan senyawa beracun YTX bertepatan dengan peristiwa ledakan populasi satu atau lebih spesies dinoflagellata. Di Eropa, YTX umumnya terdeteksi pada kerang dan telah lama dilaporkan berasal dari Laut Adriatik bagian Utara (Ciminiello *et al.*, 1997), Belgia (Orellana *et al.*, 2017), Prancis (Amzil *et al.*, 2008) dan Norwegia (Aasen *et al.*, 2008).

Azadinium, Amphidoma and azaspiracids

Anggota keluarga Dinoflagellata laut daei kelas Amphidomataceae yakni genera *Azadinium* dan *Amphidoma* (Tillmann *et al.*, 2012) telah diakui sebagai produsen kelompok unik phycotoxin polieter lipofilik yang dikenal sebagai azaspiracids (AZAs). Mengonsumsi makanan laut yang terkontaminasi AZA dapat menyebabkan *Azaspiracid Shellfish Poisoning* (AZP), merupakan sindrom toksisitas tingkat serius pada manusia, utamanya akan menyebabkan masalah pencernaan, seperti kram, muntah, mual, dan diare akut (Abal *et al.*, 2017). Butuh lebih dari satu dekade untuk menemukan dan mendeskripsikan dinoflagellata kecil (berukuran <20 μm) (Tillmann *et al.*, 2009) yang diisolasi dari pantai Laut Utara Skotlandia sebagai organisme sumber pertama yang dikonfirmasi memproduksi AZA. Spesies ini kemudian juga ditemukan di perairan pesisir Denmark dan Irlandia (Salas *et al.*, 2011), dan dipastikan bersifat toksigenik. Sejak saat itu penelitian intensif telah mengarah pada

pendeskripsian yang lebih dari selusin spesies *Azadinium* dan berhasil mengkonfirmasi distribusi genus ini di seluruh dunia (Rhodes *et al.*, 2020). Saat ini sedikitnya ada tiga spesies utama yang telah dikenal mampu memproduksi AZA yakni dari genus *Azadinium*, misalnya *A. spinosum*, *A. poporum*, *A. dexteroporum* (Krock *et al.*, 2019). Azaspiracids tidak hanya diproduksi oleh *Azadinium*, *Amphidoma languida* baru – baru ini juga diketahui mampu memproduksi senyawa AZA, yang mana spesies ini merupakan kerabat dekat secara morfologis dan filogenetik dari genus *Azadinium* (Krock *et al.*, 2019).

Setelah insiden keracunan pertama di Belanda pada tahun 1995, berkaitan dengan kerang yang dipanen dari pantai barat Irlandia, senyawa AZA pertama kali diisolasi dan dikarakterisasi secara struktural dari kerang yang diambil di Irlandia (Ito *et al.*, 2000 ; Satake *et al.*, 1998). Di antara spesies *Azadinium* sp. dan *Amphidoma languida*, lebih dari 30 analog AZA telah berhasil dideskripsikan (Hess *et al.*, 2014), dan beberapa spesies menghasilkan kemungkinan analog AZA yang tetap dicirikan secara struktural dan toksisitasnya belum diketahui.

Dalam HAEDAT untuk periode 1987–2019, tujuh laporan kejadian terkait deteksi senyawa AZA untuk pantai Norwegia, satu laporan dari Swedia dan satu laporan dari Belanda, dan tidak ada laporan dari Denmark, Jerman dan Belgia, Kelangkaan pelaporan kasus tentang AZA ini mungkin sebagian disebabkan oleh fakta bahwa analisis AZA oleh LC-MS/MS diperkenalkan baru-baru ini untuk pemantauan fitotoksin kerang-kerang yang dikonsumsi manusia (misalnya, untuk Swedia pada tahun 2009). Hal ini, mungkin juga mencerminkan bahwa ledakan populasi

toksigenik *Azadinium* (atau *A. languida*) dengan skala dampak yang tinggi masih agak jarang atau juga bisa dikarenakan ledakan populasinya tidak bertahan cukup lama untuk mampu menyebabkan tingkat toksin kerang yang signifikan untuk teramati. Ukuran sel yang sangat kecil dan fitur morfologis yang juga tidak mencolok mungkin juga dapat menyebabkan spesies *Azadinium* menjadi samar. Azaspiracids (AZA), misalnya, telah ditemukan dalam kerang yang dikumpulkan dari perairan pantai Belgia (Orellana *et al.*, 2017), namun tidak ada spesies *Azadinium* yang diduga berkaitan dengan hal tersebut.

Dalam makanan laut yang dikonsumsi di Eropa utara, senyawa AZA menimbulkan masalah besar utamanya untuk pengonsumsi kerang-kerang dan krustasea tertentu, seperti kepiting, yang telah mengakumulasi racun ini sebagai vektor rantai makanan. Pada tahun 2005, AZA terdeteksi di jeroan kepiting yang dapat dimakan (coklat), *C. pagurus*, di Norwegia dan pada tahun berikutnya dua orang dirawat di rumah sakit di Norwegia setelah makan kepiting yang terkontaminasi senyawa AZA. Oleh karena itu, batas regulasi konsentrasi AZA sebanyak 170 µg AZA/kg pada jeroan kepiting telah diterapkan di Norwegia.

Microcystis aeruginosa

Microcystis aeruginosa merupakan salah satu jenis alga dari golongan hijau biru (Blue green algae) yang cukup terkenal karena bersifat kosmopolit. Beberapa spesies dari golongan ini sangat bermanfaat, namun sebagian juga merugikan. *Microcystis aeruginosa* merupakan salah satu jenis plankton yang merugikan.

Masithah (2011) menyatakan bahwa salah satu plankton yang memberikan efek merugikan adalah *Microcystis aeruginosa*. Beberapa efek bahaya yang diakibatkan oleh plankton ini adalah karena nilai nutrisinya rendah sebab sulit dicerna akibat dinding selnya sangat tebal. Bahkan sering dijumpai plankton ini masih hidup setelah dikeluarkan bersama feses ikan. Efek yang tidak kalah berbahaya adalah karena kandungan racun Cyanotoxin jenis microcystins yang menyerang liver. Penyakit lain yang menyertai adalah haemolytic enteritis atau feses putih yang diakibatkan kerusakan pada saluran pencernaan. Kerusakan ini disebabkan efek gabungan antara Cyanotoxin, infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang menyebabkan kerusakan hepatopankreas serta HPV (*Hepatopankreatic Parvo Like Virus*). Ditambahkan oleh **Masithah, dkk** (2008) bahwa efek merugikan lain akibat blooming *Microcystis aeruginosa* adalah adanya cita rasa lumpur organisme yang dibudidayakan. Hal ini disebabkan *Microcystis aeruginosa* juga menghasilkan metabolit sekunder berupa geosmin (trans-1, 10-dimethyl-trans-9-decadiol, suatu senyawa penyebab cita rasa lumpur (bau tanah) pada daging ikan. Geosmin diproduksi oleh *Microcystis aeruginosa*, dilepas ke perairan, selanjutnya diserap melalui insang, kulit dan saluran pencernaan

Pengendalian Plankton yang Berbahaya di Perairan

Pengendalian terhadap populasi plankton di perairan baik di perairan bebas maupun perairan terbatas seperti tambak sering dilakukan untuk tujuan menangani *blooming* plankton berbahaya ataupun menjaga komposisi dan kepadatan plankton

guna mendapatkan produktivitas perairan yang diharapkan. Pengendalian plankton di perairan dapat dilakukan dengan berbagai metode. Dalam pelaksanaan di lapang, umumnya tidak digunakan satu metode, tetapi gabungan dari berbagai metode yang memungkinkan untuk dilakukan. Berikut adalah berbagai metode yang digunakan untuk menekan populasi plankton, baik yang dilakukan di lapang maupun hasil penelitian eksperimen laboratorium

Metode Budidaya

Berbagai metode budidaya yang diterapkan untuk menghindari kepadatan populasi plankton umumnya melalui upaya untuk meminimalisir masukan bahan organik atau mengurangi bahan organik dari tambak. Penumpukan bahan organik dalam tambak merupakan salah satu pemicu *blooming* plankton. Beberapa metode budidaya tersebut antara lain

- a. Padat tebar (*stocking density*) rendah, dengan harapan mengurangi sisa pakan dan feses yang masuk ke perairan tambak (Hariyanto, 2001)
- b. Polikultur menggunakan spesies yang dapat memanfaatkan berbagai jenis plankton sebagai pakan alami seperti golongan Tilapia (mujair dan nila) (Haryono, 2001)
- c. Tumpangsari dilakukan dengan memelihara ikan dan padi secara bersamaan atau mina padi yaitu memelihara ikan dan padi secara bergantian tergantung musim (Haryono, 2001)
- d. Manajemen pakan yang tepat sehingga tidak banyak pakan terbuang ke perairan. Manajemen pakan yang tepat dapat

tergambar dari FCR (*Food Conversion Ratio*) yang rendah (Harianto, 2001).

- e. *Running water* yaitu pemeliharaan ikan dengan sistem air mengalir. Hal ini dapat membuang bahan organik dan menambah kandungan oksigen terlarut (Edhy dkk., 2003)

Perbaikan Kualitas Air

Perbaikan kualitas air umumnya dilakukan agar lebih sesuai bagi pertumbuhan berbagai jenis plankton. Dengan demikian plankton tidak didominasi oleh jenis tertentu yang berbahaya atau yang tidak dikehendaki. Berbagai upaya tersebut antara lain adalah :

- a. Turbulensi dan pengadukan kolom air untuk mencegah stratifikasi air, sehingga oksigen tersedia bagi plankton (Koswandi, 2001; Edhy, 1996)
- b. Penyiponan dan ganti air, bertujuan untuk membuang bahan organik sebagai pemicu *blooming* plankton yang menyukai bahan organik tinggi seperti *Microcystis aeruginosa* (Koswandi, 2001; Haryono, 2001)
- c. Peningkatan salinitas yang dapat menghambat aktifitas fiksasi nitrogen oleh jenis plankton yang memiliki kemampuan menangkap N_2 dari udara seperti *Microcystis aeruginosa*
- d. Mengendalikan suhu air dengan jalan meninggikan permukaan / volume air. Beberapa jenis plankton ada yang mampu berkembang cepat pada suhu perairan yang tinggi (Edhy, 1996).

- e. Manipulasi level nutrisi untuk mengatur rasio Nitrogen dan Fosfat (N:P) perairan (Edhy, 2001; Smith, 1983). Rasio N:P perairan sangat menentukan dominansi jenis plankton pada suatu perairan (Koswandi, 2001).

Tabel 2.1 Rasio N : P Perairan dan Plankton yang Mendominasi

Nilai Rasio N: P	Jenis Plankton yang Mendominasi
N:P<10	Cyanophyta (<i>Blue Green Algae</i>)
N:P=10	Dinoflagellata (warna air kemerahan)
N:P=10-20:1	Diatomae (warna air kecoklatan)
N.P=20:1	Chlorophyta (<i>Green Algae</i>)
N < 0,144 ppm	Pembatas bagi kehidupan plankton
P<0,02 ppm	

- f. Filter biologis menggunakan ikan, kerang dan rumput laut dapat mengurangi bahan organik perairan. *Silver carp* dan tilapia merupakan ikan yang potensial untuk memanfaatkan *Microcystis aeruginosa* (Jana and Sahal, 2000).
- g. “Penyuntikan plankton”, yaitu menginokulasikan jenis plankton tertentu ke tambak dengan harapan dapat berkembang untuk memperbaiki keragaman plankton (Edhy dkk., 2003).

Perlakuan Fisik

- a. Pengambilan secara manual menggunakan serok. Cara ini dilakukan pada plankton yang telah membentuk koloni dan mengapung dipermukaan perairan tambak (Koswandi, 2001).

- b. Radiasi sinar UV dapat meningkatkan *specific gravity sel* yang menimbulkan efek merugikan bagi plankton, selanjutnya sel-sel menjadi mengendap (Alam *et al*, 2001)

Penggunaan Bahan Kimia

Beberapa bahan kimia yang digunakan untuk menurunkan kepadatan plankton dalam perairan antara lain:

- a. Kupri sulfat (CuSO_4) dapat menghambat fiksasi Nitrogen oleh *Microcystis aeruginosa*, karena ion sulfat menghambat penyerapan ion molilbdat yang dibutuhkan enzim nitrogenase (Verhoeven and Eloff ,1989 dan Li, 2002).
- b. Benzal Konium Chlorida (BKC) dengan dosis 0,6 ppm/3hari, dilakukan pada siang hari. Efek penggunaannya adalah oksigen terlarut menjadi rendah sehingga selama pemberian, kincir air harus dinyalakan (Yukasano, 1999).
- c. Hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan dosis 3-5 ppm (Haryono, 2001). Kelemahan penggunaan H_2O_2 adalah penampilan fisik udang menjadi rusak (Kastitonif, 2002).
- d. Pengapuran, bertujuan untuk menjaga nilai pH perairan dengan meningkatkan kapasitas buffer perairan. Dengan demikian, pH menjadi lebih stabil dan jenis plankton lain dapat tumbuh. Sementara itu, beberapa jenis plankton lebih menyukai pH tinggi (Nur, 2002).
- e. Klorin / Kaporit digunakan dengan dosis1- 1,5 ppm. Penggunaan kaporit memiliki kelemahan karena dapat mencemari lingkungan bila terbuang dan terakumulasi di perairan (Koswandi, 2001).

- f. Ozon dengan dosis 1 mg/liter (Hoeger *and* Coworker, 2002) dapat membunuh dengan cara merusak dinding sel (Collignon, 1994). Ozon memiliki oksidasi potensial 2,07 V, lebih tinggi dibanding klorin yang hanya memiliki oksidasi potensial 2,35.
- g. *Lysine* dan *Malonic Acid* (Kaya, *et al*, 2004) dapat menurunkan dominansi *Microcystis aeruginosa* terhadap plankton lain pada kolam percobaan

Penggunaan Bahan Alam

- a. Ekstrak umbi tike (*Eleocharis dulcis*) memiliki fenomena alelopati dengan menghasilkan asam lemak teroksidasi yang dapat mengganggu pertumbuhan plankton dari golongan hijau biru (Andriyani, 1995).
- b. Ekstrak kulit jeruk dan kulit pisang mengandung fenol dan tannin yang dapat menurunkan populasi alga dari golongan hijau biru (Chen *et al*, 2004).
- c. Dekomposisi jerami selain mengandung fenol dan tannin, juga adanya antibiotic yang dihasilkan jamur pada jerami yang terdekomposisi (Chen, 2004). Penggunaan terus menerus menyebabkan terjadi desensitifitas (Martin and Ridge, 1999).
- d. Dekomposisi jerami padi dicampur daun-daunan mengandung senyawa fenol teroksigenasi. Cara penggunaan adalah dimasukkan ke dalam karung dan digantung di dalam perairan (Gibson *et al*, 1990 dan Ridge *et al*, 1995).

- e. Ekstrak dekomposisi jerami padi sudah dapat menurunkan populasi *Microcystis aeruginosa* pada konsentrasi kecil (0,05 %). Cara ini merupakan penyempurnaan penggunaan jerami padi tedekomposisi, karena tidak ada materi yang mengalami pembusukan dan berpotensi sebagai polutan (Ball *et al*, 2000).
- f. Ekstraksi enzim pectinase dilakukan oleh Masithah (2011) dari bakteri *Pseudomonas pseudomallei* untuk menurunkan populasi *Microcystis aeruginosa*. Spesifitas enzim ini terbukti mampu merusak dinding plankton *Microcystis aeruginosa* yang sebagian besar terdiri dari pektin. Seperti diketahui, berbagai jenis plankton memiliki dinding sel yang sebagian besar terdiri dari selulosa. Namun, tiap jenis plankton memiliki komponen mayor spesifik. Sebagai contoh, Chlorophyta memiliki dinding sel yang mayoritas terdiri dari selulosa dan hemiselulosa. Brown algae mayoritas dinding selnya terdiri dari selulosa dan lignin. Diatom, sebagian besar dinding selnya terdiri dari silika. Sedangkan *Microcystis aeruginosa*, komponen mayor dinding selnya adalah pektin. Dengan spesifikasi mekanisme ini, maka ketika enzim ini diterapkan di perairan yang terdiri dari berbagai jenis plankton, maka yang menjadi sasaran kerja hanya plankton *Microcystis aeruginosa*, sedangkan plankton-plankton lain tidak. Hal ini menjadi penting karena di perairan juga terdapat jenis-jenis plankton yang dibutuhkan bagi organisme yang hidup di dalamnya.

Penggunaan Mikroorganisme

- a. *Alcaligenes denitrificans* menghasilkan β -glikosidase yang memutus ikatan β -1,3-glikosidik pada dinding heterokista, suatu aparatus fiksasi nitrogen pada *Microcystis aeruginosa*. Selain itu bakteri ini berperan dalam proses denitrifikasi sehingga nitrogen tersedia bagi jenis plankton lain. Akibatnya, *Microcystis aeruginosa* tidak mendominasi perairan (Manage *et al*, 2000).
- b. *Pseudomonas* mempunyai kemampuan denitrifikasi serta bersifat saprofitik sehingga dapat menekan pertumbuhan alga hijau biru (Yamamoto *et al*, 1993).
- c. *Actinomycetes* yang berada pada dekomposisi jerami, secara tidak langsung merupakan inhibitor *Microcystis aeruginosa* (Newman and Barret, 1993)
- d. Bakteri selulolitik (*Pseudomonas pseudomallei*) untuk menekan pertumbuhan alga dari golongan hijau biru (Masithah, dkk, 2008). Bakteri ini diisolasi dari tambak air tawar daerah Gresik. Bakteri selulolitik dipilih sebagai agen penekan pertumbuhan *Microcystis* sp. karena dinding sel plankton tersebut sebagian besar terdiri dari selulosa. Setelah dilakukan pendalaman tentang dinding sel *Microcystis* sp. diketahui bahwa komponen mayor dinding sel plankton ini terdiri dari pektin (bagian dari selulose). Oleh karena itu, penelitian dilanjutkan dengan mencari bakteri yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim pektinase dari bakteri selulolitik yang telah didapatkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aasen, J., Samdal, I.A., Miles, C.O., Dahl, E., Briggs, L.R., Aune, T., 2005. Yessotoxins in Norwegian blue mussels (*Mytilus edulis*): uptake from *Protoceratium reticulatum*, metabolism and depuration. *Toxicon* 45 (3), 265–272.
- Abal, P., Louzao, M.C., Fraga, M., Vilariño, N., Ferreiro, S., Vieytes, M.R., Botana, L.M., 2017. Absorption and effect of azaspiracid-1 over the human intestinal barrier. *Cell. Physiol. Biochem.* 43 (1), 136–146.
- Alam, Z.B., Otaki M., Furumai H. and Ohgaki S. 2001. Direct and Indirect Inactivation of *Microcystis aeruginosa* by UV Radiation. *Water Res.* 2001: 35(4):1008-14 (ASSN: 0043-1354)
- Alvarez, G., Uribe, E., Regueiro, J., Blanco, J., Fraga, S., 2016. *Gonyaulax taylorii*, a new yessotoxins-producer dinoflagellate species from Chilean waters. *Harmful Algae* 58, 8–15.
- Amzil, Z., Sibat, M., Royer, F., Savar, V., 2008. First report on azaspiracid and yessotoxin groups detection in French shellfish. *Toxicon* 52 (1), 39–48.
- Andersen, N. G., Hansen, P. J., Engell-Sørensen, K., Nørremark, L. H., Andersen, P., Lorenzen, E., & Lorenzen, N. 2015. Ichthyotoxicity of the microalga *Pseudochattonella farcimen* under laboratory and field conditions in Danish waters. *Diseases of aquatic organisms.* 116(3), 165-172.
- Anderson, D.M., Alpermann, T.J., Cembella, A.D., Collos, Y., Masseret, E., Montresor, M., 2012. The globally distributed

- genus *Alexandrium*: multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae* 14, 10–35.
- Anderson, D.M., Garrison, D.J., 1997. The ecology and oceanography of harmful algal blooms.
- Andriyani, N. 1995. Daya Hambat Ekstrak Tike (*Eleocharis dulcis*) Hensel terhadap Pertumbuhan Populasi Alga Biru *Microcystis aeruginosa* Kuetz and Alga Hijau *Chlorella pyrenoidosa* Chick. Master Thesis. JBPTTTBBI. Departemen Biologi. ITB. Bandung.
- Armstrong, M., Kudela, R., 2006. Evaluation of California isolates of *Lingulodinium polyedrum* for the production of yessotoxin. *Afr. J. Mar. Sci.* 28 (2), 399–401.
- Aure, J., & Rey, F. 1992. Oceanographic conditions in the Sandsfjord system, western Norway, after a bloom of the toxic prymnesiophyte *Prymnesium parvum* Carter in August 1990. *Sarsia*. 76(4), 247-254.
- Aure, J., Danielssen, D. S., Skogen, M., Svendsen, E., Soiland, H., & Pettersson, L. 2001. Environmental conditions during the *Chattonella* bloom in the North Sea and Skagerrak in May 1998. *Harmful Algal Blooms 2000.*, 82-85.
- Ball *et al*, 2000, A.S. Williams M., Vincent D. and Robinson, J. 2000. Algal Growth Control by Barley Straw Extract. *Bioresour. Technol.* 77:177-181
- Barnes, M. K., Tilstone, G. H., Smyth, T. J., Widdicombe, C. E., Gloël, J., Robinson, C., and Suggett, D. J. 2015. Drivers and effects of *Karenia mikimotoi* blooms in the western English Channel. *Progress in Oceanography*, 137, 456-469.

- Blanco, J. (2018). Accumulation of Dinophysis toxins in bivalve molluscs. *Toxins*, 10(11), 453.
- Blossom, H.E., Baedkel, T.D., Tillmann, U., Hansen, P.J., 2017. A search for mixotrophy and mucus trap production in *Alexandrium* spp. and the dynamics of mucus trap formation in *Alexandrium pseudogonyaulax*. *Harmful Algae* 64, 51–62.
- Braarud, T. 1970. Brown water on the Norwegian coast in Autumn 1966. *Nytt Mag. F. Bot.*, 17, 91-97.
- Brown, M. R., Miller, K. A., 1992. The ascorbic acid content of eleven species of microalgae used in mariculture. *Journal of Applied Phycology*, 4: 205-215.
- Castberg, T., Torgersen, T., Aasen, J., Aune, T., & Naustvoll, L. J. (2004). Diarrhoetic shellfish poisoning toxins in *Cancer pagurus* Linnaeus, 1758 (Brachyura, Cancridae) in Norwegian waters. *Sarsia: North Atlantic Marine Science*, 89(5), 311-317.
- Cembella A. D. 2003 Chemical ecology of eukaryotic microalgae in marine ecosystems. *Phycologia* 42:420–44.
- Cembella, A. D. 1989. Occurrence of okadaic acid, a major diarrhetic shellfish toxin, in natural populations of *Dinophysis* spp. from the eastern coast of North America. *Journal of applied phycology*, 1, 307-310.
- Chang, F. H. 2015. Cytotoxic effects of *Vicicitus globosus* (Class Dictyochophyceae) and *Chattonella marina* (Class Raphidophyceae) on rotifers and other microalgae. *Journal of Marine Science and Engineering*. 3(2), 401-411.

- Chang, F. H., McVeagh, M., Gall, M., & Smith, P. 2012. *Chattonella globosa* is a member of Dictyochophyceae: reassignment to *Vicicitus* gen. nov., based on molecular phylogeny, pigment composition, morphology and life history. *Phycologia*, 51(4), 403-420.
- Chang, F. H., Sutherland, J., & Bradford-Grieve, J. 2017. Taxonomic revision of *D* ictyochaes (*D* ictyochophyceae) based on morphological, ultrastructural, biochemical and molecular data. *Phycological Research*, 65(3), 235-247.
- Chen J., Zhili Liu, Guanju Ren, Pengfu Li and Yiwen Jiang. 2004. Control of *Microcystis aeruginosa* TH01109 with Batangas Mandarin Skin and Dwarf Banana Peel. *Water SA* vol.30 no. 2 April 2004.
- Ciminiello, P., Fattorusso, E., Forino, M., Magno, S., Poletti, R., Satake, M., Viviani, R., Yasumoto, T., 1997. Yessotoxin in mussels of the northern Adriatic Sea. *Toxicon* 35 (2), 177–183.
- Dahl, E. 1985. Diarrhetic shellfish poisoning (DSP) in Norway in the autumn 1984 related to the occurrence of *Dinophysis* spp. *Toxic dinoflagellates*, 495-501.
- Dahl, E., & Johannessen, T. 2001. Relationship between occurrence of *Dinophysis* species (*Dinophyceae*) and shellfish toxicity. *Phycologia*, 40(3), 223-227.
- Dahl, E., & Tangen, K. 1993. 25 Years experience with *Gyrodinium aureolum* in Norwegian waters. *DEV. MAR. BIOL.* 1993.
- Dahl, E., Danielssen, D. S., & BØhle, B. 1982. Mass occurrence of *Gyrodinium aureolum* Hulburt and fish mortality along the southern coast of Norway in September-October 1981.

- Dahl, E., Lindahl, O., Paasche, E., & Thronsen, J. 1989. The *Chrysochromulina polylepis* bloom in Scandinavian waters during spring 1988. In *Novel Phytoplankton Blooms: Causes and impacts of recurrent brown tides and other unusual blooms* (pp. 383-405). Springer Berlin Heidelberg.
- Das, P., S.C. Mandal., S.K. Bhagabati., M.S. Akhtar., dan S.K. Singh. 2012. Important Live Food Organisms And Their Role In Aquaculture. *Frontiers in Aquaculture*. 69–86.
- Davidson, K., Miller, P., Wilding, T. A., Shutler, J., Bresnan, E., Kennington, K., & Swan, S. 2009. A large and prolonged bloom of *Karenia mikimotoi* in Scottish waters in 2006. *Harmful algae*, 8(2), 349-361.
- Dur'an-Riveroll, L.M., Cembella, A.D., 2017. Guanidinium toxins and their interactions with voltage-gated sodium ion channels. *Marine Drugs* 15 (10), 303.
- Durán-Riveroll, L. M., Cembella, A. D., & Okolodkov, Y. B. 2019. A review on the biodiversity and biogeography of toxigenic benthic marine dinoflagellates of the coasts of Latin America. *Frontiers in Marine Science*, 6, 148.
- Eckford-Soper, L., & Daugbjerg, N. 2016. The ichthyotoxic genus *Pseudochattonella* (Dictyochophyceae): distribution, toxicity, enumeration, ecological impact, succession and life history—a review. *Harmful Algae*, 58, 51-58.
- Edebo, L., Haamer, J., Lange, S., & Li, X. 1991. Okadaic acid in blue mussels in Sweden diminishes with the distance from the open sea. *Revue Int. d'Océanogr. Med*, 101, 172-175.
- Edwardsen, B. dan Paasche, E. 1998. Bloom dynamics and physiology of *Prymnesium* and *Chrysochromulina*.

- In: Anderson DM, Cembella AD, Hallegraeff GM (eds) *Physiological ecology of harmful algal blooms*. NATO ASI Series 41. Springer, Berlin Heidelberg New York. 193–208.
- Edvardsen, B., Eikrem, W., Shalchian-Tabrizi, K., Riisberg, I., Johnsen, G., Naustvoll, L., & Throndsen, J. 2007. *Verrucophora farcimen* gen. et sp. nov. (Dictyochophyceae, Heterokonta)—a bloom-forming ichthyotoxic flagellate from the Skagerrak, Norway 1. *Journal of Phycology*, 43(5), 1054-1070.
- Edhy, W.A. 1996. Blue Green Algae. *Majalah Mitra Bahari*. Edisi Tahun I, nomor 2/1996
- Edhy, W.A., J. Pribadi dan Kurniawan. 2003. *Plankton di Lingkungan PT. Central Pertiwi Bahari. Suatu Pendekatan Biologi dan Manajemen Plankton dalam Budidaya Udang*. P.T. Central pertiwi Bahari. Lampung.
- EFSA, 2009. Marine biotoxins in shellfish—Summary on regulated marine biotoxins. *EFSA Journal*. 7 (8), 1306.
- Eikrem, W. 2009. Renaming *Verrucophora farcimen* Eikrem, Edvardsen et Throndsen pre _ 535 170. *Phycol. Res*, 57, 170.
- European-Commission, 2002. 2002/225/EC: Commission Decision of 15 March 2002 laying down detailed rules for the implementation of Council Directive 91/492/EEC as regards the maximum levels and the methods of analysis of certain marine biotoxins in bivalve molluscs, echinoderms, tunicates and marine gastropods. *Off. J. Eur. Commun.* 62–64.
- European-Commission, 2013. Commission regulation No. 786/2013 of 16 August 2013 emending Annex III to

- Regulation (EC) No. 853/2004 of the European Parliament and of the Council as regards the permitted limits of yessotoxins in live bivalve molluscs. Off. J. Eur. Union 1.
- Ferreiro, S.F., Vilariño, N., Carrera, C., Louzao, M.C., Santamarina, G., Cantalapiedra, A. G., Cifuentes, J.M., Vieira, A.C., Botana, L.M., 2017. Subacute immunotoxicity of the marine phycotoxin yessotoxin in rats. *Toxicon* 129, 74–80.
- Franchini, A., Marchesini, E., Poletti, R., Ottaviana, E., 2005. Swiss mice CD1 fed on mussels contaminated by okadaic acid and yessotoxins: effects on Thymus and Spleen. *Eur. J. Histochem.: EJH* 49 (2), 179.
- Gibson, M.T., I.M. Wash, P.R>F. Barret and Ridge. 1990. Barley Straw as an Inhibitor of Algal Growth II. Laboratory Studies. *J. Appl. Phycol.*2:241-248
- Gjørseter, J., Lekve, K., Stenseth, N. C., Leinaas, H. P., Christie, H., Dahl, E., ... & Paasche, E. 2000. A long-term perspective on the Chrysochromulina bloom on the Norwegian Skagerrak coast 1988: a catastrophe or an innocent incident?. *Marine Ecology Progress Series*, 207, 201-218.
- González-Gil, S., Pizarro, G., Paz, B., Velo-Suárez, L., & Reguera, B. 2011. Considerations on the toxigenic nature and prey sources of *Phalacrocoma rotundatum*. *Aquatic Microbial Ecology*, 64(2), 197-203.
- Granéli, E dan J. T. Turner. 2006. An Introduction to Harmful. *Ecological Studies. Ecology of Harmful Algae* © Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 189: 3-7.

