



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENENTUAN KOMPOSISI NUTRISI DARI HASIL
PRODUKSI BIOMASSA *CHLORELLA VULGARIS*
BUITENZORG**

SKRIPSI

**TARRYN FRANCES NATHALIE MEKA
0405060644**

**FAKULTAS TEKNIK
TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2009**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENENTUAN KOMPOSISI NUTRISI DARI HASIL
PRODUKSI BIOMASSA *CHLORELLA VULGARIS*
BUITENZORG**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana

**TARRYN FRANCES NATHALIE MEKA
0405060644**

**FAKULTAS TEKNIK
TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2009**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.





Nama : Tarryn Frances Nathalie Meka
NPM : 0405060644
Tanda Tangan : 
Tanggal : 7 Juli 2009

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : TARRYN FRANCES NATHALIE MEKA
NPM : 0405060644
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi :
PENENTUAN KOMPOSISI NUTRISI DARI HASIL PRODUKSI
BIOMASSA *CHLORELLA VULGARIS* BUITENZORG

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang akan diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik Kimia pada Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: Ir. Dianursanti, MT	()
Pembimbing II	: Dr. Ir. Anondho Widjanarko, MT	()
Penguji	: Ir. Rita Arbianti, Msi.	()
Penguji	: Ir. Tania Surya Utami, MT	()

Ditetapkan di : Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik,
Universitas Indonesia - Depok
Tanggal : 7 Juli 2009

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena penelitian ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Skripsi dengan judul **Penentuan Komposisi Nutrisi Dari Hasil Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg** ini dibuat untuk memenuhi sebagian persyaratan akademis dalam meraih gelar Sarjana Teknik di Program Studi Teknik Kimia Departemen Teknik Kimia FTUI.

Dalam penyusunan makalah ini, penulis banyak mendapatkan bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. Ir. Widodo Wahyu Purwanto, DEA, selaku ketua Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
2. Ibu Dianursanti dan Pak Anondho yang telah banyak memberikan waktu dan masukan dalam membimbing saya.
3. Papa, mama, Meryll dan Darren; semangat saya dalam menjalani hidup. Terima kasih atas dukungan, kasih sayang, dan doa yang tidak pernah putus.
4. Teman-teman seperjuangan, Isna, Gema, Precious, Maudhi dan Adit. Makasih banyak buat lembur dan kerja barengnya. Tetap semangat, kawan!
5. Para pendahulu kami di grup alga; Ira, Indah, Ahmed, Didit dan Khozin; makasih buat semua bagi-bagi ilmunya.
6. Semua dosen Teknik Kimia Universitas Indonesia atas ilmu yang diberikan.
7. Teman-teman seangkatan 2005 dan sejurusan atas pertemanannya selama ini.
8. Pihak-pihak lain yang mendukung dan membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Seperti kata pepatah, *tak ada gading yang tak retak*, tak ada sesuatu yang sempurna. Karena itu penulis memohon maaf apabila terdapat kesalahan dalam penulisan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap agar skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Depok, Juli 2009

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Tarryn Frances Nathalie Meka

NPM : 0405060644

Program Studi : -

Departemen : Teknik Kimia

Fakultas : Teknik

Jenis Karya : Skripsi

demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalti-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

MENENTUKAN KOMPOSISI NUTRISI HASIL PRODUKSI BIOMASSA CHLORELLA
VULGARIS BUITENZORG SKALA PILOT

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 7 Juli 2009

Yang menyatakan,



(Tarryn F.N. Meka)

ABSTRAK

Mikroalga merupakan tumbuhan air tergolong ramah lingkungan dan memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi. Salah satu jenis mikroalga yang sedang dikembangkan di Indonesia adalah ganggang hijau *Chlorella sp.* Selain kemampuan biofiksasi CO₂ tinggi, *Chlorella sp.* juga memiliki komposisi biomassa tinggi yang dapat dimanfaatkan sebagai potensi bahan pangan alternatif dan sumber bahan baku *biofuel*. Beberapa penelitian pendahuluan telah dilakukan untuk mengamati potensi pemanfaatan mikroalga serta metode paling optimal untuk mempersiapkan pembiakkan *Chlorella sp.* dalam skala besar. Salah satu hasil penelitian yang menjadi dasar kajian kali ini adalah mengenai peningkatan produksi biomassa dengan dua metode pencahayaan kontinu, yakni dengan intensitas tetap dan dengan metode alterasi. Penelitian lain yang juga dijadikan dasar adalah mengenai susunan optimum fotobioreaktor untuk peningkatan produksi biomassa.

Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian produksi biomassa yang bertujuan memperoleh komposisi nutrisi esensial dari biomassa *Chlorella sp.* hasil biakkan sebelumnya. Evaluasi kualitas nutrisi, seperti kandungan klorofil, protein, dan lipid sangat penting artinya dalam pembiakkan *Chlorella sp.* yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Hal ini disebabkan pemilihan metode pembiakkan *Chlorella sp.* sepatutnya tidak hanya unggul dalam hal kuantitas (jumlah sel) tetapi juga kualitasnya (kandungan nutrisi). Tujuan lain dari penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran pemanfaatan biomassa *Chlorella sp.* yang telah dibiakkan selama ini berdasarkan jumlah kandungan nutrisinya.

Metode pengujian yang dipilih adalah spektrofotometri sinar tampak untuk identifikasi klorofil, metode Lowry untuk identifikasi jumlah protein, serta metode Bligh-Dryer untuk identifikasi lipid dalam biomassa *Chlorella sp.*

Dari hasil penelitian diperoleh bahwa kandungan nutrisi esensial dalam biomassa *Chlorella sp.* dengan jumlah terbesar adalah protein sebesar 33.53 mg/L dan diikuti oleh klorofil sebesar 14.3 mg/L. Sementara komposisi lipid justru mengalami penurunan hingga 70% berat.

Kata kunci: *Chlorella vulgaris* Buitenzorg, metode Lowry, metode Bligh-Dryer

ABSTRACT

Microalgae are water plant which are environmentally friendly and also have high ability of adaptation. One kind of algae being developed in Indonesia nowadays is the genus of *Chlorella* sp. Not only that *Chlorella* sp. have high ability for CO₂ fixation but also got high biomass potential which can be used as alternative food source and biofuel source. Several previous research have been conducted to find out the biomass potential of this microalgae and the optimized method to produce it on a large scale. One of the research used as based on this experiment is about increasing biomass production in mid-scale reactor using two types of continuous illumination; the continuous and the alteration method. Other research used as based is about arranging the photobioreactor to increase biomass production.

This research is a further research in order to determine the essential nutritional content from the biomass production of *Chlorella vulgaris*. The evaluation of nutritional content such as chlorophyll, protein, and lipid is very important in producing *Chlorella* sp. with high economic value. It is because when producing *Chlorella* sp. we hoped that the biomass that we have is not only have great cellular content but also high nutritional content. Other goal of this research is to give prediction about how to process the biomass we've got based on its nutritional content.

Method used to determine the nutritional content are visible spectrofotometer for chlorophyll identification, Lowry method for protein identification, and Bligh-Dryer Method for lipid identification in *Chlorella vulgaris*' biomass.

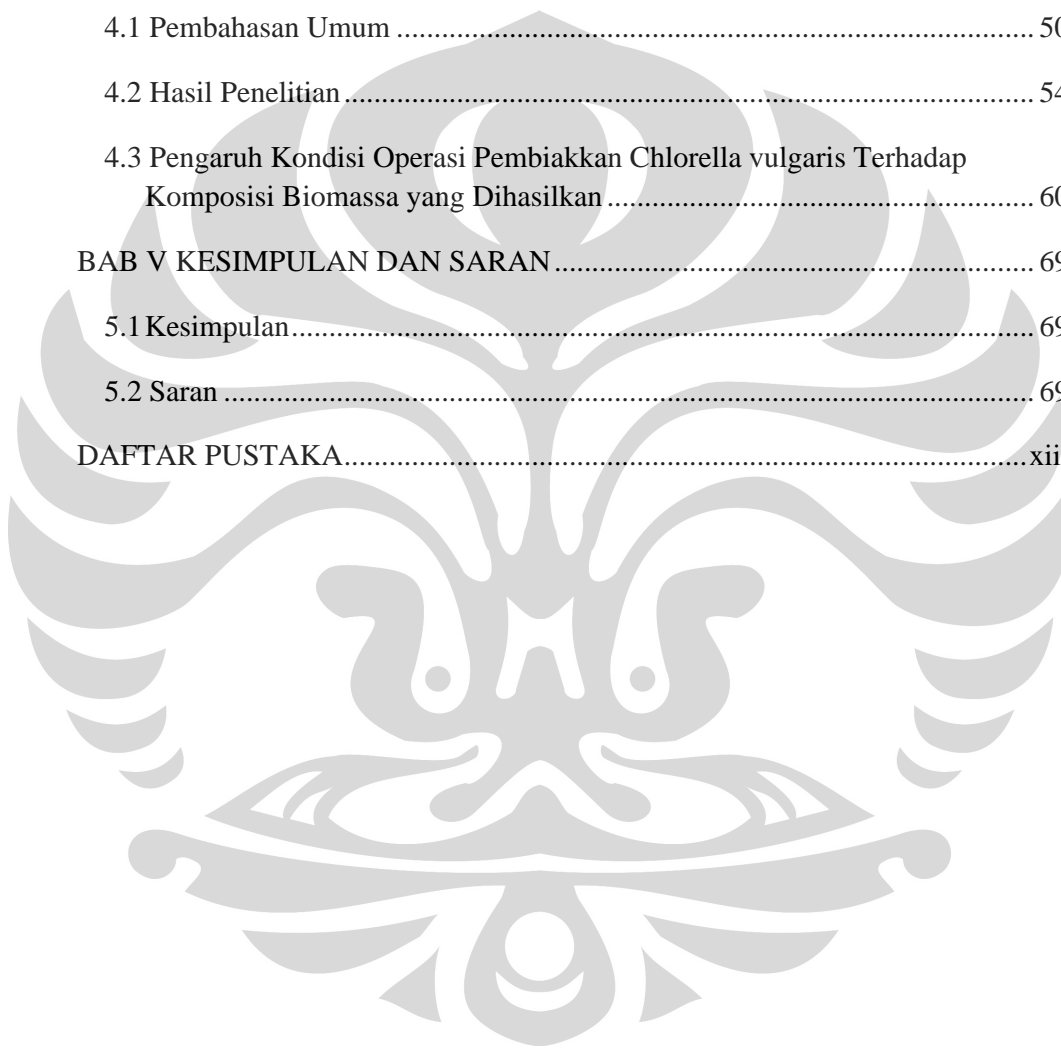
From this research we found out that majority essential nutrition in our *Chlorella* sp.'s biomass is protein (33.53 mg/L) followed by chlorophyll (14.3 mg/L). On the other hand, lipid composition decreased until 70% weight.

Keyword: *Chlorella vulgaris* Buitenzorg, Lowry method, Bligh-Dryer

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Masalah	4
1.5 Sistematika Penulisan Makalah	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Mikroalga <i>Chlorella vulgaris</i>	6
2.2 Fotosintesis (http://www.lablink.or.id/Bio/Sel/fotosintesis.htm)	14
2.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga Hijau <i>Chlorella</i> pada Medium Terbatas	20
2.4 Pemanfaatan Biomassa Mikroalga Hijau <i>Chlorella sp.</i>	28
2.5 Metode Pengukuran Kandungan Biomassa Mikroalga Hijau <i>Chlorella sp.</i>	31
BAB III METODE PENELITIAN.....	35
3.1 Diagram Alir Penelitian	35

3.2 Alat dan Bahan yang Digunakan	36
3.3 Variabel Penelitian.....	38
3.4 Prosedur Penelitian	38
3.5 Pengolahan Data Penelitian	48
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	50
4.1 Pembahasan Umum	50
4.2 Hasil Penelitian.....	54
4.3 Pengaruh Kondisi Operasi Pemiakkan <i>Chlorella vulgaris</i> Terhadap Komposisi Biomassa yang Dihasilkan	60
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	69
5.1 Kesimpulan.....	69
5.2 Saran	69
DAFTAR PUSTAKA.....	xiii



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Koloni <i>Chlorella vulgaris</i>	7
Gambar 2.2 Struktur Sel <i>Chlorella</i>	9
Gambar 2.3 Kurva Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	12
Gambar 2. 4 Reaksi pada Fotosintesis.....	17
Gambar 2.5 Fotobioreaktor Terbuka untuk Pemiakan <i>Chlorella vulgaris</i>	24
Gambar 2.6 Alat <i>Sonicator</i>	31
Gambar 2.7 Glass Beads	31
Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian	35
Gambar 3.2 Susunan Rangkaian Running Peralatan Fotobioreaktor	39
Gambar 4.1 Profil Pertumbuhan Jumlah Sel Pada Variasi kecepatan superficial .54	
Gambar 4.2 Profil Produksi Klorofil dalam Biomassa <i>Chlorella sp.</i> dengan variasi kecepatan superficial	61
Gambar 4.3 Profil Produksi Protein dalam Biomassa <i>Chlorella sp.</i> dengan variasi kecepatan superficial	55
Gambar 4. 4 Profil Produksi Lipid dalam Biomassa <i>Chlorella sp.</i> dengan variasi kecepatan superficial	56
Gambar 4. 5 Profil Pertumbuhan Jumlah Sel Pada Variasi Jenis Pencahayaan	56
Gambar 4. 6 Profil Produksi Klorofil dalam Biomassa <i>Chlorella sp.</i> dengan variasi jenis Pencahayaan.....	57
Gambar 4. 7 Profil Produksi Protein dalam Biomassa <i>Chlorella sp.</i> dengan variasi jenis pencahayaan.....	57
Gambar 4.8 Profil Produksi Lipid dalam Biomassa <i>Chlorella sp.</i> dengan variasi jenis pencahayaan.....	58
Gambar 4.9 Profil Pertumbuhan Jumlah Sel dalam Biomassa <i>Chlorella sp.</i> dengan variasi susunan fotobioreaktor.....	58
Gambar 4.10 Profil Produksi Klorofil dalam Biomassa <i>Chlorella sp.</i> dengan variasi susunan fotobioreaktor.....	59

Gambar 4.11 Profil Produksi Protein dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi susunan fotobioreaktor 59

Gambar 4.12 Profil Pertumbuhan Jumlah Sel dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi susunan fotobioreaktor 60

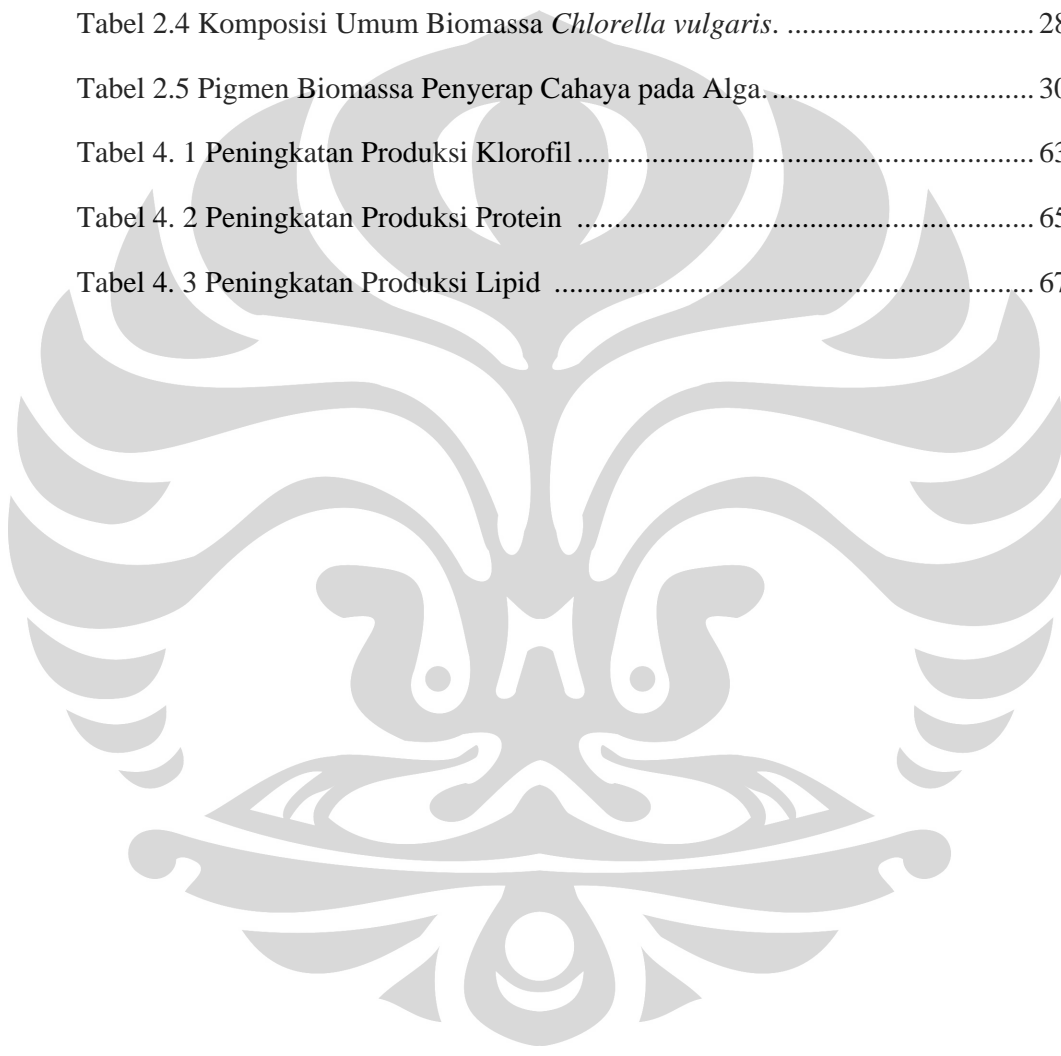
Gambar 4.13 Komposisi Protein dan Klorofil Akhir 68

Gambar 4.14 Komposisi Lipid Akhir..... 68



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Komposisi Umum <i>Chlorella sp.</i>	2
Tabel 2.1 Taksonomi <i>Chlorella vulgaris</i>	9
Tabel 2.2 Perbandingan Komposisi Nutrisi Medium.	21
Tabel 2.3 Karakteristik Beberapa Jenis Fotobioreaktor.	27
Tabel 2.4 Komposisi Umum Biomassa <i>Chlorella vulgaris</i>	28
Tabel 2.5 Pigmen Biomassa Penyerap Cahaya pada Alga.	30
Tabel 4. 1 Peningkatan Produksi Klorofil	63
Tabel 4. 2 Peningkatan Produksi Protein	65
Tabel 4. 3 Peningkatan Produksi Lipid	67



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A xvi

LAMPIRAN B xvii



BAB I

PENDAHULUAN

Bab pendahuluan akan membahas mengenai latar belakang masalah, rumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah, serta sistematika penulisan skripsi ini.

1.1 LATAR BELAKANG MASALAH

Setiap tahun, jumlah penduduk dunia selalu bertambah. Pertambahan penduduk yang sangat pesat membawa banyak permasalahan, seperti tempat tinggal, pangan, kesejahteraan, dan sebagainya. Dalam laporan FAO pada tahun 1946, disebutkan bahwa dunia akan membutuhkan 25 hingga 35 persen makanan lebih banyak pada tahun 1960 daripada tahun 1939, untuk mengimbangi pertumbuhan penduduk, sedangkan pelayanan kesehatan diperkirakan harus meningkat sebesar 90 hingga 100 persen (W. Belasco, 1997). Protein yang merupakan salah satu nutrisi terpenting, diperkirakan akan mengalami penurunan jumlah yang amat pesat. Penelitian yang diawali oleh Stanford Research Institute pada tahun 1948 menunjukkan bahwa mikroalga hijau *Chlorella sp.* dapat mengkonversi 20 persen dari sinar matahari dalam tubuhnya, dan jika dikeringkan dapat mengandung 50 persen protein (W. Belasco, 1997).

Chlorella sp. merupakan salah satu jenis mikroalga bersel satu yang hidup di lingkungan perairan. Jenis alga ini dipilih karena kemampuan adaptasinya yang tinggi dan kandungan biomasanya yang cukup besar. *Chlorella sp.* memiliki kandungan protein jauh lebih tinggi daripada biji-bijian dan kacang-kacangan, bahkan kedelai. Protein tersebut mengandung asam-asam amino esensial yang sangat dibutuhkan tubuh (Sargowo dan Ratnawati, 2005). Komposisi umum biomassa *Chlorella sp.* dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1.1 Komposisi Umum *Chlorella sp.*
(Sumber: Lee and Rosenbaum, 1987; Steenblock 1989; Kastono 1991)

Komposisi	Kandungan dalam berat kering(%)
Kelembaban	3,6
Protein	60,5
Lipid	11,0
Karbohidrat	20,1
Serat	0,2
Abu	4,6
Kalori	421 kkal/100 gram

Dari tabel tersebut, tampak bahwa komposisi terbesar dalam biomassa *Chlorella sp.* adalah protein, yakni sekitar 33-45 miligram per 100 gram *Chlorella sp.* Selain protein, komposisi lipid juga dapat menjadi salah satu pertimbangan penting dalam pemanfaatan biomassa *Chlorella sp.* mengingat jumlahnya yang cukup besar (6,5-16,1 miligram per 100 gram *Chlorella sp.*)

Berdasarkan komposisi yang dikandungnya, biomassa *Chlorella sp.* memiliki potensi yang cerah untuk menjadi sumber pangan alternatif, khususnya protein. Dewasa ini, telah banyak dikembangkan produk-produk suplemen makanan berbasis *Chlorella sp.*, sebagai contoh adalah SunChlorella, Chloroenergy, dan sebagainya. Produk-produk suplemen tersebut masih terbatas peredarannya di Indonesia karena harus diimpor dari Amerika Serikat dan Jepang. Selain sebagai sumber pangan, alga hijau juga sedang dikembangkan untuk menjadi alternatif bahan bakar (*biofuel*), yakni sebagai bahan baku *biodiesel* (J.Sheehan, dkk, 1998).

Mikroalga hijau *Chlorella sp.* dapat hidup pada lingkungan perairan yang tidak terlalu dalam, hangat, dan banyak terpapar cahaya matahari. Dengan kata lain, *Chlorella sp.* cocok untuk dikembangkan di daerah tropis. Di Indonesia, penelitian tentang potensi mikroalga sebagai bahan pangan yang bernilai ekonomi tinggi telah banyak dirintis. Namun masih terbatas pada skala laboratorium.

Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia telah melakukan beberapa penelitian berkelanjutan mengenai optimalisasi produksi biomassa *Chlorella sp.* Penelitian dilakukan dengan membiakkan *Chlorella sp.* pada medium Benneck dalam kolom fotobioreaktor dengan pencahayaan terang-gelap (Bayu Virgan T., 2004). Penelitian tersebut dilanjutkan oleh Sang Made Kresna Andika pada tahun 2005 dengan variasi pencahayaan yang berbeda, yakni pencahayaan alterasi. Dari penelitian tersebut diperoleh bahwa sistem pencahayaan alterasi menghasilkan

biomassa 1,61 kali lebih banyak dibandingkan sistem pencahayaan terang gelap ataupun kontinu (Sang Made Kresna, 2005). Metode pencahayaan alterasi juga dapat meningkatkan produksi biomassa *Chlorella vulgaris* pada skala yang lebih besar, yaitu dalam fotobioreaktor yang disusun seri. Hal ini dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Muhammad Aji Sujarwo pada tahun 2006. Diperoleh bahwa tiga buah reaktor dengan volume masing-masing 200 cm³ yang disusun seri akan meningkatkan produksi biomassa hingga 1,6 kali dari reaktor tunggal berukuran 600 cm³ (Muhammad Aji Sujarwo, 2006). Antonius Yudi juga mendapatkan peningkatan produksi biomassa yang signifikan dengan rangkaian reaktor seri dan pencahayaan alterasi, yakni sebesar 2,62 kali lebih besar dibandingkan pencahayaan kontinu (Antonius Yudi, 2006). Pada tahun 2008, volume reaktor biakkan mikroalga *Chlorella vulgaris sp.* ditingkatkan hingga mencapai 18 liter. Variasi lain yang diberikan adalah penggunaan filter untuk menyaring lebih banyak biomassa *Chlorella sp.*, sehingga efek *self shading* dapat dihindari.

