53

BUDIDAYA PAKAN ALAMI MIKROALGAE DAN ROTIFER

BUKU AJAR
MATA KULIAH BUDIDAYA PAKAN ALAMI

Oleh:
DR. IR. SUMINTO, M.Sc.
Pengampu Mata Kuliah Budidaya Pakan Alami

Telah dibiayai oleh:
Proyek Sistem Perencanaan Penyusunan Program dan Penganggaran, DEPDIKNAS

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
2005

UPT-PUSTAK...
No. Dart: 018/BA/FPIK/C1
Tgl. : 22-7-2009

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR ii
DAFTAR ISI iii
DAFTAR TABEL v
DAFTAR GAMBAR vi
I. PENDAHULUAN 1
1.1. Pentingnya Mempelajari Budidaya Pakan Alami 1
1.2. Definisi dan Batasan 2
1.3. Sejarah Budidaya Pakan Alami 2
1.4. Tujuan dan Kegunaan Budidaya Pakan Alami 3
1.5. Hubungan dengan Disiplin Ilmu Lainnya 4
II. PERAN JARING-JARING MAKANAN PERAIRAN 5
2.1. Konsep Dasar Jaring-Jaring Makanan 5
2.2. Peran dan Manfaat Fitoplankton 5
2.3. Peran dan Manfaat Zooplankton 8
III. IDENTIFIKASI MIKROALGAE 11
3.1. Prinsip Dasar Identifikasi 11
3.2. Observasi Mikroalgae 12
3.3. Klasifikasi Mikroalgae 14
IV. KULTUR MIKROALGAE 31
4.1. Prinsip Dasar dan Manfaat didalam Budidaya Perikanan 31
4.2. Nilai Nutrisi Sel Microalgae 33
4.3. Pengukuran Fisika-Kimia Air dan Media Kultur 34
4.4. Sumber Kontaminan didalam Kultur 39
4.5. Pengelolaan Air Kultur 40
4.6. Perlengkapan Kultur Mikroalgae 43
4.7. Bibit Sel (Inokulant) Mikroalgae 45
4.8. Prosedur kultur algae 49
4.9. Perhitungan Kelimpahan Mikroalgae 50
4.10. Pola Pertumbuhan Sel Dalam Kultur 54
V. KULTUR ROTIFER 56
5.1. Prinsip Dasar Kultur Rotifer 56
5.2. Peranan Rotifer Dalam Pemeliharaan Larva 56

5.3. Siklus Hidup Rotifer 58
5.4. Strain Rotifer 60
5.5. Kondisi Fisika dan Kimia yang Dibutuhkan Rotifer Air Tawar 62
5.6. Kebutuhan Makanan Rotifer Air Laut 62
5.7. Kebutuhan Makanan Rotifer Air Tawar 63
5.8. Bakteri Pada Kultur Rotifer 64
5.9. Nutrisi Rotifer 64
5.10. Kultur Rotifer Skala Kecil 65
5.11. Kultur Batch Skala Kecil 65
5.12. Kultur Batch Skala Besar 68
5.13. Kultur Massal Chemostat 68
5.14. Kultur Massal dengan Kepadatan Tinggi 69
5.15. Penyimpanan Biomassa Rotifer 69

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jenis Species Mikroalgae Yang Digunakan Untuk Kultur Invertebrata.....8

Tabel 2. Komposisi Asam Lemak dari Beberapa Spesies Fitoplankton yang Diguhakan Untuk Pakan di Jepang (Angka Menunjukan % Asam Lemak) 33

Tabel 3. Analisa Komponen Nutrien Dari Enam Spesies Mikroalga (% Berat Kering).....34

Tabel 4. Komposisi Kimia Media Kultur Chaetoceros gracilis (Suminto and Hirayama, 1997) 36

Tabel 5. Komposisi Kimia Media Kultur *Isochrysis galbana* dan *Pavlova lutheri* (Suminto and Hirayama, 1997).....36

Tabel 6. Komposisi Kimia Media Kultur *Chaetoceros, Skeletonema, Tetraselmis* dan *Chlorella* (Sato and Serikawa, 1968). 37

Tabel 7. Komposisi Kimia Media Conwy untuk Kultur *Chlorella, Tetraselmis* dan *Isochrysis* (Waine, 1974).....37

Tabel 8. Komposisi Kimia Pada F/2 Medium Dan Provasoli ES Medium yang Biasa Digunakan Untuk Kultur Kebanyakan Mikroalgae.....38

Tabel 9. Analisa Komponen Nutrien Dari Enam Spesies Mikroalga (% Berat Kering).....39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kalibrasi dengan Menggunakan Mikrometer Okuler 13
Gambar 2. Klasifikasi Algae Berdasarkan Pigmentasi (Warna Pigmen) 15
Gambar 3. Berbagai Bentuk Sel Mikroalga 16
Gambar 4. Contoh Algae dari Golongan *Cyanobacteria* (alga biru hijau) 20
Gambar 5. Contoh Algae dari Golongan DIATOMAE 22
Gambar 6. Isochrysis – Golden Brown 23
Gambar 7. Nannochloropsis – Golden Brown 24
Gambar 8. Porphyridium – Red 26
Gambar 9. Euglena 26
Gambar 10. Cryptomonas 27
Gambar 11. Ceratium 27
Gambar 12. Peridinium 27
Gambar 13. Paramecium 30
Gambar 14. Colpoda 30
Gambar 15. Euplotes 30
Gambar 16. Amoeba 30
Gambar 17. Bakteri 30
Gambar 18. Nematoda 30
Gambar 19. Rotifer 30
Gambar 20. Sumber Kontaminan yang mempengaruhi Kuttur Mikroalgae 41
Gambar 21. Penyaringan Air Secara mekanik 42
Gambar 22. *Streaking Method* Untuk Isolasi Sel Mikroalga 47
Gambar 23. 48
Gambar 24. Haemacytometer 51

I. PENDAHULUAN

1.1. Pentingnya Mempelajari Budidaya Pakan Alami

Budidaya ikan secara komersial dari berbagai jenis species-species diantaranya bivalve, crustacea, dan ikan bertulang belakang (finfish) akan mengalami permasalahan yang serius apabila didalam proses produksinya tidak tersedia pakan alami yang kontinyu baik kuantitas maupun kualitasnya. Hal ini dikarenakan masih banyak jenis kultivan budidaya yang masih tergantung input pakan dari pakan organisme hidup, terutama untuk pemeliharaan kultivan dalam bentuk larva. Dilain pihak, budidaya pakan alami harus menyesuaikan dengan kebutuhan kultivan ikan yang dipelihara. Untuk memenuhi kebutuhan kultivan tersebut disyaratkan sifat fisiologi jenis/species pakan hidup yang dikultur, ukuran, kecepatan reproduksi, kemampuan tumbuh, dan nilai nutrisi dari setiap jenis pakan alami.

Dengan perkembangan kebutuhan pangan penduduk dunia saat ini, maka peningkatan budidaya perikanan sangat diperlukan untuk memenuhi kebutuhan gizi. Pengembangan budidaya perikanan baik di perairan tawar, payau maupun laut diberbagai negara merupakan suatu bentuk revolusi pertumbuhan industri baru. Kenyataan ini selaras dengan bertambahnya populasi penduduk dunia dari tahun ke tahun, permintaan akan pangan dunia, potensi produksi perikanan yang sudah mencapai *maximum sustainable yield*, produksi pertanian yang semakin menurun akibat pergeseran tata guna lahan untuk keperluan lain dan permintaan kualitas hidup perkapita meningkat. Dengan demikian permintaan akan pangan dari sumber hewani juga akan meningkat, lebih-lebih dilihat dari kandungan protein ikan yang mempunyai kandungan asam amino yang lebih lengkap dari pada sumber protein hewani lainnya.

Untuk memenuhi kebutuhan gizi dari sumber protein hewani ikan diperlukan pengembangan budidaya perikanan dan untuk mendukung produksi sesuai dengan kuantitas maupun kualitas produk ikan, maka diperlukan ketersediaan pakan alami. Penyediaan pakan alami baik kuantitas, kualitas dan kontinuitas diperlukan pengetahuan tentang teknik dasar budidaya pakan alami yang baik agar kontunyuitas produksi ikan hasil budidaya dapat terpenuhi sesuai dengan yang diharapkan.

1.2. Definisi dan Batasan

Budidaya (*aqua culture*) berasal dari kata Aqua "air" dan culture "budidaya". Budidaya merupakan usaha pemeliharaan yang dilakukan didalam air (sistem perairan). Budidaya (*aqua culture*) adalah suatu kegiatan produksi, proses, dan pemasaran dari organisme yang bersifat hidup dari sistem perairan.

Pakan alami adalah bahan pakan yang diambil dari organisme hidup dalam bentuk dan kondisinya seperti sifat-sifat keadaan di alam.

Organisme pakan alami (*life food organism*) yaitu organisme hidup yang dipelihara dan dimanfaatkan / diperuntukkan sebagai pakan didalam proses budidaya perikanan.

Dengan demikian budidaya pakan alami didefinisikan sebagai suatu kegiatan produksi, prosesing dan pemasaran organisme pakan hidup dari suatu sistem perairan yang dapat dimanfaatkan untuk pakan kultivan dalam kegiatan budidaya perikanan. Sedangkan sebagai batasan aspek pokok bahasan yang dipelajari didalam budidaya pakan alami ini adalah jenis-jenis dari golongan fitoplankton, zooplankton, annelida, ikan, dan beberapa larva yang bersifat planktonik seperti dari larva bivalve. Dalam cakupan bahasan dalam mata kuliah budidaya pakan alami disini difokuskan kepada dari golongan fitoplankton (mikroalgae) dan zooplankton (rotifer, artemia, daphnia dan Molna).

1.3. Sejarah Budidaya Pakan Alami √

Perkembangan budidaya perikanan dimulai sejak 500 SM dilaksanakan di negeri China. Milne (1973) dan bukunya Fish and shellfish farming in coastal waters dinyatakan bahwa tesis pertama tentang aqua culture ditulis oleh Fan Lie pada tahun 475 SM. Perkembangan selanjutnya dari negeri Yunani dan Romawi dimana telah dilakukan kultur Oister dan usaha-usaha yang serupa dengan budidaya perikanan lainnya pada abad 500 SM, walaupun budidaya perikanan sudah lama dimulai namun perkembangannya masih lambat/ ketinggalan jika dibandingkan dengan bidang pertanian karena bidang pertanian sudah ada 10000 tahun sebelum budidaya perikanan dimulai, meskipun kedua bidang tersebut masih bersifat konvensional.

Sejarah dimulainya kultur pakan alami dilakukan oleh Allen dan Nelson pada tahun 1910, dengan kultur diatom untuk pakan Invertebrata (Ryther and Goldman, 1975). Pada tahun 1939, Bruce dkk., melakukan yang pertama kali mengisolasi algae (*Isochrysys galbana* dan *Pieremimonas grossii*) untuk makanan Oister (Ucles, 1980).

Pada tahun 1940, Dr. Fujinaga / Dr. Hudinaga disebut sebagai pioner di Jepang dalam mengkultur diatom, *Skeletonema costatum* yang hasilnya digunakan untuk makanan Udang Jepang (*Penaeus japonicus*). Kemudian pada dekade 1950-an, Takesi Ito pertama kali mengkultur rotifer yang digunakan untuk pakan larva ikan Sidat (*Anguilla japonica*). Pada tahun 1965, rotifer digunakan sebagai pakan terbaik untuk Red Sea Bream (*Pagruss major*). Dari tahun tersebut dimulailah kultur massal rotifer secara besar-besaran baik di Jepang maupun di negara-negara lainnya (Hirata, 1979).

Pada dekade tahun 1970, Artemia Reference Center (ARC) yaitu suatu lembaga pada State University of Ghent (Belgium) beberapa penelitinya terutama Dr, Sorgeloos, Dr. Persoone, dan Dr. Dumont telah mengembangkan artemia sebagai pakan alami yang digunakan untuk pakan Ikan dan udang budidaya pada air tawar, payau maupun air laut. Perkembangan selanjutnya, hasil produksi kista dan atau Cyst artemia dapat diawetkan dalam bentuk kaleng dan didistribusikan ke penjuru dunia.

1.4. Tujuan dan Kegunaan Budidaya Pakan Alami

Hasil produksi pakan dari budidaya pakan alami yang berupa pakan hidup untuk kebutuhan budidaya perikanan mempunyai tujuan yang sangat strategis yaitu untuk :

1. Memanfaatkan potensi sumberdaya tanah dan air dalam kegiatan produksi yang mempunyai nilai tambah ekonomi lebih tinggi.
2. Mendukung proses produksi didalam budidaya perikanan baik berbentuk larva, juvenil, maupun dewasa dalam rangka kesuksesan hasil produksi yang diharapkan.
3. Memenuhi input produksi sebagai satu kesatuan proses produksi budidaya perikanan didalam kesinambungan usaha.
4. Memberikan kesempatan kepada masyarakat didalam penyediaan kesempatan lapangan pekerjaan di bidang budidaya perikanan.
5. Memberikan peningkatan dan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang budidaya perikanan pada umumnya dan budidaya pakan alami pada khususnya.
6. Menyediakan pakan sebagai sumber energi utama larva ikan yang dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi saat ini masih belum bisa digantikan oleh jenis produk dari pakan lainnya.

Adapun berdasarkan manfaat dan penggunaannya, kultur pakan alami dapat digolongkan dalam penggunaan sebagai berikut :

1. Pakan alami yang digunakan untuk organisme-organisme kultivan yang lebih tinggi dari strata food chain (jenis fitoplankton dimakan jenis zooplankton, benthos, dan larva ikan)
2. Pakan alami yang digunakan bagi ikan untuk tujuan budidaya.
3. Pakan alami yang digunakan bagi ikan untuk tujuan penangkapan
4. Pakan alami yang digunakan bagi ikan untuk tujuan rekreasi dan hiasan.
5. Pakan alami yang digunakan bagi biota-biota non ikan untuk tujuan perhiasan (seperti untuk budidaya kerang mutiara).
6. Pakan alami yang digunakan untuk obat-obatan dan kosmetika

1.5. Hubungan dengan Disiplin Ilmu Lainnya

Dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi perikanan saat ini, hubungan antara bidang budidaya pakan alami dengan ilmu perikanan secara umum adalah sangat erat. Untuk mendorong teknologi budidaya pakan alami agar berkembang didalam memenuhi peran dan fungsinya diperlukan dukungan penguasaan disiplin ilmu antara lain, biologi umum, ekologi perairan, planktonologi, mikrobiologi, limnologi, oceanografi, fisiologi organisme air, dasar-dasar akuakultur, larvanologi, ilmu nutrisi dan manajemen budidaya air tawar, payau, maupun laut. Sedangkan ilmu pengetahuan sebagai pendukung kesuksesan usaha produksi pakan alami ini diperlukan semua yang terkait terutama dengan penyediaan sarana dan prasarana budidayanya.

II. PERAN JARING-JARING MAKANAN PERAIRAN

2.1. Konsep Dasar Jaring-Jaring Makanan

Didalam pengetahuan "Budidaya Pakan Alami" yang akan dipelajari memerlukan pengetahuan jaring makanan di perairan, baik perairan tawar, payau, maupun laut. Budidaya pakan alami tidak hanya ditujukan pada ketrampilan penggunaan teknologi untuk menumbuhkan pakan alami saja, tetapi juga untuk mendukung kesuksesan penerapan teknologi itu dalam memproduksi pakan alami yang berguna bagi kultivan budidaya, termasuk pengetahuan tentang lingkungan-lingkungan perairan dan hubungannya dengan jaring-jaring makanan didalam lingkungan tersebut. Oleh karena jaring makanan didalam suatu lingkungan perairan merupakan pengetahuan dasar dari alur makanan dan pemangsanya, maka tujuan dari untuk memproduksi pakan alami adalah untuk mengkultur sel-sel algae yang akan disediakan untuk makanan dari jenis-jenis zooplankton yang pada akhirnya akan digunakan untuk makanan bagi jenis-jenis larva ikan dan invertebrate. Walaupun pengetahuan jaring makanan yang ada didalam lingkungan perairan alami tidak secara komplit diadopsi dalam penerapan budidaya pakan alami, tetapi pengetahuan dasar ini memberikan masukan hubungan biota sebagai makanan dan biota sebagai pemangsa yang terjadi pada kondisi keseimbangan hidup dalam perairan. Didalam beberapa kondisi lingkungan budidaya pakan alami ada jenis-jenis makanan yang mendapatkan substitusi atau pengkayaan bahan makanan tidak hidup, untuk mendapatkan efesiensi biaya. Dilain pihak kondisi ini juga memungkinkan adanya penurunan kualitas bahan pakan dan kualitas media kultur. Sehubungan dengan budidaya pakan alami yang akan dibahas selanjutnya adalah terutama yang berkaitan dengan kehidupan *"Fitoplankton dan Zooplankton"*.

2.2. Peran dan Manfaat Fitoplankton

Fitoplankton atau mikroalgae mempunyai peran mensintesa bahan organik dalam lingkungan perairan. Mikroalgae melakukan aktifitas fotosintesa untuk membentuk molekul-molekul karbon komplek melalui larutan nutrien dari beberapa sumber yang diasumsi dengan bantuan pencahayaan sinar matahari/ energi lampu neon untuk membentuk sel-sel baru menajdi produk biomassa. Di perairan alami mikroalgae dominan memberikan konstribusi untuk memproduksi biomassa dalam sistim perairan

laut, estuarin dan sungai. Walaupun sedikit pengaruh kombinasi dari sejumlah sel-sel fitoplankton akan dikonsumsi oleh hewan baik tingkat rendah maupun tingkat tinggi didalam ekosistem perairan yang digambarkan melalui jaring-jaring makanan (food web). Alur darjpada jaring makanan menerima energinya dari hasil sintesa biomonukuler melalui tumbuhan mikroskopis, sebagai contoh produksi pada permukaan perairan laut kira-kira 50 gr C/m²/tahun dimana diasumsikan semua fitoplankton yang ada di dalam sistim perairan melakukan proses fotosintesa. Dengan demikian peran fitoplankton didalam sistim perrairan mempunyai kontribusi terhadap sistim produksi biomassa.

Di dalam proses metabolisme perairan fitoplankton juga mempunyai peran sebagai pendaur ulang nutrien. Sel mikroalgae mengabsorbsi nutrien-nutrien primer seperti; amoniak , urea, nitrat, phospat, potassium dan metal seperti Fe, Cu, Mg, Zn, Mo, dan Fanadium. Selain itu beberapa vitamin seperti vitamin B12, vitamin B6 dan vitamin B1 merupakan unsur esensial yang mendukung pertumbuhan beberapa species atau kebanyakan species mikroalgae. Pergerakan dan perubahan nutrien oleh fitoplankton didalam perairan laut biasanya berbentuk tidak permanen ketika regenerasi untuk membentuk sel-sel mikroalgae berjalan sangat lambat. Yang diikuti juga dengan lambatnya proses kematian dan dekomposisi sel. Sedangkan sumber-sumber kelarutan nutrien lainya yang berada dalam sistim perairan berasal dari nutrien yang dibawa oleh aliran air hujan dari daerah daratan (run off), dibawa oleh air hujan itu sendiri dan kondisi pengadukan (up welling). Di dalam akuarium air laut, tawar dan atau media kultur di bak pemeliharaan, fitoplankton mempunyai peran membantu kondisi kualitas air melalui pergerakan nutrien yang dibentuknya dan pengaturan pH air. Di dalam pengaruhnya setiap sel algae adalah merupakan suatu biofilter hidup didalam ekosistem perairan (Bold and Wynne, 1985).

Dilihat dari sudut nutrisi mikroalgae merupakan suatu sumber mikro nutrien, vitamin, minyak dan elemen mikro untuk komunitas perairan. Selain itu mikroalgae kaya akan sumber makro nutrien seperti protein, karbohidrat dan khususnya asam lemak esensial. Mikroalgae juga mempunyai kandungan pigmen esensial seperti astaxanthin, zeaxanthin, chllorophil, phycocyanin dimana akan memperkaya pewarnaan dan kesehatan didalam kehidupan ikan dan invertebrata. Sebagai misal dari tris elemen iodin didalam sistim peraian telah diberikan oleh sel mikroalgae dan itu merupakan zat penting bagi kemampuan daya tahan tubuh semua organisme hidup di perairan. Pada dekade terakhir ini mikroalgae, spirulina menjadi terkenal

karena untuk makanan kesehatan bagi manusia dan disajikan dalam bentuk powder, pelet, atau dimanfaatkan sebagai suatu pakan tambahan di dalam makanan hewan dan makanan ikan. Beberapa species mkroalgae juga digunakan sebagai pakan didalam kultur moluska seperti clams, mussel, poister dan scallop, karena hewan-hewan tersebut bersifat filter feedes. Kombinasi dari beberapa species algae juga dimanfaatkan didalam marine culture golongan crustacea, dan masih banyak lagi pemanfaatan fitoplankton baik didalam bidang perikanan maupun bidang kesehatan lainnya (Okauchi, 1981). Sehubungan dengan mokroalgae dapat ditumbuhkan dengah cepat dan memainkan peran penting dalam pendaur ulangan nutrien serta mampu melakukan keseimbangan pH didalam sistim perairan, maka mikroalgae dikatakan sebagai sumber dari beberapa produk. Hasil akhir daripada sel mikroalgae sebagai sumber beberapa produk tersebut diantaranya produk minyak, produk bahan kimia, produk bahan obat-obatan, produk polysakarida dan lebih penting daripada itu fungsi dalam sistem perairan adalah sebagai kontrol tingkat kesuburan, serta treatment limbah. Di dalam sistim budidaya perikanan, pemanfaatan mikroalgae ini juga mempunyai efek terapi terhadap ikan dan organisme perairan lainnya dimana beberapa mikroalgae bisa menghasilkan semacam antibiotik dan atau didalam proses metabolismenya mengeluarkan zat anti bakterial. Sebagai contoh spirulina digambarkan mempunyai kemampuan mendorong sistim kekebalan ikan, invertebrata dan ayam. Kemudian suatu lembaga penelitian di Amerika (National Centre Institute) dari species green algae (ganggang hijau biru) menghasilkan glycolipida yang melawan aktif terhadap virus AIDS, dan perkembangan penelitian akhir-akhir ini bagaimana untuk meningkatkan glycolipida tadi di dalam kultur telah dan sedang dilakukan oleh beberapa perusahaan famasi di beberapa negara maju.

Berikut ini bebrapa manfaat species mikroalgae untuk budidaya perairan.

Tabel 1. Jenis Species Mikroalgae Yang Digunakan Untuk Kultur Invertebrata

Species	Aquatic Animal Cultured
Isochrysis galbana – golden brown, motitile size 4-6 µm	rotifers, clams, oysters, conch, sea cucumbers, sea hares
Nannochloropsis oculata, golden brown,non motile size 9-10 x 12-14 µm	rotifers, brine shrimp, daphnia, moina, marine shrimp.
Tetraselmis sp. – green, motile, size 2-10 µm	freshwater and marine rotifers
Nitzchia sp. – diatom, non motile	abalones, turbans
Navicula sp. – diatom, non motile	abalones, turbans
Phaeodactylum tricornutum – diatom, motile size 3-5 x 12-25 µm	spiny lobsters, clams, oysters
Thalliasiosira sp. – diatom, non motile size 11-14 x 14-17 µm	clams, oysters, scallops, larval shrimp
Chaetoceros gracilis – diatom, non motile size 14 x 17 µm	clams, oysters, sea urchins, sea squirts, marine shrimp, brine shrimp, conch, sea cucumbers

2.3. Peran dan Manfaat Zooplankton

Zooplankton adalah hewan perairan mikroskopik atau sebagian darinya hewan pemangsa ukuran relatif besar didalam suatu lingkungan ekosistim perairan yang memakan fitoplankton dan bentuk kedua dari link jaring makanan. Hewan zooplankton ini mempunyai sifat berenang pasif, terapung atau menentang aliran air dan sebagian kecil yang mempunyai kemampuan untuk berenang. Didalam sistem perairan, zooplankton berenang atau melakukan pergerakan ke arah konsentrasi populasi fitoplankton untuk melakukan pemangsaan sebagai sumber makanannya. Pada umumnya zooplankton yang dikoleksi mempunyai pengaruh terhadap hasil pengurangan fitoplankton didalam sistem perairan pada periode waktu tertentu. Pada periode tahunan, siklus plankton ditunjukkan melalui blooming fitoplankton, karena terjadi suatu perubahan temperatur, salinitas, lama pencahayaan matahari, intensitas cahaya dan daya dukung nutrien. Pada saat itu setelah waktu istirahat yang pendek untuk beberapa hari atau minggu populasi zooplankton akan bergerak ke arah fitoplankton yang blooming itu. Biasanya fitoplankton dan zooplankton pada kondisi blooming merupakan satu kesatuan yang terjadi pada kelompok species plankton yang melakukan aktivitas bersamaan didalam siklus musiman. Kadang-kadang didalam suatu sistem perairan terjadi blooming fitoplankton yang tidak diikuti dengan bertambahnya populasi zooplankton. Hal ini akan terjadi apabila didalam perairan tersebut kondisi saat itu zooplankton jumlah populasi terbatas. Zooplankton yang ada tidak menyukai jenis fitoplankton tersebut, dan kondisi lingkungan, variabel fisika dan

kimia lingkungannya tidak sesuai dengan kondisi zooplankton, serta kemungkinan terjadinya hambatan proses migrasi /intoduksi jenis zooplankton dari satu tempat ke tempat tersebut.

