



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENINGKATAN PRODUKSI BIOMASSA *Chlorella vulgaris*
DENGAN PERLAKUAN MIKROFILTRASI PADA SIRKULASI
ALIRAN MEDIUM KULTUR SEBAGAI BAHAN BAKU
BIODIESEL**

SKRIPSI

FARIS NAJMUDDIN ZAHIR

0706269773

**FAKULTAS TEKNIK
DEPATEMEN TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENINGKATAN PRODUKSI BIOMASSA *Chlorella vulgaris*
DENGAN PERLAKUAN MIKROFILTRASI PADA SIRKULASI
ALIRAN MEDIUM KULTUR SEBAGAI BAHAN BAKU
BIODIESEL**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik
pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia**

FARIS NAJMUDDIN ZAHIR

0706269773

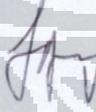
**FAKULTAS TEKNIK
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Faris Najmuddin Zahir

NPM : 0706269773

Tanda Tangan : 

Tanggal : 21 Juni 2011

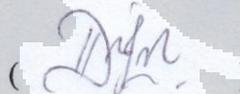
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Faris Najmuddin Zahir
NPM : 0706269773
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi : Peningkatan Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris*
Dengan Perlakuan Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Sebagai
Bahan Baku Biodiesel

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

PEMBIMBING

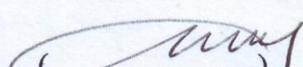
Dianursanti, ST. MT.

()

DEWAN PENGUJI

Penguji : Dr. Heri Hermansyah, ST., M.Eng ()

Penguji : Dr.Eng. Muhamad Sahlan S.si, M.Eng ()

Penguji : Ir. Yuliusman, M.Eng ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 1 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala atas limpahan rahmat dan petunjuk-Nya sehingga makalah skripsi dapat selesai dengan baik dan tepat waktu. Shalawat dan salam tak lupa penulis hadiahkan kepada Rasulullah SAW yang selalu menjadi suri tauladan bagi hidup penulis. Penulisan makalah seminar dengan judul **“Peningkatan Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* dengan Perlakuan Mikrofiltrasi pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur sebagai Bahan Baku Biodiesel”** dilakukan dalam rangka memenuhi mata kuliah Skripsi. Penulisan makalah skripsi ini tak lepas dari bantuan beberapa pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Ir. Dianursanti, MT. sebagai pembimbing seminar yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyusun makalah seminar ini;
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Widodo W. Purwanto, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI;
3. Bapak Ir. Yuliusman, M.Eng selaku kordinator skripsi Teknik Kimia FTUI;
4. Ibu Ir. Dewi Tristantini M.T., PhD selaku pembimbing akademis;
5. Orang tua dan adik di rumah atas dukungan berupa doa maupun materi;
6. Irfan, Tangguh, dan Theodora selaku rekan penelitian satu bimbingan;
7. Edi S yang telah banyak memberi dukungan moril dan bantuan dalam penyelesaian skripsi;
8. Sahabat-sahabat terbaik penulis di kampus, yaitu Faldy, Hariri, Sukma, Ikmalul, Dimas T. Bioproses 08, dan teman-teman Teknik Kimia 2007 atas dukungan moril kepada penulis;
9. Pihak-pihak lain yang mendukung dan membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap agar makalah skripsi ini bermanfaat bagi orang banyak dalam rangka pengembangan ilmu pengetahuan.

Depok, Juni 2011

Penulis

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

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Faris Najmuddin Zahir
NPM : 0706269773
Program Studi : Teknik Kimia
Departemen : Teknik Kimia
Fakultas : Teknik
Jenis Karya : Skripsi

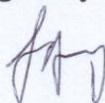
demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Peningkatan Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* dengan Perlakuan Mikrofiltrasi pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur sebagai Bahan Baku Biodiesel”

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 memublikasikan 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 : 21 Juni 2011
Yang menyatakan,



(Faris Najmuddin Zahir)

ABSTRAK

Nama : Faris Najmuddin Zahir
Program Studi : Teknik Kimia
Judul : Peningkatan Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* dengan
Perlakuan Mikrofiltrasi pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur
sebagai Bahan Baku Biodiesel

Peningkatan produksi biomassa *Chlorella vulgaris* dengan perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur sebagai bahan baku biodiesel telah dilakukan. Dari penelitian yang dilakukan, didapatkan produksi biomassa dengan perlakuan mikrofiltrasi mempunyai produksi biomassa 2.12 kali lebih tinggi dibandingkan dengan filter spons biasa, dan 2.54 kali lebih tinggi dibandingkan dengan pencahayaan intensitas tetap tanpa filter. Kemampuan biofiksasi CO₂ dengan perlakuan mikrofiltrasi memiliki nilai efisiensi yang paling tinggi yaitu sebesar 95.17%. Kandungan lipid yang dihasilkan pada penelitian ini bernilai 30.15%. Nilai ini lebih besar jika dibandingkan dengan kandungan esensial lainnya dan menunjukkan bahwa *Chlorella vulgaris* hasil kultivasi pada penelitian ini mempunyai potensi yang baik sebagai bahan baku biodiesel.

Kata kunci: *Chlorella vulgaris*, biodiesel, mikrofiltrasi, biomassa, fiksasi CO₂.

ABSTRACT

Name : Faris Najmuddin Zahir
Study Program : Chemical Engineering
Title : Enhanced Biomass Production of *Chlorella vulgaris* by
Microfiltration Treatment in Circulation Flow of Medium
Culture as Biodiesel Feedstock

Enhanced biomass production of *Chlorella vulgaris* by microfiltration treatment in circulation flow of medium culture as biodiesel feedstock was investigated. From research that have conducted, the production of biomass that obtained with microfiltration treatment have biomass production 2.12 times higher than sponge filter treatment and 2.54 times higher than remain intensity illumination without filter. The ability of biofixation with treatment microfiltration have the highest efficiency value that is equal to 95.17%. The lipid content from this research is equal to 30.15%. This value is larger if compered with other essential content and shows that the cultivation of *Chlorella vulgaris* in this research has a good potential as biodiesel feedstock.

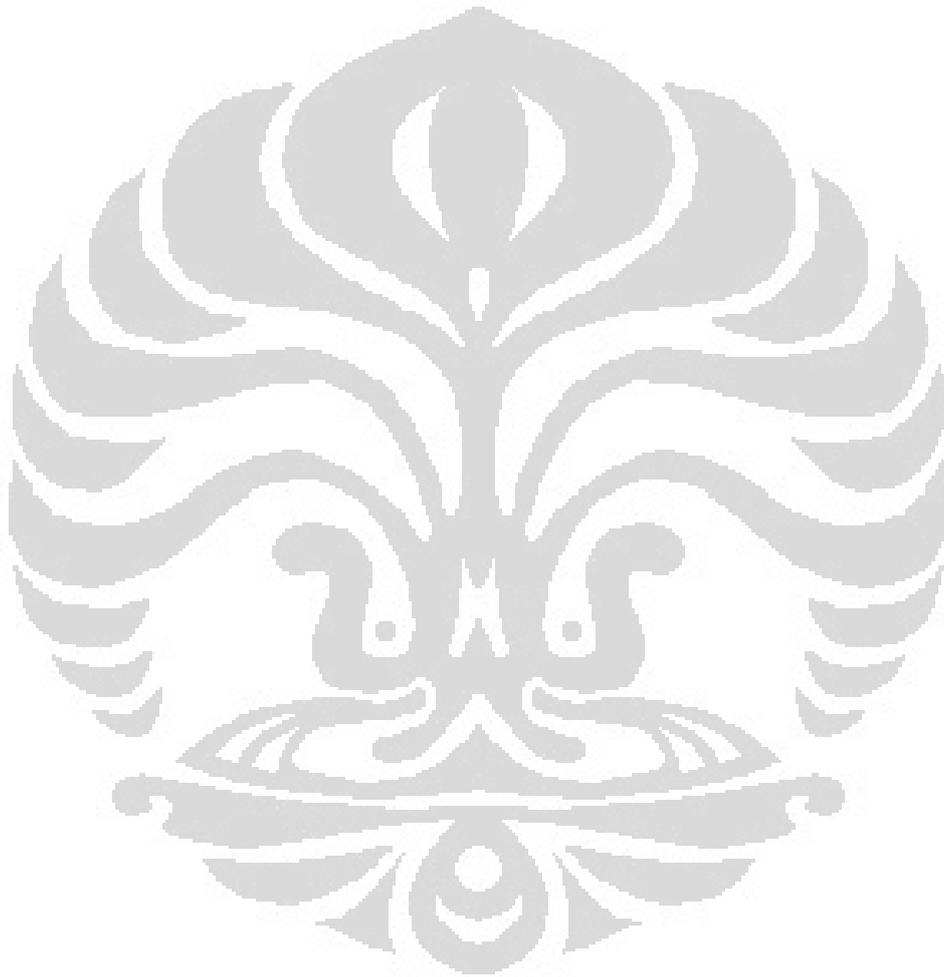
Keyword: *Chlorella vulgaris*, biodiesel, microfiltration, biomass, CO₂ fixation

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	v
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
BAB 1	1
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	4
BAB 2	6
TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Mikroalga <i>Chlorella vulgaris</i>	6
2.1.1. Taksonomi <i>Chlorella vulgaris</i>	7
2.1.2. Pertumbuhan dan Perkembangan Sel <i>Chlorella vulgaris</i>	7
2.1.3. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	9
2.1.4. Kandungan Biomassa <i>Chlorella vulgaris</i>	14
2.2. Fotosintesis	15
2.2.1. Reaksi Fotosintesis	15
2.2.2. Fotosintesis Mikroalga Hijau <i>Chlorella vulgaris</i> Buitenzorg.....	18
2.2.3. Faktor yang memengaruhi fotosintesis	19
2.3. Fotobioreaktor	20
2.3.1. Karakteristik Fotobioreaktor.....	20
2.3.2. Peranan Fotobioreaktor.....	22
2.3.3. Jenis Fotobioreaktor.....	23
2.3.4. Fotobioreaktor Kolom Gelembung.....	24
2.3.5. Mikrofiltrasi	25
2.4 Biodiesel	26
2.4.1 Karakteristik Minyak Diesel.....	27
2.4.2 Metil Ester Asam Lemak Sebagai Komponen Biodiesel	27

BAB 3	29
METODE PENELITIAN.....	29
3.1. Diagram Alir Penelitian.....	29
3.2. Alat dan Bahan Penelitian	30
3.3. Variabel Penelitian	31
3.3.1. Variabel Bebas	31
3.3.2. Variabel Terikat	31
3.3.3. Variabel Tetap.....	31
3.4. Prosedur Penelitian	31
3.4.1. Persiapan Peralatan dan Medium.....	32
3.4.2. Pembiakan Kultur <i>Chlorella vulgaris</i> dalam Medium Benneck	35
3.4.3. Pembuatan Kurva Kalibrasi	36
3.4.4. Penentuan Kerapatan Biomassa Inokulum <i>Chlorella vulgaris</i>	37
3.4.5. Pelaksanaan Kegiatan Riset.....	38
3.4.6. Pengambilan Data	38
3.4.7. Pengolahan Data Penelitian	41
BAB 4	46
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	46
4.1. Pembahasan Umum	46
4.2. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap Produksi Biomassa <i>Chlorella vulgaris</i>	50
4.3. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap Laju Pertumbuhan (μ) <i>Chlorella vulgaris</i>	53
4.4. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap CTR <i>Chlorella vulgaris</i>	55
4.5. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap [HCO_3^-] dalam Medium.....	56
4.6. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap Laju Fiksasi Karbondioksida (qCO_2) oleh <i>Chlorella vulgaris</i>	60
4.7. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap Efisiensi Penyerapan Energi Cahaya oleh <i>Chlorella vulgaris</i>	61
4.8. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap Kandungan Esensial <i>Chlorella vulgaris</i>	62
BAB 5	64
KESIMPULAN.....	64
DAFTAR PUSTAKA	65
DAFTAR LAMPIRAN.....	67
LAMPIRAN A: Data Hasil Penelitian	67
A.1. Data Hasil Kultivasi Control.....	67

A.2. Data Hasil Kultivasi Pada Perlakuan Filter Spons.....	69
A.3. Data Hasil Kultivasi Pada Perlakuan Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur	71
LAMPIRAN B: Contoh Pengolahan Data.....	73
B.1. Pengolahan Data X.....	73
B.2. Pengolahan Data $[\text{HCO}_3^-]$	73
B.3. Pengolahan Data CTR (Carbondioxide Transfer Rate)	74
B.4. Pengolahan Data $q\text{CO}_2$	74

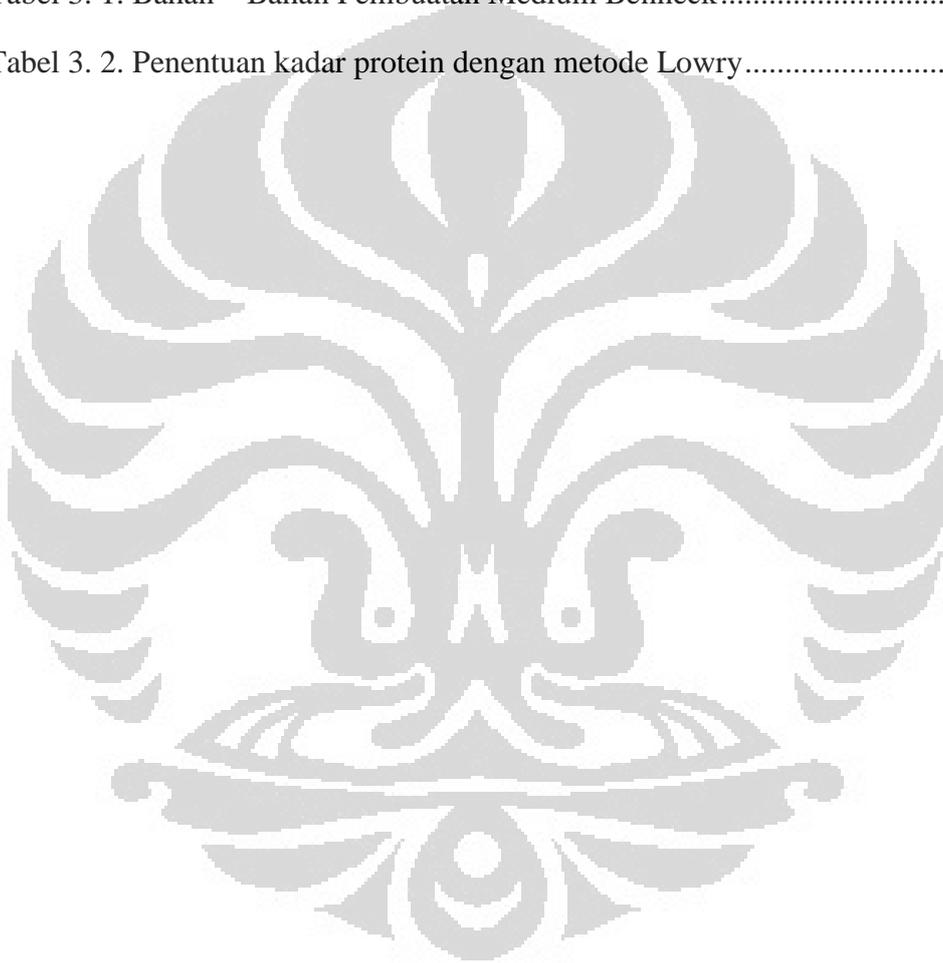


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Kurva Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	8
Gambar 2. 2. Siklus Calvin untuk Reaksi Gelap.....	18
Gambar 2. 3. Range Ukuran Filter	26
Gambar 3. 1. Diagram Alir Penelitian	29
Gambar 3. 2. Skema Alat Penelitian	33
Gambar 3. 3. Kurva kalibrasi OD vs X.....	36
Gambar 3. 4. Kurva kalibrasi uji protein.....	45
Gambar 4. 1. Nilai $\sigma_{\mu_{max},opt}$ pada Berbagai Berat Kering Sel (X).....	51
Gambar 4. 2. Pengaruh Perlakuan Mikrofiltrasi terhadap Produksi Biomassa <i>Chlorella vulgaris</i>	52
Gambar 4. 3. Perbedaan Berat Biomassa <i>Chlorella vulgaris</i> Total dengan Berat Biomassa di Fotobioreaktor Pada Perlakuan Mikrofiltrasi Sirkulasi Aliran Medium Kultur	52
Gambar 4. 4. Pengaruh Perlakuan Mikrofiltrasi terhadap Laju Pertumbuhan (μ) <i>Chlorella vulgaris</i> . A: Perlakuan Mikrofiltrasi, B: Perlakuan Filter Spons, C: Perlakuan Tanpa Filter	54
Gambar 4. 5. CTR Pada Medium Kultur <i>Chlorella vulgaris</i>	55
Gambar 4. 6. Ketersediaan Ion $[HCO_3^-]$ pada Medium Kultur <i>Chlorella vulgaris</i> terhadap Waktu. A: Perlakuan Mikrofiltrasi, B: Perlakuan Filter Spons, C: Perlakuan Tanpa Filter	58
Gambar 4. 7. Prosentase Fiksasi CO_2 pada Setiap Perlakuan Medium Kultur <i>Chlorella vulgaris</i> terhadap Waktu.	59
Gambar 4. 8. Pengaruh Perlakuan Mikrofiltrasi terhadap Laju Fiksasi Karbondioksida (qCO_2) oleh <i>Chlorella vulgaris</i> . A: Perlakuan Mikrofiltrasi, B: Perlakuan Filter Spons, C: Perlakuan Tanpa Filter	60
Gambar 4. 9. Pengaruh Perlakuan Mikrofiltrasi terhadap Efisiensi Penyerapan Energi Cahaya oleh <i>Chlorella vulgaris</i> . A: Perlakuan Mikrofiltrasi, B: Perlakuan Filter Spons, C: Perlakuan Tanpa Filter.....	61
Gambar 4. 10. Hasil Uji Kandungan Beta Karoten dan Klorofil	62
Gambar 4. 11. Hasil Uji Kandungan Lipid dan Protein.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1. Taksonomi <i>Chlorella vulgaris</i>	7
Tabel 2. 2. Perbandingan Komposisi Nutrisi Medium Pemiakan <i>Chlorella vulgaris</i>	10
Tabel 2. 3. Komposisi Biomassa <i>Chlorella vulgaris</i>	14
Tabel 2. 4. Perbandingan antara beberapa sistem kultivasi mikroalga	23
Tabel 3. 1. Bahan – Bahan Pembuatan Medium Benneck.....	34
Tabel 3. 2. Penentuan kadar protein dengan metode Lowry.....	41



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Di era globalisasi saat ini, penggunaan minyak bumi, gas alam, dan batu bara sebagai sumber energi masih menjadi prioritas utama di berbagai negara termasuk Indonesia. Berdasarkan data yang didapat dari BP Statistical Review of World Energy 2005, terlihat bahwa lebih dari 90% energi di Indonesia masih ditopang oleh energi yang tidak terbarukan seperti minyak bumi, gas alam, dan batu bara. Tentunya hal ini merupakan permasalahan yang harus dapat diselesaikan, mengingat cadangan energi yang tidak terbarukan semakin menipis. Konversi energi pun harus dilakukan secara berkelanjutan agar ketergantungan pada energi tak terbarukan dapat terus berkurang.

Hingga saat ini telah banyak penelitian dilakukan untuk dapat mengatasi permasalahan energi di atas, diantaranya adalah dengan mengembangkan penelitian-penelitian di bidang bioteknologi. Inovasi yang terus dikembangkan hingga saat ini adalah pemanfaatan kandungan lipid mikroalga yang telah di ekstrak sebagai energi terbarukan (*biofuel*). Salah satu mikroalga yang cukup potensial untuk dikembangkan dalam penelitian ini adalah *Chlorella vulgaris*.

Chlorella vulgaris digunakan karena memiliki kemampuan bertahan hidup yang tinggi serta memiliki kandungan lipid yang cukup potensial untuk dikembangkan sebagai energi terbarukan. Selain itu *Chlorella vulgaris* memiliki efisiensi fotosintesis mencapai 8% dan kandungan klorofilnya mencapai 28,9 g/kg berat biomassa, paling tinggi jika dibandingkan dengan seluruh mikroalga hijau bahkan tumbuhan tingkat tinggi di dunia (Turkenburg, 1997). Oleh karena itu, *Chlorella vulgaris* dapat memfiksasi CO₂ dalam jumlah yang sangat besar. Kemampuan inilah yang secara tidak langsung juga berdampak positif terhadap penurunan efek pemanasan global.

Selama berfotosintesis, *Chlorella vulgaris* memiliki kemampuan untuk tumbuh dan berkembang biak dengan cepat. Oleh karena itu selain menguntungkan dalam penurunan efek pemanasan global, pertumbuhan *Chlorella vulgaris* juga memberikan efek ganda yaitu menghasilkan produksi biomassa dalam jumlah yang tinggi. Selain lipid, biomassa ini juga banyak mengandung

vitamin, karbohidrat, beta karoten, dan protein sehingga mempunyai potensi secara komersial untuk dimanfaatkan sebagai suplemen makanan (Surawiria, 2005). Secara tidak langsung hal ini juga menjawab permasalahan kurangnya asupan gizi bagi masyarakat pada daerah-daerah tertinggal. Dengan demikian pembudidayaan mikroalga *Chlorella vulgaris* dalam hal peningkatan produksi harus terus dikembangkan mengingat banyaknya potensi yang dimiliki mikroalga tersebut.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk dapat meningkatkan produksi biomassa *Chlorella vulgaris* dan terdapat beberapa faktor yang dapat memengaruhi pertumbuhan mikroalga tersebut yaitu jenis medium, pencahayaan, dan kondisi operasi pada reaktor yang akan digunakan dalam pembudidayaan mikroalga. Pada tahun 2005, Wijanarko A *et al.* melakukan penelitian terkait pengaruh pencahayaan altrasi dan kontinu pada kultivasi mikroalga *Chlorella vulgaris*. Hasilnya, dengan pencahayaan altrasi dihasilkan produksi biomassa 1,61 kali lebih tinggi dibandingkan dengan pencahayaan kontinu. Hal ini membuktikan bahwa pada pencahayaan kontinu ketersediaan energi cahaya tidak cukup ketika pertumbuhan mikroalga semakin meningkat seiring dengan berjalannya waktu.

Pada tahun 2009, Dianursanti *et al.* mengembangkan penelitian dengan memanfaatkan pemerangkap sel pada sirkulasi aliran medium kultur. Pencahayaan yang digunakan pada penelitian kali ini adalah pencahayaan kontinu. Dengan metode ini diharapkan kerapatan sel dalam media kultur dapat dikontrol dengan baik sehingga mikroalga tetap mendapatkan asupan cahaya yang cukup meskipun dengan menggunakan pencahayaan kontinu. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa sistem pemerangkapan sel telah berhasil meningkatkan produksi biomassa *Chlorella vulgaris* sebesar 1.03 kali dibandingkan dengan pencahayaan kontinu. Peneliti melihat bahwa metode ini masih memiliki potensi untuk dikembangkan agar produksi biomassa meningkat, meskipun hasil penelitian kali ini tidak sebaik penggunaan pencahayaan altrasi pada proses kultivasi mikroalga *Chlorella vulgaris*.

Untuk itu pada penelitian kali ini, metode pemerangkapan sel akan dikembangkan dengan pengaplikasian mikrofilter pada sirkulasi aliran medium kultur. Penggunaan membran sebagai sparger udara dan gas CO₂ juga akan

diterapkan bersamaan dengan pengaplikasian mikrofilter. Mikrofilter yang digunakan pada penelitian ini memiliki pori sebesar 0.5 mikron. Pori ini memiliki ukuran yang jauh lebih kecil jika dibandingkan dengan ukuran mikroalga *Chlorella vulgaris* yang memiliki ukuran 2-8 mikron. Dengan demikian, diharapkan mikroalga *Chlorella vulgaris* dapat tersaring lebih optimal sehingga kemungkinan mikroalga untuk lolos dari penyaringan sangat kecil. Keadaan ini membuat kerapatan fotobioreaktor dapat terkontrol dengan lebih baik daripada metode pemerangkapan sel yang pernah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Sparger membran digunakan agar aerasi gas CO₂ pada medium kultur dapat berlangsung optimal. Dengan sistem aerasi yang baik diharapkan proses fotosintesis dapat berlangsung dengan baik. Penggunaan sparger membran diharapkan juga dapat mengurangi efek shear stress yang dapat terjadi pada mikroalga *Chlorella vulgaris*.

