



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH METODE PEMANENAN MIKROALGA
TERHADAP BIOMASSA DAN KANDUNGAN ESENSIAL**
Chlorella vulgaris

SKRIPSI

IRFAN PRATAMA
0706269861

FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM SARJANA
DEPOK
JUNI 2011



UNIVERSITAS INDONESIA

**Pengaruh Metode Pemanenan Mikroalga terhadap
Biomassa dan Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris***

SKRIPSI

Diajukan untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik di
Departemen Teknik Kimia FTUI.

**IRFAN PRATAMA
0706269861**

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI 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 : Irfan Pratama

NPM : 0706269861

Tanda Tangan : 

Tanggal : 28 Juni 2011



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Irfan Pratama
NPM : 07062699861
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi : Pengaruh Metode Pemanenan Mikroalga terhadap
Biomassa dan Kandungan Esensial *Chlorella
vulgaris*

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dianursanti, ST., MT. (.....)

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

Penguji : Dr. Eng. M. Sahlan, SSI., M.Eng. (.....)

Penguji : Ir. Yuliusman, M.Eng. (.....)

Ditetapkan di : Depok

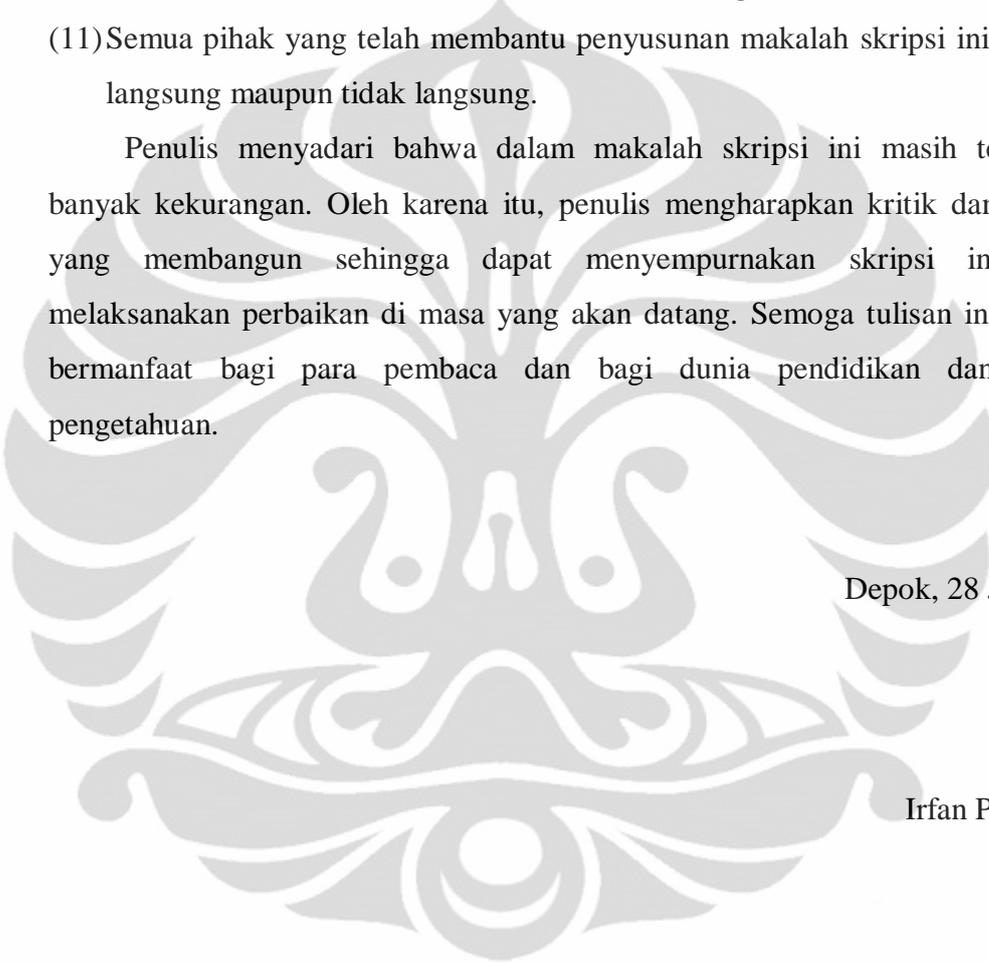
Tanggal : 28 Juni 2011

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. Berkat rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan makalah skripsi dengan judul “Pengaruh Metode Pemanenan Mikroalga terhadap Biomassa dan Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris*”, sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan seminar ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan seminar ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- (1) Dianursanti, ST, MT, selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan seminar ini;
- (2) Dr. Heri Hermansyah, ST, M.Eng; Dr. Eng. Muhamad Sahlan, S.Si, M.Eng; dan Ir. Yuliusman, M.Eng selaku dewan penguji;
- (3) Prof. Dr. Ir. Widodo Wahyu P, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI;
- (4) Ir. Dewi Tristantini M.T, PhD, selaku dosen pembimbing akademik yang telah menyediakan waktu dan membantu permasalahan akademik perkuliahan selama ini;
- (5) Para dosen Departemen Teknik Kimia FTUI yang telah memberikan ilmu dan wawasannya;
- (6) Orangtua dan kakak yang selalu memberi dukungan dan semangat selama mengerjakan skripsi;
- (7) Sahabat terbaik penulis: Rafika Hadhinati, Deni Novitasari, Skripsihana Ihtiarto, Annalisia Rudatin, dan Edi Suhendra yang banyak memberikan kontribusi, baik berupa doa, saran, dan dukungan moril;

- 
- (8) Rekan seperjuangan: Faris Najmuddin, Novida Theodora P. dan Tangguh Wijoseno yang sudah membantu dalam pencarian sumber dan saling bertukar wawasan serta informasi yang ada;
 - (9) Teman-teman TEKIM 07 yang ikut membantu dalam banyak hal;
 - (10) Semua teman-teman yang tidak dapat disebutkan satu demi satu, yang selalu memberikan informasi dan bantuan semangat;
 - (11) Semua pihak yang telah membantu penyusunan makalah skripsi ini secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa dalam makalah skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga dapat menyempurnakan skripsi ini dan melaksanakan perbaikan di masa yang akan datang. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan bagi dunia pendidikan dan ilmu pengetahuan.

Depok, 28 Juni 2011

Irfan Pratama

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Irfan Pratama
NPM : 0706269861
Program Studi : Teknik Kimia
Departemen : Teknik Kimia
Fakultas : Teknik
Jenis Karya : Skripsi

demikian 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:

“Pengaruh Metode Pemanenan Mikroalga terhadap
Biomassa dan Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris*”

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 28 Juni 2011

Yang menyatakan,



(Irfan Pratama)

ABSTRAK

Nama : Irfan Pratama
Program Studi : Teknik Kimia
Judul : Pengaruh Metode Pemanenan Mikroalga terhadap Biomassa dan Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris*

Dalam penggunaan kandungan esensial mikroalga *Chlorella vulgaris* sebagai sumber energi terbarukan dan suplemen makanan, terdapat kendala dalam hal pemanenan (*harvesting*) mikroalga itu sendiri. Ukuran dan densitas yang kecil menyebabkan mikroalga sulit untuk dipanen. Pada penelitian ini, mikroalga dipanen menggunakan dua metode pemanenan, yaitu flokulasi dan filtrasi semi-kontinu dalam reaktor 18 L selama 204 jam. Penggunaan filtrasi semi-kontinu meningkatkan biomassa sebesar 100% dibandingkan flokulasi. Metode flokulasi yang dilakukan diakhir masa kultivasi tidak menaikkan jumlah biomassa, namun dapat mempercepat waktu pengendapan biomassa. Adanya NaOH sebagai flokulan pada pH 11 tidak menyebabkan terjadi perubahan nutrisi mikroalga secara signifikan dibandingkan dengan metode filtrasi semi-kontinu dan *preculture*. Secara keseluruhan kandungan esensial yang dihasilkan oleh metode flokulasi, filtrasi semi-kontinu, dan *preculture* secara berurutan adalah: lipid 36,72; 35,84; 37,69 % berat kering, protein 37,79; 38,50; 36,63 % berat kering, beta karoten 0,2517; 0,2486; 0,1246 % berat kering, dan klorofil 0,8422; 0,6253; 0,4636 % berat kering.

Kata kunci : *Chlorella vulgaris*, kandungan esensial, filtrasi semi-kontinu, flokulasi.

ABSTRACT

Name : Irfan Pratama
Study Program : Chemical Engineering
Title : Effect of Microalgae Harvesting Methods on Essential Contents and Biomass of *Chlorella vulgaris*

In the use of essential content of *Chlorella vulgaris* microalgae as renewable energy sources and food supplements, there are constraints in terms of harvesting microalgae itself. Its small size and density cause it difficult to be harvested. In this study, microalgae are harvested using two methods of harvesting, i.e flocculation and semi-continuous filtration in a 18 L reactor for 204 hours. Semi-continuous filtration can increase biomass by 100%. Flocculation method by the end of the period of cultivation did not increase the amount of biomass, but it can accelerate settling time of biomass. The presence of NaOH as a flocculant at pH 11 does not cause nutritional changes of microalgae significantly compared with filtration method and preculture. Overall, the essential content produced by the method of flocculation, semi-continuous filtration, and preculture in sequence are: lipids 36.72; 35.84; 37.69 % dry weight, protein 37.79; 38.50; 36.63 % dry weight, beta carotene 0.2517; 0.2486; 0.1246 % dry weight, and chlorophyll 0.8422; 0.6253; 0.4636% dry weight.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, essential content, semi-continuous filtration, flocculation.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
BAB 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.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Mikroalga <i>Chlorella vulgaris</i>	6
2.1.1 Fase Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	6
2.1.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	7
2.2 Fotobioreaktor (PBR, <i>PhotoBioReactor</i>).....	9
2.3 Proses Fotosintesis	10
2.3.1 Reaksi Terang.....	11
2.3.2 Reaksi Gelap	12
2.4 Pemanenan (<i>Harvesting</i>)	13
2.4.1 Filtrasi.....	14
2.4.2 Sedimentasi Gravitasi	16
2.4.3 Sentrifugasi	16
2.4.3 Flokulasi.....	17
2.4.4 Flotasi	20
2.4.5 Kriteria pemilihan metode pemanenan	20
2.5 Ekstraksi	21
2.6 Kandungan Nutrisi Mikroalga dan Pemanfaatannya.....	22
2.6.1 Protein.....	22
2.6.2 Lipid.....	23
2.6.3 Klorofil	25
2.6.4 Beta karoten	26
BAB 3 METODE PENELITIAN	28
3.1 Diagram Alir	28
3.2 Alat dan Bahan.....	29
3.3 Variabel Penelitian	30
3.4 Prosedur Penelitian.....	31
3.4.1 Tahap Perangkaian Fotobioreaktor	32
3.4.2 Sterilisasi Peralatan.....	32
3.4.3 Pembuatan Medium <i>Benneck</i>	33

3.4.4 Pembiakan Kultur Murni	33
3.4.5 Penentuan Jumlah Inokulum <i>Chlorella vulgaris</i>	34
3.4.6 Pembuatan Kurva Kalibrasi	35
3.4.7 Pelaksanaan Penelitian.....	36
3.4.8 Pengambilan Data.....	37
3.4.9 Pengolahan Data.....	39
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1 Pembahasan Umum.....	44
4.2 Hasil Pengamatan dan Analisa.....	50
4.2.1 Pengaruh Filtrasi Semi-Kontinu terhadap Produksi Biomassa (X)	50
4.2.2 Pengaruh Filtrasi Semi-Kontinu terhadap Laju Pertumbuhan (μ) <i>C.vulgaris</i>	51
4.2.3 Pengaruh Filtrasi Semi-Kontinu terhadap [HCO ₃ ⁻] dalam Medium	52
4.2.4 Pengaruh Filtrasi Semi-Kontinu terhadap q_{CO_2} <i>Chlorella vulgaris</i>	54
4.2.5 Pengaruh Filtrasi Semi-Kontinu terhadap Energi Pembentukan Biomassa	55
4.2.6 Pengaruh Volume Flokulan terhadap Yield Flokulasi	56
4.2.7 Pengaruh OD awal terhadap Yield Flokulasi.....	57
4.2.8 Pengaruh Metode Pemanenan terhadap Kandungan <i>Chlorella vulgaris</i>	58
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	60
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Perbandingan tiga metode pemanenan.....	2
Tabel 1. 2 Efisiensi tiap-tiap metode.....	3
Tabel 2. 1 Perbandingan Komposisi Nutrisi Medium (Wirosaputro, 2002).....	8
Tabel 2. 2 Perbandingan berbagai macam fotobioreaktor (Brennan, 2009).....	10
Tabel 2. 3 Aktivitas berbagai flokulan pada <i>C. vulgaris</i> (Oh, 2001).....	19
Tabel 2. 4 Tabel perbandingan tiga macam flotasi (Shelef, 1984).....	20
Tabel 2. 5 Persentase asam amino esensial pada <i>Chlorella sp.</i> (http://www.chlorellahellas.com/what.htm).....	23
Tabel 2. 6 Beberapa spesies alga dengan kandungan lipidnya (Verma, 2010).....	24
Tabel 2. 7 Komposisi asam lemak bebas pada <i>Chlorella sp.</i> (Rachmaniah, 2010).....	24
Tabel 2. 8 Persentase kandungan vitamin pada <i>Chlorella sp.</i> (http://www.chlorellahellas.com/what.htm).....	27
Tabel 3. 1 Komposisi <i>Benneck</i>	33
Tabel 3. 2 Penentuan kadar protein dengan metode Lowry.....	39
Tabel 4. 1 Jumlah X pada metode filtrasi semi kontinu dan flokulasi (kontrol).....	51
Tabel 4. 2 Perbandingan efisiensi energi kedua metode pemanenan.....	55
Tabel 4. 3 Variasi volume flokulan terhadap <i>yield</i> flokulasi.....	56
Tabel 4. 4 Variasi OD awal terhadap <i>yield</i> flokulasi.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. 1 Hasil flokulasi mikroalga <i>Nannochloropsis sp.</i> dengan NaOH (Neng, 2009).....	4
Gambar 2. 1 Bentuk sel <i>Clorella vulgaris</i> berdiameter 5 μm (http://botany.natur.cuni.cz/)	6
Gambar 2. 2 Fase pertumbuhan <i>C.vulgaris</i>	7
Gambar 2. 3 Skema reaksi terang – reaksi gelap	11
Gambar 2. 4 Siklus Calvin-Benson (http://www.superglossary.com/biology/Rubp.html)	12
Gambar 2. 5 Jenis-jenis filter dan penggunaannya (http://www.safewater.org/)	15
Gambar 2. 6 Klasifikasi peralatan sentrifugasi	16
Gambar 2. 7 Jarak ukuran partikel untuk berbagai tipe sentrifuge (Grima, 2004).....	17
Gambar 2. 8 Pengaruh gaya tarik menarik dan gaya tolak menolak terhadap jarak tertentu pada suatu mikroalga (Grima, 2004)	18
Gambar 2. 9 Struktur kimia klorofil a dan klorofil b (http://www.chm.bris.ac.uk/)	25
Gambar 2. 10 Spektrum absorbansi klorofil a dan klorofil b (http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll_h.htm)	26
Gambar 2. 11 Struktur kimia beta karoten (http://www2.mcdaniel.edu/Biology/botf99/photo/p3igments.html)	27
Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian	28
Gambar 3. 2 Skema peralatan	32
Gambar 3. 3 Kurva kalibrasi OD vs X	36
Gambar 4. 1 Filter ultra setelah dialiri kultur <i>C.vulgaris</i>	45
Gambar 4. 2 Kurva X vs t (kiri: kontrol, kanan: filtrasi semi kontinu)	50
Gambar 4. 3 Kurva μ vs t, (kiri: kontrol, kanan: filtrasi semi kontinu).....	52
Gambar 4. 4 Konsentrasi relatif kesetimbangan bikarbonat sebagai fungsi pH (Fitri, 2011)	53
Gambar 4. 5 Kurva pH vs t, (kiri: kontrol, kanan: filtrasi semi kontinu)	53
Gambar 4. 6 Kurva $[\text{HCO}_3^-]$ vs t, (kiri: kontrol, kanan: filtrasi semi kontinu)	54

Gambar 4. 7 Kurva q_{CO_2} vs t, (kiri: kontrol, kanan: filtrasi semi kontinu)55

Gambar 4. 8 Proses pembentukan flok dengan flokulan Al^{3+}
(<http://www.tn.gov/environment/fleming/>)58

Gambar 4. 9 Bagan perbandingan kandungan nutrisi pada tiap metode58



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Dewasa ini, telah banyak dilakukan penelitian terhadap mikroalga. Kandungan esensial yang dimiliki mikroalga dapat digunakan untuk berbagai keperluan. Misalnya kandungan lipid dapat digunakan sebagai pengganti bahan bakar fosil sebagai *biofuel* dan *biodiesel* (Shales, 2007). Sebagai sumber energi berkelanjutan, mikroalga juga dapat digunakan sebagai penghasil energi listrik melalui metode MFC atau *Microbial Fuel Cell* (Powell, 2009). Selain itu, mikroalga juga dapat digunakan sebagai suplemen makanan. Protein, klorofil, dan beta karoten yang dikandung *Chlorella vulgaris* dapat digunakan sebagai antioksidan, penangkal racun dalam tubuh, regenerasi sel, dan lain-lain (Spolaore, 2006). Dalam laporannya, Spolaore (2006) juga menyebutkan bahwa mikroalga dapat pula digunakan sebagai kosmetik, seperti pencegah penuaan (*anti-aging*), perawatan rambut dan kulit, dan lain-lain.

Walaupun demikian, masih terdapat berbagai kendala yang menjadi penghambat dalam pengaplikasiannya. Salah satu kendala yang berpengaruh adalah dalam hal pemanenan (*harvest*) mikroalga tersebut. Pemanenan adalah proses pemisahan antara mikroalga dari mediumnya dengan cara separasi padat-cair. Proses ini berfungsi untuk memisahkan mikroalga dari mediumnya, sehingga diperoleh biomassa yang akan diproses lebih lanjut untuk dihasilkan produk-produk yang berguna. Oleh karena itulah proses pemanenan ini penting untuk dilakukan. Kendala-kendala tersebut adalah konsentrasi yang rendah di dalam mediumnya (0,5-5 g/L) dan ukuran mikroalga yang kecil (3-30 μm). Kendala inilah yang menjadi hambatan pemanfaatan mikroalga sejak dahulu.

Dalam proses pemanenan, terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan. Yang pertama, proses pemanenan harus dapat dioperasikan dengan mudah. Kemudian kandungan yang terdapat di dalam sel mikroalga tidak boleh berubah atau rusak setelah menerima perlakuan proses pemanenan. Kriteria yang terakhir adalah *yield* biomassa yang dihasilkan besar.

Seiring berkembangnya teknologi, metode pemanenan mikroalga pun ikut berkembang. Berbagai metode telah diciptakan, dari metode yang bekerja secara

mekanis/fisis hingga metode yang bersifat kimiawi. Beberapa metode yang telah dilakukan adalah filtrasi, sentrifugasi, dan flokulasi (Brennan, 2009).

Metode pertama adalah filtrasi. Metode ini bekerja dengan cara menahan/memfilter padatan (mikroalga) yang terdapat medium yang dialirkan. Setelah terisi mikroalga, filter diambil untuk diukur biomassa yang tertahan. Metode berikutnya adalah sentrifugasi, yaitu metode separasi berdasarkan densitas dengan menggunakan gaya sentripetal. Mikroalga yang memiliki densitas lebih besar akan tertahan di bagian dasar tabung. Metode terakhir adalah flokulasi. Flokulasi merupakan metode pemanenan dengan cara membentuk mikroalga dalam kumpulan yang lebih besar sehingga mudah untuk diambil biomasanya. Untuk membentuk kumpulan, mikroalga diberi flokulan yang dapat berupa bahan kimia, seperti alum dan NaOH, dan bahan alami, seperti chitosan. Berikut ini adalah tabel perbandingan kelebihan dan kekurangan tiap-tiap metode, yang diikuti oleh tabel efisiensi tiap-tiap metode tersebut.

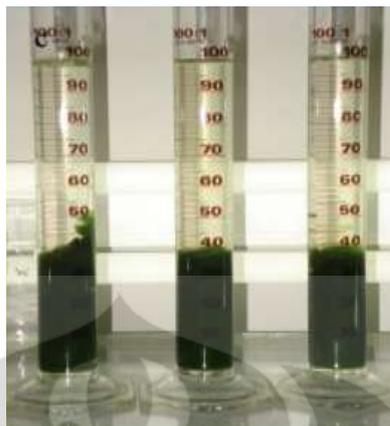
Tabel 1. 1 Perbandingan tiga metode pemanenan

Metode	Kelebihan	Kekurangan
Filtrasi	Energi kecil; Mudah dilakukan	Banyak faktor yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan filter, seperti ukuran dan morfologi sel, volume reaktor, dan lain-lain.
Sentrifugasi	Waktu singkat	Energi besar; biaya perawatan besar
Flokulasi	Energi kecil; Mudah dilakukan	Menggunakan bahan kimia dan sulit untuk dihilangkan dari mikroalga

Tabel 1. 2 Efisiensi tiap-tiap metode

Metode	Sistem	Mikroalga	Efisiensi	Peneliti
Filtrasi	kontinu	<i>Chlorella vulgaris</i>	58%	Syarif (2008)
	tangential flow	-	70-89%	H. Bernhardt and J. Clasen, J. (1994)
	chamber filter press	<i>Coelastrum proboscideum</i>	27%	Mohn (1980)
	discontinuous pressure filter	<i>C. proboscideum</i>	22-27%	Mohn (1980)
	discontinuous vacuum filter	<i>C. proboscideum</i>	37%	Mohn (1980)
	Semi-kontinu	<i>Chlorella</i> sp.	-	Chiu (2008)
Sentrifugasi		-	90%	Sim (1988)
		-	>95%	Heasman (2000)
Flokulasi	pH 10,2	<i>Skeletonema costatum</i>	80%	Blanchemain dan Grizeau (1999)
	pH 11	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	≈100%	Harith (2009)
	(Al ₂ (SO ₄) ₃)	<i>C.vulgaris</i>	72%	Oh (2001)
	polyacrilamide	<i>C.vulgaris</i>	78%	Oh (2001)
	Paenibacillus sp. AM49	<i>C.vulgaris</i>	84%	Oh (2001)
	pH 11	<i>C.vulgaris</i>	86%	Oh (2001)
	Fe ³⁺	<i>various</i>	80%	Knuckey (2006)
	elektroflokulasi	<i>C.vulgaris</i>	>90%	Vandame D

Penelitian ini dilakukan untuk melihat keefektifan dua macam metode pemanenan dalam meningkatkan produksi biomassa. Metode yang digunakan adalah metode flokulasi dan metode filtrasi. Filtrasi yang digunakan adalah filtrasi semi-kontinu, sedangkan metode flokulasi menggunakan NaOH sebagai pengatur pH. NaOH dapat digunakan untuk menurunkan pH, sehingga diharapkan dapat menghasilkan efisiensi yang tinggi (Tabel 1.2). Selain itu, NaOH tidak memiliki efek beracun dan tidak mahal, dan dapat dinetralkan menggunakan HCl. NaOH pernah dilakukan oleh Neng dan Resat terhadap *Nannochloropsis* sp. (2009) dengan hasil yang baik (lihat Gambar 1.1). Harith (2009) juga melakukan flokulasi dengan NaOH terhadap *Chaetoceros calcitrans*, dan efisiensi yang diperoleh mendekati 100% pada pH 11. Dari metode-metode tersebut, dapat dilihat metode manakah yang menghasilkan *yield* yang terbesar dengan kandungan nutrisi yang terbaik.



