



UNIVERSITAS INDONESIA

**IDENTIFIKASI PENGARUH VARIABEL KULTUR
PERTUMBUHAN TERHADAP TOTAL LIPID MIKROALGA
MENGUNAKAN METODE PERMUKAAN RESPON**

SKRIPSI

EFNIARSI S PANGGALO

0906604161

FAKULTAS TEKNIK

PROGRAM STUDI EKSTENSI TEKNIK KIMIA

DEPOK

JUNI 2012



UNIVERSITAS INDONESIA

**IDENTIFIKASI PENGARUH VARIABEL KULTUR
PERTUMBUHAN TERHADAP TOTAL LIPID MIKROALGA
MENGUNAKAN METODE PERMUKAAN RESPON**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Gelar Sarjana Teknik

EFNIARSI S PANGGALO

0906604161

FAKULTAS TEKNIK

PROGRAM STUDI EKSTENSI TEKNIK KIMIA

DEPOK

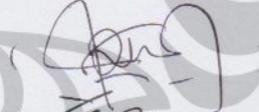
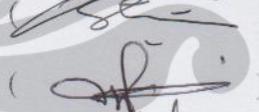
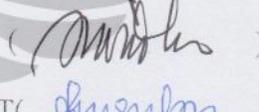
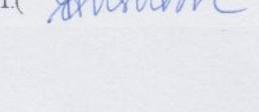
JUNI 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Efniarsi S Panggalo
NPM : 0906604161
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi : Identifikasi Pengaruh Variabel Kultur Pertumbuhan Terhadap Total Lipid Mikroalga Menggunakan Metode Permukaan Respon

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Ir. Rita Arbianti, M.Si. ()
Pembimbing II : Dr. Ir. Tania Surya Utami, M.T. ()
Penguji : Dr. Ing. Ir. Misri Gozan, M.Tech ()
Penguji : Prof. Dr. Ir. Anondho W, M. Eng ()
Penguji : Dr. Ir. Praswasti P.D.K. Wulan, M.T. ()

Ditetapkan di : Depok

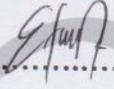
Tanggal : 30 Juni 2012

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Efniarsi S Panggalo

NPM : 0906604161

Tanda Tangan : 

Tanggal : 9 Juli 2012

KATA PENGANTAR

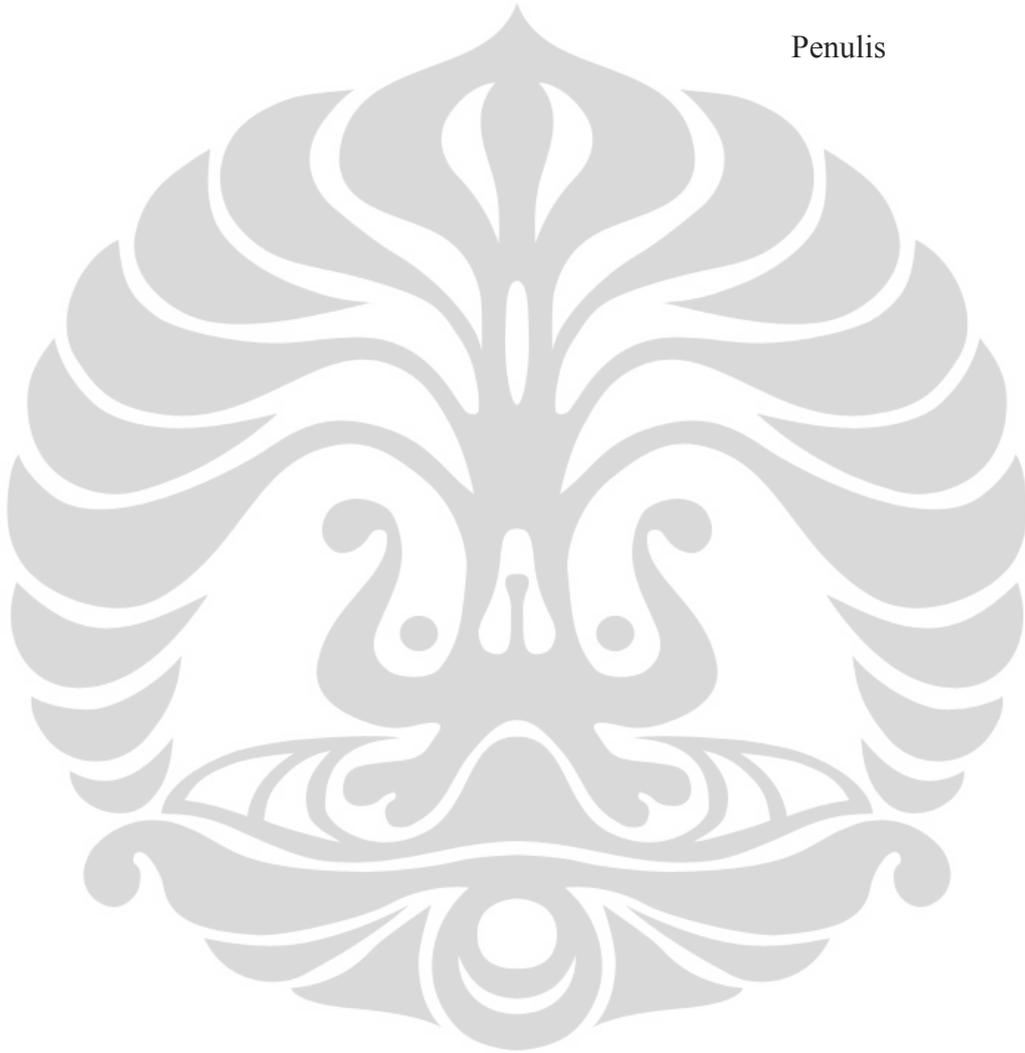
Rasa syukur yang besar terutama saya ucapkan pada Tuhan Yang Maha Sempurna, oleh Dia yang begitu kasih memberikan berkat dan kemampuan untuk dapat menyelesaikan skripsi ini. Disusunnya skripsi ini tidak lain untuk memenuhi salah satu syarat pencapaian gelar Sarjana Teknik di Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia. Kontribusi nyata yang saya terima dari berbagai pihak yang telah membantu saya dalam menyelesaikan penyusunan skripsi, sehingga pada saat ini dapat menyelesaikan skripsi. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih juga kepada :

1. Prof. DR. Ir. Widodo Wahyu P. DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
2. Ir. Rita Arbianti, M.si dan Dr. Ir. Tania Surya Utami, MT sebagai dosen pembimbing yang telah membantu mencerahkan dalam kebuntuan penyusunan, juga arahan-arahan secara komprehensif yang sangat membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Bambang Heru Susanto, S.T., M.T. selaku dosen pembimbing akademik, yang telah membimbing selama menempuh pendidikan di jurusan Teknik Kimia, Universitas Indonesia.
4. Seluruh Dosen Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia atas bimbingan dan didikannya selama menempuh pendidikan di Universitas Indonesia.
5. Pak Didik Wahyudi, Yolanda Fitria Syahri, dan Mba Nuryanti yang telah banyak memberikan pencerahan tentang materi RSM dan data sekunder.
6. Orang tua dan keluarga atas dukungan material dan moral.
7. Teman – teman seperjuangan angkatan 2009 teknik kimia ekstensi yang selalu bersama hingga akhir perkuliahan.
8. Semua pihak yang tidak dapat dituliskan satu persatu.

Akhir kata, saya berharap Dia yang memiliki segala kuasa membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini memberikan manfaat yang berarti bagi pengembangan ilmu keteknikan.

Depok, Juni 2012

Penulis



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

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

Nama : Efniarsi S Panggalo

NPM : 0906604161

Program Studi : S1

Fakultas : Teknik

Departemen : Teknik Kimia

Jenis Karya : Skripsi

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

Identifikasi Pengaruh Variabel Kultur Pertumbuhan Terhadap Total Lipid Mikroalga Menggunakan Metode Permukaan Respon

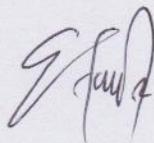
bersama perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmediakan / memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 3 Juli 2012

Yang menyatakan,



Efniarsi S Panggalo

ABSTRAK

Nama : Efniansi S Panggalo
Program Studi : Teknik Kimia
Judul : Identifikasi Pengaruh Variabel Kultur Pertumbuhan Terhadap Total Lipid Mikroalga Menggunakan Metode Permukaan Respon

Identifikasi pengaruh kerapatan sel (X1), komposisi Nitrogen (X2), dan komposisi Fosfor (X3) terhadap total lipid (Y) dilakukan pada 3 jenis mikroalga, yaitu *Chlamydomonas sp*, *Chlorococcum sp*, dan *Chroococcus sp*. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan metode permukaan respon. Rentang nilai ketiga variabel bebas (faktor) di atas adalah kerapatan sel (X1 : 0,4 – 0,72 OD), komposisi Nitrogen (X2 : 1,94 – 3,88 g/l), dan komposisi Fosfor (X3 : 0,03 – 0,06 g/l). Nilai rentang variabel bebas tersebut adalah sama yang digunakan pada ketiga alga. Dari ketiga variabel bebas yang memiliki pengaruh nyata atau signifikan pada total lipid adalah komposisi N dan komposisi P. Model orde yang paling sesuai dalam proses identifikasi ini adalah model orde II, dimana pada alga *Chlamydomonas sp*, titik optimum komposisi N dan komposisi P adalah 1,54 g/l dan 0,05 g/l dengan total lipid yang diperoleh 21,58%. Untuk alga *Chlorococcum sp* titik optimum komposisi N dan komposisi P adalah 1,54 g/l dan 0,045 g/l dengan total lipid yang diperoleh 8,26%. Pada alga *Chroococcus sp* titik optimum untuk komposisi N dan komposisi P adalah 1,54 g/l dan 0,045 g/l dengan total lipid yang diperoleh 23,23%.

Kata Kunci :

Metode permukaan respon, Mikroalga, Total lipid.

ABSTRACT

Name : Efniansi S Panggalo

Study Program : Chemical Engineering

Title : Identification for Effect of Growth Culture Variable to the Microalgae Lipid Using Response Surface Methodology

Identification for effect of cell density (X1), Nitrogen composition (X2), dan Fosfor composition (X3) to the total of fatty acid (Y) was done with using 3 microalgae are *Chlamydomonas sp*, *Chlorococcum sp*, and *Chroococcus sp*. Identification was done with using response surface methodology. Range values of the independent variables (factor) are cell density (X1 : 0.4 – 0.72 OD), Nitrogen composition (X2 : 1.94 – 3.88 g/l), and Fosfor composition (X3 : 0.03 – 0.06 g/l) and the values are same which used for 3 microalgae. The independent variables have strongly effect to the total of fatty acid are Nitrogen composition and Fosfor composition. The order model which adequately fit in this identification is using seconde order. For algae *Chlamydomonas sp*, the optimum values of Nitrogen composition and Fosfor composition are 1.54 g/l dan 0.05 g/l and total lipid resulted is 21.58%. For algae *Chlorococcum sp*, the optimum values for Nitrogen composition and Fosfor composition are 1.54 g/l dan 0.045 g/l and total lipid resulted is 8.26%. For alga *Chroococcus sp*, the optimum values for Nitrogen composition and Fosfor composition are 1.54 g/l dan 0.045 g/l with total lipid resulted is 23.23%.

Keywords :

Response Surface Methodology, Microalgae, Total Lipid.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Ruang Lingkup Penelitian.....	4
1.5 Sistematika Penulisan.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Mikroalga.....	6
2.1.1 Komposisi Kimia Sel Mikroalga.....	7
2.1.2 Manfaat Mikroalga Dalam Kehidupan.....	8
2.2 Lipid.....	9
2.2.1 Klasifikasi Lipid.....	10
2.3 <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i> (PUFAs).....	12
2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi Lipid pada Alga.....	14
2.4.1 Unsur Hara.....	14
2.4.2 Intensitas Cahaya.....	16
2.4.3 Suhu.....	16
2.4.4 Salinitas dan pH.....	16
2.4.5 Aerasi.....	17
2.5 Optimasi Metode Permukaan Respon.....	18
2.5.1 Eksperimen Orde I.....	19
2.5.2 Eksperimen Orde II.....	23
2.5.3 Lokasi Titik Stasioner.....	25
2.6 <i>State of The Art</i>	27
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	29

3.1 Tahapan Penelitian.....	29
3.2 Diagram Alir Penelitian.....	29
3.2.1 Penentuan Tujuan dan Variabel Bebas dan Respon.....	32
3.3 Optimasi Kandungan Total Lipid pada <i>Chlamydomonas sp</i> , <i>Chlorococcum sp</i> , dan <i>Chroococcus sp</i>	32
3.3.1 Eksperimen Orde I.....	32
3.3.2 Eksperimen Orde II.....	34
3.3.3 Penentuan Titik Optimum dari Faktor.....	36
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1 Optimasi pada Mikroalga <i>Chlamydomonas sp</i>	40
4.1.1 Analisis Orde I.....	40
4.1.2 Analisis Orde II.....	43
4.1.3 Penentuan Titik Optimum.....	49
4.2 Optimasi pada Mikroalga <i>Chlorococcum sp</i>	52
4.2.1 Analisis Orde I.....	52
4.2.2 Analisis Orde II.....	53
4.2.3 Penentuan Titik Optimum.....	56
4.3 Optimasi pada Mikroalga <i>Chroococcus sp</i>	58
4.3.1 Analisis Orde I.....	58
4.3.2 Analisis Orde II.....	59
4.3.3 Penentuan Titik Optimum.....	62
4.4 Perbandingan Hasil Optimasi Total Lipid Ketiga Mikroalga.....	64
BAB V KESIMPULAN.....	66
8.1 Kesimpulan.....	66
DAFTAR PUSTAKA.....	67
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Permukaan Respon Orde I dan Jalur <i>Steepest Ascent</i>	22
Gambar 2.2 Central Composite Design untuk 2 Faktor	25
Gambar 2.3 Permukaan Respon untuk a) titik maksimum, b) titik minimum, c) titik pelana.....	27
Gambar 3.1 Diagram Alir Analisis Pengolahan Data dengan Metode Permukaan Respon.....	31
Gambar 4.1 Kurva Uji Kenormalan Residual Model Permukaan Respon.....	47
Gambar 4.2 Plot antara Residual dengan <i>Fitted Value</i>	48
Gambar 4.3 Plot ACF untuk Residual.....	49
Gambar 4.4 Plot Kontur untuk Kandungan Total Lipid <i>Chlamydomonas sp.</i>	50
Gambar 4.5 Plot Kontur 3D untuk Kandungan Total Lipid <i>Chlamydomonas sp.</i>	51
Gambar 4.6 Kurva Uji Kenormalan Residual Model Permukaan Respon.....	54
Gambar 4.7 Plot antara Residual dengan <i>Fitted Value</i>	55
Gambar 4.8 Plot ACF untuk Residual.....	56
Gambar 4.9 Plot Kontur untuk Kandungan Total Lipid <i>Chlorococcum sp.</i>	57
Gambar 4.10 Plot Kontur 3D untuk Kandungan Total Lipid <i>Chlorococcum sp.</i>	57
Gambar 4.11 Kurva Uji Kenormalan Residual Model Permukaan Respon.....	61
Gambar 4.12 Plot antara Residual dengan <i>Fitted Value</i>	61
Gambar 4.13 Plot ACF untuk Residual.....	62
Gambar 4.14 Plot Kontur untuk Kandungan Total Lipid <i>Chroococcus sp.</i>	63
Gambar 4.15 Plot Kontur 3D untuk Kandungan Total Lipid <i>Chroococcus sp.</i>	63

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Alga dalam Persen Berat Kering.....	7
Tabel 2.2 Jenis-jenis Asam Lemak.....	11
Tabel 2.3 Aplikasi dan sumber dari produk PUFA.....	13
Tabel 2.4 Sumber PUFA selain dari minyak ikan.....	14
Tabel 2.5 <i>Central Composite Design</i>	25
Tabel 2.6 <i>State of The Art</i>	28
Tabel 4.1 Rancangan Faktorial $2^3 + 6$ (<i>center point</i>).....	38
Tabel 4.2 Rancangan Percobaan CCD dengan 3 Faktor.....	39
Tabel 4.3 Pengkodean Level Orde I.....	40
Tabel 4.4 Rancangan Orde I.....	41
Tabel 4.5 Analisis Varian Model Orde I.....	42
Tabel 4.6 Pengkodean Level Orde II.....	43
Tabel 4.7 Rancangan Orde II.....	44
Tabel 4.8 Analisis Varian Model Orde II.....	45
Tabel 4.9 Analisis Varian Model Orde I.....	52
Tabel 4.10 Analisis Varian Model Orde II.....	53
Tabel 4.11 Analisis Varian Model Orde I.....	59
Tabel 4.12 Analisis Varian Model Orde II.....	60
Tabel 4.13 Perolehan Titik Optimum untuk Total Lipid yang Maksimum.....	64

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroalga merupakan mikroorganisme nabati yang hidup melayang-layang dalam air, relatif tidak mempunyai daya gerak sehingga keberadaannya dipengaruhi oleh gerakan air serta mampu berfotosintesis (Davis, 1951). Terdapat empat kelompok mikroalga antara lain : diatom (*Bacillariophyceae*), alga hijau (*Chlorophyceae*), alga emas (*Chrysophyceae*), alga biru (*Cyanophyceae*). Penyebaran habitat mikroalga biasanya di air tawar dan air laut.

Dalam biomassa mikroalga terkandung bahan-bahan penting yang sangat bermanfaat, misalnya protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat. Persentase keempat komponen tersebut bervariasi tergantung jenis alga. Sebagai contoh, mikroalga *Chlorella vulgaris* memiliki kandungan protein sebesar 51 – 58%, karbohidrat 12 – 17%, lemak 14 – 22% dan asam nukleat 4 -5%. *Spirulina platensis* memiliki kandungan protein sebesar 46 – 43%, karbohidrat 8 – 14% , lemak 4 – 9%, dan asam nukleat 2 – 5%. Mikroalga lainnya seperti, *Botryococcus braunii*, *Dunaliella salina*, *Chlorella vulgaris*, *Monalanthus sauna* mempunyai kandungan minyak berkisar 40 – 85% (Borowitzka, 1998). Menurut Christi (2007), kandungan lemak mikroalga tergantung dari jenis mikroalga, rata-rata pertumbuhan, dan kondisi kultur mikroalga (unsur hara, suhu, pH, pencahayaan, salinitas, dan lainnya).

Lemak atau yang sering disebut lipid mikroalga pada umumnya terdiri dari asam lemak tidak jenuh, seperti linoleat, *eicosapentaenoic acid* (EPA) dan *docosahexanoic acid* (DHA). Beberapa mikroalga mengandung lipid dalam jumlah yang besar., dibandingkan dengan tanaman yang mengandung minyak. Selain itu lipid mikroalga mengandung struktur molekul dengan lebih dari 18 atom karbon (Borowitzka, 1998).

Kandungan lipid yang cukup tinggi membuat mikroalga menjadi salah satu sumber lipid yang patut dipertimbangkan dibandingkan tumbuhan dan hewan. Selain dapat menjadi sumber omega 3 dan 6 yang penting bagi kesehatan, lipid mikroalga juga sangat potensial untuk dijadikan sebagai bahan bakar alternatif. Dengan alasan inilah, maka mikroalga sangat perlu untuk dibudidayakan. Kondisi kultur pertumbuhan mikroalga sangat mempengaruhi produksi lipid yang dihasilkan. Sebagaimana yang telah disampaikan dalam paragraf sebelumnya, bahwa produksi kandungan lipid atau lemak pada mikroalga salah satunya tergantung dari kondisi kultur pertumbuhan, antara lain unsur hara, pH, pencahayaan, salinitas, dan lain sebagainya.

Dalam penelitian ini akan dibahas pengaruh variasi kondisi kultur pertumbuhan mikroalga yaitu penambahan unsur hara berupa komposisi nitrogen (N) dan komposisi fosfor (P) serta kerapatan sel terhadap kandungan lipid yang dihasilkan. Selain itu juga diharapkan melalui penelitian ini dapat diperoleh nilai optimum dari komposisi N, komposisi P, dan kerapatan sel yang menghasilkan kandungan lipid yang paling maksimum, sehingga dapat menjadi masukan bagi penelitian selanjutnya dalam menentukan kondisi kultur untuk memperoleh kandungan lipid yang maksimum.

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi sistem dan dapat digunakan untuk menganalisa suatu hubungan faktor (komposisi N, komposisi P, dan kerapatan sel) terhadap respon (kandungan lipid) adalah metode permukaan respon (*Response Surface Methodology*) yang berdasar pada Desain Eksperimen. Ada dua aspek eksperimen, yaitu desain eksperimen dan analisa data statistik. Desain eksperimen adalah alat penting dalam dunia teknik untuk meningkatkan kinerja dari proses produksi. Analisis data statistik adalah proses perancangan eksperimen untuk mengumpulkan data yang tepat sehingga dapat dianalisis dengan menggunakan metode statistik, sehingga kesimpulan yang diperoleh dapat bersifat obyektif.

Pemilihan desain eksperimen bergantung pada tujuan eksperimen dan jumlah faktor yang diteliti. Berdasarkan tujuannya desain eksperimen dikelompokkan menjadi *Comparative Objective*, *Screening Objective*, dan *Response Surface Methodology (RSM)*. Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah *Response Surface Methodology (RSM)*. Dalam desain eksperimen ini, sebuah eksperimen didesain untuk mengestimasi interaksi yang terjadi dan bahkan interaksi tingkat derajat lebih tinggi. Selain itu dalam sebuah eksperimen, terkadang muncul pertanyaan bagaimana solusi dari suatu eksperimen sehingga didapatkan keuntungan potensial yang memuaskan. Dengan alasan inilah RSM digunakan. RSM biasa digunakan untuk mencari proses optimum dari suatu sistem dengan memaksimalkan atau meminimumkan suatu respon dan juga untuk mereduksi variansi dengan menggunakan teknik *propagation error*.

Metode Permukaan Respon atau *Response Surface Methodology (RSM)* adalah gabungan antara teknik matematika dan statistik yang berguna untuk memodelkan dan menganalisis dimana respon yang teliti dipengaruhi oleh beberapa variabel dan bertujuan untuk mengoptimalkan respon (Montgomery, 2001). Keuntungan menggunakan RSM ini adalah dapat mempermudah pencarian wilayah optimum. Bila tidak menggunakan metode ini, maka harus dilakukan eksperimen berulang-ulang, dimana eksperimen membutuhkan biaya dan waktu yang banyak sehingga sangat tidak efektif dan tidak efisien.

1.1 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana menentukan pengaruh ketiga faktor yaitu komposisi N, komposisi P, dan kerapatan sel terhadap kandungan lipid dan berapa nilai optimum dari ketiga faktor tersebut sehingga diperoleh nilai lipid yang paling maksimum berdasarkan Metode Permukaan Respon atau *Response Surface Methodology (RSM)*.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mempelajari Metode Permukaan Respon atau *Response Surface Methodology* (RSM).
2. Menganalisis pengaruh 3 faktor yaitu komposisi N, komposisi P, dan kerapatan sel terhadap kandungan lipid dengan menggunakan metode permukaan respon (*Methodology Response Surface*).
3. Menentukan titik optimum ketiga faktor yaitu, komposisi Nitrogen (N), komposisi Fosfor (P), dan kerapatan sel yang optimal terhadap kandungan lipid yang paling maksimum.
4. Membandingkan kandungan lipid pada titik optimum dari ketiga mikroalga yang digunakan yaitu : *Chlamydomonas Sp*, *Chlorococcum Sp*, dan *Chroococcus Sp*.

1.3 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup yang membatasi penelitian ini adalah :

1. Data yang digunakan merupakan data sekunder dari suatu penelitian.
2. Metode desain eksperimen dan optimasi yang digunakan adalah Metode Permukaan Respon atau *Response Surface Methodology* (RSM).
3. Pengamatan difokuskan pada pengaruh faktor (variabel bebas) terhadap respon dan penentuan titik optimum dari faktor untuk memperoleh respon yang maksimum.
4. Parameter lipid yang akan diamati dalam penelitian ini adalah kandungan lipid total (%).
5. Mikroalga yang diamati adalah *Chlamydomonas Sp*, *Chlorococcum Sp*, dan *Chroococcus Sp*.
6. *Software* yang digunakan dalam perhitungan dan pemodelan adalah Minitab 16 *Statistical Software*.