Manfaat daripada pakan alami zooplankton adalah sebagai pakan hidup primer bagi kultivan budidaya ikan. Pada beberapa tahun akhir-akhir ini, rotifer dan naupli artemia telah dimanfaatkan sebagai pakan awal untuk larva ikan dan crustacea. Pada usaha budidaya komersial untuk pembenihan udang dan ikan sering menggunakan zooplankton seperti copepoda, protozoa dan larva dari oyster dan clam tetapi untuk jenis-jenis rotifer daphnia dan artemia mempunyai efektifitas yang lebih baik. Sebagai contoh, rotifer mempunyai kemampuan pertumbuhan yang lebih baik dan berguna untuk budidaya perikanan karena mempunyai kecepatan reproduksi ukuran kecil, kecepatan berenang lambat, kualitas nutrisi tinggi dan mudah di kutur. Sebagai contoh dari sejumlah ribuan rotifer dengan pemberian pakan yang baik dapat menghasilkan lebih dari jutaan rotifer dalam waktu 5 – 7 hari pada kondisi temperatur air 25oC. Di beberapa negara, rotifer digunakan untuk makanan lebih dari 60 species ikan laut, beberapa species ikan air tawar dan 18 crustacea (Hirayama and Hagiwara, 1995). Di Jepang produksi salah satu unit kegiatan budidaya perikanan dapat menghasilkan produk rotifer sebanyak 2,5 ton pertahun dan ini dapat digunakan untuk memelihara 6,3 juta *red sea bream* dan *black sea bream* (panjang 12 – 16 mm) dan 4 juta rajungan crab (*Portunus trituberculatus*) (Fukusho, 1989). Apabila diperhitungkan bahwa dalam kultur larva *red sea bream* dilaksanakan selama 25 hari didalam bak pembenihan, satu individu larva mengkonsumsi rotifer berkisar 12.000 – 15.000 / hari dan akan menghasilkan pertumbuhan panjang rata-rata 10 mm.

Zooplankton juga merupakan kontrol sumber pakan hidup di dalam hatchery (pembenihan). Secara komposisi biokomia dari rotifer dan artemia terjadi suatu hubungan yang tertutup terhadap material yang dimakanannya. Rotifer dan artemia memakan makanan yang spesifik untuk menghasilkan asam lemak, asam amino, vitamin dan bahkan antibiotik yang dapat ditransfer ke larva ikan dan invertebrata. Sebagai contoh kejadian yang telah dicatat di dalam suatu hatchery ikan "clownfish", dimana dimana didalam bak-bak larva terjadi pengurangan vitamin B12 dalam media yang akhirnya untuk beberapa minggu kematian larva ikan tersebut cukup tinggi. Hal ini disebabkan oleh pakan hidup yang diberikan ke ikan itu berupa rotifer yang kekurangan vitamin B_{12}. Kekurangan vitamin B_{12} pada rotifer ini sebagai akibat dari pakan fitoplankton (*Pyramimonas* sp.) yang dapat dikultur dan tumbuh baik dengan

tanpa trace nutrien vitamin B_{12}. Sebagai akibatnya larva ikan juga mengalami defisiensi vitamin B_{12} dalam tubuhnya yang pada akhirnya akan mempengaruhi tingkat kelulushidupan larva.

Selain trace nutrien vitamin, juga kandungan lemak esensial (HUFA) dalam pakan larva baik dari jenis fitoplankton maupun zooplankton perlu diperhatikan, karena akan mempengaruhi tingkat kelulushidupan dan daya imun larva ikan.

III. IDENTIFIKASI MIKROALGAE

3.1. Prinsip Dasar Identifikasi

Identifikasi taksonomi mikroalgae adalah sangat penting kaitannya dengan memproduksi pakan alami algae didalam memenuhi kualitas nutrisi yang konsisten. Selain itu kegiatan budidaya pakan alami mikroalgae mungkin bisa terjadi kontaminasi dengan mikroorganisme baik dari jenis mikroalgae maupun bakteri, protozoa dan lainnya. Sel mikroalgae didalam kulutur bisa juga terjadi perubahan-perubahan bentuk, ukuran, pergerakan selama perbedaan-perbedaan pada bagian tahapan siklus hidupnya atau karena kondisi kultur. Dengan adanya kemungkinan terjadinya perubahan ini, maka diperlukan identifikasi jenis/ species yang hendak dipilihnya sebagai jenis/ species yang akan diproduksi dalam kultur pakan alami. Dengan demikian pengetahuan tentang identifikasi jenis/ species mikroalgae baik untuk menanggulangi kontaminan lain maupun yang belum diketahui speciesnya sangat diperlukan bagi ahli budidaya perikanan pada umumnya dan ahli pakan alami pada khususnya.

Mikroalgae diklasifikasikan sebagai tumbuhan karena mengandung chlorophyl dan mempunyai suatu jaringan sel menyerupai tumbuhan tingkat tinggi. Sebagian besar penyelidikan akhir-akhir ini klasifikasi pada semua jenis sel tunggal dari organisme eukaryotik dan multi sel algae (termasuk mikroalgae) masuk dalam Kingdom Pratista. Melalui pendekatan suatu skema klasifikasi, species mikroalgae didefinisikan dari kesamaan morfologi dan biokimia. Beberapa genus mempunyai spesies yang hampir sama atau karakteristik strainnya yang digunakan didalam kegiatan budidaya pakan alami. Kesulitan-kesulitan lain dalam indentifikasi mikroalgae ini yaitu beberapa strain tidak dapat dibedakan dengan melihat dibawah pencahayaan mikroskop dan teknik biokimia. Namun demikian secara umum dengan menggunakan pencahayaan mikroskop, mengelompokan didalam group taksonomi secara ciri-ciri makro dan suatu detail deskripsi dan hasil foto morfologi dari sel algae yang penting dengan organisme-organisme lainnya dapat dilakukan identifikasi jenis/ species mikroalgae yang kita butuhkan untuk tujuan budidaya pakan alami. Berikut ini akan dijelaskan secara ringkas tentang penggunaan mikroskop untuk mengobservasi sel mikroalgae, prinsip dasar untuk klasifikasi mikroalgae, dan contoh-contoh golongan mikroalgae yang umumnya digunakan untuk budidaya serta organisme kontaminan.

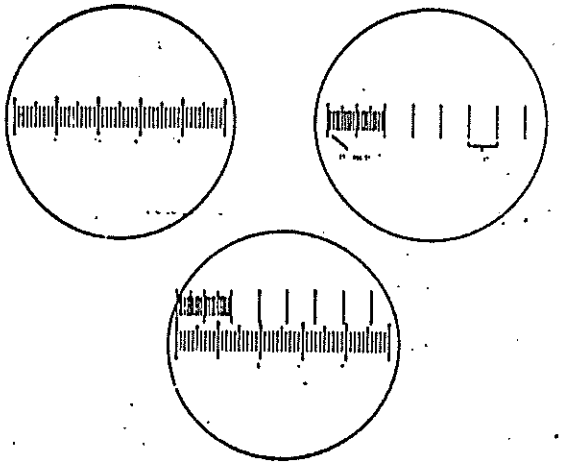
3.2. Observasi Mikroalgae

Suatu komponen alat pencahayaan mikroskop merupakan langkah penting untuk melakukan identifikasi sel mikroalgae. Setiap species mempunyai suatu ukuran dan bentuk spesifik yang digunakan sebagai dasar identifikasi dan pengukuran detail hasil observasi struktur sel. Untuk keperluan mendeterminasi karakteristiknya banyak para ahli menggunakan *Microscope Illumination* (gambar). Sebagaimana pada gambar, mikroskop terdiri dari tiga bagian penting yaitu : lensa okuler, lensa obyektif, tempat untuk menaruh preparat diilihat (stage), sumber cahaya, diaphram sebagai tempat masuknya cahaya, dan alat pengukur fokus lensa. Unti-unit penting dalam satu kesatuan mikroskop ini merupakan satu rangkaian alat mikroskop yang perlu mendapatkan perhatian bagi pemakainya. Lensa okuler terletak dibagian dekat mata yang disebut *eyepiece*, mempunyai variasi pembesaran antara 4 – 15 x. Okuler mikroskop yang mempunyai 2 lensa disebut mikroskop binokular untuk memudahkan dalam penglihatan kita terhadap preparat/specimen yang dilihat. Specimen yang terlihat terdiri dari okuler dipantulkan melalui lensa obyektif yang letaknya dibawah lensa okuler dan diatas specimen. Lensa obyektif ini basanya mempunyai pembesaran dari 4x, 10x, 20x, 40x, dan 100x. untuk menggunakan lensa obyektif dengan 100x biasanya menggunakan *emersion oil* agar specimen yang kita lihat menjadi lebih jelas. Didalam prosedur pemeliharaan alat mikroskop, setelah lensa obyektif digunakan untuk pembesaran 100x dengan oil, perlu dilakukan pembersihan lensa dengan pembersih kertas lensa khusus untuk pembersih lensa. Agar supaya mendapatkan gambar yang lebih baik dari pembiasan sinar dari lensa obyektif ke lensa okuler, maka perlu penyesuaian (*adjusment*) sinar dengan menggerakkan tombol fokus secara hati-hati.

Preparat specimen perlu mendapatkan perhatian khusus didalam meneteskan sejumlah sampel air media yang mengandung sejumlah sel algae. Kelimpahan sel mikroalgae per satuan volume perlu dicermati, karena pada sampel media yang mengandung jumlah jutaan sel/ml akan menyulitkan didalam perhitungan dan pengidentifikasian karakteristik bentuk sel. Dalam hal tingkat kepadatan sel yang tinggi dan sulit dihitung, maka diperlukan pengenceran sampel yang akan digunakan untuk preparat specimen. Demikian juga didalam jumlah air sampel diteteskan diatas *slide glass* yang terlalu banyak akan menyulitkan bagi posisi *cover glass* yang tidak stabil dan pada akhirnya baik ukuran volume air sampel yang diamati maupun bentuk

specimen yang akan dilihat akan menjadi bias dari yang sebenarnya. Sehubungan dengan kendala-kendala tersebut diatas, maka bagi pemula diperlukan pelatihan yang kontinyu untuk mencapai hasil yang baik seperti yang diharapkan.

Pengukuran bentuk sel biasanya dilakukan didalam mengidentifikasi algae maupun untuk mengetahui ukuran panjang dan lebar sel. Untuk mengetahui ukuran sel diperlukan alat tambahan yang ditempelkan pada lensa okuler yang disebut *okuler micrometer* dan *stage micrometer* sebagai bentuk pengganti *slide glass* dimana mempunyai garis-garis skala yang terukur panjangnya (misalnya ukuran nyata setiap jarak dari garis satu ke garis skala lain dalam satuan ukuran panjang mikrometer (µm). pada mikrometer okuler terdapat satuan jumlah skala yang panjang sebenarnya tidak diketahui, dengan cara mengkalibrasi dari skala pada *stage micrometer obyektif* ke skala mikrometer okuler, maka akan dapat dihitung panjang dan lebar specimen yang diukur. Di dalam menghitung panjang dan lebar specimen terlebih dahulu kita harus mendapatkan data perbandingan dengan skala di *stage micrometer* dengan skala di *okuler micrometer* pada masing-masing pembesaran lensa obyektif dan lensa okuler. Untuk memudahkan dalam pelaksanaan gunakan pembesaran lensa okuler yang sama selama melakukan observasi specimen, misalnya pembesaran 10x, seangkan untuk data perbandingan kedua lensa, digunakan pembesaran lensa obyektif masing-masing 10x, 20x 40x dan bila diperlukan 100x. Dari masing–masing data perbandingan untuk setiap pembesaran lensa obyektif dijadikan faktor koreksi (k) didalam perhitungan panjang dan lebar specimen yang sebenarnya. Apabila faktor koreksi, k = 0,75 dan skala sebenarnya pada stage micrometer = 0,01 mm per skala, maka panjang/lebar persatuan skala okuler = 0,75 x 0,01 mm = 0,0075 mm atau 7,5 µm (gambar 1).



Gambar 1. Kalibrasi dengan Menggunakan Mikrometer Okuler

Pengukuran sel algae yang psif (tidak motil) tidak memerlukan perlakuan pada sampel air, tetapi apabila sel algae yang akan diukur bersifat motil / bergerak karena mempunyai flagella seperti *Tetraselmis* sp, *Chlamydomonas* sp, *Isochrisis* sp, dan lainnya, maka perlu dilakukan pewarnaan (*staining*) terlebih dahulu. Larutan bahan pewarna yang cukup baik adalah *Lugol's solution* dan atau *Acridine orange*. Larutan *Lugol's* adalah campuran dari Iodin (I) dan Potasium Iodin (KI), masing-masing 5 gram dan 10 gram dalam 100 ml H_2O yang berwarna coklat bercahaya. Setelah diteteskan pada sampel sel algae, maka warna sel akan berubah berwarna *purple* serta sel algae yang motil akan berhenti.

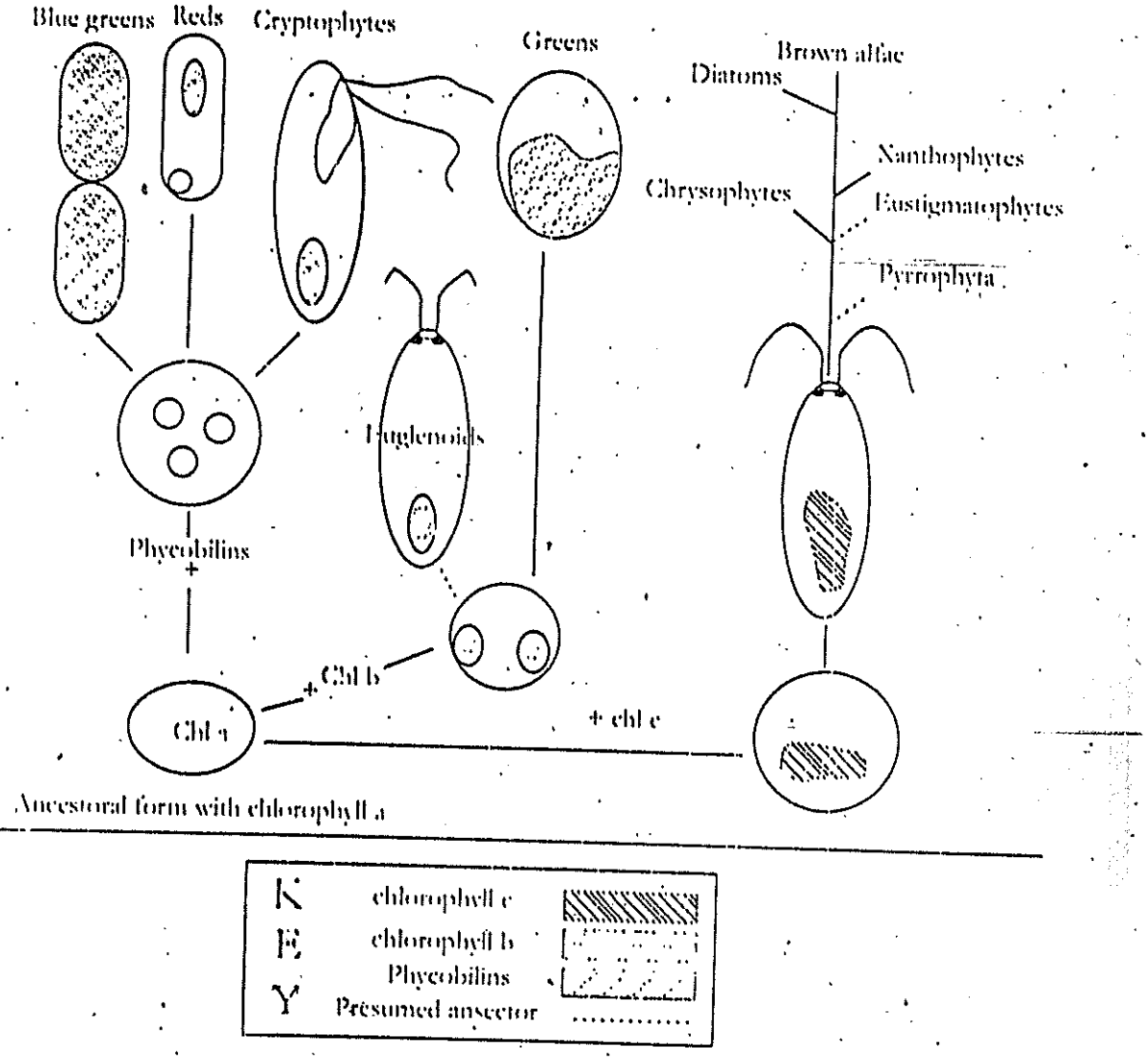
3.3. Klasifikasi Mikroalgae

Sel mikroalgae dapat dibagi menjadi 10 divisi dan 8 divisi algae merupakan bentuk unicellulair. Dari 8 divisi algae, 6 divisi telah digunakan untuk keperluan budidaya perikanan sebagai pakan alami. Setiap divisi mempunyai karakteristik yang ikut memberikan andil pada kelompoknya, tetapi spesies-spesiesnya cukup memberikan perbedaan-perbedaan dari lainnya. Ada 4 karakteristik yang digunakan untuk membedakan divisi mikro algae yaitu ; tipe jaringan sel, ada tidaknya flagella, tipe komponen fotosintesa, dan jenis pigmen sel. Selain itu morfologi sel dan bagaimana sifat sel yang menempel berbentuk koloni / filamen adalah merupakan informasi penting didalam membedakan masing-masing group.

Dinding-dinding sel alga biasanya tersusun dari beberapa bentuk polysakarida komplek. Karena komposisi sebuah diniding sel algae biasanya membutuhkan determinasi biokimia, maka sifat ini bukan merupakan faktor kunci bagi para pelaku b udidaya untuk mengidentifikasi mikroalgae. Flagella adalah hal yang penting dalam mengidentifikasi mikroalgae. Karakteristik flagella lebih mudah untuk dibedakan pada spesies-spesies yang motil. Jumlah flagella dan letaknya, baik dibagian belakang sel, atau pada bagian samping, digunakan untuk membedakan banyak spesies mikroalgae. Senyawa penyimpanan fotosintesis bervariasi mulai dari zat tepung sampai lemak tergantung pada jenis organisme dan bagaimana ia dibudidayakan. Namun, untuk menentukan jenis senyawa penyimpanan tersebut membutuhkan teknik-teknik biokimia yang tidak praktis bagi sebagian besar aplikasi.

Sifat yang paling berguna untuk mengidentifikasi algae adalah warna atau pigmen mereka (gambar 2.) . Pigmen-pigmen tersebut menyerap energi cahaya dan mengubahnya menjadi biomassa melalui proses fotosintesis. Ada 3 kelas utama

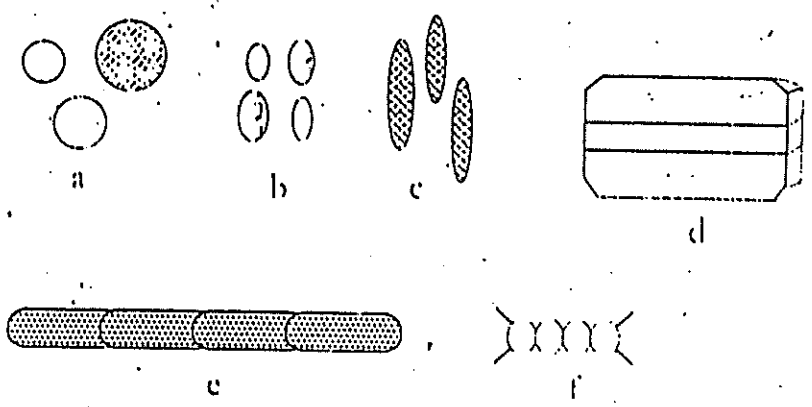
pigmen dan berbagai kombinasi yang memberikan warna khas pada algae. Kel utama dari pigmen hijau adalah chlorophil, dengan clorophil *a* sebagai pigmen utama yang menyerap gelombang panjang biru dan merah sebagai cahaya yang penting untuk fotosintesis.



Gambar 2. Klasifikasi Algae Berdasarkan Pigmentasi (Warna Pigmen)

Sebagian besar carotenoid lebih bersifat melindungi pigmen lain daripada ikut secara langsung dalam reaksi fotosintesis. Dalam setiap difisi, terdapat pengecualian seperti fukosantin pada diatome dan alga coklat, yang sangat aktif dalam proses fotosintesa. Fikobilin berwarna merah (fikoeretrin) atau biru (fikocyanin) dan menangkap gelombang panjang yang tidak ditangkap oleh pigmen-pigmen lainnya dan melewati energi yang ditangkap pada chlorophyll *a* untuk fotosintesis. Beberapa

variasi dari bentuk sel dapat ditemukan pada alga (gambar 3.), unicellular dapat berbentuk bola (gambar 3.a), pipih (gambar 3.b), memanjang (gambar 3.c) atau berbentuk kotak (gambar 3.d). sebagai tambahan beberapa unicellular memiliki lengan atau duri yang merupakan perluasan dari dinding sel. Banyak mikroalgae yang membentuk filamen-filamen sel yang menghubungkan satu sama lain (gambar 3.e). Mikroalgae lainnya membentuk koloni-koloni sel yang memiliki suatu pola yang khusus dan ditentukan oleh jumlah sel (gambar 3.f). Kondisi kultur akan menentukan morfologi suatu organisme dan variasinya.



Gambar 3. Berbagai Bentuk Sel Mikroalga

Kunci identifikasi mikroalgae untuk menentukan hingga pada tingkat genus dan spesies dapat dilihat dalam buku Prescott (1970); Dawes (1981), Bold and Wynne (1985).

Cyanobacteria atau alga biru hijau

Cyanobacteria atau alga biru hijau adalah kelompok alga yang paling primitif dan memiliki sifat-sifat bakterial dan alga. Kelompok ini adalah organisme prokariotik yang tidak memiliki struktur-struktur sel seperti yang ada pada alga lainnya, contohnya nukleus dan chloroplast. Mereka hanya memiliki chlorophil *a*, namun mereka juga memiliki variasi phycobilin seperti halnya carotenoid. Pigmen-pigmen ini memiliki beragam variasi sehingga warnanya bisa bermacam-macam dari mulai hijau sampai ungu bahkan merah. Alga biru hijau tidak pernah memiliki flagell, namun beberapa filamen membuat mereka bergerak ketika berhubungan dengan permukaan. Unicell, koloni, dan flamen-filamen cyanobacteria adalah kelompok yang umum dalam

budidaya, baik sebagai makan maupun sebagai organisme pengganggu. Dibawah ini adalah 3 kelompok yang paling umum dalam lingkungan budidaya.

Spirulina (air tawar, air laut, gambar 4.a) filamennya berukuran lebar 5 -6 µm dan panjang 20-200 µm berbentuk spiral. Dapat berwarna biru-hijau atau merah. Spirulina merupakan bahan penyusun dalam banyak pellet ikan dan pakan invertebrata.
Oscillatoria (Air tawar, air laut, gambar 4.b) filamennya berukuran lebar 2-20 µm dan panjang 10-200 µm, tergantung pada spesiesnya. Bentuknya dapat berbentuk lurus, bengkok, berbentuk kurva, atau lingkaran tidak teratur. Dia bergerak dengan cara meluncur dengan lambat dan dapat menempel atau mengapung, tapi tidak merupakan perenang bebas. Dia dapat terlihat berwarna hijau, biru-hijau, ungu, atau merah.Oscilatoria biasanya bersifat merugikan.
Anabaena (Air tawar, air laut, gambar 4.c) filamennya berukuran lebar 3-10 µm dan panjang 10-200 µm, berbentuk lurus, bengkok, atau hampir menggulung. Selnya berbentuk manik-manik atau berbentuk tong. Anabaena adalah organisme yang merigganggu dan tidak dimakan oleh kebanyakan ikan budidaya.

Alga Hijau (Chlorophyta)

Alga hijau adalah kelompok alaga yang paling maju dan memiliki banyak sifat-sifat tanaman tingkat tinggi. Kelompok ini adalah oraganisme prokaryotik dan memiliki struktur-struktur sel khusus yang dimiliki sebagaian besar alga. Mereka memiliki kloroplas, DNA–nya berada dalam sebuah nukleus, dan beberapa jenisnya memiliki flagella. Dinding sel alga hijau sebagian besar berupa sellulosa, meskipun ada beberapa yang tidak mempunyai dinding sel. Mereka mempunyai klorophil a dan beberapa karotenoid, dan biasanya mereka berwarna hijau rumput. Pada saat kondisi budidaya menjadi padat dan cahaya terbatas, sel akan memproduksi lebih banyak klorophil dan menjadi hijau gelap. Kebanyakan alga hijau menyimpan zat tepung sebagai cadangan makanan meskipun ada diantaranya menyimpan minyak atau lemak. Pada umumnya unicel merupakan sumber makanan dalam budidaya dan filamen-filamennya merupakan organisme pengganggu.

Tetraselmis (Air tawar, air laut, gambar 4.d) berupa orgaisme hijau motil, lebar 9-10 µm, panjang 12-14 µm, dengan empat flagel yang tumbuh dari sebuah alur pada bagian belakang anterior sel. Sel-selnya bergerak dengan cepat di air dan tampak

bergoncang pada saat berenang. Ada empat cuping yang memanjang dan memiliki sebuah titik mata yang kemerah-merahan. Pyramimonas adalah organisme yang berkaitan dekat dengan alga hijau dan memiliki penampakan serta sifat berenang yang identik dengan tetraselmis. Kedua organisme ini adalah sumber makan yang populer untuk mengkultur rotifer, kerang, dan larva udang.