- Graneli, E. and Turner, J. 2006. Ecology of Harmful Algae. Ecological studies
- Guiry, M. D. 2013. AlgaeBase. World-wide electronic publication. <http://www.algaebase.org>.
- Haamer, J. 1997. The mussel industry of Sweden. NOAA (Natl. Ocean Atmos. Adm.) Tech. Rep. NMFS (Natl. Mar. Fish. Serv.), 129, 1-6.
- Hallegraeff, G. M. 2003. Harmful algal blooms: a global overview. *Manual on harmful marine microalgae*, 33, 1-22.
- Hallegraeff, G.M. 2003 Harmful Algal Blooms: A Global Overview. In: Hallegraeff, M., Anderson, D.M. and Cembella, A.D., Eds., *Manual on Harmful Marine Microalgae*. Monographs on Oceanographic Methodology, 2nd Edition, IOC-UNE-SCO, Paris, 25-49.
- Hara, Y. 1994. Four new species of *Chattonella* (Raphidophyceae, Chromophyta) from Japan. *Jpn J. Phycol.*, 42, 407-420.
- Hariyanto. 2001. Hati Hati Limbah Sisa Pakan. *Majalah Mitra Bahari*, edisi tahun VI, nomor 1/2001
- Hartman, S. E., Hartman, M. C., Hydes, D. J., Smythe-Wright, D., Gohin, F., & Lazure, P. 2014. The role of hydrographic parameters, measured from a ship of opportunity, in bloom formation of *Karenia mikimotoi* in the English Channel. *Journal of Marine Systems*, 140, 39-49.
- Haryono, S.S. 2001. Off-flavor. *Majalah Mitra Bahari*. Edisi tahun VI, nomor 2/2001.
- Henriksen, P., Knipschildt, F., Moestrup, Ø., & Thomsen, H. A. 1993. Autecology, life history and toxicology of the

- silicoflagellate *Dictyocha speculum* (Silicoflagellata, Dictyochophyceae). *Phycologia*, 32(1), 29-39.
- Hess, P., McCarron, P., Krock, B., Kilcoyne, J., Miles, C.O., 2014. Azaspiracids: Chemistry, biosynthesis, metabolism, and detection. In: Botana, L.M. (Ed.), *Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology, and Detection*, pp. 799–821.
- Hoeger S.J. and H. Coworker. 2002. Effect of Ozonation on The Removal of Cyanobacterial Toxin During Drinking Water Treatment. *Environ. Health Perspect.* 110:1127-1132.
- Horiguchi, T. 2006. Algae and their chloroplasts with particular reference to the dinoflagellates. *Paleontological Research*, 10(4), 299-309.
- Irianto, A. 2003. *Probiotik Akuakultur*. Gadjah Mada University Press. 125 hal
- Ito, E., Satake, M., Ofuji, K., Kurita, N., McMahan, T., James, K., Yasumoto, T., 2000. Multiple organ damage caused by a new toxin azaspiracid, isolated from mussels produced in Ireland. *Toxicon* 38 (7), 917–930.
- Jakobsen, R., Hansen, P. J., Daugbjerg, N., & Andersen, N. G. 2012. The fish-killing dictyochophyte *Pseudochattonella farcimen*: adaptations leading to bloom formation during early spring in Scandinavian waters. *Harmful algae*, 18, 84-95.
- Jana, B.B. and D.S. Sahal. 2000. Managing The Algal Bloom in a Eutrophied Lake Using Selective Herbivorous Fishes. <http://ces.iisc.emet.in.energy/water/proceed>

- Jochem, F., & Babenerd, B. 1989. Naked Dictyocha speculum—a new type of phytoplankton bloom in the Western Baltic. *Marine Biology*, 103, 373-379.
- Johnsen, G., Dalløkken, R., Eikrem, W., Legrand, C., Aure, J., & Skjoldal, H. R. 1999. Eco-physiology, bio-optics and toxicity of the ichthyotoxic Chrysochromulina leadbeateri (Prymnesiophyceae). *Journal of Phycology*, 35(6), 1465-1476.
- Johnsen, T. M., Eikrem, W., Olseng, C. D., Tollefsen, K. E., & Bjerknes, V. 2010. Prymnesium parvum: The Norwegian Experience 1. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 46(1), 6-13.
- Kaartvedt, S., Johnsen, T. M., Aksnes, D. L., Lie, U., & Svendsen, H. 1991. Occurrence of the toxic phytoflagellate Prymnesium parvum and associated fish mortality in a Norwegian fjord system. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(12), 2316-2323.
- Kaas, H., Larsen, J., Møhlenberg, F., & Richardson, K. 1991. The Chrysochromulina polylepis bloom in the Kattegat (Scandinavia) May-June 1988. Distribution, primary production and nutrient dynamics in the late stage of the bloom. *Marine Ecology Progress Series*, 151-161.
- Kao, C., 1993. Paralytic shellfish poisoning. In: Falconer, I.R. (Ed.), *Algal toxins in seafood and drinking water*. Academic Press, London, pp. 75–86.
- Kastitonif. 2002. Muddy Smell. *Majalah Mitra Bahari*, tahun VII nomor 2/2002

- Kat, M. 1983. Diarrhetic mussel poisoning in the Netherlands related to the dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49(4-5), 417-427.
- Kawamura, T., Roberts, R. D., Nicholson, C. M., 1988. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone *Haliotis iris*. *Aquaculture*, 160: 81-88.
- Kaya, K., Y.D. Liu, Y.W. Shen., B.D. Xiao and T. Sano. 2004. Selective Control of Toxic *Microcystis* Water Blooms Using Lysine and Malonic Acid : An Enclosure Experiment. *J. of Applied Phycology*. 20:170-178
- Klemetsen, T., Willassen, N. P., & Karlsen, C. R. 2019. Full-length 16S rRNA gene classification of Atlantic salmon bacteria and effects of using different 16S variable regions on community structure analysis. *MicrobiologyOpen*, 8(10), e898.
- Klöpper, S., Scharek, R., & Gerdt, G. 2003. Diarrhetic shellfish toxicity in relation to the abundance of *Dinophysis* spp. in the German Bight near Helgoland. *Marine Ecology Progress Series*, 259, 93-102.
- Koswandi. 2001. Cara Mengatasi Blue Green Algae. *Majalah Mitra Bahari*, edisi tahun VI nomor 2/2001
- Koswandi. 2001. Cara Mengatasi Blue Green Algae. *Majalah Mitra Bahari*, edisi tahun VI nomor 2/2001
- Kraberg, A., Kieb, U., Peters, S., & Wiltshire, K. H. 2019. An updated phytoplankton check-list for the Helgoland Roads time series station with eleven new records of diatoms and dinoflagellates. *Helgoland Marine Research*, 73, 1-22.

- Krock, B., Alpermann, T., Tillmann, U., Pitcher, G., Cembella, A., 2008. Yessotoxin profiles of the marine dinoflagellates *Protoceratium reticulatum* and *Gonyaulax spinifera*. In: Moestrup, Ø. (Ed.), Proceedings of the 12th international Conference on Harmful Algae. International Society for the Study of Harmful Algae. Copenhagen, Denmark, pp. 303–305.
- Krock, B., Tillmann, U., Tebben, J., Trefault, N., Gu, H., 2019. Two novel azaspiracids from *Azadinium poporum*, and a comprehensive compilation of azaspiracids produced by *Amphidomataceae*, (Dinophyceae). *Harmful Algae* 82, 1–8.
- Krock, B., Tillmann, U., Wen, Y., Hansen, P.J., Larsen, T.O., Andersen, A.J., 2018. Development of a LC-MS/MS method for the quantification of goniodomins A and B and its application to *Alexandrium pseudogonyaulax* strains and plankton field samples of Danish coastal waters. *Toxicon* 155, 51–60.
- Krogh, P. 1985. Outbreak of diarrhetic shellfish poisoning on the west coast of Sweden. *Toxic dinoflagellates.*, 501-503.
- Kumar, S., P., D. Santhanam, P. Prabhavathi, B. Kanimozhi, M. Abirami, Min S. Park, and Mi-Kyung Kim. 2017. Optimal conditions for the treatment of shrimp culture effluent using immobilized marine microalga *Picochlorum maculatum* (PSDK01). Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences. <https://doi.org/10.1007/s40011-017-0855-y>.
- Lassus, P., Proniewski, F., Pigeon, C., Veret, L., Le Déan, L., Bardouil, M., & Truquet, P. 1990. The diurnal vertical

- migrations of *Dinophysis acuminata* in an outdoor tank at Antifer (Normandy, France). *Aquatic living resources*, 3(2), 143-145.
- Lee, B., & Park, M. G. 2017. Different life cycle strategies of the dinoflagellates *Fragilidium duplocampanaeforme* and its prey *Dinophysis acuminata* may explain their different susceptibilities to the infection by the parasite *Parvilucifera infectans*. *Harmful algae*, 65, 1-8.
- Lekve, K., Bagøien, E., Dahl, E., Edvardsen, B., Skogen, M., & Stenseth, N. C. 2006. Environmental forcing as a main determinant of bloom dynamics of the *Chrysochromulina* algae. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1605), 3047-3055.
- Lim, P.T., Usup, G., Leaw, C.P., Ogata, T., 2005. First report of *Alexandrium taylori* and *Alexandrium peruvianum* (Dinophyceae) in Malaysia waters. *Harmful Algae* 4 (2), 391–400.
- Lindahl, O., Lundve, B., & Johansen, M. 2007. Toxicity of *Dinophysis* spp. in relation to population density and environmental conditions on the Swedish west coast. *Harmful Algae*, 6(2), 218-231.
- Litaker, R.W., Fraga, S., Montresor, M., Brosnahan, M.L., Hoppenrath, M., Murray, S., Calado, A.J., 2018. A practical guide to new nomenclature for species within the “*Alexandrium tamarense* species complex. *Harmful Algae News* 61, 13–15.
- Liu, L., Wei, N., Gou, Y., Li, D., Liang, Y., Xu, D., Liu, R., Sui, S., Jiang, T., 2017. Seasonal variability of *Protoceratium*

- reticulatum and yessotoxins in Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* in northern Yellow Sea of China. *Toxicon* 139, 31–40.
- Llewellyn, L.E., 2006. Saxitoxin, a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors. *Nat. Prod. Rep.* 23 (2), 200–222.
- Lømsland, E. R., Johnsen, T. M., & Eikrem, W. 2010. Observations on *Chattonella globosa* in Norwegian coastal waters Are *Chattonella globosa* and *Dictyocha fibula* one species. In *Proceedings of the 14th International Conference on Harmful Algae. International Society for the Study of Harmful Algae and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO* (pp. 126-128).
- MacKenzie, L. A., Smith, K. F., Rhodes, L. L., Brown, A., Langi, V., Edgar, M., ... & Preece, M. 2011. Mortalities of sea-cage salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) due to a bloom of *Pseudochattonella verruculosa* (Dictyochophyceae) in Queen Charlotte Sound, New Zealand. *Harmful Algae*, 11, 45-53.
- MacKenzie, L., Truman, P., Satake, M., Yasumoto, T., Adamson, J., Mountfort, D., White, D., 1998. Dinoflagellate blooms and associated DSP-toxicity in shellfish in New Zealand. *Harmful Algae*. Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Spain, pp. 74–77.
- Manage, P.Z.E., Kawabata and S. Nakano. 2000. Algacidal Effect of The Bacterium *Alcaligenes denitrificans* on *Microcystis* spp. *Aquat Microb. Ecol.* 22:111-117

- Mardones, J. I., Fuenzalida, G., Zenteno, K., Alves-de-Souza, C., Astuya, A., & Dorantes-Aranda, J. J. 2019. Salinity-growth response and ichthyotoxic potency of the Chilean *Pseudochattonella verruculosa*. *Frontiers in Marine Science*, 6, 24.
- Martin, D. and Ridge, I. 1999. The Relative Sensitivity of Algae to Decomposing Barley Straw. *J. Appl. Phycol.* 11:285-291.
- Maruyama, I., Nakao, T., Shigeno, I., Ando, Y., Hirayama, K., 1997. Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass culture of marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 358: 133-138.
- Masithah, E.D.**, L. Sulmartiwi dan J.Triastuti. 2008. Isolasi Bakteri Selulolitik Asal Tanah Tambak sebagai Bahan Pengembangan Probiotik Pendegradasi Dinding Sel *Microcystis* sp, Penyebab Cita Rasa Lumpur pada Ikan Bandeng. Hasil Penelitian. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. http://repository.unair.ac.id/40602/1/gdlhub-gdl-res-2008-masithaend-7484-lp117_0-k.pdf
- Masithah, E.D.**, 2011. Upaya Menurunkan Dominansi *Microcystis aeruginosa* Menggunakan Enzim Pektinase dari *Pseudomonas pseudomallei*. Berkala penelitian Hayati. Edisi Khusus: 4C (83–86)
- Mitchell, S., & Rodger, H. 2007. Pathology of wild and cultured fish affected by a *Karenia mikimotoi* bloom in Ireland, 2005. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 27(1), 39.

- Moestrup, O. 1990. *Dictyocha speculum* (Silicoflagella, Dictyochophyceae), studies on armoured and unarmoured stages. *Biol. Skrifter*, 37, 1-57.
- Moestrup, O. 2009. IOC-UNESCO taxonomic reference list of harmful micro algae. <http://www.marinespecies.org/HAB>.
- Moestrup, Ø., Akselmann-Cardella, R., Churro, C., Fraga, S., Hoppenrath, M., Iwataki, M., Larsen, J., Lundholm, N., Zingone, A., 2020. IOC-UNESCO Taxonomic Reference List of Harmful Micro Algae.
- Moestrup, Ø., Hansen, G., Daugbjerg, N., Lundholm, N., Overton, J., Vestergård, M., ... & Hansen, P. J. 2014. The dinoflagellates *Pfiesteria shumwayae* and *Luciella masanensis* cause fish kills in recirculation fish farms in Denmark. *Harmful Algae*, 32, 33-39.
- Muñoz, R., dan B. Guieysse. 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research* 40: 2799–2815. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.011>.
- Murata, M., Kumagai, M., Lee, J.S., Yasumoto, T., 1987. Isolation and structure of yessotoxin, a novel polyether compound implicated in diarrhetic shellfish poisoning. *Tetrahedron Lett.* 28 (47), 5869–5872.
- Murray, S., John, U., Kremp, A., 2015a. *Alexandrium* spp.: genetic and ecological factors influencing saxitoxin production and proliferation. In: Botana, L.M., Louzao, C., Vilariño, N. (Eds.), *Climate Change and Marine and Freshwater Toxins*. De Gruyter, Berlin, Boston, pp. 125–154.

- Murray, S.A., Diwan, R., Orr, R.J., Kohli, G.S., John, U., 2015b. Gene duplication, loss and selection in the evolution of saxitoxin biosynthesis in alveolates. *Mol. Phylogenet Evol.* 92, 165–180.
- Naustvoll, L. J., Gustad, E., & Dahl, E. 2012. Monitoring of Dinophysis species and diarrhetic shellfish toxins in Flødevigen Bay, Norway: inter-annual variability over a 25-year time-series. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(10), 1605-1615.
- Nielsen, T. G., Kiørboe, T., & Bjørnsen, P. K. 1990. Effects of a *Chrysochromulina polylepis* subsurface bloom on the planktonic community. *Marine Ecology Progress Series*, 21-35.
- Nur, A.M.M. 2002. Pentingnya Pengaruh Kapur terhadap Kualitas Air. *Majalah Mitra Bahari*, edisi tahun VII nomor 3/2002
- Ogbonna, J.C., H. Yoshizawa, and H. Tanaka. 2000. Treatment of high strength organic wastewater by a mixed culture of photosynthetic microorganisms. *Journal of Applied Phycology* 12: 277–284.
- Okolodkov, Y.B., 2005. The global distributional patterns of toxic, bloom dinoflagellates recorded from the Eurasian Arctic. *Harmful Algae* 4 (2), 351–369.
- Olguin, E.J. 2003. Phycoremediation: Key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnology Advances* 22: 81–91.
- Orellana, G., Van Meulebroek, L., De Rijcke, M., Janssen, C.R., Vanhaecke, L., 2017. High resolution mass spectrometry-

- based screening reveals lipophilic toxins in multiple trophic levels from the North Sea. *Harmful Algae* 64, 30–41.
- Oswald, W.J., F. Bailey Green, and T.J. Lundquist. 1994. Performance of methane fermentation pits in advanced integrated wastewater pond systems. *Water Science and Technology* 30: 287–295.
- Pachiappan, P., Santhanam, P., Begum, A., & Balaji Prasath, B. 2018. *An Introduction to Plankton. Basic and Applied Phytoplankton Biology, 1–24*. doi:10.1007/978-981-10-7938-2_1
- Paz, B., Riobo, P., Fernandez, A.L., Fraga, S., Franco, J.M., 2004. Production and release of yessotoxins by the dinoflagellates *Protoceratium reticulatum* and *Lingulodinium polyedrum* in culture. *Toxicon* 44 (3), 251–258.
- Persson, M., Karlson, B., Hellm´er, M., Johansson, A., Nordlander, I., Simonsson, M., 2014. Årsrapport 2011-2013 - Kontrollprogrammet f´or tvåskaliga bl´ottdjur. Livsmedelsverket.
- Persson, M., Karlson, B., Zuberovic Muratovi, A., Simonsson, M., Bergqvist, P., & Renborg, E. 2020. Kontrollprogrammet f´or tvåskaliga blötdjur, Årsrapport 2014-2019.
- Place, A. R., Bowers, H. A., Bachvaroff, T. R., Adolf, J. E., Deeds, J. R., & Sheng, J. 2012. *Karlodinium veneficum* – The little dinoflagellate with a big bite. *Harmful Algae*, 14, 179-195.
- Pleasance, S., Quilliam, M. A., De Freitas, A. S. W., Marr, J. C., & Cembella, A. D. 1990. Ion-spray mass spectrometry of marine toxins II. Analysis of diarrhetic shellfish toxins in

- plankton by liquid chromatography/mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry*, 4(6), 206-213.
- Raine, R., O'boyle, S., O'higgins, T., White, M., Patching, J., Cahill, B., & McMahon, T. 2001. A satellite and field portrait of a *Karenia mikimotoi* bloom off the south coast of Ireland, August 1998. *Hydrobiologia*, 465, 187-193.
- Reguera, B., Bravo, I., & Fraga, S. 1995. Autoecology and some life history stages of *Dinophysis acuta* Ehrenberg. *Journal of Plankton Research*, 17(5), 999-1015.
- Reguera, B., Velo-Suarez, L., Raine, R., & Park, M. G. 2012. Harmful *Dinophysis* species: A review. *Harmful Algae*, 14, 87-106.
- Rey, F. 1991. Oppblomstringen av *Chrysochromulina leadbeateri* i Vestfjorden, mai-juni 1991: rapport fra et faglig arbeidsseminar.
- Rhodes, L.L., Smith, K.F., MacKenzie, L., Moisan, C., 2020. Checklist of the planktonic marine dinoflagellates of New Zealand. *N.Z. J. Mar. Freshwater Res.* 54 (1), 86–101.
- Ridge I. and Pillinger J.M. and J. Walters. 1995. Alleviating The problems of Excessive Algal Growth. In:DM. Harper AND a.d.j. Ferguson (eds). *The Ecological Basis for River Management*. John Wiley Chichester. 211-218.
- Roberts, R. J., Bullock, A. M., Turners, M., Jones, K., & Tett, P. 1983. Mortalities of *Salmo gairdneri* exposed to cultures of *Gyrodinium aureolum*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 63(4), 741-743.

- Rodríguez, F., Riobó, P., Rial, P., Reguera, B., & Franco, J. M. 2014. Feeding of *Fragilidium* cf. *duplocampanaeforme* and *F. subglobosum* on four Dinophysis species: prey specificity, local adaptation and fate of toxins. *Aquatic Microbial Ecology*, 72(3), 241-253.
- Salas, R., Tillmann, U., John, U., Kilcoyne, J., Burson, A., Cantwell, C., Hess, P., Jauffrais, T., Silke, J., 2011. The role of *Azadinium spinosum* (Dinophyceae) in the production of azaspiracid shellfish poisoning in mussels. *Harmful Algae* 10 (6), 774–783.
- Salomon, P. S., Janson, S., & Granéli, E. 2003. Parasitism of *Dinophysis norvegica* by *Amoebophrya* sp. in the Baltic Sea. *Aquatic microbial ecology*, 33(2), 163-172.
- Satake, M., Ofuji, K., Naoki, H., James, K.J., Furey, A., McMahon, T., Silke, J., Yasumoto, T., 1998. Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from Irish mussels, *Mytilus edulis*. *J. Am. Chem. Soc.* 120 (38), 9967–9968.
- Schipp, G. 2006. The use of Calanoid copepods in semiintensive, tropical marine fish larviculture. En: Editores: Cruz Sua' rez, L.E., D.R. Marie, M.T. Salazar, M.G. Nieto Lo'pez, D.A. Villarreal Cavazos, A.G. Ortega. *Avances en Nutricio'n Acuicola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutricio'n Acuicola.* 15–17 November, 84–94. Universidad Auto'noma de Nuevo Leo'n, Me'xico.
- Selander, E., Thor, P., Toth, G., Pavia, H., 2006. Copepods induce paralytic shellfish toxin production in marine dinoflagellates. *Proceed. Biol. Sci.* 273 (1594), 1673–1680.

- Silke, J., O'Beirn, F. X., & Cronin, M. 2005. *Karenia mikimotoi*: an exceptional dinoflagellate bloom in western Irish waters, summer 2005.
- Skjoldal, H. R., & Dundas, I. 1991. *Chrysochromulina polylepis* bloom in the Skagerrak and Kattegat in May-June 1988: Environmental conditions, possible causes, and effects. ICES Cooperative Research Reports (CRR).
- Smayda, T. J. 2010. Adaptations and selection of harmful and other dinoflagellate species in upwelling systems. 2. Motility and migratory behaviour. *Progress in Oceanography*, 85(1-2), 71-91.
- Sournia A, Chretiennot-Dinet MJ, dan Ricard M. 1991. Marine phytoplankton: how many species in the world ocean? *J Plankton Res.* 13:1093–1099.
- Tangen, K. 1977. Blooms of *Gyrodinium aureolum* (Dinophyceae) in North European waters, accompanied by mortality in marine organisms. *Sarsia*, 63(2), 123-133.
- Tangen, K., & Björnland, T. 1981. Observations on pigments and morphology of *Gyrodinium aureolum* Hulburt, a marine dinoflagellate containing 19'-hexanoyloxyfucoxanthin as the main carotenoid. *Journal of plankton research*, 3(3), 389-401.
- Tangen, K.I., Dahl, E., 1999. Harmful phytoplankton in Norwegian waters - an overview. In: *Proceeding International Seminar on Application of Seawatch Indonesia Information System for Indonesian Marine Resources Development*. Jakarta, pp. 195–204.

- Tett, P., 1980. Phytoplankton and the fish kills in Loch Striven, Internal reports. Scottish Marine Biological Association, Oban, Argyll, Scotland, pp. 13-19.
- Thesen, J., 1901. Studier over den paralytiske form af forgiftning med blaaskjel(*Mytilus edulis* L.) Tidsskr. Norske Lægefor 21 (20), 1153–1184 (1121): 1228-1252, (1122): 1285-1300.
- Tillmann, U., Elbrächter, M., Krock, B., John, U., Cembella, A., 2009. *Azadinium spinosum* gen. et sp. nov.(Dinophyceae) identified as a primary producer of azaspiracid toxins. Eur. J. Phycol. 44 (1), 63–79.
- Torgersen, T., Aasen, J., & Aune, T. 2005. Diarrhetic shellfish poisoning by okadaic acid esters from Brown crabs (*Cancer pagurus*) in Norway. *Toxicon*, 46(5), 572-578.
- Turner, T.J. and Tester, P.A. 1997. Toxic Marine Phytoplankton, Zooplankton Grazers, and Pelagic Food Webs. *Limnology and Oceanography*, 42, 1203-1214.
- Van der Fels-Klerx, H. J., Adamse, P., Goedhart, P. W., Poelman, M., Pol-Hofstad, I. E., Van Egmond, H., & Gerssen, A. 2012. Monitoring phytoplankton and marine biotoxins in production waters of the Netherlands: results after one decade. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(10), 1616-1629.
- Van Dolah, F.M., 2000. Marine algal toxins: origins, health effects, and their increased occurrence. *Environ. Health Perspect.* 108 (suppl 1), 133–141.
- Verhoeven R.L and Eloff, J.N.1989. Effect of Lethal Concentration of Cooper on The Ultrastructure and Growth of *Microcystis*. *Proc. Electron. Microsc. Soc. S. Afr.* 9:161-162

- Waite, A. M., & Lindahl, O. 2006. Bloom and decline of the toxic flagellate *Chattonella marina* in a Swedish fjord. *Marine Ecology Progress Series*, 326, 77-83.
- Wardhana, W. 2003. Penggolongan Plankton. (materi pelatihan teknik Sampling dan identifikasi Plankton. Balai pengembangan dan Pengujian Mutu perikanan. Jakarta : 7-8 Mei 2003.
- Wardhana, W. 2003. Penggolongan plankton. Departemen Biologi FMIPA-UI. Depok
- Wohrab, S., Iversen, M.H., John, U., 2010. A molecular and co-evolutionary context for grazer induced toxin production in *Alexandrium tamarense*. *PLoS One* 5 (11).
- Wright JLC, Cembella AD. 1998. Ecophysiology and biosynthesis of polyether marine biotoxins. In: Anderson DM, Cembella AD, Hallegraeff GM (eds) *Physiological ecology of harmful algal blooms*. NATO ASI Series 41. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 427–451
- Yamamoto, Y., Furukawa, J. and Suzuki. 1993. Occurrence of Heterothrophic Bacteria Causing Lysis of Cyanobacteria in Euthropic Lake. *J. Phycol.* 41:215-220.
- Yukasano, D. 2002. Teknik Mengontrol Mikroba dalam Budidaya Udang Intensif. *Majalah Mitra Bahari*, edisi VII (3):140-147.
- Zapata, M., Fraga, S., Rodríguez, F., & Garrido, J. L. 2012. Pigment-based chloroplast types in dinoflagellates. *Marine Ecology Progress Series*, 465, 33-52.

BAB 3

ISOLASI DAN KULTUR AXENIC

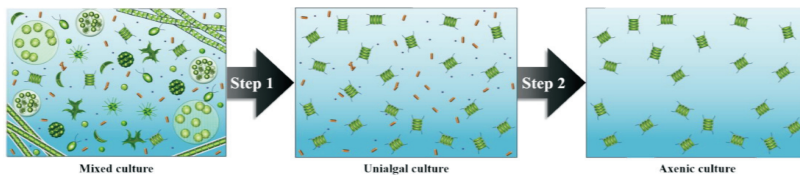
Plankton, khususnya mikroalga terbentuk dari sekelompok besar mikroorganisme fotoautotrofik eukariotik dan prokariotik, yang umumnya berasal dari berbagai filogenetik, dengan morfologi, fisiologi, dan biokimia yang berbeda-beda sesuai jenisnya. Namun, mikroalga dapat memproduksi sedikitnya 50% oksigen (O₂) dan memiliki peran hampir 30% dari penyerapan CO₂ di atmosfer. Mereka merupakan produsen utama di lautan hingga di perairan darat dan juga memainkan peran paling relevan dalam jaring makanan di laut. Selain itu, mereka memiliki manfaat yang luar biasa dalam berbagai bidang seperti akuakultur, *nutraceuticals*, farmasi, kosmetik, produksi biofuel, dan bioremediasi. Karena hal tersebut lah, isolasi dan pemurnian mikroalga merupakan langkah penting untuk mengaplikasikan bioteknologi mereka. Tujuan isolasi dan pemurnian plankton sendiri adalah untuk mendapatkan kultur axenic, yang dapat diartikan sebuah kultur yang layak dimanfaatkan dari satu spesies tanpa

adanya kontaminan. Dalam kondisi steril, biakan ini akan tetap murni. Banyak metode pembiakan plankton dasar yang telah dikembangkan sekitar tahun 1900-an, sehingga protokol atau tata laksana isolasi dan identifikasi akan menjadi sangat penting untuk mengidentifikasi karakteristik spesifik seperti kandungan lipid atau senyawa bioaktif dari spesies plankton tertentu. Beberapa spesies plankton mudah dibudidayakan, sedangkan yang lainnya hampir tidak mungkin untuk dibudidayakan. Oleh karena itu, untuk isolasi yang berhasil, kondisi lingkungan alami harus dipahami terlebih dahulu guna menirunya dalam kondisi laboratorium (terkontrol). Penghilangan kontaminan seperti bakteri, jamur, atau bahkan spesies plankton lainnya menjadi sangat penting untuk mendapatkan kultur mikroalga axenic (Hyka *et al.*, 2013 ; Andersen, 2005 ; Jahn *et al.*, 2014 ; Fistarol, *et al.*, 2018).

Tujuan dari kultur axenic plankton (mikroalga) dalam sebuah penelitian adalah untuk memastikan bahwa hasil yang diperoleh dari sebuah penelitian benar-benar berasal langsung dari spesies plankton yang sedang diteliti dan bukannya dari mikroorganisme kontaminan. Jika tujuan dari kultur plankton adalah untuk memproduksi dan mengkomersialkan biomassa, ekstrak, atau senyawa dari spesies tertentu, maka kultur axenic sangat penting dilakukan sebagai kontrol kualitas. Kontaminan dalam bentuk apa pun dapat memiliki dampak ekonomi yang penting, mengakibatkan hilangnya suatu spesies, atau bahkan sangat dapat mengubah komposisi produk akhir yang mana berdampak langsung pada tujuan awal pemanfaatan kultur plankton secara axenic.

Pengertian Kultur Axenic

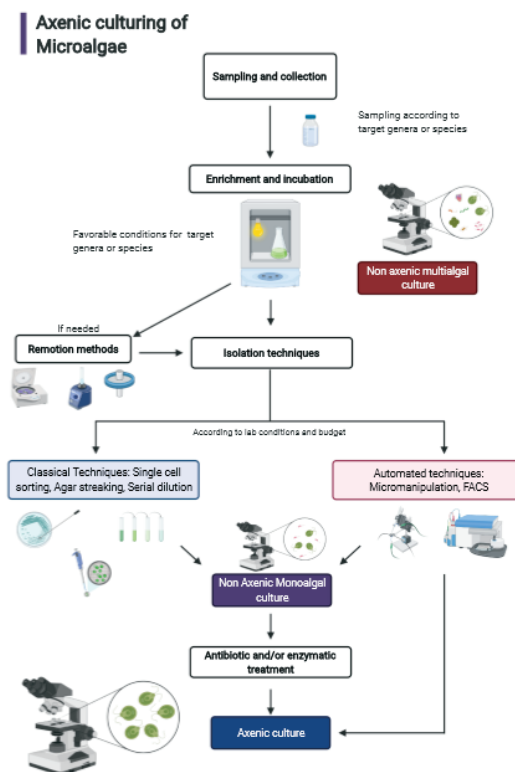
Kultur axenic dapat didefinisikan bahwa hanya ada satu spesies atau galur dan juga kultur tersebut telah benar-benar bebas dari semua organisme hidup lainnya (bakteri, jamur, dll.). Kultur plankton axenic diperlukan untuk pengaplikasian di mana keberadaan organisme lain tidak diinginkan, seperti untuk pakan alami spesifik pada fase pertumbuhan larva ikan/udang, untuk mengetahui pengurutan genom dari suatu spesies plankton (Alvarenga *et al.*, 2017 ; Metzker, 2010), untuk mengidentifikasi produsen biologis senyawa bioaktif sebelum nantinya akan diproduksi dalam skala besar (Borowitzka, 2013), atau juga dapat untuk membangun konsorsium buatan terkait bioremediasi (Olguín, 2012 ; Subashchandrabose *et al.*, 2011). Untuk mempermudah pemahaman terkait kultur plankton axenic, maka dapat melihat (Gambar 2.1) yang telah menjelaskan perbedaan kultur campuran, kultur unialgal dan kultur axenic.



