



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK KETERBATASAN NITRAT SEBAGAI SUMBER
NITROGEN PADA MEDIUM WALNE TERHADAP
AKUMULASI LIPID *Chlorella vulgaris* PADA REAKTOR
PELAT DATAR**

SKRIPSI

**PRIMA ANGGRAINI
0806460566**

**FAKULTAS TEKNIK
DEPATEMEN TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**EFEK KETERBATASAN NITRAT SEBAGAI SUMBER
NITROGEN PADA MEDIUM WALNE TERHADAP
AKUMULASI LIPID *Chlorella vulgaris* PADA REAKTOR
PELAT DATAR**

SKRIPSI

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

**PRIMA ANGGRAINI
0806460566**

**FAKULTAS TEKNIK
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2012**

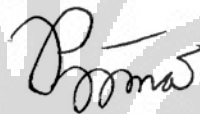
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Prima Anggraini

NPM : 0806460566

Tanda Tangan :



Tanggal : Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Prima Anggraini
NPM : 0806460566
Program Studi : Teknologi Bioproses
Judul Skripsi : Efek Keterbatasan Nitrat sebagai Sumber Nitrogen pada Medium *Walne* terhadap Akumulasi Lipid *Chlorella vulgaris* pada Reaktor Pelat Datar

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Ir. Dianursanti, M.T. (.....)

Penguji : Prof. Dr. Ir. Anondho Wijanarko, M.Eng (.....)

Penguji : Dr. Muhammad Sahlan, S.Si, M.Eng (.....)

Penguji : Prof. Dr. Ir. M. Nasikin, M.Eng (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : Juni 2012

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Puji dan syukur selalu saya panjatkan kepada Allah SWT , Tuhan semesta alam yang maha kuasa atas segala sesuatu. Segala puji bagi-Mu ya Allah yang telah memudahkan segala urusan dalam penelitian dan penulisan skripsi ini. Atas berkat dan rahmat-Nya saya dapat menyelesaikan makalah skripsi ini tepat pada waktunya. Makalah skripsi dengan judul **"Efek Keterbatasan Nitrat sebagai Sumber Nitrogen pada Medium Walne Terhadap Akumulasi Lipid *Chlorella vulgaris* pada Reaktor Pelat Datar"** ini disusun untuk melengkapi persyaratan untuk meraih gelar Sarjana Teknik di Departemen Teknik Kimia FTUI. Selain itu, makalah ini diharapkan menjadi langkah awal bagi riset grup bioproses dalam menentukan efek konsentrasi nitrogen pada Medium *Walne* dalam kultivasi mikroalga *Chlorella vulgaris* Buitenzorg.

Dalam kesempatan ini saya ingin mengucapkan terimakasih kepada:

- 1) Ibu Ir. Dianursanti, M.T., selaku pembimbing skripsi yang telah memberikan waktu, tenaga, biaya, dan pikiran selama membimbing dan memberikan motivasi kepada saya dalam penyusunan skripsi ini;
- 2) Bapak Prof. Dr. Ir. Widodo W Purwanto, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI beserta seluruh dosen Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI yang telah memberikan ilmu dan membagikan wawasannya;
- 3) Orang tua dan keluarga besar saya yang telah memberikan dukungan baik material maupun moral;
- 4) Bapak Prof. Dr. Ir. Anondho Wijanarko, M.Eng, Bapak Dr. Muhammad Sahlan, S.Si, M.Eng, dan Bapak Prof. Dr. Ir. M. Nasikin, M.Eng selaku dosen penguji atas masukan-masukannya untuk memperbaiki penulisan skripsi ini;
- 5) Bapak Ir. Yuliusman, M.Eng kordinator skripsi Departemen Teknik Kimia FTUI atas segala pengarahan dan izin lembur yang telah diberikan selama ini;
- 6) Ibu Ir. Rita Arbianti, M.Si dan Bapak Prof. Ir. Sutrasno K, M.Sc, PhD selaku pembimbing akademis;

- 7) Anggota *The Alga Team* Destya, Ingrid, Gesti, Dimas, Prima Ernest, Nikmat, dan Bang Yoga selaku teman satu penelitian atas semangat, bantuan reagen, bantuan alat, informasi yang telah diberikan, dan bantuan-bantuan lainnya;
- 8) Teman-teman Teknik Kimia dan Teknologi Bioproses reguler angkatan 2008, serta Teknik Kimia Ekstensi angkatan 2009 yang tergabung dalam riset grup bioproses atas dukungan semangat yang telah diberikan;
- 9) Mas Eko, Mas Taufik, Mas Sri, Mas Mugeni, Mbak Tiwi, Kak Ius, Mas Diki, Mas Rinan, Mas Heri, dan Mang Ijal atas segala bantuannya;
- 10) Pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu

Akhir kata, semoga Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan dari semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

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 : Prima Anggraini
NPM : 0806460566
Program Studi : Teknologi Bioproses
Departemen : Teknik Kimia
Fakultas : Teknik
Jenis Karya : Skripsi

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

“Efek Keterbatasan Nitrat sebagai Sumber Nitrogen pada Medium Walne terhadap Akumulasi Lipid *Chlorella vulgaris* pada Reaktor Pelat Datar”

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : Juni 2012

Yang menyatakan,



(Prima Anggraini)

ABSTRAK

Nama : Prima Anggraini
Program Studi : Teknologi Bioproses
Judul : Efek Keterbatasan Nitrat sebagai Sumber Nitrogen pada Medium *Walne* terhadap Akumulasi Lipid *Chlorella vulgaris* pada Reaktor Pelat Datar

C. Vulgaris dikenal sebagai makhluk hidup yang kaya kandungan lipid yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi baru. Besarnya kandungan lipid pada *C. vulgaris* dipengaruhi oleh nutrisi yang terdapat di dalam medium dan salah satunya adalah konsentrasi nitrogen dalam kultur media. Pada penelitian ini, akan digunakan medium *Walne* sebagai kultur media *C. vulgaris* dengan variasi konsentrasi nitrat sebesar 0,100 g/L, 0,075 g/L, dan 0,050 g/L. Setelah sampai pada masa pemanenan, dilakukan pengambilan biomassa dan dilakukan uji kandungan dan kadar kandungan esensial, lipid, protein, klorofil, serta beta karoten. Dalam konsentrasi nitrogen 0,100 g/L kepadatan sel mencapai 1,251 g/L, konsentrasi 0,075 g/L sebesar 0,642 g/L, dan konsentrasi 0,050 g/L sebesar 0,636 g/L. Adapun kandungan lipid *C. vulgaris* dari konsentrasi nitrat 0,100 g/L sebesar 14,08%, dalam konsentrasi 0,075 g/L sebesar 46,92% dan dalam konsentrasi 0,050 g/L mencapai 68,08%.

Keywords : **Mikroalga *Chlorella Vulgaris*, Nitrat, Medium *Walne*, Reaktor Pelat Datar**

ABSTRACT

Name : Prima Anggraini
Study Program : Bioprocess Engineering
Title : Effect of Nitrate Limitation as Nitrogen Source at Walne Medium for *Chlorella vulgaris* Lipid Accumulation in A Flat Plate Reactor

C. Vulgaris is known as a living creature that is rich in lipid content in which can be used as new energy sources. The amount of lipid content in *C. vulgaris* is affected by nutrients contained in the medium and one of them is the concentration of nitrogen in the culture media. In this study, will be used as culture *Walne* media as a culture media for *C. vulgaris* with the variation of nitrogen concentration of 0,100 g/L, 0,075 g/L, and 0,050 g/L. After arriving in the harvesting, done and done test shooting biomass content and levels of essential content, lipid, protein, chlorophyll and beta carotene. Nitrogen concentration in the 0,100 g/L, cell density reached 1,251 g/L, at concentration 0,075 g/L cell density reached 0,642 g/L, and at concentration 0,050 g/L cell density reached 0,636 g/L. The lipid content of *C. vulgaris* of the nitrogen concentration of 0,100 g/L at 14,08%, at concentration 0,075 g/L by 46,92% and at concentration of 0,050 g/L reached 68,08%.

Keywords: Microalga *Chlorella Vulgaris*, Nitrogen, Walne Medium, Flat Plate Reactor

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR ISTILAH	xvi
BAB 1	1
PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Batasan Masalah.....	4
1.5. Sistematika Penulisan	4
BAB 2	6
TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Mikroalga <i>Chlorella vulgaris</i>	6
2.1.1. Struktur Sel <i>Chlorella vulgaris</i>	7

2.1.2. Aplikasi <i>Chlorella vulgaris</i>	9
2.2. Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	9
2.2.1. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi.....	10
2.2.2. Fase Pertumbuhan	13
2.3. Kandungan Esensial <i>Chlorella vulgaris</i>	14
2.3.1. Protein	14
2.3.2. Klorofil	15
2.3.3. Lipid	16
2.3.4. Beta Karoten.....	17
2.4. Peran Nutrisi Nitrogen	19
2.5. Siklus Nitrogen	19
2.6. Fotobioreaktor.....	21
2.6.1. Peranan Fotobioreaktor	21
2.6.2. Jenis Fotobioreaktor	22
2.7. Fotosintesis pada <i>Chlorella</i> sp.	23
2.8. <i>State of the Art</i>	27
BAB 3	29
METODE PENELITIAN.....	29
3.1. Diagram Alir Penelitian	29
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	30
3.3. Variabel Penelitian	31
3.4. Prosedur Penelitian.....	31
3.4.1. Persiapan Penelitian	32
3.4.2. Pelaksanaan Penelitian	37
3.4.3. Pengambilan Data.....	38
3.4.4. Pengolahan Data Penelitian.....	40

BAB 4	45
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	45
4.1. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Produksi Biomassa <i>Chlorella vulgaris</i>	45
4.2. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik (μ) <i>Chlorella vulgaris</i>	46
4.3.Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap $[HCO_3^-]$ dalam Medium.....	48
4.4.Pengaruh Keterbatasan Nitrat terhadap Laju Fiksasi (q) CO_2	50
4.5.Pengaruh Keterbatasan Nitrat terhadap <i>Carbon Transfer Rate</i> (CTR).....	52
4.6.Pengaruh Keterbatasan Nitrogen Terhadap Akumulasi Kandungan Esensial C. <i>vulgaris</i>	54
BAB 5	60
KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
5.1. Kesimpulan	60
5.2. Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Bentuk <i>Chlorella</i>	7
Gambar 2.2. Struktur intraseluler <i>Chlorella vulgaris</i>	7
Gambar 2.3. Fase Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	14
Gambar 2.4. Struktur Klorofil	16
Gambar 2.5. Beberapa Struktur Asam Lemak	17
Gambar 2.6. Struktur Beberapa Jenis Karotenoid	18
Gambar 2.7. Pengubahan Amonium menjadi Senyawa Organik Utama	20
Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian	29
Gambar 3.2. Ilustrasi Rangkaian Peralatan yang Digunakan	35
Gambar 3.3. Kurva Kalibrasi OD ₆₀₀ vs X	37
Gambar 3.4. Kurva kalibrasi uji protein	43
Gambar 4.1. Produksi Biomassa <i>Chlorella vulgaris</i> pada Konsentrasi Nitrat: (a) 0,100 g/L, (b) 0,075 g/L, (c) 0,050 g/L	45
Gambar 4.2. Pengaruh Keterbatasan Nitrat terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik (μ) <i>Chlorella vulgaris</i>	47
Gambar 4.3. [HCO ₃ ⁻] pada Konsentrasi Nitrat: (a) 0,100 g/L, (b) 0,075 g/L, (c) 0,050 g/L	49
Gambar 4.4. Laju Fiksasi (q) CO ₂ pada Konsentrasi Nitrat: (a) 0,100 g/L, (b) 0,075 g/L, (c) 0,050 g/L	51
Gambar 4.5. <i>Carbon Transfer Rate</i> (CTR) pada Konsentrasi Nitrat: (a) 0,100 g/L, (b) 0,075 g/L, (c) 0,050 g/L	52
Gambar 4.6. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Akumulasi Kandungan Lipid <i>Chlorella vulgaris</i>	54
Gambar 4.7. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Akumulasi Kandungan Protein <i>C. vulgaris</i>	56
Gambar 4.8. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Akumulasi Kandungan Klorofil <i>C. vulgaris</i>	57
Gambar 4.9. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Akumulasi Beta Karoten <i>C. vulgaris</i>	57

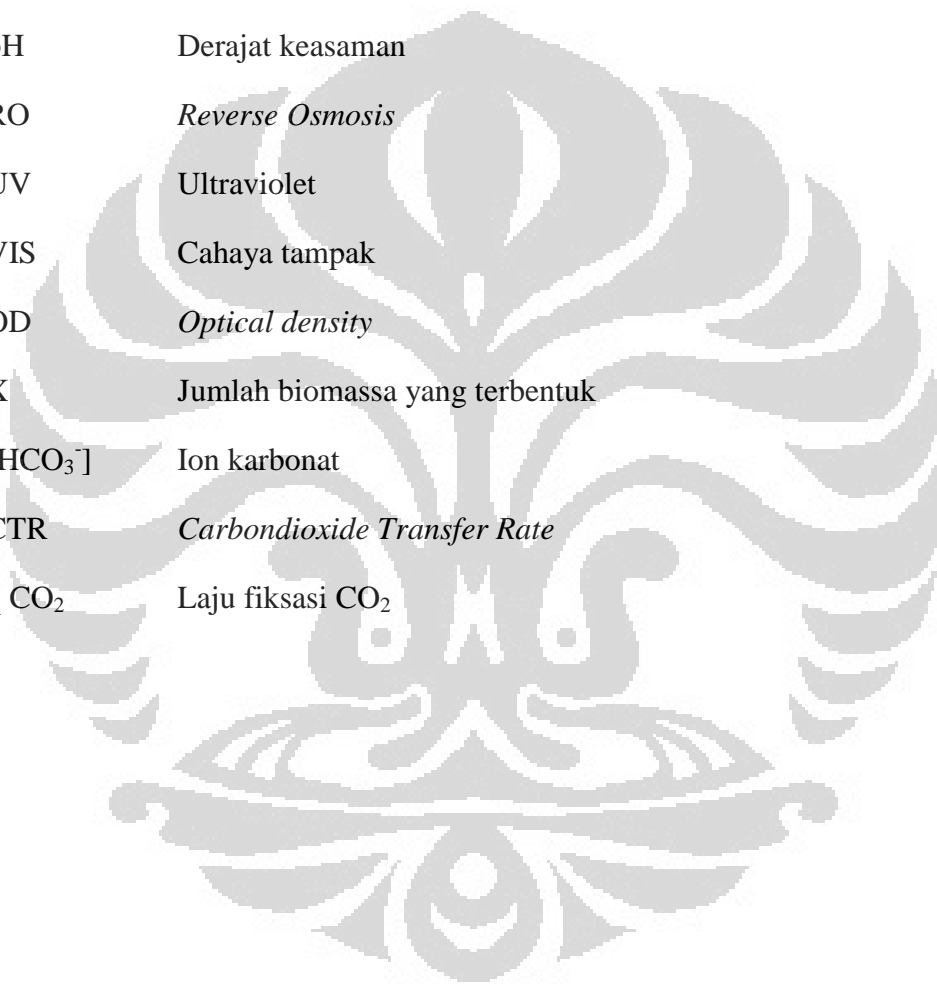
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Klasifikasi Ilmiah <i>Chlorella</i>	6
Tabel 2.2. Kondisi pertumbuhan <i>C. vulgaris</i>	12
Tabel 2.3. Kandungan Esensial <i>Chlorella vulgaris</i>	18
Tabel 2.4. Perbandingan antara beberapa system kultivasi mikroalga	22
Tabel 2.5. <i>Road Map</i> Penelitian	27
Tabel 3.1. Komposisi Medium <i>Walne Stock Trace Metal Solution</i> (TMS)	33
Tabel 3.2. Komposisi Medium <i>Walne Stock Vitamin Solution</i>	33
Tabel 3.3. Komposisi Medium <i>Walne Stock Nutrient Solution</i>	33
Tabel 3.4. Komposisi <i>Stock</i> dalam 1 Liter Pelarut	34
Tabel 3.5. Penentuan kadar protein dengan metode Lowry	40

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran A Data Pengamatan
- Lampiran B Hasil Pengujian *Chlorella vulgaris* dengan Mikroskop
- Lampiran C Hasil Pengujian EDS *Chlorella vulgaris* pada Konsentrasi Nitrat
0,100 g/L
- Lampiran D Hasil Pengujian EDS *Chlorella vulgaris* pada Konsentrasi Nitrat
0,075 g/L
- Lampiran E Hasil Pengujian EDS *Chlorella vulgaris* pada Konsentrasi Nitrat
0,050 g/L
- Lampiran F Hasil Pengujian GC-MS *Chlorella vulgaris* pada Konsentrasi
Nitrat 0,100 g/L
- Lampiran G Hasil Pengujian GC-MS *Chlorella vulgaris* pada Konsentrasi
Nitrat 0,075 g/L
- Lampiran H Hasil Pengujian GC-MS *Chlorella vulgaris* pada Konsentrasi
Nitrat 0,100 g/L

DAFTAR ISTILAH



ATP	<i>Adenosin tri phoshate</i>
DNA	Asam deoxiribo nukleat
RNA	Asam ribo nukleat
pH	Derajat keasaman
RO	<i>Reverse Osmosis</i>
UV	Ultraviolet
VIS	Cahaya tampak
OD	<i>Optical density</i>
X	Jumlah biomassa yang terbentuk
[HCO ₃ ⁻]	Ion karbonat
CTR	<i>Carbondioxide Transfer Rate</i>
q CO ₂	Laju fiksasi CO ₂

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Setiap tahunnya, jumlah penduduk di Indonesia semakin bertambah. Pada tahun 2010, jumlah penduduk di Indonesia mencapai jumlah sekitar 234 juta jiwa (BPS, 2010). Melihat jumlah penduduk yang terus meningkat dari tahun ke tahun, berbagai masalah pun muncul. Salah satu masalah yang muncul sebagai akibat pertambahan jumlah penduduk adalah masalah ketersediaan energi. Selama ini, pemenuhan kebutuhan energi di Indonesia sebagian besar masih berasal dari energi fosil berupa minyak dan gas bumi. Sementara itu, Indonesia merupakan negara kepulauan yang terdiri atas 17.480 pulau dan memiliki garis pantai sepanjang 95.181 km (Dinas Kelautan Indonesia, 2009). Melihat banyaknya pulau dan panjangnya garis pantai yang dimiliki Indonesia maka sebenarnya Indonesia memiliki kekayaan alam yang melimpah. Kekayaan-kekayaan alam tersebut dapat menjadi sumber energi baru dan terbarukan untuk memenuhi kebutuhan energi yang semakin hari semakin meningkat. Salah satu kekayaan alam yang dimiliki oleh Indonesia dan dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi baru dan terbarukan adalah potensi mikroalga.

Salah satu mikroalga yang terdapat di Indonesia adalah *Chlorella vulgaris*. *C. vulgaris* merupakan suatu mikroalga yang memiliki banyak pemanfaatan dikarenakan mikroalga tersebut memiliki kandungan lipid, karbohidrat, serta protein yang cukup besar. Rata-rata kandungan karbohidrat dari *C. vulgaris* adalah sekitar 23,20%, rata-rata kandungan protein sebesar 55,00%, serta memiliki rata-rata kandungan lipid sebesar 10,2% (Maruyama et al, 1997). Sementara itu, untuk kandungan lipid, klorofil, dan betakarotennya secara berturut-turut adalah 18,24%, 17,88 ppm, dan 10,42 ppm (Dianursanti, 2011). Sementara itu, *C. vulgaris* memiliki produktivitas lipid sebesar 11,2-40,0 mg/L/hari (Teresa et al, 2010).

Kandungan dan produktivitas lipid pada *Chlorella vulgaris* dipengaruhi pada kondisi pertumbuhan dan perkembangannya. Sementara itu, kondisi pertumbuhan dan perkembangan dari *C. vulgaris* dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti media kultur/nutrien, pencahayaan, pH, aerasi/pencampuran, temperatur, dan salinitas (Peter, 1996). Nutrien yang dimaksud terdiri atas makronutrien dan mikronutrien. Nitrogen merupakan salah satu makronutrien yang diperlukan bagi pertumbuhan *C. vulgaris* (Oh-hama dan Miyachi, 1988).

Nitrogen yang dapat diserap oleh alga adalah nitrogen yang berada dalam bentuk ion nitrat (NO_3^-) dan ion ammonium (NH_4^+). Namun ion yang biasanya paling mudah diserap adalah ion ammonium. Oleh karena itu, ion nitrat biasanya diubah terlebih dahulu menjadi ion ammonium.

Pada kondisi stres lingkungan yaitu konsentrasi nitrogen rendah, mikroalga akan cenderung membentuk lipid sebagai cadangan makanan daripada membentuk karbohidrat dan senyawa lainnya. Hal tersebut dikarenakan pada saat ion nitrat diturunkan jumlahnya maka reaksi pengubahan ion nitrat menjadi ion nitrit berdampak pada berkurangnya jumlah NADH yang dibutuhkan sehingga akumulasi lipid menjadi lebih besar (Sheehan et al, 1998).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat pengaruh penurunan nutrisi nitrogen terhadap pertumbuhan, pembentukan biomassa, maupun kandungan esensial mikroalga. Pada *Spirulina fusiformis*, penurunan nutrisi nitrogen memberikan dampak berupa penurunan pembentukan biomassa, penurunan kandungan protein, dan penurunan kandungan klorofil (Chrismadha et al, 2006). Penurunan kandungan nitrogen pada *Chlorella pyrenoidosa* memberikan dampak berupa penurunan pembentukan biomassa tetapi menaikkan kandungan lipidnya (Nigam et al, 2011).

Pada *Dunaliella tertiolecta*, penurunan nutrisi nitrogen membuat kandungan lipid pada mikroalga tersebut meningkat (Chen et al, 2011). Pengurangan nitrogen juga menaikkan kandungan lipid pada *Scenedesmus* sp. Penurunan nutrisi nitrogen juga menaikkan produktivitas lipid *Scenedesmus* sp. Akan tetapi, pada mikroalga ini, penurunan nitrogen menyebabkan penurunan pertumbuhan (Xin et al, 2010).

Pada *Chlorella vulgaris*, penurunan nutrisi nitrogen juga memberikan dampak berupa kenaikan kandungan lipid (Widjaja et al, 2009). Selain berpengaruh terhadap kandungan lipid dan pertumbuhan, penurunan nutrisi nitrogen pada mikroalga juga berpengaruh pada kandungan klorofil, protein, dan karbohidrat. Akan tetapi, penurunan nutrisi nitrogen juga dapat menurunkan kandungan dan produktivitas lipid pada mikroalga. Penurunan kandungan dan produktivitas lipid tersebut terjadi pada mikroalga *Neochloris oleoabundans* (Li et al, 2008). Berdasarkan hasil-hasil penelitian di atas, terlihat bahwa penurunan nutrisi nitrogen cenderung menurunkan produksi biomassa namun meningkatkan kandungan dan produktivitas lipid mikroalga.

Melalui penurunan kandungan nitrogen dan penggunaan medium yang mengandung nutrisi yang dibutuhkan secara tepat, diharapkan kandungan lipid dari *Chlorella vulgaris* dapat meningkat. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan untuk melihat kandungan lipid yang dihasilkan dari penggunaan air PAM sebagai pelarut. Pada pemanfaatan skala besar, dirasa kurang ekonomis apabila digunakan air RO sebagai pelarut mediumnya. Oleh karena itu, diperlukan suatu studi yang bertujuan untuk melihat pengaruh dari penggunaan air PAM pada pertumbuhan serta kandungan lipid dari *C. vulgaris*. Studi terhadap jumlah kandungan nitrogen yang tepat dan penggunaan air ini ditujukan agar mikroalga dapat memiliki nilai ekonomis yang tinggi sebagai bahan baku biodiesel.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Berapa besar kadar nitrat sebagai sumber nutrisi yang diperlukan untuk menghasilkan kandungan lipid *Chlorella vulgaris* yang maksimal?
2. Seberapa besar keterbatasan nitrat sebagai sumber nutrisi nitrogen berpengaruh terhadap pertumbuhan *C. vulgaris*?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan kandungan nitrat sebagai sumber nutrisi nitrogen yang optimum dalam medium agar diperoleh akumulasi lipid yang tinggi dalam *Chlorella Vulgaris*.

2. Mengaji pengaruh keterbatasan nitrat sebagai sumber nutrisi nitrogen terhadap pertumbuhan dan pembentukan biomassa *C. Vulgaris*.
3. Mengaji pengaruh keterbatasan nitrat sebagai sumber nutrisi nitrogen nitrogen terhadap kandungan esensial *C. vulgaris*.

1.4. Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Penelitian dilakukan di Laboratorium Rekayasa Bioproses Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
2. Penelitian ini digunakan untuk mendapatkan kandungan nitrogen yang optimal untuk pembentukan kandungan lipid.
3. Jenis medium kultur yang digunakan adalah Medium *Walne*.
4. Jenis air yang digunakan adalah air PAM.
5. Sistem reaktor yang digunakan adalah fotobioreaktor tunggal berbentuk pelat datar dengan volume 18 liter.
6. Gas yang digunakan sebagai *carbon source* bagi *Chlorella vulgaris* adalah gas CO₂ dengan konsentrasi sebesar 5%.
7. Temperatur operasi yang digunakan adalah suhu ruang sekitar 25°C dan tekanan sebesar 1 atm.

1.5. Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan yang dilakukan dalam penulisan seminar ini adalah:

BAB 1 Pendahuluan

Berisi latar belakang, rumusan masalah penelitian, tujuan penelitian, batasan masalah yang digunakan, dan sistematika penulisan.

BAB 2 Tinjauan Pustaka

Berisi teori dasar penelitian yang digunakan untuk menjelaskan masalah.

BAB 3 Metode Penelitian

Berisi tentang diagram alir dan metode-metode yang digunakan dalam penelitian ini.

BAB 4 Hasil dan Pembahasan

Berisi data-data hasil pengamatan dan pengolahannya beserta dengan pembahasannya.

BAB 5 Kesimpulan

Berisi kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan berdasarkan hasil yang telah didapat pada bab sebelumnya.

**BAB 1
PENDAHULUAN****1.1. Latar Belakang**

Setiap tahunnya, jumlah penduduk di Indonesia semakin bertambah. Pada tahun 2010, jumlah penduduk di Indonesia mencapai jumlah sekitar 234 juta jiwa (BPS, 2010). Melihat jumlah penduduk yang terus meningkat dari tahun ke tahun, berbagai masalah pun muncul. Salah satu masalah yang muncul sebagai akibat pertambahan jumlah penduduk adalah masalah ketersediaan energi. Selama ini, pemenuhan kebutuhan energi di Indonesia sebagian besar masih berasal dari energi fosil berupa minyak dan gas bumi. Sementara itu, Indonesia merupakan negara kepulauan yang terdiri atas 17.480 pulau dan memiliki garis pantai sepanjang 95.181 km (Dinas Kelautan Indonesia, 2009). Melihat banyaknya pulau dan panjangnya garis pantai yang dimiliki Indonesia maka sebenarnya Indonesia memiliki kekayaan alam yang melimpah. Kekayaan-kekayaan alam tersebut dapat menjadi sumber energi baru dan terbarukan untuk memenuhi kebutuhan energi yang semakin hari semakin meningkat. Salah satu kekayaan alam yang dimiliki oleh Indonesia dan dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi baru dan terbarukan adalah potensi mikroalga.

Salah satu mikroalga yang terdapat di Indonesia adalah *Chlorella vulgaris*. *C. vulgaris* merupakan suatu mikroalga yang memiliki banyak pemanfaatan dikarenakan mikroalga tersebut memiliki kandungan lipid, karbohidrat, serta

protein yang cukup besar. Rata-rata kandungan karbohidrat dari *C. vulgaris* adalah sekitar 23,20%, rata-rata kandungan protein sebesar 55,00%, serta memiliki rata-rata kandungan lipid sebesar 10,2% (Maruyama et al, 1997). Sementara itu, untuk kandungan lipid, klorofil, dan betakarotennya secara berturut-turut adalah 18,24%, 17,88 ppm, dan 10,42 ppm (Dianursanti, 2011). Sementara itu, *C. vulgaris* memiliki produktivitas lipid sebesar 11,2-40,0 mg/L/hari (Teresa et al, 2010).

Kandungan dan produktivitas lipid pada *Chlorella vulgaris* dipengaruhi pada kondisi pertumbuhan dan perkembangannya. Sementara itu, kondisi pertumbuhan dan perkembangan dari *C. vulgaris* dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti media kultur/nutrien, pencahayaan, pH, aerasi/pencampuran, temperatur, dan salinitas (Peter, 1996). Nutrien yang dimaksud terdiri atas makronutrien dan mikronutrien. Nitrogen merupakan salah satu makronutrien yang diperlukan bagi pertumbuhan *C. vulgaris* (Oh-hama dan Miyachi, 1988).

Nitrogen yang dapat diserap oleh alga adalah nitrogen yang berada dalam bentuk ion nitrat (NO_3^-) dan ion ammonium (NH_4^+). Namun ion yang biasanya paling mudah diserap adalah ion ammonium. Oleh karena itu, ion nitrat biasanya diubah terlebih dahulu menjadi ion ammonium.

Pada kondisi stres lingkungan yaitu konsentrasi nitrogen rendah, mikroalga akan cenderung membentuk lipid sebagai cadangan makanan daripada membentuk karbohidrat dan senyawa lainnya. Hal tersebut dikarenakan pada saat ion nitrat diturunkan jumlahnya maka reaksi pengubahan ion nitrat menjadi ion nitrit berdampak pada berkurangnya jumlah NADH yang dibutuhkan sehingga akumulasi lipid menjadi lebih besar (Sheehan et al, 1998).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat pengaruh penurunan nutrisi nitrogen terhadap pertumbuhan, pembentukan biomassa, maupun kandungan esensial mikroalga. Pada *Spirulina fusiformis*, penurunan nutrisi nitrogen memberikan dampak berupa penurunan pembentukan biomassa, penurunan kandungan protein, dan penurunan kandungan klorofil (Chrismadha et al, 2006). Penurunan kandungan nitrogen pada *Chlorella pyrenoidosa* memberikan dampak berupa penurunan pembentukan biomassa tetapi menaikkan kandungan lipidnya (Nigam et al, 2011).

Pada *Dunaliella tertiolecta*, penurunan nutrisi nitrogen membuat kandungan lipid pada mikroalga tersebut meningkat (Chen et al, 2011). Pengurangan nitrogen juga menaikkan kandungan lipid pada *Scenedesmus* sp. Penurunan nutrisi nitrogen juga menaikkan produktivitas lipid *Scenedesmus* sp. Akan tetapi, pada mikroalga ini, penurunan nitrogen menyebabkan penurunan pertumbuhan (Xin et al, 2010).

Pada *Chlorella vulgaris*, penurunan nutrisi nitrogen juga memberikan dampak berupa kenaikan kandungan lipid (Widjaja et al, 2009). Selain berpengaruh terhadap kandungan lipid dan pertumbuhan, penurunan nutrisi nitrogen pada mikroalga juga berpengaruh pada kandungan klorofil, protein, dan karbohidrat. Akan tetapi, penurunan nutrisi nitrogen juga dapat menurunkan kandungan dan produktivitas lipid pada mikroalga. Penurunan kandungan dan produktivitas lipid tersebut terjadi pada mikroalga *Neochloris oleoabundans* (Li et al, 2008). Berdasarkan hasil-hasil penelitian di atas, terlihat bahwa penurunan nutrisi nitrogen cenderung menurunkan produksi biomassa namun meningkatkan kandungan dan produktivitas lipid mikroalga.

Melalui penurunan kandungan nitrogen dan penggunaan medium yang mengandung nutrisi yang dibutuhkan secara tepat, diharapkan kandungan lipid dari *Chlorella vulgaris* dapat meningkat. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan untuk melihat kandungan lipid yang dihasilkan dari penggunaan air PAM sebagai pelarut. Pada pemanfaatan skala besar, dirasa kurang ekonomis apabila digunakan air RO sebagai pelarut mediumnya. Oleh karena itu, diperlukan suatu studi yang bertujuan untuk melihat pengaruh dari penggunaan air PAM pada pertumbuhan serta kandungan lipid dari *C. vulgaris*. Studi terhadap jumlah kandungan nitrogen yang tepat dan penggunaan air ini ditujukan agar mikroalga dapat memiliki nilai ekonomis yang tinggi sebagai bahan baku biodiesel.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Berapa besar kadar nitrat sebagai sumber nutrisi yang diperlukan untuk menghasilkan kandungan lipid *Chlorella vulgaris* yang maksimal?
2. Seberapa besar keterbatasan nitrat sebagai sumber nutrisi nitrogen berpengaruh terhadap pertumbuhan *C. vulgaris*?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan kandungan nitrat sebagai sumber nutrisi nitrogen yang optimum dalam medium agar diperoleh akumulasi lipid yang tinggi dalam *Chlorella Vulgaris*.
2. Mengaji pengaruh keterbatasan nitrat sebagai sumber nutrisi nitrogen terhadap pertumbuhan dan pembentukan biomassa *C. Vulgaris*.
3. Mengaji pengaruh keterbatasan nitrat sebagai sumber nutrisi nitrogen terhadap kandungan esensial *C. vulgaris*.

1.4. Batasan Masalah

Batasan masalah yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Penelitian dilakukan di Laboratorium Rekayasa Bioproses Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
2. Penelitian ini digunakan untuk mendapatkan kandungan nitrogen yang optimal untuk pembentukan kandungan lipid.
3. Jenis medium kultur yang digunakan adalah Medium *Walne*.
4. Jenis air yang digunakan adalah air PAM.
5. Sistem reaktor yang digunakan adalah fotobioreaktor tunggal berbentuk pelat datar dengan volume 18 liter.
6. Gas yang digunakan sebagai *carbon source* bagi *Chlorella vulgaris* adalah gas CO₂ dengan konsentrasi sebesar 5%.
7. Temperatur operasi yang digunakan adalah suhu ruang sekitar 25°C dan tekanan sebesar 1 atm.

1.5. Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan yang dilakukan dalam penulisan seminar ini adalah:

BAB 1 Pendahuluan

Berisi latar belakang, rumusan masalah penelitian, tujuan penelitian, batasan masalah yang digunakan, dan sistematika penulisan.

BAB 2 Tinjauan Pustaka

Berisi teori dasar penelitian yang digunakan untuk menjelaskan masalah.

BAB 3 Metode Penelitian

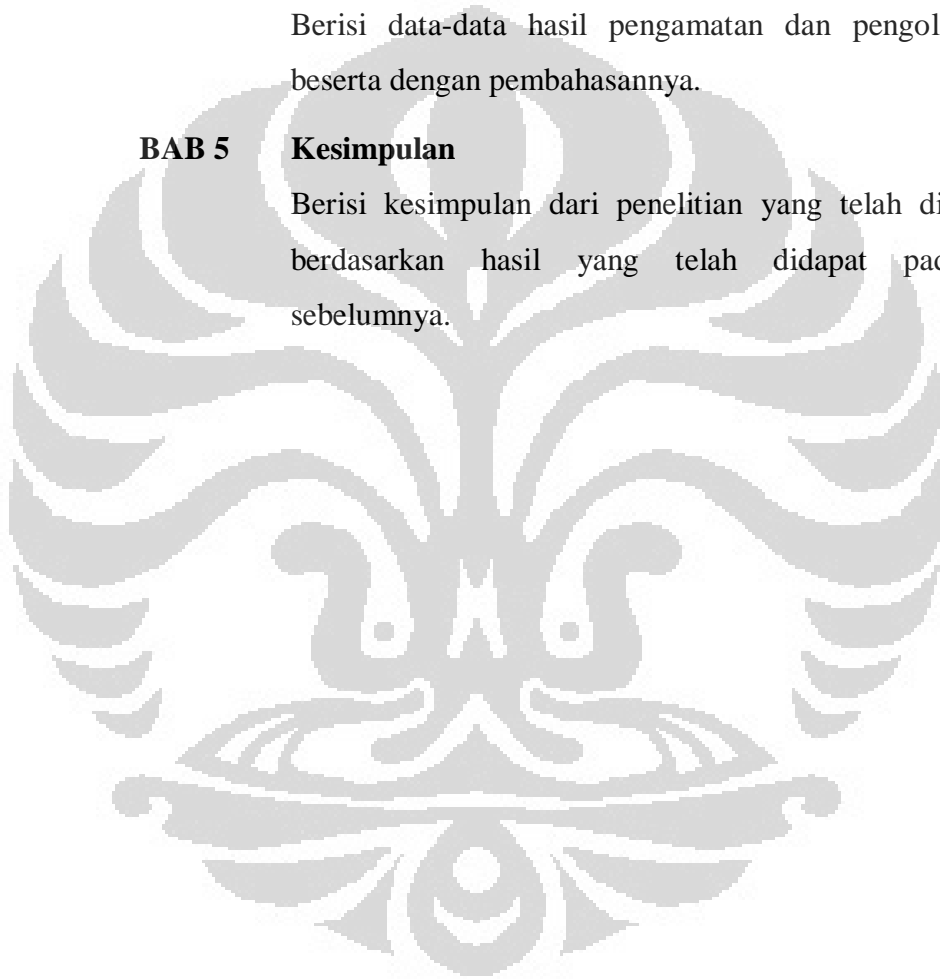
Berisi tentang diagram alir dan metode-metode yang digunakan dalam penelitian ini.