Gambar 1. 1 Hasil flokulasi mikroalga *Nannochloropsis sp.* dengan NaOH (Neng, 2009)

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

- metode pemanenan manakah, flokulasi atau filtrasi semi-kontinu, yang menghasilkan *yield* biomassa terbesar dan menjaga kandungan esensial di dalam sel *Chlorella vulgaris*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Membandingkan laju pertumbuhan *C.vulgaris* dari tiap metode pemanenan.
2. Membandingkan kemampuan fiksasi CO₂ oleh *C.vulgaris* dari tiap metode pemanenan.
3. Membandingkan besar kandungan esensial yang dimiliki oleh *C.vulgaris* dari tiap metode pemanenan.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. *C.vulgaris* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari kultur sub balai Perikanan Air Tawar kota Depok.
2. Jenis medium yang digunakan adalah *benneck*.
3. Sistem reaktor yang digunakan adalah fotobioreaktor tunggal dengan volume 18 L.
4. Metode pencahayaan yang digunakan adalah pencahayaan kontinu.

1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan yang digunakan adalah sebagai berikut:

Bab I Pendahuluan

Pada bab pendahuluan ini terdiri atas latar belakang, rumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah, dan sistematika penulisan.

Bab II Tinjauan Pustaka

Tinjauan pustaka berisikan ulasan mengenai *C.vulgaris*, fotobioreaktor, fotosintesis, metode pemanenan, serta ekstraksi dan kandungan esensial.

Bab III Metode Penelitian

Pada bab ini berisi tentang diagram alir penelitian, alat dan bahan yang digunakan, dan prosedur penelitian.

Bab IV Pembahasan

Bab ini berisikan mengenai analisis penelitian, baik dari data yang diperoleh, hasil pengamatan dan pembahasan untuk tiap metode pemanenan serta pengaruhnya terhadap nutrisi yang dikandung.

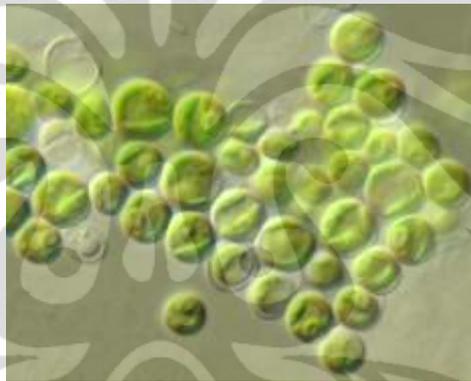
Bab V Kesimpulan dan Saran

Bab kesimpulan dan saran terdiri atas kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini dan saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga *Chlorella vulgaris*

C.vulgaris adalah mikroalga yang termasuk ke dalam golongan alga hijau (*chlorophyta*). Bentuk sel *C.vulgaris* bulat lonjong (*ellipsoidal*) dengan garis tengah sel antara 2 sampai 8 μm . Mikroalga ini berkembangbiak dengan cara membelah diri dan pembentukan spora, dengan waktu generasi yang sangat cepat. *C.vulgaris* hidup secara berkoloni dalam jumlah besar. Habitatnya adalah air atau tempat basah, sebagai epifit atau sebagai endofit. Dalam memperoleh makanan, *C.vulgaris* menghasilkan makanannya sendiri melalui proses fotosintesis atau biasa disebut autotrof. Morfologi *C.vulgaris* dapat dilihat seperti gambar berikut.

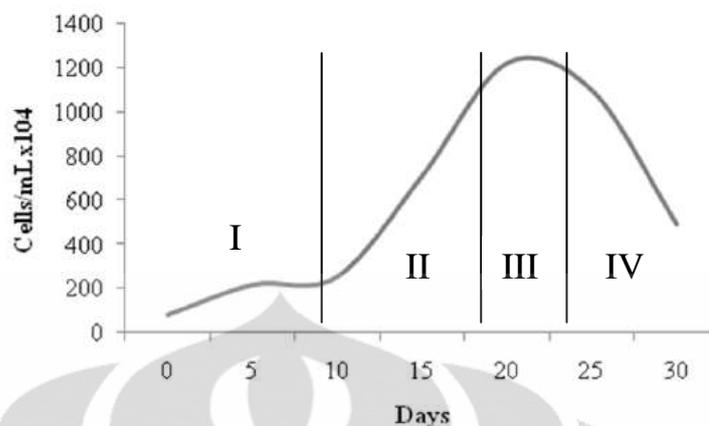


Gambar 2. 1 Bentuk sel *Chlorella vulgaris* berdiameter 5 μm (<http://botany.natur.cuni.cz/>)

2.1.1 Fase Pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

Dalam pertumbuhan dan perkembangbiakannya, *C.vulgaris* menjalani empat fase dalam hidupnya. Keempat fase tersebut adalah fase lag, eksponensial, stasioner, dan fase kematian.

Fase lag (daerah 1) adalah fase awal pertumbuhan dari mikroalga setelah mikroalga tersebut lama tidak mengalami perkembangbiakan karena pengaruh luar seperti pergantian medium yang menyebabkan mikroalga harus beradaptasi terlebih dahulu. Pada fase ini mikroalga membutuhkan sintesis enzim yang menyebabkan tidak terjadinya laju pertumbuhan. Pertumbuhan sel akan terjadi ketika sintesis enzim telah cukup.



Gambar 2. 2 Fase pertumbuhan *C.vulgaris*

Daerah 2 adalah fase eksponensial, dimana terjadi peningkatan jumlah sel secara besar (optimum). Waktu yang diperlukan mikroalga untuk mencapai dua kali lipatnya bervariasi antara 20 menit hingga beberapa hari. Setelah fase eksponensial berakhir, tidak terjadi peningkatan sel, fase ini disebut fase stasioner (daerah 3). Hal ini disebabkan karena makin menipisnya nutrisi yang menjadi asupan dari mikroalga, serta menumpuknya hasil metabolisme sel di medium yang sifatnya beracun. Ketika hasil metabolisme semakin menumpuk dan nutrisi telah habis, mikroalga akan mengalami kematian. Pertumbuhan sel tidak terjadi lagi. Fase ini disebut fase kematian (daerah 4).

2.1.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *C.vulgaris*. Faktor tersebut adalah sebagai berikut:

- Faktor yang pertama adalah medium sebagai tempat perkembangbiakan. Medium harus memiliki nutrisi sebagai asupan mikroalga tersebut. Medium yang diperlukan harus mengandung berbagai unsur-unsur makro dan mikro. Unsur makro tersebut antara lain: N, K, Mg, S, P, dan Cl; sedangkan unsur mikronya adalah: Cu, Fe, Zn, Mn, B, dan Mo. Unsur-unsur ini biasanya berbentuk senyawa lain yang terlarut dalam air. Beberapa contoh medium yang lazim digunakan untuk mengembangbiakkan *C.vulgaris* adalah *Benneck*, *Detmer*, *Walne*, dan pupuk komersial.

Tabel 2. 1 Perbandingan Komposisi Nutrisi Medium (Wirosaputro, 2002)

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

- Faktor kedua adalah suhu. Suhu mempengaruhi besar laju reaksi kimiawi di dalam tubuh sel, dimana semakin tinggi suhu semakin besar pula laju reaksi, sehingga laju pertumbuhannya juga semakin meningkat. Namun, ketika suhu terlalu tinggi maka akan menyebabkan denaturasi protein yang dapat menyebabkan kematian. Suhu optimum untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan *C.vulgaris* berkisar antara 23-30°C. Selain itu, suhu dapat pula mempengaruhi kondisi kesetimbangan respirasi dan fotosintesis. Ketika suhu meningkat, maka respirasi (fotorespirasi) akan meningkat pula. Hal ini akan menyebabkan kemampuan untuk berfotosintesis menurun (Pulz, 2001)
- Faktor berikutnya adalah cahaya. Cahaya merupakan syarat dapat berlangsungnya proses fotosintesis. Hanya panjang gelombang tertentu yang dapat digunakan untuk proses fotosintesis, sehingga perlu adanya pengaturan cahaya yang digunakan. Karena *Chlorella* merupakan alga hijau, klorofil yang terkandung dalam tubuhnya adalah klorofil a, klorofil b, dan beta-karoten. Dengan demikian panjang gelombang yang dapat digunakan dalam proses fotosintesisnya adalah pada jarak 400 – 500 nm dan 620 – 680 nm. Sumber cahaya dapat berupa sinar matahari atau lampu TL atau berfluorosensi. Sinar matahari digunakan untuk reaktor yang berada di luar ruangan, seperti di kolam, sedangkan lampu TL atau fluorosensi digunakan untuk fotobioreaktor dalam ruangan. Pemilihan lampu ini didasarkan pada

cahaya yang digunakan memiliki panjang gelombang yang sesuai dengan kebutuhan mikroalga untuk berfotosintesis.

2.2 Fotobioreaktor (PBR, *PhotoBioReactor*)

Mikroalga, dalam hal ini *C.vulgaris*, merupakan makhluk hidup yang hidup di lingkungan air. Dalam pembudidayaannya, mikroalga harus berada dalam suatu wadah yang berisi air dan nutrisi-nutrisi yang diperlukan agar dapat hidup dan berkembangbiak. Wadah ini disebut fotobioreaktor atau PBR (*PhotoBioReactor*). Fotobioreaktor adalah reaktor yang diberi pencahayaan atau iluminasi, untuk digunakan pada makhluk hidup. Cahaya yang diberikan berfungsi untuk sumber energi agar terjadi reaksi di dalam reaktor tersebut. Pada kultivasi mikroalga, reaksi yang terjadi adalah reaksi fotosintesis. Fotobioreaktor ini memiliki beberapa bagian. Bagian-bagian tersebut adalah wadah reaktor, sistem sirkulasi gas, sistem titrasi gas, sumber cahaya, dan sistem pengendalian reaktor.

PBR dalam operasinya dapat dilakukan pada tiga macam sistem, yaitu *batch*, *semi-batch*, dan kontinu. Sistem *batch* merupakan sistem yang paling sering digunakan. Hal ini dikarenakan operasinya yang mudah dan sistem kulturnya yang sederhana. Pada sistem ini, medium kultur dan alga diletakkan pada fotobioreaktor atau kolam dan diinkubasi pada lingkungan yang baik untuk pertumbuhan. Untuk sistem kontinu, medium dialirkan terus menerus dari reservoir ke dalam reaktor, sehingga diperoleh laju pertumbuhan maksimum. Sistem ini menggunakan biaya yang lebih tinggi dibanding metode lainnya, serta sulit dilakukan untuk skala besar. Namun demikian kualitas mikroalga yang dihasilkan lebih baik. Sistem semi-kontinu dilakukan dengan cara dilakukan pemanenan mikroalga secara berkala dan menambah medium sebagai penggantinya. Mikroalga yang dipanen tidak keseluruhan, tapi hanya sebagian dan volume yang berkurang akibat pemanenan digantikan dengan medium baru.

PBR juga dapat dibagi menjadi dua sistem berdasarkan letak penempatannya, yaitu sistem terbuka dan tertutup. PBR terbuka beroperasi di luar ruangan, yang biasanya berupa kolam, danau, lagun, atau kolam buatan, sedangkan PBR tertutup dilakukan di dalam ruangan. PBR tertutup memiliki

berbagai bentuk dan ukuran, seperti tubular, *flat plate*, dan kolom. Berikut adalah tabel perbandingan kelebihan dan kekurangan beberapa macam PBR:

Tabel 2. 2 Perbandingan berbagai macam fotobioreaktor (Brennan, 2009)

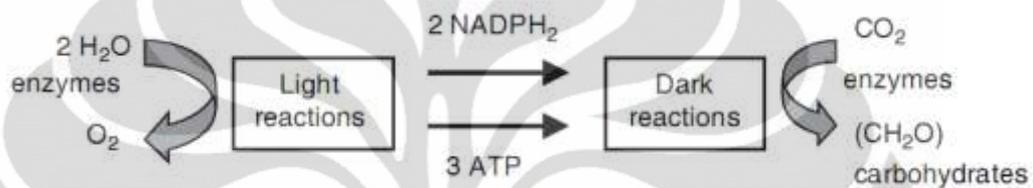
Sistem Reaktor	Keuntungan	Batasan
Kolam terbuka	Relatif murah Mudah dibersihkan Memanfaatkan lahan non-agrikultur Energi yang digunakan kecil Perawatannya mudah	Produk biomassa kecil Membutuhkan lahan luas Hanya untuk beberapa jenis mikroalga Sulit pengaturan cahaya dan CO ₂ Mudah terkontaminasi
Fotobioreaktor tubular	Permukaan terkena cahaya besar Dapat dilakukan di luar ruangan Relatif murah Produk biomassa cukup besar	Lahan besar pH, oksigen, dan CO ₂ terlarut sepanjang pipa bervariasi
Fotobioreaktor pelat datar	Produk biomassa tinggi Mudah disterilisasi Permukaan terkena cahaya besar Dapat dilakukan diluar ruangan	Sulit untuk di- <i>scale-up</i> Sulit mengontrol suhu Terdapat stress hidrodinamik
Fotobioreaktor kolom	Perpindahan massa besar Energi yang dibutuhkan kecil Pengadukan merata <i>Shear stress</i> kecil Mudah disterilisasi Mengurangi <i>photoinhibition</i> dan <i>photo-oxidation</i>	Permukaan terkena cahaya kecil Mahal

2.3 Proses Fotosintesis

C. vulgaris merupakan alga hijau yang memiliki banyak klorofil di dalam selnya. Dengan adanya klorofil, mikroalga ini dapat membentuk makanannya sendiri yang diperoleh dari reaksi fotosintesis. Fotosintesis merupakan reaksi pembentukan karbohidrat dari air dan karbon dioksida dengan bantuan sinar matahari.

Fotosintesis dapat diartikan sebagai proses sintesis bahan organik dari bahan anorganik dengan bantuan cahaya. Sumber cahaya yang digunakan secara alami adalah sinar matahari, namun dapat digunakan sumber cahaya lain, seperti lampu,

dengan panjang gelombang yang sesuai untuk berfotosintesis, yaitu panjang gelombang cahaya tampak (380-700 nm). Fotosintesis berlangsung dalam dua tahap, yaitu reaksi terang dan reaksi gelap. Pada reaksi terang, energi cahaya diikat pada membran fotosintesis (membran thylakoid) dan diubah menjadi energi kimia, dan menghasilkan ATP dan O₂, serta reduksi NADPH₂. Pada reaksi gelap, ATP dan NADPH₂ tersebut digunakan dalam konversi CO₂ menjadi karbohidrat di dalam stroma. Reaksi gelap tidak memerlukan cahaya berbeda dengan reaksi terang. Skema umum dari reaksi terang dan reaksi gelap adalah sebagai berikut.



Gambar 2. 3 Skema reaksi terang – reaksi gelap

2.3.1 Reaksi Terang

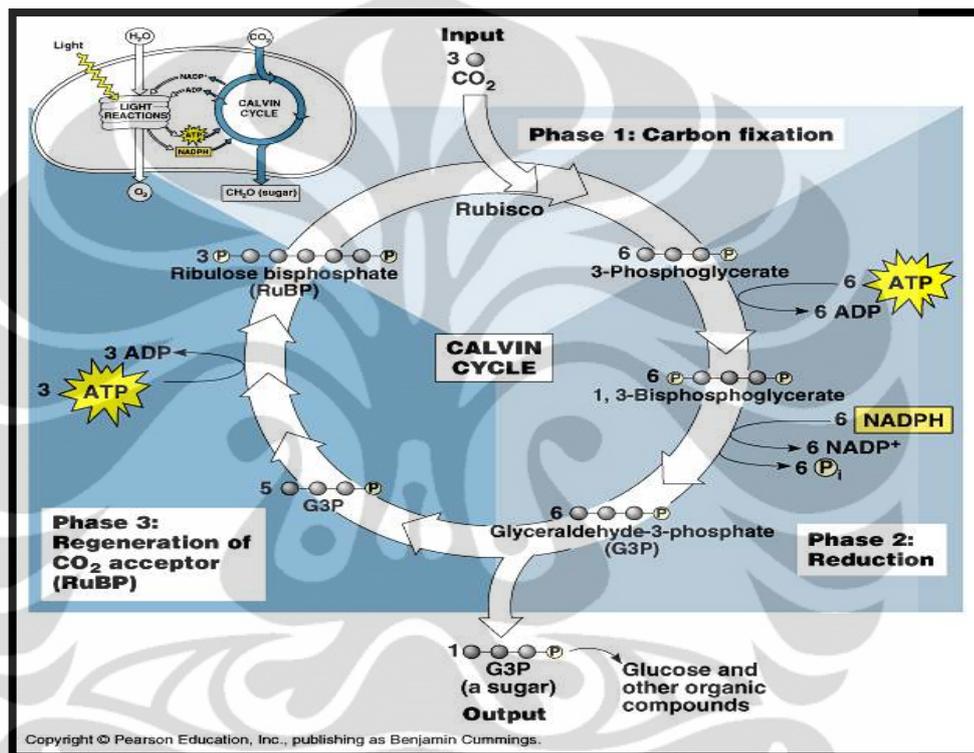
Reaksi terang berlangsung di membran fotosintesis (membran thylakoid). Reaksi terang ini menghasilkan ATP dan reduksi NADPH₂. Persamaan yang terjadi dalam reaksi terang adalah sebagai berikut.



Di dalam reaksi terang, ada dua sistem yang berlangsung secara seri, yaitu fotosistem I dan fotosistem II. Reaksi terang diawali dari penangkapan foton oleh klorofil yang terdapat pada fotosistem II, yang bekerja optimal pada panjang gelombang 680 nm. Elektron klorofil tersebut tereksitasi dan menyebabkan muatan menjadi tidak stabil. Untuk menstabilkan kembali, fotosistem II mengambil elektron dari molekul air disekitarnya. Elektron tersebut kemudian dipindahkan ke fotosistem I oleh *intermediate carrier*. Proses pemindahan elektron ini mengakibatkan reduksi NADP⁺ menjadi NADPH. Ion H⁺ dari molekul air masuk ke dalam membrane thylakoid. Kemudian terjadi pembentukan ATP dari ADP dan fosfat anorganik (Pi).

2.5.2 Reaksi Gelap

Reaksi ini disebut reaksi gelap karena tidak bergantung pada ada atau tidaknya cahaya sehingga dapat terjadi meskipun dalam keadaan tanpa cahaya. Pada reaksi gelap, terjadi suatu mekanisme yang disebut siklus Calvin-Benson. Skematik siklus ini dapat dilihat pada Gambar 2.4 di bawah.



Gambar 2. 4 Siklus Calvin-Benson (<http://www.superglossary.com/biology/Rubp.html>)

Siklus Calvin-Benson dimulai dengan fiksasi CO₂ oleh enzim ribulosa difosfat karboksilase (RuBP) dan membentuk 3-fosfogliserat atau 3-PGA. Gugus karboksil yang terdapat pada 3-PGA diubah dengan penambahan gugus fosfat yang bersumber dari ATP menjadi 1,3-bisfosfogliserat (1,3-bisPGA). ATP setelah melepas gugus fosfatnya kemudian menjadi ADP, dan secara cepat berubah kembali menjadi ATP dengan menggunakan P_i yang dilepas oleh NADPH. 1,3-bisPGA kemudian tereduksi menjadi gugus aldehida dalam gliseraldehid-3-fosfat (G3P). G3P tersebut kemudian sebagian menjadi glukosa dan senyawa organik lain, dan sisanya diregenerasi untuk diubah kembali menjadi RuBP.

2.4 Pemanenan (*Harvesting*)

Dalam proses kultivasi mikroalga, sebelum diperoleh biomassa, terdapat satu proses yang harus dilakukan terlebih dahulu, yaitu proses pemanenan atau *harvesting* atau *dewatering*. Pemanenan adalah proses pemisahan antara medium dan mikroalga secara separasi padat-cair. Metode separasi yang digunakan biasanya dengan cara sentrifugasi, filtrasi, flokulasi, dan beberapa metode lain. Proses ini berfungsi untuk memisahkan biomassa mikroalga yang terdapat di dalam reaktor dengan mediumnya, sehingga diperoleh biomassa dengan sedikit kandungan air. Untuk digunakan sebagai biodiesel, mikroalga yang dipanen harus memiliki persentase padatan 15%.

Untuk melakukan pemanenan, ada beberapa hal yang harus diperhatikan sehingga didapat biomassa yang sesuai harapan. Proses pemanenan harus dapat dioperasikan dengan mudah. Dengan kemudahan tersebut, akan sangat dimungkinkan untuk dioperasikan dalam skala besar. Hal penting lainnya adalah selama proses berlangsung, kandungan-kandungan mikroalga tidak boleh berpengaruh atau berpengaruh sangat kecil. Kandungan-kandungan inilah yang kemudian digunakan untuk penggunaan lebih lanjut. Misalnya, lipid yang digunakan sebagai *biofuel*, protein sebagai suplemen makanan, dan lain-lain. Oleh karena itu, kandungan di dalam sel, tidak boleh rusak agar sel tersebut dapat digunakan. Hal lain yang harus diperhatikan adalah *yield* biomassa yang besar. Faktor inilah yang menjadi kriteria utama dalam pemanenan. Biomassa yang tersebar di seluruh medium harus dapat diambil, walaupun ukuran sel mikroalga sangat kecil. Semakin banyak biomassa yang dapat diambil (*yield* besar), semakin banyak pula kandungan yang dapat diproses.

