



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**EFEK PENCAHAYAAN TERHADAP PRODUKSI BIOMASSA  
*Nannochloropsis sp.* PADA REAKTOR PELAT DATAR**

**SKRIPSI**

**INGRID CLAUDIA ELIANNE INTHE  
0806460502**

**FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI BIOPROSES  
DEPOK  
JUNI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**EFEK PENCAHAYAAN TERHADAP PRODUKSI BIOMASSA  
*Nannochloropsis sp.* PADA REAKTOR PELAT DATAR**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Teknik**

**INGRID CLAUDIA ELIANNE INTHE  
0806460502**

**FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI BIOPROSES  
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 : Ingrid Claudia Elianne Inthe**

**NPM : 0806460502**

**Tanda Tangan : **

**Tanggal : 13 Juni 2012**

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Ingrid Claudia Elianne Inthe  
NPM : 080460502  
Program Studi : Teknologi Bioproses  
Judul Skripsi : Efek Pencahayaan Terhadap Produksi Biomassa  
*Nannochloropsis Sp.* Pada Reaktor Pelat Datar

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

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Ir. Diamursati, MT  
Penguji : Prof. Dr. Ir. Anondho Wijanarko, DEA  
Penguji : Dr. Muhammad Subhan, S.Si., M.Eng  
Penguji : Prof. Dr. Ir. M. Nasikin, M.Eng



Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 22 Juni 2012

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus karena atas kasih karunia-Nyalah, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. *“Bagi Dialah, yang dapat melakukan jauh lebih banyak dari pada yang kita doakan atau pikirkan, seperti yang ternyata dari kuasa yang bekerja di dalam kita, bagi Dialah kemuliaan...turun-temurun sampai selama-lamanya. Amin.”*

Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknik pada Jurusan Teknologi Bioproses Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis hendak mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Prof. Dr. Ir. Widodo Wahyu P, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI; Dr. Heri Hermansyah S.T., M.Eng selaku Ketua Jurusan Program Studi Teknologi Bioproses UI, serta Ir. Yuliusman M.Eng selaku Koordinator Mata Kuliah Spesial Skripsi atas pengarahan selama masa penyelesaian skripsi ini.
- (2) Ir. Dianursanti, MT. selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini;
- (3) Ibu Sri Amini (BKP Slipi) atas segala masukan dan pengarahannya yang sangat berguna dan membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian yang dilakukan.
- (4) Orang tua dan seluruh keluarga besar penulis yang terkasih yang telah memberikan dukungan yang sangat berarti baik berupa material, moral dan spiritual yang tak ternilai harganya;
- (5) Kak Chakrita, Resiana Winata & Vania untuk setiap doa, Firman dan kasih sayang yang dibagikan selama kebersamaan kita di kelompok kecil. Juga untuk Albert, Beto, Dio dan Elsson yang memberi limpahan sukacita yang luar biasa kepada penulis selama 2 tahun terakhir ini, *“..kamu senantiasa taat; karena itu tetaplah kerjakan keselamatanmu dengan takut dan gentar, bukan saja seperti waktu aku masih hadir, tetapi terlebih pula sekarang waktu aku tidak hadir, karena Allahlah yang mengerjakan di dalam kamu baik kemauan maupun pekerjaan menurut kerelaan-Nya.”*
- (6) Kristina, Franz dan Taher untuk setiap suntikan semangat dan pembelajaran yang datang bersama kalian selama 2.5 tahun yang tak terlupakan ini. Juga untuk Vicki, Yanika, Moses, Hade, Dovan, Griesch, Connie, Laras, Sahala, Titin, Gary, Dhika,

Crisman, Andong, Khristian, Krisman, Timoth, William, Hendra, Ema, Vincent, Jessica, Hottie, Mona, Friska, Arta dan Sam serta Gaby, Hilda dan Nir untuk segala tawa, tangis, keceriaan, doa dan kebersamaan selama ini.

- (7) Kak Tarida, Kak Eric, Kak Jevon, Kak Vera, Kak Togi dan Kak Ito untuk segala dukungan, teladan dan pengertiannya yang sangat berharga selama penulis sibuk berskripsi ria;
- (8) Teman-teman Tim Inti Fakultas dan PH periode 2011 yang terkasih, untuk setiap doa, kehangatan, keributan, kesatuan dan kedewasaan yang datang bersama kalian selama masa-masa kebersamaan itu.
- (9) Chia, Gesti, Prima, Dimas, Ernest, Nikmat dan Bang Yoga sebagai rekan-rekan seperjuangan 'alga' dan teman-teman Bioproses dan tekim angkatan 2008 yang telah jatuh bangun bersama dan saling menyemangati selama satu semester ini;
- (10) Sesosok pribadi yang datang membawa inspirasi, motivasi, perhatian, dan kesaksian yang indah di hari-hari terakhir perjalanan penulis sebagai mahasiswa. Terima kasih karena sudah hadir di saat-saat terendah itu, ketika penulis hampir kehilangan harapan. *"Lingkarannya berbeda dengan punyaku, kupikir banyak yang bisa kulakukan. Mungkin aku bisa membuat lingkarannya semakin indah dan baik. Tapi salah, sejauh ini malah kau yang membuat lingkarannya lebih indah."*
- (11) Pihak-pihak yang tak mungkin penulis sebutkan satu persatu dalam menebarkan semangat dan iklim yang kondusif.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Kuasa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Depok, 13 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 : Ingrid Claudia Elianne Inthe  
NPM : 0806460502  
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 Pencahayaan Terhadap Produksi Biomassa *Nannochloropsis Sp.* Pada Reaktor Pelat Datar**

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari 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 : 13 Juni 2012

Yang menyatakan



(Ingrid Claudia Elianne Inthe)

## ABSTRAK

Nama : Ingrid Claudia Elianne Inthe  
Program Studi : Teknologi Bioproses  
Judul : Efek Pencahayaan Terhadap Produksi Biomassa *Nannochloropsis*  
*sp.* Pada Reaktor Pelat Datar

*Nannochloropsis sp.* merupakan salah satu jenis mikroalga yang banyak mengandung nutrisi. Dengan demikian *Nannochloropsis sp.* sebenarnya mempunyai potensi yang besar dan menjanjikan sebagai sumber nutrisi pangan dan bahan baku biomedis. Pada penelitian ini akan dilakukan teknik untuk meningkatkan produksi biomassa mikroalga *Nannochloropsis sp.* dengan pengaturan pencahayaan yaitu mencari  $I_{\mu max, opt}$  dari beberapa inokulum dilanjutkan dengan perlakuan alterasi pencahayaan. Kultivasi *Nannochloropsis sp.* dilakukan dalam medium *walne* pada temperatur 29°C, tekanan operasi 1 atm, sumber pencahayaan lampu 20W/12V/50Hz, dan konsentrasi CO<sub>2</sub> 5 %. Hasilnya menunjukkan bahwa alterasi mampu meningkatkan kemampuan produksi biomassa sampai 1.22 kali lipat lebih tinggi dibandingkan pencahayaan pada intensitas tetap dengan jumlah inokulum yang sama serta masa kultivasi yang lebih singkat (204 jam) dan energi untuk produksi biomassa ( $E_x$ ) yang lebih efisien (793,75 kJ/g). Selain itu, pada perlakuan alterasi juga didapatkan nilai rata-rata  $q_{CO_2}$  lebih besar 1.08 kali lipat (37,69 g/gsel.jam), nilai CTR (*Carbon Transfer Rate*) lebih besar 2.03 kali lipat (25,55 g/L.jam) dan konsentrasi [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] lebih besar 1.11 kali lipat (0.0245 M) dibanding pencahayaan pada intensitas tetap. Mikroalga yang dikultivasi pada alterasi pencahayaan juga memiliki kadar lipid lebih tinggi yaitu (39.6%). Pencahayaan yang kuat secara tidak langsung memang dapat mempengaruhi akumulasi lemak jika dikombinasikan dengan tekanan lain atau keberadaan CO<sub>2</sub> berlebih.

*Keyword: Nannochloropsis sp.*, pengaturan pencahayaan., biomassa

## ABSTRACT

Name : Ingrid Claudia Elianne Inthe  
Study Program : Bioprocess Technology  
Title : Lighting Effects on Biomass Production of  
*Nannochloropsis sp.* in Plat-type Reactor

*Nannochloropsis sp.* has a great potential and promising as a nutritional source of food and biomedical materials in consideration of it contain many nutrients. On the other hand, environmental factors affecting growth rates and gains in the cultivation of cells also have an impact on levels of lipids and oils and its composition in *Nannochloropsis sp.* One of the influential factors is lighting. Based on these facts, then on this study will be conducted a techniques to increase biomass production of microalgae *Nannochloropsis sp.* by the lighting setting that are tailored to the growth. Lighting arrangement is done by finding  $I_{\mu_{max,opt}}$  from several inoculum followed by the alteration lighting treatment which is expected could reduce the self-shading effect that occurs in cultured microalgae in a photobioreactor, in order to obtain optimal growth rate and increased the biomass production of *Nannochloropsis sp.* Alteration of lighting treatment on the cultivation of *Nannochloropsis sp.* in the *walne* medium on 29 °C temperature operating conditions, operating pressure of 1 atm, lighting sources 20W/12V/50Hz, and 5% CO<sub>2</sub> concentration was successful in increasing biomass production capability up to 1:22-fold higher than in continuous illumination with the same amount of inoculum and a shorter cultivation period (204 hours) and for the production of biomass energy (Ex) is more efficient (793748.66 J/g). In addition, the alteration treatment is also found CO<sub>2</sub> fixation and cell activity fold higher compared with continuous illumination at  $I_{\mu_{max,opt}}$  it with the same amount of inoculum. As shown by the average value of alterations qco<sub>2</sub> and CTR on each lightingfold larger 1:08 and 2:03 times as well as the concentration of [HCO<sub>3</sub>-] 1:11-fold higher (0.0245 M). Microalgae are cultivated on the alteration of lighting also has a higher lipid content (39.6%) compared lipid levels in continuous light. Strong lighting is able to indirectly affect the accumulation of fat when combined with other pressures, or the presence of excess CO<sub>2</sub>.

Key words: *Nannochloropsis sp.*, lighting setting, omega-3

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vii
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Batasan Masalah.....	5
1.5. Sistematika Penulisan.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1. Mikroalga .....	7
2.1.1 <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	9
2.1.2 Pertumbuhan dan Perkembangan Sel <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	11
2.1.3 Manfaat <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	14
2.2. Fotosintesis Mikroalga Hijau .....	15
2.2.1 Reaksi Fotosintesis.....	17
2.2.2 Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Fotosintesis .....	21
2.3.1 Jenis Medium .....	22
2.3.2 Pencahayaan.....	24
2.3.3 Kondisi Operasi.....	25
2.3.4 Agitasi .....	27
2.3.5 Kontaminasi .....	27
2.3.6 Pre-culture .....	28
2.4. Sistem Kultivasi Mikroalga.....	28
2.4.1 Kultivasi sistem Terbuka .....	28
2.4.2 Kultivasi Sistem Tertutup .....	29
2.5. Lipid .....	32
2.5.1 Lipid dan Asam Lemak Pada Mikroalga <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	33
2.5.2 Biosintesis Asam Lemak pada Mikroalga <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	36
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	40
3.1. Diagram Alir Penelitian .....	40
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	41
3.3. Variabel Penelitian.....	42
3.4. Prosedur Penelitian.....	42
3.4.1. Pembuatan Rangkaian Peralatan .....	42
3.4.2. Sterilisasi Alat .....	43
3.4.3. Pembuatan Medium <i>Walne</i> .....	44
3.4.4. Pemiakan Kultur Murni <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	45

3.4.5. Penentuan Jumlah Inokulum <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	45
3.4.6. Pembuatan Kurva Kalibrasi OD vs X dan OD vs $N_{sel}$ .....	47
3.4.7. <i>Running</i> Fotobioreaktor .....	47
3.4.8. Pengambilan Data .....	49
3.4.9. Pengujian Kandungan Lipid.....	50
3.5. Metode Perhitungan Hasil Data Observasi .....	51
3.5.1. Perhitungan $\mu$ ( <i>Monod, 1949</i> ) .....	51
3.5.2. Perhitungan X .....	51
3.5.3. Perhitungan $[HCO_3^-]$ ( <i>Wijanarko, 2004</i> ). .....	51
3.5.4. Perhitungan CTR dan $q_{CO_2}$ ( <i>Wijanarko, 2003</i> ).....	52
3.5.5 Perhitungan $E_x$ dan $\eta$ ( <i>Hirata, 1996</i> ) .....	53
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	55
4.1 Penentuan Intensitas Cahaya yang Memberikan Laju Pertumbuhan Spesifik Maksimum ( $I_{\mu_{max,opt}}$ ) pada Inokulum tertentu .....	55
4.2 Pengaruh Alterasi Pencahayaan terhadap Produksi Biomassa (X) <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	58
4.3. Pengaruh Pengaturan Pencahayaan terhadap Akumulasi Lipid <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	65
BAB 5 KESIMPULAN.....	70
DAFTAR PUSTAKA .....	71
LAMPIRAN.....	71

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. <i>Nannochloropsis sp.</i> ( $1\mu\text{m}=0.001\text{ mm}$ ) .....	10
Gambar 2.2. Electron Micrograph Sel <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	11
Gambar 2.3. Kurva pertumbuhan mikroalga <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	12
Gambar 2.4. Skema Reaksi Fotosintesis .....	16
Gambar 2.5. Reaksi Terang Fotosintesis.....	19
Gambar 2.6. Siklus Calvin .....	21
Gambar 2.7. Tambak Terbuka (open ponds) Pembiakan Alga .....	29
Gambar 2.8. Beberapa Jenis Fotobioreaktor Skala Laboratorium .....	32
Gambar 2.9. Struktur Senyawa EPA dan DHA .....	36
Gambar 2.10. Dua Jalur Untuk Biosintesis Asam Lemak Eicosapentaenoat pada spesies <i>Eustigmatophytes</i> .....	37
Gambar 2.11. Perbandingan Jalur Aerobik Untuk Biosintesis DHA pada Mamalia Dan Ganggang.....	38
Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian .....	40
Gambar 3.2. Skema Perancangan Fotobioreaktor untuk Kultivasi <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	48
Gambar 4.1. Hubungan Intensitas Cahaya ( $I$ ) dengan Laju Pertumbuhan Maksimum ( $\mu_{max}$ ) <i>Nannochloropsis Sp.</i> Pada Variasi Jumlah Inokulum ( $N_0$ ) .....	58
Gambar 4.2. Nilai $I_{\mu_{max,opt}}$ pada Berbagai Berat Kering Sel ( $X$ ).....	59
Gambar 4.3. Grafik Pengaruh Kondisi Pencahayaan terhadap Produksi Biomassa (A: Alterasi Pencahayaan; B: Kontinu 3000 lx).....	60
Gambar 4.4. Grafik Pengaruh Kondisi Pencahayaan terhadap Kemampuan Fiksasi $\text{CO}_2$ (A: Alterasi Pencahayaan; B: Kontinu 3000 lx).....	62
Gambar 4.5. Grafik Pengaruh Kondisi Pencahayaan terhadap $[\text{HCO}_3^-]$ pada kultur (A: Alterasi Pencahayaan; B: Kontinu 3000 lx) .....	64
Gambar 4.6. Grafik Plot $I_1$ Dan $I_1$ Pada Tiap Kondisi Pencahayaan (A: Alterasi Pencahayaan; B: Kontinu 3000 lx) .....	65
Gambar 4.7. Grafik Variasi Pencahayaan terhadap Kandungan Lipid <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	67

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Komposisi Kimia Mikroalga .....	2
Tabel 1.2.	<i>State of The Art</i> Penelitian tentang Efek Pencahayaan terhadap Biomassa Mikroalga .....	4
Tabel 2.1.	Komposisi Komposisi Medium pembiakan <i>Nannochloropsis sp.</i> ..	23
Tabel 2.2.	Karakteristik Beberapa Jenis Fotobioreaktor .....	32
Tabel 2.3.	Komposisi Asam Lemak pada Beberapa Spesies Mikroalga .....	35
Tabel 3.1.	Bahan Medium <i>Walne</i> .....	44
Tabel 4.1.	Nilai berat kering sel akhir ( $X_f$ ) untuk tiap pencahayaan.....	61
Tabel 4.2.	Nilai $E_x$ Dan $\eta_{bp}$ Yang Diperoleh Pada Penelitian .....	66
Tabel 4.3.	Komposisi Kandungan Senyawa Pada Hasil Kultivasi Mikroalga <i>Nannochloropsis sp.</i> .....	68

## DAFTAR NOTASI

$\varepsilon$	Gas holdup
E	Energi cahaya yang tersedia dalam kultivasi (J/kg)
Ex	Energi cahaya yang dimanfaatkan mikro alga untuk pertumbuhan (J/kg)
[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ]	Konsentrasi bikarbonat dalam medium kultur (M)
I	Intensitas cahaya (W/m <sup>2</sup> )
I <sub>i</sub> dan I <sub>t</sub>	Intensitas cahaya yang diterima dan ditransmisikan medium kultur (W/m <sup>2</sup> )
k <sub>La</sub>	Koefisien perpindahan massa (min <sup>-1</sup> )
$\mu$	Laju pertumbuhan spesifik mikro alga (h <sup>-1</sup> )
$\mu_{\max}$	Laju maksimum pertumbuhan mikro alga pada awal fasa logaritmik pertumbuhan (h <sup>-1</sup> )
$\eta_{bp}$	Efisiensi konversi energi cahaya untuk pertumbuhan (%)
N <sub>sel</sub>	Kerapatan sel mikro alga
OD <sub>540</sub>	Nilai optical density yang diukur pada 540 nm
pH	PH medium kultur
RTD	Retention Time Distribution
T	Suhu (°C)
t	Waktu
U <sub>G</sub>	Kecepatan superfisial gas (m/h)
X	Kerapatan biomassa kering (g/L)

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Masalah

Perubahan iklim global dan krisis ekonomi yang berkepanjangan memicu terjadinya kondisi kelangkaan bahan pangan di masyarakat. Selain itu harga bahan pangan juga meningkat cukup drastis. Kondisi ini berdampak langsung terhadap kehidupan masyarakat dengan menyebabkan merebaknya kasus-kasus gizi buruk. Jika dibiarkan terus-menerus, hal ini dapat mengancam masa depan bangsa Indonesia. Pada umumnya masyarakat Indonesia terbiasa mengikuti tradisi dari leluhurnya, termasuk dalam hal pemanfaatan sumber-sumber bahan makanan. Pemanfaatan sumber daya alam sebagai bahan makanan oleh masyarakat pada umumnya terbatas pada sumber-sumber atau bahan makanan yang sudah umum dikenal. Masyarakat cenderung menolak atau kurang tertarik untuk mencoba memanfaatkan sumber pangan yang kurang familiar bagi mereka, apalagi sumber pangan baru (Erlania, 2010).

Di Indonesia sendiri sebenarnya banyak sekali sumber daya alam yang potensial untuk dijadikan sumber pangan alternatif. Salah satu contohnya adalah mikroalga yang merupakan jenis tanaman ganggang. Tanaman ini telah mulai diperkenalkan pada masyarakat Indonesia sebagai sumber pangan sejak beberapa waktu yang lalu. Namun kenyataannya respon masyarakat terhadap mikroalga sebagai sumber pangan alternatif tidak terlalu baik, padahal mikroalga memiliki kandungan gizi (nutrisi) yang cukup tinggi dibandingkan dengan sumber pangan yang selama ini dikenal dan dikonsumsi.

*Nannochloropsis sp.* merupakan salah satu jenis mikroalga yang juga banyak mengandung nutrisi dengan persentase sebagai berikut: protein 52,11%; karbohidrat 16,00% dan lemak 27,64% yang terdiri dari EPA (Eicosapentaenoic Acid) hingga 31,42% dan ARA/AA (Arachidonic Acid) 3,94% (Bentley et al., 2008). EPA itu sendiri merupakan golongan asam lemak omega-3 yang bermanfaat untuk menyembuhkan luka dan infeksi,

menyembuhkan penyakit tulang atau persendian, asma, mengurangi risiko depresi setelah melahirkan, meminimalkan kemungkinan melahirkan prematur dan mencegah proses penuaan (Manurung, 2009). Dengan demikian *Nannochloropsis sp.* sebenarnya mempunyai potensi yang besar dan menjanjikan sebagai sumber nutrisi pangan dan bahan baku biomedis (Katsumi, 1997).

Selain itu, mikroalga ini sangat mudah dibudidayakan secara kontinyu dengan masa panen yang singkat (Budiman, 2009). Berikut adalah tabel perbandingan kandungan nutrisi dalam beberapa mikroalga, dari sini dapat dilihat bahwa kandungan lipid dari *Nannochloropsis sp.* adalah yang terbesar sehingga sangat potensial untuk dimanfaatkan biomasnya sebagai sumber nutrisi pangan.

Tabel 1.1 Komposisi Kimia Mikroalga (Sumber: Becker,1994 dan Riedel, 2008)

Ganggang	Komposisi kimia (% bobot kering)		
	Protein	Karbohidrat	Lemak
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1,9
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2
<i>Spirogyra sp.</i>	6-20	33-64	11-21
<b><i>Nannochloropsis sp.</i></b>	<b>52,11</b>	<b>16</b>	<b>27,64</b>
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20
<i>Pyrrnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-38
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Synechoccus sp.</i>	63	15	11
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7

Oleh karena itu, pemanfaatan mikroalga *Nannochloropsis sp.* dirasakan dapat menjadi sumber pangan alternatif baru yang potensial dan layak dikonsumsi. Penelitian biomassa mengenai mikroalga ini cukup menarik minat beberapa peneliti mengingat potensinya sebagai bahan *food supplement*. Selama ini negara-negara maju seperti Amerika Serikat, Jepang dan Negara-negara di Eropa telah banyak mengembangkan mikroalga ini sebagai bahan baku untuk suplemen beromega-3. Namun sejauh ini di Indonesia *Nannochloropsis sp.* lebih sering diteliti dan dimanfaatkan untuk bahan baku rotifer (pakan ternak ikan). Belum banyak penelitian yang dilakukan untuk mengembangkan *Nannochloropsis sp.* sebagai sumber pangan alternatif, terutama untuk bahan baku suplemen beromega-3.

Seperti halnya mikroalga yang lain, pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* sangat tergantung pada ketersediaan nutrisi, intensitas cahaya, karbondioksida, pH, suhu, usia kultur dan salinitas. (Boussiba et al., 1987; Roessler, 1990; Thompson, 1996; Khozin-Goldberg et al., 2002; Zhekisheva et al., 2002; Guschina et al., 2006; Solovchenko et al., 2008). Intensitas cahaya menjadi faktor yang sangat penting untuk kelangsungan hidup mikroalga hijau karena cahaya diperlukan untuk menjalankan proses fotosintesis. Kurangnya intensitas cahaya yang dibutuhkan oleh mikroalga untuk aktivitas fotosintesis akan menyebabkan proses fotosintesis tidak berlangsung normal dan terjadinya efek *self shading* serta berpengaruh pada penyimpanan energi berlebih dalam bentuk lipid dan/atau karbohidrat (Pal, 2011). *Nannochloropsis sp.* sendiri cocok untuk dikulturkan dalam Erlenmeyer pada intensitas cahaya 1000 lux, sedangkan untuk volume yang lebih besar pada intensitas 5000-10000 lux (Coutteau, 1996).

Berdasarkan fakta tersebut, maka pada penelitian ini akan dilakukan teknik untuk meningkatkan produksi biomassa mikroalga *Nannochloropsis sp.* yaitu dengan pengaturan pencahayaan yang disesuaikan dengan pertumbuhan biomassa mikroalga dalam reaktor selama masa kultivasi *Nannochloropsis sp.* Hal ini dilakukan mengingat setiap mikroalga fotosintetik membutuhkan cahaya untuk pertumbuhan. Namun demikian setiap jenis mikroalga memiliki sensitivitas yang berbeda terhadap pencahayaan. sehingga perlakuan

pengaturan pencahayaan sampai pada intensitas tertentu dilakukan untuk menentukan intensitas cahaya optimum yang dibutuhkan oleh *Nannochloropsis sp.* dalam melakukan proses fotosintesis. Melalui pengaturan metode ini diharapkan pengaruh *self shading* yang terjadi dalam kultur mikroalga dalam fotobioreaktor dapat diatasi. sehingga diperoleh laju pertumbuhan yang optimal dan peningkatan hasil produksi biomassa *Nannochloropsis sp.*

JENIS MICROALGAE				Fresh Water		Marine Water	
METODE PENCAHAYAAN				<i>Chlorella sp.</i>		<i>Spirulina sp.</i>	<i>Nannochloropsis sp.</i>
Pencapaian	Buatan	Closed System	Alterasi	Harun (2009)	Andika (2005); Anondho (2007)	Dianursanti (2007), Yunita (2007)	RISET INI
			Kontinu				
			Fotoperiodisitas	Anondho (2008), Murvanto (2006)	Vonshak (1996)		
		Open System					
	Alami	Closed System	Kontinu	Destva (2011)			Ana <i>et.al</i> (2005)
			Fotoperiodisitas				Budiman (2000)
		Open System	Open Pond Systems		Kemka (2007)		
	Kombinasi	Closed System		N. zou <i>et.al</i> (2000)			
		Open System			Barclay (1992)	Sri <i>et.al.</i> (2008)	

Tabel 1.1 *State of The Art* Penelitian tentang Efek Pencahayaan terhadap Biomassa Mikroalga

Penelitian mengenai pengaruh pencahayaan terhadap produksi biomassa untuk beberapa jenis mikroalga telah banyak dilakukan di Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia. Salah satu yang paling dikenal adalah jenis *Chlorella vulgaris* Buitenzorg dimana hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa dengan pengaturan pencahayaan dapat meningkatkan produksi biomassa sampai 60% dibandingkan dengan pencahayaan secara alami seperti yang dilaporkan oleh Wijanarko (2007).

Oleh karena itu pada penelitian kali ini akan digunakan metode yang sama yakni pengaturan pencahayaan namun menggunakan jenis mikroalga yang berbeda dengan harapan dapat memperoleh peningkatan hasil produksi biomassa sehingga nantinya mikroalga *Nannochloropsis* dapat dijadikan sumber nutrisi omega-3 alternatif.

## 1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bahwa seluruh alga fotosintetik memerlukan cahaya untuk pertumbuhannya. Namun setiap jenis alga memiliki sensitivitas yang berbeda terhadap kebutuhan pencahayaan, sehingga diperlukan studi lanjut tentang:

1. Berapa besarnya intensitas cahaya optimum yang dibutuhkan untuk memperoleh laju pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* yang maksimum ( $I_{\mu max, opt}$ ) pada jumlah inokulum ( $N_0$ ) tertentu?
2. Bagaimana pengaruh pengaturan pencahayaan pada kultivasi mikroalga *Nannochloropsis sp.* terhadap produksi biomassa ( $X$ ) dan kandungan omega-3 nya?

### 1.1. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan profil intensitas cahaya optimum untuk setiap densitas sel *Nannochloropsis sp.* selama masa kultivasi yang bisa dijadikan dasar untuk kultivasi selanjutnya guna peningkatan produksi biomassa *Nannochloropsis sp.* pada reaktor pelat datar dengan cara :

1. Menentukan korelasi antara besarnya *optical density* (OD) sel dan berat kering sel *Nannochloropsis sp.*
2. Memberikan perlakuan pengaturan cahaya pada aliran sirkulasi media kultur dalam fotobioreaktor untuk memperoleh laju pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* yang maksimum ( $I_{\mu max, opt}$ ) pada jumlah inokulum ( $N_0$ ) tertentu.
3. Menganalisis pengaruh pengaturan pencahayaan pada kultivasi mikroalga *Nannochloropsis sp.* terhadap produksi biomassa ( $X$ ) dan kandungan lipid dan omega-3 nya.

### 1.2. Batasan Masalah

Batasan Masalah yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioproses Departemen Teknik Kimia, Universitas Indonesia.