Clamidomonas (Air tawar, air laut, gambar 4.e) berwarna hijau dan motil, lebar 6,5-11 µm, panjang 7,5-14 µm, dengan dua flagela yang tumbuh didekat sebuah benjolan pada bagian belakang sel. Sel-selnya bergerak dengan cepat di air dan tampak bergoncang pada saat berenang. Selnya berbentuk spiral sampai memanjang dan biasanya memiliki sebuah titik mata merah. Pada saat sel betina terbentuk, sel induk akan kehilangan flagelanya dan mengeluarkan sebuah kantong transparant disekitar tubuhnya. Sel induk akan terbelah, dan membentuk 2-8 sel anak betina. Organisme ini digunakan sebagai pakan untuk rotifer.

Nannocloris (Air tawar, air laut, gambar 4.f) berwarna hijau tidak motil dan tidak memiliki flagel, berukuran sangat kecil dengan diameter 1,5-2,5 µm, sel berbentuk bola, dan memiliki sedikit ciri untuk membedakannya.Chloroplasnya berbentuk U dalam sel yang sehat. Sel-selnya cenderung untuk mengapung dalam budidaya, berupa suspensi dalam kondisi tanpa aerasi sehingga menguntungkan bagi usaha budidaya. organisme ini adalah sumber makan yang populer untuk mengkultur rotifer, kerang, dan larva udang.

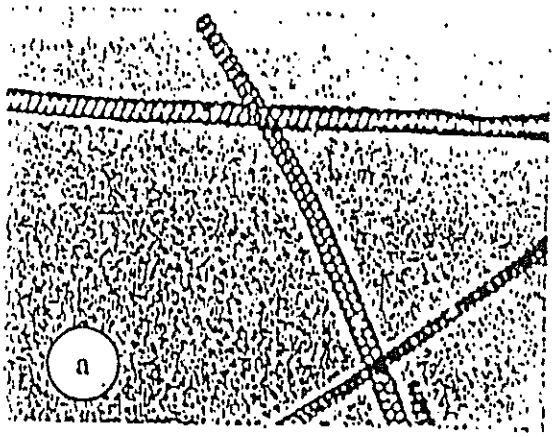
- **Dunaliella** (Air tawar, air laut, gambar 4.g) berwarna hijau motil dengan dua flagella, yang muncul didekat bagian belakang sel, lebar 5-8 µm, panjang 7-12 µm, Sel-selnya bergerak dengan cepat di air dan tampak bergoncang pada saat berenang. Selnya berbentuk melingkar hingga memanjang dan biasanya memiliki sebuah titik mata merah. Terdapat kloroplas yang mengisi 2/3 bagian selnya. Reproduksi dilakukan dengan cara sederhana dimana sel induk membelah menjadi dua sel anak betina. organisme ini adalah sumber makan yang populer untuk mengkultur rotifer, kerang, dan larva udang.

Chlorella (Air tawar, air laut, gambar 4.h) berwarna hijau dan tidak motil serta tidak memiliki flagella. Selnya berbentuk bola berukuran sedang dengan diameter 2-10 µm, tergantung spesiesnya, dengan chloroplas berbentuk cangkir. Selnya bereproduksi dengan membentuk dua sampai delapan sel anak didalam sel induk yang akan dilepaskan dengan melihat kondisi lingkungan. Merupakan pakan untuk rotifer dan dapnia.

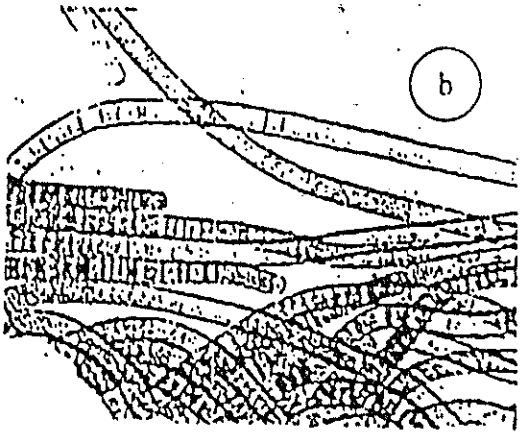
Scenedesmus (Air tawar, gambar 4.i) berwarna hijau dan tidak motil dan biasanya tersusun atas 4 sel. Hidup berkoloni, berukuran lebar 12-14 µm, dan panjang 15-20 µm. Selnya berbentuk elips hingga lanceolate (panjang dan ramping), beberapa spesies memiliki duri atau tanduk. Setiap sel menghasilkan sebuah koloni bersel 4 setiap bereproduksi. Seringnya bersifat sebagai pengganggu. Organisme ini tidak umum dibudidayakan sebagai sumber pakan.

Ankistrodesmus (Air tawar, gambar 4.j). Organisme ini berwarna hijau dan tidak motil dan biasa bersel satu, panjang, selnya berbentuk cresent tipis. Biasanya berkoloni empat hingga delapan dengan membentuk sudut satu dengan lainnya. Organisme ini seringkali mengkontaminasi perairan dan dapat hidup pada pipa saluran air, air dalam kendi, dan air tandon. Tidak umum dikultur sebagai pakan.

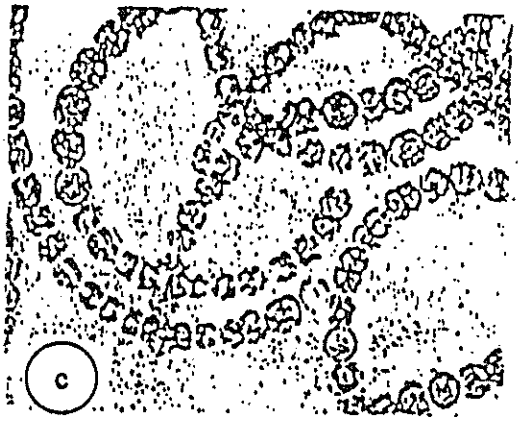
Selenastrum (Air tawar, gambar 4.k). Organisme ini berwarna hijau dan tidak motil, berukuran lebar 2-4 µm dan panjang 8-24 µm. Kadang-kadang digunakan sebagai pakan dapnia.



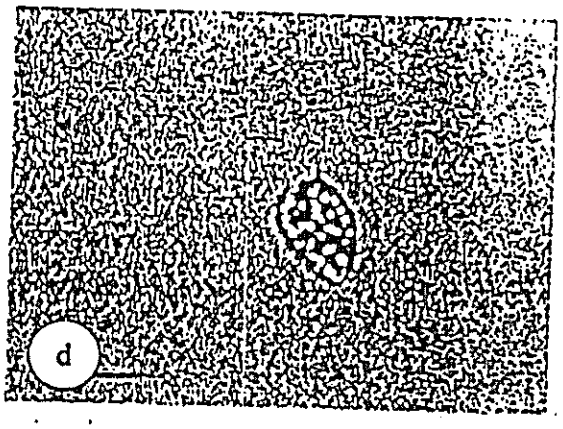
Spirulina - Blue green



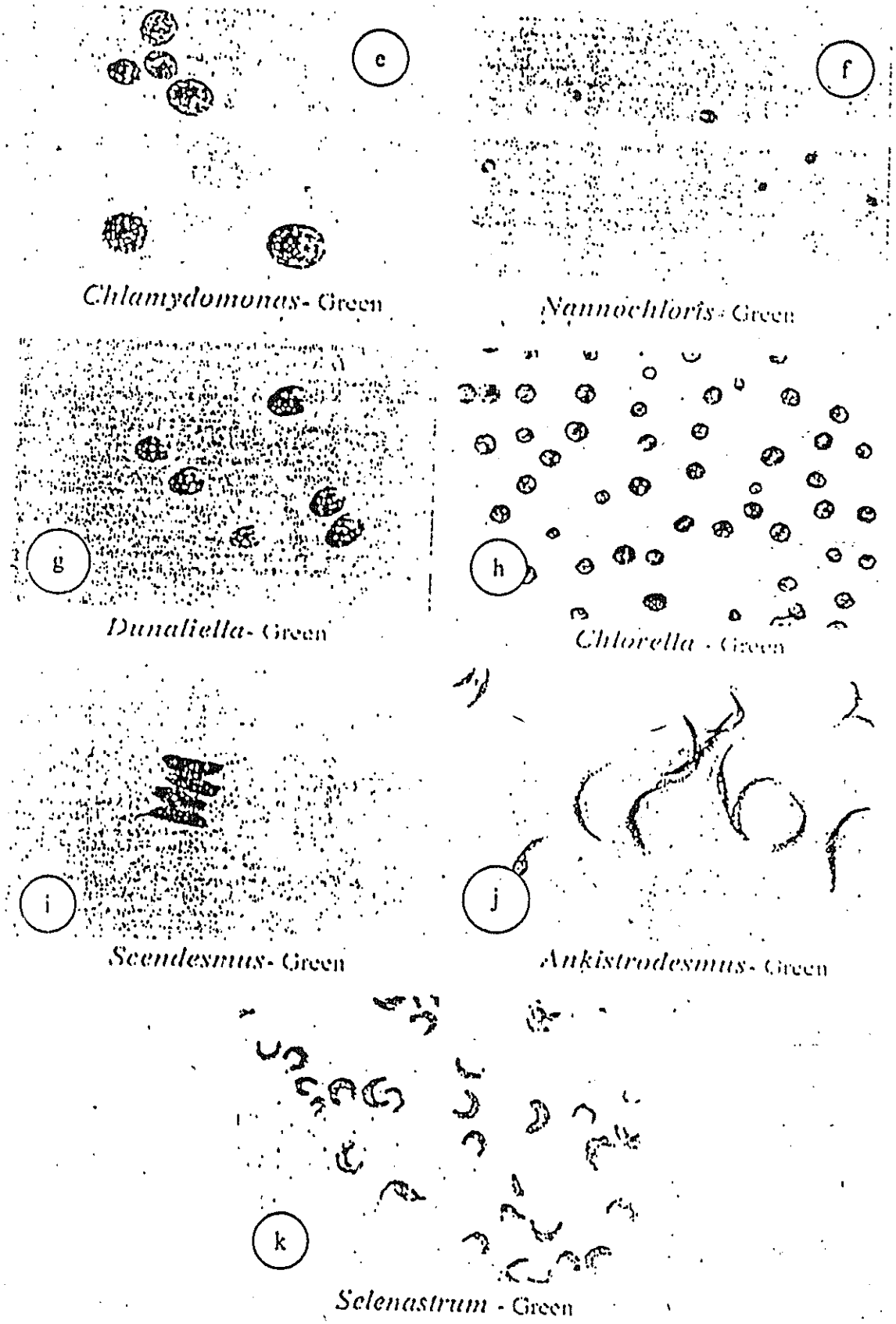
Oscillatoria-blue green



Anabaena - Blue green



Tetraselmis - Green



Gambar 4. Contoh Algae dari Golongan *Cyanobacteria* (alga biru hijau)

DIATOMAE – *CHRYSOPHYTA*

Diatom adalah kelompok alga yang unik dengan dinding sel yang terbentuk dari silikon dioksida. Dinding selnya dipenuhi banyak lubang sehingga tampak seperti ayakan (saringan) dan secara komersial dapat digunakan sebagai perlengkapan dalam beberapa peralatan filter. Dua kelompok utama didasarkan atas dinding sel yang simetris, baik bilateral maupun radial. Memiliki ciri-ciri tanaman tingkat tinggi dan termasuk dalam organisme eukaryotik. Tidak memiliki flagella kecuali pada beberapa spesies tertentu. Semua jenis memiliki kloroplas dan DNA mereka berada di dalam nukleus. Mereka hanya memiliki chlorophyl *a* dan *c* serta beberapa carotenoid seperti fucoxanthin sehingga membuat mereka berwarna kecoklatan. Organisme ini biasa digunakan sebagai pakan dalam budidaya.

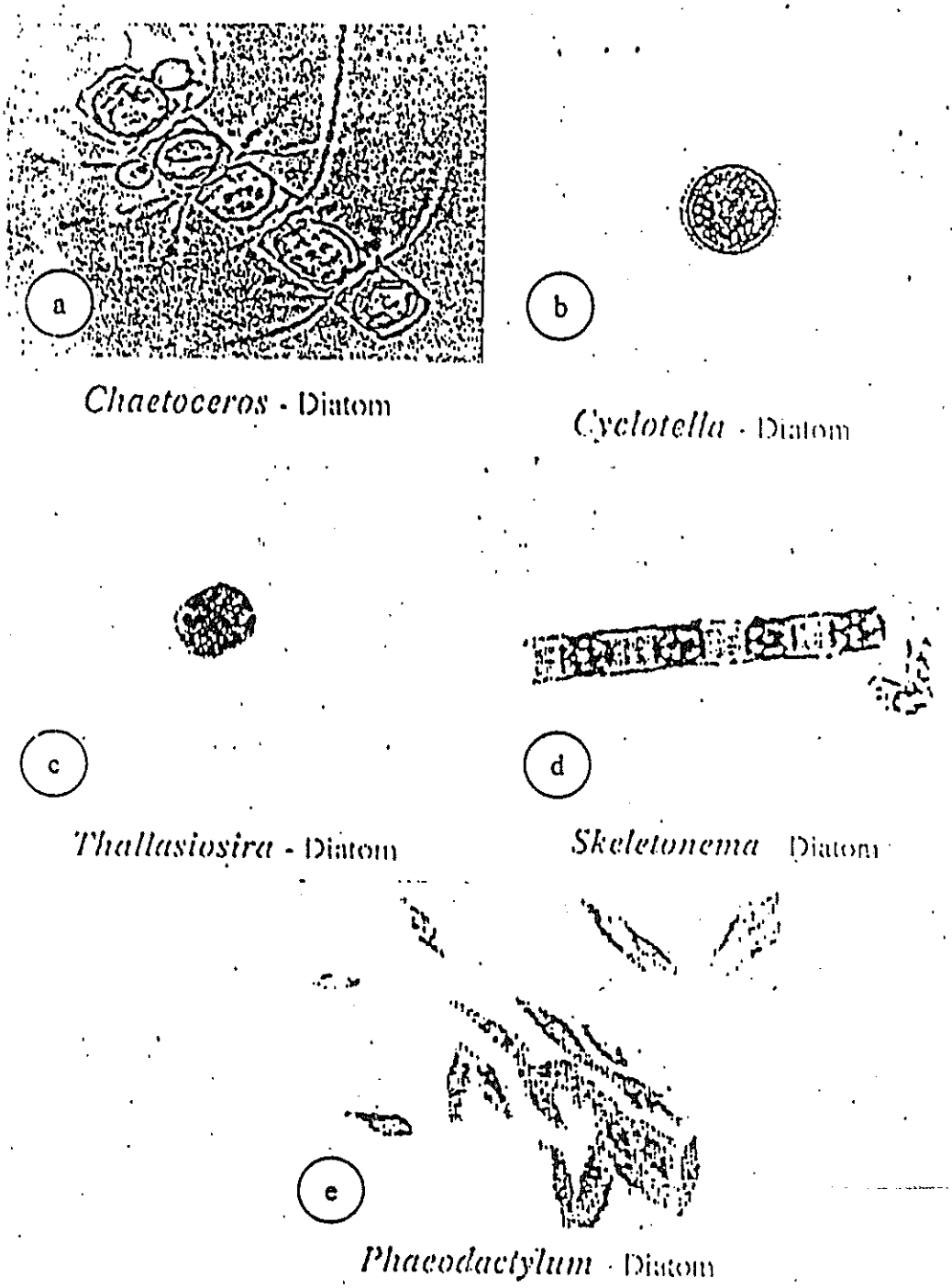
Chaetoceros (Air laut, Gambar 5.a). Organisme ini merupakan sel tunggal dan dapat membentuk rantai menggunakan duri yang saling berhubungan dari sel yang berdekatan. Tubuh utama berbentuk seperti petri dish. Jika dilihat dari samping organisme ini berbentuk persegi dengan panjang 12-14 µm dan lebar 15-17 µm, dengan duri yang menonjol dari bagian pojok. Selnya dapat membentuk rantai sebanyak 10-20 sel dan mencapai panjang 200 µm. Populer sebagai pakan rotifer, kerang-kerangan, tiram, dan larva udang.

Cyclotella (Air tawar, air laut; Gambar 5.b). Merupakan organisme uniseluler berbentuk simetris radial dengan diameter 5-12 µm dan jarang membentuk rantai. Jarang memiliki duri dan biasanya tidak tampak jika dilihat menggunakan mikroskop ukuran kecil. Kadang-kadang digunakan sebagai pakan sumber pakan.

Thallasiosira (Air laut; Gambar 5.c). Merupakan organisme berbentuk simetris radial dengan lebar 11-14 µm dan panjang 14-17 µm, biasanya hadir dalam bentuk uniseluler akan tetapi organisme ini mampu membentuk rantai. Organisme ini umum digunakan sebagai pakan dalam budidaya.

Skeletonema (Air laut; Gambar 5.d). Merupakan organisme yang membentuk rantai dengan sel yang berbentuk membulat yang dihubungkan oleh untaian silika panjang satu dengan lainnya. Sel individu berukuran lebar 6-10 µm dan panjang 20-25 µm dengan cakupan filamen mencapai panjang 500 µm berisi sekitar 15-20 sel. Organisme ini ditemukan juga di perairan muara pada salinitas 10 ppt dan merupakan genus plankton yang umum serta digunakan sebagai pakan dalam budidaya.

Phaeodactylum (Air laut; Gambar 5.e). Diatom ini memiliki tubuh simetris bilateral dan memiliki dua bentuk tubuh. Yaitu bentuk perahu dengan lebar 2,5-5 µm dan panjang 12-25 µm, serta berbentuk segitiga. Bentuk-bentuk ini menjadi motil pada saat bersentuhan dengan dasar perairan. Kadang-kadang digunakan sebagai pakan untuk rotifer, kerang, tiram dan biasanya organisme menyebabkan perairan menjadi kotor.



Gambar 5. Contoh Algae dari Golongan DIATOMAE

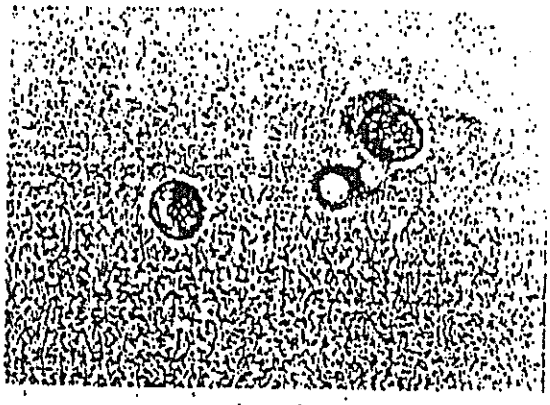
ALGA COKLAT-EMAS – *CHRYSOPHYTA*

Alga coklat-emas dikaitkan dengan diatomae, namun mereka memiliki dinding sel silika yang sedikit selama masa hidup mereka. Alga ini memiliki sifat-sifat yang dapat diternui pada sebagian besar alga. Beberapa anggota kelompok alga ini memiliki flagella dan motil. Semua memiliki kloroplas dan memiliki DNA yang terdapat di dalam nukleusnya. Alga ini hanya memiliki chlorophyl *a* dan *c* serta beberapa carotenoid seperti fucoxanthin yang memberikan mereka warna kecokelatan. Alga ini seringkali dibudidayakan dalam bentuk uniseluler pada usaha budidaya sebagai sumber pakan.

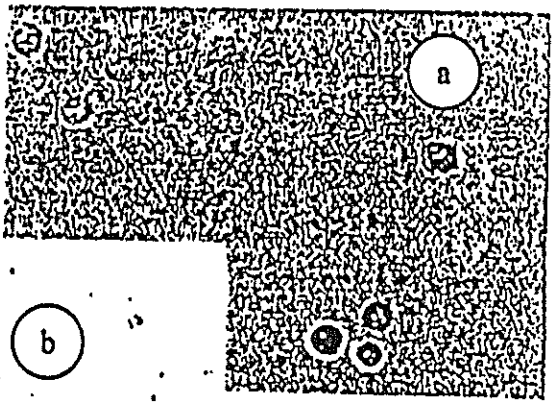
Isochrysis (Air laut; Gambar 6). Merupakan sel motil dengan 2 flagella yang tumbuh di dekat bagian belakang sel. Sel bergerak cepat di air dan berputar-putar pada saat berenang. Alga ini berbentuk bulat dengan diameter 4-8 µm, berwarna emas dan biasanya memiliki sebuah titik mata merah. Kloroplasnya berbentuk mangkuk dan terlihat mengisi 2/3 bagian selnya, sedangkan ruangan sisanya terlihat kosong. Reproduksi dilakukan melalui pembelahan sederhana dimana sel induk membelah diri menjadi dua sel anak betina. Dikenal sebagai pakan rotifer, kerang, tiram, dan larva udang.

Nannochloropsis (Air tawar, air laut; Gambar 7.a). Merupakan sel berwarna kehijauan, tidak motil, dan tidak berflagel. Selnya berbentuk bola, berukuran kecil dengan diamater 4-6 µm. Organisme ini merupakan divisi yang terpisah dari *Nannochloris* karena tidak adanya chlorophyl *b*. Merupakan pakan yang populer untuk rotifer, *artemia*, dan pada umumnya merupakan organisme *filter feeder* (penyaring).

Ellipsoidon (Air tawar, air laut; Gambar 7.b). Merupakan sel berwarna kehijauan, tidak motil, dan tidak memiliki flagella. Berbentuk oval atau elips dan berukuran kecil dengan panjang 4-6 µm. Organisme ini tidak memiliki chlorophyl *b*. Digunakan sebagai pakan kerang dan tiram.



Gambar 6. Isochrysis – Golden Brown



Nannochloropsis- Golden Brown

Gambar 7. Nannochloropsis – Golden Brown

ALGA MERAH – RHODOPHYTA

Alga merah merupakan makroalga yang umum dijumpai. Kelompok ini hanya memiliki chlorophyl *a* di samping memiliki pigmen lainnya seperti phycocyanin (pigmen biru), dan phycoeretrin (pigmen merah), seperti juga halnya berbagai carotenoid. Phycoeretrin memberi warna merah pada alga ini. Selain itu alga ini juga terkadang berwarna hijau kebiruan hingga ungu. Alga merah uniseluler tidak motil dan tidak memiliki flagel. Dapat digunakan dalam lingkungan budidaya.

Porphyridium (Air laut; Gambar 8). Merupakan organisme uniseluler berbentuk bola dengan diameter 7-12 μm. Diklasifikasikan sebagai salah satu spesies alga merah yang sederhana karena organisme ini tidak bereproduksi secara seksual dan memiliki glikogen sebagai penyusun tempat penyimpanan. Alga ini digunakan pada lingkungan budi daya untuk memenuhi kebutuhan karbohidrat.

EUGLENOPHYTA

Euglenophyta dimasukkan dalam kelompok alga hijau oleh beberapa ahli taksonomi dan dimasukkan ke dalam golongan protozoa oleh sebagian ahli lainnya dikarenakan organisme ini memiliki sifat-sifat tanaman sekaligus hewan. Organisme ini merupakan organisme eukaryotik dengan struktur-struktur tubuh yang dapat dijumpai pada sebagian besar alga, namun mereka juga memiliki kerongkongan sehingga mereka dapat memasukkan partikel ke dalam tubuhnya. Mereka memiliki satu flagella yang panjang dan bisanya berenang dengan cara menarik diri mereka melalui air. Beberapa di antaranya melakukan gerakan amoeboid. Organisme ini tidak memiliki dinding sel, namun mereka memiliki lapisan luar yang keras yang tersusun dari protein yaitu

pellicle, yang memiliki fungsi yang sama seperti dinding sel. Euglenophyta memiliki chlorophyl *a* dan *b* beberapa carotenoid dan biasanya mereka terlihat berwarna hijau rumput. *Euglena* umum ditemukan di perairan yang kaya akan nutrien.

Euglena (Air tawar, air laut; Gambar 9). Merupakan organisme berwarna hijau dan motil dengan satu flagella yang tumbuh dari sebuah kerongkongan di dekat bagian belakang sel. Sebagian besar spesiesnya memiliki tubuh memanjang dengan lebar 10-15 µm dan panjang 50-150 µm, dan biasanya memiliki sebuah titik mata merah. Pada umumnya *Euglena* tidak digunakan sebagai pakan.

CRYPTOPHYTA

Cryptophyta adalah kelompok uniseluler yang unik yang tidak memiliki kedekatan dengan kelompok alga lainnya. Kelompok ini merupakan organisme eukaryotik, dan mereka juga memiliki kerongkongan. Semua spesies kelompok ini memiliki flagel, bersifat motil, dan memiliki satu atau dua kloroplast serta memiliki chlorophyl *a* dan *c*, phycocyanin dan phycoeretrin serta beberapa carotenoid yang memberikan warna kecokelatan pada tubuh mereka.

Cryptomonas (Air tawar, air laut; Gambar 10) genus ini merupakan kelompok cryptomonad yang paling umum ditemukan dan memiliki dua buah flagella, yang satu panjang dan yang satu lagi pendek. Ukuran sel berkisar antara panjang 8-16 µm dan lebar 6-8 µm. Mereka memiliki 1-2 kloroplas cokelat dan dapat melakukan fotosintesa ataupun bertahan hidup menggunakan bakteri. Pada umumnya tidak digunakan sebagai pakan pada lingkungan budidaya, namun demikian populasi di alam merupakan makanan bagi rotifer, kerang, tiram, dan larva udang.