Pada berbagai penelitian yang telah dilakukan sejauh ini, parameter keberhasilan terletak pada kuantitas produksi biomassa (jumlah sel) *Chlorella sp.* yang maksimum. Namun, untuk dapat memanfaatkan biomassa *Chlorella sp.* secara optimal, kualitas biomassa tersebut juga harus dipertimbangkan. Parameter kualitas dalam hal ini adalah jumlah kandungan nutrisi dalam biomassa. Dari penelitian ini diharapkan agar peningkatan produksi biomassa juga diikuti peningkatan kandungan nutrisi penting dalam biomassa *Chlorella sp.* tersebut.

Penelitian kali ini akan menentukan besarnya kualitas produksi biomassa *Chlorella sp.* yang telah dibiakkan pada berbagai variasi kondisi operasi. Variasi tersebut antara lain adalah kondisi pencahayaan (alterasi dan kontinu) dan susunan reaktor (tunggal dan seri). Kualitas biomassa tersebut ditentukan dengan mengukur besarnya kandungan protein, lipid, dan klorofil di dalam biomassa tersebut. Biomassa yang akan digunakan sebagai bahan penelitian akan diolah terlebih dahulu untuk memecah dinding selnya dengan menggunakan metode *sonikasi*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran bagi pemanfaatan biomassa *Chlorella* yang telah dihasilkan dari penelitian sebelumnya.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Untuk memperoleh pemanfaatan biomassa *Chlorella sp.* yang optimal, pengujian terhadap kualitas biomassa penting untuk dilakukan. Parameter kualitas dalam hal ini adalah besarnya kandungan zat esensial didalamnya, yakni kandungan lipid, protein dan klorofil. Dengan demikian, rumusan masalah yang akan dibahas dalam penelitian adalah:

1. Bagaimana pengaruh jenis pencahayaan (kontinu dan alterasi) terhadap kandungan nutrisi sebagai parameter kualitas biomassa dalam kultivasi *Chlorella sp.*?
2. Bagaimana efek susunan seri fotobioreaktor terhadap kandungan nutrisi yang terdapat dalam biomassa *Chlorella sp.* pada masing-masing reaktor?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

Tujuan umum dari penelitian ini adalah memperoleh kualitas biomassa terbaik dengan kandungan nutrisi yang maksimum. Adapun tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

1. Menentukan kandungan nutrisi dalam biomassa *Chlorella sp.* hasil produksi skala pilot pada berbagai variasi kondisi operasi.
2. Memberi gambaran mengenai potensi pemanfaatan biomassa *Chlorella sp.* hasil produksi skala pilot pada berbagai variasi kondisi operasi.

1.4 BATASAN MASALAH

Penelitian ini memiliki beberapa batasan, antara lain:

1. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioproses Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.
2. Mikroalga yang digunakan adalah *Chlorella vulgaris* Buitenzorg yang berasal dari koleksi kultur Sub Balai Penelitian Perikanan Air Tawar Depok, Dinas Kelautan dan Perikanan. Mikroalga dibiakkan dalam medium *Benneck* dengan aerasi CO₂ sebesar 5%.
3. Sistem reaktor yang digunakan adalah fotobioreaktor tunggal dengan volume 18 L dan fotobioreaktor seri dengan volume masing-masing reaktor 6 L.
4. Kecepatan superfisial CO₂ yang digunakan adalah kecepatan optimum.

5. Pengujian kandungan nutrisi dalam biomassa *Chlorella sp.* hanya sebatas pengujian kandungan klorofil, protein, dan lipid.
6. Variasi kondisi operasi yang akan dibandingkan adalah:
 - a. Komposisi nutrisi biomassa *Chlorella sp.* dalam fotobioreaktor tunggal dan susun seri dengan pencahayaan kontinu (intensitas tetap)
 - b. Komposisi nutrisi biomassa *Chlorella sp.* dalam fotobioreaktor tunggal dan susun seri dengan pencahayaan kontinu (alterasi)

1.5 SISTEMATIKA PENULISAN MAKALAH

Sistematika penulisan yang digunakan dalam penulisan skripsi ini adalah:

BAB I PENDAHULUAN

Bab ini berisi penjelasan mengenai latar belakang diadakannya penelitian, rumusan masalah yang akan dibahas, tujuan penelitian yang ingin dicapai, batasan masalah dari penelitian yang dilakukan, serta penjelasan mengenai sistematika penulisan skripsi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menggambarkan kondisi krisis pangan dunia saat ini, peranan *Chlorella sp.* dalam mengatasi krisis tersebut, pembiakkan *Chlorella sp.* pada skala pilot, perengkahan dinding sel *Chlorella sp.* serta pengujian kandungan nutrisi dari sample *Chlorella sp.*

BAB III METODE PENELITIAN

Bab ini berisi penjelasan tentang diagram alir penelitian, peralatan serta bahan yang digunakan dalam percobaan, variabel penelitian, prosedur penelitian, serta metode pengolahan dari data dan hasil observasi yang diperoleh selama penelitian.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Pada bab ini, akan dibahas mengenai tinjauan pustaka yang menjadi referensi penelitian. Beberapa topik yang akan diuraikan antara lain mengenai mikroalga *Chlorella vulgaris*, fotosintesis pada mikroalga, faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi biomassa *Chlorella sp*, serta fotobioreaktor yang digunakan.

2.1 MIKROALGA CHLORELLA VULGARIS

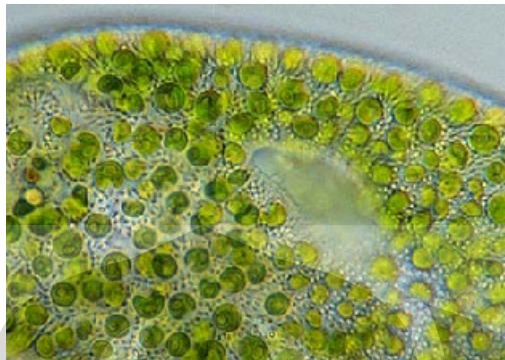
Chlorella vulgaris merupakan mikroalga yang termasuk dalam golongan alga hijau (*Chlorophyta*) dengan bentuk tubuh bulat, bulat lonjong dengan garis tengah sel antara 2 – 8 μm . Perkembangbiakannya dengan pembelahan sel dan dengan pembentukan spora. Meskipun demikian waktu generasinya sangat cepat. Organisme ini bersifat fotoautotrof atau dapat mensintesis makanan sendiri melalui reaksi fotosintesis dengan bantuan energi dari cahaya matahari (<http://www.Chlorella-world.com/yaeyama.html>).

Chlorella vulgaris merupakan mikroorganisme yang cukup unik karena memiliki komponen biomassa penyerap cahaya dengan konsentrasi tinggi melebihi seluruh organisme fotoautotrof yang lain, termasuk tanaman tingkat tinggi (<http://www.Chlorellafactor.com>). Mikroalga ini merupakan mikroalga primitif yang telah ada sejak 2,5 miliar tahun yang lalu. Namun populasinya masih dapat bertahan sampai sekarang karena beberapa sebab, yaitu :

1. Kestabilan sifat genetik dari pengaruh luar.
2. Memiliki daya dan mekanisme perbaikan DNA yang tinggi untuk beradaptasi dengan lingkungannya yang baru.
3. Bentuk dan sifat dinding sel yang sangat kuat sehingga tahan terhadap pengaruh luar.

Chlorella vulgaris hidup secara berkoloni dalam jumlah besar. Lingkungan tempat hidupnya secara umum akan didapatkan di mana-mana, terutama pada tempat lembab dan berair. Bahkan beberapa jenis bersimbiosis dengan jamur membentuk lumut kerak (*Lichenes*) atau hidup di antara jaringan *Hydra* (Antonius

Yudi, 2006). Sistem koloni *Chlorella vulgaris* dapat diilustrasikan seperti pada Gambar 2.1.



GAMBAR 2.1 KOLONI CHLORELLA VULGARIS
(Sumber : <http://Chlorella.co.nz/>)

Chlorella merupakan ganggang hijau, kelompok tumbuhan satu sel, mengandung bukan akar sejati, batang tanaman, atau daun. Nama *Chlorella* berasal dari bahasa Latin *chloros* yang berarti ‘daun’ dan *ella* yang berarti ‘kecil’. Kandungan klorofil pada *Chlorella* sangat tinggi dan memberikan warna sangat hijau (emerald) pada *Chlorella*. Kandungan klorofil pada *Chlorella* mencapai 5 hingga 10 kali lebih banyak dibandingkan dengan alga lainnya. *Chlorella* mengandung vitamin dan mineral yang sangat tinggi, di antaranya vitamin B kompleks yang dapat memberikan energi tinggi, vitamin E dan C, serta sejumlah besar mineral seperti magnesium, potasium, besi, dan kalsium, serat untuk diet, asam nukleat, asam amino, enzim, CGF (*Chlorella Growth Factor*), dan substansi lain. Di bawah kondisi yang baik, yaitu adanya sinar matahari yang kuat, air bersih, dan udara segar, *Chlorella* berkembang biak dengan laju yang sangat cepat. Siklus reproduksi yang lengkap memakan waktu tak kurang dari 24 jam (*Chlorella_ Watershed Chlorella 100% Pure*, <http://Chlorella.co.nz/>, Januari 2007).

Chlorella memiliki sejumlah sifat yang sangat membantu bagi organ dan jaringan yang rusak karena berbagai alasan. Hal itu telah diteliti untuk kesehatan hati. *Chlorella* dikatakan sebagai “*great normalizer*” yang membantu fungsi tubuh kembali seimbang. Kandungan asam nukleat pada *Chlorella* mempercepat pertumbuhan pada balita, serta memperbaiki jaringan yang rusak pada manusia dewasa. Bahkan, beberapa efek positif dari mengonsumsi *Chlorella* dapat

langsung dirasakan, seperti mengobati kesulitan dalam buang air besar dan sulit bernafas (http://www.healingdaily.com/health_benefit_of_Chlorella.htm, Januari 2007).

Beberapa percobaan lain menunjukkan bahwa CGF pada *Chlorella* dapat meningkatkan resistansi terhadap tumor abdominal dengan cara meningkatkan jumlah sel imun pada rongga abdominal. *Chlorella* mendukung reproduksi sel, mengurangi kolesterol dan meningkatkan hemoglobin. Karena nutrisinya yang besar dan kemampuannya dalam proses detoksifikasi, *Chlorella* mendukung perbaikan dari organ tubuh dan jaringan yang terluka (*Chlorella_ Watershed Chlorella* 100% Pure, <http://Chlorella.co.nz/>, Januari 2007).

Sejumlah proyek penelitian di USA dan Eropa mengindikasikan bahwa *Chlorella* dapat membantu tubuh dalam penurunan dari persistensi hidrokarbon dan logam beracun seperti DDT, PCB, merkuri, kadmium, timbal, dengan cara memperkuat respon sistem kekebalan tubuh. Di Jepang, ketertarikan pada *Chlorella* difokuskan lebih luas terhadap sifat detoksifikasinya, yang merupakan kemampuan untuk menetralkan atau membuang substansi beracun dari tubuh. Material berserat pada *Chlorella* juga membantu proses pencernaan dan mendukung pertumbuhan dari bakteri aerob yang menguntungkan di dalam perut (*Chlorella_ Watershed Chlorella* 100% Pure, <http://Chlorella.co.nz/>, Januari 2007).

Beberapa program penelitian yang lain telah mengindikasikan bahwa penggunaan *Chlorella* secara rutin mampu membantu melawan penyakit jantung, mengurangi tekanan darah tinggi, dan menurunkan tingkat kolesterol. Tidak ada tumbuhan hijau lain di bumi yang lebih menguntungkan bagi tubuh dan jiwa manusia selain *Chlorella*. Sebagai makanan sempurna, *Chlorella* tidak memiliki saingan. *Chlorella* termasuk kelompok kecil yang dikenal sebagai *nutriceutical*, yang merupakan makanan bergizi sangat tinggi (*Chlorella_ Watershed Chlorella* 100% Pure, <http://Chlorella.co.nz/>, Januari 2007).

2.1.1 TAKSONOMI CHLORELLA VULGARIS

Berdasarkan taksonominya, *Chlorella vulgaris* termasuk kedalam klasifikasi sebagai berikut:

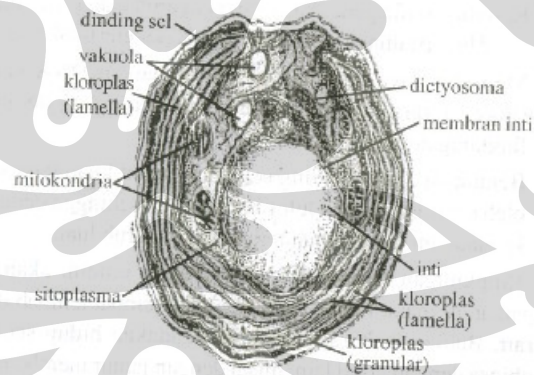
TABEL 2.1 TAKSONOMI CHLORELLA VULGARIS

<i>Chlorella</i>
Scientific classification
Kingdom: Plantae
Division: Chlorophyta
Class: Chlorophyceae
Order: chlorococcales
Family: Oocystaceae
Genus: <i>Chlorella</i>
Species
<ul style="list-style-type: none">• <i>Chlorella vulgaris pyrenoidosa</i>• Chlorella pyrenoidosa

(<http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorella>)

2.1.2 MORFOLOGI CHLORELLA VULGARIS

Chlorella vulgaris adalah organisme bersel tunggal atau *uniselular*. Struktur sel dari *Chlorella vulgaris* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Sel *Chlorella*

(<http://merops.sanger.ac.uk/cgi-bin/speccards?sp=sp001794&type=P>)

Secara umum bagian-bagian sel *Chlorella vulgaris* dapat dijelaskan sebagai berikut :

2.1.2.1 Inti Sel

Inti sel (*nukleus*) merupakan suatu struktur dengan ukuran yang besar dan dikelilingi oleh sitoplasma. Inti sel ini dilindungi oleh sebuah membran. Bagian ini memiliki peran yang sangat penting karena bertugas mengatur seluruh aktivitas sel seperti berfotosintesis dan berkembang biak (Wirosaputro, 2002).

Di dalam inti sel terdapat sebuah inti lagi yang berukuran lebih kecil yang disebut dengan *nukleolus*. Nukleolus merupakan anak inti sel yang sangat kecil dan terbentuk dari kumpulan RNA (*Ribo Nucleic Acid*) sehingga nukleolus berperan dalam sintesis protein di dalam sel.

Selain itu, inti sel juga memiliki jaringan-jaringan halus yang berada di dalam cairan inti yang mengandung gen. Jaringan ini disebut dengan benang kromatin dan berfungsi sebagai pembawa informasi genetik dari sel induk kepada sel anak pada saat berkembang biak (Wirosaputro, 2002).

2.1.2.2 Kloroplast

Kloroplast merupakan jaringan berbentuk cangkir atau lonceng. Kloroplast terdiri atas lamella fotosintetik dan diselubungi oleh suatu membran ganda. Bagian ini memegang peranan penting dalam proses fiksasi CO₂ karena mengandung biomassa yang dapat menyerap energi cahaya untuk digunakan dalam reaksi fotosintesis (<http://www.chem.mtu.edu/~drshonna/cm4710/lectures/chapter2.pdf>)

2.1.2.3 Mitokondria

Mitokondria merupakan organel sel yang sangat kompleks dan terdiri atas struktur-struktur berbentuk seperti cerutu. Struktur-struktur kecil tersebut tersusun dari protein dan lipid yang membentuk suatu sel yang stabil dan keras. Dinding mitokondria berlapis dua dan lapisan dalamnya

memiliki banyak lekukan. Struktur ini berguna untuk memperluas bidang permukaan penyerapan oksigen dalam proses respirasi sel.

Mitokondria berfungsi sebagai pusat pembangkit tenaga sel dengan menghasilkan ATP sebagai sumber energi. Selain itu mitokondria berperan penting dalam proses respirasi sel dan tempat pemecahan molekul protein dan lemak kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana yang selanjutnya digunakan sebagai sumber energi (<http://www.chem.mtu.edu/~drshonna/cm4710/lectures/chapter-2.pdf>)

2.1.2.4 Dinding Sel

Dinding sel tersusun dari *selulosa*, *hemiselulosa*, dan *lignin*. Dinding sel ini berfungsi untuk melindungi bagian dalam sel dari pengaruh luar. Bagian ini mengandung serat yang dapat dikonsumsi oleh manusia sebagai makanan sehat (Wirosaputro, 2002)..

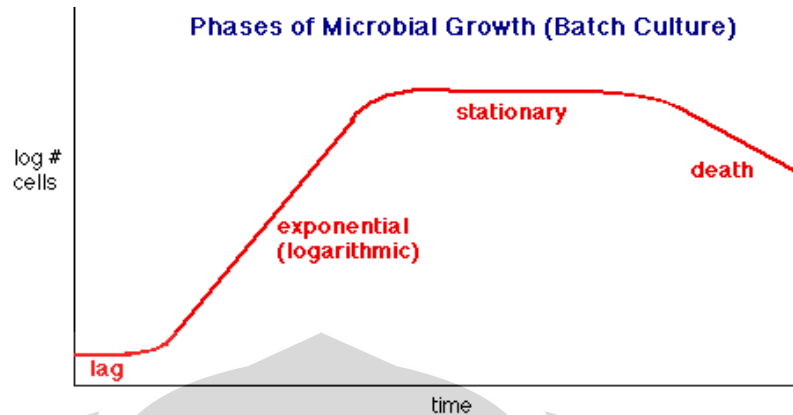
2.1.2.5 Vakuola

Vakuola merupakan tempat pembuangan (*ekskresi*) dari zat-zat yang tidak diperlukan lagi oleh sel. Zat-zat ini akan tertimbun di dalam vakuola sehingga ukuran dari vakuola pada sel semakin lama akan semakin besar. (<http://www.chem.mtu.edu/~drshonna/cm4710/lectures/chapter2.pdf>)

2.1.3 FASE PERTUMBUHAN CHLORELLA VULGARIS (SUJARWO, 2006)

Pola pertumbuhan berdasarkan jumlah sel dapat dikelompokkan menjadi lima fase, yaitu lag phase, log phase, fase penurunan laju pertumbuhan, fase stasioner, dan fase kematian.

Kelima fasa tersebut dapat ditunjukkan dengan kurva jumlah sel vs waktu seperti pada Gambar 2.3.



GAMBAR 2.3 KURVA PERTUMBUHAN CHLORELLA VULGARIS

1. Fase Tunda (*lag phase*)

Lag phase adalah suatu tahap setelah pemberian inokulum ke dalam media kultur dimana terjadi penundaan pertumbuhan yang dikarenakan *Chlorella vulgaris* memerlukan pembelahan. Dalam fase ini tidak terjadi penambahan jumlah sel. Fase ini adalah fase penyesuaian yaitu suatu masa ketika sel-sel kekurangan metabolit dan enzim akibat dari keadaan tidak menguntungkan dalam pembiakan terdahulu, menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru. Enzim-enzim dan zat antara terbentuk dan terkumpul sampai konsentrasi yang cukup untuk kelanjutan pertumbuhan.

2. Fase Pertumbuhan Logaritmik (*log phase*)

Pada fase ini, sel-sel membelah dengan cepat dan terjadi penambahan dalam jumlah sel. Selama fase ini, sel-sel berada dalam keadaan yang stabil. Bahan sel baru terbentuk dengan konstan tetapi bahan-bahan baru itu bersifat katalitik dan massa bertambah secara eksponensial. Hal ini bergantung hingga satu dari dua hal terjadi, yaitu kalau tidak atau lebih zat makanan dalam pembenihan habis maka tentu hasil metabolisme beracun akan tertimbun dan menghambat pertumbuhan. Kultur dalam fase pertumbuhan eksponensial tidak hanya berada dalam keseimbangan pertumbuhan tetapi jumlah dari sel-sel dalam kultur ini bertambah dengan kecepatan yang konstan. Dalam penggunaan mikroorganisme pada dunia perindustrian, dibutuhkan

bibit atau starter untuk proses fermentasi suatu bahan makanan, biasanya digunakan mikroorganisme yang sedang berada dalam fase eksponensial. Hal ini dikarenakan mikroorganisme tersebut tidak akan mengalami fase pertumbuhan sebelum fase eksponensial dalam media yang baru.

3. Fase Penurunan Laju Pertumbuhan

Pada fase ini, tetap terjadi penambahan jumlah sel namun laju pertumbuhannya menurun. Hal ini dikarenakan terjadinya kompetisi yang sangat tinggi di dalam media hidup karena zat makanan yang tersedia tidak sebanding dengan jumlah populasi akibat dari penambahan yang sangat cepat pada fase eksponensial sehingga hanya sebagian dari populasi yang mendapatkan makanan yang cukup dan dapat tumbuh serta membelah.

4. Fase Stasioner

Pada fase ini, jumlah sel kurang lebih tetap. Hal ini disebabkan oleh habisnya zat makanan atau menumpuknya hasil metabolisme yang beracun sehingga mengakibatkan pertumbuhan berhenti. Akan tetapi, dalam kebanyakan kasus, pergantian sel terjadi dalam fase stasioner, yaitu adanya kehilangan sel yang lambat karena kematian yang diimbangi oleh pembentukan sel-sel yang baru melalui pertumbuhan dan pembelahan. Bila hal ini terjadi, jumlah seluruh sel akan bertambah secara lambat meskipun jumlah sel yang hidup akan konstan.

5. Fase kematian

Dalam fase ini, jumlah populasi menurun. Selama fase ini, jumlah sel yang mati per satuan waktu secara perlahan-lahan bertambah dan akhirnya kecepatan mati dari sel-sel menjadi konstan.

2.2 FOTOSINTESIS ([HTTP://WWW.LABLINC.OR.ID/BIO/SEL/FOTOSINTESIS.HTM](http://www.lablinc.or.id/bio/sel/fotosintesis.htm))

Fotosintesis adalah suatu proses biokimia yang dilakukan tumbuhan, alga, dan beberapa jenis bakteri untuk menghasilkan makanan dengan memanfaatkan energi cahaya. Hampir semua makhluk hidup bergantung dari energi yang dihasilkan dalam fotosintesis. Akibatnya fotosintesis menjadi sangat penting bagi kehidupan di bumi. Fotosintesis juga berjasa menghasilkan sebagian besar oksigen yang terdapat di atmosfer bumi. Organisme yang menghasilkan energi melalui fotosintesis disebut sebagai organisme autotrof.