2. Mikroalga yang digunakan adalah *Nannochloropsis sp.* yang berasal dari koleksi sub kultur Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Slipi.
3. Sistem reaktor yang digunakan adalah fotobioreaktor kolom gelembung dengan volume 18 dm<sup>3</sup> yang dialiri oleh udara yang mengandung 5 % CO<sub>2</sub> dengan kecepatan superfisial ( $U_G$ ) 15.2 m/jam.
4. Pencahayaan dilakukan secara alterasi menggunakan lampu 20 W/12 V/50 Hz
5. Jenis kultur medium yang digunakan adalah medium *Walne*.
6. Perhitungan sel ( $N$ ) dan berat kering ( $X$ ) dilakukan dengan menggunakan metode spektroskopi cahaya tampak pada  $\lambda=540$  nm ( $OD_{540}$ )
7. Produksi biomassa dalam penelitian ini baru terbatas pada peningkatan jumlah sel kering yang diperoleh.

### 1.3. Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan dalam makalah seminar ini adalah sebagai berikut :

#### BAB 1 : PENDAHULUAN

Bab ini berisi latar belakang masalah, perumusan masalah, tujuan penulisan, batasan masalah, dan sistematika penulisan.

#### BAB 2 : TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini berisi berbagai aspek yang berkaitan dengan mikroalga *Nannochloropsis sp.*, proses fotosintesis mikroalga hijau, faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi biomassa mikroalga *Nannochloropsis sp.* pada medium terbatas dan fotobioreaktor.

#### BAB 3 : METODE PENELITIAN

Bab ini berisi diagram alir penelitian, alat dan bahan yang diperlukan, serta prosedur tiap tahap penelitian.

#### BAB 4 : HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini berisi hasil penelitian, pembahasan dan analisis hasil penelitian.

#### BAB 5 : KESIMPULAN

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Mikroalga

Mikroalga merupakan kelompok tumbuhan berukuran renik yang termasuk dalam kelas alga, diameternya antara 3-30  $\mu\text{m}$ , baik sel tunggal maupun koloni yang lazim disebut fitoplankton. Di dunia mikroba, mikroalga termasuk eukariotik, umumnya bersifat fotosintetik dengan pigmen fotosintetik hijau (klorofil), coklat (fikosantin), biru kehijauan (fikobilin), dan merah (fikoeritrin). Morfologi mikroalga berbentuk uniseluler atau multiseluler tetapi belum ada pembagian tugas yang jelas pada sel-sel komponennya. Hal itulah yang membedakan mikroalga dari tumbuhan tingkat tinggi (Romimohtarto, 2004).

Sebagian besar spesies alga adalah masuk kedalam golongan alga fotoautotrof yang memperoleh energi dari sinar dan karbon dioksida menjadi ikatan atom karbon. Ada juga beberapa bagian spesies alga bersifat heterotrof yang tidak memerlukan sinar dan karbon dari komponen organik seperti gula dan asam organik. Beberapa bagian spesies alga lainnya termasuk kelompok mixotropik yang dapat mereproduksi selnya dalam kondisi pencahayaan sinar maupun tanpa sinar (kondisi gelap). Selain sifat-sifat dari golongan tersebut diatas, khususnya untuk alga fotoautotrof, ada juga yang mempunyai kemampuan untuk mendapatkan energi dari heterotrofik melalui pemanfaatan cahaya sinar dan karbon dioksida beserta substansi organik secara simultan. Beberapa alga yang mempunyai sifat itu disebut sebagai obligat fotoautotrof, dimana hal itu terjadi apabila nutrien alga untuk tumbuh berada di bawah kondisi (Droop, 1974).

Mikroalga juga terdiri atas empat kelompok besar, antara lain: diatom (*Bacillariophyceae*), alga hijau (*Chlorophyceae*), alga emas (*Chrysophyceae*) dan alga biru (*Cyanophyceae*). Penyebaran habitat mikroalga biasanya di air tawar (limnoplankton) dan air laut (haloplankton), sedangkan sebaran berdasarkan distribusi vertikal di perairan meliputi: plankton yang hidup di

zona euphotik (ephiplankton), hidup di zona disphotik (mesoplankton), hidup di zona aphotik (bathylankton) dan yang hidup di dasar perairan (hypoplankton) (Eryanto et.al., 2003).

Dalam biomassa mikroalga terkandung bahan-bahan penting yang sangat bermanfaat, misalnya protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat. Persentase keempat komponen tersebut bervariasi tergantung jenis alga. Sebagai contoh, mikroalga *Chlorella vulgaris* memiliki kandungan protein sebesar 51–58%, karbohidrat 12–17%, lemak 4–22% dan asam nukleat 4–5%. *Spirulina platensis* memiliki kandungan protein sebesar 46–43%, karbohidrat 8–14%, lemak 4–9%, dan asam lemak omega-3 2–5% (Becker, 1994). Mikroalga lainnya seperti, *Botryococcus braunii*, *Dunaliella salina*, *Monalanthus salina* mempunyai kandungan lemak berkisar 40–85% (Borowitzka, 1998). Kandungan lemak mikroalga tergantung dari jenis mikroalga, rata-rata pertumbuhan dan kondisi kultur mikroalga (Chisti, 2007).

Lemak mikroalga pada umumnya terdiri dari asam lemak tidak jenuh, seperti linoleat, eicosapentaenoic acid (EPA) dan docosaheptaenoic acid (DHA) (Skjak-Braek, 1992). Mikroalga mengandung lemak dalam jumlah yang besar terutama asam arakidonat (AA, 20:4 $\omega$ 6) (yang mencapai 36% dari total asam lemak) dan sejumlah asam eikosapentaenoat (EPA, 20:5 $\omega$ 3) (Fuentes et al., 2000). Selain itu, lemak mikroalga juga kaya akan asam lemak politidakjenuh (PUFA) dengan 4 atau lebih ikatan rangkap. Sebagai contoh, yang sering dijumpai yaitu asam eikosapentanoat (EPA, C20:5) dan asam docosaheksanoat (DHA, C22:6) (Chisti, 2007). Biomassa mikroalga adalah sumber yang kaya akan beberapa nutrisi, seperti asam lemak  $\omega$ 3 dan  $\omega$ 6, asam amino esensial (leusin, isoleusin, valin, dan lain-lain) serta karoten (Becker, 1994). Beberapa mikroalga menyajikan spektrum asam lemak yang lebih besar, ketika dibandingkan dengan tanaman yang mengandung minyak, selain itu juga mengandung struktur molekul dengan lebih dari 18 atom karbon (Belarbi et al., 2000).

Mikroalga memiliki berbagai manfaat, antara lain dalam peningkatan pasokan bahan pakan, sebagai bahan baku industri farmasi, kosmetik,

minuman, pupuk, reklamasi tanah, filter dan pemurnian air limbah, bahkan sebagai bahan bakar (Hadiwigeno al., 1994). Potensi bagi pengembangannya relatif besar mengingat beberapa sifatnya antara lain: memiliki jangka waktu generasi yang relatif pendek sehingga dapat diproduksi dalam jumlah yang besar dan dalam waktu yang relatif, sifat-sifat genetiknya dapat lebih mudah diubah sehingga dapat diperoleh mikroorganisme sesuai mutu yang dikehendaki, kandungan proteinnya relatif tinggi, tenaga serta bahan yang diperlukan untuk memproduksikannya tersedia melimpah dan murah, serta dapat dikultur secara massal dan berkesinambungan (Sriharti, 2005).

Upaya untuk meningkatkan mutu kinerja mikroalga telah dilaksanakan pada skala laboratorium sampai skala lapangan, dengan memanipulasi lingkungan hidupnya seperti media, suhu, intensitas dan panjang gelombang cahaya, lama penyinaran, kadar CO<sub>2</sub>, pH, salinitas, tempat pemeliharaan dan pada saat panen komposisi kimiawi mikroalga yang diukur dapat bervariasi, selain itu diteliti pula teknologi pendukungnya yang berupa teknologi panen dan ekstraksi produk yang dihasilkan, desain dan konstruksi alat yang diperlukan sehingga memberikan alternatif dalam pemanfaatannya.

#### 2.1.1 *Nannochloropsis* sp.

Mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini merupakan jenis *Nannochloropsis* yang digolongkan ke dalam kategori alga hijau, organisme autotrof dan eukariotik. Berikut klasifikasi dari mikroalga *Nannochloropsis* sp:

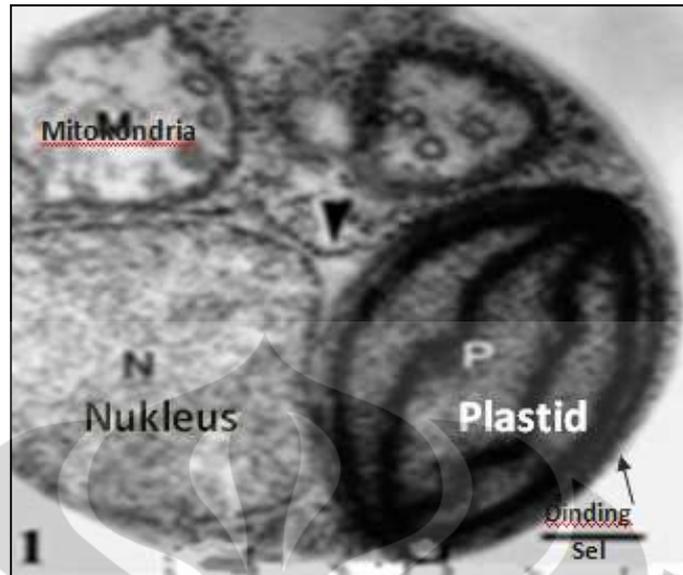
Kingdom	: Chromista T. (Cavalier-Smith, 1981)
Superdivisi	: Chromobiota (Cavalier-Smith, 1981)
Divisi	: Ochrophyta (Cavalier-Smith, 1981)
Kelas	: Eustigmatophyceae (Hibberd & Leedale, 1970)
Genus	: <i>Nannochloropsis</i> (Hibberd, 1981)
Species	: <i>Nannochloropsis</i> sp. (Hibberd, 1981)



Gambar 2.1 *Nannochloropsis sp.* ( $1\mu\text{m}=0.001\text{ mm}$ ) (Sumber: oceanproaquatics)

*Nannochloropsis* (air tawar, air laut) merupakan fitoplankton berukuran 2-4 mikron, berwarna hijau dan memiliki dua flagella (Heterokontous) yang salah satu flagela sangat tipis. Selnya berbentuk bola, berukuran kecil dengan diameter 4-6  $\mu\text{m}$ . Organisme ini merupakan divisi yang terpisah dari *Nannochloris* karena tidak adanya chlorophyll *b*.

*Nannochloropsis sp* memiliki kloroplas dan nukleus yang dilapisi membran. Kloroplas memiliki stigma (bintik mata) yang bersifat sensitif terhadap cahaya. *Nannochloropsis sp.* dapat berfotosintesis karena memiliki klorofil. Ciri khas dari *Nannochloropsis sp.* adalah memiliki dinding sel yang terbuat dari komponen selulosa. *Nannochloropsis sp.* bersifat kosmopolit dapat tumbuh pada salinitas 0-35 ppt. Salinitas optimum untuk pertumbuhannya adalah 25-35 ppt dan suhu 25-30°C merupakan kisaran suhu yang optimal untuk pertumbuhannya. Fitoplankton ini juga dapat tumbuh baik pada kisaran pH 8-9,5 dan intensitas cahaya 100-10000 lux.



Gambar 2.2 Electron Micrograph Sel *Nannochloropsis* sp. (Sumber: springerimages.com)

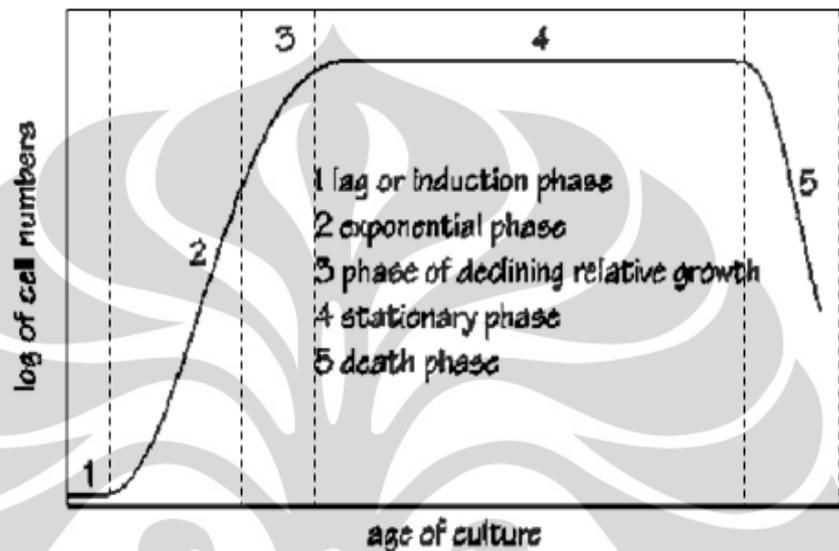
#### 2.1.2 Pertumbuhan dan Perkembangan Sel *Nannochloropsis* sp.

Istilah pertumbuhan sel mengacu kepada pertambahan jumlah sel bukan mengacu kepada perkembangan individu organisme sel. Mikroalga memiliki kemampuan untuk menggandakan diri secara eksponensial dikarenakan sistem reproduksinya adalah pembelahan biner, dimana tiap sel membelah diri menjadi dua sel. Selang waktu yang dibutuhkan sel untuk membelah diri disebut dengan waktu generasi. Tiap spesies mikroalga memiliki waktu generasi yang berbeda-beda.

*Nannochloropsis* sp. sendiri berkembang biak secara aseksual dengan cara membelah diri dan membentuk autospora. Setiap sel yang sudah masak akan membelah diri dan menghasilkan 2 dan 4 autospora. Autospora adalah spora non flagella yang mempunyai bentuk seperti sel induknya, tetapi mempunyai ukuran tubuh yang lebih kecil. Selanjutnya autospora yang telah dihasilkan tadi dibebaskan dari sel induk melalui penghancuran/larutnya dinding sel dewasa dan berkembang hingga mencapai ukuran sel induknya.

*Nannochloropsis* sp. memiliki waktu generasi yang sangat cepat. Oleh karenanya dalam waktu yang relatif singkat, perbanyakkan sel akan terjadi secara cepat terutama jika terdapat cahaya dan sumber energi

yang cukup. Pola pertumbuhan berdasarkan jumlah sel dapat dikelompokkan menjadi lima fase yaitu fase tunda (*lag phase*), fase pertumbuhan logaritmik (*log phase*), fase penurunan laju pertumbuhan, fase stasioner dan fase kematian. Kelima fasa tersebut ditunjukkan dengan kurva jumlah sel vs waktu di bawah ini.



Gambar 2.3 Kurva Pertumbuhan Mikroalga *Nannochloropsis sp.* (Sumber: Coutteau, 1996)

1. Fase Tunda (*Lag phase*)

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

2. Fase Pertumbuhan Logaritmik (*Log Phase*)

Ketika sel telah menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru maka sel mulai membelah hingga mencapai populasi yang maksimum. Fase ini disebut fase pertumbuhan logaritmik atau fase

eksponensial. Fase ini ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah menjadi dua sel. Selama fasa ini sel-sel berada dalam keadaan yang stabil. Bahan sel baru terbentuk dengan konstan tetapi bahan-bahan baru itu bersifat katalitik dan massa bertambah secara eksponensial. Hal ini bergantung dari satu atau dua hal yang terjadi, yaitu kalau tidak satu atau lebih zat makanan dalam pembenihan habis maka hasil metabolisme yang beracun akan tertimbun dan menghambat pertumbuhan. Dengan demikian derajat pertumbuhan sel dipengaruhi oleh kadar nutrisi dalam media, suhu inkubasi, kondisi pH dan aerasi. Ketika derajat pertumbuhan sel telah menghasilkan populasi yang maksimum, maka akan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang mati dan jumlah sel yang hidup. Dalam penggunaan mikroorganisme di dunia perindustrian, dibutuhkan bibit atau *starter* untuk proses fermentasi suatu bahan makanan, biasanya digunakan mikroorganisme yang sedang berada dalam fase eksponensial. Hal ini dikarenakan mikroorganisme tersebut tidak akan mengalami masa pertumbuhan sebelum fasa eksponensial pada media yang baru.

### 3. Fase Penurunan Laju Pertumbuhan

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

### 4. Fase Stasioner

Fase stasioner adalah fase pemberhentian pertumbuhan. Fase ini terjadi pada saat laju pertumbuhan sel sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah keseluruhan sel hidup akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan sel ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel yang disebabkan oleh kadar

nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Dalam kebanyakan kasus, pergantian sel terjadi dalam masa stasioner dimana adanya kehilangan sel yang lambat karena kematian yang diimbangi dengan pembentukan sel-sel baru melalui pembelahan. Bila hal ini terjadi maka jumlah sel akan bertambah secara lambat, meskipun jumlah sel hidup akan tetap.

#### 5. Fase Kematian

Fase stasioner kemudian dilanjutkan dengan fase kematian yang ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan, sehingga secara keseluruhan terjadi penurunan populasi sel mikroalga dan akhirnya kecepatan sel-sel yang mati menjadi konstan.

#### 2.1.3 Manfaat *Nannochloropsis sp.*

*Nannochloropsis sp.* lebih dikenal dengan nama *Chlorella* laut dikultur untuk pakan *Barchionus plicatilis* atau Rotifer karena mengandung Vitamin B12 dan Eicosapentaenoic acid (EPA) sebesar 31,42 % dan total kandungan omega 3 HUFAs sebesar 42,7%, serta mengandung protein 52,11% (Riedel, 2008). Vitamin B12 sangat penting untuk populasi rotifer dan EPA penting untuk nilai nutrisinya sebagai pakan larva dan juvenile ikan laut. Selain itu, mudah dikultur secara massal, tidak menimbulkan racun atau kerusakan ekosistem di bak pemeliharaan larva, pertumbuhannya relatif cepat dan memiliki kandungan antibiotik. Kepadatan optimum yang dapat dicapai untuk skala laboratorium 50-60 juta sel/ml, skala semi massal 20-25 juta sel/ml dan massal 15-20 juta sel/ml dengan masa kultur 4-7 hari (Anon, 2009). Fabregas (2004) melaporkan presentase PUFA utama C20:5 $\omega$ 3 pada *Nannochloropsis sp.* tetap stabil pada kondisi dengan keterbatasan cahaya, akan tetapi pada kondisi dengan intensitas cahaya jenuh kandungan PUFA menurun yang diikuti dengan kenaikan proporsi SFA dan MUFAny.

Selain itu biomasa alga *Nannochloropsis sp.* dapat digunakan sebagai biosorben logam berat karena memiliki kemampuan adsorpsi yang disebabkan adanya gugus aktif yang terkandung di dalamnya (Sembiring et al., 2008)

## 2.2. Fotosintesis Mikroalga Hijau

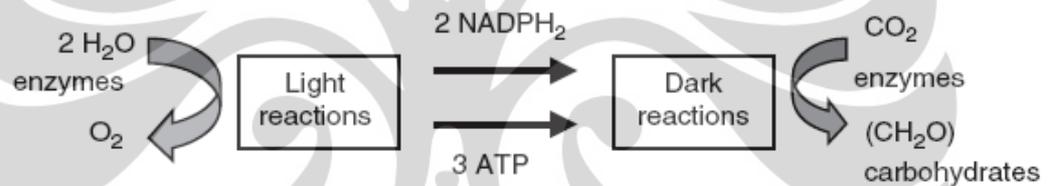
Fotosintesis adalah suatu proses biokimia pembentukan zat makanan atau energi yaitu glukosa yang dilakukan tumbuhan, alga, dan beberapa jenis bakteri dengan menggunakan zat hara, karbondioksida, dan air serta dibutuhkan bantuan energi cahaya matahari. Hampir semua makhluk hidup bergantung dari energi 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 fototrof. Fotosintesis merupakan salah satu cara asimilasi karbon karena dalam fotosintesis karbon bebas dari CO<sub>2</sub> diikat (difiksasi) menjadi gula sebagai molekul penyimpan energi.

Seperti pada tumbuhan tingkat tinggi, fotosintesis pada mikroalga hijau juga merupakan proses untuk mensintesis senyawa-senyawa biokimia yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya menggunakan CO<sub>2</sub> dan energi cahaya/matahari (organisme autotrofik). Alga terdiri dari alga multiseluler seperti ganggang hingga alga mikroskopik yang hanya terdiri dari satu sel. Meskipun alga tidak memiliki struktur sekompleks tumbuhan darat, fotosintesis pada keduanya terjadi dengan cara yang sama. Hanya saja karena alga memiliki berbagai jenis pigmen dalam kloroplasnya, maka panjang gelombang cahaya yang diserapnya pun lebih bervariasi. Semua alga menghasilkan oksigen dan kebanyakan bersifat autotrof. Hanya sebagian kecil saja yang bersifat heterotrof yang berarti bergantung pada materi yang dihasilkan oleh organisme lain.

Secara umum, 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 mikroalga hijau 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 (tunggal: granum), 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.



Gambar 2.4 Skema Reaksi Fotosintesis (Sumber: Jir' Masojirdek, 2004)

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

Proses fotosintesis ini selalu dikaitkan dengan proses biofiksasi. Proses biofiksasi adalah proses yang terintegrasi dalam proses fotosintesis, dimana CO<sub>2</sub> terfiksasi oleh mikroalga hijau melalui tahap reaksi gelap pada fotosintesis. Hal ini menjadi menarik karena pada beberapa mikroorganisme, proses biofiksasi menghasilkan sintesis senyawa organik yang memiliki nilai jual tinggi, misalnya trigliserida untuk bahan bakar diesel oleh *Nannochloris sp.* dan hidrokarbon rantai panjang oleh *Botryococcus braunii*. Ditinjau dari penghilangan CO<sub>2</sub> nya, biofiksasi memang lebih mahal dibanding penghilangan CO<sub>2</sub> konvensional, namun produk samping yang dihasilkan menjadi lebih ekonomis jika diproduksi secara simultan menjadi produk bernilai jual tinggi.

### 2.2.1 Reaksi Fotosintesis

Fotosintesis merupakan proses menggabungkan CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O menjadi gula dengan menggunakan energi cahaya dengan menggunakan organel yang disebut kloroplas. Proses fotosintesis dibagi menjadi dua reaksi yaitu :

#### 1. Reaksi Terang

Reaksi terang merupakan langkah-langkah mengubah energi matahari menjadi energi kimia. Cahaya yang diserap oleh klorofil menggerakkan transport elektron dan hidrogen dari air ke penerima (aseptor) yang disebut NADP<sup>+</sup> yang berfungsi sebagai pembawa elektron dalam respirasi seluler. Reaksi terang menggunakan tenaga matahari untuk mereduksi NADP<sup>+</sup> menjadi NADPH dengan cara menambahkan sepasang elektron bersama dengan nucleus hidrogen atau H<sup>+</sup>. Reaksi terang juga menghasilkan ATP dengan memberi tenaga bagi penambahan gugus fosfat yang pada ADP, proses ini disebut fotofosforilasi.

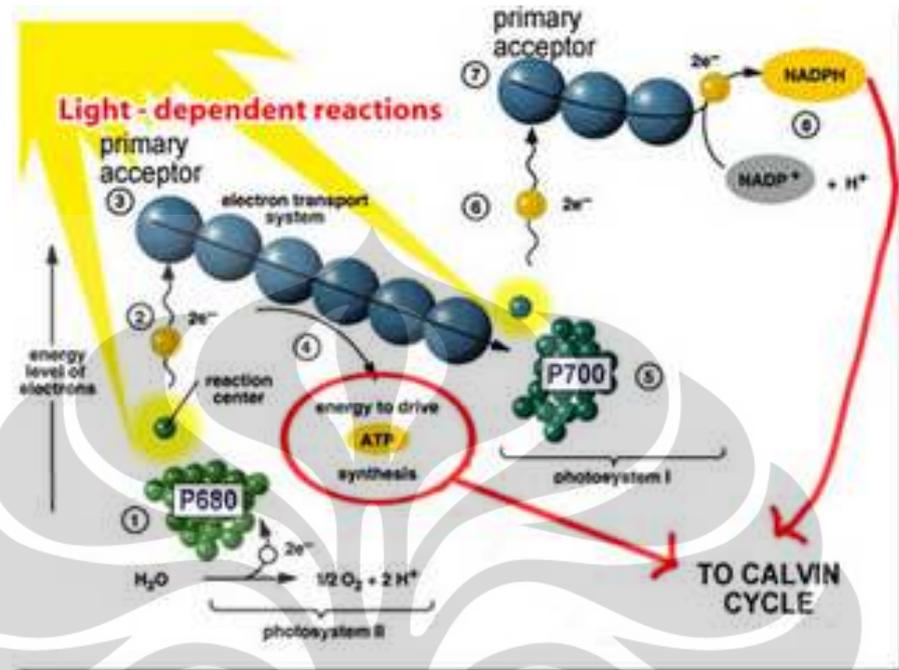
Reaksi terang terjadi di grana, persisnya di membran tilakoid. Reaksi terang menggunakan 2 fotosistem yang berhubungan. Fotosistem I menyerap cahaya dengan panjang gelombang 700 nm maka disebut P700, berfungsi untuk menghasilkan NADPH. Fotosistem II menyerap cahaya dengan

panjang gelombang 680 nm maka disebut P680, berfungsi untuk membuat potensial oksidasi cukup tinggi sehingga bisa memecah air. Bila bekerja bersama, 2 fotosistem ini melakukan proses fotofosforilasi non-siklik yang menghasilkan ATP dan NADPH. Fotosistem I mentransfer elektron ke NADP<sup>+</sup> untuk membentuk NADPH. Kehilangan elektron digantikan oleh elektron dari fotosistem II. Fotosistem II dengan potensial oksidasinya yang tinggi dapat memecah air untuk menggantikan elektron yang ditransfer ke fotosistem I. Kedua fotosistem ini dihubungkan oleh kompleks pembawa elektron yang disebut sitokrom/kompleks b<sub>6</sub>-f. Kompleks ini menggunakan energi dari pemindahan elektron untuk memindahkan proton dan mengaktifkan gradien proton yang digunakan oleh enzim ATP sintase.

Saat pusat reaksi Fotosistem II menyerap foton, elektron tereksitasi pada molekul klorofil P680, yang mentransfer elektron ini ke akseptor elektron. P680 teroksidasi melepaskan elektron dari kulit terluar atom Mg. Atom Mg yang teroksidasi dengan bantuan enzim pemecah air, melepaskan elektron dari atom oksigen dari 2 molekul air. Proses ini membuat P680 menyerap 4 foton untuk melengkapi oksidasi 2 molekul air dan menghasilkan 1 oksigen. Elektron yang tereksitasi dibawa oleh plastoquinon dan kemudian diterima oleh kompleks b<sub>6</sub>-f. Kehadiran elektron menyebabkan kompleks memompa proton ke celah tilakoid, kemudian elektron dibawa oleh plastosianin ke fotosistem I.

Pusat reaksi fotosistem I menyerap foton maka elektronnya tereksitasi. "lubang" yang ditinggal elektron segera ditempati oleh elektron dari Fotosistem II, sedangkan elektron yang tereksitasi tersebut ditangkap oleh ferredoxin. Ferredoxin tereduksi membawa elektron dengan potensial yang tinggi kemudian ditangkap oleh NADP<sup>+</sup> untuk membentuk NADPH. Reaksi ini dikatalisasi oleh enzim NADPH reduktase.

Enzim ATP sintase menggunakan gradien proton yang tercipta saat tranpor elektron untuk mensintesis ATP dari ADP + Pi.



Gambar 2.5 Reaksi Terang Fotosintesis (Sumber: Biology, Kimball, 2010)

Reaksi keseluruhan yang terjadi pada reaksi terang adalah sebagai berikut:



## 2. Reaksi Gelap

Reaksi gelap adalah reaksi pembentukan gula dari CO<sub>2</sub> yang terjadi di stroma. Berbeda dengan reaksi terang, reaksi gelap atau reaksi tidak bergantung cahaya bisa terjadi pada saat siang dan malam, namun pada siang hari laju reaksi gelap tentu lebih rendah dari laju reaksi terang.