Dalam proses pemanenan, terdapat beberapa kendala yang kemudian menghambat dalam pemanfaatannya. Kendala yang pertama adalah konsentrasi yang rendah di dalam mediumnya. Dengan konsentrasi yang rendah tersebut, maka *yield* dari pemanenan harus tinggi, sehingga kultivasi akan bernilai ekonomis. Kendala berikutnya adalah ukuran mikroalga yang kecil, antara 3 sampai 30 μm . Karena ukuran tersebut, mikroalga menjadi sulit untuk dipanen, dan kendala ini lah yang menjadi hambatan pemanfaatan mikroalga sejak dahulu.

Dengan berkembangnya teknologi, teknik pemanenan mikroalga pun ikut berkembang. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, ada beberapa metode separasi yang dapat digunakan untuk pemanenan mikroalga, yaitu filtrasi, sedimentasi gravitasi, sentrifugasi, flokulasi, dan flotasi.

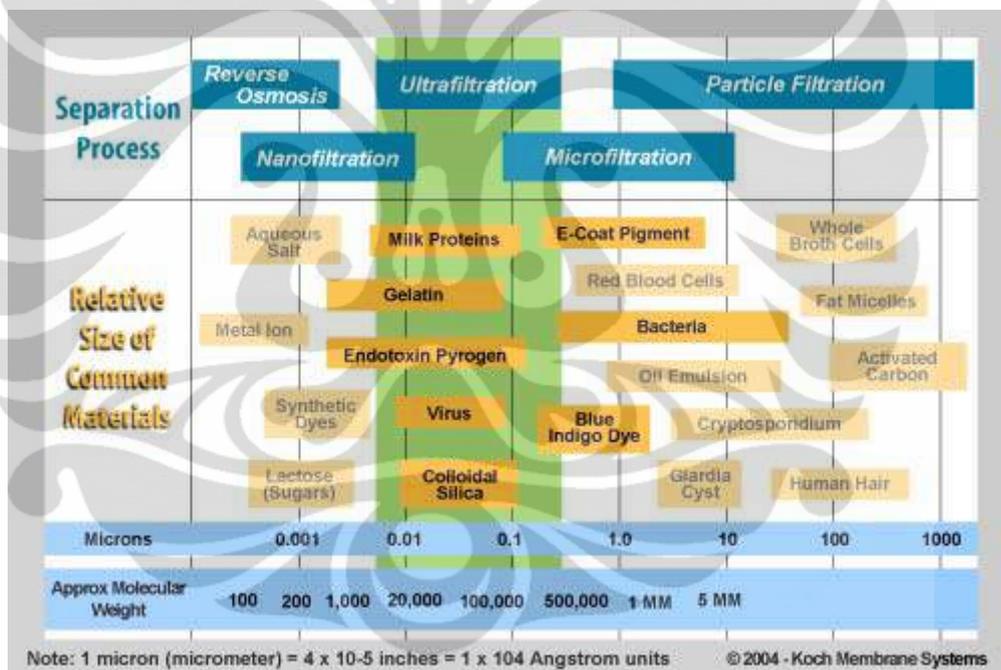
2.4.1 Filtrasi

Filtrasi merupakan suatu metode pemanenan, dimana medium dan mikroalga dialirkan melalui filter yang kemudian mikroalga akan tersaring/terfilter, sedangkan medium akan tetap mengalir melewati filter. Alga yang tersaring dalam filter akan menghasilkan pasta alga (Danquah, 2009). Filter yang telah terisi mikroalga inilah yang kemudian dipisahkan untuk diambil biomasanya. Filter dapat dibuat dari bahan *sponge*, kanvas, keramik, nilon, dakron, logam atau *fiberglass*.

Ada dua bentuk dasar filtrasi yang digunakan, yaitu filtrasi permukaan dan filtrasi kedalaman. Filtrasi permukaan (*surface filtration*) menghasilkan *cake* pada permukaan media filter, sedangkan pada filtrasi kedalaman (*deep bed filtration*) mikroalga yang tersaring berada di dalam media filter. Berdasarkan alirannya, filtrasi dapat dibagi menjadi dua macam, yaitu filtrasi kontinu dan filtrasi semi-kontinu. Filtrasi kontinu berlangsung secara terus menerus dimana filter digunakan terus menerus, dan ketika telah penuh oleh padatan filter diambil dan langsung diganti dengan filter yang berbeda, sedangkan filtrasi semi-kontinu berlangsung dalam beberapa saat. Berdasarkan jenisnya, filtrasi dapat dibedakan menjadi beberapa macam, yaitu *dead end filtration*, mikrofiltrasi, ultrafiltrasi, filtrasi bertekanan, filtrasi vakum, and *tangential flow filtration* (TFF) (Harun, 2009). Filtrasi konvensional hanya mampu menangkap mikroalga dengan ukuran $>70 \mu\text{m}$ (Brennan, 2009), sedangkan untuk mikroalga yang berukuran $<30 \mu\text{m}$ harus digunakan filtrasi membran atau ultrafiltrasi (Petrusevski, 1995).

Metode filtrasi banyak digunakan dalam pemanenan karena memiliki kelebihan energi yang digunakan kecil. Dalam artikelnya, Uduman (2010), mengatakan bahwa energi yang dibutuhkan untuk filtrasi alami sebesar $0,4 \text{ kWh/m}^3$ dan filtrasi bertekanan sebesar $0,88 \text{ kWh/m}^3$. Selain itu, metode ini mudah untuk dilakukan dan biaya operasional yang relatif kecil. Walaupun

demikian, metode filtrasi ini memiliki kelemahan atau kekurangan. Pemilihan media filter memiliki banyak faktor yang harus diperhatikan. Beberapa faktor tersebut adalah jenis mikroalga yang akan dipanen, karena tiap mikroalga memiliki ukuran dan morfologi yang berbeda-beda. Dengan demikian pemilihan tipe dan jenis filter pun harus diperhatikan. Gambar 2.5 di bawah ini menggambarkan beberapa jenis pemisahan dengan menggunakan filter. Selain itu, bahan dari filter itu sendiri harus diperhatikan, kemudahan untuk pemisahan mikroalga dari filter, dan lain-lain. Faktor lainnya adalah volume reaktor yang digunakan. Dengan semakin besarnya reaktor, maka jumlah dan ukuran filter akan semakin bertambah, serta posisi filter harus diperhatikan juga.



Gambar 2. 5 Jenis-jenis filter dan penggunaannya (<http://www.safewater.org/>)

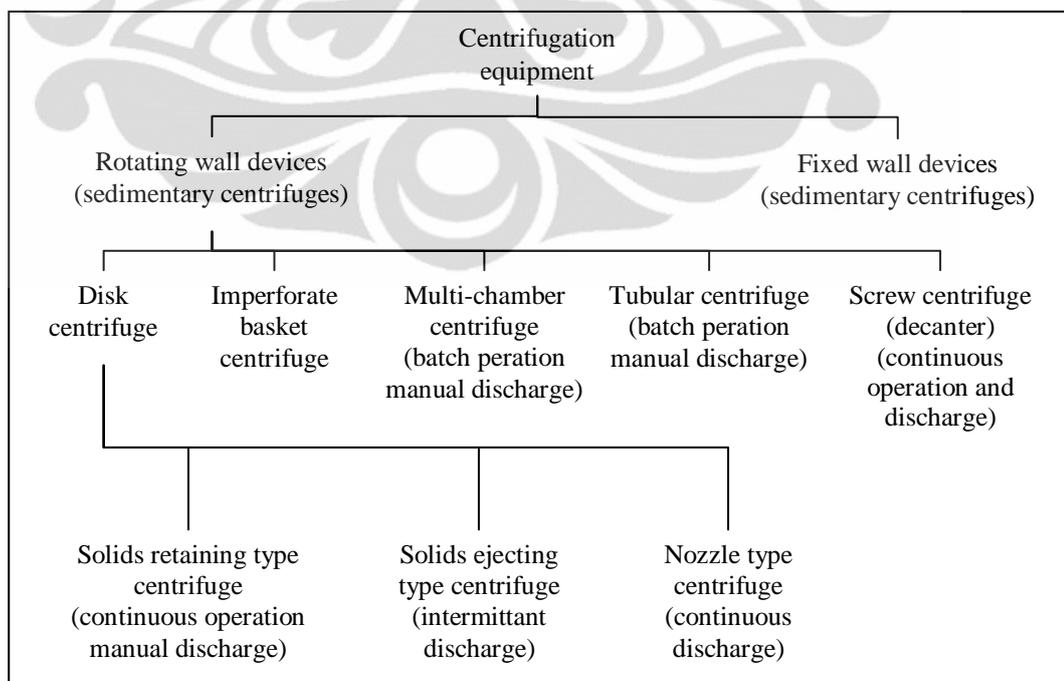
Beberapa penelitian telah berhasil digunakan dengan menggunakan metode ini. Syarif (2008) menggunakan filtrasi kontinu terhadap *C.vulgaris* dengan sponge sebagai media filternya. Hasil yang didapat lebih dari 10 juta sel/L. Neng dan Resat (2009) menggunakan ultrafiltrasi terhadap *Nannochloropsis* dengan hasil alga terkonsentrasi sebesar $5,1 \times 10^8$ sel/mL.

2.4.2 Sedimentasi Gravitasi

Sedimentasi gravitasi adalah metode pemisahan padat-cair berdasarkan gravitasi. Hasil yang diperoleh dari metode ini adalah *slurry* terkonsentrasi dan cairan bening. Metode ini hanya dapat dilakukan terhadap partikel yang memiliki ukuran cukup besar, sehingga lebih banyak digunakan untuk separasi mikroorganisme yang lebih besar dengan yang lebih kecil. Efisiensi yang rendah dan waktu separasi yang lama menjadi kendala dalam metode ini ketika akan digunakan terhadap *C.vulgaris*, walaupun hanya menggunakan sedikit biaya operasi (Andersen, 2005).

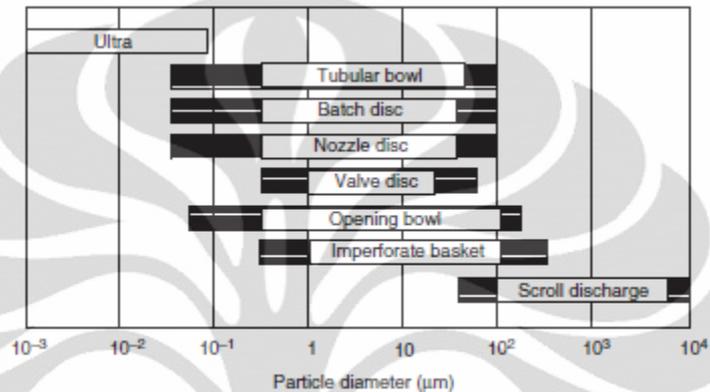
2.4.3 Sentrifugasi

Metode ini menggunakan akselerasi sentripetal untuk memisahkan alga dengan mediumnya berdasar densitas. Sentrifugasi pada dasarnya adalah sedimentasi gravitasi yang ditingkatkan kemampuannya dengan mengubah akselerasi gravitasi (g) menjadi akselerasi sentrifugal ($r\omega$). Hampir semua tipe mikroalga dapat diseparasi dari media kulturnya dengan sentrifugasi. Namun, Brennan (2009) mengatakan metode ini hanya cocok untuk mikroalga dengan ukuran lebih besar dari 70 μm .



Gambar 2. 6 Klasifikasi peralatan sentrifugasi

Sentrifuge adalah tangki sedimentasi dengan dilengkapi gaya gravitasi untuk meningkatkan kecepatan sedimentasi. Peralatan-peralatan yang terdapat pada sentrifuge dapat dilihat dari Gambar 2.6 di atas. Ada banyak tipe sentrifuge yang telah dikembangkan. Tipe-tipe ini dibagi berdasarkan cara kerja dan ukuran partikel yang dapat dipisahkannya. Sentrifuge-sentrifuge tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.7 berikut ini.



Gambar 2.7 Jarak ukuran partikel untuk berbagai tipe sentrifuge (Grima, 2004)

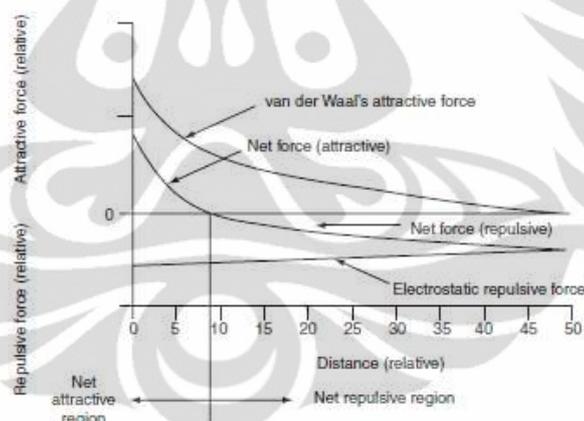
Metode ini banyak dilakukan karena waktu separasi berlangsung secara cepat. Sim (1988) menggunakan metode ini dengan menghasilkan efisiensi sebesar 90%. Heasman (2000) mempelajari pengaruh kecepatan rotasi terhadap efisiensi panen, dengan kecepatan rotasi antara 1300 sampai 13000 g. Hasil yang diperoleh adalah efisiensi lebih dari 95% ketika kecepatan sentrifugasi maksimum (13000 g), yang kemudian menurun menjadi 60% pada 6000 g dan 40% pada 1300 g. Namun, waktu separasi yang singkat tersebut didapat dengan energi yang cukup besar. Uduman (2010) mengatakan bahwa energi yang diperlukan sebesar 8 kWh/m³ kultur mikroalga.

2.4.3 Flokulasi

Flokulasi adalah metode pemanenan dimana mikroalga akan saling terkumpul hingga membentuk suatu gumpalan massa yang lebih besar, yang disebut flok. Flokulasi dapat disebut pula sebagai proses agregasi partikel kecil menjadi partikel yang berukuran lebih besar akibat dari adanya ketidakstabilan fisik atau kimiawi. Dalam beberapa literatur, disebutkan bahwa flokulasi sama dengan koagulasi, dikarenakan mekanisme operasinya hampir sama. Namun, bagi

sebagian peneliti, kedua metode tersebut berbeda, dimana flokulasi membentuk agregat akibat polimer, sedangkan koagulasi akibat dari elektrolit. Metode ini biasanya merupakan langkah awal bagi metode pemanenan selanjutnya (Molina, 2003). Agregat yang terbentuk disebabkan oleh perubahan pH atau penambahan elektrolit sebagai flokulan atau koagulan.

Dalam hubungan antarsel terdapat dua gaya yang terlibat. Gaya yang pertama adalah gaya tolak menolak elektrostatis permukaan sel karena memiliki muatan yang sama, yaitu bermuatan negatif. Hal ini disebabkan karena adanya ionisasi grup ionogenik fungsional (Tenney, 1969). Gaya ini terjadi pada jarak relatif yang cukup jauh. Pada jarak relatif yang sangat dekat, terjadi tarik menarik akibat gaya antarmolekul Van der Waals. Gaya antarmolekul lebih besar dibanding gaya elektrostatis, namun hanya terjadi dalam jarak sangat dekat. Gambar 2.8 menunjukkan kedua gaya tersebut dan penjumlahannya. Pada jarak jauh, gaya tolak menolak mendominasi, pada jarak sangat dekat gaya tarik menarik lebih mendominasi.



Gambar 2. 8 Pengaruh gaya tarik menarik dan gaya tolak menolak terhadap jarak tertentu pada suatu mikroalga (Grima, 2004)

Untuk mengurangi muatan negatif permukaan sel, diperlukan suatu zat yang memiliki muatan positif sehingga dapat terjadi penggumpalan, zat tersebut disebut flokulan atau koagulan. Koagulan yang mengandung kation divalent atau trivalent dapat mengurangi muatan negatif permukaan sel dan membentuk endapan untuk memerangkap sel.

Pemanenan sel mikroalga dengan flokulasi dianggap lebih baik daripada metode konvensional seperti sentrifugasi atau filtrasi, karena dapat menghasilkan

biomassa yang lebih besar secara kuantitas. Metode ini juga mudah untuk dilakukan dan dengan sedikit menggunakan energi. Walaupun demikian, metode ini memiliki beberapa kekurangan secara teknis dan ekonomi, seperti biaya flokulan yang mahal, tingkat racun flokulan, dan sulitnya untuk diperbesar (*scale-up*).

Metode ini sering sekali digunakan karena kelebihan-kelebihannya tersebut, dan biasanya digunakan untuk pengolahan limbah. Blanchemain dan Grizeau (1999) menggunakan metode ini dengan pengaturan pH terhadap *Skeletonema costatum*. Efisiensi yang dicapai sebesar 80% pada pH lebih dari 10,2. Harith (2009) menggunakan NaOH terhadap *Chaetoceros calcitrans* dengan hasil efisiensi hampir 100% pada pH 11. Neng dan Resat (2009) menggunakan NaOH sebagai flokulan pada *Nannochloropsis sp.* Floc terbentuk setelah 24 jam dengan densitas sel antara $10,1 \times 10^8$ sel/ml sampai $12,3 \times 10^8$ sel/ml. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1.1.

Dalam penggunaan metode flokulasi terhadap *C.vulgaris*, Oh (2001) menggunakan beberapa macam flokulan. Hasil yang diperoleh pada penelitian Oh dapat dilihat dari tabel berikut.

Tabel 2. 3 Aktivitas berbagai flokulan pada *C.vulgaris* (Oh, 2001)

Treatment	Flocculation activity ^a			
	OD ₆₈₀ of sample	OD ₆₈₀ of references	Flocculation efficiency (%) ^b	
Initial pH	5	0,181 ± 0,016	0,794 ± 0,001	77 ± 2
	7	0,150 ± 0,008	0,787 ± 0,001	81 ± 1
	9	0,146 ± 0,007	0,778 ± 0,000	82 ± 1
	11	0,110 ± 0,011	0,744 ± 0,002	86 ± 1
Bioflocculant from strain				
AM49 (20 mL/L)	0,130 ± 0,010	0,785 ± 0,002		83 ± 1
Aluminum sulfate (2 mg/L)	0,221 ± 0,027	0,785 ± 0,002		72 ± 4
Polyacrilamide (2 mg/L)	0,175 ± 0,020	0,785 ± 0,002		78 ± 3

^aEach value represents mean ± SD (*n* = 3)

^bFlocculation efficiency = $(1 - A/B) \times 100$ (A: OD₆₈₀ of sample, B: OD₆₈₀ of references)

2.4.4 Flotasi

Flotasi dapat diartikan sebagai metode separasi dimana gas atau udara digelembungkan melewati suspensi padat-cair dan molekul gas terkait ke partikel padat tersebut. Kemudian partikel akan terbawa ke permukaan dan terakumulasi sebagai busa (Uduman, 2010). Beberapa jenis mikroalga dapat mengapung dengan sendirinya ketika jumlah lipid yang dikandung meningkat (Bruton, 2009). Namun biasanya digunakan bahan-bahan kimia tertentu untuk menyebabkan pengapungan tersebut. Flotasi dapat dibagi menjadi tiga macam berdasarkan pembentukan gelembungnya, yaitu flotasi udara terlarut, flotasi udara tersebar, dan flotasi elektrolitik. Perbandingan ketiga macam flotaasi tersebut dapat dilihat dari tabel berikut.

Tabel 2. 4 Tabel perbandingan tiga macam flotasi (Shelef, 1984)

Flotation	Relative energy required	Reliability	Remarks
Dissolved air flotation	High	Very good	Surfactant required
Electrolytic flotationun	Very high	Very good	Surfactant required
Dispersed air flotation	Unknown	Unknown	pH reduction or surfactant required

2.4.5 Kriteria pemilihan metode pemanenan

Kriteria utama pemilihan metode pemanenan adalah kualitas produk yang ingin diperoleh. Untuk pengolahan limbah, dapat digunakan metode flokulasi dengan bahan kimia yang murah, dengan tujuan utama memperoleh *yield* yang besar. Jika digunakan untuk produksi makanan, disarankan menggunakan sentrifuge kontinu seperti separator pelat atau separator *nozzle*. Sentrifuge ini mudah dibersihkan dan disterilkan, dan kontaminasi bakteri atau pengotor juga dapat dihindari dengan mudah.

Pemilihan metode juga dipengaruhi oleh kondisi PBR yang digunakan. Untuk skala besar, metode filtrasi kontinu akan lebih mudah digunakan karena hanya membutuhkan energi lebih kecil dibanding sentrifugasi, dan tidak memerlukan bahan-bahan kimia, sehingga akan memperkecil biaya produksi.

Tiap-tiap metode tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing. Filtrasi memiliki kelebihan yaitu energi yang diperlukan sedikit,

ekonomis, dan tanpa bahan kimia, sehingga aman untuk konsumsi. Namun kekurangan metode ini adalah efisiensi yang bergantung pada morfologi dan ukuran sel yang akan difilter. Sentrifugasi memiliki efektivitas yang tinggi, namun energi yang diperlukan pun besar sehingga tidak cocok untuk digunakan pada skala besar. Flokulasi hanya membutuhkan energi sedikit dan bersifat lebih ekonomis jika dibanding kedua metode lainnya. Namun kekurangan metode ini adalah flokulan yang digunakan masih berbahaya jika digunakan untuk konsumsi. Alum ($Al_2(SO_4)_3$) memiliki efek samping yang berbahaya pada pertumbuhan hewan, bahkan chitosan pun memberikan efek buruk, yaitu penurunan larva tiram yang bertahan hidup setelah diberi pakan mikroalga hasil flokulasi dengan chitosan (Heasman, 2000).

2.5 Ekstraksi

Dalam beberapa kasus, seringkali ditemukan campuran senyawa yang sulit untuk diseparasi secara mekanik atau termal, misalnya campuran padat-cair pada bahan alami. Hal ini dimungkinkan karena komponen yang bercampur saling mengikat sangat erat, beda sifat fisiknya terlalu kecil, atau konsentrasinya terlalu rendah (Herdiana, 2011). Dalam kasus ini, dapat digunakan metode separasi secara ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan atau separasi suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang melarutkan zat tersebut namun tidak melarutkan campurannya. Contoh dari proses ini misalnya pengambilan esensi (*essence*) dari bunga untuk pewangi, dan sebagainya.