Arti fotosintesis sendiri adalah proses penyusunan atau pembentukan dengan menggunakan energi cahaya atau foton. Sumber energi cahaya alami adalah matahari yang memiliki spektrum cahaya infra merah (tidak terlihat mata), merah, jingga, kuning, hijau, biru, nila, ungu dan ultra ungu (tidak terlihat mata). Pada proses fotosintesis, cahaya yang digunakan adalah spektrum cahaya tampak, dari ungu sampai merah. Infra merah dan ultra ungu tidak digunakan dalam fotosintesis.

Dalam fotosintesis, dihasilkan karbohidrat dan oksigen. Oksigen merupakan hasil sampingan dari fotosintesis dimana volumenya dapat diukur. Oleh sebab itu, untuk mengetahui tingkat produksi fotosintesis adalah dengan mengatur volume oksigen yang dikeluarkan dari tubuh tumbuhan.

2.2.1 FOTOSINTESIS PADA TUMBUHAN

Tumbuhan bersifat autotrof. Autotrof artinya dapat mensintesis makanan langsung dari senyawa anorganik. Tumbuhan menggunakan karbon dioksida dan air untuk menghasilkan gula dan oksigen yang diperlukan sebagai makanannya. Energi untuk menjalankan proses ini berasal dari fotosintesis. Perhatikan persamaan reaksi yang menghasilkan glukosa berikut ini:



Glukosa dapat digunakan untuk membentuk senyawa organik lain seperti selulosa dan dapat pula digunakan sebagai bahan bakar. Proses ini berlangsung melalui respirasi seluler yang terjadi baik pada hewan maupun tumbuhan. Secara umum reaksi yang terjadi pada respirasi seluler berkebalikan dengan persamaan di atas. Pada respirasi, gula (glukosa) dan

senyawa lain akan bereaksi dengan oksigen untuk menghasilkan karbon dioksida, air, dan energi kimia.

Tumbuhan menangkap cahaya menggunakan pigmen yang disebut klorofil. Pigmen inilah yang memberi warna hijau pada tumbuhan. Klorofil mengandung organel yang disebut kloroplas. Kloroplas inilah yang menyerap cahaya yang akan digunakan dalam fotosintesis. Dilihat dari strukturnya, kloroplas terdiri atas membran ganda yang melingkupi ruangan yang berisi cairan yang disebut **stroma**. Membran tersebut membentuk suatu sistem membran tilakoid yang berwujud sebagai suatu bangunan yang disebut kantung tilakoid. Kantung-kantung tilakoid tersebut dapat berlapis-lapis dan membentuk apa yang disebut **grana**. Klorofil terdapat pada membran tilakoid dan perubahan energi cahaya menjadi energi kimia berlangsung dalam tilakoid, sedang pembentukan glukosa sebagai produk akhir fotosintesis berlangsung di **stroma**.

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pembentukan klorofil antara lain:

1. **Gen**

Bila gen untuk klorofil tidak ada maka tanaman tidak akan memiliki klorofil.

2. **Cahaya**

Beberapa tanaman dalam pembentukan klorofil memerlukan cahaya, tanaman lain tidak memerlukan cahaya.

3. **Unsur N, Mg, Fe**

Merupakan unsur-unsur pembentuk dan katalis dalam sintesis klorofil.

4. **Air**

Bila kekurangan air akan terjadi disintegrasi klorofil.

Meskipun seluruh bagian tubuh tumbuhan yang berwarna hijau mengandung kloroplas, namun sebagian besar energi dihasilkan di daun. Di dalam daun terdapat lapisan sel yang disebut mesofil yang mengandung setengah juta kloroplas setiap milimeter persegi. Cahaya akan melewati lapisan epidermis tanpa warna dan yang transparan, menuju mesofil, tempat terjadinya sebagian besar proses fotosintesis. Permukaan daun biasanya

dilapisi oleh kutikula dari lilin yang bersifat anti air untuk mencegah terjadinya penyerapan sinar matahari ataupun penguapan air yang berlebihan.

2.2.2 FOTOSINTESIS PADA ALGA DAN BAKTERI

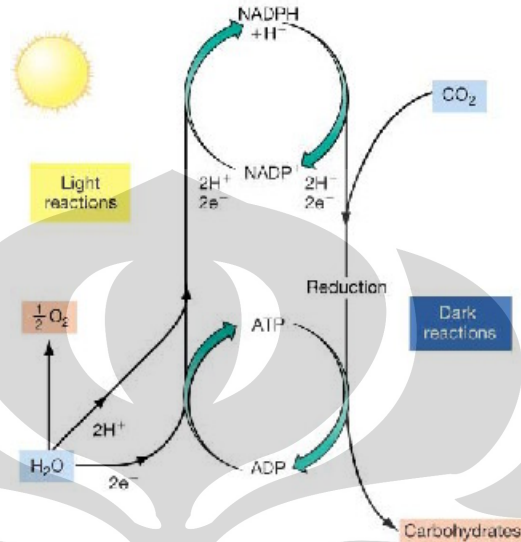
Alga terdiri dari alga multiseluler seperti ganggang hingga alga mikroskopik yang hanya terdiri dari satu sel. Meskipun alga tidak memiliki struktur sekompleks tumbuhan darat, fotosintesis pada keduanya terjadi dengan cara yang sama. Hanya saja karena alga memiliki berbagai jenis pigmen dalam kloroplasnya, maka panjang gelombang cahaya yang diserapnya pun lebih bervariasi. Semua alga menghasilkan oksigen dan kebanyakan bersifat autotrof. Hanya sebagian kecil saja yang bersifat heterotrof yang berarti bergantung pada materi yang dihasilkan oleh organisme lain.

2.2.3 FOTOSINTESIS PADA TINGKAT MOLEKULER

Pigmen klorofil menyerap lebih banyak cahaya terlihat pada warna biru (400-450 nanometer) dan merah (650-700 nanometer) dibandingkan hijau (500-600 nanometer). Cahaya hijau ini akan dipantulkan dan ditangkap oleh mata kita sehingga menimbulkan sensasi bahwa daun berwarna hijau. Fotosintesis akan menghasilkan lebih banyak energi pada gelombang cahaya dengan panjang tertentu. Hal ini karena panjang gelombang yang pendek menyimpan lebih banyak energi.

Di dalam daun, cahaya akan diserap oleh molekul klorofil untuk dikumpulkan pada pusat-pusat reaksi. Pada tumbuhan ada dua jenis pigmen yang berfungsi aktif sebagai pusat reaksi atau fotosistem yaitu fotosistem II dan fotosistem I. Fotosistem II terdiri dari molekul klorofil yang menyerap cahaya dengan panjang gelombang 680 nanometer, sedangkan fotosistem I 700 nanometer. Kedua fotosistem ini akan bekerja secara simultan dalam fotosintesis, seperti dua baterai dalam senter yang bekerja saling memperkuat.

Dalam fotosintesis terdapat dua tahap, yaitu reaksi terang dan reaksi gelap (siklus Calvin). Reaksi terang terjadi pada grana (granum), sedangkan reaksi Calvin terjadi di dalam stroma.



GAMBAR 2. 4 REAKSI PADA FOTOSINTESIS

Dalam reaksi terang, terjadi konversi energi cahaya menjadi energi kimia dan menghasilkan oksigen (O_2). Sedangkan dalam siklus Calvin terjadi seri reaksi siklik yang membentuk gula dari bahan dasar CO_2 dan energi (ATP dan NADPH). Energi yang digunakan dalam siklus Calvin diperoleh dari reaksi terang.

Dari semua radiasi matahari yang dipancarkan, hanya panjang gelombang tertentu yang dimanfaatkan tumbuhan untuk proses fotosintesis, yaitu panjang gelombang yang berada pada kisaran cahaya tampak (380-700 nm). Cahaya tampak terbagi atas cahaya merah (610 - 700 nm), hijau kuning (510 - 600 nm), biru (410 - 500 nm) dan violet (< 400 nm). Masing-masing jenis cahaya berbeda pengaruhnya terhadap fotosintesis. Hal ini terkait pada sifat pigmen penangkap cahaya yang bekerja dalam fotosintesis. Pigmen yang terdapat pada membran grana menyerap cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu. Pigmen yang berbeda menyerap cahaya pada panjang gelombang yang berbeda. Kloroplast mengandung beberapa pigmen. Sebagai contoh, klorofil a terutama menyerap cahaya biru-violet dan merah. Klorofil b menyerap cahaya biru dan oranye dan memantulkan cahaya

kuning-hijau. Klorofil a berperan langsung dalam reaksi terang, sedangkan klorofil b tidak secara langsung berperan dalam reaksi terang.

Fotosintesis dimulai ketika cahaya mengionisasi molekul klorofil pada fotosistem II, membuatnya melepaskan elektron yang akan ditransfer sepanjang rantai transpor elektron. Energi dari elektron ini digunakan untuk fotofosforilasi yang menghasilkan ATP, satuan pertukaran energi dalam sel. Reaksi ini menyebabkan fotosistem II mengalami defisit atau kekurangan elektron yang harus segera diganti. Pada tumbuhan dan alga, kekurangan elektron ini dipenuhi oleh elektron dari hasil ionisasi air yang terjadi bersamaan dengan ionisasi klorofil. Hasil ionisasi air ini adalah elektron dan oksigen.

Oksigen dari proses fotosintesis hanya dihasilkan dari air, bukan dari karbon dioksida. Pendapat ini pertama kali diungkapkan oleh C.B. van Neil yang mempelajari bakteri fotosintetik pada tahun 1930-an. Bakteri fotosintetik, selain sianobakteri, menggunakan tidak menghasilkan oksigen karena menggunakan ionisasi sulfida atau hidrogen.

Pada saat yang sama dengan ionisasi fotosistem II, cahaya juga mengionisasi fotosistem I, melepaskan elektron yang ditransfer sepanjang rantai transpor elektron yang akhirnya mereduksi NADP menjadi NADPH.

ATP dan NADPH yang dihasilkan dalam proses fotosintesis memicu berbagai proses biokimia. Pada tumbuhan, proses biokimia yang terpicu adalah siklus Calvin dimana karbon dioksida diubah menjadi ribulosa (dan kemudian menjadi gula seperti glukosa). Reaksi ini disebut reaksi gelap karena tidak bergantung pada ada tidaknya cahaya sehingga dapat terjadi meskipun dalam keadaan gelap (tanpa cahaya).

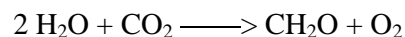
Ringkasnya :



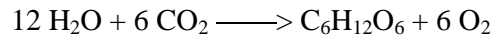
Reaksi gelap :



atau

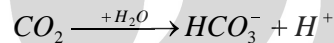


atau

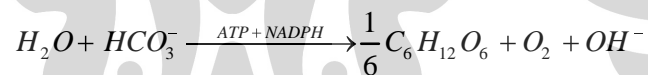


2.2.4 HASIL PROSES FOTOSINTESIS

Pada mikroalga hijau *Chlorella sp.* yang termasuk organisme renik air, fotosintesis dilakukan di dalam air atau media hidupnya. CO_2 yang dibutuhkan sebagai sumber karbonnya didapatkan dalam bentuk senyawa bikarbonat yang terbentuk dari reaksi air dengan CO_2 terlarut dalam media hidupnya (pada ekstra selular) sebagai berikut (Wijanarko dan Ohtaguchi, 2004) :



Senyawa bikarbonat ini yang kemudian diserap oleh sel *Chlorella sp.* Proses metabolisme yang terjadi dalam sel selanjutnya adalah reaksi antara bikarbonat tersebut dan air yang terdapat dalam sel (*siklus Calvin*) membentuk senyawa organik seperti glukosa dan ion OH^- menggunakan energy ATP dan NADPH dari konversi cahaya pada reaksi terang, sebagaimana tergambar dalam persamaan reaksi berikut (Wijanarko dan Ohtaguchi, 2004) :



Hasil fotosintesis mikroalga hijau *Chlorella sp.* adalah ion OH^- , oksigen molekular, dan senyawa organik (karbon) yang akan digunakan sebagai cadangan makanan (*carbon source*) apabila tidak mendapatkan cahaya dan CO_2 untuk pertumbuhan dan pembelahan selnya.

Seperti yang telah kita ketahui, fotosintesis adalah bagian dari metabolisme dalam tumbuhan, sehingga apabila proses fotosintesis terganggu maka pertumbuhan mikroalga hijau *Chlorella sp.* juga terhambat.

2.2.5 FAKTOR PENENTU LAJU FOTOSINTESIS

Berikut adalah beberapa faktor utama yang menentukan laju fotosintesis:

1. *Intensitas cahaya*

Laju fotosintesis maksimum ketika terdapat banyak cahaya.

2. *Konsentrasi karbon dioksida*

Semakin banyak karbon dioksida di udara, makin banyak jumlah bahan yang dapat digunakan tumbuhan untuk melangsungkan fotosintesis.

3. *Suhu*

Enzim-enzim yang bekerja dalam proses fotosintesis hanya dapat bekerja pada suhu optimalnya. Umumnya laju fotosintesis meningkat seiring dengan meningkatnya suhu hingga batas toleransi enzim.

4. *Kadar air*

Kekurangan air atau kekeringan menyebabkan stomata menutup, menghambat penyerapan karbon dioksida sehingga mengurangi laju fotosintesis.

5. *Kadar fotosintat (hasil fotosintesis)*

Jika kadar fotosintat seperti karbohidrat berkurang, laju fotosintesis akan naik. Bila kadar fotosintat bertambah atau bahkan sampai jenuh, laju fotosintesis akan berkurang.

6. *Tahap pertumbuhan*

Penelitian menunjukkan bahwa laju fotosintesis jauh lebih tinggi pada tumbuhan yang sedang berkecambah ketimbang tumbuhan dewasa. Hal ini mungkin dikarenakan tumbuhan berkecambah memerlukan lebih banyak energi dan makanan untuk tumbuh.

2.3 FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PERTUMBUHAN MIKROALGA HIJAU CHLORELLA PADA MEDIUM TERBATAS

Organisme autotrofik seperti *Chlorella* membutuhkan cahaya, CO₂, H₂O, nutrisi, dan trace element untuk pertumbuhannya (www.nhm.ac.uk). Berikut akan diuraikan beberapa faktor lain yang berhubungan dengan hal-hal tersebut yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan mikroalga hijau *Chlorella* pada medium terbatas (Wirosaputro, 2002).

2.3.1 *JENIS MEDIUM*

Agar *Chlorella vulgaris* dapat hidup, maka medium pembiakannya harus memiliki berbagai nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Apabila asupan nutrisi dari medium tidak cukup, maka laju pertumbuhannya akan terhambat. Untuk itu maka komposisi dari medium yang diberikan harus tepat.

Namun sebenarnya medium yang diperlukan untuk perkembangan *Chlorella vulgaris* relatif lebih sederhana dan memerlukan jenis nutrisi yang lebih sedikit dibandingkan dengan medium untuk jenis alga lainnya. Sebagian besar jenis mediumnya juga tidak memerlukan *trace* mineral seperti yang diperlukan oleh organisme lain.

Ada beberapa medium yang lazim digunakan untuk membiakkan *Chlorella vulgaris*, yaitu *Benneck*, *Detmer*, Pupuk Komersial, dan *Walne*. Komposisi nutrisi dari masing-masing medium tersebut dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2.2 Perbandingan Komposisi Nutrisi Medium Pembiakan *Chlorella vulgaris*.

<i>Nutrisi</i>	<i>Benneck</i>	<i>Detmer</i>	<i>Pupuk Komersial</i>	<i>Walne</i>
MgSO ₄	100 mg/L	550 mg/L	-	-
KH ₂ PO ₄	200 mg/L	250 mg/L	-	-
NaNO ₃	500 mg/L	-	-	100 mg/L
FeCl ₃	3 – 5 mg/L	-	-	1,3 mg/L
KCl	-	250 mg/L	40mg/L	-
Cu(NO ₃) ₂	-	1000 mg/L	-	-
CO(NH ₂) ₂	-	-	800mg/L	-
Na ₂ EDTA	-	-	-	45 mg/L
H ₃ BO ₃	-	-	-	33,6 mg/L
TSP	-	-	15 mg/L	-
NaH ₂ PO ₄	-	-	-	20 mg/L
MnCl ₂	-	-	-	0,36mg/L

2.3.2 *PENCAHAYAAN*

Cahaya merupakan faktor utama yang mempunyai peranan penting untuk pertumbuhan mikroalga sebagai sumber energi untuk pertumbuhan mikroalga dan fotosintesis. Intensitas yang baik bagi mikroalga untuk melakukan fotosintesis berkisar antara 4-5 kilolux. Cahaya matahari yang diperlukan oleh mikroalga dapat diganti dengan lampu TL. Penggunaan cahaya yang berasal dari lampu TL karena didasari oleh kebutuhan intensitas cahaya pada penelitian ini dimana jika cahaya pada lampu TL

dapat diatur sesuai intensitas yang dibutuhkan. Selain itu, lampu TL mempunyai kestabilan intensitas cahaya jika dibandingkan dengan cahaya yang bersumber dari cahaya matahari.

Faktor pencahayaan terbagi menjadi tiga bagian, yaitu pencahayaan kontinyu, pencahayaan alterasi, dan pencahayaan gelap-terang (fotoperiodesitas). Sebenarnya faktor pencahayaan ini juga dapat dibagi lagi menjadi pencahayaan dengan panjang gelombang tertentu dan pencahayaan dengan intensitas tertentu. Namun, kali ini hanya akan dibahas mengenai pencahayaan dengan intensitas tertentu.

2.3.2.1 Pencahayaan Terang Gelap

Istilah pencahayaan terang gelap dalam penelitian ini adalah *Chlorella vulgaris* yang diiluminasi dengan cahaya tampak (370-900 nm) dengan mengatur kondisi terang selama 8 jam dan kondisi gelap selama 16 jam, seperti kondisi alami (periode cahaya matahari). Dari penelitian yang telah dilakukan, perlakuan ini memberikan efisiensi cahaya yang paling besar dibandingkan dengan pencahayaan kontinyu, namun laju pertumbuhannya masih sedikit di bawah pencahayaan kontinyu.

2.3.2.2 Pencahayaan Kontinyu

Istilah pencahayaan kontinyu dalam penelitian ini adalah *Chlorella vulgaris* yang diiluminasi dengan cahaya tampak (370-900 nm) secara terus-menerus hingga mencapai fase stasionernya. Menurut penelitian yang telah dilakukan, perlakuan ini memberikan hasil laju pertumbuhan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pencahayaan gelap-terang (fotoperiodesitas).

2.3.2.3 Pencahayaan Alterasi

Alterasi adalah perubahan perlakuan cahaya kontinyu dengan memberikan intensitas cahaya yang semakin tinggi seiring dengan penambahan jumlah sel dari dalam penelitian ini. Dari penelitian-penelitian sebelumnya, diketahui bahwa semakin banyak jumlah

sel/biomassa dalam penelitian ini maka kultur akan semakin pekat sehingga cahaya yang diberikan tidak lagi dapat diterima secara merata oleh semua sel. Karena itu, perlu dilakukan peningkatan intensitas cahaya agar cahaya dapat masuk dan diterima secara merata oleh semua sel. Usaha ini telah dibuktikan dapat meningkatkan laju pertumbuhan menjadi lebih optimal dan menghasilkan biomassa dengan jumlah yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pencahayaan kontinyu (Wijanarko, 2003).

2.3.3 TEMPERATUR

Semakin tinggi suhu maka laju reaksi akan semakin besar. Berdasarkan prinsip tersebut sel akan tumbuh lebih cepat pada temperatur yang lebih tinggi. Namun temperatur yang terlalu tinggi akan menyebabkan denaturasi protein dan asam nukleat, kehilangan enzim yang penting dan metabolisme sel. Temperatur optimum bagi perkembangan *Chlorella vulgaris* adalah 23°C – 30°C (<http://www.sp.uconn.edu/~terry/229sp03/lectures/growth.html>).

2.3.4 OKSIGEN (O₂) DAN KARBONDIOKSIDA (CO₂)

O₂ diperlukan oleh mikroorganisme untuk proses respirasi, sedangkan CO₂ diperlukan untuk proses fotosintesis. Walaupun dari reaksi fotosintesis dapat dihasilkan O₂ namun apabila tidak terdapat cahaya sebagai sumber energi maka mikroorganisme tidak akan dapat berfotosintesis sehingga diperlukan juga udara dari luar. Demikian juga tanpa adanya CO₂ mikroorganisme tidak akan dapat berfotosintesis. Oleh karena itu jumlah CO₂ dan O₂ pada medium harus seimbang agar didapat laju pertumbuhan yang optimum.

2.3.5 DERAJAT KEASAMAN (PH)

pH memiliki peran dalam mengatur kerja dari enzim. Perubahan pH sangat berpengaruh terhadap kinerja enzim dalam metabolisme sel sehingga akan mempengaruhi laju pertumbuhan sel. pH yang optimum bagi perkembangan *Chlorella vulgaris* adalah 7,0 – 8,0.

2.3.6 FOTOBIOREAKTOR

Dalam rangka memaksimalkan produktivitas produk yang berasal dari mikroorganisme fototropik, fotobioreaktor sangat dibutuhkan sebagai tempat hidup dari mikroorganisme ini (Pulz, 2001).

Fotobioreaktor itu sendiri terbagi dalam dua sistem, yaitu sistem terbuka (*open system*) dan sistem tertutup (*closed system*). Sistem terbuka bisa berupa air alami (danau, lagoon (danau di pinggir laut), kolam) dan danau buatan. Umumnya sistem tertutup terdiri dari fotobioreaktor tubular dengan tube dalam berbagai bentuk, ukuran, dan panjang yang disesuaikan dengan material yang digunakan (Pulz, 2001).

Pada masa yang akan datang, sistem kolam terbuka yang digunakan untuk memproduksi mikroorganisme dalam skala besar, mempunyai potensi inovasi yang lebih rendah dibanding sistem tertutup. Untuk produk yang bermutu tinggi, fotobioreaktor sistem tertutup lebih dipilih, ditinjau dari segi perkembangannya dan bervariasinya pendekatan yang dapat digunakan dalam desain (Pulz, 2001).



Gambar 2.5 Fotobioreaktor Terbuka untuk Pemiakan *Chlorella vulgaris*.
(Sumber : <http://www.Chlorella-world.com/vaevama.html>)

2.3.6.1 Karakteristik Fotobioreaktor (Pulz, 2001)

Umumnya, kondisi kehidupan normal alamiah mikroalga yang menjadi salah satu subjek penelitian bioteknologi adalah sebagai berikut : jarak rata-rata antara sel (*cell displacement*) vertikal atau horizontal berkisar 5.10^{-3} sampai 3.10^{-5} m/s. Densitas maksimum sel $1,000 \text{ sel/cm}^3$, *photon flux density* (PFD) biasanya bagus dalam *light limited area*, suplai cahaya efektif pada saat

pagi sampai sore, kondisi CO₂ dan nutrisi biasanya jauh dari optimal, stabilitas nilai pH, konsentrasi ion, dan temperatur pada rentang yang cukup panjang.

Pada kenyataannya, untuk sistem kultivasi dalam fotobioreaktor, harus diberikan pada kondisi yang sangat berbeda, dimana densitas sel dapat mencapai hingga 10⁸ sel/cm³, jarak rata-rata sel tereduksi sampai 60 µm atau 10 kali diameter sel, *cell displacement* dari 0.3 sampai 1 m/s, *turbulence-conditioned* PFD bervariasi antara frekuensi 0.1-1.000 s dapat menggantikan waktu pagi sampai sore maupun malam harinya, suplai nutrisi dan CO₂ yang biasanya optimum, nilai pH dan temperatur yang optimum untuk spesifik sel mikroalga tertentu.