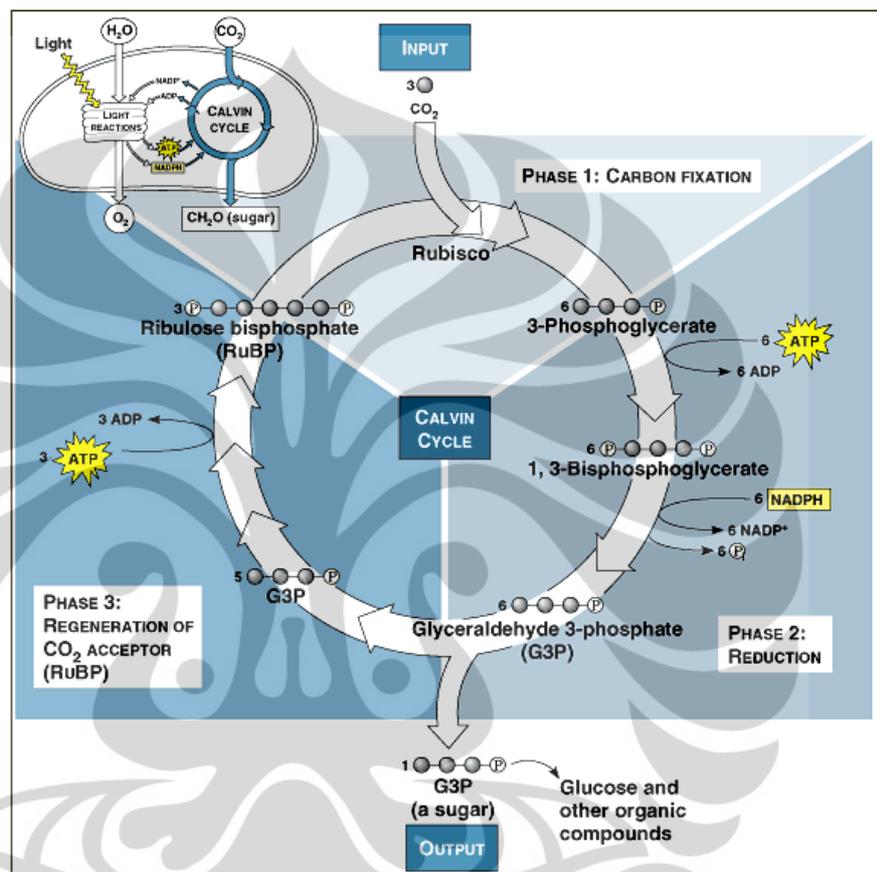
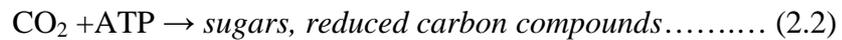
Reaksi gelap dimulai dengan pengikatan atau fiksasi 6 molekul CO<sub>2</sub> ke 6 molekul gula 5 karbon yaitu ribulosa 1,5 bifosfat, dikatalisis oleh enzim ribulosa bifosfat karboksilase/oksigenase (rubisco) yang kemudian membentuk 6 molekul gula 6 karbon. Molekul 6 karbon ini tidak stabil maka pecah menjadi 12 molekul 3 karbon yaitu 3 fosfoglisarat. 3

fosfoglisarat kemudian difosforilasi oleh 12 ATP membentuk 1,3 bifosfoglisarat. 1,3 bifosfoglisarat difosforilasi lagi oleh 12 NADPH membentuk 12 molekul gliseradehida 3 fosfat/PGAL. 2 PGAL digunakan untuk membentuk 1 molekul glukosa atau jenis gula lainnya, sedangkan 10 molekul lainnya difosforilasi oleh 6 ATP untuk kembali membentuk 6 molekul Ribulosa 1,5 bifosfat. Proses pengikatan  $\text{CO}_2$  ke RuBP disebut fiksasi, proses pemecahan molekul 6 karbon menjadi molekul 3 karbon disebut reduksi dan proses pembentukan kembali RuBP dari PGAL disebut regenerasi.

Fotosintesis ini disebut mekanisme C3, karena molekul yang pertama kali terbentuk setelah fiksasi karbon adalah molekul berkarbon 3. Kebanyakan tumbuhan menggunakan fotosintesis C3 disebut tumbuhan C3.

Untuk beberapa tumbuhan, mereka terpaksa melakukan fotosintesis dengan cara yang sedikit berbeda karena kondisi lingkungan. RuBP, alih-alih mengikat  $\text{CO}_2$ , justru mengikat  $\text{O}_2$  sehingga berubah menjadi glikolat dan terurai. Proses ini disebut fotorespirasi. Saat fiksasi karbon,  $\text{CO}_2$  dan  $\text{O}_2$  berkompetisi untuk berikatan dengan RuBP. Pada kondisi normal bersuhu 25 C, 20% fiksasi karbon untuk fotosintesis hilang karena fotorespirasi. Kemungkinan makin meningkat saat kondisi panas, kering dan stomata menutup di siang hari untuk menyimpan air. Kondisi ini menyebabkan  $\text{CO}_2$  tidak bisa masuk dan  $\text{O}_2$  tidak bisa keluar sehingga terjadi fotorespirasi. Untuk menanggulangi hal tersebut, maka tanaman mengikatkan  $\text{CO}_2$  ke fosfoenolpiruvat (PEP), dikatalisis oleh PEP karboksilase dan membentuk senyawa 4 karbon, biasanya oksaloasetat. Mekanisme ini disebut mekanisme C4. Pengikatan ini terjadi disel mesofil. Oksaloasetat kemudian berubah menjadi malat yang memasuki sel seludang dan disana malat melepaskan  $\text{CO}_2$  untuk memulai siklus

Calvin. Mala berubah menjadi piruvat yang keluar menuju sel mesofil, berubah menjadi PEP untuk berikatan lagi dengan CO<sub>2</sub>. Reaksi yang terjadi dalam siklus calvin secara umum dapat dituliskan sebagai berikut:



Gambar 2.6 Siklus Calvin (Sumber: Biology, Kimball, 2010)

### 2.2.2 Faktor – Faktor yang Mempengaruhi 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.

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

## **2.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga *Nannochloropsis sp.* pada Medium Terbatas**

Berikut akan diuraikan beberapa faktor yang berpengaruh pada pertumbuhan dari mikroalga *Nannochloropsis sp.* antara lain:

### 2.3.1 Jenis Medium

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

Medium yang diperlukan untuk perkembangan *Nannochloropsis sp.* adalah jenis medium yang jenis nutrisinya lebih banyak dan jumlahnya pun cukup besar. Dalam medium pembiakan

*Nannochloropsis sp.* dibutuhkan *macronutrien* dan *trace element*. *Macronutrien* adalah nutrisi yang dibutuhkan oleh *Nannochloropsis sp.* dalam jumlah yang besar, sedangkan *Trace element* juga adalah element yang dibutuhkan oleh *Nannochloropsis sp.* dalam jumlah yang sangat kecil, namun element ini sangat sering digunakan (merupakan element yang penting bagi pertumbuhan *Nannochloropsis sp.*).

Ada beberapa medium yang lazim digunakan untuk membiakkan *Nannochloropsis sp.* yaitu :

Tabel 2.1 Komposisi Medium Pembiakan *Nannochloropsis sp.* dalam mg/ L (Sumber: Kawaroe et.al., 2008)

<i>Bahan</i>	<i>Benneck</i>	<i>BG-11</i>	<i>f2 guillard</i>	<i>Walne</i>
NaNO <sub>3</sub>	500	1.5	75	100
Na <sub>2</sub> EDTA	-	0.001	4.56	45
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	-	2.86	-	33.6
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	-	-	5	20
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	3-5	-	4.56	1.3
MnCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	-	-	0.36
B <sub>1</sub>	-	-	-	0.1
B <sub>12</sub>	-	-	0.5	0.005
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	-	1.81	1801	-
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	-	0.0036	-	-
Ferric ammonium citrate	-	0.006	-	-
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	-	0.02	-	-
Citric acid	-	0.006	-	-
ZnCl <sub>2</sub>	-	-	-	0.021
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	-	10	0.02
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4 H <sub>2</sub> O	-	-	-	0.009
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	-	0.0079	10	0.02
MgSO <sub>4</sub>	100	0.075	-	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	200	0.04	-	-

Mikroalga mendapatkan nutrisi dari air laut yang sudah mengandung nutrisi yang cukup lengkap. Namun pertumbuhan mikroalga dengan kultur dapat mencapai optimum dengan mencampurkan air laut dengan nutrisi yang tidak terkandung dalam air laut tersebut. Nutrisi tersebut dibagi menjadi makronutrien dan mikronutrien, makronutrien meliputi nitrat dan fosfat. Makronutrien

merupakan pupuk dasar yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Mikronutrien organik merupakan kombinasi dari beberapa vitamin yang berbeda-beda. Vitamin tersebut antara lain B12, B1 dan Biotin. Mikronutrien tersebut digunakan mikroalga untuk berfotosintesis (Taw, 1990).

### 2.3.2 Pencahayaan

Cahaya merupakan faktor utama yang mempunyai peranan penting untuk pertumbuhan mikroalga sebagai sumber energi untuk pertumbuhan mikroalga dan fotosintesis. Kebutuhan akan cahaya bervariasi tergantung kedalaman kultur dan kepadatannya. Intensitas cahaya yang terlalu tinggi dapat menyebabkan fotoinhibisi dan pemanasan. Intensitas cahaya 1000 lux cocok untuk kultur mikroalga dalam Erlenmeyer, sedangkan intensitas 5000-10000 lux untuk kultur mikroalga dengan volume yang lebih besar (Coutteau, 1996). Cahaya matahari yang diperlukan oleh mikroalga dapat diganti dengan lampu TL. Penggunaan cahaya yang berasal dari lampu TL karena didasari oleh kebutuhan intensitas cahaya maka pada penelitian ini cahaya pada lampu TL dapat diatur sesuai intensitas cahaya yang dibutuhkan. Selain itu, lampu TL mempunyai kestabilan intensitas cahaya jika dibandingkan dengan cahaya yang bersumber dari cahaya matahari.

Faktor pencahayaan digolongkan atas tiga bagian, yakni pencahayaan terang-gelap (fotoperiodisitas), pencahayaan kontinu, dan pencahayaan alterasi. Sebenarnya faktor pencahayaan ini juga dapat dibagi lagi menjadi pencahayaan dengan panjang gelombang tertentu dan pencahayaan dengan intensitas tertentu. Namun, kali ini hanya akan dibahas mengenai pencahayaan dengan intensitas tertentu.

#### 2.3.2.1 Pencahayaan Terang-Gelap

Istilah pencahayaan terang-gelap dalam penelitian ini menunjuk kepada *Nannochloropsis sp.* yang diiluminasi dengan cahaya tampak (370-900 nm) dengan pengaturan kondisi terang selama 8 jam dan kondisi gelap selama 16 jam, seperti kondisi alami (periode cahaya

matahari). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya (dengan menggunakan mikroalga *Chlorella vulgaris*), perlakuan ini memberikan efisiensi yang paling besar dibandingkan dengan pencahayaan kontinu, namun hasil laju pertumbuhannya masih sedikit di bawah jika pencahayaan kontinu.

#### 2.3.2.2 Pencahayaan Kontinu

Istilah pencahayaan kontinu dalam penelitian ini menunjuk kepada *Nannochloropsis sp.* yang diiluminasi dengan cahaya tampak (370-900 nm) secara terus-menerus hingga mencapai fase stasionernya. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya (dengan menggunakan mikroalga *Chlorella vulgaris*), perlakuan ini memberikan hasil laju pertumbuhan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pencahayaan gelap-terang (fotoperiodisitas).

#### 2.3.2.3 Pencahayaan Alterasi

Alterasi merupakan perubahan perlakuan cahaya kontinu dengan memberikan intensitas cahaya yang semakin tinggi seiring dengan penambahan jumlah sel dari dalam penelitian ini. Dari penelitian-penelitian sebelumnya (dengan menggunakan mikroalga *Chlorella vulgaris*), diketahui bahwa semakin banyak jumlah sel/biomassa dalam penelitian ini maka kultur akan semakin pekat sehingga cahaya yang diberikan tidak lagi dapat diterima secara merata oleh semua sel. Karena itu, perlu dilakukan peningkatan intensitas cahaya agar cahaya dapat masuk dan diterima secara merata oleh semua sel. Usaha ini telah dibuktikan dapat meningkatkan laju pertumbuhan mikroalga menjadi lebih optimal dan menghasilkan biomassa dengan jumlah yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pencahayaan kontinu.

#### 2.3.3 Kondisi Operasi

Adapun beberapa kondisi operasi yang perlu diperhatikan dalam kultivasi mikroalga hijau *Nannochloropsis sp.* antara lain:

### 2.3.3.1 pH

pH akan mempengaruhi toksisitas semua senyawa kimia. Variasi pH dapat mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan fitoplankton dalam beberapa hal, antara lain mengubah keseimbangan dari karbon organik, mengubah ketersediaan nutrient, dan dapat mempengaruhi fisiologis sel. Secara umum kisaran pH yang optimum pada kultur *Nannochloropsis sp.* antara 7 – 9 (Effendi, 2003).

### 2.3.3.2 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. Kisaran salinitas yang berubah-ubah dapat mempengaruhi dan menghambat pertumbuhan dari mikroalga. Beberapa mikroalga dapat tumbuh dalam kisaran salinitas yang tinggi tetapi ada juga mikroalga yang dapat tumbuh dalam kisaran salinitas yang rendah. Pengaturan salinitas pada medium yang diperkaya dapat dilakukan dengan pengenceran dengan menggunakan air tawar. Kisaran salinitas yang dimiliki oleh *Nannochloropsis sp.* antara 32 – 36 ppt, tetapi salinitas paling optimum untuk pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* adalah 33- 35 ppt (Effendi, 2003).

### 2.3.3.3 Suhu

Suhu optimal dalam kultur mikroalga *Nannochloropsis sp.* secara umum antara 20-24 °C. Suhu dalam kultur diatur sedemikian rupa bergantung pada medium yang digunakan. Suhu diatas dari 36 °C akan menyebabkan kematian pada jenis fitoplankton tertentu, sedangkan apabila suhu kurang dari 16°C akan menyebabkan kecepatan dari pertumbuhan fitoplanton menurun.

#### 2.3.2.4 Flowrate

*Flowrate* yang dimaksud adalah laju alir udara dan CO<sub>2</sub> asupan pada medium terbatas. Penentuan laju memperhitungkan model reaktor, perhitungan luas permukaan kontak dan volume kultur. Penentuan laju asupan ini mempertimbangkan pemerataan *supply* CO<sub>2</sub> yang dibutuhkan oleh *Nannochloropsis sp.* pada medium terbatas.

#### 2.3.2.5 Konsentrasi CO<sub>2</sub>

Karbon dioksida merupakan unsur yang penting dalam proses fotosintesis, oleh karenanya persediaan CO<sub>2</sub> dalam jumlah yang cukup di dalam medium akan mendukung pertumbuhan alga. Konsentrasi CO<sub>2</sub> yang optimal untuk pertumbuhan mikroalga yaitu sekitar 3-5%, (Wirosaputro, 2002), namun dari penelitian *Nannochloropsis sp.* dapat mentoleransi konsentrasi CO<sub>2</sub> sampai 15% (Yoshihara et al., 1996).

Ketersediaan CO<sub>2</sub> dapat dilakukan dengan menginjeksikannya lalu menggoyang-goyangkan media (aerasi/proses pengadukan medium kultur.). Aerasi dalam kultur mikroalga sangat penting dilakukan untuk mencegah terjadinya pengendapan sel dan untuk penyebaran nutrisi secara merata sehingga mikroalga dalam kultur mendapatkan nutrisi yang sama, mencegah stratifikasi suhu, serta meningkatkan pertukaran gas dari udara ke medium. (Taw, 1990).

#### 2.3.4 Agitasi

Agitasi merupakan variabel penting pada kultur mikroalga. Fungsi variabel penting pada kultur mikroalga. Fungsi agitasi adalah untuk menghindari sedimentasi dan photoinhibisi, untuk penyebaran atau sirkulasi nutrisi, penyebaran panas dan meningkatkan efisiensi cahaya pada sel-sel mikroalga.

#### 2.3.5 Kontaminasi

Seluruh rangkaian kegiatan dalam proses kultivasi *Nannochloropsis sp.* harus dilakukan secara steril, begitu pula dengan

peralatan yang digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu untuk menghindari kontaminan. Kehadiran kontaminan dapat menghambat pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* secara signifikan karena kontaminan tersebut akan berebut sumber makanan dengan *Nannochloropsis sp.* atau menjadi predator.

#### 2.3.6 Pre-culture

*Pre-culture* merupakan tahapan yang sangat penting bagi kultivasi *Nannochloropsis sp.* Tahap ini dilakukan untuk membiasakan *Nannochloropsis sp.* pada medium yang baru, sehingga dapat melewati fase *lag*-nya dan siap untuk dibiakkan pada fase eksponensial. Dari tahap ini dapat diketajui apakah medium tersebut dapat digunakan atau tidak sebagai medium hidup *Nannochloropsis sp.*

### 2.4. Sistem Kultivasi Mikroalga

Dibandingkan untuk pertumbuhan tanaman, produksi biomassa dari mikroalga relatif lebih mahal. Oleh karena itu, banyak sistem kultivasi menggunakan sinar matahari dan air laut yang ada, walaupun tiap hari terdapat variasi musim karena level penyinaran. Untuk setiap koloni alga, pertumbuhan bergantung pada kondisi lingkungan, temperatur 20-30°C, medium esensial nitrogen, fosfor, besi yang umumnya tidak mahal. Banyak kultivasi menghasilkan biomassa sekitar 50% karbon dengan berat kering yang dihasilkan dari CO<sub>2</sub>. Ada dua jenis operasi kultivasi mikroalga yaitu sistem terbuka dan tertutup.

#### 2.4.1 Kultivasi sistem Terbuka

Sistem terbuka menggunakan *raceway* (kolam) dan sinar matahari sebagai sumber energi utama dan sistem lebih mudah daripada fotobioreaktor. Akan tetapi, sistem terbuka mudah terkontaminasi (sulit mengontrol kontaminan), menghasilkan produktivitas rendah, kehilangan air besar, kebutuhan ruang besar dan inhibisi O<sub>2</sub> tinggi (Maudhi, 2011).



Gambar 2.7 Tambak Terbuka (open ponds) Pemiakan Alga (Sumber:omegatechs.com)

## 2.4.2 Kultivasi Sistem Tertutup

Untuk produk yang bermutu tinggi, sistem kultivasi tertutup lebih dipilih, ditinjau dari segi perkembangannya dan bervariasi pendekatan yang dapat digunakan dalam desain. Keuntungan dari penggunaan sistem ini adalah produktivitas yang tinggi, kontaminasi yang rendah, sedikit kehilangan air, inhibisi  $O_2$  rendah, konsentrasi biomassa tinggi dan ruang yang dibutuhkan lebih kecil. Dalam sistem kultivasi tertutup terdapat berbagai jenis dan karakteristik fotobioreaktor yang digunakan.

### 2.4.2.1 Karakteristik Fotobioreaktor

Berikut ini akan dijelaskan beberapa karakteristik fotobioreaktor:

#### 1. Energi Cahaya

Cahaya sebagai sumber energi untuk kehidupan fotoautotropik merupakan faktor pembatas yang mendasar dalam fotobioteknologi. Pada pencahayaan yang intens, laju fotosintesis akan berbanding lurus proporsional dengan intensitas cahaya sampai intensitas iluminasi yang tinggi dapat merusak sistem reseptor fotosintetik dalam beberapa menit, yang dinamakan fotoinhibisi. Pada kebanyakan mikroalga, fotosintesis akan mengalami kejenuhan pada radiasi sekitar  $1700-2000 \mu E/m^2$  dan mengalami fotoinhibisi pada  $130 \mu E/m^2$  (Pulz, 2001).

Meskipun minat pada bioteknologi semakin berkembang belakangan ini tetapi masih sedikit referensi literatur mengenai *short-term process* dari fotoadaptasi yaitu mengenai inhibis cahaya atau

efek kejenuhan dalam fotobioreaktor dalam sistem tertutup. Fotoadaptasi memerlukan waktu sekitar 10-40 menit dimana dapat dijelaskan ketidaksesuaian antara produktivitas kultur alga pada udara terbuka dan pencahayaan optimumnya.

## 2. Kesetimbangan CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>

Untuk laju fotosintesis yang tinggi, kesetimbangan CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> harus disesuaikan, dimana enzim utama *carboxylating*, Rubisco menggunakan CO<sub>2</sub> untuk siklus Calvin dan tidak menggunakan O<sub>2</sub> untuk fotorespirasi. Oksigen dapat menjadi permasalahan dalam kultur mikroalga dengan densitas sel tinggi karena akan menghambat laju fotosintesis.

Konsentrasi CO<sub>2</sub> biasanya harus dijaga selama margin yang sempit. Kandungan CO<sub>2</sub> udara 0.03 % menjadi sub optimal bagi pertumbuhan dan pada umumnya tumbuh-tumbuhan dapat mentoleransi konsentrasi CO<sub>2</sub> udara sampai 12% pada temperatur 35°C. Sampai saat ini tekanan parsial O<sub>2</sub> (pO<sub>2</sub>) dalam *suspense* mikroalga baik dalam *open* atau *closed-photobioreactor* dapat direduksi hanya dengan menambah turbulensi dan *stripping* O<sub>2</sub> dengan udara. Kedua pendekatan ini masih berupa *unsolved dilemma* dalam sistem fotobioreaktor.

## 3. Temperatur

Temperatur dapat mempengaruhi respirasi dan fotorespirasi secara lebih kuat dibanding fotosintesis. Ketika CO<sub>2</sub> atau cahaya menjadi terbatas untuk proses fotosintesis, pengaruh temperatur menjadi tidak signifikan. Jadi, net efisiensi fotosintesis akan menurun dengan kenaikan pada temperatur tinggi. Efek ini dapat memperburuk kultur *suspense* pada kondisi penurunan CO<sub>2</sub> dan kelarutan O<sub>2</sub> pada kenaikan temperatur (Pulz, 2001).

#### 4. Nutrien dan Nilai pH

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

##### 2.4.2.2 Jenis Fotobioreaktor

Pemilihan desain dari sebuah fotobioreaktor akan sangat mudah mempengaruhi produksi efisiensi keseluruhan untuk memproduksi mikroorganisme yang berbasiskan produk. Hal ini dikarenakan sistem terbuka biasanya memiliki produktivitas yang kecil, sehingga untuk skala industri banyak digunakan sistem tertutup seperti tubular fotobioreaktor (Gunther, 2001).

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

1. *Tubular* fotobioreaktor
2. *Conical* fotobioreaktor
3. *Plat-type* fotobioreaktor
4. *Bubble column* fotobioreaktor



Gambar 2.8 Beberapa Jenis Fotobioreaktor Skala Laboratorium

Tabel 2.2 Karakteristik Beberapa Jenis Fotobioreaktor (Sumber: springerlink.com)

	Satuan	Raceway	Surface type open pond high layer thickness	Tubular open pond, low layert thickness	Semi-closed plated-tubular system
Permukaan terkena cahaya	m <sup>2</sup>	500	200	600	500
Volume	m <sup>2</sup>	75	5	7	6
Ruang Kosong yang Diperlukan	m <sup>2</sup>	550	550	110	100
Ketebalan Film	cm	16-30	0.5-1	4	3
Laju Alir	cm/s	30-55	30-48	50-60	120
Konsentrasi Biomassa (DW)	mg/L	300-500	3000-6500	5000-8000	5000-8000
Produktivitas (DW)	g/L.d	0.05-0.1	0.8-1	0.8-1.2	0.8-1.3

## 2.5. Lipid

Lipid mengacu pada golongan senyawa hidrokarbon alifatik nonpolar dan hidrofobik. Karena nonpolar, lipid tidak larut dalam pelarut polar seperti air, tetapi larut dalam pelarut nonpolar, seperti alkohol, eter atau kloroform. Fungsi biologis terpenting lipid di antaranya untuk menyimpan energi, sebagai komponen struktural membran sel, dan sebagai pensinyalan molekuler.

Lipid adalah senyawa organik yang diperoleh dari proses dehidrogenasi endotermal rangkaian hidrokarbon. Lipid bersifat amfifilik, artinya lipid mampu membentuk struktur seperti vesikel, liposom, atau membran lain dalam lingkungan basah. Lipid biologis seluruhnya atau sebagiannya berasal dari jenis subsatuan atau 'blok bangunan' biokimia: gugus ketosil dan gugus isoprena. Dengan menggunakan pendekatan ini, lipid dapat dibagi ke dalam delapan kategori: asam lemak, gliserolipid, gliserofosfolipid, sfingolipid, sakarolipid dan poliketida (diturunkan dari kondensasi subsatuan ketoasil); serta lipid sterol dan lipid prenol (diturunkan dari kondensasi subsatuan isoprena).

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

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

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

Sementara berdasarkan fungsinya:

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

#### 2.5.1 Lipid dan Asam Lemak Pada Mikroalga *Nannochloropsis sp.*

Mikroalga memiliki kuantitas lemak dan minyak yang penting dengan komposisi yang sama dengan minyak nabati lainnya. Dalam kondisi tertentu, mikroalga telah diketahui memiliki lebih dari 85% berat kering lipid; jumlah ini melebihi hasil yang dimiliki oleh tumbuhan darat.

Kandungan lipid dalam mikroalga umumnya dalam bentuk gliserol dan asam lemak dengan panjang rantai C14 sampai C22. Mereka bisa tersaturasi atau tidak tersaturasi. Beberapa spesies mikroalga cenderung memiliki konsentrasi asam lemak jenis PUFA yang tinggi (25-60%) dan juga termasuk kaya untuk asam lemak esensial seperti C18 linoleat dan asam  $\gamma$ -linoleat serta turunan C20, seperti asam eikosapentanoat dan asam arachidoneat yang banyak dikandung oleh mikroalga *Nannochloropsis sp.* Jenis-jenis asam lemak yang tergolong dalam komponen esensial ini dapat dimanfaatkan untuk membantu menurunkan

berat badan baik pada manusia maupun hewan, disamping itu bisa dijadikan sebagai bahan aditif untuk pakan ternak.

Kisaran aplikasi potensial untuk lemak dan minyak dari mikroalga ini sangat luas. Minyak mikroalga dapat berperan menggantikan minyak ikan dan minyak nabati sebagai salah satu sumber omega-3 bernutrisi yang potensial untuk pangan dan medis, selain itu pula bisa bermanfaat sebagai pengganti produk bahan bakar yang potensial.