Metode ini digunakan pula untuk memperoleh kandungan nutrisi yang terdapat dalam mikroalga. Zhu et al. (2002) mengekstrak mikroalga *Mortierella alina* untuk diambil lipidnya. Herdiana (2011) juga mengekstrak lipid dari *C.vulgaris*.

Dalam melakukan ekstraksi, ada beberapa hal yang harus diperhatikan, yaitu: selektivitas, tingkat kelarutan zat dalam pelarutnya, kemampuan untuk tidak saling tercampur, perbedaan kerapatan zat yang ingin diekstraksi dan pelarutnya, keberadaan reaktivitas, dan titik didih pelarut.

2.6 Kandungan Nutrisi Mikroalga dan Pemanfaatannya

Mikroalga telah diketahui dapat membantu mengurangi emisi gas CO₂ di atmosfer. Namun, selain pemanfaatannya secara tidak langsung tersebut, mikroalga juga telah diteliti memiliki berbagai nutrisi di dalam selnya. Kandungan nutrisi inilah yang dapat dimanfaatkan secara langsung untuk berbagai kebutuhan hidup manusia.

Arthrospira sp., memiliki kandungan protein yang tinggi, dan dapat digunakan untuk mengurangi hipertensi, meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus* dalam tubuh, dan lain-lain. *Dunaliella salina* juga memiliki kandungan beta karoten yang tinggi (dapat mencapai 14%), yang berguna sebagai pro-vitamin A dan antioksidan (Spolaore, 2006). Selain itu, Spolaore (2006) juga mengatakan dalam artikelnya, ekstrak mikroalga dapat digunakan untuk perawatan kulit dan wajah, perawatan rambut, serta proteksi terhadap sinar matahari (*sun protection, sun block*). *Arthrospira sp.* dapat mencegah penuaan dini, *C.vulgaris* dapat menstimulasi pembentukan kolagen di kulit, dan *Nannochloropsis oculata* memiliki kandungan untuk mengencangkan kulit. Ryll (2003) mengatakan bahwa dalam sel *Chlorella sp.* terdapat substansi yang penting, yaitu β -1,3-glucan. Senyawa ini berfungsi sebagai pengikat radikal bebas, dan *active immunostimulator*, serta dapat mengurangi lemak darah. Lutein yang terdapat dalam sel *Chlorella* dapat berfungsi sebagai antioksidan yang dapat melindungi mata dari penyakit tua seperti katarak.

Nutrisi makro yang terdapat pada mikroalga antara lain: protein, lipid, klorofil, dan beta karoten. Berikut ini adalah penjelasan mengenai nutrisi makro yang terkandung dalam mikroalga.

2.6.1 Protein

Protein yang terdapat dalam mikroalga, khususnya *C.vulgaris*, terdiri dari asam amino esensial. Pada Tabel 2.5 dapat dilihat kandungan protein asam amino esensial *C.vulgaris*.

Tabel 2. 5 Persentase asam amino esensial pada *Chlorella sp.*

(http://www.chlorellahellas.com/what.htm)

Asam amino esensial	Persentase dalam berat kering (%)
Isoleucine	2,01
Leucine	4,14
Lysine	3,19
Methionine	1,04
Phenylalanine	2,57
Threonine	2,42
Tryptophan	0,80
Valine	3,00

C.vulgaris memiliki kandungan protein sebanyak 51-58% berat kering (Spolaore, 2006). Protein ini tidak dapat disintesis oleh manusia, namun dibutuhkan oleh tubuh dalam banyak hal, misalnya membantu pertumbuhan, regenerasi sel, dan menjaga gula dalam darah. Selain itu, terdapat pula sporopollein yang dapat berguna mengikat racun dan mengikat logam-logam berat dan pestisida. Antibiotik alami yang terkandung dalam *C.vulgaris* adalah chlorellin, yang berguna dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri asam laktat, untuk regulasi sistem pencernaan.

2.6.2 Lipid

Lipid yang terdapat dalam sel mikroalga akan digunakan sebagai *biofuel* atau biodiesel. Lipid yang terdapat pada mikroalga diperkirakan dapat mencapai 200 kali dibandingkan dengan tumbuhan besar penghasil minyak, seperti kelapa sawit dan jarak pagar (Rachmaniah, 2010). Liang (2009) melaporkan bahwa *C.vulgaris* memiliki lipid sebesar 38% dari berat kering selnya. Namun, dalam laporannya, Verma (2010) menuliskan bahwa *C.vulgaris* memiliki kandungan lipid hingga mencapai 56%. Tabel 2.6 adalah daftar beberapa mikroalga dengan kandungan lipidnya.

Lipid yang terdapat dalam sel *Chlorella sp.* dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu: lemak netral, glikolipid (tersimpan dalam membran), dan lemak polar (tersimpan dalam membran plasma). Lemak-lemak netral inilah yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan *biofuel* dan biodiesel. Komposisi asam lemak yang terdapat pada *Chlorella sp.* dapat dilihat pada Tabel 2.7.

Tabel 2. 6 Beberapa spesies alga dengan kandungan lipidnya (Verma, 2010)

Spesies Alga	% Lipid dari Berat Kering	Sumber
<i>Anabaena cylindrica</i>	4 – 7	Becker, 1994
<i>Ankistrodesmus sp.</i>	28 – 40	Ben-Amotz dan Tornbene, 1985
<i>Botryococcus braunii</i>	25 – 86	Dayananda et al., 2005
<i>Chaetoceros muelleri</i>	24,4	Mohapatra, 2006
<i>Chlamydomonas sp.</i>	23	Feinberg, 1984
<i>Chlorella emersonii</i>	63	Gouveia and Oliveira, 2009
<i>Chlorella minutissima</i>	57	Gouveia and Oliveira, 2009
<i>Chlorella protothecoides</i>	15 – 55	Xiong et al., 2008
<i>Chlorella sorokiana</i>	22	Gouveia dan Oliveira, 2009
<i>Chlorella vulgaris</i>	14 – 56	Gouveia dan Oliveira, 2009
<i>Cyclotella sp.</i>	42	Sheehan et al., 1998
<i>Dunaliella bioculata</i>	8	Becker, 1994
<i>Dunaliella salina</i>	28,1	Mohapatra, 2006
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	36 – 42	Tsukahara dan Sawayama, 2005
<i>Hantzschia sp.</i>	66	Sheehan et al., 1998
<i>Isochrysis galbana</i>	21,2	Mohapatra, 2006
<i>Monallantus salina</i>	72	Shifrin dan Chisholm, 1981
<i>Nannochloropsis sp.</i>	28,7	Gouveia dan Oliveira, 2009
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35 – 65	Tornabene et al., 1983
<i>Nitschia closterium</i>	27,8	Mohapatra, 2006
<i>Nitschia frustulum</i>	25,9	Mohapatra, 2006
<i>Phaeodactylum tricornerutum</i>	20 – 30	Molina Grima et al., 2003; Fernandez et al., 2003; Chisti, 2007
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	16 – 40	Becker, 1994
<i>Scenedesmus obliquus</i>	12 -14	Becker, 1994
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	19,9	Mohapatra, 2006
<i>Selenastrum sp.</i>	21,7	Mohapatra, 2006
<i>Skeletonema costatum</i>	19,7	Mohapatra, 2006
<i>Spirulina maxima</i>	6 – 7	Becker, 1994
<i>Spirulina plantensis</i>	16,6	Feinberg, 1984
<i>Stichococcus sp.</i>	33	Sheehan et al., 1998
<i>Tetraselmis maculata</i>	3	Becker, 1994
<i>Tetraselmis suecia</i>	15 – 23	Chisti, 2007; Huntley dan Redalje, 2007

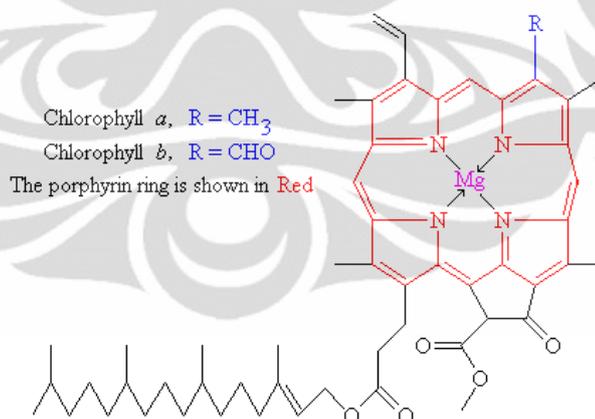
Tabel 2. 7 Komposisi asam lemak bebas pada *Chlorella sp.* (Rachmaniah, 2010)

Komposisi	Persen Lipid dalam Berbagai Metode Ekstraksi			
	Bligh Dyer	Bligh Dyer Modifikasi	Sokhletasi	Shock osmotic
As. Laurat (C12:0)	-	-	-	5,48
As. Miristat (C14:0)	0,03	0,77	29,06	7,63
As. Miristoleat (C14:1)	-	-	-	-
As. Palmitat (C16:0)	19,11	21,05	4,70	37,96
As. Palmitoleat (C16:1)	-	6,92	-	-
As. Stearat (C18:0)	5,63	9,04	2,43	-
As. Oleat (C18:1)	8,37	10,43	3,21	40,94
As. Linoleat (C18:2)	21,33	22,10	8,24	-
As. Linolenat (C18:3)	18,07	12,58	16,59	-

2.6.3 Klorofil

Klorofil merupakan zat warna hijau yang terkandung dalam sel mikroalga hijau seperti *Chlorella sp.* Klorofil digunakan untuk proses fotosintesis pada mikroalga hijau dan tumbuhan hijau, namun demikian, klorofil juga bermanfaat bagi manusia. Klorofil bermanfaat untuk mengikat radikal bebas dan membersihkan racun dalam tubuh. Selain itu, klorofil juga dapat mempercepat regenerasi kulit, antibiotik, menghilangkan bau nafas, menurunkan hipertensi, memperkuat jantung, dan anti-infeksi (<http://www.klinghardtacademy.com/Articles/Chlorella-Vulgaris-Medicinal-Food.html>). *C.vulgaris* merupakan makhluk hidup yang memiliki jumlah terbesar klorofil dibanding dengan semua tumbuhan hijau, yang dapat mencapai enam kali dibanding klorofil pada bayam dan lima kali dibanding *Spirulina sp.*

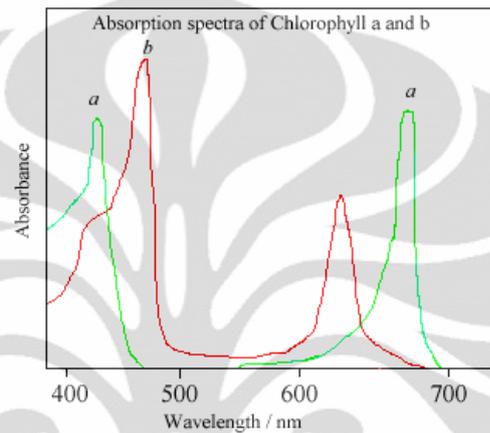
Klorofil yang terkandung dalam *C.vulgaris* adalah klorofil a dan klorofil b, dengan jumlah masing-masing sebesar ± 5 mg/L dan $\pm 2,5$ mg/L (Qian, 2009). Secara struktur, kedua macam klorofil ini berbeda pada gugus cabang pada cincin utamanya. Gambar berikut adalah perbandingan struktur kedua macam klorofil tersebut.



Gambar 2. 9 Struktur kimia klorofil a dan klorofil b (<http://www.chm.bris.ac.uk/>)

Kedua jenis klorofil ini saling membantu dalam proses fotosintesis. Klorofil a sebagai pigmen fotosintesis utama dapat menangkap cahaya dengan panjang gelombang 430 nm (biru) dan 662 nm (merah). Klorofil a banyak dihasilkan untuk proses fotosistem I. Untuk membantu proses fotosintesis, klorofil b dapat meningkatkan jangkauan panjang gelombang cahaya yang ditangkap. Klorofil b

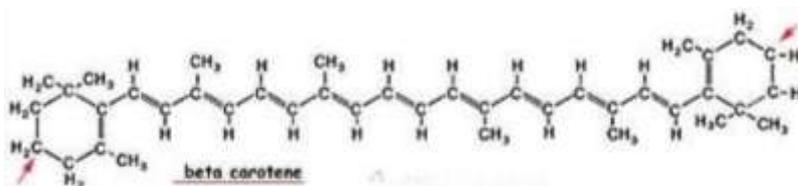
dapat menangkap panjang gelombang 453 nm dan 642 nm. Pada fotosistem II, jumlah klorofil b lebih tinggi dibanding klorofil a. Selain itu, dalam keadaan sedikit cahaya, klorofil b akan lebih banyak dibentuk untuk meningkatkan kemampuan fotosintesis. Gambar di bawah ini menunjukkan perbandingan absorbansi kedua klorofil tersebut.



Gambar 2. 10 Spektrum absorbansi klorofil a dan klorofil b
(http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll_h.htm)

2.6.4 Beta karoten

Beta karoten termasuk ke dalam karotenoid atau pigmen warna yang mengandung zat warna kuning kemerahan yang terdapat pada sayur dan buah-buahan. Karotenoid dapat mengabsorb cahaya dengan panjang gelombang maksimal 460 nm dan 550 nm, sehingga dapat terlihat warna kekuningan. *C.vulgaris*, selain memiliki klorofil sebagai zat warna hijau, juga memiliki beta karoten dalam selnya. Beta karoten dalam sel mikroalga hijau akan menghasilkan warna sel yang lebih gelap dibandingkan jika hanya memiliki klorofil. *Dunaliella salina* merupakan mikroalga hijau yang memiliki kandungan beta karoten terbesar yang dapat mencapai 14% dari berat keringnya. Beta karoten dapat berfungsi sebagai antioksidan dan merangsang kekebalan tubuh. Selain itu, beta karoten juga merupakan provitamin A. Karotenoid ini bagi mikroalga dan tumbuhan berfungsi sebagai pelindung dari radikal bebas yang berasal dari sinar ultraviolet atau radiasi lainnya. Struktur beta karoten dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 2. 11 Struktur kimia beta karoten

(<http://www2.mcdaniel.edu/Biology/botf99/photo/p3pigments.html>)

Chlorella sp. juga memiliki vitamin-vitamin yang berguna bagi manusia selain beta karoten ini. Tabel berikut ini adalah rincian vitamin yang dikandung oleh *Chlorella sp.*

Tabel 2. 8 Persentase kandungan vitamin pada *Chlorella sp.*

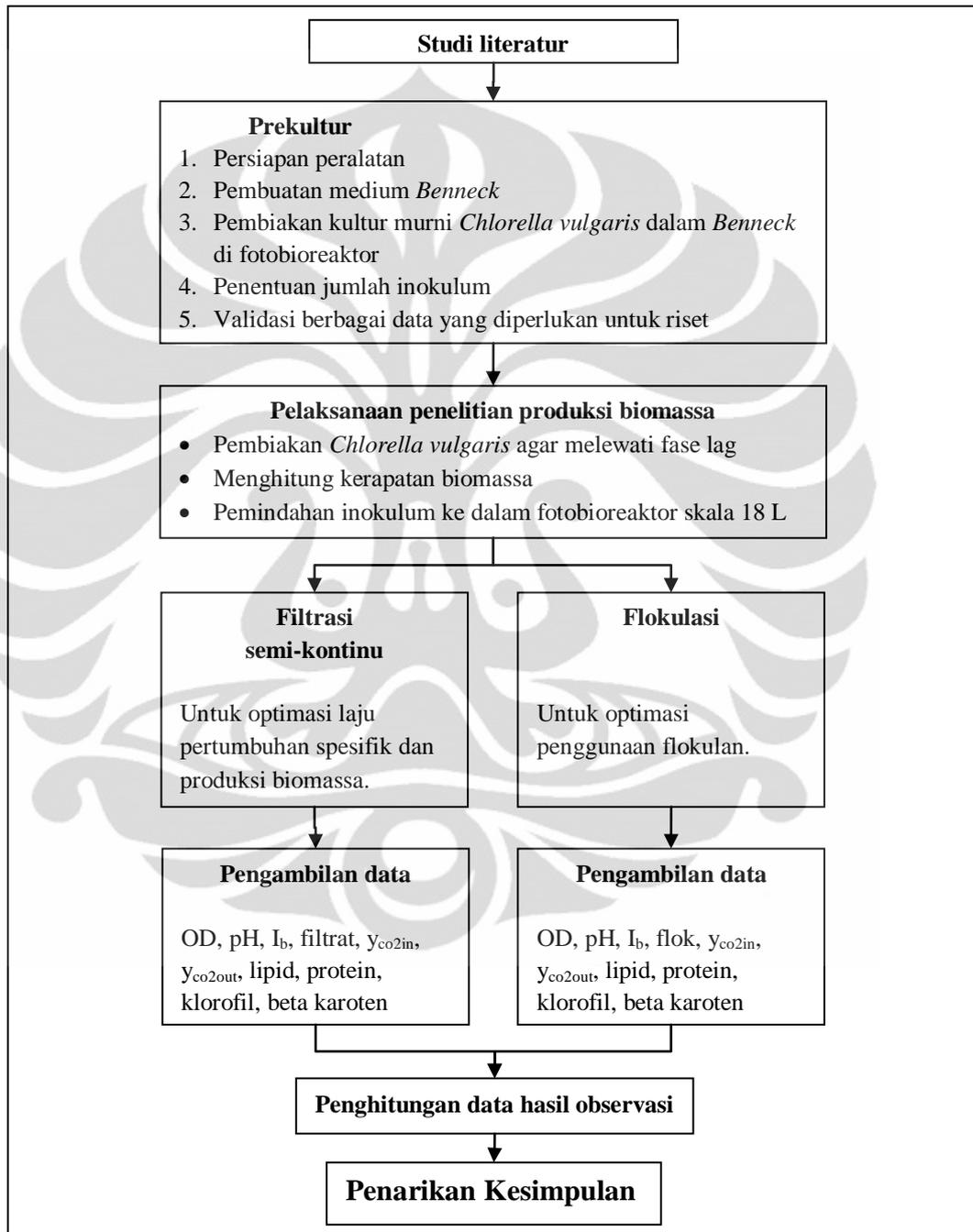
(<http://www.chlorellahellas.com/what.htm>)

Vitamin (mg/kg)	Persentase dalam berat kering sel (%)
B1 - thiamine	18
B2 - riboflavin	44
B3 - nicotinic acid (niacin)	219
B5 - pantothenic acid	13
B6 - pyridoxine	28
B12 - cobalamin	0,8
biotin (vitamin H)	0,3
folic acid	42
vitamin E (tocopherol)	298
vitamin C (ascorbic acid)	655
beta-carotene (provitamin A)	105

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Diagram Alir

Diagram alir penelitian ini adalah sebagai berikut



Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian

3.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang akan digunakan pada penelitian ini, antara lain :

1. Fotobioreaktor transparan berbentuk aquarium dengan volume 18 L yang dilengkapi dengan aliran masuk dan keluar gas.
2. Kompresor udara *portable*.
3. Tabung gas CO₂ yang dilengkapi dengan *regulator*.
4. *Flowmeter* udara dan *flowmeter* CO₂.
5. Wadah yang berisi filter.
6. Pompa air.
7. T-septum yang terbuat dari bahan gelas (sebagai titik indikator konsentrasi CO₂ masuk fotobioreaktor).
8. Peralatan *glassware* yang terdiri dari erlenmeyer 100 ml (sebagai *discharge* gas CO₂ dan udara keluar fotobioreaktor), pipet ukur 5 ml, pipet volum, gelas ukur 10 ml dan 100 ml, dan *beaker glass* 20 ml dan 100 ml.
9. Selang silikon dan selang plastik (sebagai rangkaian peralatan dan konektor rangkaian).

Peralatan di bawah ini merupakan instrumen untuk pengambilan data penelitian, baik variabel bebas maupun terikatnya, yaitu:

- Kuvet plastik dengan volume 2 mL
- Spektrofotometer UV-VIS (Spectro UV-VIS Spectrophotometer, LaboMed Inc.)
- *Luxmeter* (Lightmeter LT Lutron LX-107)
- pH meter (WTW Wissenschaftlich Multi 340i/SET)
- *Syringe* 1001 RT Hamilton 1 cm³
- Unit *Gas Chromatography* TCD Shimadzu GC-8A (untuk kontrol konsentrasi gas CO₂ masukan dan keluaran fotobioreaktor), Recorder C-R6A Chromatopac (untuk mendapatkan *printout* dari GC).
- *Magnetic stirrer* (Hot Plate with Stirrer “CIMAREC 202”)

Selain itu terdapat juga instrumen tambahan dengan beberapa fungsi tertentu, antara lain:

1. Mikroskop cahaya elektrik XSZ-107BN (AC 220 Volts/50 Hz) dengan pembesaran maksimum 4000X (untuk mengamati sel dapat digunakan pembesaran 1000X, sedangkan untuk menghitung sel dapat digunakan pembesaran 1000X).
2. Peralatan kaca yang terdiri dari Erlenmeyer, pipet ukur, pipet tetes, gelas ukur, botol sampel sel, dan beaker glass yang memiliki volum tertentu sesuai kebutuhan
3. Lemari kerja UV (sebagai *transfer box*).
4. Lemari reaktor terbuat dari kaca dan aluminum.

Bahan penelitian yang digunakan, yaitu :

1. Starter mikroalga hijau *C.vulgaris* dengan usia sekitar 72 jam yang telah dihitung sel awal-nya (inokulum) menggunakan spektrofotometer pada 600 nm.
2. KH_2PO_4 , MgSO_4 , NaNO_3 , dan FeCl_3 untuk pembuatan medium Benneck.
3. NaOH sebagai pengubah pH pada flokulasi.
4. *Aquadest* (untuk mencuci alat).
5. Alkohol 70% (untuk mencuci alat/sterilisasi dan mencegah kontaminasi).

3.3 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini terbagi menjadi variabel bebas dan variabel terikat. Berikut ini adalah rincian dari variabel bebas dan terikat yang digunakan dalam penelitian ini.

- Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang diatur pada suatu harga tertentu. Variabel bebas pada penelitian ini adalah OD awal dan jumlah flokulan.

- Variabel terikat

Variabel ini merupakan variabel yang diukur nilainya setelah diberikan harga tertentu pada variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kerapatan biomassa *C.vulgaris*, jumlah kerapatan sel (OD), I_b dan I_0 , dan pH.

