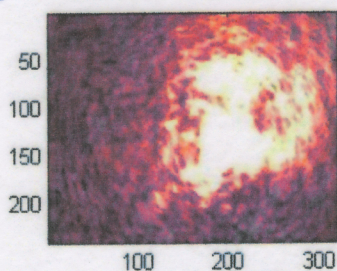


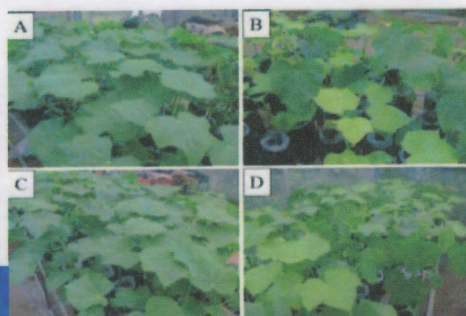
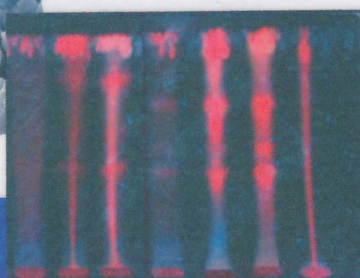
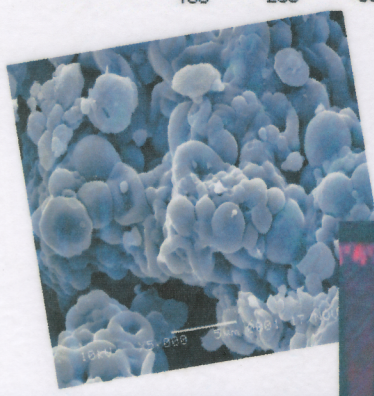
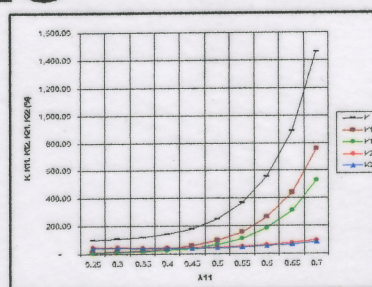
# SEMINAR NASIONAL SAINS III 13 NOVEMBER 2010

## *Sains Sebagai Landasan Inovasi Teknologi dalam Pertanian dan Industri*

File video: sel 2hz 20v.avi



### PROSIDING



BOGOR, DESEMBER 2010



## OPTIMASI LINGKUNGAN TUMBUH MIKROALGA DARI KAWAH RATU SUKABUMI YANG BERPOTENSI SEBAGAI SUMBER BIODIESEL

Risa Swandari Wijihastuti<sup>1</sup>, Tatik Chikmawati<sup>2,3</sup>, Miftahudin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Biologi Tumbuhan, Sekolah Pascasarjana IPB

<sup>2</sup> Departemen Biologi, FMIPA Institut Pertanian Bogor

<sup>3</sup> Penulis untuk korespondensi

### Abstrak

Mikroalga berpotensi sebagai bahan baku biodiesel dan dapat dikulturkan dalam skala besar. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi mikroalga pada sumber air panas kawah ratu-Sukabumi dan menemukan media serta kondisi yang cocok agar tumbuh baik dan menghasilkan kandungan minyak secara optimal. Mikroalga yang telah diisolasi dan dikulturkan sebelumnya, diidentifikasi dan diperiksa kandungan lipidnya dengan menggunakan metode Nile Red. Mikroalga ini kemudian ditumbuhkan dalam media yang memiliki konsentrasi nitrogen yang berbeda (0, 187,5, 375, dan 750 ppm) dan intensitas cahaya yang berbeda (70, 105, 140 dan 175  $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$ ) selama 16 hari. Kandungan lipid diukur pada hari ke 8 dan ke 16. Hasil percobaan menunjukkan bahwa hanya ada satu jenis mikroalga, yaitu *Chlorella sp.*, yang berpotensi menjadi bahan baku biodiesel karena memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi. *Chlorella sp.* dapat tumbuh maksimal pada media dengan kadar nitrogen 750 ppm dan intensitas cahaya 70  $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$ , tetapi kandungan lipid tertinggi diproduksi bila ditumbuhkan pada media yang memiliki konsentrasi nitrogen 187,5 ppm dan intensitas cahaya 175  $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$ .