1.4 Sistematika Penulisan

Sistematika yang akan digunakan pada penulisan makalah skripsi ini adalah sebagai berikut :

BAB I PENDAHULUAN

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

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini berisi dasar teori penelitian yang akan digunakan untuk menjelaskan masalah.

BAB III METODE PENELITIAN

Bab ini berisi tentang metode yang digunakan dalam penelitian.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini berisi pengolahan data, analisis, dan pembahasan dari hasil penelitian.

BAB V KESIMPULAN

Bab ini berisi kesimpulan dari analisis dan pembahasan hasil penelitian.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Sebelum membahas lebih lanjut penelitian yang akan dilakukan, terlebih dahulu akan dibahas teori – teori yang mendukung penelitian ini.

2.1. MIKROALGA

Mikroalga merupakan mikroorganisme nabati yang hidup melayang-layang dalam air, relatif tidak mempunyai daya gerak sehingga keberadaannya dipengaruhi oleh gerakan air serta mampu berfotosintesis (Davis, 1951). Mikroalga umumnya bersel satu atau berbentuk benang dan mampu memproduksi komponen yang bernilai tinggi. Habitat hidupnya meliputi seluruh wilayah perairan di dunia, baik lingkungan air laut maupun air tawar. Organisme ini memiliki kemampuan mengubah energi matahari, air, dan karbon dioksida layaknya tumbuhan tingkat tinggi (Kawaroe, 2010). Ada dua jenis polulasi utama dari alga, yaitu *filamentous* dan *phytoplankton algae*. Populasi tersebut kemudian dikategori ke dalam 4 kelas yaitu *diatom*, *green algae*, *blue-green algae*, and *golden algae* (Demirbas, 2010).

Sebagai dasar mata rantai pada siklus makanan di laut, mikroalga menjadi makanan alami bagi *zooplankton* baik yang masih kecil maupun yang dewasa. Selain itu juga, mikroalga dapat digunakan sebagai indikator kesuburan suatu perairan. Namun beberapa mikroalga tertentu mempunyai peran menurunkan kualitas perairan laut apabila jumlahnya berlebihan. Sebagai contoh kelas *Dinoflagellata* yang pada tubuhnya memiliki kromatopora yang menghasilkan toksin (racun) dalam keadaan *booming* yang dapat mematikan ikan.

Mikroalga menyimpan cadangan makanan di dalam sel granularnya. Komposisi biokimia yang terdapat pada cadangan makanan mikroalga bermacam – macam dan tergantung pada ukuran sel, daya cerna, dan komposisi biokimia yang dimilikinya.

2.1.1 Komposisi Kimia Sel Mikroalga

Komposisi sel semua jenis alga umumnya terdiri dari protein, karbohidrat, lemak (*fatty acid*) atau lipid, dan asam nukleat. Persentase keempat komponen tersebut bervariasi tergantung jenis alga. Ada jenis alga yang memiliki komponen *fatty acids* lebih dari 40% dan komponen *fatty acids*. Komposisi kimia alga dalam persen berat kering ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Komposisi kimia alga dalam persen berat kering

Alga	Komposisi kimia (% berat kering)			
	Protein	Karbohidrat	Lemak	Asam Nukleat
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	3-6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1.9	-
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2	-
<i>Spirogyra sp.</i>	6-20	33-64	11-21	-
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8	-
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20	-
<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-38	1-2
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3	-
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14	-
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9	2-5
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7	3-4,5
<i>Synechococcus sp.</i>	63	15	11	5
<i>Anabaena cylindrical</i>	43-56	25-30	4-7	-

Sumber : Becker, 1994

Lemak merupakan unsur terbanyak ketiga yang terdapat di dalam organisme hidup. Lemak terdapat pula pada sel-sel organ vegetatif tumbuhan di dalam protoplasma. Lemak adalah salah satu bentuk lipid yang merupakan bentuk simpanan dari karbon, hidrogen, dan oksigen. Perbedaan komposisi lipid pada alga seringkali kali

memperlihatkan sebagai hasil dari variasi pada lingkungan atau kondisi media biakan.

2.1.2 Manfaat Mikroalga Dalam Kehidupan

Dewasa ini mikroalga telah banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan manusia antara lain:

1. Bidang Perikanan

Mikroalga digunakan sebagai makanan larva ikan, yang dilakukan melalui isolasi untuk mendapatkan satu spesies tertentu, misalnya *Skeletonema*. Pada usaha pembibitan ikan, mikroalga dibudidayakan dalam bak-bak terkontrol untuk keperluan makanan larva ikan.

2. Industri Farmasi dan Makanan Suplemen

Mikroalga mempunyai kandungan nutrisi yang tinggi dan digunakan sebagai makanan suplemen bagi penderita gangguan pencernaan dan yang membutuhkan energi tinggi. Salah satu contoh produk yang beredar di pasaran adalah *Chlorella*.

3. Pengolahan Limbah Logam Berat

Dalam pengolahan limbah logam berat, mikroalga dapat digunakan untuk mengikat logam dari badan air dan mengendapkannya pada dasar kolam sehingga logam dalam air menjadi berkurang.

4. Sumber Energi Alternatif Biodiesel

Biomassa mikroalga selain mengandung protein, karbohidrat dan vitamin juga mengandung minyak. Beberapa jenis mikroalga tertentu memiliki kandungan minyak yang komposisinya mirip seperti tanaman darat dengan jumlah yang lebih tinggi dibanding dengan kandungan minyak pada kelapa, jarak dan sawit. Mikroalga seperti *Botryococcus braunii*, *Dunaliella salina*, *Chlorella vulgaris*, *Monalanthus sauna* mempunyai kandungan minyak berkisar 40 - 85%, sementara untuk kelapa hanya mengandung minyak sekitar 40 - 55%, jarak mempunyai kandungan minyak 43 - 58% , dan untuk sawit berkisar 45 - 70%. (Borowitzka, 1998). Budidaya dan pemanfaatan mikroalga untuk tujuan

komersial telah berkembang dengan pesat dan seiring dengan munculnya krisis energi yang diakibatkan oleh mahalnya bahan bakar fosil, maka penelitian untuk menggunakan mikroalga sebagai sumber energi alternatif, intensif dilakukan para peneliti mulai awal tahun 1980an.

2.2. LIPID

Lipid merupakan komponen jaringan yang heterogen yang meliputi sejumlah senyawa yang terdapat di alam dimana semuanya dapat larut dalam pelarut-pelarut organik tetapi sukar larut atau tidak larut dalam air. Pelarut organik yang dimaksud adalah pelarut organik nonpolar, seperti benzen, pentana, dietil eter, dan karbon tetraklorida. Dengan pelarut-pelarut tersebut lipid dapat diekstraksi dari sel dan jaringan tumbuhan ataupun hewan. Sedangkan komponen-komponen campuran lipid dapat difraksionasi lebih lanjut dengan menggunakan perbedaan kelarutannya dalam berbagai pelarut organik. Sebagai contoh *fosfolipid* dapat dipisahkan dari sterol dan lemak netral berdasarkan ketidaklarutannya dalam aseton. Lipid mengacu pada golongan senyawa hidrokarbon alifatik nonpolar dan hidrofobik. Karena nonpolar, lipid tidak larut dalam pelarut polar seperti air, tetapi larut dalam pelarut nonpolar, seperti alkohol, eter atau kloroform. Fungsi biologis terpenting dari lipid diantaranya untuk menyimpan energi, sebagai komponen struktural membran sel, dan sebagai pensinyalan molekuler.

Lipid bersifat amfifilik, artinya lipid mampu membentuk struktur seperti vesikel, liposom, atau membran lain dalam lingkungan basah. Lipid biologis seluruhnya atau sebagiannya berasal dari dua jenis subsatuan atau blok bangunan biokimia : gugus ketoasil dan gugus isoprena. Dengan menggunakan pendekatan ini, lipid dapat dibagi ke dalam delapan kategori: asam lemak, *gliserolipid*, *gliserofosfolipid*, *sfolingolipid*, *sakarolipid*, dan *poliketida* (diturunkan dari kondensasi subsatuan ketoasil) ; serta lipid sterol dan lipid prenol (diturunkan dari kondensasi subsatuan isoprena). Suatu

molekul dikategorikan dalam lipid apabila mempunyai kelarutan yg rendah di dalam air, larut dalam pelarut organik (eter, kloroform), dan terdiri dari C, H, O.

Meskipun istilah lipid terkadang digunakan sebagai sinonim dari lemak, lipid juga meliputi molekul-molekul seperti asam lemak dan turunan-turunannya (termasuk tri-, di-) dan *monogliserida* dan *fosfolipid*, juga metabolit yang mengandung *sterol*, seperti kolesterol. Meskipun manusia dan mamalia memiliki metabolisme untuk memecah dan membentuk lipid, beberapa lipid tidak dapat dihasilkan melalui cara ini dan harus diperoleh melalui makanan.

2.2.1 Klasifikasi Lipid

Lipid diklasifikasikan berdasarkan struktur dan fungsinya. Berdasarkan strukturnya, lipid dibagi 2 menjadi:

1. Lipid dengan rantai hidrokarbon yang terbuka (*asam lemak, TAG, spingolipid, fosfoasilgliserol, dan glikolipid*)
2. Lipid dengan rantai hidrokarbon siklis (*steroid*)

Sementara berdasarkan fungsinya, lipid dibagi menjadi :

1. Lipid simpanan (*storage lipid*)
2. Lipid struktural (penyusun membran)
3. Lipid fungsional (sebagai kofaktor, pigmen)

Berikut merupakan jenis-jenis asam lemak yang terdapat pada hewan dan tumbuhan-tumbuhan.

Tabel 2.2 Jenis - jenis asam lemak

NAMA SISTEMATIK	NAMA TRIVIAL	SINGKATAN
Asam lemak jenuh		
Ethanoic	Acetic	2:00
Butanoic	Butyric	4:00
Hexanoic	Caproic	6:00
Octanoic	Caprylic	8:00
Decanoic	Capric	10:00
Dodecanoic	Lauric	12:00
Tetradecanoic	Myristic	14:00
Hexadecanoic	Palmitic	16:00
Octadecanoic	Stearic	18:00
Eicosanoic	Arachidic	21:00
Docosanoic	Behenic	22:00
Asam Lemak Monoenoic		
cis-9-hexadecenoic	Palmitoleic	16:1 (n-7)
cis-6-octadecenoic	petroselinic	18:1 (n-12)
cis-9-octadecenoic	Oleic	18:1 (n-9)
cis-11-octadecenoic	cis-vaccenic	18:1 (n-7)
cis-13-docosenoic	Erucic	22:1 (n-9)
cis-15-tetracosenoic	Nervonic	24:1 (n-9)
Asam Lemak Poli-takjenuh		
9,12-octadecadienoic	Linoleic	18:2 (n-6)
6,9,12-octadecatrienoic	γ -linolenic	18:3 (n-6)
9,12,15-octadecatrienoic	α -linolenic	18:3 (n-3)
5,8,11,14-eicosatetraenoic	arachidonic	20:4 (n-6)
5,8,11,14,17-eicosapentaenoic	EPA	20:5 (n-3)
4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic	DHA	22:6(n-3)

Sumber: The AOCs Lipid Library
<http://lipidlibrary.aocs.org/Lipids/whatlip/index.htm>

Penelitian terhadap ratusan mikroalga yang dapat memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi dan metabolisme produksi lipid sudah dilakukan dan dikarakterisasi (Christi, 2007). Kebanyakan adalah mikroalga laut. Dalam bukunya, Davis (1951)

melaporkan bahwa pertumbuhan mikroalga heterotropik, rata-rata dapat menghasilkan 55% kandungan lipid.

2.3 POLYUNSATURATED FATTY ACID (PUFAs)

Lemak mikroalga pada umumnya terdiri dari asam lemak tidak jenuh, seperti linoleat, *eicosapentaenoic acid* (EPA) dan *docosahexaenoic acid* (DHA). Mikroalga mengandung lemak dalam jumlah yang besar terutama asam *arachidonat* (AA, 20:4 ω 6) yang mencapai 36% dari total asam lemak dan sejumlah asam *eikosapentaenoat* (EPA, 20:5 ω 3) (Fuentes, et al., 2000). Selain itu, lemak mikroalga juga kaya akan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) dengan 4 atau lebih ikatan rangkap. Sebagai contoh, yang sering dijumpai yaitu *eicosapentaenoic acid* (EPA, C20:5) dan *docosahexaenoic acid* (DHA, C22:6) (Chisti, 2007). Biomassa mikroalga adalah sumber yang kaya akan beberapa nutrien, seperti asam lemak ω 3 dan ω 6, asam amino esensial (leusin, isoleusin, valin, dan lain-lain) serta karoten (Becker, 1994). Beberapa mikroalga menyajikan spektrum asam lemak yang lebih besar, ketika dibandingkan dengan tanaman yang mengandung minyak, selain itu juga mengandung struktur molekul dengan lebih dari 18 atom karbon (Becker, 1994).

Sekarang ini, perhatian telah difokuskan pada omega-3 PUFA, terutama asam *eicosapentaenoic* (EPA) dan asam *docosahexaenoic* (DHA), karena manfaatnya terhadap pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit seperti, aterosklerosis, trombosis, artritis, kanker, dan lainnya. Sumber konvensional dari EPA dan DHA adalah minyak ikan laut, namun untuk jumlah yang lebih besar, sebagian EPA dapat diperoleh dari mikroalga.

Polyunsaturated fatty acid atau yang biasa disebut asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) adalah komponen penting dari eukariota yang lebih tinggi. Salah satu contohnya adalah minyak sel tunggal (SCO) yang sekarang ini telah diterima secara luas di pasaran dan menyebabkan tumbuhnya kesadaran akan manfaat kesehatan dari PUFA, seperti *g-linolenat* (GLA), asam *arakidonat* (ARA), asam *docosahexaenoic*

(DHA) dan asam *eicosapentaenoic* (EPA). Alga merupakan sumber kaya DHA dan EPA dan merupakan sumber yang baik dari PUFA. Berapa aplikasi dan sumber dari PUFA tertera di dalam Tabel 2.3 berikut.

Tabel 2.3 Aplikasi dan sumber dari produk PUFA

Produk	PUFA	Tumbuhan	Ikan	Mikroorganisme	Keterangan
Formula untuk bayi, masanya/sebelum masanya	DHA, ARA			+	EPA rendah
Formula untuk bayi, pada masanya	GLA	+			
Formula ibu hamil	DHA			+	EPA rendah
Suplemen diet untuk orang dewasa	DHA, EPA		+		
	DHA			+	Schizochytrium
Suplemen makanan, keju, yoghurt, sereal	DHA			+	Schizochytrium
Telur	DHA	+			Dari rami
Mariculture	DHA, EPA		+		
Pelopor produk farmasi	ARA			+	Mortierella
Kesehatan jantung	DHA, EPA		+		
	DHA			+	
Atherosclerosis, hyperlipemia	EPA		+		Ethyl ester di Jepang
Atopic eczema, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, schizophrenia, ketegangan premenstruasi	GLA	+			
Schizophrenia, kanker	EPA		+		

Sumber : Owen P. Ward, 2005

Beberapa sumber lain, selain dari minyak ikan untuk memperoleh PUFA telah dikembangkan dan dapat dilihat dalam Tabel 2.4 di bawah.

Tabel 2.4 Sumber PUFA selain dari minyak ikan

Bahan Baku	Teknologi	Produk
Ganggang laut merah subtropikal (<i>H. charoides</i>)	Ekstraksi SC-CO ₂	Ekstrak Lipid
Diatom (<i>P. tricornutum</i>)	Ekstraksi-transesterifikasi	
	Kromatografi	
Alga hijau (<i>M. subterraneous</i>)	Decolourization	Pure EPA-EE
Alga merah berfilamen	Ekstraksi SC-CO ₂	Ekstrak Lipid kaya EPA
Mikroalga	Ekstraksi SC-CO ₂	Ekstrak Lipid
	Ekstraksi SC-CO ₂ + etanol	
Mikroalga (<i>Nannochloropsis</i> sp.)	Ekstraksi SC-CO ₂	Ekstrak Lipid
Cyanobacterium (<i>A. Spirulina maxima</i>)	Ekstraksi SC-CO ₂ + etanol	Ekstrak Lipid

Sumber : Nuria Rubio – Rodriquez, 2009

2.4 FAKTOR – FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PRODUKSI LIPID PADA ALGA

Produksi lipid dipengaruhi secara kualitatif dan kuantitatif oleh beberapa kondisi lingkungan. Menurut Bajpai (1993), parameter seperti unsur hara atau komposisi media, intensitas cahaya, suhu, salinitas dan pH, aerasi, waktu inkubasi, dan umur kultur berperan penting dalam biosintesis dan akumulasi lipid.

2.4.1 Unsur Hara

Media pertumbuhan alga dapat diklasifikasikan ke dalam 2 kelompok, yaitu makronutrisi dan mikronutrisi. Makronutrisi adalah senyawa yang dibutuhkan dalam jumlah besar untuk pertumbuhan sel alga dan kapang yaitu C, H, O, N, P, K, dan Mg.

Unsur mikronutrisi terdiri dari Fe, Mn, Zn, Cu, Ca, dan Na, yang mana unsur tersebut berfungsi sebagai katalis selama proses biosintesis sel (Kabinawa et al, 1994). Unsur mikronutrisi dibutuhkan dalam jumlah sangat kecil tetapi harus ada dan untuk menstabilkan fungsi mikronutrisi biasanya ditambahkan senyawa sitrat (Kabinawa et al, 1994). Walaupun unsur mikronutrisi dibutuhkan dalam jumlah yang sangat kecil, namun unsur-unsur tersebut harus tetap ada dalam medium. Unsur hara anorganik utama yang dibutuhkan mikroalga untuk tumbuh dan memproduksi adalah N dan P.

- **Nitrogen**

Nitrogen merupakan unsur penting bagi pertumbuhan alga pada fasa vegetatif. Saat fasa ini terjadi 3 proses penting yaitu pembelahan sel, pemanjangan sel dan tahap diferensiasi sel. Cornisi dan Karidys (1990) menyatakan bahwa nitrogen merupakan bagian penting dari protein, protoplasma, klorofil, dan asam nukleat. Vegetasi tingkat rendah maupun tingkat tinggi menyerap N dalam bentuk ammonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-).

Organisme berklorofil yang kekurangan nitrogen akan berubah warna selnya menjadi kekuningan karena adanya penghambatan sintesis klorofil. Pemupukan nitrogen yang berlebihan akan mengakibatkan pertumbuhan vegetatif yang berlebihan. Kekurangan N juga akan membatasi pertumbuhan karena tidak ada pembentukan protoplasma baru.

- **Fosfor**

Fosfor (P) merupakan salah satu unsur makro primer yang dibutuhkan oleh alga. Kekurangan unsur P dapat diamati dari adanya gejala tertundanya pematangan sel. Menurut Bold dan Wynne (1985), fosfor merupakan salah satu unsur yang berperan dalam proses penyusunan karbohidrat dan senyawa kaya nitrogen. Gula terfosforilasi yang kaya energi muncul dalam proses fotosintesis. Fosforilasi adenosine menghasilkan adenosine monofosfat, difosfat, trifosfat (AMP, ADP, dan ATP) dimana tanaman menyimpan energinya untuk kelangsungan proses kimia lainnya. Fosfor juga berpengaruh baik pada proses pembelahan sel dan pembentukan lemak pada organisme.

2.4.2 Intensitas Cahaya

Cahaya adalah sumber energi dalam proses fotosintesis. Alga adalah organisme photoautotropik atau phototropik. Cahaya menjadi faktor pembatas fotosintesis pada intensitas yang rendah. Pada keadaan ini laju dari keseluruhan fotosintesis ditentukan oleh laju suplai energi cahaya.

2.4.3 Suhu

Suhu mempengaruhi proses-proses fisika, kimia, biologi yang berlangsung di dalam sel. Penelitian pengaruh suhu pertumbuhan terhadap kandungan lipid pada mikroalga telah banyak dilakukan dan dilaporkan. Umumnya, peningkatan suhu pertumbuhan dari kisaran optimumnya akan seiring dengan peningkatan produksi lipid pada alga (Shaw, 1996).

Setiap mikroalga membutuhkan suhu tertentu untuk pertumbuhan maksimumnya yang mempengaruhi produksi lipid yang dihasilkan. Welch (1980), menyatakan bahwa alga diatom akan mendominasi perairan pada saat suhu rendah dan intensitas cahaya tinggi. *Chlorohyta* melimpah pada kondisi suhu tinggi dan intensitas cahaya tinggi, sedangkan *Cyanophyta* akan mendominasi perairan apabila suhu tinggi dan intensitas cahaya rendah.

2.4.4 Salinitas dan pH

Salinitas dan pH merupakan parameter oseanografi yang penting. Salinitas adalah salah satu faktor yang berpengaruh terhadap organisme air (khususnya mikroalga) dalam mempertahankan tekanan osmotik dalam protoplasma dengan air sebagai lingkungan hidupnya. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), alga *Phaeodactylum* sp. bertoleransi terhadap kadar garam 20 – 70‰ dan mengalami pertumbuhan optimal pada kisaran salinitas 35‰. *Chaetoceros* sp. Memiliki kisaran salinitas sangat tinggi yaitu 6-50‰, dengan kisaran salinitas 17-25‰ sebagai salinitas optimum untuk pertumbuhannya. Sedangkan pada *Skletonema costatum* salinitas yang optimum untuk pembentukan aukspora adalah 20-35‰. Menurut Takagi (2005),

penambahan 0,5 M NaCl selama kultivasi mikroalga laut *Dunaliella* memberikan peningkatan pertumbuhan dan kandungan lipid.

Alga pada umumnya dapat hidup dengan baik pada pH netral (pH 7). Colman dan Gehl (1983), menyatakan bahwa aktivitas fotosintesis akan turun maximum 33% ketika pH turun pada 5,0. Perairan yang berkondisi asam yaitu dengan pH kurang dari 6,0 dapat menyebabkan alga tidak dapat hidup dengan baik. Sama halnya dengan alga, pH pertumbuhan yang optimum bagi kapang berkisar antara 6-7. Inkubasi pada pH 3,0 menyebabkan penurunan laju pertumbuhan *Mortierella isabellina*, akan tetapi kandungan lipid nya dapat menjadi dua kali lipat dibanding dengan pH 6,0 setelah inkubasi 120 jam. Produksi miselium dan akumulasi lipid tertinggi dapat dicapai bila pH dikontrol pada pH 3,0 (Nakahara, 1992). Menurut Bajpai (1993), nilai pH terbaik untuk produksi lipid bervariasi sesuai dengan spesies kapang, tetapi kandungan lipid hampir tidak berubah antara pH 5,9 – 7,5.

Perairan dengan nilai pH lebih kecil dari 4 merupakan perairan yang sangat asam dan dapat menyebabkan kematian organisme air, sedangkan pH lebih dari 9,5 merupakan perairan yang sangat basa dan dapat mengurangi produktivitas organisme air. Air yang bersifat basa dan netral menjadikan organisme yang hidup di dalamnya lebih produktif untuk tumbuh dan berkembang dibandingkan dengan air yang bersifat asam.

2.4.5 Aerasi

Mikroorganisme memerlukan oksigen molekuler untuk mekanisme desaturasi dan jalur-jalur biosintetik PUFA. Jadi ketersediaan oksigen menentukan derajat asam-asam lemak tidak jenuh yang diproduksi (Bajpai, 1993).

2.5 OPTIMASI METODE PERMUKAAN RESPON

Pengkajian pada suatu proses atau sistem sering kali terfokus pada hubungan antara respon dan variabel bebas nya (input). Tujuannya adalah untuk mengoptimalkan respon atau untuk memahami inti dari proses itu sendiri. Metode respon permukaan yang dikemukakan oleh Box dan Wilson pada tahun 1950, merupakan salah satu alat yang efektif untuk mengkaji hubungan antara respon dan variabel bebas tersebut (Kleijnen, 2008).