Gambar 3.1 Diagram alir yang telah disederhanakan terkait konsep kultur Axenic pada plankton (mikroalga) (Vu *et al.*, 2018).

Setelah mengetahui perbedaan jenis-jenis kultur plankton, seperti kultur campuran, kultur unialgal dan kultur axenic. Maka melalui modul ini kita akan membahas secara runut terkait tahapan-tahapan yang harus dilakukan agar memperoleh

kultur plankton axenic yang kemudaian dapat diaplikasikan di berbagai sektor kehidupan manusia. Sebelum dijelaskan secara terperinci tahapan-tahapan dalam memperoleh kultur plankton axenic, alangkah lebih baiknya jika kita melihat (Gambar 2.2) untuk memudahkan kita dalam memahami penjelasan yang lebih dalam.



Gambar 3.2 Langkah-langkah pemrosesan umum untuk memperoleh kultur plankton *axenic* (Fernandez-Valenzuela *et al.*, 2021).

Teknik Pra-Isolasi

Teknik ini diterapkan sebelum tahap isolasi. Pada tahapan ini terdiri dari pengumpulan sample, proliferasi, pemisahan dalam kelompok yang lebih kecil, dan pemindahan kontaminan kasar hanya akan memfasilitasi proses isolasi posterior dan perolehan kultur axenic.

Pengumpulan (*Collection*)

Tahap pengumpulan sangatlah penting dilakukan guna menunjang keberhasilan pembentukan budaya axenic. Kerusakan sel plankton selama tahap pengumpulan dapat menyebabkan kegagalan budidaya axenic. Saat mengambil sampel dari lingkungan atau organisme target yang tidak diketahui, beberapa metode pengumpulan haruslah dilaksanakan. Teknik pengambilan sampel dapat meliputi pengambilan sampel dengan metode jarum suntik, pengikisan, penyikatan, dan cawan Petri terbalik. Namun, metode pengambilan sampel yang paling banyak dilakukan oleh peneliti hanyalah pengumpulan sampel air dari badan air secara langsung. Jika spesies target umumnya hanya dapat ditemukan pada kedalaman air yang relatif dalam, maka dapat menggunakan botol Niskin atau *rossete sampler*. Saat tahap pengambilan sampel di alam, penting bagi peneliti atau pembudidaya untuk mencatat faktor-faktor lingkungan pada daerah pengambilan sample tersebut seperti cahaya, suhu air, O₂ dan CO₂ terlarut, konsentrasi nutrisi (makro dan mikro nutrien), pH, dan salinitas untuk dapat meniru kondisi tersebut di laboratorium dan juga tak kalah pentingnya untuk menetapkan dan mencatat titik koordinat lokasi untuk

mereplikasi pengambilan sampel jika diperlukan di kemudian hari (Andersen, 2005 ; Jahn *et al.*, 2014 ; Singh *et al.*, 2015).

Kondisi pengambilan sampel tidak akan memainkan peran utama dalam axenisitas posterior mereka selama teknik aseptik telah diterapkan sempurna. Namun, jika genus atau spesies yang akan diisolasi telah pernah menjadi target atau diketahui sebelumnya, kondisi koleksi harus disesuaikan untuk mendukungnya, sehingga budidaya axenic dapat dicapai dengan lebih mudah.

Pengayaan Sampel (*Enrichment of Samples*)

Setelah sampel dibawa menuju laboratorium, menambahkan nutrisi (mikro dan makro) ke dalam sampel alami akan memicu pertumbuhan plankton (mikroalga). Zat organik harus ditambahkan dalam jumlah kecil karena juga berpotensi dapat menyebabkan perkembangbiakan bakteri yang tidak diinginkan (kontaminan). Kultur (sampel) yang telah diperkaya, diinkubasi dan diperiksa setiap beberapa hari untuk memonitor pertumbuhan dari spesies plankton yang ditargetkan, dan kemudian sel individu dapat diisolasi. Terkadang spesies target tumbuh dengan sukses setelah isolasi tetapi mati setelah beberapa kali dipindahkan, hal tersebut mengindikasikan bahwa media kultur kekurangan unsur atau senyawa (nutrisi) atau juga dikarenakan organisme mengakumulasi limbah yang meracuni lingkungannya (Andersen, 2005). Pengayaan sampel harus spesifik untuk berbagai jenis plankton yang ditargetkan; misalnya, jika ingin menumbuhkan ganggang halus dan flagelata maka dapat memperkaya sampel dengan air laut yang

diperkaya ES; jika ingin menumbuhkan plankton dari golongan *chrysophytes*, *chlorophytes*, diatom, dan *cryptophytes* maka dapat dilakukan penambahan media F/2 ke sampel air; sementara jika ingin menumbuhkan plankton dari golongan cyanobacteria maka dapat difasilitasi dengan menambahkan media BG11SW (Barclay, 2013).

Proses penambahan nutrisi ini akan dapat memfasilitasi pertumbuhan plankton dari genus atau spesies yang ditargetkan, hal ini dapat memudahkan teknik pemurnian posterior dengan mendukung pertumbuhannya. Tahap pengkayaan yang tepat sasaran ini akan memungkinkan jumlah sel plankton yang ditargetkan akan mengalahkan jumlah sel jamur atau bakteri (kontaminan), atau bahkan juga dapat menekan sel spesies mikroalga lain yang tidak ditargetkan bagi peneliti atau pembudidaya, karena terjadi kompetisi nutrisi yang tepat sasaran.

Masithah (2018) melakukan upaya peningkatan kepadatan *Microcystis* sp. dari sampel air yang diperoleh dari kolam air tawar dengan menggunakan media Gorham. Peningkatan kepadatan *Microcystis* sp. dari air sampel ditujukan agar upaya mendapatkan bibit pemurnian (isolasi bibit) menjadi lebih mudah dan terjamin keberhasilannya. Perbandingan air dengan media Gorham yang memberikan hasil peningkatan kepadatan *Microcystis* sp. adalah air : Gorham sebesar 1 : 5. Pemeliharaan dilakukan selama satu bulan dengan pencahayaan kuat dalam kondisi air stagnan. Hal ini mengacu pada behavior *Microcystis* sp. yang tumbuh pesat pada musim kemarau di air yang tergenang atau stagnan. Pencahayaan yang digunakan adalah

lampu TL 40 watt sebanyak dua buah (setara 4000 – 5000 lux) dengan fotoperiod gelap : terang adalah 12 : 12.

Metode Remosi (*Remotion Methods*)

Plankton (mikroalga) umumnya dapat mengeluarkan matriks heterogen yang disebut zat polimer ekstraseluler (EPS), yang terdiri dari penyusun utamanya adalah senyawa polisakarida, protein, asam nukleat, dan lipid. Dengan cara ini, sel plankton akan berinteraksi satu dengan lain, memediasi adhesi mereka ke permukaan, dan menghasilkan perlindungan sel dan reservoir penyimpanan energi. Kontaminan khususnya bakteri sering kali ditemukan menempel dan memakan lapisan EPS ini. Kegiatan *Vortexing*, sonikasi, dan perawatan surfaktan sebelum tahapan isolasi diketahui dapat membantu memisahkan bakteri dan meningkatkan efisiensi pemisahan (Vu *et al.*, 2018 ; Xiao dan Zheng, 2016).

Memisahkan bakteri dari EPS akan berpotensi besar meningkatkan keefektifan tahap seperti teknik filtrasi, sentrifugasi, dan perawatan antimikroba, melalui kemungkinan terjadinya pemisahan sel yang tepat berdasarkan perbedaan ukurannya, kepadatannya dan menjadikan bakteri lebih rentan terhadap bahan kimia yang ditambahkan.

Penyaringan (*Filtration*)

Pada dasarnya, sampel (plankton) dipisahkan menjadi dua bagian, utamanya dibedakan berdasarkan perbedaan ukuran partikel (Vu *et al.*, 2018). Baru-baru ini, Haoujar (2020) menerapkan metode filtrasi ini dengan menyaring

sampel dari air laut Mediterania, Maroko melalui serangkaian saringan penurunan membran (33, 20, dan 0,45 μm) kemudian menempatkan membran pada agar, sehingga mencapai isolasi 32 mikroalga (Sebagian besar coccoid). Metode filtrasi ini memungkinkan pemisahan mikroorganisme hanya berdasarkan ukuran selnya saja. Tetapi jika hanya menggunakan metode filtrasi saja, biasanya tidak cukup untuk mendapatkan kultur axenic karena organisme yang berbeda juga berkemungkinan dapat memiliki ukuran sel yang serupa. Namun, teknik ini masih dapat diterapkan sedemikian rupa sehingga sel mikroalga yang berukuran lebih besar dari bakteri dapat dipertahankan dalam membran atau filter untuk dikultivasi secara posterior dalam media yang sebagian besar sel bakterinya telah berhasil dieliminir.

Sentrifugasi (*Centrifugation*)

Sentrifugasi bekerja dengan cara memisahkan organisme berdasarkan ukuran sel menggunakan gaya gravitasi. Sel dengan kepadatan rendah, seperti bakteri, cenderung tetap berada di fraksi supernatan (kolom air) dan dibuang, sedangkan mikroalga dan sel dengan kepadatannya lebih tinggi biasanya tetap berada di fraksi pelet (dasar tabung). Setelah beberapa siklus sentrifugasi, konsentrasi yang lebih tinggi dari genus/spesies/strain mikroalga yang diinginkan akan tercapai. Menggunakan gradien densitas silika atau percol berguna untuk memisahkan sel yang berbeda menjadi pita yang berbeda. Efisiensi pemisahan sentrifugasi bergantung pada kecepatan rotasi dan durasi rotasi. Oleh karena itu, parameter ini harus dioptimalkan untuk spesies

tertentu. Selain itu, gaya sentrifugal yang berlebihan terkadang dapat merusak sel yang rapuh, sehingga harus dikerjakan secara bijak (Singh *et al.*, 2015 ; Vu *et al.*, 2018 ; Pachiappan *et al.*, 2015). Lee *et al.* (2021) menerapkan sentrifugasi gradien densitas pada spesies dinoflagellata, *Karenia mikimotoi* dan *Alexandrium tamarense* menggunakan larutan Percoll 90%, 90–50%, 90–50–30%, dan 90–50–30–10% dan memanen sel plankton tersebut, diketahui dapat mengurangi populasi bakteri dari konsentrasi $5,79 \pm 0,22 \log_{10}$ CFU/mL menjadi konsentrasi $1,13 \pm 0,07 \log_{10}$ CFU/mL. Seperti yang terlihat dalam beberapa penelitian termasuk penelitian Lee *et al.* (2021), menyatakan bahwa teknik sentrifugasi sangat membantu dalam memusatkan sel plankton dan menekan populasi bakteri. Namun, teknik ini saja tidak mampu menghasilkan kultur plankton axenic dengan sendirinya, tetapi akan memfasilitasi teknik posterior yang akan memastikan kemurnian kultur.

Teknik Isolasi dan Budidaya Unialgal

Dalam banyak percobaan, teknik ini akan memungkinkan pembentukan kultur unialgal, bebas dari spesies mikroalga lain, tetapi mungkin belum bisa terkontaminasi dari bakteri sepenuhnya. Oleh karena itu, metode ini biasanya masih tidak menjamin keaslian kultur plankton, sehingga diperlukan metode lanjutan setelah metode ini dilaksanakan.

Isolasi Sel Tunggal

Metode ini dapat dilakukan dengan teknik mikropipet, pipet pasteur, atau kaca kapiler. Tujuannya adalah untuk

mengumpulkan satu sel dari sampel, menyimpannya dalam tetesan steril media kultur sebanyak minimal dua kali dalam tetesan steril yang berbeda, hal tersebut dilakukan untuk mengantisipasi jika salah satu sel mati. Proses ini diulang sampai satu sel alga dapat ditempatkan ke dalam wadah isolasi akhir (Andersen, 2005). Teknik baru untuk isolasi sel tunggal merupakan mikromanipulasi dengan menggunakan mikroskop stereo, tabung mikrokapiler, dan pinset optik, yang sangat mengurangi tenaga kerja dan kerusakan sel. Namun, dalam melakukan teknik baru tersebut membutuhkan peralatan mahal dan personel laboratorium yang terampil. Teknik ini melakukan pemisahan sel dengan tingkat akurasi yang tinggi, menjadikannya alat yang ideal untuk skrining dan isolasi. Mikrokapiler biasanya terbuat dari kaca dengan diameter luar 1 mm. Di sisi lain, pinset optik (OT) adalah metode non-invasif untuk manipulasi fisik yang menggunakan sinar laser yang sangat terfokus untuk menjebak dan memanipulasi objek mikroskopis hanya dengan menggunakan sifat cahaya, biasanya menerapkan panjang gelombang inframerah (IR) antara 700 - 1300 nm yang menghasilkan dua jenis gaya, gaya hamburan yang dihasilkan oleh foton yang menumbuk sel sepanjang arah rambatnya dan gaya gradien yang dihasilkan oleh gradien intensitas medan. Gaya-gaya tersebut bertindak sebagai pinset optik dan bergantung pada panjang gelombang sinar laser dan ukuran partikelnya. Hal ini memungkinkan mikromanipulasi satu objek yang ukurannya berkisar pada ukuran nanometer hingga mikrometer, termasuk sel hidup. Kekuatan optik semacam itu dapat menghentikan dan menyeret perenang

biologis, seperti plankton. Penerapan OT untuk manipulasi sel tunggal dapat didasarkan pada aktivasi fluoresensi atau perbedaan bentuk, ukuran, dan indeks bias sel, memberikan kesempatan untuk menyortir sel ke kompartemen tanpa pra-perlakuan apa pun. Namun, tidak banyak penelitian yang melaporkan penggunaan teknik khusus ini (Singh, 2015 ; Favre-Bulle *et al.*, 2019 ; Zhang and Liu, 2008 ; Huang *et al.*, 2009 ; Pilát *et al.*, 2013 ; Wei *et al.*, 2014). Pilát *et al.* (2013) menyimpulkan bahwa manipulasi optik non-invasif sel hidup mikroorganisme fotosintetik dapat dilakukan dengan menggunakan panjang gelombang laser yang lebih panjang dari 935 nm. Mereka juga mengamati bahwa panjang gelombang 1064 nm diketahui tidak menyebabkan kerusakan pada plankton, dan cukup untuk memanipulasi sel 3D yang andal. Lim *et al.* (2012) dalam percobaannya menerapkan teknik pengenceran serial dan mikromanipulator posterior untuk mendapatkan kultur murni dari *Nannochloropsis* sp., *Dunaliella salina*, *Chlorella* sp., dan *Tetraselmis* sp. Ota *et al.* (2019) merancang alat mikrofluida kaca untuk melakukan isolasi, kultivasi, dan pengamatan perjalanan waktu *Euglena gracilis* dengan menggunakan saluran mikro semi tertutup. Kemudian sel-sel tersebut diidentifikasi dengan mikroskop Raman, teknik spektroskopi vibrasi yang bergantung pada hamburan inelastis cahaya monokromatik yang dihasilkan oleh laser yang berinteraksi dengan sampel, yang menyebabkan pergeseran energi foton ke frekuensi yang lebih tinggi atau lebih rendah yang dapat dideteksi oleh peralatan. Biomolekul dalam sel plankton memiliki kelompok fungsional spesifiknya masing-masing dan menunjukkan frekuensi puncak karakteristik yang

muncul dalam spektrum Raman, yang memungkinkan peneliti mengidentifikasi biomolekul spesifik untuk spesies plankton tertentu. Dalam hal ini, mereka berhasil mengidentifikasi pembentukan dari paramylon, yang mana merupakan suatu metabolit unik dari spesies *E. gracilis* (Wei *et al.*, 2014 ; Ota *et al.*, 2019).

Masithah (2018) melakukan isolasi bibit *Microcystis* sp. dari perairan kolam tawar tergenang pada musim kemarau. Koloni *Microcystis* sp. diambil dari botol sampel menggunakan pipet dan diletakkan pada media Gorham. Sebelum diletakkan pada wadah kultur, sel *Microcystis* sp. dicuci menggunakan media cair sebanyak dua kali untuk menghilangkan kotoran dan bibit-bibit plankton jenis lain yang mungkin menempel pada *Microcystis* sp. Pencucian dilakukan menggunakan pipet. Setelah melalui pengkayaan untuk mendapatkan kepadatan *Microcystis* sp. yang cukup, maka dilakukan kombinasi isolasi menggunakan metode gores pada media agar. Sampel plankton yang digoreskan pada media agar padat, setelah diinkubasi beberapa hari akan terlihat tumbuh menyerupai noktah hijau pekat. Bila sudah demikian, maka *Microcystis* sp. lebih mudah dipisahkan dari plankton jenis lain untuk mendapatkan kultur *Microcystis* sp. yang murni atau monospesies sebagai bahan penelitian.

Isolasi pada Media Agar

Untuk mencapai keberhasilan isolasi menggunakan teknik ini, plankton (mikroalga) harus dapat tumbuh pada media padat. Sel coccoid dan sebagian besar diatom tumbuh dengan baik pada media agar, beberapa golongan flagelata tidak

dapat tumbuh pada media agar, dan golongan dinoflagellata juga diketahui jarang tumbuh pada media agar. Setelah pembiakan pada media agar, ujung mikropipet didorong ke dalam agar untuk mengambil sel yang dipilih dan kemudian dimasukkan ke media pembiakan cair. Teknik ini juga dapat digunakan untuk mempertahankan kultur axenic dengan cara transfer terus-menerus dengan penggunaan berulang teknik tuang media agar (*pour*) (Andersen, 2005). Merupakan hal yang umum untuk menggunakan lebih dari satu metode untuk mengisolasi plankton. Jahn *et al.* (2014) tercatat pernah melakukan pengisolasian pada 24 kultur unialgal dengan tahapan menyaring sampel melalui filter 100 μm , memperkaya sampel dengan media f/2 dan menggoreskan koloni mikroalga yang diperkaya pada media padat f/2 dengan agar, kemudian memilih koloni dari cawan dan mentransfernya ke medium f/2-cair di 12 sumur. Juga hal yang umum bagi para peneliti menggunakan beberapa media kultur untuk mendapatkan genus plankton yang berbeda. Thao *et al.*, (2017) mengisolasi jenis plankton *oleaginous* (berminyak). Setelah pengambilan sampel, mereka menggunakan pengkaya BG11 untuk sampel air tawar, pengkaya f/2B untuk air payau, dan pengkaya f/2 untuk sampel air laut. Kemudian, untuk ketiga media tersebut dibuat media padat atau semi padat dengan menambahkan masing-masing 10 g/L atau 5 g/L bubuk agarosa. Dua metode isolasi diterapkan oleh peneliti yakni 1) *Streaking* pada cawan agarosa padat; dan 2) Menambahkan 0,1 mL biakan yang diperkaya ke dalam 5 mL media semi padat, kemudian divorteks dan

dituangkan di atas media padat untuk membentuk hamparan semi padat selanjutnya diinkubasi, dan dilakukan pengulangan sampai diperoleh isolat murni. Penciri plankton tertentu, seperti fototaksis misalnya, dapat juga dikombinasikan dengan kultivasi agar untuk memaksimalkan hasil pemurnian. Banerjee *et al.* (2012) dilaporkan pernah mengisolasi spesies *Chlamydomonas* sp. dari sampel *Chlorella* sp. campuran dengan melewati cahaya (6.000 lux selama 7 jam) melalui agar, mengingat *Chlamydomonas* merupakan jenis plankton yang memiliki flagela dan pigmen rhodopsin sehingga akan tertarik ke arah cahaya. Isolasi dalam agar dengan sendirinya dapat menyebabkan kultur mikroalga axenic, selama plankton target yang akan diisolasi tidak tumbuh secara konsorsium dengan mikroorganisme lain dan tidak memiliki sel bakteri yang menempel pada EPSnya. Tes posterior dan pengamatan mikroskopis mungkin diperlukan untuk memastikan tingkat axenic dari kultur. Jika, setelah pengisolasian pada media agar, plankton (mikroalga) target tetap terkontaminasi, maka secara otomatis teknik lebih lanjut harus diterapkan. Namun, teknik isolasi pada media agar ini memungkinkan pemisahan plankton target dari sebagian besar mikroorganisme yang berasal dari sampel awal yang sama, dan juga secara drastis akan dapat mengurangi kontaminan.

Teknik Pengenceran

Teknik ini dilakukan dengan mentransfer hanya satu sel ke dalam wadah dengan mengencerkan sampel atau biakan. Teknik ini biasanya dilakukan dengan menyiapkan dan mengisi tabung

reaksi dengan 9 mL larutan salin steril atau media biakan yang memadai. Kemudian, 1 mL kultur mikroalga atau sampel yang diperkaya dipindahkan ke dalam tabung reaksi pertama dan dicampur, sehingga akan diperoleh pengenceran 1:10. Kemudian, 1 mL dari hasil tabung pengenceran pertama dipindahkan ke tabung kedua dan diulang lima sampai enam kali pengenceran. Penting untuk mempertimbangkan tidak hanya memiliki satu tabung inokula dari hasil pengenceran terakhir karena beberapa sel tunggal mungkin akan mati dan beberapa inokula akan mengandung dua atau lebih spesies atau bahkan tidak ada sel sama sekali. Substrat pengayaan dapat ditambahkan ke tabung isolasi untuk secara khusus dapat menumbuhkan spesies target atau menetaskan dalam kondisi tertentu. Umumnya, isolat axenic tidak sering diperoleh dengan teknik pengenceran karena bakteri biasanya lebih banyak ditemukan daripada alga, hal tersebut terjadi karena perlakuan yang tidak aseptis. Teknik pengenceran sering digunakan ketika mencoba untuk membiakkan spesies plankton acak dari sampel lapangan dengan tujuan menemukan dan mempelajari spesies baru (Andersen, 2005 ; Alam *et al.*, 2019). Teknik pengenceran akan memungkinkan untuk mendapatkan kultur yang sebagian besar terdiri dari beberapa spesies plankton tetapi tidak dapat memastikan tingkat axenic nya dari kultur tersebut. Tes kontaminasi dan pengamatan mikroskop diperlukan untuk mendeteksi mikroorganisme lain yang mungkin ada dalam kultur pasca pengenceran. Teknik lebih lanjut kemungkinan harus diterapkan untuk dapat menghasilkan kultur plankton yang axenic.

Metode Pemurnian Untuk Mikroalga dan Pengobatan Kultur Axenic

Setelah spesies target tumbuh dan diisolasi dari spesies mikroalga lainnya, sekarang saatnya untuk menghasilkan kultur axenic dengan menghilangkan jejak bakteri atau jamur yang umumnya berkaitan dengan peran kontaminasinya pada kultur plankton. Penerapan teknik steril dan pra-sterilisasi bahan apa pun yang digunakan selama langkah isolasi, pemurnian, subkultur, atau eskalasi mikroalga, dapat meminimalkan risiko kontaminasi dan meningkatkan keberhasilan pencapaian kultur plankton secara axenic. Tudung *laminar flow* sangat direkomendasikan untuk digunakan, tetapi teknik steril masih dapat dilakukan di ruang laboratorium tanpa tudung jika tindakan pencegahan dilakukan secara benar dan ketat. Sterilitas bahan harus diperiksa, dan jika ada keraguan, lebih baik bahan tersebut harus dibuang. Selama tahap pemurnian, masalah utamanya seringkali adalah menghindari pembunuhan spesies target karena plankton yang rentan terhadap lingkungan yang merugikan baginya. Penambahan antibiotik pemurnian atau agen selektif lainnya untuk plankton telah umum diterapkan (Andersen, 2005).

Pengobatan Antibiotik

Tujuan utama dari pengobatan antibiotik adalah untuk mengurangi kontaminasi bakteri dari biakan plankton ke jumlah yang memungkinkan inokulum kecil untuk mentransfer cukup sel plankton tanpa bakteri hidup. Kemanjuran dan toksisitas

pengobatan antibiotik tergantung pada konsentrasi, periode paparan dan bervariasi tergantung pada spesies plankton dan bakteri. Bakteri yang hidup cenderung akan menurun drastis setelah 48 jam paparan pada kultur plankton terhadap pengobatan antibiotik. Kemudian sebagian kecil dapat dipindahkan ke media yang memadai tanpa antibiotik. Antibiotik akan bekerja dengan salah satu dari dua cara ini, yang pertama secara bakterisidal (mis. Penisilin, Vankomisin) akan membunuh bakteri dengan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri, atau yang kedua secara bakteriostatik (mis. Kloramfenikol, Tetrasiklin), yang mengganggu metabolisme bakteri tetapi belum tentu membunuh mereka. Secara teori, antibiotik akan menghancurkan semua kontaminan tanpa merusak sel alga, tetapi dalam praktiknya hal ini jarang tercapai. Perlakuan dengan pemberian antibiotik dasar yang dipelajari dengan baik adalah 100/25/25 mg/L penisilin, streptomisin, dan gentamisin yang biasanya masih dapat ditoleransi oleh sebagian besar plankton. Pemurnian juga dapat dicapai dengan transfer berurutan kultur plankton melalui serangkaian antibiotik yang berbeda. Metode transfer berurutan ini relatif memiliki toksisitas yang lebih rendah terhadap plankton. Atau juga, satu campuran antibiotik dapat berakibat fatal bagi beberapa bakteri tetapi hanya menekan pertumbuhan beberapa bakteri lainnya, sedangkan penggunaan antibiotik berurutan dapat membunuh bakteri yang masih hidup (Andersen, 2005 ; Vu *et al.*, 2018 ; Youn dan Hur, 2007).

Banyak kombinasi dan teknik pemurnian dengan memanfaatkan antibiotik yang dapat diterapkan, mulai dari penambahan antibiotik sederhana seperti pada penelitian yang

telah dilakukan Bonett *et al.* (2020), yang berhasil mendapatkan kultur axenic dari *Chlorella* sp., *C. sorokiniana* dan *Desmodesmus* sp. hanya dengan menggunakan media BG11 ditambah antibiotik jenis ampisilin dalam konsentrasi 50, 70, 80, 90 – 100 mg/L, atau juga bisa menggunakan kombinasi seperti yang dilaporkan oleh Wu *et al.* (2013) di mana ia memperoleh kultur axenic dari *Desmodesmus* sp. dengan sub-kultur terus-menerus pada cawan agar BG11 yang ditambahkan dengan antibiotik jenis ampisilin dan kanamisin. Kombinasi antibiotik yang lebih kompleks dapat digunakan ketika kontaminasi bakteri tetap ada. Han *et al.* (2016) memperoleh galur *Nannochloropsis* sp., *Cylindrotheca* sp., *Tetraselmis* sp., dan *Amphikrikos* sp. yang dimurnikan setelah diberi campuran antibiotik jenis ampisilin, gentamisin, kanamisin, neomisin, dan streptomisin (masing-masing 600 mg/L) selama 3 hari dan kemudian memindahkannya ke media bebas antibiotik selama 5 hari untuk menyebar posterior pada media padat f/2 untuk pengisolasian koloni. Mereka juga melaporkan bahwa plankton yang diobati dengan antibiotik pada konsentrasi tinggi akan melanjutkan pertumbuhannya dengan cepat ketika telah dipindahkan ke media bebas antibiotik (Han *et al.*, 2016). Lee *et al.* (2021) berhasil menghasilkan kultur axenic untuk spesies dinoflagellata lapis baja dan tidak lapis baja yakni *Karenia mikimotoi* dan *Alexandrium tamarense*. Setelah sentrifugasi gradien mereka menggunakan pengobatan antibiotik dengan menyebarkan 0,1 mL biakan xenik pada agar yang mengandung: penisilin (100 U), streptomisin (100 µg/mL), gentamisin (100 µg/mL) dan tetrasiklin (1 µg/mL). Setelah 14 hari inkubasi tidak didapatkan tanda-tanda adanya koloni bakteri (Lee *et al.*, 2021).

Mengenai toksisitas antibiotik terhadap plankton, Youn dan Hur (2007) menemukan bahwa antibiotik jenis kloramfenikol dan penisilin G menunjukkan efek mematikan pada plankton, menjadi lebih tinggi untuk kloramfenikol dan jumlah optimal untuk perlakuan antibiotik tanpa toksisitas plankton adalah 2.000 ppm dihidrostreptomisin untuk spesies *Chlorella ellipsoidea*, 500 ppm neomisin untuk *Isochrysis galbana* dan *Heterosigma ahashiwo*, 500 ppm kloramfenikol untuk *Cyclotella didymus*, dan 6.000 ppm dihidrostreptomycin sulfate dan neomycin untuk *Thalassiosira allenii* (Banerjee *et al.*, 2012). Bashir dan Cho (2016) juga telah mempelajari efek antibiotik pada plankton, yakni membandingkan pertumbuhan dan sintesis protein klorofit pada *Dictyosphaerium pulchellum* dan *Micractinium pusillum* dengan adanya antibiotik jenis kanamisin dan tetrasiklin. Hasilnya dilaporkan memiliki efek yang signifikan dari keberadaan kedua antibiotik terhadap parameter yang diukur.

Pengobatan antibiotik biasanya akan diterapkan setelah sampel diperkaya dan teknik isolasi sebelumnya telah diterapkan pada biakan, sehingga telah berhasil diperoleh biakan unialgal. Perlakuan ini akan memungkinkan eliminasi bakteri dan/atau jamur yang ada dalam kultur atau mengurangnya dengan cara yang akan memudahkan perolehan kultur axenic. Pengobatan antibiotik adalah salah satu teknik yang paling umum digunakan oleh para peneliti untuk mendapatkan kultur plankton axenic. Teknik ini terbilang ekonomis, dan sebagian besar laboratorium memiliki fasilitas serta peralatan untuk melaksanakan metodologi.

