



UNIVERSITAS INDONESIA

**EVALUASI PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN ESENSIAL
Chlorella vulgaris PADA KULTIVASI FOTOBIOREAKTOR
OUTDOOR SKALA PILOT DENGAN PENCAHAYAAN
TERANG GELAP ALAMI**

SKRIPSI

HARNADIEMAS R.F.

0806340044

FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI BIOPROSES

DEPOK

JUNI 2012



UNIVERSITAS INDONESIA

**EVALUASI PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN ESENSIAL
Chlorella vulgaris PADA KULTIVASI FOTOBIOREAKTOR
OUTDOOR SKALA PILOT DENGAN PENCAHAYAAN
TERANG GELAP ALAMI**

SKRIPSI

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

HARNADIEMAS R.F.

0806340044

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 yang dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Harnadiemas R.F

NPM : 080634004

Tanda tangan : 

Tanggal :

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Harnadiemas R.F

NPM : 0806340044

Program Studi : Teknologi Bioproses

Judul Skripsi : *Analisis pertumbuhan dan produktivitas kultur sel mikroalga (*Chlorella*) untuk produksi biomassa *Chlorella* door skala pilot*

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

DEWAN PENGUJI

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

Penguji : Prof. Dr. Ir. Slamet, MT. (.....)

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

Penguji : Dr. Ir. Tania Surya Utami, MT. (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 11 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT atas izin-Nya tugas ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Skripsi dengan judul “**EVALUASI PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN ESENSIAL *Chlorella vulgaris* PADA KULTIVASI FOTOBIOREAKTOR OUTDOOR SKALA PILOT DENGAN PENCAHAYAAN TERANG GELAP ALAMI**” ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan akademis dalam meraih gelar Sarjana Teknik di Departemen Teknik Kimia FTUI.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Widodo Wahyu Purwanto, DEA, selaku ketua Departemen Teknik Kimia FTUI.
2. Ibu Ir. Dianursanti, M.T selaku pembimbing I, atas bimbingan yang telah diberikan.
3. Ibu Rita Arbianti selaku pembimbing akademik penulis, atas bimbingan, dorongan dan nasehatnya.
4. Semua dosen Teknik Kimia FTUI, guru-guru dari TK sampai SMA atas ilmu yang telah diberikan.
5. Ayah tersayang yang tak henti anakmu ini merindukannya. Meskipun telah berada dalam dunia yang berbeda, aku yakin kau mengharapkanku menjadi yang terbaik.
6. Mama dan adik Icha dirumah yang saat ingat kalian energi untuk terus berjuang selalu kembali ada. Terima kasih buat doa, restu dan dukungan mama dalam segala hal yang aku tahu tak mungkin dapat akau membalasnya secara utuh.
7. Teman sekontrakan : Radit, Ibonk, Khotib, Sungging, Nirwanto, Tile, dan Riyandi sebagai tempat bercanda penulis.
8. Teman-teman sepenelitian, Destya, Prima, Ingrid, dan Gesti, Nikmat, Prima E., dan Bang Yoga yang membantu hingga akhirnya skripsi ini selesai.

9. Teman-teman spesial yang telah membantu berpanas-panasan dan membantu penyusunan tugas akhir ini sehingga dapat selesai. Spesial untuk Aziz, Darul, Anggi.
10. Teman-teman angkatan 2008 atas kebersamaan dan pertemanannya selama ini.
11. Pihak-pihak lain yang mendukung dan membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu, penulis mengharapkan saran dan kritik untuk memperbaiki penulisan di masa yang akan datang.

Depok, Juni 2012

Harnadiemas R.F.

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Harnadiemas R.F.

NPM : 0806340044

Program Studi : Teknologi Bioproses

Departemen : Teknik Kimia

Fakultas : Teknik

Jenis Karya : Skripsi

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

EVALUASI PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN ESENSIAL *Chlorella vulgaris* PADA KULTIVASI FOTOBIOREAKTOR OUTDOOR SKALA PILOT DENGAN PENCAHAYAAN TERANG GELAP ALAMI

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di :Depok

Pada tanggal :.....