Selain itu, pada penelitian ini juga akan dilakukan variasi laju alir hisap sesuai dengan peningkatan kerapatan sel pada saat proses kultivasi berlangsung. Dengan memvariasikan laju alir hisap pada mikrofilter sesuai dengan peningkatan kerapatan sel pada fotobioreaktor, diharapkan lonjakan pertumbuhan secara drastis tidak terjadi. Hal ini juga akan meminimalisasi efek self shading (peristiwa dimana sebagian sel mikroalga menutupi sebagian sel yang lain sehingga sebagian sel tersebut tidak mendapatkan cahaya yang cukup) yang menyebabkan proses kultivasi tidak berlangsung optimal. Proses kultivasi yang tidak optimal ini nantinya akan berpengaruh pada produksi biomassa yang kurang optimal.

Penelitian yang akan dilakukan kali ini, tidak hanya berhenti pada peningkatan produksi biomassa, namun pengujian kandungan esensial dari mikroalga *Chlorella vulgaris* juga akan dilakukan untuk mengetahui efek dari perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur pada peningkatan jumlah mikroalga *Chlorella vulgaris*. Dengan demikian diharapkan metode kultivasi dengan pemanfaatan mikrofilter bisa menjadi referensi untuk dapat mengembangkan tingkat produksi biomassa *Chlorella vulgaris* ke skala yang lebih besar.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana menghasilkan *yield* biomassa yang besar namun tetap menjaga kualitas kandungan lipid mikroalga *Chlorella vulgaris*.

1.3. Tujuan Penelitian

Berikut merupakan tujuan penelitian yang akan dilakukan:

1. Menentukan profil pertumbuhan dari setiap perlakuan kultivasi.
2. Menentukan kemampuan biofiksasi CO₂ dari setiap perlakuan kultivasi.
3. Menentukan besarnya kandungan esensial yang terdapat pada *Chlorella vulgaris*.

1.4. Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Penelitian ini hanya akan dilakukan untuk mengetahui pengaruh kinerja mikrofilter pada peningkatan produksi biomassa *Chlorella vulgaris*.
2. Produksi biomassa dalam penelitian ini terbatas pada peningkatan jumlah sel kering dan pengujian kandungan lipid dari mikroalga *Chlorella vulgaris*.
3. Mikroalga yang digunakan adalah *Chlorella vulgaris*.
4. Medium yang digunakan untuk perkembangbiakan mikroalga ini adalah larutan *Benneck*.
5. Sistem reaktor yang digunakan adalah fotobioreaktor tunggal dengan volume 18 L.

1.5. Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan yang digunakan dalam makalah seminar ini adalah sebagai berikut :

BAB 1 PENDAHULUAN

Bab ini berisi penjelasan mengenai latar belakang masalah, perumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah, dan sistematika penulisan makalah.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menjelaskan mengenai teori umum tentang mikroalga *Chlorella vulgaris*, proses fotosintesis, fotobioreaktor dan faktor-faktor yang memengaruhi pertumbuhan dan produksi biomassa mikroalga *Chlorella vulgaris*.

BAB 3 METODE PENELITIAN

Bab ini berisi penjelasan tentang diagram alir penelitian, alat dan bahan yang digunakan, variabel penelitian, prosedur penelitian, serta metode perhitungan data hasil observasi yang akan digunakan dalam penelitian.

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Berisi sajian data dalam bentuk tabel, diagram, dan juga grafik. Selain itu juga terdapat analisis data hasil percobaan. Hal yang dibahas adalah pengaruh mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur terhadap beberapa kondisi.

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

Berisi kesimpulan penelitian yang mengacu pada tujuan penelitian. Selain itu ada juga saran untuk penelitian kedepannya agar lebih baik lagi.

DAFTAR PUSTAKA

Berisi daftar referensi ilmiah yang digunakan seperti jurnal ilmiah dan sumber lain.

LAMPIRAN Berisi data hasil penelitian dan contoh pengolahan data.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Mikroalga *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris adalah mikroalga yang termasuk ke dalam golongan alga hijau (*chlorophyta*). Bentuk sel *Chlorella vulgaris* bulat, bulat lonjong dengan garis tengah sel antara 2-8 μm . *Chlorella vulgaris* berkembang biak dengan cara membelah diri dan pembentukan spora. *Chlorella vulgaris* bersifat fotoautotrof, yaitu dapat membentuk makanannya sendiri melalui proses fotosintesis.

Mikroalga *Chlorella* adalah jenis tumbuhan yang belum mempunyai akar, batang dan daun sebenarnya, tetapi sudah memiliki klorofil sehingga bersifat autotrof. Tubuhnya terdiri atas satu sel (uniseluler) dan ada pula yang banyak sel (multiseluler). Uniseluler umumnya sebagai fitoplankton sedang yang multiseluler dapat hidup sebagai Nekton, Bentos atau Perifiton. Habitat alga adalah air atau di tempat basah, sebagai Epifit atau sebagai Endofit. Alga berkembang biak dengan cara vegetatif dan generatif.

Chlorella vulgaris merupakan salah satu jenis alga dari divisi *chlorophyta*. Jenis mikroalga ini memiliki beberapa keistimewaan dimana *Chlorella* mampu bertahan terhadap segala perubahan alam sejak zaman pre-kambium karena punya ketahanan genetik dengan mekanisme perubahan DNA yang sangat tinggi, serta bentuk, ukuran, dan sifat dinding sel yang tersusun dari senyawa selulosa dan lignin yang kuat. Semua ini membuat *Chlorella* mudah menyesuaikan diri pada cuaca ekstrem dan bisa bertahan terhadap pengaruh luar dalam waktu lama hal ini membuat *Chlorella* dapat ditemukan di perairan tropis, sub tropis, sampai kutub sekalipun. (Surawiria, 2005).

Chlorella merupakan alga dengan kategori sel eukariotik yang hidup di dalam air bersih sebagai tanaman bersel tunggal yang mengandung nukleus dan klorofil. Nama *Chlorella* berasal dari bahasa latin yaitu "*chloros*" yang berarti hijau dan "*ella*" yang berarti kecil. Jadi *Chlorella* adalah suatu sel yang sangat kecil dan berwarna hijau. Karakteristik warna hijau tua-emerald *Chlorella* disebabkan karena *Chlorella* sangat kaya akan klorofil.

Dari sekian banyak spesies *Chlorella*, yang paling sering dikembangkan

dan digunakan dalam penelitian adalah *Chlorella vulgaris* dan *Chlorella pyrenoidosa*. *Chlorella vulgaris* hidup secara berkoloni dalam jumlah besar. Lingkungan tempat hidupnya secara umum akan didapatkan dimana-mana, terutama pada tempat lembab dan berair. Bahkan beberapa jenis bersimbiosis dengan jamur membentuk lumut kerak (*Lichenes*) atau hidup diantara jaringan Hydra (Sendjaja, 2006).

2.1.1. Taksonomi *Chlorella vulgaris*

Berdasarkan taksonominya, *Chlorella vulgaris* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

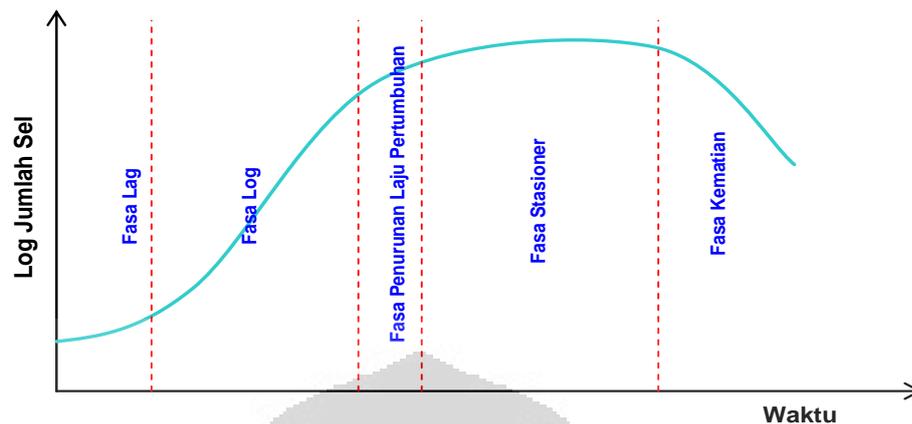
Tabel 2. 1. Taksonomi *Chlorella vulgaris*

Klasifikasi ilmiah <i>Chlorella</i>	
Kingdom	<i>Plantae</i>
Divisio	<i>Chlorophyta</i>
Kelas	<i>Chlorophyceae</i>
Ordo	<i>Chlorococcales</i>
Familia	<i>Oocystaceae</i>
Genus	<i>Chlorella</i>
Spesies	<i>Chlorella vulgaris pyrenoidosa</i>

(Wikipedia, 2010)

2.1.2. Pertumbuhan dan Perkembangan Sel *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris mempunyai waktu generasi yang sangat cepat. Oleh karena itu dalam waktu yang relatif singkat, perbanyakan sel akan terjadi secara cepat, terutama jika tersedianya cahaya dan sumber energi yang cukup. Pola pertumbuhan berdasarkan jumlah sel dapat dikelompokkan menjadi lima fasa yaitu, fasa tunda (*lag phase*), fasa pertumbuhan logaritmik (*log phase*), fasa penurunan laju pertumbuhan, fasa stationer dan fasa kematian. Kelima fasa tersebut dapat ditunjukkan dengan kurva jumlah sel vs waktu pada gambar 2.1 berikut:



Gambar 2. 1. Kurva Pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

(Sumber: Wirosaputro, 2002)

a. Fasa 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 fasa ini tidak terjadi penambahan jumlah sel. Fasa ini adalah fasa 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.

b. Fasa Pertumbuhan Logaritmik (*log phase*)

Pada fasa ini, sel-sel membelah dengan cepat dan terjadi penambahan dalam jumlah sel. Selama fasa 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 dari satu atau dua hal yang terjadi, yaitu apabila tidak atau lebih zat makanan dalam pembenihan habis maka hasil metabolisme yang beracun akan tertimbun dan menghambat pertumbuhan. Kultur dalam fasa 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 fasa eksponensial. Hal ini dikarenakan mikroorganisme tersebut tidak akan mengalami fasa pertumbuhan sebelum fasa eksponensial dalam media yang baru.

c. Fasa Penurunan Laju Pertumbuhan

Pada fasa ini, tetap terjadi pertambahan 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 pertambahan yang sangat cepat pada fasa eksponensial sehingga hanya sebagian dari populasi yang mendapatkan makanan yang cukup dan dapat tumbuh serta membelah.

d. Fasa Stasioner

Fasa stasioner adalah fasa pemberhentian pertumbuhan. Pada fasa ini, jumlah sel kurang lebih tetap. Hal ini disebabkan oleh habisnya nutrisi dalam medium atau karena menumpuknya hasil metabolisme yang beracun sehingga mengakibatkan pertumbuhan berhenti. Dalam kebanyakan kasus, pergantian sel terjadi dalam fasa stasioner, dimana adanya kehilangan sel yang lambat karena kematian yang diimbangi dengan pembentukan sel-sel yang baru melalui pembelahan. Bila hal ini terjadi, maka jumlah sel akan bertambah secara lambat, meskipun jumlah sel hidup tetap.

e. Fasa Kematian

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

2.1.3. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

Organisme autotrofik seperti *Chlorella* membutuhkan cahaya, CO₂, H₂O, nutrient, 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.

a. Jenis Medium

Medium pembiakan sangat berpengaruh dalam pertumbuhan *Chlorella*. Apabila asupan nutrisi dan medium tidak cukup, maka laju pertumbuhannya akan terhambat. Oleh karena itu, medium pembiakannya harus memiliki berbagai nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangannya sehingga komposisi dari medium yang diberikan harus sesuai. Medium yang diperlukan untuk perkembangan *Chlorella* relatif lebih sederhana dan hanya memerlukan jenis nutrisi yang lebih sedikit dibandingkan dengan medium untuk jenis alga lainnya. Ada beberapa medium yang biasanya digunakan untuk pembiakan *Chlorella*. Yaitu Benneck, Detmer, Pupuk komersial dan Walne. Komposisi untuk masing-masing medium ditunjukkan pada tabel 2.2.

Tabel 2. 2. Perbandingan Komposisi Nutrisi Medium pembiakan *Chlorella vulgaris*.

Nutrisi	Benneck	Detmer	Pupuk Komersial	Walne
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	40 mg/L	-
Cu(NO ₃) ₂	-	1000 mg/L	-	-
CO(NH ₂) ₂	-	-	800 mg/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	-	-	-	0,36 mg/L

(Wirosaputro, 2002)

b. 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 2-3 kilolux. Cahaya matahari yang

diperlukan oleh mikroalga dapat diganti oleh 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 dengan 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 kontinu, 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.

1. *Pencahayaan Kontinu*

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

2. *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 kontinu, namun laju pertumbuhannya masih sedikit di bawah pencahayaan kontinu.

3. *Pencahayaan Alterasi*

Alterasi adalah perubahan perlakuan cahaya kontinu dengan memberikan intensitas cahaya yang semakin tinggi seiring dengan penambahan jumlah sel dari dalam penelitian ini. Perlakuan pencahayaan alterasi didasarkan pada semakin banyaknya jumlah sel

biomassa dari *Chlorella vulgaris* maka kultur akan semakin pekat, sehingga cahaya yang diberikan tidak lagi diterima secara merata oleh semua sel (terbatas pada sel yang ada di depan sumber cahaya). Usaha ini telah dibuktikan dapat meningkatkan laju pertumbuhan optimal dan menghasilkan biomassa dengan jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan pencahayaan kontinu tanpa alterasi pada cyanobacterium *A. Cylindrica* (Wijanarko, 2003). Dengan metode ini diharapkan laju pertumbuhan dari mikroorganisme dan kemampuan pengikatan karbondioksida akan dapat terus dipertahankan hingga pertumbuhannya mencapai titik optimal. Jumlah intensitas optimum bagi pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dengan jumlah biomassa tertentu disebut dengan $I_{\mu_{max,opt}}$. Nilai $I_{\mu_{max,opt}}$ untuk nilai X yang bervariasi telah diketahui melalui penelitian sebelumnya di Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia yang dilakukan oleh Sang Made Kresna Andika (2005).

c. Kondisi Operasi

Dalam proses kultivasi *Chlorella vulgaris*, digunakan beberapa kondisi operasi yaitu konsentrasi CO_2 , temperatur operasi, pH dan laju alir baik untuk udara ataupun CO_2 .

1. Konsentrasi

Dalam proses fotosintesis, CO_2 merupakan unsur paling penting. Tersedianya CO_2 yang cukup dalam media akan memperlancar proses fotosintesis yang akan berimbas pada pertumbuhan *Chlorella vulgaris* itu sendiri. Konsentrasi CO_2 yang optimal untuk pertumbuhan *Chlorella vulgaris* adalah sekitar 3-5% (Wirosaputro, 2002).

2. Temperatur

Kondisi lingkungan dimana pembiakan diletakan akan memengaruhi proses metabolisme sel yang ada di dalamnya. 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.

3. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) akan memengaruhi kinerja kerja suatu enzim. Menurut Round (1973), pH media berkisar antara 7.0 – 8.0 cukup baik digunakan dalam kultur alga di laboratorium. *Chlorella vulgaris* sendiri tahan terhadap lingkungan yang asam dengan pH mencapai 2. Untuk mencegah terjadinya perubahan pH dalam media kultur alga, perlu ditambahkan EDTA (*Ethyl Diamine Tetra Acetate*) ke dalam media, karena EDTA berfungsi sebagai *buffer* sehingga pH media akan tetap stabil.

4. Laju Alir dan CO₂

Laju alir udara perlu dipertimbangkan jika jenis reaktor yang digunakan adalah reaktor kolom gelembung. Sedangkan laju CO₂ diatur sesuai dengan model reaktor yang digunakan, luas permukaan kontak dan volume kultur. Hal ini ditujukan untuk pemerataan suplai CO₂ yang dibutuhkan oleh *Chlorella vulgaris* pada medium terbatas.

5. Pre – Culture

Tahapan ini sangat penting dalam pembiakan *Chlorella vulgaris* pada tahap ini mikroalga dikenalkan pada medium baru agar lebih terbiasa hingga dapat melewati fasa lag-nya. Setelah itu *Chlorella* siap untuk dibiakkan pada fasa log. Tahap ini juga bertujuan untuk mengetahui apakah medium yang digunakan sesuai.

6. Kontaminasi

Sedikit kontaminan yang ada akan memengaruhi pertumbuhan *Chlorella vulgaris* kontaminan dapat berebut makanan dengan *Chlorella* itu sendiri dan yang lebih berbahaya jika kontaminan yang ada menjadi predator bagi mikroalga itu sendiri. Oleh karena itu, seluruh kegiatan kultivasi *Chlorella vulgaris* harus dilakukan secara steril untuk mencegah adanya kontaminan.

2.1.4. Kandungan Biomassa *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris memiliki komposisi biomassa yang sangat bermanfaat. Walaupun ukurannya kecil, tetapi kandungan gizi sangat tinggi. 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 macam jenis asam amino, peptida, protein, vitamin dan glukoprotein. CGF dapat digunakan sebagai obat antitumor dan dapat merangsang hormon pertumbuhan. Secara umum kandungan biomassa dari *Chlorella vulgaris* dapat dilihat pada tabel 2.3

Tabel 2. 3. Komposisi Biomassa *Chlorella vulgaris*

Komponen		
Protein	g/100g	33-45
Lemak	g/100g	6.9-16.1
Air	g/100g	04-05
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	04-06
Besi	mg/100g	40-70
Kalium	mg/100g	1000-2900
Iodium	mg/100g	<0.0005
Selenium	µg/100g	02-10
Vitamin		
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

(http://www.gtamart.com/mart/products/chlorella_vulgaris/)

2.2.Fotosintesis

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 fototrof.

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 kelihatan), merah, jingga, kuning, hijau, biru, nila, ungu dan ultra ungu (tidak kelihatan). Pada proses fotosintesis, cahaya yang digunakan adalah spektrum cahaya tampak, dari ungu sampai merah. Infra merah dan 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 tumbuhan.

2.2.1. Reaksi Fotosintesis

Fotosintesis adalah reaksi kimia dimana energi pencahayaan diubah menjadi energi kimia dalam glukosa. Mikroalga hijau seperti tumbuhan tingkat tinggi pada umumnya menggunakan proses ini untuk mensintesa gula dan gas oksigen yang merupakan komponen penting dalam kehidupan. Secara kimia, proses fotosintesis merupakan reaksi oksidasi-reduksi dimana oksigen dioksidasi dan hidrogen, ATP dan NADP direduksi.

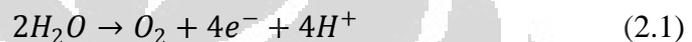
Reaksi fotosintesis secara umum dibagi menjadi dua tahap, yaitu reaksi terang dan reaksi gelap. Pada reaksi terang terjadi reaksi transfer elektron dan foton, sedangkan pada reaksi gelap terjadi reaksi biosintesa karbohidrat dari CO₂. Reaksi terang menghasilkan sintesis ATP dan NADPH untuk membentuk

senyawa organik pada reaksi gelap. Berikut adalah penjelasan tentang reaksi terang dan gelap.

a. Reaksi Terang

Reaksi terang berlangsung pada system membran kompleks/grana yang tersusun dari protein kompleks, elektron *carrier* dan molekul lemak. Reaksi terang mengkonversi energi menjadi berbagai produk. Pada langkah pertama adalah konversi foton menjadi bentuk elektron tereksitasi pada molekul antenna pigmen yang terdapat pada sistem antenna. Baik molekul donor maupun molekul akseptor akan melekat pada protein kompleks pusat reaksi. Secara umum, terdapat tiga reaksi utama yang terjadi pada reaksi terang yaitu :

1. Oksidasi H₂O, menurut persamaan :



2. Reduksi NADP⁺, menurut persamaan :



3. Sintesis ATP, menurut persamaan :



Jika tiga persamaan diatas digabungkan maka akan didapat persamaan untuk reaksi terang :



Pada organisme fotosintetik oksigenik, terdapat dua pusat reaksi yang berbeda, yaitu fotosistem II dan fotosistem I yang bekerja bersamaan secara seri. Pada keadaan terang, fotosistem II mengumpukan elektron ke fotosistem I. Elektron ini akan ditransfer dari fotosistem II ke fotosistem I oleh *intermediate carrier*. Reaksi tersebut adalah transfer elektron dari molekul air ke NADP⁺, menghasilkan bentuk yang tereduksi yaitu NADPH. Pada fotosistem II, terdapat pigmen klorofil a yang lebih besar daripada klorofil b, sedangkan pada fotosistem I berlaku sebaliknya. Klorofil a (C₅₅ H₇₂ O₅ N₄ Mg) berfungsi untuk menyerap cahaya biru-violet dan merah (menangkap gelombang cahaya 673 nm). Klorofil b (C₅₅H₇₀O₆N₄ Mg) berfungsi untuk menyerap cahaya biru dan oranye dan memantulkan cahaya kuning-hijau (menangkap gelombang cahaya 455-640 nm).

Pada proses fotosintesis, banyaknya energi yang disediakan oleh energi cahaya disimpan sebagai energi bebas redoks (sebuah bentuk energi bebas kimia)

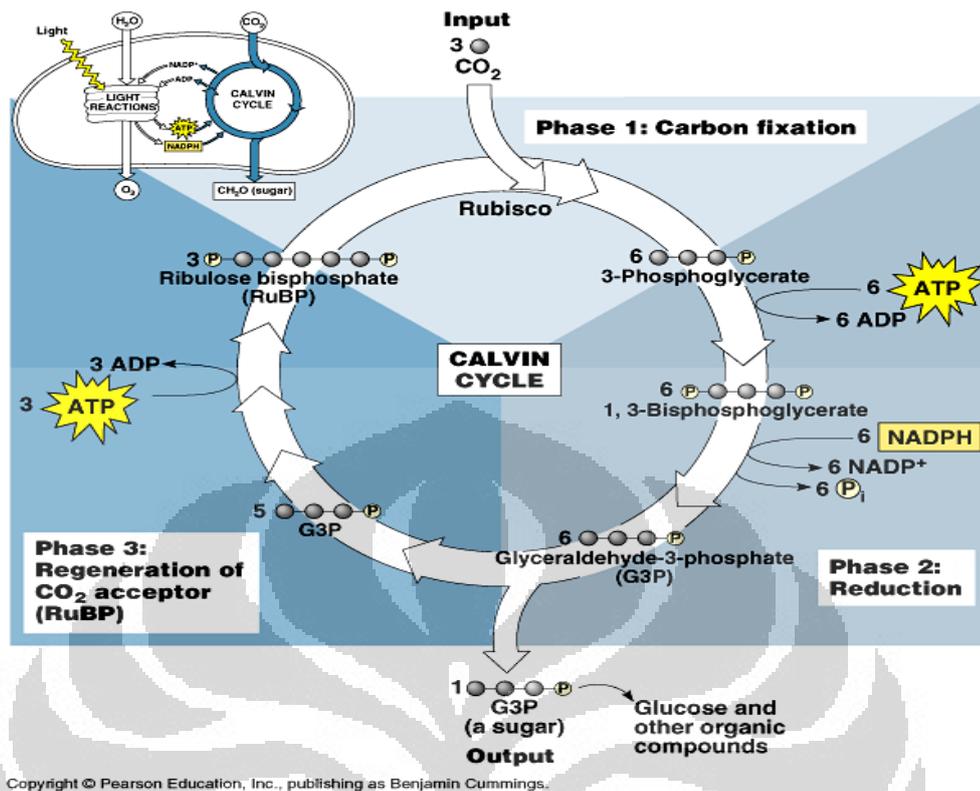
dalam NADPH, yang kemudian akan digunakan untuk mereduksi karbon. Efek dari reaksi terang adalah konversi energi radian menjadi energi bebas redoks dalam bentuk NADPH dan transfer energi grup fosfat dalam bentuk ATP. Pada reaksi terang, transfer elektron tunggal dari air menjadi NADP^+ melibatkan sekitar 30 ion logam dan 7 grup aromatik. Ion logam termasuk 20 ion Fe, 5 ion Mg, 4 ion Mn dan 1 ion Cu. Aromatik termasuk quinine, pheophytin, NADPH, tyrosine dan flavoprotein.