BAB 4 Hasil dan Pembahasan

Berisi data-data hasil pengamatan dan pengolahannya beserta dengan pembahasannya.

BAB 5 Kesimpulan

Berisi kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan berdasarkan hasil yang telah didapat pada bab sebelumnya.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Mikroalga *Chlorella vulgaris*

Chlorella merupakan sebuah genus dari alga hijau bersel tunggal yang berada dalam filum Chlorophyta. *Chlorella* berbentuk bola dan memiliki diameter 2 hingga 10 μm dan tidak memiliki flagella. Nama *Chlorella* diambil dari Bahasa Yunani chloros yang berarti hijau dan imbuhan Latin ella yang berarti kecil. *Chlorella* mengandung pigmen fotosintetis hijau, klorofil α dan β dalam kloroplasnya. *C. vulgaris* memiliki *doubling time* selama 1,76 hari dan waktu mencapai puncak adalah 3 hari. Dari kedua waktu tersebut maka dapat diketahui bahwa *C. vulgaris* memiliki laju pertumbuhan sebesar 0,6858 (Nurlita et al, 2009). *Chlorella* dapat tumbuh di kondisi autotrof, kondisi heterotrof ataupun mixotrof.

Klasifikasi ilmiah dari *Chlorella* dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Klasifikasi Ilmiah *Chlorella* (Bold dan Wynne, 1985)

Domain	<i>Eukaryot</i>
Kingdom	<i>Plantae</i>
Divisi	<i>Chlorophyta</i>
Kelas	<i>Trebouxiophyceae</i>
Orde	<i>Chlorellales</i>
Famili	<i>Chlorellaceae</i>
Genus	<i>Chlorella</i>
Spesies	<i>Chlorella minutissima</i> <i>Chlorella pyrenoidosa</i> <i>Chlorella variabilis</i> <i>Chlorella vulgaris</i>

Chlorella memiliki kloroplas berbentuk seperti cangkir dengan dinding sel tersusun atas selulosa, xylan, dan manan. Akan tetapi, beberapa spesies dari *Chlorella* tidak memiliki dinding sel. *Chlorella* hanya melakukan reproduksi tipe aseksual, yaitu melalui pembelahan diri secara mitosis. Selnya bereproduksi dengan membentuk dua hingga delapan sel yang terdapat di dalam sel induk yang akan dilepaskan apabila kondisi lingkungan mendukung (Kawaroe, et al, 2010).

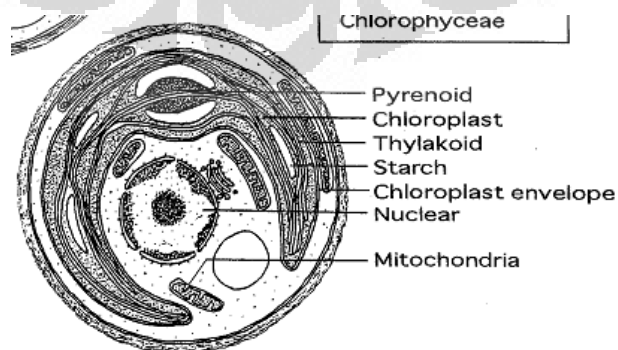
Bentuk dari mikroalga *Chlorella* dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Bentuk *Chlorella*

2.1.1. Struktur Sel *Chlorella vulgaris*

Seperti organisme eukariotik pada umumnya, *Chlorella vulgaris* terdiri atas dinding sel, membran plasma, sitoplasma dan kloroplas dengan ukuran sel *Chlorella* berkisar antara 2-12 μm berbentuk unisel yang *spherical* atau *ellipsoida* (Graham et al, 2000). Secara umum, struktur sel *C. vulgaris* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur intraseluler *Chlorella vulgaris* (Maruyama, 1997)

- Dinding Sel

Dinding sel mikroalga disusun oleh lapisan microfibrillar selulosa, yang dikelilingi oleh lapisan amorf. Dinding sel disekresi oleh aparat Golgi. Dinding sel ini berfungsi untuk melindungi bagian dalam sel dari pengaruh luar.

- Inti Sel

Inti sel, nukleus, merupakan struktur dengan ukuran yang relatif besar berbentuk bulat dan dikelilingi oleh sitoplasma. Sedangkan sitoplasma dikelilingi oleh membran sel. Bagian ini memiliki peran yang sangat penting karena bertugas mengatur seluruh aktivitas sel seperti berfotosintesis dan berkembang biak.

Nukleus terdiri dari nukleoprotein yaitu kombinasi protein dan asam nukleat. Zat ini banyak mengandung enzim. Di dalam inti sel terdapat sebuah inti lagi yang berukuran lebih kecil yang disebut dengan nukleolus. Nukleolus merupakan anak inti sel yang sangat kecil dan terbentuk dari kumpulan RNA (Ribo Nucleic Acid) sehingga nukleolus berperan dalam sintesis protein di dalam sel.

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

- Mitokondria

Mitokondria terdiri atas struktur-struktur berbentuk seperti cerutu. Struktur-struktur kecil tersebut tersusun dari protein dan lipid yang membentuk suatu sel yang stabil dan keras. Dinding mitokondria berlapis dua dan lapisan dalamnya memiliki banyak lekukan. Struktur ini berguna untuk memperluas bidang permukaan penyerapan oksigen dalam proses respirasi sel.

Mitokondria berfungsi sebagai pusat pembangkit tenaga sel dengan menghasilkan ATP sebagai sumber energi. Selain itu, mitokondria berperan penting dalam proses respirasi sel dan tempat pemecahan molekul protein dan lemak kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana yang selanjutnya digunakan sebagai sumber energi.

- Kloroplas

Kloroplas umumnya berbentuk seperti cangkir atau lonceng yang letaknya di tepi sel. Kloroplas terdiri atas lamela fotosintetik dan diselubungi oleh suatu membran ganda berisi *thylakoids*, klorofil, dan stroma. Dalam proses fiksasi CO₂, kloroplas dapat menyerap energi cahaya yang digunakan untuk melakukan proses fotosintesis.

2.1.2. Aplikasi *Chlorella vulgaris*

- Bahan Baku Biodiesel

Selain memperhatikan kadar lemak, dalam pemilihan bahan baku pembuatan biodiesel juga perlu memperhatikan kadar karbohidratnya. Hal tersebut dikarenakan methanol yang dibutuhkan dalam proses transesterifikasi dapat diperoleh dari fermentasi karbohidrat. Biodiesel dihasilkan melalui proses transesterifikasi minyak atau lemak dengan metanol dimana alkohol akan menggantikan gugus alkohol pada struktur ester minyak (Nurlita et al, 2009).

- Suplemen Makanan

Salah satu syarat bagi mikroalga untuk dapat dimanfaatkan sebagai bahan pakan alami ataupun suplemen makanan adalah kandungan protein yang tinggi dari mikroalga tersebut. *Chlorella vulgaris* memiliki rata-rata kandungan protein sebesar 55,00 % (Maruyama et al, 1997). Jumlah tersebut dapat dikatakan cukup besar sehingga *Chlorella vulgaris* dapat dimanfaatkan sebagai pakan alami dan suplemen makanan.

Selain kadar proteinnya yang tinggi, *Chlorella vulgaris* juga mengandung vitamin dan mineral dalam jumlah besar sehingga sangat baik apabila dimanfaatkan sebagai suplemen makanan. Saat ini, mikroalga *Chlorella vulgaris* telah dimanfaatkan sebagai pakan alami yang banyak digunakan dalam pembenihan dan budidaya perikanan.

2.2. Pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

2.2.1. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi

a. Media Kultur /Nutrien

Kultur alga harus diperkaya nutriennya sebab konsentrasi dari sel saat dikultur lebih tinggi daripada konsentrasi sel ketika hidup di alam. Nutrien yang dimaksud terdiri atas makronutrien dan mikronutrien. Makronutrien yang dibutuhkan adalah N, Ca, K, P, Mg, dan S. Unsur N dalam medium kultur berfungsi untuk membentuk protein, lemak dan hijau daun (klorofil). Unsur P untuk membentuk senyawa DNA dan RNA, unsur K memperkuat organ alga, memperlancar metabolisme dan memperlancar penyerapan makanan, unsur S berperan dalam pembentukan asam amino dan vitamin, unsur Ca berperan membantu menyusun dinding sel, mengatur permeabilitas membran, unsur Mg berperan dalam pembentukan klorofil, pembentukan karbohidrat, lemak dan vitamin.

Sementara untuk mikronutrien yang dibutuhkan adalah Fe, Cu, Zn, Cl, Mo, dan B. Unsur Fe biasanya diberikan dalam bentuk senyawa dan berfungsi sebagai penyangga kestabilan pH medium dan berperan dalam pembentukan klorofil, Mn berperan sebagai aktivator enzim, unsur Zn berperan sebagai aktivator enzim dan penyusun klorofil, unsur Cu berperan sebagai bagian enzim fenolase, laktase, dan askorbat oksidase, unsur B berfungsi dalam translokasi karbohidrat, sebagai aktivator dan inaktivator zat pengatur tumbuh, unsur Cl berperan sebagai ion yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim, Mo berperan dalam membentuk enzim reduktase, sintesis asam askorbat dan ikut dalam metabolisme fosfor. Selain itu mikroalga juga memerlukan mikronutrien organik berupa unsur vitamin yang menunjang pertumbuhannya, antara lain Cobalamin (B12), Thiamin (B1) dan biotin (Taw, 1990; Becker, 1995; Andersen, 2005)

Unsur N dan P sering kali menjadi faktor pembatas pertumbuhan mikroalga. Sementara itu, unsur Si dapat menjadi faktor pembatas pada mikroalga yang memiliki kerangka dinding sel yang mengandung silikat.

Secara umum, perubahan kandungan nutrisi dapat berpengaruh pada kandungan protein, pigmen fotosintesis dan kandungan karbohidrat serta kandungan lemak pada mikroalga (Kawaroe et al, 2010).

b. Pencahayaan

Alga memerlukan pencahayaan untuk melakukan proses fotosintesis untuk mengubah material anorganik menjadi material organik. Besarnya pencahayaan akan bergantung pada kedalaman dan kepekatan sel yang dikultur (Peter, 1996). Semakin tinggi volume kultivasi dan densitas mikroalga, intensitas cahaya yang diperlukan juga semakin besar.

Setiap jenis mikroalga membutuhkan intensitas pencahayaan yang berbeda-beda untuk dapat tumbuh secara optimum. Sebagai contoh, diatom dan alga hijau membutuhkan intensitas cahaya tinggi untuk dapat tumbuh secara optimum. Namun, alga hijau-biru untuk dapat tumbuh secara optimum, cukup dengan intensitas cahaya rendah. Selain intensitas cahaya, lamanya cahaya yang didapatkan juga memiliki peranan dalam pertumbuhan alga (Kawaroe et al, 2010).

c. pH

pH merupakan suatu faktor yang penting. Apabila pH pada medium kultur terlalu tinggi atau terlalu rendah, dapat menyebabkan sel-sel pada alga menjadi rusak. Sebagai akibat dari rusaknya sel-sel pada alga adalah kematian alga yang dikultur (Peter, 1996).

d. Aerasi/Pencampuran

Pencampuran dilakukan untuk menghindari terjadinya sedimentasi alga, serta untuk memastikan bahwa setiap sisi di tempat kultur mendapatkan asupan nutrisi dan pencahayaan yang sama. Akan tetapi, tidak semua alga dapat bertahan pada pengadukan yang kencang. Sementara itu, aerasi bertujuan untuk mengalirkan suatu gas tertentu yang dibutuhkan oleh alga selama proses kultur agar gas yang dibutuhkan tersebut dapat tersebar secara merata. Akan tetapi, kecepatan aliran dan kandungan gas yang dialirkan harus diperhatikan agar tidak mengganggu proses kultur alga (Peter, 1996).

e. Temperatur

Setiap makhluk hidup memiliki suhu optimum untuk pertumbuhan yang berbeda-beda, begitu pula dengan alga. Suhu yang terlalu rendah dapat menyebabkan pertumbuhan alga menjadi lambat dan bahkan dapat memasuki masa hibernasi apabila suhu terlalu rendah. Sementara itu, jika suhu lingkungan terlalu tinggi maka dapat menyebabkan kematian pada beberapa spesies alga (Peter, 1996).

Sama halnya seperti pencahayaan, setiap jenis mikroalga memiliki temperatur optimum yang berbeda-beda. Diatom dapat tumbuh dengan optimum pada suhu rendah. Sedangkan alga hijau dan hijau-biru, suhu tinggi memberikan pertumbuhan yang optimum (Kawaroe et al, 2010).

f. Salinitas

Salinitas air adalah salah satu faktor yang berpengaruh terhadap organisme air dalam mempertahankan tekanan osmotik yang baik antara protoplasma organisme dengan air sebagai lingkungan hidupnya. Beberapa jenis mikroalga yang mengalami perubahan salinitas akibat pemindahan dari lingkungan bersalinitas rendah ke lingkungan yang bersalinitas tinggi akan mendapat hambatan dalam proses fotosintesis (Kawaroe et al, 2010).

Pada umumnya sebagian besar spesies hidup pada tingkat salinitas yang lebih rendah daripada tingkat salinitas di habitat aslinya (Peter, 1996).

Kondisi pertumbuhan optimum dari mikroalga dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Kondisi pertumbuhan *C. vulgaris* (Peter, 1996)

Parameter	Toleransi	Optimum
Temperatur (°C)	16-27	18-24
Salinitas (g/L)	12-40	20-24
Intensitas Cahaya (Lux)	1.000-10.000	2,500-5,000
pH	7-9	8,2-8,7

2.2.2. Fase Pertumbuhan

a. Fase Lag atau Fase Perkenalan

Fase ini ditandai dengan kecilnya peningkatan kepadatan sel. Kultur yang diinokulasi dengan alga yang sedang tumbuh secara eksponensial memiliki fase lag yang singkat sehingga dapat menguangi waktu yang dibutuhkan untuk meningkatkan produksi. Pertumbuhan pada fase ini merupakan fase adaptasi fisiologis dari metabolisme sel untuk tumbuh, seperti peningkatan tingkatan enzim serta metabolisme yang dilibatkan pada pembelahan sel dan fiksasi karbon.

b. Fase Eksponensial

Memasuki fase ini, peningkatan kepadatan sel alga merupakan fungsi waktu (t) pada fungsi logaritmik:

$$C_t = C_o \cdot e^{mt} \quad (2.1)$$

dengan C_t dan C_o merupakan konsentrasi sel pada waktu t dan 0 dan m adalah laju pertumbuhan spesifik. Laju pertumbuhan spesifik umumnya bergantung pada spesies alga, intensitas cahaya, dan temperatur.

c. Fase Penurunan Laju Pertumbuhan

Pembelahan sel menurun ketika nutrien, cahaya, pH, karbon dioksida atau komponen fisika maupun kimia lainnya menjadi faktor yang membatasi pertumbuhan.

d. Fase Stasioner

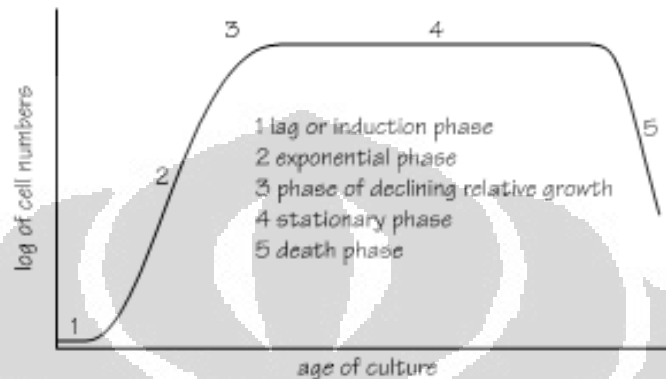
Pada fase ini, faktor pembatas dan laju pertumbuhan menjadi seimbang. Sebagai dampaknya, kepadatan sel menjadi relatif konstan.

e. Fase Kematian

Selama fase ini, kualitas air memburuk dan kandungan nutrien terus menurun hingga tidak mampu melangsungkan pertumbuhan. Kepadatan sel berkurang secara drastis dan pada akhirnya kultur habis.

Fase ini dapat disebabkan karena berbagai macam alasan seperti kehabisan nutrien, kekurangan oksigen, kondisi pertumbuhan terlalu panas, gangguan pH, atau kontaminan.

Secara keseluruhan, fase-fase pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Fase Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* (Peter, 1996)

2.3. Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris*

Chlorella memiliki banyak kandungan esensial yang bermanfaat di antaranya vitamin B kompleks yang dapat memberikan energi tinggi, vitamin E dan C, serta sejumlah besar mineral seperti magnesium, potassium, besi, dan kalsium, serat untuk diet, asam nukleat, asam amino, enzim, CGF (*Chlorella* Growth Factor), dan substansi lain. Namun kandungan yang paling besar dimiliki oleh *Chlorella vulgaris* adalah protein, klorofil, dan lipid.

2.3.1. Protein

Protein pertama kali ditemukan oleh Jöns Jakob Berzelius pada tahun 1838. Protein merupakan senyawa organik kompleks berbobot molekul tinggi. Kata protein berasal dari bahasa Yunani proteios, yang artinya “pertama”, karena termasuk dalam kelompok senyawa yang terpenting dalam organisme hewan. Protein merupakan poliamida. Hidrolisis protein menghasilkan asam-asam amino. Molekul protein mengandung C, H, O, N dan kadang kala S serta P. Protein merupakan salah satu dari biomolekul raksasa, selain polisakarida, lipid, dan polinukleotida, yang merupakan penyusun utama makhluk hidup.

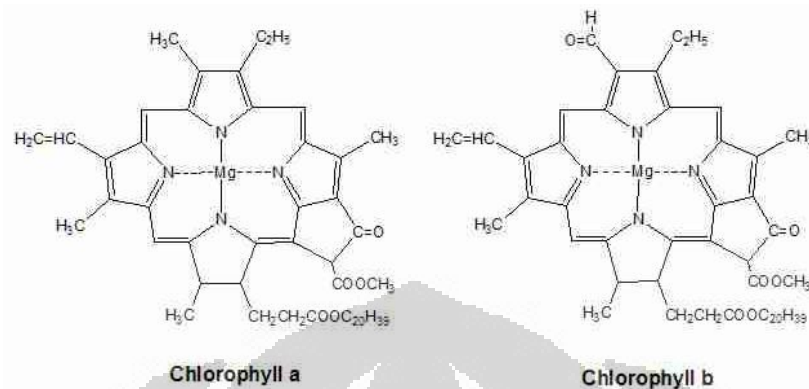
Berdasarkan struktur molekulnya, protein diklasifikasikan sebagai berikut: protein fibrosa dengan contoh: kolagen, fibrin, aktin dan sebagainya. Selain itu protein digolongkan pula sebagai protein struktural dan fungsional. Protein-protein struktural antara lain membentuk kerangka sel atau sitoskelet. Selain itu protein struktural dijumpai pula sebagai penyusun kolagen pada kulit, rawan dan tulang, keratin pada kuku, rambut dan sebagainya. Protein fungsional merupakan protein yang terlibat langsung dalam metabolisme sel, mudah terurai dan terakit kembali. Protein mencakup enzim-enzim yang merupakan katalisator pada proses metabolisme, hormon, hemoglobin dan sebagainya.

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

2.3.2. Klorofil

Klorofil adalah kelompok pigmen fotosintesis yang terdapat dalam tumbuhan, menyerap cahaya merah, biru dan ungu, serta merefleksikan cahaya hijau yang menyebabkan tumbuhan memperoleh ciri warnanya. Terdapat dalam kloroplas dan memanfaatkan cahaya yang diserap sebagai energi untuk reaksi-reaksi cahaya dalam proses fotosintesis. Klorofil A merupakan salah satu bentuk klorofil yang terdapat pada semua tumbuhan autotrof. Klorofil B terdapat pada ganggang hijau chlorophyta dan tumbuhan darat. Klorofil C terdapat pada ganggang coklat Phaeophyta serta diatome Bacillariophyta. Klorofil D terdapat pada ganggang merah Rhodophyta. Akibat adanya klorofil, tumbuhan dapat menyusun makanannya sendiri dengan bantuan cahaya matahari.

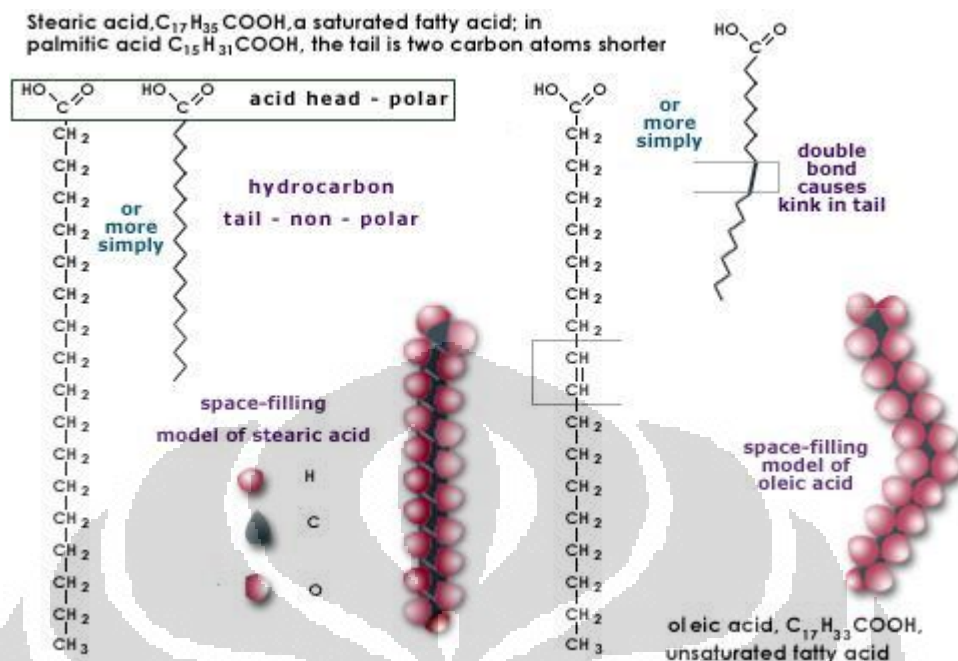
Gambar struktur klorofil dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Struktur Klorofil (Mega, 2012)

2.3.3. Lipid

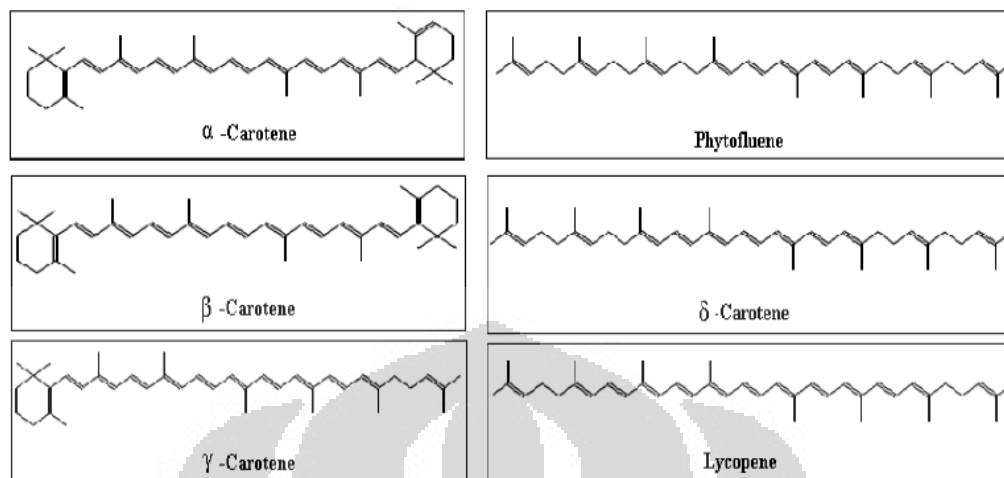
Lemak mencakup asam lemak, lemak netral, fosfolipid, glikolipid, terpen dan steroid. Asam lemak memiliki dua daerah yaitu: 1) rantai karbon yang bersifat hidrofobik, tidak larut atau sedikit larut air, kurang reaktif tetapi sangat larut dalam pelarut organik non polar seperti aseton, benzene dan kloroform, 2) gugus asam karboksilat, yang mengion di dalam larutan, larut dalam air dan mudah bereaksi membentuk ester. Asam lemak merupakan sumber makanan. Terdapat dalam sitoplasma berupa tetesan-tetesan gliserida yang terdiri dari tiga rantai asam lemak yang masing-masing terikat pada gliserol. Selain sebagai sumber makanan dan tenaga, peranan asam lemak yang terpenting adalah sebagai penyusun selaput plasma, selaput tipis ini sebagian besar dari fosfolipid. Beberapa Gambar struktur asam lemak dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5. Beberapa Struktur Asam Lemak (Anonim, 2010)

2.3.4. Beta Karoten

Karotenoid merupakan suatu kelompok pigmen organik berwarna kuning oranye, atau merah oranye yang terjadi secara alamiah dalam tumbuhan yang berfotosintesis, ganggang, beberapa jenis jamur dan bakteri. (Gross, 1991). Karotenoid adalah senyawa poliena isoprenoid yang tidak larut dalam air, mudah diisomerisasi dan dioksidasi, menyerap cahaya, meredam oksigen singlet, memblokir reaksi radikal bebas dan dapat berikatan dengan permukaan hidrofobik (Dutta, et al, 2005). Saat ini lebih dari 600 karotenoid yang telah diisolasi dan dikelompokkan (Holden, 1999). Beberapa diantaranya dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. Struktur Beberapa Jenis Karotenoid (Rodriguez, 1997)

Senyawa β -karoten merupakan suatu produk yang penting dan bernilai ekonomis karena senyawa ini berguna terhadap kesehatan. Beberapa manfaat β -karoten adalah sebagai provitamin A yang berguna pada pembentukan vitamin A, menurunkan resiko penyakit kanker, meningkatkan sistem daya kekebalan tubuh, memperlambat penuaan serta mencegah penyakit katarak (Roth, 1985, Sahidin, 2001, Dutta, 2005).

Kandungan esensial *Chlorella vulgaris* secara jelas dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris* (Maruyama, 1997)

Komposisi		Asam Palmitat	13,9
Protein	55,0	Asam Linolenat	24,2
Lipid	10,2	Asam Arakidonat	0
Ash	5,8	EPA	0
Karbohidrat	23,2	DHA	0
Serat	5,8		
Serin	4,32		
Sistin	1,28		

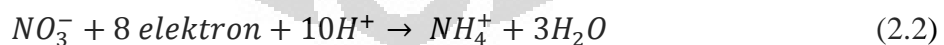
2.4. Peran Nutrisi Nitrogen

Nitrogen merupakan salah satu unsur kimia penting, baik untuk protein maupun DNA. Dalam kondisi nitrogen yang terbatas, sel-sel akan mengalami perubahan warna (penurunan klorofil dan peningkatan karotenoid) dan terjadi akumulasi senyawa karbon organik seperti polisakarida dan minyak tertentu. Umumnya, nitrogen diserap dalam bentuk nitrat (NO_3^-), urea, dan ammonium. Ketika ammonium digunakan sebagai sumber nitrogen utama, pH kultur dapat turun secara signifikan selama sel aktif bekerja karena melepaskan ion H^+ . Jika menggunakan nitrat sebagai sumber nitrogen utama, pH kultur akan meningkat.

Secara umum, mikroalga memiliki kemampuan terbatas untuk menghasilkan tempat penyimpanan nitrogen ketika tumbuh dalam kondisi nitrogen yang cukup. Ketika mikroalga dikultur dalam kondisi nitrogen terbatas, efek yang paling menonjol adalah degradasi aktif dan spesifik dari *phycobilisomes*. Sampai nitrogen sel turun di bawah nilai ambang batas, fotosintesis masih terus terjadi, meskipun pada tingkat yang rendah. Aliran karbon dialihkan dari sintesis protein mengarah ke sintesis lemak atau karbohidrat.

2.5. Siklus Nitrogen

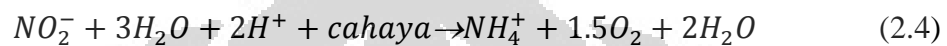
Senyawa nitrogen selain yang sudah menjadi ion NO_3^- dan NH_4^+ harus diubah terlebih dahulu menjadi ion tersebut agar mudah diserap. Namun, ion yang biasanya paling mudah diserap adalah ion NH_4^+ karena ion tersebut dapat berada pada situasi lingkungan yang asam atau kekurangan oksigen (hipoksia) sedangkan ion NO_3^- tidak terserap. Oleh karena itu, ion NO_3^- biasanya dirubah terlebih dahulu menjadi NH_4^+ melalui proses reduksi nitrat dengan reaksi sebagai berikut:



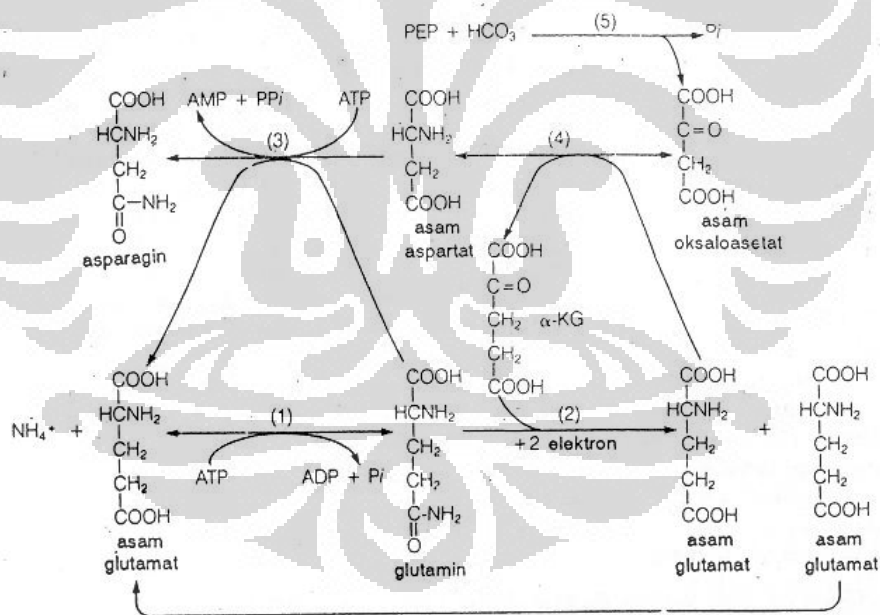
Pada reaksi tersebut, kondisi yang dibutuhkan adalah kondisi yang sangat asam. Peningkatan pH tersebut tentu saja akan mengganggu pertumbuhan sehingga perlu dilakukan cara lain. Cara yang lebih baik adalah dengan mengubah nitrat menjadi nitrit terlebih dahulu dan selanjutnya baru diubah menjadi ion ammonium. Reaksi perubahan nitrat menjadi nitrit adalah:



Reaksi tersebut untuk mengubah nitrat menjadi nitrit. Padahal NADH sangat dibutuhkan untuk membentuk lipid, protein dan klorofil pada proses respirasi sehingga semakin banyak yang dibutuhkan untuk proses reduksi nitrat menjadi nitrit maka semakin sedikit lipid, klorofil dan protein yang terbentuk. Selanjutnya nitrit akan dirubah menjadi ion ammonium dengan reaksi sebagai berikut:



Berdasarkan reaksi tersebut, derajat keasaman yang dibutuhkan tidak seasm reaksi reduksi nitrat menjadi ion ammonium. Selanjutnya, NH_4^+ akan bereaksi dengan asam glutamat dan akan menghasilkan senyawa organik utama seperti asam amino, protein, dan klorofil dengan reaksi seperti pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7. Pengubahan Amonium menjadi Senyawa Organik Utama
(Salisbury, 1992)

Ketika NH_4^+ yang terbentuk sedikit, sebagai akibat penurunan NO_3^- dalam medium, reaksi pembentukan senyawa-senyawa organik seperti pada Gambar 2.7 yang diperlukan untuk pertumbuhan *C. vulgaris* menjadi terhambat. Namun,

NH_4^+ yang berlebihan akan membuat pertumbuhan dari tumbuhan dan alga menurun karena gugus tersebut sangat beracun yang dapat menghambat pembentukan ATP di kloroplas maupun di mitokondria.

2.6. Fotobioreaktor

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

2.6.1. Peranan Fotobioreaktor

Mikroalga merupakan organisme yang unik dan berharga dalam beberapa aplikasi, dimana organisme ini merupakan organisme yang pertama *biological CO₂/O₂exchanger* pada planet ini, penghasil biomassa dan merupakan suatu grup organisme ekologi yang beragam. Mikroalga memiliki potensial bioteknologi yang besar untuk memproduksi substansi berharga untuk aplikasi makanan, kesehatan, kosmetika, industri farmasi dan juga untuk proses bioteknologi lainnya. Proses reaksi yang menghasilkan produk-produk komersial tersebut dijalankan dalam sebuah sistem yang dinamakan fotobioreaktor. Proses *biological C-fixation* untuk mengurangi emisi industri relatif lebih mahal dibandingkan dengan teknik penghilangan CO₂ secara konvensional, tetapi akan dapat bernilai ekonomis dengan pemilihan jenis spesies mikroalga yang menghasilkan produk yang bernilai komersial tinggi. Sehingga basis bioteknologi untuk produksi yang paling efisien dari biomassa mikroalga merupakan kunci keberhasilan untuk masa depan organisme ini. Sistem teknis untuk produksi mikroorganisme fototropik diformulasikan dalam bentuk fotobioreaktor.

2.6.2. Jenis Fotobioreaktor

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

Tabel 2.4. Perbandingan antara beberapa sistem kultivasi mikroalga
(Ugwuet al, 2008)

Sistem Kultur	Kelebihan	Keterbatasan
<i>Open ponds</i>	Relatif ekonomis, mudah dibersihkan setelah kultivasi, baik untuk kultivasi alga	Kontrol yang rendah pada kondisi kultur, sulit menumbuhkan kultur alga dalam waktu yang panjang
<i>Vertical-column photobioreactors</i>	Perpindahan massa yang tinggi, pencampuran yang baik dengan <i>shear</i> yang rendah, konsumsi energi rendah, sangat potensial untuk penskalaan, mudah disterilisasi, baik untuk immobilisasi alga, mengurangi fotoinhibisi dan fotooksidasi	Kecilnya luas permukaan yang mendapat cahaya, konstruksinya butuh bahan yang kompleks, <i>shear stress</i> pada kultur alga, berkurangnya luas permukaan yang mendapat cahaya saat <i>scale-up</i>
<i>Flat-plate photobioreactors</i>	Besarnya luas permukaan yang mendapat cahaya, cocok untuk kultur di luar ruangan, baik untuk immobilisasi alga, jalan penyinarannya baik, produktivitas biomasanya baik, relative murah, mudah dibersihkan, kecil akumulasi oksigen	<i>Scale up</i> membutuhkan banyak suku cadang dan bahan pendukung, sulit dalam mengontrol temperature kultur, terdapat tingkat pertumbuhan di dinding, kemungkinan <i>hydrodynamic stress</i> pada beberapa jenis alga
<i>Tubular photobioreactors</i>	Besarnya luas permukaan yang mendapat cahaya, cocok untuk kultur di luar ruangan, produktivitas biomasanya baik, relative murah	Terdapat gradient/perbedaan <i>p</i> , <i>dissolved oxygen</i> dan CO ₂ di sepanjang pipa, kerak, dan ada pertumbuhan di dinding, membutuhkan lahan tanah yang luas

Dikarenakan sistem terbuka biasanya memiliki produktifitas yang kecil sehingga untuk skala industri banyak digunakan sistem tertutup seperti

tubular fotobioreaktor. Fotobioreaktor sistem tertutup mempunyai berbagai bentuk, ukuran dan panjang yang disesuaikan dengan material yang digunakan (Pulz, 2001). Ada beberapa jenis fotobioreaktor sistem tertutup (dibedakan berdasarkan bentuk, *flow regime*, efisiensi cahaya dan luas permukaan kontaknya) yang biasanya digunakan dalam kultivasi mikroorganisme yaitu :

- *Tubular fotobioreactor*
- *Conical fotobioreactor*
- *Plat-type fotobioreactor*
- *Bubble column fotobioreactor*

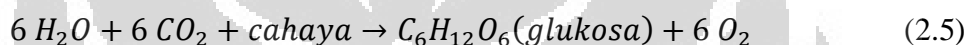
2.7. Fotosintesis pada *Chlorella* sp.

Fotosintesis adalah suatu proses biokimia pembentukan zat makanan atau energi yaitu glukosa yang dilakukan oleh alga dengan menggunakan zat hara, karbondioksida, dan air serta dibutuhkan bantuan energi cahaya matahari. Hampir semua makhluk hidup bergantung dari energi yang dihasilkan dalam fotosintesis. Akibatnya fotosintesis menjadi sangat penting bagi kehidupan di bumi. Fotosintesis juga berjasa menghasilkan sebagian besar oksigen yang terdapat di atmosfer bumi. Organisme yang menghasilkan energi melalui fotosintesis (*photos* berarti cahaya) disebut sebagai fotoautotrof. Fotosintesis merupakan salah satu cara asimilasi karbon karena dalam fotosintesis karbon bebas dari CO₂ diikat (difiksasi) menjadi gula sebagai molekul penyimpan energi.