Yang Menyatakan



(Harnadiemas R.F.)

ABSTRAK

Nama : Harnadiemas R.F.

Program Studi : Teknologi Bioproses

Judul : Evaluasi pertumbuhan dan kandungan esensial *Chlorella vulgaris* pada kultivasi fotobioreaktor *outdoor* skala pilot dengan pencahayaan terang gelap alami

Energi cahaya merupakan salah satu faktor penting yang dibutuhkan dalam kultivasi *Chlorella vulgaris*. Namun penggunaan energi cahaya dengan cahaya lampu membuat peningkatan biaya produksi yang cukup signifikan. Siklus terang gelap alami matahari dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi yang potensial untuk kultivasi *Chlorella vulgaris*. Pada penelitian ini dilakukan proses kultivasi *Chlorella vulgaris* dalam fotobioreaktor skala pilot 150 L di luar ruangan menggunakan siklus pencahayaan terang gelap matahari. Pada proses kultivasi luar ruangan tersebut, kultur *Chlorella vulgaris* dapat tumbuh dengan baik pada kisaran temperatur 25- 40 °C dengan nilai *Optical Density* tertinggi 0,702 yang dicapai pada jam ke-168. Setelah kultivasi selama 200 jam dilakukan pengujian kandungan esensial dengan jumlah lipid sebesar 5,4 % berat kering, protein sebesar 50,36 % berat kering, total klorofil sebesar 1,8306 ppm serta β -karoten sebesar 0,686 ppm. Kualitas yield biomassa yang dihasilkan dengan menggunakan pencahayaan terang gelap alami memang tidak sebaik pencahayaan kontinu. Namun proses kultivasi dengan sistem terang gelap dapat dikaji lebih lanjut untuk mendapatkan hasil yang lebih ekonomis.

Kata kunci :

Chlorella vulgaris, siklus pencahayaan terang gelap, lipid, protein, klorofil, β -karoten

ABSTRACT

Name : Harnadiemas R.F.
Program Studi : Teknologi Bioproses
Judul : Evaluation of growth and essential content of *Chlorella vulgaris* at pilot-scale outdoor photobioreactor cultivation with light dark cycle illumination

Light energy is one of the important factors needed in the cultivation of *Chlorella vulgaris*. However, the use of light energy by halogen lamp increase cost of production significantly. Natural light dark cycle of the sun can be harnessed as a potential energy source for the cultivation of *Chlorella vulgaris*. In this research the cultivation of *Chlorella vulgaris* in a 150 L pilot scale photobioreactor outdoor lighting using light dark cycle of the sun. At the outdoor cultivation of *Chlorella vulgaris* culture was able to grow well in the temperature range 25-40 ° C with the highest Optical Density reached 0.702 at the hours to 168. After cultivation for 200 hours testing essential to the lipid content of dry weight, protein of dry weight, total chlorophyll, and β -carotene are 5,4% ;50,36% ; 1,8306 ppm and 0,686 ppm, respectively. The quality of the biomass yield produced by using natural dark light illumination is not as good as continuous lighting. But the process of cultivation with natural light dark cycle can be studied further to obtain more economical results.

Keyword :
Chlorella vulgaris, light-dark cycle illumination, lipid, protein, chlorophyll, β -carotene

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Batasan Masalah	3
1.5 Sistematika Penulisan	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Mikroalga <i>Chlorella sp.</i>	5
2.1.1 Taksonomi <i>Chlorella sp.</i>	6
2.1.2 Morfologi <i>Chlorella sp.</i>	6
2.1.3 Fase Pertumbuhan <i>Chlorella sp.</i>	7
2.1.4 Pemanfaatan <i>Chlorella vulgaris</i>	9
2.2 Faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	11
2.2.1 Nutrien	12
2.2.2 Intensitas Cahaya	12
2.2.3 Aerasi	14
2.2.4 Temperatur	14
2.2.5 Derajat Keasaman (pH).....	14
2.3 Fotosintesis pada <i>Chlorella vulgaris</i>	15