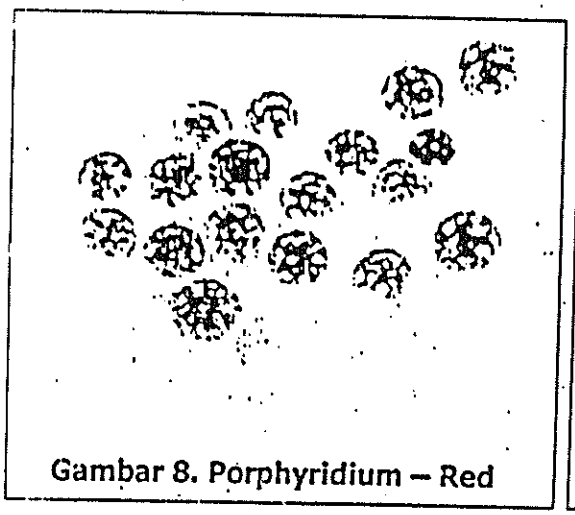
PHYRROPHYTA

Dalam kelompoki ini terdapat dinoflagellata yang merupakan suatu kelompok organisme uniseluler yang unik yang memiliki dua flagella dan umum dijumpai di air tawar maupun air laut. Kelompok ini merupakan organisme eukaryotik. Sebagian besar anggotanya bersifat motil, meskipun seringkali terdapat fase dimana mereka bersifat non-motil pada siklus hidup sebagian besar spesiesnya. Pigmen golongan yang dapat berfotosintesis adalah chlorophyl *a* dan *c* , xanthophyl peridinin dan dinoxanthin serta beberapa lainnya. Sebagian besar spesiesnya menyimpan zat tepung sebagai cadangan makanan. Salah satu ciri khas kelompok organisme ini adalah keberadaan dinding sel yang terbuat dari lapisan selulosa. Akan tetapi ada beberapa organisme yang tidak memiliki dinding sel ini. Organisme ini memiliki dua flagella.

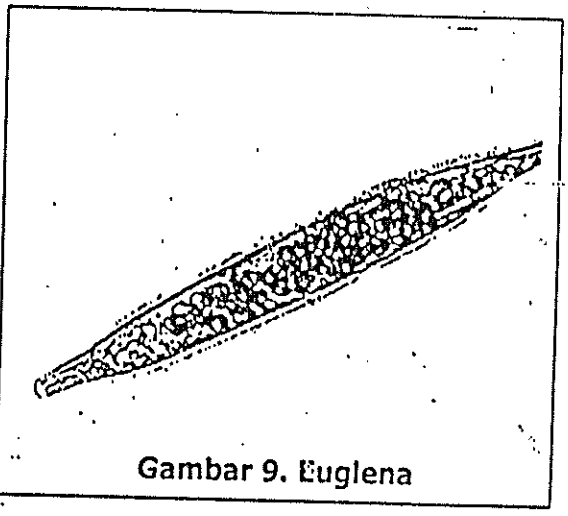
Banyak organisme dari golongan ini yang memiliki trichocyst, yaitu struktur protein yang dapat dikeluarkan dari permukaan sel untuk melindungi diri dari predator. Fenomena *'red tide'* adalah peristiwa yang dihubungkan dengan ledakan (berkumpulnya) dinoflagellata karena adanya pigmen kemerahan yang terakumulasi dalam organisme-organisme ini dan dalam jumlah yang besar yang terjadi pada kondisi lingkungan tertentu. Beberapa dinoflagellata menyebabkan peracunan pada kerang-kerangan dan menyebabkan pengakumulasian neurotoxin dalam konsentrasi tinggi. Beberapa spesies merupakan parasit bagi ikan yang menyebabkan masalah seperti 'velvet disease'. Sebagian besar spesies bukan merupakan makanan ikan karena ukurannya terlalu besar untuk dikonsumsi.

Ceratium (Air tawar; Gambar 11). Genus ini adalah salah satu dinoflagellata yang paling umum dan mudah dikenali. Ia memiliki perlindungan yang kuat dengan satu lengan panjang dan dua lengan pendek yang lurus keras atau bengkok, tergantung pada spesiesnya. Sel-selnya bersifat motil dan berenang aktif pada saat pertama kali diuji, biasanya berenang dengan arah lurus ataupun membentuk kurva. Ukuran sel beragam dengan panjang 30-90 μm dan lebar 10-30 μm.

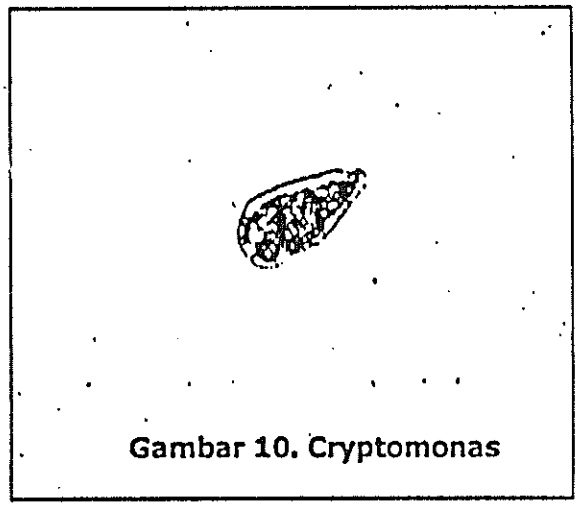
Peridinium (Air tawar, air laut; Gambar 12). Genus ini merupakan dinoflagellata yang umum, memiliki lapisan yang keras, sebagian besar berbentuk bulat dengan kepala apical dan duri yang menyerupai kaki pada beberapa spesies. Sel-selnya motil dan berenang aktif dalam gerakan memutar. Memiliki diameter 25-80 μm.



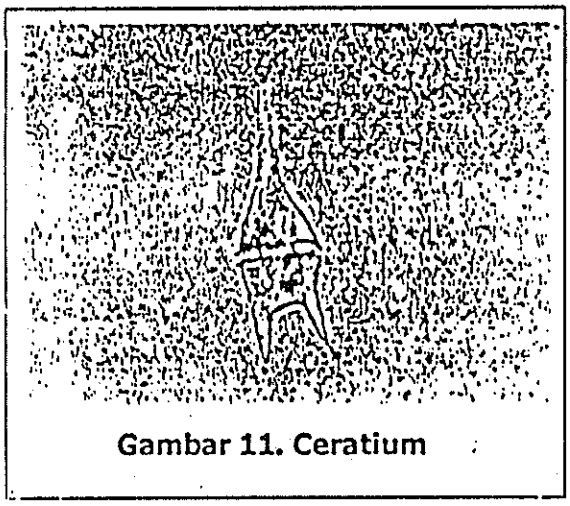
Gambar 8. Porphyridium – Red



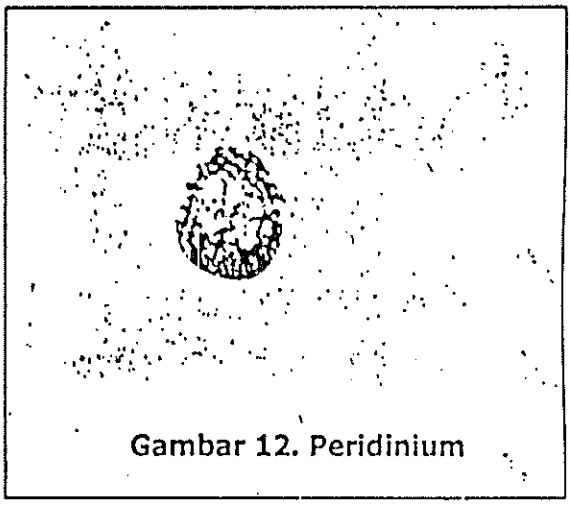
Gambar 9. Euglena



Gambar 10. Cryptomonas



Gambar 11. Ceratium



Gambar 12. Peridinium

PENCEMAR (PENGKONTAMINASI)

Beberapa pencemar kadang terdapat dalam kultur mikroalga. Beberapa di antaranya tidak berbahaya sedangkan yang lainnya dapat menimbulkan masalah yang serius bagi mikroalga ataupun bagi kultivan yang sedang dikultur.

PROTOZOA

Ada dua kelompok utama protozoa yang umum mengkontaminasi lingkungan budidaya yaitu ciliata dan amoeba. Sebagian besar dalam bentuk soliter namun ada juga yang koloni. Bentuk yang paling umum dalam sistem perairan adalah bentuk perenang bebas. Beberapa organisme ini hanyalah merupakan pesaing nutrien, sedangkan yang lain memakan mirkoalga atau mengakumulasikan racun yang dapat membunuh rotifer, *Artemia*, dan ikan. Protozoa membentuk vakuola makanan yang

akan mencerna makanan secara internal. Cilia, flagella, dan pseudopodia adalah anggota tubuh yang digunakan untuk bergerak.

KELAS CILIATA

Ciliata memiliki cilia, yaitu struktur tubuh yang kecil seperti rambut untuk bergerak dan menginderai lingkungan sekitarnya. Beberapa spesies dapat ditemui dalam budidaya.

ORDO HOLOTRICHA

Paramaecium (Air tawar, air laut; Gambar 13). Secara umum selnya berbentuk cerutu dengan lebar 25-40 µm dan panjang 50-150 µm, serta memiliki lekuk mulut yang jelas. Organisme air tawar memiliki sebuah vakuola kontraktil yang membantu proses osmoregulasi dan mengeluarkan nitrogen. Banyak organisme ini yang memakan alga, bakteri, dan ciliata yang lebih kecil. Beberapa spesies berbentuk kaki, dan beberapa di antaranya juga dapat membentuk kista.

Colpoda (Air tawar, air lau; Gambar 14). Sel-sel pada genus ini berbentuk ginjal dengan lebar 15-20 µm dan panjang 25-30 µm, dan terlihat memiliki bagian akhir yang memipih. Mereka merupakan perenang aktif. Organisme ini secara aktif memakan mikroalga dan juga merupakan kelompok pengkontaminan yang umum dalam lingkungan budi daya.

ORDO SPIROTRICHA

Euplotes (Air tawar, air laut; Gambar 15). Organisme ini memiliki cilia yang dimodifikasi menjadi struktur khusus yang bernama cirri. Cirri digunakan sebagai alat gerak sekaligus indera lingkungan sekitar. Genus ini berukuran cukup besar yaitu lebar 40-50 µm dan panjang 90-120 µm. Kadang-kadang dimakan oleh larva udang.

ORDO SARCODINA

Sarcodina termasuk dalam protozoa karena ia menggunakan pseudopoda untuk begerak dan makan. Mereka memakan protozoa lainnya, alga, dan bahkan rotifer di samping bahan organik mati. Kelompok ini mencakup Foraminifera yang mengeluarkan cangkang yang terbuat dari kalsium dan juga Radiolaria yang cangkangnya terbuat dari silicon.

ORDO AMOEBINA

Amoeba (Air tawar, air laut; Gambar 16). Genus ini bergerak di berbagai macam dasar perairan dan memakan bahan organik yang cukup kecil untuk diambil oleh pseudopodianya, alat sepeti lengan yang merupakan perluasan dari tubuhnya. Ukuran selnya bervariasi yaitu panjang 20-70 μm.

BAKTERI (Gambar 17)

Bakteri ditemukan baik di perairan tawar dan laut. Mereka juga merupakan bagian yang penting dari banyak proses biologis. Mereka dihubungkan dengan cyanobacteria atau alga biru-hijau. Jumlah bakteri dalam suatu kultur mikroalga biasanya kecil selama masa pertumbuhan eksponensial dan meningkat seiring kematian sel alga dan melepaskan senyawa organik menjadi tingkat sedang.

NEMATODA (Gambar 18)

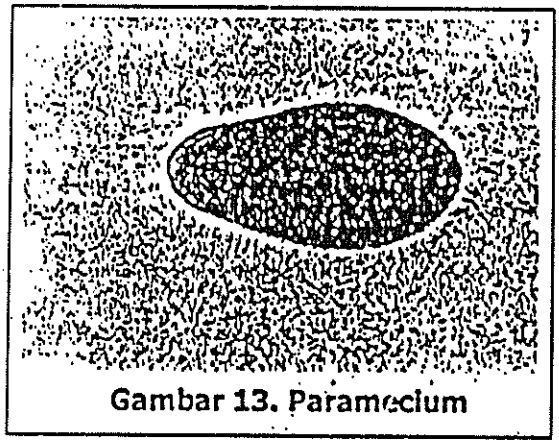
Cacing gelang berukuran kecil terkadang ditemukan pada kultur mikroalga, namun secara umum tidak menimbulkan masalah khusus. Akan tetapi, nematoda biasanya bersifat parasit dimana dalam bentuk perenang bebas ditemukan dalam lingkungan budidaya dan secara aktif memakan bakteri dan mikroalga. Namun beberapa nematoda adalah makanan yang bagus untuk ikan.

FUNGI

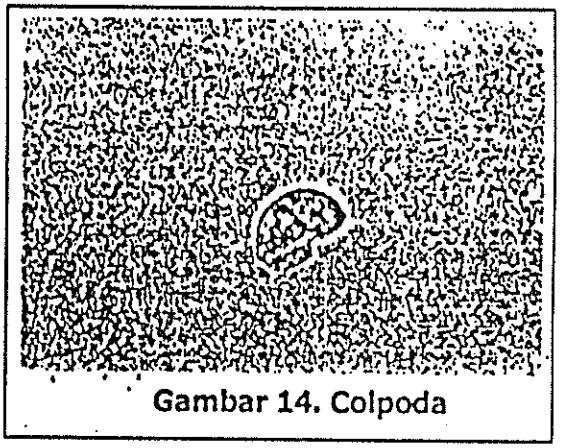
Fungi mencakup jamur, lumut, dan cendawan. Pada lingkungan budidaya yang sudah tua (lama) yang kaya akan glukosa atau zat gula lainnya, biasanya akan banyak ditumbuhi jamur yang dapat menimbulkan masalah yang serius.

ROTIFER (Gambar 19)

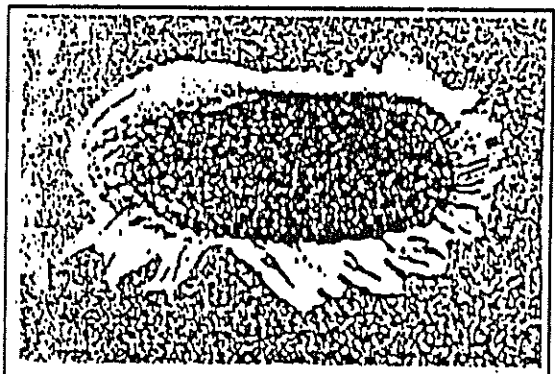
Rotifer adalah makanan yang penting untuk larva ikan dan seringkali dikultur berdekatan dengan kultur mikroalga. Mikroalga adalah makanan yang tepat untuk rotifer, namun, rotifer dapat berubah menjadi pengkontaminasi jika ada dalam kultur mikroalga pada waktu yang tidak tepat. Bahkan sebuah inoculum rotifer yang kecil dapat menghancurkan kultur mikroalga dalam waktu yang singkat.



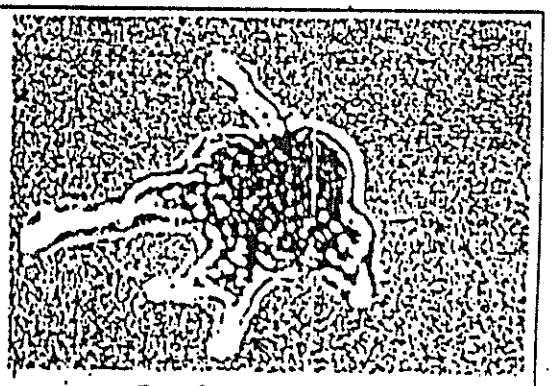
Gambar 13. Paramecium



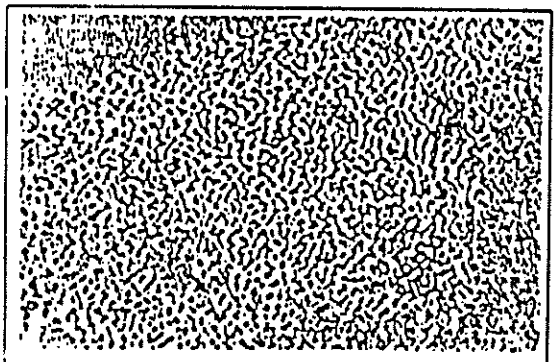
Gambar 14. Colpoda



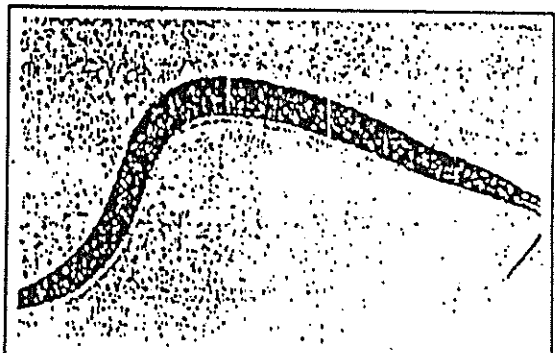
Gambar 15. Euplotes



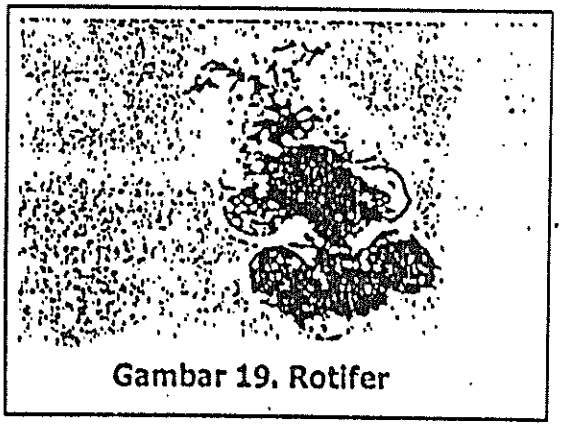
Gambar 16. Amoeba



Gambar 17. Bakteri



Gambar 18. Nematoda



Gambar 19. Rotifer

IV. KULTUR MIKROALGAE

4.1. Prinsip Dasar dan Manfaat didalam Budidaya Perikanan

Didalam proses kultur microalgae yang terpenting adalah melakukan seleksi spesies-spesies yang akan dijadikan kultivan untuk kepentingan budidaya perikanan secara luas dan tujuan-tujuan khusus lainnya yang bahan bakunya diambil dari sel algae. Biasanya untuk seleksi spesies calon kultivan, berdasarkan kepada ukuran sel, nilai nutrisi, dan kemudahan teknik kultur pada kondisi dan iklim dimana mereka digunakan. Banyak jenis mikroalgae yang digunakan untuk kepentingan budidaya perikanan, akan tetapi beberapa spesies algae yang popular dan dominant digunakan adalah; *Nannochloropsis oculata* (2-4 µm), *Isochrysis galbana* (5-7 µm), *Tetraselmis chuii* (7-10µm), *Chaetoceros gracilis* (6-8 µm), *Dunaliella tertiolecta* (7-9 µm), dan beberapa spesies dari *Chlorella* sp(3-9 µm). Khusus untuk *Nannochloropsis oculata* yang sering disebut sebagai chlorella jepang (Maruyama *et al*, 1986), digunakan sebagai pakan rotifer yang penting peranannya bagi kelangsungan hidup larva ikan dan udang.

Sebagian besar spesies algae adalah masuk kedalam golongan algae fotoautrotop yang memperoleh enrgi dari sinar dan karbon dioksida menjadi ikatan atom karbon. Beberapa bagian spesies algae bersifat heterotrop yang tidak memerlukan sinar dan karbon dari komponen organic seperti gula dan asam organic. Beberapa bagian lagi spesies algae termasuk kelompok mixotropik yang dapat mereproduksi selnya dalam kondisi pencahayaan sinar maupun tanpa sinar (kondisi gelap). Selain sifat-sifat dari golongan tersebut diatas, khususnya untuk algae fotoautrotop juga mempunyai kemampuan untuk mendapatkan enrgi dari heterotropik sering tumbuh pada laju pertambahan melalui pemanfaatan cahaya sinar dan karbon dioksida beserta substansi organic secara simultan. Beberapa algae yang mempunyai sifat itu disebut sebagai obligate fotoautotrop, dimana atas dasar hasil penelitian hal itu terjadi apabila nutrient pada level alami (Droop, 1974). Sebaliknya beberapa spesies algae dapat menjadi heterotropik ketika kondisi nutrient diatas atau dibawah kondisi alamim sebagai contoh adalah *Brachiomonas submarina* dan beberapa strain dari *Haematococcus plavialis*, dimana dapat mereduksi/mengurangi nitrat ketika tumbuh secara proses fotosintesis, tetapi mereka tidak dapat melakukan apabiladalam kondisi gelap. Ketika terjadi suatu pengurangan sumber nitrat seperti ammonia mereka dikatakan tumbuh secara heterotropik.

Variabel kimia lingkungan perairan memainkan peranan penting didalam mendeterminasi tingkat pertumbuhan dan kualitas sel algae. Mikroalgae dapat menyerap nutrient dari seluruh lapisan perairan, karena bisa mengabsorpsi langsung melalui membrane sel. Salah satu tujuan kukitur algae adalah untuk mendapatkan kelimpahan sel yang tertinggi didalam periode waktu yang singkat. Apabila pemanfaatan air laut dan air tawar alami dengan zat penyubur yang terbatas akan tidak mendapatkan hasil kelimpahan sel yang tidak baik. Didalam kondisi perairan alami, konsentrasi trace metal biasanya cukup terpenuhi, tetapi kandungan makro nutrient Nitrat dan fosfat biasanya terbatas. Untuk Fosfor biasanya terbatas keberadaannya diperairan tawar dan Nitrat biasanya terbatas diperairan laut (Darley, 1982). Kultur microalgae akan tumbuh baik didalam media kultur dengan kandungan nutrient makro dan komposisi trace metal daripada perairan alami. Biasanya kandungan Nitrat didalam kultur microalgae secara intensif bisa mencapai 100-1000 kali lebih tinggi daripada kondisi di alam. Didalam intensif kultur microalgae dan atau kultur microalgae di laboratorium media kultur algae yang digunakan disuburkan terlebih dahulu dengan nutrient makro, mikro, trace metal, vitamin dan zat chelator sangat penting untuk memperlancar proses penyerapan sel algae akan trace metal untuk melakukan proses fotosintesa-pembentukan biomassa.

Dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, maka komposisi zat penyubur menjadi sangat popular didalam pelaksanaan budidaya pakan alami, khususnyauntuk keperluan budidaya yang intensif. Pengaruh lingkungan media kultur yang berubah-ubah dan hasil produksi sel yang tidak terprediksi merupakan bentuk pertumbuhan populasi sel algae secara alami dan sebaliknya pertumbuhan sel microalgae yang dapat diprediksi dengan kelimpahan yang tinggi dan hasil biomassa yang mempunyai kualitas nutrisi konsisten merupakan hasil dari penerapan metoda kultur algae intensif dan terkontrol.

Secara umum perlengkapan dan peralatan kultur skala kecil akan mudah untuk mengkontrol lingkungan kultur dan hasil produksi sel algae. Teknik dan metode kultur secara besar kecilnya wadah kultur juga akan menentukan keberhasilan produksi biomasa. Selain itu, system kultur baik "indoor" maupun "outdoor" akan menentukan tingkat keberhasilan budidaya pakan alami. Jenis bahan kimia sebagai zat penyubur (pure analysis atau teknis) juga menjadi pembatas keberhasilan .demikian juga dengan pengelolaaan air, kemurnian bibit sel algae yang digunakan akan menentukan keberhasilan kultur. Sehubungan dengan itu, maka diperlukan langkah-langkah yang

mendasar dengan memperhitungkan factor pembatas tersebut diatas didalam merencanakan budidaya pakan alami microalgae agar tujuan untuk mendapatkan hasil produksi sel alagae yang maximal dengan kualitas sel yang tinggi untuk pakan kuntivan budidaya.

4.2. Nilai Nutrisi Sel Microalgae

Pada umumnya nilai nutrisi mokroalgae dihubungkan langsung dengan spesies, suplai nutrient, cahaya, dan kondisi fisika kimia selama pertumbuhan selnya. Sebagai contoh, ketika *Monodus subterraneus* tumbuh ekponensial, sel algae mempunyai tingkat respirasi dan fotosintesa yang tinggi, dan kandungan proteinnya lebih dari 70 % berat kering serta tingginya produksi klorofil dan asam nukleat, tetapi mempunyai kandungan karbohidrat dan lemak yang rendah (fogg, 1959). Sebaliknya pada kondisi kandungan nitrogen rendah, sel algae mempunyai tingkat fotosintesa dan respirasi yang rendah pula, serta diikuti kandungan protein kurang dari 10 %, serta terjadi tingginya kandungan karbohidrat dan lemak.

Perbedaan jenis microalgae yang dikultur dibawah kondisi lingkungan kultur yang sama akan menghasilkan perbedaan kandungan dan komposisi asam lemak (tabel 2.) (Okauchi, 1991). Demikian juga oleh Chen (1991) memberikan contoh beberapa spesies mikroalgae yang dikultur pada kondisi yang sama menghasilkan komposisi nilai proximat yang berbeda (tabel 3.).