Metode Permukaan Respon (*Response Surface Methode / RSM*) adalah suatu kumpulan dari teknik-teknik statistika dan matematika teknik yang berguna untuk menganalisis permasalahan tentang beberapa variabel bebas yang mempengaruhi variabel tak bebas atau respon dapat dipergunakan oleh peneliti untuk : mencari suatu fungsi pendekatan yang cocok untuk meramalkan respon yang akan datang, serta menentukan nilai-nilai dari variabel bebas yang mengoptimalkan respon yang dipelajari (Gaspersz, 1992).

Menurut Gaspersz (1992), langkah pertama dari metode permukaan respon adalah mencari atau menentukan suatu pendekatan yang cocok untuk menggambarkan hubungan fungsional yang tepat diantara respon Y dan sekumpulan variabel bebas yang dispesifikasikan. Pada tahap awal, dirumuskan model regresi polinomial dengan ordo pertama seperti persamaan 2.1.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \varepsilon \dots\dots\dots (2.1)$$

ket :

Y = respon

β_0 = koefisien konstanta

β_i = koefisien faktor

x_i = faktor, $i = 1,2,3,\dots$

ε = error

Jika terdapat lengkungan (*curvature*) dalam sistem, maka digunakan model polinomial dengan derajat yang lebih tinggi. Model yang lebih tinggi dari orde pertama dapat dirumuskan oleh model polinomial orde kedua, seperti berikut :

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \dots\dots\dots (2.2)$$

ket

Y = respon

β_0 = koefisien konstanta

β_i = koefisien faktor

β_{ii} = koefisien faktor kuadrat

β_{ij} = koefisien perkalian faktor

x_i = faktor, $i = 1, 2, 3, \dots, k$

x_j = faktor, $j = 2, 3, \dots, k$

ε = *error*

Model diatas dapat ditingkatkan ordenya menjadi model orde tiga (kubik). Pemilihan orde pertama (linear), orde kedua (kuadrat) atau orde ketiga (kubik), tergantung dari sebaran data pada respon, sehingga didapat model prediksi yang paling mendekati kenyataan.

2.5.1 Eksperimen Orde I

Dalam Metode Permukaan Respon, dibutuhkan pencarian titik optimum yang berulang-ulang pada desain yang digunakan untuk perpindahan dari eksperimen orde I menuju eksperimen orde II. Pencarian tersebut dilakukan jika pada eksperimen orde I terdapat efek lengkungan, selanjutnya digantikan oleh eksperimen orde II (Jeff Wu, 2000). Salah satu metode untuk melakukan pencarian titik optimum agar mendekati kenyataan, yaitu Metode Lintas Pendakian Tercuram atau yang lebih dikenal dengan *Method of Steepest Ascent*. Sebelumnya, terlebih dahulu dilakukan uji kelengkungan

$$H_0 : \sum_{j=1}^k \beta_{jj} = 0 \dots\dots\dots (2.4)$$

$$H_1 : \sum_{j=1}^k \beta_{jj} \neq 0 \dots\dots\dots (2.5)$$

Apabila H_0 diterima, dapat disimpulkan tidak terdapat lengkungan kuadrat pada eksperimen sehingga uji kelengkungan tidak signifikan. Hal ini berarti eksperimen orde I dapat dilanjutkan dengan metode *Steepest Ascent*.

- **Metode *Steepest Ascent***

Apabila kondisi optimum dari suatu eksperimen adalah nilai maksimum respon maka metode ini disebut metode *Steepest Ascent*. Sebaliknya, apabila kondisi optimum yang diinginkan adalah nilai minimum respon maka metode ini disebut metode *Steepest Descent*.

Menurut Sudjana (2002), dasar kerja dari metode *Steepest Ascent* adalah melakukan sebuah eksperimen sederhana pada bagian permukaan respon yang luasnya sempit, untuk praktisnya bisa dianggap bidang. Selanjutnya menentukan persamaan bidang kemudian eksperimen harus diambil sedemikian rupa agar bergerak ke arah optimum atau sekitar optimum pada permukaan respon. Diharapkan eksperimen berikutnya bergerak ke arah mendaki paling cepat menuju titik optimum atau sekitar optimum pada permukaan respon. Teknik ini tidak menentukan berapa jauh eksperimen berikutnya dilakukan dari eksperimen awal, namun cukup mengatakan kepada pelaksana arah mana eksperimen berikutnya harus dilaksanakan.

Efek linier β_i pada model regresi orde I (Persamaan 2.1) dapat diestimasi dengan metode kuadrat terkecil sehingga meminimumkan jumlah kuadrat-kuadrat kekeliruan ε . Model regresi yang telah diestimasi dinyatakan dengan

$$\hat{y} = \hat{\beta}_0 + \sum_{i=1}^k \hat{\beta}_i x_i \dots\dots\dots (2.6)$$

ket :

\hat{y} = respon untuk *Steepest Ascent*

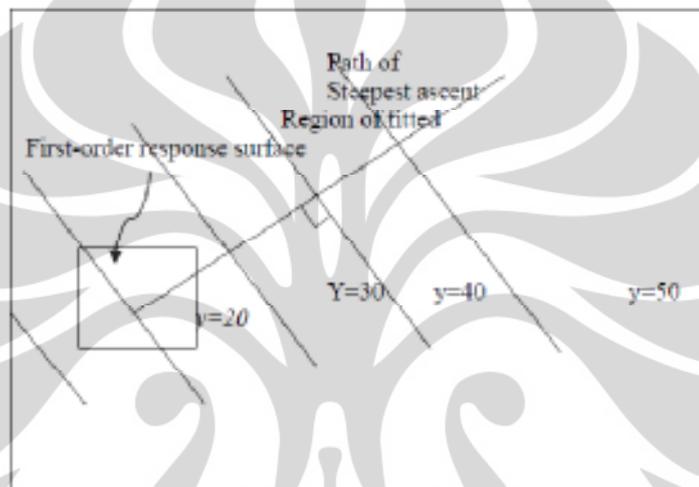
$\hat{\beta}_0$ = koefisien konstanta

$\hat{\beta}_i$ = koefisien faktor

\hat{x}_i = faktor, $i = 1, 2, 3, \dots$

ε = error

dan permukaan respon orde I, yaitu peta kontur \hat{y} yang adalah rangkaian garis sejajar seperti yang dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Permukaan respon Orde I dan Jalur *Steepest Ascent*

Arah dari *Steepest Ascent* adalah arah yang mana \hat{y} naik secara cepat. Arah ini sejajar dengan garis normal pada kontur yang dinamakan jalur *Steepest Ascent* (*path of Steepest Ascent*), dan garis normal ini memberikan arah untuk melakukan eksperimen berikutnya.

Eksperimen dilakukan sepanjang jalur *Steepest Ascent* sampai tidak lagi kenaikan yang lebih jauh pada nilai respon yang diobservasi. Jika model orde I yang baru dianggap cocok, selanjutnya jalur *Steepest Ascent* yang baru ditentukan, maka prosedur dilanjutkan ke prosedur berikutnya. Hasilnya eksperimen tersebut akan sampai pada daerah sekitar optimum.

Dengan mengasumsikan titik $x_1 = x_2 = \dots = x_k = 0$ adalah titik asal, algoritma dalam menentukan koordinat titik pada jalur *Steepest Ascent* adalah :

1. Pilih suatu ukuran dari salah satu variabel proses, katakan Δx_j . Variabel yang dipilih adalah variabel yang memiliki koefisien mutlak regresi terbesar $|\hat{\beta}_j|$.
2. Ukuran langkah dari salah satu variabel proses yang lainnya adalah

$$\Delta x_i = \frac{\hat{\beta}_i}{\hat{\beta}_j / \Delta x_j} \quad i = 1, 2, \dots, k; \quad i \neq j \dots \dots \dots (2.7)$$

3. Ubah Δx_j dari variabel kode menjadi variabel aktual

2.5.2 Eksperimen Orde II

Ketika eksperimen orde I telah menunjukkan tidak cukup cocok pada daerah eksperimen baru, pendekatan model regresi orde II (Persamaan 2.2) mulai dipakai. Dengan menggunakan metode kuadrat terkecil, model orde II yang telah diestimasi adalah sesuai dengan persamaan 2.2.

• Desain untuk Mengestimasi Model Orde II

Eksperimen yang baru akan didesain segera setelah wilayah sekitar optimum respon dari model orde I diketahui. Pada eksperimen yang baru, digunakan model regresi orde II untuk mengetahui adanya lengkungan kuadrat pada permukaan respon (Kuehl, 2000).

Untuk mengestimasi model permukaan respon orde II, biasanya digunakan *Central Composite Design* (CCD). Sebagai pemisalan, k buah variabel input dalam bentuk kode ditunjukkan dengan $x = (x_1, \dots, x_k)$, CCD terdiri dari tiga bagian berikut :

- i. Tidak sudut (*corner points*) n_f dengan $x_i = -1, 1; i = 1, \dots, k$ membentuk bagian faktorial (*faktorial portion*) pada desain.
- ii. Titik pusat (*center points*) n_c dengan $x_i = 0; i = 1, \dots, k$.
- iii. Titik aksial (*axial points*) $2k$ dari bentuk $(0, \dots, x_i, \dots, 0) x_i = \alpha, -\alpha; i = 1, \dots, k$

CCD biasa digunakan pada percobaan berurutan, yaitu desain factorial 2^k telah digunakan untuk mengestimasi model orde I, model ini telah diuji *Lack of Fit*

dan titik aksial ditambahkan agar membuat permukaan kuadrat menjadi berbaur pada model. Selanjutnya terdapat dua parameter pada CCD yang harus diperinci yaitu jarak titik aksial dari titik pusat dinamakan α dan jumlah titik pusat n_c .

- **Rotatability**

Untuk memperoleh model orde II yang bagus dalam menghasilkan nilai prediksi, model diharuskan memiliki variansi yang stabil dan konsisten yang layak pada titik x . Variansi dari nilai prediksi respon pada titik x adalah

$$V[\hat{y}(x)] = \sigma^2 x^T (X^T X)^{-1} x \dots \dots \dots (2.8)$$

ket :

$V[\hat{y}(x)]$ = variansi pada respon

\hat{y} = respon untuk *Steepest Ascent*

Desain permukaan respon orde II sebaiknya harus *Rotatable*, ini artinya $V[\hat{y}(x)]$ adalah sama pada semua titik x yang jaraknya sama pada desain pusat. Dengan kata lain, variansi pada nilai prediksi respon adalah konstan di lingkaran.

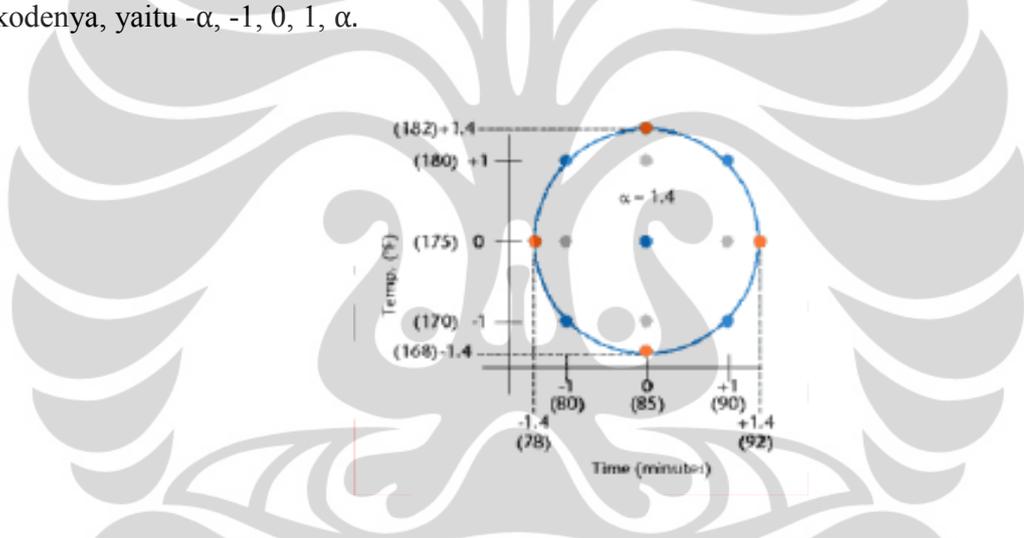
Desain CCD dibuat *rotatable* oleh pemilihan α . Nilai α untuk *rotatability* bergantung dari jumlah titik pada faktorial *portion* dalam design, pada kenyataannya $\alpha = (n_f)^{1/4}$ menghasilkan sebuah *rotatable* CCD dimana n_f adalah jumlah titik yang digunakan pada faktorial *portion*.

Tabel 2.5 di bawah ini menyajikan desain CCD sampai dengan $k=6$ variabel input. Nilai untuk titik aksial didasarkan pada bentuk kode dari level desain faktorial 2^k . Pada tabel tersebut, titik pusat atau n_c , ditulis dengan variabel. Pada umumnya, suatu design harus memuat setidaknya dua atau tiga titik pusat agar terbuat beberapa replikasi untuk mengestimasi eksperimental error pada model.

Tabel 2.5 Central Composite Design

	Jumlah Variabel, k				
	2	3	4	5	6
n_f (untuk 2^k atau 2^{k-p})	4	8	16	32	64
Banyaknya titik aksial = $2k$	4	6	8	10	12
$\alpha = (n_f)^{1/4}$	1.414	1.682	2	2.378	2.828
n_c	n_c	n_c	n_c	n_c	n_c
Total	$8 + n_c$	$14 + n_c$	$24 + n_c$	$42 + n_c$	$76 + n_c$

Gambar 2.2 menyajikan CCD yang *rotatable* untuk 2 variabel misalnya waktu dan temperatur. Desain CCD membutuhkan 5 level dari masing-masing faktor kodenya, yaitu $-\alpha, -1, 0, 1, \alpha$.



Gambar 2.2 Central Composite Design untuk 2 faktor

2.5.3 Lokasi Titik Stasioner

Bentuk matriks dari model orde II yang telah diestimasi adalah

$$\hat{y} = \hat{\beta}_0 + x^T b + x^T B_x \dots\dots\dots (2.9)$$

dimana

$$x = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \\ x_k \end{bmatrix} \quad b = \begin{bmatrix} \hat{\beta}_1 \\ \hat{\beta}_2 \\ \vdots \\ \hat{\beta}_k \end{bmatrix} \quad \text{dan} \quad B = \begin{bmatrix} \hat{\beta}_{11} & \hat{\beta}_{12}/2 & \dots & \hat{\beta}_{1k}/2 \\ \hat{\beta}_{21}/2 & \hat{\beta}_{22} & \dots & \hat{\beta}_{2k}/2 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \hat{\beta}_{k1}/2 & \hat{\beta}_{k2}/2 & \dots & \hat{\beta}_{kk} \end{bmatrix}$$

Titik stasioner merupakan turunan pertama dari \hat{y} terhadap vektor x sama dengan nol

$$\frac{\partial \hat{y}}{\partial x} = b + 2Bx = 0 \dots \dots \dots (2.10)$$

sehingga

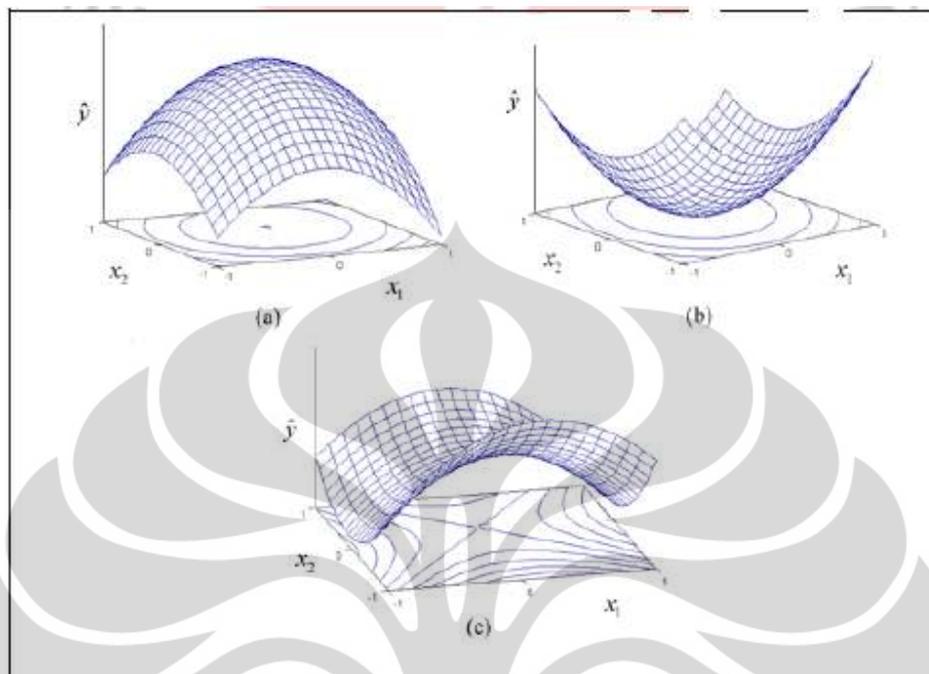
$$x = -\frac{1}{2}B^{-1}b \dots \dots \dots (2.11)$$

disebut titik stasioner dari permukaan kuadrat yang ditunjukkan oleh persamaan 2.2 dan dinotasikan dengan x_s . Titik stationer tersebut memenuhi salah satu dari kemungkinan berikut :

- a. Titik maksimum respon
- b. Titik minimum respon
- c. Titik pelana

Ketiga kondisi di atas dapat dilihat pada Gambar 2.3. Selanjutnya, dengan mensubstitusi persamaan 2.12 ke persamaan 2.2 didapat persamaan respon pada titik stasioner yaitu

$$\hat{y}_s = \hat{\beta}_0 + \frac{1}{2}x_s^T b \dots \dots \dots (2.12)$$



Gambar 2.3 Permukaan Respon untuk a) titik maksimum, b) titik minimum, c) titik pelana

2.6 STATE of THE ART

Perkembangan penelitian lipid khususnya yang dihasilkan oleh mikroorganisme telah banyak dilakukan dan beberapa organisme lainnya sudah cukup dikembangkan. Beberapa penelitian yang melibatkan mikroorganisme yaitu dilakukan untuk mengamati kandungan asam lemak yang meliputi asam lemak jenuh (*saturated fatty acid*), asam lemak tak jenuh tunggal (*monounsaturated fatty acid*), dan asam lemak tak jenuh majemuk (*polyunsaturated fatty acids*) atau PUFAs, namun dalam beberapa penelitian kandungan lipid terhadap biomass masih cukup kecil, sehingga mulai dilakukan optimasi untuk meningkatkan perolehan lipid.

Proses-proses optimisasi untuk memproduksi lipid dengan melibatkan mikroorganisme eukaryotik telah dikembangkan, mulai dari melakukan pengoptimalisasian untuk mendapatkan asam lemak yang diinginkan berdasarkan sumber-sumber karbonnya, sumber-sumber nitrogen dan fosfatnya kemudian

dilakukan *scale up* untuk mendapatkan kuantitas yang banyak. Sebagai strategi untuk meningkatkan produksi lipid, penelitian dimulai dengan melakukan optimisasi terhadap proses kultivasi dengan memvariasikan media pertumbuhan yang digunakan, diantaranya media yang mengandung glukosa sebagai sumber karbon, dan ekstrak *yeast* sebagai sumber nitrogen, dalam lingkungan yang mengandung garam (Swaaf et al., 1999), dan didapatkan hasil bahwa mikroorganisme mampu memberikan kandungan lipid yang paling tinggi yaitu 13,7% pada konsentrasi glukosa sebesar 84 g/l. Optimisasi terhadap sumber nitrogen yang dilakukan oleh Zhi-YouWen & Feng Chen (2001) menunjukkan bahwa mikroorganisme mampu menghasilkan perolehan lipid tertinggi yaitu 2,74 % pada konsentrasi nitrogen 1,6 g/l. Selain itu optimisasi terhadap sumber fosfor juga telah dilakukan oleh Feng Chen (2003) dan diperoleh kandungan lipid tertinggi yaitu 6,48% pada konsentrasi fosfor 1,8 g/l. Dengan mengacu dari beberapa penelitian tersebut, maka dalam penelitian ini akan dilakukan optimisasi terhadap sumber nitrogen dan fosfat untuk memperoleh kandungan lipid yang maksimum.

Tabel 2.6 *State of The Art*

Optimasi media pertumbuhan	Sumber karbon	Swaaf et al., 1999	
	Sumber nitrogen		
	Sumber nitrogen	Zhi YouWen & Fen Chen, 2001	Penelitian yang akan dilakukan
	Sumber Fosfor	Fen Chen, 2003	
Mikroorganisme eukaryotik			

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 TAHAPAN PENELITIAN

Langkah yang diambil dalam penelitian ini diawali dengan studi literatur mengenai mikroalga dan metode permukaan respon (RSM), kemudian pengumpulan dan pemilihan data sekunder. Langkah selanjutnya adalah pengolahan data yang dimulai dengan membuat desain rancangan eksperimen dengan menggunakan metode permukaan respon, dilakukan pengujian secara statistik, dan yang selanjutnya dilakukan optimasi.

3.2 DIAGRAM ALIR PENELITIAN

Kebanyakan dalam masalah metode permukaan respon (RSM), eksperimen dilakukan dalam dua tahap yaitu eksperimen orde I dan eksperimen orde II. Pada umumnya eksperimen orde I merupakan tahap penyaringan faktor yang memiliki pengaruh paling nyata terhadap respon (*screening*), sedangkan orde II merupakan tahap optimasi (Montgomery, 2001).

Pada tahap pertama, fungsi permukaan respon dibuat berdasarkan Desain Faktorial, dengan pendekatan model regresi orde I yaitu

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \varepsilon \dots\dots\dots (3.1)$$

ket :

Y = respon

β_0 = koefisien konstanta

β_i = koefisien faktor

x_i = faktor, $i = 1, 2, 3, \dots$

ε = *error*

Setelah mendapatkan daerah yang menuju optimum atau model orde I tidak sesuai, maka tahap kedua dilakukan melalui pendekatan polinomial dengan derajat yang lebih tinggi, misalnya model regresi orde II yaitu

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \dots\dots\dots (3.2)$$

ket

Y = respon

β_0 = koefisien konstanta

β_i = koefisien faktor

β_{ii} = koefisien faktor kuadrat

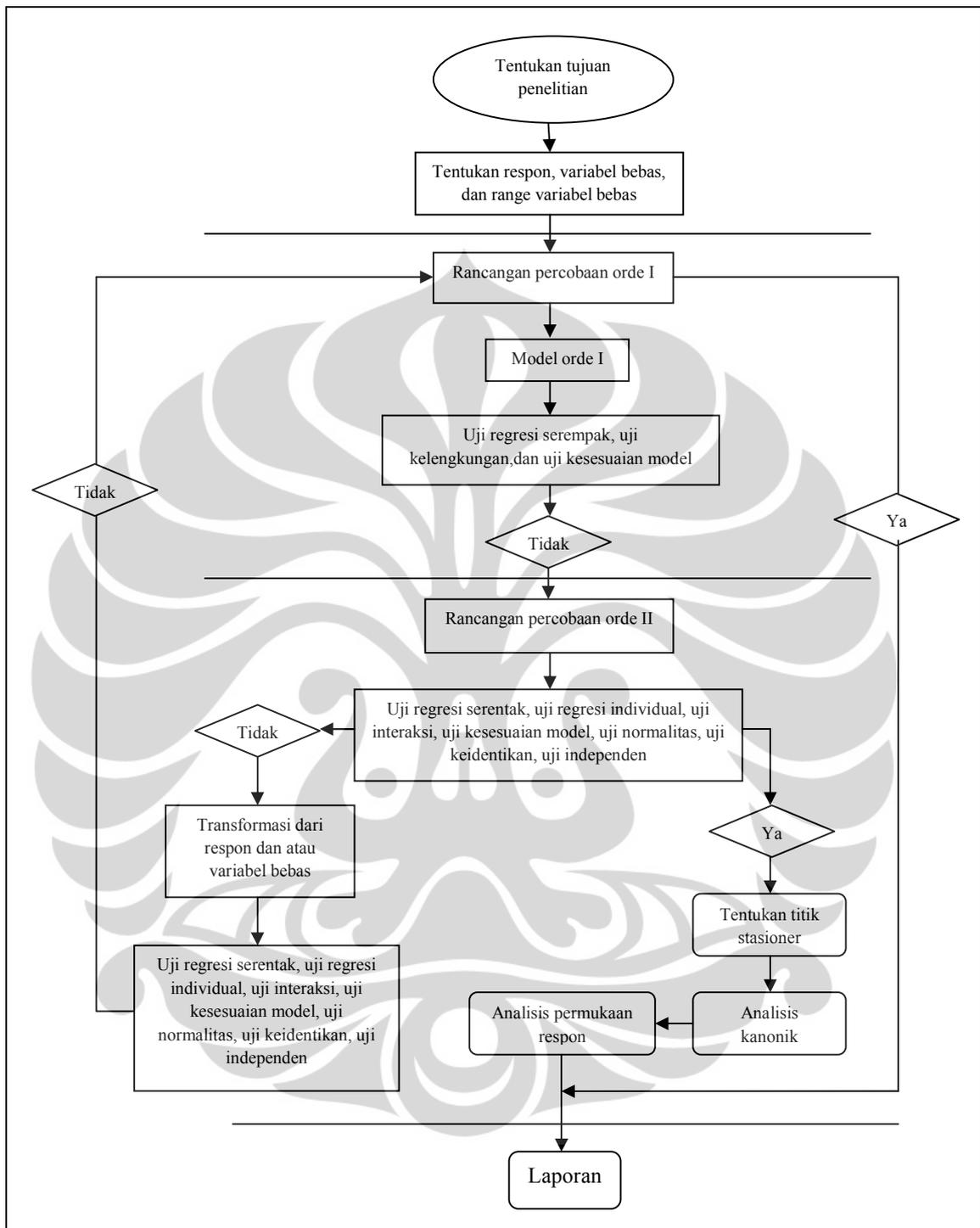
β_{ij} = koefisien perkalian faktor

x_i = faktor, $i = 1, 2, 3, \dots, k$

x_j = faktor, $j = 2, 3, \dots, k$

ε = *error*

Kemudian dari orde II ditentukan titik stationer, karakteristik permukaan respon dan model optimasinya. Diagram alir pengolahan data menggunakan metode permukaan respon ditunjukkan dalam Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram Alir Analisis Pengolahan Data dengan Metode Permukaan Respon

3.2.1 Penentuan Tujuan Penelitian dan Variabel Bebas dan Respon

Seperti yang telah disampaikan dalam Bab I bahwa tujuan dari penelitian ini secara umum untuk mempelajari seberapa jauh suatu proses yang optimum dipengaruhi oleh sejumlah variabel menggunakan metode permukaan respon. Variabel yang akan digunakan yaitu variabel respon yang berupa keterangan tentang kandungan Total Lipid dari mikroalga *Chlamydomonas sp*, *Chlorococcum sp*, dan *Chroococcus sp* dan variabel bebas yang merupakan faktor yang mempengaruhi produksi lipid mikroalga, yaitu kerapatan sel (X1), komposisi Nitrogen (X2), dan komposisi fosfor (X3).