**Kata Kunci:** mikroalga, biodiesel, sumber air panas, *Chlorella sp*

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Mikroalga merupakan organisme yang berukuran mikroskopis, menyusun sebagian besar jenis dari alga. Organisme ini dapat dijumpai di mana saja yang tersedia cukup cahaya, kelembaban dan nutrisi sederhana untuk memperpanjang hidupnya (Pelczar & Chan 1986). Elemen yang penting terdapat dalam nutrisi diantaranya adalah fosfat (komponen penting fosfolipid dan untuk sintesis asam nukleat) dan nitrogen (penting untuk sintesis asam amino dan protein) (Ferrão-Filho *et al* 2003). Di alam, selain dapat dimanfaatkan sebagai sumber makanan mikroalga juga mengambil peranan yang penting sebagai akumulator logam berat, eliminasi CO<sub>2</sub>, dan juga berasosiasi dengan bakteri untuk mengikat nitrogen (Sheehan *et al.* 1998). Mikroalga memiliki potensi sebagai penghasil bahan baku biodiesel. Biodiesel hanya memberikan sedikit polusi dibandingkan

bahan bakar petroleum dan dapat diperoleh dari hasil transesterifikasi dari minyak tumbuhan yang dalam hal ini berasal dari mikroalga, dengan alkohol.

Berdasarkan beberapa penelitian, mikroalga memiliki pertumbuhan yang cepat dan kemampuan yang sangat besar untuk menghasilkan minyak alami (lipid) lebih kurang 60% dari berat keringnya (NREL 1998). Mikroalga dapat tumbuh di tempat ekstrim seperti di air yang panas dan pH yang rendah sehingga tahan terhadap cendawan dan bakteri (Griffith & Harrison 2008; Yani 2003). Karakter ini memungkinkan mikroalga untuk dikulturkan dalam skala besar sebagai bahan baku biodiesel. Indonesia memiliki banyak sumber air panas, salah satunya adalah yang terdapat di Jawa Barat. Sumber-sumber air panas ini dapat menjadi sumber keanekaragaman hayati bagi mikroalga. Oleh karena itu perlu dilakukan eksplorasi secara sistematis dan kajian ilmiah mendalam terhadap mikroalga pada daerah yang memiliki sumber air panas, sehingga dapat ditemukan mikroalga yang memiliki kandungan minyak alami tinggi dan selanjutnya dapat dibudidayakan secara masal sebagai bahan baku pembuatan biodiesel

## 1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroalga pada sumber air panas Kawah Ratu-Sukabumi dan menemukan media serta kondisi yang cocok agar menghasilkan minyak alami secara optimal.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari sampai bulan Oktober 2010 di Laboratorium Penelitian Taksonomi dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Departemen Biologi, FMIPA, Institut Pertanian Bogor.

### 2.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel mikroalga yang telah dikulturkan serta air dari Kawah Ratu-Sukabumi, media BG 11, minyak Nile Red (9-diethylamino-5H-benzo {a} phenoxazine-5-one), metanol, kloroform dan Air destilata bebas ion.

### 2.3. Metode

#### 2.3.1. Pengecekan Keceragaman dan Kandungan Lipid Mikroalga

Kultur stok mikroalga yang digunakan sebelumnya sudah melalui tahapan isolasi dan seleksi media tumbuh. Keceragaman diamati kembali untuk memastikan mikroalga

masih seragam. Beberapa preparat segar dibuat dari kultur stok mikroalga kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya. Ada tidaknya kandungan lipid pada mikroalga diketahui melalui pewarnaan dengan larutan Nile Red (Cooksey *et al* 1987). Larutan stok Nile Red dibuat dengan melarutkan 1 mg serbuk Nile Red ke dalam 1 ml aceton. Mikroalga diwarnai dengan membuat preparat segar dari 10  $\mu$ l larutan Nile Red dan 1 ml sampel mikroalga. Setelah 20-30 menit mikroalga yang telah terwarnai dapat diamati dibawah mikroskop fluorescence dengan filter blue violet (400-440 nm).