Berikut akan dijelaskan beberapa karakteristik dari fotobioreaktor berdasarkan parameter yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga.

a) Energi Cahaya

Cahaya sebagai sumber energi untuk kehidupan fotoautotropik merupakan faktor pembatas yang mendasar dalam *photobiotechnology*. Pada pencahayaan yang intens, laju fotosintesis akan berbanding lurus proporsional dengan intensitas cahaya, sampai intensitas iluminasi yang tinggi dapat merusak sistem reseptor fotosintetik dalam beberapa menit, yang dinamakan *photoinhibition*. Pada kebanyakan mikroalga, fotosintesis akan ter-*saturated* pada radiasi sekitar 1,700-2,000 µE/m² dan mengalami *photoinhibition* pada 130 µE/m² (Pulz, 2001).

Pada jenis fotobioreaktor tubular atau *plate-type*, dengan *surface-to-volume ratio* 20-80 m²/m³ dan besarnya pencahayaan mencapai 1.15 µE/m²s, dengan *layer thickness* sampai 5 mm, produktivitas dapat mencapai 2-5 g.DW/day. Meskipun minat pada bioteknologi semakin berkembang belakangan ini, tetapi masih sedikit referensi literatur mengenai *short-term process* dari *photoadaptation*, yaitu mengenai *light inhibition* atau *saturation effect* dalam fotobioreaktor dalam sistem tertutup. *Photoadaptation* memerlukan waktu sekitar 10-40 menit dimana dapat dijelaskan ketidaksesuaian antara produktivitas kultur alga pada *open-air* dan pencahayaan optimum mereka.

b) Keseimbangan CO₂/O₂

Untuk laju fotosintesis yang tinggi, keseimbangan CO₂/O₂ harus disesuaikan, dimana enzim utama *carboxylating*, Rubisco, menggunakan CO₂ untuk siklus Calvin dan tidak menggunakan untuk O₂ fotorespirasi. Oksigen dapat menjadi permasalahan dalam kultur mikroalga dengan densitas sel tinggi karena akan menghambat laju fotosintesis.

Konsentrasi CO₂ biasanya harus dijaga selama margin yang sempit. Kandungan CO₂ udara 0.03% menjadi suboptimal bagi pertumbuhan, dan pada umumnya tumbuh-tumbuhan dapat mentoleransi konsentrasi CO₂ hanya sampai 0.1%. Tetapi untuk kebanyakan strain dari mikroalga, telah diteliti bahwa mikroorganisme ini dapat mentoleransi kandungan CO₂ udara sampai 12% pada temperatur 35°C. Sampai saat ini, tekanan parsial O₂ (pO₂) dalam suspensi mikroalga baik dalam *open* atau *closed photobioreactor*, dapat direduksi hanya dengan menambah turbulensi dan *stripping* O₂ dengan udara. Kedua pendekatan ini masih menjadi 'unsolved dilemma' dalam sistem fotobioreaktor (Pulz, 2001).

c) Temperatur

Temperatur dapat mempengaruhi respirasi dan fotorespirasi secara lebih kuat dibanding dengan fotosintesis. Ketika CO₂ atau cahaya menjadi terbatas untuk proses fotosintesis, pengaruh temperatur menjadi tidak signifikan. Dengan penambahan temperatur, respirasi akan meningkat secara signifikan. Jadi, net efisiensi fotosintesis akan menurun dengan kenaikan pada temperatur tinggi. Efek ini dapat memperburuk kultur suspensi pada kondisi penurunan CO₂ dan kelarutan O₂ pada kenaikan temperatur (Pulz, 2001).

d) Nutrien dan Nilai pH

Suplai nutrien yang cukup untuk mikroalga adalah pre-kondisi untuk fotosintesis yang optimal. Defisiensi nutrien akan menyebabkan gangguan pada metabolisme dan ketidaksesuaian produksi pada *intermediate* proses fotosintesis. Deviasi dari nilai pH optimum akan mempengaruhi psikologis reaksi dan produktivitas sehingga kondisi yang terkontrol

dengan mudah harus dijaga pada rasio optimum dalam fotobioreaktor (Pulz, 2001).

2.3.6.2 Jenis Fotobioreaktor

Pemilihan desain dari sebuah fotobioreaktor akan sangat mudah mempengaruhi produksi dan efisiensi overall untuk memproduksi mikroorganisme yang berbasiskan produk. Dikarenakan sistem terbuka biasanya memiliki produktivitas yang kecil, sehingga untuk skala industri banyak digunakan sistem tertutup seperti tubular fotobioreaktor (*biocoil*, *biofence*, *ultrathin sheet*) (Gunther, 2001).

Jenis fotobioreaktor dibedakan berdasarkan bentuknya, *flow regime*, efisiensi energi cahaya, dan luas permukaan kontakannya. Beberapa jenis fotobioreaktor yang sering digunakan dalam kultivasi mikroorganisme antara lain:

- *Tubular* fotobioreaktor
- *Conical* fotobioraktor
- *Plat-type* fotobioreaktor
- *Bubble column* fotobioreaktor

TABEL 2.3 KARAKTERISTIK BEBERAPA JENIS FOTOBIOREAKTOR.
([HTTP://LINK.SPRINGER.DE](http://link.springer.de))

	Satuan	<i>Raceway</i>	<i>Surface type open pond high layer thickness</i>	<i>Tubular open pond, low layer thickness</i>	<i>Semi-closed plated-tubular system</i>
Permukaan terkena cahaya	m ²	500	200	600	500
Volume	m ²	75	5	7	6
Ruang kosong diperlukan	m ²	550	350	110	100
Ketebalan film	cm	16 – 30	0,5 – 1	4	3
Laju alir	cm/s	30 – 55	30 – 48	50 – 60	120
Konsentrasi biomassa (DW)	mg/L	300 – 500	3000 – 6500	5000 – 8000	5000 – 8000
Produktivitas (DW)	g/L.d	0,05 – 0,1	0,8 – 1	0,8 – 1,2	0,8 – 1,3

2.4 PEMANFAATAN BIOMASSA MIKROALGA HIJAU CHLORELLA SP.

Chlorella vulgaris adalah organisme yang telah memiliki peran penting bagi bumi sejak dahulu. Organisme ini merupakan organisme yang paling efektif dalam melakukan fotosintesis dan biomassa yang dihasilkan telah melebihi jumlah seluruh biomassa yang dihasilkan oleh tanaman tingkat tinggi (<http://www.Chlorellafactor.com>). Biomassa ini memiliki dua peranan, yaitu sebagai pengikat CO₂ sehingga dapat mengurangi konsentrasi CO₂ pada lapisan atmosfer dan sebagai potensi sumber pangan bergizi tinggi. Sejak dahulu suku Aztek dan Maya telah membudidayakan *Chlorella* dan mengkonsumsinya sebagai sumber protein (<http://www.Chlorella-world.com/yaeyama.html>).

Chlorella vulgaris memiliki komposisi biomassa yang sangat bermanfaat. Di dalam organisme ini terkandung berbagai macam unsur vitamin dan mineral yang esensial bagi tubuh. Salah satunya adalah *Chlorella Growth Factor* (CGF). Komposisi CGF dalam *Chlorella vulgaris* hanya 5%, namun memiliki manfaat yang sangat luas di bidang kesehatan. CGF mengandung berbagai jenis asam amino, peptida, protein, vitamin, dan glukoprotein. CGF dapat digunakan sebagai obat antitumor dan dapat merangsang hormon pertumbuhan (Sendjaja, 2006). Secara umum kandungan biomassa dari *Chlorella vulgaris* dapat dilihat sebagai berikut.

TABEL 2.4 KOMPOSISI UMUM BIOMASSA CHLORELLA VULGARIS.

Komponen		
Protein	g/100g	33-45
Lemak	g/100g	6.9-16.1
Air	g/100g	0.4-0.5
Klorofil	g/100g	0.7-2.7
Sumber Mineral	g/100g	6.5-10.5
Lipid	g/100g	6.5-12.5
Rohfaser	g/100g	6.6-7.5
Ballaststoffe	g/100g	27.1-32.5
Karbohidrat	g/100g	0.9-2
Mineral		
Kalsium	mg/100g	321-604
Magnesium	mg/100g	273-325
Seng	mg/100g	04-Jun
Besi	mg/100g	40-70
Kalium	mg/100g	1000-2900
Iodium	mg/100g	< 0.0005
Selenium	µg/100g	02-Okt

Vitamins:		
Betakaroten	mg/100g	3.3-11.2
Vitamin B1	mg/100g	0.5-1.0
Vitamin B2	mg/100g	3.2-3.8
Vitamin B6	mg/100g	0.3-3.7
Vitamin B12	mg/100g	0.2-1.0
Vitamin E	mg/100g	3.6-10.0
Vitamin C	mg/100g	13-20
Vitamin K1	mg/100g	0.2-0.8

Beberapa komponen dalam biomassa *Chlorella* berfungsi untuk mengabsorb sebagian dari spektrum sinar tampak dari matahari untuk diubah menjadi energi yang akan menggerakkan reaksi fotosintesis. Biomassa ini berupa pigmen yang akan memberikan warna pada organisme tersebut. Beberapa jenis biomassa yang dapat menyerap energi cahaya pada alga ditunjukkan oleh Tabel 2.5.

TABEL 2.5 PIGMEN BIOMASSA PENYERAP CAHAYA PADA ALGA.

Cyanophyta (Alga hijau-biru)		
Grup pigmen	Pigmen yang penting	Pigmen lain yang terdapat dalam jumlah kecil
Chlorophyll	Klorofil a	
Phycobilins	<i>Phycocyanin</i> <i>Allophycocyanin</i> <i>Phycoerythrin</i> <i>Phycobilisomes</i>	
Karoten	β -karoten	
Xanthophyll	Zeaxanthin Echinenone Canthaxanthin Myxoxanthrophyll Oscillaxanthin	β -cryptoxanthin Isocryptoxanthin Mutachrome
Chlorophyta (Alga hijau)		
Grup pigmen	Pigmen yang penting	Pigmen lain yang terdapat dalam jumlah kecil
Chlorophyll	Klorofil a Klorofil b	Klorofil c ₁ Klorofil c ₂ Klorofil c ₃
Karoten	β -karoten	α -karoten γ -karoten
Xanthophyll	Lutein Violaxanthin Neoxanthin	Zeaxanthin Echinenone β cryptoxanthin Antheraxanthin Siphonein Siphonoxanthin

Dari Tabel 2.5. tampak bahwa pigmen fotosintesis yang paling banyak dijumpai pada alga adalah klorofil dan betakaroten. Kedua pigmen ini memiliki peran yang penting dalam proses fotosintesis sebagai penyerap energi yang berasal dari cahaya tampak yang kemudian digunakan dalam reaksi fotosintesis (Sendjaja, 2006).

2.5 METODE PENGUKURAN KANDUNGAN BIOMASSA MIKROALGA HIJAU

CHLORELLA SP.

Adapun kandungan biomassa terbesar dalam mikroalga hijau *Chlorella* seperti tampak dalam tabel 2.4 diatas adalah protein, klorofil, dan lipid. Oleh karena itu, pengujian kandungan nutrisi yang dilakukan hanya sebatas kandungan tersebut.

2.5.1 METODE SONIKASI (NINING BETAWATI PRIHANTINI, 2007)

Bentuk dan sifat dinding sel *Chlorella* yang tebal dan kuat menyebabkan pengolahan ataupun pengujian mikroalga tersebut mengalami kesulitan. Salah satu cara sederhana untuk memecah dinding sel mikroalga *Chlorella* adalah dengan menggunakan metode sonikasi. Metode sonikasi memanfaatkan gelombang supersonik yang menyebabkan sel-sel *Chlorella* saling bertumbukan sehingga dinding selnya dapat pecah.

Metode sonikasi menggunakan *glass beads* dan *sonicator* untuk memperbesar kemungkinan terjadinya tumbukan, sehingga proses perengkahan dinding sel berlangsung lebih cepat.



Gambar 2.6 Alat *Sonicator*



Gambar 2.7 Glass Beads

2.5.2 ANALISIS KLOOROFIL (NINING BETAWATI PRIHANTINI, 2007)

Klorofil dalam tanaman memiliki fungsi sebagai bejana pengubah energi dari cahaya matahari menjadi energi kimia, sehingga perubahan CO₂ dan H₂O menjadi karbohidrat dan oksigen dapat berlangsung. Dalam bidang gizi dan nutrisi, klorofil memiliki fungsi luas sebagai “pembersih alami” dalam tubuh manusia, pengontrol kandungan Ca (kalsium), membantu pencernaan protein, pencernaan lemak, penyerapan unsur-unsur Fe (besi), serta membersihkan darah. Klorofil adalah satu-satunya molekul di dunia ini yang secara alamiah dapat diterima oleh tubuh dan menjadi nutrisi vital bagi tubuh manusia. (<http://chem-is-try.com>) Hal ini disebabkan klorofil memiliki kesamaan struktur dengan hemoglobin. Penggunaan klorofil bagi tubuh manusia dapat membantu dalam hal meningkatkan jumlah sel-sel darah, khususnya meningkatkan produksi hemoglobin dalam darah, mengatasi anemia, membersihkan jaringan tubuh, membersihkan dan membantu fungsi hati, meningkatkan daya tahan tubuh terhadap senyawa asing (virus, bakteri, parasit), memperkuat sel, dan melindungi DNA terhadap kerusakan. Yang terpenting dari molekul klorofil adalah aman terhadap tubuh.

Melihat pentingnya manfaat klorofil dalam tubuh, maka analisa kandungan klorofil perlu dilakukan. Pengukuran tersebut dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri, pada panjang gelombang 645 dan 663nm. Metode spektrofotometri dipilih karena metode ini tepat untuk alga dengan komposisi klorofil a cukup besar. Dimana secara umum *Chlorella* memiliki kandungan klorofil cukup tinggi.

2.5.3 ANALISIS LIPID

Lipid atau lemak didefinisikan sebagai senyawa organik yang terdapat di alam serta tidak dapat larut dalam air (Fessenden, 1982). Lipid dikenal oleh masyarakat awam sebagai minyak (organik, bukan minyak mineral atau minyak bumi), lemak, dan lilin. Istilah "lipid" mengacu pada golongan senyawa hidrokarbon alifatik nonpolar dan hidrofob yang esensial dalam menyusun struktur dan menjalankan fungsi sel hidup. Karena nonpolar, lipida tidak larut dalam pelarut polar, seperti air atau alkohol, tetapi larut dalam

pelarut nonpolar, seperti eter atau kloroform.(
<http://id.wikipedia.org/wiki/Lipid>)

Analisis komposisi lemak dilakukan untuk melihat potensi pemanfaatan biomassa *Chlorella* sp. sebagai alternatif bahan baku *biofuel*. Analisis dilakukan dengan metode Bligh-Dryer yang berkerja dengan prinsip gravimetri. Metode ini menggunakan tiga jenis pelarut, yakni metanol, chloroform dan air. Lipid adalah molekul organik nonpolar, sehingga hanya dapat larut pada senyawa nonpolar juga. Pada analisis kandungan lipid dalam mikroalga *Chlorella* sp. ini, metanol dan air merupakan pelarut polar, sedangkan chloroform merupakan pelarut nonpolar. Sehingga lipid akan larut dalam chloroform dan terpisah dari mediumnya.

2.5.4 ANALISIS PROTEIN

Protein (akar kata protos dari bahasa Yunani yang berarti "yang paling utama") adalah senyawa organik kompleks berbobot molekul tinggi yang merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida. Molekul protein mengandung karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen dan kadang kala sulfur serta fosfor. Protein berperan penting dalam struktur dan fungsi semua sel makhluk hidup dan virus.

Kebanyakan protein merupakan enzim atau subunit enzim. Jenis protein lain berperan dalam fungsi struktural atau mekanis, seperti misalnya protein yang membentuk batang dan sendi sitoskeleton. Protein terlibat dalam sistem kekebalan (imun) sebagai antibodi, sistem kendali dalam bentuk hormon, sebagai komponen penyimpanan (dalam biji) dan juga dalam transportasi hara. Sebagai salah satu sumber gizi, protein berperan sebagai sumber asam amino bagi organisme yang tidak mampu membentuk asam amino tersebut (heterotrof).

Analisis protein dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif, identifikasi protein dapat dilakukan dengan beberapa reaksi seperti reaksi Xantoprotein, reaksi Hopkins-Cole, reaksi Millon, reaksi Nitroprusida, dan reaksi Sakaguchi. Sedangkan secara kuantitatif beberapa metode untuk mengukur kandungan protein adalah

metode Kjeldahl, metode titrasi formol, metode Lowry, metode spektrofotometri visible (Biuret), dan metode spektrofotometri UV.

Metode Lowry merupakan pengembangan dari metode Biuret. Dalam metode ini terlibat 2 reaksi. Awalnya, kompleks Cu(II)-protein akan terbentuk sebagaimana metode biuret, yang dalam suasana alkalis Cu(II) akan tereduksi menjadi Cu(I).

Ion Cu^+ kemudian akan mereduksi reagen Folin-Ciocalteu, kompleks phosphomolibdat-phosphotungstat (phosphomolybdotungstate), menghasilkan heteropolymolybdenum blue akibat reaksi oksidasi gugus aromatik (rantai samping asam amino) terkatalis Cu, yang memberikan warna biru intensif yang dapat dideteksi secara kolorimetri. Kekuatan warna biru terutama bergantung pada kandungan residu tryptophan dan tyrosine-nya. Keuntungan metode Lowry adalah lebih sensitif (100 kali) daripada metode Biuret sehingga memerlukan sampel protein yang lebih sedikit. (<http://ariebs.staff.ugm.ac.id/?p=29>)

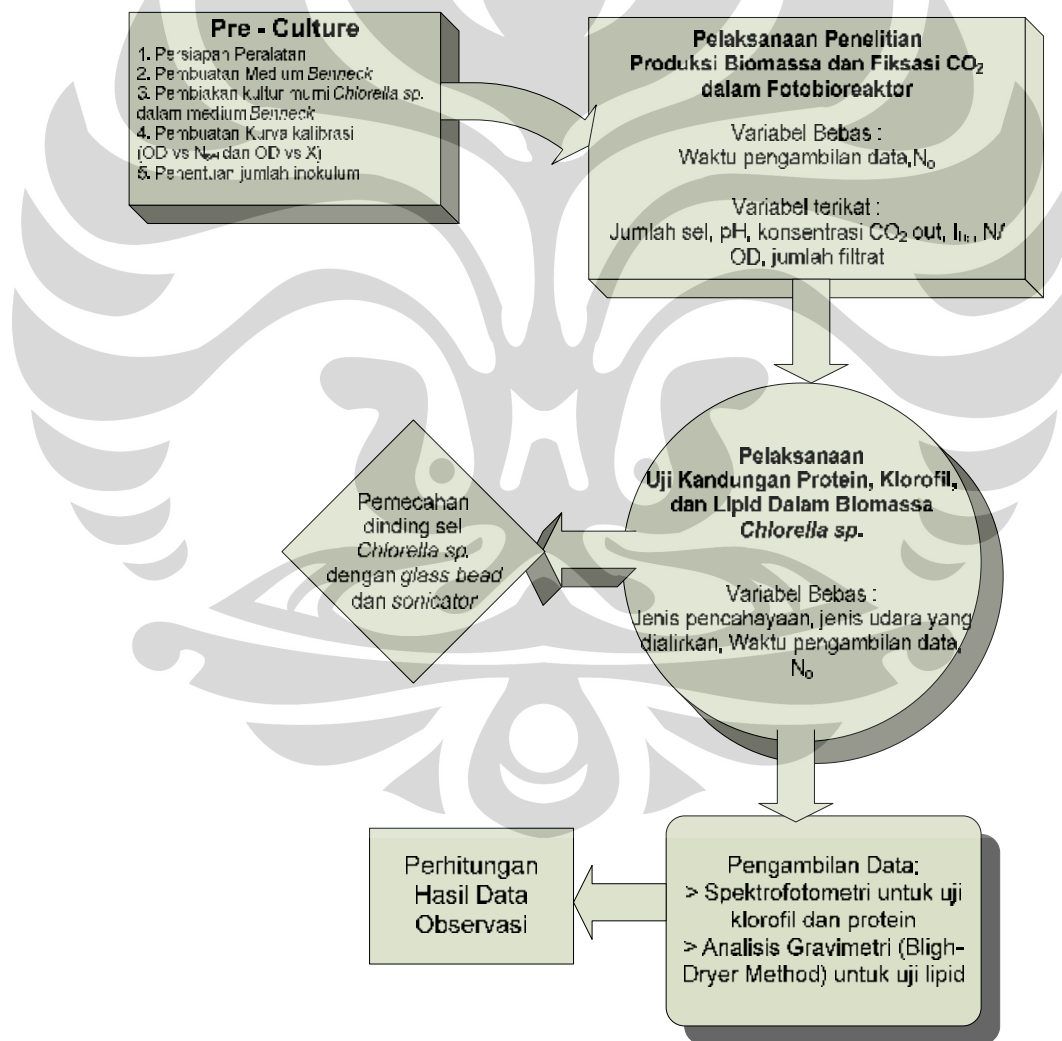
BAB III

METODE PENELITIAN

Bab metode penelitian akan membahas mengenai diagram alir penelitian, alat dan bahan yang digunakan, variabel penelitian, prosedur, data hasil observasi, serta beberapa metode perhitungan yang akan digunakan dalam penelitian.

3.1 DIAGRAM ALIR PENELITIAN

Adapun alur penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada diagram alir berikut:



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

Langkah *pre-culture* dilakukan untuk mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian. Dalam kultivasi mikroalga digunakan medium Benneck sebagai media tumbuh dan sekaligus sumber nutrisi bagi pertumbuhan *Chlorella*. Pertimbangan penggunaan medium *Benneck*, antara lain karena stock *Chlorella vulgaris* Buitenzorg murni yang didapat dengan menggunakan medium ini, juga mudah dibuat. Hal lain yang menjadi pertimbangan adalah kandungan nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *Chlorella vulgaris* Buitenzorg terdapat pada medium ini. Penggunaan medium ini juga mengacu pada hasil riset-riset sebelumnya yang menggunakan medium ini cukup baik untuk digunakan sebagai media hidup *Chlorella vulgaris* Buitenzorg.

Tujuan pembiakkan kultur murni *Chlorella vulgaris* Buitenzorg adalah untuk memperbanyak stock yang ada, selain itu juga untuk membuat *Chlorella vulgaris* Buitenzorg tersebut mampu beradaptasi dalam medium sebelum digunakan (fasa lag dapat dilewati lebih cepat).

Pembuatan kurva kalibrasi bertujuan untuk memudahkan perhitungan sampel yang memiliki jumlah sel cukup besar dan mengetahui berat kering dari suatu sampel dengan hanya mengukur absorbansinya (OD) menggunakan spektrofotometer cahaya tampak.

Penentuan kerapatan biomassa inokulum sangat penting dalam riset ini karena berkaitan dengan jumlah sel *Chlorella vulgaris* Buitenzorg yang terkandung dalam medium kultur. Kerapatan biomassa inokulum perlu diketahui agar dapat dipantau perubahan jumlahnya dari waktu ke waktu serta berkaitan pula dengan besar intensitas cahaya yang akan diberikan.