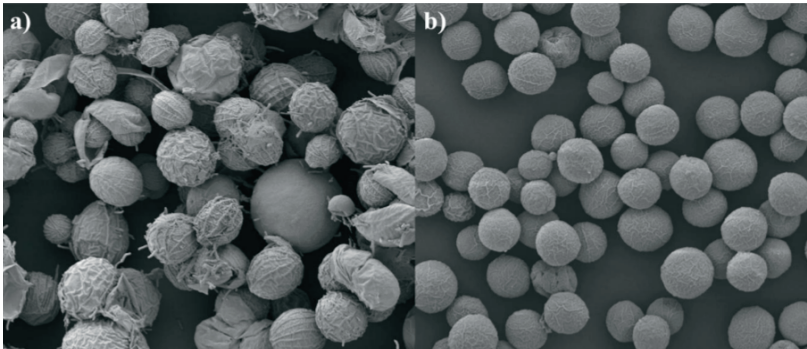
Perlakuan enzimatik

Memperoleh kultur cyanobacteria axenic menggunakan pengobatan antibiotik biasanya memiliki keterbatasan tertentu dan terkadang membutuhkan alternatif lain. Plankton umumnya akan cenderung lebih tahan terhadap pencernaan lisozim dibandingkan bakteri. Pilihan lain untuk menghasilkan kultur axenic tanpa menggunakan antibiotik adalah menggunakan basis lisozim. Kultur cyanobacterial axenic sebelumnya telah diperoleh dengan melakukan kultur dengan konsentrasi mematikan minimum hingga 90 menit (Vu *et al.*, 2018). Selain itu juga, kombinasi pengobatan enzimatik dan antibiotik dapat memberikan hasil kultur axenic yang lebih menjanjikan. Tale *et al.* (2014) dalam penelitiannya pernah menggunakan kombinasi lisozim (20 µg/mL) dan campuran antibiotik (cefotaxime-500 µg/mL dan tetrasiklin 50 µg/mL) untuk mendapatkan kultur axenic dari genus *Chlorella* dan *Monoraphidium*.

Antimikrob

Natrium hipoklorit, sulfonamida, kalium tellurit, deterjen, pestisida, garam, aldehida, dan peroksida juga pernah digunakan untuk mendapatkan kultur plankton axenic. Namun, senyawa-senyawa tersebut cenderung memiliki toksisitas yang lebih tinggi terhadap plankton. Baru-baru ini ion triiodida ($-3I$) telah banyak diteliti dan memiliki hasil yang menjanjikan. Ini diserap ke permukaan resin dan kemudian diisi ke dalam kolom. Suspensi sel unialgal yang terkontaminasi biasanya dijalkan melalui kolom ini beberapa kali untuk *axenization*.

Teknik ini pernah diterapkan pada kultur *Nannochloropsis gaditana* yang terkontaminasi bakteri. Pengamatan mengarah pada kesimpulan bahwa pengobatan sangat mengurangi jumlah bakteri yang hidup dan memiliki sedikit efek pada plankton. Ada juga beberapa laporan tentang penggunaan agen alami dalam kultur plankton untuk pengendalian kontaminasi, seperti senyawa cinnamaldehyde, geraniol, carvacrol, dan asam cinnamic, yang dievaluasi untuk mengeliminasi jamur. Agen kimia alami umumnya tidak menimbulkan masalah polusi/residu pada lingkungan, dan lebih mudah terurai. Selain itu, resistensi kontaminan biologis terhadap bahan kimia yang saat ini sering digunakan meningkatkan pentingnya menemukan alternatif baru. Namun, zat alami ini membutuhkan penelitian dan pengaturan agar dapat digunakan secara efektif (Vu *et al.*, 2018 ; Bashir dan Cho, 2016 ; Tale *et al.*, 2014 ; Nam *et al.*, 2015). Untuk kontrol agen kimia yang optimal terhadap kontaminasi dan pemurnian kultur plankton, penyaringan antibiotik, bahan kimia, atau enzim yang menghambat polutan biologis tanpa merusak plankton target adalah pilihan yang lebih disukai (Molina *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2013). Untuk mempermudah pemahaman terkait pemusnahan atau penghilangan koloni bakteri/jamur pada kultur unialgal maka dapat dilihat pada (Gambar 2.3.), yang menjelaskan kondisi spesies *Ettlia* sp. ketika masih ditemukan keberadaan kontaminan (a) dan sesudah tidak ditemukan kontaminan yang kita sebut sebagai kultur axenic (b), penelitian tersebut dilakukan oleh Vu *et al.* (2018) dengan menggunakan SEM untuk mengkonfirmasi kultur axenic dari spesies *Ettlia* sp.



Gambar 3.3 Penilaian kultur axenic menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), pada penelitian yang dilakukan Vu *et al.* (2018). a) *Ettlia* sp. non kultur axenic yang dimurnikan (unialgal) ; b) *Ettlia* sp. setelah kultur axenic yang dikonfirmasi menggunakan SEM (axenic). Kehadiran sel mikroalga dan bakteri terlihat jelas pada perbesaran 2.000 kali.

Teknik Isolasi Otomatis untuk Mikroalga

Flow cytometry adalah teknik otomatis yang paling umum digunakan untuk penyortiran sel plankton, dengan keunggulan autofluoresensi pigmen intraseluler alami mereka, memungkinkan untuk membedakan spesies yang berbeda atau membedakan mikroalga dari mikroorganisme lain. Berdasarkan sifat Chlorophyll Autofluorescence (CAF) dan Green Autofluorescence (GAF), spesies plankton seperti diatom, dinoflagellata, atau fitoplankton prokariotik dapat dibedakan. *Fluorescence-Activated Cell Sorting* (FACS) sitometri mendapatkan relevansi dan didasarkan pada hamburan cahaya dan fluoresensi, yang dihasilkan dari aliran cairan melalui sinar laser, di mana sel menyebarkan atau menyerap sinar laser dan memancarkan

fluoresensi, yang memberikan informasi seperti ukuran sel, integritas, dan karakteristik fotosintesis. Karena tingginya jumlah klorofil, sel plankton secara alami aktif berfluoresensi. Setelah eksitasi klorofil melalui laser, sinyal fluoresensi merah yang intens dipancarkan dan dapat digunakan sebagai pemicu penyortiran sel otomatis, yang memungkinkan isolasi plankton dan penghilangan bakteri. Efisiensi penyortiran didasarkan pada kelimpahan, ukuran sel, bentuk, dan ketangguhan alga yang disortir dan dapat ditingkatkan dengan pengayaan dan sonikasi kultur sebelum penyortiran (Hyka *et al.*, 2013 ; Andersen, 2005 ; Singh *et al.*, 2015 ; Duong *et al.*, 2012 ; Doppler *et al.*, 2021). Contoh pengaplikasian FACS termasuk Bui *et al.* (2013), yang telah mendapatkan kultur unialgal dengan metode klasik, menggunakan FACS untuk mendapatkan kultur axenic mereka, yang kemudian dianalisis DNA untuk mengkonfirmasi keberadaan bakteri dan menunjukkan hasil tidak ditemukannya sekuens DNA ribosomal bakteri. Fistarol *et al.* (2018) juga dilaporkan menggunakan FACS dan berhasil mengisolasi mikroalga dari genus *Scenedesmus*, *Actinotaenium*, *Cosmarium*, *Haplotaenium*, *Staurastrum*, *Aulacoseira*, *Navicula*, *Thalassiosira*, dan *Protoperdinium*. Namun, dalam penelitian mereka, mereka juga menyebutkan bahwa tidak semua spesies mikroalga cocok untuk disortir dengan FACS hal ini disebabkan karena terlalu besar untuk menyesuaikan garis kapiler instrumen atau terlalu sensitif untuk menahan tekanan yang diterapkan (Fistarol *et al.* 2018). Penggunaan FACS dalam kombinasi dengan pewarna fluoresen seperti Bodipy atau Nile *red* menghasilkan metode yang bagus untuk menyaring produksi organisme dari metabolit

yang menarik. Pengkombinasian ini pernah diaplikasikan oleh Pereira *et al.* (2013), yang mengisolasi strain dari genus *Picochlorum*, *Nannochloris*, dan *Desmochloris* dengan kandungan lipid berkisar antara 20% hingga 25% dari berat kering biomassa.

Pemeliharaan Kultur Axenic Mikroalga

Setelah budaya axenic tercapai, tujuan selanjutnya biasanya adalah mempertahankannya dalam jangka panjang. Plankton / mikroalga sangat sensitif terhadap perubahan kondisi lingkungan, yang dapat mempengaruhi karakteristik morfologi dan fisiologisnya. Plankton umumnya dipelihara dengan transfer periodik, pengeringan beku, dan kriopreservasi. Metode yang akan dipilih sangat bergantung pada kemampuan laboratorium, jenis kultur, biaya bahan, dan tenaga kerja. Tidak ada metode universal untuk pengawetan semua spesies plankton. Strain yang berbeda menunjukkan respons yang berbeda terhadap stres. Beberapa strain berhasil dibekukan dan dikriopreservasi, sementara yang lainnya tidak. Disarankan untuk melakukan setidaknya dua metode pengawetan untuk meminimalkan kerugian dan hilangnya kultur plankton axenic.

Sub-Budidaya Berkala

Plankton secara tradisional dipelihara dengan subkultur berkala karena kelayakan prosedurnya. Subkultur konvensional dilakukan dengan memindahkan inokulum dari fase *late log/stasioner* ke dalam media biakan segar yang telah disterilkan menggunakan teknik aseptik. Frekuensi transfer ditentukan oleh karakteristik pertumbuhan strain plankton. Perawatan

terus-menerus dalam jangka waktu yang lama membutuhkan banyak tenaga. Namun, ini seringkali merupakan satu-satunya prosedur yang tersedia di beberapa laboratorium atau satu-satunya cara untuk mengawetkan plankton ke kriopreservasi atau pengeringan beku. Keterbatasan utama dari transfer yang terus-menerus adalah media dan rejimen inkubasi, yang berbeda dengan kondisi alami dapat menyebabkan perubahan morfologis dan fisiologis pada beberapa spesies plankton. Kekhawatiran yang lainnya termasuk juga adanya kemungkinan kontaminasi atau kesalahan penanganan (Arguelles *et al.*, 2020).

Pengeringan beku

Pengeringan beku atau dalam istilah lain juga bisa disebut *Freeze-drying* membutuhkan penghilangan air dari suspensi plankton beku dengan sublimasi di bawah tekanan rendah yang membutuhkan peralatan khusus. Plankton hasil pengeringan beku dapat mempertahankan bentuk dan tekstur aslinya, dan terbukti berhasil melestarikan sebagian besar cyanobacteria. Prosedur ini meminimalkan bahaya pergeseran genetik, kontaminasi, dan kesalahan pelabelan yang mungkin tidak disengaja. Selain itu, kultur dengan cara ini membutuhkan ruang penyimpanan yang lebih kecil dan tenaga kerja lebih berkurang. Ini juga merupakan cara terbaik untuk mengirimkan hasil kultur axenic. Namun, *freeze-drying* belum ditemukan sebagai metode perawatan yang berhasil untuk banyak mikroalga, yang menunjukkan tingkat viabilitas yang sangat rendah setelah proses *freeze-drying* (Arguelles *et al.*, 2020 ; Day, 2007).

Kriopreservasi

Kriopreservasi dapat didefinisikan sebagai penyimpanan organisme pada suhu yang sangat rendah, sehingga tetap mampu bertahan dalam proses pencairan. Banyak plankton yang dapat dikriopreservasi tetapi biasanya dengan tingkat viabilitas pasca pencairan yang lebih rendah. Kriopreservasi sebagian besar masih merupakan proses sains empiris. Meskipun demikian, ratusan spesies cyanobacteria dan mikroalga eukariotik telah berhasil dikriopreservasi dengan menggunakan metanol (MeOH), dimetilsulfoksida (DMSO), atau gliserol sebagai aditif krioprotektif (CPA). Jenis metodologi ini mengurangi biaya rutin untuk pengumpulan kultur, memastikan stabilitas dan kemurnian sampel, serta mengurangi risiko kontaminasi selama penanganan sampel. Prosedur khusus dan BPA yang digunakan untuk spesies tertentu atau bahkan strain dapat bervariasi. Beberapa *trial and error* mungkin diperlukan untuk isolat baru yang akan dikriopreservasikan. Kriopreservasi seringkali mencakup penempatan 1,0 ml biakan (sebaiknya tumbuh aktif dalam kondisi yang sesuai) pada suhu pilihan yang diinginkan, baik -20°C , -80°C , atau bahkan -170°C (fase uap nitrogen cair) dengan BPA yang dipilih. Penggunaan protokol dua langkah mungkin diperlukan untuk beberapa strain. Hal ini memerlukan penambahan CPA ke dalam biakan dan mendinginkannya hingga suhu di bawah nol untuk memfasilitasi dehidrasi, lalu mendinginkannya dengan cepat hingga mencapai suhu penyimpanan akhir. Untuk menghidupkan kembali kultur plankton, vial kriogenik biasanya ditempatkan dalam penangas

air bersuhu 35°C selama 5 menit dan kemudian dipindahkan ke dalam 50 ml media tumbuh yang sesuai dan diinkubasi pada kondisi yang sesuai. Umumnya, strain yang menampilkan karakteristik sel tertentu seperti uniseluler, kecil, bulat, tanpa duri, dan tanpa vakuola biasanya sangat layak setelah dicairkan. Metodologi kriopreservasi saat ini diterapkan oleh The Culture Collection of Freshwater Microalgae yang berbasis di Universidade Federal de São Carlos, yang saat ini memiliki koleksi mikroalga terbesar di Brasil, menampung sekitar 700 strain plankton air tawar. Beberapa kelemahan dari metode kriopreservasi ini adalah memerlukan peralatan khusus, bahan habis pakai khusus, dan pelatihan. Kesalahan akibat pencairan yang tidak tepat dalam kondisi yang tidak terkendali, bahkan secara singkat, dapat menyebabkan kematian biakan kultur (Arguelles *et al.*, 2020 ; Day, 2007 ; Amaral *et al.*, 2013 ; de Oliveira, 2020 ; Tessarolli *et al.*, 2017). Setelah kriopreservasi, viabilitas harus ditentukan dengan mendeteksi aktivitas metabolik dan/atau kapasitas reproduksi sel. Pewarnaan vital menggunakan fluoresen diasetat atau pertumbuhan kembali sel adalah pendekatan yang paling praktis. Umumnya, tingkat kelangsungan hidup minimum yang dapat diterima adalah sekitar 30% dari konsentrasi awal biakan. Selain itu, seharusnya tidak ada perbedaan yang signifikan dalam genotipe ataupun fenotipe antara kultur kontrol dan pasca pencairan. Kondisi yang seperti ini, saat ini bermasalah untuk dicapai dan mungkin tidak layak secara teknis untuk beberapa taksa dan untuk bahan non-axenic (Day *et al.*, 2010).

Pengendalian Kontaminasi dan Penskalaan Kultur Axenic Plankton

Meskipun menggunakan teknik steril, kontaminasi dapat terjadi. Oleh karena itu, evaluasi kontaminasi pada setiap langkah kultur plankton sangat penting untuk kontrol kualitas. Ketika kultur diduga terkontaminasi, beberapa metode dapat membantu mendeteksinya. Teknik paling sederhana adalah teknik mikroskop, yang memungkinkan untuk secara langsung melihat pertumbuhan mikroorganisme kontaminan. Ini bisa dikombinasikan dengan penggunaan pewarna yang menonjolkan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Salah satu kelemahan dari mikroskop adalah membutuhkan operator yang berpengalaman untuk mendapatkan hasil analisis yang baik. Tes sterilitas dapat dilakukan dengan menginokulasi kultur mikroalga pada media agar atau media cair pepton 0,1% dan menginkubasi pada suhu yang sesuai dengan kontaminan yang dicurigai. Ini biasanya dapat diterapkan untuk mengamati pertumbuhan bakteri atau jamur. *Malt extract* adalah alternatif jika diduga ada kontaminasi jamur. Untuk menguji kontaminasi yang terbawa udara, serangkaian media uji dipaparkan selama periode tertentu, diinkubasi, dan diamati. Variasi dari uji sederhana ini dapat digunakan untuk menguji media biakan, vitamin, larutan stok, pipet, dll. *Flow cytometry* juga dapat digunakan untuk mendeteksi kontaminasi dalam biakan. Namun, seperti yang sudah disebutkan di atas, metode itu tidaklah murah. Teknik molekuler berdasarkan reaksi berantai polimerase (PCR) memiliki keuntungan dalam mendeteksi kontaminasi bahkan dalam konsentrasi rendah, dan

ada alternatif molekuler baru lainnya untuk mengidentifikasi kontaminan biologis seperti metagenomik, metatranskriptomik, dan metaproteomik. Meskipun demikian, mereka jauh lebih mahal daripada tes mikroskop atau sterilitas. Metode ini, dengan modifikasi yang hampir tak ada habisnya, dapat dilakukan untuk membantu mengevaluasi kondisi steril. Pengujian harus dilakukan dalam kondisi yang menunjukkan hasil positif ketika kontaminasi terjadi dan sebaiknya tidak dianggap sebagai ukuran mutlak sterilitas tetapi sebagai indikator kontaminasi. Protokol dan modifikasi yang berbeda seringkali diperlukan sesuai dengan bahan yang tersedia dan tujuan kultur plankton (Andersen, 2005 ; Molina *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2013).

Seperti yang disebutkan di atas, plankton memiliki aplikasi dalam bidang nutraceuticals, farmasi, kosmetik, produksi biofuel, dll. Namun, volume besar biomassa plankton diperlukan untuk mencapai tujuan komersialisasinya. Sebagian besar metode produksi didasarkan pada kolam terbuka (yang meningkatkan kemungkinan kontaminasi dari lingkungan) dan fotobioreaktor tertutup. Produksi kolam terbuka telah berhasil hanya untuk mikroalga dalam jumlah terbatas dengan menerapkan salinitas yang sangat tinggi atau pH yang tinggi. Produksi massal plankton bergantung pada volume air yang besar. Oleh karena itu, tidak realistis untuk mengadopsi sterilisasi panas. Meskipun air dapat diproses dengan *bleach* atau disaring sebelum kultur massal, beberapa polutan biasanya tetap ditemukan. Fotobioreaktor tertutup mengurangi paparan kultur terhadap lingkungan, memberikan perlindungan yang lebih baik terhadap polutan. Namun, aerasi yang baik sangat diperlukan. Filtrasi dengan

membran mikropori umumnya diadopsi untuk sterilisasi udara, tetapi tidak praktis untuk menerapkannya pada volume udara yang besar selama kultur massal. Ketidak beradaan polutan secara total sangat sulit dicapai, bahkan dalam fotobioreaktor tertutup. Oleh karena itu, sangat penting untuk mengembangkan teknik untuk identifikasi kontaminan secara tepat waktu dan tercapainya pengendalian yang signifikan (Molina *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2013).

Suhu adalah variabel yang dapat membantu mengendalikan kontaminasi. Menginkubasi di luar kisaran suhu mikroorganisme kontaminan dapat membantu mengurangi risiko pertumbuhannya, mengingat suhu optimal untuk pertumbuhan plankton. Faktor lain yang memungkinkan dapat dimanipulasi untuk kepentingan kontrol kultur adalah menggunakan nilai pH yang dapat menekan pertumbuhan kontaminan tetapi mempertahankan mikroalga yang layak. Demikian pula, salinitas juga dapat menghambat perkembangan kontaminan. Agen kimia dapat diterapkan untuk mengendalikan kontaminan, tetapi hal ini memerlukan pengetahuan tentang mikroorganisme yang tidak diinginkan, konsentrasi penghambatan minimum dari agen yang akan digunakan, dan toleransi mikroalga yang dibudidayakan. Bahan kimia yang biasa digunakan adalah antibiotik, fungisida, pestisida, garam, aldehida, peroksida, dan amonia atau kombinasinya. Namun, alternatif pengendalian pencemaran ini umumnya diterapkan pada tahap awal budidaya (proses axenisasi). Alternatif lain untuk pengendalian kontaminasi adalah penggunaan medan listrik berdenyut untuk secara selektif merusak sel agen kontaminan dalam

biakan. Salah satu masalah adalah kurangnya informasi untuk pengendalian hayati. Mekanisme yang dikenal sejauh ini untuk pengendalian kontaminasi memiliki kekurangan dan tidak selalu efektif karena kontaminasi dapat bertahan dan menyebabkan produktivitas yang lebih rendah, kualitas mikrobiologis yang buruk, atau penyimpangan dari komposisi yang diinginkan. Alternatifnya adalah penggunaan sistem tertutup dan lebih kecil yang terkontrol. Meskipun mereka memiliki dampak ekonomi yang lebih tinggi pada produksi, mereka memungkinkan kontrol yang lebih baik dari setiap sumber kontaminasi dan direkomendasikan untuk bahan pakan atau aplikasi biomassa nutraceutical. Pemilihan strain dengan ketahanan terhadap polutan biologis juga merupakan faktor penting yang patut dipertimbangkan saat produksi massal. Pemahaman yang lebih besar tentang bagaimana polutan biologis ini berinteraksi dengan mikroalga inang dan teknologi budidaya yang wajar dapat mengarah pada pengembangan metode pengendalian yang lebih efektif (Molina *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2013).

Keuntungan dan Kekurangan dari Setiap Teknik Utama untuk Memperoleh Kultur Plankton Axenic

Sebuah teknik yang diciptakan manusia untuk mendukung tujuan tertentu pasti tidak dapat terlepas dari sebuah keuntungan dan kerugiannya ketika teknik tersebut digunakan. Begitu juga dengan berbagai macam teknik utama untuk memperoleh kultur plankton Axenic, adapun keuntungan dan kekurangan dari masing masing teknik utama untuk memperoleh kultur plankton axenic akan disajikan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Teknik utama yang digunakan untuk memperoleh kultur axenic pada plankton

No.	Nama teknik	Tipe	Kelebihan	Kekurangan	Referensi
1.	<i>Vortexing</i>	Metode bantu	Perlakuan fisik untuk memisahkan kontaminan dari sel alga yang diinginkan.	Tegangan geser dari pusaran yang kuat terkadang bisa menimbulkan masalah.	Scholz, 2014
2.	<i>Sonication</i>	Metode bantu	<ul style="list-style-type: none"> - Perlakuan fisik untuk memisahkan kelompok sel besar dan memisahkan kontaminan dari sel alga target, - Ketika mengisolasi cyanobacteria berfilamen panjang, dapat digunakan sebagai metode fragmentasi untuk memfasilitasi proses lebih lanjut. 	<ul style="list-style-type: none"> - Energi dan waktu sonikasi sangat penting, - Parameter sonikasi harus dioptimalkan untuk mencegah gangguan sel. 	La <i>et al.</i> , 2012 ; Scholz, 2014
3.	<i>Surfactant</i>	Metode bantu	Perlakuan kimia untuk memisahkan kontaminan yang menempel dari sel tambang.	Surfaktan yang sangat pekat dapat menjadi racun bagi organisme tambang.	Baker <i>et al.</i> , 1941; Shishlyannikov <i>et al.</i> , 2011
4.	<i>Filtration</i>	Metode pemisahan	<ul style="list-style-type: none"> - Metode yang mudah, sederhana, dan bersifat portabel, - Beragam pilihan membran, - Saat digunakan dalam kombinasi penggunaan dengan pengayaan selektif dapat menghilangkan kontaminan secara menyeluruh. 	<ul style="list-style-type: none"> - Filter mudah tersumbat dan perlu sering diganti, - Biasanya hanya digunakan dengan volume sampel kecil. 	Andersen and Kawachi, 2005 ; Shishlyannikov <i>et al.</i> , 2011
5.	<i>Uniform density centrifugation</i>	Metode pemisahan	Metode sederhana, sering digunakan untuk mengonsentrasikan spesies target.	<ul style="list-style-type: none"> - Tidak cocok untuk sel yang dapat berenang, - Untuk pemisahan yang efektif, pengaturan waktu dan kecepatan sangat penting, - Biasanya hanya dua fraksi (porsi yang lebih kecil dan lebih besar) yang dapat dipisahkan, - Sentrifugasi yang berlebihan dapat merusak sel. 	Guillard, 2005

No.	Nama teknik	Tipe	Kelebihan	Kekurangan	Referensi
6.	<i>Density gradient centrifugation</i>	Metode pemisahan	<ul style="list-style-type: none"> - Metode sederhana, sering digunakan untuk memusatkan spesies target, - Waktu dan kecepatan sentrifugasi relatif tidak penting. 	<ul style="list-style-type: none"> - Tidak cocok untuk sel yang mampu berenang, - Kerapatan sel galian yang diinginkan harus diidentifikasi, - Efisiensi terbatas dengan sampel lingkungan yang sangat heterogen dan/atau sampel yang memiliki fraksi kerapatan sel yang relatif sama. 	Cho <i>et al.</i> , 2002 ; Scholz, 2014
7.	<i>Agar-based methods</i>	Metode pemisahan	<ul style="list-style-type: none"> - Sederhana, hasil makroskopis, - Kultur axenic seringkali dapat langsung dibentuk tanpa pengobatan lebih lanjut dalam banyak kasus. 	<ul style="list-style-type: none"> - Waktu tidak aktif yang lama untuk pertumbuhan koloni plankton, - Hanya cocok untuk plankton yang dapat ditumbuhkan baik di permukaan maupun tertanam dalam media agar padat, - Keberhasilannya bergantung pada keberadaan awal bakteri yang menempel, - Kemurnian agar dan agarosa harus diperhatikan untuk lingkungan laut yang halus organisme. 	Andersen and Kawachi, 2005 ; Sanders, 2012
8.	<i>Serial dilution</i>	Metode pemisahan	<ul style="list-style-type: none"> - Metode sederhana, - Cocok untuk mengisolasi spesies plankton baru dari sampel lingkungan. 	<ul style="list-style-type: none"> - Hanya tingkat monokultur yang dapat dicapai, - Hanya berlaku untuk organisme yang berlimpah dalam sampel, dan sebagian besar tidak efektif untuk organisme langka. 	Chinnasamy <i>et al.</i> , 2010 ; Sena <i>et al.</i> , 2011
9.	Micropipetting (micropicking)	Metode pemisahan	<ul style="list-style-type: none"> - Memisahkan langsung sel galian dari kontaminan berdasarkan perbedaan morfologi sel, - Teknik ini menyeimbangkan antara dua faktor: kerusakan sel akibat penanganan berlebihan dan isolasi bersih. 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Throughput</i> rendah, melelahkan, dan membutuhkan operator terampil, - Sulit diterapkan pada sel kecil atau spesies yang memiliki bentuk dan ukuran sel serupa, - Tidak efektif untuk menghilangkan bakteri yang menempel pada bagian luar ganggang, - Kerusakan sel pada flagelata yang halus dan rapuh selama transfer mikropipet berturut-turut. 	Droop, 1954 ; Šulčius <i>et al.</i> , 2017

No.	Nama teknik	Tipe	Kelebihan	Kekurangan	Referensi
10.	<i>Fluorescenceactivated Cell Sorting (FACS)</i>	Metode pemisahan	<ul style="list-style-type: none"> - Resolusi tinggi, otomatis, <i>throughput</i> tinggi (hingga 70.000 sel per detik dapat disortir), - Juga cocok untuk organisme kecil (yaitu picophytoplankton), - Penyortiran sel langsung dari kumpulan alami juga berlaku, - Dengan persiapan yang tepat, tingkat budayaksenik dapat langsung dicapai. 	<ul style="list-style-type: none"> - Instrumen canggih yang membutuhkan operator terampil dan pengaturan optimal, - Harga peralatan yang mahal, - Hanya berlaku untuk (sel dengan label fluoresensi, - Kerusakan sel yang tidak dapat dihindari saat penyortiran (gaya geser, kerusakan foto...). 	Hyka <i>et al.</i> , 2013 ; Marie <i>et al.</i> , 2017
11.	Phototaxis	Metode pemisahan	<ul style="list-style-type: none"> - Metode sederhana dan efektif untuk fototaksis yang menunjukkan flagelata dan cyanobacteria. 	<ul style="list-style-type: none"> - Berlaku untuk spesies terbatas, - Tidak berlaku pada sampel beberapa spesies dengan kemampuan berenang yang serupa, - Tidak dapat menghilangkan bakteri yang menempel. 	Banerjee <i>et al.</i> , 2012; Ki and Han, 2005; Yim and Lee, 2004
12.	Microfluidic devices	Metode pemisahan	<ul style="list-style-type: none"> - Metode <i>throughput</i> tinggi, - Efisiensi pemisahan tinggi pada konsentrasi sel encer yang tepat. 	<ul style="list-style-type: none"> - Hanya berlaku saat kuari dan sel kontaminan memiliki perbedaan ukuran yang besar, - Perangkat harus disesuaikan dengan baik untuk setiap kuari dan campuran kontaminan. 	Godino <i>et al.</i> , 2015
13.	<i>Antibiotics</i>	Metode penghilangan	<ul style="list-style-type: none"> - Pembunuhan kontaminan secara selektif terhadap sel alga, - Dapat digunakan dalam kombinasi dengan metode lain untuk meningkatkan hasil. 	<ul style="list-style-type: none"> - Aplikasi terbatas untuk spesies cyanobacteria, - Senyawa seringkali bersifat toksik dan/atau mutagenik terhadap plankton, - Diperlukan uji kepekaan untuk jenis, konsentrasi, dan waktu perawatan antibiotik yang tepat, - Kekhawatiran atas implikasi lingkungan dari mikroba kebal antibiotik yang tersebar luas. 	Lee <i>et al.</i> , 2015 ; Scholz, 2014 ; Sena <i>et al.</i> , 2011
14.	Lysozyme	Metode penghilangan	<ul style="list-style-type: none"> - Metode alternatif untuk ganggang sensitif antibiotik, Dapat dikombinasikan dengan antibiotik untuk meningkatkan efisiensi. 	<ul style="list-style-type: none"> - Waktu paparan yang lama dapat melemahkan membran sel plankton. 	Kim <i>et al.</i> , 1999

No.	Nama teknik	Tipe	Kelebihan	Kekurangan	Referensi
15.	Triiodide (3I) resin	Metode penghilangan	<ul style="list-style-type: none"> - Persiapan dan perawatan yang sederhana dan cepat, - Reagen antimikroba hanya dilepaskan sesuai permintaan dan dengan cara kontak. 	<ul style="list-style-type: none"> - Metode pembunuhan non selektif, viabilitas sel alga juga terpengaruh, - Waktu kontak antara suspensi sel dan resin perlu dioptimalkan. 	Nam <i>et al.</i> , 2015
16.	Ultraviolet irradiation	Metode penghilangan	<ul style="list-style-type: none"> - Perawatan sederhana dan singkat, - Dapat digunakan dalam kombinasi dengan metode lain untuk meningkatkan hasil, - Perawatan yang sangat berguna untuk bakteri yang menempel di bagian luar alga. 	<ul style="list-style-type: none"> - Waktu paparan yang efektif dan panjang gelombang radiasi UV harus dioptimalkan, - Kemungkinan efek mutagenik pada sel ganggang. 	Šulčius <i>et al.</i> , 2017

Kendala Utama dalam Budidaya Pakan Alami

Beberapa faktor yang telah dipertimbangkan menjadikan pakan hidup tetap menjadi solusi paling praktis untuk pemeliharaan larva (pembenihan) untuk spesies akuakultur. Namun, telah diketahui bersama bahwa tidak mudah mempertahankan pasokan pakan hidup dalam jumlah yang cukup pada waktu yang tepat dalam sistem budidaya intensif. Di antara kendala-kendala dalam proses produksi mikroalga, kendala yang paling utama adalah biaya produksinya, terutama di pembenihan yang lebih kecil. Kesulitan mendapatkan galur murni yang berkualitas, kurangnya fasilitas infrastruktur seperti laboratorium yang memiliki lingkungan terkontrol untuk pemeliharaan kultur adalah beberapa kendala utama yang perlu diperhatikan. Pakan hidup juga dapat berperan sebagai pembawa penyakit bagi larva ikan dan kerang jika tidak dibudidayakan secara asepti, oleh karena itu pemeliharaan kebersihan sangat penting selama proses produksinya. Penerapan teknologi baru dengan metode pengayaan plankton

merupakan hal yang mahal bagi petani kecil dan menengah. Demikian pula dengan kebutuhan infrastruktur dan tenaga kerja yang tergolong tinggi bersama dengan biaya variabel untuk produksi pakan hidup menggambarkan kebutuhan untuk mengembangkan teknologi budidaya yang dimodifikasi dan sesuai. Sebagai contoh, meskipun beberapa galur artemia telah tersedia di India, pemilihan dan kesesuaian galur yang tersedia juga menjadi perhatian utama dan karenanya pembenihan dalam bidang akuakultur lebih bergantung pada kista impor (*dried artemia cyst*). Kandungan gizi organisme pakan hidup yang berbeda-beda menjadi perlu untuk diketahui guna dapat memberi makan yang bergizi tepat bagi berbagai tahap larva ikan, udang dan kerang yang dibudidayakan (Das *et al.*, 2012). Oleh karena itu, penelitian dan pengembangan teknologi lebih lanjut harus digalakkan agar kebutuhan akan pakan hidup yang berkualitas dapat dipenuhi dari pasar dalam negeri tanpa harus mengimpor dari luar negeri.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam MA, Muhammad G, Rehman A, Russel M, Shah M, Wang Z. 2019. Standard techniques and methods for isolating, selecting and monitoring the growth of microalgal strain. In: *Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment*. Singapore: Springer 2019; pp. 75-93. [http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-2264-8_4]
- Alvarenga, D.O., Fiore, M.F., Varani, A.M., 2017. A metagenomic approach to cyanobacterial genomics. *Front. Microbiol.* 8, 809.
- Amaral R, Pereira JC, Pais AA, Santos LM. Is axenicity crucial to cryopreserve microalgae? *Cryobiology* 2013; 1;67(3): 312-20. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2013.09.006>]
- Andersen, R.A., Kawachi, M., 2005. Traditional microalgae isolation techniques, in: Andersen, R.A. (Ed.) *Algal Culturing Techniques*. Academic Press, Massachusetts, pp. 83-100.
- Andersen, RA. 2005. *Algal culturing techniques*. Elsevier 2005. [<http://dx.doi.org/10.1016/B978-012088426-1/50007-X>].
- Arguelles EDLR, Tan Gana NH, Monsalud RG. Maintenance and preservation of microalgal cultures. *Methods in microalgal studies*. Philippines: Philippine Science Letters and University of the Philippines Los Baños 2020; Vol. 1: pp. 53-60.
- Baker, Z., Harrison, R., Miller, B.F., 1941. Action of synthetic detergents on the metabolism of bacteria. *J. Exp. Med.* 73, 249-271.