Tabel 2. Komposisi Asam Lemak dari Beberapa Spesies Fitoplankton yang Digunakan Untuk Pakan di Jepang (Angka Menunjukan % Asam Lemak)

SEPESIES ALGA	EPA	DHA	Total ω3 HUFA
Nannochloropsis oculata	30,5	12,2	42,7
Pavlova lutheri	13,8	9,7	23,5
Skeletonema costratum	13,8	1,7	15,5
Phaeodactylum tricornutum	8,6	1	9,6
Tetraselmis tetrathele	6,4	1,7	8,1
Isochysis galbana	3,5	19	22,5
Isochysis aff galbana	0,5	2,8	3,3

Tabel 3. Analisa Komponen Nutrien Dari Enam Spesies Mikroalga (% Berat Kering)

Spesies	Protein Nitrogen x 6,25	Lemak	Karbohidrat	Abu
Chaetoceros muelleri	34,75 - 38,50	33,15	19,4	14,7
Dicrateria sp.	38,06	29,09	22,45	10,4
Isochysis galbana 3011	41,53 - 46,81	22,54	22,54	8,4
Pavlova viridis	58,51 - 62,25	15,31	15,04	7,4
Tetraselmis sp.	30,06	5,16	26,68	38,1
Tetraselmia subcordiformis	46,38	5,09	27,43	21,1

4.3. Pengukuran Fisika-Kimia Air dan Media Kultur

Setiap spesies mempunyai nilai kisaran dari variabel fisika kimia air untuk melakukan proses metabolisme dan produktivitas. Pengukuran kualitas perairan biasanya terjadi range yang cukup lebar. Untuk perbandingan satu spesies dengan spesies lainnya, misalnya beberapa spesies mikroalgae tumbuh pada temperatur dibawah 10^0 C sedangkan beberapa nutrien algae tumbuh baik pada sekitar 60^0 C. Temperatur optimal untuk pertumbuhan, intensitas cahaya, konsentrasi nutrien dan aklimatisasi temperatur antar spesies sangat lebar. Beberapa algae hijau dan algae biru hijau (blue green algae) dalam media yang sama akan tumbuh dalam keadaan gelap dan beberapa tumbuh dalam intensitas cahaya 10.000 lux. Intensitas cahaya antara 2.500 – 5.000 lux adalah optimal untuk pertumbuhan mikroalgae. Pada umumnya mikroalgae yang dikultur oleh para *aquaculturist* dipilih dari strain algai tropik yang bisa tumbuh baik dengn temperatur antara 16-27^0 C dengan temperatur uptimum 24^0 C. Fluktuasi temperatur harian yang kecil tidak menjadi suatu masalah didalam proses budidaya mikroalgae. Temperatur rendah tidak akan membunuh algae, tetapi secara drastis akan menurunkan pertumbuhan, dimana batas maksimal temperatur dibawah 35^0 C. Beberapa jenis spesies mikroalgae mempunyai nilai optimal di dalam kelayakan hidup dan kehidupannya terhadap kondisi temperatur, intensitas cahaya, dan salinitas media kulturnya.

Pertumbuhan yang baik dari suatu kultur mikroalgae adalah merupakan keseimbangan antara unsur-unsur nutrien esensial didalam air media baik nutrien makro maupun mikro. Kekurangan nutrien didalam media kultur merupakan salah satu faktor penting yang membatasi pertumbuhan dan kontrol kualitas nutrisi produksi

biomassa. Banyak kandungan zat penyubur yang tidak sesuai dengan kebutuhan sel seperti jumlah nitrogen atau ketidak stabilan kandungan metal, khususnya Fe akan menurunkan pertumbuhan yang sangat drastis. Didalam kondisi larutan media kultur alkaline, Fe dan bentuk metal lainnya sering terjadi pengurangan pada periode waktu tertentu sehingga aktifitas metabolisme baik proses fotosintesa maupun respirasi sel algae menjadi menurun.. Pada kondisi yang demikian, diperlukan suatu zat chelator yang berfungsi untuk melancarkan larutan metal didalam media bisa dimanfaatkan untuk proses metabolisme sel mikroalgae. Biasanya zat chelator yang cukup baik digunakan Na-EDTA. Selain nutrien makro, mikro dan tris metal didalam pembuatan media kultur masih diperlukan penambahan vitamin untuk mengoptimalkan pertumbuhannya. Sebagian jenis mikroalgae mempunyai sifat auxothropic dimana mereka tidak dapat mensintesa semua vitamin yang terlarut secara berlebihan dan cukup yang disediakan dari lingkungannya. Namun sebagian besar dari jenis mikroalgae (70%) mampu mensintesa vitamin dengan baik untuk mendukung produksi maksimal biomassanya. Vitamin yang biasa digunakan dalam media kultur mikroalgae dan mampu disintesa sebagian besar mikroalgae adalah vitamin B1 (Thiamin- HCl), Vitamin B6 (Biotin), Vitamin B12 (Cobaltamin). Adapun elemen anorganik esensial yang dibutuhkan oleh sebagian besar spesies algae adalah N, P, K, Ca, Fe, Cu, Mg, Mn, Zn, Mo, Na, Co, Fd; Si, Cl, Bo, I. dari elemen anorganik esensial tersebut, N, P, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, dan Mo adalah dominan dibutuhkan oleh semua algae. Didalam prakteek pelaksanaan budidaya pakan alami elemen-elemen anorganik esensial tersebut diatas telah tersusun menjadi satu kesatuan komposisi dari hasil kajian dan penelitian secara ilmiah di laboratorium. Banyak para ahli budidaya membuat media kultur mikroalgae yang sudah teruji tingkat keberhasilannya. Pada dasarnya komposisi kimia media kultur mikroalgae dibagi menjadi 2 kepentingan; yaitu untuk kepentingan kutur murni di laboratorium dan untuk kepentingan praktis kultur masal. Beberapa contoh media baik untuk kultur murni maupun masal dapat diberikan sebagai mana tabel dibawah ini :

Media kultur yang digunakan untuk kultur murni di laboratorium

Tabel 4. Komposisi Kimia Media Kultur Chaetoceros gracilis (Suminto and Hirayama, 1997)

Komposisi Kimia	Jumlah	
$Na_2SiO_3.9H_2O$	100	mg/L
Na_2- EDTA	12	mg/L
Citrate acid	3,6	mg/L
$MnCl_2.4H_2O$	1,2	mg/L
$NaNO_3$	360	mg/L
K_2HPO_4	12	mg/L
$FeSO_4.7H_2O$	12	mg/L
Clewatt 32	120	mg/L
Vitamin B_{12}	160	µg/L
Vitamin B_1	80	µg/L
Biotin	0,8	µg/L

Tabel 5. Komposisi Kimia Media Kultur *Isochrysis galbana* dan *Pavlova lutheri* (Suminto and Hirayama, 1997)

Komposisi Kimia	Jumlah	
$NaNO_3$	84	mg/L
Na_2- Glycerophospate	12	mg/L
Na_2- EDTA	8,44	mg/L
H_3BO_4	0,96	mg/L
$CoCl_2$	4,8	µg/L
$ZnCl_2$	24	µg/L
$MnCl_2$	192	µg/L
$FeCl_2$	48	µg/L
Tris Buffer	12	Mg/L
Vitamin B_{12}	240	µg/L
Vitamin B_1	120	µg/L
Biotin	1,2	µg/L

Tabel 6. Komposisi Kimia Media Kultur *Chaetoceros, Skeletonema, Tetraselmis* dan *Chlorella* (Sato and Serikawa, 1968).

Komposisi Kimia	Jumlah	
a. Solusi A		
$NaNO_3$	10	g
$Na_2HPO_4.12H_2O$	1	g
$NaHCO_3$	16,8	g
$Na_2SiO_3.9H_2O$	0,4	g
Air destilasi	900	ml
Disterilkan pada 15 Atm selama 15 menit		
b. Solusi B		
Na_2- EDTA	3,0	g
$CuSO_4.5H_2O$	0,0004	g
$CoCl_2.6H_2O$	0,0008	g
$MnCl_2.4H_2O$	0,27	g
$FeCl_3.6H_2O$	0,24	g
$ZnCl_2$	0,03	g
H_3BO_3	3,44	g
Air destilasi	1.000	ml
Disterilkan pada 15 Atm selama 15 menit		
Penggunaannya : 9 ml larutan A dan 1 ml larutan B /liter air laut.		

Tabel 7. Komposisi Kimia Media Conwy untuk Kultur *Chlorella, Tetraselmis* dan *Isochrysis* (Waine, 1974).

Komposisi Kimia	Jumlah	
$NaNO_3$	200	g
Na_2- EDTA	90	g
H_3BO_3	67,2	g
$Na_2HPO_4.12H_2O$	40	g
$FeCl_3.6H_2O$	2,6	g
$MnCl_2.4H_2O$	0,72	g
Komposisi Larutan Metal *	2	ml
Campuran Vitamin **	200	mg
Air Destilasi (untuk membuat)	2000	ml
*Komposisi Larutan Metal		
$ZnCl_2$	2,1	g
$CoCl_2.6H_2O$	2	g

$(NH_4)_6 Mo_7O_{24} . 4H_2O$	0,9	g
$CuSO_4 . 5H_2O$	2	g
Air Destilasi	100	ml

Diasamkan dengan 1N HCl sampai larutan menjadi jernih

**Campuran Vitamin

Vitamin B_{12}	10	mg
Vitamin B_1	200	mg
Air Destilasi	200	ml

Penggunaannya : 1 ml medium Conwy /liter air laut

Tabel 8. Komposisi Kimia Pada F/2 Medium Dan Provasoli ES Medium yang Biasa Digunakan Untuk Kultur Kebanyakan Mikroalgae

F/2 Medium (Guillard & Ryther 1962)			Privasoli ES Medium (Provasoli 1968)		
NaN_3	150	mg/L	NaN_3	105	mg/
$NaHPO_4$	8,69	mg/L	Na_2glycerophosphate	15	mg/
Ferric EDTA	10	mg/L	Na_2 EDTA	24,9	mg/
$MnCl_2$	0,22	mg/L	$Fe(NH_4)_2 (SO_4) 6H_2O$	10,5	mg/
$CoCl_2$	0,11	mg/L	H_3BO_3	3	mg/
$CuSO_4 5H_2O$	0,0196	mg/	$FeCl_3 6H_2O$	0,15	mg/
$ZnSO_4 7H_2O$	0,044	mg/L	$MnCl_2 4H_2O$	0,6	mg/
$Na_2SiO_3 9H_2O$	60	mg/L	$ZnCl_2$	0,075	mg/
$Na_2MoO_4 2H_2O$	0,012	mg/L	$CoCl_2 6H_2O$	0,015	mg/
B_{12}	1,0	µg/L	B_{12}	3	µg/L
Biotin	1,0	µg/L	Biotin	1,5	µg/L
Thiamine HCL	0,2	mg/L			

Tabel 9. Analisa Komponen Nutrien Dari Enam Spesies Mikroalga (% Berat Kering)

Spesies	Protein Nitrogen x 6,25	Lemak	Karbohidrat	Abu
Chaetoceros muelleri	34,75 - 38,50	33,15	19,4	14,7
Dicrateria sp.	38,06	29,09	22,45	10,4
Isochysis galbana 3011	41,53 - 46,81	22,54	22,54	8,4
Pavlova viridis	58,51 - 62,25	15,31	15,04	7,4
Tetraselmis sp.	30,06	5,16	26,68	38,1
Tetraselmia subcordiformis	46,38	5,09	27,43	21,1

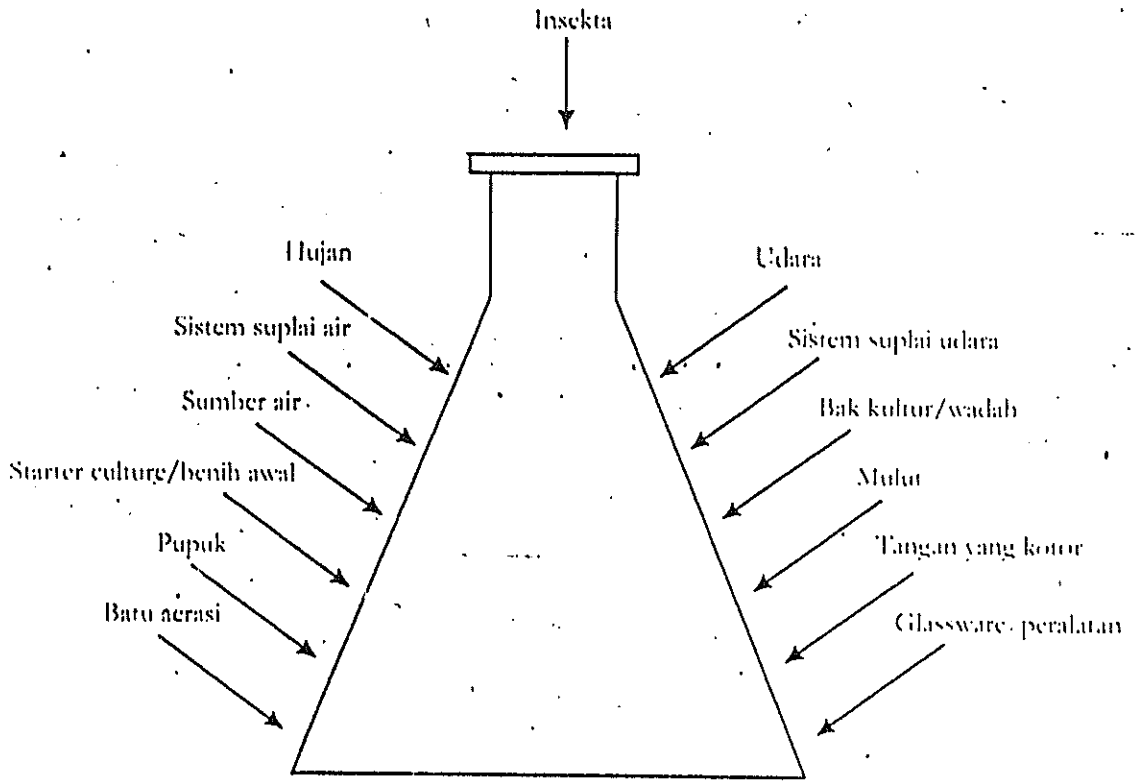
4.4. Sumber Kontaminan didalam Kultur

Sumber kontaminan didalam kultur dapat berasal dari kimia atau biologi. Secara garis besar sumber kontaminan pada kultur mikroalgae diindikasikan berasal dari kontaminasi bahan kimia, kontaminasi secara biologi, sumber kontaminan dari tempat, dari sistem pusat aerasi, dari peralatan kultur dan air media. Biasanya permasalahan dapat dipecahkan jika kita dapat mengobservasi dengan baik dan melakukan evaluasi secara kontinyu dimanadan darimana sumber kontaminan itu didapatkan. Pada kasus kontaminasi dari bahan kimia sel algae yang hidup normal dalam kultur tiba-tiba warna air menjadi bening/putih dalam 24 jam yang diduga karena mengandung residu chlorin atau bahan kimia terlarut didalam media kultur. Hal ini perlu di waspadai bahwa semua chlorin dapat dimanfaatkan untuk inokulasi kultur-kultur algae. Apabila media kultur terjadi pewarnaan yang terang/bening setelah 3 atau 4 hari ditandai dengan kecilnya pertumbuhan hal ini biasanya disebabkan karena pencahayan yang kurang atau ketidak seimbangan kandungan nutrien. Pada kultur algae yang tua (10-14 hari) dimana akan terjadi pengurangan nutrien yang sering ditandai dengan adanya suatu perubahan kekeruhan, warna hijau terang atau warna kuning dan akhirnya pelan-pelan menjadi warna bersih (karena mengendap). Kontaminansi akibat aktifitas biologi basanya dilakukan oleh mikroorganisme khususnya bakteri, protozoa dan jenis-jenis zooplankton lainnya maupun jenis spesies mikroalgae yang lain. Ketika suatu kultur sel algae terjadi blooming, kemudian setelah 3-7 hari terjadi perubahan warna yang lain dari biasanya (warna hijau kuning dari algae hijau) dan kadang-kadang terjadi warna air yang bersih kemungkinan besar ini diakibatkan oleh adanya kontaminasi protozoa atau rotifer. Kontaminasi kedua organisme tersebut sebagai predator sel mikroalgae. Contoh lain

adalah kontaminasi yang disebabkan oleh sel diatome sering mengindikasikan melalui suatu bentuk warna putih atau coklat tua yang menempel didasar tempat kultur. Identifikasi bakteri dan kontaminasi mikroalgae biasanya dapat dilihat dibawah mikroskop dengan pembesaran 100 – 400 x, sedangkan kontaminasi yang diakibatkan oleh protozoa dapat diobservasi dibawah pembesaran 15 – 40 x. Suatu pendekatan yang dapat untuk melihat sumber kontaminasi dan mengurangi atau meniadakan kontaminan hanya melalui penelitian. Kontaminasi yang diakibatkan dari sitim aliran udara yang digunakan untuk airasi proses budidaya diduga dari aliran udara dan peralatannya yang diakibatkan oleh organisme lain seperti ciliata dan cyanobacteria, oleh karena itu untuk mencegah terjadinya kontaminasi melalui sistim airasi maka dari central saluran udara perlu ditambahkan peralatan filter dengan ukuran pori-pori 1-5μm. Demikian juga sumber kontaminan yang diakibatkan dari peralatan kultur lainnya dapat dicegah dengan memberikan alat disfilter dengan porsize/pori-pori 0,2-0,4μm. Dalam aktifitas di laboratorium semua tempat kultur ditutup untuk mencegah masuknya bahan kontaminan lain dari luar kedalam media kultur, hanya sebagian lubang deberikan untuk pergantian aliran gas dari luar dan dari dalam, dari luar berupa airasi CO2 dari dalam berupa oksigen sehingga dihasilkan produksi sel algae yang bersih dari kontaminan. Sel algae merupakan mikroorganisme yang sensitif terhadap kondisi kualitas air yang buruk. Air yang digunakan kultur apabila mengandung metal yang cukup tinggi, zat anorganik atau kontaminan bahan organik akan menurunkan pertumbuhan algae secara drastis. Peristiwa itu juga berlaku untuk zat-zat kimia lainnya yang terlarut didalam air kultur. Untuk mendeteksi secara spesifik dari larutan terkontaminan dari air kultur diperlukan waktu yang panjang dan prosedur yang mahal. Oleh karena itu agar tidak terjadi larutan kontaminan didalam air kultur maka perlu diperlakukan sejak awal sebelum air tersebut digunakan untuk kultur sel mikroalgae. Secara garis besar sumber kontaminan yang dapat mempengaruhi kondisi kultur mikroalgae ditunjukan pada Gambar 20..

4.5. Pengelolaan Air Kultur

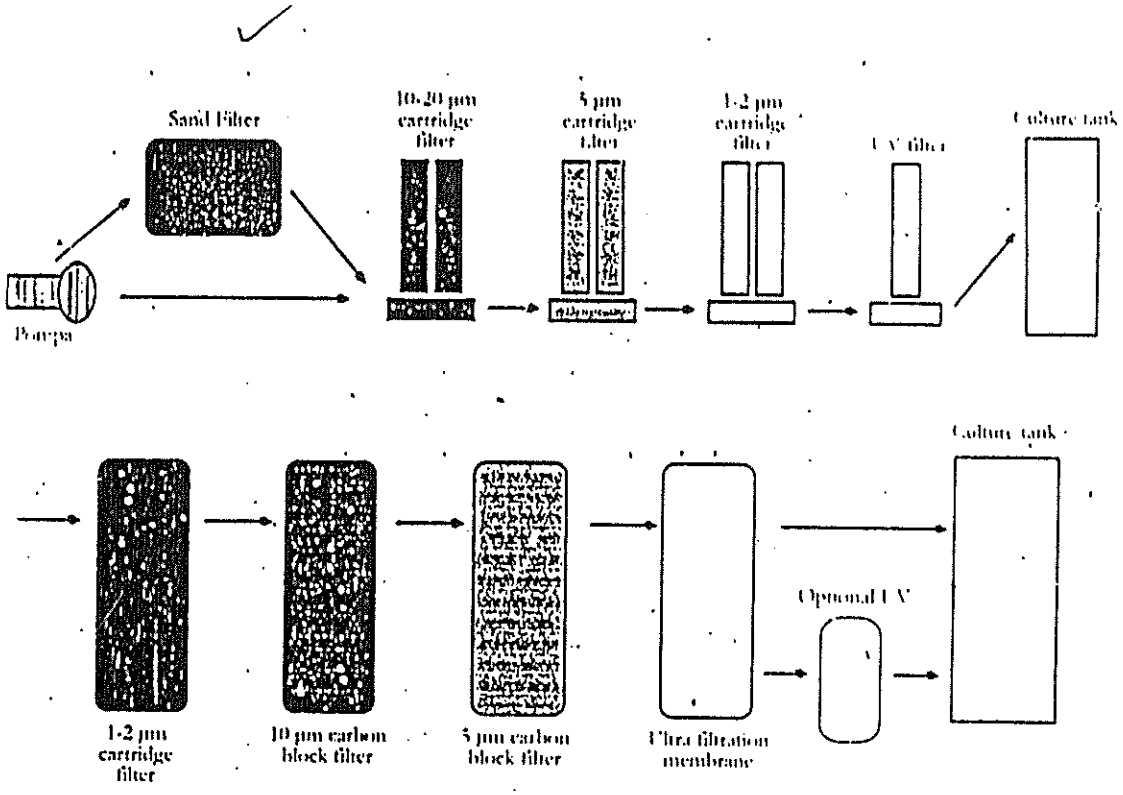
Suatu perlakuan awal, air yang digunakan untuk kultur mikroalgae adalah tahapan penting didalam kultur mikroalgae. Ketika kita menggunakan air laut secara alami, air danau, air sungai dan sumber air lainnya perlu dilakukan tahapan-tahapan perlakuan sebelum dilakukan inokulasi dengan sel algae.



Gambar 20. Sumber Kontaminan yang mempengaruhi Kuttur Mikroalgae

Semua air yang digunakan dalam kultur mikroalgae sebaiknya diperlakukan untuk menghilangkan semua bahan-bahan partikel dan sel-sel plankton termasuk protozoa, ciliata, bacteria, dan spesies-spesies algae yang lain serta pelarutan dari metal maupun bahan organik. Perlakuan ini bisa sederhana dan atau komplek baik perlakuan secara fisik, kimiawi maupun biologis yang kesemuanya untuk mendapatkan kualitas air yang baik. Suatu contoh didalam memperlakukan air kultur dengan cara mekanik yang ditunjukkan pada Gambar 21.

Pada gambar tersebut, air dari sumber alami dipompa kemudian dilakukan penyaringan secara kasar (sand filter) kemudian air tersebut dilakukan penyaringan masing-masing dengan catridge filter dengan pore size 10-20 μm, 5μm, 1-2 μm, UV filter, dan akhirnya air tersebut ditampung dalam bak kutur/ penampungan yang tertutup. Cara ini bisa dilakukan apabila hanya dibutuhkan volume air kultur yang sedikit. Didalam penggunaan UV dan ozon perlu diperhatikan tingkat efektifitasnya untuk mampu membunuh secara maksimal.



Gambar 21. Penyaringan Air Secara mekanik

Untuk mengukur daya efektifitas dari UV dan ozon terhadap kemampuan pembunuhan mikroorganisme yang terkandung dalam air kultur dapat dilakukan dengan perhitungan dan melalui uji coba yang mendapatkan tujuan akhir air kultur tersebut bersih dan bebas dari partikel dan organisme lain. Panjang gelombang sinar UV yang mampu untuk membunuh sekitar 254 nm, tetapi dosis efektif intensitas UV yang mampu untuk membunuh mikroorganisme yang terkandung dalam air kultur masih tergantung dengan laju aliran air dan diameter pipa yang digunakan. Jika laju aliran air adalah 500 GPH dan diameter pipa 2 inchi, suatu neon UV 40 watt akan menghasilkan 11.530 mw –s/cm². Jika diameter pipa ditambah menjadi 3 inchi maka penambahan output yang dihasilkan kurang lebih 17.350 mw –s/cm². untuk do9sis yang berbeda, laju alirannya maka digunakan perhitungan sbb:

Dosis baru (a) = dosis pada 500 GPH x 500/laju aliran baru (b). Melalui pemotongan laju aliran air menjadi separuh dosis untuk diameter 3 inchi, Unit UV bertambah menjaadi kira-kira 34.340 mw –s/cm². Pada dosis tersebut cukup untuk bisa untuk membunuh dari jenis bakteri ragi, beberapa spora mold, virus dan mikroalgae. Namun untuk membunuh protozoa khususnya paramecium, diperlukan unit UV sebesar 200.000 mw –s/cm² dan laju aliran air dikurangi menjadi kurang lebih 40 GPH apabila menggunakan kekuatan UV dengan 40 watt neon UV.