3.2 ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN

Adapun peralatan yang akan digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

1. Satu buah fotobioreaktor dengan volume total 18 dm³ (untuk reaktor tunggal) dan tiga buah fotobioreaktor dengan volume masing-masing 6 dm³ (untuk rangkaian seri); dengan bahan dasar kaca transparan yang dilengkapi dengan aliran input dan output udara yang mengandung CO₂.
2. Kompresor udara
3. Tabung CO₂ yang dilengkapi dengan *regulator*

4. Flowmeter udara dan flowmeter CO₂
5. Lampu Philips Halogen 43W/12V/50Hz (sebagai sumber pencahayaan) dan transformator 220 V primer/12 V sekunder
6. *T-septum* yang terbuat dari bahan gelas (sebagai titik indikator konsentrasi CO₂ input fotobioreaktor)
7. Peralatan *glassware* yang terdiri dari erlenmeyer 100 cm³ (sebagai *discharge gas* CO₂ dan udara output fotobioreaktor), pipet ukur 5 cm³, pipet *pasteur*, gelas ukur 10 cm³, 100 cm³ botol sampel sel, dan *beaker glass* 20 cm³ dan 100 cm³
8. Selang silikon dan selang plastik (sebagai rangkaian peralatan dan konektor rangkaian)
9. *Unit Gas Chromatography TCD Shimadzu GC-8A* (untuk mengukur konsentrasi gas CO₂ input dan output fotobioreaktor), Recorder C-R6A Chromatograph (untuk mendapatkan printout dari hasil GC), serta tabung gas (carrier gas) Argon.
10. *Syringe 1001 RT Hamilton* 1 cm³ (*inlet-outlet*) (untuk mengambil sampel dari input dan output CO₂)
11. *Set Lightmeter Lxtron LX-103* (sebagai penghitung kekuatan intensitas cahaya, dengan satuan *Lx* ataupun *Foot-Candle*)
12. *pH meter HANNA Model HI 8014* dengan larutan buffer 4 dan 7
13. Lemari kerja *ultraviolet* (sebagai transfer box)
14. Lemari reaktor terbuat dari kaca dan kotak kayu (sebagai tempat *running* fotobioreaktor)
15. *Oven* (untuk sterilisasi alat dan mengeringkan sel *Chlorella*)
16. *Spectro UV-VIS RS Spectrometre, LaboMed. Inc* (untuk menghitung OD/absorbansi)
17. *Centrifuge* (untuk memisahkan sel *Chlorella vulgaris* dari mediumnya)
18. *Glass beads* (untuk membantu pemecahan dinding sel *Chlorella sp.*)
19. *Sonicator* untuk memecah dinding sel *Chlorella sp.*

Sedangkan bahan penelitian yang digunakan adalah :

1. Starter mikroalga hijau *Chlorella vulgaris* dengan usia ± 60 jam yang telah dihitung sel awalnya (inokulum) dengan menggunakan spektrofotometer pada 600 nm.
2. KH_2PO_4 , MgSO_4 , NaNO_3 , FeCl_3 untuk membuat medium Benneck
3. KI (untuk membilas *probe* pH meter)
4. Aquadest (sebagai bahan dasar medium dan mencuci alat seperti gelas, pipet ukur, dan lain-lain)
5. Alkohol 70% (untuk mencuci alat/sterilisasi dan mencegah kontaminasi)
6. Acetone 80% (untuk ekstraksi klorofil)
7. Na_2CO_3 , NaK-Tartrate, CuSO_4 , NaOH, BSA 1%, Folin Phenol (untuk uji protein)
8. Chloroform dan Methanol (untuk ekstraksi lipid)

3.3 VARIABEL PENELITIAN

3.3.1 VARIABEL TETAP

Variabel tetap dalam penelitian ini adalah kecepatan superfisial CO_2 dan jenis pencahayaan yang digunakan.

3.3.2 VARIABEL BEBAS

Variabel ini merupakan variabel yang diset pada suatu harga tertentu. Variabel bebas pada penelitian ini adalah waktu pengambilan data (t) dan jumlah sel awal (N_0).

3.3.3 VARIABEL TERIKAT

Komposisi protein, asam amino, korofil, dan asam lemak jenuh dalam sampel biomassa *Chlorella sp.* (dalam miligram per mililiter).

3.4 PROSEDUR PENELITIAN

3.4.1 PERSIAPAN PERALATAN DAN MEDIUM

Tahap ini meliputi sterilisasi peralatan gelas dan plastik yang akan digunakan, penyusunan rangkaian peralatan, serta pembuatan medium Benneck.

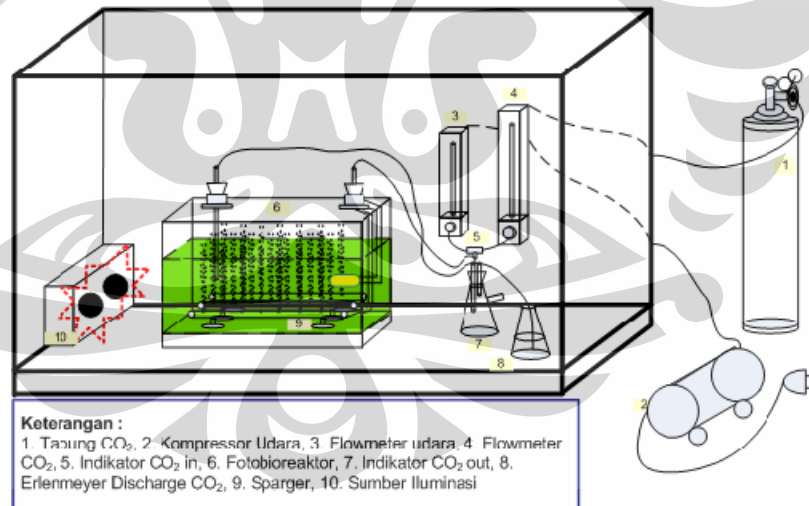
3.4.1.1 Pembuatan Rangkaian Peralatan

Peralatan riset dirangkai dalam suatu lemari kaca (*transfer box*) untuk melindungi reaktor dari kontaminasi. Reaktor yang digunakan

berukuran 18 L. Tiap reaktor yang digunakan dihitung nilai α_{kaca} -nya sebagai fungsi dari intensitas. Nilai α_{kaca} ini digunakan untuk mengetahui hambatan cahaya dari tiap reaktor dikarenakan ukuran dan tebal kaca yang berbeda-beda sehingga dalam perhitungan dapat diketahui jumlah cahaya yang digunakan mikroalga untuk pertumbuhannya dengan tepat.

Untuk penghubung rangkaian digunakan selang silikon dan selang plastik. Pada tiap sambungan selang dilapisi dengan selotip pipa untuk memastikan tidak ada sambungan yang bocor sekaligus mencegah kontaminan masuk ke dalam rangkaian.

Lemari reaktor yang dibuat memiliki kapasitas 1 reaktor sehingga dalam sekali running, diperlukan 2 lemari. Kalibrasi flowmeter juga dilakukan agar dapat diketahui dengan tepat skala dari masing-masing flowmeter. Hal ini penting karena CO₂ sebagai carbon source yang akan dialirkan harus selalu dijaga konstan pada konsentrasi 10% dari laju alir udara total.



Gambar 3.2 Susunan Rangkaian Peralatan Running Fotobioreaktor

3.4.1.2 Sterilisasi Peralatan

Sebelum digunakan, seluruh peralatan untuk riset yang akan bersentuhan langsung dengan *Chlorella* disterilisasi terlebih dahulu agar tidak terkontaminasi bakteri pengganggu yang dapat

menghambat/mengganggu pertumbuhan *Chlorella*. Langkah-langkah sterilisasi alat :

1. Pencucian Alat

Peralatan yang digunakan dicuci terlebih dahulu dengan air dan sabun, kemudian dibilas dengan air sampai tidak terdapat sisa sabun lagi pada peralatan.

2. Pengeringan

Peralatan yang telah dicuci kemudian dikeringkan dengan menggunakan tissue kering atau dengan kompressor udara. Semua peralatan kaca yang memiliki rongga kemudian ditutup dengan aluminium foil dan plastik untuk mencegah masuknya kontaminan setelah disterilisasi.

3. Sterilisasi

Peralatan dari kaca/logam disterilisasi menggunakan oven dengan suhu 120°C selama ± 1 jam sedangkan peralatan dari plastik atau berdimensi besar cukup direndam dalam alkohol 70% selama ± 5 menit dan direndam lagi sebelum dipakai.

4. Penyimpanan

Peralatan kaca/logam dan peralatan dari plastik yang telah disterilisasi selanjutnya disimpan dalam lemari penyimpanan kedap udara yang dilengkapi dengan lampu UV.

Hal lain yang perlu diperhatikan adalah kondisi lemari kerja dan transfer box juga harus bersih dan steril. Sterilisasi dilakukan dengan menyeka bagian dalam transfer box terlebih dahulu, kemudian menyemprotkan alkohol 70% dan diratakan dengan lap/tisu kering dan bersih. Lemari penyimpanan alat dan transfer box juga harus menggunakan lampu UV untuk mencegah pertumbuhan kuman dan dimatikan saat akan digunakan untuk kerja. Dan yang tidak kalah

penting yaitu tangan praktikan juga harus selalu bersih, dicuci terlebih dahulu dan dilumuri spray alkohol 70% sebelum mulai bekerja atau mengambil data.

3.4.1.3 Pembuatan Medium Benneck

Medium yang digunakan sebagai medium kultur media pertumbuhan *Chlorella* dalam riset ini adalah medium Benneck. Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat medium Benneck ini yaitu :

Tabel 3.1 Bahan Medium Benneck

Bahan	(mg/dm ³ aquadest)
KH ₂ PO ₄	100
MgSO ₄ ·7H ₂ O	200
NaNO ₃	500
FeCl ₃	3-5

Prosedur pembuatan 1 dm³ medium :

1. Merebus air akuades hingga mendidih
2. Menyiapkan bahan-bahan di atas : 100 mg MgSO₄, 200 mg KH₂PO₄, 500 mg NaNO₃, 3-5mg FeCl₃ dan menempatkannya dalam glass beaker 1 dm³.
3. Bahan-bahan tersebut, kecuali FeCl₃ kemudian dilarutkan dengan akuades panas. Kemudian ditambahkan FeCl₃ dan ditutup kembali dengan aluminium foil dan plastik serta dikencangkan dengan karet gelang.
4. Medium yang telah steril dan dingin dapat ditempatkan pada botol-botol steril dan disimpan dalam lemari yang telah disterilisasi dengan UV atau lemari pendingin bila tidak langsung digunakan. Apabila terdapat endapan pada dasar medium, harus dipisahkan terlebih dahulu sebelum dipindahkan kedalam botol penyimpanan (stock medium).

3.4.2 PEMBIAKAN KULTUR CHLORELLA VULGARIS BUITENZORG DALAM MEDIUM BENNECK

Kultur murni yang didapat harus dibiakkan lagi sebelum dapat digunakan dalam riset. Cara pembiakan medium kultur murni :

1. Menyiapkan medium serta peralatan pembiakan (wadah, selang udara, tutup wadah) yang telah disterilkan terlebih dahulu.
2. Stock murni *Chlorella vulgaris* Buitenzorg dimasukkan ke dalam wadah steril dan dicampur dengan medium Benneck yang telah steril. Perbandingan antara jumlah stock *Chlorella* dengan medium dapat diatur sesuai kebutuhan riset. Pindahkan ini harus dijaga steril, dilakukan dalam transfer box, setelah lingkungan disterilkan dengan alkohol 70% dan menggunakan api bunsen.
3. Lalu medium kultur tersebut dipindahkan ke dalam fotobioreaktor pembiakkan dan di-*bubbling* dengan menggunakan kompresor udara. Pada tahap ini juga harus diberikan cahaya namun cukup dengan intensitas kecil $\pm 1,000$ lx.
4. Pembiakan dapat dilakukan selama satu minggu atau lebih bila bertujuan untuk memperbanyak stock yang ada, tetapi jika hanya untuk melewati lag time dapat dilakukan selama 2-3 hari atau ± 60 jam, tergantung pertumbuhan jumlah selnya.

3.4.3 PEMBUATAN KURVA KALIBRASI OD VS N_{SEL} DAN OD VS X

Pembuatan kurva kalibrasi ini dilakukan pada panjang gelombang 600 atau 680 nm. Hal ini dikarenakan pada panjang gelombang ini, sel *Chlorella vulgaris* dapat terabsorbansi.

1. Kurva Kalibrasi OD vs X

Kurva ini dibuat dengan cara mengeringkan sampel yang telah terhitung OD-nya. Proses pengeringan ini dilakukan dengan *sentrifuge* sampel, kemudian memisahkan endapan sel *Chlorella* dari mediumnya, lalu dicuci bersih dengan aquadest dan di-*sentrifuge* kembali. Hasil *sentrifuge* terakhir dipanaskan dalam oven bersuhu

110⁰C hingga benar-benar kering (jangan sampai gosong) kemudian ditimbang.

Catatan : Data diambil sebanyak 3 kali untuk mengetahui persen kesalahan yang ditunjukkan oleh error bars pada kurva kalibrasi.

2. Kurva kalibrasi CO₂ (Volume vs Area)

Kurva ini dibuat dengan cara menyuntikkan gas CO₂ dengan volume berbeda-beda ke dalam Gas Chromatography (GC). Volume CO₂ yang disuntikkan berkisar dari 0,1 µl sampai 1 µl. Hasil print out GC yang dilihat adalah peak areanya.

3. Kurva kalibrasi udara (Volume vs Area)

Kurva ini dibuat dengan cara yang hampir sama dengan membuat kurva kalibrasi CO₂ yaitu dengan menyuntikkan udara dengan volume berbeda-beda ke dalam Gas Chromatography. Volume udara yang disuntikkan adalah dari 0,1 µl sampai 1 µl. Hasil print out GC yang dilihat adalah peak areanya.

3.4.4 PENENTUAN KERAPATAN BIOMASSA INOKULUM CHLORELLA VULGARIS BUITENZORG

Langkah-langkah perhitungan untuk menentukan kerapatan biomassa inokulum:

1. Homogenisasi yang dilakukan dengan pengadukan medium kultur sampai semua endapan *Chlorella vulgaris* Buitenzorg yang ada merata di dalamnya.
2. Pengambilan sejumlah volume inoculum stock yang teraduk merata dan memasukkannya ke dalam glass cuvette (jika menggunakan spektrofotometer).
3. Penghitungan kerapatan biomassa dapat dilakukan dengan alat bantu spektrofotometer, dengan catatan untuk perhitungan menggunakan spektrofotometer telah dibuat kurva kalibrasi OD vs X_{sel}.

3.4.5 PELAKSANAAN KEGIATAN PENELITIAN

Riset yang dilakukan adalah pemberian perlakuan intensitas cahaya (kontinyu dan alterasi) pada jumlah inokulum $\pm 1,000,000$ sel/cm³ dengan intensitas cahaya optimum ($I_{\text{imax,opt}}$) selama masa pertumbuhan, perlakuan filtrasi aliran sirkulasi kultur media, serta kombinasi antara keduanya.

Eksperimen dengan perlakuan filtrasi aliran sirkulasi kultur media ditujukan untuk mengurangi *self shading* dengan menahan sebagian produk biomassa dalam filter aliran sirkulasi media. Dalam eksperimen ini dilakukan observasi pengaruh filtrasi terhadap besarnya perolehan biomassa pada budidaya *Chlorella vulgaris* Buitenzorg khususnya pada serial reaktor.

Setiap awal perlakuan riset selalu dilakukan secara aseptik dengan menggunakan bunsen dan alkohol 70% untuk menghindari dan mengurangi efek kontaminasi. Selain itu, pengambilan sampel pengujian juga diusahakan berada dalam ruang tertutup. Hal ini sangat penting karena efek kontaminasi dapat menghambat atau mengganggu pola pertumbuhan mikroalga tersebut.

3.4.6 PENGUJIAN KANDUNGAN BIOMASSA CHLORELLA VULGARIS BUITENZORG

Adapun data yang diambil selama proses percobaan ini, adalah:

1. pH kultur media dalam fotobioreaktor
2. Kerapatan biomassa dalam kultur media dalam fotobioreaktor (g/L)
3. Kerapatan biomassa yang terperangkap dalam filter (g/L), khusus untuk perlakuan filtrasi.
4. Intensitas cahaya yang masuk dan keluar dari fotobioreaktor (kLux)
5. Besarnya kandungan protein, klorofil, dan lipid dalam biomassa.

Data 1-4 digunakan untuk mengkaji faktor-faktor yang mempengaruhi pembentukan nutrisi tertentu dalam proses produksi biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg. Keempat data tersebut diatas diambil setiap interval waktu tertentu, misalnya tiap 4-6 jam. Sedangkan sampel untuk pengujian kandungan biomassa *Chlorella sp.* diambil sebanyak 100mL setiap 2-3 hari. Hal ini bertujuan untuk memperoleh

peningkatan kandungan nutrisi yang cukup signifikan tanpa mengganggu proses pertumbuhannya.

Langkah-langkah pengambilan data :

1. Sampel diambil dari kultur media dalam reaktor sebanyak $\pm 20\text{mL}$ untuk diukur kerapatan biomassa dalam kultur media melalui data absorbansi (X/OD) bersamaan dengan mengambil data keasaman pH dan intensitas cahaya (I_0 dan I_b).
2. Dari 100mL sampel biomassa yang diambil, 10mL digunakan untuk uji klorofil, 10 mL digunakan untuk uji protein dan 40 mL digunakan untuk uji lipid. Sisa sampel digunakan sebagai cadangan sekaligus validasi data.
3. Untuk menguji kandungan protein dan klorofil, dinding sel *Chlorella sp.* harus dipecahkan terlebih dahulu, karena sifat dinding sel yang kuat menyebabkan protein dan klorofil terlindung didalamnya. Prosedur pemecahan dinding sel adalah:
 - Sepuluh mililiter sampel dan medium disentrifugasi hingga diperoleh endapan. Endapan tersebut dicuci dengan aquades steril sebanyak 2 ml, dan disentrifugasi kembali.
 - Endapan yang terakhir diperoleh ditambah pelarut (aseton 80% untuk uji klorofil; serta air untuk uji protein) dan *glass beads* dengan perbandingan 1:1.
 - Larutan tersebut kemudian dihomogenkan menggunakan vorteks dan sonicator.

Penggunaan sonicator bertujuan untuk memecah dinding sel *Chlorella sp.* dengan menggunakan gelombang ultrasonik. Tumbukan antar dinding sel *Chlorella sp.* akan dipercepat dengan menggunakan glass bead.

4. Prosedur uji klorofil:

Untuk mengetahui besarnya kandungan klorofil dalam sampel, sampel yang telah homogen diaduk selama 1-2 menit dengan menggunakan vorteks, kemudian disentrifugasi kembali. Sentrifugasi dilakukan dengan

kecepatan 3000 rpm dalam waktu 15 menit. Supernatan yang diperoleh dipindahkan kedalam *cuvette* untuk diukur nilai absorbansinya. (Greenberg dkk.)

5. Analisis kandungan protein dilakukan dengan metode Lowry. Dalam analisis tersebut, perlu dibuat kurva standard kalibrasi dan persamaannya (dalam $Y=a X + b$). Adapun prosedur pelaksanaan uji protein adalah:

- Membuat larutan reagen. Metode Lowry menggunakan campuran 4 macam larutan untuk uji protein; yakni :

a) **Larutan A** : 1 ml CuSO_4 1% dalam H_2O

CuSO_4 1% = 0.02 gram dalam 2 ml

b) **Larutan B** : 200 ml Na_2CO_3 2% dalam 0.1 N NaOH

Na_2CO_3 2% = 4 gram dalam 200 ml NaOH 0,1N

c) **Larutan C**: 1 ml NaK-Tartrate 2% dalam H_2O

NaK-tartrate 2% = 0.04 gram dalam 2 ml

d) **Larutan D**: BSA 0.1 mg/ml (1% dalam 100 ml)

$\rightarrow 1\% = 1\text{ml}/100\text{ml} = 10\text{mg/ml}$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$10 \cdot V_1 = 0,1 \cdot 100$$

$$V_1 = 1\text{ ml}$$

- Larutan CuSO_4 alkalin dibuat dengan memasukkan 1 ml larutan C (*sodium tartrate*) kedalam labu erlenmeyer 100ml, menambahkan 1ml larutan A dan kemudian mengaduk dengan stirrer. Selama pengadukan, ditambahkan 98 ml larutan B. Prosedur selanjutnya dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3.2 Prosedur Uji Protein

	blank	Larutan standar					Sampel		
Volume (ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Akuades	1.0	0.9	0.8	0.6	0.4	0.2	0.7	0.7	0.4
Standar BSA	-	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	-	-	-
Sampel*							0.3	0.3	0.6
Lar CuSO ₄ alkalin	5.0								
Dicampur sempurna dan tunggu 10 menit									
Lar Folin Phenol 2N	0.25								
Campur sempurna dan tunggu 30 menit (hingga berubah warna)									
Baca pada absorbansi 540 nm									

* sampel yang telah disonikasi dan dihomogenkan

6. Analisis kandungan lipid dilakukan dengan metode Bligh-Dryer, dengan prinsip gravimetri. Metode ini menggunakan pelarut polar dan non polar secara berurutan untuk memastikan seluruh lipid larut dan dapat terukur. Pelarut yang digunakan adalah methanol, air, dan chloroform dengan perbandingan volume 2:1:2.

Adapun prosedur pelaksanaan uji lipid adalah sebagai berikut:

- Sebanyak 20 mL sampel di-sentrifuge hingga terbentuk endapan. Endapan kemudian dicampurkan kembali dengan 0,4 mL akuades.
- Menambahkan 1 mL methanol dan 0,5 mL chloroform, sehingga perbandingan methanol dan chloroform menjadi 2:1.
- Campuran kemudian dihomogenkan dengan table shaker selama 1 malam.
- Menambahkan 0,5 mL chloroform dan 0,5 mL air, sehingga perbandingan methanol, chloroform dan air menjadi 2:2:1.
- Campuran disentrifuge hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan methanol-air dan lapisan lipid-chloroform.
- Menimbang erlenmeyer kosong dan mengekstraksi chloroform dengan *Pasteur pipette* dengan hati-hati agar campurn methanol tidak terikut.
- Menambahkan 1 mL chloroform untuk ekstrasi kedua, dan men-sentrifuge kembali.

- Menguapkan chloroform pada suhu ruang (1 malam) ataupun dalam oven (105°C, 1 jam), menimbang Erlenmeyer kembali. Selisih berat merupakan massa total lipid yang terekstrak (gr/mL)
- Untuk menghitung massa biomassa *Chlorella* sp. yang terbentuk, 20 mL sampel di-sentrifuge hingga terbentuk endapan. Endapan kemudian dicampurkan kembali dengan 2 mL akuades. Kemudian capuran diletakkan dalam cawan petri yang telah ditimbang sebelumnya, dan dioven pada temperature 70-80°C selama 1 jam. Endapan kering yang terbentuk kemudian ditimbang kembali. Selisih berat merupakan massa biomassa (gr/mL)

3.5 PENGOLAHAN DATA PENELITIAN

Variabel penelitian yang diperoleh yaitu OD₆₈₀, pH, y_{CO2}, I_b, serta massa nutrisi akan diolah menggunakan beberapa metode perhitungan, antara lain:

3.5.1 PENGOLAHAN DATA OD₆₈₀

Nilai OD yang didapatkan dari hasil penelitian akan dikonversi menjadi nilai N sel dan X di mana N sel adalah jumlah sel *Chlorella vulgaris* yang terdapat di dalam satu satuan volume, sedangkan berat kering biomassa (X) adalah berat dari *Chlorella vulgaris* di luar medium hidupnya. Jumlahnya dapat dihitung secara langsung dengan menggunakan data absorbansi pada 680 nm dan mengkorelasikannya dengan menggunakan kurva kalibrasi OD₆₈₀ vs N sel dan OD₆₈₀ vs X yang telah dibuat pada prosedur yang lalu. Dari pengolahan ini dapat dibuat kurva pertumbuhan X vs t.