- Variabel tetap

Variabel tetap dalam penelitian ini adalah kecepatan superfisial CO₂, dan intensitas cahaya yang digunakan.

3.4 Prosedur Penelitian

Tahap penelitian diawali dengan perancangan fotobioreaktor skala 18 L. Kemudian dilanjutkan dengan membiakan kultur murni *C.vulgaris* dalam medium *Benneck* sehingga diperoleh kondisi mikroalga yang seragam dan membiasakan mikroalga pada kondisi yang akan digunakan pada proses penelitian. Pemiakan kultur murni ini dilakukan selama 2-3 hari dengan memberikan cahaya yang berintensitas 1000 sebanyak satu kali untuk melewati fase lag dari pertumbuhan *C.vulgaris*.

Kemudian dilakukan pembuatan kurva kalibrasi yang bertujuan untuk memudahkan penghitungan sampel yang memiliki jumlah sel banyak dan mengetahui berat kering dari suatu sampel dengan hanya mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer cahaya tampak.

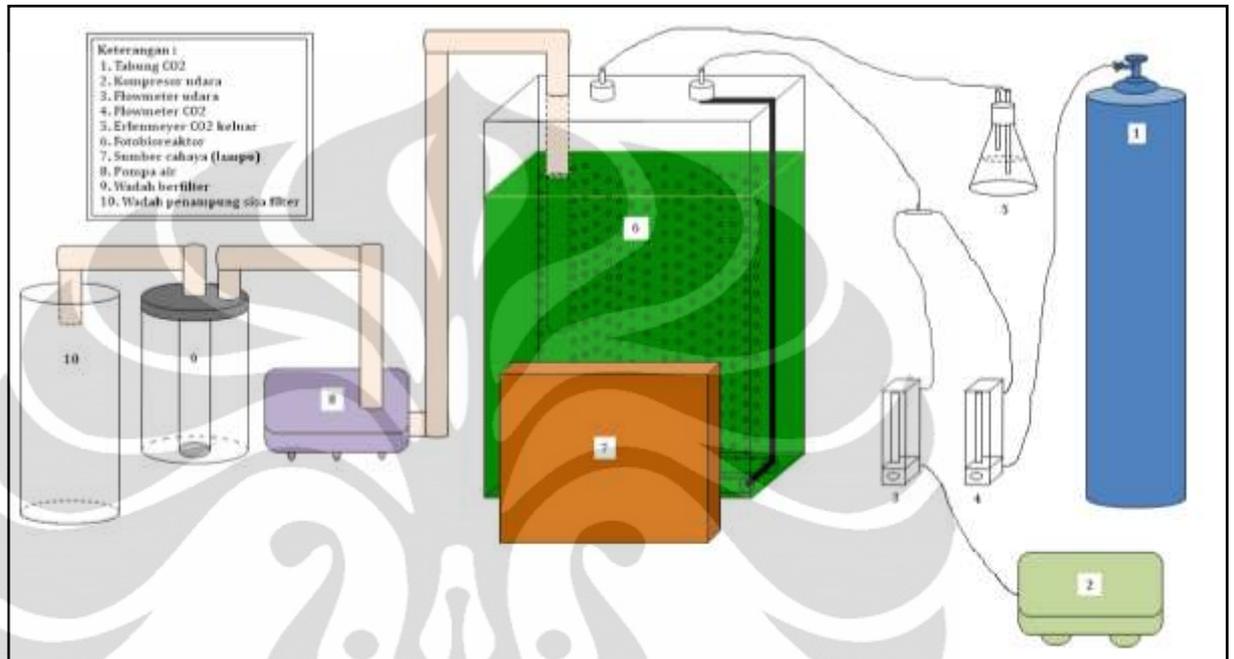
Setelah itu, menentukan jumlah inokulum dengan cara mengaduk medium kultur hingga semua endapan *C.vulgaris* yang ada di dalamnya merata dan diambil sampelnya untuk diukur nilai absorbansinya. Data yang diukur dalam eksperimen ini adalah absorbansi cahaya tampak pada panjang gelombang 600 nm (OD₆₀₀). Kemudian dilakukan pencahayaan dengan intensitas tetap. Diambil data berupa OD, pH, dan filtrat serta flok yang akan diolah untuk mendapatkan berat kering biomassa (X), konsentrasi HCO₃⁻ terlarut, CTR (*carbon transfer rate*), dan q_{CO_2} (kemampuan mikroalga memfiksasi CO₂), serta energi pembentukan biomassa (E , E_x , dan η). Data-data ini kemudian dianalisis dan dibuat kesimpulan penelitian.

Kondisi operasi penelitian adalah sebagai berikut:

1. Temperatur fotobioreaktor sebesar 29°C
2. Tekanan gas dan udara dalam fotobioreaktor sebesar 1 atm
3. Kecepatan superfisial (U_G) sebesar 15,15 m/jam
4. Konsentrasi CO₂ masukan sebesar kurang lebih 5% dalam campuran antara udara.

3.4.1 Tahap Perangkaian Fotobioreaktor

Fotobioreaktor yang digunakan pada penelitian adalah fotobioreaktor dengan volume 18 L. Gambar di bawah ini adalah sketsa fotobioreaktor yang akan digunakan.



Gambar 3. 2 Skema peralatan

3.4.2 Sterilisasi Peralatan

Sterilisasi bertujuan untuk menghilangkan kontaminan yang berada di peralatan yang akan digunakan, sehingga pertumbuhan *C.vulgaris* tidak terhambat. Adapun langkah-langkah untuk sterilisasi alat adalah sebagai berikut :

1. Pencucian Peralatan

Peralatan yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu dengan air sabun kemudian dibilas dengan air sampai tidak terdapat sabun yang menempel.

2. Pengeringan

Setelah peralatan dicuci dan dibilas sampai bersih, kemudian dikeringkan dengan menggunakan tisu atau kompresor udara. Selanjutnya peralatan yang sudah kering tersebut ditutup dengan *aluminium foil*, untuk mencegah masuknya kontaminan.

3. Sterilisasi

Peralatan dari kaca disterilisasi dalam oven dengan suhu 100°C selama 1 jam.

4. Penyimpanan

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

3.4.3 Pembuatan Medium *Benneck*

Dalam penelitian ini medium yang digunakan sebagai kultur media pertumbuhan *C.vulgaris* adalah medium *Benneck*. Medium ini dipilih karena cukup baik untuk media hidup *C.vulgaris* dan juga medium ini mudah dibuat berdasarkan pebelitian-penelitian sebelumnya. Untuk keperluan pembuatan medium sintetik yang dalam penelitian ini menggunakan *Benneck*, maka diperlukan senyawa-senyawa kimia yang merupakan komposisi medium. Komposisi tersebut dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 3. 1 Komposisi *Benneck*

No	Senyawa	Larutan stok
1	MgSO ₄	100 mg/L
2	KH ₂ PO ₄	200 mg/L
3	NaNO ₃	500 mg/L
4	FeCl ₃	3-5 mg/L

Pembuatan medium *Benneck* dilakukan dengan cara melarutkan 2 g MgSO₄, 4 g KH₂PO₄, 10 g NaNO₃, dan 60-100 mg FeCl₃ dalam 20 liter air demin. Setelah itu larutan dipisahkan dari padatan yang mengendap pada bagian bawahnya dan didinginkan.

3.4.4 Pembiakan Kultur Murni

Kultur murni yang didapat dibiakkan lagi sebelum dapat digunakan dalam penelitian, selain untuk memperbanyak persediaan *C.vulgaris*, juga diharapkan *C.vulgaris* beradaptasi dalam medium baru sebelum digunakan. Cara pembiakan mikroalga *C.vulgaris*:

1. Persiapan medium dan peralatan pembiakan (wadah, selang udara, tutup wadah) dan disterilkan terlebih dahulu.
2. Stok murni *C.vulgaris* kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril dan dicampur dengan medium *Benneck* yang sudah steril.

3. Kultur tersebut kemudian di-*bubbling* dengan menggunakan kompresor udara dan CO₂ sebesar 1 v/vm. Pada tahap ini juga harus diberikan cahaya, namun intensitas cahaya diatur cukup kecil kurang lebih 1000 satu kali.
4. Pemiakan dapat dilakukan selama satu minggu atau lebih bila bertujuan untuk memperbanyak persediaan yang ada, tetapi untuk mencapai *lag time* hanya diperlukan 2-3 hari.

3.4.5 Penentuan Jumlah Inokulum *Chlorella vulgaris*

Penentuan jumlah inokulum penting dalam penelitian ini, karena berkaitan langsung dengan jumlah sel *C.vulgaris* yang terdapat dalam kultur. Jumlah inokulum perlu diketahui agar dapat dilihat perubahan jumlahnya dan hal ini berkaitan dengan besar intensitas cahaya yang dibutuhkan. Langkah-langkah penghitungan :

1. Kultur yang akan dihitung jumlah inokulumnya, diaduk sampai semua endapan *C.vulgaris* yang merata dalam medium.
2. Sampel inokulum diambil secukupnya jika menggunakan mikroskop atau diambil sebanyak 5 mL jika menggunakan spektrofotometer
3. Penghitungan sel dapat dilakukan dengan menggunakan mikroskop maupun spektrofotometer, dengan catatan untuk penghitungan menggunakan spektrofotometer telah dibuat kurva kalibrasi OD vs Nsel

a) Menggunakan Mikroskop

- Sampel diteteskan pada *Neubauer Improved* secukupnya (± 2 tetes pada ruang atas/bawah). Sampel ini kemudian ditutup dengan kaca preparat.
- Sampel dihitung dengan menggunakan mikroskop (perbesaran 100x, diusahakan seluruh bagian bilik hitung terlihat dengan jelas). Alat pencacah yang digunakan untuk perhitungan adalah *counter* manual.
- Jumlah inokulum untuk setiap bilik dan ruangan dihitung rata-ratanya, kemudian dihitung dengan rumus

$$N(\text{sel/ml}) = \text{jumlah sel rata - rata} \times 10.000 \quad \dots(3.1)$$

Bila menggunakan pengenceran maka nilai N dikali faktor pengenceran, misal pengenceran 4x, maka

$$N(\text{sel/ml}) = \text{jumlah sel rata - rata} \times 10.000 \times 4 \quad \dots(3.2)$$

b) Menggunakan Spektrofotometer

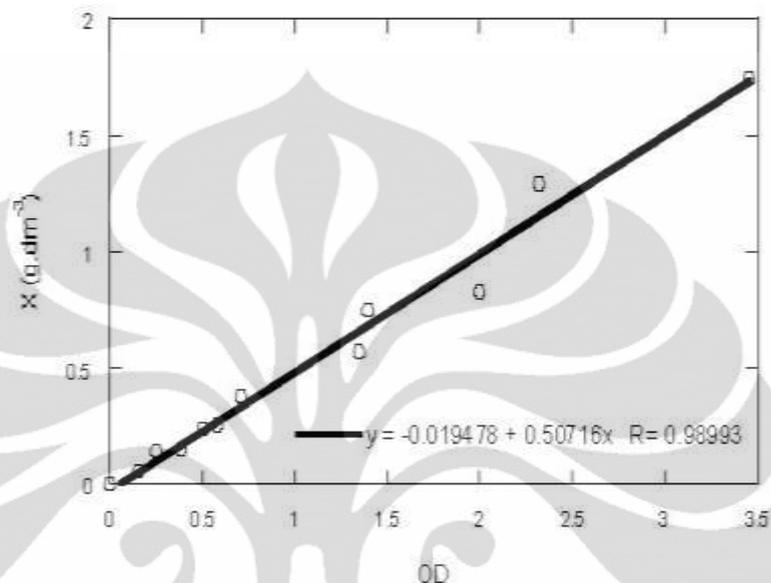
- ❖ Spektrofotometer diatur pada panjang gelombang 600 nm. Panjang gelombang 600 nm didapat dari *peak* yang keluar selama kalibrasi panjang gelombang dengan menggunakan *spektrofotometer double beam*. Untuk melihat nilai OD pada penelitian ini digunakan *spektrofotometer single beam*, dan cahaya tampak (VIS) sebagai sumber cahaya yang akan diabsorpsi oleh *C.vulgaris*
- ❖ 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.

3.4.6 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 berikut.



Gambar 3. 3 Kurva kalibrasi OD vs X

3.4.7 Pelaksanaan Penelitian

Terdapat dua fokus penelitian yang akan dilaksanakan pada penelitian ini. Fokus pertama adalah melakukan perlakuan pengaliran medium kultur melalui wadah berfilter dalam waktu tertentu (filtrasi semi kontinu), dan fokus berikutnya adalah melakukan teknik flokulasi dengan pemberian flokulan dengan jumlah tertentu.

Prosedur secara umum dapat dituliskan sebagai berikut:

1. Memindahkan inokulum dan medium *Benneck* ke dalam fotobioreaktor dengan perbandingan tertentu sehingga mencapai konsentrasi yang diinginkan. Pindahan dilakukan di dalam kotak pemindahan yang telah disterilkan.
2. Fotobioreaktor kemudian dipindahkan diatas meja kerja yang telah disterilkan dengan alkohol 70%.
3. Melakukan penelitian metode pemanenan mikroalga. Metode yang digunakan adalah flokulasi dan filtrasi semi kontinu. Flokulasi dilakukan dengan cara

mengembangbiakkan *C.vulgaris* selama ± 200 jam tanpa diberi perlakuan khusus. Setelah 204 jam, kultur mikroalga diflokulasi dengan variasi pH menggunakan NaOH. Metode filtrasi semi-kontinu dilakukan dengan cara mengalirkan kultur mikroalga sebanyak 9 L ke dalam wadah berfilter (*water housing*) setelah mencapai OD 0,6 dan dilakukan berulang-ulang hingga tercapai waktu kultivasi 204 jam.

3.4.8 Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan setiap 6 jam. Data yang diambil adalah OD, pH, I_b , y_{CO_2in} , dan y_{CO_2out} . Proses pengambilan data yang dilakukan adalah sebagai berikut.

1. Sampel diambil dari kultur media sekitar 5-10 ml pada tiga botol yang berbeda dari reaktor untuk diukur absorbansinya bersamaan dengan mengambil nilai pH-nya. Kemudian dirata-ratakan nilainya. Dari nilai rata-rata absorbansi yang didapat tersebut dapat dilihat nilai X nya pada kurva kalibrasi X vs OD. Data nilai pH dilakukan untuk melihat aktivitas sel mikroalga dari konsentrasi ion HCO_3^- .
2. Pengambilan data I_b dilakukan dengan menggunakan luxmeter yang diletakkan di belakang fotobioreaktor.
3. Flokulasi dilakukan setelah *C.vulgaris* berada pada fasa stasioner, kurang lebih setelah 204 jam. Sampel mikroalga sebanyak 100 mL diberi NaOH sebanyak 1, 2, 3, 4, 5, 7, dan 8 mL. Kemudian diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 4 menit sambil dicek pH-nya, dan didiamkan selama 4 jam. Lalu dilihat hasil dan perbedaannya.
4. Filtrasi semi-kontinu dilakukan setiap kultur mikroalga telah mencapai $OD \geq 0,6$. Mikroalga dimasukkan ke dalam wadah berfilter yang kemudian akan difiltrasi. Data yang diambil adalah OD filtrat dan permeat. Hal ini dilakukan terus menerus hingga 204 jam.
5. Pengambilan data lipid dilakukan dengan metode Bligh-Dyer dengan prosedur berikut:

- ❖ Sampel mikroalga yang telah dipecah dinding selnya disentrifuge selama 10 menit sekitar 8500 rpm sehingga terjadi pemisahan antara mikroalga dan medium.
- ❖ *Cake* dipisahkan dari supernatannya kemudian diukur volumenya.
- ❖ Setiap 1 mL *cake* dicampurkan dengan 2 mL metanol dan 1 mL kloroform menggunakan vortex.
- ❖ Setelah tercampur sempurna, *cake* tersebut ditambahkan 1 mL kloroform dan 1 mL air demin, dan vortex kembali.
- ❖ Sampel lalu disentrifuge selama 10 menit.
- ❖ Setelah terjadi pemisahan, ambil bagian bawah yang merupakan campuran lipid (berwarna kuning) dengan pipet tetes.
- ❖ Lipid kemudian dikeringkan dari kloroformnya.
- ❖ Berat lipid didapatkan dari selisih antara berat cawan kosong dan berat cawan dengan lipid kering.

6. 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 ± 45 menit.
- Di-sentrifuge ± 30 menit
- Untuk klorofil, ukur absorbansi sampel pada panjang gelombang 645 nm dan 663 nm (dengan larutan standarnya adalah aseton).
- Untuk beta karoten, absorbansi yang digunakan adalah pada panjang gelombang 450 nm.

7. Pengambilan data protein menggunakan prosedur Lowry (1951) sebagai berikut.

- Larutan protein standar (BSA 200 $\mu\text{g/mL}$) dan dH_2O 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 dH_2O 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		
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							

3.4.9 Pengolahan Data

Data X (berat kering sel) yang diperoleh dari pengukuran nilai absorbansi digunakan untuk melihat tingkat pertumbuhan *C.vulgaris* selama pembiakan. Persamaan yang digunakan untuk menghitung laju pertumbuhan spesifik adalah Persamaan Monod sebagai berikut

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dx}{dt} \quad \dots(3.3)$$

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

X = berat kering biomassa (g/liter)

t = waktu (jam)

Data pH yang diambil digunakan untuk mengetahui tingkat metabolisme *C.vulgaris* yang ditunjukkan dengan meningkatnya produksi $[\text{HCO}_3^-]$ dalam

photobioreaktor. Produksi $[HCO_3^-]$ diiringi pelepasan $[H^+]$, sehingga persamaan yang digunakan adalah persamaan Handerson-Haselbach, yaitu

$$K_{CO_2} = \frac{[HCO_3^-][H^+]}{[CO_2]} \quad \dots(3.4)$$

$$[HCO_3^-] = K_{CO_2} [CO_2] [H^+]^{-1} \quad \dots(3.5)$$

$$[HCO_3^-] = K_{CO_2} [CO_2] 10^{-pH} \quad \dots(3.6)$$

Untuk menentukan nilai K_a dan konsentrasi CO_2 digunakan pendekatan Hukum Henry,

$$P_{CO_2} = H_{CO_2} [CO_2] = \frac{y_{CO_2} P_T}{P_T} \quad \dots(3.7)$$

$$\ln\left(\frac{H_{CO_2}}{H_{CO_2, O_2}}\right) = A_H \left(1 - \frac{T_0}{T}\right) + B_H \ln\left(\frac{T_0}{T}\right) + C_H \left(\frac{T_0}{T} - 1\right) \quad \dots(3.8)$$

$$\ln\left(\frac{H_{CO_2}}{H_{CO_2, O_2}}\right) = A_K \left(1 - \frac{T_0}{T}\right) + B_K \ln\left(\frac{T_0}{T}\right) + C_K \left(\frac{T_0}{T} - 1\right) \quad \dots(3.9)$$

Selanjutnya, konsentrasi HCO_3^- dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan:

$$[HCO_3^-] = \left(\frac{K_{CO_2}}{H_{CO_2}}\right) \left(\frac{y_{CO_2} P_T}{10^{-pH}}\right) \left(\frac{\exp\left[A_K \left(1 - \frac{T_0}{T}\right) + B_K \ln\left(\frac{T_0}{T}\right) + C_K \left(\frac{T_0}{T} - 1\right)\right]}{\exp\left[A_H \left(1 - \frac{T_0}{T}\right) + B_H \ln\left(\frac{T_0}{T}\right) + C_H \left(\frac{T_0}{T} - 1\right)\right]}\right) \quad \dots(3.10)$$

Keterangan:

P_T = Tekanan Operasi (atm)

y_{CO_2} = fraksi gas CO_2

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

H_{CO_2} = 2900 KPa/mol

T = Temperatur operasi

T_0 = Temperatur standar

$A_k = 40.557$ $B_k = -36.782$ $C_k = 0$

$A_h = 22.771$ $B_h = -11.452$ $C_h = - 3.117$

Data persentase CO₂ yang diambil, akan diolah untuk mengetahui jumlah gas CO₂ yang dipindahkan ke dalam satuan volume medium yang dibutuhkan untuk metabolisme sel dalam satuan waktu, atau disebut CTR (*Carbon Transfer Rate*). Persamaan untuk perhitungannya adalah sebagai berikut

$$CTR = \Delta y_{CO_2} \times \alpha_{CO_2} \quad \dots(3.11)$$

dimana

$$\alpha_{CO_2} = \frac{U_G \times A \times M_{CO_2} \times P}{V_{medium} \times R \times T}$$

Dengan

U_G = kecepatan superfisial gas yang diumpankan (dm³/h)

A = luas permukaan reaktor yang menghadap ke sumber cahaya (m²)

M_{CO_2} = massa molekul relatif CO₂ (g/mol)

P = tekanan operasi (atm)

V_{medium} = volume medium (dm³)

R = konstanta *Rydberg* (0,08205 dm³.atm/mol.K)

T = suhu operasi (K)

Selain itu, data persentase CO₂ juga digunakan untuk menghitung laju gas CO₂ yang dipindahkan karena adanya aktivitas kehidupan biologi dalam satu satuan waktu (q_{CO_2}). Persamaan yang digunakan adalah

$$q_{CO_2} = \frac{CTR}{X} = \frac{\Delta y_{CO_2} \times \alpha_{CO_2}}{X} \quad \dots(3.12)$$

Dimana

X = berat kering sel per satuan volume (g/dm³)

Δy_{CO_2} = selisih konsentrasi CO₂ masuk dan keluar reaktor

CTR = (g/dm³.h)

Total energi cahaya yang tersedia dari sumber cahaya selama kultivasi dapat dihitung dengan persamaan:

$$E_0 = A \int_0^t (I_0 - I_b) dt \quad \dots(3.13)$$

Sedangkan energi cahaya yang terserap selama kultivasi adalah

$$E_i = A \int_0^t I_b dt \quad \dots(3.14)$$

Dengan A = luas permukaan yang terkena sumber cahaya (m^2)

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

I_0 = intensitas cahaya yang diterima oleh kultur medium (W/m^2)

t = waktu (jam)

1 lux = $2,95 \times 10^{-3} W/m^2$

Untuk mencari jumlah energi cahaya yang dimanfaatkan selama kultivasi (E_x) dan energi cahaya yang tersedia selama kultivasi (E), dapat digunakan persamaan berikut:

$$E_x = \frac{A \int_0^t I_b dt}{\Delta X \times s} \quad \dots(3.15)$$

$$E = \frac{A \int_0^t (I_0 - I_b) dt}{\Delta X \times s} \quad \dots(3.16)$$

Dengan ΔX = berat biomassa yang dihasilkan selama masa pertumbuhan (g/L)

s = jarak yang ditempuh cahaya didalam medium kultur (m)

Kemudian untuk mencari persentase efisiensi konversi energi untuk pembentukan biomassa digunakan persamaan:

$$\eta_E = \frac{E_x}{E} \times 100\% \quad \dots(3.17)$$

Data kandungan-kandungan yang diperoleh akan diolah sebagai berikut:

1. Lipid

$$\%lipid = \frac{\text{berat cawan akhir} - \text{berat cawan kosong}}{\text{berat biomassa}} \times 100\% \quad \dots(3.18)$$

2. Klorofil

$$\text{klorofil a (mg / L)} = 12,25 \times A_{663} - 2,55 \times A_{645} \quad \dots(3.19)$$

$$\text{klorofil b (mg / L)} = 22,9 \times A_{645} - 4,64 \times A_{663} \quad \dots(3.20)$$

$$\text{klorofil a + b (mg / L)} = 7,34 \times A_{663} + 17,76 \times A_{645} \quad \dots(3.21)$$

3. Beta karoten

$$\text{beta karoten (mg / L)} = \frac{(1000 \times A_{450} - 3,27 \times (\text{klorofil a}) - 104(\text{klorofil b}))}{227} \quad \dots(3.22)$$

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 kurva kalibrasi yang diperoleh (dapat dilihat pada lampiran), kadar protein dihitung sebagai berikut:

$$A_{750} = 0,00079667 \times C + 0,12055 \quad \dots(3.23)$$

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, data yang diperoleh, pengolahan data, dan analisa dari data yang telah diperoleh tersebut.