NADPH dan ATP yang terbentuk pada reaksi terang menyediakan energi untuk reaksi gelap fotosintesis, yang dikenal sebagai siklus Calvin atau siklus fotosintetik reduksi karbon.

b. Reaksi Gelap

Siklus Calvin merupakan suatu siklus dalam proses fotosintesis yang termasuk dalam reaksi gelap. Kata “Calvin” berasal dari nama seorang peraih Nobel Prize pada tahun 1950-an karena telah melakukan eksperimen berbagai reaksi, yaitu Melvin Calvin.

Chlorella menghilangkan CO_2 dari lingkungan dan mereduksinya menjadi karbohidrat melalui siklus Calvin. Proses ini merupakan serangkaian reaksi biokimia yang mereduksi karbon dan menyusun ulang ikatan menghasilkan karbohidrat dari molekul CO_2 . Untuk fiksasi karbon (fiksasi gas CO_2 yang bebas berdifusi menjadi bentuk yang non-volatil berupa reduced sugar) dibutuhkan ATP (energi) dan NADPH (reducing power). ATP dan NADPH yang dihasilkan dalam proses fotosintesis memicu berbagai proses biokimia. Pada tumbuhan proses biokimia yang terpicu adalah siklus Calvin yang mengikat karbon dioksida untuk membentuk 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).

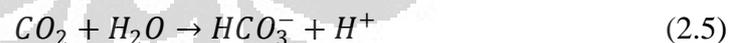


Gambar 2. 2. Siklus Calvin untuk Reaksi Gelap

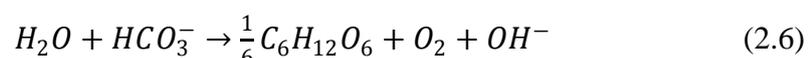
(www.superglossary.com/biology/Rubp.html)

2.2.2. Fotosintesis Mikroalga Hijau *Chlorella vulgaris* Buitenzorg

Pada mikroalga hijau *Chlorella* yang termasuk organisme renik air, fotosintesis dilakukan di dalam air/media hidupnya. CO₂ yang dibutuhkan sebagai carbon *source*-nya didapatkan dalam bentuk senyawa bikarbonat yang terbentuk dari reaksi air dengan CO₂ terlarut dalam media hidupnya (pada ekstra selular) sebagai berikut (Wijanarko, 2004)



Senyawa bikarbonat ini yang kemudian diserap oleh sel *Chlorella*. 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 energi ATP dan NADPH dari konversi cahaya pada reaksi terang, sebagaimana tergambar pada persamaan reaksi berikut (Wijanarko, 2004).



Sehingga diketahui bahwa hasil fotosintesis dari mikroalga hijau *Chlorella* adalah ion OH⁻, oksigen molekular, dan senyawa organik yang akan digunakan sebagai cadangan makanan, apabila tidak mendapatkan cahaya dan CO₂ untuk pertumbuhan dan pembelahaan selnya (heterotrof). Seperti yang kita ketahui bahwa fotosintesis adalah bagian dari metabolisme, maka apabila metabolisme ini terganggu maka pertumbuhan dari *Chlorella* akan mengalami hambatan.

2.2.3. Faktor yang memengaruhi fotosintesis

Faktor-faktor yang memengaruhi fotosintesis adalah sebagai berikut:

- a) Intensitas cahaya
Laju fotosintesis maksimum ketika banyak cahaya.
- b) Konsentrasi karbon dioksida
Semakin banyak karbon dioksida di udara, makin banyak jumlah bahan yang dapat digunakan tumbuhan untuk melangsungkan fotosintesis.
- c) Suhu
Enzim-enzim yang bekerja dalam proses fotosintesis hanya dapat bekerja pada suhu optimalnya. Umumnya laju fotosintensis meningkat seiring dengan meningkatnya suhu hingga batas toleransi enzim.
- d) Kadar air
Kekurangan air atau kekeringan menyebabkan stomata menutup, menghambat penyerapan karbon dioksida sehingga mengurangi laju fotosintesis.
- e) 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.
- f) Tahap pertumbuhan
Penelitian menunjukkan bahwa laju fotosintesis jauh lebih tinggi pada tumbuhan yang sedang berkecambah dibandingkan dengan tumbuhan dewasa. Hal ini mungkin dikarenakan tumbuhan berkecambah memerlukan lebih banyak energi dan makanan untuk tumbuh.

2.3. 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.

2.3.1. Karakteristik Fotobioreaktor

Umumnya, kondisi kehidupan normal alamiah mikroalga yang menjadi salah satu subjek penelitian bioteknologi adalah sebagai berikut : jarak rata-rata antara sel (*cell displacement*) vertical atau horizontal berkisar $5 \cdot 10^{-3}$ sampai $3 \cdot 10^{-5}$ 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 CO_2 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 10^8 sel/cm^3 . Jarak rata-rata sel tereduksi sampai $60 \mu\text{m}$ atau 10 kali diameter sel, *cell displacement* dari 0.3-1 m/s, *turbulence-conditioned* PFD bervariasi antara frekuensi 0,1-1.000 s dapat menggantikan waktu pagi sampai sore maupun malam harinya, suplai nutrient dan CO_2 yang biasanya optimum, nilai pH dan temperatur yang optimum untuk spesifik sel mikroalga tertentu.

Berikut ini akan dijelaskan beberapa karakteristik dari fotobioreaktor :

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 $\mu\text{E}/\text{m}^2$ dan mengalami *photoinhibition* pada 130 $\mu\text{E}/\text{m}^2$ (Pulz, 2001).

Pada jenis fotobioreaktor tubular atau *plate-type* dengan *surface-to-volume ratio* 20-80 m^2/m^3 dan besarnya pencahayaan mencapai 1.15 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ dengan *layer thickness* sampai 5 mm, produktivitas dapat mencapai 2-5 g berat kering per hari. 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 CO_2/O_2

Untuk laju fotosintesis yang tinggi, keseimbangan CO_2/O_2 harus disesuaikan, dimana enzim utama *carboxylating*, Rubisco, menggunakan CO_2 untuk siklus Calvin dan tidak menggunakan untuk O_2 fotorespirasi. Oksigen dapat menjadi permasalahan dalam kultur mikroalga dengan densitas sel tinggi karena akan menghambat laju fotosintesis.

Konsentrasi CO_2 biasanya harus dijaga selama margin yang sempit. Kandungan CO_2 udara 0,03% menjadi sub optimal bagi pertumbuhan dan pada umumnya tumbuh-tumbuhan dapat mentoleransi konsentrasi CO_2 hanya sampai 0,1%. Tetapi untuk kebanyakan strain dari mikroalga, telah diteliti bahwa mikroorganisme ini dapat mentoleransi kandungan CO_2 udara sampai 12% pada temperatur 35°C. Sampai saat ini tekanan parsial

O₂ (pO₂) dalam *suspense* 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 memengaruhi 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 *suspense* pada kondisi penurunan CO₂ dan kelarutan O₂ pada kenaikan temperatur (Pulz, 2001).

d) Nutrien dan Nilai pH

Suplai nutrient yang cukup untuk mikroalga adalah pre-kondisi untuk fotosintesis yang optimal. Defisiensi nutrient akan menyebabkan gangguan pada metabolisme dan ketidaksesuaian produksi pada *intermediate* proses fotosintesis. Deviasi dari nilai pH optimum akan memengaruhi psikologis reaksi dan produktivitas sehingga kondisi yang terkontrol dengan mudah harus dijaga pada rasio optimum dalam fotobioreaktor (Pulz, 2001).

2.3.2. Peranan Fotobioreaktor

Baik mikro maupun mikroalga mempunyai peranan yang sangat penting dalam perekonomian dunia dengan nilai perkiraan *turn over* sebesar US\$ 5 milyar/tahun. Mikroalga merupakan organisme yang unik dan berharga dalam beberapa aplikasi, dimana organisme ini merupakan organisme yang pertama *biological CO₂/O₂ exchanger* pada planet ini, penghasil biomassa dan merupakan suatu grup organisme ekologi yang beragam. Bakteri fotosintesis dan mikroalga telah menjadi suatu ketertarikan dalam beberapa penelitian, industrial dan kepentingan lingkungan hayati. Dasar dari penelitian-penelitian tersebut adalah untuk mendalami pemahaman proses fotosintesis secara selular pada organisme fotosintetik, tetapi beberapa penelitian juga telah diarahkan untuk keperluan

industri komersial yang dapat memasarkan produk yang dihasilkan dari proses ini. Mikroalga memiliki potensial bioteknologi yang besar untuk memproduksi substansi berharga untuk aplikasi makanan, kesehatan, kosmetika, industri farmasi dan juga untuk proses bioteknologi lainnya. Proses reaksi yang menghasilkan produk-produk komersial tersebut dijalankan dalam sebuah sistem yang dinamakan fotobioreaktor.

Proses *biological C-fixation* untuk mengurangi emisi industri relatif lebih mahal dibandingkan dengan teknik penghilangan CO₂ secara konvensional, tetapi akan dapat bernilai ekonomis dengan pemilihan jenis spesies mikroalga yang menghasilkan produk yang bernilai komersial tinggi. Sehingga basis bioteknologi untuk produksi yang paling efisien dari biomassa mikroalga merupakan kunci keberhasilan untuk masa depan organisme ini. Sistem teknis untuk produksi mikroorganisme fototropik diformulasikan dalam bentuk fotobioreaktor. Sistem ini telah dievaluasi pada berbagai konsep konfigurasi dengan pertimbangan potensial produktivitas dan prospek ekonominya. Desain secara teknik dan basis teknologi untuk fotobioreaktor merupakan pokok yang paling penting untuk keberhasilan ekonomi dalam lapangan bioteknologi fototropik.

2.3.3. Jenis Fotobioreaktor

Dari beberapa jenis fotobioreaktor yang dikembangkan untuk memproduksi biomassa mikroalga, masing-masing memiliki kelebihan dan keterbatasan. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2. 4. Perbandingan antara beberapa sistem kultivasi mikroalga

Sistem Kultur	Kelebihan	Keterbatasan
<i>Open ponds</i>	Relatif ekonomis, mudah dibersihkan setelah kultivasi, baik untuk kultivasi alga	Kontrol yang rendah pada kondisi kultur, sulit menumbuhkan kultur alga dalam waktu yang panjang
<i>Vertical-column photobioreactors</i>	Perpindahan massa yang tinggi, pencampuran yang baik dengan <i>shear</i> yang rendah, konsumsi energi rendah, sangat potensial untuk penskalaan, mudah disterilisasi, baik untuk immobilisasi alga,	Kecilnya luas permukaan yang mendapat cahaya, konstruksinya butuh bahan yang kompleks, <i>shear stress</i> pada kultur alga, berkurangnya luas permukaan yang mendapat cahaya saat <i>scale-up</i>

	mengurangi fotoinhibisi dan fotooksidasi	
<i>Flat-plate photobioreactors</i>	Besarnya luas permukaan yang mendapat cahaya, cocok untuk kultur di luar ruangan, baik untuk immobilisasi alga, jalan peninarannya baik, produktivitas biomasnya baik, relative murah, mudah dibersihkan, kecil akumulasi oksigen	<i>Scale up</i> membutuhkan banyak suku cadang dan bahan pendukung, sulit dalam mengontrol temperature kultur, terdapat tingkat pertumbuhan di dinding, kemungkinan <i>hydrodynamic stress</i> pada beberapa jenis alga
<i>Tubular photobioreactors</i>	Besarnya luas permukaan yang mendapat cahaya, cocok untuk kultur di luar ruangan, produktivitas biomasnya baik, relative murah	Terdapat gradient/perbedaan p, <i>dissolved oxygen</i> dan CO ₂ di sepanjang pipa, kerak, dan ada pertumbuhan di dinding, membutuhkan lahan tanah yang luas

(Ugwu *et al.*, 2002)

Dikarenakan sistem terbuka biasanya memiliki produktifitas yang kecil sehingga untuk skala industri banyak digunakan sistem tertutup seperti *tubular* fotobioreaktor. Fotobioreaktor sistem tertutup mempunyai berbagai bentuk, ukuran dan panjang yang disesuaikan dengan material yang digunakan (Pulz, O, 2001). Ada beberapa jenis fotobioreaktor sistem tertutup (dibedakan berdasarkan bentuk, *flow regime*, efisiensi cahaya dan luas permukaan kontaknya) yang biasanya digunakan dalam kultivasi mikroorganisme yaitu :

- *Tubular photobioreactor*
- *Conical photobioreactor*
- *Plat-type photobioreactor*
- *Buble column photobioreactor*

2.3.4. Fotobioreaktor Kolom Gelembung

Sistem fotobioreaktor terdiri dari beberapa bagian yaitu reaktor *vessel*, sistem sirkulasi gas, sistem titrasi gas, lemari yang bersih, sumber cahaya dan sistem pengendalian reaktor. Untuk kultivasi mikroalga sendiri dapat dilakukan dengan sistem *batch* atau kontinu. Tetapi dalam beberapa penelitian sistem kultivasi yang digunakan adalah semi-*batch* dimana gas CO₂ secara kontinu

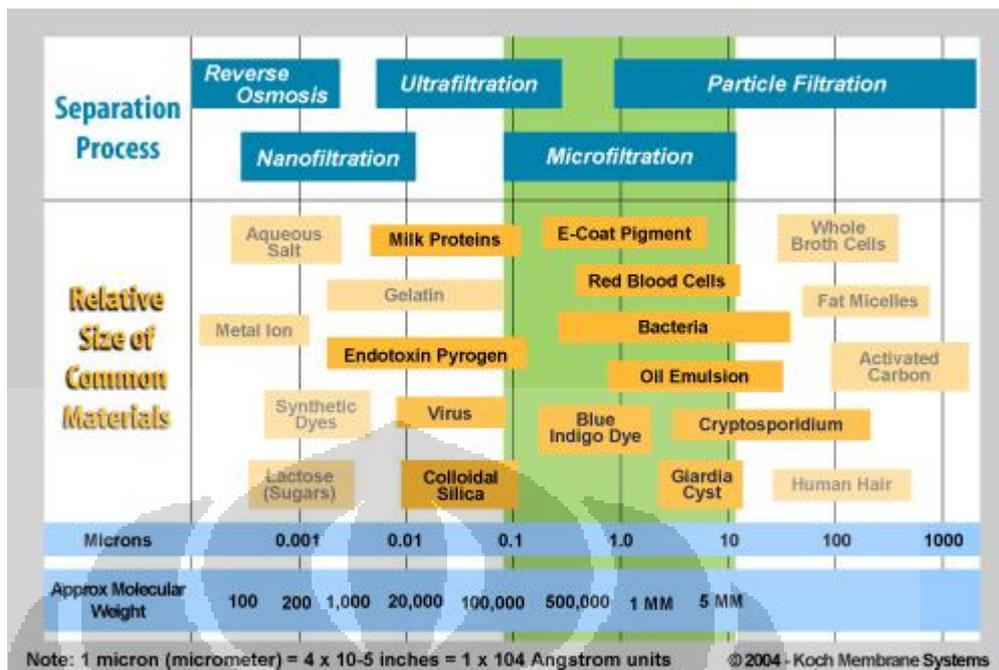
dialirkan ke dalam reaktor sedangkan mikroalga ditempatkan secara *batch*.

Dalam fotobioreaktor ini biasanya digunakan *sparger* yang fungsinya sama seperti pengaduk dalam reaktor berpengaduk. Fungsi dari *sparger* disini adalah agar pencampuran gas dan aerasi terjadi secara baik. Penggunaan fotobioreaktor kolom gelembung ini mempunyai beberapa keuntungan diantaranya biaya modal yang cukup rendah. Intensitas penerangan dalam fotobioreaktor kolom gelembung system batch harus dipertahankan pada tingkat yang sesuai dengan jumlah inokulum. Hal ini dikarenakan semakin bertambahnya waktu maka jumlah mikroorganisme dalam fotobioreaktor tersebut akan semakin banyak karena terjadi proses pembelahan sel. Semakin banyak jumlah mikroorganisme tersebut maka kemungkinan bagi mikroorganisme yang berada di bagian tengah dan belakang untuk memperoleh cahaya semakin minim karena tertutup oleh mikroorganisme yang berada di depannya. Distribusi yang tidak seimbang ini menyebabkan laju pertumbuhan mikroorganisme terganggu. Peristiwa ini dikenal dengan *self-shading of light*.

Dalam reaksi fotosintesis dihasilkan gas O₂ yang dapat menyebabkan kenaikan tekanan dan merusak fotobioreaktor. Dengan menggunakan sistem titrasi katalitik menggunakan gas H₂ atau menggunakan sistem aerasi dengan aerator, konsentrasi O₂ dalam fotobioreaktor dapat dihilangkan.

2.3.5. Mikrofiltrasi

Mikrofiltrasi merupakan suatu sistem penyaringan dimana komponen yang akan disaring mempunyai nilai yang lebih kecil dari mikrofilter dalam sistem tersebut. Mikrofilter tersedia dalam berbagai ukuran pori, diantaranya adalah 0.1, 0.3, dan 0.5 μm . Pada penelitian ini digunakan mikrofilter dengan ukuran 0.5 μm . Berikut merupakan range ukuran filter yang digunakan pada proses pemisahan:



Gambar 2.3. Range Ukuran Filter

Biasanya mikrofiltrasi diaplikasikan pada line pompa untuk menyaring kotoran agar air yang dihasilkan bersih dan sesuai dengan standard kesehatan yang ada. Mikrofiltrasi juga bisa diaplikasikan pada pemfilteran air minum agar kontaminan maupun bakteri yang mempunyai ukuran pori lebih besar dari mikrofilter mampu tersaring dengan baik. Dalam sistem kerjanya, mikrofilter mempunyai keterbatasan. Jika komponen yang disaring sudah terlalu pekat maka sebaiknya mikrofilter diganti dengan yang baru agar kinerjanya kembali optimal.

2.4 Biodiesel

Produksi dan penggunaan BBM alternatif harus segera direalisasikan untuk menutupi kekurangan terhadap kebutuhan BBM fosil yang semakin meningkat. Biodiesel dapat dibuat dari bermacam sumber, seperti minyak nabati, lemak hewani dan sisa dari minyak atau lemak (misalnya sisa minyak penggorengan). Biodiesel memiliki beberapa kelebihan dibanding bahan bakar diesel petroleum. Kelebihan tersebut antara lain :

1. Merupakan bahan bakar yang tidak beracun dan dapat dibiodegradasi
2. Mempunyai bilangan setana yang tinggi.
3. Mengurangi emisi karbon monoksida, hidrokarbon dan NOx.
4. Terdapat dalam fase cair.

Bahan bakar diesel dikehendaki relatif mudah terbakar sendiri (tanpa harus dipicu dengan letikan api busi) jika disemprotkan ke dalam udara panas bertekanan. Tolok ukur dari sifat ini adalah bilangan setana, yang didefinisikan sebagai % volume n-setana di dalam bahan bakar yang berupa campuran n-setana ($n\text{-C}_{16}\text{H}_{34}$) dan α -metil naftalena ($\alpha\text{-CH}_3\text{-C}_{10}\text{H}_7$) serta berkualitas pembakaran di dalam mesin diesel standar. n-setana (suatu hidrokarbon berantai lurus) sangat mudah terbakar sendiri dan diberi nilai bilangan setana 100, sedangkan α -metil naftalena (suatu hidrokarbon aromatik bercincin ganda) sangat sukar terbakar dan diberi nilai bilangan setana nol.

2.4.1 Karakteristik Minyak Diesel

Bilangan setana yang baik dari minyak diesel adalah lebih besar dari 30 dengan volatilitas yang tidak terlalu tinggi supaya pembakaran yang terjadi di dalamnya lebih sempurna. Minyak diesel dikehendaki memiliki kekentalan yang relatif rendah agar mudah mengalir melalui pompa injeksi. Untuk keselamatan selama penanganan dan penyimpanan, titik nyala harus cukup tinggi agar terhindar dari bahaya kebakaran pada suhu kamar. Kadar belerang dapat menyebabkan terjadinya keausan pada dinding silinder.

Jumlah endapan karbon pada bahan bakar diesel dapat diukur dengan metode Conradson atau Ramsbottom untuk memperkirakan kecenderungan timbulnya endapan karbon pada *nozzle* dan ruang bakar. Abu kemungkinan berasal dari produk mineral dan logam sabun yang tidak dapat larut dan jika tertinggal dalam dinding dan permukaan mesin dapat menyebabkan kerusakan *nozzle* dan menambah deposit dalam ruang bakar. Air dalam jumlah kecil yang berbentuk dispersi dalam bahan bakar sebenarnya tidak berbahaya bagi bagian-bagian mesin. Tetapi di daerah dingin, air tersebut dapat membentuk kristal-kristal es kecil yang dapat menyumbat saringan pada mesin.