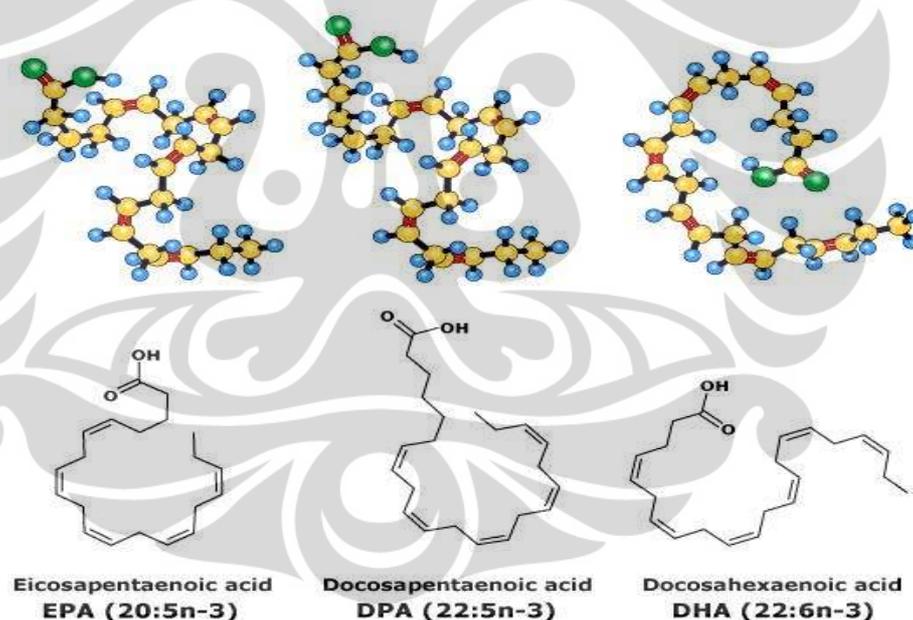
Terdapat beberapa variasi jenis lipid yang ditemukan dalam beberapa jenis taksa mikroalga. Berikut dapat dilihat jenis lipid yang terkandung dalam mikroalga menurut Rema et.al (1998):

Tabel 2.3 Komposisi Asam Lemak pada Beberapa Spesies Mikroalga (% dari total asam lemak)

Microalgae	14:0	14:1	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:4	20:5	22:5	22:6
<i>A.carterae</i>	5,4	2,1	30,9	7,1	10,5	0,3	5,6	3,1	1,6	15,1	1,3	17,0
<i>Amphidinium sp.</i>	7,8	0,6	28,0	23,7	6,7	8,5	4,7	0,8	1,1	16,3	1,8	0,0
<i>Cha. calcitrans</i>	7,0	1,4	27,5	26,5	7,2	0,1	4,9	1,0	1,1	18,8	4,5	0,0
<i>Chl. minutissima</i> (UTEX 2219)	11,4	2,7	30,5	26,8	4,9	3,3	0,3	10,3	2,6	3,3	3,9	0,0
<i>Chl. minutissima</i> (UTEX 2341)	0,7	4,7	11,9	15,0	7,8	12,0	6,3	4,6	5,6	32,3	0,1	0,0
<i>Chr. Salina</i>	12,0	5,1	22,6	21,9	2,0	0,3	19,7	3,1	4,1	8,2	1,0	0,0
<i>Crypth. cohnii</i>	4,4	16,9	20,6	22,6	9,0	0,3	2,3	1,1	0,9	0,0	2,0	19,0
<i>Cryptomonas sp.</i>	7,9	1,0	21,7	17,1	15,6	3,2	1,4	1,8	2,8	16,6	0,7	10,2
<i>I. galbana</i>	3,5	2,7	28,2	19,3	6,7	0,3	4,0	12,9	1,2	16,6	1,0	3,6
<i>M.subterraneus</i>	0,1	12,7	18,7	10,1	0,9	5,4	2,4	0,4	13,7	34,2	1,4	0,0
<i>N.oculata</i>	3,60	3,2	28,8	14,5	4,1	3,3	10,0	14,1	5,1	5,3	1,3	7,1
<i>Pa. lutheri</i> (UTEX LB1293)	8,6	7,6	22,8	4,6	11,5	0,6	20,3	1,4	6,8	3,9	4,2	7,7
<i>Pa. lutheri</i> (ATCC 50092)	13,4	3,0	10,7	3,2	12,6	7,5	9,2	9,0	5,4	14,3	5,9	5,8
<i>Ph. tricorotum</i>	6,6	2,7	14,0	33,9	0,0	7,2	4,0	0,7	3,2	21,4	5,8	0,5
<i>Por. cruentum</i>	0,3	17,5	35,5	8,5	0,0	0,0	1,1	0,0	17,2	19,7	0,0	0,0
<i>Por. purpureum</i>	0,1	2,8	37,9	1,4	13,7	4,4	8,1	8,6	5,8	6,7	10,5	0,0
<i>Pro. minimum</i>	6,3	2,9	33,2	2,8	17,8	0,1	6,1	10,6	2,7	8,7	2,7	5,9
<i>S. aggregatum</i>	2,6	2,7	15,3	18,6	8,0	14,7	15,1	0,6	7,2	15,7	0,0	0,0
<i>Tha .pseudonana</i>	5,8	0,8	31,7	17,6	2,0	5,4	2,9	0,6	9,2	10,8	6,7	6,5
<i>Thr. Aureu</i>	0,3	8,9	8,5	5,4	6,7	7,8	10,5	15,2	12,1	4,5	4,0	16,1

Pada mikroalga *Nannochloropsis sp*, jenis asam lemak yang paling banyak terkandung dalam tubuhnya adalah jenis asam lemak omega-3. Asam-asam lemak alami yang termasuk asam lemak omega-3 adalah asam linoleat (C18:2,n-3), asam eikosapentaenoat atau EPA (C20:5,n-3) dan asam dekosahexanoat atau DHA (C22:6,n-3) serta asam arachidoneat atau AA (C20:4,n-3) (Bentley et.al., 2008). Asam lemak omega-3 merupakan derivat dari asam linolenat yang disintesis oleh fitoplankton uniseluler dan multiseluler maupun alga dan merupakan asam lemak tidak jenuh yang mempunyai ikatan rangkap banyak, ikatan rangkap pertamanya terletak pada atom karbon ketiga dari gugus metil omega. Ikatan rangkap berikutnya terletak pada nomor atom karbon ketiga dari ikatan rangkap sebelumnya.

Berikut merupakan struktur dari senyawa EPA dan DHA yang terdapat dalam lipid *Nannochloropsis sp*.



Gambar 2.9 Struktur Senyawa EPA dan DHA (Sumber: Mcmurry, 1994)

Selama ini kedua asam lemak tersebut dikenal memberikan efek positif bagi kesehatan jantung. Asam lemak omega-3 pada mikroalga ini dapat memperkuat dinding pembuluh darah, membuat platelet/keping darah tidak mudah pecah atau menggumpal. EPA itu sendiri merupakan golongan asam lemak omega-3 yang bermanfaat untuk menyembuhkan

luka dan infeksi, menyembuhkan penyakit tulang atau persendian, asma, mengurangi risiko depresi setelah melahirkan, meminimalkan kemungkinan melahirkan prematur dan mencegah proses penuaan. (Manurung, 2009).

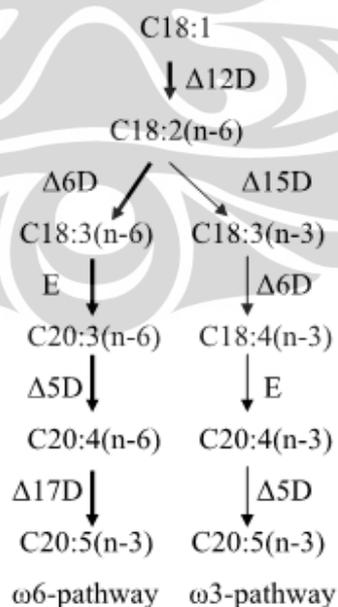
### 2.5.2 Biosintesis Asam Lemak pada Mikroalga *Nannochloropsis sp.*

Faktor lingkungan yang mempengaruhi tingkat pertumbuhan dan perolehan sel dalam kultivasi juga berdampak pada kadar lipid dan minyak serta komposisinya dalam mikroalga. Faktor-faktor yang diketahui berpengaruh sampai saat ini adalah pembatasan nitrogen, salinitas dan pencahayaan (Pal, 2011).

Pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* dalam kondisi cahaya jenuh ditandai dengan tingginya kandungan lemak, asam lemak dan karbohidrat dibandingkan dengan pertumbuhan sel dalam kondisi cahaya terbatas. Peningkatan kadar lemak seluler terjadi seiring dengan penurunan persentase asam eicosapentanoat/EPA (C20:5) dan arachidonic acid/AA (C20:4), asam lemak yang terutama terkait dengan galaktolipid, dan dengan peningkatan kelimpahan relatif asam palmitat (C16:0) dan asam palmitoleat (C16:1). Pada pertumbuhan kondisi cahaya terbatas, *Nannochloropsis sp.* cenderung mensintesis galaktolipid, namun pada pertumbuhan dengan kondisi cahaya jenuh, lipid netral terbentuk relatif lebih banyak, terutama sintesis triasilgliserol. Perubahan kadar lemak dan komposisi secara kualitatif terkait dengan perubahan morfologi sel. Sel yang tumbuh di bawah kondisi cahaya rendah ditandai dengan volume kloroplas yang relatif besar, permukaan kepadatan membran tilakoid yang tinggi dan volume penyimpanan lipid yang rendah dalam sel. Implikasi fisiologis dari perubahan komposisi lipid seluler dan ultrastruktur dibahas dalam kaitannya dengan cahaya/*self-shading* (Sukenic et.al.,1989).

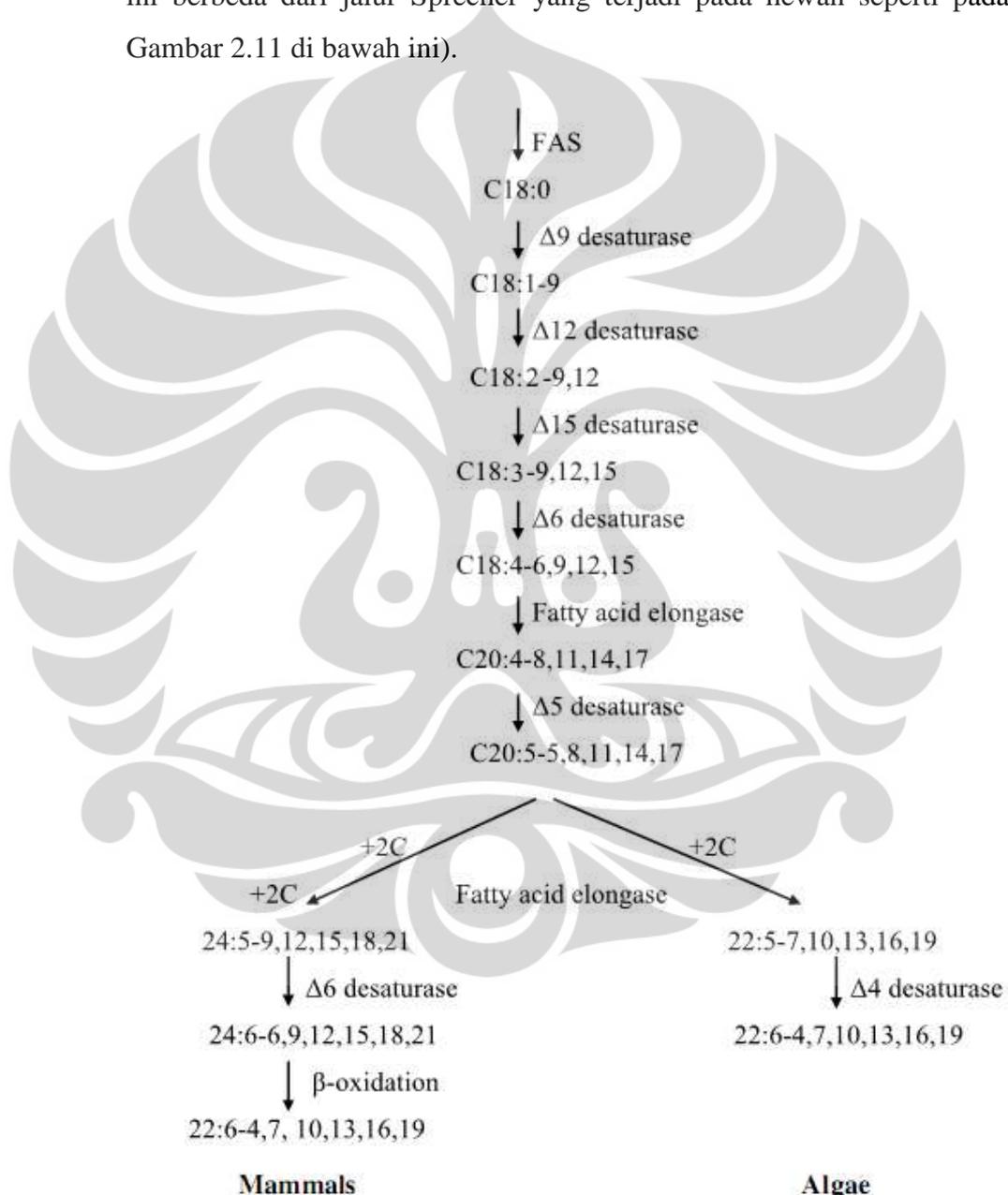
Dalam jalur (*pathway*) omega-3, linoleat pertama kali terdesaturasi menjadi  $\alpha$ -linolenate kemudian diubah menjadi 18:4n-3, 20:4n-3 dan EPA (Gambar 2.10). Pada spesies eukariotik seperti *Nannochloropsis sp.*

posisi *sn*-1 dan *sn*-2 diduduki oleh EPA atau AA. Namun, disarankan dibentuk pada dua jalur (omega-3 dan omega-6: Gambar 2.10) yang melibatkan lipid sitoplasma dan chloroplastic. Sitoplasmic linoleoyl-PC (*phosphatidylcholine*) dapat diubah menjadi arachidonyl-PC dalam jalur omega-6 atau ke EPA-PC, yang kemudian akan memiliki gugus diasilgliserol (DAG) yang ditransfer ke kloroplas. Dalam kloroplas, DAG berupa galactosyl berubah menjadi monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) dan terdesaturasi lebih lanjut dari C20:4(*n*-6)-MGDG oleh desaturase  $\Delta 17$  (omega-3) chloroplastic maka akan menghasilkan pembentukan EPA yang mengandung galactolipid. Pada konsentrasi biomassa yang lebih rendah, desaturasi  $\Delta 17$  (omega-3) dari AA menjadi EPA ditingkatkan dalam MGDG dan digalactosyldiacyl-glisierol (DGDG) pada kondisi cahaya rendah. Keterlibatan PC sebagai substrat divalidasi dengan menggunakan asam salicylhydroxamic yang dihambat desaturasi  $\Delta 6$ . PC yang banyak terlibat dalam desaturasi dari asam lemak 18C asam, sedangkan PE (*phosphatidylethanolamine*) dan DGTS (*diacylglyceryltrimethylhomoserine*) adalah substrat untuk desaturasi lebih lanjut dari PUFA 20C yang mengakibatkan terbentuknya EPA dalam spesies alga.



Gambar 2.10 Dua Jalur Untuk Biosintesis Asam Eicosapentaenoic pada *Eustigmatophytes*. Rute Yang Paling Aktif Adalah Ditunjukkan Dengan Panah Tebal. D, Desaturase; E, Elongase. (Sumber: Guschina et.al., 2006)

Biosintesis DHA diduga melibatkan  $\Delta 6$  desaturasi dari  $\alpha$ -linoleat untuk C18:  $4n-3$ , diikuti oleh elongasi untuk C20:  $4n-3$  dan desaturasi  $\Delta 5$  untuk EPA. Reaksi selanjutnya belum jelas ditetapkan sampai saat ini. Asumsi konvensional adalah 20:  $5n-3$  terelongasi menjadi ke 22:  $5n-3$  dan kemudian diubah menjadi 22:  $6n-3$  oleh desaturasi akhir  $\Delta 4$  akhir. (Hal ini berbeda dari jalur Sprecher yang terjadi pada hewan seperti pada Gambar 2.11 di bawah ini).

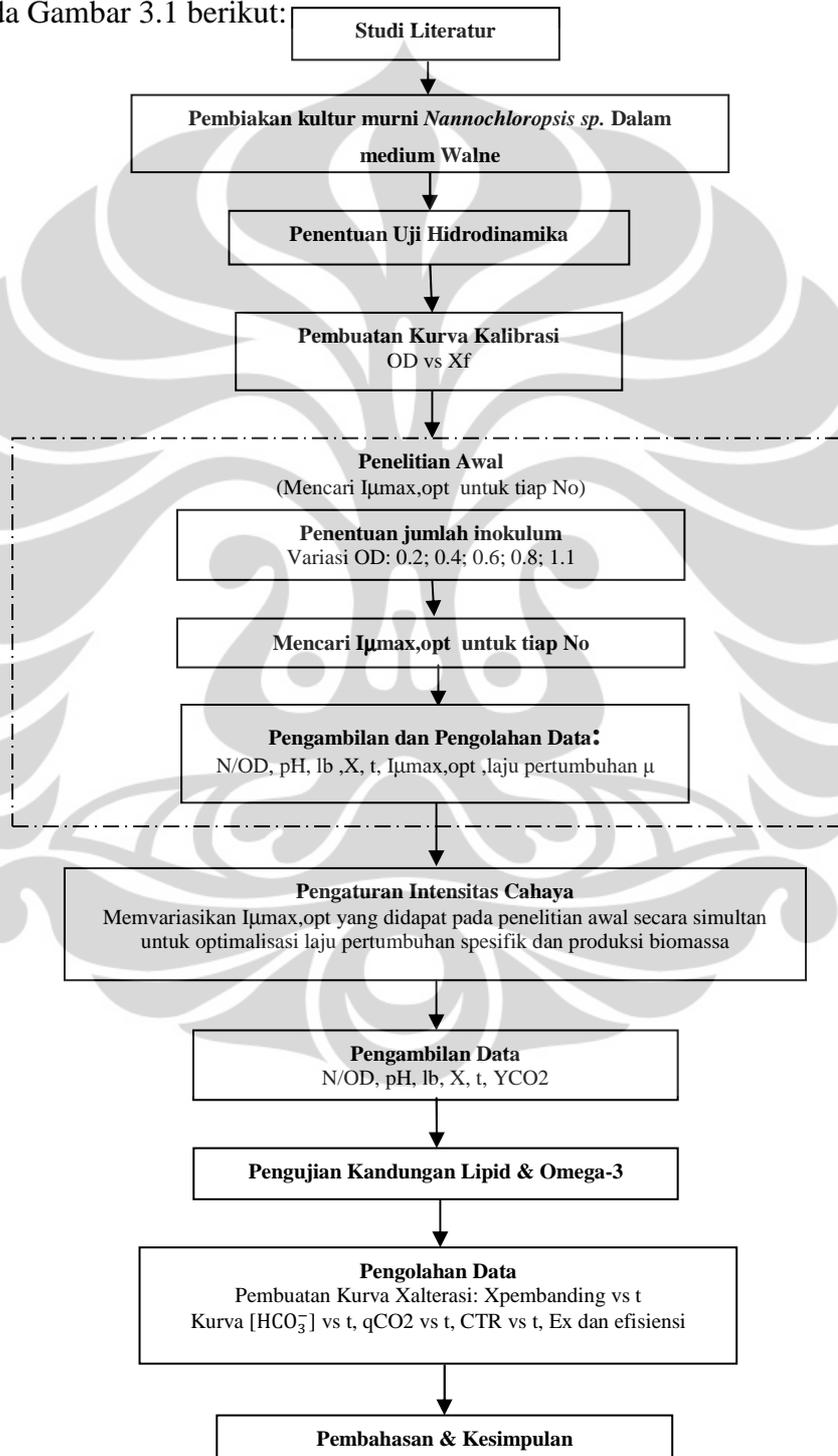


Gambar 2.11 Perbandingan Jalur Aerobik Untuk Biosintesis DHA pada Mamalia Dan Ganggang. (Sumber: Guschina et.al., 2006).

## BAB 3 METODE PENELITIAN

### 3.1. Diagram Alir Penelitian

Adapun alur dari proses penelitian ini dapat digambarkan dalam diagram alir pada Gambar 3.1 berikut:



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

### 3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan-peralatan yang akan digunakan pada penelitian ini, antara lain:

1. Fotobioreaktor bervolume 18 dm<sup>3</sup> dengan bahan kaca *duron* yang transparan dilengkapi dengan aliran *input* dan *output* gas dan udara.
2. Kompresor udara portable 2 output
3. Tabung gas CO<sub>2</sub> dengan regulator
4. *Flowmeter* udara dan *flowmeter* CO<sub>2</sub>
5. Filter udara dari glassware
6. Lampu philip hallogen 20W/12V/50Hz dan transformator 220V primer/12V sekunder
7. *T-septum* yang terbuat dari bahan gelas
8. Peralatan *glassware*
9. Selang silikon dan selang plastik
10. Kromatografi gas
11. *Electric Microscope XSZ-107BN* dengan pembesaran max. 10000X
12. *Sel Neubauer Improved, Tiefe Depth Profondeur* 0.1 mm 0.0025 mm<sup>2</sup>
13. *Counter manual*
14. *Syringe 1001 RT Hamilton* 1 cm<sup>3</sup> (*inlet-outlet*)
15. *Set Lightmeter Lxtron LX-103*
16. *pH* meter
17. Lemari kerja Ultraviolet
18. Bunsen Spiritus dan sprayer alkohol 70%
19. *Magnetic stirrer* dan *plate*
20. Oven
21. Spektrofotometer
22. Centrifuge

Bahan penelitian yang digunakan:

1. Starter marine mikroalga *Nannochloropsis sp.* dengan usia 60 jam
2. NaNO<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>EDTA, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MnCl<sub>2</sub> untuk pembuatan medium *walne*

3. KI untuk pengenceran sewaktu penghitungan sel pada sampel yang sangat pekat
4. Air dengan salinitas 25-35 ppt
5. Alkohol 70%

### 3.3. Variabel Penelitian

Variabel yang dapat ditentukan dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas: intensitas cahaya ( $I$ ) dan jumlah inokulum *Nannochloropsis sp.* ( $N_0$ )
2. Variabel terikat: jumlah sel/kepadatan sel/*optical density* ( $N/OD$ ), konsentrasi gas CO<sub>2</sub> dalam udara input dan output, pH, dan intensitas cahaya yang ditransmisikan

### 3.4. Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu pembuatan rangkaian alat penelitian, sterilisasi peralatan, pembuatan medium *Walne*, pembiakan kultur murni *Nannochloropsis sp.*, penentuan jumlah inokulum *Nannochloropsis sp.*, pembuatan kurva kalibrasi OD vs X, dan *running* fotobioreaktor.

#### 3.4.1. Pembuatan Rangkaian Peralatan

Penelitian ini menggunakan fotobioreaktor berukuran 18 L dengan peralatan pendukungnya yang dirangkai di dalam suatu lemari tertutup (*transfer box*), untuk menghindari masuknya kontaminan.

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

Kalibrasi flowmeter dapat dilakukan agar dapat diketahui dengan tepat skala dari masing-masing *flowmeter*. Hal ini penting karena CO<sub>2</sub> sebagai *carbon source* yang akan dialirkan harus selalu dijaga konstan pada 5% dari laju aliran total.

### 3.4.2. Sterilisasi Alat

Sebelum digunakan, seluruh peralatan yang akan digunakan dalam penelitian terutama yang bersentuhan langsung dengan *Nannochloropsis sp.* harus disterilisasi terlebih dahulu agar tidak terkontaminasi oleh bakteri yang dapat mengganggu pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* Langkah-langkah sterilisasi tersebut adalah sebagai berikut:

#### 1. Pencucian Peralatan

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

#### 2. Pengeringan

Peralatan yang telah dicuci selanjutnya dikeringkan dengan tisu kering atau kompressor udara. Selanjutnya, semua peralatan kaca yang berongga ditutup dengan *aluminium foil*, untuk mencegah adanya kontaminan setelah sterilisasi.

#### 3. Sterilisasi

Peralatan dari kaca/logam disterilisasi dengan oven pada suhu 120°C selama  $\pm 1$  jam, sedangkan peralatan plastik cukup direndam dalam alkohol 70% selama  $\pm 5$  menit dan direndam lagi sebelum dipakai.

#### 4. Penyimpanan

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

Selanjutnya yang juga perlu diperhatikan juga yaitu, lingkungan pada lemari kerja dan *transfer box* juga harus bersih dan steril, caranya dengan dilap terlebih dahulu, lalu disemprot dengan alkohol 70% dan diratakan dengan lap/tisu kering dan bersih. Lemari penyimpanan alat dan *transfer box* harus menggunakan lampu UV untuk mencegah pertumbuhan kuman dan dimatikan saat akan digunakan untuk kerja.

Hal yang tidak kalah penting adalah tangan praktikan juga harus selalu bersih, dicuci terlebih dahulu dan disemprot alkohol 70% sebelum mulai bekerja atau mengambil data.

### 3.4.3. Pembuatan Medium *Walne*

Medium yang akan digunakan sebagai kultur media pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat medium *Walne* ini yaitu:

Tabel 3.1 Bahan Medium *Walne*

<i>Bahan</i>	<i>(mg/ dm<sup>3</sup> air laut)</i>
NaNO <sub>3</sub>	100
Na <sub>2</sub> EDTA	45
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	33.6
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	20
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1.3
MnCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.36
B <sub>1</sub>	0.1
B <sub>12</sub>	0.005
ZnCl <sub>2</sub>	0.021
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.02
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.009
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.02

Pertimbangan menggunakan medium ini antara lain karena *stock Nannochloropsis sp.* yang didapat menggunakan medium ini sebagai media hidupnya dan berdasarkan literatur tentang mikroalga *Nannochloropsis sp.* bahwa medium *walne* merupakan medium yang paling sering digunakan sebagai medium pertumbuhan mikroalga ini. Selain itu medium ini relatif mudah dibuat dan mengandung nutrisi yang lengkap yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* Cara membuat 1 dm<sup>3</sup> medium:

1. Menyiapkan bahan-bahan yang terdapat pada tabel 3.1, lalu ke-12 bahan tersebut dilarutkan dalam 1 dm<sup>3</sup> air laut dan diaduk sampai seluruh bahan larut.

2. Medium disterilisasi menggunakan *autoclave* selama  $\pm 1.5$  jam, lalu didinginkan. Melakukan pemanasan sebanyak  $\pm 3$  kali untuk memastikan medium benar-benar steril. Cara membuka *autoclave* harus menunggu suhu dan tekanan *autoclave* turun agar tidak berbahaya.
3. Medium yang telah steril dan dingin disimpan dalam lemari UV atau lemari pendingin bila tidak langsung digunakan, atau ditutup terlebih dahulu menggunakan *plastic wrap*.

#### 3.4.4. Pemiakan Kultur Murni *Nannochloropsis sp.*

Kultur murni yang diperoleh harus dibiakkan lagi sebelum digunakan dalam penelitian. Tujuannya adalah untuk memperbanyak *stock* yang ada serta untuk membuat *Nannochloropsis sp.* tersebut dapat beradaptasi dalam medium baru sebelum digunakan (melewati fasa lag). Cara pemiakan kultur murni:

1. Menyiapkan medium dan peralatan pemiakan seperti wadah, selang udara, dan tutup wadah untuk disterilkan terlebih dahulu.
2. Memasukkan stok murni *Nannochloropsis sp.* ke dalam wadah steril dan dicampur dengan medium *walve* yang telah steril. Perbandingan antara jumlah stok dengan medium dapat diatur sesuai kebutuhan penelitian. Pindahkan ini harus dijaga steril.
3. Kultur tersebut kemudian di-*bubbling* dengan menggunakan kompresor udara dan CO<sub>2</sub> sebesar 1v/vm. Pada tahap ini juga harus diberikan cahaya yang kecil  $\pm 1800$  lx.
4. Pemiakan dapat dilakukan selama seminggu atau lebih bila bertujuan untuk memperbanyak stok yang ada, tetapi jika hanya untuk melewati fasa lag maka dapat dilakukan selama 2-3 hari atau  $\pm 60$  jam, tergantung dari jumlah selnya.

#### 3.4.5. Penentuan Jumlah Inokulum *Nannochloropsis sp.*

Tahap ini sangat penting dalam penelitian ini, karena terkait dengan jumlah sel *Nannochloropsis sp.* yang terdapat dalam kultur.

Jumlah inokulum perlu diketahui agar dapat dilihat perubahan jumlahnya dari waktu ke waktu dan berkaitan dengan besar intensitas cahaya yang dibutuhkan.

Langkah-langkah penghitungan:

1. Stok/kultur yang akan dihitung jumlah inokulumnya, diaduk sampai semua endapan *Nannochloropsis sp.* yang ada merata dalam medium.
2. Mengambil sampel inokulum dengan mengambil sampel sebanyak  $4 \text{ cm}^3$  (jika menggunakan spektrofotometer).
3. Penghitungan sel dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer yaitu dengan:
  - a. Menggunakan Spektrofotometer
    - Spektrofotometer diatur pada panjang gelombang 540 nm (di panjang gelombang ini sel *Nannochloropsis sp.* dapat terabsorbansi) dan gunakan cahaya tampak (VIS) sebagai sumber cahaya yang akan diabsorbansi.
    - Kalibrasi spektrofotometer dengan menggunakan kuvet berisi medium pada panjang gelombang yang sama lalu diatur agar absorbansinya menunjukkan angka nol.
    - Memasukkan sampel ke dalam kuvet kemudian uji dalam spektrofotometer.
  - b. Menggunakan Mikroskop
    - Meneteskan sampel pada *Neubauer Improved* ( $\pm 2$  tetes pada ruang atas atau bawah) lalu tutup dengan kaca preparat
    - Menghitung dengan menggunakan mikroskop perbesaran  $40 \times 10$ , diusahakan seluruh bagian bilik terlihat dengan jelas. Penghitungan dilakukan menggunakan *counter manual* sebagai alat pencacah
    - Ambil rata-rata jumlah inokulum untuk setiap bilik lalu dihitung dengan rumus  $N \text{ sel/mL} = \text{jumlah sel rata-rata} \times 10^4$ . Apabila menggunakan factor pengenceran maka nilai N dikali factor pengencerannya.