Kloroplas terdapat pada *Chlorella vulgaris* dan di dalam kloroplas terdapat pigmen klorofil yang berperan dalam proses fotosintesis. Kloroplas mempunyai bentuk seperti cakram dengan ruang yang disebut stroma. Stroma ini dibungkus oleh dua lapisan membran. Membran stroma ini disebut tilakoid, yang didalamnya terdapat ruang-ruang antar membran yang disebut lokuli. Di dalam stroma juga terdapat lamela-lamela yang bertumpuk-tumpuk membentuk grana (kumpulan granum). Granum sendiri terdiri atas membran tilakoid yang merupakan tempat terjadinya reaksi terang dan ruang tilakoid yang merupakan ruang di antara membran tilakoid. Bila sebuah granum disayat maka akan dijumpai beberapa komponen seperti protein, klorofil a, klorofil b, karotenoid, dan lipid. Secara keseluruhan, stroma berisi protein, enzim, DNA, RNA, gula fosfat, ribosom,

vitamin-vitamin, dan juga ion-ion logam seperti mangan (Mn), besi (Fe), maupun tembaga (Cu). Pigmen fotosintetik terdapat pada membran tilakoid. Sedangkan, perubahan energi cahaya menjadi energi kimia berlangsung dalam tilakoid dengan produk akhir berupa glukosa yang dibentuk di dalam stroma. Klorofil sendiri sebenarnya hanya merupakan sebagian dari perangkat dalam fotosintesis yang dikenal sebagai fotosistem.

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



Glukosa dapat digunakan untuk membentuk senyawa organik lain seperti selulosa dan dapat pula digunakan sebagai bahan bakar. Proses ini berlangsung melalui respirasi seluler yang terjadi baik pada alga. Secara umum reaksi yang terjadi pada respirasi seluler berkebalikan dengan persamaan di atas. Pada respirasi, gula (glukosa) dan senyawa lain akan bereaksi dengan oksigen untuk menghasilkan karbon dioksida, air, dan energi kimia.

C. vulgaris menangkap cahaya menggunakan pigmen yang disebut klorofil. Pigmen inilah yang memberi warna hijau pada tumbuhan. Klorofil terdapat dalam organel yang disebut kloroplas. Klorofil menyerap cahaya yang akan digunakan dalam fotosintesis. Seluruh bagian tubuh alga yang berwarna hijau mengandung kloroplas. Di dalam lapisan sel yang disebut mesofil yang mengandung kloroplas dan cahaya akan melewati lapisan epidermis tanpa warna dan yang transparan, menuju mesofil, tempat terjadinya sebagian besar proses fotosintesis.

Semua sel yang memiliki kloroplas berpotensi untuk melangsungkan reaksi ini. Di organel inilah tempat berlangsungnya fotosintesis, tepatnya pada bagian stroma. Hasil fotosintesis (disebut *fotosintat*) biasanya dikirim ke jaringan-jaringan terdekat terlebih dahulu.

Pada dasarnya, rangkaian reaksi fotosintesis dapat dibagi menjadi dua bagian utama: **reaksi terang** (karena memerlukan cahaya) dan **reaksi gelap** (tidak memerlukan cahaya tetapi memerlukan karbon dioksida).

Reaksi terang terjadi pada grana sedangkan reaksi gelap terjadi di dalam stroma. Dalam reaksi terang, terjadi konversi energi cahaya menjadi energi kimia dan menghasilkan oksigen (O_2). Sedangkan dalam reaksi gelap terjadi seri reaksi siklik yang membentuk gula dari bahan dasar CO_2 dan energi (ATP dan NADPH). Energi yang digunakan dalam reaksi gelap ini diperoleh dari reaksi terang. Pada proses reaksi gelap tidak dibutuhkan cahaya matahari. Reaksi gelap bertujuan untuk mengubah senyawa yang mengandung atom karbon menjadi molekul gula.

Reaksi terang adalah proses untuk menghasilkan ATP dan reduksi NADPH₂. Reaksi ini memerlukan molekul air dan cahaya matahari. Reaksi terang melibatkan dua fotosistem yang saling bekerja sama, yaitu fotosistem I dan II. Fotosistem I (PS I) berisi pusat reaksi P700, yang berarti bahwa fotosistem ini optimal menyerap cahaya pada panjang gelombang 700 nm, sedangkan fotosistem II (PS II) berisi pusat reaksi P680 dan optimal menyerap cahaya pada panjang gelombang 680 nm.

Reaksi gelap pada tumbuhan dapat terjadi melalui dua jalur, yaitu **siklus Calvin-Benson** dan **siklus Hatch-Slack**. Pada siklus Calvin-Benson alga mengubah senyawa ribulosa 1,5 bisfosfat menjadi senyawa dengan jumlah atom karbon tiga yaitu senyawa 3-phosphogliserat.. Penambatan CO_2 sebagai sumber karbon pada alga ini dibantu oleh enzim rubisco.

Fiksasi CO_2 ini merupakan reaksi gelap yang distimulasi oleh pencahayaan kloroplas. Fiksasi CO_2 melewati proses karboksilasi, reduksi, dan regenerasi. Karboksilasi melibatkan penambahan CO_2 dan H_2O ke RuBP membentuk dua molekul 3-fosfoglisarat(3-PGA). Kemudian pada fase reduksi, gugus karboksil dalam 3-PGA direduksi menjadi 1 gugus aldehida dalam 3-fosfoglisaraldehida (3-Pgaldehida). Reduksi ini tidak terjadi secara langsung, tapi gugus karboksil dari 3-fosfoglisarat.

Proses fotosintesis dipengaruhi beberapa faktor yaitu faktor yang dapat memengaruhi secara langsung seperti kondisi lingkungan maupun faktor yang

tidak memengaruhi secara langsung seperti terganggunya beberapa fungsi organyang penting bagi proses fotosintesis. Proses fotosintesis sebenarnya peka terhadap beberapa kondisi lingkungan meliputi kehadiran cahaya matahari, suhu lingkungan, konsentrasi karbondioksida (CO₂).

Faktor lingkungan tersebut dikenal juga sebagai faktor pembatas dan berpengaruh secara langsung bagi laju fotosintesis. Faktor pembatas tersebut dapat mencegah laju fotosintesis mencapai kondisi optimum meskipun kondisi lain untuk fotosintesis telah ditingkatkan, inilah sebabnya faktor-faktor pembatas tersebut sangat memengaruhi laju fotosintesis yaitu dengan mengendalikan laju optimum fotosintesis. Selain itu, faktor-faktor seperti translokasi karbohidrat, umur pertumbuhan, serta ketersediaan nutrisi memengaruhi fungsi organ yang penting pada fotosintesis sehingga secara tidak langsung ikut memengaruhi laju fotosintesis.

Berikut adalah beberapa faktor utama yang menentukan laju fotosintesis:

1. *Intensitas cahaya*

Laju fotosintesis maksimum ketika banyak cahaya.

2. *Konsentrasi karbon dioksida*

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

3. *Suhu*

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

4. *Kadar air*

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

5. *Kadar fotosintat (hasil fotosintesis)*

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

2.8. State of the Art

Dibawah ini merupakan rangkuman penelitian mengenai peningkatan kandungan esensial dari mikroalga menggunakan metode dan medium yang berbeda dimana salah satunya menggunakan metode variasi nutrisi nitrogen dalam medium pertumbuhan.

Tabel 2.5. Road Map Penelitian

	Metode yang Digunakan	Medium yang Digunakan	Kandungan Esensial			
			Lipid	Klorofil	Protein	
Mikroalga	<i>Dunaliella salina</i>	Variasi kandungan nutrient dalam medium	Erdschreiber	Chen, Tang, Ma, Holland, Simon, dan Salley (2011)		
	<i>Scenedesmus dimorphus</i> dan <i>Chlorella protothecoides</i>	Variasi nutrisi nitrogen dalam medium dan Variasi metode ekstraksi	Basal (MB)	Shen, Pei, Yuan, and Mao (2009)		
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Variasi nutrisi nitrogen dalam medium	Fogg	Nigam, Rai, Sharma (2011)		
	<i>Nannochloropsis oculata</i> dan <i>Chlorella vulgaris</i>	Variasi temperatur, metode ekstraksi, dan nutrisi nitrogen dalam medium	Guillard	Converti, Casazza, Ortiz, Perego, Borghi (2009)		
	<i>Neochloris oleoabundans</i>	Variasi nutrisi nitrogen dalam medium	Soil Extract (SE)	Yanqun Li, Horsman, Wang, Wu, and Christopher (2008)		
	<i>Chlorella vulgaris</i>	Variasi metode ekstraksi, Variasi kandungan CO ₂ dalam medium, Variasi nutrisi nitrogen dalam medium, dan Variasi waktu pemanenan	Fitzgerald	Widjaja, Chien, and Ju (2008)		
		Variasi nutrisi nitrogen dalam medium	Benneck	Yusandi (2010)		
Variasi nutrisi nitrogen dalam medium		Walne	Penelitian ini			

Penelitian mengenai peningkatan kandungan esensial pada mikroalga telah banyak dilakukan seperti pada *Dunaliella salina*, *Scenedesmus*

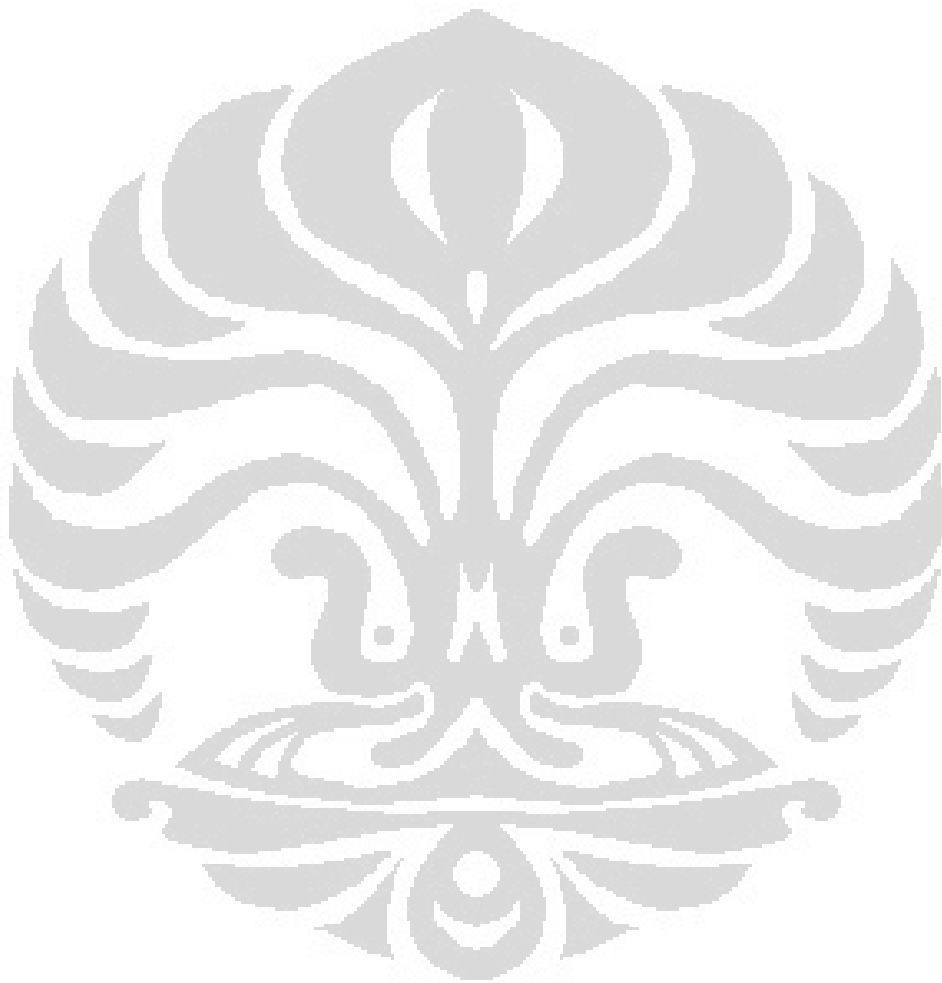
dimorphus, *Chlorella protothecoides*, *Neochloris oleoabundans*, serta *Chlorella vulgaris*. Metode yang digunakan dan jenis kandungan yang ingin pun berbeda. Metode-metode yang digunakan oada penelitian-penelitian sebelumnya diantaranya adalah variasi kandungan nutrient dalam medium, variasi nutrisi nitrogen dalam medium, variasi metode ekstraksi, variasi kandungan CO₂ dalam medium, serta variasi waktu pemanenan. Penelitian ini difokuskan terhadap peningkatan kandungan lipid pada *Chlorella vulgaris* dengan menggunakan medium *Walne*.

Chen melakukan penelitian mengenai variasi nutrisi nitrogen menggunakan mikroalga *Dunaliella salina* pada tahun 2011. Hasil dari penelitian tersebut adalah penurunan konsentrasi nitrogen membuat kandungan lipid pada mikroalga tersebut meningkat. Pada tahun 2009, Shen melakukan penelitian dengan menggunakan mikroalga *Scenedesmus dimorphus* dan *Chlorella protothecoides* dan hasil yang diperoleh adalah akumulasi lipid dari kedua mikroalga tersebut meningkat ketika nutrisi nitrogen dalam medium dikurangi.

Selanjutnya, pada tahun 2011, pengaruh nutrisi nitrogen terhadap akumulasi lipid dilakukan oleh Nigam pada mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*. Hasil penelitian tersebut adalah penurunan nutrisi nitrogen menyebabkan penurunan pembentukan biomassa tetapi menaikkan kandungan lipidnya. Penelitian terhadap variasi nutrisi nitrogen juga dilakukan oleh Converte pada tahun 2009 dengan menggunakan mikroalga *Nannochloropsis oculata* dan *Chlorella vulgaris*. Pada kedua mikroalga tersebut, penurunan nutrisi nitrogen menyebabkan kenaikan akumulasi lipid.

Penelitian dengan menggunakan *Chlorella vulgaris* telah dilakukan oleh beberapa orang sebelumnya seperti Widjaja pada tahun 2008 dan Yusandi pada tahun 2010. Kedua penelitian tersebut menghasilkan bahwa penurunan nutrisi nitrogen juga memberikan dampak berupa kenaikan kandungan lipid.

Akan tetapi, penurunan nutrisi nitrogen tidak selamanya menyebabkan kenaikan kandungan lipid dalam mikroalga. Pada mikroalga *Neochloris oleoabundans*, penurunan nutrisi nitrogen justru membuat kandungan lipid dalam mikroalga tersebut ikut turun. Penelitian tersebut dilakukan oleh Li pada tahun 2008.



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Diagram Alir Penelitian

Skema proses penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan-peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Fotobioreaktor berbentuk aquarium dengan kapasitas 18 dm³ dengan bahan kaca transparan yang dilengkapi dengan aliran *input* dan *output* gas dan udara.
2. Kompresor udara *portable*.
3. Tabung gas CO₂ yang dilengkapi dengan regulator.
4. Flowmeter udara,
5. Flowmeter gas CO₂.
6. Lampu Phillip Hallogen 20W/12V/50Hz dan transformator 220V primer/12V sekunder dengan intensitas maksimum 60 klx sebagai sumber iluminasi.
7. T-septum yang terbuat dari bahan gelas sebagai titik indikator konsentrasi CO₂ yang masuk ke dalam fotobioreaktor.
8. Selang silikon dan selang plastik (sebagai rangkaian peralatan dan konektor rangkaian).
9. Unit *Gas Chromatography* TCD Shimadzu GC-8A (untuk mengukur konsentrasi gas CO₂ *input* dan *output* fotobioreaktor), *Recorder* C-R6A *Chromatograph* (untuk mendapatkan printout dari hasil GC), serta tabung gas (*carrier gas*) Argon.
10. *Syringe* 1001 RT *Hamilton* 1 cm³ (*inlet-outlet*) (untuk mengambil sampel dari *input* dan *output* CO₂).
11. *Set Lightmeter* Lxtron LX-103 (sebagai penghitung kekuatan intensitas cahaya, dengan satuan Lx ataupun *Foot-Candle*).
12. Kertas pH.
13. *Spectro* UV-VIS RS *Spectrometre*, LaboMed. Inc (untuk menghitung OD/absorbansi) dan *Centrifuge* (untuk memisahkan sel *Chlorella vulgaris* dari mediumnya).
14. *Breeding Sponge Filter* beserta *sponge* yang digunakan untuk memerangkap alga.
15. *Sparger* untuk mengalirkan udara dan gas CO₂.
16. *Sonicator* untuk memecah dinding sel *Chlorella sp.*

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Starter mikroalga hijau *Chlorella vulgaris*.
2. Bahan medium *Walne*.
3. Gas CO₂ sebagai bahan untuk fotosintesis mikroalga.
4. Air PAM untuk melarutkan medium dan mencuci peralatan.
5. Alkohol 70% untuk sterilisasi peralatan.
6. Chloroform dan Methanol sebagai pelarut dalam ekstraksi lipid.
7. Aseton sebagai pelarut dalam ekstraksi klorofil dan beta karoten.
8. Larutan protein standar, larutan Biuret, dan Reagen Folin untuk pengujian kandungan protein

3.3. Variabel Penelitian

Variabel-variabel yang dapat diketahui dari penelitian ini terbagi menjadi variabel tetap, variabel bebas, dan variabel terikat.

a) Variabel Tetap

Variabel tetap adalah variabel yang nilainya dijaga konstan hingga penelitian selesai. Variabel tetap dalam penelitian ini adalah intensitas cahaya (I) dan kecepatan superfisial CO₂.

b) Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang diatur pada suatu harga tertentu. Variabel bebas pada penelitian ini adalah jumlah nitrat sebagai sumber nutrisi nitrogen yang digunakan sebanyak 3 variasi yakni 2 variasi dimana kandungan nitratnya diturunkan dan 1 variasi dimana kandungan nitrat sesuai dengan komposisi pada médium.

c) Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang nilainya bergantung pada variabel bebas dan variabel tetap. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kandungan lipid, protein, klorofil, dan beta karoten dalam sampel biomassa *Chlorella vulgaris*.

3.4. Prosedur Penelitian

Prosedur yang digunakan dalam penelitian akan dijelaskan dibawah ini. Prosedur penelitian tersebut dimulai dari tahap persiapan hingga proses pengambilan data kandungan lipid.

3.4.1. Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Peralatan

Prosedur sterilisasi peralatan terbagai menjadi dua yaitu untuk peralatan yang terbuat dari gelas tahan panas dan untuk peralatan yang terbuat dari gelas tidak tahan panas. Untuk peralatan yang terbuat dari gelas tahan panas, prosedur sterilisasi peralatannya adalah mencuci peralatan dengan sabun dan dibilas dengan air sampai bersih, mengeringkan peralatan dengan tisu atau kompresor udara dan kemudian menutup peralatan yang berlubang atau berongga dengan plastik *wrap* agar tidak terkontaminasi setelah disterilisasi, memasukkan peralatan yang akan disterilisasi ke dalam *autoclave* dan disterilisasi pada suhu 120 °C selama \pm 45 menit, menyimpan peralatan yang sudah disterilisasi di dalam lemari penyimpanan yang dilengkapi dengan lampu UV.

Untuk peralatan yang terbuat dari gelas tidak tahan panas, prosedur sterilisasi peralatannya adalah mencuci peralatan dengan sabun dan dibilas dengan air sampai bersih, mengeringkan peralatan dengan tisu atau kompresor udara dan kemudian menutup peralatan yang berlubang atau berongga dengan plastik *wrap* agar tidak terkontaminasi setelah disterilisasi, membilas peralatan dengan alkohol 70 % selama \pm 5 menit dan kemudian dibilas dengan air RO sebanyak 20 kali untuk memastikan tidak ada sisa alkohol pada alat, menyimpan peralatan yang sudah disterilisasi di dalam lemari penyimpanan yang dilengkapi dengan lampu UV selama \pm 2 jam sebelum digunakan. Sterilisasi ini dilakukan sebelum alat tersebut dipakai, karena jika dibandingkan dengan peralatan yang dipanaskan, sterilisasi dengan prosedur ini lebih tidak tahan terhadap kontaminasi.

b. Membuat Medium *Walne* dengan Komposisi Nitrat yang Berbeda Menggunakan Air PAM

Medium *Walne* dipilih karena médium ini memiliki kandungan nutrisi yang yang dibutuhkan untuk proses pertumbuhan *Chlorella vulgaris Buitenzorg* lebih lengkap. Kandungan yang lebih lengkap tersebut diharapkan dapat membuat pertumbuhan *Chlorella vulgaris Buitenzorg* lebih optimal.

Komposisi dari médium *Walne* dapat dilihat pada Tabel 3.1, 3.2, dan 3.3 (<http://www.ccap.ac.uk/media/recipes/Walnes.htm>).

Tabel 3.1. Komposisi Medium *Walne Stock Trace Metal Solution* (TMS)

Bahan	Jumlah (g/L)
ZnCl ₂	21
CoCl ₂ · 6H ₂ O	20
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	9
CuSO ₄ · 5H ₂ O	20

Tabel 3.2. Komposisi Medium *Walne Stock Vitamin Solution*

Bahan	Jumlah (mg/L)
Cyanocobalamin	100
Thiamine	100
Biotin	2

Tabel 3.3. Komposisi Medium *Walne Stock Nutrient Solution*

Bahan	Jumlah (g/L)
FeCl ₃ · 6H ₂ O	1,3
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0,36
H ₃ BO ₃	33,6
EDTA	45
NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	20
NaNO ₃	100
TMS	1 mL

Cara pembuatan medium *Walne* adalah membuat masing-masing stock dalam air PAM yang jumlahnya disesuaikan dengan total volume masing-masing stock yang dibutuhkan selama melakukan penelitian. Setelah membuat masing-masing *stock*, selanjutnya melarutkan masing-masing *stock* dalam jumlah tertentu ke dalam 1 liter air PAM yang telah direbus. Besarnya penambahan masing-masing *stock* dapat dilihat pada Tabel 3.4.

Tabel 3.4. Komposisi *Stock* dalam 1 Liter Pelarut

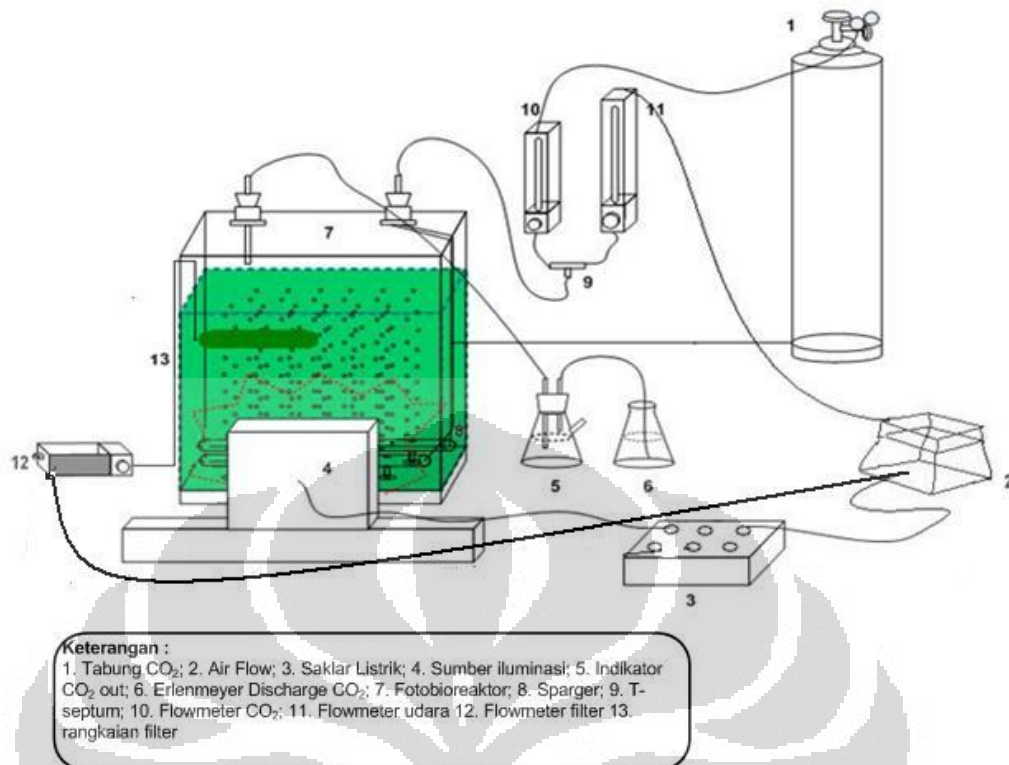
Larutan Stock	Per Liter Pelarut
<i>Vitamin Solution</i>	0,1 ml
<i>Nutrient Solution</i>	1 ml

c. Perangkaian Peralatan

Penelitian ini menggunakan fotobioreaktor berukuran 18 liter dan dirangkai seperti yang ditunjukkan Gambar 3.2. Fotobioreaktor yang akan digunakan diletakkan dalam posisi sejajar dan menghadap ke lampu halogen sebagai sumber iluminasi.

Kalibrasi flowmeter dilakukan agar dapat diketahui dengan tepat skala dari masing-masing flowmeter. Hal ini penting karena gas yang mengandung CO₂ yang akan dialirkan harus selalu dijaga konstan. Pada setiap sambungan selang dilapisi dengan *pipe seal* untuk memastikan agar tidak ada sambungan yang bocor dan juga untuk mencegah kontaminan masuk kedalam rangkaian peralatan. Sumber iluminasi yang digunakan adalah dua buah lampu halogen dengan kekuatan intensitas cahaya sampai 110,000 lx.

Rangkaian peralatan yang digunakan dapat diilustrasikan melalui Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Ilustrasi Rangkaian Peralatan yang Digunakan

d. Pembiakkan Kultur Murni *Chlorella vulgaris* dalam Medium *Walne*

Prosedur pembiakan kultur murni adalah menyiapkan Medium *Walne* dan peralatan pembiakan (wadah, selang udara, tutup wadah) yang telah disterilkan terlebih dahulu, stok murni *C. vulgaris* dimasukkan ke dalam wadah steril dan dicampur dengan Medium *Walne* yang telah steril. Perbandingan antara jumlah stok *Chlorella* dengan medium dapat diatur sesuai kebutuhan riset. Pemandahan ini harus dijaga steril, dilakukan dalam *transfer box*, setelah lingkungan disterilkan dengan alkohol 70% dan menggunakan api bunsen.

Selanjutnya, medium kultur tersebut dipindahkan ke dalam fotobioreaktor pembiakkan dan di-*bubbling* dengan menggunakan kompresor udara. Pada tahap ini juga harus diberikan cahaya namun cukup dengan intensitas kecil $\pm 3,000$ lx.

Pembiakan dapat dilakukan selama satu minggu atau lebih bila bertujuan untuk memperbanyak stok yang ada, tetapi jika hanya untuk

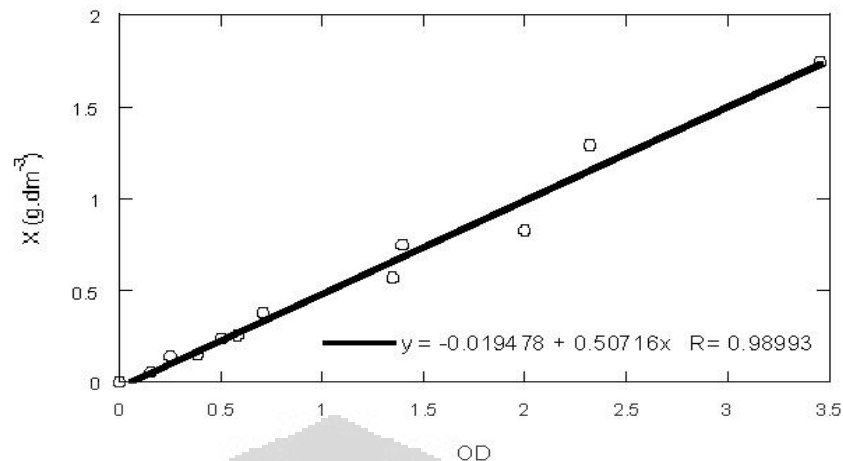
melewati *lag time* dapat dilakukan selama 2-3 hari atau ± 60 jam, tergantung pada pertumbuhan jumlah selnya.

e. Pembuatan Kurva Kalibrasi OD vs X

Langkah-langkah penghitungan adalah kultur yang akan diukur berat kering biomasnya diaduk sampai semua endapan *C. vulgaris Buitenzorg* merata dalam medium, kemudian mengambil 5 ml sampel untuk diukur *optical density*nya.

Spektrofotometer di-set pada panjang gelombang 600 nm. Panjang gelombang 600 nm didapat dari *peak* yang keluar selama kalibrasi panjang gelombang dengan menggunakan *Spektrofotometer Double Beam*. Untuk melihat nilai OD pada penelitian ini digunakan *spektrofotometer single beam*, dan cahaya tampak (VIS) sebagai sumber cahaya yang akan diabsorpsi oleh *Chlorella sp.*, kalibrasi spektrofotometer dengan menggunakan kuvet berisi aquades/medium pada panjang gelombang yang sama, kemudian mengatur agar absorbansinya menunjukkan angka 0 (nol), masukkan sampel ke dalam kuvet, kemudian uji dalam spektrofotometer. Data yang diambil adalah nilai absorbansi pada range 0.2-0.4, jika melebihi dari range tersebut maka sampel harus diencerkan sampai nilai absorbansinya mencapai range tersebut. Jika dilakukan pengenceran maka jumlah selnya dikalikan jumlah pengenceran yang dilakukan.

Untuk pengukuran berat kering biomasnya, sampel yang telah diukur *optical density*nya disentrifuge untuk dipadatkan biomasnya. Setelah itu, biomassa yang telah padat dipisahkan dari mediumnya dan dimasukkan ke dalam cawan petri untuk dikeringkan. Setelah dikeringkan di dalam *oven*, sampel ditimbang beratnya. Berat kering biomassa yang dihasilkan merupakan pengurangan dari berat cawan petri yang berisi biomassa dengan berat cawan petri kosong. Selanjutnya membuat kurva antara OD₆₀₀ dengan berat kering biomassa sehingga didapatkan suatu persamaan linearnya. Kurva OD₆₀₀ vs X yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3. Kurva Kalibrasi OD₆₀₀ vs X

3.4.2. Pelaksanaan Penelitian

Pada penelitian ini akan dilakukan perlakuan filtrasi *sponge* pada sirkulasi aliran medium kultur. Perlakuan ini diharapkan dapat mengontrol pertumbuhan pada fotobioreaktor sehingga kerapatan mikroalga di dalamnya tidak terlalu pekat yang nantinya akan menyebabkan efek self shading. Biomassa yang tersaring pada filter *sponge* diambil dengan cara memeras filter *sponge* yang kemudian dibilas dengan Medium *Walne* yang dilakukan dalam interval waktu 12 jam sekali. Sesaat setelah pengambilan filter *sponge* dari media kultur, filter *sponge* baru segera dipasang agar proses pemerangkapan sel pada filter *sponge* dapat berlangsung secara kontinu.

Penelitian ini terdiri atas dua tahap. Tahap pertama adalah melakukan variasi komposisi nutrisi nitrogen pada Medium *Walne* dengan menggunakan air PAM. Sedangkan tahap kedua adalah menguji kandungan lipid, protein, klorofil, dan beta karoten yang ada pada sampel biomassa tersebut. Untuk menguji kandungan lipid akan digunakan metode *Bligh-Dyer* yang memanfaatkan prinsip gravimetri dengan menggunakan pelarut polar dan nonpolar.

Kondisi operasi yang digunakan pada penelitian ini terangkum sebagai berikut:

1. Temperatur fotobioreaktor sebesar 29°C.
2. Tekanan gas dan udara dalam fotobioreaktor sebesar 1 atm.
3. Laju alir udara untuk sparger sebesar 10 L/min.

4. Konsentrasi CO₂ yang masuk ke dalam reaktor adalah sebesar 5%.
5. Laju alir hisap (σ) sebesar 3 L/min.

3.4.3. Pengambilan Data

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

- pH kultur media dalam fotobioreaktor
- Intensitas cahaya di depan reaktor/ I_o (Lx)
- Intensitas cahaya dibalik reaktor/ I_b (Lx)
- Kerapatan biomassa dalam kultur media dalam fotobioreaktor yang kemudian dikonfersikan ke dalam berat kering (g/L)
- Berat biomassa yang terperangkap dalam filter (g/L)
- Konsentrasi gas CO₂ dalam udara input dan output (y_{CO_2})

Berikut merupakan proses pengambilan data pada penelitian ini:

1. Menghitung nilai intensitas cahaya yang digunakan pada awal penelitian dengan menggunakan lux meter
2. Mengambil sampel dari medium kultur dalam fotoreaktor sebanyak kurang lebih 10 ml untuk diukur kerapatan biomassa dalam kultur media/absorbansinya (X/OD) bersamaan dengan mengambil nilai pH, konsentrasi gas CO₂ dalam udara input dan output (y_{CO_2}) dan intensitas cahaya yang ditransmisikan ke belakang reaktor (I_b). Langkah-langkah pengambilan data-data ini diulangi setiap interval waktu 6 jam sekali hingga mikroalga dalam medium kultivasi memasuki fase stationer.
3. Biomassa yang terperangkap dalam filter *sponge* juga diambil dengan cara memerasnya dari filter *sponge* yang digunakan. Filter *sponge* diambil dari alat sirkulasi aliran medium kultur dan filter *sponge* yang baru dipasang pada alat tersebut. Pengambilan biomassa yang melekat pada filter *sponge* ini dilakukan setiap interval waktu 12 jam sekali hingga pertumbuhan alga pada medium kultur memasuki fase stationer.
4. Pengambilan data lipid dilakukan dengan metode Bligh-Dyer dengan prosedur berikut:
 - a. Sampel mikroalga diambil sebanyak 10 mL pada kerapatan (OD) tertentu.

- b. Mencampurkan sampel dengan methanol dan chloroform dengan perbandingan 1:2:1.
 - c. Memasukkan campuran tersebut dalam sonikator selama 10 menit.
 - d. Menambahkan methanol dan chloroform ke dalam campuran dengan perbandingan 1:1.
 - e. Memasukkan kembali campuran ke dalam sonikator selama 10 menit.
 - f. Sampel lalu disentrifuge selama 10 menit.
 - g. Setelah terjadi pemisahan, ambil bagian berwarna kuning dengan pipet tetes.
 - h. Lipid kemudian dikeringkan dari kloroformnya.
 - i. Berat lipid didapatkan dari selisih antara berat cawan kosong dan berat cawan dengan lipid kering.
5. Pengambilan data klorofil dan beta karoten
- a. Sampel sebanyak 10 mL dicampurkan aseton dengan perbandingan 1:1.
 - b. Memasukkan campuran ke dalam sonikator selama 45 menit.
 - c. Sampel kemudian disentrifuge selama 30 menit
 - d. Untuk klorofil, mengukur absorbansi sampel pada panjang gelombang 645 nm & 663 nm (dengan larutan standarnya adalah aseton).
 - e. Untuk beta karoten, absorbansi yang digunakan adalah pada panjang gelombang 450 nm.
6. Pengambilan data protein menggunakan prosedur Lowry (1951) sebagai berikut.
- a. Menyampurkan larutan protein standar (BSA 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) dan dH_2O dalam jumlah tertentu (Tabel 3.5) dalam tabung reaksi sehingga diperoleh berbagai konsentrasi antara 20-200 mg dalam larutan standar 1 mL.
 - b. Menyampurkan sampel protein dan dH_2O sehingga volume total larutan sampel 2,0 mL pada tabung lain.
 - c. Menambahkan larutan Biuret sebanyak 5 mL ke dalam masing-masing tabung yang berisi larutan protein (standar dan sampel) dan segera divortex. Menginkubasi campuran reaksi pada suhu kamar tepat 10 menit. Untuk menghitung waktu reaksi digunakan *stopwatch*, dan

waktu dihitung saat menambahkan larutan Biuret. Agar waktu reaksinya seragam untuk tiap sampel, ketika menambahkan larutan Biuret pada tabung berikutnya diberikan selang waktu tertentu.

- d. Menambahkan reagen Folin pada menit ke-10 sebanyak 0,5 mL ke dalam campuran reaksi dan segera dikocok menggunakan vortex. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit setelah penambahan reagen Folin.
- e. Mengukur serapan masing-masing larutan tepat pada menit ke-30 yang ditetapkan pada panjang gelombang 750 nm.

Tabel 3.5. Penentuan kadar protein dengan metode Lowry

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

3.4.4. Pengolahan Data Penelitian

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

a. Pengolahan Data OD_{600}

Nilai OD yang didapatkan dari hasil penelitian akan dikonversi menjadi nilai X dimana X adalah berat kering biomassa *Chlorella vulgaris* yang terdapat di dalam satu satuan volume di luar medium hidupnya. Jumlahnya dapat dihitung secara langsung dengan menggunakan data absorbansi pada 600 nm dan mengkorelasikannya dengan menggunakan kurva kalibrasi OD_{600} Vs X. Dari pengolahan ini dapat dibuat kurva pertumbuhan X Vs t.