2.4.2 Metil Ester Asam Lemak Sebagai Komponen Biodiesel

Metil ester asam lemak memiliki rumus molekul $\text{C}_{n-1}\text{H}_{2(n-r)-1}\text{CO-OCH}_3$ dengan nilai n yang umum adalah angka genap antara 8 sampai dengan 24 dan nilai r yang umum 0, 1, 2, atau 3. Beberapa metil ester asam lemak yang dikenal adalah :

1. Metil stearat, $C_{17}H_{35}COOCH_3$ [$n = 18$; $r = 0$]
2. Metil palmitat, $C_{15}H_{31}COOCH_3$ [$n = 16$; $r = 0$]
3. Metil laurat, $C_{11}H_{23}COOCH_3$ [$n = 12$; $r = 0$]
4. Metil oleat, $C_{17}H_{33}COOCH_3$ [$n = 18$; $r = 1$]
5. Metil linoleat, $C_{17}H_{31}COOCH_3$ [$n = 18$; $r = 2$]
6. Metil linolenat, $C_{17}H_{29}COOCH_3$ [$n = 18$; $r = 3$]

Kelebihan metil ester asam lemak dibanding asam-asam lemak lainnya :

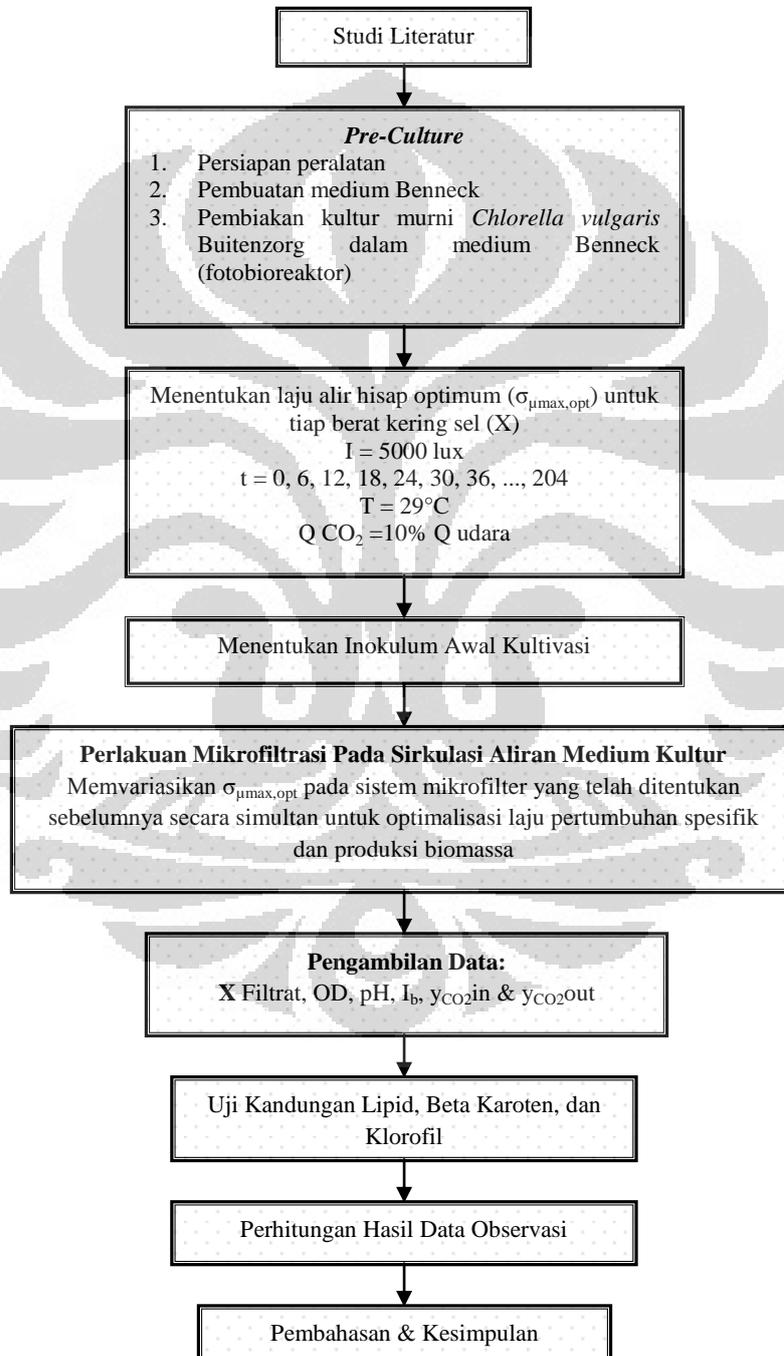
1. Ester dapat diproduksi pada suhu reaksi yang lebih rendah.
2. Gliserol yang dihasilkan dari metanolisis adalah bebas air.
3. Pemurnian metil ester lebih mudah dibanding dengan lemak lainnya karena titik didihnya lebih rendah.
4. Metil ester dapat diproses dalam peralatan karbon steel dengan biaya lebih rendah daripada asam lemak yang memerlukan peralatan stainless steel.

Metil ester asam lemak tak jenuh memiliki bilangan setana yang lebih kecil dibanding metil ester asam lemak jenuh ($r = 0$). Meningkatnya jumlah ikatan rangkap suatu metil ester asam lemak akan menyebabkan penurunan bilangan setana. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa untuk komponen biodiesel lebih dikehendaki metil ester asam lemak jenuh seperti yang terdapat dalam fraksi stearin.

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1. Diagram Alir Penelitian

Diagram alir penelitian secara keseluruhan dapat dilihat pada gambar 3.1 berikut ini:



Gambar 3. 1. Diagram Alir Penelitian

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Pada bagian berikut akan dijelaskan mengenai beberapa alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini. Pada penelitian ini akan digunakan peralatan-peralatan sebagai berikut :

1. Satu buah fotobioreaktor dengan volume total 18 dm^3 dengan bahan dasar kaca transparan yang dilengkapi dengan aliran *input* dan *output* gas dan udara yang mengandung CO_2 .
2. *Air Flow* kapasitas 140 L/m merek resun LP-100
3. Tabung CO_2 yang dilengkapi dengan regulator
4. Flowmeter udara dan flowmeter CO_2
5. Rangkaian filtrasi
6. *Spons*
7. Lampu Philips Halogen 20W/12V/50Hz (sebagai sumber pencahayaan) dan transformator 220 V primer/12 V sekunder.
8. T-septum yang terbuat dari bahan gelas (sebagai titik indikator konsentrasi CO_2 input fotobioreaktor).
9. Peralatan *glassware* yang terdiri dari Erlenmeyer 100 cm^3 (sebagai discharge gas CO_2 dan udara output fotobioreaktor), pipet ukur 5 cm^3 , pipet Pasteur, gelas ukur 10 cm^3 dan 100 cm^3 botol sampel sel dan beaker glass 20 cm^3 dan 100 cm^3 .
10. Selang silikon dan selang plastik (sebagai rangkaian peralatan dan konektor rangkaian).
11. Syringe 1001 RT Hamilton 1 cm^3 (inlet-outlet)(untuk mengambil sampel dari input dan output CO_2)
12. Set Lightmeter Lxtron LX-103 (sebagai penghitung kekuatan intensitas cahaya, dengan satuan Lx ataupun Foot-Candle).
13. pH meter HANNA Model HI 8014 dengan larutan buffer 4 dan 7
14. Lemari kerja ultraviolet (sebagai transfer box)
15. Spectro UV-VIS RS Spectrometer, LaboMed. Inc (untuk menghitung OD/absorbansi pada 600 nm).
16. Unit Gas Chromatography TCD Shimadzu GC-8A (untuk mengukur konsentrasi gas CO_2 input dan output fotobioreaktor), Recorder C-R6A

Chromatopac (untuk mendapatkan *print out* dari hasil GC), tabung gas (*carrier gas*) Helium.

Sedangkan untuk bahan penelitian yang digunakan adalah :

1. Starter mikroalga hijau *Chlorella vulgaris* dengan usia \pm 60 jam yang telah dihitung kerapatannya (berat kering/volume) dengan menggunakan spektrofotometer pada 600 nm.
2. KH_2PO_4 , MgSO_4 , NaNO_3 , FeCl_3 untuk membuat medium Benneck
3. Aquadest (sebagai bahan medium dan mencuci alat seperti gelas, pipet ukur dan lain-lain)
4. Alkohol 70% (untuk mencuci alat/sterilisasi dan mencegah kontaminasi)

3.3. Variabel Penelitian

Variabel-variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

3.3.1. Variabel Bebas

Variabel ini merupakan variabel yang diset pada suatu harga tertentu. Variabel bebas pada penelitian ini adalah waktu pengambilan data (t), kerapatan awal (X_0), variasi kecepatan hisapnya.

3.3.2. Variabel Terikat

Variabel ini merupakan variabel yang diukur dengan menggunakan alat. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kerapatan biomassa *Chlorella*, jumlah kerapatan sel (X), konsentrasi gas CO_2 dalam udara input dan output (y_{CO_2}), pH dan besar intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh reaktor (I_b).

3.3.3. Variabel Tetap

Variabel tetap dalam penelitian ini adalah kecepatan superficial CO_2 dan intensitas cahaya yang digunakan.

3.4. Prosedur Penelitian

Tahapan penelitian secara umum dapat dilihat pada Gambar. Masing-masing tahapan tersebut dapat dijabarkan lagi menjadi prosedur-prosedur seperti terlihat pada penjelasan berikut.

3.4.1. Persiapan Peralatan dan Medium

Peralatan seperti fotobioreaktor kolom gelembung (aquarium), filter udara, filter biomassa, multi sparger, peralatan *venture* hisap dan media Benneck yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu dalam panci bertekanan tinggi dalam selang waktu 1-2 jam atau dengan alkohol 70% sebelum dilakukan perangkaian peralatan riset ini.

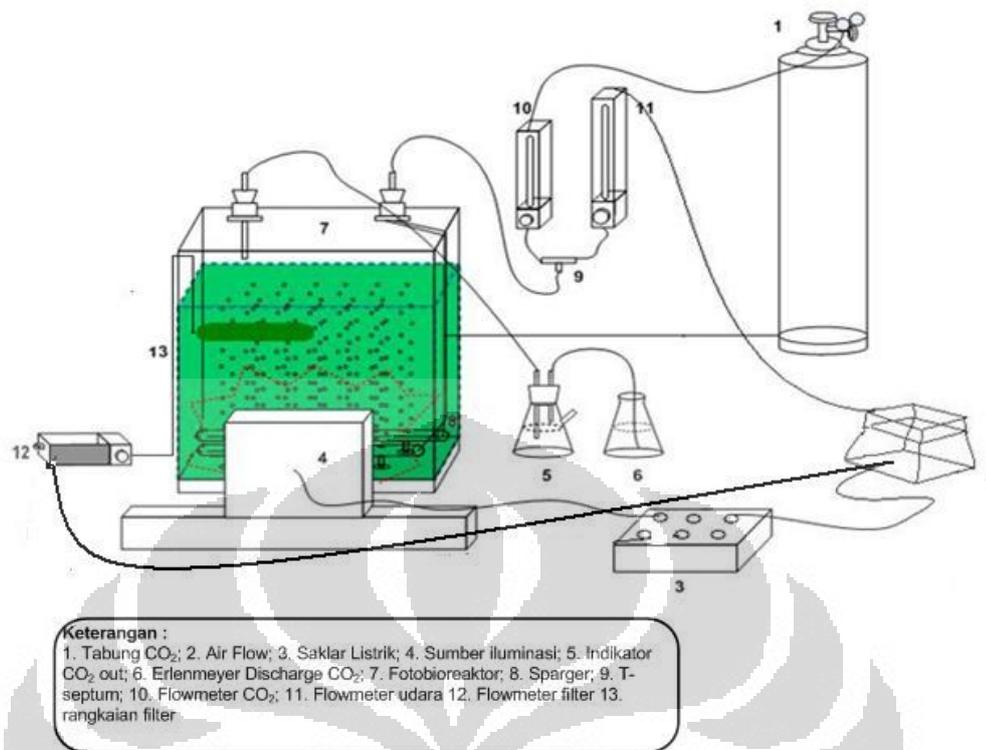
a. Pembuatan Rangkaian Peralatan

Peralatan riset dirangkai dalam suatu lemari kaca untuk melindungi reaktor dari kontaminan. Reaktor yang digunakan berukuran 18 L. Reaktor yang digunakan dihitung nilai α_{kaca} -nya sebagai fungsi dari intensitas. Nilai α_{kaca} ini digunakan untuk mengetahui hambatan cahaya dari reaktor dikarenakan ukurannya dan tebal nya yang berbeda-beda sehingga pada 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 untuk memastikan tidak ada sambungan yang bocor sekaligus mencegah kontaminan masuk ke dalam rangkaian. Kemudian dipasang rangkaian alat filtrasi di dinding dalam reaktor, untuk penghubung rangkaian filtrasi digunakan selang silikon dan satu buah flowmeter udara yang dihubungkan dengan satu buah air flow.

Kalibrasi flowmeter juga dilakukan agar dapat diketahui dengan tepat skala dari masing-masing flowmeter. Hal ini penting karena CO₂ merupakan sumber karbon yang akan dialirkan harus selalu dijaga konstan pada konsentrasi 10% dari laju aliran total. Kemudian untuk sumber iluminasi digunakan lampu halogen dengan kekuatan intensitas cahaya sampai 110 Klx. Karena lampu ini berdaya 12 V maka dipasang transformator untuk menurunkan tegangan dari 220 V ke 12 V.

Berikut adalah ilustrasi rangkaian alat penelitian yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu :



Gambar 3. 2. Skema Alat Penelitian

b. 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 cuci sampai bersih lalu dibilas dengan air sampai tidak terdapat lagi sisa sabun pada peralatan yang akan digunakan.

2. Pengeringan

Peralatan yang telah dicuci kemudian dibilas sampai bersih, selanjutnya dikeringkan menggunakan tisu kering atau dengan kompresor udara. Kemudian semua peralatan kaca yang memiliki rongga ditutup dengan *aluminium foil* untuk mencegah masuknya kontaminan setelah disterilisasi.

3. Sterilisasi

Peralatan dari kaca/logam disterilisasi menggunakan *oven* dengan suhu 120°C selama \pm 1 jam, sedangkan peralatan dari plastik atau berdimensi besar cukup direndam dalam alkohol 70% selama \pm 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-hal yang perlu diperhatikan yaitu lingkungan pada lemari kerja dan *transfer box* juga harus bersih dan steril, caranya dengan dilap terlebih dahulu, lalu disemprot dengan alkohol 70% dan diratakan dengan lap/tisu kering dan bersih. Lemari penyimpanan alat dan transfer box 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.

c. 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 yaitu:

Tabel 3. 1. Bahan – Bahan Pembuatan Medium Benneck

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

Pertimbangan penggunaan medium ini antara lain karena stok *Chlorella vulgaris* Buitenzorg murni yang didapat dengan menggunakan medium ini 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 dan cukup baik untuk digunakan sebagai media hidup *Chlorella vulgaris* Buitenzorg. Cara membuat satu liter medium :

1. Menyiapkan bahan-bahan di atas: MgSO_4 100 mg, KH_2PO_4 200 mg, NaNO_3 500 mg, FeCl_3 3-5 mg. Lalu keempat bahan tersebut dilarutkan dalam 1 dm^3 aquadest, diaduk sampai seluruh bahan larut.
2. Medium disterilisasi menggunakan autoclave selama $\pm 1,5$ jam, lalu didinginkan. Lakukan pemanasan sebanyak ± 3 kali untuk memastikan medium benar-benar steril. Cara membuka autoclave harus menunggu suhu dan tekanan autoclave turun agar tidak berbahaya.
3. Medium yang telah steril dan dingin dapat 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 disimpan.

3.4.2. Pemiakan Kultur *Chlorella vulgaris* dalam Medium Benneck

Medium kultur murni yang didapat harus dibiakan kembali sebelum dapat digunakan dalam riset. Tujuannya adalah selain untuk memperbanyak stok yang ada, juga untuk membuat *Chlorella vulgaris* tersebut beradaptasi dalam medium baru sebelum digunakan (melewati fasa lag). Cara pembiakan medium kultur murni:

1. Menyiapkan medium serta peralatan pembiakan (wadah, selang udara, tutup wadah) lalu disterilkan terlebih dahulu.
2. Stock murni *Chlorella vulgaris* dimasukkan kedalam wadah steril dan dicampur dengan medium Benneck yang telah steril. Perbandingan antara jumlah stock *Chlorella* dengan medium dapat diatur sesuai kebutuhan riset. Pindahan ini harus dijaga steril, dilakukan dalam *transfer box*, lingkungan disterilkan dengan alkohol 70% dan menggunakan api Bunsen.
3. Lalu medium kultur tersebut di-*bubbling* dengan menggunakan kompresor udara sebesar dandiberikan serbuk natrium bikarbonat sebagai sumber karbon. Pada tahap ini juga harus diberikan cahaya namun dengan intensitas yang kecil yaitu $\pm 1000 \text{ lx}$.

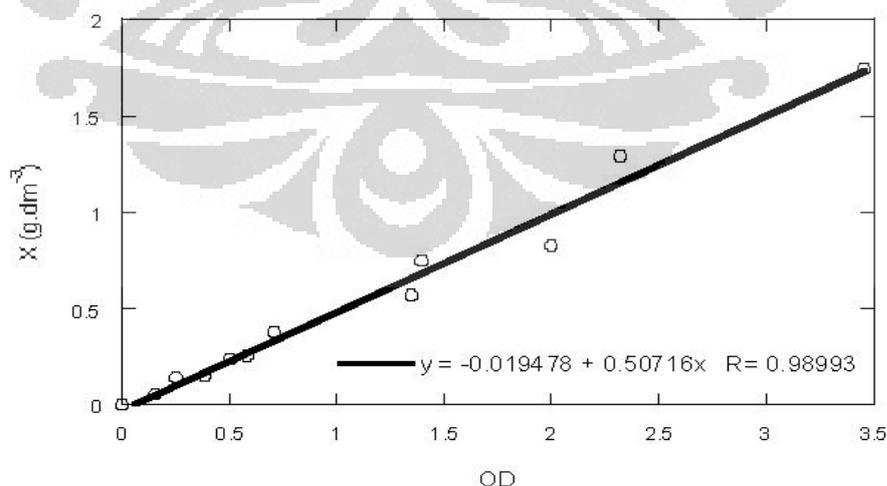
4. Pemiakan dapat dilakukan selama satu minggu atau lebih bila bertujuan untuk memperbanyak stok yang ada, tetapi jika hanya untuk melewati *lag time* dapat dilakukan selama 2-3 hari atau ± 60 jam, tergantung jumlah selnya.

3.4.3. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi ini bertujuan untuk memudahkan penghitungan sampel yang memiliki jumlah sel yang banyak dan mengetahui berat kering dari suatu sampel dengan hanya mengatur absorbansinya (OD) menggunakan spektrofotometer cahaya tampak. Kurva kalibrasi yang dibuat adalah kurva OD vs X.

Pembuatan kurva diawali dengan membuat beberapa sampel dengan nilai OD yang berbeda-beda. Satu nilai OD dibuat secara triplo sehingga pengukuran menjadi lebih akurat. Sampel yang telah disiapkan kemudian dikeringkan dengan menggunakan *hot plate* sehingga kadar air yang terkandung dalam sampel menghilang. Sampel yang telah kering kemudian ditimbang. Setiap sampel ditimbang tiga kali sehingga diperoleh hasil yang lebih akurat.

Setelah diperoleh berat kering dari masing-masing sampel kemudian di buat kurva antara OD vs X yang selanjutnya digunakan sebagai dasar dalam perhitungan nilai berat kering (X) dari hasil kultivasi. Kurva OD vs X yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 3.3 berikut.



Gambar 3. 3. Kurva kalibrasi OD vs X

3.4.4. Penentuan Kerapatan Biomassa Inokulum *Chlorella vulgaris*

Penentuan kerapatan biomassa inokulum sangat penting dalam riset ini karena secara garis besar berkaitan dengan jumlah sel *Chlorella vulgaris* yang terdapat dalam medium kultur. Kerapatan biomassa inokulum perlu diketahui agar dapat dilihat perubahan jumlahnya dari waktu ke waktu. Berikut merupakan langkah-langkah perhitungannya:

1. Homogenisasi yang dilakukan dengan pengadukan medium kultur sampai semua *Chlorella vulgaris* yang ada merata di dalamnya.
2. Pengambilan sejumlah volume inokulum stok yang teraduk merata.
3. Penghitungan kerapatan biomassa dapat dilakukan dengan alat bantu spektrofotometer. Berikut merupakan prosedur penggunaan spektrofotometer pada penelitian ini:
 - Spektrofotometer diatur pada panjang gelombang 600 nm. Panjang gelombang 600 nm didapat dari *peak* yang keluar selama kalibrasi panjang gelombang dengan menggunakan *spektrofotometer double beam*. Untuk melihat nilai OD pada penelitian ini digunakan *spektrofotometer single beam*, dan cahaya tampak (VIS) sebagai sumber cahaya yang akan diabsorpsi oleh *Chlorella sp.*
 - Spektrofotometer dikalibrasi dengan kuvet berisi medium pada panjang gelombang yang sama, kemudian diatur agar absorbansinya menunjukkan angka 0.000 (nol).
 - Sampel dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian diuji dalam spektrofotometer. Data yang diambil adalah nilai absorbansi pada rentang 0-0.2, jika melebihi dari rentang tersebut maka sampel harus diencerkan sampai nilai absorbansinya mencapai rentang tersebut. Nilai OD 0-0.2 berada pada nilai T (*Transmission*) 15-65. Kemudian jumlah selnya dapat diketahui dari kurva kalibrasi OD vs Nsel. Jika dilakukan pengenceran maka jumlah selnya dikalikan jumlah pengenceran yang dilakukan.

3.4.5. Pelaksanaan Kegiatan Riset

Pada penelitian ini akan dilakukan perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur. Perlakuan ini diharapkan dapat mengontrol pertumbuhan pada fotobioreaktor sehingga kerapatan mikroalga di dalamnya tidak terlalu pekat yang nantinya akan menyebabkan efek self shading. Mikrofilter yang digunakan berukuran 0.5 mikron. Hal ini dimaksudkan agar mikroalga *Chlorella vulgaris* dapat terfilter dengan sempurna (tidak ada mikroalga yang lolos dari mikrofilter).

Pada penelitian ini juga akan dilakukan variasi laju alir hisap berdasarkan kerapatan sel yang terdapat dalam medium kultur (Dianursanti 2009). Hal ini dilakukan agar pertumbuhan yang terjadi pada fasa log, dapat dikontrol dengan baik dan tidak terjadi penumpukkan sel dalam fotobioreaktor. Biomassa yang tersaring pada mikrofilter diambil dengan cara pengerokan yang dilakukan dalam interval waktu 48 jam sekali. Sesaat setelah pengambilan mikrofilter dari medium kultur, mikrofilter yang baru segera dipasang agar proses pemerangkapan sel pada mikrofilter dapat berlangsung secara kontinu. Adapun jenis pencahayaan yang diberikan pada penelitian ini adalah pencahayaan kontinu.

Kondisi operasi yang digunakan pada penelitian ini terangkum sebagai berikut:

- Temperatur fotobioreaktor sebesar 29°C.
- Tekanan gas dan udara dalam fotobioreaktor sebesar 1 atm.
- Kecepatan Superficial (U_G) untuk sparger membran sebesar 3,546 m/jam
- Konsentrasi CO₂ yang masuk kedalam reaktor adalah sebesar 10%.
- Laju alir hisap (σ) sebesar 3 L/min yang terus ditingkatkan berdasarkan penambahan jumlah sel dalam fotobioreaktor.

3.4.6. Pengambilan Data

Data-data yang diambil selama proses penelitian ini antara lain adalah :

- pH kultur media dalam fotobioreaktor
- Intensitas cahaya di depan reaktor/ I_o (Lx)
- Intensitas cahaya dibalik reaktor/ I_b (Lx)
- Kerapatan biomassa dalam kultur media dalam fotobioreaktor yang kemudian dikonfersikan ke dalam berat kering (g/L)
- Berat biomassa yang terperangkap dalam filter (g/L)

- Konsentrasi gas CO₂ dalam udara input dan output (y_{CO_2})

Berikut merupakan proses pengambilan data pada penelitian ini:

1. Menghitung nilai intensitas cahaya yang digunakan pada awal penelitian dengan menggunakan lux meter
2. Mengambil sample dari medium kultur dalam fotoreaktor sebanyak kurang lebih 10 ml untuk diukur kerapatan biomassa dalam kultur media/absorbansinya (X/OD) bersamaan dengan mengambil nilai pH, konsentrasi gas CO₂ dalam udara input dan output (y_{CO_2}) dan intensitas cahaya yang ditransmisikan ke belakang reaktor (I_b). Langkah-langkah pengambilan data-data ini diulangi setiap interval waktu 6 jam sekali hingga mikroalga dalam medium kultivasi memasuki fase stationer.
3. Biomassa yang terperangkap dalam mikrofilter juga diambil dengan cara mengeruknya dari mikrofilter yang digunakan. Mikrofilter diambil dari alat sirkulasi aliran medium kultur dan mikrofilter yang baru dipasang pada alat tersebut. Pengambilan biomassa yang melekat pada mikrofilter ini dilakukan setiap interval waktu 48 jam sekali hingga pertumbuhan alga pada medium kultur memasuki fase stationer.
4. Pengambilan data lipid dilakukan dengan metode Bligh-Dyer dengan prosedur berikut:
 - a. Sampel mikroalga yang telah dipecah dinding selnya disentrifuge selama 10 menit sekitar 8500 rpm sehingga terjadi pemisahan antara mikroalga dan medium.
 - b. *Cake* dipisahkan dari supernatannya kemudian diukur volumenya.
 - c. Setiap 1 mL *cake* dicampurkan dengan 2 mL metanol dan 1 mL kloroform menggunakan vortex.
 - d. Setelah tercampur sempurna, *cake* tersebut ditambahkan 1 mL kloroform dan 1 mL air demin, dan vortex kembali.
 - e. Sampel lalu disentrifuge selama 10 menit.
 - f. Setelah terjadi pemisahan, ambil bagian bawah yang merupakan campuran lipid (berwarna kuning) dengan pipet tetes.
 - g. Lipid kemudian dikeringkan dari kloroformnya.