3.3 OPTIMASI KANDUNGAN TOTAL LIPID pada *CHLAMYDOMONAS SP*, *CHLOROCOCCUM SP*, dan *CHROOCOCCUS SP*

Optimasi akan dilakukan dengan membuat rancangan percobaan orde I, yaitu dengan menggunakan desain faktorial dengan jumlah pengamatan $N = 2^3 + 6$ (*center point*). Level dalam orde I ada 2 (2^k), yaitu level rendah yang akan dikodekan dengan -1 dan level tinggi yang dikodekan dengan 1 ditambah dengan 6 buah titik pusat yang dikodekan dengan 0.

3.3.1 Eksperimen Orde I

Dalam Metode Permukaan Respon, dibutuhkan pencarian titik optimum yang berulang-ulang pada desain yang digunakan untuk perpindahan dari eksperimen orde I menuju eksperimen orde II. Pencarian tersebut dilakukan jika pada eksperimen orde I terdapat efek lengkungan, selanjutnya digantikan oleh eksperimen orde II. Sebelumnya, terlebih dahulu dilakukan uji kelengkungan atau *Curvature Check* untuk mengetahui kapan waktu mengganti eksperimen orde I ke orde II. Setelah rancangan orde I dibuat kemudian akan dimasukkan ke dalam *software* minitab 16 untuk dilakukan perhitungan dan akan dilakukan uji secara statistik terhadap model rancangan tersebut. Pemodelan orde I dalam *software* minitab 16 menggunakan model linier.

- **Uji ANOVA**

Uji ANOVA dilakukan terhadap uji regresi secara serempak, uji *lack of fit*, dan uji *curvature* untuk menentukan apakah model orde I atau model regresi linier sesuai atau terdapat kelengkungan. Sebelum dilakukan uji ANOVA, terlebih dahulu ditentukan derajat signifikansi atau *confidence level* (α) yang akan digunakan. Dalam penelitian ini akan digunakan $\alpha = 0,05$.

Nilai *p-value* untuk uji regresi yang menyatakan pengaruh nyata antara faktor (variabel bebas) dengan variabel respon harus $< \alpha = 0,05$. Dalam uji regresi ini akan dilihat juga nilai *p-value* pada individu faktor, sehingga dapat diketahui faktor yang mana yang memiliki pengaruh nyata terhadap respon. Apabila model orde I dianggap telah sesuai dengan data dan tidak semua faktor mempunyai pengaruh yang nyata terhadap respon, maka akan dilakukan perbaikan model berdasarkan faktor yang mempunyai pengaruh nyata terhadap respon. Berbeda halnya dengan uji *curvature* atau uji kelengkungan. Untuk menguji lengkungan kuadrat murni (*curvature*) maka nilai *p-value curvature* nya harus $>$ dari $\alpha = 0,05$ sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat kelengkungan atau model linier yang digunakan sesuai. Kemudian uji *lack of fit* akan dilakukan dengan menguji hipotesis :

$H_0 = \text{Tidak ada lack of fit}$

$H_1 : \text{Ada lack of fit}$

Untuk uji ini, daerah penolakannya adalah *p-value* $< \alpha = 0,05$. Apabila H_0 akan ditolak jika *p-value* $< \alpha = 0,05$. Jika H_0 diterima maka dapat disimpulkan bahwa pada eksperimen orde I model yang dibuat telah sesuai dengan data. Hal ini berarti eksperimen orde I dapat dilanjutkan dengan metode *Steepest Ascent*.

Untuk menguji kesesuaian model orde I, ketiga uji yang disebutkan di atas harus dipenuhi, sehingga model orde I dapat dikatakan cukup dan telah sesuai. Jika salah satu dari uji tersebut tidak dipenuhi, maka orde I dinyatakan tidak sesuai dan selanjutnya akan dilakukan rancangan eksperimen untuk orde II.

- **Metode *Steepest Ascent***

Apabila kondisi optimum dari suatu eksperimen adalah nilai maksimum respon maka metode ini disebut metode *Steepest Ascent*. Sebaliknya, apabila kondisi optimum yang diinginkan adalah nilai minimum respon maka metode ini disebut metode *Steepest Descent*.

Menurut Sudjana (2002), dasar kerja dari metode *Steepest Ascent* adalah melakukan sebuah eksperimen sederhana pada bagian permukaan respon yang luasnya sempit, untuk praktisnya bisa dianggap bidang. Selanjutnya menentukan persamaan bidang kemudian eksperimen harus diambil sedemikian rupa agar bergerak ke arah optimum atau sekitar optimum pada permukaan respon. Diharapkan eksperimen berikutnya bergerak ke arah mendaki paling cepat menuju titik optimum atau sekitar optimum pada permukaan respon. Teknik ini tidak menentukan berapa jauh eksperimen berikutnya dilakukan dari eksperimen awal, namun cukup mengatakan kepada pelaksana arah mana eksperimen berikutnya harus dilaksanakan.

Dengan mengasumsikan titik $x_1 = x_2 = \dots = x_k = 0$ adalah titik asal, algoritma dalam menentukan koordinat titik pada jalur *Steepest Ascent* adalah :

1. Pilih suatu ukuran dari salah satu variabel proses, katakan Δx_j . Variabel yang dipilih adalah variabel yang memiliki koefisien mutlak regresi terbesar $|\hat{\beta}_j|$.
2. Ukuran langkah dari salah satu variabel proses yang lainnya adalah

$$\Delta x_i = \frac{\hat{\beta}_i}{\hat{\beta}_j / \Delta x_j} \quad i = 1, 2, \dots, k; \quad i \neq j \dots \dots \dots (3.3)$$

3. Ubah Δx_j dari variabel kode menjadi variabel aktual

3.3.2 Eksperimen Orde II

Ketika eksperimen orde I telah menunjukkan tidak cukup cocok pada dengan data, pendekatan model regresi orde II (Persamaan 3.2) mulai dipakai. Dengan menggunakan metode kuadrat terkecil, model orde II yang telah diestimasi sesuai dengan persamaan 3.2.

Eksperimen yang baru akan didesain segera setelah wilayah sekitar optimum respon dari model orde I diketahui (jika orde I sesuai). Untuk mengestimasi model permukaan respon orde II, biasanya digunakan *Central Composite Design* (CCD). Sebagai pemisalan, k buah variabel input dalam bentuk kode ditunjukkan dengan $x = (x_1, \dots, x_k)$, CCD terdiri dari tiga bagian berikut :

- i. Tidak sudut (*corner points*) n_f dengan $x_i = -1, 1; i = 1, \dots, k$ membentuk bagian faktorial (*faktorial portion*) pada desain.
- ii. Titik pusat (*center points*) n_c dengan $x_i = 0; i = 1, \dots, k$.
- iii. Titik aksial (*axial points*) $2k$ dari bentuk $(0, \dots, x_i, \dots, 0)$ $x_i = \alpha, -\alpha; i = 1, \dots, k$

Dalam penelitian ini *Central Composite Design* di rancang dengan jumlah percobaan $N = 2^3 + 6$ (*center point*) + 6 (*axial point*). Titik aksial ditambahkan agar membuat permukaan kuadrat menjadi berbaur pada model. Karena rancangan yang digunakan adalah *Central Composite Design*, maka akan digunakan 5 level dalam orde II. . Selanjutnya terdapat dua parameter pada CCD yang harus diperinci yaitu jarak titik aksial dari titik pusat dinamakan α dan jumlah titik pusat n_c . Dalam orde II, hasil rancangan yang telah dimasukkan ke dalam software minitab 16 akan diuji seperti yang telah dilakukan dalam orde I.

- **Uji ANOVA**

Uji ANOVA dalam orde II hampir sama dengan uji ANOVA yang dilakukan dalam orde I. Namun dalam orde II untuk uji regresi tidak hanya ditinjau dari regresi individu faktor saja tapi juga kuadrat dari faktor dan interaksi dari faktor harus dipertimbangkan untuk mengetahui faktor yang mempunyai pengaruh nyata terhadap respon.

- **Uji Normalitas**

Dalam orde II tidak hanya uji ANOVA yang dilakukan, uji normalitas juga dilakukan untuk mengetahui distribusi dari residual yang dihasilkan, apakah berdistribusi secara normal atau tidak. Uji normalitas dilakukan berdasarkan uji Kolmogorov Smirnov, yaitu dari kurva uji kenormalan residual dapat diketahui nilai statistik Kolmogorov Smirnov hitung harus < dari nilai Kolmogorov Smirnov tabel

dengan uji dua arah. Jika nilai Kolmogorov Smirnov hitung < dari nilai Kolmogorov Smirnov tabel maka dapat disimpulkan hasil uji kenormalan residual yang dibuat telah mengikuti distribusi normal, sehingga asumsi kenormalan residual model regresi yang telah dibuat pada orde II telah dipenuhi dan dapat digunakan.

- **Uji Keidentikan**

Uji keidentikan dilakukan untuk mengetahui homogenitas dari data yang digunakan. Uji keidentikan dapat diketahui dari kurva antara residual dengan *fitted value*. Apabila kurva menunjukkan bahwa plot antara residual dengan fit terlihat menyebar secara acak disekitar nol dan tidak membentuk pola tertentu maka varian residual dikatakan homogen

- **Uji Independen**

Residual akan independen bilai nilai *Auto Correlation Function* (ACF) berada pada interval $\pm \frac{2}{\sqrt{n}}$, dimana n = jumlah pengamatan.

3.3.3 Penentuan Titik Optimum dari Variabel Bebas (Faktor)

Setelah model orde II telah sesuai, maka akan dilakukan penentuan titik optimum dari faktor yang memiliki pengaruh nyata terhadap respon. Titik optimum faktor yang dipilih adalah yang memiliki respon yang paling maksimum. Titik optimum ditentukan dengan menganalisa bentuk kurva permukaan dan kontur dari respon terhadap faktor.

Titik stasioner juga dapat ditentukan dengan menganalisis kurva permukaan dan kontur respon terhadap faktor. Dengan mengetahui daerah titik stasioner berada, maka bentuk kurva dapat ditentukan, apakah titik maksimum, titik minimum, atau titik pelana seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 2.3.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Nitrogen (N), komposisi Fosfor (P), dan kerapatan sel merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi besarnya kandungan lipid yang dapat diproduksi oleh mikroalga (Bajpai, 1993). Sebagaimana tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh faktor-faktor tersebut terhadap total lipid dan juga untuk mengetahui titik optimum dari faktor-faktor tersebut yang menghasilkan kandungan total lipid paling maksimum, maka dalam bab ini akan dibahas hasil optimasi menggunakan metode permukaan respon (*Response Surface Methodology*). Dalam metode permukaan respon, faktor-faktor komposisi N, komposisi P, dan kerapatan sel disebut sebagai variabel bebas sedangkan total lipid disebut sebagai variabel respon.

Seperti yang telah disampaikan dalam Bab I bahwa data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan data sekunder hasil penelitian yang dilakukan oleh Yolanda Fitria Syahri (2009). Penelitian terhadap kandungan total lipid dilakukan pada tiga jenis mikroalga yaitu, *Chlamydomonas Sp*, *Chlorococcum Sp*, dan *Chroococcus sp*. Sebelum dilakukan perhitungan optimasi menggunakan metode permukaan respon, terlebih dahulu dilakukan interpolasi data terhadap data penelitian yang telah dilakukan oleh Yolanda Fitria Syahri (2009). Hal ini dilakukan karena adanya keterbatasan jumlah data sekunder untuk digunakan ke dalam metode respon permukaan. Menurut Daniel (1991), interpolasi di dalam konsep regresi hanya boleh dilakukan di dalam rentang data dari variabel-variabel bebas yang digunakan untuk membentuk model regresi tersebut. Data hasil interpolasi dapat dilihat pada lampiran.

Sebagai tahap awal dilakukan rancangan percobaan yang telah disesuaikan dengan *central composite design* (CCD) tiga faktor pada minitab 16. Untuk memudahkan dalam analisis maka dilakukan pengkodean terhadap variabel bebas dan respon.

Rancangan percobaan dalam penelitian ini, yaitu orde I yang merupakan rancangan faktorial $2^3 + 6$ (*center point*) dan orde II yang merupakan rancangan Central Composite Design (CCD) dengan faktorial $2^3 + 6$ (*center point*) + 6 (*axial point*), ditunjukkan dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rancangan Faktorial $2^3 + 6$ (*center point*)

RunOrder	Blocks	X1	X2	X3
1	1	-1	-1	-1
2	1	1	-1	-1
3	1	-1	1	-1
4	1	1	1	-1
5	1	-1	-1	1
6	1	1	-1	1
7	1	-1	1	1
8	1	1	1	1
9	1	0	0	0
10	1	0	0	0
11	1	0	0	0
12	1	0	0	0
13	1	0	0	0
14	1	0	0	0

Ket :

2 melambangkan banyaknya jumlah level yang digunakan (level bawah "-1" dan level atas "1").

3 melambangkan jumlah faktor.

6 melambangkan titik pusat yang ditambahkan ("0").

Tabel 4.2 Rancangan Percobaan CCD dengan 3 faktor

RunOrder	Blocks	X1	X2	X3
1	1	-1	-1	-1
2	1	1	-1	-1
3	1	-1	1	-1
4	1	1	1	-1
5	1	-1	-1	1
6	1	1	-1	1
7	1	-1	1	1
8	1	1	1	1
9	1	-1,682	0	0
10	1	1,682	0	0
11	1	0	-1,682	0
12	1	0	1,682	0
13	1	0	0	-1,682
14	1	0	0	1,682
15	1	0	0	0
16	1	0	0	0
17	1	0	0	0
18	1	0	0	0
19	1	0	0	0
20	1	0	0	0

Pengkodean :

X1 : Kerapatan Sel

X2 : Komposisi N

X3 : Komposisi P

4.1 OPTIMASI PADA MIKROALGA *CHLAMMYDOMONAS SP*

4.1.1 Analisis Orde I

Dari rancangan percobaan akan dilakukan desain dan analisis menggunakan orde I, Jumlah pengamatan dalam orde I adalah $N = 2^3 + 6$ (*center point*), yang artinya level yang digunakan 2 yaitu level rendah yang dikodekan dengan -1 dan level tinggi yang dikodekan dengan 1 dengan 3 faktor (variabel bebas) ditambah dengan 6 buah titik pusat yang dikodekan dengan 0, Pengkodean level dan penentuan nilai level pada orde I dapat dilihat dalam Tabel 4.3 berikut :

Tabel 4.3 Pengkodean Level Orde I

Kode Faktor	Nama Faktor	Kode Level		
		bawah (-1)	tengah (0)	atas (1)
X1	Kerapatan sel	0,40	0,56	0,72
X2	Komposisi sumber N	1,94	2,91	3,88
X3	Komposisi sumber P	0,03	0,05	0,06

Nilai level bawah dan atas ditentukan berdasarkan titik terendah dan tertinggi dari faktor, Nilai level tengah ditentukan berdasarkan nilai tengah antara titik terendah dan titik tertinggi faktor, Hubungan antara nilai level bawah, tengah, dan atas adalah sesuai dengan persamaan 4.1 .

$$\text{nilai level tengah (0)} = \frac{\text{nilai level bawah (-1)} + \text{nilai level atas (1)}}{2} \dots (4.1)$$

Setelah dilakukan pengkodean level, kemudian nilai level dimasukkan ke dalam Tabel rancangan orde I untuk kemudian dilakukan analisa, Rancangan orde I dapat dilihat dalam Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Rancangan Orde I

Run	Faktor Kode			Faktor Aktual			Respon Y (%)
	X1	X2	X3	Kerapatan sel (OD)	Komposisi N (g/l)	Komposisi P (g/l)	
1	-1	-1	-1	0,4	1,94	0,03	0,422
2	1	-1	-1	0,72	1,94	0,03	0,633
3	-1	1	-1	0,4	3,88	0,03	0,845
4	1	1	-1	0,72	3,88	0,03	6,333
5	-1	-1	1	0,4	1,94	0,06	9,500
6	1	-1	1	0,72	1,94	0,06	12,667
7	-1	1	1	0,4	3,88	0,06	5,300
8	1	1	1	0,72	3,88	0,06	7,950
9	0	0	0	0,56	2,91	0,05	10,600
10	0	0	0	0,56	2,91	0,05	0,633
11	0	0	0	0,56	2,91	0,05	0,950
12	0	0	0	0,56	2,91	0,05	1,267
13	0	0	0	0,56	2,91	0,05	9,500
14	0	0	0	0,56	2,91	0,05	14,250

Dalam rancangan orde I, pendugaan model yang digunakan adalah model linier, Setelah data rancangan untuk orde I dimasukkan ke dalam *software* minitab 16 maka diperoleh persamaan model dan analisis varian sebagai berikut :

$$Y = -6,71 + 8,997X1 - 0,36X2 + 169,89X3 + \varepsilon \dots \dots \dots (4.2)$$

Ket :

Y = Respon (Total lipid)

X1 = Kerapatan sel

X2 = Komposisi N

X3 = Komposisi P

ε = error

Tabel 4.5 Analisis Varian Model Orde I

Analysis of Variance for Y						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	3	111,321	111,321	37,1070	1,74	0,223 tidak signifikan
Linear	3	111,321	111,321	37,1070	1,74	0,223
X1	1	16,579	16,579	16,5788	0,78	0,399
X2	1	0,976	0,976	0,9761	0,05	0,835
X3	1	93,766	93,766	93,7661	4,39	0,063
Curvature	1	1,897	1,897	1,8968	0,05	0,872 signifikan
Residual Error	10	213,732	213,732	21,3732		
Lack-of-Fit	5	35,797	35,797	7,1595	0,20	0,948 signifikan
Pure Error	5	177,935	177,935	35,5869		

Dari hasil analisis varian di atas dilakukan uji signifikansi atau uji kesesuaian model menggunakan ANOVA, yaitu $p\text{-value} < \alpha$. Ada tiga parameter yang digunakan untuk memeriksa uji signifikansi berdasarkan ANOVA dalam orde I, yaitu regresi yang menyatakan hubungan atau pengaruh antara variabel bebas dengan respon, ketidaksesuaian model (*lack of fit*), dan kelengkungan (*curvature*) yang menyatakan bahwa model linier tidak cocok karena adanya kelengkungan. Ketiga nilai parameter tersebut harus terpenuhi, sehingga model orde I dapat dikatakan cukup dan sesuai untuk menganalisis data dalam penelitian ini. Dengan menggunakan menggunakan derajat signifikansi (*confidence level*) $\alpha = 0,05$, maka nilai regresi secara serentak diperoleh $p\text{-value} = 0,223$ atau lebih dari derajat signifikansi. Hal ini berarti ketiga variabel bebas tidak dapat mewakili respon. Hasil analisis varian juga menunjukkan hasil uji ketidaksesuaian model atau *lack of fit*. Uji *lack of fit* dimulai dengan membuat hipotesis awal yaitu,

H_0 : tidak ada *lack of fit*, model yang dibuat telah sesuai dengan data

H_1 : Ada *lack of fit*, model yang dibuat belum mewakili data

Hipotesis awal (H_0) akan ditolak bila $p\text{-value}$ kurang dari α (0,05). Sebaliknya, hipotesis awal akan diterima apabila $p\text{-value}$ melebihi α (0,05), Tabel 4.4 menunjukkan bahwa $p\text{-value}$ pada uji *lack of fit* bernilai 0,948 atau lebih besar dari

nilai α (0,05), maka keputusannya berupa H_0 diterima, yang artinya model yang dibuat telah sesuai dengan data. *P-value* untuk *curvature* dalam Tabel 4.4 adalah 0,872 atau lebih dari α (0,05), menyatakan bahwa kelengkungan tidak berpengaruh signifikan.

Dari hasil analisis terhadap uji regresi uji *lack of fit*, dan uji *curvature* di atas, maka disimpulkan bahwa model orde I dikatakan tidak sesuai, karena salah satu parameter tidak memenuhi. Karena model pada orde I dikatakan tidak sesuai, maka analisis kemudian dilanjutkan pada pendugaan model orde yang lebih tinggi yaitu orde II.