Selanjutnya dibuat model pendekatan untuk mendapatkan suatu persamaan yang menyatakan hubungan antara X dengan t atau $X = f(t)$.

Persamaan ini digunakan untuk menghitung nilai laju pertumbuhan spesifik (μ) yaitu laju pertumbuhan produksi biomassa pada fasa logaritmik dan merupakan waktu yang diperlukan untuk sekali pembelahan sel. Pada pengolahan ini model yang digunakan adalah persamaan kinetika monod, yaitu:

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

dimana :

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

N = jumlah sel (sel/cm^3)

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

t = waktu (h)

b. Pengolahan Data pH

Nilai pH digunakan untuk menghitung besar konsentrasi $[\text{HCO}_3^-]$ dalam reaktor dengan menggunakan persamaan Henderson-Hasellbach, yaitu :

$$[\text{HCO}_3^-] = \left(\frac{K_{\text{CO}_2}}{H_{\text{CO}_2}} \right) \left(\frac{y_{\text{CO}_2} \cdot P_T}{10^{-\text{pH}}} \right) \left(\frac{\text{EXP} \left[A_k \left(\frac{1-T_0}{T} \right) + B_k \ln \left(\frac{T}{T_0} \right) + C_k \left(\frac{T}{T_0} - 1 \right) \right]}{\text{EXP} \left[A_h \left(\frac{1-T_0}{T} \right) + B_h \ln \left(\frac{T}{T_0} \right) + C_h \left(\frac{T}{T_0} - 1 \right) \right]} \right) \quad (3.2)$$

dimana :

P_T = tekanan operasi (atm)

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

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

H_{CO_2} = 2900 KPa/mol

T = temperatur operasi

T_0 = temperatur standar

c. Pengolahan Data CTR dan q_{CO_2}

CTR (*Carbondioxide Transfer Rate*) merupakan banyaknya gas CO_2 yang ditransferkan dalam suatu volum medium yang dibutuhkan oleh

metabolisme sel selama satu satuan waktu tertentu. q_{CO_2} adalah laju gas CO_2 yang ditransfer dalam suatu volum medium karena adanya aktivitas kehidupan biologi dalam satu satuan waktu tertentu.

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

dimana :

X = berat kering 1 sel *Chlorella vulgaris* x jumlah sel/cm³ (g/dm³)

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

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

dalam penelitian ini :

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

$$\alpha_{CO_2} = \frac{151,5 \text{ dm/h} \cdot 3,384 \text{ dm}^2 \cdot 44 \text{ g/mol} \cdot 1 \text{ atm}}{18 \text{ dm}^3 \cdot 0,082 \text{ L atm/mol}^\circ\text{K} \cdot 302^\circ\text{K}} \quad (3.6)$$

$$\alpha_{CO_2} = 50,61 \text{ g/dm}^3 \cdot h$$

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

1. Lipid

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

2. Klorofil

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

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

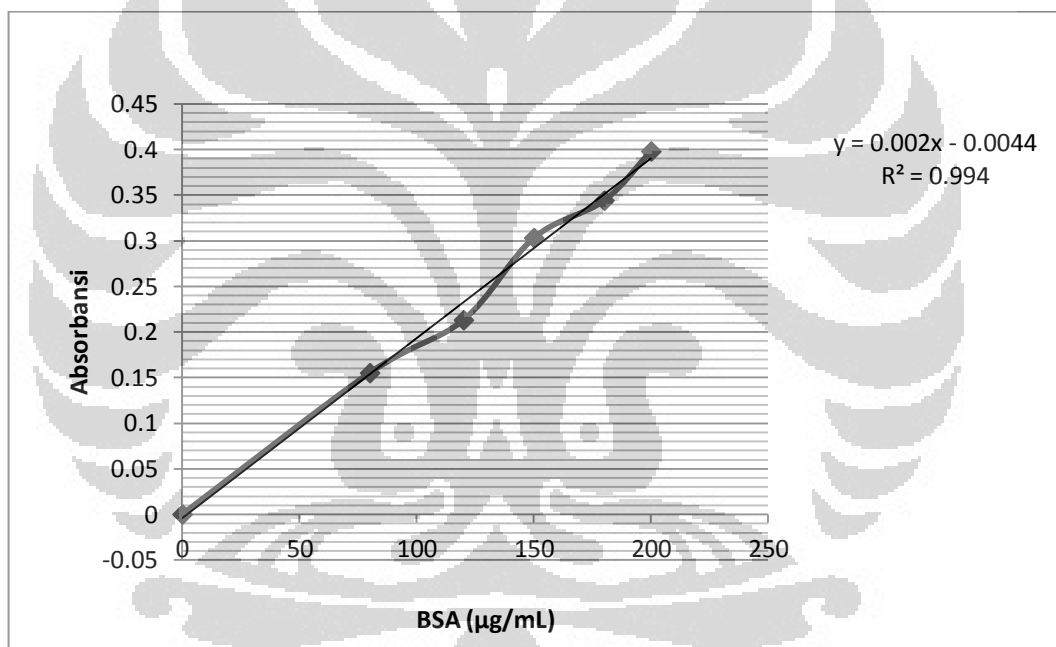
$$\text{klorofil } a + b \text{ (mg/L)} = 7,34 \times A_{663} + 17,76 \times A_{645} \quad (3.14)$$

3. Beta karoten

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

4. Protein

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



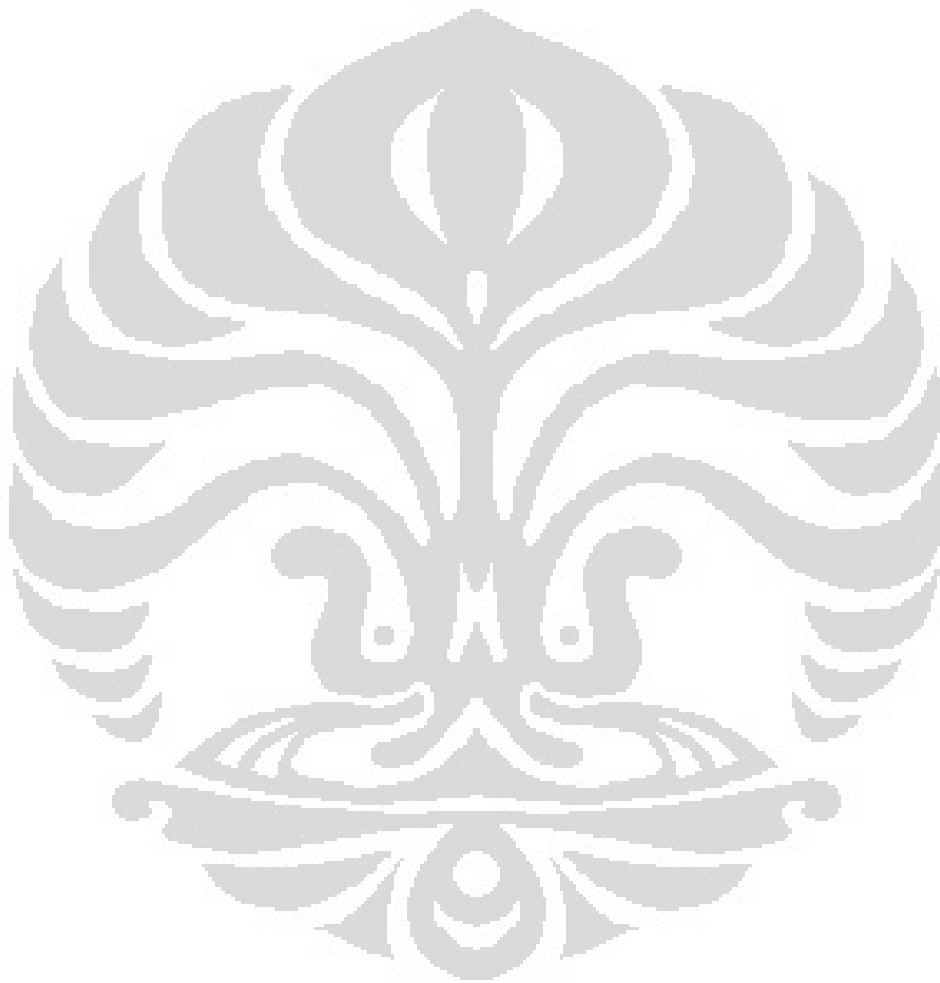
Gambar 3.4. Kurva kalibrasi uji protein

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

$$\text{ABS } 750 = 0,002C - 0,0044$$

dengan C adalah kadar protein.

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



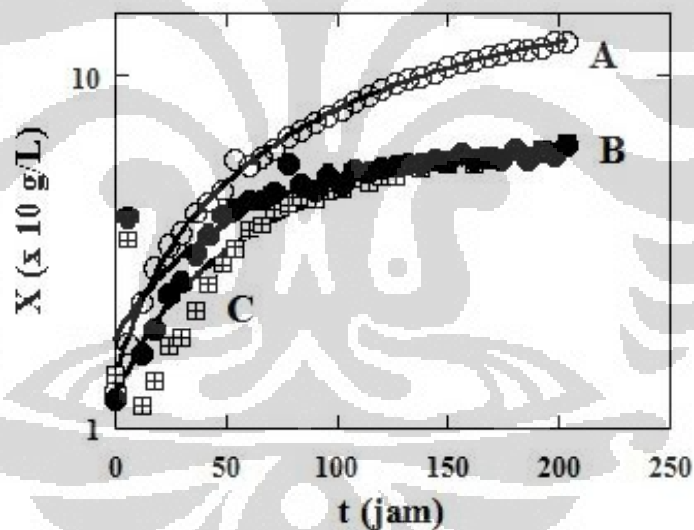
BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

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

4.1. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris*

Biomassa yang terbentuk merupakan gabungan biomassa yang terdapat di dalam reaktor dan biomassa yang ikut tersaring pada filter *sponge*. Gambar 4.1 merupakan kurva dari profil produksi biomassa *C. vulgaris* terhadap perbedaan konsentrasi nitrat.



Gambar 4.1. Produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* pada Konsentrasi Nitrat: (a) 0,100 g/L, (b) 0,075 g/L, (c) 0,050 g/L

Pertumbuhan *C. vulgaris* pada konsentrasi nitrat sebesar 0,075 g/L dan 0,050 g/L terlihat cukup lambat jika dibandingkan dengan pertumbuhan *C. vulgaris* dalam konsentrasi nitrat sebesar 0,100 g/L. Hal tersebut dikarenakan konsentrasi nitrat sebagai nutrisi nitrogen sebesar 0,075 g/L dan 0,050 g/L sudah tidak mencukupi kebutuhan sel mikroalga untuk terus memproduksi biomassa sehingga pertumbuhan menjadi lebih kecil. Dalam kondisi kekurangan nitrogen,

proses fotosintesis menjadi terhambat dikarenakan nitrogen merupakan unsur yang berfungsi untuk mensintesis klorofil (Purwadi, 2011). Klorofil terbentuk dari reaksi perubahan ion ammonium menjadi senyawa-senyawa organik utama dimana ion ammonium berasal dari ion nitrat.

Ketika ion nitrat berkurang maka ion ammonium yang terbentuk juga menjadi berkurang dan reaksi pembentukan senyawa organik dari ion ammonium menjadi lebih sedikit. Berkurangnya proses sintesis klorofil mengakibatkan turunya kualitas proses fotosintesis. Fotosintesis merupakan cara dari mikroalga untuk memperoleh energi untuk pertumbuhan. Ketika proses fotosintesis terhambat maka energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan menjadi sedikit atau bahkan tidak dapat terpenuhi. Dengan sedikitnya energi yang tersedia untuk pertumbuhan maka pertumbuhan pada mikroalga menjadi tidak optimal.

4.2. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik (μ) *Chlorella vulgaris*

Laju pertumbuhan produksi biomassa pada media kultur seharusnya berada dalam fase logaritmik dimana laju pertumbuhan berada pada titik maksimal lalu seiring bertambahnya waktu akan terus menurun hingga memasuki fasa stasioner. Fenomena ini juga dapat dipahami dari persamaan yang digunakan untuk menentukan laju pertumbuhan (μ), yaitu :

$$\mu = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} \quad (4.1)$$

dimana :

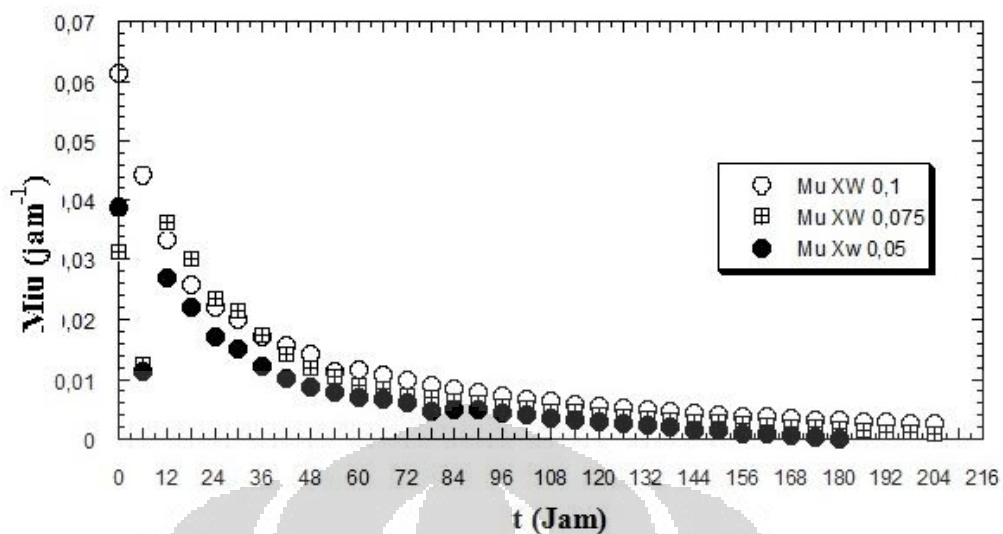
μ = laju pertumbuhan spesifik (h^{-1})

N = jumlah sel (sel/cm^3)

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

t = waktu (h)

Persamaan tersebut menunjukkan bahwa nilai μ berbanding terbalik dengan berat kering yang dihasilkan pada rentang tertentu sehingga semakin banyak biomassa yang dihasilkan maka μ akan semakin kecil. Hal tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Pengaruh Keterbatasan Nitrat terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik (μ) *Chlorella vulgaris*

Kurva-kurva pada Gambar 4.2 diperoleh dari plot nilai μ pada setiap variasi konsentrasi nitrat. Berdasarkan kurva tersebut, terlihat bahwa terdapat perbedaan laju pertumbuhan spesifik pada kultur dari awal dimana laju pertumbuhan spesifik dengan konsentrasi nitrat sebesar 0,100 g/L adalah yang paling tinggi. Sementara itu, konsentrasi nitrat sebesar 0,050 g/L memiliki laju pertumbuhan spesifik yang paling rendah. Pada konsentrasi nitrat sebesar 0,100 g/L, laju pertumbuhan spesifiknya paling tinggi dikarenakan pada konsentrasi nitrat sebesar 0,100 g/L merupakan konsentrasi nitrat yang masih mencukupi untuk pertumbuhan sel mikroalga.

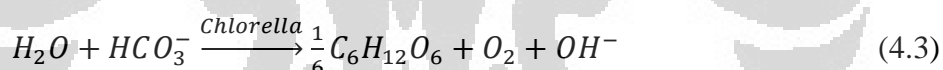
Laju pertumbuhan spesifik berbanding terbalik dengan pembentukan biomassa. Hal tersebut dikarenakan semakin banyaknya faktor-faktor pembatas pertumbuhan seperti keterbatasan nutrisi dan keterbatasan cahaya ketika waktu kultivasi semakin panjang. Saat konsentrasi nitrat sebesar 0,075 g/L dan 0,050 g/L terjadi penurunan dan kenaikan laju pertumbuhan spesifik secara drastis disebabkan karena pada saat tersebut, terjadi proses adaptasi *C. vulgaris* terhadap kondisi kekurangan nitrat.

4.3. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap $[HCO_3^-]$ dalam Medium

Perhitungan terhadap $[HCO_3^-]$ bertujuan untuk mengetahui jumlah ion $[HCO_3^-]$ yang tersedia dan dapat dikonsumsi oleh sel *Chlorella vulgaris* untuk metabolismenya. Ion ini terbentuk karena adanya reaksi antara CO_2 yang terlarut dalam larutan medium dengan air. $[HCO_3^-]$ dihitung dari perubahan pH kultur yang terjadi sebagai akibat adanya aktivitas pertumbuhan sel *C. vulgaris*. Dari hasil penelitian yang pernah dilakukan, menunjukkan bahwa peningkatan jumlah sel dalam kultur cenderung meningkatkan jumlah pH kultur. Pada saat gas CO_2 mengalir ke dalam kultur, proses yang terjadi adalah pembentukan senyawa bikarbonat seperti pada reaksi berikut.



Senyawa bikarbonat inilah yang kemudian diserap oleh sel *C. vulgaris*. Proses metabolisme yang terjadi dalam sel selanjutnya adalah reaksi antara senyawa bikarbonat dengan air yang terdapat dalam sel membentuk senyawa organik seperti glukosa dan ion OH^- , seperti yang tergambar pada reaksi berikut ini :



Dengan menggunakan pendekatan hukum Henry, dapat dicari besarnya $[HCO_3^-]$ yang terbentuk dalam kultur yaitu:

$$[HCO_3^-] = \left(\frac{K_{CO_2,0}}{H_{CO_2,0}} \right) \times \left(\frac{y_{CO_2} P_T}{10^{-pH}} \right) \times \left(\frac{\text{EXP} \left[A_K \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_K \ln \left(\frac{T}{T_0} \right) + C_K \left(\frac{T}{T_0} - 1 \right) \right]}{\text{EXP} \left[A_H \left(1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_H \ln \left(\frac{T}{T_0} \right) + C_H \left(\frac{T}{T_0} - 1 \right) \right]} \right)$$

Dengannilai :

$$P_T \text{ (ambient pressure)} = 1.0 \text{ atm} = 101.25 \text{ kPa}$$

$$y_{CO_2} = 0.05$$

$$K_{CO_2,0} = 4.38 * 10^{-7}$$

$$H_{CO_2,0} = 2900 \text{ (kPa.kg/mol)}$$

T (ambient temperature) = $29^{\circ}\text{C} = 302^{\circ}\text{K}$

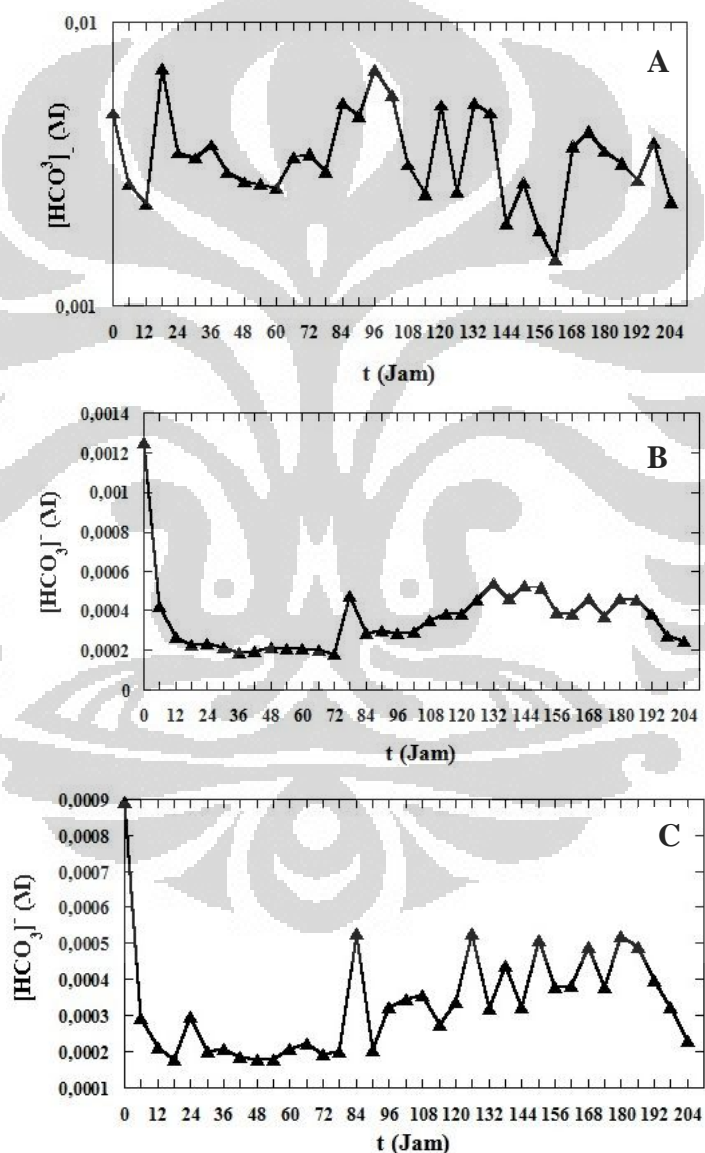
$T_o = 298.15^{\circ}\text{K}$

dan konstanta pada persamaan *Handerson-Hasellbach* ini:

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

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

Grafik hubungan antara $[\text{HCO}_3^-]$ terhadap waktu yang didapat dari penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 4.3.



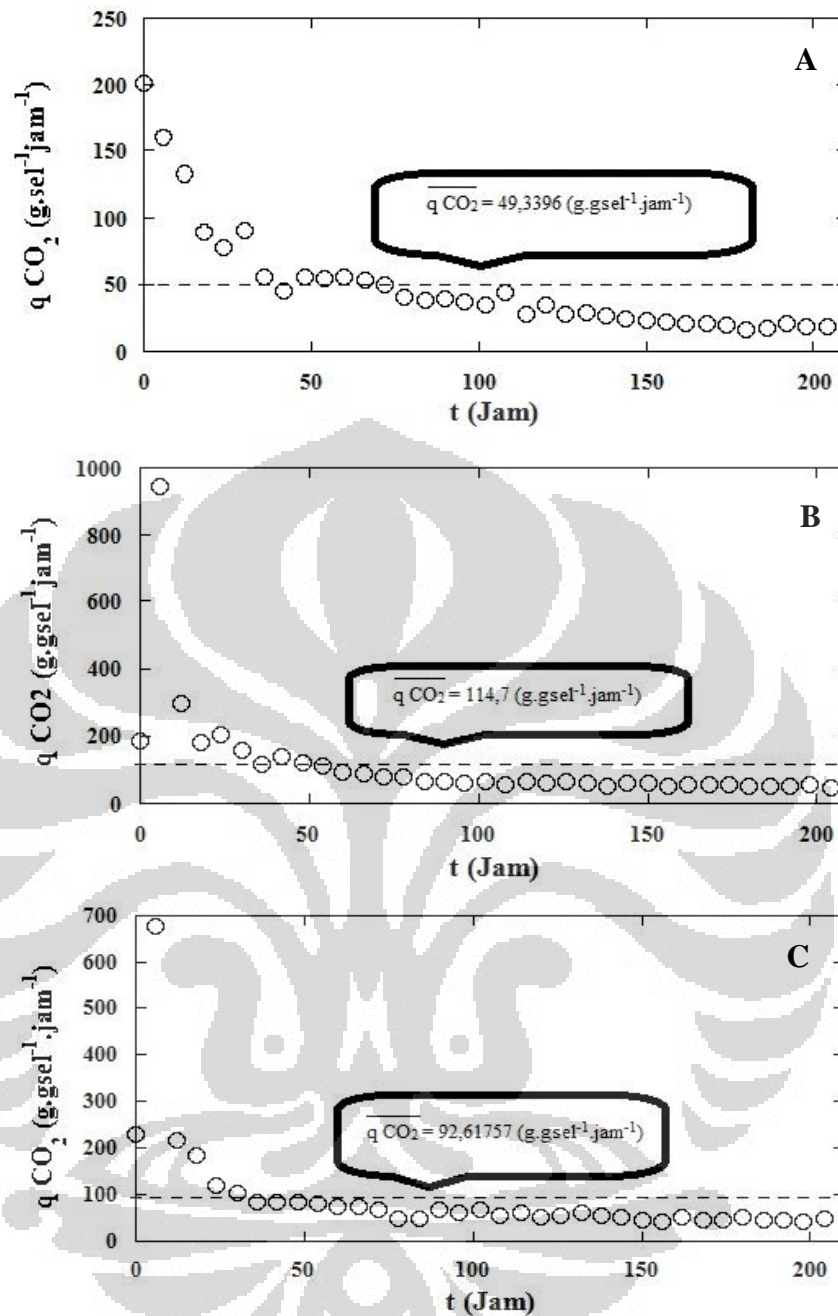
Gambar 4.3. $[\text{HCO}_3^-]$ pada Konsentrasi Nitrat: (a) 0,100 g/L, (b) 0,075 g/L, (c) 0,050 g/L

Berdasarkan gambar 4.3, nilai $[\text{HCO}_3^-]$ pada konsentrasi nitrat sebesar 0,100 g/L merupakan yang paling besar, sedangkan nilai $[\text{HCO}_3^-]$ terendah terjadi saat konsentrasi nitrat sebesar 0,050 g/L. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada reaktor dengan konsentrasi nitrat sebesar 0,100 g/L peningkatan pH lebih besar dibandingkan dengan reaktor yang memiliki konsentrasi nitrat sebesar 0,075 g/L dan reaktor dengan konsentrasi nitrat sebesar 0,050 g/L dengan pencahayaan dan kerapatan biomassa yang sama. Konsentrasi nitrat sebesar 0,100 g/L memiliki nilai $[\text{HCO}_3^-]$ yang paling besar juga disebabkan karena proses fotosintesis pada konsentrasi nitrat tersebut tidak terganggu sehingga proses penguraian CO_2 menjadi ion $[\text{HCO}_3^-]$ berjalan lebih baik. Sementara itu, nilai $[\text{HCO}_3^-]$ pada konsentrasi nitrat sebesar 0,075 g/L dan 0,050 g/L lebih kecil dikarenakan proses fotosintesis yang terhambat sebagai dampak dari terganggunya pembentukan klorofil karena kurangnya konsentrasi nitrat yang ada. Terhambatnya proses fotosintesis tersebut menyebabkan pengolahan CO_2 menjadi ion $[\text{HCO}_3^-]$ ikut terhambat. Selain itu tingkat kenaikan jumlah sel dalam mikroalga juga mempengaruhi kemampuan air dalam melarutkan CO_2 , semakin jenuh medium maka akan semakin sulit CO_2 dapat terlarut dalam air.

4.4. Pengaruh Keterbatasan Nitrat terhadap Laju Fiksasi (q) CO_2

q_{CO_2} adalah laju gas CO_2 yang ditransfer persatuan biomassa karena adanya aktivitas kehidupan biologi dalam satu satuan waktu tertentu. Nilai q_{CO_2} didapatkan dari pengolahan data CTR (*Carbon Transfer Rate*) di mana nilai q_{CO_2} dapat didefinisikan sebagai CTR per satuan biomassa (Wijanarko et al, 2004).

Kurva kecenderungan q_{CO_2} terhadap waktu diperlihatkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4. Laju Fiksasi (q) CO₂ pada Konsentrasi Nitrat: (a) 0,100 g/L, (b) 0,075 g/L

Berdasarkan Gambar 4.4, terlihat bahwa nitrat dengan konsentrasi 0,075 g/L dan 0,050 g/L hanya sedikit mempengaruhi fiksasi CO₂. Nitrat dengan variasi 0,100 g/L memiliki laju fiksasi terendah. Hal tersebut dikarenakan pada konsentrasi nitrat sebesar 0,075 g/L dan 0,050 g/L, mikroalga sudah tidak tercukupi lagi kebutuhan nitrogennya untuk dapat melakukan proses fotosintesis sehingga pada konsentrasi tersebut *Chlorella vulgaris* akan memfiksasi CO₂ lebih banyak agar tetap dapat

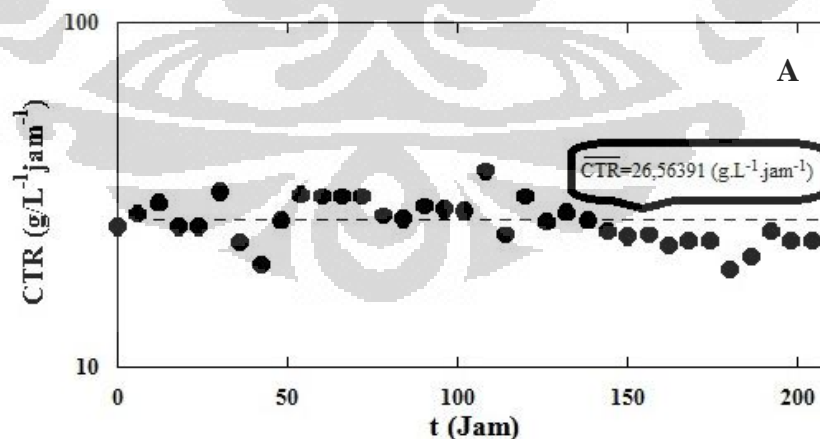
melakukan fotosintesis. Selain itu, pada kondisi konsentrasi nitrat sebesar 0,100 g/L, laju fiksasi CO₂ memiliki nilai terendah dikarenakan pada konsentrasi tersebut pertumbuhan biomassa *C. vulgaris* mencapai nilai terbesar. Semakin banyak pertumbuhan *C. vulgaris* di dalam fotobioreaktor maka q_{CO_2} akan semakin kecil. Penurunan ini akibat dari ketidakseimbangan antara peningkatan jumlah sel selama masa kultivasi dengan besarnya konsentrasi CO₂ yang difiksasi. Karena hal inilah fiksasi CO₂ semakin kecil.

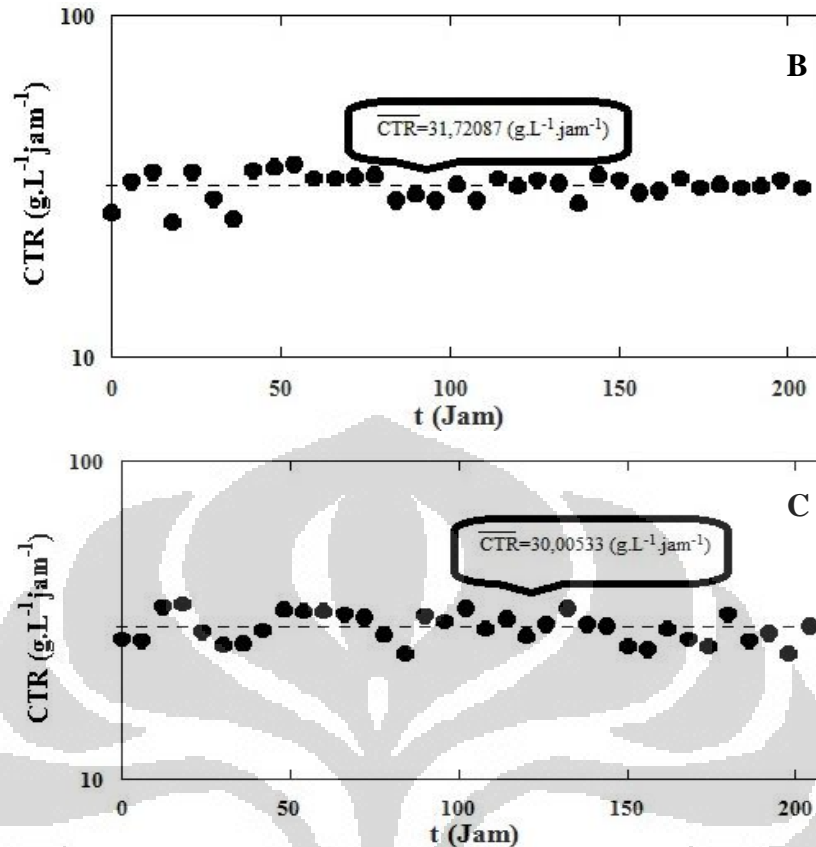
4.5. Pengaruh Keterbatasan Nitrat terhadap Carbon Transfer Rate (CTR)

CTR (*Carbon Transfer Rate*) merupakan banyaknya gas CO₂ yang ditransferkan dalam suatu volume medium kultur yang dibutuhkan oleh metabolisme sel selama satu satuan waktu tertentu (Wijanarko et al, 1997). Nilai CTR didapatkan dari selisih konsentrasi CO₂ masukan dan keluaran (Δy_{CO_2}) dikalikan dengan koefisien transfer spesifik dari CO₂ (α_{CO_2}). Nilai CTR dapat dihitung dengan menggunakan persamaan berikut ini :

$$CTR = \Delta y_{CO_2} \cdot \alpha_{CO_2}$$

Kurva kecenderungan CTR sebagai fungsi waktu dapat dilihat pada Gambar 4.5.





Gambar 4.5. *Carbon Transfer Rate* (CTR) pada Konsentrasi Nitrat: (a) 0,100 g/L, (b) 0,075 g/L, (c) 0,050 g/L

Nilai CTR berbanding lurus dengan Δy_{CO_2} , sehingga seiring dengan pertambahan waktu nilai CTR cenderung turun akibat tidak seimbangnya peningkatan jumlah sel dengan besarnya fiksasi konsentrasi CO_2 . Medium lama-kelamaan akan jenuh dengan CO_2 terlarut karena sel dapat memproduksi sumber karbonnya sendiri. Gas CO_2 yang dialirkan tidak lagi terserap oleh mikroalga dan sebagian besar lewat begitu saja menuju outlet. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa nilai CTR pada konsentrasi nitrat sebesar 0,075 g/L rata-rata lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi nitrat sebesar 0,050 g/L dan 0,100 g/L. Hal ini terjadi karena pada konsentrasi nitrogen sebesar 0,075 g/L pertumbuhan *Chlorella vulgaris* tidak terlalu besar sehingga medium tidak sejenah yang ada pada konsentrasi nitrogen sebesar 0,050 g/L dan 0,100 g/L. Selain itu Berdasarkan tianjauan fotosintesisnya, penggunaan nitrat oleh *Chlorella vulgaris* justru menghambat fiksasi CO_2 dalam fotosintesis karena nitrat dan CO_2 berkompetisi untuk hidrogen (H_2) (Kessler, 1957). Medium dengan konsentrasi nitrat 0,100 g/L

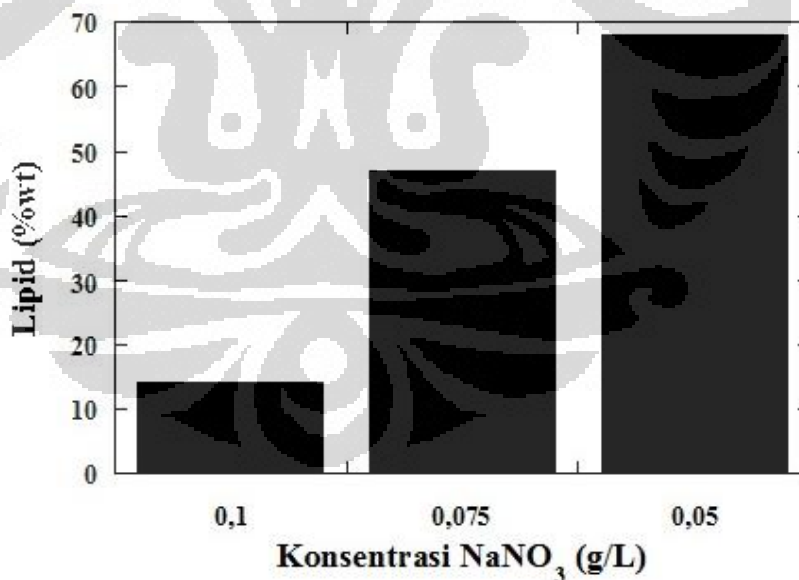
adalah medium dengan kandungan nitrat tertinggi dibandingkan dengan media kultur lainnya sehingga kompetisi yang terjadi antara nitrat dengan CO_2 untuk hidrogen juga semakin besar. Hal ini lah yang menyebabkan *Chlorella vulgaris* yang dibiakkan dengan konsentrasi nitrat sebesar 0,100 g/L memiliki kemampuan yang lebih rendah dalam melakukan fiksasi CO_2 bila dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.

4.6. Pengaruh Keterbatasan Nitrogen Terhadap Akumulasi Kandungan Esensial *C. vulgaris*

Di bawah ini adalah data mengenai kandungan esensial dari *C. vulgaris* yang didapat dari hasil kultivasi selama dua ratus empat jam.

Lipid mikroalga secara umum dalam bentuk ester gliserol dan asam lemak dengan panjang rantai C14-C22 (Borowitzka, 1988), asam lemak dalam mikroalga termasuk molekul intraseluler karena terdapat dalam sel yaitu dalam kloroplas.

Besarnya lipid yang diekstraksi dari *C. vulgaris* dengan metode *bligh dryer* dengan bantuan sonikator dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Akumulasi Kandungan Lipid *Chlorella vulgaris*

Berdasarkan Gambar 4.6 terlihat bahwa pada mikroalga yang dikultivasi pada konsentrasi nitrat 0,050 g/L memiliki kadar lipid tertinggi yakni sebesar 68,08%. Sedangkan mikroalga dalam konsentrasi nitrat 0,075 g/L mencapai 66,92% dan 0,100 g/L sebesar 14,08% sehingga cenderung lebih rendah dibandingkan lipid dalam konsentrasi nitrat sebesar 0,050 g/L.