Selanjutnya dibuat model pendekatan untuk mendapatkan suatu persamaan yang menyatakan hubungan antara X dengan t atau X = f(t). Persamaan ini digunakan untuk menghitung nilai laju pertumbuhan spesifik (μ) yaitu laju pertumbuhan produksi biomassa pada fasa logaritmik, yang merupakan waktu yang diperlukan untuk sekali pembelahan sel. Pada pengolahan ini model yang digunakan adalah persamaan kinetika Monod, yaitu :

$$\mu = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} \quad \text{atau} \quad \mu = \frac{1}{N} \cdot \frac{dN}{dt} \quad (\text{Schugerl dan Bellgardt, 2000})$$

dimana:

μ = laju pertumbuhan spesifik (h^{-1})

X = berat kering biomassa (g/dm^3)

N = jumlah sel (sel/cm^3)

T = waktu (h)

3.5.2 PENGOLAHAN DATA ABSORBANSI KLOROFIL ($\lambda=645nm$ DAN $\lambda=663nm$)

Data absorbansi yang diperoleh dari analisis klorofil digunakan untuk menghitung kadar klorofil dengan rumus Arnon (1949). Rumus tersebut adalah: (Meeks, 1974: 166)

$$\text{Total Chlorofil (mg / lt)} = 20,2 D_{645nm} + 8,02 D_{663nm}$$

$$\text{Chlorofil A (mg / lt)} = 12,7 D_{663nm} - 2,69 D_{645nm}$$

$$\text{Chlorofil B (mg / lt)} = 22,9 D_{645nm} - 4,64 D_{663nm}$$

3.5.3 PENGOLAHAN DATA ABSORBANSI PROTEIN PADA $\lambda=540 nm$

Data absorbansi yang diperoleh pada panjang gelombang 540 nm terdiri dari dua jenis, yakni data absorbansi untuk kurva standar dan data absorbansi untuk sampel yang diuji. Data absorbansi untuk kurva standar kemudian digunakan untuk membuat persamaan $Y = a \cdot x + b$. dimana nilai Y adalah besarnya absorbansi dalam nm dan x adalah konsentrasi protein dalam mg/mL.

3.5.4 PENGOLAHAN DATA EKSTRAKSI LIPID

Data lipid yang diperoleh merupakan gambaran besarnya massa lipid yang terekstrak dari biomassa. Sedangkan data biomassa yang diperoleh adalah besarnya massa kering biomassa (miligram) dalam 1 L kultur. Data ekstraksi lebih lanjut diolah menjadi persen lipid dengan membagi massa lipid dengan biomassa dan dikalikan dengan volume sampel yang digunakan dalam uji kandungan lipid tersebut.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini akan menjelaskan pelaksanaan penelitian, pengamatan dan pengambilan data, serta analisa hasil penelitian.

4.1 PEMBAHASAN UMUM

Pada penelitian uji komposisi biomassa dari mikroalga *Chlorella vulgaris* Buitenzorg ini, pembahasan mengenai hasil penelitian ditekankan pada pengaruh variasi kondisi operasi terhadap kandungan biomassa *Chlorella sp.* yang dibiakkan dalam fotobioreaktor. Adapun variasi kondisi operasi yang akan diamati adalah perubahan metode pencahayaan dan jumlah serta susunan fotobioreaktor yang digunakan. Pemilihan variasi kondisi operasi ini didasarkan pada hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya dengan volume fotobioreaktor yang lebih kecil. Metode pencahayaan penting diamati karena jumlah intensitas cahaya yang masuk sangat mempengaruhi proses fotosintesis yang terjadi dalam sel *Chlorella sp.* yang nantinya juga mempengaruhi jumlah sel yang dihasilkan. Dalam penelitian ini, metode pencahayaan yang digunakan adalah pencahayaan kontinu dengan intensitas tetap dan alterasi (dilakukan oleh Isnaeni dalam skripsinya “Penentuan Kecepatan Superfisial Untuk Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung Skala Menengah”, 2009). Dari hasil penelitian sebelumnya, pertumbuhan sel *Chlorella sp.* yang diberi pencahayaan alterasi menghasilkan biomassa yang lebih besar dibandingkan dengan pencahayaan kontinu. Susunan fotobioreaktor juga turut mempengaruhi proses metabolisme sel, karena pertumbuhan sel *Chlorella sp.* akan bervariasi tergantung jumlah dan susunan fotobioreaktor yang digunakan. Penelitian ini membandingkan jumlah komposisi biomassa *Chlorella sp.* yang dibiakkan dalam fotobioreaktor tunggal dan serial (dilakukan oleh Nissa Gema Nusantari dalam skripsinya “Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg Dengan Metode Pencahayaan Alterasi Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung Susun Seri Skala Pilot”, 2009). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa susunan serial fotobioreaktor tidak hanya mampu mereduksi jumlah CO₂ yang

dialirkan, tetapi juga dapat menghasilkan biomassa *Chlorella sp.* hingga 2 kali lipat dari fotobioreaktor tunggal.

Dari penelitian ini, hasil pertumbuhan biomassa *Chlorella sp.* yang diharapkan adalah berdasarkan kuantitas dan kualitasnya. Sisi kuantitas dapat dilihat dari kurva pertumbuhan jumlah sel vs. waktu serta berat kering yang dihasilkan vs. waktu, sedangkan sisi kualitas diperoleh dari uji komposisi dalam biomassa.

Komposisi nutrisi yang akan diuji adalah komposisi biomassa mayoritas dalam sel *Chlorella sp.*, yakni klorofil, protein, dan lipid. Besarnya kandungan klorofil dalam biomassa dapat turut memberi gambaran mengenai pertumbuhan sel *Chlorella sp.*, karena semakin banyak jumlah klorofil berarti proses fotosintesis dalam sel semakin optimal sehingga turut mempercepat pertumbuhan sel. Besarnya kandungan protein dan lipid dalam biomassa nantinya akan dapat memberi gambaran pemanfaatan lebih lanjut dari biomassa *Chlorella sp.* yang dihasilkan, yakni sebagai sumber protein atau sebagai bahan baku *biofuel*.

Pembiakan strain *Chlorella vulgaris* Buitenzorg dilakukan dalam fotobioreaktor kolom gelembung tembus cahaya berskala menengah dengan volume 18 liter dan dimensi 38.5 x 10 x 60 cm³. Desain reaktor tersebut dipilih karena berdasarkan penelitian sebelumnya reaktor ini mampu mengurangi terjadinya *self shading*; peristiwa bertumpuknya sel *Chlorella* akibat pertumbuhan biomassa semakin padat yang mengakibatkan cahaya sulit mencapai seluruh sel. Penggunaan kolom gelembung cahaya sesuai untuk budidaya mikroorganisme fotosintesis karena maksimalisasi peningkatan produksi biomassa dan pancaran cahaya yang simultan dapat dilakukan, sehingga mampu memberikan laju produksi volumetric yang tinggi pula (Wijanarko, 2006).

Tahap awal dari penelitian adalah mempersiapkan alat yang akan digunakan dalam kultivasi dan pembuatan medium *Benneck* sebagai media hidup mikroalga. Medium *Benneck* dipilih karena mengandung senyawa makro yang mampu mencukupi kebutuhan nutrisi yang diperlukan bagi perkembangan *Chlorella vulgaris* yang optimal. Kultivasi mikroalga memerlukan kondisi lingkungan yang steril. Oleh karena itu harus dilakukan sterilisasi semua instrumen yang akan berkontak langsung dengan *Chlorella vulgaris*.

Tahapan penelitian berikutnya adalah pembuatan kurva kalibrasi OD_{600} vs N_{sel} dan OD_{600} vs X . Pembuatan kurva OD_{600} vs N_{sel} bertujuan untuk memudahkan penghitungan jumlah sel di dalam pembuatan inokulum awal dan selama masa kultivasi. Kurva kalibrasi OD_{600} vs X digunakan dalam pengukuran berat kering sel selama masa kultivasi. Panjang gelombang yang digunakan dalam pengukuran absorbansi adalah 600 nm karena absorbansi dari *Chlorella vulgaris* pada panjang gelombang ini paling tinggi jika dibandingkan pada panjang gelombang cahaya tampak yang lain.

Sebelum dilakukan kultivasi, dilakukan *pre-culture* dengan cara mengalirkan udara ke dalam reaktor dan diberikan cahaya dengan intensitas 1.000 lx selama 2–3 hari. Perlakuan ini dimaksudkan untuk memastikan bahwa mikroalga berada pada fase eksponensial dalam pertumbuhannya dan telah melewati fasa *lag*. Tujuan lain adalah untuk mengadaptasikan mikroalga *Chlorella sp.* pada kondisi operasi yang akan digunakan dalam penelitian. Proses tersebut dilakukan dengan intensitas penyinaran yang cukup dan aliran udara bebas.

Pada tahap kultivasi, nilai absorbansi dari *Chlorella vulgaris* diukur kembali dengan menggunakan *spektrofotometer*. Inokulum awal dari mikroalga *Chlorella vulgaris* dibuat dengan jumlah awal 1.000.000 sel/cm³. Jumlah ini dianggap ideal karena memiliki kepekatan yang rendah sehingga kompetisi penyerapan substrat pada awal kultivasi belum terlalu besar dan memungkinkan laju pertumbuhan sel yang tinggi. Berdasarkan kurva kalibrasi OD_{600} vs N_{sel} , maka inokulum ini memiliki absorbansi 0,219 pada panjang gelombang 600 nm. Pembuatan starter ini dilakukan dengan mengencerkan hasil *pre-culture* dengan medium *Benneck* hingga mencapai nilai absorbansi $\pm 0,219$. Selain itu, aliran gas CO₂ yang dialirkan memiliki konsentrasi sebesar 5%. Kecepatan superficial yang digunakan untuk kecepatan aliran udara masuk dalam reaktor adalah kecepatan superficial optimum, dalam hal ini adalah sebesar 6 L/menit.

Setelah menentukan kondisi operasi, sistem reaktor diusahakan berada pada kondisi tertutup agar proses fotosintesis berjalan dengan baik. Pengambilan data dilakukan setiap 4 jam mencakup OD_{sel} , pH, dan I_{back} . Data OD_{sel} digunakan untuk mengetahui profil pertumbuhan sel *Chlorella sp.* selama kultivasi, data pH

berfungsi mengukur kandungan HCO_3^- dalam kultur, sedangkan besarnya energi cahaya yang terkonversi dalam fotosintesis digunakan data I_0 dan I_{back} .

Pengambilan sampel untuk uji komposisi dilakukan setiap selang waktu 2 hari agar penambahan jumlah nutrisi yang diukur cukup signifikan namun tidak mengganggu proses pertumbuhan sel *Chlorella sp.* itu sendiri. Sebelum melakukan uji komposisi, sampel perlu disentrifuge terlebih dahulu untuk memisahkan biomassa dari mediumnya. Hal ini bertujuan untuk meminimalkan terjadinya kesalahan dalam pengujian akibat terukurnya medium. Pemecahan dinding sel perlu dilakukan dalam ekstraksi protein dan klorofil, karena keduanya terlindungi oleh dinding sel *Chlorella sp.* yang kuat.

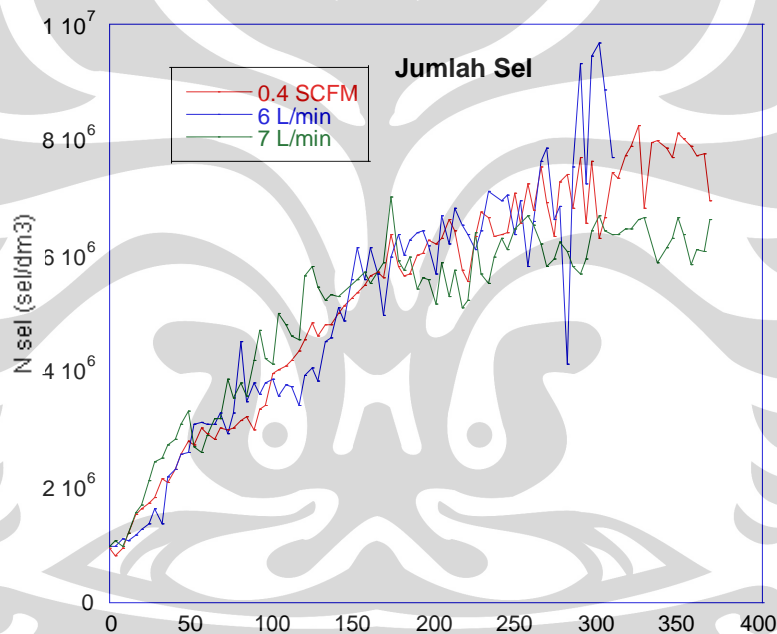
Pemecahan dinding sel dilakukan dengan metode sonikasi yang menggunakan prinsip getaran dari gelombang ultrasonik untuk memecah dinding selnya. Proses sonikasi juga dibantu dengan *glass bead* untuk mempercepat dan meningkatkan kemungkinan terjadinya tumbukan antar dinding sel. Pengujian klorofil dilakukan dengan ekstraksi menggunakan pelarut acetone, supernatan yang diperoleh kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 645 dan 663 nm. Pengujian kandungan protein dilakukan dengan menggunakan metode Lowry, dimana dibuat suatu kurva standar protein untuk mengukur kandungan protein dalam sampel. Metode Bligh-Dryer dengan prinsip gravimetri digunakan untuk mengukur besarnya kandungan lipid dalam biomassa. Uji lipid dilakukan dengan ekstraksi pelarut polar dan nonpolar; air, metanol dan chloroform.

Metode yang digunakan untuk ekstraksi nutrisi tersebut diatas pemanfaatannya hanya sebatas pengujian kadar saja. Jika akan diolah untuk pemanfaatan lebih lanjut, maka pengolahan biomassa dengan metode lain harus dilakukan; karena dalam pengujian ini digunakan pelarut yang tergolong berbahaya bagi kesehatan dan sulit dipisahkan dari biomassa. Metode umum untuk pemanfaatan biomassa *Chlorella sp.* adalah dengan mengeringkan hingga terbentuk biomassa kering dan kemudian dipress untuk pemanfaatan sebagai suplemen sumber protein atau dengan reaksi saponifikasi jika akan digunakan untuk pemanfaatan sumber *biofuel*.

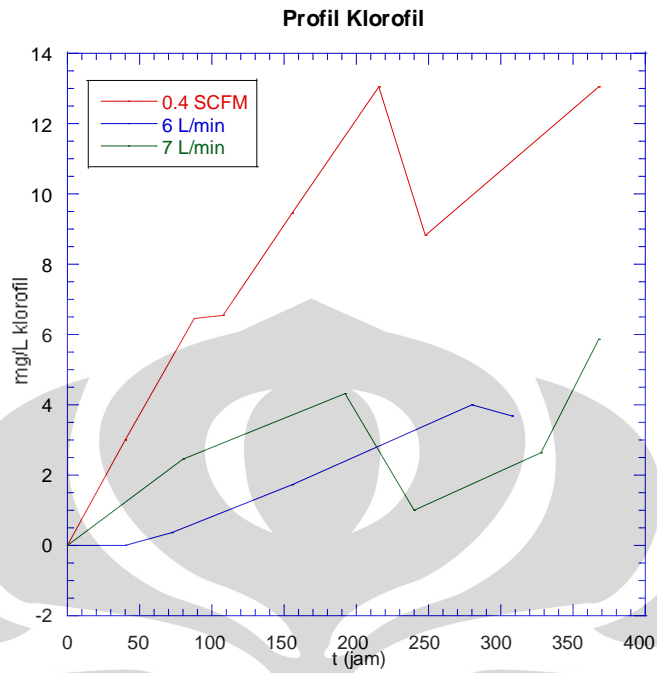
4.2 HASIL PENELITIAN

Data hasil pengamatan yang diperoleh dalam penelitian akan disajikan dalam dua bentuk, yakni data dalam bentuk angka dan data dalam bentuk grafik. Data dalam bentuk angka merupakan gambaran jumlah total mg/L protein dan klorofil serta persen massa lipid. Data tersebut akan dijelaskan pada bagian lampiran dalam akhir skripsi ini. Berikut adalah data perbandingan dalam bentuk grafik perbandingan antara kurva pertumbuhan sel *Chlorella sp.* dan hasil uji nutrisi pada waktu tertentu.

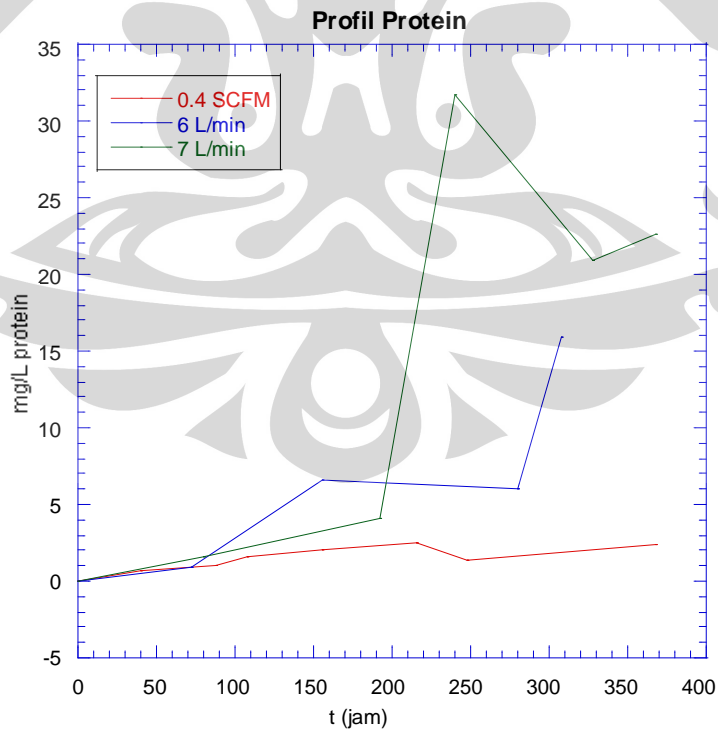
4.2.1 PERBANDINGAN DATA PERTUMBUHAN PADA UG YANG BERBEDA



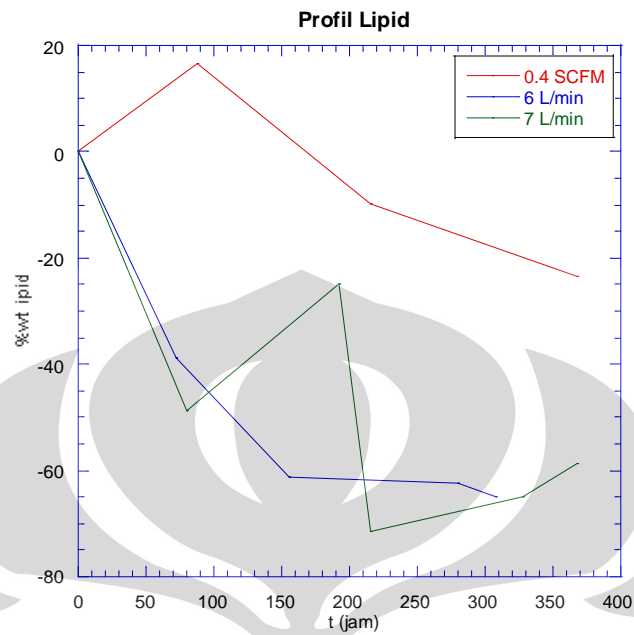
Gambar 4.1 Profil Pertumbuhan Jumlah Sel Pada Variasi kecepatan superficial



Gambar 4.2 Profil Produksi Klorofil dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi kecepatan superficial

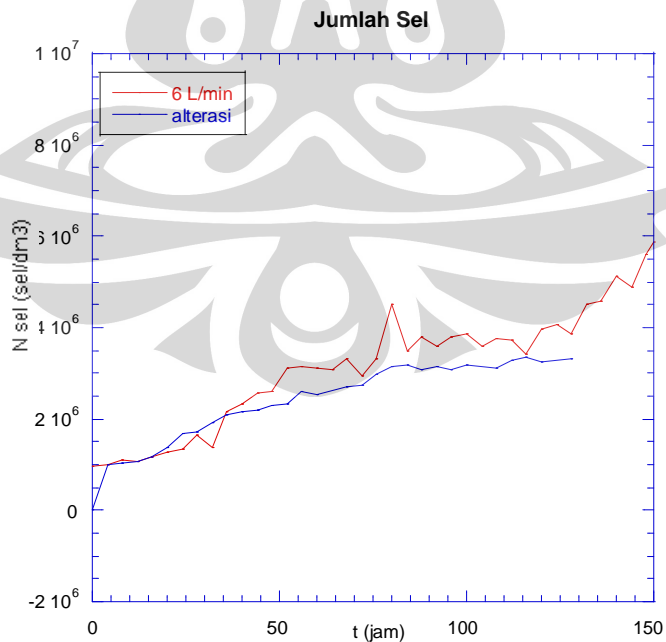


Gambar 4.3 Profil Produksi Protein dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi kecepatan superficial

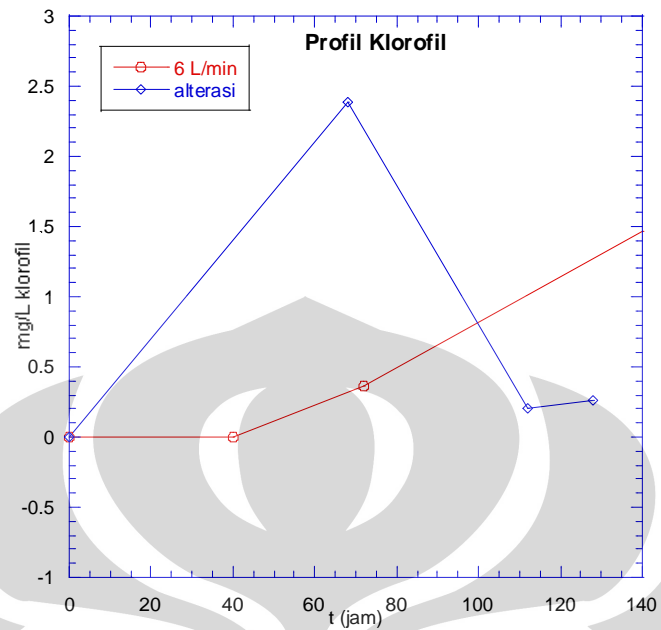


Gambar 4. 4 Profil Produksi Lipid dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi kecepatan superficial