4.1 Pembahasan Umum

Kandungan nutrisi adalah hal yang penting dalam pemanfaatan mikroalga. Lipid, klorofil, beta karoten, dan protein merupakan beberapa dari kandungan nutrisi yang dikandung oleh mikroalga yang dapat dimanfaatkan untuk kehidupan manusia. Lipid digunakan sebagai sumber energi berkelanjutan yang dapat dijadikan bahan baku *biofuel*. Klorofil, beta karoten dan protein dapat digunakan untuk suplemen makanan dan pencegah penyakit.

Untuk memperoleh kandungan dalam mikroalga *C.vulgaris*, harus diperoleh terlebih dahulu biomasanya. Biomassa ini dapat diperoleh dengan cara pemanenan atau *harvesting* atau *dewatering* mikroalga dari reaktornya. Pada penelitian ini dilakukan metode-metode pemanenan mikroalga, sehingga diperoleh metode yang dapat menghasilkan biomassa terbesar dengan nutrisi terbaik. Metode pemanenan yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah metode filtrasi semi-kontinu dan flokulasi. Kedua metode ini sering dijumpai dalam pemanenan mikroalga maupun dalam proses pengolahan air (*water treatment*). Namun, belum pernah dilakukan analisa pengaruh metode pemanenan terhadap kandungan nutrisi *C.vulgaris* tersebut.

Langkah awal dari penelitian ini adalah perancangan dan penyusunan fotobioreaktor (PBR). PBR yang digunakan adalah PBR dengan volume 18 liter. Rangkaian PBR yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 3.2, yaitu PBR *flat* atau datar. Pemilihan tipe PBR ini dikarenakan bahwa tipe ini merupakan PBR yang dapat menghasilkan biomassa tinggi dan mudah disterilisasi. Selain itu, PBR ini memiliki sisi yang terkena iluminasi cahaya besar dan dapat mencegah terjadinya peristiwa *self shading*, yaitu peristiwa tertutupnya permukaan sel mikroalga oleh sel mikroalga lain dari penangkapan cahaya sehingga menghambat sel dalam melakukan fotosintesis. Sistem operasi dalam penelitian ini ada dua macam, yaitu sistem *batch* dan semi-kontinu (atau diskontinu). Dalam sistem

batch, medium yang terdapat dalam reaktor tidak ditambah, tapi CO₂ dialirkan secara kontinu ke dalam reaktor. Sistem ini digunakan untuk metode flokulasi nantinya. Sistem diskontinu berlangsung dengan cara medium dan mikroalga dalam jumlah tertentu dikeluarkan dari reaktor pada waktu-waktu yang telah ditetapkan, dan ditambahkan medium baru ke dalam reaktor dengan volume yang sama. Sistem ini digunakan pada metode filtrasi diskontinu, dimana medium dan mikroalga yang dikeluarkan dari reaktor akan difilter di luar reaktor.

Pada Gambar 3.2, skema tersebut adalah reaktor untuk sistem semi kontinu atau diskontinu. Pada gambar tersebut terdapat pompa dan wadah berfilter (*Water Housing*) yang digunakan untuk menyerap mikroalga ke dalam filter. Filter yang terdapat dalam *water housing* adalah filter ultra (Gambar 4.1). Filter ini memiliki pori yang berukuran sebesar 0,1 sampai 0,01 μm (http://www.kochmembrane.com/sep_uf.html). Filter ini telah banyak digunakan untuk menyaring pengotor yang terdapat dalam air pada proses pengolahan air (*water treatment*). Pemilihan filter ini dikarenakan efektifitasnya dalam menyaring hingga ukuran 0,1 μm sehingga lebih kecil dari ukuran *C.vulgaris* yang hanya sebesar 2-8 μm . Filter ultra ini berbahan dasar keramik yang halus, sehingga ketika digunakan untuk menyaring, pengotor yang tersaring tidak menempel pada filter namun terlarut dalam air yang tidak melewati filter. Dengan demikian, filter dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama karena tidak terlapisi oleh pengotor.



Gambar 4. 1 Filter ultra setelah dialiri kultur *C.vulgaris*

Setelah penyusunan reaktor, kemudian peralatan yang digunakan disterilisasi. Hal ini dilakukan untuk mencegah adanya kontaminasi luar yang

dapat mengganggu mikroalga. Reaktor dan peralatan lainnya dicuci dengan menggunakan air dan sabun hingga bersih, sehingga dapat menghilangkan kotoran yang menempel pada peralatan. Setelah dicuci kemudian dikeringkan dengan menggunakan kompresor udara atau pengering, dan ditutup menggunakan *aluminium foil* atau *plastic wrap*. Untuk melindungi dari kontaminan yang berasal dari udara sekitar, setelah dibungkus dengan *plastic wrap* atau *aluminium foil*, peralatan kaca, logam, dan plastik dimasukkan ke dalam lemari penyimpanan kedap udara yang dilengkapi dengan lampu UV.

Langkah selanjutnya dari penelitian ini adalah pembuatan medium untuk mikroalga. *C.vulgaris* merupakan mikroalga dimana tempat untuk hidupnya adalah medium cair. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Benneck*. Pemilihan medium ini dikarenakan nutrisi yang terdapat pada medium merupakan nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah cukup. Medium *Benneck* berisikan KH_2PO_4 , MgSO_4 , NaNO_3 , dan FeCl_3 . Dalam KH_2PO_4 terkandung ion fosfat (PO_4^{3-}) dimana senyawa ini dibutuhkan oleh mikroalga untuk meningkatkan pertumbuhannya. Magnesium merupakan zat yang diperlukan oleh tumbuhan dan mikroalga hijau sebagai pembentuk klorofil. Dengan demikian, ketika terjadi defisiensi atau kekurangan magnesium, maka sel mikroalga akan mengalami pembentukan abnormal yang disebabkan karena tidak terbentuknya klorofil. NaNO_3 dan FeCl_3 mengandung senyawa makro yang diperlukan oleh mikroalga untuk perkembangan selnya, yaitu natrium dan besi. Medium ini juga mudah untuk dibuat. Komposisi setiap senyawa dapat dilihat pada Tabel 3.1. Selain itu, berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya, medium ini cocok digunakan untuk media hidup dan perkembangan *C.vulgaris*.

Setelah reaktor dan medium telah siap, langkah selanjutnya adalah pembiakan kultur murni *C.vulgaris*. Hal ini dilakukan agar mikroalga yang akan digunakan untuk penelitian telah siap untuk digunakan. Seperti yang telah dijelaskan pada Bab 2 bagian 2.1.1, mikroalga memiliki fase pertumbuhan. Mikroalga yang akan digunakan untuk penelitian haruslah berada pada fase eksponensial. Pada fase ini mikroalga telah beradaptasi terhadap kondisi operasi dan mediumnya. Proses pembiakan kultur murni ini juga dilakukan ketika mikroalga bersumber dari medium yang berbeda dengan medium yang akan

digunakan untuk penelitian. Misalnya adalah ketika *Chlorella sp.* akan digunakan untuk proses pengolahan limbah. Dengan demikian, mikroalga tersebut haruslah diadaptasikan dahulu terhadap lingkungan limbah sehingga dapat bertahan hidup. Proses pembiakan kultur murni ini dapat berlangsung antara dua sampai tiga hari.

Selain untuk mempersiapkan mikroalga, langkah ini juga dapat digunakan untuk memperbanyak jumlah kultur mikroalga. Mikroalga yang berlebih ini dapat disimpan untuk proses selanjutnya, atau biasa disebut '*preservation*'. Proses *preservation* dapat dilakukan dalam berbagai metode seperti *freeze drying*, *vacuum drying*, *continuous culture*, dan *immobilisation*, serta *encapsulation* (Bjerketorp, 2006). Mikroalga yang akan diadaptasikan yang bersumber dari *preservation* seringkali diberi senyawa lain berupa sumber karbon dalam mediumnya, seperti Na_2CO_3 . Pemberian sumber karbon ini dilakukan untuk mempercepat adaptasi dan memudahkan mikroalga untuk bertahan hidup dalam mediumnya yang baru. Pemberian Na_2CO_3 biasanya sejumlah 0,9 g/6 L.

Mikroalga *C.vulgaris* yang siap untuk dilakukan penelitian, dilakukan perhitungan inokulum awal sebelum dilakukan kultivasi. Perhitungan inokulum dapat dilakukan dengan dua metode seperti yang terdapat pada Bab 3 bagian 3.4.5. Perhitungan inokulum ini dilakukan untuk mengetahui jumlah dan kepadatan sel yang terdapat dalam reaktor yang akan digunakan untuk penelitian. Dengan melakukan perhitungan ini, dapat dilakukan kondisi awal yang sama untuk setiap variasi. Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah metode spektrofotometer. Metode ini lebih mudah untuk dilakukan karena tidak memerlukan senyawa lainnya dan tidak memerlukan pengamatan melalui mikroskop yang memerlukan ketajaman pengamatan.

Selain melakukan perhitungan untuk penentuan jumlah inokulum, dilakukan pula pembuatan kurva kalibrasi OD vs X. Kurva ini adalah kurva perbandingan antara *Optical Density* yang berasal dari nilai absorbansi mikroalga terhadap X atau jumlah biomassa per satuan volume. Dengan membuat kurva ini terlebih dahulu, perhitungan terhadap biomassa yang dihasilkan akan menjadi lebih mudah. Persamaan untuk kurva kalibrasi penelitian ini adalah

$$y = 0,50716x - 0,019478$$

dengan x adalah *optical density* (OD) dan y adalah X.

Tahap selanjutnya adalah kultivasi. Kultivasi dapat dilakukan setelah menghitung jumlah inokulum yang akan digunakan. Pada penelitian kali ini, OD yang digunakan adalah antara 0,2 sampai 0,3. Kemudian laju gas CO₂ yang masuk ke dalam reaktor diatur sampai sekitar 5% dari total gas yang masuk ke dalam reaktor. Penggunaan CO₂ sebesar 5% sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Yun (1997), dan telah diaplikasikan juga di Departemen Teknik Kimia UI, yang menyebutkan bahwa konsentrasi 5% CO₂ menghasilkan pertumbuhan mikroalga yang paling besar. Selain itu, de Morais dan Costa (2007) melaporkan bahwa efisiensi fiksasi CO₂ lebih besar pada konsentrasi CO₂ rendah (2-6%) dibanding pada konsentrasi CO₂ tinggi (10-15%) pada kultur.

Kultivasi untuk flokulasi dilakukan dalam sistem *batch*. Medium yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam reaktor, dan dimasukkan pula mikroalga yang siap untuk dikultivasi. Mikroalga dan medium yang dimasukkan memiliki perbandingan tertentu yang telah dihitung sebelumnya sehingga dihasilkan OD reaktor awal sebesar antara 0,2 sampai 0,3. Iluminasi cahaya diatur sedemikian rupa hingga menghasilkan intensitas ± 5000 lux. Kultur mikroalga kemudian dialirkan gas CO₂ secara kontinu selama 204 jam. Diperkirakan selama 200 jam mikroalga telah mencapai fasa stasioner atau bahkan fasa kematian. Data diambil setiap 6 jam sekali. Data yang diambil adalah OD pada reaktor, pH, I₀, I_b, y_{CO₂ in} dan y_{CO₂ out}.

Setelah 204 jam, kultur dipanen dengan cara memberikan flokulan, atau dalam hal ini pengaturan pH menggunakan NaOH. Kultur diberi flokulan kemudian diratakan dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan tinggi selama 1 sampai 3 menit. Hal ini dilakukan agar tercapai pengadukan yang merata. Proses ini disebut koagulasi. Selama proses koagulasi, pH dicek sehingga dicapai pH yang diharapkan. Setelah itu, pengadukan dilakukan pada kecepatan yang lebih rendah. Pengadukan seperti ini akan mengakibatkan sel-sel mikroalga saling berdekatan dan bersentuhan, sehingga terjadi ikatan antarsel dan terbentuk gumpalan sel atau disebut flok. Kemudian campuran mikroalga dan flokulan didiamkan agar flok tersedimentasi. Proses ini dapat dilakukan antara 1 sampai 4 jam, hingga semua flok terendapkan di bagian bawah wadah.

Pada sistem semi kontinu, kultivasi dilakukan sama seperti pada kultivasi flokulasi. Medium dan mikroalga dimasukkan ke dalam reaktor 18 L, kemudian diberi iluminasi cahaya dan gas CO₂, dan data diambil setiap 6 jam sekali selama 204 jam. Perbedaannya adalah pada saat OD telah 0,6, kultur mikroalga dipanen (*harvest*). Pemanenan dilakukan dengan cara mengalirkan kultur dari reaktor ke dalam *water housing* atau wadah berfilter sebanyak 9 L. Pemanenan sebanyak setengah dari volume reaktor ini dilakukan dengan bersumber dari Chiu (2008). Kemudian, volume reaktor yang hilang ditambahkan dengan medium yang baru sejumlah volume yang hilang. Pemanenan dilakukan setelah OD mencapai 0,6 dikarenakan pada OD tersebut kepadatan mikroalga sudah cukup tinggi dan ketika diberikan medium baru OD yang dihasilkan tidak terlalu rendah, sekitar OD 0,3. Selain itu, waktu yang dibutuhkan untuk mencapai OD 0,6 tidak terlalu lama, sehingga pemanenan dapat dilakukan dalam jangka waktu yang singkat. Pemanenan dapat dilakukan lebih dari setengah volume reaktor, jika OD lebih tinggi dari 0,6 dengan ketentuan OD baru yang dihasilkan sekitar 0,3. Pemanenan ini dilakukan secara terus menerus hingga dicapai waktu kultivasi 204 jam.

Mikroalga yang telah dipanen kemudian diekstraksi untuk diuji kandungan nutrisinya. Ekstraksi lipid menggunakan metode Bligh Dryer, karena metode ini sederhana dan mudah untuk dilakukan dibanding metode-metode lainnya, seperti *sohxlet*, *pressurized*, *supercritical fluid*, dan lain-lain. Pelarut kloroform-metanol digunakan untuk mengikat lipid yang bersifat non-polar dan air yang bersifat polar. Kemudian senyawa-senyawa itu dipisahkan dengan menggunakan sentrifuge. Kloroform dapat dipisahkan dari lipid dengan cara menguapkannya, karena kloroform bersifat volatil. Kemudian lipid diukur dengan cara gravimetri atau penimbangan berat.

Untuk ekstraksi klorofil dan beta karoten, pelarut yang digunakan adalah aseton. Aseton dapat mengikat senyawa organik yang terkandung dalam sel mikroalga. Aseton, menurut Roijackers (2005), dapat menghasilkan *yield* yang lebih besar dibandingkan metanol. Pengukuran klorofil dan beta karoten melalui absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer. Pelarut biuret digunakan pada ekstraksi protein. Namun metode yang digunakan adalah metode Lowry. Metode

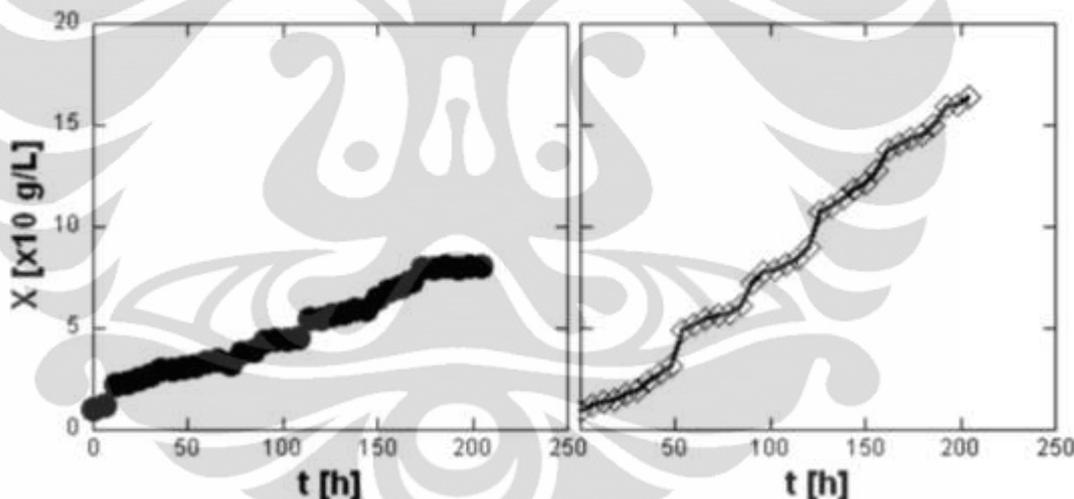
ini lebih sensitif dibanding metode biuret biasa (Yusandi, 2010). Pengukuran protein menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm.

4.2 Hasil Pengamatan dan Analisa

Data hasil pengamatan dapat ditampilkan dalam bentuk data angka maupun dalam grafik. Data angka dan perhitungannya dapat dilihat pada bagian lampiran. Hasil pengamatan dalam bentuk grafik dapat dilihat di bawah ini.

4.2.1 Pengaruh Filtrasi Semi-Kontinu terhadap Produksi Biomassa (X)

Densitas biomassa (X) sebanding dengan *optical density* (OD) dalam reaktor. Semakin besar OD, maka X juga akan meningkat. Pada penelitian ini, dapat dilihat bahwa X meningkat seiring bertambahnya waktu, seperti yang ditunjukkan pada gambar di bawah ini.



Gambar 4. 2 Kurva X vs t (kiri: kontrol, kanan: filtrasi semi kontinu)

Pada gambar tersebut, dapat dilihat bahwa metode filtrasi semi kontinu dapat menghasilkan densitas biomassa yang jauh lebih besar dibandingkan dengan kontrol. Kontrol dalam hal ini adalah metode flokulasi karena metode flokulasi hanya dilakukan diakhir kultivasi sehingga tidak ada perlakuan khusus selama kultivasi berlangsung. Tingginya densitas biomassa filtrasi semi-kontinu disebabkan karena adanya penambahan medium baru di dalam reaktor setiap OD reaktor telah mencapai 0,6. Pada reaktor kontrol, nutrisi yang terdapat di dalam medium akan terus dikonsumsi hingga habis, sedangkan pada reaktor filtrasi

semi-kontinu adanya medium baru sehingga nutrisi dalam reaktor tidak akan habis. Dengan berkurangnya jumlah sel di dalam reaktor juga akan mempermudah sel dalam memperoleh nutrisi, atau tidak terjadinya persaingan untuk mendapat nutrisi. Dengan demikian, sel akan mudah dalam berkembang biak.

Selain itu, karena adanya pemanenan, maka kerapatan sel dalam reaktor akan berkurang. Hal ini akan mencegah terjadinya *self shading* karena kerapatan sel yang terlalu tinggi. *Self shading* merupakan fenomena dimana terjadinya tertutupnya permukaan sel mikroalga oleh sel mikroalga lain dalam mendapat iluminasi cahaya. Dengan intensitas cahaya yang tetap (± 5000 lux), iluminasi cahaya yang masuk ke dalam reaktor akan berkurang seiring dengan meningkatnya jumlah sel. Dengan demikian cahaya yang dapat diserap antara sel yang berada di permukaan reaktor yang dekat dengan sumber cahaya dengan bagian yang jauh dari sumber cahaya akan berbeda.

Filtrasi semi-kontinu ini telah dilakukan sebelumnya oleh Chiu (2008) terhadap *Chlorella* sp. Biomassa yang dihasilkan oleh Chiu adalah sebesar 0,899 g/L. Penggunaan medium dan kerapatan sel awal yang berbeda menyebabkan perbedaan hasil yang cukup tinggi dibanding penelitian ini. Tabel di bawah ini menunjukkan jumlah biomassa akhir yang diperoleh setiap metode. Metode filtrasi semi kontinu meningkatkan X hingga 100% pada waktu kultivasi 204 jam dibanding kontrol.