Kenaikan kadar lipid pada saat diturunkannya konsentrasi nitrat menunjukkan bahwa reaksi pengubahan ion nitrat menjadi ion nitrit yang terjadi telah berkurang. Reaksi pengubahan ion nitrat menjadi ion nitrit memerlukan NADH dimana NADH merupakan sumber lipid pada *Chlorella vulgaris*. Berkurangnya jumlah ion nitrat menyebabkan konsumsi NADH untuk reaksi pengubahan ion nitrat menjadi ion nitrit juga ikut berkurang sehingga akumulasi lipid dalam *Chlorella vulgaris* menjadi lebih tinggi.

Padakondisi stress lingkungan yaitu konsentrasi nitrogen rendah, mikroalga akan cenderung membentuk lipid sebagai cadangan makanan dari pada membentuk karbohidrat dan senyawa lainnya. Hal ini disebabkan Karena mikroalga lebih banyak menggunakan atom karbon untuk membentuk lipid daripada karbohidrat, sebagai akibat meningkatnya aktifitas enzimasetilko-A karboksilase (Sheehan et al, 1998).

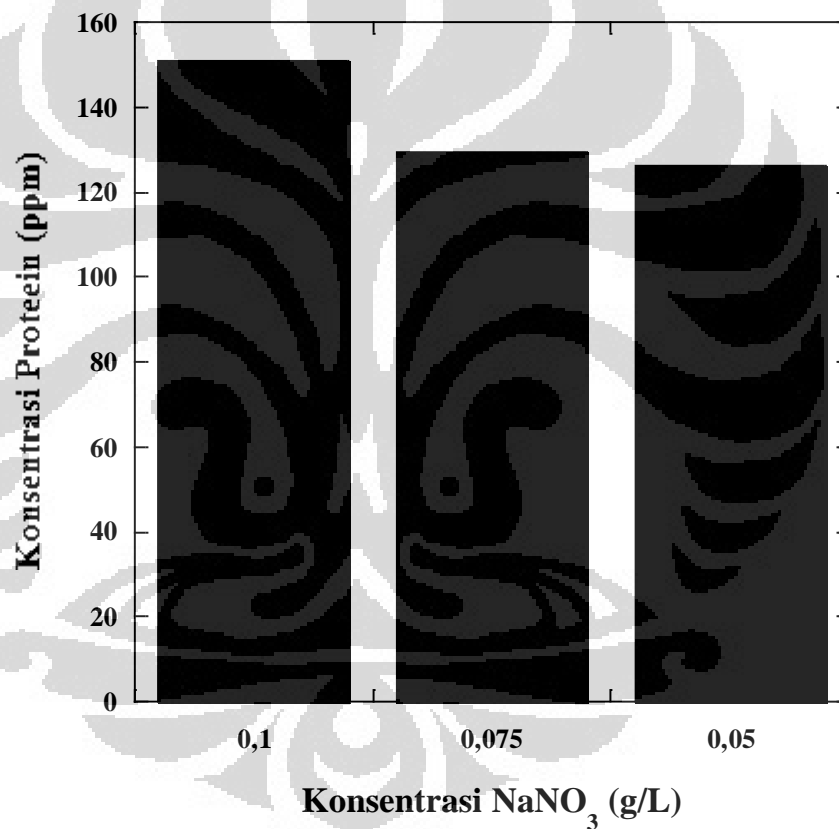
Menurut becker et al (1995), mikroalga yang tumbuh pada kondisi yang kekurangan nitrogen dalam kultur biakkan akan cenderung mengakumulasi sejumlah besar lipid, tetapi akan menurunkan produksi biomassa, protein, dan asam nukleat.

Lipid merupakan kelompok senyawa yang kaya akan karbon dan hidrogen. senyawa yang termasuk lipid adalah lemak dan minyak. Lipid juga berperan penting dalam komponen struktur membran sel. Lemak dan minyak dalam bentuk trigliserol yang berfungsi sebagai sumber energi, lapisan pelindung dan insulator organ – organ sel. Beberapa jenis lipid berfungsi sebagai sinyal kimia dan pigmen. Selain ketersediaan unsur hara dan intensitas cahaya, laju pertumbuhan dan produksi lipid juga

berhubungan dengan proses biokimia yang terjadi di dalam mikroalga (Becker et al, 1995).

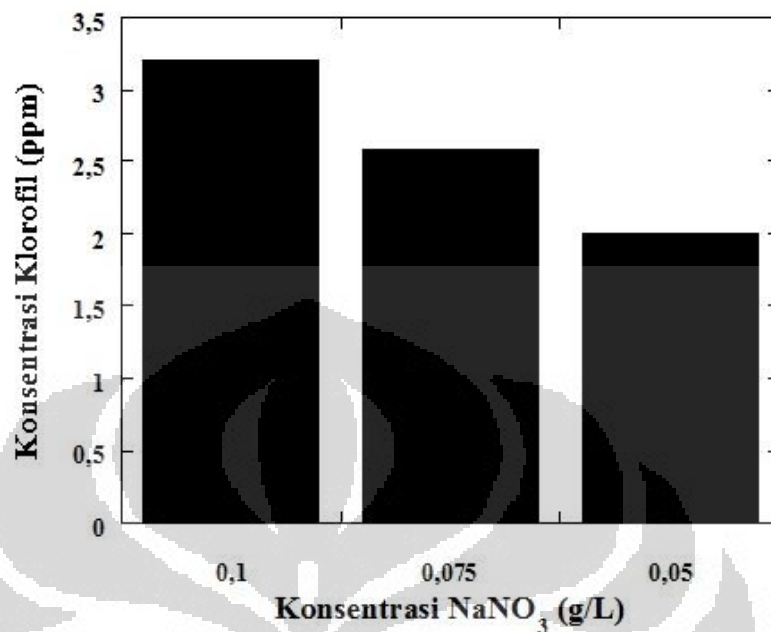
Pada keadaan nitrogen rendah, akumulasi lipid dalam *Chlorella vulgaris* menjadi tinggi namun akumulasi kandungan esensial lain seperti protein, klorofil, dan beta karoten menjadi rendah seperti terlihat pada Gambar 4.7, 4.8, dan 4.9 dibawah ini.

Gambar 4.7 adalah hasil penelitian pengaruh keterbatasan nitrat terhadap kandungan protein mikroalga *C. vulgaris*.



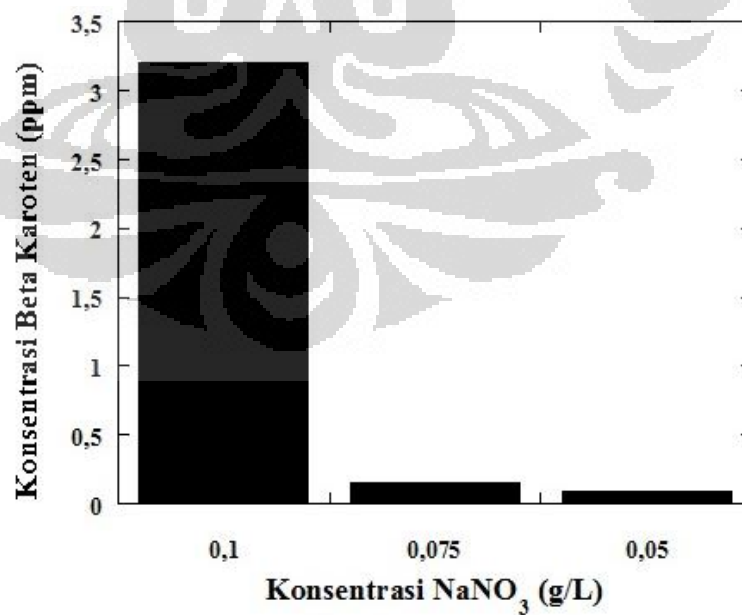
Gambar 4.7. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Kandungan Protein *C. vulgaris*

Gambar 4.8 adalah hasil penelitian pengaruh keterbatasan nitrat terhadap kandungan klorofil mikroalga *Chlorella vulgaris*.



Gambar 4.8. Pengaruh Keterbatasan Nitrat Terhadap Kandungan Klorofil *C. vulgaris*

Gambar 4.9 menunjukkan pengaruh keterbatasan nitrat terhadap kandungan beta karoten mikroalga *C. vulgaris*.



Gambar 4.9. Pengaruh keterbatasan Nitrat terhadap Akumulasi Beta Karoten *C. vulgaris*

Berdasarkan Gambar 4.7, 4.8, dan 4.9, terlihat bahwa saat kandungan nitrat di dalam medium dikurangi, kandungan protein, klorofil, dan beta karoten dari *Chlorella vulgaris* juga ikut berkurang. Hal tersebut dikarenakan reaksi pengubahan ion nitrat menjadi ion ammonium tidak dapat berjalan dengan maksimal ketika konsentrasi nitrat diturunkan.

Ion ammonium merupakan sumber bagi *Chlorella vulgaris* untuk membentuk senyawa-senyawa organik utama seperti asam amino yang merupakan penyusun dari protein. Saat konsentrasi ion ammonium yang terbentuk rendah maka asam amino yang terbentuk juga jumlahnya akan rendah. Rendahnya asam amino tersebut membuat protein yang terbentuk juga kurang. Padahal, protein memiliki fungsi sebagai pengatur metabolisme sel.

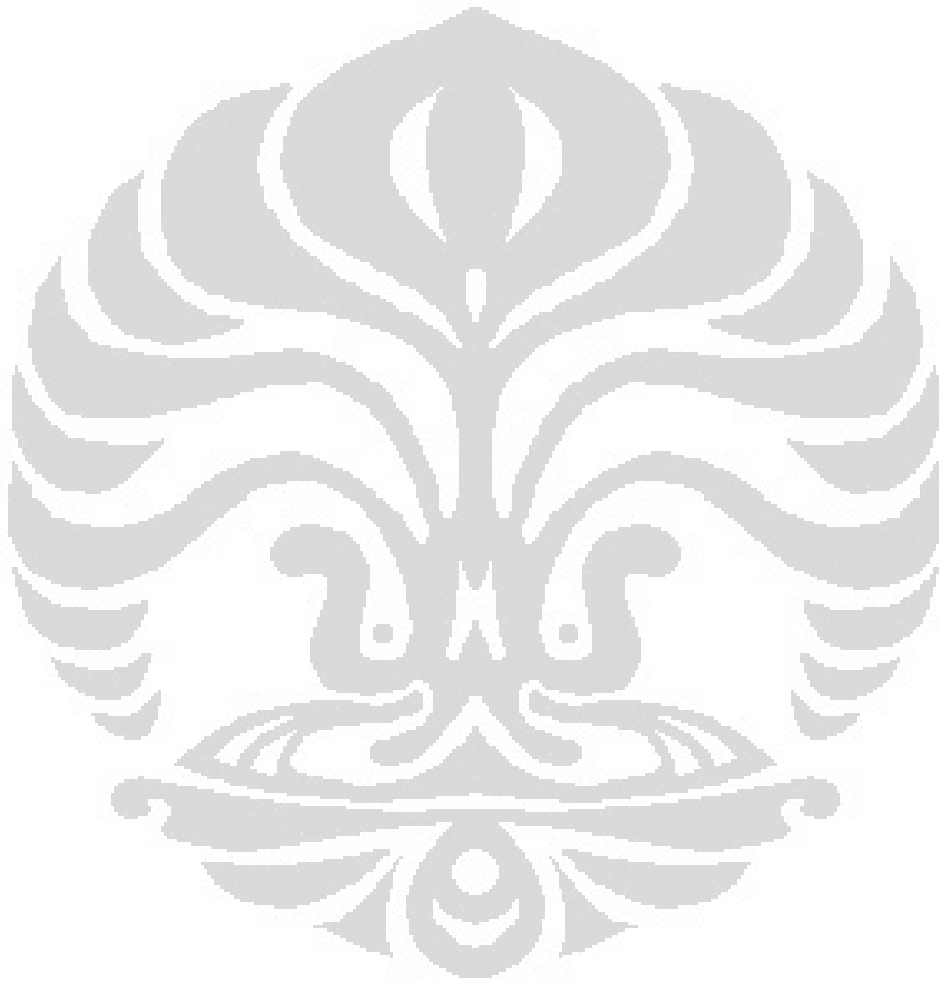
Saat pembentukan protein tidak berjalan dengan baik, terjadi gangguan terhadap sistem metabolisme di dalam *Chlorella vulgaris*. Gangguan terhadap sistem metabolisme itulah yang menyebabkan terganggunya proses pertumbuhan dan pembentukan kandungan esensial *Chlorella vulgaris* yang ditunjukkan pada menurunnya jumlah kandungan protein, klorofil, dan beta karoten saat konsentrasi nitrat dalam medium diturunkan.

Nitrogen merupakan makronutrisi yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga dalam kegiatan metabolisme sel yaitu kegiatan transportasi, katabolisme, asimilasi dan khususnya biosintesis protein (Borowitzka, 1988). Nitrogen juga berperan dalam sintesis Klorofil dan enzim yang mengontrol seluruh proses metabolisme (Gardner, dkk,1991). Media kultur yang memiliki unsur N dan Mg (makronutrien) mempengaruhi pembentukan klorofil. Sementara itu, media kultur yang memiliki mikronutrien seperti Mn dapat mempengaruhi proses fotosintesis karena Mn merupakan activator enzim pada reaksi terang fotosintesis. Hal tersebut akan mempengaruhi laju fotosintesis. Laju fotosintesis menentukan kuantitas produk yang dihasilkan.

Oleh karena itu, ketika kondisi nitrat dalam medium cukup rendah maka ion ammonium yang berperan sebagai sumber nitrogen menjadi rendah pula. Saat nitrogen dalam medium berada dalam kondisi rendah, protein yang berperan dalam proses metabolisme juga akan rendah. Rendahnya nitrogen juga

memberikan pengaruh pada proses pembentukan klorofil karena nitrogen merupakan zat yang sangat diperlukan dalam proses pembentukan klorofil.

Saat kondisi metabolisme dalam *Chlorella vulgaris* berjalan tidak baik dan ditambah dengan proses fotosintesis yang berjalan kurang baik, dampak yang ditimbulkan adalah kurang maksimalnya akumulasi kandungan esensial dan pertumbuhan dari *Chlorella vulgaris*.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini dengan mengkultivasi *Chlorella vulgaris* dengan variasi kandungan nitrat sebesar 0,1 g/L, 0,075 g/L, dan 0,05 g/L pada medium *Walne*, pada temperatur 29°C, tekanan operasi 1 atm, sumber pencahayaan lampu Phillip Halogen 20W/12V/50Hz, dan konsentrasi CO₂ 5 % adalah:

1. Konsentrasi nitrat yang menghasilkan akumulasi lipid yang tinggi adalah 0,050 g/L yakni sebesar 68,08%.
2. Pada saat konsentrasi nitrat diturunkan, pertumbuhan dan pembentukan biomassa *Chlorella vulgaris* menjadi lebih rendah jika dibandingkan dengan konsentrasi nitrat pada kondisi normal. Hal tersebut dikarenakan proses pembentukan protein yang berasal dari ion ammonium ikut berkurang.
3. Konsentrasi nitrogen memberikan pengaruh terhadap pembentukan kandungan esensial *Chlorella vulgaris*. Pada saat konsentrasi nitrogen diturunkan, kandungan esensial *Chlorella vulgaris* yang meliputi protein, klorofil, dan beta karoten juga ikut turun.

5.2. Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah:

1. Diperlukan penurunan konsentrasi nitrat yang lebih rendah lagi dikarenakan pada penelitian ini belum ditemukan konsentrasi nitrat kritis yakni kondisi dimana ketika terjadi penurunan konsentrasi nitrat kandungan lipid *Chlorella vulgaris* menjadi berkurang

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulgani, N., et al. (2008). *Potensi Mikroalga Skeletonema costatum, Chlorella vulgaris, dan Spirulina platensis sebagai Bahan Baku Biodiesel*.
- Amaya, R. & Delia B. (1997). *Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored Foods*. Brazil: Universidade Estadual de Campinas.
- Andersen, R.A. (2005). *Algal Culturing Technique*. Elsevier Academic Press. UK.
- Anonim. (2002). *Walne's Medium for Algal Culture*. Diunduh dari <http://www.ccap.ac.uk/media/recipes/Walnes.htm>. Diakses pada 6 Juni 2012.
- Anonim. (2010). *Lipids*. <http://www.tutorvista.com/content/biology/biology-iii/cellular-micromolecules/lipids.php#>. Diakses pada 31 Mei 2012.
- Becker, E. W. (1995). *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press. New York.
- Bold, H.C. & M.J. Wynne. (1985). *Introduction to the Algae (Structure and Reproduction) 2nd Ed*. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, USA.
- Borowitzka, M.A. (1988). *Fats, Oils, and Hydrocarbons in Borowitzka M.A. & Borowitzka L.J. (eds.), Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press: Cambridge. pp. 257-287.
- Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). *A rapid method for total lipid extraction and purification*. *Can.J.Biochem.Physiol.* 37:911-917.
- Chrismadha, T., et al. (2006). *Pengaruh Konsentrasi Nitrogen dan Fosfor terhadap Pertumbuhan, Kandungan Protein, Karbohidrat, dan Fikosianin pada Kultur Spirulina fusiformis*. *Berita Biologi*. 8 (3).
- Converti, A., et al. (2009). *Effect of Temperature and Nitrogen Concentration on the Growth and Lipid Content of Nannochloropsis oculata and Chlorella vulgaris for Biodiesel Production*. *Chemical Engineering and Processing*. 48: 1146-1151.

- Coutteau, P. (1996). *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper. ISSN 0429-9345.
- Dutta, D., et al. (2005). *Structure, Health Benefits, Antioxidant Property and Processing and Property and Storage of Carotenoids*. African Journal of Biotechnology. 4 (13): 1510-1520.
- Gardner, B.R., et al. (1991). *Nitrogen fertilizer management in Arizona*. Tucson, AZ, USA, College of Agriculture, The University of Arizona.
- Graham, L.E. & Lee W.W. (2000). *Algae*. Upper Saddle River: Prentice-Hall, Inc.
- Gross, J. (1991). *Pigments in Vegetables: Chlorophylls and Carotenoids*. Van Nostrand Reinhold, the University of Michigan.
- Hama, T.O & Miyachi, S. (1988). *Chlorella*. Microalgal biotechnology. pp 3-26.
- Holden, J.M., et al. (1999). *Carotenoid Content of U.S. Foods: An Update of the Database*. Journal of Food Composition and Analysis. 12: 169-196.
- Kawaroe, M., et al. (2010). *Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bahan Bakar Bio*. IPB Press.
- Kessler, E. (1957). *Stoffwechselphysiologische Untersuchungen an Hydrogenase enthaltenden Grünalgen. I. Über die Rolle des Mangans bei Photoreduktion und Photosynthese*. 49: 435-454.
- Kimball, B.A & Idso, S.B. (1991). *Downward regulation of photosynthesis and growth at elevated CO₂ levels*. Plant Physiol. 96:990-992.
- Li, X., et al. (2010). *Effect of Different Nitrogen and Phosphorus Concentrations on the Growth, Nutrient Uptake, and Lipid Accumulation of A Freshwater Microalga Scenedesmus sp.* Bioresource Technology. 101: 5494-5500.
- Maruyama, I., et al. (1997). *Application of Unicellular Algae Chlorella vulgaris for the Mass-Culture of Marine Rotifer Brachionus*. Hydrobiologia. 358:133-138.
- Mega. (2012). *Faktor yang Mempengaruhi Pembentukan Klorofil*. <http://fandicka.files.wordpress.com/2011/04/chlorophyll.jpg>. Diakses pada 31 Mei 2012.

- Meng, C., et al. (2011). *Effect of Nutrients and Growth and Lipid Accumulation in the Green Algae Dunaliella tertiolecta*. *Bioresource Technology*. Vol 102 pp 1649-1655.
- Nigam, S., et al. (2011). *Effect of Nitrogen on Growth and Lipid Content of Chlorella pyrenoidosa*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 7 (3): 126-131.
- Pulz, O. (2001). *Photobioreactors Production Systems for Phototrophic Microorganisms*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57:287-293.
- Purwadi. (2011). *Batas Kritis Suatu Unsur Hara dan Pengukuran Kandungan Klorofil*. <http://www.masbied.com/2011/05/19/batas-kritis-suatu-unsur-hara-dan-pengukuran-kandungan-klorofil/#more-9539>. Diakses pada 8 Juni 2012.
- Roth, M.M.M. (1985). *Carotenoid and Cancer Prevention-Experimental and Epidemiological Studies*. *Pure Appl. Chem*. 57: 717-722.
- Sahidin, M.S., Nuryanto, E. (2001). *Pemisahan β -Karoten dari Minyak Sawit Mentah Dengan Metode Ekstraksi dan Kromatografi Kolom*, *Warta PPKS*. 9: 29 – 35
- Salisbury, F.B. & Cleon W. R. (1992). *Plant Physiology*, 4th edition. Colorado: Wadsworth Publishing Co.
- Sheehan J., et al. (1998). *A look back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program- Biodiesel from algae*. National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO., Report NREL/TP-580-24190.
- Silva, A.F.D., et al. (2009). *Effects of Nitrogen Starvation on the Photosynthetic Physiology of a Tropical Marine Microalgae Rhodomonas sp.* *Aquatic Botany*. 91: 291-297.
- Taw, N.D.R. (1990). *Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murni dan Massal Mikromikroalga*. Proyek Pengembangan Budidaya Udang : United Nations Development Programme Food dan Agriculture Organization Of The United Nations. US. 34 hal (diterjemahkan oleh : Budiono M & Indah W).
- Ugwu, C.U., et al. (2008). *Photobioreactors for Mass Cultivation of Algae*. *Bioresource Technology*. 99: 4021-4028.

- Widjaja, A., et al. (2008). *Study of increasing lipid production from fresh water microalgae Chlorella vulgaris*. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers Vol 40 pp:13-20.
- Wijanarko, A. et al. (1997). *An Approach with Bubble Column Bioreactor to the Development of Large Scale Culture of Cyanobacteria for Carbon Dioxide Removal*. Preprints for 4th Japanese/German Symposium on Bubble Columns. 322-331.
- Wijanarko, A. & Kazuhisa O (2004). *Carbon Dioxide Utilization for Global Sustainability: Reactor in Series Approximation, an Enhancement Effort of CO₂ Fixation and Biomass Production by Anabaena cylindrica*. Study in Surface Science and Catalysis. 153: 461-468.
- Wijoseno, T. (2011). Skripsi: “*Uji Pengaruh Media Kultur terhadap Tingkat Pertumbuhan dan Kandungan Esensial pada Mikroalga Chlorella vulgaris Buitenzorg*”. Depok: Program Studi Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Yanqun, L., et al (2008). *Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga Neochloris oleoabundans*. Applications of Microbiology and Biotechnology Vol 81 pp:629-636.
- Ying, S., et al. (2009). *Effect of Nitrogen and Extraction Method on Algae Lipid Yield*. International Journal of Agriculture and Biological Engineering Vol 2 No 1 pp 51-57.
- Yusandi, F. (2010). Skripsi: “*Pengaruh Nitrogen terhadap Kandungan Esensial Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg*”. Depok: Program Studi Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Zahir, F.N. (2011). Skripsi: “*Peningkatan Produksi Biomassa Chlorella vulgaris dengan Perlakuan Mikrofiltrasi pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur sebagai Bahan Baku Biodiesel*”. Depok: Program Studi Teknik Kimia Universitas Indonesia.

LAMPIRAN A
DATA PENGAMATAN

Tabel A.1. Data Pengamatan pada Konsentrasi NaNO₃ 0,100 g/L

Waktu (Jam)	OD Reaktor	Volume Reaktor (L)	X Reaktor (g/L)	OD Filtrat	Vol Filtrat (L)	X Filtrat (g/L)	X Total (g/L)	pH	[HCO ₃ ⁻] (M)	I ₀ (lux)	I _b (lux)	y _{CO₂in} (%)	y _{CO₂out} (%)	CTR (g.L ⁻¹ .jam ⁻¹)	q CO ₂ (g.gsel ⁻¹ .jam ⁻¹)
0	0,2895	18,00	0,1274				0,1274	6,8	0,0048	5176,667	560,333	5,3425	2,6375	25,6227	201,2073
6	0,3793		0,1729				0,1729	6,5	0,0027	5176,667	534,333	5,9229	2,6732	27,7659	160,6241
12	0,4258	17,75	0,1965	4,6450	0,25	2,3363	0,2262	6,5	0,0023	5176,667	508,833	5,0722	2,0487	30,1659	133,3798
18	0,5295		0,2491				0,2857	7,0	0,0069	5176,667	393,500	4,8132	2,3789	25,5943	89,5784
24	0,5998	17,50	0,2847	1,2165	0,25	0,5975	0,3303	6,7	0,0035	5176,667	289,667	4,8556	2,4078	25,5115	77,2458
30	0,6593		0,3149				0,3588	6,7	0,0033	5176,667	215,500	4,6282	1,6626	32,4267	90,3692
36	0,7480	17,25	0,3599	0,8925	0,25	0,4332	0,4084	6,7	0,0037	5176,667	169,667	5,1750	2,8286	22,9453	56,1903
42	0,8023		0,3874				0,4401	6,6	0,0029	5176,667	120,333	5,1801	3,1616	19,7194	44,8035
48	0,8523	17,00	0,4128	1,5860	0,25	0,7849	0,4768	6,5	0,0027	5176,667	93,167	6,0541	2,8553	26,7387	56,0789
54	1,0530		0,5146				0,5790	6,5	0,0027	5176,667	79,500	5,9423	2,2154	31,7392	54,8194
60	0,9900	16,75	0,4826	1,6445	0,25	0,8146	0,5581	6,5	0,0026	5176,667	70,500	5,7885	2,2111	31,2755	56,0368
66	1,0425		0,5092				0,5876	6,6	0,0034	5176,667	55,167	5,8952	2,2639	31,1721	53,0480

72	1,0778	16,50	0,5271	2,1465	0,25	1,0691	0,6217	6,6	0,0034	5176,667	44,167	6,0620	2,3167	31,2661	50,2921
78	1,1865		0,5823				0,6753	6,6	0,0030	5176,667	30,750	5,2744	2,4034	27,5463	40,7885
84	1,2200	16,25	0,5993	1,7860	0,25	0,8863	0,7036	6,8	0,0052	5176,667	24,750	5,7770	2,7031	26,9271	38,2704
90	1,2800		0,6297				0,7369	6,8	0,0047	5176,667	18,000	5,2059	2,1925	29,2930	39,7523
96	1,3100	16,00	0,6449	1,9375	0,25	0,9632	0,7646	6,9	0,0068	5176,667	18,500	6,0094	2,6104	28,6235	37,4369
102	1,3810		0,6809				0,8040	6,8	0,0056	5176,667	18,000	6,1874	2,708	28,4576	35,3969
108	1,4313	15,75	0,7064	2,168	0,25	1,0801	0,8438	6,6	0,0032	5176,667	16,000	5,5708	1,4905	37,0661	43,9254
114	1,4935		0,7380				0,8808	6,5	0,0025	5176,667	12,750	5,5234	2,8775	24,2421	27,5244
120	1,5045	15,50	0,7435	2,845	0,25	1,4234	0,9084	6,8	0,0051	5176,667	12,750	5,6606	2,1735	31,1748	34,3190
126	1,5873		0,7855				0,9487	6,5	0,0025	5176,667	10,250	5,5669	2,6476	26,5380	27,9739
132	1,6260	15,25	0,8052	2,2585	0,25	1,1259	0,9827	6,8	0,0052	5176,667	11,250	5,8154	2,5889	28,0772	28,5720
138	1,6480		0,8163				0,9969	6,7	0,0048	5176,667	10,500	6,6793	3,1464	26,7672	26,8493
144	1,6788	15,00	0,8319	2,0550	0,25	1,0227	1,0242	6,5	0,0020	5176,667	10,500	4,3225	2,2126	24,7018	24,1180
150	1,7293		0,8575				1,0559	6,6	0,0027	5176,667	10,500	4,7767	2,5126	23,9867	22,7171
156	1,7528	14,75	0,8695	2,2510	0,25	1,1221	1,0815	6,4	0,0018	5176,667	13,750	5,1430	2,6789	24,2462	22,4195
162	1,7720		0,8792				1,0967	6,3	0,0015	5176,667	13,250	5,1430	2,8629	22,4357	20,4574
168	1,8080	14,50	0,8975	2,3150	0,25	1,1546	1,1292	6,8	0,0036	5176,667	10,750	4,0515	2,1916	23,2314	20,5734
174	1,8260		0,9066				1,1465	6,8	0,0041	5176,667	10,750	4,6000	2,4974	23,1314	20,1750
180	1,8513	14,25	0,9194	2,9350	0,25	1,4690	1,1814	6,7	0,0035	5176,667	11,750	4,9202	3,0652	19,0794	16,1494
186	1,8453		0,9164				1,1817	6,6	0,0032	5176,667	11,000	5,6127	3,2936	20,9098	17,6949
192	1,8243	14,00	0,9057	2,8985	0,25	1,4505	1,1933	6,6	0,0028	5176,667	10,500	4,9049	2,4913	24,9022	20,8688
198	1,9205		0,9545				1,2446	6,7	0,0038	5176,667	16,750	5,3149	2,8744	23,2373	18,6701
204	1,8950	13,75	0,9416	2,700	0,25	1,3499	1,2510	6,5	0,0023	5176,667	11,000	5,1898	2,8086	23,2192	18,5599

Tabel A.2. Data Penelitian pada Konsentrasi NaNO_3 0,075 g/L

Waktu (jam)	OD Reaktor	Vol Reaktor (L)	X Reaktor (g/L)	OD Filtrat	Vol Filtrat (L)	X Filtrat (g/L)	X Total (g/L)	pH	$[\text{HCO}_3^-]$ (M)	I0 (lux)	Ib (lux)	$y_{\text{CO}_2\text{in}}$ (%)	$y_{\text{CO}_2\text{out}}$ (%)	CTR ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{jam}^{-1}$)	q CO_2 ($\text{g}\cdot\text{g}\text{sel}^{-1}\cdot\text{jam}^{-1}$)
0	0,3180	18,0	0,1418				0,1418	6,2	0,00125	5050,667	828,667	5,5290	2,6417	26,4270	186,3695
6	0,1063		0,0344				0,0344	5,7	0,00042	5050,667	1900,667	5,8894	2,0998	32,5630	946,3862
12	0,1315	17,6	0,0472	6,2750	0,4	3,1630	0,1165	5,5	0,00026	5050,667	1740,333	5,8474	1,8267	34,7970	298,8090
18	0,1595		0,0614				0,1361	5,5	0,00023	5050,667	1500,000	4,9891	2,5429	24,8126	182,2965
24	0,2043	17,2	0,0841	0,8035	0,4	0,3880	0,1708	5,5	0,00024	5050,667	1390,333	5,2614	1,6525	34,7117	203,2932
30	0,2338		0,0991				0,1810	5,4	0,00021	5050,667	1170,333	5,9677	2,5500	28,9821	160,1145
36	0,2875	16,8	0,1263	0,5185	0,4	0,2435	0,2146	5,4	0,00019	5050,667	914,667	5,1939	2,6038	25,2363	117,6202
42	0,3700		0,1682				0,2570	5,4	0,00019	5050,667	820,667	5,3698	1,6277	35,2663	137,2046
48	0,4265	16,4	0,1968	0,7165	0,4	0,3439	0,2940	5,4	0,00021	5050,667	678,667	5,9063	1,7297	35,7857	121,7334
54	0,4863		0,2271				0,3254	5,4	0,00021	5050,667	536,667	5,8156	1,6107	36,5901	112,4597
60	0,5480	16,0	0,2585	0,8915	0,4	0,4327	0,3668	5,4	0,00021	5050,667	456,667	5,7430	1,9572	33,3596	90,9370
66	0,5660		0,2676				0,3760	5,4	0,00020	5050,667	450,333	5,6141	1,9233	33,2692	88,4907
72	0,6428	15,6	0,3065	0,8080	0,4	0,3903	0,4226	5,4	0,00018	5050,667	414,000	5,0135	1,6613	33,8370	80,0787
78	0,6470		0,3087				0,4292	5,8	0,00047	5050,667	408,000	5,2684	1,7216	34,0691	79,3754
84	0,6640	15,2	0,3173	1,1600	0,4	0,5688	0,4522	5,6	0,00028	5050,667	401,000	4,9823	2,1425	28,8443	63,7934
90	0,6600		0,3155				0,4508	5,6	0,00030	5050,667	393,500	5,3208	2,1731	29,9377	66,4173
96	0,6750	14,8	0,3229	1,1850	0,4	0,5815	0,4734	5,6	0,00029	5050,667	371,000	5,0754	2,1763	28,9065	61,0620
102	0,6795		0,3251				0,4786	5,6	0,00030	5050,667	373,500	5,1090	1,8858	31,9267	66,7059
108	0,6975	14,4	0,3343	1,5450	0,4	0,7641	0,5101	5,6	0,00035	5050,667	376,000	6,1691	2,6557	28,8209	56,4957

114	0,6835		0,3272				0,5002	5,7	0,00038	5050,667	380,500	5,3636	1,8387	33,2577	66,4888
120	0,6905	14,0	0,3307	1,3485	0,4	0,6644	0,5228	5,7	0,00038	5050,667	372,000	5,3664	1,9937	31,8051	60,8368
126	0,6875		0,3292				0,5231	5,8	0,00045	5050,667	403,500	5,0284	1,7328	33,1671	63,4019
132	0,6970	13,6	0,3340	1,6488	0,4	0,8167	0,5538	5,8	0,00054	5050,667	416,500	6,0219	2,1641	32,4197	58,5362
138	0,7033		0,3372				0,5523	5,7	0,00046	5050,667	407,000	6,4493	2,8568	28,1895	51,0376
144	0,7018	13,2	0,3364	1,3185	0,4	0,6492	0,5709	5,8	0,00053	5050,667	428,000	5,8417	1,8974	34,1691	59,8509
150	0,6853		0,3281				0,5646	5,8	0,00052	5050,667	466,500	5,7886	1,9960	33,1563	58,7258
156	0,6713	12,8	0,3210	1,5805	0,4	0,7821	0,5838	5,7	0,00039	5050,667	466,000	5,4872	2,1913	30,3966	52,0657
162	0,6473		0,3088				0,5654	5,7	0,00038	5050,667	513,000	5,3334	2,0928	30,7485	54,3837
168	0,6778	12,4	0,3243	1,0765	0,4	0,5265	0,5962	5,8	0,00046	5050,667	524,000	5,1218	1,7456	33,3586	55,9569
174	0,6463		0,3083				0,5839	5,7	0,00037	5050,667	541,000	5,1698	1,9628	31,3926	53,7671
180	0,6568	12	0,3136	1,3520	0,4	0,6662	0,6119	5,8	0,00046	5050,667	522,500	5,1533	1,8791	32,1531	52,5422
186	0,6308		0,3004				0,5957	5,8	0,00045	5050,667	582,500	5,0379	1,9045	31,4752	52,8363
192	0,6455	11,6	0,3079	1,0990	0,4	0,5379	0,6206	5,7	0,00039	5050,667	598,000	5,4076	2,0075	31,8192	51,2719
198	0,6205		0,2952				0,6119	5,5	0,00028	5050,667	609,500	6,1153	2,1113	33,1344	54,1503
204	0,6248	11,2	0,2974	1,4585	0,4	0,7202	0,6417	5,5	0,00025	5050,667	648,500	5,4935	2,0800	31,4451	49,0049

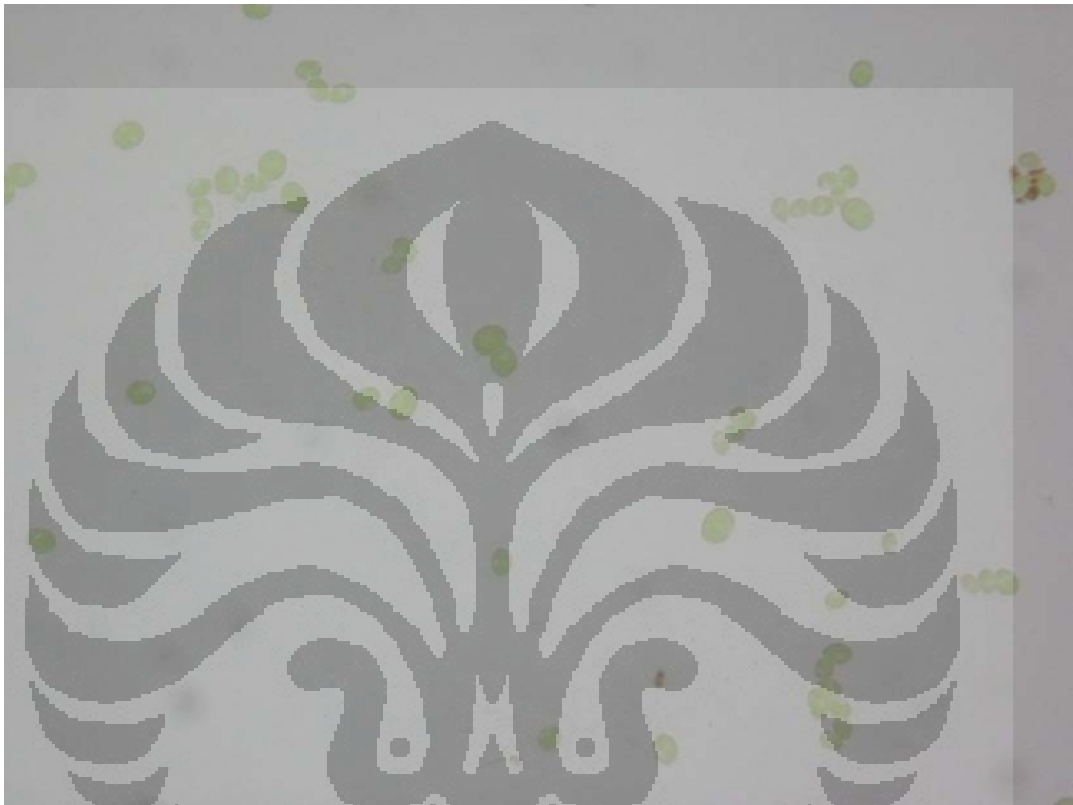
Tabel A.3. Data Penelitian pada Konsentrasi NaNO₃ 0,050 g/L