Perlakuan air media untuk mendapatkan air yang steril juga dapat dilakukan dengan pemanasan air. Pemanasan air yang dilakuakan biasanya menggunakan kisaran temperatur 38^0 C dan sebelum digunakan untuk media kultur perlu didiamkan selama 24jam. Pemanasan air tersebut bisa menggunakan energi dari BBM ataupun energi listrik cara sterilisasi dengan pemanasan ini juga bisa dilakukan dengan kombinasi antara pemanasan dan tekanan udara (autoclave). Pada tekanan udara 1 Atm, temperatur 120^0 C selama 15 menit semua mikroorganisme yang terkandung dalam air tersebut akan mati. Oleh karena sterilisasi dengan pemanasan tinggi mempunyai dampak terhadap kandungan CO2 dan perubahan pH yang diikuti dengan penguapan nutrien-nutrien anorganik dari media kultur maka hal ini perlu mendapatkan perhatian. Dengan adanya penguapan metal, karbonat, dan phospat kdang-kadang dapat merugikan proses kultur dari beberapa spesies mikroalgae. Permasalahan ini bisa dicarikan jalan keluarnya dengan melalui cara memasukan nutrien kedalam air media kultur yang sudah disterilkan setelah air tersebut menjadi dingin. Namun persoalan baru yang terjadi, sulitnya melakukan pekerjaan tersebut karena kontaminan lain melalui alat dan anggota badan pekerja yang melaksanakan. Oleh karena itu dianjurkan untuk kultur murni yang terbatas volumenya dan dilakukan di laboratorium bisa menggunakan cara sterilisasi autoclave. Untuk kultur massal dengan volume yang besar baik dilakukan dengan metode indoor maupun outdoor cara sterilisasi air kultur sebaiknya dilakukan dengan proses mekanik (penyaringan).

Cara lain untuk mendapatkan air media kultur yang steril bisa dengan chlorinisasi, yaitu dengan menambahhkan 20-25 ppm chlorin yang mampu membunuh protozoa dan virus dengan periode waktu 5 - 20 menit. Namun setelah airnya diberi chlorin perlu dilakukan pengurangan kadar chlorin dengan cara memfilter air tersebut dengan catridge filter dengan pore size 1-5 µm dan dilakukan airasi selama 12 jam. Direkomendasikan sterilisasi melalui chlorinisasi ini khusus untuk skala kultur yang besar.

4.6. Perlengkapan Kultur Mikroalgae

Banyak perbedaan bentuk dan ukuran dari peralatan-peralatan kultur yang dapat digunakan untuk kultur mikroalgae dari tank yang berbentuk tabung sampai kantong plastik atau drum plastik transparan. Bentuk dan ukuran wasah kultur ini berhubungan dengan sistem sirkulais, aerasi, pencahayaan , pengoperasian, dan khususnya untuk mengoptimalkan agar wadah kultur dapat menghasilkan kelimpahan

sel yang tinggi per satuan volume media kultur yang digunakan. Bentuk wadah kultur yang ideal adalah bentuk silinder lonjong dengan bentuk dasar darat/ rata atau konkav, warna transparan tembus cahaya dan mempunyai tutup tabung.

Untuk skala kecil yang digunakan untuk pakan kultivan di aquarium, wadah kultur bisa menggunakan botol bening atau botol cocacola plastik. Untuk dilaboratorium biasanyya menggunakan tabung erlenmeyer dengan bagian bawah flat yang berukuran mulai dari volume 50 ml sampai dengan 3 Liter yang diberi tutup tabung yang terbuat dari busa silikon atau silikon padat yang diberi lubang untuk memasukkan selang aerasi. Untuk menjaga keseimbangan tekanan gas didalam tabung kultur tersebut pada tutupnya ditambahkan 1 lubang untuk dimasuki pipa gelas Φ = 0,5 cm. Untuk skala besar, wadah kultur yang digunakan mulai berukuran 10 liter sampai 100 ton tergantung tingkat skala usaha produksi sel algae yang direncanakan.

Pada skala sedang, biasanya menggunakan ukuran 10 liter sampai 500 liter yang ditempatkan pada kondisi indoor kultur. Bahan wadah terbuat dari plastik, gelas atau polycarbonate yang transparan tembus cahaya lampu *flourrecent bulb* neon. Bentuk wadah kultur pada umumnya berbentuk tabung dilengkapi penutup yang diletakakan berderet sejajar horizontal maupun vertikal untuk mengoptimalkan pemanfaatan energi cahaya lampu. Peralatan dan perlengkapan kultur lainnya disediakan dengan kebutuhan yang diperlukan, seperti batu aerasi, slang aerasi, blower aerasi, komponen zar penyubur / pupuk, sistem pengolahan air kultur dan unit ukuran ruangan kecil maupun stock kultur bibit murni jenis mikroalgae yang menjadi tujuan kultur.

Pada skala besar, umumnya dilakukan di outdoor kultur, setelah bibit di perbanyak di indoor kultur terlebih dahulu. Bentuk wadah produksi massal ini terbuat dari beton, fiberglass dengan volume > 2 ton per unit wadah kultur. Hanya untuk menjaga kontinuitas produksi baik kuantitas maupun kualitas per satuan waktu, maka perlu dipertimbangkan apabila melakukan proses kultur di kondisi outdoor. Direkomendasikan agar proses kultur dilakukan pada kondisi indoor karena mudah dikontrol dan diprediksi hasilnya.

Pembersihan peralatan dan perlengkapan kultur seperti selang udara, batu aerasi, perlengkapan kultur, alat untuk mengukur, wadah dan lain-lain sebaiknya dilakukan secara rutin dengan sabun detergen yang baik, yang dibilas dengan air panas (50 – 60 °C). untuk peralatan dari gelas dan plastik bisa menggunakan 5 %

hydrochlorid untuk menghilangkan diatom dan kontaminan lainnya. Untuk perlatan yang peka terhadap temperatur tinggi sebaiknay dicuci dengan air hangat, dikeringkan melalui cara vacum dan setelah kering dibalut dengan alumunium foil sampai alat tersebut digunakan. Cara lain bisa dilakukan didalam microwave dengan tekanan 15 psi selama 20 menit. Setelah dingin peralatan tersebut dibungkus dengan alumunium foil, palstik wrap atau parafin untuk disimpan sampai digunakan kembali.

Aerasi dirancang sedemikian rupa yang saluran pipa aerasi diletakkan diatas wadah kultur. Disarankan untuk blower udara yang digunakan untuk siphon/ pembersihan dibedakan sumbernya yang digunakan untuk aerasi. Batu aerasi dipilih yang kuat dan tahan terhadap gesekan dari gerakan air dan kelimpahan sel algae yang menempel dan mempunyai berat yang cukup untuk tetap bisa dibawah / dasar wadah media kultur. Kultur algae volume 3 liter lebih membutuhkan aerasi agr mendapatkan hasil produksi yang optimal dengan kelimpahan tinggi.

Sebagian besar mikroalgae membutuhkan cahaya untuk proses fotosintesa. Gelombang cahaya yang biasa digunakan untuk kultur algae berkisar 400 – 700 nm yang menggunakan warna merah dan biru. Dalam kondisi indoor sumber cahaya berasal dari lampu flourecent bulb antara 20 – 40 watt.

Zat penyubur / pupuk disarankan yang mempunyai grade tinggi. Biasannya grade pupuk / zat kimia yang rendah berasal dari grade teknis dan sebaliknya yang mempunyai grade tinggi bersal dari zat kimia yang "pure analys" (pa). Adapun komposisi zat penyubur perlu mendapat perhatian khusunya ketepatan pengukurannya.

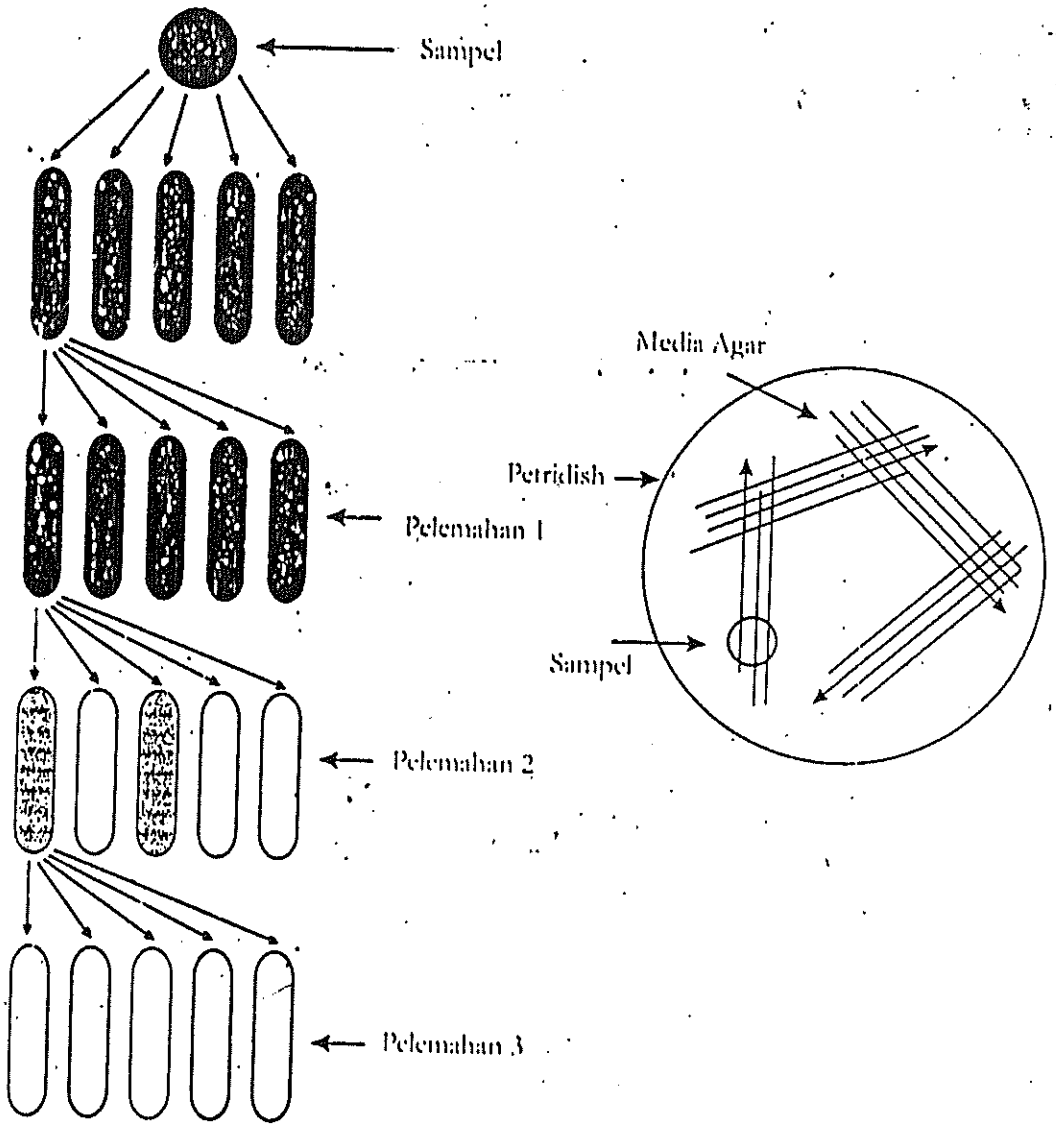
4.7. Bibit Sel (Inokulant) Mikroalgae

Ada 2 type kultur awal sel mikroalgae yang biasanya dilakukan di labolatorium maupun kultur komersial atau kultur massal secara praktis. Type yang pertama adalah menggunakan bibit sel yang "exemic" yaitu bibit sel tunggal spesies / strain yang bebas dari organisme asing lainnya dan type kedua adalah "xemic" yaitu kultur mikroalgae (bibit sel algae tunggal spesies / strain) yang masih berasosiasi dengan bacteria atau mcroorganisme lain seperti Protozoa.

Sistem type kultur yang pertama sangat sulit dilakukan pada kultur massal algae secara praktis, karena memerlukan kehati-hatian dan biayanya mahal. Untuk keperluan penelitian dan kondisi laboratorium, type kultur bisa dilakukan (Suminto and Hirayama, 1994;1997). Apabila kultur tipe axemic ini bisa dilakukan didalam produksi

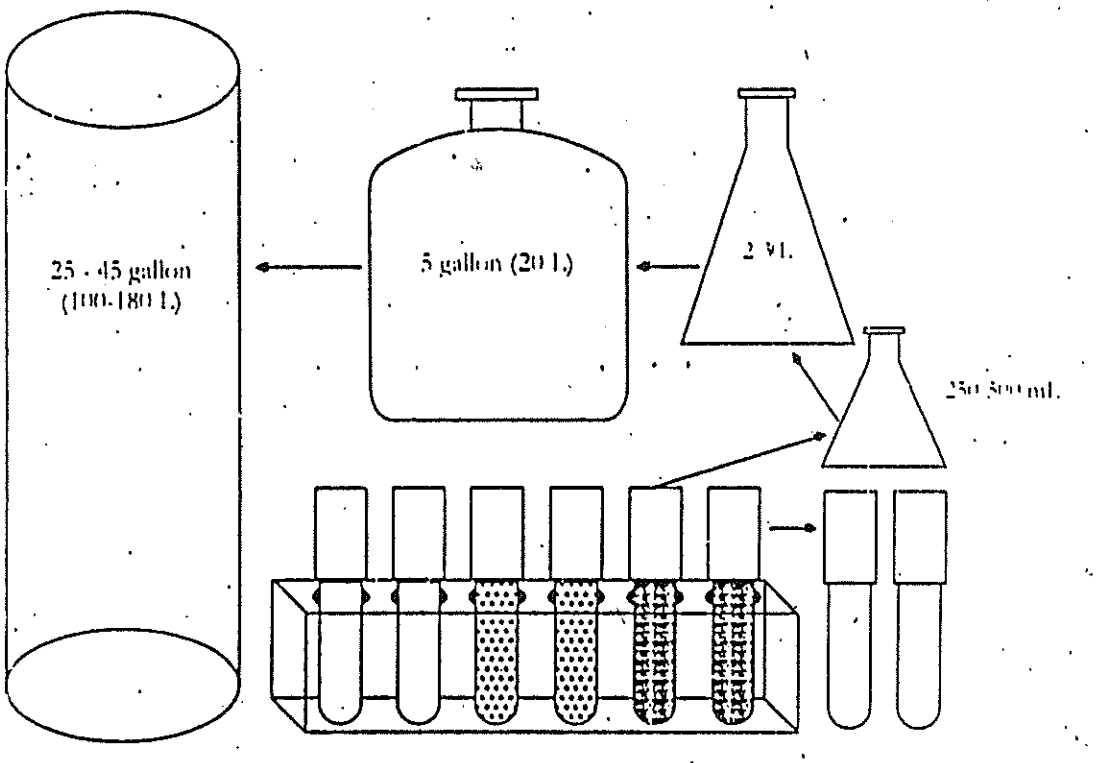
massal akan mengahsikan produski yang optimal dengan kelimpahan sel algae yang tinggi dan menghailkan kualitas sel yang sangat baik (Suminto and Hirayama, 1994;1997).

Walaupun tipe pertama slit dilakukan di kondisi kultur massal, namun berdasarkan pengalaman uji coba penulis di kultur massa hatchery kerang mutiara diperoleh hasil bahwa jumlah dan jenis bakteri yang berasosiasi didalam kultur algae secara xemic sangat mempengaruhi keberhasilan usaha budidaya mikroalgae di hachery tersebut. Disana semakin banyak strain bakteri dan jumlah sel bakteri untuk masing-masing strain didalam media kultur, maka pola pertumbuhan sel algae yang dihasilkan tidak stabil. Terjadinya masa pertumbuhan eksponensial stationary yang cepat, sedangkan kelimpahan sel juga ikut rendah yang ditandai dengan rusaknya struktur dinding dan internal sel. Sehubungan dengan itu, maka disarankan agar diusahakan jenis bakteri yang berasosiasi kedalam media kultur algae tersebut 1 – 3 strain, dan jumlahnya untuk setiap strainnya dipertahanan tetap rendah. Hal ini bisa dilakukan dengan cara pencucian sel dari kontaminan bakteri itu dengan cara dicuci di media kultur yang baru dan ditanam di media agar untuk diseleksi sel algae yang paling bersih untuk dijadikan bibit awal dalam kultur massal. Adapun cara membuat media agar yaitu dengan mencampurkan agar kedalam larutan media cair sebanyak 1% (10 gram) dan setelah dari autoclave dituangkan ke plate agar masing-masing sebanyak 20 ml. Setelah agar plate dingin, sel algae diteteskan 3 tetes untuk diratakan dengan spreader dipermukaan agar plate. Cara lain bisa dengan "*Streaking Method*" seperti yang ditunjukkan dalam gambar 22. Selang 3 – 5 hari pertumbuhan koloni sel algae diamati dibawah mikroskop dan apabila terdapat sel algae yang tidak berasosiasi dengan koloni bakteri, maka diambil 2 – 5 sel algae untuk ditanam kedalam tabung reaksi yang mengandung media cair untuk kultur algae sebanyak 5 – 10 ml. Selang 8 – 15 hari sel algae akan tumbuh dengan kepadatan yang cukup tinggi (10^5 – 10^6 sel /ml). Dari bibit sel algae ini kemudian ditanam kedalam media cair kultur algae yang lebih banyak volumenya (didalam erlenmeyer flash volume 50 ml, 250 ml, 1000 ml dan seterusnya).



Gambar 22. *Streaking Method* Untuk Isolasi Sel Mikroalga

Perlu mendapat perhatian bahwa apabila satu tahapan proses tersebut diatas maih belum menghasilakn urutan proses seperti tersebut diatas sekali lagi. Apabila dianggap sel algae sudah bersih, maka selanjutnya membuat media kultur untuk stok kultur dalam volume terbatas (30-60 ml) masing-masing strain/species mikroalgae 2 tabung stock kultur untuk mengantisipasi apabila terjadi kegagalan pertumbuhan pada satu tabung, masih ada tabung satunya untuk digunakan sebagai stock kultur (Gambar 23)



Gambar 23.

Pada Gambar 23, ditunjukkan bahwa sebagai stock kultur dipersiapkan pada tabung di rak masing-masing 2 tabung untuk awal kultur, setelah 14 hari kultur dipindahkan 0,5-1 ml sub-kultur itu ketabung yang baru sebanyak 2 tabung, dan sub-kultur yang kedua setelah 14 hari kultur juga dipindahkan ke media kultur yang baru lagi sebanyak 2 tabung. Pada waktu memindahkan sub-kultur yang ke 2 ke sub-kultu ke 3, sub-kultur ke 1 digunakan untuk dikultur ke dalam wadah yang volume lebih banyak (erlenmeyer flask volume 250-500 ml). Kenudian dari kultur di erlenmeyer ini ditunggu 7 – 10 hari kultur yang selanjutnya dipindahkan kedalam kultur erlenmeyer flask volume 2-3 liter. Selanjutnya selang 7-10 hari kultur lagi dipindahkan ke kultur tabung Carboy volume 20 liter dan pada akhirnya ke tabung polycarbonate dengan volume 100 – 175 liter dengan hari kultur yang sama sudah bisa memanen hasil kultur sel algae yang pertama, selanjutnya selang 7-10 hari kulutr memanen tahap ke 2, ke 3, dan seterusnya. Metode kultur sel algae seperti tersebut diatas disebut metode kultur batch klasik.

4.8. Prosedur kultur algae

Ada 3 metode yang digunakan untuk kultur algae yaitu; metode batch culture, modifikasi barth culture dan semi kontinyu. Metode kultur batch klasik pada prinsipnya adalah menginokulasi bibit sel kedalam tabung kultur dengan kepadatan sel algae yang rendah.

Metode kultur yang kedua adalah metode kultur modifikasi batch. Pada prisnsipnya setiap hari melakukan setting kultur algae sebanyak 500 ml di dalam erlenmeyer flask. Setelah dipelihara 8 hari kultur, kondisi kultur terlihat sudah cukup tua (kepadatan berkisar $10^5 - 10^6$ sel /ml) kultur dibagi menjadi 3 bagian. Bagian pertama dan kedua masing-masing 200 ml dimasukkan kedalam erlenmeyer flask volume 1 liter. Sedangkan sisanya 100 ml ditambahkan air steril yang sudah disaring dan nutrien sebanyak 400 ml. untuk 500 ml volume kultur di erlenmeyer flask sebagai stock kultur untuk 8 hari kultur yang akan datang. Sedangkan yang volume kultur 1 liter setelah 8 hari kultur dipindahkan ke 20 liter kultur algae didalan Carboy dan 8 hari kultur berikutnya dari 20 liter Carboy dipindahkan ke 200-320 liter tabung silinder untuk dikultur 5 – 8 hari kultur. Dari kultur tabung silinder ini akan digunakan untuk pakan zooplankton atau untuk larva ikan dan udang. Demikian proses yang terjadi di dalam proses modifikasi kultur batch yang dapat dilakukan secara indoor kultur namun mendapatkan volume dan kualitas hasil kultur yang terprediksi.

Metode kultur yang ke 3 adalah kultur semi kontinyu. Pada metode ini biasanya digunakan untuk mendesain kultur skala kecil yang sering digunakan dari keperluan rumah tangga maupun untuk keperluan hobi sampai ukuran kultur masal. Metode ini mungkin terlihat tidak konvensional untuk memanfaatkan pengetahuan tentang kultur axenic. Namun demikian metode ini adalah praktis dan mempunyai tingkat keberhasilan yang cukup baik dan ini berjalan beberapa tahun yang lalu. Disana konsisten untuk menumbuhkan kultur yang berulang-ulang dari periode waktu tertentu sebelum dilakukan pembersihan peralatan dan wadah untuk melakukan kultur awal dengan inokulan baru. Pengembangan metode ini mempunyai kelemahan kontrol yang tendah dan biasanya menghasilkan produk kultur algae yang rendah daripada kultur yang dilakukan dengan pemebersihan peralatan terlebih dahulu sebelum setiap wadah kultur itu digunakan lagi. Metode ini barangkali mempunyai tujuan secara kontinyu menghasilkan produksi sel algae persatuan unit volume daripada untuk mendapatkan produksi sel algae yang lebih tinggi per satuan volume dalam periode waktu tertentu. Jadi metode kultur mikroalgae dengan cara semi kontinyu ini

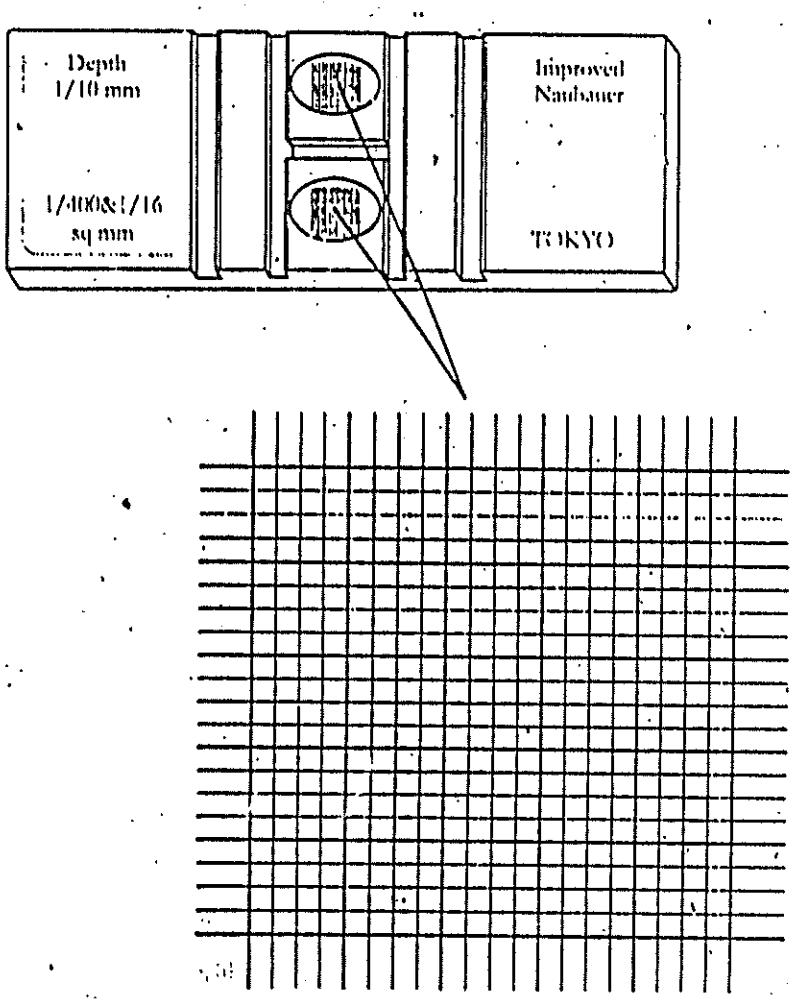
merupakan suatu pengulangan kuktur yang harus melakukan panen total dari hasil produksi dengan kata lain pemanenan hasil produksi kultur dalam metode ini dilakukan berulang ulang dengan menyisakan sebagian hasil kultur didalam wadah untuk menjadi bibit kultur yang baru. Disana hanya dilakukan penambahan media air pada periode-periode waktu pemanenan yang bertahap.

4.9. Perhitungan Kelimpahan Mikroalgae

Perhitungan kelimpahan mikroalgae dibagi menjadi 2 yaitu perhitungan langsung dan tidak langsung. Sel algae tumbuh sangat cepat didalam suatu kultur, dan ketika pertumbuannya berhenti beberapa proses metabolisme yang terhambat mungkin disebabkan karena kurangnya kualitas nutrisi. Untuk memaksimalkan jumlah dan kualitas mikroalgae penentuan waktu optimal untuk panen adalah sangat esensial untuk pertumbuhan populasi sel mikroalgae. Sehubungan dengan itu perhitungan kelimpahan algae sangat dibutuhkan karena untuk sebagai kontrol hasil output produksi yang dibandingkan dengan input produksi.