### 2.3.2. Identifikasi Sampel Mikroalga

Sampel mikroalga diidentifikasi dengan mengamati preparat segarnya dibawah mikroskop cahaya. Proses identifikasi dilakukan dengan bantuan buku identifikasi "*How to Know The Freshwater Algae*" karangan Prescott (1978) dan "*Introduction to The Algae*" karangan Bold dan Wynne (1985).

### 2.3.3. Optimasi Lingkungan Tumbuh

Percobaan ini merupakan percobaan faktorial yang disusun berdasarkan rancangan split plot dengan tiga ulangan. Terdapat dua faktor dalam percobaan yaitu konsentrasi Nitrogen (dengan empat taraf yaitu 0, 187,5, 375, dan 750 ppm) dan intensitas cahaya (dengan empat taraf yaitu 70, 105, 140 dan 175  $\mu$ mol foton/ $m^2$  /detik). Kombinasi perlakuan disajikan pada Tabel 1. Masing-masing perlakuan ditumbuhkan pada botol serum 500 ml. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam pada tingkat kepercayaan 95%. Apabila analisis sidik ragam berpengaruh nyata maka akan dilanjutkan dengan uji Duncan.

**Tabel 1** Kombinasi perlakuan faktorial 4 x 4 dari empat taraf konsentrasi nitrogen dan empat taraf intensitas cahaya

Konsentrasi Nitrogen (ppm)	Intensitas Cahaya ( $\mu$ mol foton/ $m^2$ /detik)			
	70 (C1)	105 (C2)	140 (C3)	175 (C4)
0 (N0)	C0N0	C1N0	C2N0	C3N0
187,5 (N1)	C0N1	C1N1	C2N1	C3N1
375 (N2)	C0N2	C1N2	C2N2	C3N2
750 (N3)	C0N3	C1N3	C2N3	C3N3

Parameter yang diamati yaitu pertumbuhan dan kandungan lipid. Parameter pertumbuhan yang diamati adalah *Optical Density* (OD) dan bobot kering. Pengukuran OD mikroalga dilakukan pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 680 nm setiap dua hari sekali selama 16 hari. Kandungan lipid mikroalga yang sudah ditumbuhkan dianalisa dengan metode ekstraksi seperti yang sudah dilakukan oleh Gunawan (2010) dengan melakukan beberapa modifikasi.

Ekstraksi lipid dilakukan pada hari ke 16 dengan cara mengambil 100 ml kultur mikroalga disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 25 menit, diambil peletnya lalu ditimbang sebagai bobot basah. Pelet dikeringkan dengan oven selama 24 jam pada suhu 80°C, dan ditimbang sebagai bobot kering. Pelet kering disuspensikan dengan pelarut kimia seperti air destilata bebas ion 2 ml, methanol 5 ml dan khloroform 2,5 ml lalu dilakukan pengadukan dengan bantuan *shaker* secara resiprok selama 24 jam. Ke dalam hasil pengadukan ditambahkan kembali 2,5 ml air destilata bebas ion dan 2,5 ml khloroform kemudian dilakukan sentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 25 menit. Campuran lipid dan khloroform terbentuk dipisahkan dari bahan lainnya kemudian dipanaskan agar khloroform dapat menguap sehingga didapatkan lipid kering dan ditimbang sebagai bobot lipid. Persentase lipid dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Lipid} = \frac{\text{bobot lipid}}{\text{bobot kering mikroalga}} \times 100$$