Waktu (jam)	OD Reaktor	Vol Reaktor (L)	X reaktor (g/L)	OD Filtrat	Vol Filtrat (L)	X Filtrat (g/L)	X Total (g/L)	pH	[HCO ₃ ⁻] (M)	I0 (lux)	Ib (lux)	yCO ₂ in (%)	yCO ₂ out (%)	CTR (g.L ⁻¹ .jam ⁻¹)	q CO ₂ (g.gsel ⁻¹ .jam ⁻¹)
0	0,2770	18,0	0,1210				0,1210	6,1	0,00090	5120,333	879,000	4,9864	2,2665	27,6038	228,1202
6	0,1173		0,0400				0,0400	5,6	0,00029	5120,333	1914,667	5,1439	2,3832	27,1600	679,2280
12	0,1703	17,6	0,0669	8,6625	0,4	4,3738	0,1626	5,4	0,00021	5120,333	1719,667	5,9589	1,8461	34,9280	214,8417
18	0,2030		0,0835				0,1914	5,4	0,00018	5120,333	1373,000	4,9891	1,4924	35,4682	185,3457
24	0,2403	17,2	0,1024	1,8935	0,4	0,9408	0,2403	5,6	0,00030	5120,333	1274,333	5,2387	2,2274	29,0893	121,0690
30	0,3063		0,1358				0,2594	5,4	0,00020	5120,333	1011,333	5,5750	2,6596	26,4640	102,0207
36	0,3864	16,8	0,1765	0,8830	0,4	0,4283	0,3115	5,4	0,00021	5120,333	731,000	5,7617	2,7227	26,6921	85,6931
42	0,4665		0,2171				0,3520	5,4	0,00019	5120,333	681,333	5,2342	2,2035	29,3019	83,2437
48	0,5365	16,4	0,2526	1,0900	0,4	0,5333	0,4011	5,4	0,00018	5120,333	616,333	4,9981	1,6253	34,1498	85,1423
54	0,5665		0,2678				0,4180	5,4	0,00018	5120,333	571,667	5,0106	1,6531	33,9101	81,1176
60	0,5740	16,0	0,2716	1,4888	0,4	0,7356	0,4426	5,4	0,00021	5120,333	540,333	5,8150	1,9519	33,6193	75,9663
66	0,5828		0,2761				0,4426	5,4	0,00022	5120,333	564,333	6,1968	2,1663	32,9150	74,3718
72	0,5998	15,6	0,2847	1,1940	0,4	0,5861	0,4666	5,4	0,00020	5120,333	561,333	5,3990	1,9620	32,2158	69,0434
78	0,7918		0,3821				0,5666	5,4	0,00020	5120,333	486,000	5,6357	2,4763	28,3700	50,0701
84	0,5985	15,2	0,2841	1,6855	0,4	0,8353	0,4938	5,8	0,00053	5120,333	514,333	5,8724	2,9906	24,8342	50,2899
90	0,5710		0,2701				0,4761	5,4	0,00020	5120,333	594,000	5,7011	2,0368	32,5263	68,3239
96	0,6043	14,8	0,2870	1,6420	0,4	0,8133	0,5179	5,6	0,00032	5120,333	627,000	5,6965	2,1763	31,2724	60,3854
102	0,5635		0,2663				0,4927	5,6	0,00035	5120,333	647,500	6,1006	1,9631	34,3216	69,6573
108	0,6125	14,4	0,2912	1,4630	0,4	0,7225	0,5395	5,6	0,00036	5120,333	600,000	6,2691	2,6055	29,5737	54,8189

114	0,6040		0,2869				0,5318	5,5	0,00027	5120,333	634,000	6,0758	2,2218	32,1004	60,3592
120	0,6003	14,0	0,2850	1,2875	0,4	0,6335	0,5490	5,6	0,00034	5120,333	602,000	5,9431	2,6527	28,0181	51,0374
126	0,6180		0,2940				0,5543	5,8	0,00053	5120,333	597,000	5,8575	2,3238	30,5295	55,0743
132	0,6200	13,6	0,2950	0,9510	0,4	0,4628	0,5675	5,6	0,00032	5120,333	610,000	5,6246	1,7817	34,5756	60,9283
138	0,6015		0,2856				0,5620	5,7	0,00044	5120,333	677,500	6,1221	2,4023	30,7483	54,7118
144	0,5940	13,2	0,2818	1,3025	0,4	0,6411	0,5788	5,6	0,00032	5120,333	681,500	5,6973	2,2692	30,4500	52,6092
150	0,5843		0,2768				0,5754	5,8	0,00051	5120,333	750,500	5,6633	2,7336	26,1792	45,4941
156	0,5840	12,8	0,2767	1,6985	0,4	0,8419	0,6056	5,7	0,00038	5120,333	650,250	5,2910	2,6306	25,4455	42,0141
162	0,5445		0,2567				0,5766	5,7	0,00038	5120,333	771,500	5,3690	2,2234	29,6492	51,4241
168	0,5240	12,4	0,2463	1,1140	0,4	0,5455	0,5848	5,8	0,00049	5120,333	868,000	5,4262	2,4746	27,5273	47,0748
174	0,5035		0,2359				0,5765	5,7	0,00038	5120,333	896,000	5,2905	2,5522	26,1931	45,4320
180	0,5265	12,0	0,2475	1,5350	0,4	0,7590	0,6175	5,8	0,00052	5120,333	831,500	5,7696	2,0061	33,0102	53,4590
186	0,4635		0,2156				0,5806	5,8	0,00049	5120,333	954,500	5,4262	2,4962	27,3259	47,0647
192	0,4725	11,6	0,2202	1,4715	0,4	0,7268	0,6148	5,7	0,00040	5120,333	800,500	5,5695	2,3876	28,9116	47,0286
198	0,4453		0,2063				0,5971	5,6	0,00032	5120,333	917,000	5,6631	2,8868	24,8093	41,5483
204	0,4553	11,2	0,2114	1,6005	0,4	0,7922	0,6364	5,5	0,00023	5120,333	899,000	5,1047	2,0485	30,2980	47,6060

LAMPIRAN B

Hasil Pengujian *Chlorella vulgaris* dengan Mikroskop

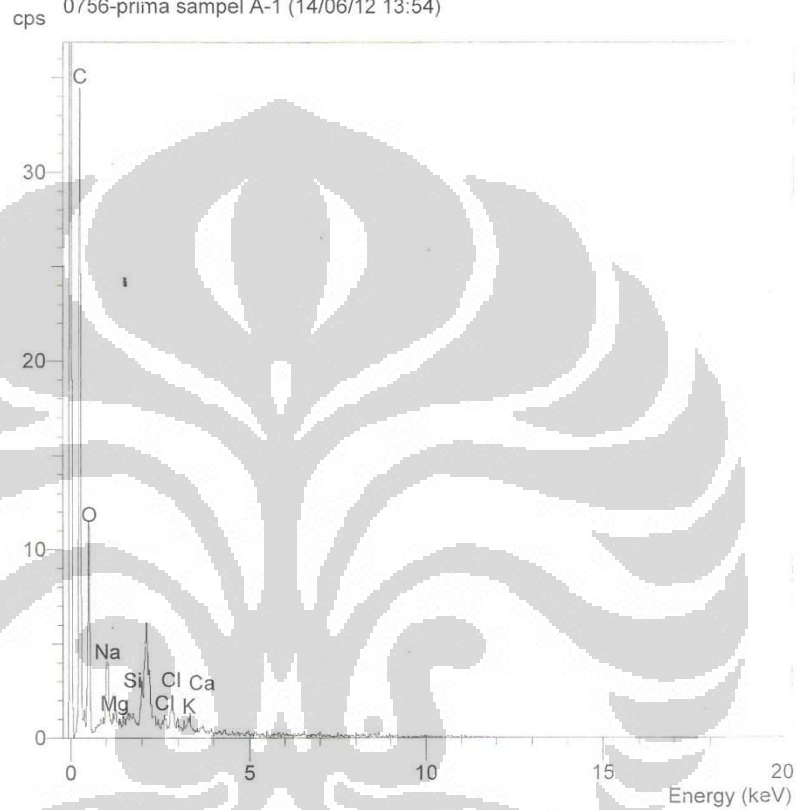


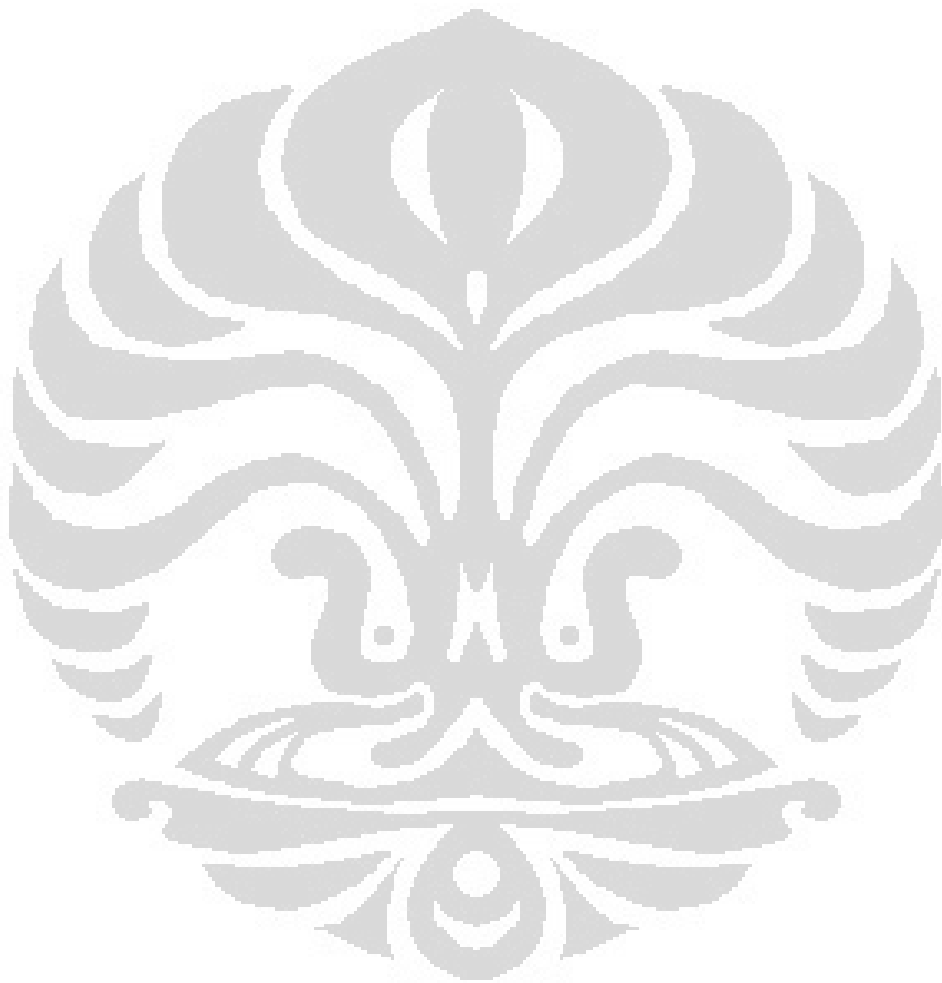


LAMPIRAN C

**HASIL PENGUJIAN EDS *Chlorella vulgaris* PADA KONSENTRASI
NITRAT 0,100 g/L**

Operator : Ferdian
Client : Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job : Energy Dispersive X-ray Analysis
0756-prima sampel A-1 (14/06/12 13:54)





SEMQuant results. Listed at 13:55:46 on 14/06/12
Operator: Ferdian
Client: Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job: Energy Dispersive X-ray Analysis
Spectrum label: 0756-prima sampel A-1

System resolution = 60 eV

Quantitative method: ZAF (2 iterations).
Analysed all elements and normalised results.

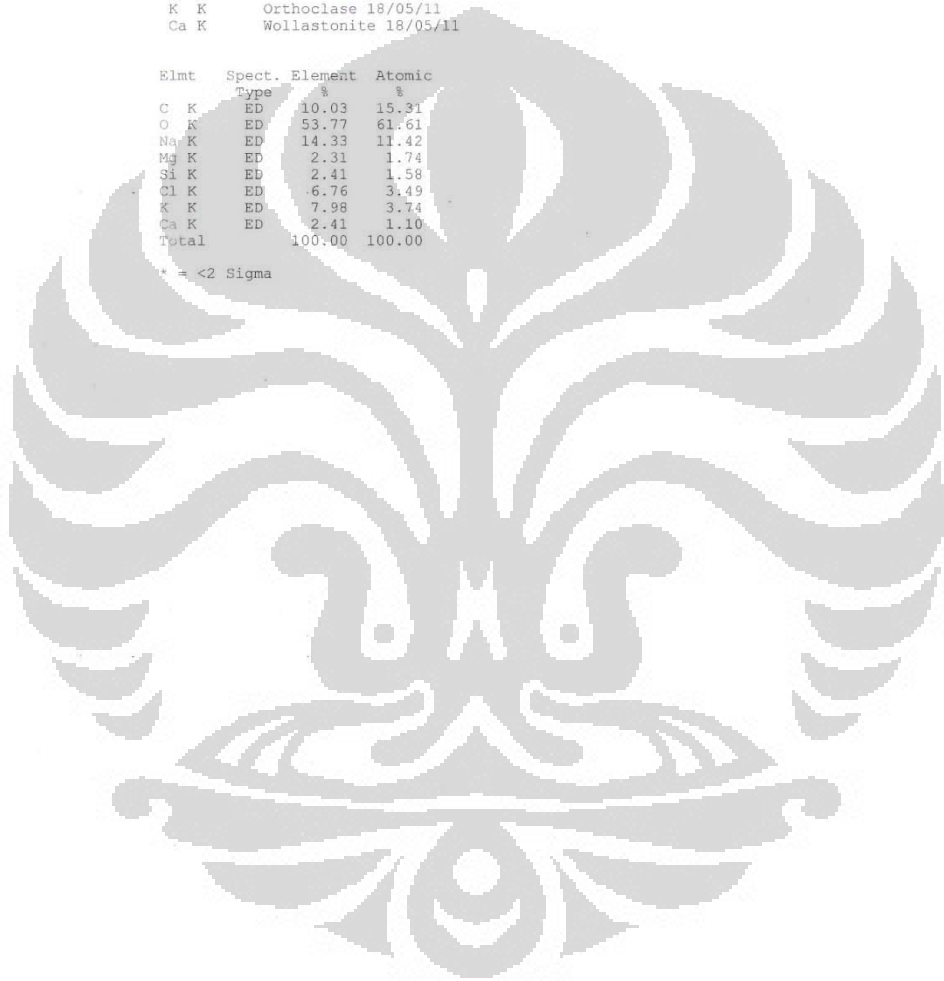
1 peak possibly omitted: 2.14 keV

Standards :

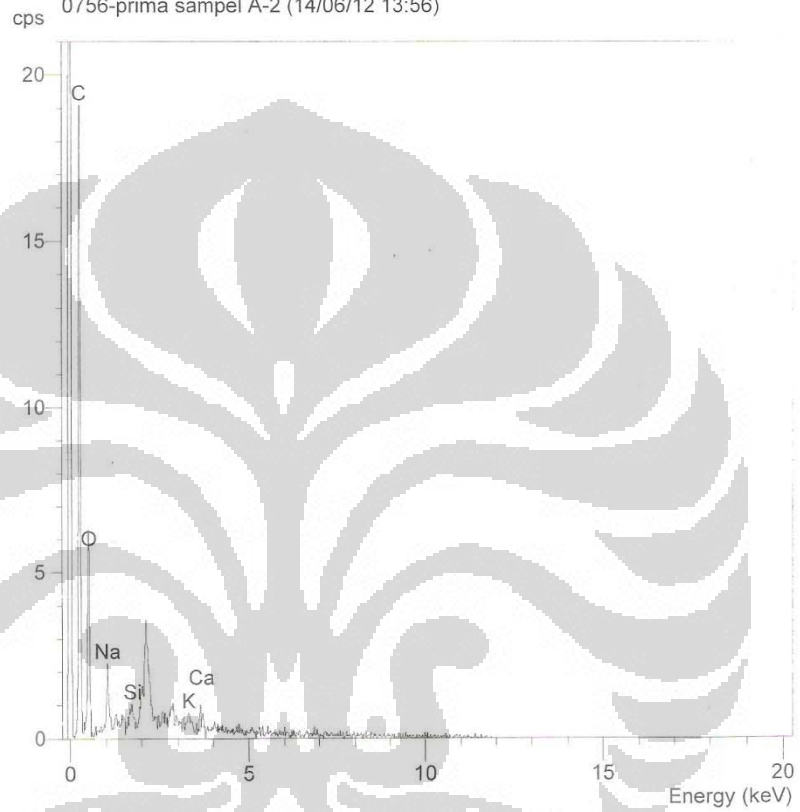
C K Carbon Low 13/09/06
O K AL2O3 20/05/11
Na K Jadeite 18/05/11
Mg K Magnesium Oxide 20/05/11
Si K Jadeite 18/05/11
Cl K KCl 15/02/94
K K Orthoclase 18/05/11
Ca K Wollastonite 18/05/11

Elmt	Spect.	Element	Atomic
	Type	%	%
C K	ED	10.03	15.31
O K	ED	53.77	61.61
Na K	ED	14.33	11.42
Mg K	ED	2.31	1.74
Si K	ED	2.41	1.58
Cl K	ED	6.76	3.49
K K	ED	7.98	3.74
Ca K	ED	2.41	1.10
Total		100.00	100.00

* = <2 Sigma



Operator : Ferdian
Client : Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job : Energy Dispersive X-ray Analysis
0756-prima sampel A-2 (14/06/12 13:56)



SEMQuant results. Listed at 13:58:12 on 14/06/12
Operator: Ferdian
Client: Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job: Energy Dispersive X-ray Analysis
Spectrum label: 0756-prima sampel A-2

System resolution = 60 eV

Quantitative method: ZAF (2 iterations).
Analysed all elements and normalised results.

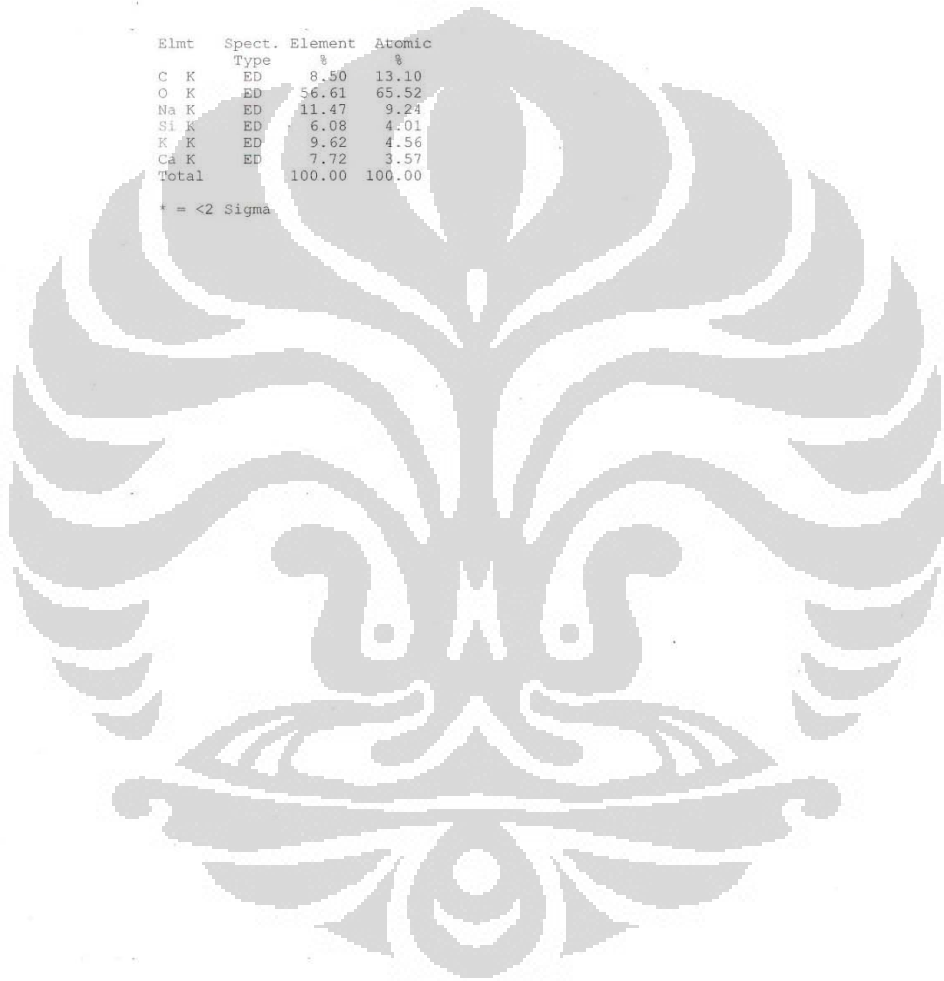
2 peaks possibly omitted: 2.14, 2.82 keV

Standards :

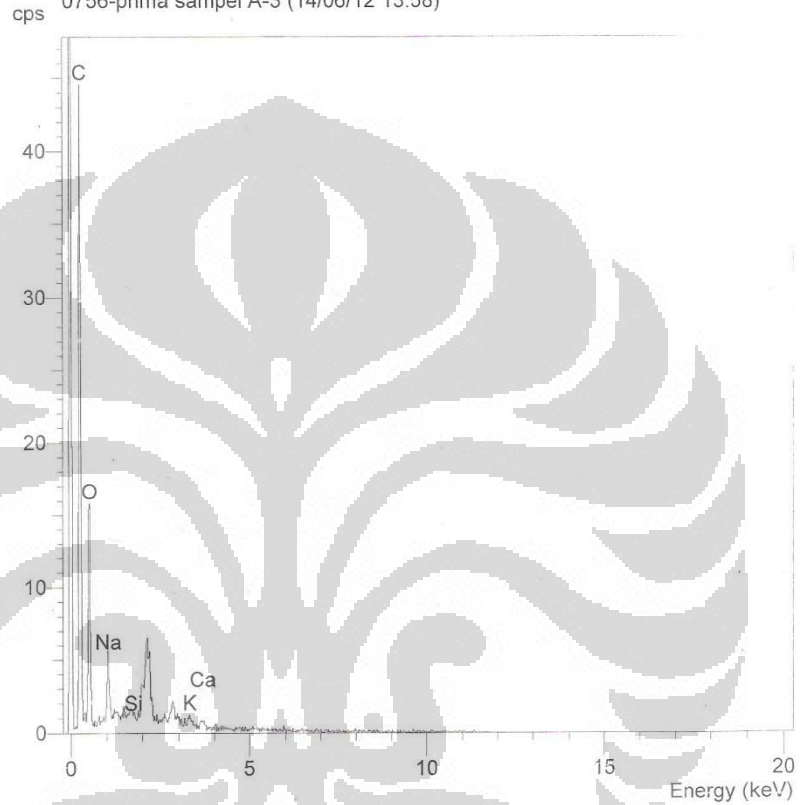
C K Carbon Low 13/09/06
O K AL2O3 20/05/11
Na K Jadeite 18/05/11
Si K Jadeite 18/05/11
K K Orthoclase 18/05/11
Ca K Wollastonite 18/05/11

Elmt	Spect.	Element	Atomic
	Type	%	%
C K	ED	8.50	13.10
O K	ED	56.61	65.52
Na K	ED	11.47	9.24
Si K	ED	6.08	4.01
K K	ED	9.62	4.56
Ca K	ED	7.72	3.57
Total		100.00	100.00

* = <2 Sigma



Operator : Ferdian
Client : Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job : Energy Dispersive X-ray Analysis
0756-prima sampel A-3 (14/06/12 13:58)



SEMQuant results. Listed at 14:00:00 on 14/06/12
Operator: Ferdian
Client: Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job: Energy Dispersive X-ray Analysis
Spectrum label: 0756-prima sampel A-3

System resolution = 60 eV

Quantitative method: ZAF (2 iterations).
Analysed all elements and normalised results.

2 peaks possibly omitted: 2.16, 2.84 keV

Standards :

C K Carbon Low 13/09/06
O K AL2O3 20/05/11
Na K Jadeite 18/05/11
Si K Jadeite 18/05/11
K K Orthoclase 18/05/11
Ca K Wollastonite 18/05/11

Elmt	Spect.	Element	Atomic
	Type	%	%
C K	ED	9.05	13.31
O K	ED	61.78	68.19
Na K	ED	15.50	11.90
Si K	ED	2.63	1.65
K K	ED	7.14	3.22
Ca K	ED	3.91	1.72
Total		100.00	100.00

* = <2 Sigma

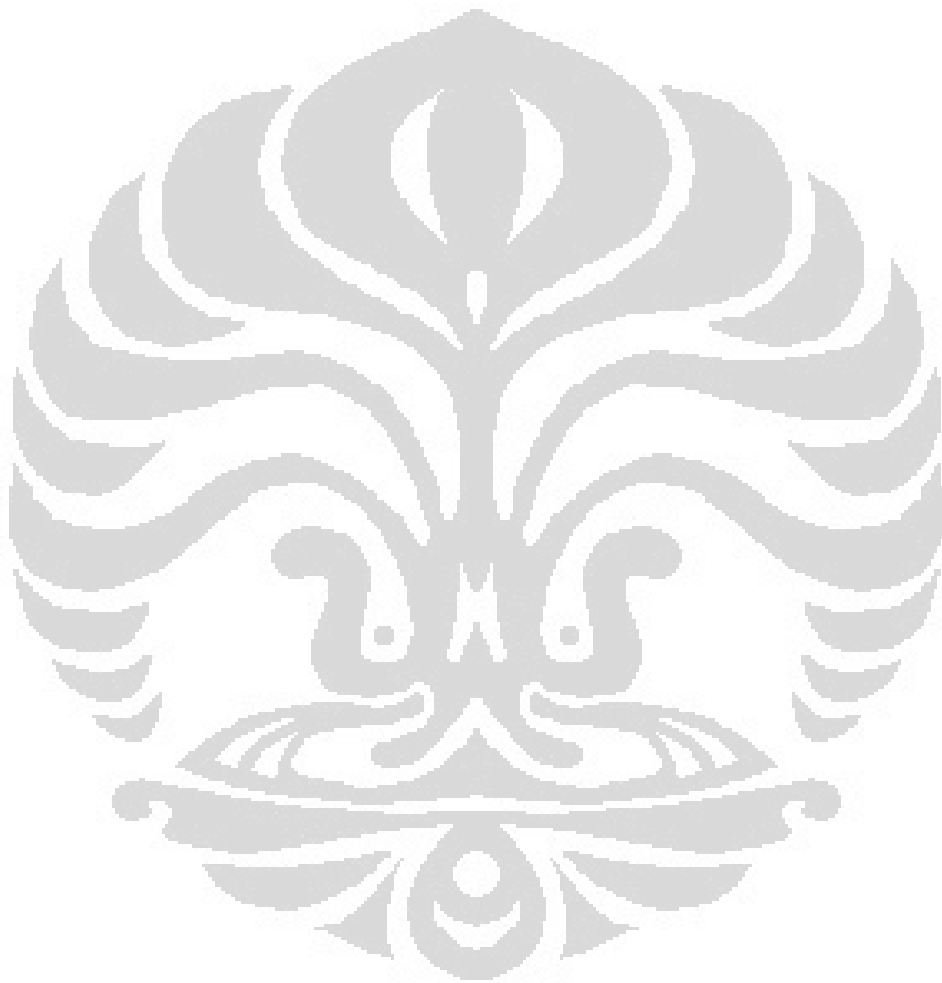




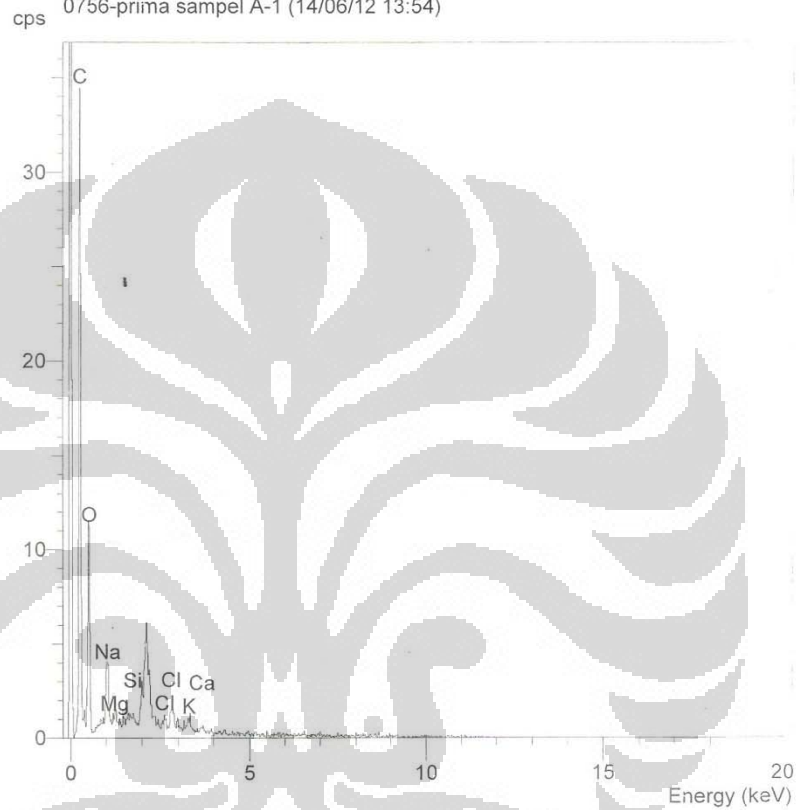
LAMPIRAN D

HASIL PENGUJIAN EDS *Chlorella vulgaris* PADA KONSENTRASI

NITRAT 0,075 g/L



Operator : Ferdian
Client : Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job : Energy Dispersive X-ray Analysis
0756-prima sampel A-1 (14/06/12 13:54)



SEMQuant results. Listed at 13:55:46 on 14/06/12
Operator: Ferdian
Client: Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job: Energy Dispersive X-ray Analysis
Spectrum label: 0756-prima sampel A-1

System resolution = 60 eV

Quantitative method: ZAF (2 iterations).
Analysed all elements and normalised results.

1 peak possibly omitted: 2.14 keV

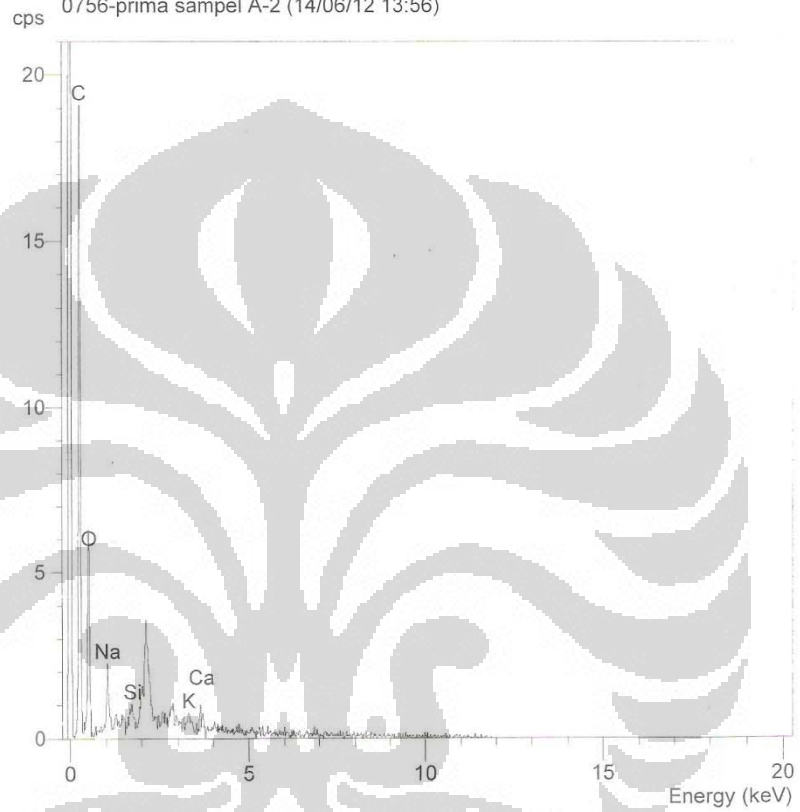
Standards :

C K	Carbon Low 13/09/06
O K	AL2O3 20/05/11
Na K	Jadeite 18/05/11
Mg K	Magnesium Oxide 20/05/11
Si K	Jadeite 18/05/11
Cl K	KCl 15/02/94
K K	Orthoclase 18/05/11
Ca K	Wollastonite 18/05/11

Elmt	Spect.	Element	Atomic
	Type	%	%
C K	ED	10.03	15.31
O K	ED	53.77	61.61
Na K	ED	14.33	11.42
Mg K	ED	2.31	1.74
Si K	ED	2.41	1.58
Cl K	ED	6.76	3.49
K K	ED	7.98	3.74
Ca K	ED	2.41	1.10
Total		100.00	100.00

* = <2 Sigma

Operator : Ferdian
Client : Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job : Energy Dispersive X-ray Analysis
0756-prima sampel A-2 (14/06/12 13:56)



SEMQuant results. Listed at 13:58:12 on 14/06/12
Operator: Ferdian
Client: Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job: Energy Dispersive X-ray Analysis
Spectrum label: 0756-prima sampel A-2

System resolution = 60 eV

Quantitative method: ZAF (2 iterations).
Analysed all elements and normalised results.

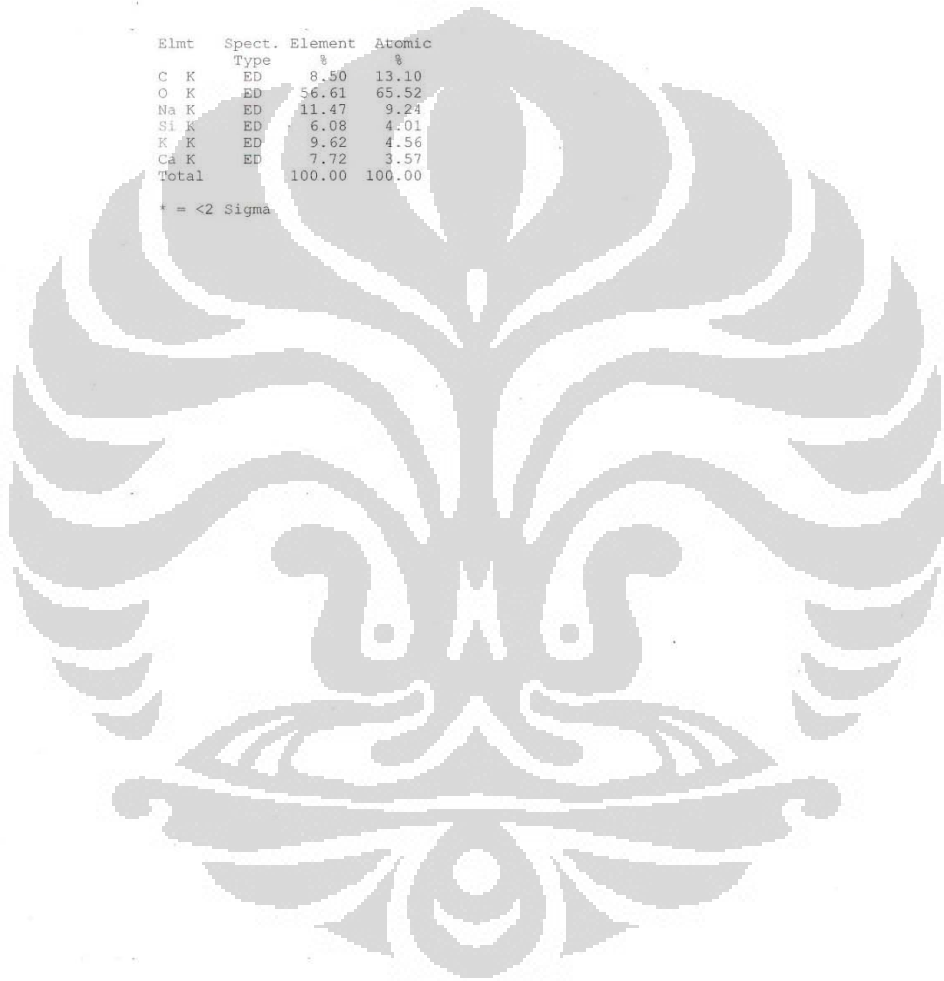
2 peaks possibly omitted: 2.14, 2.82 keV

Standards :

C K Carbon Low 13/09/06
O K AL2O3 20/05/11
Na K Jadeite 18/05/11
Si K Jadeite 18/05/11
K K Orthoclase 18/05/11
Ca K Wollastonite 18/05/11

Elmt	Spect.	Element	Atomic
	Type	%	%
C K	ED	8.50	13.10
O K	ED	56.61	65.52
Na K	ED	11.47	9.24
Si K	ED	6.08	4.01
K K	ED	9.62	4.56
Ca K	ED	7.72	3.57
Total		100.00	100.00

* = <2 Sigma



Operator : Ferdian
Client : Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job : Energy Dispersive X-ray Analysis
0756-prima sampel A-3 (14/06/12 13:58)



SEMQuant results. Listed at 14:00:00 on 14/06/12
Operator: Ferdian
Client: Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job: Energy Dispersive X-ray Analysis
Spectrum label: 0756-prima sampel A-3

System resolution = 60 eV

Quantitative method: ZAF (2 iterations).
Analysed all elements and normalised results.