- h. Berat lipid didapatkan dari selisih antara berat cawan kosong dan berat cawan dengan lipid kering.
5. Pengambilan data klorofil dan beta karoten
- Sampel dicampurkan aseton dengan perbandingan 1:1 dalam tabung 10 ml.
 - Kemudian ditambahkan *glass bead*.
 - Sonikasi dalam sonikator selama \pm 45 menit.
 - Di-sentrifuge \pm 30 menit
 - Untuk klorofil, ukur absorbansi sampel pada panjang gelombang 645 nm & 663 nm (dengan larutan standarnya adalah aseton).
 - Untuk beta karoten, absorbansi yang digunakan adalah pada panjang gelombang 450 nm.
6. Pengambilan data protein menggunakan prosedur Lowry (1951) sebagai berikut.
- Larutan protein standar (BSA 200 μ g/mL) dan dH₂O dicampurkan dalam jumlah tertentu (Tabel 3.2) dalam tabung reaksi sehingga diperoleh berbagai konsentrasi antara 20-200 mg dalam larutan standar 1 mL.
 - Pada tabung lain dicampurkan juga sampel protein dan dH₂O sehingga volume total larutan sampel 2,0 mL.
 - Kemudian larutan Biuret 5 mL ditambahkan ke dalam masing-masing tabung yang berisi larutan protein (standar dan sampel) dan segera divortex. Campuran reaksi diinkubasi pada suhu kamar tepat 10 menit. Untuk menghitung waktu reaksi digunakan *stopwatch*, dan waktu dihitung saat menambahkan larutan Biuret. Agar waktu reaksinya seragam untuk tiap sampel, ketika menambahkan larutan Biuret pada tabung berikutnya diberikan selang waktu tertentu.
 - Kemudian pada menit ke-10 sebanyak 0,5 mL reagen Folin ditambahkan ke dalam campuran reaksi dan segera dikocok menggunakan vortex. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit setelah penambahan reagen Folin.

- Serapan masing-masing larutan diukur tepat pada menit ke-30 yang ditetapkan pada panjang gelombang 750 nm.

Tabel 3. 2. Penentuan kadar protein dengan metode Lowry

	Blanko			Larutan standar			Sampel protein		
	1	2	3	4	5	6	7	8	
No. tabung	1	2	3	4	5	6	7	8	
Standar BSA (mL)	-	0,8	1,2	1,5	1,8	-	-	-	
Sampel protein (μ L)	-	-	-	-	-	5	50	200	
Aquades (mL)	2	1,2	0,8	0,5	0,2	1,995	1,95	1,8	
Larutan Biuret (mL)				5					
Reagen Folin (mL)				0,5					

3.4.7. Pengolahan Data Penelitian

Variabel penelitian yang diambil yaitu OD_{600} , pH dan I_b akan diolah menggunakan beberapa metode perhitungan, antara lain :

a. Pengolahan Data OD_{600}

Nilai OD yang didapatkan dari hasil penelitian akan dikonversi menjadi nilai N sel dan X dimana N sel adalah jumlah sel *Chlorella vulgaris* Buitenzorg yang terdapat di dalam satu satuan volume, sedangkan berat kering biomassa (X) adalah berat dari *Chlorella vulgaris* Buitenzorg di luar medium hidupnya. Jumlahnya dapat dihitung secara langsung dengan menggunakan data absorbansi pada 600 nm dan mengkorelasikannya dengan menggunakan kurva kalibrasi OD_{600} Vs Nsel dan OD_{600} Vs X. 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 dan merupakan waktu yang diperlukan untuk sekali pembelahan sel. Pada pengolahan ini model yang digunakan adalah persamaan kinetika monod, yaitu :

$$\mu = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} \text{ atau } \mu = \frac{1}{N} \cdot \frac{dN}{dt} \quad (3.1)$$

dimana :

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

N = jumlah sel (sel/cm^3)

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

t = waktu (h)

b. Pengolahan Data pH

Nilai pH digunakan untuk menghitung besar konsentrasi $[HCO_3^-]$ dalam reaktor dengan menggunakan persamaan Henderson-Hasellbach, yaitu :

$$[HCO_3^-] = \left(\frac{K_{CO_2}}{H_{CO_2}} \right) \left(\frac{y_{CO_2} \cdot P_T}{10^{-pH}} \right) \left(\frac{EXP [A_k (1 - T_0/T) + B_k \ln (T/T_0) + C_k (T/T_0 - 1)]}{EXP [A_h (1 - T_0/T) + B_h \ln (T/T_0) + C_h (T/T_0 - 1)]} \right) \quad (3.2)$$

dimana :

P_T = tekanan operasi (atm)

y_{CO_2} = konsentrasi gas CO_2 yang diumpankan (5%)

K_{CO_2} = $4,38 \times 10^{-7}$

H_{CO_2} = 2900 KPa/mol

T = temperatur operasi

T_0 = temperatur standar

c. Pengolahan Data CTR dan q_{CO_2}

CTR (Carbondioxide Transfer Rate) merupakan banyaknya gas CO_2 yang ditransferkan dalam suatu volum medium yang dibutuhkan oleh metabolisme sel selama satu satuan waktu tertentu. q_{CO_2} adalah laju gas CO_2 yang ditransfer dalam suatu volum medium karena adanya aktivitas kehidupan biologi dalam satu satuan waktu tertentu.

$$q_{CO_2} = \frac{\Delta y_{CO_2} \cdot \alpha_{CO_2}}{X} \quad (h^{-1}) \quad (3.3)$$

dimana :

X = berat kering 1 sel *Chlorella vulgaris* x jumlah sel/cm^3 (g/dm^3)

Δy_{CO_2} = selisih antara konsentrasi CO_2 pada gas keluaran dan gas masukan bioreaktor tembus cahaya

$$CTR = \Delta y_{CO_2} \cdot \alpha_{CO_2} \quad (g/dm^3 \cdot h) \quad (3.4)$$

dalam penelitian ini :

$$\alpha_{CO_2} = \frac{U_g \cdot A \cdot M_{CO_2} \cdot P}{V_{med} \cdot R \cdot T} \quad (3.5)$$

$$\alpha_{CO_2} = \frac{35,46 \text{ dm}^3/\text{h} \cdot 3,384 \text{ dm}^2 \cdot 44 \text{ g/mol} \cdot 1 \text{ atm}}{18 \text{ dm}^3 \cdot 0,082 \text{ L atm/mol}^\circ\text{K} \cdot 302^\circ\text{K}} \quad (3.6)$$

$$\alpha_{CO_2} = 11.84 \text{ g/dm}^3 \cdot \text{h}$$

d. Pengolahan Data I

Untuk menentukan besarnya nilai total energi cahaya yang tersedia melalui plat iluminasi selama kultivasi dapat dihitung dengan cara :

$$E_o = A \int_0^t (I_i - I_t) dt \quad (3.7)$$

sedangkan total energi cahaya yang terserap selama kultivasi adalah :

$$E_o = A \int_0^t I_t dt \quad (3.8)$$

dimana :

A = luas permukaan plat iluminasi (m^2)

I_t = intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh kultur medium (W/m^2)

I_i = intensitas cahaya yang diterima oleh kultur medium (W/m^2)

t = waktu (jam)

dengan nilai konversi $1 \text{ lx} = 2,95 \times 10^{-3} \text{ W/m}^2$ dan untuk mencari nilai E_x (energi cahaya yang dimanfaatkan selama kultivasi) dan E (energi cahaya yang tersedia selama kultivasi) adalah sebagai berikut :

$$E_x = \frac{\int_0^t I_t dt}{\Delta X \cdot s}$$

$$E_x = \frac{\int_0^t (I_i - I_t) dt}{\Delta X \cdot s} \quad (3.9)$$

dimana:

ΔX = berat biomassa yang dihasilkan selama masa kultivasi (g/dm^3)

s = jarak yang ditempuh cahaya di dalam kultur medium (m)

dengan demikian dapat dicari besarnya nilai efisiensi konversi energi cahaya untuk pembentukan biomassa (η_{bp}) :

$$\eta_{bp} = \frac{E_x}{E} \times 100\% \quad (3.10)$$

Data kandungan-kandungan yang diperoleh akan diolah dengan formulasi berikut:

1. Lipid

$$\% \text{lipid} = \frac{\text{berat botol akhir} - \text{berat botol kosong}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \quad (3.11)$$

2. Klorofil

$$\text{klorofil } a \text{ (mg / L)} = 12,25 \times A_{663} - 2,55 \times A_{645} \quad (3.12)$$

$$\text{klorofil } b \text{ (mg / L)} = 22,9 \times A_{645} - 4,64 \times A_{663} \quad (3.13)$$

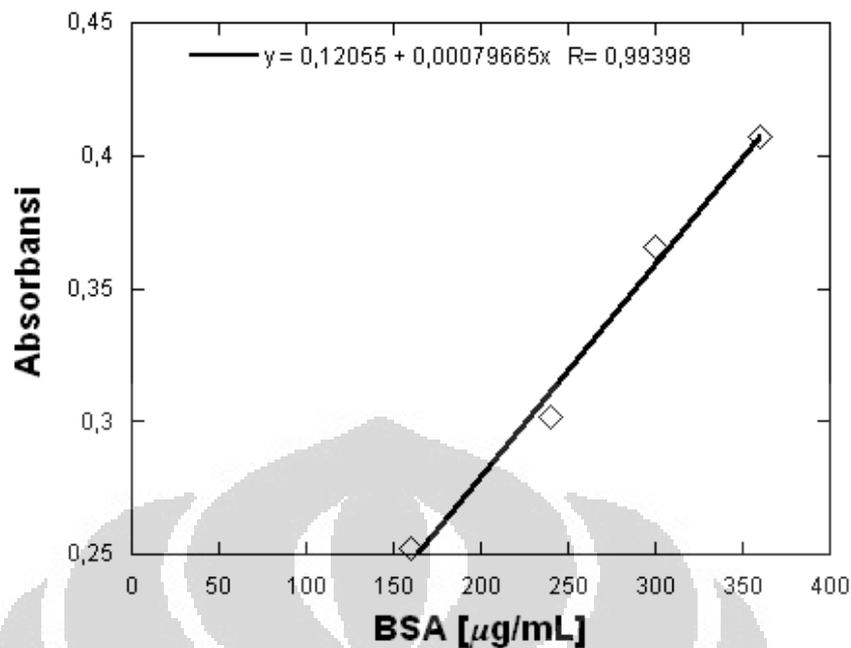
$$\text{klorofil } a + b \text{ (mg / L)} = 7,34 \times A_{663} + 17,76 \times A_{645} \quad (3.14)$$

3. Beta karoten

$$\text{beta karoten (mg / L)} = \frac{(1000 \times A_{450} - 3,27 \times (\text{klorofil } a) - 104(\text{klorofil } b))}{227} \quad (3.15)$$

4. Protein

Kurva kalibrasi dibuat untuk menghitung kadar protein yang terdapat pada sampel. Kurva yang dibuat berdasarkan data berat sampel BSA terhadap absorbansi (750 nm). Berdasarkan data yang diperoleh (dapat dilihat pada lampiran), grafik yang terbentuk adalah sebagai berikut:



Gambar 3. 4. Kurva kalibrasi uji protein

Dari kurva kalibrasi standar protein yang didapat, kadar protein dihitung sebagai berikut:

$$A_{750} = 0,00079667 \times C + 0,12055 \quad (3.16)$$

dengan C adalah kadar protein.

Hasil seluruh pengolahan data untuk tiap metode pemanenan selanjutnya akan dibandingkan melalui grafik pertumbuhan sel terhadap waktu, metabolisme terhadap waktu, dan fiksasi karbon dioksida terhadap waktu, serta kandungan nutrisi terhadap metode pemanenan agar dapat diamati pengaruh dari metode pemanenan terhadap jumlah biomassa dan kandungan nutrisinya.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab ini, akan dijelaskan mengenai pelaksanaan penelitian, hasil pengamatan, serta analisa dari hasil penelitian.

4.1. Pembahasan Umum

Pada penelitian ini, mikroalga *Chlorella vulgaris* dikultivasi dalam sebuah fotobioreaktor kolom gelembung dengan perlakuan filtrasi aliran sirkulasi media kultur untuk mengoptimalkan produksi biomasanya sehingga kandungan esensial dari mikroalga tersebut juga dapat diproduksi lebih banyak. Pembahasan mengenai hasil penelitian akan ditekankan pada pengaruh penggunaan mikrofilter dalam medium kultur terhadap peningkatan produksi biomassa *Chlorella vulgaris*. Metode ini akan dibandingkan dengan metode kultivasi lainnya yaitu penggunaan filter spons pada media kultivasi, perlakuan nonfilter pada pencahayaan altrasi, dan perlakuan nonfiltrasi pada pencahayaan simultan.

Penelitian ini menggunakan fotobioreaktor kolom gelembung tembus cahaya skala menengah bervolume 18 L dengan ukuran reaktor (38,5 x 10 x 60) cm³. Fotobioreaktor didesain memiliki ukuran yang cukup tipis. Hal ini bertujuan agar intensitas cahaya yang diberikan dapat mencapai hingga ke sisi belakang fotobioreaktor sehingga peristiwa self-shading (peristiwa penutupan satu sel oleh sel lain yang menyebabkan tidak meratanya cahaya yang didapatkan oleh alga) saat kultur sudah semakin padat dapat dihindari.

Pada proses kultivasi mikroalga *Chlorella vulgaris*, digunakan medium bennect. Medium bennect merupakan cairan yang mengandung berbagai macam senyawa yang dibutuhkan mikroalga selama proses kultivasi berlangsung. Senyawa-senyawa tersebut yaitu NaNO₃, MgSO₄, FeCl₃ dan KH₂PO₄. Ion Mg²⁺ diperlukan dalam mengontrol proses pembelahan sel, sedangkan PO₄³⁻ dan NO₃³⁻ sangat penting dalam pembentukan nukleat dan protein selama pertumbuhan sel.

Mikroalga memiliki massa jenis yang lebih besar daripada air. Hal ini terbukti jika didiamkan beberapa saat, mikroalga mengendap di dasar fotobioreaktor. Untuk itu, dalam proses kultivasinya diperlukan sparger agar persebaran mikroalga dalam fotobioreaktor dapat lebih merata. Persebaran sel ini

dilakukan agar nutrisi yang terdapat dalam medium kultur juga dapat digunakan secara merata oleh sel mikroalga. Melalui sparger tersebut udara dan CO₂ dialirkan ke dalam medium kultur. Besar laju alir udara dan CO₂ disesuaikan dengan nilai k_{la} pada fotobioreaktor yang digunakan. Hal ini bertujuan agar aerasi udara dan CO₂ pada fotobioreaktor dapat berlangsung optimal. Pada penelitian ini digunakan sparger membran. Sparger ini memiliki diameter pori yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan sparger biasa yang pernah digunakan pada penelitian-penelitian sebelumnya. Dengan penggunaan sparger membran ini diharapkan efek shear stress pada mikroalga dapat dihindari dan aerasi udara serta CO₂ dalam fotobioreaktor dapat lebih optimal.

Perlakuan filtrasi yang dilakukan pada media kultur telah terbukti dapat meningkatkan produksi biomassa *Chlorella vulgaris* (Rachma, 2008). Namun hal ini masih perlu dikembangkan melihat hasil filtrasi dengan menggunakan filter spons biasa tidak begitu maksimal. Hal ini disebabkan diameter pada filter spons tidak berukuran mikro seperti halnya ukuran pada mikroalga *Chlorella vulgaris*, sehingga pada saat filtrasi aliran sirkulasi medium dilakukan, masih terdapat mikroalga yang lolos dari filter spons tersebut. Oleh sebab itu, pada penelitian ini digunakan mikrofilter yang mempunyai ukuran pori sebesar 0.5 mikron. Dengan penggunaan mikrofilter ini diharapkan dapat meningkatkan produksi biomassa *Chlorella vulgaris*.

Penggunaan mikrofilter pada medium kultur bertujuan untuk menyerap sel biomassa yang dihasilkan dari pembelahan sel. Rangkaian mikrofilter ini disirkulasikan kembali ke dalam fotobioreaktor. Sirkulasi medium kultur yang melewati mikrofilter ini berfungsi untuk menjaga volume medium dalam fotobioreaktor tetap. Dasar penggunaan mikrofilter ini adalah pengurangan sejumlah sel dari fotobioreaktor untuk mengurangi kepekatan sel di dalamnya. Pengurangan kepekatan sel ini akan membuka peluang sel-sel yang ada dalam fotobioreaktor untuk mendapatkan energi cahaya yang cukup. Dengan berkurangnya kerapatan sel maka intensitas cahaya yang tembus hingga ke bagian belakang reaktor akan lebih besar. Jumlah biomassa yang dihasilkan merupakan jumlah sel mikroalga yang ada dalam fotobioreaktor ditambahkan dengan jumlah sel yang didapatkan dari penyaringan pada mikrofilter.

Pada proses kultivasi diperlukan sejumlah energi untuk mengembangbiakan *Chlorella vulgaris*. Energi yang dibutuhkan adalah energi cahaya yang kemudian digunakan sel mikroalga untuk berfotosintesis. Agar dapat menghitung kuantitas energi cahaya yang digunakan sel mikroalga selama proses perkembangbiakan maka fotobioreaktor bagian samping dan belakang ditutup dengan menggunakan karton yang berwarna hitam. Hanya beberapa titik saja pada bagian belakang fotobioreaktor yang sengaja dibiarkan terbuka untuk mengetahui kuantitas cahaya yang digunakan. Hal ini bertujuan untuk menghindari adanya penyerapan energi cahaya pada sisi lain fotobioreaktor selain sisi yang memang seharusnya dikenai cahaya. Dengan menutup semua sisi kecuali bagian depan maka penghitungan jumlah energi cahaya yang digunakan selama proses kultivasi akan lebih akurat.

Sebelum penelitian dilaksanakan, pensterilan alat sangat penting untuk dilakukan yaitu dengan mencuci bersih alat-alat yang akan digunakan, pembilasan dengan air panas pada alat-alat yang terbuat dari kaca, menyemprotnya dengan alkohol 70%, dan kemudian menyinari dengan lampu UV selama ± 7 menit. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan kontaminan yang ada pada alat-alat yang akan digunakan. Masalah kontaminan ini amat penting untuk diperhatikan mengingat *Chlorella vulgaris* cukup rentan terhadap kontaminan dalam bentuk apapun. Keberadaan kontaminan dalam fotobioreaktor dapat membunuh sel mikroalga secara perlahan-lahan. Hal ditandai dengan menurunnya nilai *Optical Density* dari waktu ke waktu. Saat fotobioreaktor sudah dimasuki kontaminan maka seluruh sel yang ada tidak dapat diselamatkan lagi dan penelitian harus diulang kembali. Hal ini disebabkan karena kontaminan yang ada tidak dapat dipisahkan karena sudah bercampur dalam medium kultur.

Pada penelitian ini terdapat beberapa tahapan yang dilakukan. Pada tahap awal penelitian, dilakukan penentuan kurva OD_{600} Vs X. Penentuan kurva OD_{600} Vs X ini bertujuan untuk mendapatkan nilai konversi Optical Density terhadap berat kering sel mikroalga selama masa kultivasi sehingga untuk mengetahui jumlah sel serta berat kering dari sampel, cukup dengan mengetahui tingkat absorbansinya yang kemudian dihubungkan dengan kurva OD_{600} Vs X. Panjang gelombang yang digunakan dalam pengukuran absorbansi adalah 600 nm, karena

absorbansi dari *Chlorella vulgaris* Buitenzorg pada panjang gelombang ini paling tinggi jika dibandingkan pada panjang gelombang cahaya tampak lainnya.

Tahapan penelitian yang kedua adalah pre-culture *Chlorella vulgaris* dalam medium *Benneck*. Pembiakan medium kultur murni *Chlorella vulgaris* dalam medium *Benneck* (*pre-culture*) dilakukan untuk mempersiapkan mikroalga berada pada fase pertumbuhan eksponensial atau telah melewati fase adaptasi (*lag phase*) serta untuk membiasakan mikroalga pada kondisi operasi yang akan digunakan pada penelitian ini. Waktu *pre-culture* untuk tiap jenis mikroorganisme berbeda-beda. Untuk *Chlorella vulgaris* yang akan digunakan pada penelitian kali ini diperlukan waktu selama 48 jam (Wijanarko, 2006). Proses ini dilakukan dalam fotobioreaktor berukuran kecil dengan intensitas penyinaran yang cukup serta aliran udara tanpa CO₂ tambahan. Sebagai pengganti CO₂ tambahan digunakan senyawa natrium bikarbonat (Na₂CO₃) agar suply ion bikarbonat pada sel pada proses fotosintesis tercukupi.

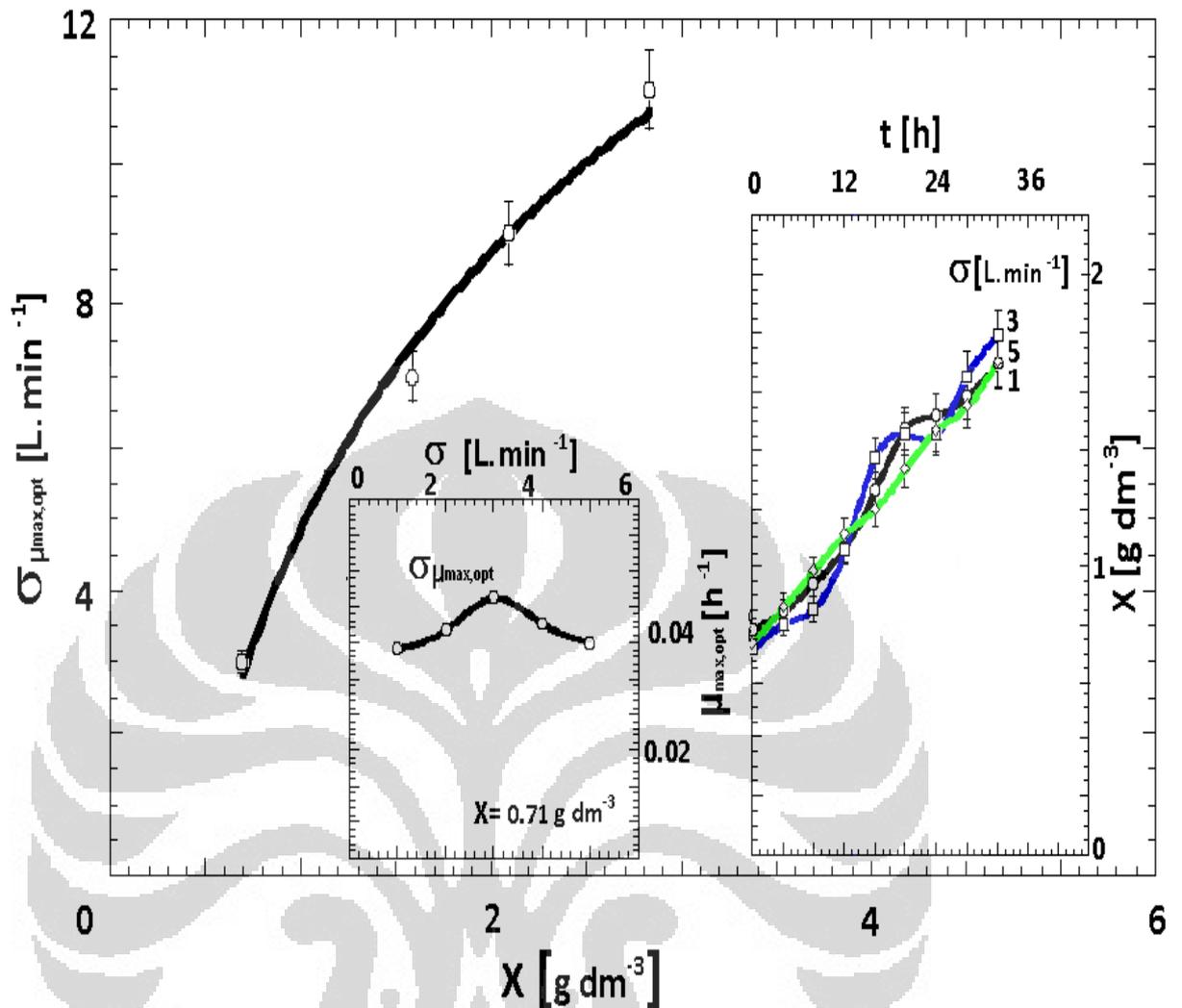
Langkah yang ketiga adalah pembuatan inokulum awal dari mikroalga *Chlorella vulgaris* Buitenzorg pada fotobioreaktor 18 L. Inokulum awal yang digunakan memiliki OD 0.2 hingga 0.3. Karena pada nilai OD ini kultivasi dapat berlangsung lebih optimal. Pada fotobioreaktor dengan inokulum awal inilah proses pengambilan data akan dilakukan. Proses pengambilan data merupakan tahapan keempat dalam penelitian ini. Fotobioreaktor telah dirancang dengan menambahkan sparger membran pada dasar reaktor yang dihubungkan dengan pompa udara dan tabung gas CO₂, serta mikrofilter yang telah siap untuk menyaring aliran sirkulasi medium kultur. Perangkat mikrofilter ini dihubungkan dengan pompa udara yang nantinya akan menyediakan energi untuk proses sirkulasi. Pada line sparger membran dengan pompa udara dan tabung gas CO₂, serta mikrofilter dengan pompa udara, terdapat flowmeter untuk mengontor laju alir superficial pada sparger dan laju alir hisap sirkulasi pada mikrofilter. Berdasarkan perhitungan kla, laju alir superficial yang melalui sparger membran pada fotobioreaktor ditetapkan pada nilai sebesar 2 L/min dimana 10% nya mengandung CO₂ dan 90% nya mengandung udara. Pencahayaan dilakukan secara kontinu sebesar 5000 lux dan terdapat pengaturan laju alir hisap aliran sirkulasi pada mikrofilter. Besar laju alir hisap ini dinaikan saat kerapatan sel pada

fotobioreaktor meningkat. Dengan penambahan laju alir hisap ini diharapkan kenaikan kerapatan sel dalam fotobioreaktor tidak terlalu besar dan proses fotosintesis pada fotobioreaktor bisa berlangsung lebih optimal dengan minimnya efek *self shading*. Mikrofilter diganti dalam rentang waktu 48 jam sekali. Hal ini disebabkan mikrofilter memiliki luas permukaan yang lebih besar daripada filter spons sehingga pemanenan mikroalga yang terdapat pada mikrofilter dapat dilakukan dalam rentang waktu yang lebih lama lebih lama. Hal ini membuktikan bahwa mikrofilter jauh lebih efisien daripada filter spons yang sudah padat dengan sel setelah disirkulasikan dalam medium kultur selama 12 jam. Dengan mikrofilter ini, mikroalga akan didapat dalam bentuk berat kering karena sel-sel mikroalga telah menempel pada sisi terluar mikrofilter.