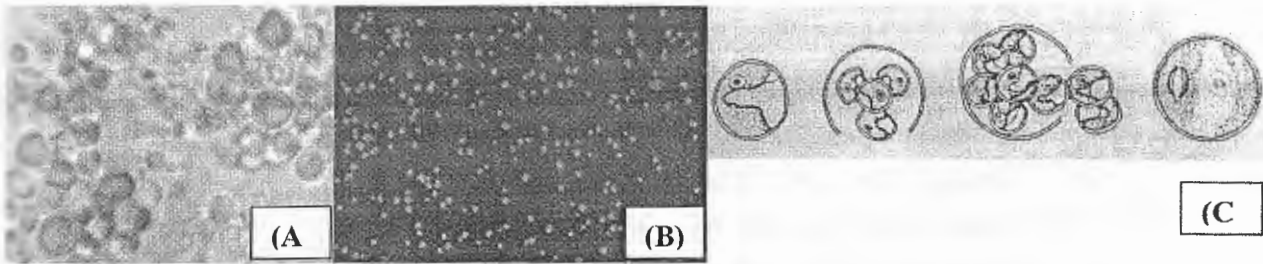
Sedangkan produktivitas lipid dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Produktivitas} \left( \frac{\text{mg}}{\text{hari}} \right) = \left( \frac{\text{bobot lipid}}{16} \right) \times \left( \frac{1000 \text{ ml}}{\text{volume alga yang diekstraksi}} \right)$$

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Keseragaman, Kandungan Lipid dan Identifikasi Sampel Mikroalga

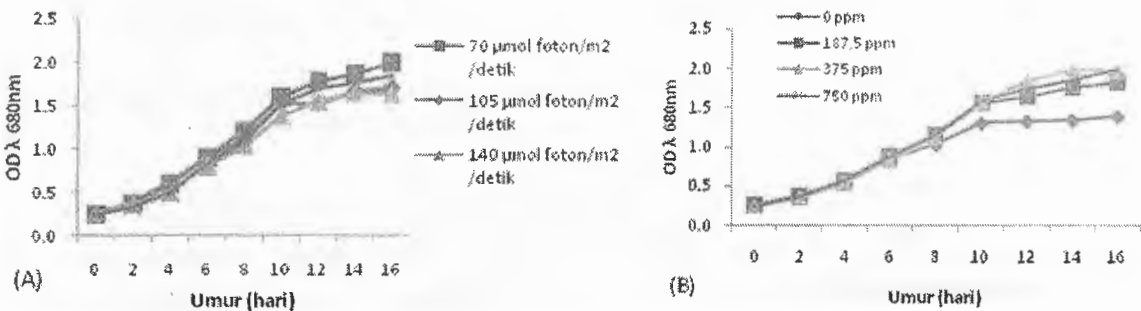
Hasil pengecekan keseragaman menunjukkan bahwa mikroalga pada kultur stok dalam keadaan seragam, maka dapat dilanjutkan dengan pengecekan kandungan lipid. Pengecekan kandungan lipid pada mikroalga dapat menentukan digunakan atau tidaknya mikroalga ini pada proses selanjutnya. Mikroalga yang berpendar karena memiliki kandungan lipid yang banyak, berpotensi untuk dijadikan bahan baku pembuatan biodiesel. Dari hasil proses identifikasi mikroalga, hanya terdapat satu jenis mikroalga yang terisolasi yaitu *Chlorella sp.* termasuk ke dalam divisi Chlorophyta yang merupakan divisi pendominasi perairan air tawar (Pelzar & Chan 1986). Dari pengecekan sebelumnya dimana *Chlorella sp.* memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi, juga dapat disebabkan karena selain dalam bentuk pati, divisi Chlorophyta juga menyimpan cadangan makanannya dalam bentuk minyak (Pelzar & Chan 1986).



Gambar 1 Mikroalga dalam stok masih dalam keadaan seragam (Perbesaran 1000x) (A) Mikroalga terwarnai oleh Nile Red (perbesaran 100x) (B). Gambar mikroalga pada buku identifikasi Bold & Wynne (1985) (C)

### 3.2. Lingkungan Tumbuh Mikroalga

Pertumbuhan mikroalga dapat diamati dengan mengukur kepadatan sel nya (OD) menggunakan spektrofotometer. Hasil percobaan menunjukkan pertumbuhan dari mikroalga semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi nitrogen maupun intensitas cahaya (Gambar 2).