4.1.2 Analisis Orde II

Dalam rancangan orde II, pendugaan model dilakukan dengan menggunakan model kuadratik. Karena orde I tidak dapat memberikan informasi mengenai faktor-faktor yang paling berpengaruh terhadap respon, maka dalam orde II rancangan yang digunakan adalah *Central Composite Design* (CCD) dengan faktorial $2^3 + 6$ (*center point*) + 6 (*axial point*). Karena rancangan yang digunakan adalah *Central Composite Design*, maka akan digunakan 5 level dalam orde II. Hal ini dikarenakan dalam pendugaan model orde II akan diperhitungkan *axial point* (α) untuk membuat *Central Composite Design* menjadi *rotatable*. Pengkodean dan penentuan nilai level dalam orde II disajikan dalam Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Pengkodean Level Orde II

Kode Faktor	Nama Faktor	Kode Level				
		$-\alpha$ (-1,682)	bawah (-1)	tengah (0)	atas (1)	$+\alpha$ (1,682)
X1	Kerapatan sel	0,29	0,40	0,56	0,72	0,83
X2	Komposisi sumber N	1,28	1,94	2,91	3,88	4,54
X3	Komposisi sumber P	0,02	0,03	0,05	0,06	0,07

Tabel 4.7 Rancangan Orde II

Run	Faktor Kode			Faktor Aktual			Respon Y
	X1	X2	X3	Kerapatan Sel	Komposisi N	Komposisi P	
1	-1	-1	-1	0,4	1,94	0,03	0,422
2	1	-1	-1	0,72	1,94	0,03	0,633
3	-1	1	-1	0,4	3,88	0,03	0,845
4	1	1	-1	0,72	3,88	0,03	6,333
5	-1	-1	1	0,4	1,94	0,06	9,500
6	1	-1	1	0,72	1,94	0,06	12,667
7	-1	1	1	0,4	3,88	0,06	5,300
8	1	1	1	0,72	3,88	0,06	7,950
9	-1,682	0	0	0,29	2,91	0,05	10,600
10	1,682	0	0	0,82	2,91	0,05	0,633
11	0	-1,682	0	0,56	1,27	0,05	0,950
12	0	1,682	0	0,56	4,54	0,05	1,267
13	0	0	-1,682	0,56	2,91	0,02	9,500
14	0	0	1,682	0,56	2,91	0,07	14,250
15	0	0	0	0,56	2,91	0,05	19,000
16	0	0	0	0,56	2,91	0,05	7,950
17	0	0	0	0,56	2,91	0,05	11,925
18	0	0	0	0,56	2,91	0,05	15,900
19	0	0	0	0,56	2,91	0,05	0,760
20	0	0	0	0,56	2,91	0,05	1,140
21	-1	-1	-1	0,4	1,94	0,03	0,422
22	1	-1	-1	0,72	1,94	0,03	0,633
23	-1	1	-1	0,4	3,88	0,03	0,845
24	1	1	-1	0,72	3,88	0,03	6,333
25	-1	-1	1	0,4	1,94	0,06	9,500
26	1	-1	1	0,72	1,94	0,06	12,667
27	-1	1	1	0,4	3,88	0,06	5,300
28	1	1	1	0,72	3,88	0,06	7,950
29	-1,682	0	0	0,29	2,91	0,05	10,600
30	1,682	0	0	0,82	2,91	0,05	0,633
31	0	-1,682	0	0,56	1,27	0,05	0,950
32	0	1,682	0	0,56	4,54	0,05	1,267
33	0	0	-1,6818	0,56	2,91	0,02	9,500
34	0	0	1,68179	0,56	2,91	0,07	14,250
35	0	0	0	0,56	2,91	0,05	19,000
36	0	0	0	0,56	2,91	0,05	7,950
37	0	0	0	0,56	2,91	0,05	11,925
38	0	0	0	0,56	2,91	0,05	15,900
39	0	0	0	0,56	2,91	0,05	0,760
40	0	0	0	0,56	2,91	0,05	1,140

Untuk penentuan nilai level bawah, tengah, maupun atas dalam orde II ini, masih sama dengan cara penentuan pada orde I, Dalam *Central Composite Design* penentuan nilai α (titik aksial) yaitu :

$$\alpha = (n_f)^{1/4}, n_f = 2^3 \dots\dots\dots (4.3)$$

n_f = jumlah titik dalam *factorial portion* dalam design

Dari nilai level yang diperoleh, maka rancangan percobaan untuk orde II dapat dilakukan, Untuk rancangan orde II akan dilakukan replikasi untuk memungkinkan diperolehnya nilai taksiran pengaruh yang lebih tepat, sehingga jumlah pengamatan menjadi 40 pengamatan, Rancangan percobaan untuk orde II disajikan dalam Tabel 4.7.

Hasil analisis varian dari *software* minitab setelah dimasukkan rancangan percobaan orde II diperoleh sesuai dengan Tabel 4.7.

Tabel 4.8 Analisis Varian Model Orde II

Analysis of Variance for Y versus X1, X2, X3						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	597,10	597,096	66,344	2,70	0,020 signifikan
Linear	3	185,94	185,937	61,979	2,52	0,077
x1	1	4,03	4,029	4,029	0,16	0,689
x2	1	0,75	0,749	0,749	0,03	0,863
x3	1	181,16	181,159	181,159	7,37	0,011 signifikan
Square	3	348,95	348,947	116,316	4,73	0,008
x1*x1	1	46,57	62,217	62,217	2,53	0,122
x2*x2	1	286,45	270,431	270,431	11,00	0,002
x3*x3	1	15,93	15,929	15,929	0,65	0,427
Interaction	3	62,21	62,212	20,737	0,84	0,481
x1*x2	1	5,67	5,667	5,667	0,23	0,635
x1*x3	1	0,00	0,003	0,003	0,00	0,991
x2*x3	1	56,54	56,542	56,542	2,30	0,040 signifikan
Residual Error	30	737,69	737,692	24,590		
Lack-of-Fit	5	166,20	166,199	33,240	1,45	0,240 signifikan
Pure Error	25	571,49	571,492	22,860		
Total	39	1334,79				

Persamaan model untuk orde II adalah :

$$Y = -45,81 + 50,45X_1 + 22,44X_2 + 231,46X_3 - 57,39X_1^2 - 3,26X_2^2 + 2903,93X_3^2 + 3,83X_1X_2 + 5,70X_1X_3 - 121,13X_2X_3 + \epsilon \dots \dots \dots (4.4)$$

Seperti pengujian yang dilakukan pada orde I, pengujian hasil analisis varian orde II diatas dapat diketahui bahwa *p-value* regresi secara serentak adalah 0,02 atau kurang dari nilai α (0,05). Hal ini berarti faktor-faktor mempunyai pengaruh terhadap respon, Jika dilihat dari *p-value* masing-masing faktor, maka faktor yang paling mempengaruhi respon adalah X_3 (komposisi P) karena *p-value* $X_3 = 0,011$ atau kurang dari α (0,05). Jika ditinjau dari ilmu tentang nutrisi atau unsur hara yang mempengaruhi produksi lipid atau lemak pada mikroalga, uji pengaruh faktor terhadap X_3 atau komposisi fosfor tersebut dapat dikatakan valid, karena hal tersebut didukung oleh literatur yang menyatakan demikian. Menurut Bold dan Wynne (1985), fosfor merupakan unsur yang tidak hanya berperan dalam proses penyusunan karbohidrat pada mikroalga, namun juga berpengaruh baik pada proses pembelahan sel dan lemak pada mikroalga.

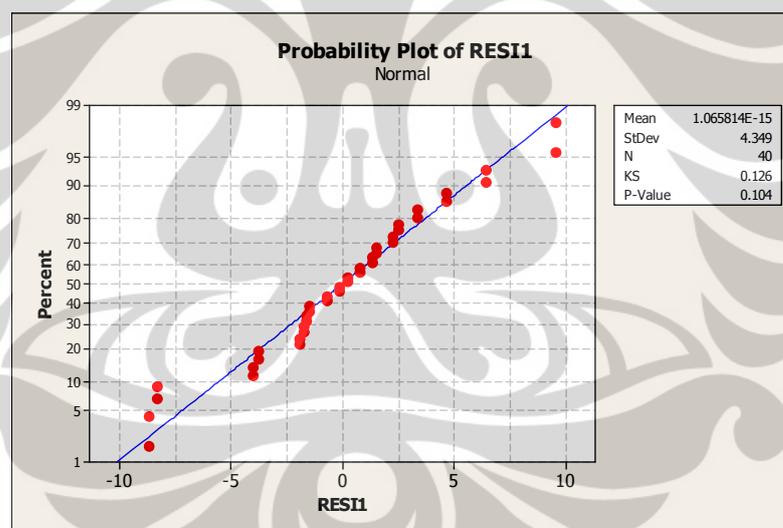
Untuk pengujian interaksi antar respon dapat dilihat *p-value* pada $X_2 * X_3$ adalah 0,04 atau kurang dari nilai α (0,05), hal ini berarti faktor X_2 dan X_3 yang mempunyai pengaruh yang paling besar terhadap respon. Hasil pengujian ini pun dapat dikatakan valid, karena menurut Becker (2000), alga yang tumbuh pada kondisi kultur yang kekurangan nitrogen dan kaya akan fosfat akan cenderung mengakumulasi sejumlah besar lipid dimana biomasa, protein, dan asam nukleat menurun. Borowitzka dan Borowitzka (1988) juga mengatakan bahwa pada konsentrasi nitrogen yang rendah, alga akan terdiri dari total lipid. Selain Becker dan Borowitzka, hasil penelitian yang dilakukan oleh Yolanda Fitria Syahri (2009) juga memperkuat hasil pengujian interaksi faktor tersebut, dimana pada konsentrasi nitrogen yang rendah menghasilkan laju pertumbuhan dan biomasa yang rendah dengan laju produksi lipid yang tinggi. Dari hasil uji interaksi antar respon tersebut maka disimpulkan bahwa faktor-faktor

yang paling berpengaruh terhadap respon adalah Komposisi N (X2) dan komposisi P (X3).

Pengujian *lack of fit* dilakukan sama seperti pengujian *lack of fit* dalam orde I. Nilai *p-value* pada uji *lack of fit* adalah 0,240 atau lebih dari nilai α (0,05), sehingga dapat dikatakan model kuadratik pada orde II yang digunakan telah sesuai. Namun untuk memeriksa kecukupan atau kesesuaian model pada orde II, tidak hanya melihat dari *lack of fit* saja, tetapi harus pula melakukan uji residual.

- **Uji Kenormalan Residual (Uji Normalitas)**

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah titik residual terdistribusi normal atau tidak. Model regresi yang baik adalah model yang memiliki nilai residual yang terdistribusi normal.

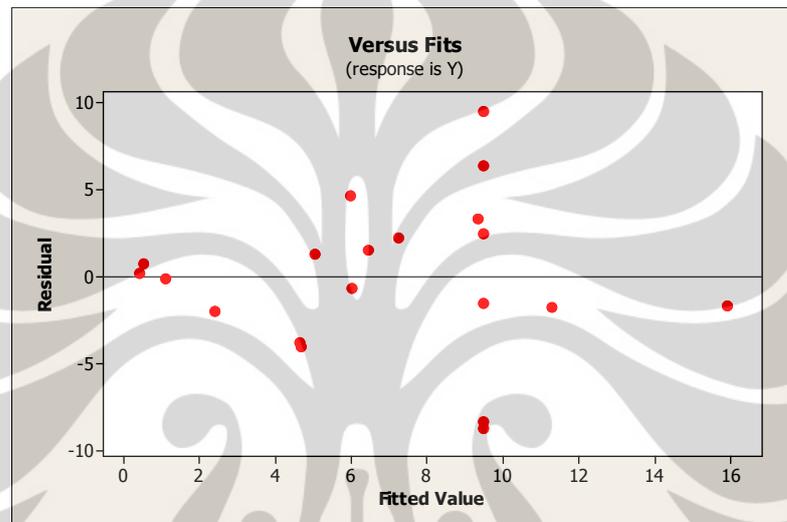


Gambar 4.1 Kurva Uji Kenormalan Residual Model Permukaan respon

Uji normalitas dilakukan berdasarkan uji Kolmogorov Smirnov, yaitu dari kurva uji kenormalan residual dapat diketahui bahwa nilai statistik Kolmogorov Smirnov adalah 0,126 atau kurang dari nilai statistik Kolmogorov Smirnov tabel dengan uji dua arah, jumlah pengamatan $n = 40$, dan $\alpha = 0,05$, yaitu 0,210 (lihat Tabel A6 pada

lampiran). Oleh karena itu, kesimpulan hasil uji kenormalan residual adalah residual model regresi yang dibuat telah mengikuti distribusi normal, sehingga asumsi kenormalan residual model regresi yang telah dibuat pada orde II telah dipenuhi dan dapat digunakan.

- **Keidentikan**

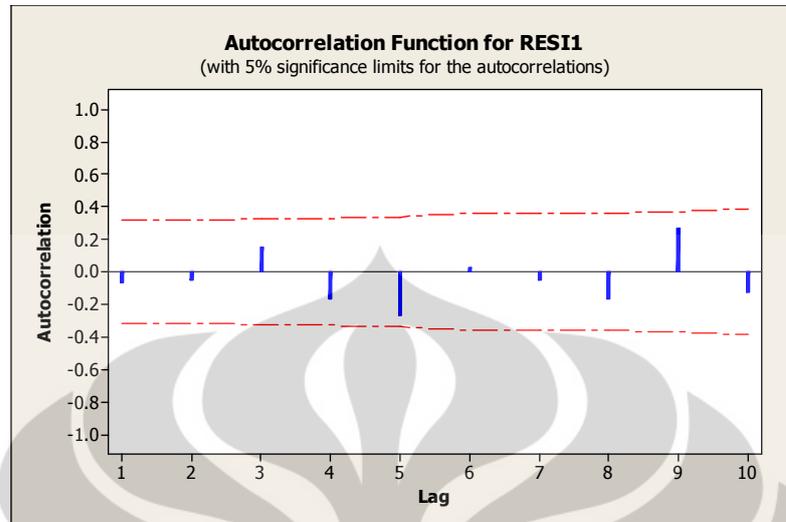


Gambar 4.2 Plot antara Residual dengan *Fitted Value*

Uji keidentikan dilakukan untuk mengetahui kehomogenan data. Pada Gambar 4.2 ditunjukkan bahwa plot antara residual dan dengan fit terlihat menyebar secara acak disekitar nol dan tidak membentuk pola tertentu. Hal ini berarti varian residual homogen.

- **Independen**

Uji independen atau uji *auto correlation* dilakukan untuk mengetahui apakah terjadi korelasi antara data pada suatu periode waktu (t) dengan data pada periode sebelumnya ($t-1$) atau dengan kata lain data bersifat independen (tidak ada korelasi antara data sekarang dengan data sebelumnya).



Gambar 4.3 Plot ACF untuk Residual

Residual akan independen bilai nilai *Auto Correlation Function* (ACF) berada pada interval $\pm \frac{2}{\sqrt{n}}$. Untuk model orde kedua di atas, dengan jumlah pengamatan $n = 40$ residual telah memenuhi asumsi independen karena nilai AFC-nya terletak pada $\pm 0,32$, seperti yang terlihat pada Gambar 4.3.

4.1.3 Penentuan Titik Optimum

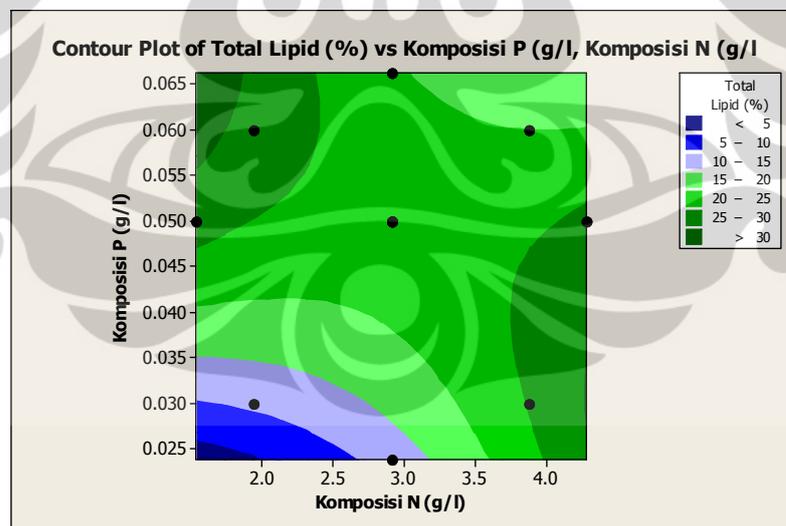
Setelah dilakukan semua uji secara statistik terhadap orde II, maka kesimpulan yang diperoleh adalah model orde II telah cukup dan sesuai untuk mewakili model. Sebelum dilakukan pencarian titik optimum, maka akan dilakukan perbaikan model sesuai dengan hasil uji pada orde II, yaitu untuk faktor-faktor yang berpengaruh nyata terhadap respon yang akan digunakan selanjutnya hanya X2 (komposisi N) dan X3 (komposisi P). Persamaan yang diperoleh setelah dilakukan perbaikan model adalah sesuai dengan persamaan 4.5.

$$Y' = 4,55 + 1,27X_2 + 1,23X_3 + 1,55X_2^2 - 0,68X_3^2 + 1,32X_2X_3 + \varepsilon \quad \dots\dots\dots(4.5)$$

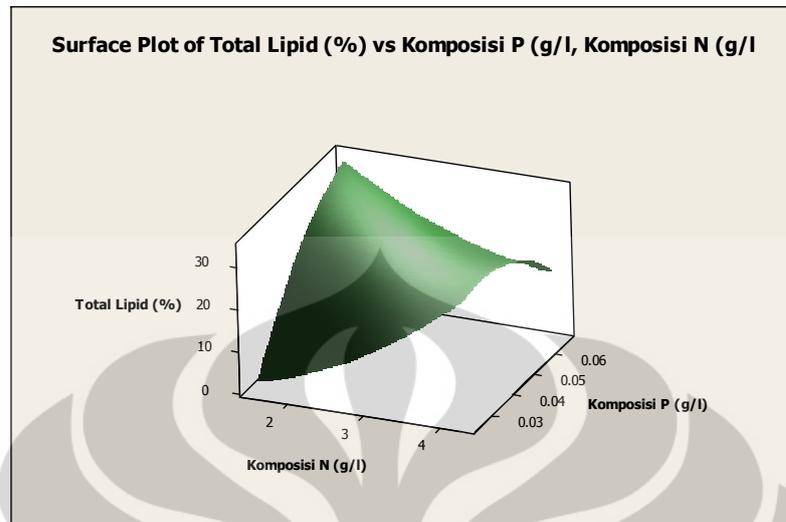
Dari persamaan yang baru, maka akan diperoleh nilai respon yang baru (Y'). Hasil perhitungan nilai respon (Y') dapat dilihat dalam lampiran. Nilai respon (Total lipid) yang terukur dalam penelitian yang dilakukan oleh Yolanda Fitria Syahri (2009)

sangat jauh berbeda jauh dengan hasil respon perhitungan menggunakan model matematika orde II dalam metode permukaan respon ini. Daerah optimum faktor yang menghasilkan respon paling maksimum dapat dilihat dari kontur yang diperoleh dari software minitab 16.

Dari plot kurva 3D dalam Gambar 4.5 menunjukkan bahwa kurva yang diperoleh tidak berbentuk parabola sempurna, melainkan kurva berbentuk pelana (*saddle point*), sehingga sulit untuk menentukan titik optimum dari kurva. Penentuan titik optimum dapat dilakukan dengan menganalisis tingkat pengaruh komposisi N dan komposisi P terhadap permukaan respon total lipid berdasarkan kontur permukaan respon pada Gambar 4.4. Pada Gambar 4.4 dapat dilihat bahwa kandungan total lipid semakin meningkat seiring dengan meningkatnya komposisi P dan menurunnya komposisi N. Hasil ini membuktikan lagi teori yang disampaikan oleh Becker (2000) dan Borowitzka (1988) bahwa produksi lipid akan semakin tinggi jika komposisi nitrogen rendah sedangkan komposisi fosfor tinggi.



Gambar 4.4 Plot Kontur untuk Kandungan Total Lipid *Chlamydomonas Sp*



Gambar 4.5 Plot Kontur 3D untuk Kandungan Total Lipid *Chlamydomonas Sp*

Kandungan total lipid yang tinggi yaitu 20% ke atas diperoleh pada rentang komposisi P yang tinggi yaitu 0,05 g/l – 0,065 g/l (level +1 sampai level $+\alpha$) dan rentang komposisi N yang rendah yaitu 2,35 g/l – 1,28 g/l (level 0 sampai $-\alpha$). Titik stasioner terjadi pada titik tengah yaitu berada pada komposisi N = 2,87 g/l dan komposisi P = 0,05 g/l, dimana total lipid yang diperoleh 21,21% yang artinya titik stasioner berada di dalam daerah rentang total lipid yang diprediksi maksimum. Hal ini menyatakan bentuk kurva cenderung maksimum dan terbukti dari bentuk kurva 3D dalam Gambar 4.5. Titik optimum diprediksi berada pada komposisi P = 0,059 g/l dan komposisi N = 1,94 g/l, dimana kandungan total lipid yang dapat dicapai adalah 28,19 %. Kandungan total lipid yang paling maksimum dicapai pada rentang komposisi N terendah yaitu pada level antara $-\alpha$ dan -1 sedangkan untuk komposisi P dicapai pada rentang tertinggi yaitu level 0. Menurut Backer (1994), kandungan total lipid pada mikroalga *Chlamydomonas Sp* dapat dicapai hingga 21%.

4.2 OPTIMASI PADA MIKROALGA *CHLOROCOCCUM SP*

Tahapan optimasi pada mikroalga *Chlorococcum Sp* akan dilakukan sama seperti tahapan optimasi pada mikroalga *Chlamydomonas Sp*,

4.2.1 Analisis Orde I

Setelah dilakukan rancangan percobaan orde I, maka diperoleh analisis varian yang ditunjukkan dalam Tabel 4.9,

Tabel 4.9 Analisis Varian Model Orde I

Analysis of Variance for Y versus X1,X2,X3						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	3	118,936	118,936	39,645	2,15	0,158 tidak signifikan
Linear	3	118,936	118,936	39,645	2,15	0,158
X1	1	9,570	9,570	9,570	0,52	0,488
X2	1	15,820	15,820	15,820	0,86	0,376
X3	1	93,545	93,545	93,545	5,07	0,048 signifikan
Curvature	1	8,039	8,039	8,0391	0,23	0,652 signifikan
Residual Error	10	184,689	184,689	18,469		
Lack-of-Fit	5	9,220	9,220	1,844	0,05	0,997 signifikan
Pure Error	5	175,469	175,469	35,094		
Total	13	303,625				

Dari hasil analisis varian di atas dapat diketahui bahwa nilai regresi secara serentak diperoleh $p\text{-value} = 0,158$ atau lebih dari derajat signifikansi. Hal ini berarti ketiga variabel bebas tidak dapat mewakili respon. Namun $p\text{-value}$ untuk X3 adalah 0,048 atau kurang dari $\alpha (0,05)$, yang artinya X3 mempunyai pengaruh yang besar terhadap respon. Kemudian dilakukan uji ketidaksesuaian model atau *lack of fit*, Tabel 4.9 menunjukkan bahwa $p\text{-value}$ pada uji *lack of fit* bernilai 0,997 atau lebih besar dari nilai $\alpha (0,05)$, yang artinya model yang dibuat telah sesuai dengan data. $P\text{-value}$ untuk *curvature* dalam Tabel 4.9 adalah 0,652 atau lebih dari $\alpha (0,05)$, menyatakan bahwa kelengkungan tidak berpengaruh signifikan.

Dari hasil analisis terhadap uji regresi uji *lack of fit* dan uji *curvature* di atas, maka disimpulkan bahwa model orde I dikatakan masih tidak sesuai, karena salah

satu parameter tidak memenuhi. Oleh karena model pada orde I dikatakan tidak sesuai, maka analisis kemudian dilanjutkan pada pendugaan model orde yang lebih tinggi yaitu orde II.

4.2.2 Analisis Orde II

Untuk memperoleh model yang sesuai dengan eksperimen yang telah dilakukan, maka dilakukan rancangan percobaan dengan orde yang lebih tinggi, yaitu rancangan percobaan orde II. Dari rancangan percobaan orde II, maka diperoleh analisis varian yang kemudian akan dilakukan pengujian. Hasil analisis varian untuk orde II ini, disajikan dalam Tabel 4.10 di bawah ini.