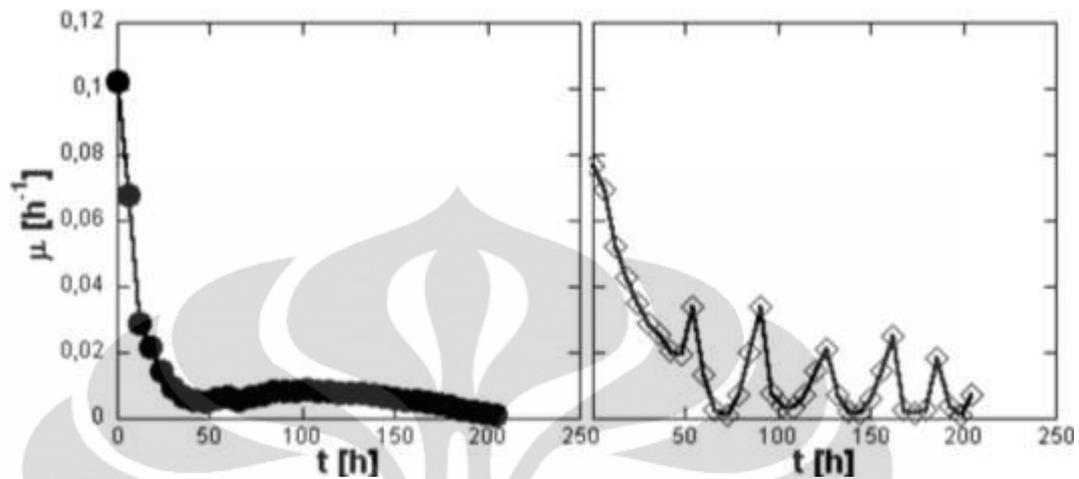
Tabel 4. 1 Jumlah X pada metode filtrasi semi kontinu dan flokulasi (kontrol)

X Filtrasi Semi Kontinu (g/L)	X Flokulasi (g/L)	X Filtrasi Semi Kontinu (g/L) (Chiu, 2008)
1,62885	0,8083	0,899

4.2.2 Pengaruh Filtrasi Semi-Kontinu terhadap Laju Pertumbuhan (μ) *C. vulgaris*

Mikroalga yang digunakan pada saat kultivasi berada pada fase log atau fase eksponensial. Pada fase ini, pertumbuhan mikroalga berada dalam kondisi puncak, dimana laju pertumbuhan jauh lebih besar dibanding laju kematian. Kultivasi selama 200 jam berakhir pada saat mikroalga telah mencapai fase stasionernya, dimana laju pertumbuhan menjadi kecil dan sebanding dengan laju kematian.

Gambar berikut merupakan gambar perbandingan laju pertumbuhan pada kedua metode pemanenan.



Gambar 4. 3 Kurva μ vs t , (kiri: kontrol, kanan: filtrasi semi kontinu)

Pada kedua kurva menunjukkan bahwa terjadi penurunan laju pertumbuhan seiring dengan berjalannya waktu. Penurunan ini disebabkan karena terjadinya persaingan dalam nutrisi dan cahaya untuk berfotosintesis. Pada reaktor filtrasi semi-kontinu, penambahan medium baru dapat men-stimulasi mikroalga untuk kembali berkembangbiak, karena adanya pasokan nutrisi baru.

4.2.3 Pengaruh Filtrasi Semi-Kontinu terhadap $[\text{HCO}_3^-]$ dalam Medium

Ion bikarbonat (HCO_3^-) merupakan ion yang dikonsumsi oleh mikroalga dalam proses fotosintesis. Proses fotosintesis yang terjadi adalah sebagai berikut

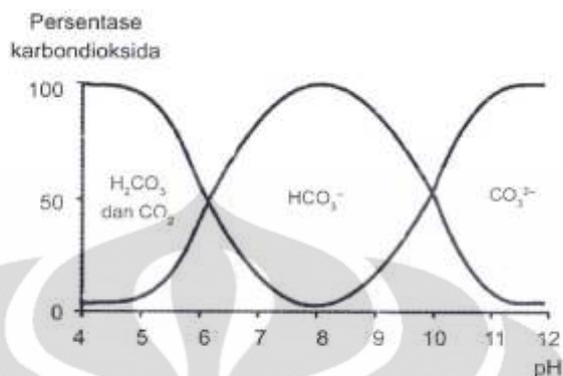


Ion bikarbonat terbentuk dari gas CO_2 yang terlarut dalam medium. Kelarutan dan wujud CO_2 dalam medium bergantung dari pH (Fittri, 2011). Ketika bereaksi terlarut air, CO_2 dapat berwujud CO_2 murni, asam bikarbonat, ion bikarbonat, dan ion karbonat (Fittri, 2011). Keseimbangan CO_2 dalam air dapat dilihat sebagai berikut.



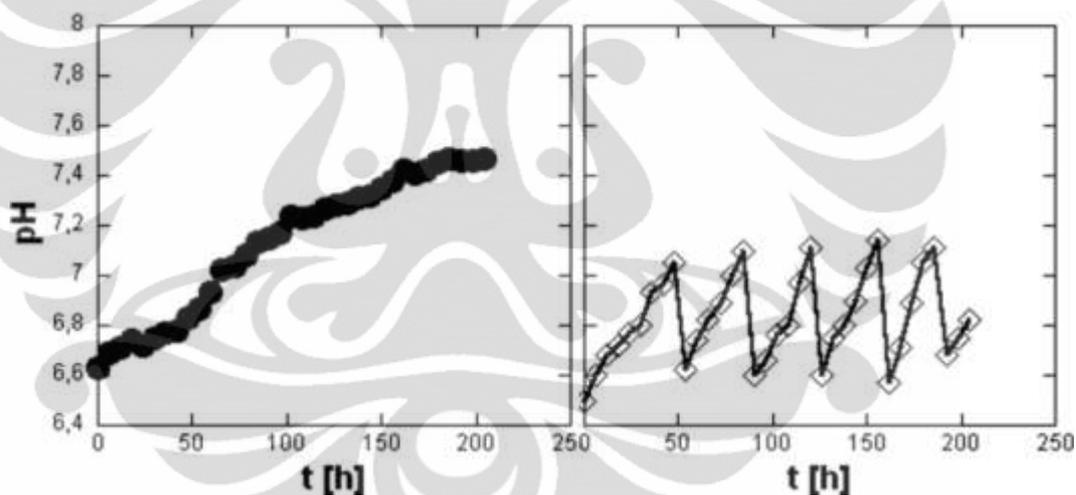
Keseimbangan akan bergeser ketika terjadi perubahan pH. Ketika pH turun, keseimbangan akan bergeser ke kiri. Jika pH naik maka keseimbangan akan

bergeser ke kanan membentuk ion bikarbonat kembali. Gambar di bawah ini menunjukkan kesetimbangan tersebut.



Gambar 4. 4 Konsentrasi relatif kesetimbangan bikarbonat sebagai fungsi pH (Fittri, 2011)

Grafik dibawah ini menunjukkan perubahan pH yang terdapat pada kedua reaktor.

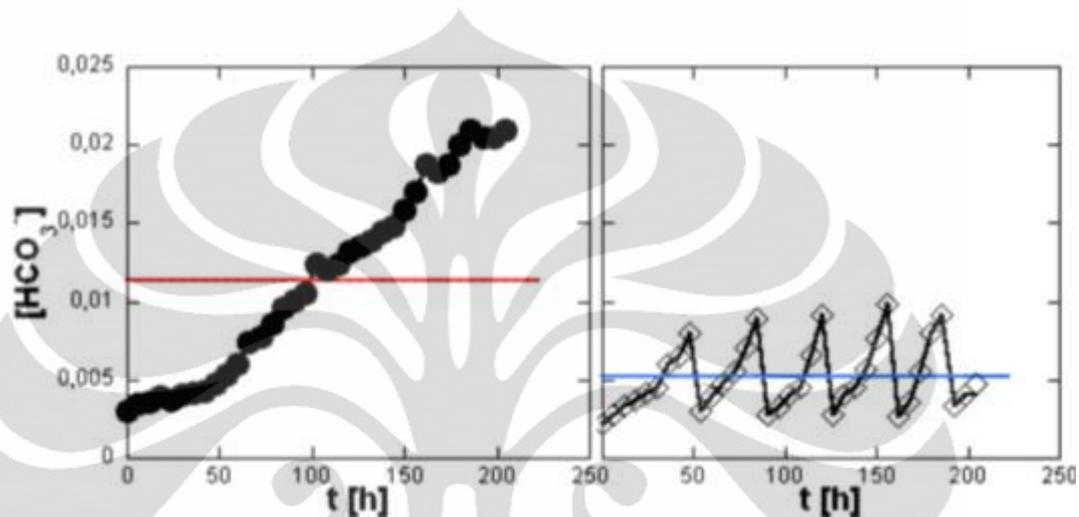


Gambar 4. 5 Kurva pH vs t, (kiri: kontrol, kanan: filtrasi semi kontinu)

pH reaktor cenderung naik. Hal ini dikarenakan jumlah sel yang terus meningkat. Darmawan (2010) menyebutkan bahwa semakin banyak jumlah sel dapat meningkatkan pH reaktor. Hal ini sesuai dengan jumlah sel yang ada di dalam reaktor, dimana jumlah sel di dalam reaktor kontrol selalu bertambah, sedangkan di dalam reaktor filtrasi semi-kontinu jumlahnya dijaga batasannya. Pada kurva di atas dapat dilihat bahwa reaktor filtrasi semi-kontinu memiliki kurva yang fluktuatif. Hal ini disebabkan karena adanya pergantian setengah

volume medium di dalam reaktor. Medium baru yang dimasukkan ke dalam reaktor bersifat lebih asam, sehingga menurunkan pH reaktor secara keseluruhan.

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, kenaikan pH menyebabkan naiknya jumlah ion bikarbonat. Konsentrasi ion bikarbonat pada kedua metode pemanenan dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 4. 6 Kurva $[HCO_3^-]$ vs t, (kiri: kontrol, kanan: filtrasi semi kontinu)

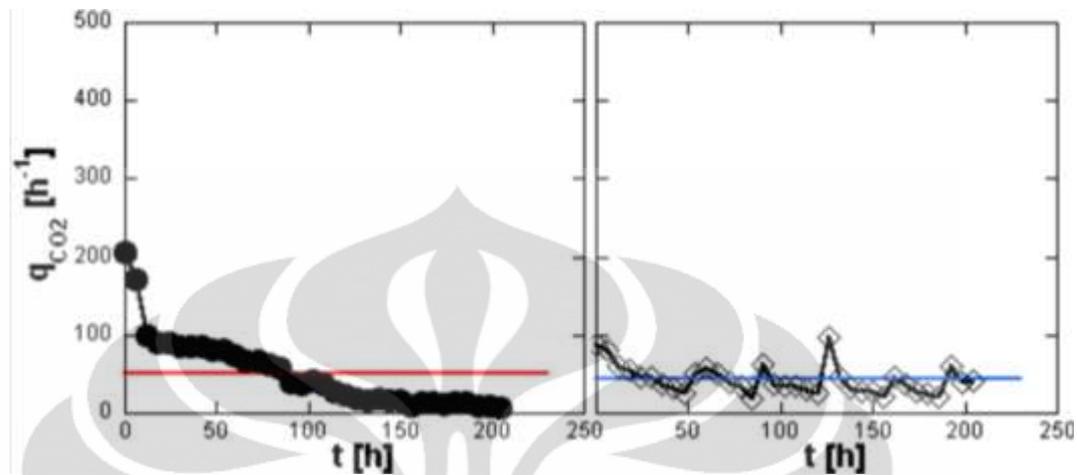
Konsentrasi ion bikarbonat pada reaktor kontrol lebih tinggi dibanding metode lainnya. Tingginya jumlah ion bikarbonat disebabkan tingginya pH medium akibat terbentuknya ion OH^- dari proses fotosintesis. Hal ini sebanding dengan perubahan pH pada grafik sebelumnya. Rata-rata konsentrasi ion bikarbonat pada kontrol dan filtrasi semi kontinu adalah 0,011394 dan 0,0051552.

4.2.4 Pengaruh Filtrasi Semi-Kontinu terhadap q_{CO_2} *Chlorella vulgaris*

Nilai q dapat diartikan sebagai laju gas yang dipindahkan ke dalam suatu volume medium karena adanya aktivitas biologi, dalam satu satuan waktu. Grafik di bawah ini menggambarkan laju fiksasi (q) seiring berjalannya waktu pada kedua metode pemanenan.

Nilai q_{CO_2} akan terus menurun yang dikarenakan ketidakseimbangannya antara jumlah sel yang akan melakukan fiksasi dengan ketersediaan CO_2 yang akan difiksasi. Seiring berjalannya waktu, jumlah sel akan meningkat, namun kondisi CO_2 dalam reaktor tetap, sehingga nilai fiksasi pun akan mengecil.

Dari kedua metode pemanenan, tidak terjadi perbedaan yang signifikan dalam hal fiksasi CO₂, seperti yang dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 4. 7 Kurva q_{CO_2} vs t , (kiri: kontrol, kanan: filtrasi semi kontinu)

4.2.5 Pengaruh Filtrasi Semi-Kontinu terhadap Energi Pembentukan Biomassa

Pertumbuhan mikroalga *C.vulgaris* bergantung pada energi cahaya dalam proses fotosintesisnya. Intensitas cahaya yang digunakan sebesar ± 5000 lux yang diberikan secara kontinu selama kultivasi berlangsung. Energi cahaya ini kemudian dikonversikan untuk proses metabolismenya dan membentuk biomasanya. Tabel di bawah ini menunjukkan perbandingan kedua metode pemanenan dalam hal efisiensi pembentukan biomassa.

Tabel 4. 2 Perbandingan efisiensi energi kedua metode pemanenan

η flokulasi (kontrol)	η filtrasi semi-kontinu
1,870 %	7,206 %

Efisiensi energi selama waktu kultivasi berkurang seiring berjalannya waktu. Berkurangnya efisiensi dikarenakan efek *self shading* yang terjadi. Cahaya tidak terdistribusi secara sempurna antara bagian depan reaktor dan bagian belakang reaktor. Semakin besar biomassa yang dihasilkan, efek *self shading* yang terjadi juga semakin besar. Pada reaktor filtrasi semi-kontinu, kemungkinan terjadinya *self shading* lebih kecil karena biomassa yang terbentuk di dalam reaktor sedikit, sehingga efisiensi energi menjadi besar.

4.2.6 Pengaruh Volume Flokulan terhadap *Yield* Flokulasi

Pada proses pemanenan flokulasi, jumlah flokulan yang akan digunakan terhadap zat yang akan diflokulasi (dalam hal ini biomassa *C.vulgaris*) harus ditentukan, sehingga dapat diperoleh volume optimalnya. Sistem flokulasi yang dilakukan adalah pengaturan pH, sehingga biomassa akan mengalami autoflokulasi. Pengaturan pH dilakukan karena untuk mencegah terdapat kandungan logam atau polimer jika menggunakan flokulan logam atau polimer, misalnya aluminum sulfat (Lee, 1998). Berikut ini adalah tabel yang menunjukkan pengaruh jumlah flokulan terhadap *yield* flokulasi yang dihasilkan.

Tabel 4. 3 Variasi volume flokulan terhadap *yield* flokulasi

V Flokulan (mL)	Yield (%)
8	89,39
7	92,95
5	91,56
4	94,49
3	90,86
2	84,88
1	79,26
0	56,48

Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa titik optimasi berada pada volume flokulan 4 mL/100 mL. Angka tersebut menunjukkan bahwa dibutuhkan 4 mL NaOH dalam tiap 100 mL sampel. Berdasarkan pengamatan, volume 4 mL menghasilkan pH sebesar 11. Hasil ini sedikit berbeda dengan yang dilakukan oleh Harith (2009). Hasil yang diperoleh adalah setelah lewat dari pH 11, *yield* tidak meningkat atau turun. Pada pH kurang dari 11, muatan negatif pada permukaan sel tidak ternetralisir semua, sehingga flok yang dihasilkan lebih sedikit. McCausland (1999) melaporkan bahwa flokulasi yang optimal terjadi pada rentang pH 11,8 sampai 12. Flok yang terbentuk memiliki resistensi terhadap gangguan mekanis dan karakteristik pengendapan yang bagus. Namun, pada pH lebih besar, seperti yang dilaporkan Blanchemain and Grizeau (1999), terjadi lisis atau rusaknya dinding sel dan keluarnya isi dari sel. Keluarnya isi dari sel menyebabkan sel mati dan sebagian flok yang terbentuk kembali bercerai atau tidak mengendap karena menjadi lebih ringan. Pada beberapa mikroalga, pada pH

yang lebih tinggi tidak menyebabkan lisis, namun hanya akan membentuk flok yang lebih besar dan tidak mempengaruhi *yield* (Harith, 2009).

Pengaruh perubahan pH terhadap flokulasi juga telah dilakukan sebelumnya oleh beberapa peneliti terhadap beberapa jenis mikroalga. Lee (1998) melakukan flokulasi terhadap *Botryococcus braunii*, dan menghasilkan aktivitas flokulasi tertinggi terdapat pada pH 11. Flokulasi terhadap *C.vulgaris* telah dilakukan oleh Oh (2001), dimana efektivitas flokulasi tertinggi dihasilkan pada pH 11, seperti yang terlihat pada Tabel 2.3.

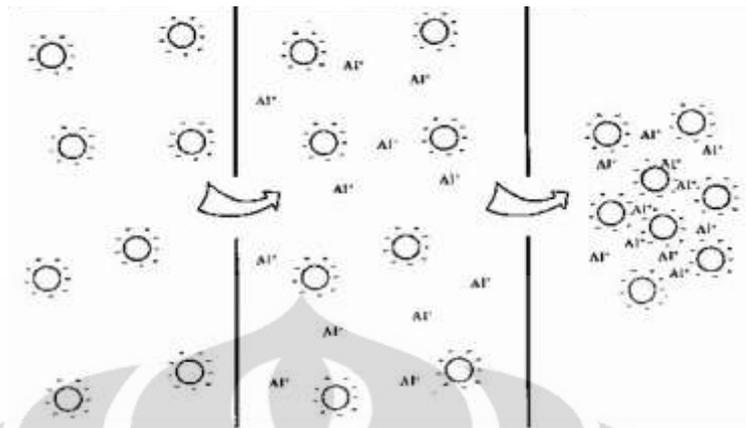
4.2.7 Pengaruh OD awal terhadap *Yield* Flokulasi

Tabel berikut menunjukkan pengaruh OD awal terhadap *yield* flokulasi.

Tabel 4. 4 Variasi OD awal terhadap *yield* flokulasi

OD awal	<i>Yield</i> (%)
0,249	89,84
0,359	89,68
0,435	89,12
0,617	87,85

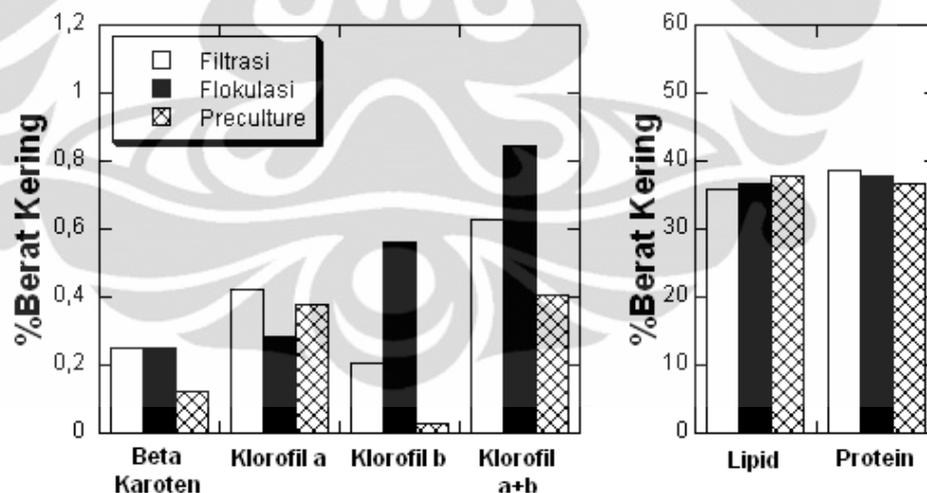
Besar OD akan mempengaruhi konsentrasi flokulan di dalam proses flokulasi. Seperti yang tergambar pada tabel di atas, *yield* yang dihasilkan menurun seiring dengan meningkatnya jumlah biomassa (dalam hal ini digambarkan dengan OD). *Yield* yang semakin kecil disebabkan karena kemampuan flokulan untuk mengikat sel bekerja lebih baik dalam jumlah sel yang lebih sedikit. Jumlah sel yang bersentuhan dengan partikel flokulan terbatas pada kemampuan flokulan tersebut. Sel-sel yang tidak terkena dampak dari flokulan akhirnya tidak membentuk flok-flok dan tidak tersedimentasi. Untuk lebih memperjelas, dapat dilihat pada gambar di bawah ini, dengan contoh menggunakan flokulan Al^{3+} . Ketika partikel yang akan diflokulasi lebih padat, sangat dimungkinkan tidak semua partikel membentuk flok karena partikel Al telah tertutup oleh partikel flokulasi.



Gambar 4. 8 Proses pembentukan flok dengan flokulan Al^{3+}
(<http://www.tn.gov/environment/fleming/>)

4.2.8 Pengaruh Metode Pemanenan terhadap Kandungan *Chlorella vulgaris*

Kandungan esensial yang dimiliki *C.vulgaris* yang akan diuji adalah lipid, protein, klorofil, dan beta karoten. Bagan di bawah ini adalah perbandingan kandungan-kandungan esensial tersebut pada masing-masing metode.



Gambar 4. 9 Bagan perbandingan kandungan nutrisi pada tiap metode

Kandungan beta karoten yang dihasilkan tidak memiliki perbedaan yang signifikan pada flok dan filtrat. Namun, pada *preculture* atau kondisi tanpa perlakuan, terdapat perbedaan yang cukup jauh. Hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh kultivasi terhadap kandungan beta karoten. Selain itu, beta

karoten tidak terpengaruh yang berarti dengan metode pemanenan, baik dengan penambahan bahan kimia seperti flokulan maupun tanpa adanya bahan kimia.

Hal yang berbeda terjadi pada klorofil yang terbentuk. Total klorofil yang dihasilkan metode flokulasi lebih besar dibanding metode filtrasi maupun *preculture*. Hal ini disebabkan karena pada kultivasi untuk flokulasi terjadi fenomena *self shading*. Fenomena ini menyebabkan proses pembentukan klorofil lebih baik. *Self shading* memungkinkan mikroalga untuk beristirahat dari berfotosintesis secara terus menerus, sehingga klorofil dapat berkembang secara lebih baik.

Dalam hal perolehan lipid, metode filtrasi dan metode flokulasi memiliki hasil yang tidak jauh berbeda. Filtrat memiliki kandungan lipid sebesar 35,84% berat kering, sedangkan lipid pada flok sebesar 36,72% berat kering. Kedua hasil tersebut sedikit lebih rendah dibanding lipid yang diperoleh dari *preculture*, yaitu 37,69%. Perbedaan ini disebabkan karena pada saat kultivasi, sebagian lipid digunakan untuk proses metabolisme sel sebelum akhirnya dibentuk kembali dan disimpan di dalam sel.