#### 3.4.6. Pembuatan Kurva Kalibrasi OD vs X dan OD vs $N_{sel}$

Tahap ini bertujuan untuk memudahkan penghitungan sampel yang memiliki jumlah sel yang banyak dan mengetahui berat kering dari suatu sampel hanya dengan mengukur absorbansinya (OD) menggunakan spektrofotometer cahaya tampak. Pembuatan kurva kalibrasi ini dilakukan pada panjang gelombang 540 nm (di panjang gelombang ini sel *Nannochloropsis sp.* dapat terabsorbansi).

##### 1. Membuat Kurva Kalibrasi OD vs X

Kurva ini dibuat dengan cara mengeringkan sampel yang telah dihitung OD-nya. Proses pengeringan ini dilakukan dengan mensentrifugasi sampel yang telah dicampur dengan larutan NaOH pada 4000 rpm selama 20 menit dengan suhu maksimal 25°C, lalu memisahkan padatan/sel *Nannochloropsis sp.* dari mediumnya, kemudian dicuci dengan bersih dengan air laut dan disentrifugasi kembali. Hasil sentrifugasi terakhir kemudian dipanaskan dalam *hotplate* dengan suhu 50°C sampai benar-benar kering, kemudian ditimbang.

##### 2. Membuat Kurva Kalibrasi OD vs $N_{sel}$

Kurva ini dibuat dengan cara menghitung jumlah sel ( $N$ ) beberapa sampel mikroalga dengan menggunakan mikroskop lalu mengukur OD-nya pada spektrofotometer.

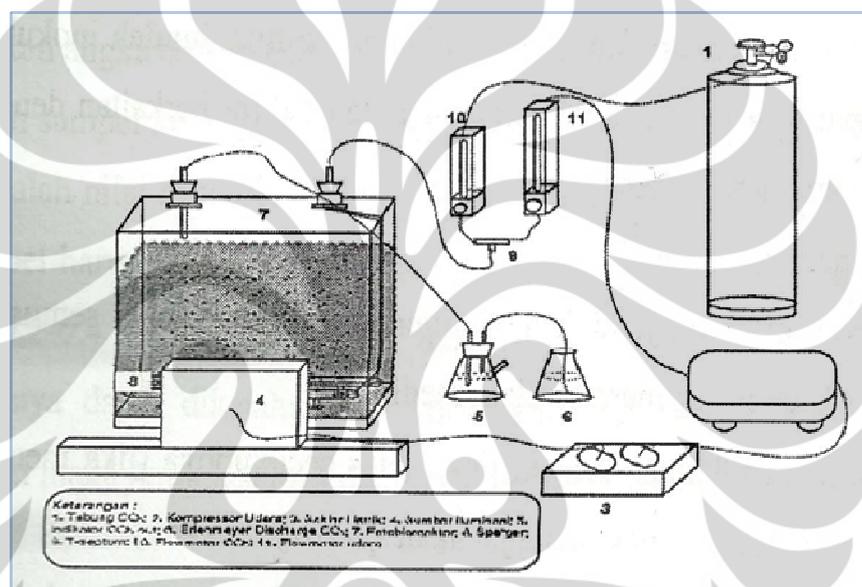
#### 3.4.7. *Running* Fotobioreaktor

Pada penelitian ini jumlah inokulum awal yang digunakan bervariasi yaitu OD 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 dan 1.1. Untuk pembuatannya dilakukan cara:

1. Pemiakan kultur selama 2-3 hari, lalu kultur tersebut disentrifugasi dan mediumnya dibuang agar inokulum dapat dicampurkan dalam medium baru.
2. Menghitung jumlah inokulum yang telah disentrifugasi.

3. Penambahan medium disesuaikan dengan hasil penghitungan jumlah inokulum.
4. Memindahkan inokulum sebanyak  $250 \text{ cm}^3$  ke dalam reactor yang telah steril.
5. Reaktor lalu di-*bubbling* dengan udara dari kompresor dan dicampur dengan  $\text{CO}_2$  5%. Pencahayaan menggunakan lampu dan intensitas yang diperlukan disesuaikan dengan variasi penelitian.

Berikut ini merupakan Gambaran skema perancangan fotobioreaktor untuk kultivasi *Nannochloropsis sp.*



Gambar 3.2. Skema Perancangan Fotobioreaktor untuk Kultivasi *Nannochloropsis sp*

Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap yaitu tahap pertama adalah mencari intensitas cahaya untuk laju pertumbuhan paling optimum ( $I_{\mu\max, opt}$ ) dari tiap jumlah inokulum ( $N_0$ ), kemudian tahap kedua adalah alterasi dari intensitas cahaya untuk laju pertumbuhan paling maksimum ( $I_{\mu\max, opt}$ ) secara simultan sesuai dengan pertambahan jumlah sel ( $N$ )/biomassa ( $X$ ) selama masa kultivasi.

Parameter penentuan intensitas cahaya paling maksimum dari suatu jumlah inokulum ini adalah laju pertumbuhan optimum sel/biomassanya. Tahap pertama ini dilakukan dalam rentang waktu 7.5 jam. Dengan pertimbangan pada rentang waktu tersebut sudah diperoleh profil laju pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* dengan menghitung *slope* dari data yang didapat.

Setelah memperoleh intensitas cahaya paling optimum ( $I_{\mu max, opt}$ ) dari tiap jumlah inokulum, maka dilakukan tahapan alterasi pencahayaan. Pada tahap alterasi ini akan digunakan jumlah inokulum sebesar OD 0.2 dan intensitas cahaya awal ( $I_0$ ) sesuai dengan intensitas cahaya untuk laju pertumbuhan paling maksimum ( $I_{\mu max, opt}$ ) yang didapat untuk jumlah inokulum ini pada tahap pertama. Perbedaan tahap pertama dan tahap kedua yaitu, pada tahap kedua intensitas cahaya akan ditingkatkan sesuai dengan peningkatan jumlah sel/biomassa pada kultur. Peningkatan intensitas cahaya yang digunakan mengacu pada hasil penelitian pada tahap pertama. Kemudian sebagai pembandingan dilakukan juga pencahayaan kontinu pada jumlah inokulum sebesar OD 0.2 dengan intensitas cahaya paling maksimum ( $I_{\mu max, opt}$ ) yang didapatkan pada tahap pertama.

Yang perlu diperhatikan adalah semua prosedur penelitian yang dilakukan ini harus dipastikan dilakukan secara aseptik dengan menggunakan bunsen dan alkohol 70% untuk menghindari atau mengurangi efek kontaminasi. Hal ini sangat penting karena efek kontaminasi dapat menghambat pertumbuhan mikroalga ini.

Pada penelitian ini digunakan kondisi operasi sebagai berikut:

1. Temperatur fotobioreaktor sebesar 29°C.
2. Tekanan gas dan udara dalam fotobioreaktor sebesar 1 atm.
3. Kecapatan superficial ( $U_G$ ) sebesar 12.037 m/jam.
4. Konsentrasi CO<sub>2</sub> sebesar 5% dalam udara sebagai asupan fotobioreaktor.

#### 3.4.8. Pengambilan Data

Data yang diambil selama proses percobaan ini yaitu:

1. pH fotobioreaktor
2. Intensitas cahaya belakang reactor [ $I_b$ ] ( $lx$ )
3. Kerapatan sel [N/OD] ( $sel/cm^3$ )
4. Konsentrasi gas CO<sub>2</sub> dalam udara input dan output [ $y_{CO_2}$ ]

Langkah-langkah pengambilan data:

1. Sampel diambil dari masing-masing reaktor untuk dihitung jumlah selnya/absorbansinya ( $N/OD$ ), bersamaan dengan mengambil nilai pH, konsentrasi  $CO_2$  dalam udara input dan output ( $y_{CO_2}$ ) dan intensitas cahaya yang ditransmisikan ke belakang reaktor ( $I_b$ ).
2. Langkah-langkah pengambilan data diulangi setiap interval waktu yang telah ditetapkan (contoh tiap 1 atau 2 jam).

#### 3.4.9. Pengujian Kandungan Lipid

Pada penelitian ini dilakukan pengujian lipid untuk mengetahui besarnya kandungan asam lemak omega-3 yang ada pada biomassa *Nannochloropsis sp.* Pengambilan data lipid dilakukan dengan metode soklet dengan prosedur berikut:

1. Sampel mikroalga hasil kultivasi sebanyak 1.5 L disentrifuge selama 10 menit sekitar 5000 rpm sehingga terjadi pemisahan antara mikroalga dan medium.
2. *Cake* dipisahkan dari supernatannya kemudian diukur volumenya. Lalu *cake* tersebut dikeringkan dengan menggunakan hotplate/oven.
3. Sampel *cake* yang telah dikeringkan lalu ditimbang kemudian dipreparasi hingga bentuknya menjadi bubuk halus.
4. Sampel lalu ditimbang sebanyak 100 gram, kemudian dilakukan proses ekstraksi untuk memperoleh minyaknya dengan menggunakan seperangkat soklet dan pelarut n-heksan. Proses ekstraksi ini dilakukan 5-6 jam.
5. Setelah diperoleh campuran lipid (berwarna kuning), lipid tersebut dipindahkan ke dalam cawan dan dikeringkan menggunakan hotplate/oven untuk menguapkan pelarut n-heksan. Sesudah kering, lipid kering tersebut kembali ditimbang.
6. Berat lipid didapatkan dari selisih antara berat cawan kosong dan berat cawan dengan lipid kering.
7. Analisis kandungan lipid tersebut kemudian dilakukan dengan menggunakan instrumen GC-MS

### 3.5. Metode Perhitungan Hasil Data Observasi

Variabel penelitian yang diambil yaitu  $OD_{540}$ , pH,  $y_{CO_2}$  dan  $I_b$  akan diolah menggunakan beberapa metode perhitungan, antara lain:

#### 3.5.1. Perhitungan $\mu$ (Monod, 1949)

Laju pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) adalah laju pertumbuhan sel/produksi biomassa pada fasa logaritmik yang merupakan waktu yang dibutuhkan untuk sekali pembelahan sel. Pada penelitian ini perhitungan laju pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) menggunakan persamaan monod:

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

Dimana

$\mu$  = laju pertumbuhan spesifik ( $h^{-1}$ )

$N$  = jumlah sel ( $sel/cm^3$ )

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

$t$  = waktu (h)

#### 3.5.2. Perhitungan $X$

Jumlah biomassa yang dihasilkan dari kultur mikroalga dapat dihitung secara langsung dengan mengkorelasikan hasil pengukuran kerapatan (*optical density*) pada 540 nm ( $OD_{540}$ ) dari kultur mikroalga dengan menggunakan kurva kalibrasi  $OD_{540}$  vs berat kering sel *Nannochloropsis sp.* yang telah dibuat di awal penelitian (Wijanarko, 1998; Rocha, 2003).

#### 3.5.3. Perhitungan $[HCO_3^-]$ (Wijanarko, 2004).

Dengan menggunakan persamaan *Henderson-Hasellbach*, dapat dicari besar konsentrasi  $[HCO_3^-]$  dalam reaktor, yaitu:

$$K_{CO_2} = \frac{[HCO_3^-].[H^+]}{[CO_2]} \quad (\text{Wijanarko, 2000}) \dots \dots \dots (3.2)$$

$$[HCO_3^-] = K_{CO_2}[CO_2][H^+] \quad \dots \dots \dots (3.3)$$

$$[HCO_3^-] = K_{CO_2}[CO_2]10^{-pH} \quad \dots \dots \dots (3.4)$$

Sedangkan untuk mencari nilai  $K_a$  dan  $[CO_2]$  digunakan pendekatan hukum Henry.

$$PCO_2 = HCO_{2,0} \cdot [CO_2] \quad \dots\dots\dots(3.5)$$

$$PCO_2 = \frac{yCO_2}{P_T} \quad \dots\dots\dots(3.6)$$

$$\ln\left(\frac{HCO_{2,0}}{HCO_{2,0}}\right) = A_H \left(1 - \frac{T_0}{T}\right) + B_H \cdot \ln\left(\frac{T}{T_0}\right) + C_H \left(\frac{T}{T_0} - 1\right) \quad \dots\dots\dots(3.7)$$

(Wijanarko, 2000)

$$\ln\left(\frac{HCO_{2,0}}{HCO_{2,0}}\right) = A_k \left(1 - \frac{T_0}{T}\right) + B_k \cdot \ln\left(\frac{T}{T_0}\right) + C_k \left(\frac{T}{T_0} - 1\right) \quad \dots\dots\dots (3.8)$$

(Wijanarko, 2000)

Dengan menggabungkan kedua persamaan di atas, maka kandungan bikarbonat  $[HCO_3^-]$  dapat dicari dengan menggunakan persamaan:

$$[HCO_3^-] = \left(\frac{KCO_{2,0}}{HCO_{2,0}}\right) \left(\frac{yCO_2 \cdot P_T}{10^{-pH}}\right) \left(\frac{\text{EXP}\left(A_k\left(1 - \frac{T_0}{T}\right) + B_k \cdot \ln\left(\frac{T}{T_0}\right) + C_k\left(\frac{T}{T_0} - 1\right)\right)}{\text{EXP}\left(A_H\left(1 - \frac{T_0}{T}\right) + B_H \cdot \ln\left(\frac{T}{T_0}\right) + C_H\left(\frac{T}{T_0} - 1\right)\right)}\right) \quad \dots\dots\dots(3.9)$$

Dimana:

$P_T$  = temperatur operasi (atm)

$yCO_2$  = konsentrasi gas  $CO_2$  yang diumpankan

$KCO_{2,0}$  =  $4,38 \cdot 10^{-7}$

$HCO_{2,0}$  =  $2900 \text{ kPa} \cdot \text{kg/mol}$

$T$  = temperatur operasi (K)

$T_0$  = temperatur standar (K)

Konstanta-konstanta aktivitas gas  $CO_2$ :

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

$A_H = 22,771$     $B_H = -11,452$     $C_H = -3,117$

#### 3.5.4. Perhitungan CTR dan $q_{CO_2}$ (Wijanarko, 2003)

CTR (*Carbon Transfer Rate*) merupakan banyaknya gas  $CO_2$  yang ditransferkan dalam suatu volum medium yang dibutuhkan oleh metabolisme sel selama satu satuan waktu tertentu. Persamaan untuk perhitungan CTR adalah seperti ditunjukkan di bawah ini:

$$CTR = \Delta y CO_2 \cdot \alpha CO_2 \quad \dots\dots\dots (3.10)$$

$$\text{Dimana: } \alpha CO_2 = \frac{U_G \cdot A \cdot M_{CO_2} \cdot P}{V_{med} \cdot R \cdot T}$$

Dengan:

- $U_G$  = kecepatan superficial gas yang diumpankan ( $\text{dm}^3/\text{hr}$ )  
 $A$  = luas permukaan reaktor yang menghadap ke sumber cahaya ( $\text{m}^2$ )  
 $M_{\text{CO}_2}$  = massa molekul relatif  $\text{CO}_2$  ( $\text{gr/mol}$ )  
 $P$  = tekanan operasi ( $\text{atm}$ )  
 $V_{\text{med}}$  = volume medium ( $\text{dm}^3$ )  
 $R$  = konstanta *Rydberg* =  $0,08205 \text{ dm}^3 \cdot \text{atm/mol} \cdot \text{K}$   
 $T$  = temperatur operasi ( $\text{K}$ )

Sedangkan untuk  $q_{\text{CO}_2}$  adalah laju gas  $\text{CO}_2$  yang ditransfer dalam suatu volum medium karena adanya aktivitas kehidupan biologi dalam satu satuan waktu tertentu.

$$q_{\text{CO}_2} = \frac{\Delta y_{\text{CO}_2} \cdot \alpha_{\text{CO}_2}}{X} \quad (\text{h}^{-1}) \dots\dots\dots (3.11)$$

Dimana:

- $X$  = berat kering 1 sel *Nannochloropsis sp.* X jumlah sel/ $\text{cm}^3$  ( $\text{g/dm}^3$ )  
 $\Delta y_{\text{CO}_2}$  = selisih antara konsentrasi  $\text{CO}_2$  pada gas keluaran dan gas masukan bioreaktor tembus cahaya.

### 3.5.5 Perhitungan $E_x$ dan $\eta$ (Hirata, 1996)

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

$$E_o = A \int_0^t (I_i - I_t) dt \quad \dots\dots\dots (3.12)$$

sedangkan total energi cahaya yang terserap selama masa kultivasi adalah

$$E_t = A \int_0^t I_t dt \quad \dots\dots\dots (3.13)$$

Dimana:

- $A$  = luas permukaan plat iluminasi ( $\text{m}^2$ )  
 $I_t$  = intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh kultur medium ( $\text{W/m}^2$ )

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

$T$  = waktu (jam)

Dengan nilai konversi  $1 \text{ lux} = 2.95 \times 10^{-3} \text{ W/m}^2$

Dan untuk mencari nilai  $E_x$  (energi cahaya yang dimanfaatkan selama kultivasi) dan  $E$  (energi cahaya yang tersedia selama kultivasi) yakni:

$$E_t = \frac{\int_0^t I_t dt}{\Delta X \cdot s} \dots\dots\dots (3.14)$$

$$E = \frac{\int_0^t (I_i - I_t) dt}{\Delta X \cdot s} \dots\dots\dots (3.15)$$

Dimana:

$\Delta X$  = berat biomassa yang dihasilkan selama masa kultivasi  
( $g/dm^3$ )

$s$  = jarak yang ditempuh cahaya di dalam kultur medium (m)  
dengan demikian dapat dicari besarnya nilai efisiensi konversi energi  
cahaya untuk pembentukan biomassa ( $\eta_{bp}$ ):

$$\eta_{bp} = \frac{E_x}{E} \times 100\% \dots\dots\dots (3.16)$$

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

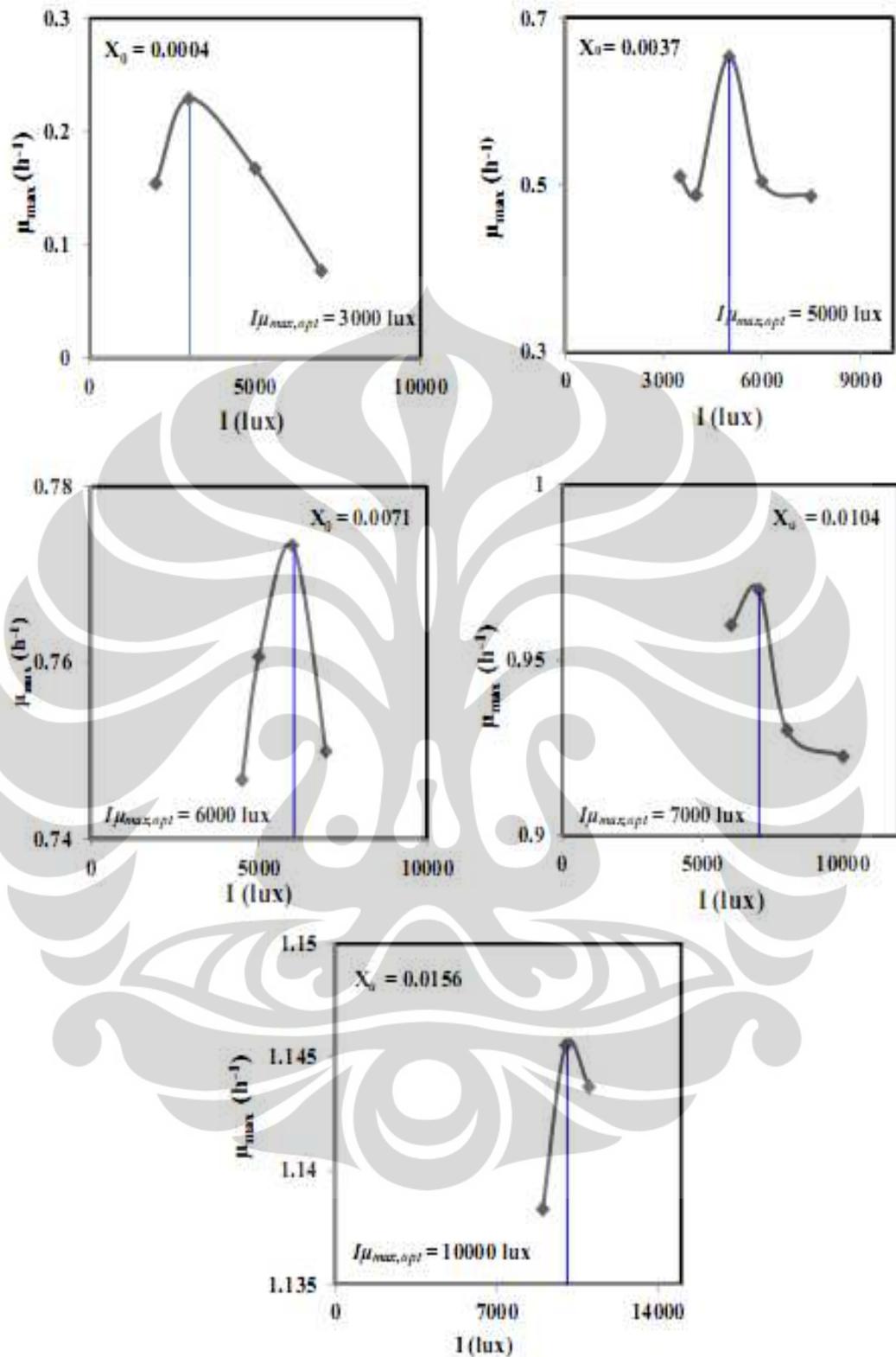
#### 4.1 Penentuan Intensitas Cahaya yang Memberikan Laju Pertumbuhan Spesifik Maksimum ( $I_{\mu_{max,opt}}$ ) pada Inokulum tertentu

Pada tahap pertama penelitian ini dilakukan kultivasi terhadap 5 variasi inokulum ( $N_0$ ) *Nannochloropsis sp.* yakni OD 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 dan 1.1 pada skala intensitas cahaya 3000 lx sampai 10000 lx. Tujuan dilakukan kultivasi ini adalah untuk memperoleh laju pertumbuhan spesifik paling maksimum pada inokulum tersebut.

$I_{\mu_{max,opt}}$  akan didapatkan ketika laju pertumbuhan maksimum ( $\mu_{max}$ ) *Nannochloropsis sp.* pada jumlah inokulum ( $N_0$ ) tertentu dalam fotobioreaktor kolom gelembung mencapai nilai optimum (Wijanarko et al, 2005). Pada tahap pertama ini, pencahayaan dilakukan secara kontinu dan intensitas cahaya yang digunakan divariasikan antara 3000-10000 lx. Penentuan skala intensitas ini berdasarkan literatur yang menyebutkan bahwa laju pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis sp.* dapat terus meningkat pada pencahayaan kontinu sampai pada 29,5 W/m<sup>2</sup> (Coutteau, 1996). Data dan plot nilai I vs X pada tahap ini dapat dilihat pada Lampiran A dan B.

Setelah titik pencahayaan paling maksimum ( $I_{\mu_{max,opt}}$ ) tercapai, bila intensitas cahaya terus dinaikkan maka akan terjadi penurunan laju pertumbuhan sel. Sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.1, bahwa pada intensitas cahaya yang melebihi titik maksimumnya, laju pertumbuhannya akan turun drastis. Hal ini sesuai dengan literatur bahwa hubungan antara intensitas cahaya terhadap laju fotosintesis dan pertumbuhan autotropik menunjukkan fungsi hiperbolik dengan penghambatan pertumbuhan terjadi pada intensitas cahaya superjenuh (*supersaturated*) (Hirata et al, 1996).

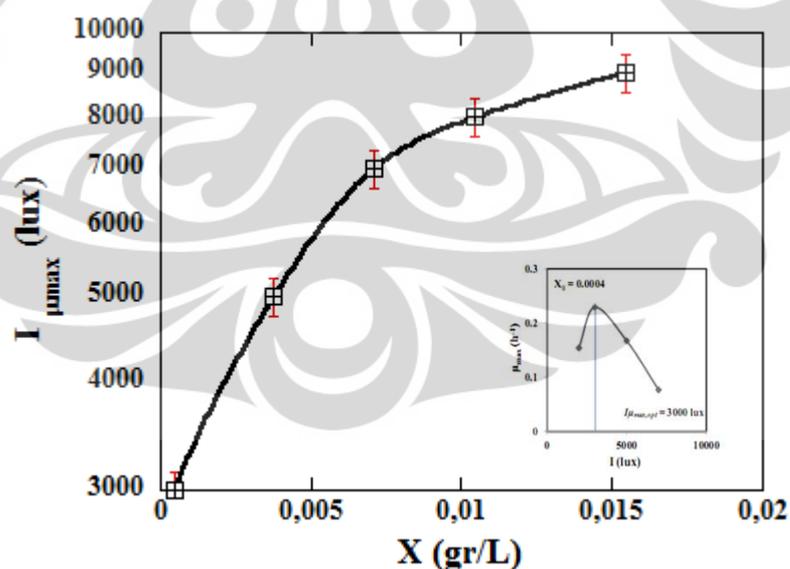
Grafik berikut ini menunjukkan hubungan intensitas cahaya ( $I$ ) dengan laju pertumbuhan maksimum ( $\mu_{max}$ ) *Nannochloropsis sp.* pada  $N_0$  tertentu:



Gambar 4.1 Hubungan Intensitas Cahaya ( $I$ ) dengan Laju Pertumbuhan Maksimum ( $\mu_{max}$ ) *Nannochloropsis Sp.* Pada Variasi Jumlah Inokulum ( $N_0$ )

Kurva-kurva pada Gambar 4.1 diperoleh dari plot nilai  $\mu_{max}$  tiap variasi intensitas cahaya ( $I$ ) pada inokulum tertentu yang mengacu pada grafik  $X$  vs  $I$  tiap inokulum pada Lampiran B. Dari Gambar 4.1 terlihat bahwa semakin banyak jumlah inokulum, maka semakin besar pula intensitas cahaya yang diperlukan untuk mendapatkan laju pertumbuhan paling maksimumnya. Hal ini membuktikan bahwa fotobioreaktor merupakan suatu sistem yang homogen pada setiap titik dimana jumlah sel mikroalga tersebar secara merata, sehingga semakin tinggi inokulum maka diperlukan intensitas cahaya yang lebih besar agar seluruh permukaan sel mendapatkan intensitas cahaya yang cukup (Wijanarko et al, 2005). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini juga sesuai dengan hasil yang didapatkan oleh Hirata et.al (1996) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi intensitas cahaya yang diberikan maka akan didapatkan laju pertumbuhan sel mikroalga yang semakin tinggi pula, sampai titik maksimumnya.