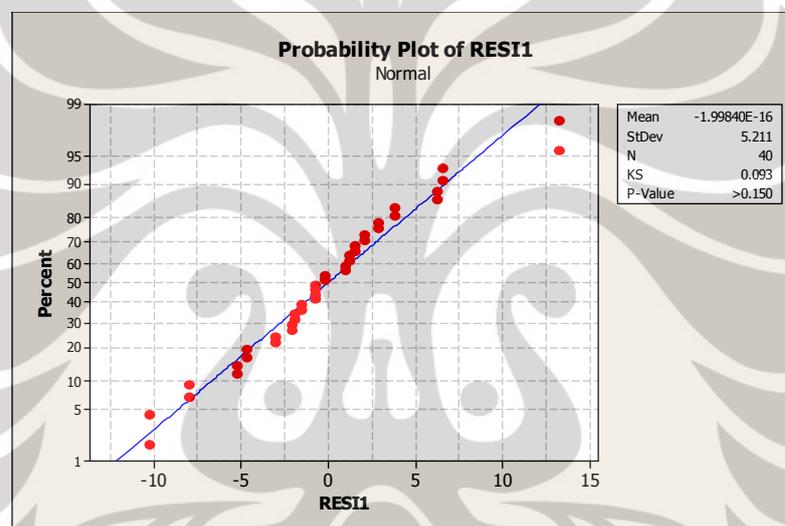
Tabel 4.10 Analisis Varian Model Orde II

Analysis of Variance for Y versus X1, X2, X3						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	695,89	695,89	77,321	2,19	0,042 signifikan
Linear	3	233,61	233,61	77,869	2,21	0,108
X1	1	52,86	52,86	52,865	1,50	0,231
X2	1	29,50	29,50	29,501	0,84	0,368
X3	1	151,24	151,24	151,241	4,28	0,047 signifikan
Square	3	448,61	448,61	149,538	4,24	0,013
X1*X1	1	18,09	48,29	48,291	1,37	0,251
X2*X2	1	270,66	310,68	310,676	8,80	0,006
X3*X3	1	159,86	159,86	159,857	4,53	0,042
Interaction	3	13,67	13,67	4,557	0,13	0,942
X1*X2	1	0,39	0,39	0,391	0,01	0,917
X1*X3	1	9,77	9,77	9,766	0,28	0,603
X2*X3	1	3,52	3,52	3,516	0,10	0,045 signifikan
Residual Error	30	1058,98	1058,98	35,299		
Lack-of-Fit	5	289,37	289,37	57,875	1,88	0,134 signifikan
Pure Error	25	769,60	769,60	30,784		
Total	39	1754,87				

Pengujian hasil analisis varian orde II diatas dapat diketahui bahwa *p-value* regresi secara serentak adalah 0,042 atau kurang dari nilai α (0,05). Hal ini berarti faktor-faktor mempunyai pengaruh terhadap respon. Jika dilihat dari *p-value* masing-masing faktor, maka faktor yang paling mempengaruhi respon adalah X3 (komposisi P) karena *p-value* X3 = 0,047 atau kurang dari α (0,05). Untuk pengujian interaksi

antar respon dapat dilihat p-value pada $X_2 * X_3$ adalah 0,045 atau kurang dari nilai α (0,05), hal ini berarti faktor X_2 dan X_3 yang berpengaruh nyata terhadap respon. Hasil pengujian ini memberikan hasil yang sama pada pengujian pada mikroalga *Chlamydomonas Sp*, yang menyatakan bahwa komposisi fosfor dan nitrogen yang memberikan pengaruh yang paling besar terhadap respon atau total lipid. Selanjutnya dilakukan uji residual, yaitu uji normalitas, keidentikan, dan uji kesesuaian model regresi.

- **Uji Kenormalan Residual (Uji Normalitas)**

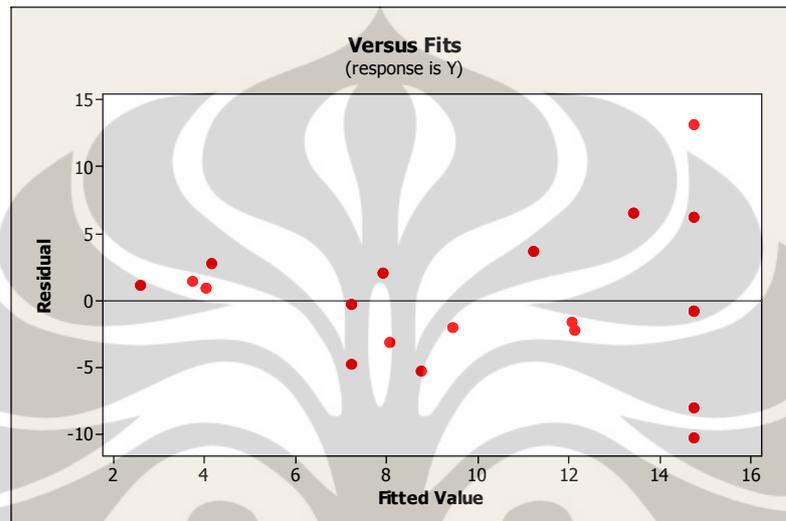


Gambar 4.6 Kurva Uji Kenormalan Residual Model Permukaan respon

Dari kurva di atas dapat diketahui bahwa nilai statistik Kolmogorov Smirnov adalah 0,093 atau kurang dari nilai statistik Kolmogorov Smirnov tabel dengan uji dua arah, jumlah pengamatan $n = 40$, dan $\alpha = 0,05$, yaitu 0,210 (lihat Tabel A6 pada lampiran). Oleh karena itu, kesimpulan hasil uji kenormalan residual adalah residual model regresi yang dibuat telah mengikuti distribusi normal, sehingga asumsi kenormalan residual model regresi yang telah dibuat pada orde II telah dipenuhi dan dapat digunakan.

- **Keidentikan**

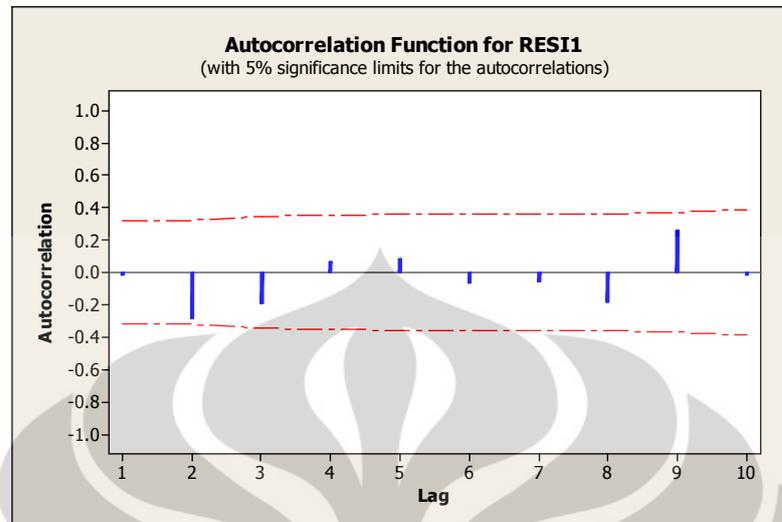
Pada Gambar 4.7 ditunjukkan bahwa plot antara residual dan dengan fit terlihat menyebar secara acak disekitar nol dan tidak membentuk pola tertentu. Hal ini berarti varian residual homogen.



Gambar 4.7 Plot antara Residual dengan *Fitted Value*

- **Independen**

Residual akan independen bilai nilai *Auto Correlation Function* (ACF) berada pada interval $\pm \frac{2}{\sqrt{n}}$. Untuk model orde kedua di atas, dengan jumlah pengamatan $n = 40$ residual telah memenuhi asumsi independen karena nilai AFC-nya terletak pada $\pm 0,32$, seperti yang terlihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Plot ACF untuk Residual

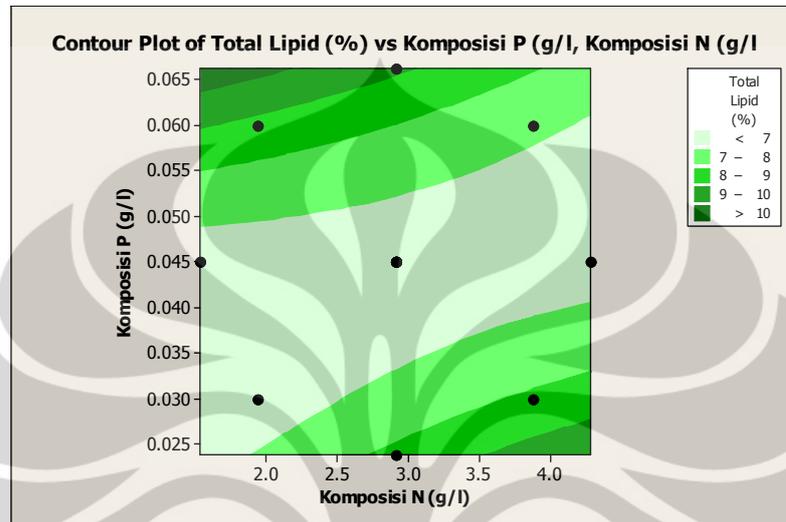
4.2.3 Penentuan Titik Optimum

Persamaan yang diperoleh setelah dilakukan perbaikan model adalah sesuai dengan persamaan 4.6 berikut,

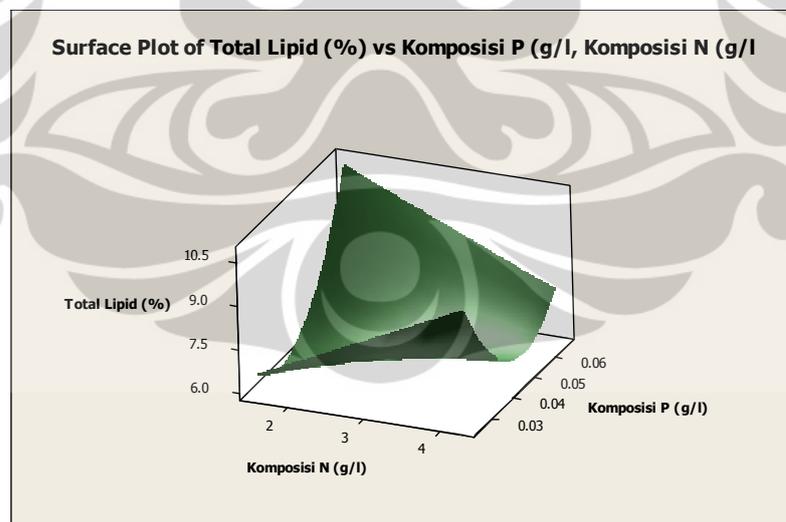
$$Y' = -10,97 + 11,11X_2 + 18,92X_3 - 1,64X_2^2 + 1486,11X_3^2 - 21,48X_2X_3 + \varepsilon \dots\dots\dots (4.6)$$

Sama halnya dengan bentuk plot kurva 3D pada alga *Chlamydomonas Sp*, bentuk kurva pada *Chlorococcum Sp* pada Gambar 4.10 adalah bentuk pelana dan hal ini menyulitkan dalam penentuan titik optimum. Penentuan titik optimum dapat dilakukan dengan mengalisa tingkat pengaruh komposisi N dan komposisi P terhadap permukaan respon total lipid berdasarkan kontur permukaan respon pada Gambar 4.9, Pada Gambar 4.9 dapat diketahui bahwa kandungan total lipid semakin meningkat seiring dengan meningkatnya komposisi P dan semakin menurunnya komposisi N. Hasil pada alga ini juga membuktikan teori yang disampaikan oleh Becker (2000) dan Borowitzka (1988) bahwa produksi lipid akan semakin tinggi jika komposisi nitrogen rendah sedangkan komposisi fosfor tinggi. Nilai dari total lipid pada alga *Chlorococcum Sp* lebih rendah dibandingkan dengan total lipid pada alga *Chlamydomonas Sp*. Kandungan total lipid yang tinggi yaitu 8% ke atas diperoleh

pada rentang komposisi P yang tinggi yaitu 0,05 g/l – 0,065 g/l (level +1 sampai level $+\alpha$) dan rentang komposisi N yang rendah yaitu 2,9 g/l – 1,28 g/l (level 0 sampai $-\alpha$).



Gambar 4.9 Plot Kontur untuk Kandungan Total Lipid *Chlorococcum Sp*



Gambar 4.10 Plot Kontur 3D untuk Kandungan Lipid *Chlorococcum Sp*

Titik stasioner terjadi pada titik tengah yaitu berada pada komposisi N = 2,91 g/l dan komposisi P = 0,045 g/l, dimana total lipid yang diperoleh 4,43% yang artinya titik stasioner berada di bawah daerah rentang total lipid yang diprediksi minimum. Hal ini menyatakan bentuk kurva cenderung minimum dan terbukti dari bentuk kurva 3D dalam Gambar 4.10. Titik optimum diprediksi berada pada komposisi P = 0,059 g/l dan komposisi N = 1,93 g/l, dimana kandungan total lipid yang dapat dicapai adalah 8,74 %. Kandungan total lipid yang paling maksimum dicapai pada rentang komposisi N terendah yaitu pada level antara $-\alpha$ dan -1 sedangkan untuk komposisi P dicapai pada rentang tertinggi yaitu level -1 dan 0.

4.3 OPTIMASI PADA MIKROALGA *CHROOCOCCUS SP*

Sama halnya dengan tahapan optimasi kandungan total lipid yang dilakukan pada kedua mikroalga sebelumnya, maka tahapan optimasi yang sama juga dilakukan pada mikroalga *Chroococcus Sp.*

4.3.1 Analisis Orde I

Hasil analisis varian yang dilakukan berdasarkan rancangan orde I, ditunjukkan dalam Tabel 4.10 di bawah ini. Dari hasil analisis varian dapat diketahui bahwa nilai regresi secara serentak diperoleh $p\text{-value} = 0,144$ atau lebih dari derajat signifikansi. Hal ini berarti ketiga variabel bebas tidak dapat mewakili respon. Namun sama halnya pada analisis orde I untuk mikroalga *Chlorococcum Sp* $p\text{-value}$ untuk X3 adalah 0,043 atau kurang dari α (0,05), yang artinya X3 mempunyai pengaruh yang besar terhadap respon.

Tabel 4.11 Analisis Varian Model Orde I

Analysis of Variance for Y versus X1, X2, X3						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	3	887,73	887,73	295,91	2,26	0,144 tidak signifikan
Linear	3	887,73	887,73	295,91	2,26	0,144
X1	1	69,65	69,65	69,65	0,53	0,483
X2	1	115,13	115,13	115,13	0,88	0,371
X3	1	702,95	702,95	702,95	5,37	0,043 signifikan
Curvature	1	92,66	92,66	92,66	0,38	0,566 signifikan
Residual Error	10	1309,52	1309,52	130,95		
Lack-of-Fit	5	79,08	79,08	15,82	0,06	0,995 signifikan
Pure Error	5	1230,44	1230,44	246,09		
Total	13	2197,24				

Tabel 4.11 menunjukkan bahwa *p-value* pada uji *lack of fit* bernilai 0,995 atau lebih besar dari nilai α (0,05), yang artinya model yang dibuat telah sesuai dengan data. *P-value* untuk *curvature* dalam Tabel 4.11 adalah 0,566 atau lebih dari α (0,05), menyatakan bahwa kelengkungan tidak berpengaruh signifikan. Dari hasil analisis terhadap uji regresi uji *lack of fit*, dan uji *curvature* di atas, maka disimpulkan bahwa model orde I dikatakan masih tidak sesuai, karena salah satu parameter tidak memenuhi. Oleh karena model pada orde I dikatakan tidak sesuai, maka analisis kemudian dilanjutkan pada pendugaan model orde yang lebih tinggi yaitu orde II.

4.3.2 Analisis Orde II

Hasil analisis varian yang dilakukan berdasarkan rancangan orde I, ditunjukkan dalam Tabel 4.12 di bawah ini. Dari hasil analisis varian dapat diketahui bahwa nilai regresi secara serentak diperoleh *p-value* = 0,039 atau lebih dari derajat signifikansi. Hal ini berarti faktor-faktor mempunyai pengaruh terhadap respon. Jika dilihat dari *p-value* masing-masing faktor, maka faktor yang paling mempengaruhi respon adalah X3 (komposisi P) karena *p-value* X3 = 0,049 atau kurang dari α (0,05).

Tabel 4.12 Analisis Varian Model Orde II

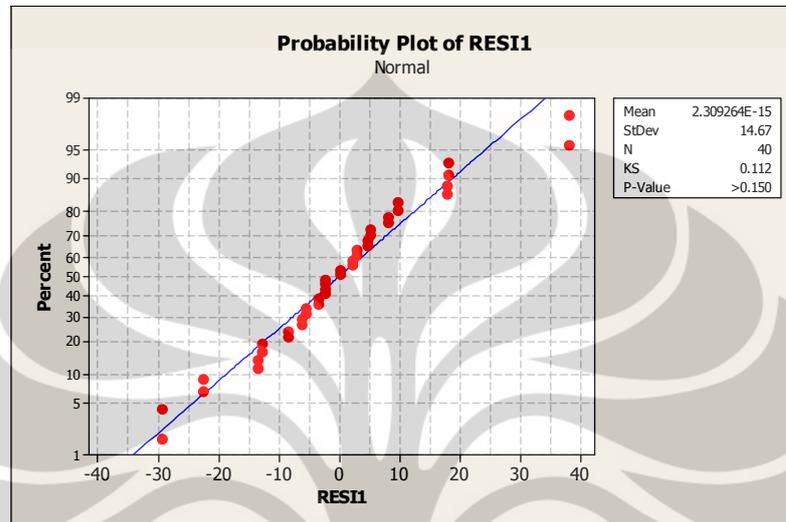
Analysis of Variance for Y versus X1, X2, X3						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	5896,3	5896,34	655,15	2,34	0,039 signifikan
Linear	3	1718,6	1718,62	572,87	2,05	0,128
X1	1	367,9	367,88	367,88	1,31	0,261
X2	1	221,1	221,10	221,10	0,79	0,381
X3	1	1129,6	1129,64	1129,64	4,04	0,049 signifikan
Square	3	4078,2	4078,23	1359,41	4,86	0,007
X1*X1	1	288,2	622,08	622,08	2,22	0,146
X2*X2	1	2365,5	2719,01	2719,01	9,72	0,004
X3*X3	1	1424,5	1424,52	1424,52	5,09	0,032
Interaction	3	99,5	99,50	33,17	0,12	0,949
X1*X2	1	2,8	2,84	2,84	0,01	0,920
X1*X3	1	71,1	71,07	71,07	0,25	0,618
X2*X3	1	25,6	25,58	25,58	0,09	0,044 signifikan
Residual Error	30	8395,6	8395,60	279,85		
Lack-of-Fit	5	2088,5	2088,47	417,69	1,66	0,182 signifikan
Pure Error	25	6307,1	6307,12	252,28		
Total	39	14291,9				

Untuk pengujian interaksi antar respon dapat dilihat *p-value* pada X2*X3 adalah 0,044 atau kurang dari nilai α (0,05), hal ini berarti faktor X2 dan X3 yang mempunyai pengaruh yang paling besar terhadap respon. Hasil pengujian ini memberikan hasil yang sama pada pengujian pada kedua mikroalga yang telah dioptimasi sebelumnya, yang menyatakan bahwa komposisi fosfor dan nitrogen yang memberikan pengaruh yang paling besar terhadap respon atau total lipid. Selanjutnya dilakukan uji residual, yaitu uji normalitas, keidentikan, dan uji kesesuaian model regresi.

- **Uji Kenormalan Residual (Uji Normalitas)**

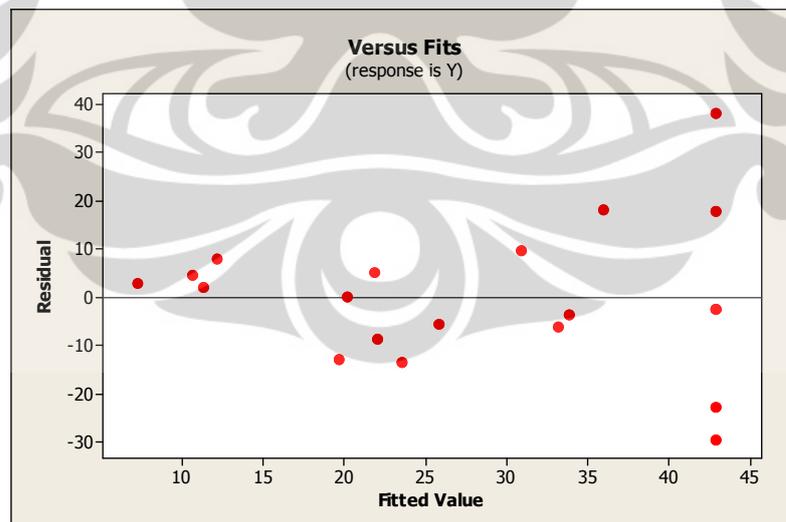
Berdasarkan kurva pada Gambar 4.11, dapat diketahui bahwa nilai statistik Kolmogorov Smirnov adalah 0,112 atau kurang dari nilai statistik Kolmogorov Smirnov Tabel dengan uji dua arah, jumlah pengamatan $n = 40$, dan $\alpha = 0,05$, yaitu 0,210 (lihat Tabel A6 pada lampiran). Oleh karena itu, kesimpulan hasil uji kenormalan residual adalah residual model regresi yang dibuat telah mengikuti

distribusi normal, sehingga asumsi kenormalan residual model regresi yang telah dibuat pada orde II telah dipenuhi dan dapat digunakan.



Gambar 4.11 Kurva Uji Kenormalan Residual Model Permukaan respon

- **Keidentikan**

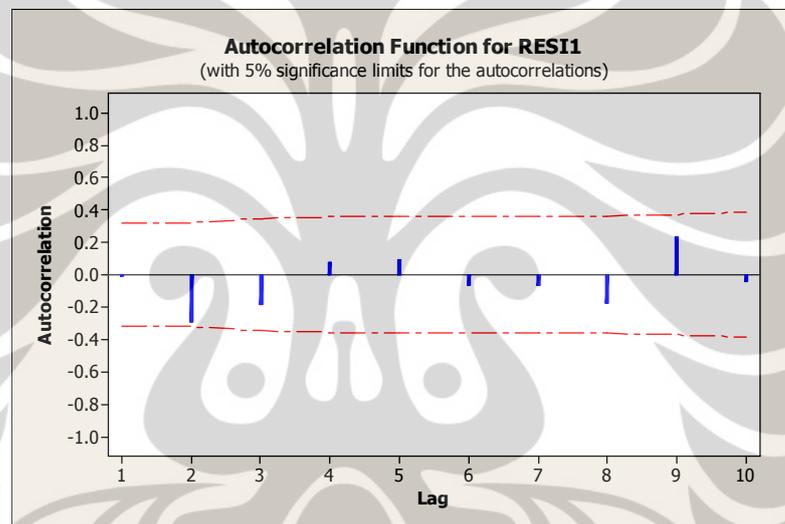


Gambar 4.12 Plot antara Residual dengan *Fitted Value*

Pada Gambar 4.12 ditunjukkan bahwa plot antara residual dan dengan fit terlihat menyebar secara acak disekitar nol. Hal ini berarti varian residual homogen.

- **Independen**

Residual akan independen bilai nilai *Auto Correlation Function* (ACF) berada pada interval $\pm \frac{2}{\sqrt{n}}$. Untuk model orde kedua di atas, dengan jumlah pengamatan $n = 40$ residual telah memenuhi asumsi independen karena nilai AFC-nya terletak pada $\pm 0,32$, seperti yang terlihat pada Gambar 4.13.