Protein yang diperoleh dari tiap metode pemanenan tidak jauh berbeda dengan protein pada *preculture*. Jika dibandingkan dengan kandungan nutrisi lainnya, pembentukan protein berhubungan dengan pembentukan klorofil, seperti yang dilaporkan oleh Yusandi (2010). Total klorofil yang diproduksi pada reaktor flokulasi lebih besar dibanding reaktor filtrasi, namun proteinnya lebih sedikit, karena zat nitrogen yang terdapat di dalam medium lebih digunakan untuk pembentukan klorofil. Sel mikroalga tidak dapat membentuk protein dan klorofil secara bersamaan, sehingga ketika salah satu kandungan meningkat, maka kandungan lainnya menurun.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini antara lain:

- Laju pertumbuhan yang lebih tinggi didapatkan pada metode filtrasi semi-kontinu, dengan biomassa yang diperoleh sebesar 1,62885 g/L.
- Tidak terdapat perbedaan signifikan dalam hal fiksasi CO₂ pada masing-masing metode pemanenan yang dapat dilihat dari nilai q_{CO_2} .
- Metode pemanenan tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kandungan beta karoten, lipid, dan protein.
- Metode flokulasi menghasilkan kandungan klorofil total lebih tinggi dibanding metode filtrasi semi-kontinu.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berkaitan dengan penelitian ini adalah untuk memastikan kondisi peralatan yang akan digunakan, sehingga tidak terjadi hal-hal yang tidak diinginkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Blanchemain, A. & Grizeau, D. (1999) *Increased production of eicosapentaenoic acid by Skeletonema costatum cells after decantation at low temperature*. *Biotechnology Techniques*, 13, 497–501.
- Brennan L., and Owende P. (2009). *Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*. *Renew Sustain Energy Rev*, doi:10.1016/j.rser.2009.10.009.
- Chiu, Sheng-Yi, et al. (2008). *Reduction of CO₂ by a high-density culture of Chlorella sp. in a semicontinuous photobioreactor*. *Bioresource Technology* 99 3389–3396.
- Danquah M, Ang L, Uduman N, Moheimani N, Forde G. (2009). *Dewatering of microalgal culture for biodiesel production: exploring polymer flocculation and tangential flow filtration*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 2009;84:1078–83.
- Darmawan, Heru. (2010). *Pengaturan Kecepatan Aliran Hisap Dalam Perlakuan Filtrasi Pada Sirkulasi Aliran Media Kultur Untuk Peningkatan Produksi Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg*. Depok: Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Fitri, Kurniati. (2011). *Peran Chlorella Vulgaris Dalam Pengelolaan Lingkungan (Kajian Penggunaannya Untuk Menurunkan Nitrogen Amonia Air Limbah Domestik Dan Potensinya Sebagai Bahan Minyak Biodiesel)*. Depok: Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Grima, Molina E., Belarbi EH, Acie'n Ferna'ndez FG, Robles Medina A, Chisti Y. (2003) *Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics*. *Biotechnology Advances* 2003;20(7–8):491–515.
- Harith, Zurhalida Tuan, et al. (2009). *Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, Chaetoceros calcitrans, cells*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (21), pp. 5971-5978.
- Harun R, et al. (2009). *Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products*. *RenewSustain Energy Rev*, doi:10.1016/j.rser.2009.11.004.

- Herdiana, Cynthia. (2011). *Studi Komparasi Teknik Pemecahan Dinding Sel Pada Ekstraksi Lipid Mikroalga Chlorella vulgaris Buitenzorg*. Depok: Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Liang, Yanna, Nicolas Sarkany, Yi Cui. (2009). *Biomass and lipid productivities of Chlorella vulgaris under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions*. *Biotechnol Lett* (2009) 31:1043–1049 DOI 10.1007/s10529-009-9975-7.
- Neng, Teoh Pik and Rashidah Mat Resat. (2009). Online: *Production Of Green Algae Product From Ultra filtration And Flocculation*.
- Oh, Hee-Mock, et al. (2001) *Harvesting of Chlorella vulgaris using a bioflocculant from Paenibacillus sp. AM49*. Kluwer Academic Publishers: Netherland.
- Powell, Erin E., Majak L. Mapiour, Richard W. Evitts, Gordon A. Hill. (2009). *Growth kinetics of Chlorella vulgaris and its use as a cathodic half cell*. *Bioresource Technology* 100, 269–274.
- Qian, Haifeng, Jingjing Li, Liwei Sun, Wei Chen, G. Daniel Sheng, Weiping Liu, Zhengwei Fu. (2009). *Combined effect of copper and cadmium on Chlorella vulgaris growth and photosynthesis-related gene transcription*. *Aquatic Toxicology* 94 (2009) 56–61.
- Rachmaniah, Orchidea, Reni Dwi Setyarini, Lailatul Maulida. 2010. *Pemilihan Metode Ekstraksi Minyak Alga dari Chlorella sp. dan Prediksinya sebagai Biodiesel*. Seminar Teknik Kimia Soehadi Reksowardojo 2010.
- Septian, Maudhi. (2011). *Optimasi Produksi Biomassa dan Kemampuan Fiksasi CO₂ Chlorella vulgaris Menggunakan Perpaduan Filtrasi dan Alterasi dengan Membran Serat Berongga sebagai Aerator*. Depok: Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Shales, Stuart. (2007). *Biodiesel: A Microbiologist's Perspective*. University of the West of England.
- Shelef, G., Sukenik, A., Green M. (1984). *Microalgae Harvesting and Processing: A Literature Review, A Subcontract Report*. Haifa: Technion Research and Development Foundation ltd.

- Sim, T.S., et al. (1988). *Comparison of Centrifugation, Dissolved Air Flotation and Drum Filtration Techniques for Harvesting Sewage-grown Algae*. England: Elsevier Applied Science Publishers Ltd.
- Spolaore, Pauline, Claire Joannis-Cassan, Elie Duran, Arsène Isambert. (2006). *Commercial Applications of Microalgae*. JOURNAL OF BIOSCIENCE AND BIOENGINEERING Vol. 101, No. 2, 87–96. 2006 DOI: 10.1263/jbb.101.87.
- Syarif, A. (2008). *Peningkatan Produksi Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg Dengan Filtrasi Aliran Sirkulasi Medium Kultur Pada Pencahayaan Alterasi*. Depok: Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Uduman, et al. (2010). *Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels*. Journal Of Renewable And Sustainable Energy 2, 012701.
- Wijanarko, Anondho et al. (2008). *Biomass Production Chlorella vulgaris Buitenzorg using Series of Bubble Column Photo Bioreactor with a Periodic Illumination*. Makara, Teknologi, Volume 12, No. 1, April 2008: 27-30.
- Yusandi, Fadli. (2010). *Pengaruh Nitrogen Terhadap Kandungan Essensial Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg*. Depok: Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.

LAMPIRAN A DATA PENGAMATAN

Tabel A. 1 Data dan pengolahan reaktor kontrol (flokulasi)

Waktu (jam)	OD	I _o (lux)	I _b (lux)	Y _{in} (%)	Y _{out} (%)	pH	X (g/L)	μ (h ⁻¹)	[HCO ₃ ⁻] (M)	q _{CO₂} (h ⁻¹)
0	0,243	5196,7	1500,0	5,1867	2,9891	6,63	0,1039	0,102410	0,0030328300	206,30937
6	0,283	5196,7	1400,0	5,4988	3,1851	6,69	0,1239	0,067992	0,0034821547	171,88591
12	0,517	5196,7	1193,3	5,1398	2,8519	6,71	0,2429	0,028839	0,0036462636	99,72319
18	0,604	5196,7	893,3	5,7832	3,4078	6,74	0,2868	0,021451	0,0039070418	90,66957
24	0,615	5196,7	780,0	5,4437	3,0012	6,72	0,2923	0,014502	0,0037311960	90,64678
30	0,624	5196,7	603,3	5,7330	3,1005	6,75	0,2970	0,009556	0,0039980485	86,61647
36	0,627	5196,7	540,0	5,7911	3,0782	6,77	0,2983	0,006927	0,0041864708	85,17251
42	0,625	5260,0	470,0	5,3935	2,6823	6,78	0,2977	0,005534	0,0042839862	85,45907
48	0,491	5260,0	356,7	5,2746	2,6589	6,83	0,2294	0,004903	0,0048067116	81,26347
54	0,653	5350,0	323,3	5,4293	2,7312	6,87	0,3119	0,006247	0,0052704544	80,63860
60	0,559	5566,7	253,3	5,3978	2,7890	6,93	0,2639	0,006778	0,0060512913	73,68513
66	0,713	5850,0	240,0	5,4308	2,9412	7,02	0,3423	0,005582	0,0074447147	67,77371
72	0,680	5226,7	210,0	5,3813	3,0389	7,04	0,3254	0,006671	0,0077955733	67,69740
78	0,795	5773,3	186,7	5,6980	3,0074	7,08	0,3837	0,007213	0,0085476762	62,27675
84	0,800	5560,0	153,3	5,5813	3,1174	7,13	0,3863	0,008100	0,0095906504	57,83911
90	0,902	5453,3	133,3	6,5341	4,3290	7,15	0,4378	0,008399	0,0100426439	39,00850
96	0,913	4916,7	113,3	5,9932	4,0762	7,17	0,4437	0,008598	0,0105159391	36,47934
102	0,922	5340,0	113,3	5,8765	3,7450	7,24	0,4480	0,008803	0,0123551511	40,97693
108	0,925	5286,7	93,3	5,2599	3,5123	7,23	0,4496	0,008588	0,0120739135	37,39317
114	1,110	5200,0	83,3	5,5566	3,9367	7,24	0,5435	0,008427	0,0123551511	27,14600

Waktu (jam)	OD	Io (lux)	Ib (lux)	Yin (%)	Yout (%)	pH	X (g/L)	μ (h ⁻¹)	[HCO ₃ ⁻] (M)	q _{CO2} (h ⁻¹)
120	1,123	5240,0	73,3	5,3560	4,0091	7,27	0,5502	0,007913	0,0132387829	23,12879
126	1,150	5356,7	60,0	5,8932	4,5985	7,28	0,5638	0,007807	0,0135471538	19,72087
132	1,177	5333,3	53,3	5,7633	4,6312	7,29	0,5773	0,007628	0,0138627076	17,21985
138	1,210	5186,7	50,0	5,5872	4,3421	7,31	0,5942	0,007340	0,0145160368	18,97960
144	1,203	5383,3	46,7	5,9240	4,7746	7,32	0,5908	0,006706	0,0148541588	16,61950
150	1,323	5750,0	40,7	5,5900	4,4398	7,35	0,6517	0,006356	0,0159165179	15,97875
156	1,383	5576,7	32,3	5,5928	4,8765	7,38	0,6821	0,005813	0,0170548562	9,50225
162	1,420	5660,0	28,0	5,5447	4,5533	7,42	0,7007	0,005342	0,0187002779	12,91360
168	1,473	5303,3	21,7	5,2170	4,1280	7,41	0,7277	0,004777	0,0182746076	14,51554
174	1,603	5460,0	20,0	4,9390	4,0905	7,42	0,7937	0,004201	0,0187002779	10,95406
180	1,617	5436,7	17,7	4,2036	3,2314	7,45	0,8004	0,003641	0,0200377088	14,62222
186	1,620	5196,7	16,0	4,2672	3,3267	7,47	0,8021	0,003001	0,0209820570	13,90525
192	1,617	5196,7	14,7	5,0305	4,3304	7,46	0,8004	0,002450	0,0205044470	8,79889
198	1,623	5196,7	14,0	5,3986	4,6730	7,46	0,8038	0,001829	0,0205044470	8,46185
204	1,623	5196,7	12,3	4,9976	4,3948	7,47	0,8038	0,001162	0,0209820570	7,59383

Tabel A. 2 Data dan pengolahan reaktor filtrasi semi-kontinu

Waktu (jam)	OD	Io (lux)	Ib (lux)	Yin (%)	Yout (%)	pH	X (g/L)	μ (h ⁻¹)	[HCO ₃ ⁻] (M)	q _{CO2} (h ⁻¹)
0	0,222	5746,667	1430,000	6,3399	5,3012	6,50	0,09328	0,0767	0,0022482679	88,88304
6	0,250	5586,667	1175,000	5,9521	4,9292	6,60	0,10731	0,0697	0,0028304016	81,04328
12	0,285	5376,667	877,667	6,1247	5,2112	6,68	0,12489	0,0522	0,0034028912	60,43466
18	0,332	5690,000	693,000	6,0409	5,0370	6,72	0,14890	0,0431	0,0037311960	56,48057
24	0,373	5856,667	600,333	6,3147	5,3139	6,77	0,16986	0,0349	0,0041864708	47,21733
30	0,404	5836,667	520,667	5,8715	4,8799	6,80	0,18541	0,0287	0,0044858842	46,09415
36	0,510	5800,000	398,667	5,6342	4,6381	6,93	0,23917	0,0253	0,0060512913	37,40760
42	0,552	6116,667	334,000	5,7875	4,8191	6,96	0,26047	0,0204	0,0064840755	32,50882
48	0,631	6233,333	272,333	5,8315	4,9813	7,05	0,31640	0,0196	0,0079771556	24,56322
54	0,347	6166,667	658,000	6,5452	5,4907	6,62	0,48876	0,0340	0,0029637943	52,15104
60	0,404	5603,333	565,000	4,9151	3,8919	6,74	0,51784	0,0132	0,0039070418	56,81807
66	0,463	6103,333	471,333	4,2176	3,2878	6,82	0,54776	0,0027	0,0046972974	51,80930
72	0,499	6216,667	347,333	5,0176	4,0948	6,89	0,56602	0,0010	0,0055188433	39,84287
78	0,524	6543,333	279,667	5,5183	4,6068	7,00	0,57870	0,0071	0,0071096474	33,94185
84	0,676	6206,667	217,333	6,4729	5,6691	7,10	0,61468	0,0360	0,0089505158	19,43400
90	0,340	6390,000	613,000	5,9002	4,7811	6,60	0,72652	0,0172	0,0028304016	62,75334
96	0,433	6566,667	515,333	6,2860	5,3798	6,66	0,77369	0,0078	0,0032497359	36,45496
102	0,466	5230,000	351,333	7,4950	6,3980	6,76	0,79042	0,0037	0,0040911750	34,15551
108	0,520	5340,000	319,333	5,0529	4,1856	6,80	0,81781	0,0036	0,0044858842	35,56354
114	0,575	5420,000	264,333	5,4982	4,6198	6,97	0,84553	0,0074	0,0066351090	29,72715
120	0,624	5336,667	219,333	5,9154	5,0552	7,11	0,89453	0,0400	0,0091590001	24,77856
126	0,343	5490,000	563,333	3,4552	2,4254	6,60	1,07281	0,0178	0,0028304016	97,74427
132	0,407	5196,667	423,000	5,6742	4,7090	6,75	1,10543	0,0070	0,0039980485	46,04917

Waktu (jam)	OD	Io (lux)	Ib (lux)	Yin (%)	Yout (%)	pH	X (g/L)	μ (h ⁻¹)	[HCO ₃ ⁻] (M)	q _{CO2} (h ⁻¹)
138	0,473	5316,667	423,000	6,2848	5,3919	6,80	1,13891	0,0020	0,0044858842	32,62008
144	0,559	5636,667	254,333	5,8813	4,9968	6,90	1,18252	0,0018	0,0056473937	28,82589
150	0,575	5510,000	196,667	7,1530	6,0979	7,03	1,19047	0,0061	0,0076181244	27,44649
156	0,620	5300,000	158,333	6,4563	5,7086	7,14	1,19387	0,0171	0,0098140454	19,86924
162	0,447	5730,000	473,333	5,3556	4,3225	6,57	1,38151	0,0079	0,0026414845	47,10854
168	0,497	5663,333	357,000	5,6772	4,7046	6,71	1,40687	0,0030	0,0036462636	37,27598
174	0,541	5546,667	302,000	5,9492	5,0894	6,89	1,42935	0,0015	0,0055188433	28,67418
180	0,552	5483,333	238,333	6,6165	5,7589	7,05	1,43476	0,0030	0,0079771556	25,18221
186	0,624	5433,333	204,333	6,2950	5,5455	7,11	1,44760	0,0182	0,0091590001	20,28788
192	0,367	5876,667	666,333	5,5418	4,4578	6,68	1,59073	0,0041	0,0034028912	59,33841
198	0,418	5616,667	492,333	6,5740	5,6075	6,75	1,61643	0,0009	0,0039980485	38,64650
204	0,464	5190,000	404,333	5,3871	4,4019	6,82	1,62885	0,0074	0,0046972974	42,87768

LAMPIRAN B CONTOH PENGOLAHAN DATA

B.1 Pengolahan Data OD

Pada penelitian sebelumnya telah didapatkan kurva kalibrasi X Vs OD untuk menentukan berat kering sel pada kepadatan tertentu. Persamaan linear kurva tersebut adalah:

$$y = 0,50716x - 0,019478$$

dimana y adalah X dan x adalah OD. Dengan memasukkan OD ke dalam persamaan tersebut akan diperoleh X. Misalnya pada data ke-0 reaktor flokulasi didapat OD 0,243, sehingga:

$$y = 0,50716 \times (0,243) - 0,019478$$

$$y = 0,1038$$

$$X = 0,1038 \text{ g/L}$$

B.2 Pengolahan Data pH dan y_{CO_2}

Data pH digunakan untuk mengetahui konsentrasi ion bikarbonat dengan menggunakan persamaan berikut:

$$[HCO_3^-] = \left(\frac{K_{CO_2}}{H_{CO_2}} \right) \left(\frac{y_{CO_2} P_T}{10^{-pH}} \right) \frac{\exp \left[A_K \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_K \ln \left(\frac{T_0}{T} \right) + C_K \left(\frac{T_0}{T} - 1 \right) \right]}{\exp \left[A_H \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_H \ln \left(\frac{T_0}{T} \right) + C_H \left(\frac{T_0}{T} - 1 \right) \right]}$$

Dimana :

P_T = Tekanan Operasi (atm)

y_{CO_2} = fraksi gas CO_2

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

H_{CO_2} = 2900 KPa/mol

T = Temperatur operasi

T_0 = Temperatur standar

$A_K = 40.557$ $B_K = -36.782$ $C_K = 0$

$A_H = 22.771$ $B_H = -11.452$ $C_H = -3.117$

Pada data ke-0 reaktor flokulasi, diperoleh data pH sebesar 6,63. Setelah dimasukkan ke dalam persamaan diperoleh $[\text{HCO}_3^-]$ sebesar 0,00303283 M.

Untuk data y_{CO_2} digunakan untuk melakukan perhitungan CTR dan q_{CO_2} menggunakan persamaan berikut:

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

dimana

$$\alpha_{\text{CO}_2} = \frac{U_G \times A \times M_{\text{CO}_2} \times P}{V_{\text{medium}} \times R \times T}$$

dengan

U_G = kecepatan superficial gas yang diumpankan = 151,5 L/h

A = luas permukaan reaktor yang menghadap ke sumber cahaya = 3,384 m²

M_{CO_2} = massa molekul relatif CO₂ = 44 g/mol

P = tekanan operasi = 1 atm

V_{medium} = volume medium = 18 L

R = konstanta *Rydberg* (0,08205 dm³.atm/mol.K)

T = suhu operasi = 302 K

Data Δy_{CO_2} yang didapat pada jam ke-0 reaktor flokulasi sebesar 42,3699%, sehingga diperoleh CTR sebesar 21,44173 g/L.h

Kemudian untuk persamaan q_{CO_2} adalah:

$$q_{\text{CO}_2} = \frac{CTR}{X} = \frac{\Delta y_{\text{CO}_2} \times \alpha_{\text{CO}_2}}{X}$$

dimana

X = berat kering sel per satuan volume (g/L)

Δy_{CO_2} = selisih konsentrasi CO₂ masuk dan keluar reaktor

CTR = (g/dm³.h)

Dengan menggunakan CTR dan X yang diperoleh dari perhitungan sebelumnya, q_{CO_2} yang diperoleh dari persamaan di atas adalah 206 h⁻¹.

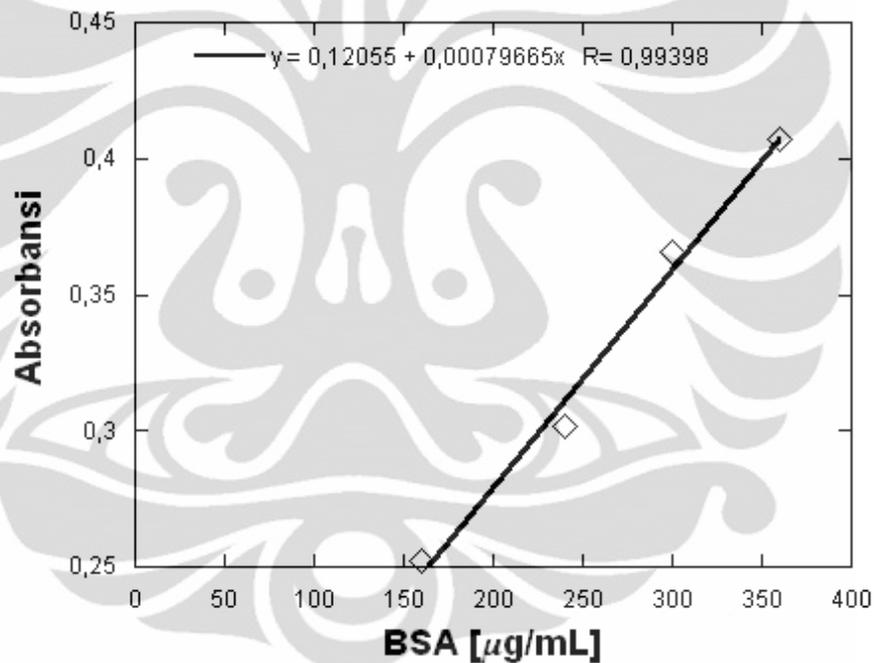
LAMPIRAN C KALIBRASI PROTEIN

Data hasil absorbansi yang diperoleh untuk kalibrasi protein adalah sebagai berikut.

Tabel C. 1 Data absorbansi dari sampel BSA

BSA (μg)	Absorbansi
160	0,252
240	0,301
300	0,366
360	0,407

Sehingga dapat dihasilkan kurva kalibrasi berikut:



Gambar C. 1 Kurva kalibrasi protein