Perhitungan secara langsung adalah suatu teknik yang digunakan untuk menguji dan menghitung jumlah sel algae pada saat itu per satuan unit volume (biasanya jumlah sel/ml air media kultur). Untuk perhitungan sel mikroalgae, suatu komponen mikroskop yang diperlukan adalah mikroskop yang mempunyai kemampuan mendetekasi specimen 100-400 x. penghitungan sel algae secara langsung ini dapat dilakukan dengan haemocytometer dan nannoplankton chammber. Alat haemocytometer aslinya didesain untuk menghitung sel darah merah manusia secara akurat dan seklanjutnya alat ini digunakan untuk menghitung sel mikroalgae yang juga ukuran selnya relatif kecil. Haemocytometer adalah bentuk slide glass yang mempunyai garis-garis ukuran luasan dan volume untuk mengetahui jumlah volume sampel yang teramati (Gambar 24). Biasanya pada haemocytometer tercatat ukuran luasan kotak berbaris dan tinggi antara slide glass dan cover glass. Hasil perkalian antara luas dan kedalaman kotak yang teramati akan menghasilkan nilai volume sampel yang teramati pula. Dengan demikian apabila kotak yang teramati pada haemocytometer telah terhitung jumlah total sel, maka kita akan mendapatkan jumlah sel persatuan volume tertentu. Dari hasil ini dikalibrasikan menjadi satuan volume per mililiter, sehingga kelimpahan sel algae didalam kultur biasanya di nyatakan dalam satuan jumlah sel permililiter. Adapun langkah langkah yang harus dilakukan dalam perhitung memakai alat ini adalah sebagai berikut: pertama, permukaan

haemocytometer ditetesi sampel air kultur sel algae sampai terlihat penuh, kemudian ditutup dengan cover glass yang sudah tersedia. Setelah tertutup rapat langkah selanjutnya dilakukan perhitungan dibawah mikroskop dengan pembesaran mulai 100 x sampai 1000 x. setelah terlihat melalui lensa obyektif dan okuler dengan masing masing pembesaran 10 kali, pada grid counting terlihat jelas kotak-kotak kecil dan sejumlah sel algae yang memenuhi kotak-kotak kecil tersebut. Apabila diketahui haemocytometer mempunyai 400 kotak kecil dalam satu kesatuaan grid counting dan kedalaman 0,1 mm, maka perhitungannya sebagai berikut : volume grid counting haemocytometer = 1/400 x 0,1 mm^3 = 0,00025 mm^3. Oleh karena untuk volume air 1 ml = 1000 mm^3 maka untuk setiap kotak didalam grid counting mempunyai volume = ¼ x 10^{-6}ml. Apabila pada kotak kecil terdapat 1 sel algae saja maka jumlah sel algae per ml = 1 x 4 x 10^6 sel dan apabila di dalam 16 kotak kecil terdapat 1 sel algae saja, maka jumlah sel algae per ml = 25x10^4 sel.



Gambar 24. Haemacytometer.

Apabila didalam 25 kotak kecil terdapat 1 sel algae saja maka jumlah sel per ml = 16 x 10^4 sel. Apabila di dalam 400 kotak kecil terdapat 1 sel alga saja maka jumlah sel per ml = 1 x 10^4. Cara dan perhitungan tesebut digunakan untuk sel mikroalgae yang tidak bergerak (non motile) namun apabila kita hendak menghitung sel mikroalgae yang bergerak (motile) maka sebelum kita meneteskan kepermukaan grid counting haemocytometer terlebih dahulu kita campur 1 ml sampel air kultur algae dengan 1 tetes 5 % formaline, yang dicampur menggunakan pipet. Selanjutnya dari sampel 1 ml tersebut diambil dengan pipet dan diteteskan grid counting haemocytometer kemudian ditutup dengan cover glass dan selanjutnya diamati dibawah mikroskop.

Selain perhitungan sel dengan haemocytometer juga bisa dilakukan dengan alat nannoplankton chammber, perhitungan jumlah sel alga dengan alat nannoplankton chammber prinsip dasarnya sama dengan perhitungan di haemocytometer. Oleh karena volume air kultur sel algae yang dihitung berbeda (0,1 ml) dan bentuk penampung sampel tersebut di permukaan slide nannoplankton chammber berbentuk silinder maka perhitungannya dengan memperkirakan luasan lapang pandang (satuan mm^2) sehingga memakai formula sebagai berikut ; luasan Chamber = p x r^2, dimana p adalah nilai konstan pi = 3,14 dan r = jari-jari lapang pandang dalam mm. Untuk standar Chamber mempunyai kedalaman 0,4 mm. Dengan demikian formula perhitungannya untuk mendapatlan volume = pi x r^2 x 0,4 mm^3. Jadi untuk junlah sel per ml = jumlah sel yang terlihat pada chamber x pi x r^2 x 0,4 x 1000.

Untuk perhitungan sel algae yang tidak langsung bisa menggunakan cara Coulter Counter yaitu alat penghitung elektronik yang dikhususkan untuk mengetahui ukuran dan jumlah sel didalam sampel air kultur. Alat lain yang sring digunakan adalah spektrofotometer. Dengan spektrofotometer ini sampel dideteksi dengan pencahayaan dengan cahaya yang mempunyai range gelombang cahaya 350-750 nm. Hasil perhitungan dalam spektrofotometer ini disebut kelimpahan optik (Optical Density = OD).

Penghitungan chlorophyl *a*, adalah penghitungan tidak langsung yang menggambarkan pigmen chlorophyl pada sel mikroalgae dapat diuji dengan daya absorbsi cahaya pada panjang gelombang 664, 647, 630 nm. Adapun cara yang digunakan adalah sebagai berikut :

1. Mengukur 10 ml sampel air kultur mikroalgae
2. Mendeterminasi jumlah sel per ml dengan menggunakan haemocytometer atau nanoplankton chamber
3. Mensentrifuge sampel pada 5000 rpm selama 5 menit
4. Buang air bagian atas dan sampel siap pengecekan lebih lanjut
5. Kumpulan sel algae yang sudah homogen dalam suatu jaringan dalam 10 ml ditambahi dengan 10 ml dari 90% aseton jenuh dengan 1gr Magnesium karbonat
6. Disentrifuge lagi pada 5000 rpm selama 5 menit.
7. Tempatkan sampel di kuvet yang mengandung aseton didalam spektrofotometer dan diset absorban sampai ke titik blank (0), gerakkan blank kemudian isi dengan sampel chlorophyl di kuvet dan dibaca absorbannya. Apabila A merupakan panjang gelombang cahaya untuk meneral chlorophyl *a*, maka model perhitungannya jumlah chlorophyl (mikrogram /ml)

$$\mu g \text{ chl } a \text{ ml}^{-1} = 11,85 \times A_{664} - 1,54 \times A_{647} - 0,08 \times A_{630}$$

Tingkat kekeruhan media kultru sel agae dapat digunakan untuk mengukur jumlah sel melalui setting spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm dan pengukuran absorban. Dengan bilau absorban yang tinggi akan menghasilkan jumlah sel yang tinggi pula. Untuk akurasi jumlah sel yang ada didalam media kultur diperlukan kalibrasi ke model perhitungan secara langsung. Satu permasalahan yang cukup penting adalah teknik kekeruhan ini dipengaruhi oleh semua sumber, material yang bukan sel algae seperti bakteri dan suspended solid serta material-material yang cepat menempel ke kuvet. Cara perhitungun tidak langsung yang lain dengan sechi disk, alat sechi disk bisa menduga kepadatan sel algae dalam kultur namun dianjurkan alat ini sebaiknya digunakan untuk lingkungan perairan. kriteria pengukuran dengan sechi disk hanya menunjukkan kelimpahan sel algae melalui pencahayaan sampai pada keladalam perairan tertentu dimana alat tersebut tidak bisa terlihat. Pada titik alat sechi disk tidak dapat terlihat maka kedalaman dari permukaan air akan menentukan tingkat kepadatan sel yang ada. Untuk mendekati pada kenyataan yang sebenarnya perlu di kalibrasi cara perhitungan tidak langsung dengan haemacytometer/ nannopalnkton chamber. Permasalahan yang terjadi sama dengan menggunakan alat turbiditas.

Selain alat-alat penghitungan tidak langsung tersebut diatas juga bisa menggunakan alat fluorometer. Fluorometer adalah suatu instrumen yang dapat untuk mengeset dan menguji secara spesifik dari pigmen yang terkandung dalan sel algae. Prisip kerjanya hampir sama dengan spektrofotometer. Namun disarankan lebih. Baik menggunakan spektrofotometer karena kontrolnya tidak jelas.

4.10. Pola Pertumbuhan Sel Dalam Kultur

Selama periode kultur sel mikrlo algae terjadi 5 tipe tahapan pertumbuhan. 5 tipe tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Pertumbuhan phase lag, yaitu pertumbuhasn fase awal dimana penambahan kelimpahan sel yang terjadi jumlahnya sedikit. Fase ini mudah diobservasi ketika suatu kultur algae ditransfer dari suatu tempat ke suatu media kultur. pada fase ini biasanya terjadi stressing fisiologi karena terjadi perubahan kondisi lingkungan media hidup dari satu media awal ke media yang baru. Dilain pihak kelarutan mineral dan nutrien mungkin lebih banyak daripada sebelumnya, sehingga akan memperngaruhi sintesis metabolik dari konsentrasi rendah ke konsentrasi yang tinggi. Dari perubahan-perubahan inilah maka sel algae mengaiami proses penyesuaian.
2. Setelah fase lag, algae kultur akan mengalami pertumbuhan secara cepat, atau yang disebut fase pertumbuhan exponensial. Hal ini ditandai dengan penambahan jumlah sel yang sangat cepat melalui pembelahan sel algae dan apabila dihitung secara matematis membentuk fungsi logaritma. Untuk kepentingan budidaya sebaiknya sel algae dipanen pada akhir fase exponensial. Karena pada fase ini struktur sel masih normal secara nutrisi terjadi keseimbangan antara nutrien dalam media dan kandungan nutrisi dalam sel. Selain itu berdasarkan hasil penelitian, pada fase akhir exponensial, didapatkan kandungan protein dalam sel sangat tinggi, sehingga kualitas sel algae benar-benar terjaga untuk kepentingan kultivan budidaya lebih lanjut.
3. Pada tahapan pola pertumbuhan terjadi pengurangan kecepatan pertumbuhan sampai mencapai fase awal pertumbuhan yang stagnan. Pada fase ini desebut *Declining Growth Phase*. Pada fase ini ditandai dengan berkurangnya nutrien dalam media sehingga mempengaruhi kemampuan pembelahan sel sehingga hasil produksi sel semakin berkurang. Walaupun kelimpahan sel masih terjadi pertambahan namun nilai nutrisi dalam sel mengalami penurunan, maka untuk

kepentingan budidaya perikanan pada fase ini adalah alternatif kedua untuk dilakukan pemanenan

4. Stationery phase, adalah fase pertumbuhan ketika kelimpahan sel mengalami pertumbuhan konstan akibat dari keseimbangan katabolisme dan anabolisme sel. Pada fase ini ditandai dengan rendahnya tingkat nutrien dalam sel dan biasanya untuk kelimpahan sel algae yang rendah dalam kultur tejadi fase stationery yang pendek sehingga menyulitkan didalam pemanenan. Disarankan jangan melakukan pemanenan sel pada fase ini karena bukan merupakan sumber pakan yang mengandung nutrisi yang tinggi.
5. Death phase, adalah fase kematian sel karena tejadi perubahan kualitas air yang semakin memburuk, penurunan nutrien dalam media kultur dan kemampuan sel yang sudah tua untuk melakukan metabolisme. Kenyataan ini biasanya ditandai dengan penurunan jumlah sel yang cepat. Secara morfologi pada fase ini sel algae banyak terjadi kematian dari pada melakukan pembelahan, warna air kultur berubah, terjadi buih dipermukaan media kultur dan warna yang pudar serta gumpalan sel algae yang mengendap didasar wadah kultur. Untuk kepentingan budidaya perikanan pada fase ini dilarang untuk digunakan sebagai pakan kultivan budidaya

V. KULTUR ROTIFER

5.1. Prinsip Dasar Kultur Rotifer

Selama lebih dari 100 tahun rotifer dikenali sebagai hama di Jepang karena organisme ini menyebabkan kematian fitoplankton musim panas secara besar-besaran yang dikenal dengan fenomena 'mizukawari' yang mengakibatkan terganggunya produksi budidaya belut yang pada saat itu merupakan salah satu industri budidaya pertama yang berhasil di Jepang. Kematian populasi fitoplankton ini membawa masalah yang serius karena hal tersebut mengganggu keseimbangan ekologi pada kolam-kolam pembudidayaan belut disebabkan kualitas air yang mengalami degradasi dengan cepat.

Ketika budidaya sistem intensif mulai dikembangkan dengan membudidayakan organisme lain selain belut, maka diketahui bahwa pemeliharaan larva adalah faktor pembatas bagi kebanyakan ikan laut, kepiting, dan udang. Dr. Takashi Ito dan rekan-rekannya kemudian melakukan percobaan yang pada akhirnya menemukan bahwa rotifer dapat digunakan sebagai pakan larva yang tepat. Selanjutnya, di Jepang saat ini rotifer dikenal sebagai faktor yang sangat penting dalam produksi budidaya.

Pada perairan laut rotifer dijumpai melimpah di daerah muara. Sebagian besar rotifer adalah herbivora berukuran kecil dengan panjang tubuh kurang dari 400 μm dan mengkonsumsi fitoplankton berdiameter 3-17 μm. Tahap larva dari sebagian besar ikan laut dihabiskan di daerah muara dimana terdapat banyak rotifer sebagai sumber makanan karena ukurannya yang lebih kecil dari larva ikan.

5.2. Peranan Rotifer Dalam Pemeliharaan Larva

Predator dan mangsa

Larva ikan memiliki jarak untuk bereaksi yang sangat kecil, yaitu jarak maksimum untuk menemukan mangsa tertentu. Sifat mangsa yang dapat menarik perhatian untuk ikan dewasa adalah ukuran tubuh dan pergerakan mangsa tersebut. Pola pergerakan dari zooplankton yang berbeda menentukan sesuai atau tidaknya mereka sebagai makanan predator. Di samping itu, hal lain yang dipertimbangkan oleh ikan sebelum memilih makanan adalah keberadaan duri, warna, rasa, dan prilaku menghindari predator.

Awalnya larva ikan bersifat polyphagus, melihat dan memakan mangsa apapun yang memiliki ukuran sesuai dengan mulutnya. Tingkat keberhasilan menemukan

makanan sangat rendah selama masa-masa awal larva ikan. Setelah larva sudah mengenal jenis makanannya dengan baik, maka tingkat keberhasilan makannya akan mengalami peningkatan.

Ukuran mangsa

Lebar mangsa merupakan hal yang penting dalam pemilihan mangsa berdasarkan ukuran. Pada peristiwa makan pertama kali, larva ikan memilih mangsa yang berukuran lebar antara 50-100 μm. Ukuran mulut larva memiliki toleransi yang tinggi atas ukuran mangsa yang masuk dan secara menyesuaikan diri dengan pakan alami yang dimakannya.

Ukuran mangsa yang dimakan oleh ikan akan bertambah besar seiring dengan bertambahnya ukuran tubuh ikan. Sebagian besar larva ikan mengambil mangsa dengan ukuran yang besar sesuai dengan pertambahan ukuran mulut mereka, namun, selanjutnya ikan secara aktif akan mengambil mangsa yang berukuran kecil.

Tingkat keberhasilan makan

Larva ikan tiap spesies memiliki perbedaan yang sangat mencolok dalam hal kemampuan mereka sebagai predator. Perbedaan-perbedaan tersebut mencakup tingkat keberhasilan makan, tingkat penangkapan, tingkat penyerangan, waktu penanganan, dan tingkat pencarian. Ketika larva semakin tumbuh, maka mereka akan menjadi predator yang lebih baik dengan adanya penurunan waktu pencarian setiap kali menyerang dan mengurangi waktu penanganan untuk mangsa dengan ukuran yang sama.

Pemanfaatan pakan hidup

Beberapa larva ikan tidak memiliki lambung dan kelenjar lambung yang berfungsi secara penuh pada saat mereka mulai makan. Hal ini menyebabkan proses pengolahan makanan untuk kemudian diserap menjadi sulit karena kurangnya enzim pencernaan yang dibutuhkan dalam proses ini. Pakan hidup seperti zooplankton dapat menjadi sumber eksternal yang penting untuk memenuhi enxim-enzim ini. Pada saat zooplantkton ditelan, maka la akan mengeluarkan enzim proteolitik dan enzim lainnya ke dalam perut larva yang kemudian digunakan untuk membantu proses penghancuran makanan dan proses asimilasi.

Dalam peranannya sebagai makanan pertama, rotifer benar-benar penting dalam pemeliharaan sebagian besar larva ikan laut secara intensif, dan hingga saat ini belum ditemukan pakan pengganti rotifer yang setara. Di Jepang, rotifer adalah bagian yang tidak terpisahakan dalam sistem budidaya larva ikan. Melihat hubungan

ekologis alamiah yang terjadi di perairan muara antara rotifer dan larva ikan, maka tidaklah mengherankan jika larva yang baru menetas dapat langsung beradaptasi untuk menangkap dan memakan rotifer.

5.3. Siklus Hidup Rotifer

Klasifikasi

Rotifer termasuk ke dalam filum Rotifera yang merupakan filum invertebrata yang lebih lebih dan secara dekat dikaitkan dengan cacing gelang (nematoda). Ada tiga kelas Rotifera yaitu (1) Seisionidea, (2) Bdelloidea; kelompok yang merupai cacing dan bereproduksi secara aseksual, dan (3) Monogononta; kelas di mana di dalamnya terdapat *Branchionus plicatilis*, *B. calyciflorus*, dan *B. rubens*. Kelas monogononta memiliki siklus hidup partenogenetik yang terdiri dari fase seksual dan aseksual. Sebagian besar masa hidupnya berada dalam fase aseksual, namun, pada lingkungan tertentu kelompok ini dapat melakukan reproduksi seksual dan aseksual secara serentak. Faktor-faktor yang menentukan jenis kelami masih belum dapat dipahami dengan baik pada sebagian besar spesies, namun yang jelas faktor makanan, tidak adanya stress fisiologis, dan juga genetik memainkan peranan yang penting dalam hal ini.

Morfologi

Rotifer-rotifer dalam kelas monogononta memiliki susunan morfologi yang sederhana. Tubuhnya terdiri dari tiga bagian, yaitu kepala, batang tubuh, dan kaki. Pergerakannya dilakukan oleh sekumpulan silia yang membundar di sekitar bagian kepala yang disebut dengan corona. Kulit luar yang keras yang menutupi tubuhnya disebut dengan lorica memberikan rotifer bentuk yang jelas. Kadang-kadang lorica memiliki duri anterior dan posterior yang berfungsi sebagai pertahanan diri dari predator atau sebagai alat mengapung. Rotifer tersusun atas kurang lebih 950 sel dan memiliki sistem saraf, pencernaan, ekskresi dan reproduksi yang sangat khusus. Kaki yang memanjang pada bagian posterior digunakan untuk melekat. Karena *Branchionus plicatilis*, *B. calycyflorus*, dan *B. rubens* adalah merupakan rotifer planktonik sejati, maka mereka berenang secara terus menerus dan jarang sekali menempel. Perilaku planktonik mereka seperti kecepatan renang yang

lambat dan kurangnya alat-alat pertahanan dari predator menjadikan mereka sasaran yang empuk bagi kebanyakan predator.

Reproduksi

Branchionid memiliki masa hidup yang tidak terlalu lama. Usia branchionid betina pada suhu 25°C adalah antara 6-8 hari sedangkan yang jantan hanya sekitar 2 hari. Meskipun berumur pendek, namun branchionid betina memiliki kapasitas reproduksi yang luar biasa. Mereka pertama kali bereproduksi pada usia 18 jam dan selanjutnya terus bereproduksi sepanjang hidup mereka. Fekunditas total untuk seekor betina secara aseksual dan dalam kondisi pakan yang cukup serta kualitas air yang bagus adalah 20-25 individu baru.

Produksi kista

Kista rotifer dihasilkan selama fase seksual dalam siklus hidupnya. Kista rotifer melindungi embrio dengan cara menekan proses metabolisme sehingga mampu bertahan selama beberapa tahun. Pada panjang 110 µm, kista yang dihasilkan berukuran hampir sama dengan telur rotifer yang dihasilkan melalui proses aseksual, namun bedanya mereka ditutupi cangkang yang keras sehingga mereka dapat bertahan dalam lingkungan yang ekstrim. Kista rotifer seringkali dibawa dan disebarkan oleh burung dan hewan lainnya, terkadang di tempat-tempat yang tidak sesuai bagi mereka.

Ketika berada di lingkungan yang sesuai, kista rotifer menetas pada usia 24 hingga 48 jam pada suhu 25°C dengan pencahayaan yang cukup. Rotifer-rotifer yang menetas dari kista tidak digunakan secara langsung sebagai pakan, akan tetapi digunakan sebagai inokulan untuk kultur massa. Karena kista rotifer menetas sebagai individu betina yang bereproduksi secara aseksual, maka jumlah populasi akan meningkat dengan sangat cepat.

Penetasan dan pemanfaatan kista

Ada beberapa keuntungan dengan menggunakan kista rotifer untuk memulai kultur massal. Salah satunya adalah bahwa kista rotifer tidak memerlukan adanya kultur stok. Penempatan wadah pemeliharaan rotifer dalam bentuk kista pada rak-rak akan mengurangi kemungkinan terjadinya kontaminasi oleh ciliata atau bakteri patogen. Kista rotifer juga dapat diberi antibiotik sehingga menjamin rotifer yang menetas secara esensial bebas dari bakteri. Waktu yang dibutuhkan untuk memperbesar skala kultur dapat dikurangi dengan menggunakan kista sebagai inokulan dalam jumlah yang lebih besar.

Populasi sebesar 1 milyar dibutuhkan sebelum dilakukan pemanenan setiap hari sebanyak 20% dari jumlah awal populasi. Jumlah ini akan menghasilkan sekitar 200 juta rotifer setiap harinya atau sama dengan 600 g berat basah dari biomass rotifer (1 individu betina memiliki bobot 3 µm berat basah).

5.4. Strain Rotifer

Branchionus plicatilis, B. calyciflorus, dan *B. rubens* ditemukan dalam berbagai habitat yang berbeda di seluruh penjuru dunia yang menyebabkan timbulnya variasi-variasi di antara strain-strain dari lokasi yang berbeda. Snell dan Carrillo (1984) melaporkan adanya perbedaan ukuran pada 13 strain *B. plicatilis* dengan ukuran panjang berkisar antara 123-292 µm dan lebar 114-199 µm. Ukuran tubuh dotifer-rotifer branchionid utamanya ditentukan secara genetis, sehingga terjadinya perubahan-perubahan faktor lingkungan seperti temperatur, salinitas, ataupun jenis makanan hanya mengubah ukuran tubuh rotifer sebanyak 15 %.

Rotifer strain L dan S

Branchionus plicatilis dan *B. calyciflorus* ditemukan di seluruh dunia. Popoulasi yang berasal dari wilayah geografis berbeda memiliki karakteristik-karakteristik morfologi, fisiologi dan perilaku yang benar-benar berbeda. *B. plicatilis* digolongkan ke dalam dua kelompok utama yaitu strain S dan L yang memiliki perbedaan ukuran, bentuk, duri anterior, dan suhu optimum. Strain S bentuknya cenderung bulat dengan panjang antara 150-220 µm, sedangkan strain L memiliki panjang 200-360 µm. Adanya perbedaan ini membawa pada kesimpulan bahwa jenis S dan L merupakan dua spesies yang berbeda. L dikenal dengan nama *Branchionus plicatilis* sedangkan tipe S dikenal sebagai *B. rotundiformis.*

Pemanfaatan rotifer-rotifer kecil

Adanya rotifer-rotifer dengan ukuran yang berbeda memberikan kesempatan bagi para pelaku budidaya untuk menyesuaikan ukuran pakan larva dengan ukuran mulutnya. Spesies *B. plicatilis* yang lebih besar akan lebih tepat bagi ikan dengan ukuran mulut yang besar karena mereka mengandung lebih banyak nutrien per individu rotifer. *Branchionus plicatilis* patut untuk dicobakan sebagai makanan pertama bagi larva, namun apabila ukurannya terlalu besar, para pelaku budidaya dapat memilih *B. rotundiformis* sebagai penggantinya.

KONDISI FISIKA DAN KIMIA YANG DIBUTUHKAN OLEH ROTIFER AIR LAUT

Branchionus plicatilis ditemukan di berbagai lingkungan yang berbeda mulai dari perairan laut hingga danau air asin, dan mereka memiliki kisaran toleransi fisiologi yang luas. Tujuan dari pembudidayaan organisme ini adalah mempertinggi tingkat reproduksi aseksual dan meminimalkan reproduksi seksual.

Salinitas

Branchionus plicatilis memiliki toleransi salinitas mulai dari 1-60 ppt, namun mereka mengalami perkembangan terbaik pada salinitas antara 10-20 ppt. Perubahan salinitas secara tiba-tiba sebesar 10 ppt atau lebih akan sangat memungkinkan menyebabkan kematian *B. plicatilis*. Beberapa strain *B. plicatilis* lebih merupakan organisme air payau dan bukan organisme air laut sepenuhnya. Salinitas di atas 35 ppt akan mencegah terjadinya reproduksi seksual. Pencegahan ini adalah hal yang diinginkan dalam kultur massal disebabkan karena keberadaan individu jantan dan kista akan mengurangi tingkat pertumbuhan populasi rotifer dan hasil panen secara keseluruhan.