2 peaks possibly omitted: 2.16, 2.84 keV

Standards :

C K Carbon Low 13/09/06
O K AL2O3 20/05/11
Na K Jadeite 18/05/11
Si K Jadeite 18/05/11
K K Orthoclase 18/05/11
Ca K Wollastonite 18/05/11

Elmt	Spect.	Element	Atomic
	Type	%	%
C K	ED	9.05	13.31
O K	ED	61.78	68.19
Na K	ED	15.50	11.90
Si K	ED	2.63	1.65
K K	ED	7.14	3.22
Ca K	ED	3.91	1.72
Total		100.00	100.00

* = <2 Sigma

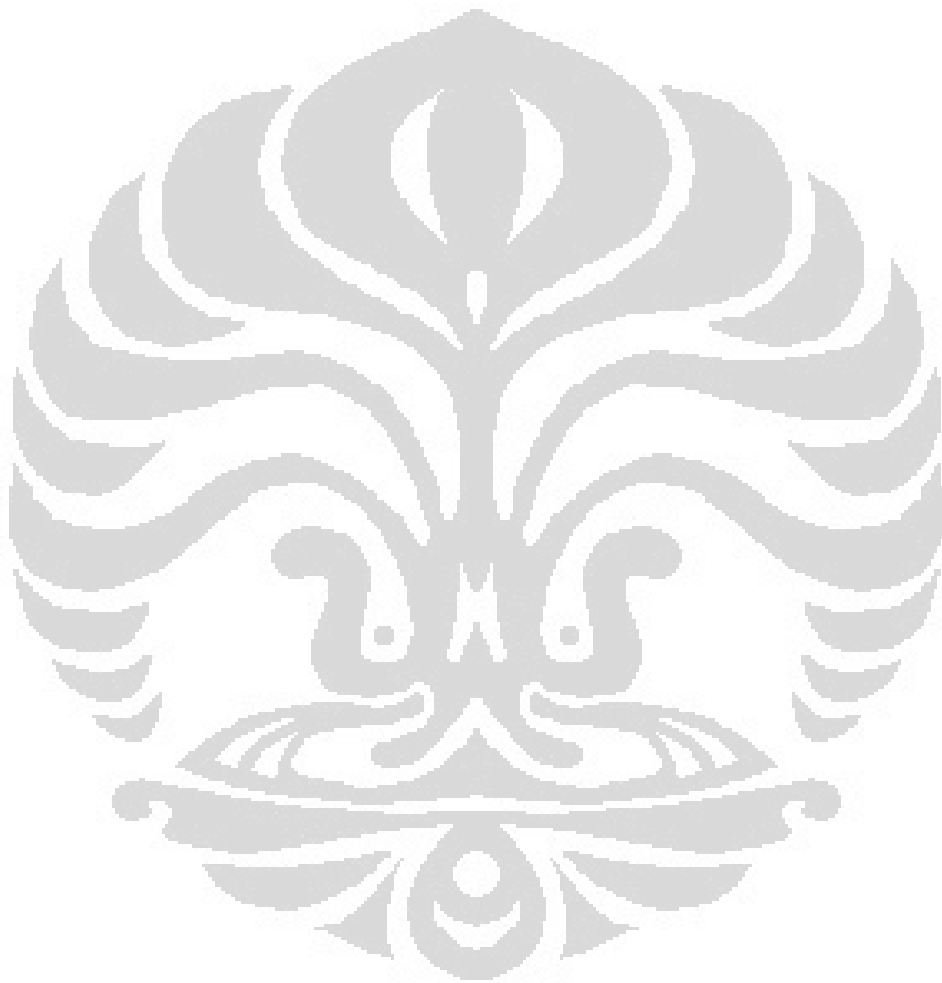




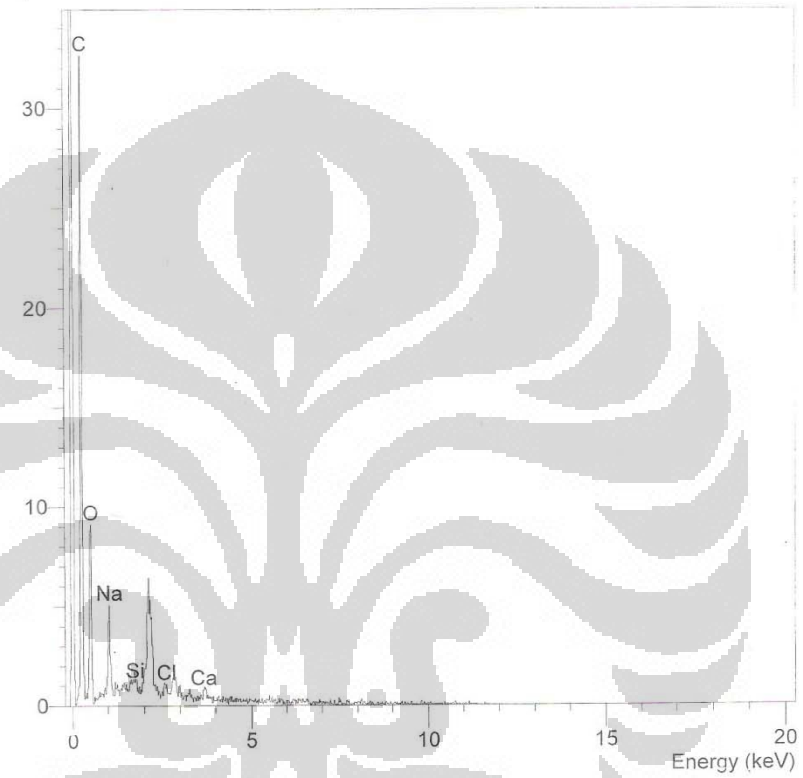
LAMPIRAN E

HASIL PENGUJIAN EDS *Chlorella vulgaris* PADA KONSENTRASI

NITRAT 0,050 g/L



Operator : Ferdian
Client : Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job : Energy Dispersive X-ray Analysis
0756-prima sampel C-1 (14/06/12 14:23)



SEMQuant results. Listed at 14:25:24 on 14/06/12
Operator: Ferdian
Client: Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job: Energy Dispersive X-ray Analysis
Spectrum label: 0756-prima sampel C-1

System resolution = 60 eV

Quantitative method: ZAF (2 iterations).
Analysed all elements and normalised results.

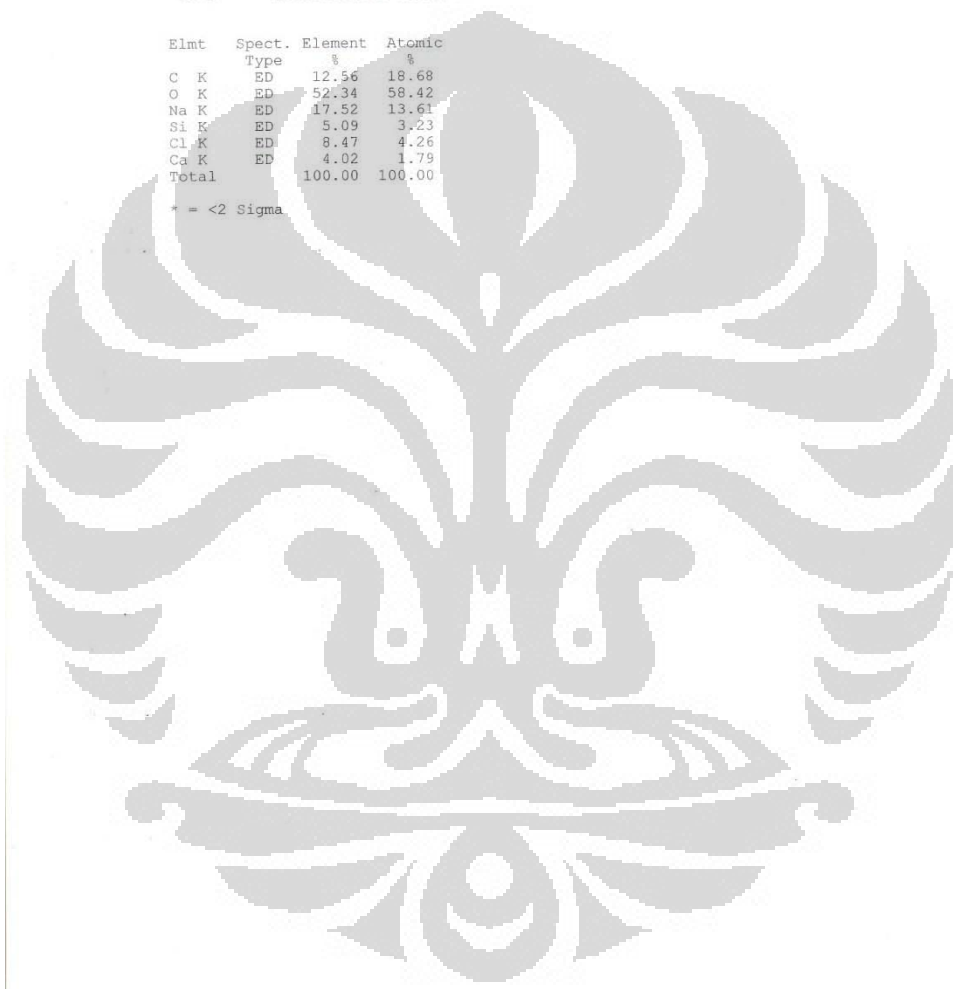
1 peak possibly omitted: 2.14 keV

Standards :

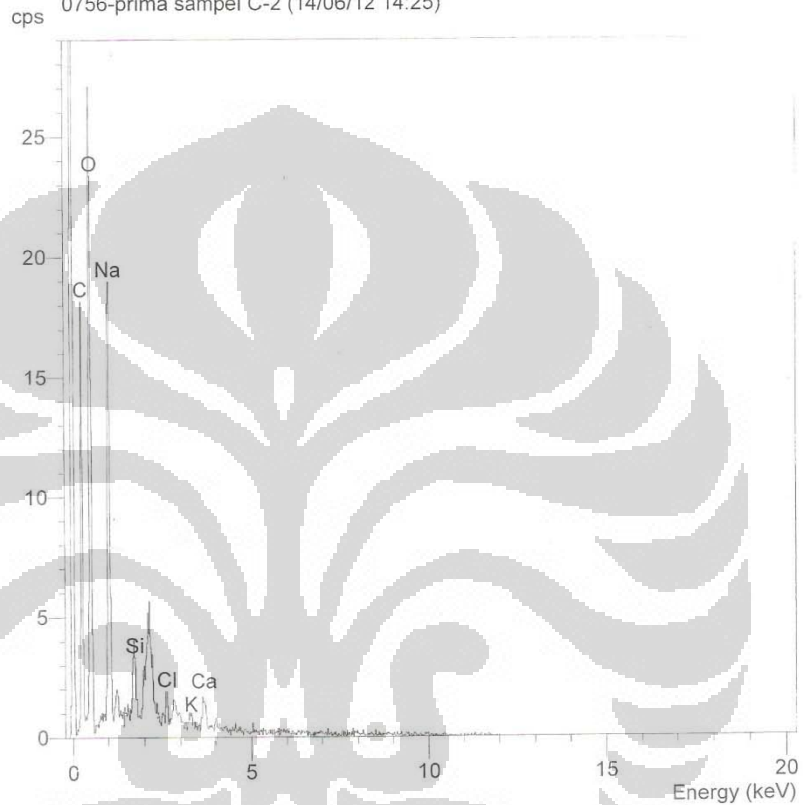
C K	Carbon Low	13/09/06
O K	AL2O3	20/05/11
Na K	Jadeite	18/05/11
Si K	Jadeite	18/05/11
Cl K	KCl	15/02/94
Ca K	Wollastonite	18/05/11

Elmt	Spect.	Element	Atomic
	Type	%	%
C K	ED	12.56	18.68
O K	ED	52.34	58.42
Na K	ED	17.52	13.61
Si K	ED	5.09	3.23
Cl K	ED	8.47	4.26
Ca K	ED	4.02	1.79
Total		100.00	100.00

* = <2 Sigma



Operator : Ferdian
Client : Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job : Energy Dispersive X-ray Analysis
0756-prima sampel C-2 (14/06/12 14:25)



SEMQuant results. Listed at 14:27:14 on 14/06/12
Operator: Ferdian
Client: Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job: Energy Dispersive X-ray Analysis
Spectrum label: 0756-prima sampel C-2

System resolution = 60 eV

Quantitative method: ZAF (2 iterations).
Analysed all elements and normalised results.

1 peak possibly omitted: 2.14 keV

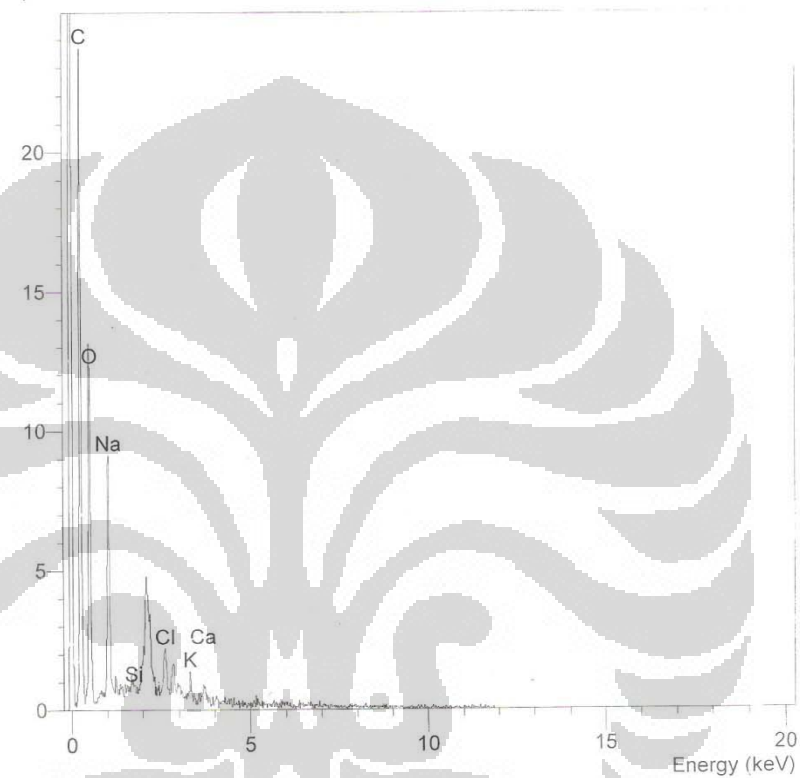
Standards :

C K Carbon Low 13/09/06
O K AL2O3 20/05/11
Na K Jadeite 18/05/11
Si K Jadeite 18/05/11
Cl K KCl 15/02/94
K K Orthoclase 18/05/11
Ca K Wollastonite 18/05/11

Elmt	Spect.	Element	Atomic
	Type	%	%
C K	ED	2.47	4.01
O K	ED	50.42	61.34
Na K	ED	27.87	23.59
Si K	ED	6.40	4.44
Cl K	ED	5.54	3.04
K K	ED	2.83	1.41
Ca K	ED	4.47	2.17
Total		100.00	100.00

* = <2 Sigma

Operator : Ferdian
Client : Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job : Energy Dispersive X-ray Analysis
0756-prima sampel C-3 (14/06/12 14:27)



SEMQuant results. Listed at 14:28:48 on 14/06/12
Operator: Ferdian
Client: Departemen Teknik Metalurgi dan Material
Job: Energy Dispersive X-ray Analysis
Spectrum label: 0756-prima sampel C-3

System resolution = 60 eV

Quantitative method: ZAF (2 iterations).
Analysed all elements and normalised results.

Standards :
C K Carbon Low 13/09/06
O K AL2O3 20/05/11
Na K Jadeite 18/05/11
Si K Jadeite 18/05/11
Cl K KCl 15/02/94
K K Orthoclase 18/05/11
Ca K Wollastonite 18/05/11

Elmt	Spect.	Element	Atomic
	Type	%	%
C K	ED	6.68	10.98
O K	ED	45.49	56.18
Na K	ED	21.17	18.19
Si K	ED	1.65	1.16
Cl K	ED	16.75	9.33
K K	ED	5.73	2.89
Ca K	ED	2.54	1.25
Total		100.00	100.00

* = <2 Sigma

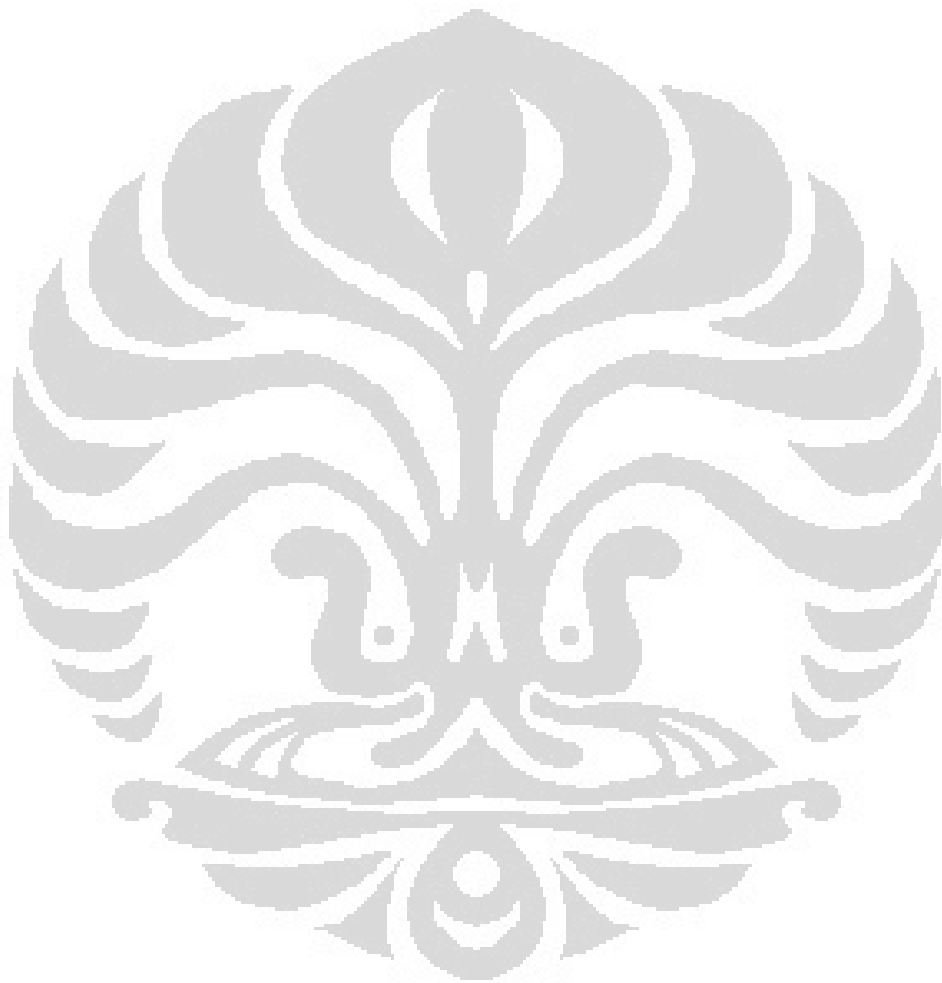




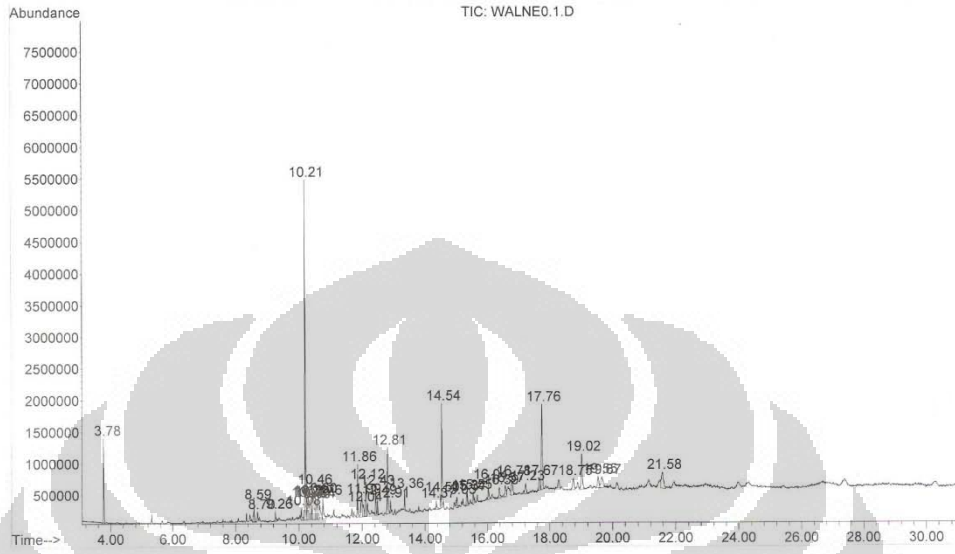
LAMPIRAN F

HASIL PENGUJIAN GC-MS *Chlorella vulgaris* PADA KONSENTRASI

NITRAT 0,100 g/L



File :G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\WALNE0.1.D
Operator : PRIMA ANGGRAINI
Acquired : 19 Jun 2012 10:09 using AcqMethod UMUM.M
Instrument : GCMS
Sample Name: WALNE 0.1 g/l
Misc Info : S1 UI
Vial Number: 1



Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.1.D
 Acq On : 19 Jun 2012 10:09
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.1 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	3.79	3.49	C:\Database\wiley7n.1 Cyclotetrasiloxane, octamethyl- Cyclotetrasiloxane, octamethyl- (C AS) \$\$ 1,1,3,3,5,5,7,7-OCTAMETHYL- CYCLOOCTASILOXANE \$\$ OCTAMETHYL-(C YCLIC TETRAMER) CYCLOTETRASILOXANE \$\$ Octamethylcyclotetrasiloxane \$ \$ NUC Silicone VS 7207 \$\$ Octameth yl-cyclotetrasiloxane \$\$ Oktamethy lcyklotetrasiloxa Cyclotetrasiloxane, octamethyl- (C AS) \$\$ 1,1,3,3,5,5,7,7-OCTAMETHYL- CYCLOOCTASILOXANE \$\$ OCTAMETHYL-(C YCLIC TETRAMER) CYCLOTETRASILOXANE \$\$ Octamethylcyclotetrasiloxane \$ \$ NUC Silicone VS 7207 \$\$ Octameth yl-cyclotetrasiloxane \$\$ Oktamethy lcyklotetrasiloxa	244215 244218 244217	000556-67-2 000556-67-2 000556-67-2	90 83 83
2	8.59	1.35	C:\Database\wiley7n.1 Benzene, 1,3-dichloro- (CAS) \$\$ m- Dichlorobenzene \$\$ 1,3-Dichloroben zene \$\$ m-Dichlorobenzol \$\$ Metadi chlorobenzene \$\$ Benzene, m-dichlo ro- \$\$ m-Phenylene dichloride \$\$ R cra waste number U071 \$\$ 1,3-DICHL ORBENZOL Benzene, 1,2-dichloro- Benzene, 1,2-dichloro- (CAS) \$\$ o- Dichlorobenzene \$\$ 1,2-Dichloroben zene \$\$ Cloroben \$\$ Dilatin db \$\$ Dowtherm E \$\$ 1,2-Dichlorobenzene \$ \$ Benzene, o-dichloro- \$\$ Benzene, o-dichoro- (8CII) \$\$ Dilantin DB \$\$ ortho-Dichlorobenzene \$\$ Chloro ben \$\$ o-Dichloro	41690 41678 41680	000541-73-1 000095-50-1 000095-50-1	35 35 35
3	8.70	0.57	C:\Database\wiley7n.1 Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl) Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl) Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)	124440 124433 124438	001138-52-9 005875-45-6 001138-52-9	76 68 64
4	9.27	0.96	C:\Database\wiley7n.1 Z-5-Nonadecene 1-Hexadecene (CAS) \$\$ Cetene \$\$ i- Cetene \$\$ n-Hexadec-1-ene \$\$ alph a-Hexadecene \$\$ HEXADECENE-1 \$\$ H exadecylene-1 1-Nonadecene	208874 152003 208860	000000-00-0 000629-73-2 018435-45-5	93 83 58
5	10.08	1.04	C:\Database\wiley7n.1 1,1,2,3,5,6-Hexamethyl-4-neopentyl -2,4-cyclohexadiene	165699	075948-84-4	64

UNUM.M Tue Jun 19 12:49:27 2012

Page: 1

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNEC.1.D
 Acq On : 19 Jun 2012 10:09
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.1 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			Propofol	83976	002078-54-8	59
			Ethanone, 1-[4-(1-hydroxy-1-methyl-ethyl)phenyl]-	83475	054549-72-3	59
6	10.21	18.08	C:\Database\wiley7n.1			
			Dicyclohexyl methylphosphonate	199732	007040-53-1	43
			Thiophene, 2-decyl-	151668	024769-39-9	43
			Cyclohexane, 1-ethyl-1-methyl-	23206	004926-90-3	43
7	10.26	1.54	C:\Database\wiley7n.1			
			Benzaldehyde, 3-methyl-, oxime	30230	041977-54-2	64
			m-Methylbenzaldoxime			
			Benzaldehyde, 3-methyl-, oxime (CAS)	30231	041977-54-2	64
			m-Methylbenzaldoxime			
			Phenol, 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-	124444	000140-66-9	64
8	10.32	1.82	C:\Database\wiley7n.1			
			Nonyl-phenol mix of isomers	145229	000000-00-0	91
			Phenol, nonyl-	144816	025154-52-3	90
			Phenol, nonyl- (CAS)	144818	025154-52-3	90
			n-Nonylphenol			
			Prevoztel VON-100			
			Hydroxyl no. 253			
			MONYLPHENOL ISOMER	144822	025154-52-3	90
			4-Nonylphenol	144811	000104-40-5	66
9	10.37	1.89	C:\Database\wiley7n.1			
			Phenol, nonyl-	144815	025154-52-3	90
			n-Nonylphenol			
			Prevoztel VON-100			
			Hydroxyl no. 253			
			MONYLPHENOL ISOMER	144822	025154-52-3	90
			4-Nonylphenol	144811	000104-40-5	66
10	10.40	1.42	C:\Database\wiley7n.1			
			MONYLPHENOL ISOMER	144820	025154-52-3	46
			2-Methyl-6-tert-octylphenol	145243	019546-31-7	38
			4-Methyl-2-tert-octylphenol	145242	004979-46-8	30
11	10.45	3.32	C:\Database\wiley7n.1			
			3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-	103682	014901-07-6	78
			.beta.-Ionone			
			4-(2,6,6-Trimethyl-1-cyclohexenyl)-3-buten-2-one			
			.beta.-Cyclocitrylideneacetone			
			.beta.-Ionone			
			4-(2,6,6-Trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-one			
			7-amino-3-methylpyrimido(4,5-c)pyridazin-5(6H)-one	81775	074482-47-6	64
			Phenol, 2,5-bis(1-methylpropyl)-	124416	054932-77-3	56
12	10.54	2.05	C:\Database\wiley7n.1			

UMUM.M Tue Jun 19 12:49:27 2012

Page: 2

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.1.D
 Acq On : 19 Jun 2012 10:09
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.1 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			3-(o-Azidophenyl)propanol	81953	000000-00-0	72
			4-Methyl-2-tert-octylphenol	145242	004979-46-8	50
			2-(1-Methyl-2-pyrrolyl)imidazoline	45141	000000-00-0	50
13	10.60	2.58	C:\Database\wiley7n.1 Phenol, 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-	124444	000140-66-9	64
			OCTYL PHENOL ISOMER	124414	001806-26-4	64
			Phenol, 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-	124445	000140-66-9	64
14	10.76	2.25	C:\Database\wiley7n.1 1-Octadecene	190568	000112-88-9	97
			1-Nonadecene	208860	018435-45-5	76
			1-Heptadecene \$\$ Hexahydroaplotaxene	171774	006765-39-5	74
15	11.86	2.97	C:\Database\wiley7n.1 Methyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate	240652	000000-00-0	93
			METHYL-3-(3,5-DITERTBUTYL-4-HYDROXYPHENYL) PROPIONATE \$\$ Methyl ester of 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-propionic acid \$\$ Methyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate	240653	000000-00-0	93
			3'-METHYL-1'-PHENYLSPIRO(INDOLINE-2,4'-(2)PYRAZOLINE)-5'-ONE \$\$ Spirone[2H-indole-2,4'-(4H)pyrazol]-3'(2'H)-one, 1,3-dihydro-5'-methyl-2'-phenyl- (CAS)	222162	058620-66-9	59
16	11.99	2.74	C:\Database\wiley7n.1 1,2-Benzenedicarboxylic acid, dibutyl ester (CAS) \$\$ Butyl phthalate	223238	000084-74-2	89
			\$\$ DI-N-BUTYLPHthalate \$\$ PX 104 \$\$ DIBUTYLPHthalate \$\$ DIBUTYL-PHTHALATE \$\$ Dibutyl phthalate \$\$ DIBUTYL ESTER OF PHTHALIC ACID \$\$ Elaol \$\$ Unimol DB \$\$ Palatinol C \$\$ Staflex DBP \$\$ Gen			
			Dibutyl phthalate	223236	000084-74-2	76
			Dibutyl phthalate \$\$ 1,2-Benzenedicarboxylic acid, dibutyl ester \$\$ Phthalic acid, dibutyl ester \$\$ n-Butyl phthalate \$\$ Butyl phthalate \$\$ Celluflex DPB \$\$ Elaol \$\$ Genoplast B \$\$ Hexaplas M/B \$\$ Palatinol C \$\$ Polycizer DBP \$\$ PX 104 \$\$ Staflex DBP \$\$ U	223242	000084-74-2	76
17	12.04	1.31	C:\Database\wiley7n.1 1H-Benz[de]isoquinoline-1,3(2H)-di	175104	003271-05-4	42

UMUM.M Tue Jun 19 12:49:27 2012

Page: 3

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.1.D
 Acq On : 19 Jun 2012 10:09
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.1 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area*	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			one, 6-methoxy-2-methyl- \$\$ Naphth alimide, 4-methoxy-N-methyl- \$\$ N- Methyl-4-methoxynaphthalimide \$\$ 4 -Methoxy-1,8-naphthalic acid-N-met hyllimide \$\$ 4-Methoxynaphthalene-1 ,8-dicarboxylic methylimide \$\$ 4-M ethoxy-N-methylna Methanephosphonic acid, O,O'- bis(trimethylsilyl) ester 194152 000000-00-0 38			
			2-acetyl-5-hydroxynaphtho[2,3-b]fu ran-4,9-dione \$\$ Naphtho[2,3-b]fur an-4,9-dione, 2-acetyl-5-hydroxy- (CAS) 194769 087549-97-1 38			
18	12.12	2.87	C:\Database\wiley7n.1 1-Heptadecene 171777 006765-39-5 49 3-Decen-5-one, 2-methyl- 71113 032064-75-8 46 Bacteriochlorophyll-c-stearyl 390640 000000-00-0 45			
19	12.44	1.60	C:\Database\wiley7n.1 Cyclohexanepropanoic acid (CAS) \$\$ 55432 000701-97-3 30 3-Cyclohexylpropionic acid \$\$ Cyc lohexanepropionic acid \$\$ 3-Cyclohex ylpropionic acid \$\$ 3-Cyclohexan epropionic acid \$\$.beta.-Cyclohex ylpropionic acid \$\$ Cyclohexylprop ionic acid 3-(3'-butenyl)cyclohexanone \$\$ 3-(But-3-enyl)-cyclohexanone \$\$ Cyclohex anone, 3-(3-butenyl)- (CAS) \$\$ 3 -(3-Butenyl)cyclohexanone 50203 003636-03-1 30 2-Furanacetic acid, alpha.-hydrox y- (CAS) \$\$ 2-FURYLGLYCOLIC ACID \$ \$ 2-Furanglycolic acid 37455 019377-73-2 27			
20	12.50	0.92	C:\Database\wiley7n.1 1,2,5-Oxadiborolane, 2,3,3,4,5-pen taethyl- 127211 139688-18-9 49 Diethyl(cis-1-ethy-1-butenyl)boran 127212 000000-00-0 47 Spiro(tetrahydrofuryl)2,1'(decalin)-, 5',5',8'a-trimethyl- 168624 000000-00-0 38			
21	12.81	4.74	C:\Database\wiley7n.1 Isoquinoline, 2-acetyl-1,2,3,4-tet rahydro- (CAS) \$\$ N-Acetyl-1,2,3,4 -tetrahydroisoquinoline 79859 014028-67-2 38 9-Borabicyclo[3.3.1]nonane, 9-pipe ridino- 122704 022516-42-3 38 4-(4-methoxyphenyl)oxazole \$\$ Oxaz ole, 4-(4-methoxyphenyl)- (CAS) 79706 054289-74-6 35			
22	12.91	0.63	C:\Database\wiley7n.1 Phytol 245667 000150-86-7 72			

UMUM.M Tue Jun 19 12:49:27 2012

Page: 4

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNEO.1.D
 Acq On : 19 Jun 2012 10:09
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.1 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS) \$\$ Phytol \$\$ trans-Phytol \$\$ (E)-(7R,11R)-3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol \$\$ 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R@,R@-(E)]]- \$\$ 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol \$\$ 2-	245664	000150-86-7	68
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS) \$\$ Phytol \$\$ trans-Phytol \$\$ (E)-(7R,11R)-3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol \$\$ 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R@,R@-(E)]]- \$\$ 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol \$\$ 2-	245669	000150-86-7	49
23	13.36	0.96	C:\Database\wiley7n.1 Bacteriochlorophyll-c-stearyl 1-Heptadecene Hexadecane-1,2-diol	390640 171777 197963	000000-00-0 006765-39-5 006920-24-7	90 89 80
24	14.37	0.74	C:\Database\wiley7n.1 2-PYRIDONE-(18)O N[(1S,2R)-2-methyl-1-cyclohexanoyl]bornane-10,2-sultam O,O-DIETHYL O-(4-(2-DICHLORO-1,1-DIFLUOROETHOXY)-2-NITROPHENYL)PHOSPHORO	6047 289050 350727	019220-58-7 121578-32-3 000000-00-0	9 9 6
25	14.50	0.76	C:\Database\wiley7n.1 Cyclotetracosane 1-Docosene 1-Dotriacontanol \$\$ n-Dotriacontanol ol \$\$ Dotriacontanol	287054 259091 360217	000297-03-0 001599-67-3 006624-79-9	95 80 64
26	14.54	5.11	C:\Database\wiley7n.1 Hexanedioic acid, dioctyl ester (CAS) \$\$ Dioctyl adipate \$\$ DOA \$\$ Adimoll DO \$\$ Di-n-octyl adipate \$\$ Octyl adipate \$\$ Adipic acid dioctyl ester \$\$ Adipic acid, dioctyl ester \$\$ Adimoll DO \$\$ Dioctyl ester hexanedioic acid Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester Di(2-ethylhexyl)adipate	313828 313835 313848	000123-79-5 000103-23-1 000103-23-1	91 91 87
27	15.03	0.80	C:\Database\wiley7n.1 Spiro[cyclopropane-1,2'(1'H)-phenanthrene]-1',4'(3'H)-dione, 3',7',9',10'-tetrakis(acetyloxy)-4'b,5',6',7',8',8'a,9',10'-octahydro-2,4'b	374206	066584-89-2	59

