



ISOLASI *Chlorella sorokiniana* HASIL MUTASI MENGGUNAKAN *ETHYL METHANESULFONATE (EMS)* UNTUK PRODUKSI BIODIESEL

CITRA BUANA SARI



TEKNIK DAN MANAJEMEN LINGKUNGAN
SEKOLAH VOKASI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024

PERNYATAAN MENGENAI LAPORAN PROYEK AKHIR DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa laporan proyek akhir dengan judul “Isolasi *Chlorella sorokiniana* Hasil Mutasi menggunakan *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) untuk Produksi Biodiesel” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir laporan proyek akhir ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor dan Badan Riset dan Inovasi Nasional.

Bogor, Agustus 2024

Citra Buana Sari
J0313201041

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

CITRA BUANA SARI. Isolasi *Chlorella sorokiniana* Hasil Mutasi menggunakan *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) untuk Produksi Biodiesel. Dibimbing oleh IVONE WULANDARI BUDIHARTO, S.Si., M.Si. dan apt. KHAIRUL ANAM, S.Farm., M.Si., Ph.D.

Mutagenesis acak dengan *ethyl methanesulfonate* (EMS) dapat meningkatkan kandungan triasilgliserol (TAG). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh strain baru *Chlorella sorokiniana* dengan produksi biomassa dan kandungan lipid tinggi melalui teknik mutagenesis acak menggunakan EMS yang profil asam lemaknya memenuhi karakteristik sesuai standar biodiesel. Strain liar *C. sorokiniana* LIPI12-AI016 pada media GYP diberi perlakuan dengan EMS pada konsentrasi 100 mM, 200 mM, 250 mM, 300 mM, 350 mM, 400 mM, 450 mM, 500 mM dan dilakukan penyortiran mutan menggunakan *nile red*. Mutan M-22 menunjukkan laju pertumbuhan spesifik, waktu generasi, produksi biomassa, produktivitas biomassa, kandungan lipid, dan produktivitas lipid tertinggi masing-masing mencapai 1,24 /d; 0,56 /d; 1,73 g/L; 0,12 g/L/d; 0,21 g/L/d; 51,33%; 63,60 mg/L/d. Komposisi asam lemak mutan M-22 dan M-65 menunjukkan proporsi PUFA yang lebih rendah dibandingkan dengan strain liar sehingga karakteristik biodieselnnya sesuai untuk bahan baku biodiesel sesuai standar ASTM D6751, EN 14214, SNI 7182:2015.

Kata kunci: *Chlorella sorokiniana*, lipid, asan lemak, biodiesel

ABSTRACT

CITRA BUANA SARI. Isolation of Mutated *Chlorella sorokiniana* using *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) for Biodiesel Production. Supervised by IVONE WULANDARI BUDIHARTO, S.Si., M.Si. and apt. KHAIRUL ANAM, S.Farm., M.Si., Ph.D.

Random mutagenesis with *ethyl methanesulfonate* (EMS) can increase triacylglycerol (TAG) content. This research aims to obtain a new strain of *Chlorella sorokiniana* with high biomass production and lipid content through random mutagenesis techniques using EMS whose fatty acid profile meets the characteristics according to biodiesel standards. The wild strain *C. sorokiniana* LIPI12-AI016 on GYP media was treated with EMS at concentrations of 100 mM, 200 mM, 250 mM, 300 mM, 350 mM, 400 mM, 450 mM, 500 mM and sorted for mutants using *nile red*. Mutant M-22 showed the highest specific growth rate, generation time, biomass production, biomass productivity, lipid content, and lipid productivity reaching respectively 1,24 /d; 0,56 /d; 1,73 g/L; 0,12 g/L/d; 0,21 g/L/d; 51,33%; 63,60 mg/L/d. The fatty acid composition of mutants M-22 and M-65 shows a lower proportion of PUFA compared to the wild strain so that their biodiesel characteristics are suitable for biodiesel raw materials according to ASTM D6751, EN 14214, SNI 7182:2015 standards.