2.3.1	Komponen Fotosintesis Mikroalga Hijau <i>Chlorella vulgaris</i>	16
2.3.2	Reaksi Fotosintesis	18
2.3.3	Fotosintesis Mikroalga Hijau <i>Chlorella vulgaris</i>	21
2.3.4	Faktor yang mempengaruhi fotosintesis.....	22
2.4	Kultivasi <i>Chlorella vulgaris</i>	22
2.4.1	Prinsip Kultivasi <i>Chlorella vulgaris</i>	22
2.4.2	Sistem Kultivasi <i>Chlorella vulgaris</i>	23
2.4.3	Kontaminan dalam Kultivasi <i>Chlorella vulgaris</i>	25
2.5	State of the Art.....	27
BAB III	30
METODE PENELITIAN	30
3.1	Diagram Alir Penelitian	30
3.2	Bahan dan Alat Penelitian	31
3.2.1	Bahan Penelitian.....	31
3.2.2	Alat Penelitian.....	31
3.3	Variabel Penelitian.....	32
3.4	Prosedur Penelitian	33
3.4.1	Studi Literatur	33
3.4.2	Tahap Persiapan	33
3.4.3	Tahap <i>Pre-Culture</i>	33
3.5	Pelaksanaan Penelitian.....	37
3.6	Pengambilan Data	38
BAB IV	42
HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1	Hasil Pengamatan dan Analisis	42
4.1.1	Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Laju Pertumbuhan <i>C. vulgaris</i> ..	42
4.1.2	Pengaruh pencahayaan terhadap biomassa sel <i>C. vulgaris</i> (X_{sel}).....	45
4.1.3	Perubahan pH dalam kultivasi <i>C. vulgaris</i>	47
4.1.4	Pengaruh Temperatur terhadap Kultivasi <i>C.vulgaris</i>	49
4.1.5	Pengaruh Perlakuan Pencahayaan pada Kandungan Esensial <i>C. vulgaris</i>	51
BAB V	53

KESIMPULAN.....	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN A	59
LAMPIRAN B	68