- Banerjee C, Bandopadhyay R, Shukla P. 2012. A simple novel agar diffusion method for isolation of indigenous microalgae *Chlamydomonas* sp. CRP7 and *Chlorella* sp. CB4 from operational swampy top soil. *Indian J Microbiol* 2012; 52(4): 710-2. [<http://dx.doi.org/10.1007/s12088-012-0295-6>] [PMID: 24293736]
- Banerjee, C., Bandopadhyay, R., Shukla, P., 2012. A simple novel agar diffusion method for isolation of indigenous microalgae *Chlamydomonas* sp. CRP7 and *Chlorella* sp. CB4 from operational swampy top soil. *Indian J. Microbiol.* 52, 710-712.
- Barclay W, Apt K. 2013. Strategies for bioprospecting microalgae for potential commercial applications. *Handbook of microalgal culture*. Academic Press 2013; pp. 69-79. [<http://dx.doi.org/10.1002/9781118567166.ch4>].
- Bashir KM, and Cho MG. 2016. The effect of kanamycin and tetracycline on growth and photosynthetic activity of two chlorophyte algae. *BioMed Res Int* 2016; 2016: 5656304. [<http://dx.doi.org/10.1155/2016/5656304>] [PMID: 27747232]
- Bonett J, de Sousa Geraldino P, Cardoso P, de Freitas Coelho F, Duarte WF. 2020. Isolation of freshwater microalgae and outdoor cultivation using cheese whey as substrate. *Biocatal Agric Biotechnol* 2020; 29: 101799. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101799>]
- Borowitzka, M.A., 2013. High-value products from microalgae—their development and commercialisation. *J. Appl. Phycol.* 25, 743-756.

- Bui TV, Ross IL, Jakob G, Hankamer B. Impact of procedural steps and cryopreservation agents in the cryopreservation of chlorophyte microalgae. *PLoS One* 2013; 8(11): e78668. [<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0078668>] [PMID: 24244336]
- Chinnasamy, S., Bhatnagar, A., Hunt, R.W., Das, K., 2010. Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. *Bioresour. Technol.* 101, 3097-3105.
- Cho, J.-Y., Choi, J.-S., Kong, I.-S., Park, S.-I., Kerr, R.G., Hong, Y.-K., 2002. A procedure for axenic isolation of the marine microalga *Isochrysis galbana* from heavily contaminated mass cultures. *J. Appl. Phycol.* 14, 385-390.
- Das, P., S. C., Mandal., S. K. Bhagabati., M. S, Akhtar., and S. K. Singh. 2012. Important Live Food Organisms And Their Role In Aquacultur. *Frontiers in Aquaculture.* 69–86.
- Day JG, Pröschold T, Friedl T, Lorenz M, Silva PC. Conservation of microalgal type material: Approaches needed for 21st century science. *Taxon* 2010; 59(1): 3-6. [<http://dx.doi.org/10.1002/tax.591001>]
- Day JG. Cryopreservation of microalgae and cyanobacteria. *Cryopreservation and freeze-drying protocols* 2007; 141-51. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-362-2_10]
- de Oliveira Lourenço S. Microalgae culture collections, strain maintenance, and propagation. *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products.* Academic Press 2020; pp. 49-84. [<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-818536-0.00003-8>]

- Doppler P, Kriechbaum R, Singer B, Spadiut O. Make microalgal cultures axenic again - a fast and simple workflow utilizing fluorescence-activated cell sorting. *J Microbiol Methods* 2021; 186: 106256. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106256>] [PMID: 34082050]
- Droop, M., 1954. A note on the isolation of small marine algae and flagellates for pure cultures. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 33, 511-514.
- Duong VT, Li Y, Nowak E, Schenk PM. Microalgae isolation and selection for prospective biodiesel production. *Energies* 2012; 5(6): 1835-49. [<http://dx.doi.org/10.3390/en5061835>]
- Favre-Bulle IA, Stilgoe AB, Scott EK, Rubinsztein-Dunlop H. 2012. Optical trapping in vivo: Theory, practice, and applications. *Nanophotonics* 2019; 1;8(6): 1023-40. [<http://dx.doi.org/10.1515/nanoph-2019-0055>]
- Fistarol G.O., Hargreaves P.I., Walter J.M., *et al.* 2018. Rapid isolation of culturable microalgae from a tropical shallow lake system. *J Appl Phycol* 2018; 30(3): 1807-19 [<http://dx.doi.org/10.1007/s10811-018-1404-7>].
- Godino, N., Jorde, F., Lawlor, D., Jaeger, M., Duschl, C., 2015. Purification of microalgae from bacterial contamination using a disposable inertia-based microfluidic device. *J. Micromech. Microeng.* 25, 084002.
- Guillard, R.R.L., 2005. Purification methods for microalgae, in: Andersen, R.A. (Ed.) *Algal Culturing Techniques*. Academic Press, Massachusetts, pp. 117-132.
- Han J, Wang S, Zhang L, Yang G, Zhao L, Pan K. 2016. A method of batch-purifying microalgae with multiple antibiotics at

- extremely high concentrations. *Chin J Oceanology Limnol* 2016; 34(1): 79-85. [<http://dx.doi.org/10.1007/s00343-015-4288-2>]
- Haoujar I, Cacciola F, Manchado M, *et al.* 2020. Isolation of microalgae from mediterranean seawater and production of lipids in the cultivated species. *Foods* 2020; 9(11): 1601. [<http://dx.doi.org/10.3390/foods9111601>] [PMID: 33158015].
- Huang WE, Ward AD, and Whiteley AS. 2009. Raman tweezers sorting of single microbial cells. *Environ Microbiol Rep* 2009; 1(1): 44-9. [<http://dx.doi.org/10.1111/j.1758-2229.2008.00002.x>] [PMID: 23765719]
- Hyka P, Lickova S, Přibyl P, Melzoch K, Kovar K. 2013. Flow cytometry for the development of biotechnological processes with microalgae. *Biotechnol Adv* 2013; 31(1): 2-16. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.04.007>] [PMID: 22561949].
- Hyka, P., Lickova, S., Přibyl, P., Melzoch, K., Kovar, K., 2013. Flow cytometry for the development of biotechnological processes with microalgae. *Biotechnol. Adv.* 31, 2-16.
- Jahn MT, Schmidt K, Mock T. 2014. A novel cost effective and high-throughput isolation and identification method for marine microalgae. *Plant Methods* 2014; 10(1): 26. [<http://dx.doi.org/10.1186/1746-4811-10-26>] [PMID: 25114712].
- Ki, J.-S., Han, M.-S., 2005. A versatile filtration technique to produce axenic cultures of the armored dinoflagellates *Peridinium bipes* and *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae). *J. Freshwat. Ecol.* 20, 239-245.

- Kim, J.S., Park, Y.H., Yoon, B.D., Oh, H.M., 1999. Establishment of axenic cultures of *Anabaena flos-aquae* and *Aphanothece nidulans* (cyanobacteria) by lysozyme treatment. *J. Phycol.* 35, 865-869.
- La, H.-J., Lee, J.-Y., Kim, S.-G., Choi, G.-G., Ahn, C.-Y., Oh, H.-M., 2012. Effective screening of *Scenedesmus* sp. from environmental microalgae communities using optimal sonication conditions predicted by statistical parameters of fluorescence activated cell sorting. *Bioresour. Technol.* 114, 478-483.
- Lee TC, Chan PL, Tam NF, Xu SJ, Lee FW. 2021. Establish axenic cultures of armored and unarmored marine dinoflagellate species using density separation, antibacterial treatments and stepwise dilution selection. *Sci Rep* 2021; 11(1): 202. [<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-80638-x>] [PMID: 33420310].
- Lee, H.-G., Shin, S.-Y., Jin, L., Yoo, C., Srivastava, A., La, H.-J., Ahn, C.-Y., Kim, H.-S., Oh, H.-M., 2015. Establishment and maintenance of an axenic culture of *Ettlia* sp. using a species-specific approach. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 20, 1056-1063.
- Lim DK, Garg S, Timmins M, *et al.* 2012. Isolation and evaluation of oil-producing microalgae from subtropical coastal and brackish waters. *PLoS One* 2012; 7(7): e40751. [<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0040751>] [PMID: 22792403]
- Masithah, E.D. 2018. Potensi Bakteri Pektinolitik sebagai Kandidat Pengendali Blooming *Microcystis aeruginosa*.

- Disertasi. Program Studi S3-MIPA. Program Pascasarjana. Universitas Airangga. Surabaya.
- Marie, D., Le Gall, F., Edern, R., Gourvil, P., Vaultot, D., 2017. Improvement of phytoplankton culture isolation using single cell sorting by flow cytometry. *J. Phycol.* 53, 271-282.
- Metzker, M.L., 2010. Sequencing technologies-the next generation. *Nat. Rev. Genet.* 11, 31-46.
- Molina D, de Carvalho JC, Júnior AIM, Faulds C, Bertrand E, Socol CR. 2019. Biological contamination and its chemical control in microalgal mass cultures. *Appl Microbiol Biotechnol* 2019; 103(23-24): 9345-58. [<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-019-10193-7>] [PMID: 31720774]
- Nam K, Shin WS, Jeong BR, Park MS, Yang JW, Kwon JH. 2015. Use of a triiodide resin for isolation of axenic cultures of microalgal *Nannochloropsis gaditana*. *Bioresour Technol* 2015; 191: 391-4. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.082>] [PMID: 25818920]
- Nam, K., Shin, W.-S., Jeong, B.-R., Park, M.S., Yang, J.-W., Kwon, J.-H., 2015. Use of a triiodide resin for isolation of axenic cultures of microalgal *Nannochloropsis gaditana*. *Bioresour. Technol.* 191, 391-394.
- Olguín, E.J., 2012. Dual purpose microalgae–bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a biorefinery. *Biotechnol. Adv.* 30, 1031-1046.
- Ota N, Yonamine Y, Asai T, *et al.* 2019. Isolating single *Euglena gracilis* cells by glass microfluidics for raman analysis of paramylon biogenesis. *Anal Chem* 2019; 91(15): 9631-9.

- [<http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01007>] [PMID: 31282650]
- Pachiappan P, Prasath BB, Perumal S, *et al.* 2015. Isolation and culture of microalgae. In: *Advances in Marine and Brackish water Aquaculture*. New Delhi: Springer 2015; pp. 1-15. [http://dx.doi.org/10.1007/978-81-322-2271-2_1].
- Pereira H, Barreira L, Custódio L, *et al.* Isolation and fatty acid profile of selected microalgae strains from the Red Sea for biofuel production. *Energies* 2013; 6(6): 2773-83. [<http://dx.doi.org/10.3390/en6062773>]
- Pilát Z, Ježek J, Šerý M, Trtílek M, Nedbal L, Zemánek P. 2013. Optical trapping of microalgae at 735-1064 nm: photodamage assessment. *J Photochem Photobiol B* 2013; 121(121): 27-31. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.02.006>] [PMID: 23501726]
- Sanders, E.R., 2012. Aseptic laboratory techniques: Plating methods. *J. Vis. Exp.*, e3064. doi: 10.3791/3064.
- Scholz, B., 2014. Purification and culture characteristics of 36 benthic marine diatoms isolated from the Solthörn tidal flat (Southern North Sea). *J. Phycol.* 50, 685-697.
- Sena, L., Rojas, D., Montiel, E., González, H., Moret, J., Naranjo, L., 2011. A strategy to obtain axenic cultures of *Arthrospira* spp. cyanobacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1045-1053.
- Shishlyannikov, S.M., Zakharova, Y.R., Volokitina, N.A., Mikhailov, I.S., Petrova, D.P., Likhoshway, Y.V., 2011. A procedure for establishing an axenic culture of the diatom

- Synedra acus* subsp. *radians* (Kütz.) Skabibitsch. from Lake Baikal. *Limnol. Oceanogr. Methods* 9, 478-484.
- Singh P, Gupta SK, Guldhe A, Rawat I, Bux F. 2015. Microalgae isolation and basic culturing techniques. *Handbook of marine microalgae*. Academic Press 2015; pp. 43-54. [<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00004-2>].
- Subashchandrabose, S.R., Ramakrishnan, B., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Naidu, R. 2011. Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: Biotechnological potential. *Biotechnol. Adv.* 29, 896-907.
- Šulčius, S., Slavuckytė, K., Januškaitė, M., Paškauskas, R., 2017. Establishment of axenic cultures from cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* akinetes by micromanipulation and chemical treatment. *Algal Res.* 23, 43-50.
- Tale M, Ghosh S, Kapadnis B, Kale S. 2014. Isolation and characterization of microalgae for biodiesel production from Nisargruna biogas plant effluent. *Bioresour Technol* 2014; 169: 328-35. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.017>] [PMID: 25063975]
- Tessarolli LP, Day JG, Vieira AA. Establishment of a cryopreserved biobank for the Culture Collection of Freshwater Microalgae (CCMAUFSCar), São Paulo, Brazil. *Biota Neotrop* 2017; 17(2) [<http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2016-0299>]
- Thao TY, Linh DTN, Si VC, Carter TW, Hill RT. 2017. Isolation and selection of microalgal strains from natural water sources in Viet Nam with potential for edible oil production.

- Mar Drugs 2017; 15(7): 194. [<http://dx.doi.org/10.3390/md15070194>] [PMID: 28644408]
- Vu CHT, Lee HG, Chang YK, Oh HM. 2017. Axenic cultures for microalgal biotechnology: Establishment, assessment, maintenance, and applications. *Biotechnol Adv* 2018; 36(2): 380-96. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.018>] [PMID: 29292155].
- Wang H, Zhang W, Chen L, Wang J, Liu T. 2013. The contamination and control of biological pollutants in mass cultivation of microalgae. *Bioresour Technol* 2013; 128: 745-50. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.158>] [PMID: 23186675]
- Wei X, Jie D, Cuello JJ, Johnson DJ, Qiu Z, He Y. 2104. Microalgal detection by Raman microspectroscopy. *Trends Analyt Chem* 2014; 53: 33-40. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2013.09.012>]
- Wu Y, Guan K, Wang Z, Xu B, Zhao F. 2013. Isolation, identification and characterization of an electrogenic microalgae strain. *PLoS One* 2013; 8(9): e73442. [<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0073442>] [PMID: 24019922]
- Xiao R, and Zheng Y. 2016. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. *Biotech Adv* 2016; 15;34(7): 1225-44. [<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.08.004>].
- Yim, J.H., Lee, H.K., 2004. Axenic culture of *Gyrodinium impudicum* strain KG03, a marine red-tide microalga that produces exopolysaccharide. *J. Microbiol.* 42, 305-314.

- Youn JY, and Hur SB. 2007. Antibiotics and their optimum concentration for axenic culture of marine microalgae. *Algae* 2007; 22(3): 229-34. [<http://dx.doi.org/10.4490/ALGAE.2007.22.3.229>]
- Zhang H, and Liu KK. 2008. Optical tweezers for single cells. *Journal Royal Soci Interface* 2008; 6;5(24):

BAB 4

FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI KULTUR PLANKTON

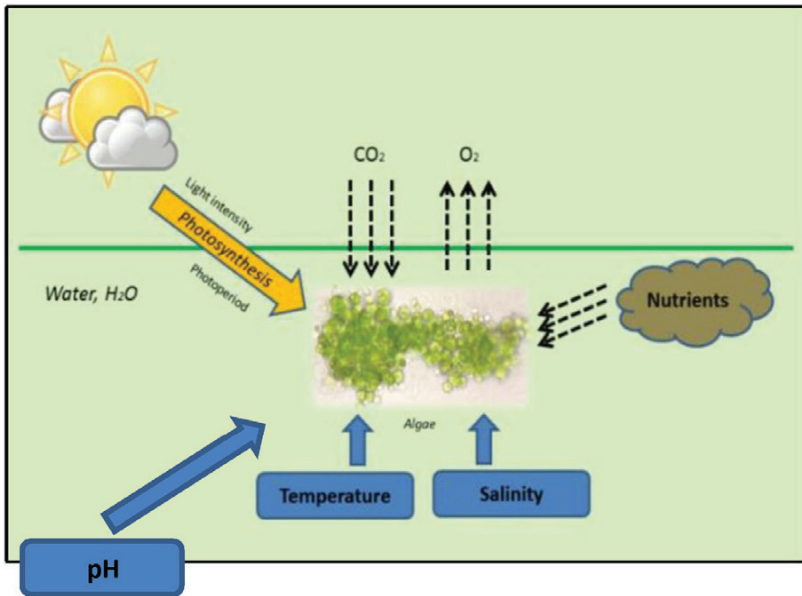
Akuakultur menjadi salah satu metode dan solusi untuk dapat menyediakan ketersediaan pangan dan juga dapat memenuhi banyak persyaratan populasi secara berkelanjutan (Starckx, 2012). Tidak bisa dipungkiri manusia membutuhkan makanan untuk kelangsungan hidup mereka. Tahun 1950-an, karena takut akan kelangkaan sumber pangan di masa depan, beberapa perusahaan saling bekerjasama dan bergabung dengan tujuan untuk memeriksa kelayakan teknologi plankton (plankton) dalam pembuatan makanan untuk dikonsumsi manusia (Burlew, 1953). Perkembangan industri pertama pertumbuhan ganggang untuk makanan terjadi pada 1960-an di Taiwan dan Jepang, di mana biomassa *Chlorella* digunakan sebagai makanan manusia tambahan. Biomassa yang diperoleh dari *Chlorella* tersebut juga diolah dalam berbagai bentuk mulai dari tablet hingga bubuk dan telah dijual secara global. Perkembangan lainnya adalah penggunaan biomassa *Spirulina* sebagai suplemen makanan dan untuk ekstraksi

kandungan phycoyaninnya. Beberapa plankton tertentu juga telah diselidiki lebih lanjut untuk khasiat obat dari metabolitnya. Misalnya, plankton jenis *Dunaliella* dan *Haematococcus* yang telah ditemukan kandungannya kaya akan antioksidan dan telah dipasarkan dalam bentuk produk konsumsi yang dapat bermanfaat bagi kesehatan manusia melalui nutrisi (Slocombe dan Benemann, 2016).

Selain dimanfaatkan untuk suplemen tambahan secara langsung bagi manusia, plankton, utamanya dari golongan Diatom dan Flagelata, membangun jalan dalam industri akuakultur dengan menjadi bahan baku utama untuk produksi hewan dan ikan yakni sebagai pakan alami bagi larva (Slocombe dan Benemann, 2016). Perkiraan dari Pulz dan Gross (2004) menunjukkan bahwa nilai eceran produk yang diperoleh dari plankton berkisar antara US\$ 5–6,5 miliar dan ini dihasilkan oleh berbagai sektor seperti kesehatan dan makanan (US\$ 1,25–2,5 miliar), akuakultur (US\$ 700 juta), dan melalui DHA (docosahexaenoic acid) produksi omega-3 (US\$ 1,5 miliar) (Carlsson, 2007). Dengan demikian, dalam beberapa dekade terakhir, produksi plankton telah berkembang pesat secara komersial, menghasilkan produk dengan nilai dan volume yang relatif tinggi. Hingga saat ini, DHA omega-3 yang diperoleh dari plankton spesies *Cryptocodinium cohnii* telah memimpin pasar sebagai produk olahan plankton (plankton) yang paling banyak dibeli masyarakat. Produktivitas biomassa merupakan aspek penting ketika akan menganalisis plankton, dan itu tergantung pada aktivitas fotosintesis mereka, yang secara berurutan juga bergantung pada kondisi lingkungan yang berlaku (Slocombe

dan Benemann, 2016). Oleh karena itu, pengoptimalan kondisi lingkungan yang mendukung pertumbuhan plankton tentunya juga akan mendukung potensi bahan baku plankton untuk menghasilkan produk yang berkelanjutan, mulai dari makanan hingga bahan bakar di tahun-tahun mendatang (Chen *et al.*, 2016).

Produksi plankton akhir-akhir ini telah berkembang pesat secara komersial, menghasilkan produk dengan nilai dan volume yang relatif tinggi. Produktivitas biomassa merupakan aspek penting ketika akan membudidayakan plankton, dan hal ini bergantung pada aktivitas fotosintesis dari plankton tersebut, yang secara berurutan juga memiliki hubungan yang erat dengan kondisi lingkungan yang berlaku. Oleh karena itu, pengoptimalan kondisi lingkungan yang mendukung pertumbuhan plankton tentunya juga akan mendukung potensi bahan baku plankton untuk menghasilkan produk yang berkelanjutan, mulai dari yang dapat dimanfaatkan sebagai suplemen, pakan alami ikan budidaya hingga berbopensi sebagai bahan bakar di tahun-tahun mendatang. Untuk itu sedikitnya ada tujuh faktor lingkungan yang telah diketahui pengaruhnya dalam pertumbuhan plankton yakni suhu, lama penyinaran, intensitas cahaya, derajat keasaman (pH), kadar salinitas, kadar karbon dioksida (CO₂), dan ketersediaan nutrisi (makro dan mikronutrien) (Gatamaneni *et al.*, 2018; Gani *et al.*, 2019; Pedruzi *et al.*, 2020). Interaksi setiap faktor dalam proses fotosintesis untuk pertumbuhan biomassa plankton dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Mekanisme fotosintesis yang terjadi pada plankton yang dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan (suhu, lama penyinaran, intensitas cahaya, tingkat salinitas, kadar CO_2 , pH, dan keberadaan nutrisi) (Gani *et al.*, 2019).

Suhu

Suhu merupakan salah satu parameter lingkungan vital yang dapat mempengaruhi pertumbuhan plankton. Pertumbuhan plankton meningkat secara linier menuju titik optimal, setelah itu pertumbuhan sel secara bertahap akan menurun (Cheng and He, 2014). Selain pertumbuhan, faktor suhu juga dapat mempengaruhi ukuran sel dan komposisi biokimia pada plankton (Juneja *et al.*, 2013). Suhu ternyata juga mempengaruhi aktivitas fotosintesis plankton dengan menjalani pembelahan sel,

yang, pada gilirannya, mempengaruhi produktivitas biomassa plankton. Pembelahan sel terjadi karena peningkatan aktivitas enzimatik yang berkaitan dengan siklus Calvin. Beberapa penelitian telah mengembangkan model untuk menghubungkan laju pertumbuhan dengan suhu dan ekspresi yang paling umum digunakan adalah persamaan Arrhenius. Menurut persamaan ini, untuk setiap kenaikan suhu 10 °C, pertumbuhan menjadi dua kali lipat hingga tercapai suhu optimum yang setelah itu akan terjadi penurunan pertumbuhan. Penurunan pertumbuhan disebabkan oleh cekaman panas yang dialami plankton dan hal ini mengakibatkan denaturasi protein dan inaktivasi enzim yang terlibat dalam proses fotosintesis (Mayo, 1997 ; Ras *et al.*, 2013).

Bergantung pada kondisi suhu yang berlaku, galur plankton harus dipilih secara memadai karena hal ini meningkatkan pertumbuhan galur yang dipelajari (Slocombe dan Benemann, 2016). Penyerapan nutrisi dan komposisi kimiawi sel pada plankton juga dipengaruhi oleh perubahan suhu. Dalam kasus tertentu, penerapan tekanan suhu membatasi interaksi nutrisi (Chen *et al.*, 2012). Dalam beberapa kasus yang sering terjadi, peningkatan suhu akan dapat meningkatkan pertumbuhan plankton hingga nilai optimum, dan kemudian menurun dengan peningkatan suhu lebih lanjut (Cassidy, 2011). Suhu <16°C dan >35°C dianggap merugikan pertumbuhan plankton (Pachiappan *et al.*, 2015). Derajat suhu yang berada di atas kisaran optimal akan menyebabkan penurunan pertumbuhan bahkan mampu membunuh sebagian sel plankton yang sedang dibudidayakan. Namun, derajat suhu yang berada di bawah kisaran optimal dan tetap di atas tingkat beku maka tidak akan membunuh plankton

tetapi dapat menyebabkannya menjadi tidak aktif untuk tumbuh atau biasa disebut kondisi dorman (Zhu, 2014). Umumnya, kisaran suhu yang ideal untuk pertumbuhan plankton pada kondisi optimal berkisar antara 16°C hingga 35°C.

Menurut sebuah penelitian, suhu optimum untuk pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dilaporkan antara 25°C dan 30°C (Chinnasamy *et al.*, 2009). Sebuah studi tentang *Chlorella* sp. dan *Chaetoceros calcitrans* menunjukkan suhu optimalnya pada suhu 20°C, 25°C, dan 30°C dengan laju pertumbuhan tertinggi untuk spesies ini dicapai pada 25°C (0,35–0,04/hari) dan pada 30°C (0,27–0,02/hari), masing-masing (Adenan *et al.*, 2013). Analisis dilakukan terhadap laju pertumbuhan empat spesies plankton (*Phaeodactylum tricormutum*, *Tetraselmis gracilis*, *Chaetoceros* sp., dan *Minutocellus polymorphus*) pada suhu berkisar antara 11°C hingga 36°C. Studi mengungkapkan bahwa tingkat pertumbuhan *Phaeodactylum tricormutum* tertinggi antara 16°C dan 26°C; *Tetraselmis gracilis* menunjukkan pertumbuhan maksimum antara 11°C dan 16°C; sedangkan *Chaetoceros* sp. dan *Minutocellus polymorphus* menunjukkan pertumbuhan tertinggi pada suhu 31°C (Sigaud dan Aidar, 1993). Penelitian Ha (2000) juga menemukan fakta bahwa suhu yang paling kondusif untuk pertumbuhan *Tetraselmis* sp. adalah 28°C dan kepadatan sel tertinggi mencapai 196×10^4 sel/mL pada hari ke 18. Kisaran suhu yang cocok untuk pertumbuhan *Tetraselmis* sp. adalah dari 22°C sampai 31°C. Pertumbuhan *Tetraselmis* sp. mulai turun secara drastis pada suhu 34°C setelah beberapa hari pertama pembiakan, menunjukkan bahwa suhu yang lebih tinggi tidak cocok untuk pertumbuhan spesies tersebut (Ha, 2000). Sebuah studi lain yang telah dilakukan

menunjukkan hasil bahwa *Chlorella zofingiensis* berkembang pada suhu sekitar 28°C (Travieso Co'rdoba *et al.*, 2008).

Investigasi mengungkapkan bahwa suhu optimal untuk pertumbuhan *Scenedesmus almeriensis* adalah 35°C dan mampu bertahan hingga 48°C setelah kematian sel terjadi (Sa'nchez *et al.*, 2008a). Analisis menemukan bahwa *Scenedesmus* sp. LX1 dapat tumbuh dalam kisaran suhu 10°C hingga 30°C (Xin *et al.*, 2011). Sebuah penelitian juga telah melaporkan bahwa pertumbuhan tiga galur *Dunaliella salina* yang diisolasi dari 60 sampel tanah salin menunjukkan pertumbuhan tertinggi pada suhu 22°C (Wu *et al.*, 2016). Ditemukan bahwa *Dunaliella* mampu bertahan pada kisaran suhu antara 0°C hingga 45°C. Eksperimen yang melibatkan pertumbuhan *Dunaliella antarctica* mengungkapkan bahwa planton jenis tersebut mampu bertahan pada suhu di bawah nol. Meskipun *Dunaliella* sp. masih berkembang pada suhu >40°C, hal itu tetap menyebabkan penurunan pertumbuhan planton, tetapi secara berurutan juga menyebabkan peningkatan pada kandungan karotenoidnya. Oleh karena itu, pertumbuhan ideal *Dunaliella* sp. disepakati pada suhu 32°C dengan rentang suhu pertumbuhan yang luas berkisar antara 25°C dan 35°C (Hosseini Tafreshi dan Shariati, 2009). Sebuah studi mengungkapkan bahwa *Nannochloropsis salina* berkembang dengan baik pada suhu optimal 26°C namun pada suhu >35°C tidak terdeteksi adanya pertumbuhan (Van Wagenen *et al.*, 2012). Studi lain mengungkapkan bahwa *Nannochloropsis oculata* tumbuh dengan baik pada suhu 20°C, sedangkan terjadi penurunan pertumbuhan secara bertahap seiring dengan meningkatnya suhu (Converti *et al.*, 2009). Sebuah studi tentang *Nannochloropsis ocaica* juga

menunjukkan bahwa pertumbuhan tertinggi terjadi pada suhu 20°C dan tidak mampu tumbuh pada suhu tinggi 40°C–50°C (Rai dan Rajashekhar, 2014). Percobaan yang dilakukan pada *Nannochloropsis gaditana* menunjukkan bahwa pertumbuhan sel tertinggi diperoleh pada suhu 25°C (Al-Adali *et al.*, 2012).