Keywords: *Chlorella sorokiniana*, lipid, fatty acid, biodiesel



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB dan BRIN, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB dan BRIN.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB dan BRIN.

ISOLASI *CHLORELLA SOROKINIANA* HASIL MUTASI MENGGUNAKAN *ETHYL METHANESULFONATE (EMS)* UNTUK PRODUKSI BIODIESEL

CITRA BUANA SARI

Laporan Proyek Akhir
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Terapan pada
Program Studi Teknik dan Manajemen Lingkungan

**TEKNIK DAN MANAJEMEN LINGKUNGAN
SEKOLAH VOKASI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Laporan : Isolasi *Chlorella sorokiniana* Hasil Mutasi menggunakan *Ethyl Methanesulfonate* (EMS) untuk Produksi Biodiesel

Nama : Citra Buana Sari
NIM : J0313201041

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Ivone Wulandari Budiharto, S.Si., M.Si.

Pembimbing 2:

apt. Khairul Anam, S.Si., M.Si., Ph.D.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Dr. Beata Ratnawati, S.T., M.Si.
NPI 2018 11198806252001

Dekan Sekolah Vokasi:

Dr. Ir. Aceng Hidayat, M.T.
NIP 196607171992031003

Tanggal Ujian:
19 Agustus 2024

Tanggal Lulus:

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Mikroalga Hijau (<i>Chlorophyta</i>)	3
2.2 Mutasi	4
2.3 Biosintesis Lipid	6
2.4 Asam Lemak dan Biodiesel Mikroalga	6
III METODE	8
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	8
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	8
3.3 Prosedur Penelitian	8
3.4 Analisis Statistik	14
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1 Isolasi Mutan <i>Chlorella sorokiniana</i>	15
4.2 Seleksi Mutan dengan <i>Nile Red</i>	16
4.3 Pertumbuhan Biomassa Strain Liar dan Mutan	21
4.4 Kandungan Total Lipid dan Produktivitas Lipid Strain Liar dan Mutan	23
4.5 Kandungan Asam Lemak Strain Liar dan Mutan	25
4.6 Karakteristik Biodiesel Strain Liar dan Mutan	27
4.7 Rekomendasi Pengaplikasian Strain Mutan untuk Produksi Biodiesel	28
V SIMPULAN DAN SARAN	30
5.1 Simpulan	30
5.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	37
RIWAYAT HIDUP	64



DAFTAR TABEL

1. Karakteristik bahan bakar biodiesel mikroalga	14
2. Nilai relatif fluoresensi unit (RFU) isolat mutan <i>Chlorella sorokiniana</i> hasil penyaringan dengan <i>nile red</i>	20
3. Laju pertumbuhan spesifik (μ), waktu generasi (n), produktivitas biomassa, laju fiksasi karbon (RCO_2) kapasitas pertumbuhan strain liar dan mutan <i>C. sorokiniana</i> selama 14 hari pertumbuhan pada kondisi fotoheterotrof	22
4. Perbandingan produktivitas lipid dari mikroalga yang dimutagenesis acak dengan mutagen fisik dan kimia pada hasil yang diperoleh dari penelitian ini dan berbagai penelitian yang dilaporkan sebelumnya.	24
5. Profil asam lemak strain liar dan mutan <i>Chlorella sorokiniana</i> selama 14 hari pertumbuhan pada kondisi fotoheterotrof	25
6. Karakteristik fisik biodiesel strain liar dan mutan <i>Chlorella sorokiniana</i> dibandingkan dengan standar ASTM D6751, EN 14214, dan SNI 7182:2015	27