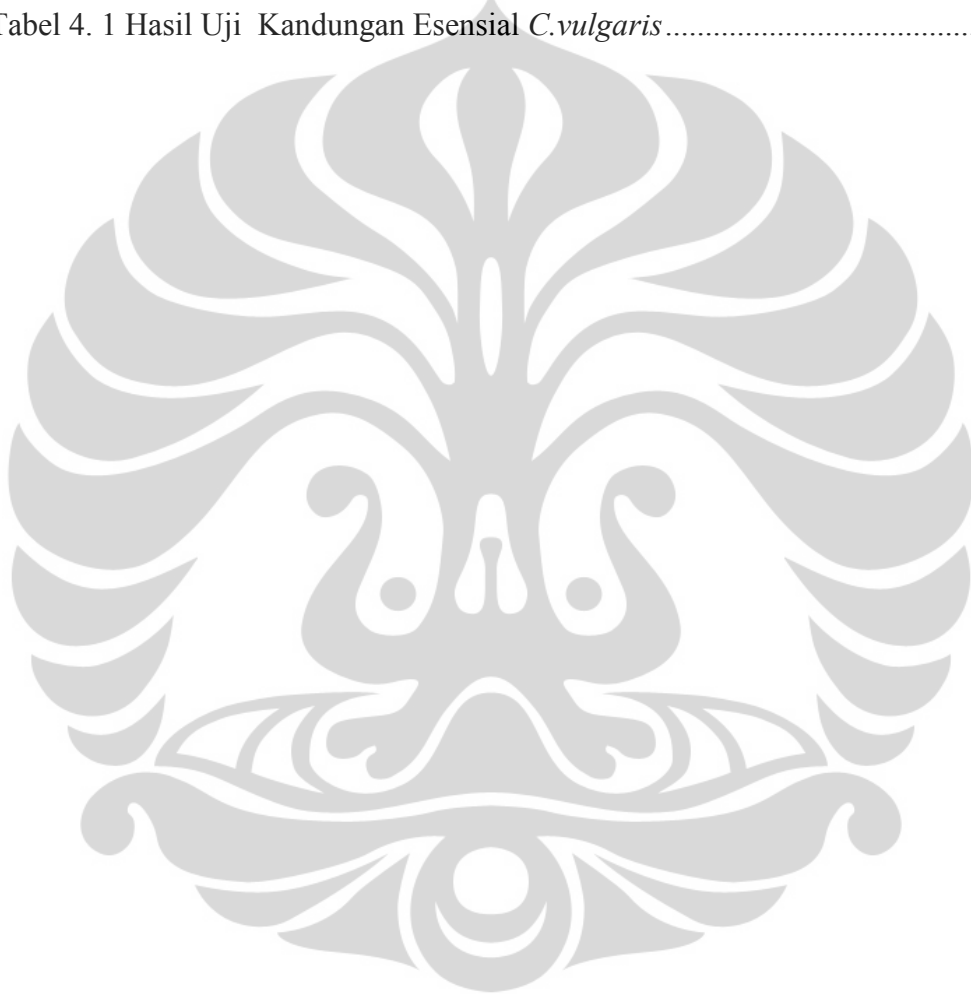


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur sel <i>Chlorella vulgaris</i>	6
Gambar 2.2. Kurva Pertumbuhan <i>Chlorella vulgaris</i>	7
Gambar 2.3 Transfer elektron pada membran tilakoid dalam kloroplas	16
Gambar 2.4 Struktur Klorofil a dan Klorofil b.....	17
Gambar 2.5. Reaksi Fotokimia Utama Pada Fotosistem II dan Fotosistem I	18
Gambar 2.6 Siklus Calvin untuk reaksi gelap	21
Gambar 2.7 <i>Flat-plate photobioreactor</i> salah satu contoh sistem kultivasi tertutup	24
Gambar 2.8 Sistem kultivasi terbuka <i>D.salina</i> di Hutt Lagoon Australia.....	25
Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian.....	30
Gambar 3.2 Rangkaian alat penelitian.....	34
Gambar 4.1 Grafik pengaruh intensitas cahaya terhadap laju pertumbuhan (terang gelap)	43
Gambar 4.2 Pengaruh intensitas cahaya (kontinu) terhadap kerapatan sel (Xsel)	46
Gambar 4.3 Perubahan pH medium terhadap waktu.....	48
Gambar 4.4 Grafik pengaruh temperatur terhadap laju pertumbuhan (μ).....	50

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 <i>State of the Art</i> Penelitian.....	29
Tabel 3. 1 Komposisi larutan trace metal (TMS).....	35
Tabel 3. 2 Komposisi larutan vitamin	35
Tabel 3. 3 Komposisi larutan nutrient	35
Tabel 3. 4 Penentuan kadar protein dengan metode Lowry	40
Tabel 4. 1 Hasil Uji Kandungan Esensial <i>C.vulgaris</i>	52



BAB I

PENDAHULUAN

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

1.1 Latar Belakang

Mikroalga merupakan salah satu jenis organisme fotosintetik yang banyak ditemukan hampir di seluruh permukaan bumi khususnya daerah perairan atau tempat dengan kelembaban tertentu. Bahkan beberapa jenis mikroalga mempunyai adaptasi yang cukup baik pada beberapa jenis kondisi lingkungan sehingga memungkinkan melakukan usaha kultivasi pada kondisi tertentu (Mata, Martins dkk., 2010). Usaha kultivasi mikroalga saat ini telah banyak dilakukan karena kandungan esensialnya yang bermanfaat bagi manusia dan siklus hidupnya relatif cepat dibandingkan tumbuhan lainnya. Beberapa mikroalga telah dimanfaatkan kandungan esensialnya sebagai sumber senyawa penting produk kimia yang digunakan pada industri makanan, kosmetik, dan farmasi (Borowitzka, 1999). Sumber lainnya menyebutkan bahwa beberapa jenis mikroalga juga dimanfaatkan untuk fiksasi gas CO₂, pengolahan limbah industri, perikanan dan energi yang berasal dari kandungan minyak nabatinya (Mata, Martins dkk., 2010 ; Wang B., dkk., 2008 ; Chisti, Y, 2005) Dari potensi yang beragam tersebut saat ini banyak dilakukan penelitian terkait usaha optimasi pertumbuhan mikroalga maupun kandungan esensial yang dimiliki.