Sebuah studi tentang plankton *Tetraselmis subcordiformis* yang dikultur pada 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, dan 35°C menunjukkan pertumbuhan terbaik terjadi pada kondisi suhu 20°C (Wei *et al.*, 2015). Dalam kasus *Haematococcus pluvalis* yang juga dibudidayakan pada kondisi suhu yang berbeda, yakni 20°C, 23,5°C, 27°C, dan 30,5°C, menunjukkan bahwa laju pertumbuhan kultur dan produktivitas biomassa masih meningkat hingga suhu 30,5°C (Giannelli *et al.*, 2015). Pertumbuhan plankton uniseluler *Isochrysis galbana* yang dikultur dalam skala laboratorium pada suhu yang berbeda, yakni 15°C, 17°C, 22°C, 27°C, 33°C dan 35°C diketahui bahwa suhu optimal untuk memperoleh pertumbuhan maksimalnya adalah pada suhu 27°C dengan kondisi suhu >32 C dan <19°C sangat menurunkan pertumbuhan *Isochrysis galbana* secara signifikan (Kaplan *et al.*, 1986). Respon pertumbuhan untuk *Pithophora oedogonia* dan *Spirogyra* sp. pada suhu yang berbeda menunjukkan bahwa *Pithophora oedogonia* memiliki laju pertumbuhan maksimum pada kondisi suhu 35°C dan mengalami pertumbuhan yang melambat pada suhu 15°C, sehingga menunjukkan bahwa spesies tersebut merupakan stenothermal hangat. Demikian pula, *Spirogyra* sp. menunjukkan pertumbuhan maksimum pada 25°C dan menunjukkan penghambatan sedang pada suhu 15°C dan 35°C, sehingga menunjukkan bahwa spesies ini bersifat eurythermal (O'Neal dan Lembi, 1995).

Pada tahun 2008, Da-Conget *et al.* (2008) telah melaporkan suhu optimal untuk kultur *Botryococcus braunii* (UTEX 572 dan 2441) adalah 30°C, tetapi masih toleran pada suhu 25°C hingga 35°C. Begitu pula dengan *Rhodomonas* sp. juga memiliki suhu optimal yang hampir sama dengan plankton lainnya yaitu antara 25°C hingga 27°C (Renaud *et al.*, 2002). Munir *et al.* (2015), mengemukakan bahwa kisaran suhu optimal untuk tiga spesies plankton air tawar yang diisolasi dari berbagai lokasi termasuk kolam dan tempat tanah lembab yaitu *Spirogyra* sp., *Oedogonium* sp. dan *Chlorella* sp. adalah berkisar antara 24°C hingga 28°C ketika ketiganya dikultur menggunakan *Blue-Green medium* dan *Bold's Basal medium*. Plankton yang diisolasi dari air laut umumnya ditemukan memiliki toleransi suhu antara 20°C hingga 30°C seperti yang telah dipelajari oleh Rai dan Rajashekhar (2014). Sedikitnya ditemukan enam spesies fitoplankton laut yang diperiksa, memiliki toleransi suhu berkisar antara 20°C hingga 50°C di bawah pencahayaan 1000 Lux dengan rezim terang dan gelap 8:16 jam (Rai dan Rajashekhar, 2014). Studi lain juga telah berhasil dilakukan oleh Mustafa *et al.* (2013) menemukan bahwa kisaran suhu terbaik untuk pertumbuhan *Spirulina platensis* galur SZ100 berkisar antara 25°C hingga 30°C. Hal ini menunjukkan setiap plankton memiliki derajat suhu yang optimalnya masing-masing dengan rentang toleransi yang juga bermacam-macam sehingga agar dapat berhasil membudidayakan plankton untuk pakan alami dan manfaat lainnya harus mengetahui derajat suhu optimal dan rentang suhu dari masing-masing plankton yang akan dibudidayakan. Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan, jenis dan galur plankton yang berbeda memiliki suhu yang

berbeda untuk pertumbuhannya pada kondisi optimal seperti yang tercantum pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Kondisi optimal suhu untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda

Faktor lingkungan	Spesies plankton	Kondisi optimal (°C)	Referensi
Suhu	<i>Botryococcus braunii</i> UTEX 572	30	Da-Conget <i>et al.</i> , 2008
	<i>Botryococcus braunii</i> UTEX 2441	30	Da-Conget <i>et al.</i> , 2008
	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	30	Adenan <i>et al.</i> , 2013
	<i>Chlorella</i> sp.	24-28	Munir <i>et al.</i> , 2015
	<i>Chlorella vulgaris</i>	25-30	Chinnasamy <i>et al.</i> , 2009
	<i>Chlorella zofingiensis</i>	28	Travieso Co'rdoba <i>et al.</i> , 2008
	<i>Chroococcus turgidus</i>	20-30	Munir <i>et al.</i> , 2015
	<i>Dunaliella</i> sp.	32	Hosseini Tafreshi dan Shariati, 2009
	<i>Dunaliella salina</i>	22	Wu <i>et al.</i> , 2016
	<i>Haematococcus pluvalis</i>	30,5	Giannelli <i>et al.</i> , 2015
	<i>Isochrysis galbana</i>	27	Kaplan <i>et al.</i> , 1986
	<i>Lyngbya conferroides</i>	20-30	Munir <i>et al.</i> , 2015
	<i>Nannochloropsis gaditana</i>	25	Al-Adali <i>et al.</i> , 2012
	<i>Nannochloropsis ocaica</i>	20	Rai dan Rajashekhar, 2014
	<i>Nannochloropsis oculata</i>	20	Converti <i>et al.</i> , 2009
	<i>Nannochloropsis salina</i>	26	Van Wagenen <i>et al.</i> , 2012
	<i>Nostoc commune</i>	20-30	Munir <i>et al.</i> , 2015
	<i>Oedogonium</i> sp.	24-28	Munir <i>et al.</i> , 2015
	<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	16-26	Sigaud dan Aidar, 1993
	<i>Pithophora oedogonia</i>	35	O'Neal dan Lembli, 1995
	<i>Rhodomonas</i> sp.	25-27	Renaud <i>et al.</i> , 2002
	<i>Skeletonema costatum</i>	20-30	Munir <i>et al.</i> , 2015
	<i>Spirogyra</i> sp.	25	O'Neal dan Lembli, 1995
	<i>Spirulina platensis</i> SZ100	25-30	Mustafa <i>et al.</i> , 2013
	<i>Tetraselmis</i> sp.	22-31	Ha, 2000
	<i>Tetraselmis gracilis</i>	11-16	Sigaud dan Aidar, 1993
	<i>Tetraselmis subcordiformis</i>	20	Wei <i>et al.</i> , 2015
	<i>Minutocellus polymorphus</i>	31	Sigaud dan Aidar, 1993
	<i>Scenedesmus</i> sp. LX1	10-31	Xin <i>et al.</i> , 2011
	<i>Scenedesmus almeriensis</i>	35	Sa'nchez <i>et al.</i> , 2008a

Lama Penyinaran (*photoperiod*)

Secara umum, *photoperiod* mengacu pada paparan cahaya dalam hal durasi dengan minimum dan maksimum masing-masing adalah 0:24 jam dan 24:0 jam. Lama penyinaran sama pentingnya dengan intensitas cahaya karena secara langsung mempengaruhi efisiensi fotosintesis plankton yang dibudidayakan. Namun, penyinaran plankton yang optimal atau ideal bergantung pada spesies dan galur. Selain itu, habitat alami plankton juga dapat menyebabkan perbedaan penyinaran optimal yang dibutuhkan. Lama penyinaran juga penting jika aspek ekonomi diperhitungkan, karena biomassa alga diproduksi dengan cahaya dari sumber buatan (Gani *et al.*, 2019).

Menurut Krzemińska *et al.*, pencahayaan terus menerus (24:0) dapat merangsang pertumbuhan *Botryococcus braunii* dan *Scenedesmus obliquus* lebih efektif sedangkan pada spesies *Neochloris conjuncta* lebih toleran dengan jam 12:12 dalam hal laju pertumbuhan dan biomassa produksi (Krzemińska *et al.*, 2014). Selain itu, Wahidin *et al.* (2013) mempelajari pengaruh penyinaran pada *Nannochloropsis* sp. dan menemukan bahwa rezim cahaya terbaik adalah pada 18:6 jam dengan konsentrasi sel maksimum $6,5 \times 10^7$ sel/mL setelah 8 hari diteliti. Mereka juga melaporkan bahwa pengurangan durasi penyinaran menjadi 12:12 jam menyebabkan penurunan nilai laju pertumbuhan pada *Nannochloropsis* sp. (Wahidin *et al.*, 2013). Namun, lama penyinaran yang optimum untuk *Chlorella vulgaris* benar-benar berbeda dari spesies plankton lainnya, karena mereka memaksimalkan biomasanya ketika mengalami penyinaran 16:8 jam dengan iluminasi $62,5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Khoeyi *et al.*, 2012). Hal ini diperkirakan disebabkan karena

sampel *Chlorella vulgaris* yang digunakan dikumpulkan dari lahan basah Anzali di International Sturgeon Research Institute jika dibandingkan dengan *Nannochloropsis* sp. yang diperoleh dan diisolasi dari Borneo Marine Research Institute, University Malaysia Sabah (Wahidin *et al.*, 2013). Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa paparan cahaya yang paling menguntungkan atau optimal bagi plankton berkisar antara durasi 12 jam hingga 24 jam karena mereka memerlukan proses fotosintesis. Memang, paparan terang dan gelap memungkinkan peningkatan konsentrasi akhir atau penurunan biaya produksi (Khoeyi *et al.*, 2012). Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan, jenis dan galur plankton yang berbeda memiliki lama penyinaran (*photoperiod*) yang berbeda untuk pertumbuhannya pada kondisi optimal seperti yang tercantum pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Kondisi optimal lama penyinaran (*photoperiod*) untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda.

Faktor lingkungan	Spesies plankton	Kondisi optimal (ON:OFF)	Referensi
Lama penyinaran (<i>Photoperiod</i>)	<i>Botryococcus braunii</i>	24:0 jam	Krzemińska <i>et al.</i> , 2014
	<i>Chlorella vulgaris</i>	16:8 jam	Khoeyi <i>et al.</i> , 2012
	<i>Eustigmatophyte</i>	18:6 jam	Wahidin <i>et al.</i> , 2013
	<i>Nannochloropsis</i> sp.	18:6 jam	Wahidin <i>et al.</i> , 2013
	<i>Neochloris conjuncta</i>	12:12 jam	Krzemińska <i>et al.</i> , 2014
	<i>Scenedesmus</i> sp.	24:0 jam	Krzemińska <i>et al.</i> , 2014
	<i>Scenedesmus obiquus</i>	24:0 jam	Krzemińska <i>et al.</i> , 2014

Intensitas cahaya

Pada prinsipnya terdapat karakteristik dasar cahaya yang mempengaruhi pertumbuhan biologis plankton, yaitu kuantitas, kualitas dan lama penyinaran (Wahidin *et al.*, 2013 ; Khoeyi *et al.*, 2012 ; Meseck *et al.*, 2005). Cahaya sendiri merupakan salah satu sumber *input* energi utama untuk fotosintesis plankton. Sehingga, kuantitas cahaya mengacu pada intensitas iluminasi, baik dari cahaya alami maupun buatan. Harapannya pertumbuhan biomassa plankton dalam kultur akan meningkat seiring peningkatan intensitas cahaya hingga mencapai titik jenuh di mana laju fotosintesis berada pada level maksimum (Cheng dan He, 2014 ; Zu *et al.*, 2013). Namun, terlalu banyak paparan intensitas cahaya atau kejenuhan cahaya juga akan dapat menyebabkan fotoinhibitasi (*photoinhibition*) pada plankton (Cheng dan He, 2014). Fotoinhibitasi terjadi karena terbentuknya spesies oksigen reaktif yang berbahaya bagi sel plankton dan secara tidak langsung akan menurunkan produktivitas biomassa. Oleh karena itu, jenis dan galur dari masing-masing plankton yang berbeda memiliki persyaratan intensitas cahaya yang berbeda pula guna menunjang pertumbuhan yang optimal.

Menurut Sforza *et al.* (2014), plankton hijau *Scenedesmus obliquus* 276.7 tumbuh optimal pada intensitas cahaya 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ dalam medium kultur BG11 di suhu 23°C. Mereka menemukan bahwa laju pertumbuhan meningkat secara linier dengan peningkatan intensitas cahaya sampai titik jenuh (Sforza *et al.*, 2014). Sementara itu, *Spirulina platensis* galur SZ100 lebih cocok dikultur pada intensitas cahaya yang memiliki kisaran antara 1500Lux (20,3 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) hingga 2500Lux (33,8 μmol

$\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) untuk mencapai tingkat pertumbuhan yang optimal dengan derajat pH antara 7-9 (Mustafa *et al.*, 2013). Pemeriksaan intensitas cahaya menunjukkan bahwa laju pertumbuhan meningkat secara signifikan seiring waktu dan pertumbuhan maksimum dicapai pada akhir waktu budidaya 20 hari (Mustafa *et al.*, 2013). Spesies lain seperti *Selenastrum minutum* memiliki kadar intensitas cahaya optimum pada $420 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, sedangkan untuk spesies *Coelustrum microporum* dan *Cosmarium subprotumidum* memiliki kadar intensitas cahaya optimum pada $400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Bouterfas *et al.*, 2006 ; Bouterfas *et al.*, 2002).

Pada tahun 2008, Da-Cong *et al.* (2008) menerbitkan sebuah bukti penemuan mereka di mana mereka menyelidiki dua galur *Botryococcus* sp., yaitu *Botryococcus braunii* UTEX 572 dan UTEX 2441 di China. Hasilnya, mereka menemukan bahwa kedua galur *Botryococcus braunii* tersebut memiliki kadar intensitas cahaya optimum yang berbeda pada $800 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ untuk *Botryococcus braunii* UTEX 572 dan $400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ untuk *Botryococcus braunii* UTEX 2441 (Da-Cong *et al.*, 2008). Namun, pada tahun 2006, Qin dan Li mempelajari pengoptimalan *Botryococcus* sp. dari galur lainnya yang disebut galur *Botryococcus braunii* CHN 357 diperoleh dari Chinese Academy of Sciences, Wuhan (Qin dan Li, 2006). Dengan demikian, mereka menemukan bahwa galur *Botryococcus braunii* menunjukkan pertumbuhan optimal pada intensitas cahaya 60Wm^{-2} ketika dikultur dalam media ekstraksi tanah pada suhu 23°C . Hal tersebut membuktikan bahwa plankton yang sejenis (spesies) namun berbeda galur berkemungkinan memiliki karakter kadar intensitas cahaya

optimal yang berbeda-beda, selain itu menunjukkan juga bahwa umumnya plankton memiliki persyaratan intensitas cahaya optimum yang berbeda-beda dikarenakan asal habitat alami, spesies, galur, dan kondisi kultur. Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan, jenis dan galur plankton yang berbeda memiliki intensitas cahaya yang berbeda untuk pertumbuhannya pada kondisi optimal seperti yang tercantum pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Kondisi optimal intensitas cahaya untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda,

Faktor lingkungan	Spesies plankton	Kondisi optimal	Referensi
Intensitas cahaya	<i>Botryococcus braunii</i> UTEX 572	800 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	Da-Cong <i>et al.</i> , 2008
	<i>Botryococcus braunii</i> UTEX 2441	400 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	Da-Cong <i>et al.</i> , 2008
	<i>Botryococcus braunii</i> CHN 357	30-60 Wm^{-2}	Qin dan Li, 2006
	<i>Coelustrum microporum</i>	400 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	Bouterfas <i>et al.</i> , 2002 ; Bouterfas <i>et al.</i> , 2006
	<i>Cosmarium subprotomidum</i>	400 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	Bouterfas <i>et al.</i> , 2006
	<i>Dunaliella</i> sp.	61 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	AbuSaraa <i>et al.</i> , 2011
	<i>Scenedesmus obliquus</i> 276.7	150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	Sforza <i>et al.</i> , 2014
	<i>Selenastrum minutum</i>	420 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	Bouterfas <i>et al.</i> , 2002 ; Bouterfas <i>et al.</i> , 2006
<i>Spirulina platensis</i> SZ100	1500-2500 Lux (20,3-33,8 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Mustafa <i>et al.</i> , 2013	

Intensitas sinar juga menentukan nilai kekuatan plankton dalam memberikan perannya dalam produktivitas. Hal ini disebabkan kekuatan sinar atau cahaya mempengaruhi bagaimana tingkat fotosintesa plankton untuk menghasilkan bahan organik termasuk metabolit sekunder. Sebagai contoh *Dunaliella salina* yang hidup pada kondisi lingkungan tertentu, seperti salinitas tinggi atau cahaya tinggi dapat meningkatkan produksi β -karoten. Penelitian Sugiyati dkk (2019) mendapatkan bahwa produksi β -karoten *Dunaliella salina* dipengaruhi oleh kekuatan cahaya. *Dunaliella salina* dapat memproduksi β -karoten secara maksimum kurang lebih sebesar 0,0087 ml/L pada kekuatan cahaya sebesar 5.200 lux. Produksi β -karoten yang tinggi tentunya akan mempengaruhi kualitas plankton sebagai pakan ikan di perairan. Pada budidaya ikan, kualitas plankton akan mempengaruhi keberhasilan tercapainya biomassa atau hasil panen.

Satyantini, dkk (2019) mendapatkan bahwa perpaduan antara jenis spektrum cahaya serta jenis nutrisi akan mempengaruhi produksi fikosianin dari spirulina (*Spirulina platensis*). Spektrum cahaya yang digunakan adalah merah dan biru. Sementara nutrisi yang digunakan adalah pupuk Walne dan pupuk modifikasi (MT). Masing-masing kombinasi perlakuan memberikan hasil yang berbeda terhadap produksi fikosianin dari spirulina. Kombinasi spektrum merah dan nutrisi MT memberikan produksi fikosianin dan biomassa kering tertinggi masing-masing sebesar 5,1078 mg/g dan 0,6677 g/500 mL. kandungan fikosianin yang tinggi pada spirulina tentu meningkatkan kualitas spirulina sebagai pakan alami

dengan kata lain, secara tidak langsung dapat meningkatkan daya dukung perairan dan produktivitas perairan untuk menghasilkan panen yang lebih baik.

Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman atau yang biasa disebut pH diyakini sebagai salah satu parameter dasar yang mengontrol proses metabolisme sel dan pembentukan biomassa dalam plankton. Pertumbuhan mayoritas spesies plankton diketahui berkembang pada pH netral dan semua galur plankton memiliki rentang pH optimal yang terbatas (Lutzu, 2012). Plankton menyerap karbon dioksida selama proses fotosintesis, dan pada pH optimal, bikarbonat yang ada dalam medium diubah menjadi karbon dioksida oleh aksi enzim karbonat anhidrase alga dengan pelepasan ion hidroksil yang cenderung dapat meningkatkan pH (Gerardi, 2015), reaksi yang terjadi dapat di lihat sebagai berikut:



Berdasarkan fisiologi plankton, diamati bahwa tilakoid (kloroplas) menjalankan fungsi yang vital dengan kisaran pH tertentu, karena pH medium kultur diketahui juga memiliki peranan pada proses fotosintesis dalam plankton. Diketahui, pH yang ekstrem, baik pH tinggi maupun pH rendah, dapat mengurangi laju fotosintesis. Pada pH tinggi, tren penyerapan logam dan nutrisi dapat berubah. Demikian pula, pada pH rendah, penghambatan enzim terjadi pada proses fotosintesis

dan juga akan terdapat kemungkinan besar medium kultur terkontaminasi oleh mikroorganisme lain (Bakuei *et al.*, 2015). Pada kondisi pH sedang, memiliki hubungan dengan konsentrasi karbon dioksida dalam medium, yaitu pH akan terus meningkat seiring dengan konsumsi karbon dioksida oleh plankton. pH juga mempengaruhi ketersediaan nutrisi seperti besi dan asam organik (Lutzu, 2012). Oleh karena itu, pH dianggap sebagai faktor lingkungan utama yang diatur oleh kesetimbangan karbonat baik di lautan maupun perairan lainnya.

Kisaran pH optimal untuk mendukung proses fotosintesis yang optimal yang terjadi di sebagian besar jenis plankton adalah antara 6 dan 10, di mana bentuk bikarbonat dianggap yang mendominasi (Rastogi *et al.*, 2017). Umumnya kisaran pH di lautan adalah $8 \pm 0,5$; namun, pH tersebut juga berfluktuasi dari <2 hingga 12 di badan air alami. Air yang ada pada alam yang memiliki pH rendah sering kali berasal dari daerah vulkanik yang menerima asam mineral kuat, umumnya asam sulfat, sehingga pH sering ditemukan <4. Nilai pH yang tinggi dapat dikaitkan dengan danau yang termasuk dalam daerah endorheik karena umumnya mengandung konsentrasi natrium karbonat atau natrium bikarbonat yang tinggi (Weisse dan Stadler, 2006). Plankton telah banyak ditemukan mampu bertahan hidup pada kondisi pH basa dan asam (Ying *et al.*, 2014).

Pengaruh pH pada spesies *Chlorella vulgaris* menunjukkan bahwa pertumbuhan plankton berkurang pada pH asam (3,0–6,2) dan basa (8,3–9,0). Namun, pertumbuhan optimal dicapainya pada pH antara 7,5 dan 8,0 (Rachlin dan Grosso, 1991). Di

sisi lain, pH optimum untuk pertumbuhan *Spirulina platensis* diamati antara 7,0 dan 9,0. Laju pertumbuhan maksimum plankton berhasil diamati pada pH 8,0, hal ini menunjukkan bahwa alkalinitas sedang cukup diperlukan untuk pertumbuhan plankton yang ideal (Fagiri *et al.*, 2013). *Scenedesmus almeriensis* tumbuh efektif pada pH 8,0 dengan penurunan pertumbuhan pada pH yang lebih tinggi dan menunjukkan toleransi terhadap pH netral (Sa'nchez *et al.*, 2008b). *Scenedesmus obliquus* tumbuh dengan baik dalam kondisi netral maupun basa lemah dan pertumbuhan maksimumnya berhasil diamati pada pH 8,0 (Yang *et al.*, 2016).

Pertumbuhan *Scenedesmus* sp. (galur ADIITEC-II dan GUBIOTJT116) pada berbagai tingkat pH mulai dari 5,0 hingga 9,0 menunjukkan bahwa laju pertumbuhan spesifik maksimum dan produktivitas biomassa untuk spesies tersebut mencapai pada pH 7,0. Kondisi asam (pH 5,0 dan 6,0) tidak mengubah kerapatan sel dan menunjukkan produktivitas biomassa yang lebih rendah (Difusa *et al.*, 2015). pH awal untuk *Scenedesmus* sp. galur R-16 bervariasi dari 3,0 sampai 12,0 dan telah diamati bahwa plankton tersebut memiliki toleransi yang kuat terhadap berbagai kondisi pH dan tumbuh dengan baik pada pH yang cukup bervariasi, yakni antara 4,0 dan 11,0. Pada pH 3,0 dan pH 12,0, sel planktonnya menunjukkan pertumbuhan yang buruk. *Scenedesmus* sp. menunjukkan produktivitas biomassa tertinggi pada pH 7,0 (Ren *et al.*, 2013).

Sebuah studi juga pernah dilakukan pada *Dunaliella salina* pada pH yang berbeda, mengungkapkan bahwa pertumbuhan

maksimum terjadi pada kadar pH 9,18 ($4,59 \times 10^6$ sel/mL) (Abu-Rezq *et al.*, 2010). Pengaruh pH terhadap pertumbuhan *Dunaliella bardawil* dan *Chlorella ellipsoidea* untuk rentang yang luas (pH 4,0 hingga pH 11,0) menunjukkan bahwa pH ideal untuk pertumbuhan spesies tersebut adalah 7,5 untuk *Dunaliella bardawil* dan 10,0 untuk *Chlorella ellipsoidea*. Pertumbuhan *Dunaliella bardawil* dan *Chlorella ellipsoidea* terhambat pada pH >10,0, karena ion karbonat (sumber penting karbon anorganik) tidak tersedia lagi untuk plankton (Khalil *et al.*, 2010).

Pertumbuhan optimum *Nannochloropsis salina* berhasil diamati pada pH 7,5-8,0; namun, spesies tersebut masih dapat tumbuh pada rentang pH yang luas (5,0–10,5) (Boussiba *et al.*, 1987). Pada studi yang lainnya, pengujian terkait pertumbuhan *Nannochloropsis salina* yang dikultur pada enam kadar pH yang berbeda (5, 6, 7, 8, 9, dan 10) mengungkapkan bahwa tingkat pertumbuhan tertinggi berhasil dicapai pada pH antara 8 dan 9 (Bartley *et al.*, 2014). Di sisi lain, pH optimum untuk pertumbuhan spesies *Nannochloropsis oculata* telah diteliti dan divalidasi menggunakan metodologi permukaan respon dan ditemukan pada kadar 8,4 (Spolaore *et al.*, 2006). Pengaruh pH media pada *Chlorococcum* sp. mengungkapkan bahwa pertumbuhan maksimum plankton tersebut diamati pada pH 8,0 dengan laju pertumbuhan 0,066/jam (Zhang *et al.*, 1997). pH ideal untuk pertumbuhan spesies *Tetraselmis* sp. diamati berada pada 8,5 (Khatoon *et al.*, 2014). Serangkaian percobaan untuk menyelidiki pengaruh pH terhadap pertumbuhan *Nannochloris eucaryotum* mengungkapkan bahwa pertumbuhan maksimum

($9,85 \pm 0,54 \times 10^{-4}$ /jam) dapat dicapai ketika kondisi pH pada $6,60 \pm 0,67$ (Lutzu, 2012). Sebuah studi tentang pertumbuhan *Chlamydomonas applanata*, yang dikultur dalam kisaran pH 1,4-8,4, menunjukkan bahwa tidak ditemukan pertumbuhan pada pH rendah antara 1,4 dan 3,4. Namun, pertumbuhan dapat diamati pada pH yang berkisar antara 5,4 sampai 8,4, dengan pertumbuhan maksimum diamati pada kadar pH 7,4 (Visviki dan Santikul, 2000). Studi lain juga mengamati pertumbuhan *Chlamydomonas acidophila* pada rentang pH 1,4 - 8,4. Analisis varians menunjukkan bahwa pertumbuhan maksimum diamati pada kadar pH 7,4, sedangkan pada kadar pH di bawah 2,4 tidak diamati pertumbuhan selnya (Visviki dan Palladino, 2001). Di sisi lain, spesies *Euglena mutabilis* menunjukkan pertumbuhan tertingginya antara kadar pH 3,4 dan pH 5,4. *Euglena mutabilis* mampu bertahan pada kisaran pH antara 0,9 dan 8,2. Namun, pada kondisi pH 0,9 terjadi penurunan pertumbuhan yang ekstrim, dan dalam waktu 24 jam semua sel plankton mati (Dach, 1943). Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan, jenis dan galur plankton yang berbeda memiliki derajat keasaman (pH) yang berbeda untuk pertumbuhannya pada kondisi optimal seperti yang tercantum pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Kondisi optimal derajat keasaman (pH) untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda.

Faktor lingkungan	Spesies plankton	Kondisi optimal	Referensi
Derajat keasaman (pH)	<i>Chlamydomonas acidophila</i>	7,4	Visviki dan Santikul, 2000
	<i>Chlamydomonas applanata</i>	7,4	Visviki dan Santikul, 2000
	<i>Chlorella ellipsoidea</i>	10,0	Khalil <i>et al.</i> , 2010
	<i>Chlorella vulgaris</i>	7,5-8,0	Rachlin dan Grosso, 1991
	<i>Chlorococcum</i> sp.	8,0	Zhang <i>et al.</i> , 1997
	<i>Dunaliella bardawil</i>	7,5	Khalil <i>et al.</i> , 2010
	<i>Dunaliella salina</i>	9,18	Abu-Rezq <i>et al.</i> , 2010
	<i>Nannochloris eucaryotum</i>	6,60-7,27	Lutzu, 2012
	<i>Nannochloropsis oculata</i>	8,4	Spolaore <i>et al.</i> , 2006
	<i>Nannochloropsis salina</i>	7,5-9,0	Boussiba <i>et al.</i> , 1987 ; Bartley <i>et al.</i> , 2014
	<i>Scenedesmus</i> sp. ADIITEC-II	7,0	Difusa <i>et al.</i> , 2015
	<i>Scenedesmus</i> sp. GUBIOTJT116	7,0	Difusa <i>et al.</i> , 2015
	<i>Scenedesmus</i> sp. R-16	7,0	Ren <i>et al.</i> , 2013
	<i>Scenedesmus almeriensis</i>	8,0	Sa'nchez <i>et al.</i> , 2008b
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	8,0	Yang <i>et al.</i> , 2016
	<i>Spirulina platensis</i>	7,0-9,0	Fagiri <i>et al.</i> , 2013
<i>Tetraselmis</i> sp.	8,5	Khatoun <i>et al.</i> , 2014	

Tingkat salinitas

Faktor lingkungan dasar lain yang diketahui juga dapat mempengaruhi pertumbuhan plankton adalah salinitas. Salinitas sendiri merupakan kondisi perairan yang mengacu pada adanya kandungan mineral garam di dalam air untuk pertumbuhan plankton. Diperkirakan, ganggang laut menggunakan atau mengkonsumsi konsentrasi salinitas yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ganggang air tawar (Juneja *et al.*, 2013 ;

Cheng dan He, 2014). Salinitas juga merupakan parameter kritis untuk diuji karena keberadaan salinitas dapat mempengaruhi pertumbuhan plankton (Cheng dan He, 2014) dan komposisi biokimia dari sel plankton (Juneja *et al.*, 2013 ; Renaud dan Parry, 1994 ; AbuSaraa *et al.*, 2011). Mengekspos plankton pada salinitas tinggi berbahaya bagi sel plankton air tawar, karena dapat mengubah struktur selnya (Mata *et al.*, 2010). Kelebihan salinitas dapat menghambat proses fotosintesis dan mengurangi produktivitas biomassa dari plankton tersebut (Cheng dan He, 2014). Setiap galur plankton menunjukkan perbedaan dalam kapasitasnya untuk menyesuaikan diri dengan salinitas. Stres, dari konsentrasi garam yang tinggi, memengaruhi pertumbuhan sel dan pembentukan lipid. Tercatat bahwa dengan meningkatnya salinitas, ekspresi lipid plankton akan meningkat tetapi akan mengakibatkan pertumbuhan sel menjadi berkurang. Seringkali dua sifat penting yang dicari peneliti dalam memilih galur plankton untuk dipelajari adalah kemampuan plankton untuk menghasilkan biomassa dan lipid yang tinggi, sehingga lingkungan yang salin dirasa mampu memenuhi hal tersebut (Asulabh *et al.*, 2012). Plankton laut cenderung memiliki toleran yang lebih tinggi terhadap perubahan salinitas jika dibandingkan dengan spesies air tawar (Blinova' *et al.*, 2015). Umumnya plankton toleran terhadap salinitas yang berkisar antara 10 psu - 30 psu kecuali plankton *Artic-sea ice* dengan salinitas antara 4 psu - 74 psu.