UMUM.M Tue Jun 19 12:49:27 2012

Page: 5

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.1.D
 Acq On : 19 Jun 2012 10:09
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.1 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			,8',8'-tetramethyl-, [2'S-[2'.alph a.(R@),3'.alpha.,4'b.beta.,7'.alph a.,8'a.alpha.,9'.beta.,10'.alpha.]]- \$\$ Spiro[cyclo 7H-Dibenzo[b,g]carbazole, 7-methyl 9-Nitrobenzo[4,5]thieno[2,3-b]quin oxaline	227246	003557-49-1	58
				226672	000000-00-0	53
28	15.34	0.87	C:\Database\wiley7n.1 Silicone grease, Siliconfett 8-Chloro-5H-indeno[1,2-b]quinoline -10,11-dione 3,3,7,11-Tetramethyltricyclo[5.4.0 .0(4,11)]undecan-1-ol	392047 226876 148732	000000-00-0 000000-00-0 000000-00-0	38 25 25
29	15.37	0.75	C:\Database\wiley7n.1 9-(2',2'-Dimethylpropanoilhydrazon o)-3,6-dichloro-2,7-bis-[2-(diethy lamino)-ethoxy]fluorene 1,2-Benzenedicarboxylic acid, diis ooctyl ester \$\$ Diisooctyl phthala te \$\$ Hexaplas M/O \$\$ Isooctyl pht halate 1,2-Benzenedicarboxylic acid, dioc tyl ester (CAS) \$\$ Dioctyl phthala te \$\$ Dinopol NCP \$\$ Polycizer 162 \$\$ n-Octyl phthalate \$\$ Di-n-octy l phthalate \$\$ Dioctyl o-benzenedi carboxylate \$\$ Phthalic acid, dioc tyl ester \$\$ 1,2-Benzenedicarboxic acid, dioctyl es	379688 326920 326895	000000-00-0 027554-26-3 000117-81-0	53 53 53
30	15.55	0.91	C:\Database\wiley7n.1 1-Nonadecene Cyclooctacosane 9-Octadecenoic acid, (E)- \$\$ trans -delta.(sup 9)-Octadecenoic acid \$\$ trans-.delta.9-Octadecenoic aci d \$\$ trans-Octadec-9-enoic acid \$\$ trans-Oleic acid \$\$ trans-9-Octad ecenoic acid \$\$ Elaidic acid	208860 328252 228773	018435-45-5 000297-24-5 000112-79-8	78 52 42
31	16.04	1.31	C:\Database\wiley7n.1 Silane, [(1,3-diphenyl-1-butenyl)tri methyl- Silicone grease, Siliconfett 5-Methylthio-7,8-dihydro-6H-benzoc yclohepta[2,1-e]pyrazolo[1,5-a]pyr imidine \$\$ 6H-Benzo[3,4]cyclohepta [1,2-e]pyrazolo[1,5-a]pyrimidine, 7,8-dihydro-5-(methylthio)- (CAS)	245443 392047 226922	055543-94-7 000000-00-0 128039-58-7	25 18 14
32	16.39	1.50	C:\Database\wiley7n.1			

UMUM.M Tue Jun 19 12:49:27 2012

Page: 6

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.1.D
 Acq On : 19 Jun 2012 10:09
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.1 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			1,2-Benzenediol, 3,5-bis(1,1-dimet hylethyl)-	147843	001020-31-1	35
			1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1-dimet hylethyl)- \$\$ Hydroquinone, 2,5-di -tert-butyl- \$\$ Dibug \$\$ Dybug \$\$ DTEHQ \$\$ Santovar O \$\$ 2,5-Di-tert -butylhydroquinone \$\$ 2,5-di-t-But ylhydroquinone \$\$ 2,5-Di-tert-buty lbenzene-1,4-diol	147847	000088-58-4	25
			N-METHYLDEACETYLCHOLCHICINE \$\$ Benz o[al]heptalen-9(SH)-one, 6,7-dihydr o-1,2,3,10-tetramethoxy-7-(methyla mino)- (S)- (CAS) \$\$ NSC-3096 \$\$ NSC 3096 \$\$ Omain \$\$ Omaine \$\$ Kol kamin \$\$ Colcemid \$\$ Colchamin \$\$ Kolchamin \$\$ Colchamine \$\$ Demecol cine \$\$ Ciba 1266	314423	000477-30-5	25
33	16.57	1.46	C:\Database\wiley7n.1 2-[(2-Thienylmethyl)(deuteroformyl methyl)amino pyridine Hydroxymethapyrilene	161824	000000-00-0	35
			Ethane, 1,1,2-trichloro-	221935	000000-00-0	11
				27516	000079-00-5	10
34	16.78	2.04	C:\Database\wiley7n.1 Silicone grease, Siliconfett	392047	000000-00-0	38
			Ambrox	168604	065588-69-4	25
			Ambrox	168573	100679-85-4	25
35	17.23	1.15	C:\Database\wiley7n.1 4-[(N-Methyl-N-phenylamino)methyl] -6-methylthiocoumarin Boron, diethyl(5-ethyl-4,6-nonaned iiminato-N,N')-, (t-4)- (1H) Pyrrole-2-carboxaldehyde, 5-be nzyloxyacarbonyl-3-(2-methoxycarbon ylethyl)-4-methoxycarbonylmethyl-	243877	000000-00-0	27
				187269	136705-03-8	20
				324799	000000-00-0	20
36	17.67	1.26	C:\Database\wiley7n.1 1,3-dimethyl-4-azaphenanthrene	125886	000000-00-0	45
			8-Chloro-5H-indeno[1,2-b]quinoline	226876	000000-00-0	25
			-10,11-dione	148732	000000-00-0	25
			3,3,7,11-Tetramethyltricyclo[5.4.0 .0(4,11)]undecan-1-ol			
37	17.75	7.51	C:\Database\wiley7n.1 Phenylbutazone di-methyl derivativ bis-(octylphenyl)-amine	273516	000000-00-0	95
				328586	000000-00-0	93
			p,p'-Diocetyldiphenylamine \$\$ Benze name, ar-octyl-N-(octylphenyl)-	328581	026603-23-6	90
38	18.75	1.78	C:\Database\wiley7n.1 phenaleno[3,2-F]quinolin-7-one	227219	000000-00-0	44

UMUM.M Tue Jun 19 12:49:27 2012

Page: 7

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.1.D
 Acq On : 19 Jun 2012 10:09
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.1 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			2-3(3-hydroxybenzo[b]thien-2-yl)-2-(benzo[b]thien-3-yl)-3(2H)-benzo[b]thiophenone	347263	106043-95-2	43
			Terbenzo[b]thiophen-3'-one, 3-hydroxy- (CAS)			
			Silicone grease, Siliconfett	392047	000000-00-0	30
39	19.02	4.13	C:\Database\wiley7n.1 Palladium, [[2,2'-[(1,1-dimethyl-1,2-ethanediyl)bis(nitrilomethylidene)]bis(phenolato)](2-)-N,N',O,O']-, (sp-4-4)-\$\$ Palladium, [[.alpha.,.alpha.'-[(1,1-dimethylethylene)dinitrilo]di-O-cresolato](2-)]-N-Benzyl-N-(1-buten-3-one-1-yl)-N-2-[3-[2-(methylene-2-propionyl)indolethyl]amine]\$\$ 1H-Indole-2-acetic acid, .alpha.-methylene-3-[2-[(3-oxo-1-butenyl)(phenylmethylamino)ethyl]-, methyl ester, (R)- (CAS 8-Bromo-1,4,5,10-tetrahydro-4-methoxy-5,10,10-trimethyl-3,4-bis(trifluoro-methyl)pyrazolo[4,3-c][1]benzazepine\$\$ Pyrazolo[4,3-c][1]benzazepine, 8-bromo-1,4,5,10-tetrahydro-4-methoxy-5,10,10-trimethyl-3,4-bis(trifluoromethyl)- (CAS)	332149	032593-89-8	76
				333766	069118-04-7	74
				361425	086724-06-3	64
40	19.55	1.39	C:\Database\wiley7n.1 2,2-Dimethyl-7-methoxy-4-chromanone Ethylene Dithioketal 8.beta.,12-Epoxy-13,14,15,16,17,19-hexanorlabdane\$\$ Naphtho[2,1-b]furan, dodecahydro-6,9a-dimethyl-, [3aS-(3a.alpha.,5a.alpha.,6.beta.,9a.beta.,9b.alpha.)]- (CAS) Cyclopenteno[4,3-b]tetrahydrofuran, 3-[[4-methyl-5-oxo-3-phenylthio]tetrahydrofuran-2-yloxy]methylene]-	227781	136545-72-7	50
				127829	082079-84-3	42
				304506	000000-00-0	25
41	19.67	2.08	C:\Database\wiley7n.1 meso-bis(1-methoxycarbonyl-5,6,8,10-tetramethylheptalene-2-carboxylic) anhydride rac--bis(1-methoxycarbonyl-5,6,8,10-tetramethylheptalene-2-carboxylic) anhydride\$\$ 1,2-Heptalenedicarboxylic acid, 5,6,8,10-tetramethyl-, bimol.2,2'-monoanhydride, 1,1'-dimethyl ester, (.+.-)- (CAS) (Cyclooctatetraenyl)bis(diphenyl-bis(trimethylsilylimido)phosphinato] (tetrahydrofuran) praseodymium (III)	382593	098078-49-0	2
				382592	098167-89-6	2
				386706	000000-00-0	1

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.1.D
 Acq On : 19 Jun 2012 10:09
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.1 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
I)						
42	21.58	3.36	C:\Database\wiley7n.1			
			23-Ethylcholesta-5,23,28-trien-3.β	337917	085735-29-1	38
			eta.-ol \$\$ Cholesta-5,23-dien-3-ol			
			, 23-ethenyl-, (3.β.,23E)- (CAS			
			Temazepam	249498	000846-50-4	35
			2,4-Hexadienedioic acid, bis(trimethylsilyl) ester, (E,E)-	232722	055517-43-6	35

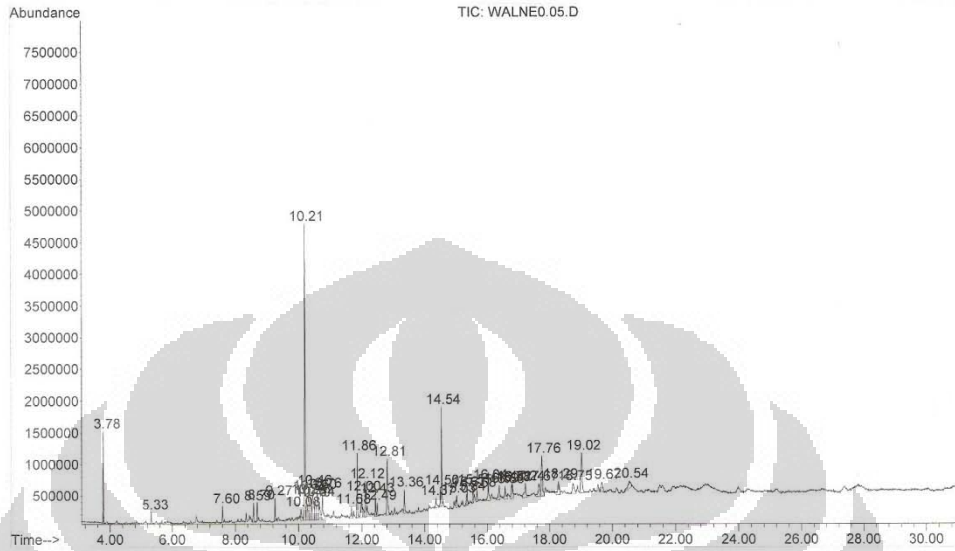


LAMPIRAN G

HASIL PENGUJIAN GC-MS *Chlorella vulgaris* PADA KONSENTRASI

NITRAT 0,050 g/L

File :G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\WALNE0.05.
... D
Operator : PRIMA ANGGRAINI
Instrument : GCMS
Acquired : 19 Jun 2012 9:31 using AcqMethod UMUM.M
Sample Name: WALNE 0.05 g/l
Misc Info : S1 UI



Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNEO.05.D
 Acq On : 19 Jun 2012 9:31
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.05 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	3.79	4.13	C:\Database\wiley7n.1 Cyclotetrasiloxane, octamethyl- (C AS) \$\$ 1,1,3,3,5,5,7,7-OCTAMETHYL- CYCLOOCTASILOXANE \$\$ OCTAMETHYL-(C YCLIC TETRAMER) CYCLOTETRASILOXANE \$\$ Octamethylcyclotetrasiloxane \$ \$ NUC Silicone VS 7207 \$\$ Octameth yl-cyclotetrasiloxane \$\$ Oktamethy lcyclotetrasiloxa Cyclotetrasiloxane, octamethyl- (C AS) \$\$ 1,1,3,3,5,5,7,7-OCTAMETHYL- CYCLOOCTASILOXANE \$\$ OCTAMETHYL-(C YCLIC TETRAMER) CYCLOTETRASILOXANE \$\$ Octamethylcyclotetrasiloxane \$ \$ NUC Silicone VS 7207 \$\$ Octameth yl-cyclotetrasiloxane \$\$ Oktamethy lcyclotetrasiloxa Cyclotetrasiloxane, octamethyl- \$\$ 244214 000556-67-2 64 Octamethylcyclotetrasiloxane \$\$ O ktamethylcyclotetrasiloxan \$\$ NUC Silicone VS 7207	244216	000556-67-2	91
2	5.32	0.65	C:\Database\wiley7n.1 Cyclopentasiloxane, decamethyl- \$\$ 313067 000541-02-6 74 Decamethylcyclopentasiloxane \$\$ D imethylsiloxane pentamer \$\$ Dekame thylcyclopentasiloxan Cyclopentasiloxane, decamethyl- 313066 000541-02-6 74 Silane, [[4-[1,2-bis[(trimethylsil yl)oxy]ethyl]-1,2-phenylene]bis(cx y)]bis[trimethyl- (CAS) \$\$ 3,4-DIH YDROXYPHENYLGLYCOL-TETRAIMS \$\$ DL- 3,4-DIHYDROXYPHENYLGLYCOL (TRIMETH YLSILYL DERIVATIVE) \$\$ Silane, [[4 -[1,2-bis[(trimethylsilyl)oxy]ethy l]-1,2-phenylene]	313067	000541-02-6	74
3	7.61	0.88	C:\Database\wiley7n.1 1-Tridecene (CAS) \$\$ n-Tridec-1-en 90461 002437-56-1 53 e \$\$.alpha.-Tridecene \$\$ 1-C13H26 \$\$ Tridecene-1 \$\$ 2-CYCLOHEXYL-N1 ,N1,N4,N4-TETRAISOBUTYL-3-METHYL-S UCCINAMIDE 1-Hexadecanol (CAS) \$\$ Cetal \$\$ Et 177037 036653-82-4 42 hal \$\$ Ethol \$\$ Cetanol \$\$ Cetylol \$\$ Adol 52 \$\$ Lanol C \$\$ Adol 54 \$\$ Lorol 24 \$\$ Alfol 16 \$\$ Aldol 5 4 \$\$ Atalco C \$\$ Cetaffine \$\$ Loxa nol K \$\$ Adol 52NF \$\$ Elfacos C \$\$ Crodacol C \$\$ Hyfatol 16 \$\$ Cetal ol CA \$\$ Siponol 2,2-DIDEUTERO HEPTADECANAL 193082 056555-01-2 28	90461	002437-56-1	53

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.05.D
 Acq On : 19 Jun 2012 9:31
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.05 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
4	8.59	1.34	C:\Database\wiley7n.1			
			Benzene, 1,4-dichloro-	41694	000106-46-7	27
			Benzene, 1,2-dichloro-	41677	000095-50-1	18
			Benzene, 1,2-dichloro-	41678	000095-50-1	14
5	8.70	1.14	C:\Database\wiley7n.1			
			Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)	124433	005875-45-6	76
			Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)	124440	001138-52-9	76
			Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)	124438	001138-52-9	76
6	9.27	1.26	C:\Database\wiley7n.1			
			Z-8-Hexadecene	152029	000000-00-0	97
			1-Hexadecene	151998	000629-73-2	94
			1-Hexadecene (CAS) \$\$ Cetene \$\$ 1-	152003	000629-73-2	91
			Cetene \$\$ n-Hexadec-1-ene \$\$.alph			
			a.-Hexadecene \$\$ HEXADECENE-1 \$\$ H			
			exadecylene-1			
7	10.09	1.04	C:\Database\wiley7n.1			
			(1E,3E)-1-(2-thenoyl)-1,3-noadiene	164906	126231-55-8	52
			\$\$ 2,4-Decadien-1-one, 1-(2-thien			
			yl)-, (E,E)- (CAS)			
			Bthyl 3-(trifluoromethyl)pyrazole-	126019	000000-00-0	47
			4-carboxylate			
			Silane, dodecyltriethoxy- \$\$ Dodec	282858	018536-91-9	47
			yltriethoxysilane \$\$ n-Dodecyltrie			
			thoxysilane			
8	10.21	15.35	C:\Database\wiley7n.1			
			2H-Pyran-2-one, 5,6-dihydro-6-pent	70852	054814-64-1	43
			yl-			
			Cyclohexane, 1-ethyl-1-methyl-	23206	004926-90-3	43
			2-(N-BUTYL)-3,4,5,6-D4-PYRIDINE	30323	000000-00-0	43
9	10.26	1.85	C:\Database\wiley7n.1			
			Phenol, 4-(1,1,3,3-tetramethylbuty	124445	000140-66-9	64
			l)-			
			2-Acetyl-1-vinylpyrrole	30306	000000-00-0	64
			2.ALPHA.-T-BUTYL-1,2,3,4,4A.BETA.,	130864	069007-61-0	64
			5,6,7,8,8A.BETA.-DECAHYDRONAPHTHAL			
EN-1.BETA.-OL \$\$ 1-Naphthalenol, 2						
			-(1,1-dimethylethyl)decahydro-, (1			
			.alpha.,2.beta.,4a.alpha.,8a.alpha			
			.)- (CAS)			
10	10.32	2.00	C:\Database\wiley7n.1			
			Phenol, nonyl-	144816	025154-52-3	95
			4-Nonylphenol \$\$ Phenol, p-nonyl-	144809	000104-40-5	90
			\$\$ p-Nonylphenol \$\$ 4-n-Nonyl phen			
			ol \$\$ Phenol, 4-nonyl- \$\$ para Non			
			yl phenol			
			4-Nonylphenol	144812	000104-40-5	81

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.05.D
 Acq On : 19 Jun 2012 9:31
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.05 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
11	10.37	2.15	C:\Database\wiley7n.1 NONYLPHENOL ISOMER 4-Nonylphenol Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- - (CAS) \$\$ Carvacrol \$\$ 2-HYDROXY- 4-ISOPROPYL-1-METHYLBENZENE \$\$ TOL UOL, 2-HYDROXY-4-ISOPROPYL- \$\$ Ant ioxine \$\$ Isothymol \$\$ Karvakrol \$ \$ p-Cymen-2-ol \$\$ 2-Hydroxy-p-cyme ne \$\$ 2-Methyl-5-isopropylphenol \$ \$ 5-Isopropyl-2-m	144822 144811 46695	025154-52-3 000104-40-5 000499-75-2	90 72 52
12	10.40	1.54	C:\Database\wiley7n.1 Benzothiazole, 2-butyl- (CAS) \$\$ 2 -n-butylbenzothiazole \$\$ 2-Butylbe nzothiazole NONYLPHENOL ISOMER Phenol, 2-methyl-4-(1,1,3,3-tetram ethylbutyl)- \$\$ 4-tert-Octyl-o-Cre sol \$\$ o-Cresol, 4-(1,1,3,3-tetram ethylbutyl)- \$\$ 2-Methyl-4-tert-oc tylphenol \$\$ 4-(1,1,3,3-Tetramethy lbutyl)-o-cresol	101594 144820 144827	054798-95-7 025154-52-3 002219-84-3	64 43 25
13	10.45	3.51	C:\Database\wiley7n.1 1,3-di-n-Propyladamantane Formamide, N-(p-methoxy-trans-styr yl)- \$\$ Tuberin 1,2-Benzenedicarboxylic acid, 4-me thyl-, dimethyl ester (CAS) \$\$ Pht halic acid, 4-methyl-, dimethyl es ter \$\$ Dimethyl 4-methyl-1,2-benze nedicarboxylate	145433 82097 126503	000000-00-0 002501-37-3 020116-65-8	72 72 59
14	10.54	2.16	C:\Database\wiley7n.1 2-Methyl-4-hydroxybenzoxazole Acetamide, N-(4-methylphenyl)- 3-(thiophen-2-yl)-5-cyano-4,5-dihy dropyrazole	45090 45189 45118	000000-00-0 000103-89-9 000000-00-0	52 52 47
15	10.60	2.89	C:\Database\wiley7n.1 Phenol, 4-(1,1,3,3-tetramethylbuty l)- 2-Acetyl-1-vinylpyrrole Phenol, 4-(1,1-dimethylpropyl)-	124444 30306 65010	000140-66-9 000000-00-0 000080-46-6	72 72 64
16	10.76	2.88	C:\Database\wiley7n.1 Bacteriochlorophyll-c-stearyl 1-Octadecene 5-Ricosene, (E)-	390640 190568 226374	000000-00-0 000112-88-9 074685-30-6	94 91 91
17	11.68	0.93	C:\Database\wiley7n.1 Tetratriacontane \$\$ n-Tetratriacon	363627	014167-59-0	46

UMUM.M Tue Jun 19 12:42:49 2012

Page: 3

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNEO.05.D
 Acq On : 19 Jun 2012 9:31
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.05 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			tane			
			Pentadecanoic acid, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl pentadecanoate \$\$ PENTADECANOIC ACID-METHYL ESTER \$\$ Methyl n-pentadecanoate \$\$ Pentadecanoic acid methyl ester \$\$ Methyl 2-ethyltridecanoate \$\$ methyl pentadecanoate \$\$ n-Pentadecanoic acid methyl ester	195447	007132-64-1	43
			Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl palmitate \$\$ Methyl hexadecanoate \$\$ Methyl n-hexadecanoate \$\$ Uniphat A60 \$\$ Metholene 2216 \$\$ Palmitic acid methyl ester \$\$ Palmitic acid, methyl ester \$\$ n-Hexadecanoic acid methyl ester \$\$ PALMITIC ACID-	213905	000112-39-0	42
18	11.86	3.52	C:\Database\wiley7n.1 METHYL-3-(3,5-DITERTBUTYL-4-HYDROXYPHENYL) PROPRIONATE \$\$ Methyl ester of 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-propionic acid \$\$ Methyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate	240653	000000-00-0	97
			Methyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate	240652	000000-00-0	91
			4-Methoxybenzene, 1-(2-hydroxynaphthylmethylamino)-	222240	000000-00-0	90
19	11.99	2.09	C:\Database\wiley7n.1 Dibutyl phthalate	223236	000084-74-2	76
			N-(.alpha.-Methylbenzyl)+formamide	45301	006948-01-2	64
			\$\$ Formamide, N-(1-phenylethyl)-	223233	000084-74-2	64
20	12.12	2.70	C:\Database\wiley7n.1 BICYCLO[3.3.1]NON-1-OL-3-ONE \$\$ 1-Hydroxybicyclo[3.3.1]nonan-3-one	52168	020498-02-6	52
			Isodavanone \$\$ 4-Hepten-3-one, 2-(5-ethenyltetrahydro-5-methyl-2-furanyl)-6-methyl-, [2.alpha.(E),5.alpha.]-(+)- (CAS)	163034	054927-85-4	52
			Triallylmethylsilane	67961	001112-91-0	50
21	12.44	1.13	C:\Database\wiley7n.1 Drim-8-en-7-one \$\$ 2(1H)-Naphthalene, 4a,5,6,7,8,8a-hexahydro-3,4,4a,8,8-pentamethyl-, (4aS-trans)-(CAS)	144961	055733-01-2	43
			1H-Pyrrole-2,5-dione, 1-(hydroxymethyl)-	23444	005063-96-7	43
			1,2,5-Oxadiborolane, 2,3,3,4,5-pent	127211	139688-18-9	43

UMUM.M Tue Jun 19 12:42:49 2012

Page: 4

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.05.D
 Acq On : 19 Jun 2012 9:31
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.05 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			taethyl-			
22	12.49	0.75	C:\Database\wiley7n.1 (4aS,10aS,10bR)-7,7,10a-trimethyl- trans-perhydronaphtho[2,1-c]pyran O-Butyl,O-1,2,2-trimethylpropyl me thylphosphonate 3-Decen-5-one, 2-methyl- (CAS)	168587 167053 71114	000000-00-0 000000-00-0 032064-75-8	49 47 47
23	12.81	4.07	C:\Database\wiley7n.1 N-Carbomethoxyindoline-4-carboxald ehyde 5,6-Dimethyl-2-(1(trimethylsilyl)pr open-2-yl)pyrazine 5,9-Methanobenzocycloocten-4(1H)-o ne, 2,3,5,6,7,8,9,10-octahydro-5-h ydroxy-2,2,7,7,9-pentamethyl- \$\$ D iisophorone \$\$ Isophorone dimer	122341 143955 221324	069875-41-2 000000-00-0 006244-16-2	43 41 38
24	13.36	1.78	C:\Database\wiley7n.1 1-Heptadecene 1-Nonadecene Bacteriochlorophyll c-stearyl	171777 208860 390610	006765-39-5 018435-45-5 000000-00-0	90 87 50
25	14.37	1.00	C:\Database\wiley7n.1 3,6-DIMETHYL-3-(PHENYLTHIO)HEPTAN- 2-ONE \$\$ 2-Heptanone, 3,6-dimethyl -3-(phenylthio)- (CAS) 3,4,3',4'-Tetrahydro-1,2,1',2'-t etrahydro-2,2'-bis(3"-hydroxy-3"-m ethylbutyl)-.psi.,.psi.-carotene-1 ,1'-diol 2H-3,9a-Methano-1-benzoxepin, octa hydro-2,2,5a,9-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,7a.alpha.,9.alpha.,9a.alp ha.)]- (CAS) \$\$ Dihydro-.beta.-aga rofuran \$\$.beta.-Agarofuran, dihy dro- \$\$ 2H-3,9a-Methano-1-benzoxep in, octahydro-2,2,5a,9-tetramethyl - \$\$.beta.-Dihyd	186954 388938 148489	063996-43-0 000000-00-0 005956-09-2	9 9 7
26	14.50	0.98	C:\Database\wiley7n.1 1-Heptadecene Cyclotetracosane 1-Eicosanol	171777 287054 248010	006765-39-5 000297-03-0 000629-96-9	91 91 91
27	14.54	4.85	C:\Database\wiley7n.1 Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester Di(2-ethylhexyl)adipate Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester \$\$ Adipic acid, bis(2-ethy lhexyl) ester \$\$ Adipol 2EH \$\$ Bis	313835 313848 313836	000103-23-1 000103-23-1 000103-23-1	90 87 86

UMUM.M Tue Jun 19 12:42:49 2012

Page: 5

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNEG.05.D
 Acq On : 19 Jun 2012 9:31
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.05 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			(2-ethylhexyl) adipate \$\$ Bisoflex DOA \$\$ Di(2-ethylhexyl) adipate \$ \$ Dioctyl adipate \$\$ DOA \$\$ Effomo 11 DOA \$\$ Flexol A 26 \$\$ Kodaflex DOA \$\$ Monoplex D			
28	15.03	1.04	C:\Database\wiley7n.1 5,6-Dihydro(1,3-dimethyl-2,4-dioxo)pyrimido[5,6-a]benzo[g]indolizine 2-amino-3-carbomethoxy-6-(3-indolyl) pyridine Cyclotetrasiloxane, octamethyl- (C AS) \$\$ 1,1,3,3,5,5,7,7-OCTAMETHYL- CYCLOOCTASILOXANE \$\$ OCTAMETHYL- (C YCLIC (TETRAMER) CYCLOTETRASILOXANE \$\$ Octamethylcyclotetrasiloxane \$ \$ NUC Silicone VS 7207 \$\$ Octameth yl-cyclotetrasiloxane \$\$ Oktamethy lcyclotetrasiloxa	226916 226903 244219	000000-00-0 000000-00-0 000556-67-2	53 53 53
29	15.34	0.69	C:\Database\wiley7n.1 1,2-Dihydroanthra[1,2-d]thiazole-2 ,6,11-trione Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene- 1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester) a,a'-dipyridyl \$\$ IRON, (2,2'-BI PYRIDINE-N,N') CARBONYL[(2,3,4,5-E TA.)-DIETHYL 2,4-HEXADIENEDIATE \$ \$ SILIKONFETT SE30 (GREVELS) 5H-Naphtho[2,3-c]carbazole, 5-meth yl-	226768 350342 227245	000000-00-0 109007-87-6 100025-44-3	44 38 25
30	15.37	0.96	C:\Database\wiley7n.1 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS) \$\$ Bis(2 -ethylhexyl) phthalate \$\$ DOP \$\$ D EHP \$\$ DOF \$\$ DNOP \$\$ Octoil \$\$ Fl eximel \$\$ Sicol 150 \$\$ Eviplast 81 \$\$ Staflex DOP \$\$ Eviplast 80 \$\$ VestinolAH \$\$ Truflex DOP \$\$ Bisof lex81 \$\$ Witcizer 1,2-Benzenedicarboxylic acid, diis ooctyl ester \$\$ Diisooctyl phthala te \$\$ Hexaplas M/O \$\$ Isooctyl pht halate Bis(oct-3-yl) phthalate	326911 326920 326938	000117-81-7 027554-26-3 000000-00-0	72 64 59
31	15.55	1.01	C:\Database\wiley7n.1 Muco-inositol tri-methaneboronate Cyclotriacontane 5-Methyl-2-5-docosene	188802 343173 273784	000000-00-0 000297-35-8 000000-00-0	62 58 55
32	15.68	0.80	C:\Database\wiley7n.1			

UMUM.M Tue Jun 19 12:42:49 2012

Page: 6

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.05.D
 Acq On : 19 Jun 2012 9:31
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.05 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1-dimethyl-ethyl)- Hydroquinone, 2,5-di-tert-butyl- Dibug Dybug DTBHQ Santovar 2,5-Di-tert-butylhydroquinone 2,5-di-tert-butylhydroquinone 2,5-Di-tert-butylbenzene-1,4-diol	147847	000088-58-4	45
			N-Methyl-1-adamantaneacetamide	125790	000000-00-0	25
			Ambrox	168604	065588-69-4	25
33	16.04	1.90	C:\Database\wiley7n.1 Chromone, 6-hydroxy-2-methyl-5-nitro- ro- Chromone, 6-hydroxy-2-methyl-5-nitro- ro- (CAS) 5-NITRO-6-HYDROXY-2-METHYLCHROMONE N-Methyl-1-adamantaneacetamide	145617	030095-72-8	25
				145616	030095-72-8	25
				125790	000000-00-0	25
34	16.39	1.60	C:\Database\wiley7n.1 2,2-Dimethyl-7-ethoxy-4-chromanone Ethylene Dithioacetal 9-[2',3'-bis(Diethylamino)cyclopropylidene]cycloheptane-1,3,5,7-tetraene Benzene, 2-[(tert-butyl(dimethylsilyloxy)-1-isopropyl-4-methyl-	244610	136545-73-8	30
				245658	000000-00-0	25
				205745	000000-00-0	25
35	16.57	1.37	C:\Database\wiley7n.1 1-heneicosene (CAS) 1-Nonadecene Decane, 5,6-bis(2,2-dimethylpropylidene)-, (Z,Z)-	243339	001599-68-4	46
				208860	018435-45-5	46
				224008	073002-85-4	45
36	16.78	1.12	C:\Database\wiley7n.1 phenalenone[2,3-g]quinolin-7-one 2(1H)-Quinolinone, 4-phenyl- 8-Chloro-5H-indeno[1,2-b]quinoline-10,11-dione	227220	000000-00-0	41
				146271	005855-57-2	25
				226876	000000-00-0	25
37	16.81	1.12	C:\Database\wiley7n.1 2,6,10,14,18-Pentamethyl-2,6,10,14,18-eicosapentaene 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)- All-trans-Squalene trans-Squalene Spinacene Spinacene Squalene Supraene 2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene 2,6,10,15,19,23-H Squalene	292290	075581-03-2	78
				337966	000111-02-4	56
				337960	007683-64-9	56
38	17.23	2.06	C:\Database\wiley7n.1			

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
 Data File : WALNE0.05.D
 Acq On : 19 Jun 2012 9:31
 Operator : PRIMA ANGGRAINI
 Sample : WALNE 0.05 g/l
 Misc : S1 UI
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			1,3-Dimethyl-4-azaphenanthrene	125886	000000-00-0	25
			2,3-Dimethyl-4-azaphenanthrene	125887	000000-00-0	25
			(E)-2-hydroxy-4'-cyano-stilbene \$\$	146273	110983-39-6	25
			(E)-2-Hydroxy-4'-cyano-stilbene \$\$			
			Benzonitrile, 4-[2-(2-hydroxyphenyl)ethenyl]-, (E)- (CAS)			
39	17.67	2.03	C:\Database\wiley7n.1			
			5,6,8,9-TETRAMETHOXY-2-METHYLPEPER	302480	074199-94-3	64
			O(3,4,5-JK)-9,10-DIHYDROPHENANTHRA			
			CENE \$\$ 4H-Dibenz[de,g]isoquinolin			
			e, 5,6,6a,7-tetrahydro-1,2,9,10-te			
			tramethoxy-5-methyl- (CAS)			
			Silicone grease, Siliconfett	392047	000000-00-0	43
			phenaleno[3,2-h]quinolin-13-one	227218	000000-00-0	35
40	17.75	4.27	C:\Database\wiley7n.1			
			Phenylbutazone di-methyl derivativ	273516	009000-00-0	98
			p,p'-Dioctyldiphenylamine \$\$ Benze	328581	026603-23-6	95
			namine, ar-octyl-N-(octylphenyl)-			
			bis-(octylphenyl)-amine	328586	000000-00-0	93
41	18.28	1.85	C:\Database\wiley7n.1			
			Benzene, 2-[(tert-butyl)dimethylsil	205745	000000-00-0	45
			yl)oxy]-1-isopropyl-4-methyl-			
			1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1-dimet	147847	000088-58-4	35
			hylethyl)- \$\$ Hydroquinone, 2,5-di			
			-tert-butyl- \$\$ Dibug \$\$ Dybug \$\$			
			DTBHQ \$\$ Santovar O \$\$ 2,5-Di-tert			
			-butylhydroquinone \$\$ 2,5-di-t-But			
			ylhydroquinone \$\$ 2,5-Di-tert-buty			
			lbenzene-1,4-diol			
			Silicone grease, Siliconfett	392047	000000-00-0	30
42	18.75	1.82	C:\Database\wiley7n.1			
			Silicone grease, Siliconfett	392047	000000-00-0	22
			2',4'-DIMETHYLOXANILIC ACID N'-VER	302366	000000-00-0	7
			ATRYLIDENEHYDRAZIDE			
			5,6,8,9-TETRAMETHOXY-2-METHYLPEPER	302480	074199-94-3	4
			O(3,4,5-JK)-9,10-DIHYDROPHENANTHRA			
			CENE \$\$ 4H-Dibenz[de,g]isoquinolin			
			e, 5,6,6a,7-tetrahydro-1,2,9,10-te			
			tramethoxy-5-methyl- (CAS)			
43	19.703	4.35	C:\Database\wiley7n.1			
			Palladium, [(2,2'-[(1,1-dimethyl-1	332149	032593-89-8	76
			,2-ethanediyl)bis(nitrilomethylidy			
			ne)]bis(phenolato)](2-)-N,N',O,O']			
			-7-(sp-4-4)- \$\$ Palladium, [(1.alpha			
			a., alpha.'-[(1,1-dimethylethylene			
)dinitrilo]di-O-cresolato](2-)]-			
			8-Bromo-1,4,5,10-tetrahydro-4-meth	361425	086724-06-3	59
			oxy-5,10,10-trimethyl-3,4-bis(trif			

UMUM.M Tue Jun 19 12:42:49 2012

Page: 8

Library Search Report

Data Path : G:\DATA INJEK 2012\MAHASISWA\S1 UI\PRIMA ANGGRAINI\
Data File : WALNE0.05.D
Acq On : 19 Jun 2012 9:31
Operator : PRIMA ANGGRAINI
Sample : WALNE 0.05 g/l
Misc : S1 UI
ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
Integration Events: Chemstation Integrator - events.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			luoro-methyl)pyrazolo[4,3-c][1]ben zazepine \$\$ Pyrazolo[4,3-c][1]benz azepine, 8-bromo-1,4,5,10-tetrahyd ro-4-methoxy-5,10,10-trimethyl-3,4 -bis(trifl uoromethyl)- (CAS) 4,4'-Diphenoxy-diphenylsulfon	333639	000000-00-0	42
44	19.67	1.57	C:\Database\wiley7n.1 Silane, trimethyl[5-methyl-2-(1-me thylethyl)phenoxy]- Silicone grease, Siliconfett	147737 392047	055012-80-1 000000-00-0	38 38
			1,2,3-trimethyl-4-azaphenanthrene	146316	000000-00-0	35
45	20.54	1.88	C:\Database\wiley7n.1 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1-dimet hylethyl)- \$\$ Hydroquinone, 2,5-di -tert-butyl- \$\$ Dibug \$\$ Dybug \$\$ DTBHQ \$\$ Santovar O \$\$ 2,5-Di-tert -butylhydroquinone \$\$ 2,5-di-t-But ylhydroquinone \$\$ 2,5-Di-tert-buty lbenzene-1,4-diol N-Methyl-1-adamantaneacetamide 9-epi-19-norambrox	147847 125790 148645	000088-58-4 000000-00-0 105561-24-8	35 35 35