Setelah semua kondisi operasi ditetapkan, penelitian baru dapat dimulai. Data yang diambil mencakup OD_{sel} , Berat biomassa pada mikrofilter (m_{bm}), pH, I_0 , I_{back} , y_{CO_2in} dan y_{CO_2out} untuk rentang waktu yang telah ditentukan. Data OD_{sel} diambil setiap 6 jam sekali yang digunakan untuk melihat adanya peningkatan berat kering sel dalam fotobioreaktor. Nilai pH digunakan untuk melakukan perhitungan terhadap konsentrasi substrat HCO_3^- yang terdapat dalam medium, sedangkan untuk mengetahui besarnya energi cahaya yang tersedia dan digunakan untuk pertumbuhan *Chlorella vulgaris* digunakan data I_0 dan I_{back} . Data y_{CO_2in} dan y_{CO_2out} digunakan untuk mengetahui seberapa besar CO_2 yang terfiksasi oleh *Chlorella vulgaris*.

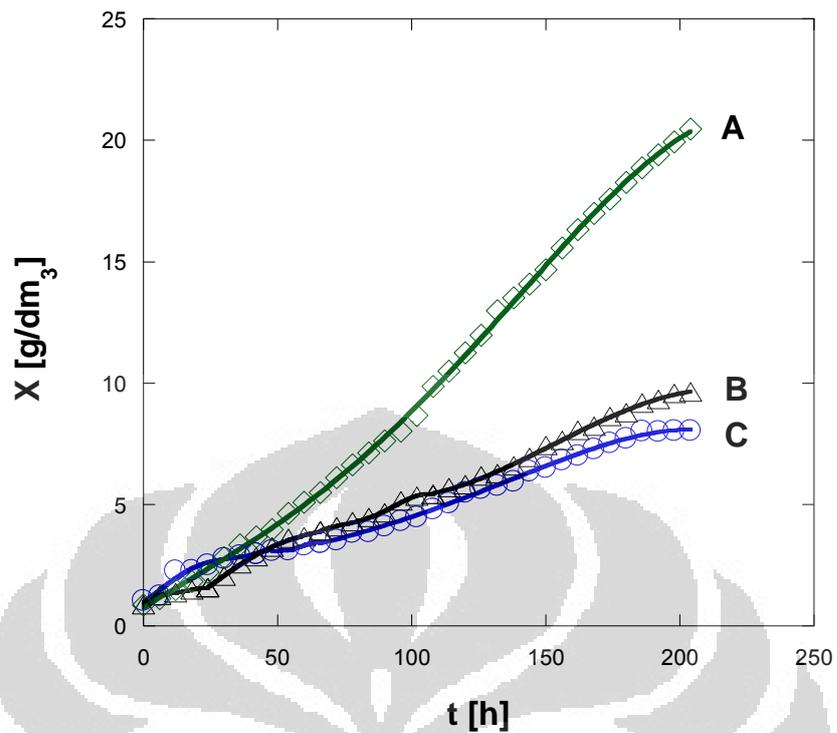
4.2. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris*.

Pada penelitian ini inokulum awal yang digunakan mempunyai nilai Optical Density 0.210 yang bila dikonversikan ke dalam berat kering biomassa mempunyai nilai 0.087 g/dm^3 . Intensitas cahaya yang digunakan adalah 5000 lux dan pencahayaan ini dilakukan dengan intensitas tetap. Pada penelitian ini dilakukan variasi laju alir hisap yang terus ditingkatkan sesuai dengan peningkatan pertumbuhan alga pada fotobioreaktor. Berikut merupakan kurva yang digunakan untuk mengetahui besar laju alir hisap optimum ($\sigma_{\mu_{max,opt}}$) yang digunakan ketika terjadi peningkatan berat kering biomassa pada fotobioreaktor selama masa kultivasi.

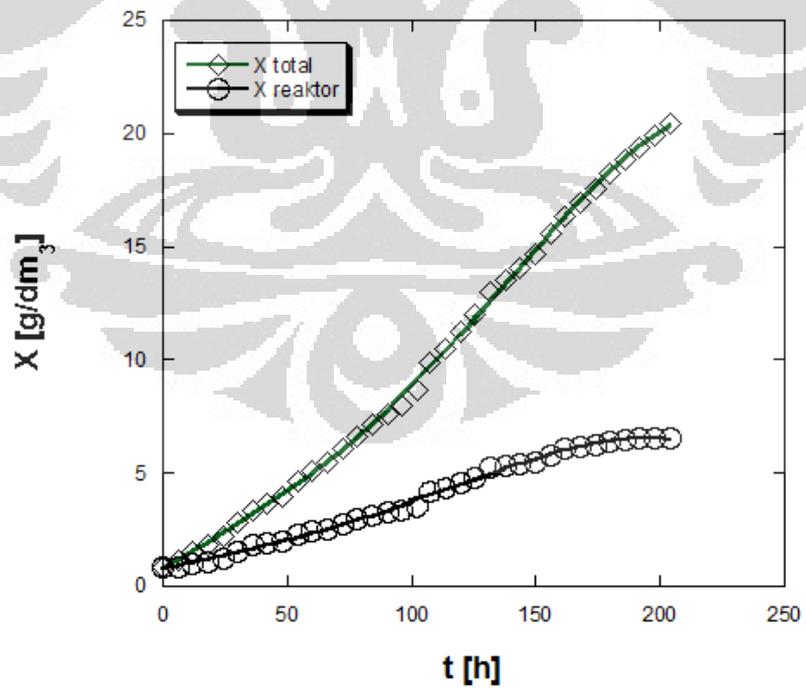


Gambar 4.1. Nilai $\sigma_{\mu_{max,opt}}$ pada Berbagai Berat Kering Sel (X)

Dengan kondisi operasi di atas, kultivasi dengan perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur dilakukan. Dan berikut merupakan hasil kurva pertumbuhan hasil kultivasi dengan menggunakan perlakuan mikrofiltrasi yang dibandingkan dengan perlakuan filter spons biasa dan perlakuan pencahayaan intensitas tetap tanpa filter.



Gambar 4.2. Pengaruh Perlakuan Mikrofiltrasi terhadap Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris*.
A: Perlakuan Mikrofiltrasi, B: Perlakuan Filter Spons, C: Perlakuan Tanpa Filter (Control)



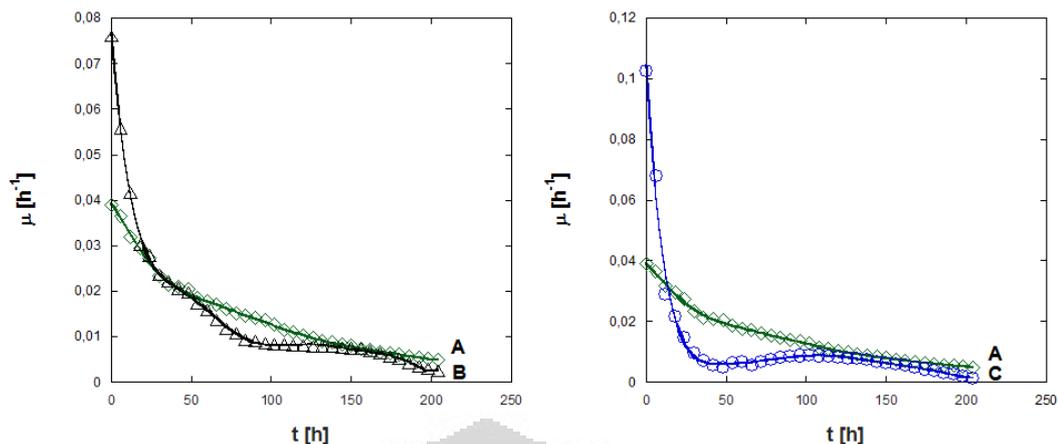
Gambar 4.3. Perbedaan Berat Biomassa *Chlorella vulgaris* Total dengan Berat Biomassa di Fotobioreaktor Pada Perlakuan Mikrofiltrasi Sirkulasi Aliran Medium Kultur

Berdasarkan gambar 4.2, dapat disimpulkan bahwa perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur, mempunyai tingkat produksi biomassa yang jauh lebih baik jika dibandingkan dengan dua perlakuan lainnya. Perlakuan mikrofiltrasi mempunyai tingkat produksi 2.12 kali lebih tinggi dibandingkan dengan filter spons biasa dan 2.54 kali lebih tinggi dibandingkan dengan pencahayaan intensitas tetap tanpa filter. Hal ini disebabkan penggunaan mikrofilter yang dapat menyaring mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan baik sehingga pada saat sirkulasi aliran medium kultur berlangsung tidak ada mikroalga yang lolos dan kembali masuk ke medium kultur. Perlakuan ini mempunyai dampak positif. Dengan sistem sirkulasi yang baik ini, kerapatan sel pada fotobioreaktor dapat dikontrol dengan baik sehingga efek self shading yang menyebabkan mikroalga tidak dapat melakukan fotosintesis dengan baik akibat tertutupnya cahaya karena kerapatan sel yang tinggi, dapat diminimalisasi.

Pada gambar 4.3 juga dapat dilihat pengaruh penggunaan mikrofilter pada sirkulasi aliran medium kultur. Pertumbuhan sel *Chlorella vulgaris* pada fotobioreaktor cenderung dipertahankan konstan. Perlakuan ini dinilai mempunyai dampak positif karena energi cahaya yang diberikan pada kultur mikroalga *Chlorella vulgaris* mampu dimanfaatkan dengan optimal sebagaimana yang telah disebutkan sebelumnya. Pemanfaatan cahaya yang optimal pada proses kultivasi akan berdampak positif yaitu optimalnya CO₂ yang mampu difiksasi oleh mikroalga dan produksi biomassa yang bernilai besar.

4.3. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap Laju Pertumbuhan (μ) *Chlorella vulgaris*.

Laju pertumbuhan spesifik (μ_x) merupakan laju pertumbuhan sel/produksi biomassa pada fasa logaritmik. Laju pertumbuhan juga dapat dikatakan sebagai waktu yang diperlukan untuk sekali pembelahan sel. Berikut adalah kurva laju pertumbuhan spesifik (μ_x) terhadap waktu (t).



Gambar 4.4. Pengaruh Perlakuan Mikrofiltrasi terhadap Laju Pertumbuhan (μ) *Chlorella vulgaris*. A: Perlakuan Mikrofiltrasi, B: Perlakuan Filter Spons, C: Perlakuan Tanpa Filter (Control)

Berdasarkan gambar 4.4 dapat disimpulkan bahwa penggunaan mikrofilter pada sirkulasi aliran medium kultur, mampu menjaga laju pertumbuhan dengan nilai penurunan laju pertumbuhan yang lebih kecil dibandingkan dengan dua metode lainnya. Laju pertumbuhan sangat penting untuk dipertahankan (bernilai konstan) karena laju pertumbuhan yang konstan akan mempunyai dampak pada banyaknya produksi biomassa yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pembahasan sebelumnya dimana produksi biomassa dengan perlakuan mikrofilter mempunyai nilai produksi yang paling besar.

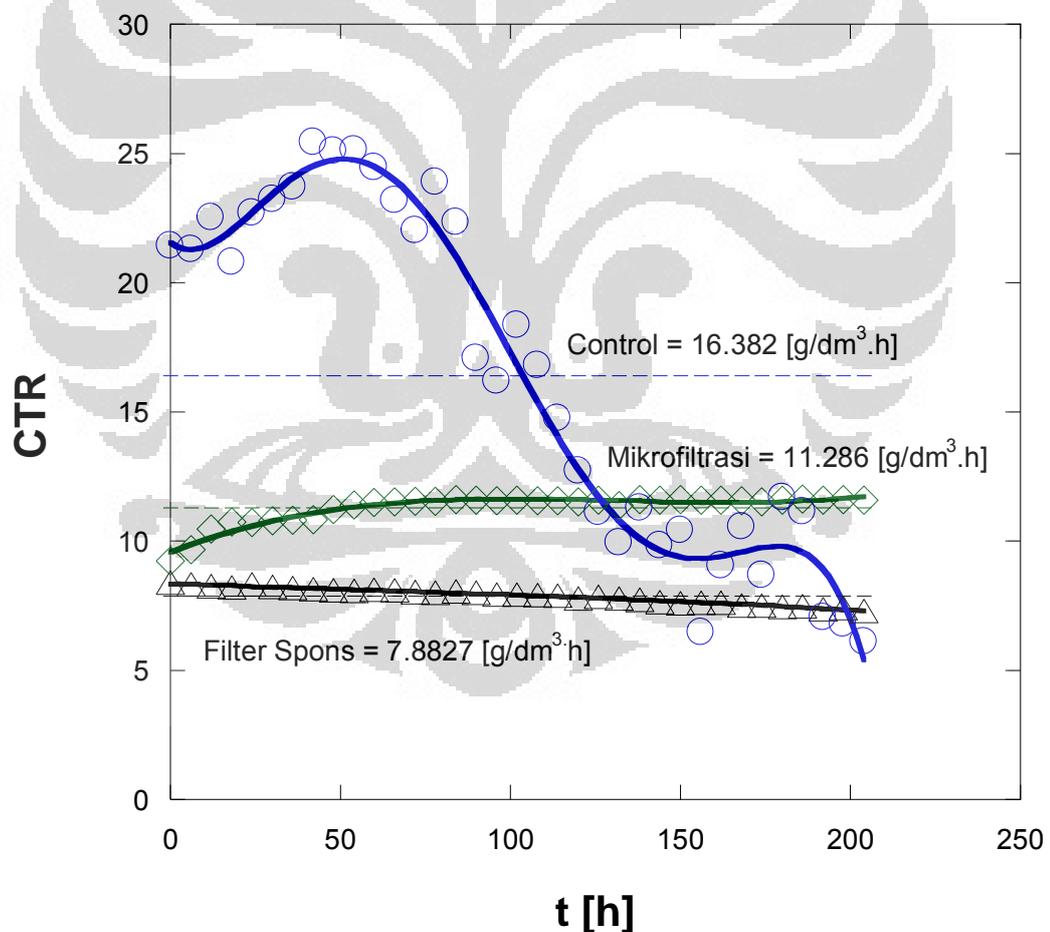
Laju pertumbuhan yang semakin menurun dapat disebabkan karena kerapatan sel dalam fotobioreaktor yang semakin meningkat. Kondisi ini dapat menimbulkan efek self shading, sehingga laju pertumbuhan pun menurun karena pencahayaan yang tidak diterima secara merata oleh sel untuk melakukan fotosintesis. Ketika pencahayaan tidak diterima secara merata oleh sel mikroalga, maka jumlah sel yang membelah pun akan semakin berkurang. Hal ini menyebabkan jumlah produksi biomassa yang semakin sedikit dari waktu ke waktu. Pada proses kultivasi dengan mikrofiltrasi, besar kenaikan kerapatan sel pada fotobioreaktor relatif kecil. Hal ini lah yang menyebabkan energi cahaya masih mampu untuk dimanfaatkan dengan baik oleh sel mikroalga dan laju pertumbuhan pun tidak mengalami penurunan yang drastis.

4.4. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap CTR *Chlorella vulgaris*.

CTR (*Carbon Transfer Rate*) merupakan banyaknya gas CO_2 yang ditransferkan dalam suatu volume medium kultur yang dibutuhkan oleh metabolisme sel selama satu satuan waktu tertentu (Wijanarko et al, 1997). Nilai CTR didapatkan dari presentase gas CO_2 yang mampu difiksasi ($\% \Delta y_{\text{CO}_2}$) dikalikan dengan koefisien transfer spesifik dari CO_2 (α_{CO_2}). Nilai CTR dapat dihitung dengan menggunakan persamaan berikut ini :

$$CTR = \% \Delta y_{\text{CO}_2} \cdot \alpha_{\text{CO}_2}$$

Kurva kecenderungan CTR sebagai fungsi waktu dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 4.5. CTR Pada Medium Kultur *Chlorella vulgaris*.

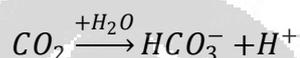
Berdasarkan gambar 4.5 dapat dilihat bahwa nilai CTR pada medium kultur dengan perlakuan mikrofiltrasi mempunyai nilai yang paling tinggi. Hal ini sesuai dengan hipotesis sistem mikrofiltrasi yang diterapkan pada penelitian kali ini. Dalam proses fotosintesis, *Chlorella vulgaris* membutuhkan CO₂ sebagai sumber karbon. Namun, seiring dengan peningkatan kerapatan sel *Chlorella vulgaris* pada fotobioreaktor, cahaya yang diberikan dengan intensitas tetap semakin sulit untuk tembus hingga sisi belakang fotobioreaktor agar semua sel mendapatkan energi cahaya yang cukup. Dengan keadaan seperti itu, sumber karbon yang terdapat dalam medium kultur tidak mampu dimanfaatkan dengan baik oleh sel *Chlorella vulgaris* karena semakin sedikit sel yang cukup mendapatkan energi cahaya untuk melakukan pembelahan. Untuk melakukan pembelahan sel, *Chlorella vulgaris* membutuhkan sumber karbon dan energi cahaya yang cukup. Kerapatan sel yang semakin tinggi menyebabkan medium kultur semakin pekat dengan sumber karbon dan hal ini menyebabkan CO₂ yang ditransfer ke dalam fotobioreaktor semakin banyak yang lepas (tidak terlarut pada medium kultur). Peristiwa ini dapat dilihat pada perlakuan pencahayaan intensitas tetap tanpa filter dimana nilai CTR pada perlakuan tersebut mempunyai penurunan nilai yang paling drastis dibandingkan dengan dua perlakuan lainnya.

Pada perlakuan mikrofiltrasi sirkulasi aliran medium kultur, kerapatan sel dijaga agar tidak meningkat terlalu tajam sehingga energi cahaya yang masuk, masih bisa dimanfaatkan dengan baik oleh sel mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk melakukan fotosintesis. Jika fotosintesis berlangsung dengan baik maka sumber karbon yang dibutuhkan juga akan semakin besar. Oleh sebab itulah, nilai CTR pada perlakuan mikrofiltrasi cenderung konstan. Berdasarkan hasil ini juga dapat disimpulkan *Chlorella vulgaris* dengan perlakuan mikrofiltrasi mempunyai potensi yang baik untuk mengurangi kadar gas rumah kaca karena kemampuannya yang baik dalam memfiksasi gas CO₂.

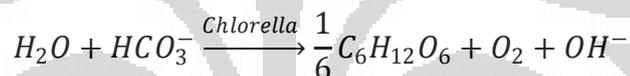
4.5. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap [HCO₃⁻] dalam Medium.

Chlorella vulgaris merupakan mikroorganisme akuatik yang membutuhkan cahaya dan sumber karbon agar bisa terus tumbuh dan berkembang. Berbeda dengan tumbuhan yang berada di darat, pada mikroalga

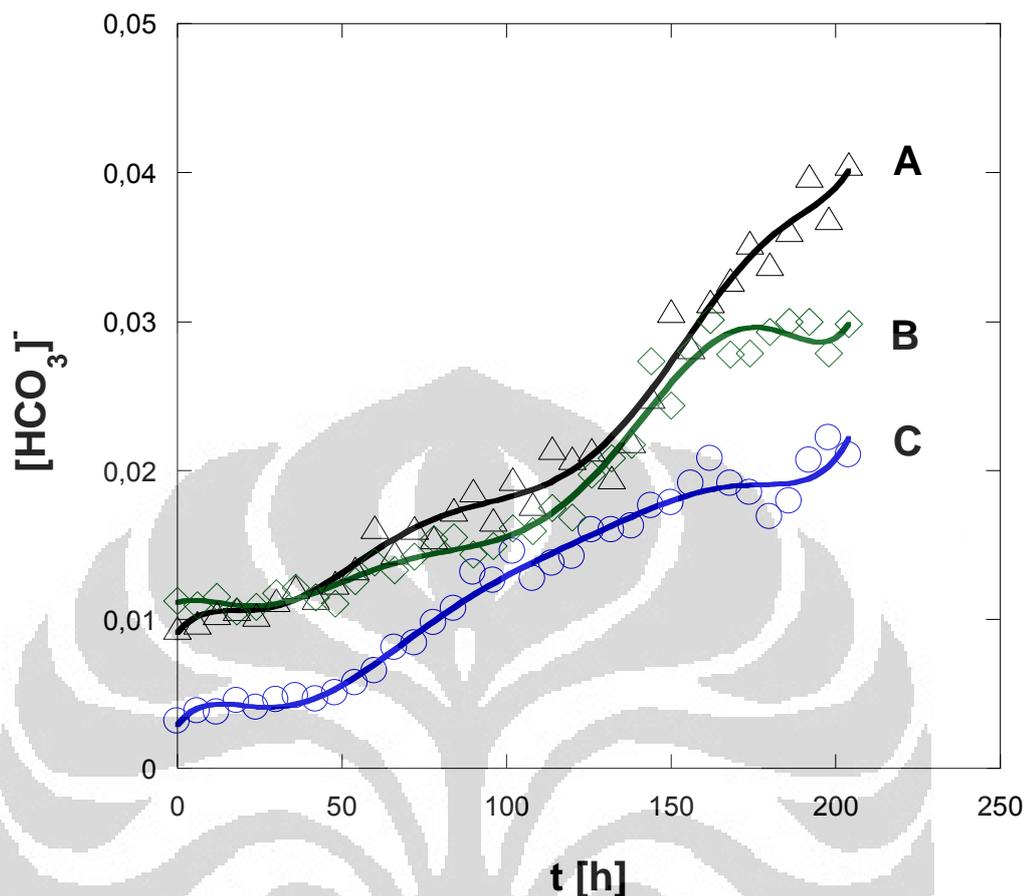
Chlorella vulgaris sumber karbon yang digunakan untuk berfotosintesis tidak secara langsung memanfaatkan gas CO₂, namun gas tersebut harus bereaksi terlebih dahulu dengan air (H₂O) untuk membentuk ion [HCO₃⁻] untuk kemudian dapat dimanfaatkan oleh mikrolaga sebagai sumber karbon dalam proses fotosintesis. Proses fotosintesis yang terjadi pada mikroalga *Chlorella vulgaris* merupakan proses yang dilakukan untuk menghasilkan energi yang dibutuhkan dalam pertumbuhannya. Berikut merupakan reaksi yang terjadi antara gas CO₂ dengan air pada medium kultur *Chlorella vulgaris*:



Setelah ion [HCO₃⁻] terbentuk, kemudian ion [HCO₃⁻] bereaksi dengan air yang terdapat dalam sel mikroalga membentuk senyawa organik seperti glukosa dan ion OH⁻. Berikut merupakan reaksi yang terjadi dalam sel mikroalga *Chlorella vulgaris*:



Besar nilai ion [HCO₃⁻] tersebut dapat dihitung dengan mengukur besarnya nilai pH pada medium kultur. Dan berikut merupakan kurva [HCO₃⁻] terhadap waktu pada perlakuan mikrofiltrasi dan perlakuan lainnya.