Sebuah studi yang dilakukan pada spesies *Spirulina platensis* yang dikultur pada berbagai konsentrasi NaCl mulai dari 5,844 - 23,376ppt (0,1- 0,4M) mengungkapkan bahwa pertumbuhan

plankton akan lebih tinggi pada konsentrasi NaCl yang cenderung lebih rendah yakni antara 5,844 dan 11,688ppt, dan selanjutnya pertumbuhan akan semakin berkurang pada konsentrasi salinitas yang lebih tinggi dimulai dari kadar 17,532 sampai 23.376ppt (Sujatha dan Nagarajan, 2014). Pada studi lainnya, *Chlorella* sp. yang dikultur pada salinitas yang berbeda, yaitu 0, 30, 35, dan 40ppt pada media BG11 (medium biru-hijau) dengan pasokan natrium nitrat yang terbatas. Salinitas akan disesuaikan dengan tingkat yang diinginkan menggunakan natrium klorida (NaCl). Hasilnya dilaporkan bahwa dengan meningkatnya salinitas, maka pertumbuhan *Chlorella* sp. menurun. Konsentrasi biomassa *Chlorella* sp. tertinggi (0,09g/L) pada kadar 0ppt sedangkan pada kadar 30ppt (0,045g/L), 35ppt (0,038g/L), dan 40ppt (0,04g/L) (Andruleviciute *et al.*, 2011). Penelitian lainnya telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh salinitas terhadap pertumbuhan *Scenedesmus almeriensis* dengan salinitas yang berbeda (air payau (3×10^6 sel/mL), air laut (7×10^6 sel/mL), dan air tawar. Diketahui bahwa jumlah sel yang lebih banyak ditemukan pada media air tawar ($9,8 \times 10^6$ sel/mL), hal ini menunjukkan bahwa semakin rendah salinitas media maka semakin tinggi pertumbuhan plankton jenis ini (Suyono *et al.*, 2015). Namun, *Scenedesmus almeriensis* juga menunjukkan toleransi yang lebih tinggi terhadap konsentrasi garam sedang sebesar 5,844 ppt (0,1M) natrium klorida dan menunjukkan produktivitas biomassa yang lebih tinggi pada 5,844ppt natrium klorida bila dibandingkan dengan produktivitas yang diamati dalam media air tawar (Benavente-Valde's *et al.*, 2016).

Pengukuran pengaruh salinitas terhadap pertumbuhan *Scenedesmus obliquus* dilakukan pada berbagai konsentrasi natrium klorida (NaCl) 3, 17,5, 35, 58,44, 116,88, dan 166,32ppt (0,05, 0,3, 0,6, 1,0, 2,0 dan 3,0 M). Pertumbuhan *Scenedesmus obliquus* terhambat pada konsentrasi natrium klorida >35ppt, sedangkan terjadi penurunan pertumbuhan pada konsentrasi 17,5ppt. Pertumbuhan tertinggi berhasil diamati dari *Scenedesmus obliquus* pada 3ppt NaCl dan hal ini setara dengan pertumbuhan yang diperoleh di air tawar. Hasilnya menunjukkan bahwa media dengan salinitas rendah, antara 0 dan 0,05M, sesuai untuk mendorong laju pertumbuhan *Scenedesmus obliquus* (Kaewkannetra *et al.*, 2012). *Dunaliella bardawil* dikultur pada tingkat salinitas yang beragam mulai dari 1-3M, hasilnya menunjukkan bahwa tingkat pertumbuhan maksimum diamati pada salinitas terendah yakni 1M (Gomez *et al.*, 2003). Pertumbuhan sel *Dunaliella tertiolecta* ATCC 30929 diketahui memiliki konsentrasi natrium klorida optimum adalah <58,44ppt, sedangkan pada konsentrasi 58,44 hingga 116,88ppt (1,0–2,0M), pertumbuhan sel mengalami penurunan (Takagi *et al.*, 2006). *Dunaliella salina* merupakan plankton laut yang memiliki kemampuan toleran terhadap salinitas yang tinggi. *Dunaliella salina* CCAP 19/18 telah diamati pertumbuhannya pada salinitas yang berbeda-beda yaitu 58,44, 87,66, dan 116,88ppt (1,0, 1,5, dan 2,0M). Pertumbuhan ideal *Dunaliella salina* diperoleh pada salinitas 87,66 dan 116,88ppt (Vo and Tran, 2014).

Nannochloropsis salina, dalam sebuah studi dikultur pada tingkat salinitas yang berbeda-beda yaitu 10, 22, 34, 46, dan 58ppt.

Sebagai plankton laut, *Nannochloropsis salina* menunjukkan tingkat pertumbuhan tertinggi pada tingkat salinitas 22ppt dan akumulasi biomassa tertinggi pada salinitas 22 dan 34ppt. *Nannochloropsis salina* diketahui tidak menunjukkan adanya pertumbuhan pada tingkat salinitas 58ppt dan <10ppt (Bartley *et al.*, 2013). Selain itu, sebuah studi juga meneliti pengaruh salinitas terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* CS 179 yang dilakukan pada variasi salinitas 150, 250, 350, 450, dan 550ppt. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa biomassa tertinggi diperoleh pada tingkat salinitas 250ppt (Gu *et al.*, 2012).

Salah satu jenis plankton laut lainnya adalah *Tetraselmis suecica* yang telah diketahui toleran terhadap rentang konsentrasi garam yang lebih luas. Studi tersebut mengkultur *Tetraselmis suecica* pada 48 kondisi salinitas yang berbeda-beda mulai dari tingkat salinitas 0 hingga 350ppt. Pertumbuhan ideal dicapai pada tingkat salinitas antara 250 dan 350ppt dengan kepadatan sel maksimum $1,3 \times 10^6$ sel/mL (Fabregas *et al.*, 1984). Sebuah penelitian lainnya juga menguji empat spesies plankton untuk diketahui performanya pada tingkatan salinitas yang berbeda di antaranya adalah *Desmodesmus armatus*, *Mesotaenium* sp., *Scenedesmus quadricauda*, dan *Tetraedron* sp. yang dikultur pada tingkat salinitas 2, 8, 11, dan 18ppt. *Desmodesmus armatus* menunjukkan toleransi maksimum terhadap salinitas, tumbuh aktif pada 18ppt, sedangkan *Mesotaenium* sp. kurang halotoleran (kemampuan bertahan dalam kondisi hipersalin) dengan laju pertumbuhan yang menurun dari tingkat salinitas 11ppt. Oleh karena itu, tingkat salinitas yang ideal untuk pertumbuhan

Mesotaenium sp. yang berhasil dicatat adalah pada tingkat salinitas antara 2 dan 8ppt, begitu juga dengan *Scenedesmus quadricauda* dan *Tetraedron* sp. yang tumbuh baik pada tingkat salinitas 2 dan 8ppt (Von Alvensleben *et al.*, 2016).

Pertumbuhan *Schizochytrium limacinum* OUC88 pada berbagai salinitas 0, 0,9, 1,8, 2,7, dan 3,6ppt (0, 0,9, 1,8, 2,7, dan 3,6% b/v) dianalisis. Galur bekerja lebih baik dan biomassa tetap stabil dengan tingkat salinitas pada 1,8, 2,7, dan 3,6ppt, Namun akan terjadi penurunan yang signifikan pada produktivitas biomasanya jika tingkat salinitas diturunkan dari 0,9 menjadi 0ppt (Zhu *et al.*, 2007). Pertumbuhan *Botryococcus braunii* yang dikultur pada berbagai tingkatan salinitas 1, 2, 3, 4, dan 5ppt (17, 34, 51, 68, dan 85mM) menunjukkan hasil bahwa plankton mampu tumbuh pada semua tingkat salinitas, namun laju pertumbuhan maksimum diamati pada tingkat salinitas terendah yakni 1ppt (Rao *et al.*, 2007).

Sebuah studi tentang pengaruh salinitas pada tiga galur plankton *Cryptothecodinium cohnii*, yakni *C. cohnii* ATCC 30556, *C. cohnii* ATCC 50051, dan *C. cohnii* RJH, mengungkapkan bahwa *C. cohnii* ATCC 30556 memiliki laju pertumbuhan maksimum 0,090/jam pada natrium klorida konsentrasi 9,0ppt (g/L), sedangkan *C. cohnii* ATCC 50051 dan *C. cohnii* RJH memiliki tingkat pertumbuhan maksimum masing-masing 0,049/jam dan 0,067/jam, pada konsentrasi natrium klorida konsentrasi 5,0ppt (g/L). Ketika salinitas optimum tercapai, maka laju pertumbuhan akan menurun seiring meningkatnya salinitas. Hampir tidak ada pertumbuhan yang diamati ketika media tidak mengandung

natrium klorida, dan pada konsentrasi natrium klorida yang sangat tinggi, pertumbuhan menjadi terhambat, dan bentuk sel memanjang. Pemanjangan sel tersebut dikaitkan dengan peningkatan konsentrasi ion eksternal yang cenderung akan menghambat pertumbuhan sel (Jiang dan Chen, 1999).

Plankton memiliki kemampuan dalam mempertahankan komposisi sel yang seimbang meskipun terjadi perubahan di lingkungan eksternal. Ketika hal ini terjadi, laju pertumbuhan dapat diperlambat untuk menjaga kelancaran fungsi dari struktur sel tanpa perubahan komposisi selulernya. Proses ini didefinisikan sebagai homeostasis. Namun, ada juga jenis plankton tertentu yang mengubah komposisi selulernya karena perubahan lingkungan eksternal melalui mekanisme aklimatisasi. Kondisi yang merangsang homeostasis atau respon aklimatisasi saat ini belum jelas diketahui (Montechiaro *et al.*, 2006), Namun salinitas dianggap sebagai salah satu faktor yang dapat mempertahankan homeostasis dalam sel plankton. Misalnya, dalam *Tetraselmis viridis*, ATPase pengangkut Na^+ memainkan peran penting dalam meningkatkan toleransi garam pada plankton ini dengan mempertahankan homeostasis ion sitoplasma (Strizh *et al.*, 2004). Singkatnya, pemeliharaan keseimbangan komposisi sel (homeostasis) memegang peranan kunci ketika terjadi perubahan salinitas atau faktor eksternal lainnya (Montechiaro *et al.*, 2006). Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan, jenis dan galur plankton yang berbeda memiliki tingkat salinitas yang berbeda untuk pertumbuhannya pada kondisi optimal seperti yang tercantum pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Kondisi optimal tingkat salinitas untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda.

Faktor lingkungan	Spesies plankton	Kondisi optimal	Referensi
Tingkat salinitas	<i>Botryococcus braunii</i>	1ppt	Rao <i>et al.</i> , 2007
	<i>Chlorella</i> sp.	0 ppt	Andruleviciute <i>et al.</i> , 2011
	<i>Cryptocodinium cohnii</i> ATCC 30556	9,0ppt	Jiang dan Chen, 1999
	<i>Cryptocodinium cohnii</i> ATCC 50051	5,0ppt	Jiang dan Chen, 1999
	<i>Cryptocodinium cohnii</i> RJH	5,0ppt	Jiang dan Chen, 1999
	<i>Desmodesmus armatus</i>	18ppt	Von Alvensleben <i>et al.</i> , 2016
	<i>Dunaliella bardawil</i>	1 M	Gomez <i>et al.</i> , 2003
	<i>Dunaliella salina</i> CCAP 19/18	87,66 - 116,88ppt	Vo and Tran, 2014
	<i>Dunaliella tertiolecta</i> ATCC 30929	<58,44ppt	Takagi <i>et al.</i> , 2006
	<i>Mesotaenium</i> sp.	2 - 8ppt	Von Alvensleben <i>et al.</i> , 2016
	<i>Nannochloropsis oculata</i> CS 179	250ppt	Gu <i>et al.</i> , 2012
	<i>Nannochloropsis salina</i>	22ppt	Bartley <i>et al.</i> , 2013
	<i>Scenedesmus almeriensis</i>	0-5,85 ppt	Suyono <i>et al.</i> , 2015 ; Benavente-Valde's <i>et al.</i> , 2016
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	3ppt	Kaewkannetra <i>et al.</i> , 2012
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	2 - 8ppt	Von Alvensleben <i>et al.</i> , 2016
	<i>Schizochytrium limacinum</i> OUC88	1,8 - 3,6ppt	Zhu <i>et al.</i> , 2007
	<i>Spirulina platensis</i>	5,8 - 11,7 ppt	Sujatha dan Nagarajan, 2014
	<i>Tetraedron</i> sp.	2 - 8ppt	Von Alvensleben <i>et al.</i> , 2016
	<i>Tetraselmis suecica</i>	250 - 350ppt	Fabregas <i>et al.</i> , 1984

Kadar Karbon Dioksida (CO₂)

Plankton mampu tumbuh dalam sistem autotrofik, menggunakan cahaya dan karbon dioksida. Dalam sistem heterotrofik, plankton menggunakan senyawa organik sebagai sumber energi dan karbon, atau juga dalam sistem mixotrofik, plankton menggunakan sumber cahaya dan substrat organik digunakan secara bersamaan sebagai sumber energi, selain

CO₂ dan substrat organik sebagai sumber karbon (Chojnacka & Facundo-Joaquin, 2004). Dalam pertumbuhan autotrofik, plankton melakukan fotosintesis oksigenik dan mengikat karbon dioksida (Yang *et al.*, 2000). Dari karbon tetap, sebagian digunakan untuk pemeliharaan sel plankton dan untuk pertumbuhan, sementara sebagian lainnya disimpan dalam beberapa bentuk, bentuk-bentuknya bervariasi sesuai spesies planktonnya masing-masing. Selain itu, jumlah karbon yang tersimpan bergantung pada kondisi lingkungan (Durán *et al.*, 2018).

Plankton membutuhkan sedikitnya 1,8 hingga 2,0 kg CO₂ untuk menghasilkan 1 kg biomassa (Chisti, 2007). Mempertimbangkan rasio stoikiometri ini, jumlah CO₂ yang ada di udara (0,03%) tidak cukup untuk memberikan tekanan gas yang diperlukan dalam kultur untuk meningkatkan produktivitas plankton yang tinggi. Dengan demikian, untuk meningkatkan efisiensi fotosintesis dalam pertumbuhannya, kultur plankton harus dilengkapi dengan senyawa karbon, baik dalam bentuk garam, seperti bikarbonat, atau dengan injeksi udara yang kaya CO₂ (Cho *et al.*, 2011 ; Park *et al.*, 2011). Sebuah studi yang dilakukan oleh Durán *et al.* (2018) menunjukkan bahwa, dengan menggunakan injeksi udara (600 mL per menit) dalam fotobioreaktor, plankton menunjukkan pertumbuhan optimal hingga 20% (volume per volume) CO₂ yang ada di udara yang diinjeksi, tidak berbeda jauh dengan kontrol dengan 2,0% CO₂ yang dikenal sebagai nilai optimal untuk pertumbuhan plankton. Hal ini menciptakan kemungkinan penggunaan CO₂ dari hasil samping pembakaran industri, suatu proses yang

menghasilkan rata-rata 5,0% (volume per volume) CO₂, dan konsentrasi ini dapat mencapai hingga 20%, bergantung pada teknologi dan jenis bahan bakar yang digunakan (Ge *et al.*, 2011). Penggunaan kemungkinan ini menggabungkan sumber karbon berbiaya rendah untuk kultur plankton dengan upaya pengurangan emisi CO₂ ke atmosfer. Pasokan CO₂ untuk kultur plankton memungkinkan peningkatan produktivitas biomassa, namun menyebabkan penurunan pH, akibat peningkatan ketersediaan CO₂ dalam badan air, sehingga juga dapat menghambat pertumbuhan beberapa spesies mikroorganisme plankton (Pires *et al.*, 2012).

Menindaklanjuti terkait wacana pemanfaatan kultur plankton sebagai upaya mengurangi emisi karbon dioksida, sebelumnya diketahui bahwa saat ini sekitar 85% dari permintaan energi dunia dipenuhi dengan pembakaran bahan bakar fosil yang memancarkan dan mengkonsentrasikan gas rumah kaca di atmosfer. Dalam beberapa dekade terakhir, tingkat karbon dioksida di udara telah meningkat dari 260 menjadi 380 ppm. Beberapa saran telah dibuat dan penelitian telah dilakukan untuk meminimalkan dampak aktivitas manusia terhadap peningkatan gas rumah kaca (Minillo *et al.*, 2013). Jumlah bahan bakar fosil yang dibakar berbanding lurus dengan peningkatan karbon dioksida di udara. Meningkatnya konsentrasi karbon dioksida di udara dianggap sebagai salah satu penyebab utama pemanasan global. Oleh karena itu, memperbaiki karbon dioksida secara biologis dapat dipertimbangkan untuk membantu mengurangi masalah ini (Salih, 2011), atau penghilangan karbon dioksida yang efektif dari sumber titik harus dimulai (Li *et al.*, 2012).

Menangkap karbon dan mengasingkannya secara biologis dianggap aman untuk mengurangi karbon dioksida lingkungan. Plankton dapat mengikat karbon dioksida dengan efisiensi yang lebih besar daripada tumbuhan terestrial. Pemilihan spesies plankton penting dilakukan untuk mencapai sistem karbon dioksida biologis yang berfungsi, dan spesies plankton yang dipilih bergantung pada strategi yang terlibat dalam penyerapan karbon. Jumlah karbon dioksida di udara berperan besar dalam pertumbuhan plankton, yaitu semakin tinggi konsentrasi karbon dioksida maka pertumbuhannya semakin baik (Salih, 2011 ; Khairy *et al.*, 2014).

Kajian terkait pengaruh variasi konsentrasi karbon dioksida yaitu kontrol 0, 280, 385, 550, 750, dan 1.050 ppm (0, 280, 385, 550, 750, dan 1.050 μ atm) terhadap pertumbuhan *Chlorella gracilis* menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah sel hingga konsentrasi karbon dioksida 385 ppm, diikuti dengan penurunan pertumbuhan yang teramati pada 550 ppm karena plankton tidak toleran terhadap CO₂ di atas batas tersebut (Khairy *et al.*, 2014). Sebuah studi lain dengan galur *Chlorella vulgaris* ARC1 meneliti pertumbuhan di bawah konsentrasi karbon dioksida yang berbeda-beda dengan kisaran antara 350 dan 200.000 ppm (0,036% sampai 20%). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa *Chlorella vulgaris* memiliki kemampuan untuk menyerap 38,4 ppm (miligram CO₂ L/hari) pada peningkatan konsentrasi karbon dioksida 60.000 ppm (6%), sehingga meningkatkan pertumbuhan biomassa (Chinnasamy *et al.*, 2009). Investigasi dilakukan pada laju pertumbuhan tiga spesies yakni *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella pyrenoidosa*,

dan *Scenedesmus obliquus* menunjukkan hasil bahwa dengan meningkatnya konsentrasi karbon dioksida, pertumbuhan plankton juga akan meningkat, tetapi mencapai titik jenuh pada 1.320 ppm (30 μ M) karbon dioksida untuk *Chlamydomonas reinhardtii*, 4.400 ppm (100 μ M) karbon dioksida untuk *Chlorella pyrenoidosa*, dan 2.640 ppm (60 μ M) karbon dioksida untuk *Scenedesmus obliquus* (Yang dan Gao, 2003). *Scenedesmus obliquus* menunjukkan peningkatan biomassa (2,3 g/L) pada konsentrasi karbon dioksida 150.000 ppm (15%) (Singh dan Singh, 2014). Sebuah studi untuk meningkatkan produktivitas biomassa plankton berfilamen menggunakan konsentrasi karbon dioksida 7.480 ppm (170 μ M) dan 748 ppm (17 μ M) dilakukan di Denmark, dan ditemukan bahwa produktivitas biomassa lebih tinggi pada selungkup yang mengandung 7.480 ppm karbon dioksida (Andersen dan Andersen, 2006).

Galur plankton *Botryococcus braunii* LB-572 telah dikultur pada berbagai konsentrasi karbon dioksida 0, 5.000, 10.000, dan 20.000 ppm (0%, 0,5%, 1%, dan 2%, v/v) untuk dipelajari pola pertumbuhannya. Hasilnya mengungkapkan bahwa pada konsentrasi karbon dioksida 20.000 ppm, pertumbuhan galur plankton tersebut paling banyak berkembang, sedangkan pada konsentrasi lainnya juga masih dapat ditumbuhi galur plankton tersebut namun tidak sebanyak konsentrasi karbon dioksida 20.000 ppm (2%) (Ranga Rao *et al.*, 2007). Sebuah studi tentang *Dunaliella salina* juga pernah dilakukan dan mengungkapkan bahwa tidak ada perubahan pertumbuhan untuk perubahan konsentrasi karbon dioksida dari <230 menjadi 5.100 ppm, sehingga menunjukkan bahwa karbon dioksida

tidak berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan *Dunaliella salina* pada rentang tersebut (King *et al.*, 2015). Selanjutnya galur plankton *Nannochloropsis oculata* NCTU-3 menunjukkan penurunan pertumbuhan pada konsentrasi karbon dioksida yang tinggi, ketika diteliti pertumbuhannya pada berbagai konsentrasi karbon dioksida yakni 20.000, 50.000, 100.000, dan 150.000 ppm (2%, 5%, 10%, dan 15% v/ v). *Nannochloropsis oculata* NCTU-3 menunjukkan penurunan pertumbuhan pada konsentrasi karbon dioksida 50.000, 100.000, dan 150.000 ppm. Namun, pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* NCTU-3 meningkat ketika diaerasi dengan konsentrasi karbon dioksida 20.000 ppm (Chiu *et al.*, 2009). Selain itu penelitian tentang *Spirulina platensis* yang dikultur pada konsentrasi karbon dioksida 0, 5.000, 10.000, dan 20.000 ppm pernah dilakukan. Diketahui bahwa dengan meningkatnya konsentrasi karbon dioksida pada badan air menyebabkan penurunan derajat keasaman (pH). Hasilnya menunjukkan bahwa *Spirulina platensis* tumbuh dengan baik pada konsentrasi karbon dioksida hingga 10.000 ppm, meskipun perbedaan pertumbuhannya tidak signifikan jika dibandingkan dengan pertumbuhan pada konsentrasi karbon dioksida 20.000 ppm. Produktivitas *Spirulina platensis* tercatat meningkat hingga 60% ketika terpapar karbon dioksida 10.000 ppm. (Ravelonandro *et al.*, 2011). Pada penelitian lainnya, pengaruh konsentrasi karbon dioksida pada *Chlorocuccum littorale* juga pernah dilakukan dengan konsentrasi karbon dioksida 50.000, 200.000, 350.000, dan 500.000 ppm (5%, 20%, 35%, dan 50%), hasilnya mengungkapkan bahwa pertumbuhan *Chlorocuccum littorale* tercatat menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi

karbon dioksida (Ota *et al.*, 2009). Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan, jenis dan galur plankton yang berbeda memiliki kadar karbon dioksida (CO₂) yang berbeda untuk pertumbuhannya pada kondisi optimal seperti yang tercantum pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Kondisi optimal kadar karbon dioksida (CO₂) untuk kultur pada masing-masing spesies plankton yang berbeda,

Faktor lingkungan	Spesies plankton	Kondisi optimal	Referensi
Kadar karbon dioksida (CO ₂)	<i>Botryococcus braunii</i> LB-572	20.000 ppm	Ranga Rao <i>et al.</i> , 2007
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	<1.320 ppm	Yang dan Gao, 2003
	<i>Chlorella gracilis</i>	280-385 ppm	Khairy <i>et al.</i> , 2014
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	<4.400 ppm	Yang dan Gao, 2003
	<i>Chlorella vulgaris</i> ARC1	60.000 ppm	Chinnasamy <i>et al.</i> , 2009
	<i>Chlorocuccum littorale</i>	<50.000	Ota <i>et al.</i> , 2009
	<i>Dunaliella salina</i>	<230 - 5.100 ppm	King <i>et al.</i> , 2015
	<i>Nannochloropsis oculata</i> NCTU-3	20.000 ppm	Chiu <i>et al.</i> , 2009
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	<2.640 ppm	Yang dan Gao, 2003
<i>Spirulina platensis</i>	10.000 ppm	Ravelonandro <i>et al.</i> , 2011	

Keberadaan Nutrisi (Makronutrien dan Mikronutrien)

Media kultur yang ideal untuk plankton harus mengandung unsur anorganik seperti nitrogen (N), fosfor (P), zat besi (Fe), antara lain, yang dapat bervariasi sesuai dengan spesies yang dibudidayakan. Kebutuhan nutrisi minimum yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya dapat ditentukan dengan menggunakan perkiraan rumus molekul CO_{0,48}H_{1,83}N_{0,11}P_{0,01}. Dari analisis rumus molekul biomassa tersebut dapat disimpulkan bahwa sekitar 50% biomassa tersusun dari karbon (C) (Chisti, 2007).

Nitrogen adalah unsur paling melimpah kedua dalam biomassa plankton dan konsentrasinya berkisar antara 1 hingga 14% dalam massa kering. Unsur nitrogen (N) ini dapat diserap oleh plankton dalam bentuk senyawa anorganik di antaranya NO_3^- , NO_2^- , NO , NH_4^+ dan, dalam beberapa kasus, dapat berupa senyawa N_2 atau dalam bentuk organik, melalui urea atau asam amino (Perez-Garcia *et al.*, 2011). Pengurangan konsentrasi nitrogen dalam budidaya memungkinkan lipid dan karbohidrat disintesis secara istimewa (Yang *et al.*, 2011).

Nitrogen dianggap sebagai bahan penyusun protein dan asam nukleat, sedangkan fosfor merupakan bagian dari fosfolipid. Jika makronutrien ini terbatas/dibatasi, maka cenderung dapat menggeser jalur metabolisme (Juneja *et al.*, 2013). Redfield (1963) telah menyatakan bahwa ketika rasio N/P melebihi 16, maka fosfor dianggap sebagai faktor pembatas dan kandungan nitrogen perlu dikontrol untuk mengoptimalkan kondisi pertumbuhan plankton. Persyaratan tingkat optimum fosfor dianggap kondusif untuk pertumbuhan plankton. Kandungan fosfor $<0,045\text{mg/L}$, atau $>1,65\text{mg/L}$, diketahui dapat menghambat pertumbuhan plankton. Pertumbuhan plankton disukai ketika kandungan fosfor sama dengan $0,02\text{ mg/L}$ (Redfield, 1963 ; Ren, 2014).

Konsentrasi fosfor dalam biomassa kering plankton dapat berkisar antara 0,05 hingga 3,3% (Sacristán de Alva *et al.*, 2018). Nutrisi ini dianggap sangat penting, karena dapat membatasi dan mempengaruhi produktivitas biomassa beberapa spesies plankton jika tidak mengandung senyawa fosfor atau terkandung namun pada konsentrasi yang rendah dalam medium (Matouke

et al., 2018). Di lingkungan alami, serta di air limbah, fosfor hadir dalam berbagai bentuk, seperti ortofosfat, polifosfat, pirofosfat, dan metafosfat (Markou *et al.*, 2014). Selain itu, terdapat berbagai jenis pupuk pertanian yang dapat digunakan untuk melengkapi budidaya plankton dengan fosfor, seperti fosfat dan superfosfat, yang dihasilkan dari batuan fosfat. Plankton juga dapat mengakumulasi cadangan fosfor intraseluler, seperti butiran polifosfat. Cadangan ini dapat digunakan ketika fosfat dalam media kultur habis, suatu perilaku yang dikenal sebagai penyerapan mewah atau akumulasi (Powell *et al.*, 2009). Kemampuan penyerapan ini menarik ketika tujuannya adalah untuk menghilangkan kandungan fosfor dari air limbah; namun, dalam budidaya di mana pupuk sintetis (buatan) digunakan, penyerapan mewah harus dihindari agar memungkinkan untuk memaksimalkan produksi biomassa per massa nutrisi yang ditambahkan (Markou *et al.*, 2014).

Untuk pertumbuhan plankton yang memadai, media harus mengandung nutrisi lain (mikronutrien), selain makronutrien yang telah disebutkan (karbon, nitrogen, dan fosfor). Mikronutrien esensial yang juga dibutuhkan plankton adalah Mg, S, Ca, Na, Cl, Fe, Zn, Cu, Mo, Mn, B dan Co, dengan menekankan kebutuhan utamanya pada unsur magnesium, belerang dan besi (Mg, S dan Fe). Air limbah dan air laut merupakan sumber mikronutrien yang baik (Markou & Georgakakis, 2011). Selain itu, dimungkinkan juga untuk menggunakan pupuk dan garam sebagai sumber mikronutrien ini (Markou *et al.*, 2014).