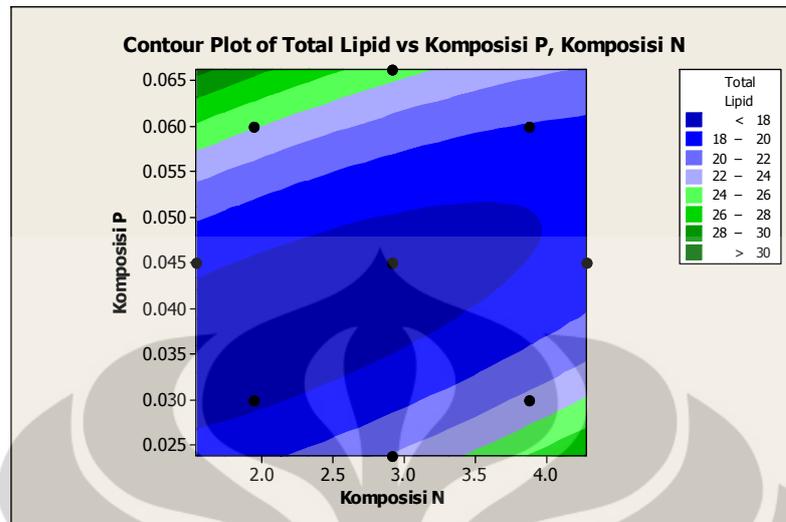


Gambar 4.13 Plot ACF untuk Residual

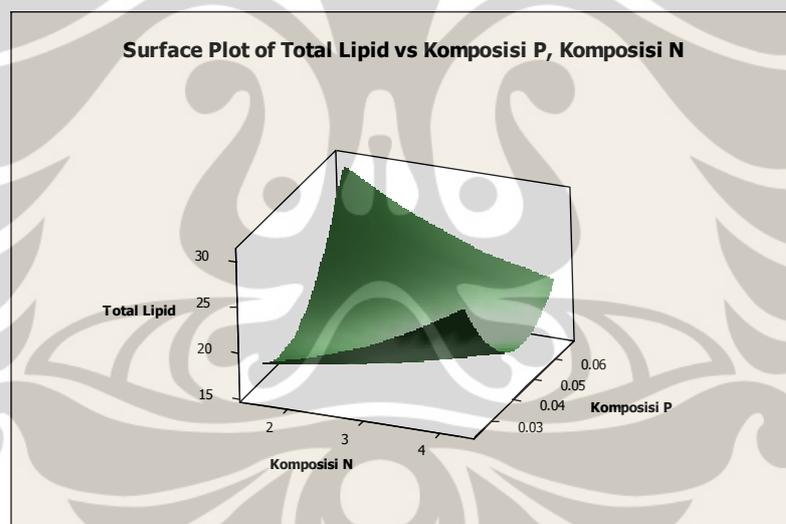
4.3.3 Penentuan Titik Optimum

Persamaan yang diperoleh setelah dilakukan perbaikan model adalah sesuai dengan persamaan 4.7 berikut,

$$Y' = -36,61 + 32,69X_2 + 226X_3 - 4,88X_2^2 + 2060X_3^2 - 57,94X_2X_3 + \varepsilon \quad (4.7)$$



Gambar 4.14 Plot Kontur untuk Kandungan Total Lipid *Chroococcus Sp*



Gambar 4.15 Plot Kontur 3D untuk Kandungan Total Lipid *Chroococcus Sp*

Dari plot kurva pada Gambar 4.14 dan 4.15 dapat diketahui bahwa bentuk merupakan bentuk kurva minimum. Hal ini terbukti bahwa titik stasionernya berada pada daerah kandungan total lipid yang paling rendah yaitu 10,78 %. Titik stasioner berada pada komposisi P = 2,91 g/l dan komposisi N = 0,045 g/l. Walaupun plot kurva optimasi berbentuk kurva minimum, titik optimum dapat ditentukan dengan

menganalisa tingkat pengaruh komposisi N dan komposisi P terhadap permukaan respon total lipid berdasarkan kontur permukaan respon pada Gambar 4,14. Sama halnya pada kedua alga sebelumnya, kandungan total lipid pada alga *Chroococcus Sp* meningkat seiring dengan meningkatnya komposisi P dan semakin menurunnya komposisi N, Titik optimum diprediksi berada pada komposisi P = 0,059 g/l dan komposisi N = 1,93 g/l, dimana kandungan total lipid yang dapat dicapai adalah 24,23 %. Kandungan total lipid yang paling maksimum dicapai pada rentang komposisi N terendah yaitu pada level antara - α dan -1 sedangkan untuk komposisi P dicapai pada rentang tertinggi yaitu level -1 dan 0.

4.4 PERBANDINGAN HASIL OPTIMASI TOTAL LIPID KETIGA MIKROALGA

Dari hasil optimasi kandungan lipid ketiga mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa titik optimum untuk komposisi N dan komposisi P yang diperoleh hampir mirip untuk ketiga alga tersebut. Untuk memperoleh kandungan total lipid yang paling maksimum dari ketiga mikroalga yang digunakan, maka komposisi N harus diturunkan hingga 1,93 g/l - 1,94 g/l dan komposisi P harus dinaikkan di atas 0,059 g/l.

Tabel 4.13 Perolehan Titik Optimum untuk Total Lipid yang Maksimum

Mikroalga	Titik Optimum		Total Lipid Maksimum (%)
	Komposisi N (g/l)	Komposisi P (g/l)	
<i>Chlamydomonas Sp</i>	1,94	0,059	28,19
<i>Chlorococcum Sp</i>	1,93	0,059	8,74
<i>Chroococcus Sp</i>	1,93	0,059	24,23

Berdasarkan Tabel 4.13, dari ketiga alga tersebut yang memiliki kandungan lipid terbesar pada kondisi optimum adalah *Chlamydomonas Sp*. Namun kandungan total lipid pada *Chroococcus Sp* tidak berbeda jauh dengan kandungan lipid pada

Chlamydomonas Sp sehingga kedua alga tersebut mempunyai potensi yang sama dalam menghasilkan lipid yang besar. Untuk membuktikan kesesuaian model yang telah diperoleh dari hasil optimasi tersebut perlu dilakukan validasi dengan melakukan percobaan di laboratorium.



BAB V

KESIMPULAN

5.1 KESIMPULAN

Dari hasil optimasi variabel-variabel yang mempengaruhi kandungan total lipid mikroalga yang diperoleh dalam penelitian ini, maka dapat disimpulkan :

1. Metode permukaan respon dapat digunakan untuk mengetahui nilai komposisi N dan komposisi P yang dapat menyebabkan total lipid pada alga *Chlamydomonas Sp*, *Chlorococcum Sp*, dan *Chroococcus Sp* menjadi maksimum.
2. Dari ketiga faktor-faktor (variabel kultur), yaitu kerapatan sel, komposisi N, dan komposisi P yang berpengaruh terhadap terhadap kandungan lipid total dari ketiga alga, yaitu *Chlamydomonas Sp*, *Chlorococcum Sp*, dan *Chroococcus Sp*, hanya komposisi N dan komposisi P saja yang mempunyai pengaruh paling besar atau berpengaruh nyata terhadap produksi total lipid mikroalga tersebut.
3. Titik optimum yang diprediksi dari komposisi P dan komposisi N yang menghasilkan total lipid yang paling maksimum pada ketiga alga adalah hampir sama yaitu, untuk komposisi P = 0,059 g/l dan untuk komposisi N = 1,93 – 1,94 g/l. Kandungan lipid paling maksimum pada titik optimum untuk alga *Chlamydomonas Sp* adalah 28,19%, *Chlorococcum Sp* adalah 8,74%, dan *Chroococcus Sp* = 24,23%.
4. Dari ketiga mikroalga yang digunakan, *Chlamydomonas Sp* yang mempunyai kandungan total lipid yang paling tinggi, yaitu 28,19.

DAFTAR PUSTAKA

- Barclay, L. R. C., 1993. *Model biomembranes – Quantitative studies of peroxidation, antioxidant action, partitioning, and oxidative stress*. Canadian Journal of Chemistry **71**: 1-16.
- Bajpai, P. dan P.K. Bajpai. 1993. *Eicosapentaenoic Acid (EPA) Production from Microorganisms : A Review*. Journal of Biotechnology **30** : 161-183
- Becker, E. W., 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University, England.
- Bold, H. C., and M.J. Wynne. 1985. *Introduction to the Algae Structure and Reproduction*. Prentice Hall Inc. Englewood, New Jersey.
- Borowitzka, Michael A., 1998. *Nineteenth Internasional Seaweed Symposium*, Japan.
- Christi, Yusuf, 2007. *Biodiesel from Microalgae*. Biotechnology Advances, **25**. Pp. 294-306
- Colman B, Gehl KA. 1983. *Effect of External pH on the Internal pH of Chlorella saccharophila*. J Plant Physiol.
- Davis, C. C. 1951. *The Marine and Freshwater Plankton*. Michigan State University Press, USA.
- Daniel, W. W. 1991. Statistik Nonparametrik Terapan. Gramedia, Jakarta.
- Demirbas, Ayhan. 2010. *Algae as a New Source of Biodiesel*. Energy Technology Sirtak University, Turkey.
- Gaspersz, V. 1995. Teknik Analisis Dalam Penelitian Percobaan 2. Tarsito, Bandung.
- Kabinawa and Miyamoto. 1994. *Cultivation of Algae Cells Chlorella pyrenoidesa*. Annual Reports of IC Biotech. International Center of Cooperative in Biotechnology, Engineering Faculty Osaka University, Osaka-Jepang.

- Kaneko, M., Saeki, S., N. Kuwahara, M. Nakata, 1976. *Polymer* **17**. 685.
- Kawaroe, M., 2010. *Mikroalgae* untuk *biofuel*. Pusat Penelitian Surfaktan dan Bioenergi, Institut Pertanian, Bogor.
- Lee, J-Y., Yoo, C., Jun S., Ahn, C., dan Oh, H. 2010. *Comparison of Several Methods for Effective Lipid Extraction from Microalgae*. *Bioresources Technology*, **101**. Pp. S75-S77
- Montgomery, D.C. 2001. *Design and Analysys of Experiments*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Nur Iriawan dan Septin, PA. 2006. Mengolah Data Statistik dengan Mudah Menggunakan Minitab 14. ANDI OFFSET, Yogyakarta.
- Sudjana. 1985. Desain dan Analisis Eksperimen. Tarsito, Bandung.
- Takagi M, Karseno, Yoshida T. 2005. *Efect of Salt Consentration on Intraseluler Accumulation of Lipids and Triacyglyceride in Marine Microalga Dunaliella*. *J Biosci*
- Yolanda, F. S. 2009. Isolasi, Seleksi, dan Optimasi Pertumbuhan Ganggang Mikro yang potensial sebagai Penghasil Bahan Bakar Nabati. Tesis. Departemen Ilmu Tanah. Institut Pertanian Bogor.

LAMPIRAN

DATA AWAL

Jenis Mikroalga	Kerapatan sel / rapat optis (OD)	Komposisi Sumber N KNO ₃ (g/l)	Konsentrasi Sumber P KH ₂ PO ₄ (g/l)	Total lipid (%)
Chlamydomonas sp	0,6	1,94	0,032	9,5
	0,72	0,97	0,032	3,2
	0,45	2,91	0,032	6
	0,25	3,88	0,032	1,7
	1	1,94	0,016	3
	0,4	1,94	0,064	5,3
	0,35	1,94	0,128	3,6
Chlorococcum sp	0,6	1,94	0,032	3
	0,72	0,97	0,032	15,2
	0,45	2,91	0,032	7,7
	0,25	3,88	0,032	4
	1	1,94	0,016	4,2
	0,4	1,94	0,064	7,5
	0,35	1,94	0,128	4,5
Chroococcus sp	0,6	1,94	0,032	18
	0,72	0,97	0,032	20,5
	0,45	2,91	0,032	14
	0,25	3,88	0,032	15,8
	1	1,94	0,016	14,5
	0,4	1,94	0,064	17,3
	0,35	1,94	0,128	18,4

Sumber : Yolanda Fitria Syahri, 2009

DATA HASIL INTERPOLASI

Mikroalga *Chlamydomonas Sp*

Run	Variabel Bebas			Respon
	X1	X2	X3	Y
	Kerapatan sel	Komposisi Sumber N (g/l)	Komposisi Sumber P (g/l)	Total Lipid (%)
1	0,4	1,94	0,032	0,422
2	0,4	2,91	0,032	0,633
3	0,4	3,88	0,032	0,845
4	0,4	1,94	0,042	6,333
5	0,4	2,91	0,042	9,500
6	0,4	3,88	0,042	12,667
7	0,4	1,94	0,064	5,300
8	0,4	2,91	0,064	7,950
9	0,4	3,88	0,064	10,600
10	0,6	1,94	0,016	0,633
11	0,6	2,91	0,016	0,950
12	0,6	3,88	0,016	1,267
13	0,6	1,94	0,032	9,500
14	0,6	2,91	0,032	14,250
15	0,6	3,88	0,032	19,000
16	0,6	1,94	0,064	7,950
17	0,6	2,91	0,064	11,925
18	0,6	3,88	0,064	15,900
19	0,72	1,94	0,016	0,760
20	0,72	2,91	0,016	1,140
21	0,72	3,88	0,016	1,520
22	0,72	1,94	0,032	11,400
23	0,72	2,91	0,032	17,100
24	0,72	3,88	0,032	22,800
25	0,72	1,94	0,064	0,760
26	0,72	2,91	0,064	1,140
27	0,72	3,88	0,064	1,520

Mikroalga *Chlorococcum Sp*

Run	Variabel Bebas			Respon
	X1	X2	X3	Y
	Kerapatan sel	Komposisi Sumber N (g/l)	Komposisi Sumber P (g/l)	Total Lipid (%)
1	1,94	0,016	0,25	2,500
2	2,91	0,016	0,25	3,750
3	3,88	0,016	0,25	5,000
4	1,94	0,032	0,25	5,000
5	2,91	0,032	0,25	7,500
6	3,88	0,032	0,25	10,000
7	1,94	0,064	0,25	10,000
8	2,91	0,064	0,25	15,000
9	3,88	0,064	0,25	20,000
10	1,94	0,016	0,35	3,500
11	2,91	0,016	0,35	5,250
12	3,88	0,016	0,35	7,000
13	1,94	0,032	0,35	7,000
14	2,91	0,032	0,35	10,500
15	3,88	0,032	0,35	14,000
16	1,94	0,064	0,35	14,000
17	2,91	0,064	0,35	21,000
18	3,88	0,064	0,35	28,000
19	1,94	0,016	0,45	4,500
20	2,91	0,016	0,45	6,750
21	3,88	0,016	0,45	9,000
22	1,94	0,032	0,45	9,000
23	2,91	0,032	0,45	13,500
24	3,88	0,032	0,45	18,000
25	1,94	0,064	0,45	18,000
26	2,91	0,064	0,45	27,000
27	3,88	0,064	0,45	36,000

Mikroalga *Chroococcus Sp*

Run	Variabel Bebas			Respon
	X1	X2	X3	Y
	Kerapatan sel	Komposisi Sumber N (g/l)	Komposisi Sumber P (g/l)	Total Lipid (%)
1	1,94	0,016	0,2	6,744
2	2,91	0,016	0,2	10,116
3	3,88	0,016	0,2	13,488
4	1,94	0,032	0,2	13,488
5	2,91	0,032	0,2	20,233
6	3,88	0,032	0,2	26,977
7	1,94	0,064	0,2	26,977
8	2,91	0,064	0,2	40,465
9	3,88	0,064	0,2	53,953
10	1,94	0,016	0,3	10,116
11	2,91	0,016	0,3	15,174
12	3,88	0,016	0,3	20,233
13	1,94	0,032	0,3	20,233
14	2,91	0,032	0,3	30,349
15	3,88	0,032	0,3	40,465
16	1,94	0,064	0,3	40,465
17	2,91	0,064	0,3	60,698
18	3,88	0,064	0,3	80,930
19	1,94	0,016	0,4	13,488
20	2,91	0,016	0,4	20,233
21	3,88	0,016	0,4	26,977
22	1,94	0,032	0,4	26,977
23	2,91	0,032	0,4	40,465
24	3,88	0,032	0,4	53,953
25	1,94	0,064	0,4	53,953
26	2,91	0,064	0,4	80,930
27	3,88	0,064	0,4	53,72

Data Perbaikan Model Orde II

Mikroalga *Chlamydomonas Sp*

Run	Variabel Bebas			Respon
	X1	X2	X3	Y'
	Kerapatan sel	Komposisi Sumber N (g/l)	Komposisi Sumber P (g/l)	Total Lipid (%)
1	0,4	1,94	0,032	12,968
2	0,4	2,91	0,032	21,533
3	0,4	3,88	0,032	33,014
4	0,4	1,94	0,042	13,005
5	0,4	2,91	0,042	21,583
6	0,4	3,88	0,042	33,077
7	0,4	1,94	0,064	13,087
8	0,4	2,91	0,064	21,693
9	0,4	3,88	0,064	33,216
10	0,6	1,94	0,016	12,908
11	0,6	2,91	0,016	21,452
12	0,6	3,88	0,016	32,913
13	0,6	1,94	0,032	12,968
14	0,6	2,91	0,032	21,533
15	0,6	3,88	0,032	33,014
16	0,6	1,94	0,064	13,087
17	0,6	2,91	0,064	21,693
18	0,6	3,88	0,064	33,216
19	0,72	1,94	0,016	12,908
20	0,72	2,91	0,016	21,452
21	0,72	3,88	0,016	32,913
22	0,72	1,94	0,032	12,968
23	0,72	2,91	0,032	21,533
24	0,72	3,88	0,032	33,014
25	0,72	1,94	0,064	13,087
26	0,72	2,91	0,064	21,693
27	0,72	3,88	0,064	33,216

Mikroalga *Chlorococcus Sp*

Run	Variabel Bebas			Respon
	X1	X2	X3	Y
	Kerapatan sel	Komposisi Sumber N (g/l)	Komposisi Sumber P (g/l)	Total Lipid (%)
1	1,94	0,016	0,2	5,205
2	2,91	0,016	0,2	7,599
3	3,88	0,016	0,2	6,908
4	1,94	0,032	0,2	6,077
5	2,91	0,032	0,2	8,263
6	3,88	0,032	0,2	7,363
7	1,94	0,064	0,2	9,042
8	2,91	0,064	0,2	10,770
9	3,88	0,064	0,2	9,412
10	1,94	0,016	0,3	4,428
11	2,91	0,016	0,3	7,155
12	3,88	0,016	0,3	6,797
13	1,94	0,032	0,3	5,205
14	2,91	0,032	0,3	7,599
15	3,88	0,032	0,3	6,908
16	1,94	0,064	0,3	9,042
17	2,91	0,064	0,3	10,770
18	3,88	0,064	0,3	9,412
19	1,94	0,016	0,4	4,428
20	2,91	0,016	0,4	7,155
21	3,88	0,016	0,4	6,797
22	1,94	0,032	0,4	5,205
23	2,91	0,032	0,4	7,599
24	3,88	0,032	0,4	6,908
25	1,94	0,064	0,4	9,042
26	2,91	0,064	0,4	10,770
27	3,88	0,064	0,4	9,412

Mikroalga *Chroococcus Sp*

Run	Variabel Bebas			Respon
	X1	X2	X3	Y
	Kerapatan sel	Komposisi Sumber N (g/l)	Komposisi Sumber P (g/l)	Total Lipid (%)
1	1,94	0,016	0,25	2,500
2	2,91	0,016	0,25	3,750
3	3,88	0,016	0,25	5,000
4	1,94	0,032	0,25	5,000
5	2,91	0,032	0,25	7,500
6	3,88	0,032	0,25	10,000
7	1,94	0,064	0,25	10,000
8	2,91	0,064	0,25	15,000
9	3,88	0,064	0,25	20,000
10	1,94	0,016	0,35	3,500
11	2,91	0,016	0,35	5,250
12	3,88	0,016	0,35	7,000
13	1,94	0,032	0,35	7,000
14	2,91	0,032	0,35	10,500
15	3,88	0,032	0,35	14,000
16	1,94	0,064	0,35	14,000
17	2,91	0,064	0,35	21,000
18	3,88	0,064	0,35	28,000
19	1,94	0,016	0,45	4,500
20	2,91	0,016	0,45	6,750
21	3,88	0,016	0,45	9,000
22	1,94	0,032	0,45	9,000
23	2,91	0,032	0,45	13,500
24	3,88	0,032	0,45	18,000
25	1,94	0,064	0,45	18,000
26	2,91	0,064	0,45	27,000
27	3,88	0,064	0,45	36,000



HASIL SIMULASI UNTUK ORDE I
MIKROALGA *CHLAMYDOMONAS SP*

Welcome to Minitab, press F1 for help.

Central Composite Design

Factors: 3 Replicates: 1
 Base runs: 20 Total runs: 20
 Base blocks: 1 Total blocks: 1

Two-level factorial: Full factorial

Cube points: 8
 Center points in cube: 6
 Axial points: 6
 Center points in axial: 0

Alpha: 1.68179

Design Table

Run	Blk	A	B	C
1	1	-1.00000	-1.00000	-1.00000
2	1	1.00000	-1.00000	-1.00000
3	1	-1.00000	1.00000	-1.00000
4	1	1.00000	1.00000	-1.00000
5	1	-1.00000	-1.00000	1.00000
6	1	1.00000	-1.00000	1.00000
7	1	-1.00000	1.00000	1.00000
8	1	1.00000	1.00000	1.00000
9	1	-1.68179	0.00000	0.00000
10	1	1.68179	0.00000	0.00000
11	1	0.00000	-1.68179	0.00000
12	1	0.00000	1.68179	0.00000
13	1	0.00000	0.00000	-1.68179
14	1	0.00000	0.00000	1.68179
15	1	0.00000	0.00000	0.00000
16	1	0.00000	0.00000	0.00000
17	1	0.00000	0.00000	0.00000
18	1	0.00000	0.00000	0.00000
19	1	0.00000	0.00000	0.00000
20	1	0.00000	0.00000	0.00000

Response Surface Regression: Y versus X1, X2, X3

The analysis was done using coded units.

Estimated Regression Coefficients for Y

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	5.7751	1.240	4.659	0.001
X1	1.4396	1.640	0.878	0.399
X2	-0.3493	1.640	-0.213	0.835
X3	3.3979	1.640	2.072	0.063

S = 4.63825 PRESS = 325.473
 R-Sq = 33.82% R-Sq(pred) = 0.00% R-Sq(adj) = 13.96%

Analysis of Variance for Y

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	3	111.321	111.321	37.1070	1.74	0.223
Linear	3	111.321	111.321	37.1070	1.74	0.223
X1	1	16.579	16.579	16.5788	0.78	0.399
X2	1	0.976	0.976	0.9761	0.05	0.835
X3	1	93.766	93.766	93.7661	4.39	0.063

Residual Error	10	213.732	213.732	21.3732		
Lack-of-Fit	5	37.797	37.797	7.1595	0.20	0.948
Pure Error	5	177.935	177.935	35.5869		
Total	13	325.053				

Estimated Regression Coefficients for Y using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-6.71016
X1	8.99730
X2	-0.360114
X3	169.893





HASIL SIMULASI UNTUK ORDE II
MIKROALGA *CHLAMYDOMONAS SP*

Welcome to Minitab, press F1 for help.

Central Composite Design

Factors: 3 Replicates: 2
 Base runs: 20 Total runs: 40
 Base blocks: 1 Total blocks: 1

Two-level factorial: Full factorial

Cube points: 16
 Center points in cube: 12
 Axial points: 12
 Center points in axial: 0

Alpha: 1.68179

Design Table

Run	Blk	A	B	C
1	1	-1.00000	-1.00000	-1.00000
2	1	1.00000	-1.00000	-1.00000
3	1	-1.00000	1.00000	-1.00000
4	1	1.00000	1.00000	-1.00000
5	1	-1.00000	-1.00000	1.00000
6	1	1.00000	-1.00000	1.00000
7	1	-1.00000	1.00000	1.00000
8	1	1.00000	1.00000	1.00000
9	1	-1.68179	0.00000	0.00000
10	1	1.68179	0.00000	0.00000
11	1	0.00000	-1.68179	0.00000
12	1	0.00000	1.68179	0.00000
13	1	0.00000	0.00000	-1.68179
14	1	0.00000	0.00000	1.68179
15	1	0.00000	0.00000	0.00000
16	1	0.00000	0.00000	0.00000
17	1	0.00000	0.00000	0.00000
18	1	0.00000	0.00000	0.00000
19	1	0.00000	0.00000	0.00000
20	1	0.00000	0.00000	0.00000
21	1	-1.00000	-1.00000	-1.00000
22	1	1.00000	-1.00000	-1.00000
23	1	-1.00000	1.00000	-1.00000
24	1	1.00000	1.00000	-1.00000
25	1	-1.00000	-1.00000	1.00000
26	1	1.00000	-1.00000	1.00000
27	1	-1.00000	1.00000	1.00000
28	1	1.00000	1.00000	1.00000
29	1	-1.68179	0.00000	0.00000
30	1	1.68179	0.00000	0.00000
31	1	0.00000	-1.68179	0.00000
32	1	0.00000	1.68179	0.00000
33	1	0.00000	0.00000	-1.68179
34	1	0.00000	0.00000	1.68179
35	1	0.00000	0.00000	0.00000
36	1	0.00000	0.00000	0.00000
37	1	0.00000	0.00000	0.00000
38	1	0.00000	0.00000	0.00000
39	1	0.00000	0.00000	0.00000
40	1	0.00000	0.00000	0.00000

Response Surface Regression: Y versus x1, x2, x3

The analysis was done using coded units.