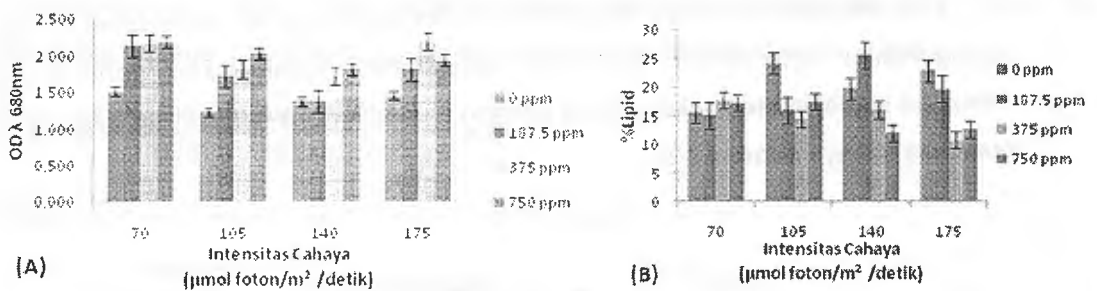


Gambar 2 Pola pertumbuhan mikroalga pada berbagai intensitas cahaya (A) dan konsentrasi nitrogen (B)

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, konsentrasi nitrogen menunjukkan pengaruh yang nyata hanya pada satu parameter pertumbuhan yaitu kepadatan sel mikroalga. Gambar 3 menunjukkan mikroalga dapat tumbuh optimal pada konsentrasi nitrogen 750 ppm. Konsentrasi nitrogen yang tinggi akan meningkatkan laju pertumbuhan sedangkan konsentrasi nitrogen yang rendah akan menghambat pertumbuhan, hasil ini sesuai dengan penelitian Gunawan (2010) dengan mikroalga jenis lain. Konsentrasi nitrogen tidak memiliki pengaruh yang nyata pada biomassa atau bobot kering mikroalga namun pada konsentrasi 187,5 ppm memiliki kecenderungan yang tinggi.

Intensitas cahaya tidak memiliki pengaruh yang nyata pada kedua parameter pertumbuhan, tapi cenderung memiliki kepadatan sel yang tinggi pada intensitas cahaya 70  $\mu\text{mol foton}/\text{m}^2/\text{detik}$  dan juga biomassa yang tinggi pada intensitas cahaya 175  $\mu\text{mol foton}/\text{m}^2/\text{detik}$ . Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan intensitas cahaya terendah

yang digunakan akan menghasilkan kepadatan sel yang lebih tinggi seperti pada penelitian Imamoglu *et al.* (2007) dengan mikroalga *Haematococcus pluvialis* dan pada Ghezelbash *et al.* (2008) dengan mikroalga *Tetraselmis chuii*, namun lain halnya dengan penelitian Sorokin & Kraus (1958) pada jenis *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, dan *Chlamydomonas reinhardtii* yang kepadatan sel nya semakin tinggi seiring dengan meningkatnya intensitas cahaya. Sama halnya dengan intensitas cahaya, interaksi antara konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya juga tidak memiliki pengaruh yang nyata pada kedua parameter pertumbuhan.



**Gambar 3** Pengaruh konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya pada pertumbuhan mikroalga (A) dan kandungan lipid pada hari ke 16 (B)

Mikroalga yang telah ditumbuhkan diukur persentase lipid dan produktivitasnya pada hari ke 16. Pada parameter kandungan lipid, hanya persentase lipid saja yang dipengaruhi oleh konsentrasi nitrogen, sedangkan produktivitas lipid tidak dipengaruhi. Persentase lipid yang tertinggi dihasilkan pada konsentrasi nitrogen 187,5 ppm. Pembatasan nutrisi, seperti nitrogen atau silika, diketahui dengan baik dapat meningkatkan kandungan lipid pada alga (Griffith & Harrison 2008). Produktivitas lipid juga memiliki kecenderungan tinggi dihasilkan pada konsentrasi nitrogen 187,5 ppm.