Sebuah studi tentang *Chlorella vulgaris* dan *Nannochloropsis oculata* mengungkapkan bahwa jika suplai nitrogen berkurang,

maka sintesis lipid akan meningkat, sedangkan tidak ada efek pada pola pertumbuhan kedua plankton yang diamati (Paes *et al.*, 2016). *Dunaliella* sp. mampu membentuk sejumlah besar karotenoid dan astaxanthin ketika kondisi kekurangan unsur nitrogen. Tidak seperti nitrogen, fosfor dianggap sebagai nutrisi pembatas utama dalam pertumbuhan plankton untuk ekspresi produk bernilai tambah. Sebuah studi menemukan bahwa keterbatasan unsur fosfor pada *Scenedesmus* sp. (dari 2,0 menjadi 0,1 mg/L) menyebabkan peningkatan kandungan lipid dari 23% menjadi 53% (Juneja *et al.*, 2013). Pada galur *Scenedesmus* sp. LX1, pembatasan nitrogen dan fosfor berdampak pada peningkatan kandungan lipid tetapi tingkat pertumbuhannya rendah (Xin *et al.*, 2010). Pengurangan unsur nitrogen dalam medium sebesar 75% untuk kultur *Nannochloropsis salina* menghasilkan peningkatan kandungan lipid dari 34,6% menjadi 59,3% dengan penurunan pertumbuhan yang signifikan (Fakhry dan El Maghraby, 2015). Selama siklus Calvin terjadi, karbon anorganik dari media cair dimanfaatkan oleh sel plankton dan diubah menjadi gliseraldehida 3-fosfat. Pergeseran metabolisme menuju produksi penyimpanan atau molekul fungsional tergantung pada rasio antara karbon internal dan nitrogen. Pada tahap awal pertumbuhan plankton, karbon internal melebihi rasio C:N karena laju fotosintesis yang tinggi, sehingga mensintesis protein. Namun, seiring pertumbuhannya, nitrogen dalam media cair dimanfaatkan dan terjadi pergeseran produksi dari protein menjadi lipid (Concas *et al.*, 2016). Jejak logam seperti besi (Fe), mangan (Mn), kobalt (Co), seng (Zn), nikel (Ni), dan tembaga (Cu) adalah beberapa unsur logam penting (mikronutrien)

yang dibutuhkan oleh plankton untuk menjalankan fungsi metabolisme mereka. Jika tidak ada unsur-unsur besi tersebut, maka pertumbuhan plankton akan terbatas (Bruland *et al.*, 1991). Sebuah penelitian mengungkapkan bahwa pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* meningkat secara signifikan dengan penambahan unsur logam penting seperti Fe^{3+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , dan EDTA. Peningkatan konsentrasi unsur logam penting ini terbukti dapat meningkatkan aktivitas fotosintesis plankton dengan meningkatkan konsentrasi karbon dioksida pada media kulturnya (Dou *et al.*, 2013).

Sebagaimana pada kultur monospesies atau kultur axenic, di perairanpun pertumbuhan plankton juga dipengaruhi nutrisi perairan. Nutrisi atau unsur-unsur yang terdapat di perairan berperan dalam fotosintesis fitoplankton untuk menghasilkan bahan organik atau biomassa. Tiap spesies plankton memiliki kekhususan komposisi nutrisi perairan yang mendukung pertumbuhannya. Rasio N:P perairan yang merupakan salah satu gambaran nutrisi perairan menentukan jenis plankton apa yang dominan di suatu perairan.

Dominansi plankton di suatu perairan, atau tinggi rendahnya kepadatan suatu jenis plankton di suatu perairan dibanding jenis lain sangat dipengaruhi rasio N:P perairan. Penelitian Masithah, dkk (2019a) di tambak udang intensif di Banyuwangi mendapatkan bahwa perbedaan kandungan ammonium, nitrit, nitrat dan fosfat akan berpengaruh terhadap kepadatan pertumbuhan diatom. Diatom akan tumbuh pesat apabila kandungan nitrat suatu perairan tinggi atau dengan kecenderungan rasio NP tinggi. Blue green algae atau

Cyanophyceae terdiri dari banyak jenis plankton, mulai plankton yang menguntungkan dan potensial sebagai pakan ikan seperti *Spirulina* sampai jenis yang merugikan seperti *Microcystis*. Masithah, dkk (2019b) mendapatkan bahwa kandungan ammonium yang tinggi serta kandungan nitrit yang rendah pada suatu perairan akan menyebabkan berkembangnya jenis plankton blue green algae dengan cepat. Atau dengan kata lain, apabila rasio N:P perairan rendah, maka dominansi plankton di perairan adalah dari jenis blue green algae. Penelitian Masithah, dkk (2019c) mendapatkan bahwa peningkatan kandungan nitrit berdampak pada peningkatan kepadatan Bacillariophyceae dan menurunkan kepadatan Cyanophyceae. Peningkatan ammonium di perairan akan menyebabkan peningkatan Cyanophyceae dan penurunan Bacillariophyceae serta dinamika fosfat berperan dalam dinamika kepadatan dan komposisi jenis-jenis plankton yang tumbuh dari golongan Bacillariophyceae dan Cyanophyceae.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Rezq, T.S., Al-Hooti, S., and Jacob, D.A. 2010. Optimum culture conditions required for the locally isolated *Dunaliella salina*. *J. Algal Biomass Utln.* 1, 12.
- Adenan, N.S., Yusoff, F.M., and Shariff, M. 2013. Effect of salinity and temperature on the growth of diatoms and green algae. *J. Fish. Aq. Sci.* 8, 397.
- Al-Adali, K., Ahmed, E., Kumar, P., and Ayaril, N. 2012. Effect of salinity, temperature, nutrients and CO₂ on growth of two species of microalgae from Red Sea, Saudi Arabia. *J. King Abdul. Univ.* 23, 57.
- Andersen, T., and Andersen, F. 2006. Effects of CO₂ concentration on growth of filamentous algae and *Littorella uniflora* in a Danish softwater lake. *Aquat. Bot.* 84, 267.
- Andrulevičiute, V., Skorupskaite, V., and Kasperovičiene, J. 2011. Cultivation of microalgae *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. as a potential biofuel feedstock. *Environ. Res. Eng. Man.* 57, 21.
- Asulabh, K., Supriya, G., and Ramachandra, T. 2012. Effect of salinity concentrations on growth rate and lipid concentration in *Microcystis* sp., *Chlorococcum* sp. and *Chaetoceros* sp. In National Conference on Conservation and Management of Wetland Ecosystems. School of Environmental Sciences, Mahatma Gandhi University, Kottayam, Kerala.
- Bakuei, N., Amini, G., Najafpour, G.D., Jahanshahi, M., and Mohammadi, M. 2015. Optimal cultivation of *Scenedesmus*

- sp. microalgae in a bubble column photobioreactor. *Ind. J. Chem. Technol.* 22, 20.
- Bartley, M.L., Boeing, W.J., Corcoran, A.A., Holguin, F.O., and Schaub, T. 2013. Effects of salinity on growth and lipid accumulation of biofuel microalga *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *Biomass Bioenergy* 54, 83.
- Bartley, M.L., Boeing, W.J., Dungan, B.N., Holguin, F.O., and Schaub, T. 2014. pH effects on growth and lipid accumulation of the biofuel microalgae *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *J. Appl. Phycol.* 26, 1431.
- Benavente-Valde ´s, J.R., Aguilar, C., Contreras-Esquivel, J.C., Me ´ndez-Zavala, A., and Montan ´ez, J. 2016. Strategies to enhance the production of photosynthetic pigments and lipids in chlorophyceae species. *Biotechnol. Rep.* 10, 117.
- Blinova ´, L., Bartos ˇova ´, A., and Gerulova ´, K. 2015. Cultivation of microalgae (*Chlorella vulgaris*) for biodiesel production. *Research Papers Faculty of Materials Science and Technology. Slovak Univ. Technol.* 23, 87.
- Boussiba, S., Vonshak, A., Cohen, Z., Avissar, Y., and Richmond, A. 1987. Lipid and biomass production by the halotolerant microalga *Nannochloropsis salina*. *Biomass* 12, 37.
- Bruland, K.W., Donut, J.R., and Hutchins, D.A. 1991. Interactive influences of bioactive trace metals on biological production in oceanic waters. *Limnol. Oceanogr.* 36, 1555.
- Burlew, J.S. 1953. *Algal Culture. From Laboratory to Pilot Plant.* Carnegie Inst. Washington, DC: Washington Publ. 600, 1.

- Carlsson, A.S. 2007. Micro-and Macro-Algae: Utility for Industrial Applications: Outputs from the EPOBIO Project. United Kingdom: CPL Press.
- Cassidy, K.O. 2011. Evaluating Algal Growth at Different Temperatures. Thesis. University of Kentucky.
- Chen, J., Wang, Y., Benemann, J.R., Zhang X., Hu, H., and Qin, S. 2016. Microalgal industry in China: Challenges and prospects. *J. Appl. Phycol.* 28, 715.
- Chen, S.Y., Pan, L.Y., Hong, M.J., and Lee, A.C., 2012. The effects of temperature on the growth of and ammonia uptake by marine microalgae. *Botanical Studies.* 53, 125.
- Cheng, D. and He, Q. 2014. Assessment of Environmental Stresses for Enhanced Microalgal Biofuel Production - An Overview. *Frontiers in Energy Research.* 2: 1–8.
- Chinnasamy, S., Ramakrishnan, B., Bhatnagar, A., and Das, K.C. 2009. Biomass production potential of a wastewater alga *Chlorella vulgaris* ARC 1 under elevated levels of CO₂ and temperature. *Int. J. Mol. Sci.* 10, 518.
- Chiu, S.Y., Kao, C.Y., Tsai, M.T., Ong, S.C., Chen, C.H., and Lin, C.S. 2009. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresour. Technol.* 100, 833.
- Concas, A., Malavasi, V., Costelli, C., Fadda, P., Pisu, M., and Cao, G. 2016. Autotrophic growth and lipid production of *Chlorella sorokiniana* in lab batch and BIOCOIL photobioreactors: Experiments and modeling. *Bioresour. Technol.* 211, 327–338.

- Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P., and Del Borghi, M. 2009. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chem. Eng. Process. Process Intensification* 48, 1146.
- Dach, H.V. 1943. The effect of pH on pure cultures of *Euglena mutabilis*. *Ohio J. Sci.* 43, 47.
- Da-Cong, Y., Ya-Hong, G., Hong, M., Zheng-Rong, O., Hong-Jun, H. and Ye-Guang, L. 2008. The Effects of Several Environmental Factors on the Photosynthesis of *Botryococcus braunii*. *Journal of Wuhan Botanical Research*. 26(1): 64–69.
- Difusa, A., Talukdar, J., Kalita, M.C., Mohanty, K., and Goud, V.V. 2015. Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae *Scenedesmus* species. *Biofuels* 6, 37.
- Dou, X., Lu, X.H., Lu, M.Z., Yu, L.S., Xue, R., and Ji, J.B. 2013. The effects of trace elements on the lipid productivity and fatty acid composition of *Nannochloropsis oculata*. *J. Renew. Energy* 2013, 6.
- Fabregas, J., Abalde, J., Herrero, C., Cabezas, B., and Veiga, M. 1984. Growth of the marine microalga *Tetraselmis suecica* in batch cultures with different salinities and nutrient concentrations. *Aquaculture* 42, 207.
- Fagiri, Y.M.A., Salleh, A., and El-Nagerabi, S.A. 2013. Influence of chemical and environmental factors on the growth performance of *Spirulina platensis* strain SZ100. *J. Algal Biomass Utiln.* 4, 7–15.

- Fakhry, E.M., and El Maghraby, D.M. 2015. Lipid accumulation in response to nitrogen limitation and variation of temperature in *Nannochloropsis salina*. *Botanical Stud.* 56, 6.
- Gerardi, M.H. 2015. *The Biology and Troubleshooting of Facultative Lagoons*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.
- Giannelli, L., Yamada, H., Katsuda, T., and Yamaji, H., 2015. Effects of temperature on the astaxanthin productivity and light harvesting characteristics of the green alga *Haematococcus pluvialis*. *J. Biosci. Bioeng.* 119, 345–350.
- Gomez, P.I., Barriga, A., Cifuentes, A.S., and Gonzalez, M.A. 2003. Effect of salinity on the quantity and quality of carotenoids accumulated by *Dunaliella salina* (strain CONC007) and *Dunaliella bardawil* (strain ATCC 30861) Chlorophyta. *Biol. Res.* 36, 185.
- Gu, N., Lin, Q., Li, G., Tan, Y., Huang, L., and Lin, J. 2012. Effect of salinity on growth, biochemical composition, and lipid productivity of *Nannochloropsis oculata* CS 179. *Eng. Life Sci.* 12, 631.
- Ha, L.T.L. 2000. The effects of certain ecological factors on the growth of *Tetraselmis* sp. in laboratory. *Coll. Mar. Res. Works X*, 173.
- Hosseini Tafreshi, A., and Shariati, M. 2009. *Dunaliella* biotechnology: Methods and applications. *J. Appl. Microbiol.* 107, 14.
- Jiang, Y., and Chen, F. 1999. Effects of salinity on cell growth and docosahexaenoic acid content of the heterotrophic marine

- microalga *Cryptocodinium cohnii*. *J. Industr. Microbiol. Biotechnol.* 23, 508.
- Juneja, A., Ceballos, R. and Murthy, G. 2013. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review. *Energies.* 6 (9): 4607–4638.
- Kaewkannetra, P., Enmak, P., and Chiu, T. 2012. The effect of CO₂ and salinity on the cultivation of *Scenedesmus obliquus* for biodiesel production. *Biotechnol. Biopr. Eng.* 17, 591.
- Kaplan, D., Cohen, Z., and Abeliovich, A. 1986. Optimal growth conditions for *Isochrysis galbana*. *Biomass* 9, 37.
- Khairy, H.M., Shaltout, N.A., El-Naggar, M.F., and El-Naggar, N.A. 2014. Impact of elevated CO₂ concentrations on the growth and ultrastructure of non-calcifying marine diatom (*Chaetoceros gracilis* F.Schütt). *Egy. J. Aquat. Res.* 40, 243.
- Khalil, Z.I., Asker, M.M., El-Sayed, S., and Kobbia, I.A. 2010. Effect of pH on growth and biochemical responses of *Dunaliella bardawil* and *Chlorella ellipsoidea*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 1225.
- Khatoon, H., Rahman, N.A., Banerjee, S., Harun, N., Suleiman, S.S., Zakaria, N.H., Lananan, F., Hamid, S.H.A., and Endut, A. 2014. Effects of different salinities and pH on the growth and proximate composition of *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. isolated from South China Sea cultured under control and natural condition. *Int. Biodeter. Biodegrad.* 95, 11.

- King, A.L., Jenkins, B.D., Wallace, J.R., Liu, Y., Wikfors, G.H., Milke, L. M., and Meseck, S. L. 2015. Effects of CO₂ on growth rate, C: N: P, and fatty acid composition of seven marine phytoplankton species. *Mar. Eco. Press Series 537*, 59.
- Krzemińska, I., Pawlik-Skowrońska, B., Trzcińska, M. and Tys, J. 2014. Influence of photoperiods on the growth rate and biomass productivity of green microalgae. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 37(4): 735–741.
- Li, S.W., Luo, S.J., and Guo, R.B. 2012. Influence of carbon dioxide concentration on microalgal growth in a bubble column photobioreactor. In G. Zhang and S. Cheng, Eds., *Advanced Materials Research*. Switzerland: Trans Tech Publ., p. 137.
- Lutzu, G.A. 2012. Analysis of the Growth of Microalgae in Batch and Semi-Batch Photobioreactors. Thesis. Università degli Studi di Cagliari.
- Masithah, E.D., D. D. Nindarwi, T. Rahma and dan R. R. Satrya P I. 2019a. Dynamic Ratio Correlation of N:P in Relation to the Diatom Abundance in the Intensive System of the Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Shrimp Pond. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 236*, 012017. 1st International Conference on Fisheries and Marine Science. 6 October 2018, Surabaya, Indonesia.
- Masithah, E.D., D.D. Nindarwi, A.L.A. Suyoso dan D. Husein. 2019b. Dynamic Ratio Correlation of N:P on the Abundance of Blue-green Algae in an Intensive System in a White

- Shrimp (*Litopenaeous vannamei*) Pond. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 236, 012017. 1st International Conference on Fisheries and Marine Science. 6 October 2018, Surabaya, Indonesia.
- Masithah, E.D., D. D. Nindarwi, D. Husin dan T. Rahma. 2019c. Dynamic Ratio Correlation of N:P Toward Phytoplankton Explosions in Intensive Systems of White Shrimp Pond. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 236, 012017. 1st International Conference on Fisheries and Marine Science. 6 October 2018, Surabaya, Indonesia
- Mayo, A.W. 1997. Effects of temperature and pH on the Kinetic Growth of Unialga *Chlorella vulgaris* cultures containing bacteria. *Water Environ. Res.* 69, 64–72.
- Minillo, A., Godoy, H.C., and Fonseca G.G. 2013. Growth performance of microalgae exposed to CO₂. *J. Clean Energy Technol.* 1, 110.
- Montechiaro, F., Hirschmugl, C.J., Raven, J.A., and Giordano, M. 2006. Homeostasis of cell composition during prolonged darkness. *Plant Cell Environ.* 29, 2198–2204.
- Munir, N., Imtiaz, a., Sharif, N. and Naz, S. 2015. Optimization of Growth Conditions of Different Algal Galurs and Determination of Their Lipid Contents. *Journal of Animal and Plant Science.* 25(2): 546–553.
- Mustafa, Y., Fagiri, A., Salleh, A. and El-nagerabi, S. A. F. 2013. Influence of chemical and environmental factors on the growth performance of *Spirulina platensis* galur SZ100. *Journal of Algal Biomass Utilization.* 4(2): 7–15.

- O'Neal, S.W., and Lembi, C.A. 1995. Temperature and irradiance effects on growth of *Pithophora* *gonia* (Chlorophyceae) and *Spirogyra* sp. (Charophyceae). *J. Phycol.* 31, 720.
- Ota, M., Kato, Y., Watanabe, H., Watanabe, M., Sato, Y., Smith, R.L., and Inomata, H. 2009. Fatty acid production from a highly CO₂ tolerant alga, *Chlorocuccum littorale*, in the presence of inorganic carbon and nitrate. *Bioresour. Technol.* 100, 5237.
- Pachiappan, P., Prasath, B.B., Perumal, S., Ananth, S., Devi, A.S., Kumar, S.D., and Jeyanthi, S. 2015. Isolation and culture of microalgae. In S. Perumal, A.R. Thirunavukkarasar, and P. Pachiappan, Eds., *Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture*. New Delhi, India: Springer, p. 1.
- Paes, C.R., Faria, G.R., Tinoco, N.A., Castro, D.J., Barbarino, E., and Lourenc,o, S.O. 2016. Growth, nutrient uptake and chemical composition of *Chlorella* sp. and *Nannochloropsis oculata* under nitrogen starvation. *Latin Am. J. Aquat. Res.* 44, 275.
- Pulz, O., and Gross, W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65,635–648.
- Rachlin, J.W., and Grosso, A. 1991. The effects of pH on the growth of *Chlorella vulgaris* and its interactions with cadmium toxicity. *Arch. Environ. Cont. Toxicol.* 20, 505.
- Rai, S.V., and Rajashekhar, M. 2014. Effect of pH, salinity and temperature on the growth of six species of marine phytoplankton. *J. Algal Biomass Utiln.* 5, 55.

- Ranga Rao, A., Sarada, R., and Ravishankar, G.A. 2007. Influence of CO₂ on growth and hydrocarbon production in *Botryococcus braunii*. *J. Microbiol. Biotech.* 17, 414.
- Rao, A.R., Dayananda, C., Sarada, R., Shamala, T.R., and Ravishankar, G.A. 2007. Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. *Bioresour. Technol.* 98, 560.
- Ras, M., Steyer, J.-P., and Bernard, O. 2013. Temperature effect on microalgae: A crucial factor for outdoor production. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.* 12, 153–164.
- Rastogi, R.P., Madamwar, D., and Pandey, A. 2017. *Algal Green Chemistry: Recent Progress in Biotechnology*. Netherlands: Elsevier.
- Ravelonandro P.H., Ratianarivo D.H., Joannis-Cassan, C., Isambert, A., and Raherimandimby, M. 2011. Improvement of the growth of *Arthrospira (Spirulina) platensis* from Toliara (Madagascar): Effect of agitation, salinity and CO₂ addition. *Food Bioprod. Proces.* 89, 209.
- Redfield, A.C. 1963. The influence of organisms on the composition of seawater. *Sea* 2, 26–77.
- Ren, H.Y., Liu, B.F., Ma, C., Zhao, L., and Ren, N.Q. 2013. A new lipid-rich microalga *Scenedesmus* sp. strain R-16 isolated using Nile red staining: Effects of carbon and nitrogen sources and initial pH on the biomass and lipid production. *Biotechnol. Biofuels.* 6, 143.
- Ren, T. 2014. *Primary Factors Affecting Growth of Microalgae Optimal Light Exposure Duration and Frequency*. Thesis. Iowa State University.

- Renaud, S. M., Thinh, L.-V., Lambrinidis, G. and Parry, D. L. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture*. 211(1-4): 195–214.
- Sa´nchez, J., Ferna ´ndez-Sevilla, J., Acie ´n, F., Cero ´n, M., Pe ´rezParra, J., and Molina-Grima, E. 2008a. Biomass and lutein productivity of *Scenedesmus almeriensis*: Influence of irradiance, dilution rate and temperature. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 79, 719.
- Salih, F.M. 2011. Microalgae tolerance to high concentrations of carbon dioxide: A review. *J. Environ. Protect.* 2, 648.
- Satyantini, W.H., Agustono, Arimbi, W. Rahmawati, **E. D. Masithah**. 2019. The addition of *Spirulina platensis* extract in feed on gill histopathology and survival rate of *Osphronemus gouramy* after infected with *Aeromonas hydrophila*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 1036, 012008. 1st International Conference on Fisheries and Marine Science. 29 September 2021, Surabaya, Indonesia.
- Sforza, E., Gris, B., de Farias Silva, C., Morosinotto, T., and Bertucco, A. 2014. Effects of light on cultivation of *Scenedesmus obliquus* in batch and continuous flat plate photobioreactor. *Chem. Eng.* 38, 211.
- Sigaud, T.C.S., and Aidar, E. 1993. Salinity and temperature effects on the growth and chlorophyll-a content of some planktonic algae. *Boletim do Instituto Oceanogra ´fico.* 41, 95.

- Singh, S., and Singh P. 2014. Effect of CO₂ concentration on algal growth: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 38, 172.
- Slocombe SP, and Benemann JR. 2016. *Microalgal Production for Biomass and High-Value Products*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., and Isambert, A. 2006. Optimization of *Nannochloropsis oculata* growth using the response surface method. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 81, 1049.
- Starckx, S. 2012. A Place in the Sun—Algae is the Crop of the Future, According to Researchers in Geel, Flanders Today. Available at: www.flanderstoday.eu/current-affairs/place-sun (accessed July 1, 2017).
- Strizh, I., Popova, L., and Balnokin, Y.V. 2004. Physiological aspects of adaptation of the marine microalga *Tetraselmis* (*Platymonas*) *viridis* to various medium salinity. *Russian J. Plant Physiol.* 51, 176–182.
- Sugiati, N., E.D. Masithah, W. Tjahjaningsih and A.A. Abdillah. 2019. The Increase in β -carotene Content in *Dunaliella salina* from the Application of Different Light Intensities. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 236, 012001. 1st International Conference on Fisheries and Marine Science. 6 October 2018, Surabaya, Indonesia.
- Sujatha, K., and Nagarajan, P. 2014. Effect of salinity on biomass and biochemical constituents of *Spirulina platensis* (Geitler). *Int. J. Plant Protec.* 7, 71.
- Suyono, E.A., Haryadi, W., Zusron, M., Nuhamunda, M., Rahayu, S., and Nugroho, A.P. 2015. The effect of salinity on growth,

- dry weight and lipid content of the mixed microalgae culture isolated from glagah as biodiesel substrate. *J. Life Sci.* 9, 229.
- Takagi, M., Karseno, and Yoshida, T. 2006. Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells. *J. Bio. Bioeng.* 101, 223.
- Travieso Córdoba, L., Domínguez Bocanegra, A.R., Rincoñán Llorente, B., Sañchez Hernández, E., Benítez Echegoyen, F., Borja, R., Raposo Bejines, F., and Colmenarejo Morcillo, M.F. 2008. Batch culture growth of *Chlorella zofingiensis* on effluent derived from two-stage anaerobic digestion of two-phase olive mill solid waste. *Electron. J. Biotechnol.* 11, 12.
- Van Wageningen, J., Miller, T.W., Hobbs, S., Hook, P., Crowe, B., and Huesemann, M. 2012. Effects of light and temperature on fatty acid production in *Nannochloropsis salina*. *Energies* 5, 731.
- Visviki, I., and Palladino, J. 2001. Growth and cytology of *Chlamydomonas acidophila* under acidic stress. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.* 66, 623.
- Visviki, I., and Santikul, D. 2000. The pH tolerance of *Chlamydomonas applanata* (Volvocales, Chlorophyta). *Arch. Environ. Cont. Toxicol.* 38, 147.
- Vo, T., and Tran, D. 2014. Effects of salinity and light on growth of *Dunaliella* isolates. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 2, 208.
- Von Alvensleben, N., Magnusson, M., and Heimann, K. 2016. Salinity tolerance of four freshwater microalgal species

- and the effects of salinity and nutrient limitation on biochemical profiles. *J. Appl. Phycol.* 28, 861.
- Wei, L., Huang, X., and Huang, Z. 2015. Temperature effects on lipid properties of microalgae *Tetraselmis subcordiformis* and *Nannochloropsis oculata* as biofuel resources. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 33, 99–106.
- Weisse, T., and Stadler, P. 2006. Effect of pH on growth, cell volume, and production of freshwater ciliates, and implications for their distribution. *Limnol. Oceanogr.* 51, 1708.
- Wu, Z., Duangmanee, P., Zhao, P., Juntawong, N., and Ma, C. 2016. The effects of light, temperature, and nutrition on growth and pigment accumulation of three *Dunaliella salina* strains isolated from saline soil. *Jund. J. Microbiol.* 9, 1.
- Xin, L., Hong-Ying, H., and Yu-Ping, Z. 2011. Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. under different cultivation temperature. *Bioresour. Technol.* 102, 3098.
- Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G., and Ying-xue, S. 2010. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresour. Technol.* 101, 5494.
- Yang, J., Li, B., Zhang, C., Luo, H., and Yang, Z. 2016. pH associated changes in induced colony formation and growth of *Scenedesmus obliquus*. *Fundam. Appl. Limnol./Arch. Für Hydrobiol.* 187, 241.

- Yang, Y., and Gao, K. 2003. Effects of CO₂ concentrations on the freshwater microalgae, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyta). *J. Appl. Phycol.* 15, 379.
- Ying, K., Zimmerman, W., and Gilmour, D. 2014. Effects of CO and pH on growth of the microalga *Dunaliella salina*. *J. Micro. Biochem. Technol.* 6, 167.
- Zhang, D., Ng, Y., and Phang, S. 1997. Composition and accumulation of secondary carotenoids in *Chlorococcum* sp. *J. Appl. Phycol.* 9, 147.
- Zhu, L. 2014. Sustainable Biodiesel Production from Microalgae Cultivated with Piggery Wastewater. PhD Thesis. University of Vaasa.
- Zhu, L., Zhang, X., Ji, L., Song, X., and Kuang, C. 2007. Changes of lipid content and fatty acid composition of *Schizochytrium limacinum* in response to different temperatures and salinities. *Process Biochem.* 42, 210.

TENTANG PENULIS



Dr. ENDANG DEWI MASITHAH, M.P., Ir.

Lahir di kota Malang pada tahun 1969. Menempuh pendidikan sarjana (S1) di Universitas Brawijaya (1988-1992), pendidikan master (S2) di institusi yang sama (1994-1997) dan doktor (S3) di Universitas Airlangga (2004-2008). Sejak menempuh pendidikan sarjana, penulis sudah tertarik pada bidang planktonologi, sehingga tema-tema penelitian yang ditekuni sampai saat ini berkisar tentang plankton, terutama lingkungan plankton. Sebelum menjadi dosen, penulis bekerja sebagai analis kualitas air di laboratorium tambak udang. Di sinilah penulis mendapatkan cukup banyak referensi tentang plankton langsung dari lapang. Pendalaman tentang plankton dilanjutkan saat studi dengan mengambil Thesis bertema tentang keragaman plankton perairan. Tahun 1997, penulis menjadi dosen di Universitas Airlangga dengan tugas mengajar mata kuliah Planktonologi dan beberapa mata kuliah lain yang berkaitan dengan plankton diantaranya Budidaya Pakan Alami (Plankton), Bioremediasi, Biologi Perairan, Bioteknologi Hasil Perikanan dan Biologi Molekuler. Pada saat studi doctoral, penulis mendalami tentang plankton, khususnya *Microcystis aeruginosa* dengan tema ekstraksi enzim bakteri pektinolitik sebagai upaya pengembangan probiotik

penekan pertumbuhan plankton *Microcystis aeruginosa* penghasil racun microcystin yang merusak hepatopankreas udang dan metabolit geosmin penyebab cita rasa lumpur ikan.

Setelah menyelesaikan studi S3, penulis mendapatkan kesempatan berkisah dalam bidang manajemen dengan tugas sebagai Ketua Departemen Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan (2010), Wakil Dekan Bidang Kerjasama Fakultas Perikanan dan Kelautan (2010-2015), Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan (2015-2020) dan kemudian sebagai Direktur Sumber Daya Manusia Universitas Airlangga (2020-sekarang). Disamping kegiatan di dalam kampus, kiprah keilmuan di luar kampus juga diikuti dengan aktif di Himpunan Ahli Pengelola Pesisir Indonesia (HAPPI) dan Mitra Bahari Jawa Timur.

Karya-karya tulis terkait pengembangan keilmuan tetap dihasilkan melalui penelitian dan artikel-artikel pada jurnal dengan tema berkisar pada ekologi plankton. Keanekaragaman plankton di perairan yang bervariasi mulai sungai, payau dan laut, sampai peranan plankton dalam produktivitas budidaya menjadi tema karya tulisnya.

Plankton : Manfaat, Bahaya & Bagaimana Mendapatkannya



Plankton merupakan komponen penting dalam kehidupan perairan. Hal ini berkaitan dengan fungsi biologisnya menempati posisi paling awal dari piramida makanan atau rantai makanan dengan fungsinya sebagai produsen. Melalui kemampuannya melakukan fotosintesa, plankton memainkan peranan sebagai produsen primer terbesar terutama di laut. Sementara itu, zooplankton merupakan konsumen primer, yang menghubungkan antara produsen primer dengan level piramida makanan yang lebih tinggi. Keberadaan plankton sangat menentukan tingkat kesuburan perairan sehingga tidak mengherankan bila disebutkan bahwa plankton sangat menentukan produktifitas perairan dan menentukan daya dukung (*carrying capacity*) suatu perairan untuk mendukung dihasilkannya biomassa atau hasil panen budidaya. Berbagai upaya dilaksanakan untuk meningkatkan kuantitas dan juga kualitas plankton sebagai pakan alami ikan dan bagaimana perannya dalam mendukung kehidupan perairan dan budidaya perikanan. Dengan demikian, penelitianpun berkembang dan menghasilkan inovasi yang berkesinambungan.

Di samping manfaat yang penting dalam kehidupan, beberapa jenis plankton juga berbahaya bagi kehidupan perairan maupun hewan atau manusia yang mengkonsumsi produk budidaya yang dihasilkan di lingkungan tercemar plankton berbahaya. Dampak plankton berbahaya bisa disebabkan metabolit beracun yang dihasilkan, penurunan kualitas produk seperti ikan bau tanah, dominansi plankton tertentu yang nilai nutrisinya rendah ataupun penyakit yang ditimbulkan. Seiring itu pula, upaya untuk menangani plankton berbahaya juga selalu berkembang dan menghasilkan inovasi-inovasi yang terangkai sebagai perkembangan budidaya.



Airlangga
University
Press

ISBN 978-602-473-955-3



9 786024 739553