Karena setiap inokulum memiliki intensitas cahaya untuk laju pertumbuhan paling maksimum ( $I_{\mu_{max,opt}}$ ) tertentu, maka dapat dibuat plot antara berat kering sel/biomassa ( $X$ ) dan  $I_{\mu_{max,opt}}$  sebagai berikut:



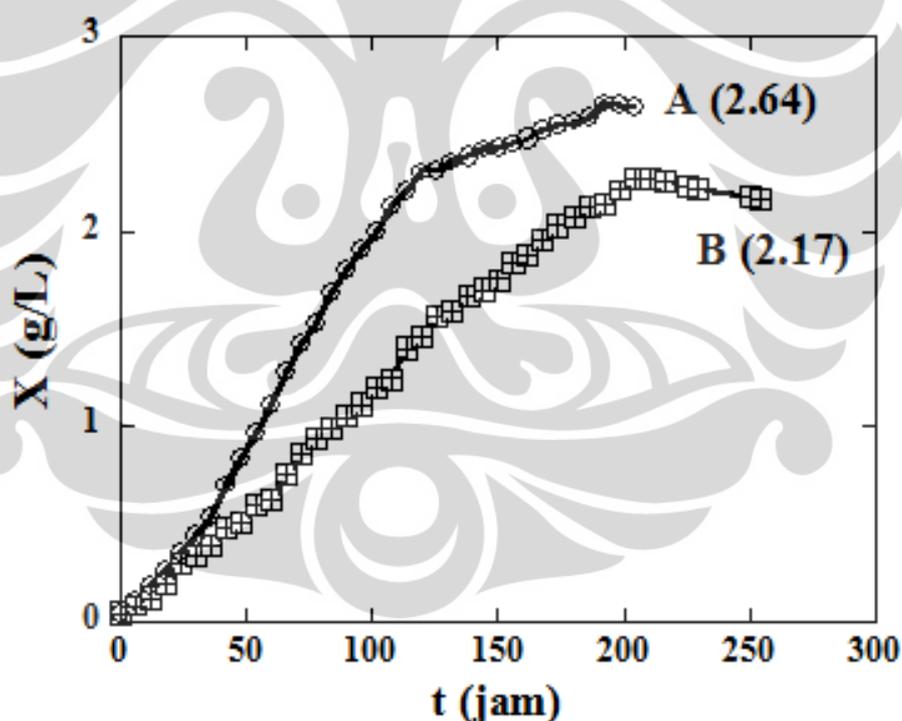
Gambar 4.2 Nilai  $I_{\mu_{max,opt}}$  pada Berbagai Berat Kering Sel ( $X$ )

Kurva di atas akan menjadi acuan pada tahap alterasi pencahayaan dimana pencahayaan akan menggunakan  $I_{\mu_{max,opt}}$  dan akan selalu sesuai dengan perkembangan jumlah sel ( $N$ )/produksi biomassa ( $X$ ) selama masa kultivasi.

### 4.3 Pengaruh Alterasi Pencahayaan terhadap Produksi Biomassa ( $X$ ) *Nannochloropsis sp.*

Pada penelitian ini inokulum awal yang digunakan sebesar OD 0.2 dan  $I_{\mu max, opt}$  yang digunakan pada awal kultivasi adalah 3000 lx sesuai hasil penelitian tahap pertama. Tujuan kultivasi ini adalah untuk memperoleh kelimpahan sel yang tinggi dalam periode waktu yang singkat (Kawaroe et al, 2010). Selanjutnya  $I_{\mu max, opt}$  akan ditingkatkan sesuai perkembangan jumlah sel/biomassa pada kultur. Peningkatan  $I_{\mu max, opt}$  ini berdasarkan grafik hasil penelitian tahap pertama (Gambar 4.2).

Sebagai pembanding dikultivasi juga inokulum *Nannochloropsis sp.* pada OD 0.2 dan  $I_{\mu max, opt}$  3000 lx secara kontinu. Grafik yang didapat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 4.3 Pengaruh Kondisi Pencahayaan terhadap Produksi Biomassa (A: Alterasi Pencahayaan; B: Pencahayaan Tetap 3000 lx)

Dari Gambar 4.3 terlihat bahwa produksi biomassa mikroalga pembanding pada OD 0.2 dan  $I_{\mu max, opt}$  3000 lx membentuk kurva lebih

landai dan gradiennya lebih kecil daripada perlakuan alterasi. Data dan perhitungan mengenai grafik di atas dapat dilihat pada Lampiran A dan C.

Menurut Monod (1949), gradien kemiringan dari setiap kurva menunjukkan laju produksi biomasanya.

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

Dimana

$\mu$  = laju pertumbuhan spesifik ( $h^{-1}$ )

$N$  = jumlah sel ( $sel/cm^3$ )

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

$t$  = waktu (h)

maka dapat dipastikan berdasarkan Gambar 4.4 bahwa laju produksi biomassa pada alterasi pencahayaan lebih tinggi dibandingkan laju produksi biomassa pada pencahayaan tetap. Hasil perhitungan berat kering sel akhir ( $X_f$ ) adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1 Nilai berat kering sel akhir ( $X_f$ ) untuk tiap pencahayaan

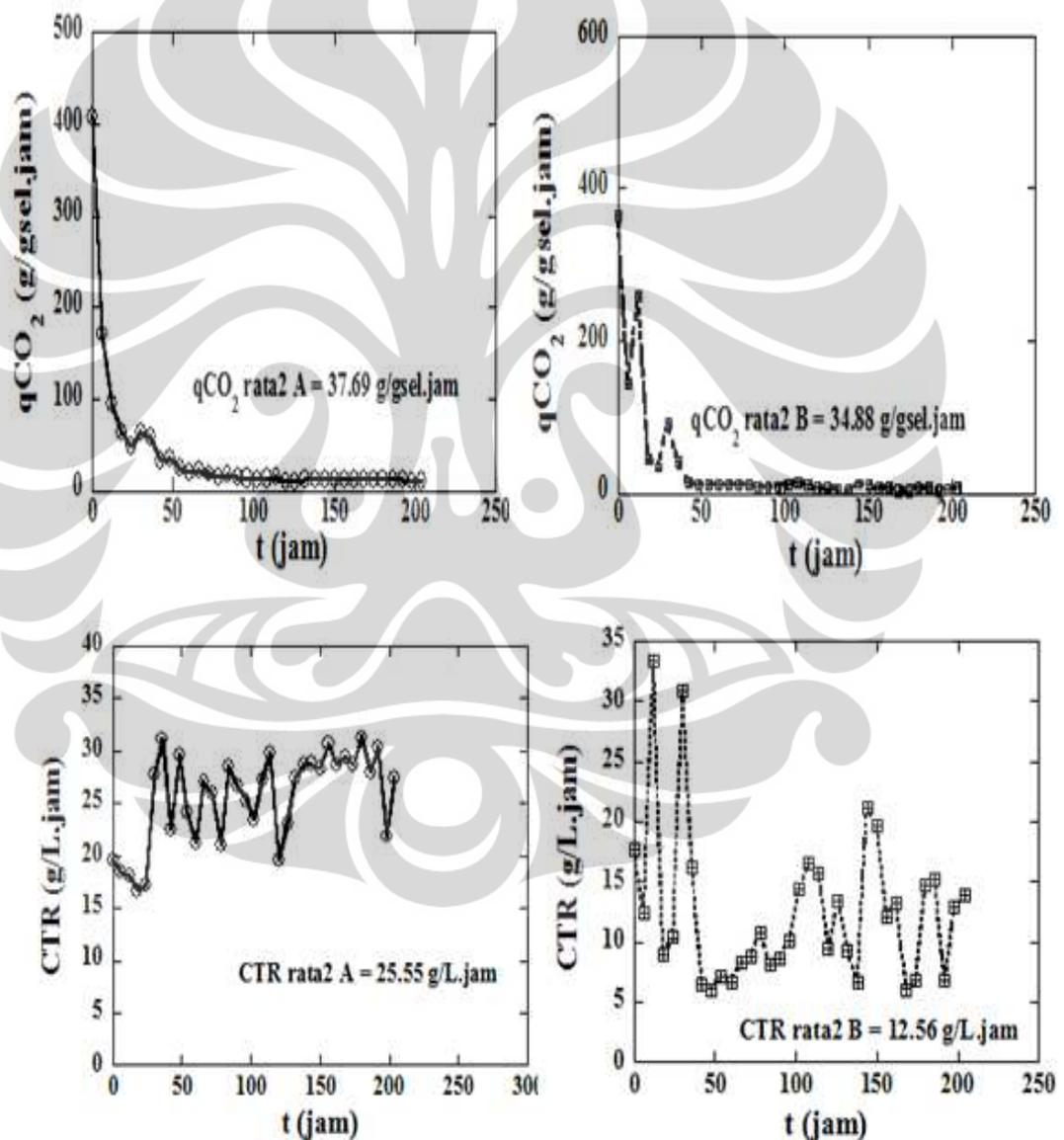
PENCAHAYAAN	INOKULUM	$X_f$ (g/L)
Alterasi	OD 0.203	2.6370
Tetap (3000 lx)	OD 0.203	2.1691

Dari tabel dapat disimpulkan bahwa produksi biomassa akhir yang dihasilkan pada alterasi pencahayaan lebih banyak dibandingkan dengan produksi biomassa akhir pencahayaan tetap. Hasil perhitungan tersebut menunjukkan bahwa alterasi pencahayaan pada inokulum OD 0,2 mampu menaikkan kemampuan produksi biomassa *Nannochloropsis sp.* sampai 1,22 kali lipat dengan masa kultivasi yang lebih singkat (204 jam) sampai 1,3 kali masa kultivasi pencahayaan kontinu (254 jam).

Kemudian dari beberapa variabel penelitian yang diambil seperti pH,  $I_b$  dan  $y_{CO_2}$ , dapat dihitung beberapa parameter penelitian lain seperti  $q_{CO_2}$ , CTR,  $[HCO_3^-]$ ,  $E_x$  dan  $\eta_{bp}$ .

#### 4.3.1 Perhitungan $q_{CO_2}$ dan CTR

Laju transfer  $\text{CO}_2$  spesifik ( $q_{\text{CO}_2}$ ) adalah laju gas  $\text{CO}_2$  yang ditransfer dalam suatu volume medium karena adanya aktivitas kehidupan biologi dalam satu satuan waktu tertentu, sedangkan CTR (*Carbon Transfer Rate*) merupakan banyaknya gas  $\text{CO}_2$  yang ditransfer dalam suatu volume medium dan dibutuhkan oleh metabolisme sel selama satu satuan waktu tertentu (Wijanarko, 2003). Kurva kecenderungan  $q_{\text{CO}_2}$  dan CTR terhadap waktu diperlihatkan pada Gambar di bawah.



Gambar 4.4 Pengaruh Kondisi Pencahayaan terhadap Kemampuan Fiksasi  $\text{CO}_2$  (A: Alterasi Pencahayaan; B: Pencahayaan Tetap 3000 lx)

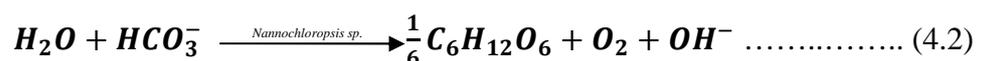
Dari Gambar 4.4 terlihat bahwa perlakuan alterasi juga mempengaruhi kemampuan fiksasi *Nannochloropsis sp.* Hasil yang didapat menunjukkan bahwa nilai rata-rata  $q_{CO_2}$  dan CTR yang digunakan untuk aktivitas biologi *Nannochloropsis sp.* pada alterasi pencahayaan masing-masing lebih besar 1,08 kali lipat dan 2,03 kali lipat dibandingkan dengan pencahayaan tetap. Data dan hasil perhitungan mengenai  $q_{CO_2}$  dan CTR dapat dilihat pada Lampiran D.

#### 4.3.2 Perhitungan $[HCO_3^-]$

Perhitungan terhadap  $[HCO_3^-]$  dimaksudkan untuk mengetahui jumlah  $[HCO_3^-]$  yang tersedia, yang dapat dikonsumsi oleh sel *Nannochloropsis sp.* dalam pertumbuhannya. Senyawa bikarbonat ( $[HCO_3^-]$ ) sendiri terbentuk karena adanya reaksi antara  $CO_2$  yang terlarut dalam larutan medium dengan air. Konsentrasi  $[HCO_3^-]$  dihitung dari perubahan pH kultur yang terjadi sebagai akibat adanya aktivitas pertumbuhan sel *Nannochloropsis sp.* Dari hasil penelitian yang sudah pernah dilakukan, menunjukkan bahwa peningkatan jumlah sel dalam kultur cenderung meningkatkan jumlah pH kultur. Pada saat gas  $CO_2$  masuk dalam kultur, proses yang terjadi adalah pembentukan senyawa bikarbonat (pada ekstra selular) seperti pada reaksi berikut:



Senyawa bikarbonat inilah yang kemudian diserap oleh sel *Nannochloropsis sp.* Proses metabolisme yang terjadi dalam sel selanjutnya adalah reaksi antara bikarbonat tersebut dan air yang terdapat dalam sel membentuk senyawa organik seperti glukosa dan ion  $OH^-$  sebagaimana tergambar pada persamaan reaksi berikut:



Dengan menggabungkan pendekatan hukum Henry, maka kandungan bikarbonat  $[HCO_3^-]$  dapat dicari dengan menggunakan persamaan:

$$[HCO_3^-] = \left( \frac{KCO_{2,0}}{HCO_{2,0}} \right) \left( \frac{yCO_2 \cdot P_T}{10^{-pH}} \right) \left( \frac{\text{EXP} \left( A_k \left( 1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_k \cdot \ln \left( \frac{T}{T_0} \right) + C_k \left( \frac{T}{T_0} - 1 \right) \right)}{\text{EXP} \left( A_H \left( 1 - \frac{T_0}{T} \right) + B_H \cdot \ln \left( \frac{T}{T_0} \right) + C_H \left( \frac{T}{T_0} - 1 \right) \right)} \right) \dots \dots \dots (4.3)$$

Dimana:

$P_T$  = temperatur operasi (atm)

$yCO_2$  = konsentrasi gas  $CO_2$  yang diumpankan

$KCO_{2,0}$  =  $4,38 \cdot 10^{-7}$

$HCO_{2,0}$  =  $2900 \text{ kPa} \cdot \text{kg/mol}$

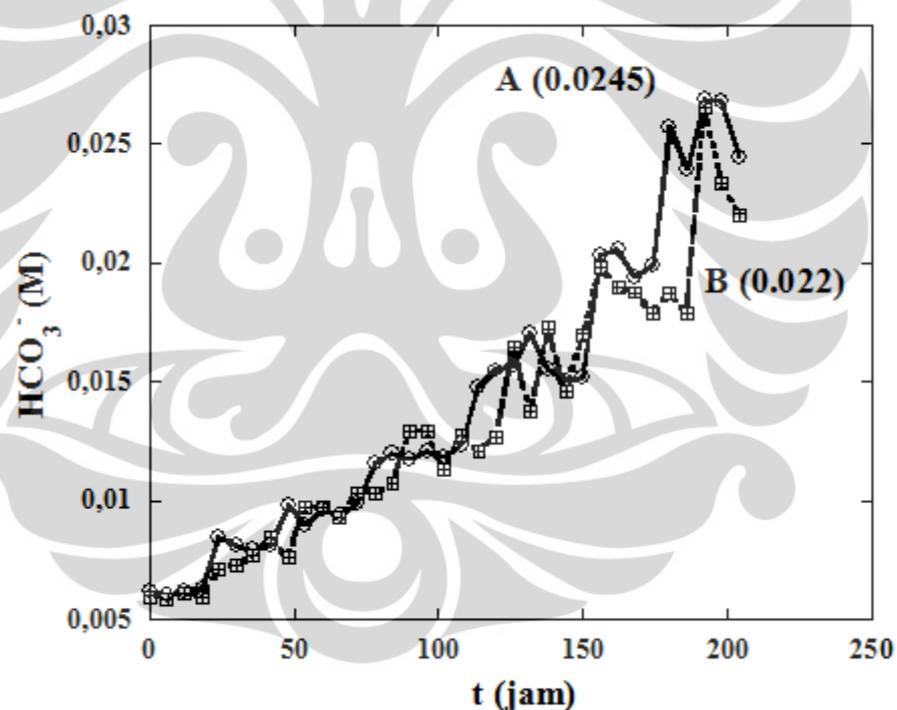
$T$  = temperatur operasi (K)

$T_0$  = temperatur standar (K)

Konstanta-konstanta aktivitas gas  $CO_2$ :

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

$A_H = 22,771$   $B_H = -11,452$   $C_H = -3,117$



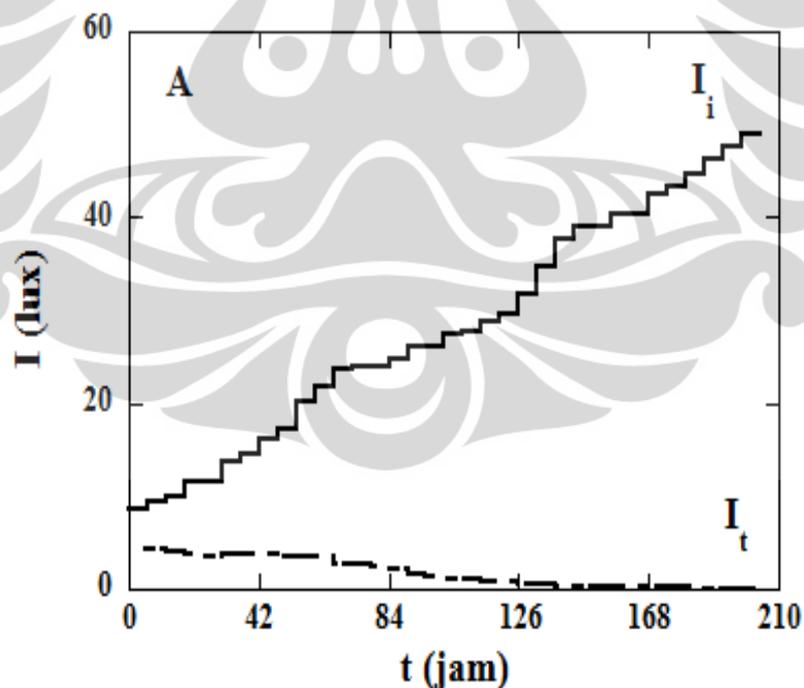
Gambar 4.5 Pengaruh Kondisi Pencahayaan terhadap  $[HCO_3^-]$  pada kultur (A: Alterasi Pencahayaan; B: Kontinu 3000 lx)

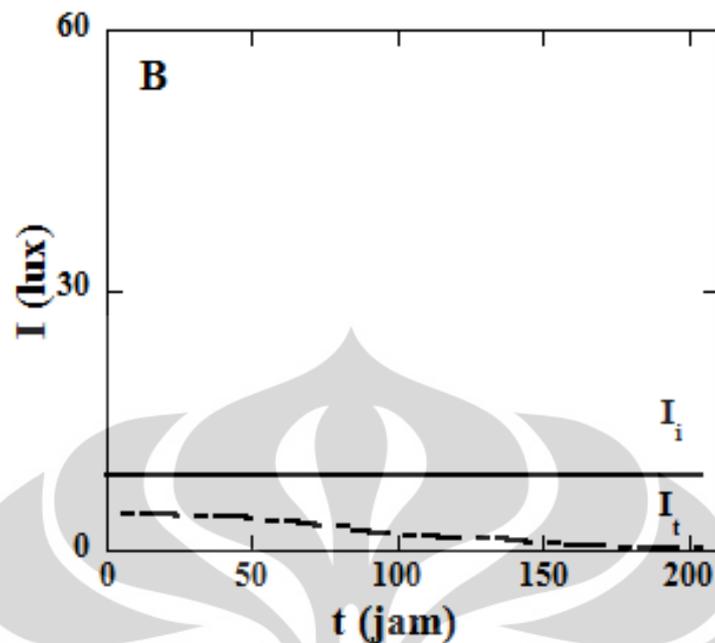
Karena besarnya konsentrasi spesi ion  $[HCO_3^-]$  sebanding dengan besarnya nilai pH, maka nilai  $[HCO_3^-]$  akan semakin besar dengan naiknya nilai pH dalam kultur.

Dari Gambar 4.5 didapatkan nilai maksimum  $[\text{HCO}_3^-]$  pada kultur referensi OD 0.2 adalah 0.022 M dan pada kultur alterasi adalah 0.0245 M. Dari hasil perhitungan tersebut dapat disimpulkan bahwa pada alterasi pencahayaan pada inokulum OD 0.2 konsentrasi spesi ion  $[\text{HCO}_3^-]$  dalam kultur meningkat sampai 1.11 kali lipat dibandingkan sistem pencahayaan kontinu pada intensitas maksimumnya dengan jumlah inokulum yang sama. Ini sejalan dengan fakta bahwa pada alterasi pencahayaan aktivitas sel yang terjadi sangat tinggi. Data dan hasil perhitungan  $[\text{HCO}_3^-]$  dapat dilihat Lampiran D.

#### 4.3.3 Perhitungan $E_x$ dan $\eta_{bp}$

Dari data  $I_0$  dan  $I_b$  yang diambil dalam penelitian maka dapat dihitung nilai  $I_i$  dan  $I_t$  pada alterasi pencahayaan dan pencahayaan kontinu, yang kemudian digunakan untuk menghitung energi yang digunakan untuk produksi biomassa ( $E_x$ ) dan efisiensi konversi energi cahaya untuk produksi biomassa ( $\eta_{bp}$ ).





Gambar 4.6 Plot  $I_i$  Dan  $I_t$  Pada Tiap Kondisi Pencahayaan (A: Alterasi Pencahayaan; B: Kontinu 3000 lx)

Dari perhitungan didapatkan nilai  $E_x$  dan  $\eta_{bp}$  sebagai berikut:

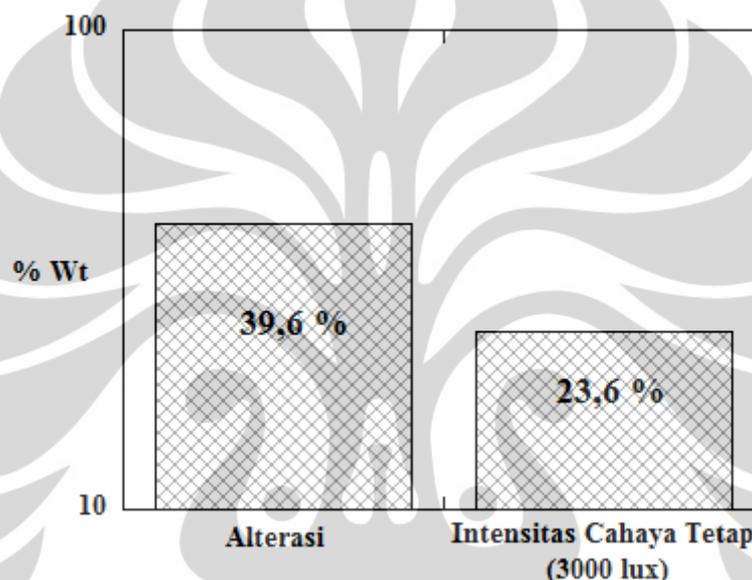
Tabel 4.2 Nilai  $E_x$  Dan  $\eta_{bp}$  Yang Diperoleh Pada Penelitian

PENCAHAYAAN	$E_x$ (KJ/g)	$\eta_{bp}$ (%)
Kontinu (3000 lx)	1325,69	36,07
Alterasi	793,75	12,27

Walaupun efisiensi konversi energi cahaya untuk produksi biomassa ( $\eta_{bp}$ ) pada pencahayaan kontinu lebih besar, namun energi yang digunakan untuk produksi biomassa ( $E_x$ ) pada alterasi pencahayaan lebih efisien/kecil 1.67 kali lipat dibandingkan dengan pada pencahayaan kontinu 3000 lx. Hal ini dikarenakan produksi biomassa yang lebih tinggi pada perlakuan alterasi dalam 204 jam masa kultivasinya. Kecilnya nilai  $\eta_{bp}$  pada perlakuan alterasi pencahayaan diakibatkan oleh besarnya energi cahaya yang tersedia pada kultur akibat peningkatan intensitas cahaya yang dilakukan selama masa kultivasi. Data serta hasil perhitungan  $E_x$  dan  $\eta_{bp}$  dapat dilihat pada Lampiran E.

#### 4.4. Pengaruh Pengaturan Pencahayaan terhadap Akumulasi Lipid *Nannochloropsis sp.*

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. Berikut ini adalah data besarnya lipid yang diekstraksi dari *Nannochloropsis sp.* dengan metode *soklet*.



Gambar 4.7 Pengaruh Variasi Pencahayaan terhadap Kandungan Lipid *Nannochloropsis sp.*

Berdasarkan Gambar 4.7 diatas terlihat bahwa pada mikroalga yang dikultivasi pada alterasi pencahayaan memiliki kadar lipid tertinggi 39.6 %. Sedangkan mikroalga pada pencahayaan kontinu hanya mencapai 23.6%. Hal ini terjadi karena pencahayaan merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi tingkat pertumbuhan dan perolehan sel dalam kultivasi juga berdampak pada kadar lipid dan minyak serta komposisinya dalam mikroalga (Pal, 2011). Intensitas cahaya masing – masing mikroalga berbeda mikroalga berbeda. Hal ini terlihat pada perbedaan laju pertumbuhan, biomassa, kandungan dan produktivitas lipid mikroalga.

Pada grafik tersebut juga dapat dilihat bahwa persentase lipid yang diperoleh tidak terlalu banyak. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi nitrogen dan

intensitas cahaya tinggi seluruh mikroalga memiliki laju pertumbuhan yang tinggi dengan biomassa yang juga tinggi tetapi umumnya memiliki kandungan dan produktivitas lipid yang rendah. sebaliknya pada konsentrasi nitrogen rendah menghasilkan laju pertumbuhan dan biomassa yang rendah. hal ini dapat diartikan bahwa pada umumnya meningkatnya konsentrasi nitrogen dapat menyebabkan peningkatan biomassa, protein, klorofil, tetapi lipid menurun. Pada konsentrasi nitrogen rendah mikroalga memiliki laju pertumbuhan dan biomassa rendah tetapi memiliki kandungan lipid yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Simionato (2010) yang menyatakan bahwa pencahayaan yang kuat secara tidak langsung memang dapat mempengaruhi akumulasi lemak jika dikombinasikan dengan tekanan lain atau keberadaan CO<sub>2</sub> berlebih. Menurut Becker *et.al* (1994), 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.

Kimball (1991) berpendapat bahwa ada hubungan metabolisme antara karbohidrat, protein, dan lemak yaitu kompetisi asetil ko-A, yang merupakan precursor pada beragam jalur biosintesis seperti lemak, protein, dan karbohidrat. pada kondisi stress lingkungan yaitu konsentrasi nitrogen rendah, mikroalga akan cenderung membentuk lipid sebagai cadangan makanan daripada membentuk karbohidrat dan senyawa lainnya. Hal ini disebabkan karena mikroalga lebih banyak menggunakan atom karbon untuk membentuk lipid daripada karbohidrat, sebagai akibat meningkatnya aktifitas enzim asetil ko-A karboksilase (Sheehan *et al.* 1998).

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 membrane 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.* 1994).

Terkait dengan analisis kandungan asam lemak dengan menggunakan GC-MS maka diperoleh komposisi kandungan senyawa pada hasil kultivasi mikroalga *Nannochloropsis sp.* pada penelitian ini antara lain (kromatogram dapat dilihat pada Lampiran F):

Tabel 4.3 Komposisi Kandungan Senyawa Pada Hasil Kultivasi Mikroalga *Nannochloropsis sp.*

Senyawa Yang Terkandung	Alterasi (%)	Pencahayaan Tetap (%)	Senyawa Yang Terkandung	Alterasi (%)	Pencahayaan Tetap (%)
Octamethylcyclotetrasiloxane	3,79	2,00	(+)-4-cholesten-3-one	5,49	-
1,2-Benzenedicarboxylic acid, 1,2-bis(2-methylpropyl) ester	6,34	1,22	(3beta,5alpha)-ergost-8(14)-en-3-ol	2,49	-
Methyl Hexadecanoate	1,43	1,22	$\alpha$ -Amyrin	1,75	0,86
Dibutyl phtalate	5,22	2,74	Cholest-5-en-3-ol(3b)-	6,10	2,66
1-Docosene	1,15	0,35	Stigmast-5-en-3-ol, (3b)- ( $\beta$ -Sitosterol )	13,73	2,36
			1-Octadecene	1	-

Dari tabel diatas kita dapat melihat bahwa mikroalga *Nannochloropsis sp.* mengandung senyawa-senyawa yang bermanfaat, seperti Methyl Hexadecanoate,  $\beta$ -Sitosterol, serta beberapa senyawa penyusun omega-3 (dapat dilihat di Lampiran F). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa alterasi pencahayaan dapat meningkatkan kadar senyawa yang bermanfaat yang terkandung dalam mikroalga dan pengembangan lebih lanjut untuk peningkatan produksi mikroalga *Nannochloropsis sp.* sangat potensial.