Estimated Regression Coefficients for Y

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	9.46356	1.4301	6.617	0.000
x1	-0.38406	0.9488	-0.405	0.689
x2	-0.16562	0.9488	-0.175	0.863
x3	2.57537	0.9488	2.714	0.011
x1*x1	-1.46923	0.9237	-1.591	0.122
x2*x2	-3.06311	0.9237	-3.316	0.002
x3*x3	0.74341	0.9237	0.805	0.427
x1*x2	0.59511	1.2397	0.480	0.635
x1*x3	0.01460	1.2397	0.012	0.991
x2*x3	-1.87986	1.2397	-1.516	0.040

S = 4.95880 PRESS = 1037.24
R-Sq = 44.73% R-Sq(pred) = 22.29% R-Sq(adj) = 28.15%

Analysis of Variance for Y

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	597.10	597.096	66.344	2.70	0.020
Linear	3	185.94	185.937	61.979	2.52	0.077
x1	1	4.03	4.029	4.029	0.16	0.689
x2	1	0.75	0.749	0.749	0.03	0.863
x3	1	181.16	181.159	181.159	7.37	0.011
Square	3	348.95	348.947	116.316	4.73	0.008
x1*x1	1	46.57	62.217	62.217	2.53	0.122
x2*x2	1	286.45	270.431	270.431	11.00	0.002
x3*x3	1	15.93	15.929	15.929	0.65	0.427
Interaction	3	62.21	62.212	20.737	0.84	0.481
x1*x2	1	5.67	5.667	5.667	0.23	0.635
x1*x3	1	0.00	0.003	0.003	0.00	0.991
x2*x3	1	56.54	56.542	56.542	2.30	0.040
Residual Error	30	737.69	737.692	24.590		
Lack-of-Fit	5	166.20	166.199	33.240	1.45	0.240
Pure Error	25	571.49	571.492	22.860		
Total	39	1334.79				

Estimated Regression Coefficients for Y using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-45.8135
x1	50.4461
x2	22.4430
x3	231.462
x1*x1	-57.3916
x2*x2	-3.25551
x3*x3	2903.93
x1*x2	3.83448
x1*x3	5.70288
x2*x3	-121.125

6/10/2012 7:18:52 AM

Welcome to Minitab, press F1 for help.
Retrieving project from file: 'D:\KUL KU\TUGAS KUL SMSTR 6\SKRIPSI\RUN
MINITAB\MINITAB ORDE 2 OK.MPJ'

Autocorrelation Function: RES11

Lag	ACF	T	LBQ
1	-0.066742	-0.42	0.19
2	-0.051618	-0.33	0.31
3	0.150360	0.94	1.34
4	-0.170563	-1.05	2.69
5	-0.271044	-1.62	6.22
6	0.027865	0.16	6.26
7	-0.049303	-0.28	6.38

8	-0.169836	-0.95	7.90
9	0.270611	1.48	11.87
10	-0.125751	-0.65	12.75

Autocorrelation for RESI1

6/20/2012 3:08:28 AM

Welcome to Minitab, press F1 for help.
Retrieving project from file: 'D:\KUL KU\TUGAS KUL SMSTR 6\SKRIPSI\RUN
MINITAB\MINITAB ORDE 2 OK.MPJ'





HASIL SIMULASI UNTUK ORDE I
MIKROALGA *CHLOROCOCCUM SP*

Welcome to Minitab, press F1 for help.

Central Composite Design

Factors: 3 Replicates: 1
 Base runs: 20 Total runs: 20
 Base blocks: 1 Total blocks: 1

Two-level factorial: Full factorial

Cube points: 8
 Center points in cube: 6
 Axial points: 6
 Center points in axial: 0

Alpha: 1.68179

Design Table

Run	Blk	A	B	C
1	1	-1.00000	-1.00000	-1.00000
2	1	1.00000	-1.00000	-1.00000
3	1	-1.00000	1.00000	-1.00000
4	1	1.00000	1.00000	-1.00000
5	1	-1.00000	-1.00000	1.00000
6	1	1.00000	-1.00000	1.00000
7	1	-1.00000	1.00000	1.00000
8	1	1.00000	1.00000	1.00000
9	1	-1.68179	0.00000	0.00000
10	1	1.68179	0.00000	0.00000
11	1	0.00000	-1.68179	0.00000
12	1	0.00000	1.68179	0.00000
13	1	0.00000	0.00000	-1.68179
14	1	0.00000	0.00000	1.68179
15	1	0.00000	0.00000	0.00000
16	1	0.00000	0.00000	0.00000
17	1	0.00000	0.00000	0.00000
18	1	0.00000	0.00000	0.00000
19	1	0.00000	0.00000	0.00000
20	1	0.00000	0.00000	0.00000

Response Surface Regression: Y versus X1, X2, X3

The analysis was done using coded units.

Estimated Regression Coefficients for Y

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	7.523	1.168	6.441	0.000
X1	1.094	1.519	0.720	0.488
X2	1.406	1.519	0.926	0.376
X3	3.341	1.484	2.251	0.048

S = 4.29754 PRESS = 234.239
 R-Sq = 39.17% R-Sq(pred) = 22.85% R-Sq(adj) = 20.92%

Analysis of Variance for Y

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	3	118.936	118.936	39.645	2.15	0.158
Linear	3	118.936	118.936	39.645	2.15	0.158
X1	1	9.570	9.570	9.570	0.52	0.488
X2	1	15.820	15.820	15.820	0.86	0.376
X3	1	93.545	93.545	93.545	5.07	0.048

Residual Error	10	184.689	184.689	18.469		
Lack-of-Fit	5	9.220	9.220	1.844	0.05	0.997
Pure Error	5	175.469	175.469	35.094		
Total	13	303.625				

Estimated Regression Coefficients for Y using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-10.5469
X1	6.83594
X2	1.44974
X3	222.727





HASIL SIMULASI UNTUK ORDE II
MIKROALGA *CHLOROCOCCUM SP*

Welcome to Minitab, press F1 for help.

Central Composite Design

Factors: 3 Replicates: 2
 Base runs: 20 Total runs: 40
 Base blocks: 1 Total blocks: 1

Two-level factorial: Full factorial

Cube points: 16
 Center points in cube: 12
 Axial points: 12
 Center points in axial: 0

Alpha: 1.68179

Response Surface Regression: Y versus X1, X2, X3

The analysis was done using coded units.

Estimated Regression Coefficients for Y

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	14.7464	1.713	8.606	0.000
X1	-1.3912	1.137	-1.224	0.231
X2	1.0393	1.137	0.914	0.368
X3	2.3531	1.137	2.070	0.047
X1*X1	-1.2944	1.107	-1.170	0.251
X2*X2	-3.2831	1.107	-2.967	0.006
X3*X3	-2.3550	1.107	-2.128	0.042
X1*X2	0.1563	1.485	0.105	0.917
X1*X3	0.7813	1.485	0.526	0.603
X2*X3	0.4687	1.485	0.316	0.755

S = 5.94132 PRESS = 1536.46
 R-Sq = 39.65% R-Sq(pred) = 12.45% R-Sq(adj) = 21.55%

Analysis of Variance for Y

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	695.89	695.89	77.321	2.19	0.052
Linear	3	233.61	233.61	77.869	2.21	0.108
X1	1	52.86	52.86	52.865	1.50	0.231
X2	1	29.50	29.50	29.501	0.84	0.368
X3	1	151.24	151.24	151.241	4.28	0.047
Square	3	448.61	448.61	149.538	4.24	0.013
X1*X1	1	18.09	48.29	48.291	1.37	0.251
X2*X2	1	270.66	310.68	310.676	8.80	0.006
X3*X3	1	159.86	159.86	159.857	4.53	0.042
Interaction	3	13.67	13.67	4.557	0.13	0.942
X1*X2	1	0.39	0.39	0.391	0.01	0.917
X1*X3	1	9.77	9.77	9.766	0.28	0.603
X2*X3	1	3.52	3.52	3.516	0.10	0.755
Residual Error	30	1058.98	1058.98	35.299		
Lack-of-Fit	5	289.37	289.37	57.875	1.88	0.134
Pure Error	25	769.60	769.60	30.784		
Total	39	1754.87				

Estimated Regression Coefficients for Y using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-43.0989
X1	30.3563

X2	19.3659
X3	822.853
X1*X1	-50.5620
X2*X2	-3.48935
X3*X3	-10466.9
X1*X2	1.00677
X1*X3	325.521
X2*X3	32.2165

Normplot of Residuals for Y

Residuals vs Fits for Y

Residuals vs Order for Y

Probability Plot of RESI1

Response Surface Regression: Y versus X1, X2, X3

The analysis was done using coded units.

Estimated Regression Coefficients for Y

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	14.7464	1.713	8.606	0.000
X1	-1.3912	1.137	-1.224	0.231
X2	1.0393	1.137	0.914	0.368
X3	2.3531	1.137	2.070	0.047
X1*X1	-1.2944	1.107	-1.170	0.251
X2*X2	-3.2831	1.107	-2.967	0.006
X3*X3	-2.3550	1.107	-2.128	0.042
X1*X2	0.1563	1.485	0.105	0.917
X1*X3	0.7813	1.485	0.526	0.603
X2*X3	0.4687	1.485	0.316	0.045

S = 5.94132 PRESS = 1536.46
R-Sq = 39.65% R-Sq(pred) = 12.45% R-Sq(adj) = 21.55%

Analysis of Variance for Y

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	695.89	695.89	77.321	2.19	0.042
Linear	3	233.61	233.61	77.869	2.21	0.108
X1	1	52.86	52.86	52.865	1.50	0.231
X2	1	29.50	29.50	29.501	0.84	0.368
X3	1	151.24	151.24	151.241	4.28	0.047
Square	3	448.61	448.61	149.538	4.24	0.013
X1*X1	1	18.09	48.29	48.291	1.37	0.251
X2*X2	1	270.66	310.68	310.676	8.80	0.006
X3*X3	1	159.86	159.86	159.857	4.53	0.042
Interaction	3	13.67	13.67	4.557	0.13	0.942
X1*X2	1	0.39	0.39	0.391	0.01	0.917
X1*X3	1	9.77	9.77	9.766	0.28	0.603
X2*X3	1	3.52	3.52	3.516	0.10	0.045
Residual Error	30	1058.98	1058.98	35.299		
Lack-of-Fit	5	289.37	289.37	57.875	1.88	0.134
Pure Error	25	769.60	769.60	30.784		
Total	39	1754.87				

Estimated Regression Coefficients for Y using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-43.0989

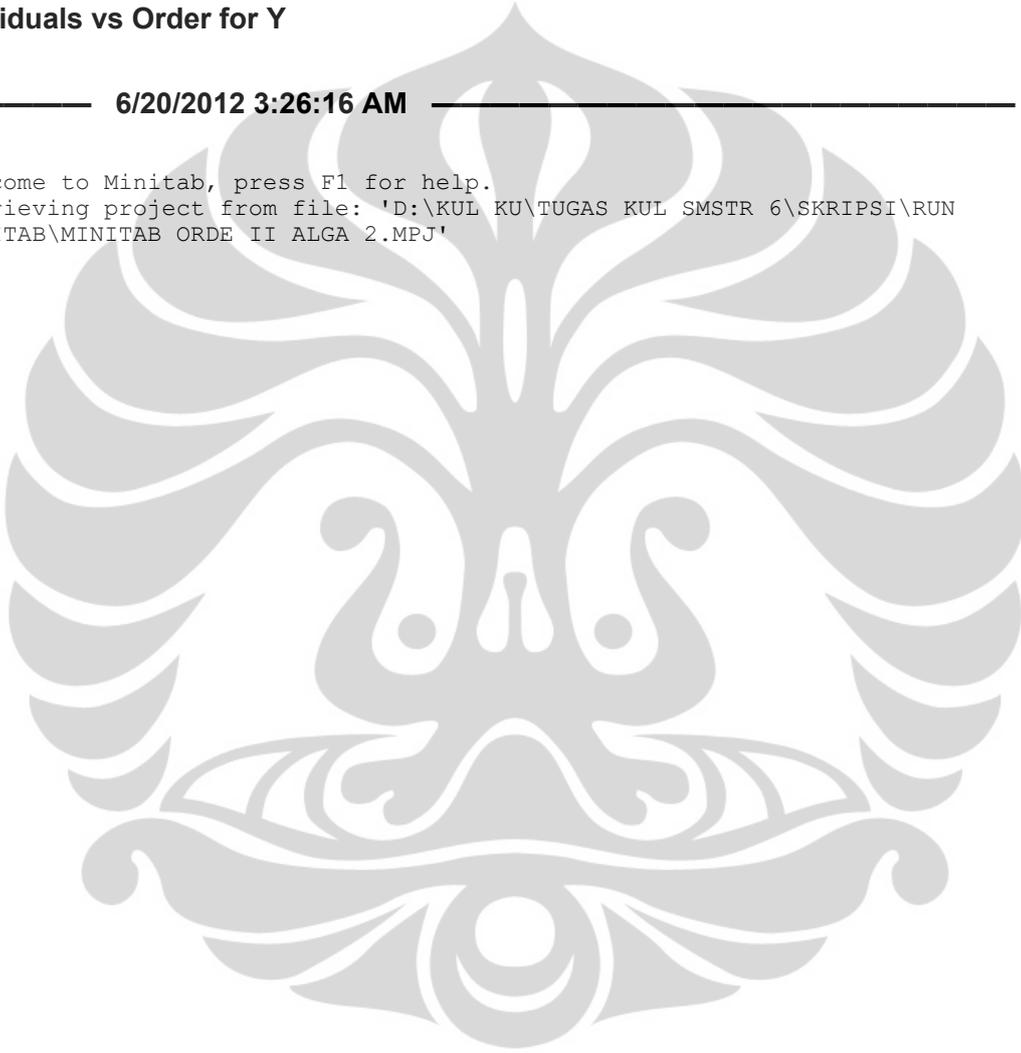
X1	30.3563
X2	19.3659
X3	822.853
X1*X1	-50.5620
X2*X2	-3.48935
X3*X3	-10466.9
X1*X2	1.00677
X1*X3	325.521
X2*X3	32.2165

Residuals vs Fits for Y

Residuals vs Order for Y

6/20/2012 3:26:16 AM

Welcome to Minitab, press F1 for help.
Retrieving project from file: 'D:\KUL KU\TUGAS KUL SMSTR 6\SKRIPSI\RUN
MINITAB\MINITAB ORDE II ALGA 2.MPJ'





HASIL SIMULASI UNTUK ORDE I
MIKROALGA *CHROOCOCCUS SP*

Welcome to Minitab, press F1 for help.

Central Composite Design

Factors: 3 Replicates: 1
 Base runs: 20 Total runs: 20
 Base blocks: 1 Total blocks: 1

Two-level factorial: Full factorial

Cube points: 8
 Center points in cube: 6
 Axial points: 6
 Center points in axial: 0

Alpha: 1.68179

Design Table

Run	Blk	A	B	C
1	1	-1.00000	-1.00000	-1.00000
2	1	1.00000	-1.00000	-1.00000
3	1	-1.00000	1.00000	-1.00000
4	1	1.00000	1.00000	-1.00000
5	1	-1.00000	-1.00000	1.00000
6	1	1.00000	-1.00000	1.00000
7	1	-1.00000	1.00000	1.00000
8	1	1.00000	1.00000	1.00000
9	1	-1.68179	0.00000	0.00000
10	1	1.68179	0.00000	0.00000
11	1	0.00000	-1.68179	0.00000
12	1	0.00000	1.68179	0.00000
13	1	0.00000	0.00000	-1.68179
14	1	0.00000	0.00000	1.68179
15	1	0.00000	0.00000	0.00000
16	1	0.00000	0.00000	0.00000
17	1	0.00000	0.00000	0.00000
18	1	0.00000	0.00000	0.00000
19	1	0.00000	0.00000	0.00000
20	1	0.00000	0.00000	0.00000

Response Surface Regression: Y versus X1, X2, X3

The analysis was done using coded units.

Estimated Regression Coefficients for Y

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	20.731	3.110	6.666	0.000
X1	2.951	4.046	0.729	0.483
X2	3.794	4.046	0.938	0.371
X3	9.158	3.953	2.317	0.043

S = 11.4434 PRESS = 1674.31
 R-Sq = 40.40% R-Sq(pred) = 23.80% R-Sq(adj) = 22.52%

Analysis of Variance for Y

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	3	887.73	887.73	295.91	2.26	0.144
Linear	3	887.73	887.73	295.91	2.26	0.144
X1	1	69.65	69.65	69.65	0.53	0.483
X2	1	115.13	115.13	115.13	0.88	0.371
X3	1	702.95	702.95	702.95	5.37	0.043

Residual Error	10	1309.52	1309.52	130.95		
Lack-of-Fit	5	79.08	79.08	15.82	0.06	0.995
Pure Error	5	1230.44	1230.44	246.09		
Total	13	2197.24				

Estimated Regression Coefficients for Y using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-28.4520
X1	18.4411
X2	3.91093
X3	610.553





HASIL SIMULASI UNTUK ORDE II
MIKROALGA *CHROOCOCCUS SP*

Welcome to Minitab, press F1 for help.

Central Composite Design

Factors: 3 Replicates: 2
 Base runs: 20 Total runs: 40
 Base blocks: 1 Total blocks: 1

Two-level factorial: Full factorial

Cube points: 16
 Center points in cube: 12
 Axial points: 12
 Center points in axial: 0

Alpha: 1.68179

Design Table

Run	Blk	A	B	C
1	1	-1.00000	-1.00000	-1.00000
2	1	1.00000	-1.00000	-1.00000
3	1	-1.00000	1.00000	-1.00000
4	1	1.00000	1.00000	-1.00000
5	1	-1.00000	-1.00000	1.00000
6	1	1.00000	-1.00000	1.00000
7	1	-1.00000	1.00000	1.00000
8	1	1.00000	1.00000	1.00000
9	1	-1.68179	0.00000	0.00000
10	1	1.68179	0.00000	0.00000
11	1	0.00000	-1.68179	0.00000
12	1	0.00000	1.68179	0.00000
13	1	0.00000	0.00000	-1.68179
14	1	0.00000	0.00000	1.68179
15	1	0.00000	0.00000	0.00000
16	1	0.00000	0.00000	0.00000
17	1	0.00000	0.00000	0.00000
18	1	0.00000	0.00000	0.00000
19	1	0.00000	0.00000	0.00000
20	1	0.00000	0.00000	0.00000
21	1	-1.00000	-1.00000	-1.00000
22	1	1.00000	-1.00000	-1.00000
23	1	-1.00000	1.00000	-1.00000
24	1	1.00000	1.00000	-1.00000
25	1	-1.00000	-1.00000	1.00000
26	1	1.00000	-1.00000	1.00000
27	1	-1.00000	1.00000	1.00000
28	1	1.00000	1.00000	1.00000
29	1	-1.68179	0.00000	0.00000
30	1	1.68179	0.00000	0.00000
31	1	0.00000	-1.68179	0.00000
32	1	0.00000	1.68179	0.00000
33	1	0.00000	0.00000	-1.68179
34	1	0.00000	0.00000	1.68179
35	1	0.00000	0.00000	0.00000
36	1	0.00000	0.00000	0.00000
37	1	0.00000	0.00000	0.00000
38	1	0.00000	0.00000	0.00000
39	1	0.00000	0.00000	0.00000
40	1	0.00000	0.00000	0.00000

Response Surface Regression: Y versus X1, X2, X3

The analysis was done using coded units.

Estimated Regression Coefficients for Y

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	42.8464	4.824	8.881	0.000
X1	-3.6700	3.201	-1.147	0.261
X2	2.8451	3.201	0.889	0.381
X3	6.4310	3.201	2.009	0.049
X1*X1	-4.6458	3.116	-1.491	0.146
X2*X2	-9.7127	3.116	-3.117	0.004
X3*X3	-7.0302	3.116	-2.256	0.032
X1*X2	0.4215	4.182	0.101	0.920
X1*X3	2.1076	4.182	0.504	0.618
X2*X3	1.2645	4.182	0.302	0.044

S = 16.7288 PRESS = 11984.3
R-Sq = 41.26% R-Sq(pred) = 16.15% R-Sq(adj) = 23.63%

Analysis of Variance for Y

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	9	5896.3	5896.34	655.15	2.34	0.039
Linear	3	1718.6	1718.62	572.87	2.05	0.128
X1	1	367.9	367.88	367.88	1.31	0.261
X2	1	221.1	221.10	221.10	0.79	0.381
X3	1	1129.6	1129.64	1129.64	4.04	0.049
Square	3	4078.2	4078.23	1359.41	4.86	0.007
X1*X1	1	288.2	622.08	622.08	2.22	0.146
X2*X2	1	2365.5	2719.01	2719.01	9.72	0.004
X3*X3	1	1424.5	1424.52	1424.52	5.09	0.032
Interaction	3	99.5	99.50	33.17	0.12	0.949
X1*X2	1	2.8	2.84	2.84	0.01	0.920
X1*X3	1	71.1	71.07	71.07	0.25	0.618
X2*X3	1	25.6	25.58	25.58	0.09	0.044
Residual Error	30	8395.6	8395.60	279.85		
Lack-of-Fit	5	2088.5	2088.47	417.69	1.66	0.182
Pure Error	25	6307.1	6307.12	252.28		
Total	39	14291.9				

Estimated Regression Coefficients for Y using data in uncoded units

Term	Coef
Constant	-141.798
X1	132.895
X2	57.5797
X3	2496.14
X1*X1	-181.475
X2*X2	-10.3228
X3*X3	-31245.3
X1*X2	2.71593
X1*X3	878.149
X2*X3	86.9096

Residuals vs Fits for Y

Residuals vs Order for Y

Probability Plot of RESI1

6/20/2012 3:38:29 AM

Welcome to Minitab, press F1 for help.
Retrieving project from file: 'D:\KUL KU\TUGAS KUL SMSTR 6\SKRIPSI\RUN
MINITAB\MINITAB ORDE2 ALGA3 .MPJ'

LAMPIRAN A6
Tabel Kuantil Uji Statistik
Kolmogorov - Smirnov

Uji satu arah					
<i>P</i>	0.90	0.95	0.975	0.99	0.995
Uji dua arah					
<i>P</i>	0.80	0.90	0.95	0.98	0.99
<i>n</i>					
1	0.900	0.950	0.975	0.990	0.995
2	0.684	0.776	0.842	0.900	0.929
3	0.565	0.636	0.708	0.785	0.829
4	0.793	0.565	0.624	0.689	0.734
5	0.447	0.509	0.563	0.627	0.669
6	0.410	0.468	0.516	0.577	0.617
7	0.381	0.436	0.483	0.538	0.576
8	0.358	0.410	0.454	0.507	0.542
9	0.339	0.387	0.430	0.480	0.513
10	0.323	0.369	0.409	0.457	0.489
11	0.308	0.352	0.391	0.437	0.468
12	0.296	0.338	0.375	0.419	0.449
13	0.285	0.325	0.361	0.404	0.432
14	0.275	0.314	0.349	0.390	0.418
15	0.266	0.304	0.338	0.377	0.404
16	0.258	0.295	0.327	0.366	0.392
17	0.250	0.286	0.318	0.355	0.381
18	0.244	0.279	0.309	0.346	0.371
19	0.237	0.271	0.301	0.337	0.361
20	0.232	0.265	0.294	0.329	0.352
21	0.226	0.259	0.287	0.321	0.344
22	0.221	0.253	0.281	0.314	0.337
23	0.216	0.247	0.275	0.307	0.330
24	0.212	0.242	0.269	0.301	0.323
25	0.208	0.238	0.264	0.295	0.317
26	0.204	0.233	0.259	0.290	0.311
27	0.200	0.229	0.254	0.284	0.305
28	0.197	0.225	0.250	0.279	0.300
29	0.193	0.221	0.246	0.275	0.295
30	0.190	0.218	0.242	0.270	0.290

Lanjutan Tabel A6...

Uji satu arah <i>p</i>	0.90	0.95	0.975	0.99	0.995
Uji dua arah <i>p</i>	0.80	0.90	0.95	0.98	0.99
<i>n</i>					
31	0.187	0.214	0.238	0.266	0.285
32	0.184	0.211	0.234	0.262	0.281
33	0.182	0.208	0.231	0.258	0.277
34	0.179	0.205	0.227	0.254	0.273
35	0.177	0.202	0.224	0.251	0.269
36	0.174	0.199	0.221	0.247	0.265
37	0.172	0.196	0.218	0.244	0.262
38	0.170	0.194	0.215	0.241	0.258
39	0.168	0.191	0.213	0.238	0.255
40	0.165	0.189	0.210	0.235	0.252
Pendekatan untuk <i>n</i> > 40	$\frac{1,07}{\sqrt{n}}$	$\frac{1,22}{\sqrt{n}}$	$\frac{1,36}{\sqrt{n}}$	$\frac{1,52}{\sqrt{n}}$	$\frac{1,63}{\sqrt{n}}$