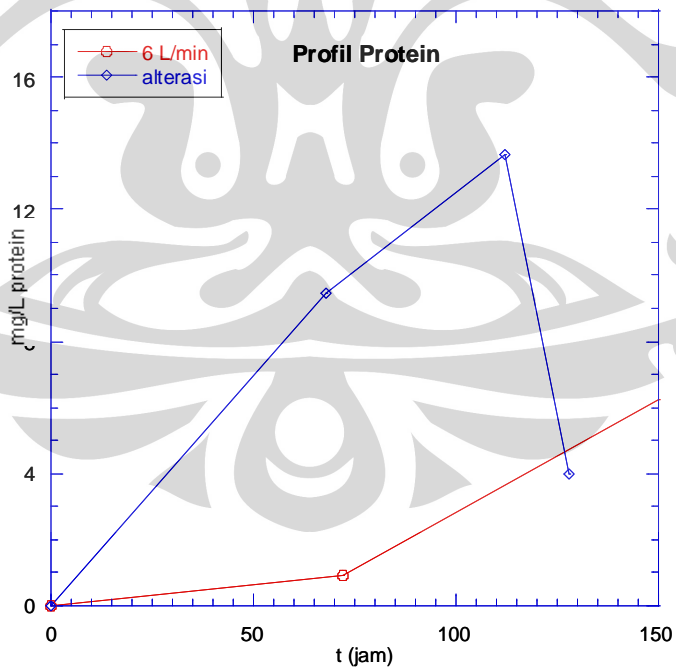
4.2.2 PERBANDINGAN DATA PERTUMBUHAN DAN KOMPOSISI PADA JENIS PENCAHAYAAN YANG BERBEDA



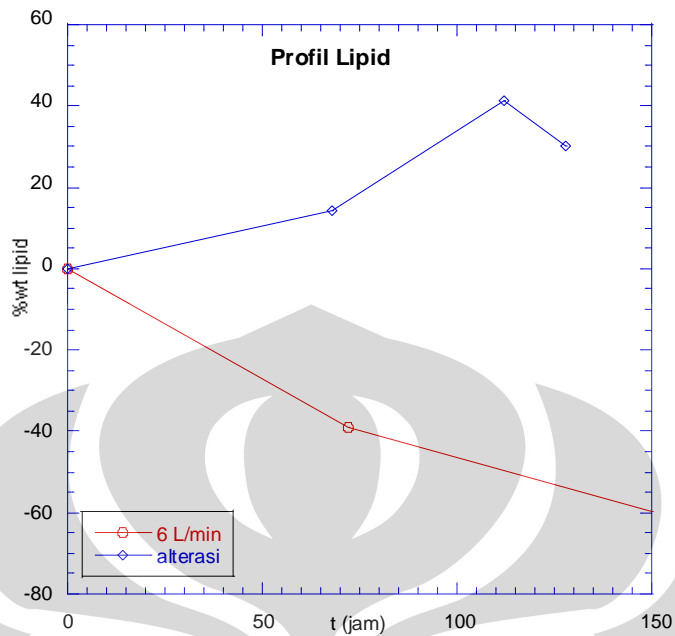
Gambar 4. 5 Profil Pertumbuhan Jumlah Sel Pada Variasi Jenis Pencahayaan



Gambar 4. 6 Profil Produksi Klorofil dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi jenis Pencahayaan

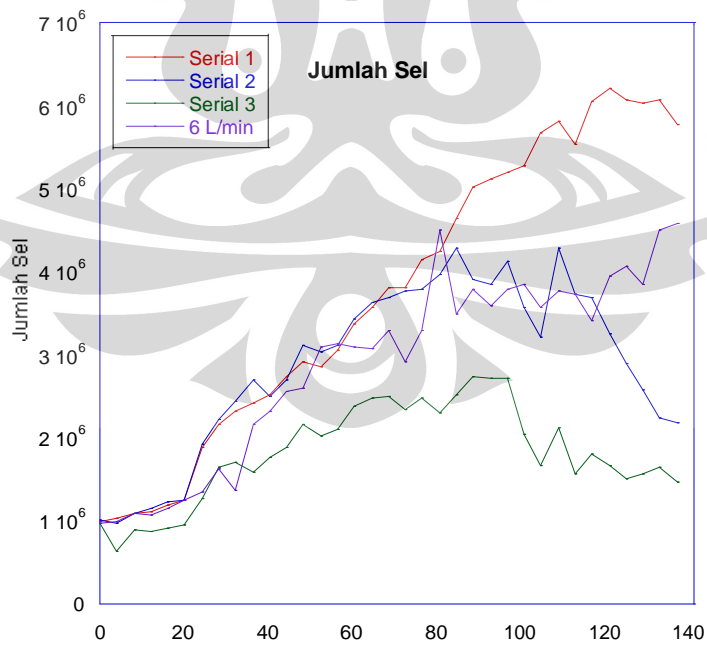


Gambar 4. 7 Profil Produksi Protein dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi jenis pencahayaan

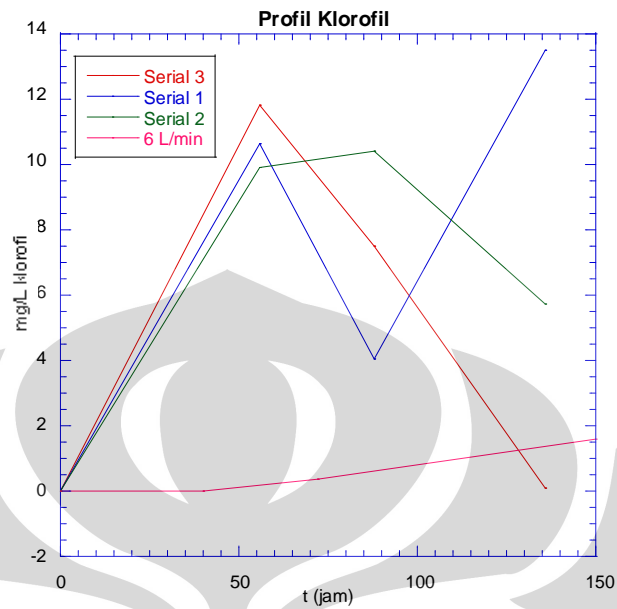


Gambar 4.8 Profil Produksi Lipid dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi jenis pencahayaan

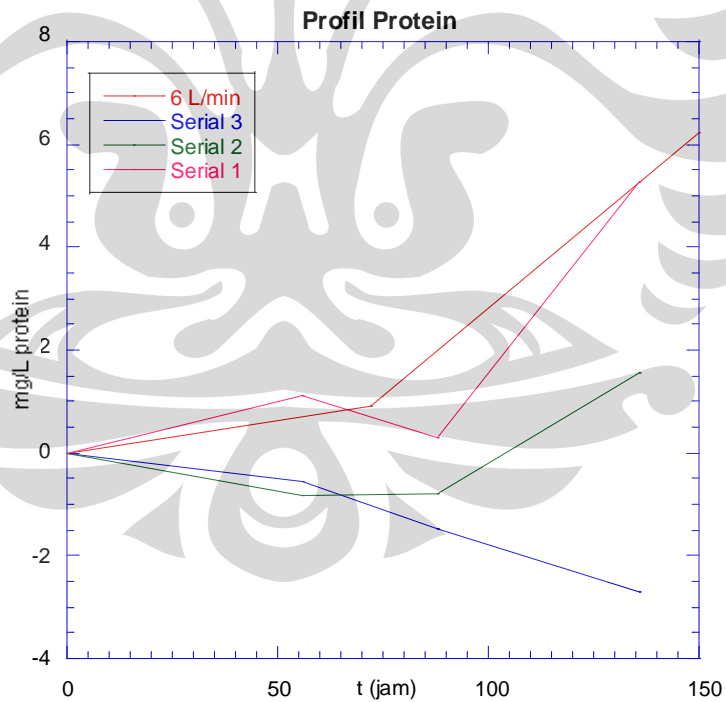
4.2.3 PERBANDINGAN DATA PERTUMBUHAN DAN KOMPOSISI PADA SUSUNAN FOTOBIOREAKTOR YANG BERBEDA



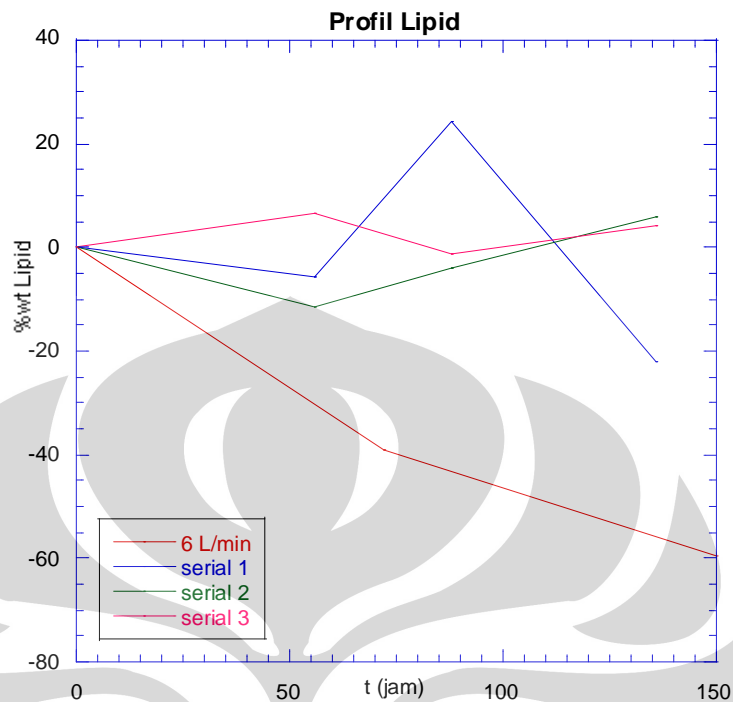
Gambar 4.9 Profil Pertumbuhan Jumlah Sel dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi susunan fotobioreaktor



Gambar 4.10 Profil Produksi Klorofil dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi susunan fotobioreaktor



Gambar 4.11 Profil Produksi Protein dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi susunan fotobioreaktor



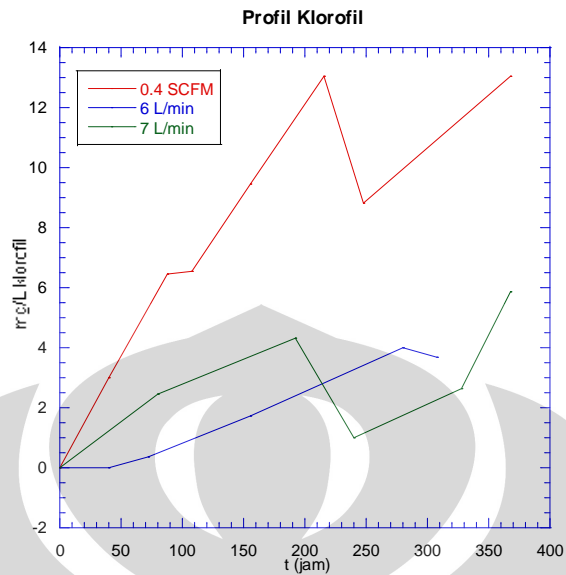
Gambar 4.12 Profil Produksi Lipid dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi susunan fotobioreaktor

4.3 PENGARUH KONDISI OPERASI PEMBIAKKAN CHLORELLA VULGARIS TERHADAP KOMPOSISI BIOMASSA YANG DIHASILKAN

Untuk mengetahui lebih jelas mengenai pengaruh variasi kondisi operasi terhadap komposisi biomassa yang dihasilkan, berikut akan diberikan penjelasan mengenai trend yang terbentuk serta perbandingan jumlah masing-masing nutrisi dalam biomassa *Chlorella vulgaris*.

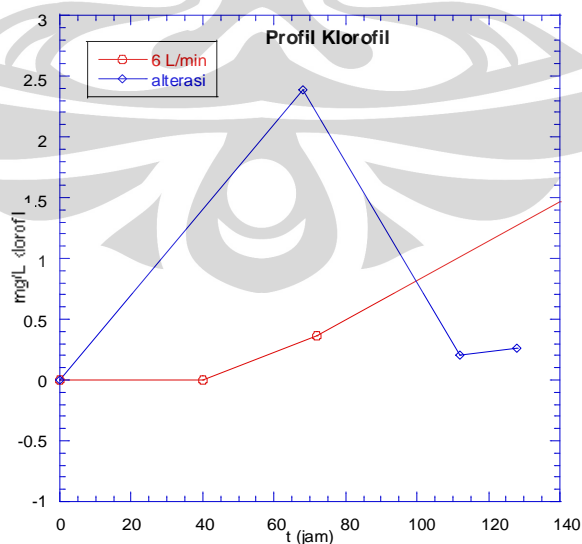
4.3.1 PENGARUH VARIASI KONDISI OPERASI TERHADAP KANDUNGAN KLOOROFIL DALAM BIOMASSA CHLORELLA VULGARIS

Pertumbuhan klorofil pada umumnya mengikuti *trend* pertumbuhan jumlah selnya, karena semakin banyak sel yang dihasilkan, maka semakin banyak pula klorofil yang dihasilkan.



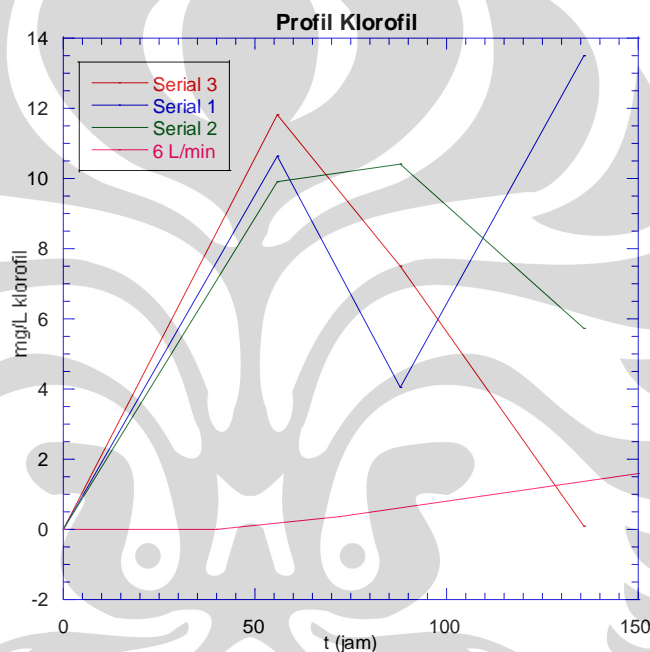
Gambar 4.13 Profil Produksi Klorofil dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi kecepatan superficial

Variasi kecepatan superficial tidak banyak mempengaruhi jumlah klorofil yang dihasilkan. Hal ini disebabkan meningkatnya jumlah klorofil sangat dipengaruhi oleh jumlah sel yang terbentuk. Semakin banyak sel *Chlorella sp.* yang terbentuk, maka semakin banyak pula jumlah klorofil yang dihasilkan. Karena itulah, profil pembentukan klorofil dari ketiga jenis kecepatan superficial serupa. Kecepatan superficial yang optimum memberikan profil pertambahan jumlah klorofil yang lebih stabil.



Gambar 4.14 Profil Produksi Klorofil dengan variasi jenis Pencahayaan

Variasi jenis pencahayaan juga tidak mempengaruhi profil produksi klorofil yang terbentuk. Peningkatan intensitas cahaya yang diberikan setiap peningkatan jumlah sel *Chlorella sp.* pada pencahayaan alterasi (tidak) mempercepat peningkatan jumlah klorofil meskipun laju peningkatan jumlah selnya semakin besar. Hal ini disebabkan laju fotosintesis yang dipercepat menyebabkan klorofil dalam sel *Chlorella sp.* bekerja lebih keras sehingga produksi klorofil turut dipercepat pula.



Gambar 4.15 Profil Produksi Klorofil dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi susunan fotobioreaktor

Variasi susunan fotobioreaktor memberikan pengaruh amat besar dalam pembentukan klorofil biomassa *Chlorella sp.* Dalam reaktor serial, diperoleh pertumbuhan jumlah sel yang lebih lambat, karena karbon dioksida sebagai sumber fotosintesis semakin berkurang seiring bertambahnya jumlah reaktor. Di sisi lain, intensitas cahaya yang diberikan semakin banyak seiring penambahan jumlah sel. Akibatnya proses fotosintesis tidak berjalan dengan sempurna dan justru memperpendek usia hidup sel *Chlorella sp.*

Adapun kandungan klorofil akhir dari biomassa *Chlorella sp.* adalah sebagai berikut:

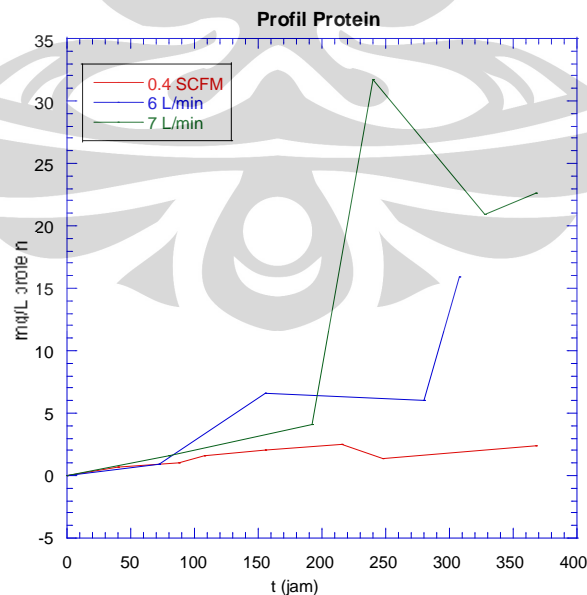
Tabel 4. 1 Peningkatan Produksi Klorofil

Parameter		Klorofil	
UG	0.4 SCFM	2.115	
	6 L/min	1.349	
	7 L/min	1.311	
Pencahayaan	Kontinu	1.349	
	Alterasi	1.015	
Susunan Fotobioreaktor	Tunggal	1.349	
	Serial	R1	4.079
		R2	2.310
		R3	0.741

Dalam menentukan tingkat kenaikan jumlah klorofil yang paling optimal, perlu diperhatikan pula profil pertumbuhan sel *Chlorella sp.* secara keseluruhan. Karena itu, metode peningkatan jumlah klorofil paling signifikan pada reaktor skala pilot adalah dengan membiakkan *Chlorella sp.* dalam fotobioreaktor tunggal dengan metode pencahayaan kontinu yang dialiri udara dengan kecepatan superficial yang optimum.

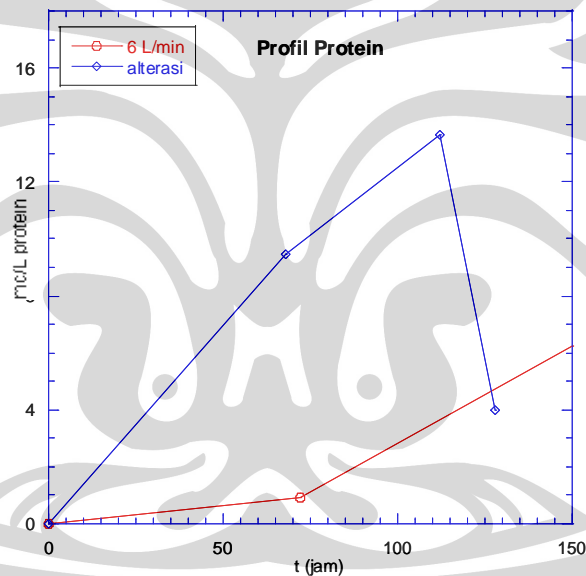
4.3.2 PENGARUH VARIASI KONDISI OPERASI TERHADAP KANDUNGAN PROTEIN DALAM BIOMASSA CHLORELLA VULGARIS

Produksi protein dalam sel *Chlorella sp.* amat dipengaruhi oleh jumlah nitrogen dalam sistem hidupnya, dalam hal ini adalah medium. Dalam medium *Benneck*, sumber nitrogen diperoleh dari nitrat.



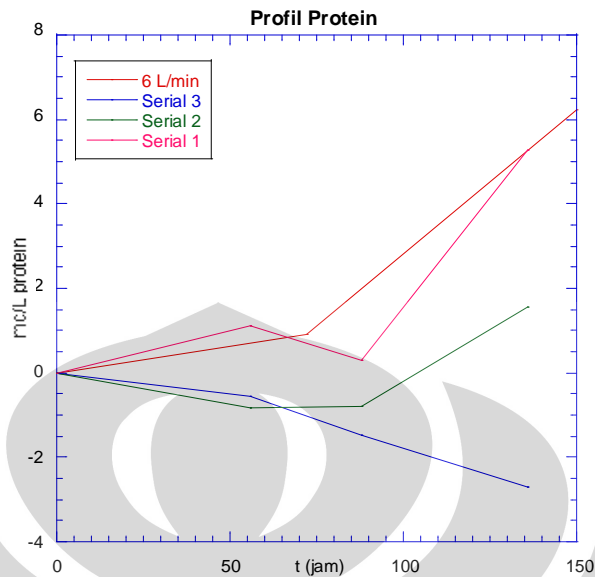
Gambar 4.16 Profil Produksi Protein dalam Biomassa dengan variasi kecepatan superficial

Variasi kecepatan superficial amat mempengaruhi profil pembentukan protein dalam biomassa *Chlorella sp.* Peningkatan kecepatan superficial mempercepat pembentukan sel mikroalga, karena meningkatkan laju fotosintesis. Peningkatan laju fotosintesis menyebabkan jumlah nitrogen dalam medium semakin menipis. Saat jumlah nitrogen dari medium habis, maka sel *Chlorella sp.* mulai menggunakan sumber nitrogen intraseluler, yakni dari klorofil. Nitrogen intraseluler tersebut kemudian dikonversi menjadi material sel yang kaya nitrogen seperti protein. Karena itulah, ketika jumlah klorofil menurun, jumlah protein justru meningkat selama pembiakan sel.



Gambar 4. 17 Profil Produksi Protein dalam Biomassa dengan variasi jenis pencahayaan

Variasi jenis pencahayaan turut mempengaruhi profil penambahan protein. Hal ini disebabkan semakin besar laju fotosintesis, semakin banyak pula klorofil yang dihasilkan, dan semakin cepat pula berkurangnya sumber nitrogen dalam medium.



Gambar 4.18 Profil Produksi Protein dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi susunan fotobioreaktor

Variasi susunan fotobioreaktor memberikan profil penambahan jumlah protein yang serupa, dimana saat jumlah protein berkurang, produksi protein justru meningkat.