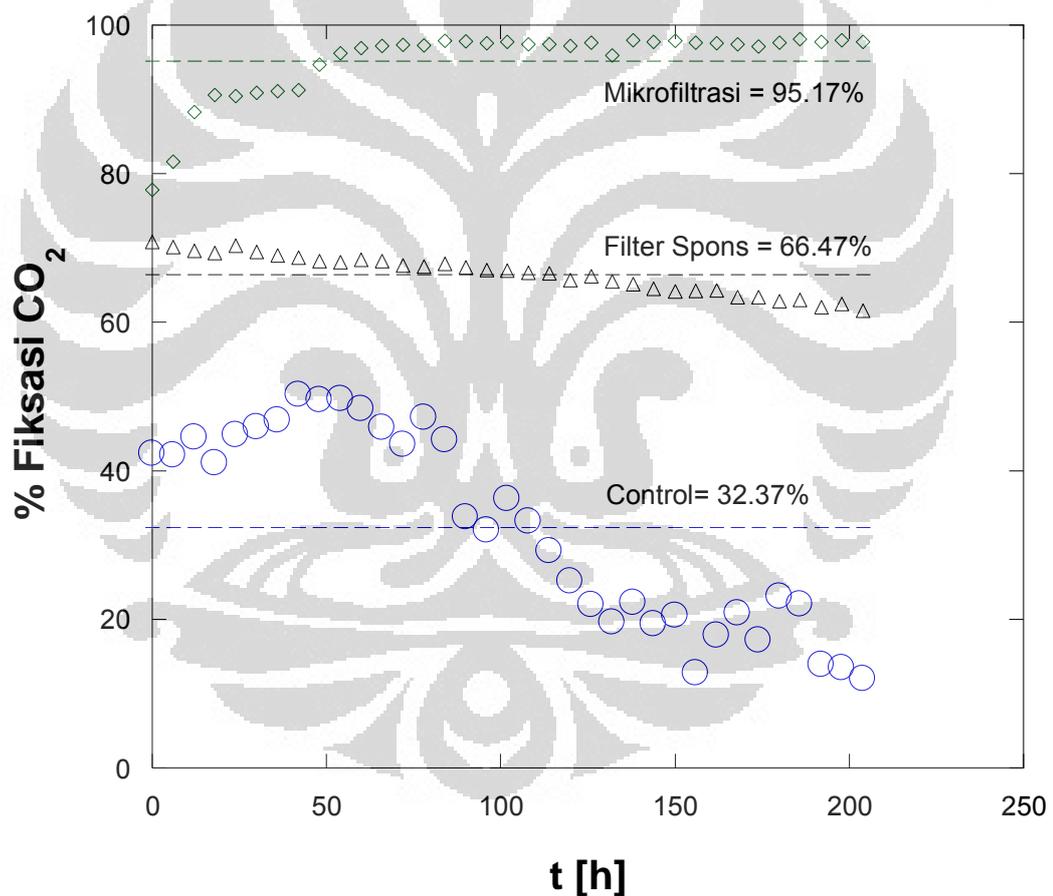


Gambar 4.6. Ketersediaan Ion $[\text{HCO}_3^-]$ Pada Medium Kultur *Chlorella vulgaris* Terhadap Waktu. A: Perlakuan Mikrofiltrasi, B: Perlakuan Filter Spons, C: Perlakuan Tanpa Filter (Control)

Berdasarkan gambar 4.6 dapat dilihat bahwa ketersediaan ion $[\text{HCO}_3^-]$ terus meningkat dari waktu ke waktu. Hal ini sesuai dengan nilai CTR yang telah ditulis pada pembahasan sebelumnya. Pertumbuhan sel pada medium kultur terus meningkatkan kerapatan sel. Hal ini sangat rentan menimbulkan efek self shading pada mikroalga *Chlorella vulgaris*. Salah satu akibat dari efek ini adalah pemanfaatan gas ion $[\text{HCO}_3^-]$ yang kurang optimal (keberadaannya semakin jenuh pada medium kultur). Meskipun ion ini sangat bermanfaat untuk pertumbuhan, ketersediaannya yang semakin jenuh pada medium kultur akan mengurangi kelarutan CO_2 yang ditransfer ke dalam medium kultur dari waktu ke waktu.

Meskipun kultivasi dengan perlakuan mikrofiltrasi mempunyai nilai ion $[\text{HCO}_3^-]$ yang semakin tinggi dari waktu ke waktu, nilai kenaikan ini tidak sebesar kenaikan yang terjadi pada kedua perlakuan kultivasi lainnya. Kultivasi dengan perlakuan mikrofiltrasi cenderung mendatar (tidak terjadi kenaikan yang cukup

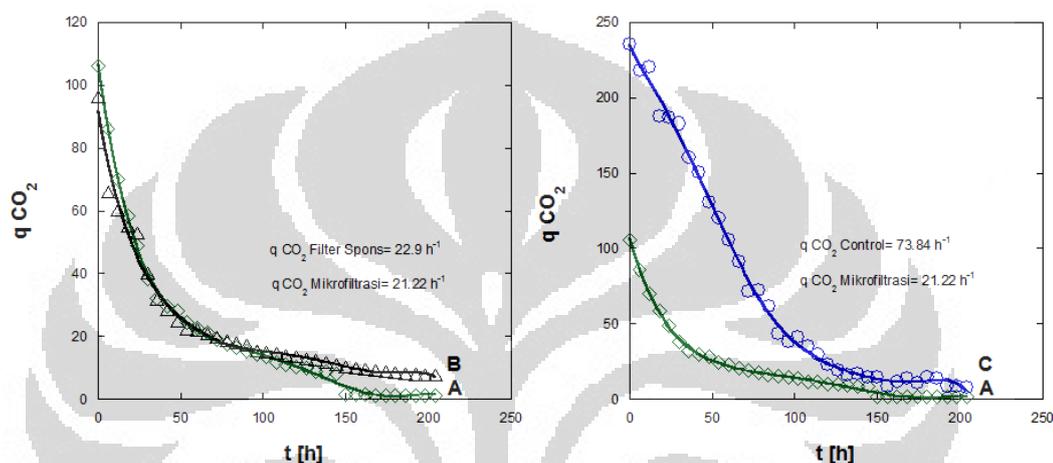
drastis). Hal ini menandakan bahwa sirkulasi aliran medium kultur dengan mikrofiltrasi mempunyai kemampuan yang lebih baik dalam penyerapan ion $[\text{HCO}_3^-]$ dari waktu ke waktu jika dibandingkan dengan ketiga perlakuan lainnya. Hal ini sesuai dengan nilai pH medium kultur yang tidak terjadi kenaikan secara significant. Artinya derajat keasaman pada medium kultur mampu dipertahankan pada kondisi optimumnya. Maka dapat disimpulkan juga bahwa efisiensi fiksasi CO_2 tertinggi dapat diperoleh jika penggunaan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur diterapkan. Hal ini dapat dibuktikan dari kurva presentase gas CO_2 yang mampu diserap medium kultur pada setiap perlakuan pada gambar di bawah ini:



Gambar 4.7. Prosentase Fiksasi CO_2 Pada Setiap Perlakuan Medium Kultur *Chlorella vulgaris* Terhadap Waktu.

4.6. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap Laju Fiksasi Karbondioksida (q_{CO_2}) oleh *Chlorella vulgaris*.

q_{CO_2} adalah laju gas CO_2 yang ditransfer dalam suatu volume medium karena adanya aktivitas kehidupan biologi dalam satu satuan waktu tertentu. Nilai q_{CO_2} didapatkan dari pengolahan data CTR, dimana nilai q dapat didefinisikan sebagai CTR per satuan biomassa (Wijanarko et al, 2004). Berikut adalah kurva q_{CO_2} terhadap waktu kultivasi.



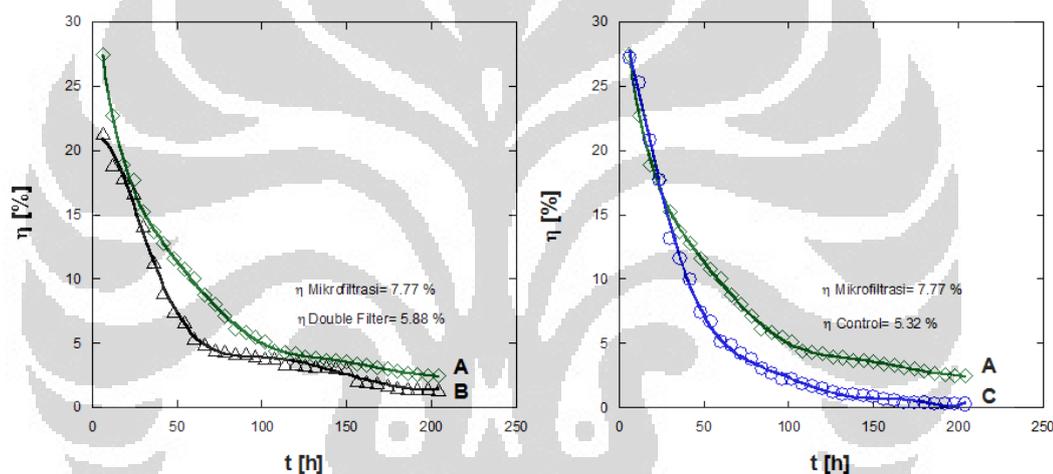
Gambar 4.8. Pengaruh Perlakuan Mikrofiltrasi terhadap Laju Fiksasi Karbondioksida (q_{CO_2}) oleh *Chlorella vulgaris*. A: Perlakuan Mikrofiltrasi, B: Perlakuan Filter Spons, C: Perlakuan Tanpa Filter (Control)

Berdasarkan gambar 4.8 dapat disimpulkan bahwa perlakuan pemerangkapan sel pada medium kultur mempunyai nilai laju fiksasi CO_2 yang besar. Hal ini dapat dilihat dari nilai laju fiksasi terbesar yang dimiliki mikroalga pada perlakuan mikrofiltrasi dan double filter. Dengan perlakuan mikrofiltrasi, gas CO_2 dapat ditransfer kedalam fotobioreaktor dalam jumlah yang lebih banyak. Hal ini disebabkan, dengan perlakuan mikrofiltrasi gas CO_2 memiliki tempat yang lebih banyak untuk melakukan kontak dengan air. Kontak yang baik ini dapat terjadi karena kerapatan sel dalam fotobioreaktor dapat dikontrol dengan baik. Semakin banyak gas CO_2 yang terlarut dalam fotobioreaktor maka semakin banyak ion $[HCO_3^-]$ yang dapat dimanfaatkan mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk melakukan proses fotosintesis. Proses fotosintesis ini pun akan maksimal jika energi cahaya yang tersedia cukup. Oleh sebab itulah mikrofiltrasi digunakan dalam penelitian ini. Mikrofiltrasi mempunyai kemampuan yang baik untuk

menghindari lonjakan pertumbuhan dalam fotobioreaktor. Hal ini secara tidak langsung akan berdampak positif pada nilai laju fiksasi gas CO₂ oleh mikroalga *Chlorella vulgaris*.

4.7. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap Efisiensi Penyerapan Energi Cahaya oleh *Chlorella vulgaris*.

Nilai efisiensi energi cahaya yang digunakan dalam proses kultivasi mikroalga sangat penting untuk diketahui. Karena dari nilai inilah nantinya akan didapat perlakuan kultivasi yang menggunakan energi cahaya yang paling efisien. Berikut merupakan kurva efisiensi energi cahaya yang digunakan oleh mikroalga *Chlorella vulgaris* selama proses kultivasi berlangsung.

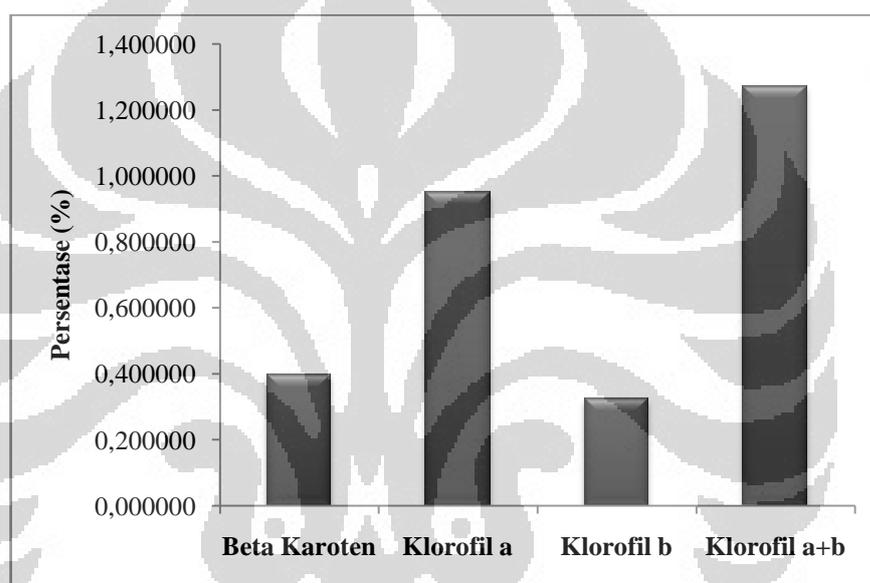


Gambar 4.9. Pengaruh Perlakuan Mikrofiltrasi terhadap Efisiensi Penyerapan Energi Cahaya Oleh *Chlorella vulgaris*. A: Perlakuan Mikrofiltrasi, B: Perlakuan Filter Spons, C: Perlakuan Tanpa Filter (Control)

Berdasarkan gambar 4.9 dapat disimpulkan bahwa kultivasi mikroalga dengan perlakuan mikrofiltrasi pada aliran medium kultur mempunyai nilai efisiensi penyerapan energi cahaya yang paling besar dibandingkan dengan dua perlakuan kultivasi lainnya. Hal ini disebabkan pada kultivasi dengan perlakuan mikrofiltrasi, pertumbuhan sel *Chlorella vulgaris* pada fotobioreaktor tidak dibiarkan melonjak tajam. Mikrofilter bekerja dengan cukup baik untuk menjaga kerapatan sel pada fotobioreaktor sehingga energi cahaya yang diberikan mampu dimanfaatkan dengan baik oleh mikroalga untuk melakukan fotosintesis. Hal ini akan berdampak pada peningkatan produksi biomassa yang lebih besar.

4.8. Pengaruh Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur Terhadap Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris*.

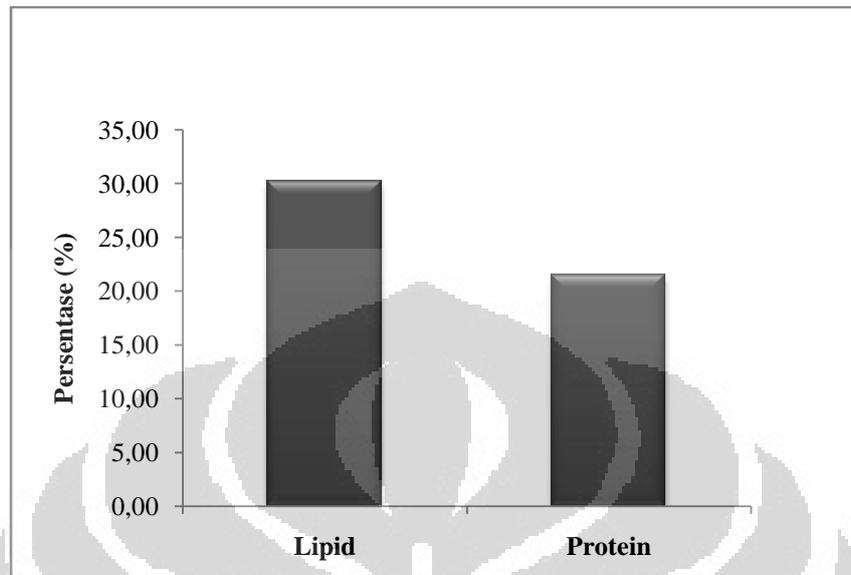
Kandungan esensial merupakan hal yang substansial ketika peningkatan produksi biomassa *Chlorella vulgaris* dilakukan. Hal ini disebabkan kandungan dari biomassa mikroalga yang akan dimanfaatkan untuk pemenuhan kebutuhan manusia dimana energi terbarukan merupakan salah satunya. Pada penelitian ini uji kandungan dilakukan untuk mengetahui kandungan beta karoten, klorofil, lipid, dan protein. Berikut merupakan grafik hasil pengujian beta karoten dan klorofil pada penelitian kali ini.



Gambar 4.10. Hasil Uji Kandungan Beta Karoten dan Klorofil

Berdasarkan gambar 4.10 dapat disimpulkan bahwa mikroalga *Chlorella vulgaris* yang dikultivasi mempunyai kandungan klorofil yang cukup baik untuk dapat dimanfaatkan sebagai suplemen gizi tambahan yang baik dikonsumsi oleh manusia. Hal ini sesuai dengan literatur yang ada dimana kandungan klorofil *Chlorella vulgaris* yang dikultivasi mempunyai rentang di antara 0.7-2.7% yaitu 1.27%. Sementara itu, kandungan beta karoten yang juga bermanfaat sebagai provitamin A pada tubuh manusia, terdapat dalam porsi yang cukup kecil yaitu 0.4%. Hal ini masih jauh jika dibandingkan dengan literatur yang ada. Karena kandungan beta karoten bisa mencapai 3.3% hingga 11.2%. Oleh sebab itu sangat sayang jika mikroalga yang dihasilkan dimanfaatkan untuk mengambil kandungan

betakaroten yang terdapat didalamnya. Uji kandungan lipid dan protein dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 4.11. Hasil Uji Kandungan Lipid dan Protein

Pengujian lipid dilakukan untuk mengetahui besar kandungan lipid yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku biodiesel. Hasil uji lipid menunjukkan nilai sebesar 30.15%. Nilai ini palung besar jika dibandingkan dengan kandungan protein, klorofil, dan juga beta karoten. Adapun jenis asam lemak yang paling banyak terdapat pada kandungan lipid hasil mikrofiltrasi setelah diuji lebih lanjut adalah asam stearat. Jenis asam ini merupakan asam lemak jenuh yang mempunyai potensi untuk dijadikan bahan baku biodiesel. Persen berat asam stearat yang diuji mempunyai nilai 56.96%. Dengan demikian hasil uji ini menunjukkan bahwa *Chlorella vulgaris* hasil kultivasi dengan perlakuan mikrofiltrasi mempunyai potensi yang cukup besar untuk dijadikan bahan baku biodiesel.

BAB 5

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini dengan mengkultivasi *Chlorella vulgaris* Buitenzorg pada Fotobioreaktor Kolom Gelembung dalam medium Benneck, temperatur 29°C, tekanan operasi 1 atm, sumber pencahayaan lampu Phillip Halogen 20W/12V/50Hz, dan konsentrasi CO₂ 10 % adalah:

1. Perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur *Chlorella vulgaris* menunjukkan hasil produksi biomassa 2.12 kali lebih tinggi dibandingkan dengan filter spons biasa dan 2.54 kali lebih tinggi dibandingkan dengan pencahayaan intensitas tetap tanpa filter.
2. Perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur *Chlorella vulgaris* mempunyai laju pertumbuhan dengan penurunan terkecil dibandingkan perlakuan dengan filter spons biasa dan pencahayaan intensitas tetap tanpa filter.
3. Perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur *Chlorella vulgaris* menghasilkan fiksasi CO₂ yang lebih baik daripada perlakuan dengan filter spons biasa dan pencahayaan intensitas tetap tanpa filter. Hal ini dapat dilihat dari efisiensi biofiksasi CO₂ pada perlakuan mikrofiltrasi yang mencapai nilai 95.17%.
4. Perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur *Chlorella vulgaris* mempunyai tingkat efisiensi terbaik dalam penggunaan energi cahaya dengan nilai efisiensi sebesar 7.77%.
5. Kandungan Lipid yang terdapat pada *Chlorella vulgaris* hasil kultivasi dengan perlakuan mikrofiltrasi pada sirkulasi aliran medium kultur mempunyai potensi yang baik untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku biodiesel.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (n.d.). www.superglossary.com/biology/Rubp.html. (Diakses tanggal 20 Maret 2010).
- Anonim. (n.d.). <http://www.nhm.ac.uk>. (Diakses tanggal 20 Maret 2010).
- Anonim.(n.d.). [http:// www. gtamart. com/ mart/ products/ chlorella _ vulgaris](http://www.gtamart.com/mart/products/chlorella_vulgaris). (Diakses tanggal 20 Maret 2010).
- Anonim. (n.d.). <http://www.chlorellafactor.com>. (Diakses tanggal 20 Maret 2010).
- Anonim. (n.d.). <http://www.life.ui.ac.edu/govindjee/paper/gov.html>. (Diakses tanggal 20 Maret 2010).
- Anonim. (n.d.). <http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorella>. (Diakses tanggal 22 Maret 2010).
- Anonim. (n.d.). *Reaksi Terang*. <http://metabolismelink.freshotia.com>. (Diakses tanggal 19 Maret 2010).
- Anonim. (n.d.). *Composition of Chlorella*. <http://www.chlorella.com>. (Diakses tanggal 19 Maret 2010).
- Anonim. (n.d.). *Struktur Sel Chlorella*. <http://www.tuberose.com>. (Diakses tanggal 19 Maret 2010).
- Chun-Yen Chen. (2010). “*Cultivation, Photobioreactor Design and Harvesting Of Microalgae for Biodiesel Production*”. Department of Chemical Engineering, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan.
- Dianursanti. “*Peningkatan Produksi Biomassa Chlorella vulgaris Melalui Perlakuan Teknik Pemerangkapan Sel dalam Aliran Sirkulasi Media Kultur*”. Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Lihua Cheng. (2005). “*Carbon Dioxide Removal from Air by Microalgae Cultured In A Membrane-Photobioreactor*”. College of Materials Science and Chemical Engineering, Zhejiang University, Hangzhou China.
- Muryanto. (2006). “*Produksi Biomassa Chlorella sp. Dengan Pencahayaan Periodik Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung Susun Seri*”. Departemen Gas dan Petrokimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia, 2006.
- Permata, Indah. (2007). “*Peningkatan Produksi Biomassa Chlorella sp. dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung Skala Menengah Melalui Pengaturan*”

Kerapatan Fluks Cahaya". Departemen Gas dan Petrokimia. Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok.