Temperatur dan cahaya

Temperatur sangat mempengaruhi tingkat reproduksi dan setiap strain rotifer memiliki nilai optimumnya sendiri-sendiri. Temperatur optimum bagi pertumbuhan tipe S adalah 28°-35° C, sedangkan tipe L adalah 18°-25° C. Secara umum, temperatur harus dipertahankan antara 20-30°C. Rotifer dapat bertahan hidup pada suhu yang lebih rendah ataupun lebih tinggi, namun dalam suhu yang lebih rendah tingkat produksi mereka akan lebih rendah sedangkan pada suhu yang lebih tinggi akan mengakibatkan tekanan panas dan jumlah produksi yang sangat kecil.

Beberapa faktor lingkungan lainnya juga mempengaruhi tingkat produksi rotifer. Penelitian yang dilakukan baru-baru ini menunjukkan bahwa cahaya sebesar 250-310 nm adalah yang terbaik untuk menetaskan kista *B. plicatilis*. Intensitas cahaya sebaiknya sebesar 2000-5000 lux, pH berkisar antara 7,5 sampai 8,5. Konsentrasi ammonia bebas tidak boleh lebih dari 1 ppm.

5.5. Kondisi Fisika dan Kimia yang Dibutuhkan Rotifer Air Tawar

Temperatur dan cahaya

Penelitian untuk menentukan temperatur optimal bagi rotifer air tawar belum pernah dilakukan hingga saat ini. Namun beberapa pengamatan dapat menunjukkan bahwa rotifer ini memiliki kisaran toleransi temperatur yang tinggi. Temperatur minimum untuk *B. rubens* adalah 10°C dan maksimal adalah 25°C.

5.6. Kebutuhan Makanan Rotifer Air Laut

Berat rotifer

Berat kering satu individu rotifer tergantung dari kondisi nutrisinya dan ukuran tubuh, namun pada umumnya berkisar 0,12 sampai 0,36 µm per individu betina (tidak termasuk telurnya). Pada saat mengalami pertumbuhan cepat dan ketersediaan makanan berlimpah, individu betina dapat mencapai berat kering hingga 0,62 µm. Pada saat tidak ada makanan, rotifer dapat kehilangan berat badannya sebanyak 18-26 % per hari pada suhu 25°C.

Pemberian mikroalga hidup

Kuantitas dan kualitas makanan memainkan peranan yang penting dalam pertumbuhan rotifer. Meskipun *B. plicatilis* dan *B. rotundiformis* memakan beraneka ragam spesies mikroalga, namun *Nannochloropsis* diketahui sebagai salah satu pakan yang terbaik bagi pertumbuhan mereka Spesies ini diperkenalkan pada lingkungan budidaya sebagai 'Chlorella laut' oleh pihak Jepang. Pada kondisi yang optimal, seekor rotifer dapat mengkonsumsi hingga 200 sel *Nannochloropsis* per menit. Tingkat makan rotifer berubah sesuai dengan kondisi lingkungan seperti temperatur, salinitas, dan jenis serta kuantitas makanan. Mikroalga lain yang cocok untuk pembudidayaan rotifer laut adalah *Nannochloris, Chaetoceros, Chlorella, Pyramimonas, Isochrysis,* dan *Tetraselmis.*

Pemberian mikroalga kering

Pengeringan biomass alga telah terbukti efektif dalam produksi komersial. Teknik ini menghasilkan produk kering yang dapat menyimpan banyak kualitas nutrisi sel hidup. Keefektifan produk alga ini untuk mendukung pertumbuhan populasi rotifer telah diujicobakan dengan menggunakan pengujian biologis pertumbuhan populasi standar *B. plicatilis.*

Pemberian mikroalga yang dibekukan

Nannochloropsis beku telah digunakan oleh Hamada dan Hagiwara (1993) untuk menggantikan alga hidup dalam produksi kista rotifer. *Nannochloropsis* beku memiliki keuntungan yaitu dapat disimpan sebagai pasta alga dengan kemungkinan kehilangan nutrisi yang kecil.

Pemberian ragi

Sebagai tambahan mikroalga, rotifer juga dapat ditingkatkan melalui pemberian pakan ragi yang telah berhasil diterapkan pada berbagai sistem budidaya. Ragi dapat menggantikan porsi *Nannochloropsis* yang dibutuhkan pada kultur massal rotifer, dan lebih menghemat biaya. Meskipun ragi sangat efektif untuk pertumbuhan rotifer, namun rotifer yang diberi makan ragi tidak memiliki nutrisi yang cukup untuk pemeliharaan sebagaian besar larva ikan laut. Namun untuk meningkatkan kandungan nutrisi ragi ini dapat diperkaya dengan emulsi asam lemak ω3 dan juga vitamin.

5.7. Kebutuhan Makanan Rotifer Air Tawar

Pemberian mikroalga hidup

Nannochloris, Nannochloropsis dan *Chlorella* didapati sebagai pakan yang baik bagi rotifer. Ketiga spesies alga ini dapat hidup baik di perairan asin maupun tawar. Kondisi tertentu di beberapa tempat membutuhkan spesies alga lainnya karena adanya toleransi temperatur, nutrisi, ataupun kimia. Penelitian lain menjumpai bahwa *Chlorella pyrenoidosa, Phacus pyrum,* dan *Ankistrodesmus convolutus* adalah spesies yang tepat untuk *B. rubens*. Hal ini memperlihatkan bahwa banyak jenis mikroalga yang sesuai untuk pembudidayaan rotifer air tawar.

Pemberian ragi

Ragi merupakan makanan tambahan yang bagus untuk budidaya rotifer air tawar *B. calyciflorus* dan *B. rubens*. Meskipun pemberian makan ragi adalah cara yang sederhana, namun rotifer yang diberi pakan dengan alga tetap mengandung lebih banyak nutrisi bagi larva ikan dibandingkan dengan rotifer yang diberi pakan ragi. Ragi yang diperkaya dengan emulsi asam lemak ω3 dapat memaksimumkan kandungan nutrisi pada rotifer.

5.8. Bakteri Pada Kultur Rotifer

Kultur massal rotifer dipenuhi dengan organisme-organisme mikro seperti bakteri, alga, protozoa, dan rotifer itu sendiri. Penelitian baru-baru ini menemukan adanya peranan bakteri dalam mendukung pertumbuhan rotifera dan menjaga stabilitas kultur massal. Ada teknik-teknik yang dikembangkan untuk memanipulasi pertumbuhan populasi bakteri dalam kultur massal rotifer dengan tujuan meningkatkan jumlah produksi. Bakteri yang digunakan seperti ini disebut dengan probiotik.

Penggunaan bakteri dalam kultur massal rotifer adalah sebagai makanan, produsen vitamin B_{12}, produsen asam eicosapentanoic (EPA), dan sebagai probiotik yang melawan bakteri-bakteri patogen.

Di samping beberapa bakteri yang menguntungkan dengan memproduksi B_{12} dan EPA, ada juga bakteri yang membahayakan rotifer. Salah satunya adalah strain tertentu dari *Vibrio alginolyticus* yang menghasilkan exotoxin yang dapat membunuh *B. plicatilis*.

5.9. Nutrisi Rotifer

Komposisi biokimia

Komposisi biokimia rotifer dan nutrisi mereka untuk larva ikan ditentukan oleh makanannya. Komposisi nutrisinya didominasi oleh protein. Selain itu terdapat juga lemak, abu, beberapa kandungan logam, dan 18 asam amino. Zooplankton merupakan sumber pakan yang bagus bagi larva ikan karena adanya kandungan asam amino mereka dan tingkat digestabilitas yang tinggi. Kandungan asam lemak esensial rotifer diketahui sebagai komponen penting yang mempengaruhi daya tahan larva.

Asam lemak esensial

Kebutuhan asam lemak esensial pada ikan berbeda-beda setiap spesies. Asam lemak tak jenuh tinggi (HUFA) yaitu 20:5ω3 dan 22:6ω3 merupakan kebutuhan pakan bagi banyak ikan air laut. Analisa mengenai rotifer mengungkapkan bahwa HUFA ini tidak didapati dalam jumlah yang cukup pada rotifer yang diberi makan ragi, namun didapati dalam jumlah yang mencukupi pada rotifer yang diberi makan *Nannochloropsis*.

Pengayaan rotifer

Berbagai jadwal pemberian makan telah diuji untuk mengetahui kemampuan rotifer dalam menghasilkan kuantitas yang besar dengan kualitas nutrisi yang bagus.

Telah diketahui bahwa jika rotifer yang dikultur massal dengan ragi, lalu kemudian diberi makan *Nannochloropsis* pada dua hari terakhir sebelum dipanen, maka HUFA yang penting bagi larva ikan akan mencapai tingkat yang maksimum. Pemberian *Nannochloropsis* lebih lama tidak akan meningkatkan kandungan HUFA. Cara pemberian pakan di atas menjadi teknik yang populer di kalangan pelaku budi daya.

Pendekatan kedua untuk memperkaya kualitas nutrisi rotifer adalah dengan memberikan strain khusus ragi laut yang kaya akan ω3 HUFA. Sayangnya, ragi ini memiliki pertumbuhan yang lambat dan membutuhkan peralatan yang mahal untuk dibudidayakan.

Pendekatan ketiga adalah dengan menambahkan emulsi HUFA ke kultur ragi sehingga sel-sel ini dapat menyerap asam lemak dan lemak yang dapat melarutkan vitamin sebelum mereka diberikan ke rotifer.

5.10. Kultur Rotifer Skala Kecil

Rotifer dapat dikultur dengan mudah dalam wadah berbagai bentuk dan volume mulai dari botol isi dua liter hingga tangki berkapasitas 20.000 liter. Perlengkapan yang dibutuhkan sederhana, namun ada beberapa hal yang harus diingat dalam memilih wadah kultur. Pertama, kultur rotifer tidak boleh lebih besar daripada kultur mikroalga yang dapat mendukungnya. Kedua, wadah kultur harus menjamin sirkulasi makanan yang baik bagi rotifer. Untuk menciptakan sirkulasi yang baik dapat dipilih wadah berbentuk melingkar atau dengan menggunakan aerasi.

Kultur rotifer skala kecil ini ditujukan untuk tingkat aquarium yang ingin mendapatkan ketersediaan rotifer. Namun demikian desain dan prosedur pada skala kecil ini dapat dengan mudah disesuaikan untuk pengoperasian skala yang lebih besar. Tujuannya adalah untuk menjaga jumlah populasi rotifer pada fase pertumbuhan cepat (*log phase*) dan melakukan pemanenan dengan interval waktu tertentu untuk menjaga keberlanjutan suplai rotifer.

5.11. Kultur Batch Skala Kecil

Metode yang digunakan serupa dengan yang diterapkan pada kultur skala kecil berkelanjutan. Perbedaannya adalah bahwa pada kultur skala ini rotifer dipanen dengan segera, air kultur dibuang, wadah kultur disterilkan, dan kemudian diisi kembali dengan alga dan rotifer. Metode batch memiliki keuntungan tersendiri yaitu: 1) produksinya lebih dapat diperkirakan, (2) kemungkinan terjadinya kontaminasi

lebih kecil, (3) lebih mudah menjaga pertumbuhan populasi rotifer pada masa pertumbuhan cepat (*log phase*). Metode batch utamanya digunakan untuk memenuhi kebutuhan rotifer setiap hari.

Rancangan sistem kultur

Wadah kultur rotifer terdiri dari sembilan bak cuci plastik bervolume 83 liter (22 galon). Delapan di antaranya dilengkapi dengan pipa tegak yang dapat dipindahkan kemudian dimasukkan ke dalam pipa pusat bermulut banyak yang dialirkan ke dalam bak lain yang telah dimodifikasi sedemikian rupa untuk keperluan pemanenan dan pengumpulan rotifer. Wadah pengumpulan berisi jaring plankton dengan ukuran mata jaring 53 µm yang diletakkan di bagian dasar bak. Pipa pusat yang besar berfungsi sebagai wadah penyimpanan untuk menahan rotifer yang terkumpul dan pipa tersebut dilengkapi dengan sebuah katup untuk mengeluarkan air. Air kultur mengalir melalui jaring dan keluar ke bak yang kering. Hasilnya, rotifer-rotifer tersebut disaring, dikumpulkan, dan didorong turun menuju wadah penyimpanan. Selain desain ini masih ada desain lain yang baru-baru ini diperkenalkan yaitu dengan menggunakan lima ember galon dan sebuah kantong pengumpul yang dapat dipindahkan.

Prosedur kultur alga

1. Empat liter mikroalga *Nannochloropsis* dipelihara sebagai kultur awal dalam sebuah ruangan terpisah di mana suhu ruangan dapat dikendalikan.
2. Sebanyak 45 liter air steril dipompakan dari tandon ke dalam tabung tempat kultur alga, kemudian di suburkan dan diinokulasi dengan 3,5 liter *Nannochloropsis* yang berusia 7 hari sejak kultur awal.
3. Kultur awal diisi lagi dengan air steril, disuburkan dan dibiarkan meledak (tumbuh) kembali. Proses ini diulangi 3-5 kali sebelum kultur baru dimulai lagi dari awal dengan menggunakan sumber air lainnya.
4. Tabung alga diberi pencahayaan selama 24 jam dan dibiarkan selama 5 hari. Pada hari kelima, 75 liter alga dikeringkan ke dalam bak kultur rotifer, sehingga menyisakan kurang lebih 12 liter alga di dalam tabung.
5. Kemudian tabung alga diisi lagi dengan air steril, disuburkan, dan dibiarkan tumbuh hingga hari kelima, sehingga keseluruhan proses akan diulang kembali.

Hasil produksi alga

Kultur alga yang diinokulasi dengan 20 liter mikroalga yang lebih tua akan menghasilkan kepadatan awal sebesar 68.000 sel per ml dan memproduksi sekitar 6 juta sel per ml setelah jangka waktu 5 hari. Deviasi standarnya adalah 1,8 juta sel per ml. Kultur massal yang dimulai dengan menanamkan 3,5 liter kultur mikroalga baru (log phase) akan menghasilkan 5,3 juta sel/ml setelah 5 hari dengan kepadatan awal sebesar 15.000 sel per ml. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan mikroalga baru sebagai inokulan lebih menguntungkan daripada menggunakan mikroalga yang sudah tua.

Kultur rotifer

1. Sebelum menginokulasi rotifer, pH pada kultur alga harus diatur sebesar 7,9 dengan menggunakan asam asetik dalam jumlah kecil.
2. Setelah pH diatur, bersihkan kultur rotifer yang digunakan untuk stok kultur massal sebanyak 50 rotifer per ml. Kultur massal dibiarkan tumbuh selama 5 hari.
3. Selama 5 hari, diberikan pakan tambahan berupa Roti-Rich dan alga tambahan sebagai berikut :

   Hari 0 = stok alga, sesuaikan pH, tambahkan rotifer
   Hari 1 = 40 ml Roti-Rich (20 ml AM, 20 ml PM)
   Hari 2 = 60 ml (30 ml AM, 30 ml PM)
   Hari 3 = 60 ml (30 ml AM, 30 ml PM) + 5 hingga 10 liter alga saat AM
   Hari 4 = 60 ml (30 ml AM, 30 ml PM) + 5 hingga 10 liter alga saat AM
   Hari 5 = 30 ml saat AM + 5 liter alga, panen rotifer dan isi kembali wadah kultur
   Ket : AM = 12.00 – 24.00
   PM = 00.00 – 12.00
4. Setiap hari wadah kultur diaduk untuk melarutkan sel-sel alga yang turun ke dasar.
5. Pada hari kelima semua rotifer dipanen beberapa jam setelah diberi pakan mikroalga.

Hasil produksi rotifer

Sebanyak 25 eksperimen telah dilakukan untuk mengamati pertumbuhan rotifer kultur massal. Adanya kontaminasi ciliata *Euplotes* mengakibatkan menurunnya tingkat produksi rotifer. Ada perbedaan jumlah produksi antara kultur yang terkontaminasi dengan yang tidak. Kehadiran ciliata pada media kultur mengakibatkan berkurangnya jumlah rotifer betina yang membawa satu atau banyak telur, namun

tidak mengganggu kepadatan alga. Karena populasi mikroalga tidak terganggu dengan adanya *Euplotes*, maka ciliata-cilita ini mengurangi tingkat reproduksi rotifer dengan cara lain. Ciliata utamanya memakan bakteri dan berperan sebagai pesaing makanan bentuk ragi. Rotifer mengkonsumsi bakteri dan ragi yang dapat memenuhi kebutuhan nutrisinya yang penting. Ketika makanan ini menjadi terbatas karena adanya kontaminasi ciliata, maka reproduksi rotifer menjadi terhambat. Kemungkinan lainnya adalah ciliata dapat mengeluarkan zat yang menghambat pertumbuhan yang juga dapat menurunkan kualitas air kultur.

Pembersihan ciliata

Ada dua spesies ciliata yang umum mengkontaminasi kultur massal rotifer yaitu *Uronema* dan *Euplotes*. Penyaringan ciliata dari inokulan rotifer dapat dilakukan dengan menggunakan kasa berukuran 50 µm, dan membilas rotifer-rotifer tadi dengan air bersih untuk melepaskan ciliata-ciliata yang menempel. Rotifer dapat tumbuh dengan sangat baik ketika dipindah ke dalam media kultur baru yang telah berisi sekitar 10-20 % media kultur sebelumnya. Oleh karena itu, selama proses pemindahan dari media kultur lama yang telah terkontaminasi ini perlu dilakukan penyaringan air dengan menggunakan penyaring berukuran 5 µm atau kurang untuk membuang semua ciliata. Jika media kultur terkontaminasi, pengurangan penggunaan pakan ragi dapat membantu mengurangi perturnbuhan ciliata.

5.12. Kultur Batch Skala Besar

Nannochloropsis adalah pakan utama dan ditumbuhkan dalam wadah inokulasi yang sangat besar dengan kepadatan 5-10 juta sel/ml. Pada pencahayaan dan temperatur musim panas (20-28°C), kepadatan sel dapat berlipat ganda dalam 3 hari, sedangkan pada suhu yang lebih rendah (7-15°C) memerlukan waktu 7 hari. Pupuk dengan organik dan anorganik diberikan setiap 5 hari sekali. Pada saat kepadatan alga mencapai 20-30 juta sel/ml, kira-kira separuh volume alga digunakan untuk memulai kultur rotifer. Kultur mikroalga kemudian berkembang lagi dengan diberi air bersih, air laut saringan, dan tambahan nutrien. Kultur alga diatur pada pH 8,0, temperatur 30°C, dan salinitas 20 ppt sebelum dicampurkan dengan rotifer.

5.13. Kultur Massal Chemostat

Keuntungan dari metode ini adalah adanya pengendalian yang ketat atas kontaminasi dan kualitas air, pengendalian produksi harian, volumen air dan mikroalga yang lebih kecil, dan penghematan biaya tenaga kerja. Hasil produksi dari 1 m^3 (264

gal) chemostat cukup untuk memenuhi kebutuhan rotifer bagi hatcheri-hatcheri ukuran kecil hingga menengah.

5.14. Kultur Massal dengan Kepadatan Tinggi

Sistem kultur dengan kepadatan tinggi terdiri dari sebuah wadah berukuran 1 m^3 yang dijalankan secara semi-kontinu dan dipanen setiap dua hari sekali. *Branchionus rotundiformis* ditanam sebanyak 10.000 individu per ml dan tumbuh menjadi 25.000 /ml dalam waktu dua hari pada suhu 25°C dan salinitas 25-30 ppt. Kepadatan yang sangat tinggi ini memungkinkan untuk dilakukan karena *Chlorella* padat memberikan pasokan makanan yang cukup dengan resiko penurunan kualitas air yang minimal jika dibandingkan dengan ragi. Ada sedikit penurunan kualitas air yang terjadi karena sel-sel *Chlorella* tetap hidup dan berpotensi menyimpan zat-zat kimia beracun seperti ammonia bebas di dalam sel-selnya.

Pada kepadatan rotifer yang sangat tinggi, faktor-faktor oksigen dapat menjadi terbatas. Pemberian oksigen yang cukup pada kultur rotifer dapat meningkatkan jumlah produksi 3-4 kali. Ammonia bebas dikeluarkan oleh rotifer sebagai limbah metabolisme nitrogen yang dapat mencapai konsentrasi toksik.

Aerasi air pada kultur dengan kepadatan tinggi dapat menyebabkan timbulnya busa. Busa terkadang melimpah keluar dari wadah yang menyebabkan hilangnya 10 % volume air dan 50 % biomassa rotifer. Kerugian ini dapat diminimalisir dengan menggunakan alat pencegah busa.

5.15. Penyimpanan Biomassa Rotifer

Penyimpanan rotifer hidup jangka pendek

Adalah hal yang tidak selalu memungkinkan untuk menyesuaikan produksi rotifer dengan kebutuhan pakan larva ikan. Kadang-kadang produksi rotifer melimpah ketika larva sedikit, dan kadang-kadang larva kelaparan karena tidak mencukupinya produksi rotifer yang tersedia. Naik turunnya ketersediaan rotifer dapat diperkecil melalui penyimpanan biomassa rotifer untuk jangka pendek di dalam kulkas. Kualitas nutrisi rotifer yang disimpan di dalam kulkas tidaklah optimal, sehingga disarankan untuk diberikan pengayaan dengan alga atau emulsi asam lemak sebelum diberikan ke larva ikan.

Pembekuan jangka panjang

Penyimpanan jangka panjang dapat dilakukan dengan membekukan rotifer dalam air bersalinitas rendah (7 ppt, kepadatan 1.0046). Sebelum dibekukan rotifer sebaiknya diperkaya secara maksimal dengan alga atau nutrisi tambahan lainnya seperti asam lemak dan vitamin. Pembekuan menyebabkan rotifer mati, sehingga mereka akan tetap berada di dalam badan air. Akibatnya, harus ada sirkulasi yang bagus untuk menjaga agar rotifer beku tersebut berada di bagian atas badan air di mana mereka dapat dilihat dan dimakan oleh larva ikan. Rotifer beku hanya mengandung separuh nutrisi rotifer hidup.

DAFTAR PUSTAKA

Bold, H. C. and Wynne, M. J. 1985. Introduction to the Algae: Structure and Reproduction. 2nd ed. Prentice Hall, Inc, Englewood Cliffs, NJ. 722 pp.

Chen, F. J. 1991. Commercial production of microalgae and rotifers in China. In: rotifer and Microalgae Culture Systems The Oceanic Inst., Hawaii. Pp 105-122.

Darley, M. W., 1982. Algal Biology: Administrasi Physiological Approach, Blackwell Scientific Publication Oxford, London: 168 pp.

Dawes, C. J. 1981. Marine Botany. Wiley and Sons. New York. 628 pp. Dewey, I.E, and B.L. Parker. 1964. Mass rearing of Daphnia magna for insecticide bioassay. Journal Economic Entomology 57 (6)

Drcop, M. R. 1974. Heterotrophy of carbon. In : W.D.P. Stewart (Ed). Algae Physiology an Biochemistry (Botanical Monographs Vol. 10). Uni. Of Calif. Press, Los Angeles. pp 530-559.

Fog, G. E. 1966. Algae culture and Phytoplankton ecology. Univ. Wisconsin Press. Madison, WI, 126 pp.

Fukusho, K. 1983. Present status and problems of rotifer Branchionus plicatilis for fry production of marine fishes in Japan. Advances and Perspectives in Aquaculture. Coquimbo, Chile, Universidad del Norte. 361-374.

Fulks W. And K.L. Main (Eds). 1991. Rotifer and Microalgae Culture System Proceedings. The Oceanic Institute, Honolulu, Hawai. 364 pp.

Hagiwara, A., T.W. Snell, E. Lubzens And C.S. Tamaru (Eds.). 1997. Live Food in Aquaculture (Developments in Hydrobiology). Kluwer Academic Press Publishers. 328 pp.

Hirata, H. 1979. Rotifer culture in Japan. In: Cultivation of Fish Fry and Its Live Food, E. Styczysnka-Jurewics, T.Backiel, E. Jaspers and G. Personne (eds) European Marineculture Society, Special Publication 4:361-375.

Hoff F.H and T.W.Snell. 1997. Plankton Culture Manual 4th ed. San Antonio, Florida. 141 ppt.

Mc Vey J.P. And J.R. Moore. 1983. Crustacean Aquaculture (CRC Handbook of Mariculture). Vol.1. CRC Press, Inc., Florida. 341 pp.

Okauchi, M. 1991. The status of Phytoplankton production in Japan. In:. Rotifer and Microalgae Culture System. The Oceanic Institute, Hawaii, Pp 247-256.

Prescott, G.W. 1970. How to Know the Fresh-water Algae. Wm. C. Brown Co., Dubuque, Iowa. 348 pp.

Riquime C.E. and Y. Ishida. 1989. Interaction Between Microalgae and Bacteria in Coastal Seawater. Kyoto Univ. Publisher. 60 pp.

Ryther, J. H. and J. C Goldman. 1975. Microbes as food in marine culture. Ann. Rev. of Microbiol. 29: 429-433.

Saouth R.G. And A. Whittick. 1987. Introduction Of Phycology. 1st ed. Blackwell Scientific Publs. Oxford. 341 pp

Stein, J. R. 1973. Phycological Methods. Academic Press. Toronto. 448 pp.

Suminto & K. Hirayama. 1996. Effect of Bacterial Coexistence on The Growth of a Marine diatom Chaetoceros gracilis. Fish Sci. 62 : 40-43.

Suminto & K. Hirayama. 1997. Application of a Growth-promoting Bacteria for stable mass culture of Three Marine Microalga. Fish Sci. : 223-229.