Adapun kandungan protein akhir dari biomassa *Chlorella sp.* adalah sebagai berikut:

Tabel 4. 2 Peningkatan Produksi Protein

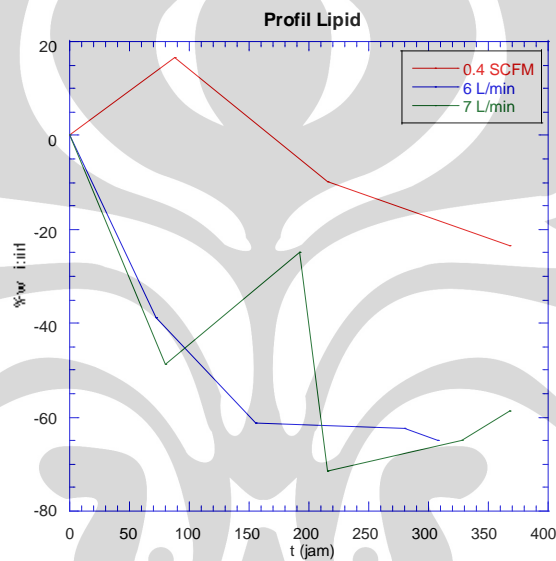
Parameter		Protein	
UG	0.4 SCFM	2.934	
	6 L/min	1.349	
	7 L/min	1.311	
Penechayaan	Kontinu	1.349	
	Alterasi	1.359	
	Tunggal	1.349	
Susunan Fotobioreaktor	Serial	R1	1.629
		R2	1.187
		R3	0.678

Dalam menentukan tingkat kenaikan jumlah protein yang paling maksimal, perlu diperhatikan pula profil pertumbuhan sel *Chlorella sp.* secara keseluruhan. Karena itu, metode peningkatan jumlah protein paling signifikan pada reaktor skala pilot adalah dengan membiakkan *Chlorella sp.*

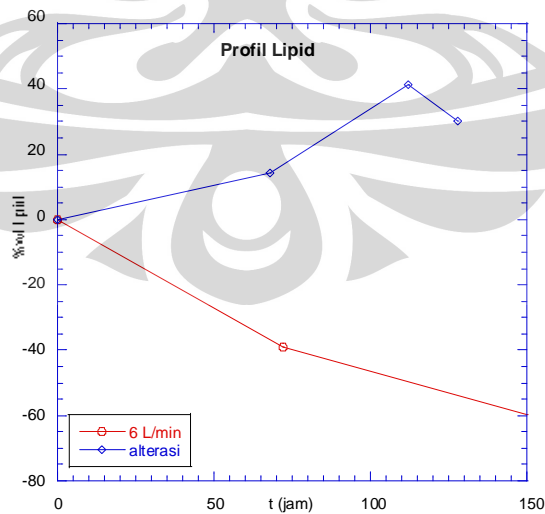
dalam fotobioreaktor tunggal dengan metode pencahayaan kontinu yang dialiri udara dengan kecepatan superficial yang optimum.

4.3.3 PENGARUH VARIASI KONDISI OPERASI TERHADAP KANDUNGAN LIPID DALAM BIOMASSA CHLORELLA VULGARIS

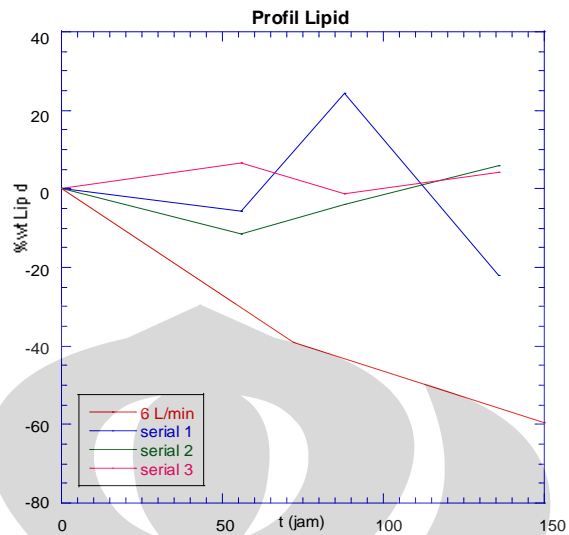
Produksi lipid dalam sel *Chlorella sp.* hanya terjadi saat pembentukan cadangan nutrisi dalam tubuh sel. Hal ini disebabkan lipid merupakan cadangan makanan yang nantinya akan digunakan sebagai nutrisi sel baru.



Gambar 4.19 Profil Produksi Lipid dalam Biomassa dengan variasi kecepatan superficial



Gambar 4.20 Profil Produksi Lipid dalam Biomassa *Chlorella sp.* dengan variasi jenis pencahayaan



Gambar 4.21 Profil Produksi Lipid dalam Biomassa dengan variasi susunan fotobioreaktor

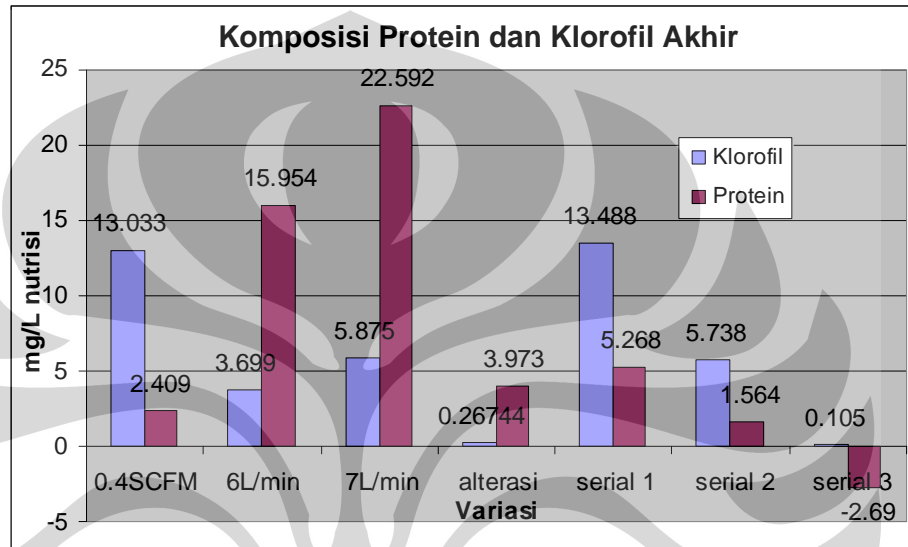
Variasi kecepatan superficial ataupun susunan fotobioreaktor tidak mempengaruhi profil pembentukan lipid. Tampak bahwa produksi lipid dalam biomassa *Chlorella sp.* secara umum justru menurun pada penelitian ini. Hal ini disebabkan meski jumlah nitrogen menurun, namun konversi karbon dioksida sebagian besar menjadi protein. Pada penggunaan alterasi sebagai sumber cahaya, diperoleh peningkatan jumlah lipid. Hal ini disebabkan sistem pencahayaan alterasi mempercepat laju pertumbuhan sel, serta laju produksi klorofil. Namun produksi protein belum mampu mengimbangi pembentukan klorofil. Akibatnya sebagian klorofil yang diproduksi dapat digunakan dalam produksi lipid. Adapun kandungan lipid akhir dari biomassa *Chlorella sp.* adalah sebagai berikut:

Tabel 4.3 Peningkatan Produksi Lipid

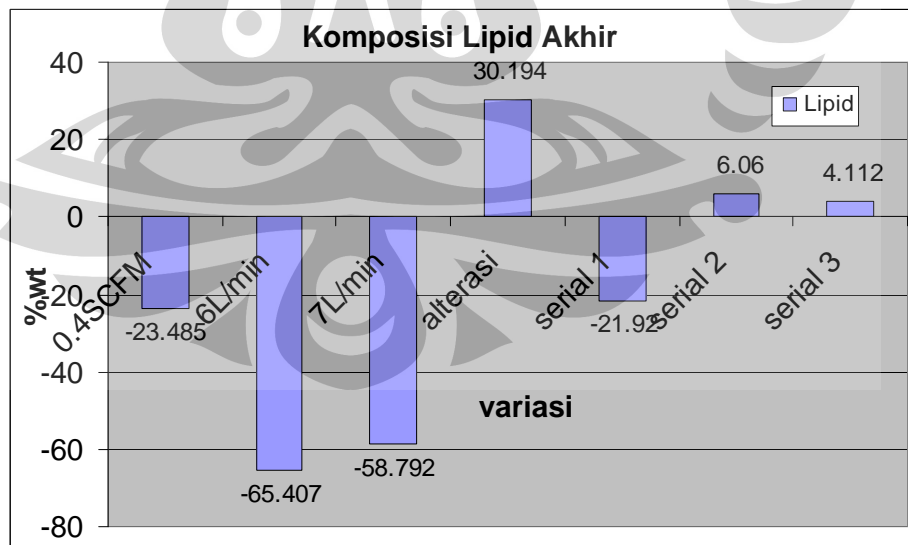
Parameter		Lipid	
UG	0.4 SCFM	0.220	
	6 L/min	0.229	
	7 L/min	0.177	
Pencahayaan	Kontinu	0.229	
	Alterasi	1.650	
Susunan Fotobioreaktor	Tunggal	0.229	
	Serial	R1	0.397
		R2	1.167
		R3	1.113

Tampak pada tabel bahwa terjadi penurunan jumlah lipid dalam biomassa *Chlorella sp.* Karena itu, perlu penelitian lebih jauh mengenai faktor lain yang mempengaruhi produksi lipid dalam biomassa *Chlorella sp.*

Secara keseluruhan, perolehan akhir biomassa *Chlorella vulgaris* dan kandungan nutrisi di dalamnya adalah seperti tergambar dalam grafik berikut.



Gambar 4.22 Komposisi Protein dan Klorofil Akhir



Gambar 4.23 Komposisi Lipid Akhir

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Bab ini berisi kesimpulan dari hasil penelitian serta saran yang dapat dibeikan terhadap penelitian selanjutnya.

5.1 KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian uji komposisi nutrisi hasil produksi biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg pada skala pilot adalah:

1. Variasi laju alir udara tidak berpengaruh terhadap jumlah klorofil, protein, ataupun lipid yang dihasilkan oleh biomassa. Pengaruh variasi laju alir hanya tampak pada kecepatan pertumbuhan sel *Chlorella vulgaris*.
2. Perlakuan pencahayaan alterasi mampu meningkatkan jumlah sel *Chlorella vulgaris*, lipid dan protein lebih signifikan dibandingkan pencahayaan kontinu. Hal ini dikarenakan pencahayaan alterasi menyesuaikan intensitas cahaya dengan kerapatan sel dan intensitas maksimum yang dapat diterima sel pada kerapatan tersebut.
3. Hasil produksi biomassa *Chlorella vulgaris* yang dihasilkan dengan variasi pencahayaan dan susunan fotobioreaktor cocok untuk diolah lebih lanjut sebagai bahan pangan alternative, khususnya sumber protein. Al ini terlihat dari jumlah protein yang dihasilkan.
4. Jumlah lipid dari hasil penelitian tergolong sangat kecil, hal ini disebabkan sebagian besar nitrogen digunakan untuk produksi protein.

5.2 SARAN

1. Pada penelitian, sebagian besar prosedur uji komposisi menggunakan pelarut yang tergolong berbahaya bagi tubuh, terutama jika sample yang akan diuji memiliki volume cukup besar. Karena itu, perlu dikaji lebih lanjut mengenai metode uji lain yang lebih aman dan mudah diaplikasikan untuk produksi biomassa skala besar.

2. Dari hasil penelitian, tampak bahwa jumlah lipid yang dihasilkan sangat sedikit. Hal ini patut disayangkan mengingat potensi *Chlorella vulgaris* sebagai sumber bahan bakar alternatif sangat besar. Karena itu, perlu dilakukan variasi kondisi operasi lain yang mungkin berpengaruh lebih signifikan dalam peningkatan jumlah lipid. Misalnya dengan variasi komposisi medium atau aliran gas dalam kultur. Mungkin perlu juga dikaji mengenai profil produksi lipid dalam kondisi heterotropik.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. "Potensi Chlorella". <http://www.chlorella-world.com/yaeyama.html> (2 April 2008)
- Anonim. "Chlorella Watershed : Chlorella 100% Pure". <http://chlorella.co.nz/> (2 April 2008)
- Anonim. "Health Benefit of Chlorella".
http://www.healingdaily.com/health_benefit_of_chlorella.htm (2 April 2008)
- Anonim. "Chlorella". <http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorella.htm> (12 April 2008)
- Anonim. "Plant Cell's Structure". <http://www.chem.mtu.edu/~drshonna/cm4710/-lectures/chapter2.pdf> (2 April 2008)
- Anonim. "Proses Biologi Sel : Fotosintesis".
<http://www.lablink.or.id/Bio/Sel/fotosintesis.htm> (2 April 2008)
- Anonim. "Microalga Culturing". <http://www.nhm.ac.uk.htm> (2 April 2008)
- Anonim. "Human Nutrition".
<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/N/Nutrition.html> (2 Juni 2008)
- Anonim. 2006. *Meat Technolog- Information Sheet* : "Crude Fat Determination – Soxhlet Method". <http://Crude%20Fat%20Determination%20-%20Soxhlet%20Method%20-%201998.pdf> (4 Juni 2008)
- Bellasco, W. 1997. *Algae Burgers for A Hungry World? The Rise And Fall of Chlorella Cuisine, Vol. 38*. <http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorella> (12 April 2008).
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. Extraction of Lipids in Solution by the Method of Bligh & Dyer. *J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Sargowo, Dj., Ratnawati. 2005. Pengaruh Pemberian Zat Aktif Ganggang Hijau (green Algae) terhadap Produk Radikal Bebas dan Fraksi Lipid pada penderita Dislipidemia Usia Lanjut. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. <http://www.tempo.co.id/medika/arsip/112002/art-list.htm> (12 April 2008).
- Sheehan, J., T.G. Dunahay, dkk. 1998. *Technical Report* : "A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program : Biodiesel from Algae". Colorado : U.S. Department of Energy.

- Virgan T., Bayu. 2004. *Skripsi* : "Pengaruh kondisi Terang Gelap (Fotoperiodesitas) Terhadap Produksi Biomassa dan Fiksasi CO₂ oleh *Chlorella* sp. Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung". Depok : Departemen Teknik Gas dan Petrokimia Universitas Indonesia.
- Andika, Sang Made Kresna. 2005. *Skripsi* : "Peningkatan Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg Dengan Alterasi Pencahayaan Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung". Depok : Departemen Teknik Gas dan Petrokimia Universitas Indonesia.
- Sujarwo, Muhammad Aji. 2006. *Skripsi* : "Peningkatan Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg Dengan Pencahayaan Kontinu Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung Susun Seri". Depok : Departemen Teknik Gas dan Petrokimia Universitas Indonesia.
- Sendjaja, Antonius Yudi. 2006. *Skripsi* : "Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg Dengan Optimasi Pencahayaan Alterasi Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung Susun Seri". Depok : Departemen Teknik Gas dan Petrokimia Universitas Indonesia.
- Adams, Mike. "Superfoods For Optimum Health : *Chlorella* and *Spirulina*". Online book. <http://www.chlorellafactor.com/chlorella-spirulina.html> (12 April 2008)
- Wirosaputro, Sukiman. 2002. *Chlorella Untuk Kesehatan Global*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Pulz, O. 2001. Perry's Chemical Handbook. *Photobioreactor : Production System for Phototropic Mikroorganism*. <http://link.springer.de>. (22 April 2008)
- Gunther, William S. 2000. *A Photobioreactor with On-Line Biomass and Growth Rate Estimations for Optimization of Light Intensity in Cultures of Phototrophic Mikroorganism*. New York: Department of Life Science Aalborg University.
- P. Manirakiza, A. Covaci, and P. Schepens. 2001. "Comparative Study on Total Lipid Determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods". JOURNAL OF FOOD COMPOSITION AND ANALYSIS. <http://www.idealibrary.com>.

Prihantini, Nining Betawati. 2007. *Laporan Riset Unggulan FMIPA UI*.
“Pemanfaatan Medium Ekstrak Tauge (MET) Untuk Menghasilkan Biomassa
Chlorella sp. Dan Scenedesmus sp. Dengan Kandungan Protein dan Klorofil
yang Tinggi”. Depok: Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas
Indonesia.

Suen, Yu , J. S. Hubbard, G. Holzer, T. G. Tornabene. 1987. TOTAL LIPID
PRODUCTION OF THE GREEN ALGA NANNOCHLOROPSIS SP. QII
UNDER DIFFERENT NITROGEN REGIMES. *Journal of Phycology*.
<http://www3.interscience.wiley.com/user/accessdenied?ID=121364267&Act=2138&Code=4719&Page=/cgi-bin/fulltext/121364267/PDFSTART>

Suriawiria, H. Unus. 2005. *Chlorella Untuk Kesehatan dan Kebugaran*. Jakarta:
Papas Sinar Sinanti.

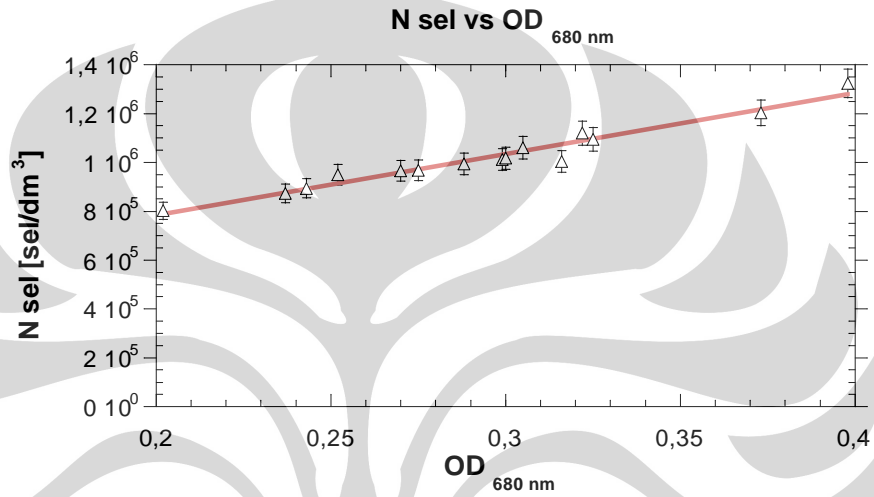
Weldy, Chad Share ,Michael Huesemann. LIPID PRODUCTION BY
DUNALIELLA SALINA IN BATCH CULTURE: EFFECTS OF
NITROGEN LIMITATION AND LIGHT INTENSITY.

http://www.scied.science.doe.gov/scied/JUR_v7/pdfs/Lipid%20Production%20oby%20Dunaliella.pdf.

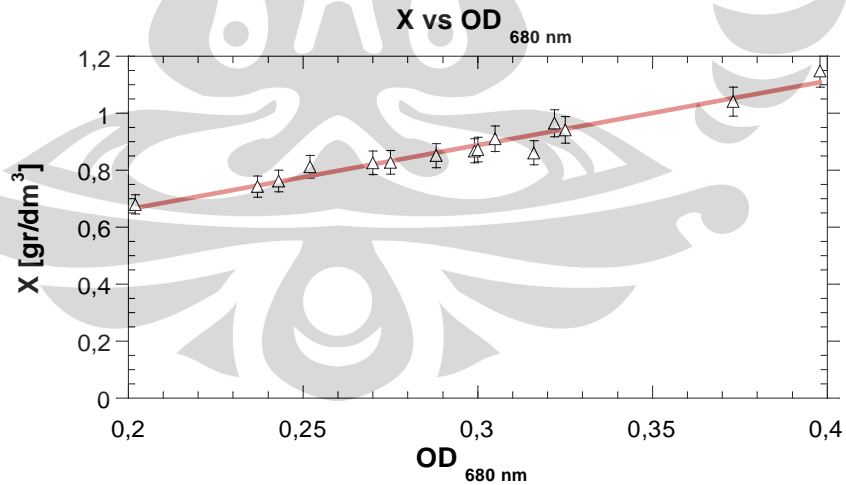
LAMPIRAN A
KURVA KALIBRASI
TABEL KONVERSI OD₆₀₀, N sel, serta X

Penentuan kurva kalibrasi OD₆₀₀ vs N sel dan OD₆₀₀ vs X telah dijelaskan pada bab sebelumnya. kurva yang diperoleh adalah sebagai berikut:

— y = 2,8362e+05 + 2,5028e+06x R= 0,97766



— y = 0,21216 + 2,2544x R= 0,97788



LAMPIRAN B
DATA HASIL PENELITIAN

UG = 0.4 SCFM

Sampel	N sel	Klorofil (mg/L)		Protein (mg/L)	Lipid (%wt)			
		OD663	OD645		Biomass		Total Lipid	
				OD 540	empty	dried	empty	dried
6-Apr	957510	0.604	0.339	0.216	104.4566	105.4649	40.0666	40.0685
8-Apr	2797920	0.671	0.46	0.327				
10-Apr	2986680	0.757	0.599	0.391	29.3637	29.3746	54.5894	54.5945
11-Apr	4855404	0.759	0.602	0.570				
13-Apr	5629320	0.784	0.735	0.535				
15-Apr	6455145	0.882	0.875	0.662	23.7825	23.7962	42.4361	42.4361
16-Apr	6785475	0.728	0.726	0.449				
22-Apr	6948956	0.879	0.875	0.639	29.4519	29.473	40.4691	40.4691

UG = 6 L/min

Sampel	N sel	Klorofil (mg/L)		Protein (mg/L)	Lipid (%wt)			
		OD663	OD645		Biomass		Total Lipid	
				OD 540	empty	dried	empty	dried
11-May	973240	0.551	0.306	0.236	23.43	23.4332	40.0504	40.0531
14-May	3307572	0.49	0.348	0.248	44.0886	44.0941	42.5567	42.5592
18-May	6172005	0.711	0.328	0.323	25.7183	25.7248	42.4361	42.4376
23-May	7271532	0.755	0.423	0.312	25.0178	25.0273	40.4678	40.4699
28-May	7733994	0.71	0.426	0.445	25.2	25.2119	34.1126	34.1149

UG = 7 L/min

Sampel	N sel	Klorofil (mg/L)		Protein (mg/L)	Lipid (%wt)			
		OD663	OD645		Biomass		Total Lipid	
				OD 540	empty	dried	empty	dried
31-May	963802	0.884	0.584	0.075	104.459	104.4611	40.0666	40.0681
4-Jun	3817224	0.87	0.712	0.073	29.3635	29.3714	54.5894	54.5912
8-Jun	5652915	0.837	0.816	0.097	104.4555	104.4673	40.0532	40.0587
10-Jun	6305710	0.46	0.553	0.246	29.3629	29.3788	42.5585	42.562
14-Jun	6686376	0.796	0.75	0.188	25.191	25.2078	40.0532	40.0543
16-Jun	6639186	0.881	0.876	0.197	25.7183	25.7365	42.5587	42.561

Alterasi = 6 L/min

Sampel	N sel	Klorofil (mg/L)		Protein (mg/L)	Lipid			
		OD663	OD645		Biomass		Total Lipid	
				OD 540	empty	dried	empty	dried
16-Jun	992116	0.678	0.615	11.05556	29.3656	29.3684	72.8974	72.8987
19-Jun	2741292	0.766	0.698	20.5	23.7835	23.7881	72.1416	72.1444
21-Jun	3340605	0.776	0.586	24.73529	25.1905	25.1979	40.0497	40.0562
22-Jun	3302853	0.792	0.583	15.02941	25.7179	25.7256	42.5535	42.5594

Serial

tanggal	Reaktor	N sel	Klorofil (mg/L)		Protein (mg/L)	Lipid (%wt)			
			OD663	OD645		Biomass		Total Lipid	
					OD 540	empty	dried	empty	dried
2-Jun	ALL	981,105	0.239	0.122	0.058	44.089	44.090	41.914	41.914
4-Jun	R1	2,933,877	0.728	0.455	0.066	23.430	23.434	51.561	51.562
	R2	3,122,637	0.683	0.437	0.052	29.453	29.456	40.469	40.470
	R3	2,176,138	0.749	0.505	0.054	23.783	23.785	42.436	42.437
12-Jun	R1	4,648,000	0.342	0.281	0.066	29.452	29.458	40.469	40.473
	R2	4,295,648	0.549	0.515	0.058	23.430	23.437	34.102	34.105
	R3	2,528,490	0.351	0.450	0.053	44.087	44.094	41.914	41.916
16-Jun	R1	5,794,270	0.669	0.619	0.071	44.134	44.143	40.469	40.470
	R2	2,179,284	0.418	0.335	0.051	43.651	43.655	34.102	34.104
	R3	1,465,142	0.163	0.096	0.028	46.469	46.474	41.914	41.915