DAFTAR GAMBAR

1. Mekanisme (a) Reaksi EMS dan basa guanin nitrogen dan (b) Reaksi mutasi terhadap perubahan pasangan basa DNA	5
2. Kerangka penelitian	9
3. Tingkat kelangsungan hidup <i>Chlorella sorokiniana</i> setelah terpapar konsentrasi EMS yang berbeda pada <i>plate count agar</i> (PCA). (Δ) konsentrasi sel awal $8,2 \times 10^6$ sel/mL ($\square$) konsentrasi sel awal $1,01 \times 10^7$ sel/mL	15
4. Koloni mutan <i>Chlorella sorokiniana</i> setelah masa inkubasi 1 minggu pada media agar GYP. Koloni (a) kontrol (b) mutan sebanyak 44 koloni (c) mutan sebanyak 77 koloni dengan tingkat kelangsungan hidup 10-20%	16
5. Visualisasi pewarnaan <i>nile red</i> pada <i>Chlorella sorokiniana</i> dengan bilah skala menunjukkan $10 \mu\text{m}$. Pengamatan di bawah (a) mikroskop cahaya dan (b) mikroskop floresensi	17
6. Relatif fluoresensi unit 121 koloni mutan <i>Chlorella sorokiniana</i> hasil mutagenesis acak dengan EMS	19
7. Berat kering (g/L) (o) kontrol, (Δ) M-22, dan ($\square$) M-65 <i>Chlorella sorokiniana</i> yang dikultivasi selama 14 hari secara fotoheterotrof	21
8. Nilai (o) Kandungan total lipid dan ($\square$) produktivitas lipid strain mutan dan strain liar <i>Chlorella sorokiniana</i>	23
9. Kandungan total SFA, MUFA, dan PUFA asam lemak strain liar dan mutan <i>Chlorella sorokiniana</i>	26

DAFTAR LAMPIRAN

1. Mutagenesis kultur menggunakan <i>Ethyl Methane Sulfonate</i> (EMS)	39
2. Komposisi volume penambahan ems, media, dan kultur	41
3. Tingkat kelangsungan hidup <i>Chlorella sorokiniana</i> setelah perlakuan mutasi pada konsentrasi sel awal $8,2 \times 10^6$ sel/mL	41
4. Tingkat kelangsungan hidup <i>Chlorella sorokiniana</i> setelah perlakuan mutasi pada konsentrasi sel awal $1,01 \times 10^7$ sel/mL	41
5. Intensitas fluoresensi strain liar dan isolat mutan	42
6. Hasil relatif fluoresensi unit isolat mutan	44
7. Uji <i>t-Test: two-sample assuming unequal variances</i> nilai relatif fluoresensi unit strain liar dan mutan	44
8. Produksi biomassa strain liar dan mutan <i>Chlorella sorokiniana</i>	52
9. Uji <i>t-Test: two-sample assuming unequal variances</i> produksi biomassa strain liar dan mutan	52
10. Laju pertumbuhan spesifik, waktu generasi, produktivitas biomassa, laju fiksasi karbon, dan kapasitas pertumbuhan strain liar dan mutan	53
11. Uji <i>t-Test: two-sample assuming unequal variances</i> laju pertumbuhan spesifik	54
12. Uji <i>t-Test: two-sample assuming unequal variances</i> waktu generasi	54
13. Uji <i>t-Test: two-sample assuming unequal variances</i> produktivitas biomassa	55
14. Uji <i>t-Test: two-sample assuming unequal variances</i> laju fiksasi CO ₂	56
15. Uji <i>t-Test: two-sample assuming unequal variances</i> kapasitas pertumbuhan	57
16. Kandungan lipid dan produktivitas lipid strain liar dan mutan	58
17. Uji <i>t-Test: two-sample assuming unequal variances</i> kandungan lipid	58
18. Uji <i>t-Test: two-sample assuming unequal variances</i> produktivitas lipid	59
19. Uji <i>Pearson Correlation</i> produktivitas biomassa dan produktivitas lipid	60
20. Kandungan asam lemak strain liar dan mutan <i>Chlorella sorokiniana</i>	61
21. Desain fotobioreaktor mikroalga	62
22. Diagram alir proses produksi biodiesel mikroalga	63