## BAB 5

### KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini dengan mengkultivasi *Nannochloropsis sp.* dengan variasi pengaturan pencahayaan pada temperatur 29°C, tekanan operasi 1 atm, sumber pencahayaan lampu 20W/12V/50Hz, dan konsentrasi CO<sub>2</sub> 5 % adalah :

1. Intensitas cahaya optimum untuk berbagai kondisi densitas sel telah didapatkan dan terangkum dalam Gambar 4.2 dengan korelasi sebagai berikut:

$$I_{\mu max, opt} = 434926X + 2964,1$$

Pengaturan pencahayaan optimum dengan alterasi ini telah berhasil meningkatkan produksi biomassa ( $X$ ) *Nannochloropsis sp.* sampai 1.22 kali lipat lebih tinggi dibandingkan pencahayaan pada intensitas tetap pada  $I_{\mu max, opt}$  nya dengan jumlah inokulum yang sama serta masa kultivasi yang lebih singkat (204 jam) dan energi untuk produksi biomassa ( $E_x$ ) yang lebih efisien (793,75 KJ/g). Pengaturan ini juga berhasil meningkatkan perolehan nilai rata-rata  $q_{CO_2}$ , CTR dan pembentukan [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] nya masing-masing lebih besar 1,08 kali lipat, 2,03 kali lipat dan 1,11 kali lipat dibandingkan dengan pencahayaan intensitas tetap.

2. Pencahayaan yang kuat secara tidak langsung memang dapat mempengaruhi akumulasi lemak jika dikombinasikan dengan tekanan lain atau keberadaan CO<sub>2</sub> berlebih. Hal ini dibuktikan melalui mikroalga yang dikultivasi pada alterasi pencahayaan memiliki kadar lipid lebih tinggi (39.6 %) dibandingkan kadar lipid pada pencahayaan kontinu.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Andika, S.M.K. (2010). Skripsi: *Peningkatan Produksi Biomassa Chlorella Vulgaris Buitenzorg dengan Alterasi Pencahayaan dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung*. Departemen Teknik Kimia. Depok, Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Anonim. (2008). *Pengaruh Pemberian Konsentrasi Urea yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Nannochloropsis oculata (Diakses pada tanggal 17 Desember 2008)*
- Aoronson, S, et.al. (1982). *Mass production of microalgae*. Journal Experientia, 38:36- 40.
- Becker, E.W. (1994). *Microalgae: Biotechnology and Microbiotechnology*, Cambridge University Press.
- Bentley, C. D., et al. (2008). *Intensive Rotifer Production in a Pilot-scale Continuous Culture Recirculating System Using Nonviable Microalgae and an Ammonia Neutralizer*. Issue Journal of the World Aquaculture Society 39(5): 625–635.
- Boussiba S, Vonshak, et.al. (1987). *Lipid and biomass production by the halotolerant microalga Nannochloropsis salina*. Biomass 12:37–47
- Budiman (2011). *Penentuan Intensitas Cahaya Optimum Pada Pertumbuhan Dan Kadar Lipid Mikroalga Nannochloropsis Oculata*. Departemen Kimia. Surabaya, Institut Teknologi Surabaya.
- Burlew, J. S. (1995). *Alga Culture from Laboratories to Pilot Plant*. Carnegie Institution of Washington. Washington Cotteau, P. Microalgae. In: Manual on Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. 2: 8-47.
- Coutteau, P., (1996). *Micro-algae: Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper 361. FAO, Rome.
- Darmawan, H. (2010). Skripsi: *Pengaturan Kecepatan Aliran Hisap Dalam Perlakuan Filtrasi Pada Sirkulasi Aliran Media Kultur Untuk Peningkatan*

- Produksi Biomassa Chlorella Vulgaris Buitenzorg*. Departemen Teknik Kimia. Depok, Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Erlania (2010). *Pemanfaatan Mikroalga Sebagai Sumber Pangan Alternatif dan Bahan Fortifikasi Pangan*. Jakarta Selatan, Pusat Riset Perikanan Budidaya.
- Guschina IA, Harwood JL. (2006) *Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae*. Prog Lipid Res 45:160–186
- Herdiana, C. (2011). Skripsi: *Studi Komparasi Teknik Pemecahan Dinding Sel Pada Ekstraksi Lipid Mikroalga Chlorella Vulgaris Buitenzorg*. Departemen Teknik Kimia. Depok, Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Hirata S., M. Taya. (1996). *Characterization of Chlorella Cell Cultures in Batch and Continous Operations under a Photoautotrophic Condition*. Journal of Chemical Engineering of Japan 29(6):953-959
- Katsumi, Y. (1997). *Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review*. Journal of Applied Phycology 8: 487-502.
- Khozin-Goldberg, et.al. (2002). *Nitrogenstarvation induces the accumulation of arachidonic acid in the freshwater green alga Parietochloris incisa (Trebouxiophyceae)*. Journal Phycol 38:991–994
- Lammers, P. (2009). *Biomass and Bioproducts from Nannochloropsis sp. Biological Capture & Utilization of CO<sub>2</sub>* St. Louis, MO Washington University
- Manurung, D. M. (2009). Skripsi: *Komposisi Kimia, Asam Lemak Dan Kolesterol Udang Ronggeng (Harpiosquilla Raphidea) Akibat Perebusan*. Departemen Perikanan dan Kelautan. Bogor, Institut Pertanian Bogor.
- Meka, T. F. N. (2009). Skripsi: *Penentuan Komposisi Nutrisi dari Hasil Produksi Biomassa Chlorella Vulgaris Buitenzorg*. Departemen Teknik Kimia. Depok, Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Kawaroe, M. T. P. (2010). *Mikroalga: Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. Bogor, IPB Press.

- Pal, Dipasmita et.al. (2011). "The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis sp.*" *Appl Microbiol Biotechnol.* 10:113-126
- Panggabean ,Lily M.G. (2007) *Koleksi Kultur Mikroalgae.* Jurnal Oseana. 32:11-20
- Prescott, G. W. (1987). *How to Know The Freshwater Algae.* Wne. Brown Company Publisher.
- Pulz,O. *Photobioreactors: Production Systems for Phototropic Microorganisms.* <http://link.springer.de>
- Rocha, Jorge M.S., Juan E.C. Garcia. (2003). *Growth aspects of the marine microalga Nannochloropsis gaditana.* *Journal of Biomolecular Engineering* 20:237-242
- Roessler. P.G., (1990). *Environmental control of glycerolipid metabo-lismin microalgae: commercial implications and future research directions.* *Journal Phycol* 26:393–399
- Sahbana, E., et.al. *Analisis Kandungan Nutrisi dan Pigmen Mikroalga Nannochloropsis sp.* Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Simionato, D., Eleonora Sforza, Elisa Corteggiani Carpinelli. (2011). *Acclimation of Nannochloropsis gaditana to different illumination regimes: Effects on lipids accumulation.* *Bioresource Technology* 102:6026–6032
- Solovchenko A, Khozin-Goldberg, et.al. (2008). *Effects of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga Parietochloris incisa.* *Journal Appl Phycol* 20:245–251
- Septian, M. (2011). Skripsi: *Optimasi Produksi Biomassa dan Kemampuan Fiksasi CO<sub>2</sub> Chlorella Vulgaris Menggunakan Perpaduan Filtrasi Dan Alterasi Dengan Membran Serat Berongga Sebagai Aerator.* Departemen Teknik Kimia. Depok, Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Sukenik, A., Carmeli,Y.& Berner, T. (1989). *Regulation Of Fatty Acid Composition By Irradiance Level In The Eustigmatophyte Nannochloropsis sp.* *Journal Phycol* 25:686-692.

- Taw, Nyan. (1990). *Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murni dan Massal Mikroalga. Proyek Pengembangan Udang*, United nations development Programme, Food and Agriculture Organizations of the United Nations.
- Thompson, G.A.,(1996). *Lipids and membrane function in green algae*. Biochim Biophys Acta 1302:17–45
- Walker TL, Purton S, et.al. (2005b) *Microalgae as bioreactors*. Plant Cell Reports 24:629-641
- Wijanarko, A. et.al. (2007). *Enhanced Chlorella vulgaris Buitenzorg growth by Photon Flux Density Alteration in Serial Bubble Column Photobioreactors*. AJChE 7(2): 89-101.
- Wijanarko, A. dan K. Ohtaguchi. (2004). *Carbon Dioxide Utilization for Global Sustainability: Reactor in series approximation, an enhancement effort of CO<sub>2</sub> fixation and biomass production by Anabaena cylindrica*. Study in Surface Science and Catalysis. 153:461-468
- Wijanarko, A. dan K. Ohtaguchi. (2004). *Carbon Dioxide Utilization for Global Sustainability: Reactor in series approximation, an enhancement effort of CO<sub>2</sub> fixation and biomass production by Anabaena cylindrica*. Study in Surface Science and Catalysis. 153:461-468
- Wijanarko, A. dan K. Ohtaguchi. (2003). *Alteration of Light Illumination during Microbial Growth, an enhancement effort of biomass productionmand CO<sub>2</sub> fixation of psychrophilic Cyanobacterium Anabaena cylindrica IAN MI*. Comparative Biochemistry and Physiology. 134.S214
- Zhekisheva, et.al. (2002) *Accumulation of oleic acid in Haematococcus pluvialis (Chlorophyceae) under nitrogen starvation or high light is correlated with that of astaxanthin esters*. Journal Phycol 38:325–331

# LAMPIRAN A

## DATA HASIL PENELITIAN

### A. Pencarian $I_{\mu\max, opt}$

#### OD 0.2

Intensitas= 2000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu\text{X}$	X (g/L)
7.30	0	0.2	1075	#DIV/0!	0.00044
9.00	1.5	0.252	1058	0.154074	0.001308
10.30	3	0.268	975	0.097557	0.001576
12.00	4.5	0.291	877	0.083335	0.00196
13.30	6	0.304	803	0.069785	0.002177
15.00	7.5	0.315	796	0.060567	0.002361

Intensitas= 3000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu\text{X}$	X (g/L)
13.00	0	0.2	1400	#DIV/0!	0.00044
14.30	1.5	0.282	1449	0.22906	0.001809
16.00	3	0.291	1323	0.125002	0.00196
17.30	4.5	0.313	1301	0.09953	0.002327
19.00	6	0.318	1251	0.077289	0.002411
20.30	7.5	0.36	1243	0.078372	0.003112

Intensitas= 5000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu\text{X}$	X (g/L)
23.00	0	0.2	1819	#DIV/0!	0.00044
0.30	1.5	0.257	1808	0.167172	0.001392
2.00	3	0.265	1600	0.093804	0.001526
3.30	4.5	0.281	1400	0.075564	0.001793
5.00	6	0.328	1200	0.082449	0.002578
6.30	7.5	0.301	1100	0.054506	0.002127

#### OD 0.4

Intensitas= 3500 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu\text{X}$	X (g/L)
7.30	0	0.4	1175	3.049	4.2171
9.00	1.5	0.43	1075	3.121	4.536
10.30	3	0.46	1024	3.189	4.8549
12.00	4.5	0.48	987	3.232	5.0675

13.30	6	0.498	873	3.269	5.25884
15.00	7.5	0.508	858	3.289	5.36514

Intensitas= 4000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
15.30	0	0.4	1229	3.049	4.2171
17.00	1.5	0.416	1107	3.088	4.38718
18.30	3	0.429	1085	3.119	4.52537
20.00	4.5	0.451	987	3.17	4.75923
21.30	6	0.495	945	3.263	5.22695
23.00	7.5	0.515	934	3.303	5.43955

Intensitas= 5000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
23.00	0	0.4	1229	3.049	4.2171
0.30	1.5	0.533	1107	3.338	5.63089
2.00	3	0.547	1085	3.364	5.77971
3.30	4.5	0.563	987	3.393	5.94979
5.00	6	0.616	945	3.483	6.51318
6.30	7.5	0.618	934	3.487	6.53444

Intensitas= 6000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
23.00	0	0.4	1699	3.0486	4.2171
0.30	1.5	0.426	1300	3.1121	4.49348
2.00	3	0.463	1212	3.196	4.88679
3.30	4.5	0.485	1100	3.2427	5.12065
5.00	6	0.51	1069	3.2933	5.3864
6.30	7.5	0.519	991	3.3109	5.48207

Intensitas= 7500 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
13.00	0	0.4	1960	3.0486	4.2171
14.30	1.5	0.415	1943	3.0857	4.37655
16.00	3	0.446	1872	3.1583	4.70608
17.30	4.5	0.472	1743	3.2154	4.98246
19.00	6	0.506	1549	3.2854	5.34388
20.30	7.5	0.541	1249	3.3527	5.71593

**OD 0.6**

Intensitas= 4500 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
13.00	0	0.6	1116	3.457	6.3431
14.30	1.5	0.613	1070	3.478	6.48129
16.00	3	0.642	1061	3.525	6.78956
17.30	4.5	0.663	981	3.557	7.01279
19.00	6	0.673	958	3.572	7.11909
20.30	7.5	0.675	910	3.575	7.14035

Intensitas= 5000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
7.30	0	0.6	1600	3.457	6.3431
9.00	1.5	0.626	1516	3.499	6.61948
10.30	3	0.637	1469	3.517	6.73641
12.00	4.5	0.672	1385	3.571	7.10846
13.30	6	0.685	1287	3.59	7.24665
15.00	7.5	0.708	1216	3.623	7.49114

Intensitas= 6000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
23.00	0	0.6	1530	3.457	6.3431
0.30	1.5	0.638	1492	3.519	6.74704
2.00	3	0.679	1385	3.581	7.18287
3.30	4.5	0.818	1220	3.768	8.66044
5.00	6	0.718	1268	3.637	7.59744
6.30	7.5	0.736	1073	3.662	7.78878

Intensitas= 7000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
23.00	0	0.6	1386	3.4568	6.3431
0.30	1.5	0.616	1288	3.4833	6.51318
2.00	3	0.636	1118	3.5154	6.72578
3.30	4.5	0.654	1083	3.5434	6.91712
5.00	6	0.68	983	3.5826	7.1935
6.30	7.5	0.698	872	3.6089	7.38484

Intensitas= 8000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
15.30	0	0.6	1530	3.4568	6.3431
17.00	1.5	0.629	1421	3.5043	6.65137
18.30	3	0.659	1330	3.5511	6.97027

20.00	4.5	0.673	1133	3.5722	7.11909
21.30	6	0.686	1060	3.5914	7.25728
23.00	7.5	0.719	989	3.6386	7.60807

## OD 0.8

Intensitas= 6000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
13.00	0	0.8	1096	3.746	8.4691
14.30	1.5	0.851		3.808	9.01123
16.00	3	0.812	987	3.761	8.59666
17.30	4.5	0.844	927	3.8	8.93682
19.00	6	0.867	895	3.827	9.18131
20.30	7.5	0.87	842	3.83	9.2132

Intensitas= 7000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
13.00	0	0.8	1280	3.746	8.4691
14.30	1.5	0.855	1134	3.813	9.05375
16.00	3	0.801	1242	3.747	8.47973
17.30	4.5	0.834	1178	3.788	8.83052
19.00	6	0.849	1066	3.806	8.98997
20.30	7.5	0.87	1025	3.83	9.2132

Intensitas= 8000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
13.00	0	0.8	1495	3.746	8.4691
14.30	1.5	0.807	1465	3.755	8.54351
16.00	3	0.816	1442	3.766	8.63918
17.30	4.5	0.832	1379	3.785	8.80926
19.00	6	0.855	1341	3.813	9.05375
20.30	7.5	0.877	1310	3.838	9.28761

Intensitas= 9000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
13.00	0	0.8	1498	3.7459	8.4691
14.30	1.5	0.811	1475	3.7596	8.58603
16.00	3	0.802	1481	3.7484	8.49036
17.30	4.5	0.826	1350	3.778	8.74548
19.00	6	0.839	1303	3.7937	8.88367
20.30	7.5	0.863	1243	3.822	9.13879

Intensitas= 10000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu X$	X (g/L)
13.00	0	0.8	1521	3.7459	8.4691
14.30	1.5	0.798	1500	3.7433	8.44784
16.00	3	0.804	1491	3.7509	8.51162
17.30	4.5	0.812	1480	3.7608	8.59666
19.00	6	0.843	1469	3.7984	8.92619
20.30	7.5	0.874	1268	3.8347	9.25572

### OD 1.1

Intensitas= 8000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu X$	X (g/L)
12.00	0	1.106	698	4.071	11.72188
13.30	1.5	1.113	615	4.077	11.79629
15.00	3	1.124	598	4.087	11.91322
16.30	4.5	1.128	579	4.091	11.95574
18.00	6	1.151	532	4.111	12.20023
19.30	7.5	1.192	528	4.146	12.63606

Intensitas= 9000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu X$	X (g/L)
12.00	0	1.111	725	4.075	11.77503
13.30	1.5	1.103	683	4.068	11.68999
15.00	3	1.134	637	4.096	12.01952
16.30	4.5	1.142	534	4.103	12.10456
18.00	6	1.173	517	4.13	12.43409
19.30	7.5	1.216	478	4.166	12.89118

Intensitas= 10000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu X$	X (g/L)
12.00	0	1.104	756	4.0691	11.70062
13.30	1.5	1.115	720	4.079	11.81755
15.00	3	1.145	709	4.1057	12.13645
16.30	4.5	1.137	717	4.0986	12.05141
18.00	6	1.151	678	4.1109	12.20023
19.30	7.5	1.157	751	4.1161	12.26401

Intensitas= 11000 lux					
waktu	jam ke	OD	lb (lux)	$\mu$ X	X (g/L)
12.00	0	1.109	781	4.0736	11.75377
13.30	1.5	1.112	696	4.0763	11.78566
15.00	3	1.156	588	4.1152	12.25338
16.30	4.5	1.158	573	4.117	12.27464
18.00	6	1.146	467	4.1065	12.14708
19.30	7.5	1.166	465	4.1239	12.35968



## B. Pencahayaan Kontinu

Waktu	Jam ke-	OD	Nsel (sel/L)	X (gr/L)	Io (lux)	Ib (lux)	Yin	Yout	$\Delta y$ (%)	pH
0	7.00	0.203	2.12299	0.0483536	3000	1547	5.3	2.969	43.98113	6.9
6	13.00	0.226	2.36748	0.0867912	3000	1435	5.217	3.6056	30.88748	6.9
12	19.00	0.251	2.63323	0.1285712	3000	1426	5.4068	0.9198	82.98809	6.9
18	1.00	0.291	3.05843	0.1954192	3000	1401	5.2784	4.1053	22.22454	6.9
24	7.00	0.355	3.73875	0.302376	3000	1396	5.0069	3.7161	25.78042	7
30	13.00	0.377	3.97261	0.3391424	3000	1364	5.1137	1.1786	76.95211	7
36	19.00	0.410	4.3234	0.394292	3000	1340	5.4328	3.244	40.28862	7
42	1.00	0.464	4.89742	0.4845368	3000	1305	5.9429	4.9816	16.1756	7
48	7.00	0.481	5.07813	0.5129472	3000	1264	5.3416	4.5324	15.14902	7.1
54	13.00	0.534	5.64152	0.6015208	3000	1219	5.4462	4.4712	17.90239	7.1
60	19.00	0.548	5.79034	0.6249176	3000	1196	5.4585	4.5554	16.54484	7.1
66	1.00	0.631	6.67263	0.7636272	3000	1097	5.2189	4.135	20.76874	7.1
72	7.00	0.693	7.33169	0.8672416	3000	997	5.7797	4.5172	21.84369	7.1
78	13.00	0.738	7.81004	0.9424456	3000	917	5.7755	4.2346	26.67994	7.2
84	19.00	0.767	8.11831	0.9909104	3000	798	5.9854	4.7663	20.3679	7.2
90	1.00	0.804	8.51162	1.0527448	3000	695	5.7355	4.496	21.61102	7.2
96	7.00	0.843	8.92619	1.1179216	3000	655	5.7481	4.288	25.40144	7.2
102	13.00	0.894	9.46832	1.2031528	3000	593	5.0088	3.2065	35.98267	7.2
108	19.00	0.920	9.7447	1.246604	3000	542	5.6684	3.3354	41.158	7.2
114	1.00	1.013	10.73329	1.4020256	3000	532	5.3753	3.2613	39.32804	7.3
120	7.00	1.050	11.1266	1.46386	3000	527	4.4794	3.4188	23.67728	7.3
126	13.00	1.115	11.81755	1.572488	3000	480	5.7975	3.8664	33.30918	7.3

132	19.00	1.126	11.93448	1.5908712	3000	448	4.8546	3.7303	23.15948	7.3
138	1.00	1.174	12.44472	1.6710888	3000	413	6.0813	5.0766	16.52114	7.3
144	7.00	1.192	12.63606	1.7011704	3000	319	5.1538	2.4315	52.82122	7.3
150	13.00	1.223	12.96559	1.7529776	3000	303	5.9921	3.0486	49.12301	7.3
156	19.00	1.273	13.49709	1.8365376	3000	250	5.5418	3.8765	30.0498	7.4
162	1.00	1.300	13.7841	1.88166	3000	190	5.3155	3.5594	33.03734	7.4
168	7.00	1.347	14.28371	1.9602064	3000	175	5.2531	4.4568	15.15867	7.4
174	13.00	1.388	14.71954	2.0287256	3000	150	5.0183	4.1661	16.98185	7.4
180	19.00	1.414	14.99592	2.0721768	3000	140	5.2421	3.3149	36.76389	7.5
186	1.00	1.447	15.34671	2.1273264	3000	122	5.0183	3.1253	37.72194	7.5
192	7.00	1.456	15.44238	2.1423672	3000	108	5.8988	4.8986	16.95599	7.5
198	13.00	1.498	15.88884	2.2125576	3000	98	5.1985	3.5305	32.08618	7.5
204	19.00	1.533	16.26089	2.2710496	3000	71	4.9027	3.2098	34.52995	7.5
210	1.00	1.531	16.23963	2.2677072						
216	7.00	1.526	16.18648	2.2593512						
225	13.00	1.508	15.99514	2.2292696						
229	19.00	1.503	15.94199	2.2209136						
250	1.00	1.481	15.70813	2.1841472						
254	7.00	1.472	15.61246	2.1691064						

### C. Alterasi Pencahayaan

Waktu	Jam ke-	OD	Nsel (sel/L)	X (gr/L)	Io	Ib	Yin	Yout	$\Delta y$	pH
0	17.30	0.203	2.12299	0.0483536	3000	1485	5.4612	2.7888	48.9343	6.9
6	23.30	0.239	2.50567	0.1085168	3200	1474	5.3365	2.8738	46.14822	6.9

12	5.30	0.288	3.02654	0.1904056	3500	1390	5.5105	3.0168	45.25361	6.9
18	11.30	0.331	3.48363	0.2622672	4000	1338	5.5955	3.268	41.59593	6.9
24	17.30	0.387	4.07891	0.3558544	4000	1253	5.9669	3.4067	42.9067	7
30	23.30	0.439	4.63167	0.4427568	4700	1355	5.7331	1.7625	69.25747	7
36	5.30	0.498	5.25884	0.5413576	5000	1315	5.568	1.2552	77.4569	7
42	11.30	0.593	6.26869	0.7001216	5600	1274	5.7418	2.5277	55.97722	7
48	17.30	0.678	7.17224	0.8421736	6000	1237	5.4692	1.4474	73.53543	7
54	23.30	0.753	7.96949	0.9675136	7000	1217	5.0124	1.9939	60.22065	7.1
60	5.30	0.840	8.8943	1.112908	7500	1195	5.4041	2.5466	52.87652	7.1
66	11.30	0.940	9.9573	1.280028	8180	972	5.2282	1.7025	67.43621	7.1
72	17.30	1.023	10.83959	1.4187376	8300	947	5.507	1.9548	64.50336	7.1
78	23.30	1.086	11.50928	1.5240232	8300	845	5.1452	2.4464	52.45277	7.1
84	5.30	1.185	12.56165	1.689472	8600	716	5.3203	1.5472	70.91893	7.1
90	11.30	1.252	13.27386	1.8014424	9000	516	5.228	1.7588	66.35807	7.2
96	17.30	1.316	13.95418	1.9083992	9000	471	5.3545	1.9789	63.0423	7.2
102	23.30	1.372	14.54946	2.0019864	9500	408	5.2426	2.1835	58.35082	7.2
108	5.30	1.447	15.34671	2.1273264	9600	329	5.4929	1.7652	67.86397	7.2
114	11.30	1.494	15.84632	2.2058728	10000	282	5.2078	1.3345	74.37498	7.2
120	17.30	1.553	16.47349	2.3044736	10200	231	5.4605	2.8046	48.6384	7.3
126	23.30	1.556	16.50538	2.3094872	11000	203	5.5378	2.3663	57.27004	7.3
132	5.30	1.583	16.79239	2.3546096	12000	161	6.018	1.9209	68.08076	7.3
138	11.30	1.598	16.95184	2.3796776	13000	139	5.4739	1.5614	71.47555	7.3
144	17.30	1.622	17.20696	2.4197864	13500	126	5.3121	1.5068	71.63457	7.3
150	23.30	1.624	17.22822	2.4231288	13500	115	5.347	1.5683	70.66953	7.3
156	5.30	1.638	17.37704	2.4465256	14000	91	5.6897	1.3415	76.42231	7.4

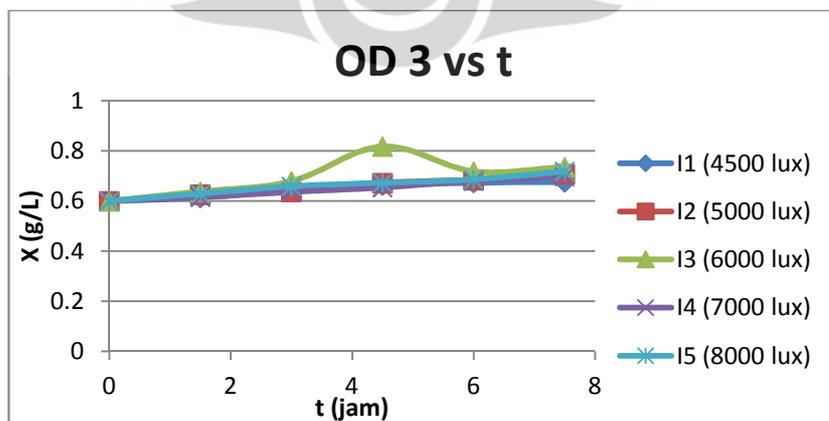
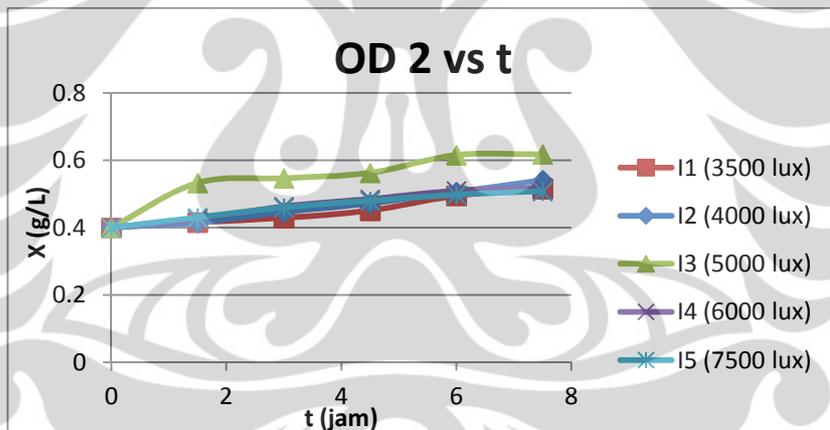
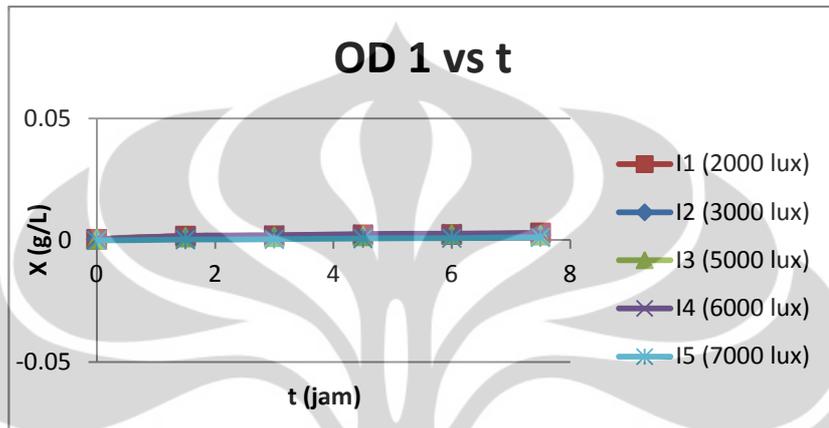
162	11.30	1.653	17.53649	2.4715936	14000	87	5.7685	1.6566	71.28196	7.4
168	17.30	1.682	17.84476	2.5200584	14700	74	5.4326	1.4584	73.15466	7.4
174	23.30	1.696	17.99358	2.5434552	15000	62	5.5831	1.6044	71.26328	7.4
180	5.30	1.707	18.11051	2.5618384	15500	56	5.7179	1.2617	77.93421	7.4
186	11.30	1.720	18.2487	2.583564	16000	50	5.3233	1.6186	69.59405	7.4
192	17.30	1.762	18.69516	2.6537544	16500	37	5.9739	1.4744	75.31931	7.5
198	23.30	1.759	18.66327	2.6487408	17000	33	5.9629	2.7141	54.48356	7.5
204	5.30	1.752	18.58886	2.6370424	17000	31	5.4413	1.7234	68.32742	7.5