Sheng-Yi Chiu. (2007) "*Reduction of CO₂ by A High-Density Culture of Chlorella sp. In A Semicontinuous Photobioreactor*". Department of Biological Science and Technology, National Chiao Tung University.

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

Syarif, Ahmed. (2007). "*Peningkatan Produksi Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg Dengan Filtrasi Aliran Sirkulasi Medium Kultur Pada Pencahayaan Altrasi*". Departemen Gas dan Petrokimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Teresa M. Mata. (2009). "*Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications*". Faculty of Engineering, University of Porto.

Wijanarko, A. (2004). *Jurnal Teknologi* "*Effect Of photoperiodicity On CO₂ Fixation By Chlorella vulgaris Buitenzorg In Bubble Coloumn Photobioreactor For food supplement Production*". Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Wijanarko, A. et al.. (2006). *Jurnal Teknologi* "*Enhancement of Carbon Dioxide Fixation by Alteration of Illumination during Chlorella vulgaris Buitenzorg Growth*". Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Wijanarko, A. et al.. (2007). *Jurnal Teknologi* "*Pengaruh Pencahayaan Siklus Harian Terhadap Produksi Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg Dalam Fotobioreaktor kolom gelembung*". Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Wirosaputro, Sukiman. (2002). *Chlorella Untuk Kesehatan Global*. Gadjah Mada University Press.

Yanna Liang. (2009). "*Biomass And Lipid Productivities of Chlorella vulgaris Under Autotrophic, Heterotrophic and Mixotrophic Growth Conditions*". Department of Civil and Environmental Engineering, Southern Illinois University.

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A: Data Hasil Penelitian

A.1. Data Hasil Kultivasi Control

Jam ke	OD _R	X [g/dm ³]	μ [h ⁻¹]	Y _{in} (%)	Y _{out} (%)	Δy CO ₂	% ΔyCO ₂	pH	I _o	I _b	CTR	q CO ₂	(HCO ₃) ⁻
0	0.218	0.091083	0.10241	5.1867	2.9891	0.4237	42.3699	6.63	5196.667	1180	21.44173	235.409	0.003153
6	0.231	0.097676	0.067992	5.4988	3.1851	0.4208	42.0765	6.69	5196.667	1112	21.29323	217.9986	0.003838
12	0.240	0.10224	0.028839	5.1398	2.8519	0.4451	44.5134	6.71	5196.667	1048	22.52647	220.3285	0.003757
18	0.257	0.110862	0.021451	5.7832	3.4078	0.4107	41.0741	6.74	5196.667	893.3333	20.786	187.4942	0.00453
24	0.278	0.121512	0.014502	5.4437	3.0012	0.4487	44.8684	6.72	5196.667	780	22.70611	186.8624	0.004072
30	0.289	0.127091	0.0095555	5.7330	3.1005	0.4592	45.9184	6.75	5196.667	603.3333	23.23747	182.8408	0.004595
36	0.330	0.147885	0.0069272	5.7911	3.0782	0.4685	46.8460	6.77	5196.667	540	23.70692	160.3067	0.00486
42	0.372	0.169186	0.0055342	5.3935	2.6823	0.5027	50.2679	6.78	5196.667	470	25.4386	150.3592	0.004632
48	0.417	0.192008	0.0049028	5.2746	2.6589	0.4959	49.5905	6.83	5196.667	356.6667	25.09578	130.702	0.005082
54	0.451	0.209251	0.0062469	5.4293	2.7312	0.4970	49.6952	6.87	5196.667	323.3333	25.14876	120.1846	0.005736
60	0.495	0.231566	0.0067782	5.3978	2.7890	0.4833	48.3308	6.93	5196.667	253.3333	24.45831	105.6212	0.006548
66	0.540	0.254388	0.0055816	5.4308	2.9412	0.4584	45.8422	7.02	5196.667	240	23.19894	91.19496	0.008105
72	0.645	0.30764	0.0066708	5.3813	3.0389	0.4353	43.5285	7.04	5196.667	210	22.02806	71.60332	0.00841
78	0.691	0.33097	0.0072125	5.6980	3.0074	0.4722	47.2201	7.08	5196.667	186.6667	23.89621	72.20063	0.009764
84	0.751	0.361399	0.0081002	5.5813	3.1174	0.4415	44.1456	7.13	5196.667	153.3333	22.34036	61.81629	0.010731
90	0.813	0.392843	0.0083992	6.5341	4.3290	0.3375	33.7476	7.15	5196.667	133.3333	17.07831	43.47362	0.013154
96	0.871	0.422258	0.0085981	5.9932	4.0762	0.3199	31.9863	7.17	5196.667	113.3333	16.18698	38.33429	0.012634
102	0.920	0.447109	0.0088027	5.8765	3.7450	0.3627	36.2716	7.24	5196.667	113.3333	18.35562	41.05399	0.014555

108	0.980	0.477539	0.0085883	5.2599	3.5123	0.3322	33.2250	7.23	5196.667	93.33333	16.81384	35.20937	0.012731
114	1.024	0.499854	0.0084269	5.5566	3.9367	0.2915	29.1527	7.24	5196.667	83.33333	14.75304	29.5147	0.013762
120	1.123	0.550232	0.0079131	5.3560	4.0091	0.2515	25.1475	7.27	5196.667	73.33333	12.72615	23.12872	0.014214
126	1.207	0.592664	0.007807	5.8932	4.5985	0.2197	21.9694	7.28	5196.667	60	11.11784	18.75909	0.016004
132	1.273	0.626137	0.0076283	5.7633	4.6312	0.1964	19.6433	7.29	5196.667	53.33333	9.940676	15.87621	0.016016
138	1.333	0.656566	0.0073398	5.5872	4.3421	0.2228	22.2849	7.31	5196.667	50	11.27749	17.17647	0.016259
144	1.390	0.685474	0.0067057	5.9240	4.7746	0.1940	19.4024	7.32	5196.667	46.66667	9.818802	14.3241	0.01764
150	1.457	0.719454	0.0063557	5.5900	4.4398	0.2058	20.5760	7.35	5196.667	40.66667	10.41271	14.47308	0.017836
156	1.510	0.746334	0.0058127	5.5928	4.8765	0.1281	12.8075	7.38	5196.667	32.33333	6.481388	8.684304	0.019121
162	1.557	0.77017	0.0053418	5.5447	4.5533	0.1788	17.8801	7.42	5196.667	28	9.04843	11.74861	0.020786
168	1.582	0.782849	0.0047768	5.2170	4.1280	0.2087	20.8741	7.41	5196.667	21.66667	10.56354	13.49371	0.019112
174	1.610	0.79705	0.0042009	4.9390	4.0905	0.1718	17.1796	7.42	5196.667	20	8.693911	10.90762	0.018515
180	1.612	0.798064	0.0036408	4.2036	3.2314	0.2313	23.1278	7.45	5196.667	17.66667	11.70406	14.66557	0.016885
186	1.615	0.799585	0.0030009	4.2672	3.3267	0.2204	22.0402	7.47	5196.667	16	11.15368	13.94933	0.017949
192	1.617	0.800431	0.00245	5.0305	4.3304	0.1392	13.9171	7.46	5196.667	14.66667	7.042896	8.798884	0.020678
198	1.623	0.803812	0.0018289	5.3986	4.6730	0.1344	13.4405	7.46	5196.667	14	6.801716	8.461827	0.022191
204	1.623	0.803812	0.0011624	4.9976	4.3948	0.1206	12.0618	7.47	5196.667	12.33333	6.103994	7.593811	0.021021

A.2. Data Hasil Kultivasi Pada Perlakuan Filter Spons

Jam ke	OD _R	X _R [g/dm ³]	OD _F	X _F [g/dm ³]	X total [g/dm ³]	I _o	I _b	yCO ₂ in	yCO ₂ out	% ΔyCO ₂	ΔyCO ₂ CTR	pH	(HCO ₃) ⁻	CTR	q CO ₂
0	0.211	0.087364			0.087364	5226.667	1112	10.71	3.12	70.87	0.708683	6.79	0.009412	8.403697	96.19208
6	0.269	0.116779			6.017963	5226.667	919	10.63	3.17	70.18	0.701787	6.81	0.009782	8.321922	1.382847
12	0.277	0.120836	2.586667	1.292376	0.370164	5226.667	830	10.57	3.21	69.63	0.69631	6.84	0.010422	8.256974	22.30628
18	0.279	0.121851			18.05444	5226.667	793	10.59	3.25	69.31	0.693107	6.85	0.010685	8.218985	0.455233
24	0.281	0.123203	2.629333	1.314015	6.433892	5226.667	748	10.71	3.18	70.31	0.703081	6.83	0.01032	8.337265	1.295835
30	0.356	0.161071			30.08846	5226.667	646	10.70	3.27	69.44	0.694393	6.87	0.011305	8.234232	0.273667
36	0.450	0.208744	2.170667	1.081397	12.18435	5226.667	530	10.74	3.33	68.99	0.689944	6.9	0.012159	8.181483	0.671475
42	0.482	0.224973			42.12217	5226.667	430	10.59	3.31	68.74	0.687441	6.88	0.011449	8.1518	0.193528
48	0.547	0.257939	2.512	1.254508	16.4277	5226.667	364	10.51	3.34	68.22	0.682207	6.92	0.012459	8.089739	0.492445
54	0.592	0.280761			54.16006	5226.667	325	10.57	3.37	68.12	0.681173	6.95	0.013426	8.077474	0.149141
60	0.593	0.281268	2.677333	1.338358	20.41793	5226.667	269	10.61	3.35	68.43	0.68426	7.03	0.016203	8.114081	0.3974
66	0.612	0.290904			66.20128	5226.667	247	10.64	3.38	68.23	0.682331	6.98	0.014482	8.091203	0.122221
72	0.633	0.301723	2.885333	1.443848	24.13817	5226.667	222	10.58	3.42	67.67	0.676749	7.03	0.016157	8.025007	0.332461
78	0.640	0.305104			78.24831	5226.667	218	10.62	3.45	67.51	0.675141	7.01	0.015489	8.005947	0.102315
84	0.659	0.314571	3.365333	1.687284	26.22773	5226.667	209	10.61	3.41	67.86	0.678605	7.06	0.017362	8.047022	0.306813
90	0.685	0.328096			90.27674	5226.667	209	10.65	3.47	67.42	0.674178	7.09	0.018674	7.99453	0.088556
96	0.737	0.35413	3.696	1.854985	30.20684	5226.667	202	10.67	3.52	67.01	0.670103	7.04	0.016674	7.946204	0.26306
102	0.748	0.360047			102.3482	5226.667	193	10.57	3.49	66.98	0.66982	7.11	0.019407	7.94285	0.077606
108	0.757	0.364273	2.24	1.11656	45.29109	5226.667	191	10.61	3.54	66.64	0.666352	7.07	0.017767	7.901729	0.174465
114	0.788	0.380333			114.3817	5226.667	172	10.69	3.57	66.60	0.666043	7.15	0.021521	7.898059	0.06905
120	0.805	0.388786	2.026667	1.008366	54.76373	5226.667	169	10.58	3.63	65.69	0.6569	7.14	0.020815	7.789637	0.142241
126	0.837	0.404846			126.4248	5226.667	166	10.62	3.59	66.20	0.661959	7.15	0.02138	7.849625	0.062089

132	0.842	0.407382	3.342	1.675451	46.76013	5226.667	164	10.64	3.67	65.51	0.655075	7.11	0.019536	7.768	0.166124
138	0.872	0.422596			138.4749	5226.667	162	10.67	3.72	65.14	0.651359	7.16	0.021981	7.723932	0.055779
144	0.932	0.453026	2.826	1.413756	59.35594	5226.667	156	10.54	3.74	64.52	0.645161	7.22	0.02493	7.65044	0.128891
150	0.986	0.480582			150.5245	5226.667	154	10.55	3.78	64.17	0.641706	7.31	0.0307	7.609468	0.050553
156	1.018	0.496811	3.173333	1.58991	63.32743	5226.667	109	10.65	3.81	64.23	0.642254	7.27	0.028264	7.615959	0.120263
162	1.056	0.516083			162.58	5226.667	102	10.53	3.76	64.29	0.642925	7.32	0.031356	7.623921	0.046893
168	1.080	0.528255	3.426667	1.71839	67.49242	5226.667	98	10.52	3.85	63.40	0.63403	7.34	0.032802	7.518448	0.111397
174	1.110	0.54347			174.6391	5226.667	89	10.57	3.87	63.39	0.633869	7.37	0.035315	7.516539	0.04304
180	1.127	0.552091	3.493	1.752032	73.19588	5226.667	81	10.61	3.94	62.87	0.628652	7.35	0.033853	7.454672	0.101846
186	1.146	0.561558			186.7124	5226.667	77	10.57	3.91	63.01	0.630085	7.38	0.036138	7.471664	0.040017
192	1.150	0.563925	4.92	2.475749	64.93825	5226.667	74	10.61	4.03	62.02	0.62017	7.42	0.039774	7.354084	0.113247
198	1.150	0.563925			198.7865	5226.667	73	10.56	3.96	62.50	0.625	7.39	0.036945	7.411363	0.037283
204	1.150	0.563925	3.46	1.735296	84.15927	5226.667	72	10.58	4.07	61.53	0.615312	7.43	0.040586	7.29648	0.086698



A.3. Data Hasil Kultivasi Pada Perlakuan Mikrofiltrasi Pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur

Jam ke	OD _R	X _R [g/dm ³]	X filtrat [g/dm ³]	X total [g/dm ³]	μ [h ⁻¹]	Y _{in} (%)	Y _{out} (%)	Δy CO ₂	% ΔyCO ₂	I _o	I _b	pH	CTR	q CO ₂	(HCO ₃) ⁻
0	0.210	0.087026	0	0.087026	0.039015	12.53	2.7759	0.7785	77.84597	5230	1163	6.8	9.231116	106.0736	0.011268
6	0.210	0.087026		0.112449	0.036413	11.3533	2.0857	0.8163	81.62913	5230	1126	6.83	9.67973	86.0808	0.01094
12	0.233	0.098859		0.149707	0.031816	10.8966	1.276	0.8829	88.28993	5230	967	6.87	10.46958	69.93388	0.011513
18	0.250	0.107312		0.183583	0.029418	10.4321	0.9786	0.9062	90.61934	5230	831	6.85	10.74581	58.53369	0.010526
24	0.271	0.118131		0.219826	0.027329	10.0202	0.9572	0.9045	90.4473	5230	785	6.88	10.7254	48.79033	0.010833
30	0.344	0.154985		0.282104	0.023338	10.362	0.9397	0.9093	90.93129	5230	693	6.9	10.7828	38.2228	0.011731
36	0.398	0.182372		0.334914	0.021286	10.225	0.9106	0.9109	91.09438	5230	630	6.92	10.80214	32.25345	0.012121
42	0.411	0.188965		0.366931	0.02083	10.371	0.9017	0.9131	91.30556	5230	591	6.89	10.82718	29.5074	0.011474
48	0.423	0.195051	0.20339	0.398441	0.020397	9.757	0.5203	0.9467	94.66742	5230	542	6.9	11.22583	28.17442	0.011046
54	0.488	0.228016		0.464287	0.018479	10.3741	0.3911	0.9623	96.23003	5230	507	6.93	11.41113	24.57774	0.012585
60	0.513	0.240864		0.510017	0.01765	10.9072	0.3394	0.9689	96.88829	5230	476	6.95	11.48919	22.52709	0.013855
66	0.527	0.247626		0.54966	0.017088	10.7135	0.3013	0.9719	97.18766	5230	421	6.94	11.52469	20.96694	0.013299
72	0.583	0.276027		0.610942	0.015964	10.6836	0.2846	0.9734	97.3361	5230	387	6.97	11.54229	18.89261	0.01421
78	0.623	0.296314		0.66411	0.015182	11.3119	0.311	0.9725	97.25068	5230	349	6.98	11.53216	17.36484	0.015397
84	0.655	0.312712		0.713389	0.014552	10.6198	0.2288	0.9785	97.84553	5230	301	7.01	11.6027	16.26419	0.015488
90	0.685	0.327927		0.761485	0.013985	10.3173	0.2281	0.9779	97.78915	5230	289	6.99	11.59601	15.22815	0.01437
96	0.700	0.335534	0.26305	0.801974	0.013575	9.7879	0.2397	0.9755	97.55106	5230	272	7.03	11.56778	14.42414	0.014948
102	0.728	0.349734		0.866683	0.012799	9.8564	0.2187	0.9778	97.78114	5230	253	7.06	11.59506	13.37866	0.016129
108	0.866	0.419554		0.987011	0.011417	10.1971	0.2601	0.9745	97.44927	5230	218	7.04	11.55571	11.70778	0.015935
114	0.887	0.430204		1.04817	0.010888	9.9713	0.2531	0.9746	97.46172	5230	215	7.09	11.55719	11.02606	0.017484
120	0.938	0.456238		1.124713	0.010249	9.8197	0.2726	0.9722	97.22395	5230	209	7.08	11.52899	10.25061	0.016826
126	0.982	0.478722		1.197706	0.009693	10.487	0.2436	0.9768	97.67712	5230	198	7.12	11.58273	9.670763	0.019703

132	1.078	0.52724		1.296733	0.008993	10.3481	0.4242	0.959	95.9007	5230	195	7.15	11.37208	8.769792	0.020833
138	1.085	0.530791		1.350792	0.008649	9.8391	0.2033	0.9793	97.93375	5230	186	7.19	11.61316	8.597299	0.021719
144	1.097	0.536707	0.40407	1.407217	0.008296	11.0295	0.2512	0.9772	97.72247	5230	183	7.24	11.58811	8.234767	0.027318
150	1.111	0.543808		1.46669	0.007932	10.3058	0.2136	0.9793	97.92738	5230	181	7.22	11.61241	7.917423	0.024376
156	1.184	0.580999		1.556254	0.00743	10.3082	0.2384	0.9769	97.68728	5230	172	7.28	11.58393	7.443471	0.027994
162	1.232	0.605343		1.632971	0.007019	10.5791	0.2517	0.9762	97.62078	5230	165	7.3	11.57605	7.088951	0.030084
168	1.257	0.618022		1.698022	0.006672	9.9949	0.26	0.974	97.39867	5230	159	7.29	11.54971	6.801861	0.027776
174	1.272	0.62563		1.758002	0.006351	10.2534	0.292	0.9715	97.15216	5230	152	7.28	11.52048	6.553166	0.027846
180	1.302	0.640844		1.825589	0.006009	10.0659	0.2357	0.9766	97.65843	5230	145	7.31	11.58051	6.343439	0.029291
186	1.320	0.649973		1.887091	0.005694	10.7869	0.203	0.9812	98.11809	5230	134	7.29	11.63502	6.165586	0.029977
192	1.323	0.651495	0.41898	1.940985	0.005404	10.5386	0.241	0.9771	97.71317	5230	130	7.3	11.587	5.969653	0.029969
198	1.323	0.651495		1.993357	0.005119	10.0297	0.2073	0.9793	97.93314	5230	127	7.29	11.61309	5.825895	0.027872
204	1.323	0.651495	0.104745	2.04573	0.004832	10.2487	0.2303	0.9775	97.75289	5230	124	7.31	11.59171	5.666298	0.029823



LAMPIRAN B: Contoh Pengolahan Data

B.1. Pengolahan Data X

Pada penelitian sebelumnya telah didapatkan kurva kalibrasi antara X Vs OD untuk menentukan berat kering sel pada kepadatan tertentu.

Penentuan Berat Kering Sel (X)

Dari kurva kalibrasi X Vs OD didapatkan persamaan garis lurus yang menempatkan OD di sumbu x dan X di sumbu y. Persamaan tersebut adalah:

$$y = 0.50716x - 0,019478$$

Dengan memasukan nilai OD ke X maka akan kita dapatkan berat kering sel.

Misal besar OD pada detik ke 0 sebesar 0.210. Maka:

$$y = 0.50716 x 0,232 - 0,019478$$

$$y = 0.087 \text{ gram/liter}$$

$$X = 0.087 \text{ gram/liter}$$

B.2. Pengolahan Data [HCO₃⁻]

Seperti telah dijelaskan pada bab 3 bahwa nilai pH dapat digunakan untuk menghitung [HCO₃⁻]. Persamaan yang digunakan adalah sebagai berikut.

$$[HCO_3^-] = \left(\frac{K_{CO_2}}{H_{CO_2}} \right) \left(\frac{y_{CO_2} \cdot P_T}{10^{-pH}} \right) \left(\frac{EXP \left[A_k \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_k \ln \left(\frac{T}{T_0} \right) + C_k \left(\frac{T}{T_0} - 1 \right) \right]}{EXP \left[A_h \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_h \ln \left(\frac{T}{T_0} \right) + C_h \left(\frac{T}{T_0} - 1 \right) \right]} \right)$$

Dimana:

P_T = tekanan operasi (atm)

y_{CO_2} = konsentrasi gas CO₂ yang diumpankan (5%)

K_{CO_2} = 4,38 x 10⁻⁷

H_{CO_2} = 2900 KPa/mol

T = temperatur operasi

T_0 = temperatur standar

$A_k = 40,557$ $B_k = -36,782$ $C_k = 0$

$A_h = 22,771$ $B_h = -11,452$ $C_h = -3,117$

LAMPIRAN B: Contoh Pengolahan Data (lanjutan)

Konsentrasi bikarbonat [HCO_3^-] pada jam ke-0 didapatkan dengan memasukan nilai pH pada pengaturan kecepatan hisap jam ke-0 yaitu 6.8 ke dalam persamaan di atas dengan nilai variabel-variabel lain yang telah disebutkan diatas, sehingga akan didapatkan nilai [HCO_3^-] pada jam ke-0 adalah 0.0113 M.

B.3. Pengolahan Data CTR (Carbondioxide Transfer Rate)

Rumus yang digunakan:

$$\text{CTR} = \Delta y_{\text{CO}_2} \times \alpha_{\text{CO}_2} \quad (\text{g/dm}^3 \cdot \text{h})$$

Dalam penelitian ini:

$$\alpha_{\text{CO}_2} = \frac{U_g \cdot A \cdot M_{\text{CO}_2} \cdot P}{V_{\text{med}} \cdot R \cdot T}$$

$$\alpha_{\text{CO}_2} = \frac{35,46 \text{ dm/h} \cdot 3,384 \text{ dm}^2 \cdot 44 \text{ g/mol} \cdot 1 \text{ atm}}{18 \text{ dm}^3 \cdot 0,082 \text{ L atm/mol}^\circ\text{K} \cdot 302^\circ\text{K}}$$

$$\alpha_{\text{CO}_2} = 11,84 \text{ g/dm}^3 \cdot \text{h}$$

CTR pada pengaturan kecepatan hisap jam ke-0 didapatkan dengan memasukan nilai Δy_{CO_2} pada pengaturan kecepatan hisap jam ke-0 yaitu 0.778 ke dalam persamaan di atas. Hasilnya adalah sebagai berikut:

$$\text{CTR}_{t=0} = 0.778 \times 11.84 = 9.23 \text{ g/dm}^3 \cdot \text{h}$$

B.4. Pengolahan Data q_{CO_2}

Rumus yang digunakan :

$$q_{\text{CO}_2} = \frac{\Delta y_{\text{CO}_2} \cdot \alpha_{\text{CO}_2}}{X} \quad (\text{h}^{-1})$$

q_{CO_2} pada pengaturan kecepatan hisap jam ke-0 didapatkan dengan memasukan nilai Δy_{CO_2} dan X pada pengaturan kecepatan hisap jam ke-0 yaitu 0.778 dan 0.087 $\text{g/dm}^3 \cdot \text{h}$ ke dalam persamaan di atas, sebagai berikut:

$$q_{\text{CO}_2} = \frac{0.778 \cdot 11,84 \text{ g/dm}^3 \cdot \text{h}}{0,087 \text{ g/dm}^3 \cdot \text{h}} = 106.07 \text{ h}^{-1}$$