Intensitas cahaya tidak memiliki pengaruh yang nyata pada kedua parameter kandungan lipid. Namun, persentase lipid cenderung tinggi pada intensitas cahaya 140  $\mu\text{mol foton/m}^2$  /detik dan produktivitas lipid cenderung dihasilkan tinggi pada intensitas cahaya 175  $\mu\text{mol foton/m}^2$  /detik. Pengaruh cahaya pada mikroalga berbeda pada setiap spesies, hal ini telah diteliti sebelumnya oleh Gunawan (2010). Hanya persentase lipid saja sebagai parameter kandungan lipid yang dipengaruhi secara nyata oleh interaksi antara konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya, sedangkan produktivitas lipid tidak dipengaruhi secara nyata. Pengaruh ini mungkin tidak terlihat pada produksi lipid pada mikroalga setiap harinya, namun jelas terlihat pengaruhnya pada akumulasi produksi lipid selama 16 hari.

#### 4. KESIMPULAN

Hanya terdapat satu jenis mikroalga yang berhasil diisolasi pada sumber air panas kawah ratu-sukabumi, yaitu *Chlorella* sp., yang berpotensi menjadi bahan baku biodiesel karena memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi. *Chlorella* sp. dapat tumbuh maksimal pada media dengan kadar nitrogen 750 ppm dan intensitas cahaya 70  $\mu\text{mol foton/m}^2$  /detik, tetapi kandungan lipid tertinggi diproduksi bila ditumbuhkan pada media yang memiliki konsentrasi nitrogen 187,5 ppm dan intensitas cahaya 175  $\mu\text{mol foton/m}^2$  /detik. Konsentrasi Nitrogen dan Intensitas cahaya dapat cukup berpengaruh pada pertumbuhan dan produksi lipid pada mikroalga ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bold HC, Wynne MJ. 1985. *Introduction to the algae. Structure and Reproduction*. 2<sup>nd</sup> ed. New Jersey: Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs.
- Cooksey KE, Guckert JB, Williams SA, Collis PR. 1987. Fluorometric determination of the neutral lipid content of microalgal cells using Nile red. *J Microbiol Methods* 6:333-345.
- Ferrão-Filho AS, Fileto C, Lopes NP, Arcifa MS. 2003. Effects of essential fatty acids and N and P-limited algae on the growth rate of tropical cladocerans. *J Freshwater Biology* 48: 759-767
- Ghezelbash F, Farboodnia T, Heidari R, Agh N. 2008. Effects of different salinities and luminance on growth rate of the green microalgae *Tetraselmis chuii*. *J Biological Sciences* 3: 311-314
- Griffiths JM, Harrison TLS. 2008. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J Appl Phycology* 21: 493-507.
- Gunawan. 2010. Keragaman dan karakterisasi mikroalga dari sumber air panas yang berpotensi sebagai sumber biodiesel [tesis]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Imamoglu E, Sukan FV, Dalay MC. 2007. Effect of Different Culture Media and Light Intensities on Growth of *Haematococcus pluvialis*. *J Natural and Engineering Sciences* 1: 05-09
- [NREL] National Renewable Energy Laboratory. 1998. A Look Back at the U.S. Department of Energy's *Aquatic Species Program—Biodiesel from Algae*. Colorado:NREL; (NREL Report).
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Volume ke-1. Hadjoetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- Presscot GW. 1978. *How to Know the Freshwater Algae*. 3<sup>rd</sup> edition. WMC. Iowa: Brown Company.
- Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, Roessler P. 1998. *A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program—Biodiesel from Algae*. The National Renewable Energy Laboratory, A national laboratory of the U.S. Department of Energy.
- Sorokin C, Krauss RW. 1958. The effects of light intensity on the growth rates of green algae. *J Plant Physiology* 33: 109-113.
- Yani AP. 2003. Identifikasi jenis-jenis mikroalga di sumber air panas sungai air putih zona penyanggah taman nasional kerinci seblat di kecamatan lebong utara propinsi Bengkulu. *J Penelitian UNIB* 9:42-44.