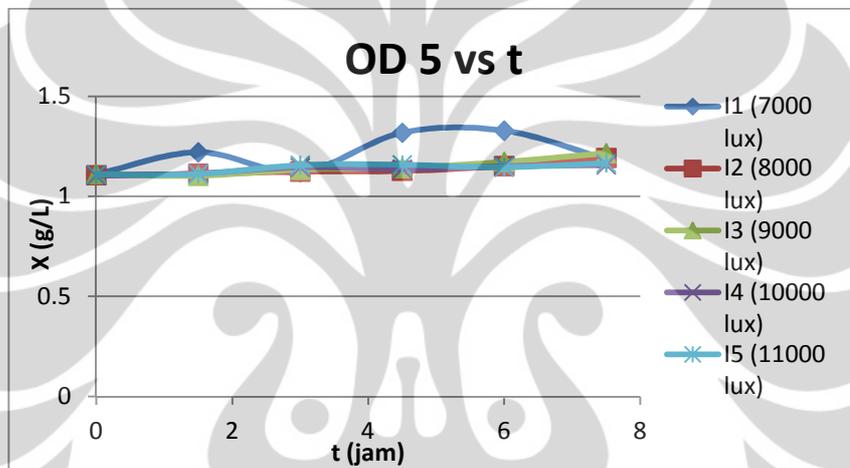
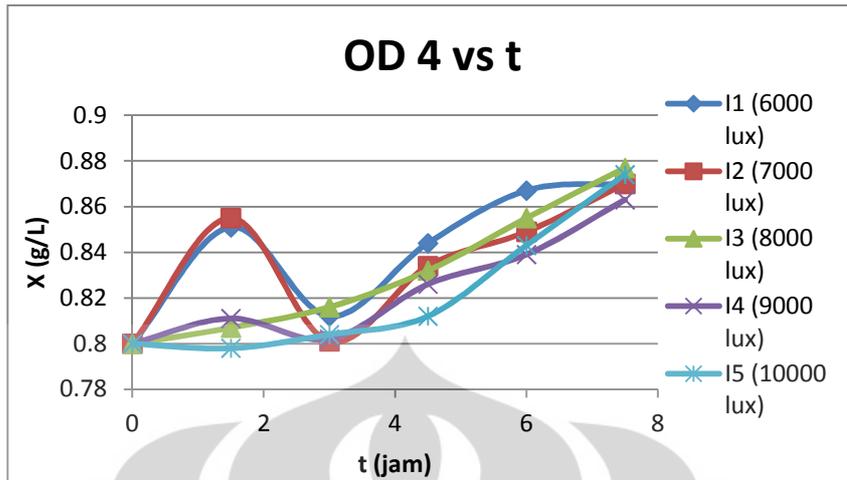


## LAMPIRAN B

### PLOT NILAI I VS X

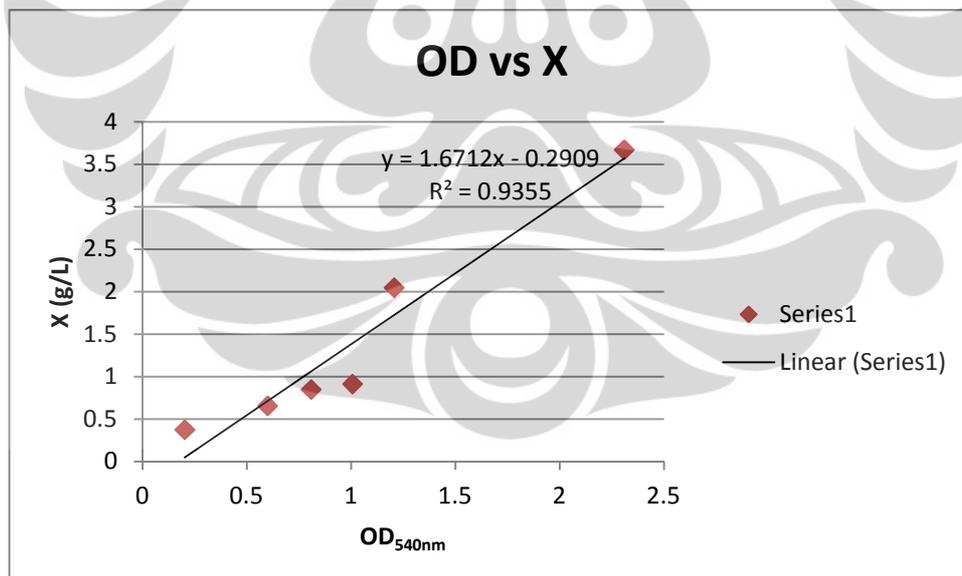
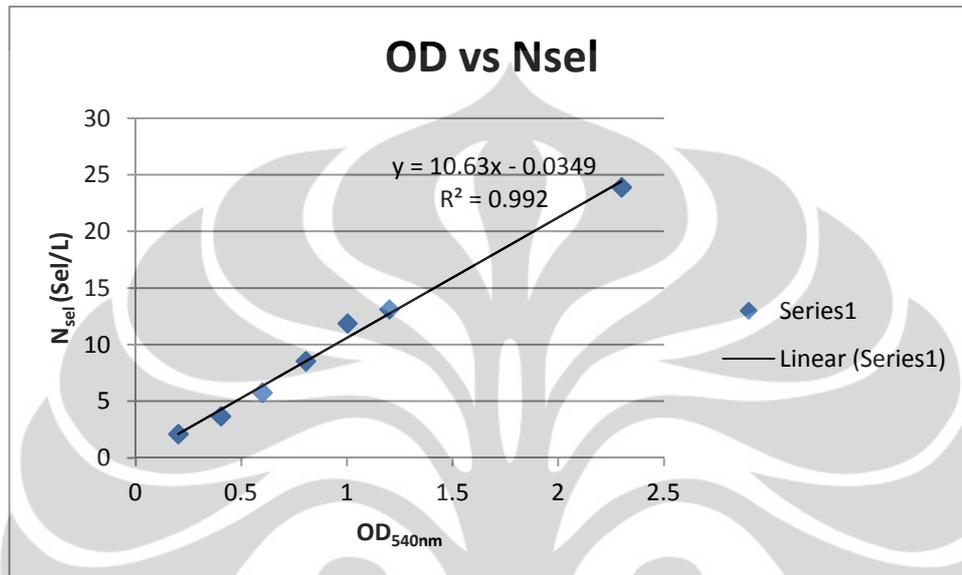
Plot Hasil Penelitian Tahap Pertama (Pencarian  $I_{\mu max, opt}$ )





## LAMPIRAN C

### KURVA KALIBRASI



**LAMPIRAN D**  
**PERHITUNGAN CTR,  $q_{CO_2}$  DAN  $[HCO_3^-]$**

<b>Kontinu 3000 lx</b>											
Waktu	Jam ke-	OD	Nsel	X (g/L)	Y <sub>in</sub>	Y <sub>out</sub>	$\Delta y$ (%)	pH	$[HCO_3^-]$ (M)	CTR (g/L.jam)	$q_{CO_2}$ (g/gsel.jam)
0	7.00	0.203	2.12299	0.048354	5.3	2.969	43.98113	6.9	0.00599	17.67347	365.50469
6	13.00	0.226	2.36748	0.086791	5.217	3.6056	30.88748	6.9	0.00589	12.41189	143.00861
12	19.00	0.251	2.63323	0.128571	5.4068	0.9198	82.98809	6.9	0.00611	33.34810	259.37459
18	1.00	0.291	3.05843	0.195419	5.2784	4.1053	22.22454	6.9	0.00596	8.93075	45.70049
24	7.00	0.355	3.73875	0.302376	5.0069	3.7161	25.78042	7	0.00712	10.35966	34.26085
30	13.00	0.377	3.97261	0.339142	5.1137	1.1786	76.95211	7	0.00727	30.92259	91.17878
36	19.00	0.410	4.3234	0.394292	5.4328	3.244	40.28862	7	0.00773	16.18966	41.06008
42	1.00	0.464	4.89742	0.484537	5.9429	4.9816	16.1756	7	0.00845	6.50004	13.41495
48	7.00	0.481	5.07813	0.512947	5.3416	4.5324	15.14902	7	0.00760	6.08751	11.86772
54	13.00	0.534	5.64152	0.601521	5.4462	4.4712	17.90239	7.1	0.00975	7.19393	11.95957
60	19.00	0.548	5.79034	0.624918	5.4585	4.5554	16.54484	7.1	0.00977	6.64841	10.63886
66	1.00	0.631	6.67263	0.763627	5.2189	4.135	20.76874	7.1	0.00934	8.34575	10.92910
72	7.00	0.693	7.33169	0.867242	5.7797	4.5172	21.84369	7.1	0.01035	8.77771	10.12142
78	13.00	0.738	7.81004	0.942446	5.7755	4.2346	26.67994	7.1	0.01034	10.72112	11.37585
84	19.00	0.767	8.11831	0.99091	5.9854	4.7663	20.3679	7.1	0.01071	8.18468	8.25975
90	1.00	0.804	8.51162	1.052745	5.7355	4.496	21.61102	7.2	0.01293	8.68422	8.24912
96	7.00	0.843	8.92619	1.117922	5.7481	4.288	25.40144	7.2	0.01295	10.20736	9.13066
102	13.00	0.894	9.46832	1.203153	5.0088	3.2065	35.98267	7.2	0.01129	14.45935	12.01788
108	19.00	0.920	9.7447	1.246604	5.6684	3.3354	41.158	7.2	0.01277	16.53901	13.26726

114	1.00	1.013	10.73329	1.402026	5.3753	3.2613	39.32804	7.2	0.01211	15.80366	11.27202
120	7.00	1.050	11.1266	1.46386	4.4794	3.4188	23.67728	7.3	0.01271	9.51453	6.49961
126	13.00	1.115	11.81755	1.572488	5.7975	3.8664	33.30918	7.3	0.01645	13.38503	8.51201
132	19.00	1.126	11.93448	1.590871	4.8546	3.7303	23.15948	7.3	0.01377	9.30645	5.84991
138	1.00	1.174	12.44472	1.671089	6.0813	5.0766	16.52114	7.3	0.01725	6.63889	3.97279
144	7.00	1.192	12.63606	1.70117	5.1538	2.4315	52.82122	7.3	0.01462	21.22579	12.47717
150	13.00	1.223	12.96559	1.752978	5.9921	3.0486	49.12301	7.3	0.01700	19.73969	11.26066
156	19.00	1.273	13.49709	1.836538	5.5418	3.8765	30.0498	7.4	0.01979	12.07527	6.57502
162	1.00	1.300	13.7841	1.88166	5.3155	3.5594	33.03734	7.4	0.01899	13.27579	7.05536
168	7.00	1.347	14.28371	1.960206	5.2531	4.4568	15.15867	7.4	0.01876	6.09139	3.10752
174	13.00	1.388	14.71954	2.028726	5.0183	4.1661	16.98185	7.4	0.01792	6.82402	3.36370
180	19.00	1.414	14.99592	2.072177	5.2421	3.3149	36.76389	7.4	0.01872	14.77328	7.12935
186	1.00	1.447	15.34671	2.127326	5.0183	3.1253	37.72194	7.4	0.01792	15.15826	7.12550
192	7.00	1.456	15.44238	2.142367	5.8988	4.8986	16.95599	7.5	0.02652	6.81363	3.18042
198	13.00	1.498	15.88884	2.212558	5.1985	3.5305	32.08618	7.5	0.02338	12.89358	5.82745
204	19.00	1.533	16.26089	2.27105	4.9027	3.2098	34.52995	7.5	0.02205	13.87559	6.10977
<b>Average</b>									<b>0.01315</b>	<b>12.55943</b>	<b>34.87539</b>

<b>Alterasi</b>											
Waktu	Jam ke-	OD	Nsel	X (g/L)	Yin	Yout	$\Delta y$ (%)	pH	[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] (M)	CTR (g/L.jam)	qCO <sub>2</sub> (g/gsel.jam)
0	17.30	0.203	2.12299	0.048354	5.4612	2.7888	48.9343	6.9	0.00617	19.66386	406.66793
6	23.30	0.239	2.50567	0.108517	5.3365	2.8738	46.14822	6.9	0.00603	18.54430	170.88871
12	5.30	0.288	3.02654	0.190406	5.5105	3.0168	45.25361	6.9	0.00622	18.18480	95.50560
18	11.30	0.331	3.48363	0.262267	5.5955	3.268	41.59593	6.9	0.00632	16.71499	63.73268
24	17.30	0.387	4.07891	0.355854	5.9669	3.4067	42.9067	7	0.00848	17.24172	48.45160

30	23.30	0.439	4.63167	0.442757	5.7331	1.7625	69.25747	7	0.00815	27.83056	62.85745
36	5.30	0.498	5.25884	0.541358	5.568	1.2552	77.4569	7	0.00792	31.12544	57.49515
42	11.30	0.593	6.26869	0.700122	5.7418	2.5277	55.97722	7	0.00816	22.49400	32.12870
48	17.30	0.678	7.17224	0.842174	5.4692	1.4474	73.53543	7.1	0.00979	29.54963	35.08734
54	23.30	0.753	7.96949	0.967514	5.0124	1.9939	60.22065	7.1	0.00897	24.19919	25.01173
60	5.30	0.840	8.8943	1.112908	5.4041	2.5466	52.87652	7.1	0.00967	21.24801	19.09233
66	11.30	0.940	9.9573	1.280028	5.2282	1.7025	67.43621	7.1	0.00936	27.09870	21.17040
72	17.30	1.023	10.83959	1.418738	5.507	1.9548	64.50336	7.1	0.00986	25.92016	18.26988
78	23.30	1.086	11.50928	1.524023	5.1452	2.4464	52.45277	7.2	0.01160	21.07773	13.83032
84	5.30	1.185	12.56165	1.689472	5.3203	1.5472	70.91893	7.2	0.01199	28.49821	16.86811
90	11.30	1.252	13.27386	1.801442	5.228	1.7588	66.35807	7.2	0.01178	26.66546	14.80228
96	17.30	1.316	13.95418	1.908399	5.3545	1.9789	63.0423	7.2	0.01207	25.33305	13.27450
102	23.30	1.372	14.54946	2.001986	5.2426	2.1835	58.35082	7.2	0.01181	23.44781	11.71227
108	5.30	1.447	15.34671	2.127326	5.4929	1.7652	67.86397	7.2	0.01238	27.27060	12.81919
114	11.30	1.494	15.84632	2.205873	5.2078	1.3345	74.37498	7.3	0.01478	29.88699	13.54883
120	17.30	1.553	16.47349	2.304474	5.4605	2.8046	48.6384	7.3	0.01549	19.54495	8.48131
126	23.30	1.556	16.50538	2.309487	5.5378	2.3663	57.27004	7.3	0.01571	23.01351	9.96477
132	5.30	1.583	16.79239	2.35461	6.018	1.9209	68.08076	7.3	0.01707	27.35771	11.61879
138	11.30	1.598	16.95184	2.379678	5.4739	1.5614	71.47555	7.3	0.01553	28.72188	12.06965
144	17.30	1.622	17.20696	2.419786	5.3121	1.5068	71.63457	7.3	0.01507	28.78578	11.89600
150	23.30	1.624	17.22822	2.423129	5.347	1.5683	70.66953	7.3	0.01517	28.39799	11.71955
156	5.30	1.638	17.37704	2.446526	5.6897	1.3415	76.42231	7.4	0.02032	30.70969	12.55237
162	11.30	1.653	17.53649	2.471594	5.7685	1.6566	71.28196	7.4	0.02060	28.64409	11.58932
168	17.30	1.682	17.84476	2.520058	5.4326	1.4584	73.15466	7.4	0.01940	29.39662	11.66505
174	23.30	1.696	17.99358	2.543455	5.5831	1.6044	71.26328	7.4	0.01994	28.63658	11.25893
180	5.30	1.707	18.11051	2.561838	5.7179	1.2617	77.93421	7.5	0.02571	31.31724	12.22452

186	11.30	1.720	18.2487	2.583564	5.3233	1.6186	69.59405	7.5	0.02394	27.96581	10.82451
192	17.30	1.762	18.69516	2.653754	5.9739	1.4744	75.31931	7.5	0.02686	30.26646	11.40515
198	23.30	1.759	18.66327	2.648741	5.9629	2.7141	54.48356	7.5	0.02681	21.89378	8.26573
204	5.30	1.752	18.58886	2.637042	5.4413	1.7234	68.32742	7.5	0.02447	27.45683	10.41198
<b>Average</b>									0.01410	<b>25.54583</b>	<b>37.69036</b>



**LAMPIRAN E**  
**PERHITUNGAN Ex dan  $\eta_{bp}$**

**Kontinu 3000 lx**

Waktu	Jam ke-	OD	Nsel	X (g/L)	Io (lux)	Ib (lux)	Io (W/m <sup>2</sup> )	Ib (W/m <sup>2</sup> )	li	It	Ex	E	$\eta$ (%)
0	7.00	0.203	2.12299	0.00049	3000	1547	8.9	4.6	8.7	4.5	0.00	0.00	0.000
6	13.00	0.226	2.36748	0.000874	3000	1435	8.9	4.2	8.7	4.1	253881.92	276881.67	91.693
12	19.00	0.251	2.63323	0.001292	3000	1426	8.9	4.2	8.7	4.1	504579.25	556947.92	90.597
18	1.00	0.291	3.05843	0.00196	3000	1401	8.9	4.1	8.7	4.1	743599.78	848690.97	87.617
24	7.00	0.355	3.73875	0.003029	3000	1396	8.9	4.1	8.7	4.0	987927.95	1135126.39	87.032
30	13.00	0.377	3.97261	0.003396	3000	1364	8.9	4.0	8.7	3.9	1206602.55	1447215.38	83.374
36	19.00	0.410	4.3234	0.003947	3000	1340	8.9	4.0	8.7	3.9	1422446.41	1762135.10	80.723
42	1.00	0.464	4.89742	0.004849	3000	1305	8.9	3.8	8.7	3.8	1616175.12	2099169.98	76.991
48	7.00	0.481	5.07813	0.005133	3000	1264	8.9	3.7	8.7	3.7	1789027.13	2457081.56	72.811
54	13.00	0.534	5.64152	0.006018	3000	1219	8.9	3.6	8.7	3.5	1941002.43	2835869.84	68.445
60	19.00	0.548	5.79034	0.006252	3000	1196	8.9	3.5	8.7	3.5	2115977.49	3191658.36	66.297
66	1.00	0.631	6.67263	0.007638	3000	1097	8.9	3.2	8.7	3.2	2134908.06	3703491.38	57.646
72	7.00	0.693	7.33169	0.008673	3000	997	8.9	2.9	8.7	2.9	2116685.18	4252477.85	49.775
78	13.00	0.738	7.81004	0.009425	3000	917	8.9	2.7	8.7	2.7	2109077.57	4790849.04	44.023
84	19.00	0.767	8.11831	0.009909	3000	798	8.9	2.4	8.7	2.3	1976563.59	5454126.61	36.240
90	1.00	0.804	8.51162	0.010527	3000	695	8.9	2.1	8.7	2.0	1844403.46	6117050.32	30.152

96	7.00	0.843	8.92619	0.011178	3000	655	8.9	1.9	8.7	1.9	1854134.13	6638083.24	27.932
102	13.00	0.894	9.46832	0.01203	3000	593	8.9	1.7	8.7	1.7	1783542.57	7239438.39	24.636
108	19.00	0.920	9.7447	0.012464	3000	542	8.9	1.6	8.7	1.6	1726043.18	7827701.36	22.050
114	1.00	1.013	10.73329	0.014017	3000	532	8.9	1.6	8.7	1.5	1788319.44	8296188.69	21.556
120	7.00	1.050	11.1266	0.014635	3000	527	8.9	1.6	8.7	1.5	1864749.40	8750522.31	21.310
126	13.00	1.115	11.81755	0.015721	3000	480	8.9	1.4	8.7	1.4	1783365.65	9362669.65	19.048
132	19.00	1.126	11.93448	0.015904	3000	448	8.9	1.3	8.7	1.3	1743735.30	9933063.58	17.555
138	1.00	1.174	12.44472	0.016706	3000	413	8.9	1.2	8.7	1.2	1680574.43	10526988.04	15.964
144	7.00	1.192	12.63606	0.017006	3000	319	8.9	0.9	8.7	0.9	1354508.67	11383817.38	11.899
150	13.00	1.223	12.96559	0.017524	3000	303	8.9	0.9	8.7	0.9	1340178.05	11928911.59	11.235
156	19.00	1.273	13.49709	0.018359	3000	250	8.9	0.7	8.7	0.7	1149987.77	12649865.46	9.091
162	1.00	1.300	13.7841	0.01881	3000	190	8.9	0.6	8.7	0.5	907605.73	13423011.08	6.762
168	7.00	1.347	14.28371	0.019595	3000	175	8.9	0.5	8.7	0.5	866913.86	13994466.54	6.195
174	13.00	1.388	14.71954	0.02028	3000	150	8.9	0.4	8.7	0.4	769607.20	14622536.78	5.263
180	19.00	1.414	14.99592	0.020714	3000	140	8.9	0.4	8.7	0.4	743069.02	15179838.55	4.895
186	1.00	1.447	15.34671	0.021265	3000	122	8.9	0.4	8.7	0.4	669115.96	15784555.19	4.239
192	7.00	1.456	15.44238	0.021415	3000	108	8.9	0.3	8.7	0.3	611439.65	16372995.09	3.734
198	13.00	1.498	15.88884	0.022117	3000	98	8.9	0.3	8.7	0.3	572163.15	16943035.18	3.377
204	19.00	1.533	16.26089	0.022701	3000	71	8.9	0.2	8.7	0.2	427087.77	17618874.15	2.424
Average											<b>1325685.68</b>	<b>7697295.28</b>	<b>36.07</b>

## Alterasi

Waktu	Jam ke-	OD	Nsel	X (g/L)	lo (lux)	lb (lux)	lo (W/m2)	lb (W/m2)	li	lt	Ex	E	$\eta$ (%)
0	17.30	0.203	2.12299	0.00049	3000	1485	8.9	4.4	8.7	4.3	0.00	0.00	0.000
6	23.30	0.239	2.50567	0.001091	3200	1474	9.4	4.3	9.3	4.3	223912.10	305365.98	73.326
12	5.30	0.288	3.02654	0.00191	3500	1390	10.3	4.1	10.1	4.0	422303.70	746607.44	56.563
18	11.30	0.331	3.48363	0.002628	4000	1338	11.8	3.9	11.6	3.9	609757.93	1412892.66	43.157
24	17.30	0.387	4.07891	0.003563	4000	1253	11.8	3.7	11.6	3.6	761361.92	1944010.09	39.165
30	23.30	0.439	4.63167	0.004431	4700	1355	13.9	4.0	13.6	3.9	1029175.38	2959006.99	34.781
36	5.30	0.498	5.25884	0.005417	5000	1315	14.8	3.9	14.5	3.8	1198552.58	3911727.63	30.640
42	11.30	0.593	6.26869	0.007003	5600	1274	16.5	3.8	16.2	3.7	1354713.80	5357527.63	25.286
48	17.30	0.678	7.17224	0.008423	6000	1237	17.7	3.6	17.3	3.6	1503279.64	6741405.22	22.299
54	23.30	0.753	7.96949	0.009675	7000	1217	20.7	3.6	20.2	3.5	1663846.19	9208217.45	18.069
60	5.30	0.840	8.8943	0.011128	7500	1195	22.1	3.5	21.7	3.5	1815298.27	11154881.36	16.274
66	11.30	0.940	9.9573	0.012798	8180	972	24.1	2.9	23.6	2.8	1624198.25	14027727.73	11.578
72	17.30	1.023	10.83959	0.014184	8300	947	24.5	2.8	24.0	2.7	1726280.29	15610818.58	11.058
78	23.30	1.086	11.50928	0.015236	8300	845	24.5	2.5	24.0	2.4	1668707.24	17146317.63	9.732
84	5.30	1.185	12.56165	0.01689	8600	716	25.4	2.1	24.9	2.1	1522723.84	19527853.84	7.798
90	11.30	1.252	13.27386	0.018008	9000	516	26.6	1.5	26.0	1.5	1175766.41	22514991.30	5.222
96	17.30	1.316	13.95418	0.019077	9000	471	26.6	1.4	26.0	1.4	1144777.22	24143373.98	4.742
102	23.30	1.372	14.54946	0.020012	9500	408	28.0	1.2	27.5	1.2	1053632.53	27345647.62	3.853
108	5.30	1.447	15.34671	0.021265	9600	329	28.3	1.0	27.8	1.0	899598.02	29524255.21	3.047
114	11.30	1.494	15.84632	0.02205	10000	282	29.5	0.8	28.9	0.8	813922.02	32667083.32	2.492
120	17.30	1.553	16.47349	0.023035	10200	231	30.1	0.7	29.5	0.7	701814.06	35274547.90	1.990
126	23.30	1.556	16.50538	0.023085	11000	203	32.5	0.6	31.8	0.6	647582.97	40114581.04	1.614
132	5.30	1.583	16.79239	0.023536	12000	161	35.4	0.5	34.7	0.5	538057.44	46080540.66	1.168

138	11.30	1.598	16.95184	0.023787	13000	139	38.4	0.4	37.6	0.4	485649.25	52333820.30	0.928
144	17.30	1.622	17.20696	0.024187	13500	126	39.8	0.4	39.0	0.4	459369.20	56787457.55	0.809
150	23.30	1.624	17.22822	0.024221	13500	115	39.8	0.3	39.0	0.3	436734.94	59202254.94	0.738
156	5.30	1.638	17.37704	0.024455	14000	91	41.3	0.3	40.5	0.3	359413.87	63980719.51	0.562
162	11.30	1.653	17.53649	0.024705	14000	87	41.3	0.3	40.5	0.3	356831.43	66460623.90	0.537
168	17.30	1.682	17.84476	0.025189	14700	74	43.4	0.2	42.5	0.2	314752.97	72454183.23	0.434
174	23.30	1.696	17.99358	0.025423	15000	62	44.3	0.2	43.4	0.2	273130.23	76642615.60	0.356
180	5.30	1.707	18.11051	0.025607	15500	56	45.7	0.2	44.8	0.2	255205.11	81971128.16	0.311
186	11.30	1.720	18.2487	0.025824	16000	50	47.2	0.1	46.3	0.1	235457.10	87478684.97	0.269
192	17.30	1.762	18.69516	0.026525	16500	37	48.7	0.1	47.7	0.1	179858.84	93204916.37	0.193
198	23.30	1.759	18.66327	0.026475	17000	33	50.2	0.1	49.1	0.1	165427.60	99060123.33	0.167
204	5.30	1.752	18.58886	0.026358	17000	31	50.2	0.1	49.1	0.1	160110.83	102073975.89	0.157
Average											<b>793748.66</b>	<b>36553425.29</b>	<b>12.27</b>

**LAMPIRAN F**  
**ANALISIS X-RAY DAN GC-MS**