Salah satu mikroalga yang banyak diteliti dan dikembangkan saat ini adalah *Chlorella vulgaris*. *C. vulgaris* merupakan salah satu mikroalga hijau yang mempunyai kandungan esensial bermanfaat bagi manusia. Menurut Becker (1994), *Chlorella sp.* mengandung 51-58% protein, 12-26 % karbohidrat, 2-22% lemak dan 4-5% asam nukleat. Selain itu, *C. vulgaris* juga mengandung pigmen klorofil yang tinggi dibanding spesies lainnya dimana pigmen ini banyak dimanfaatkan dalam dunia farmasi (Nakanishi, 2001). Adanya kandungan

potensial yang dimiliki *C. vulgaris* menunjukkan sebuah peluang dalam rekayasa proses kultivasi untuk mendapatkan biomassa *C. vulgaris* yang optimal.

Dengan banyaknya manfaat yang bisa diperoleh dari *C. vulgaris* memberikan sebuah peluang ekonomi untuk dikembangkan. Usaha kultivasi dengan skala besar telah dilakukan untuk mendapatkan *yield* biomassa yang baik dengan efisiensi energi dan nilai ekonomi yang tinggi. Kultivasi ini dilakukan dengan berbagai cara seperti sistem kolam terbuka, fotobioreaktor kolom vertikal, *flute-plate* fotobioreaktor, dan *tubular photobioreactor* yang memiliki kekurangan dan kelebihannya masing-masing (C.U. Ugwu dkk., 2007). Kendatipun proses kultivasi mikroalga skala besar telah dapat dilakukan, namun proses utilisasi mikroalga secara komersial masih menelan biaya yang sangat besar (Sheehan dkk., 1998; Chisti Y., 2007). Untuk itu perlu dikembangkan berbagai proses yang efisien untuk menghasilkan mikroalga yang memiliki nilai ekonomi tinggi.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi biaya operasional adalah melakukan rekayasa pada proses kultivasi *C. vulgaris*. Proses kultivasi *C. vulgaris* dapat dilakukan dengan siklus terang gelap yang mana akan mengurangi kebutuhan energi untuk penyorotan. Pada siang hari penggunaan sinar matahari sebagai sumber energi fotosintesis pengganti lampu dapat menjadi cara yang efektif dalam menekan biaya operasional kultivasi. Dengan rata-rata lama fotoperiodisitas matahari di Indonesia ± 12 jam per hari atau ± 4380 jam selama setahun menjadi sangat memungkinkan untuk melakukan efisiensi energi penyorotan dengan sinar matahari (Kawaroe, Partono dkk., 2010).

Pada penelitian ini akan dilakukan kultivasi mikroalga skala pilot 150 L pada fotobioreaktor pelat datar dengan siklus pencahayaan terang gelap alami menggunakan matahari. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan yang dilakukan di Departemen Teknik Kimia UI. Dari penelitian ini diharapkan dapat diketahui pengaruh perlakuan siklus terang gelap pada peningkatan produksi biomassa *Chlorella vulgaris* dan pengaruhnya terhadap kandungan esensialnya seperti lipid, protein, klorofil, dan β -karoten. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dalam penelitian-penelitian selanjutnya maupun sebagai referensi dalam upaya optimalisasi proses kultivasi *C. vulgaris*.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut maka dapat dirumuskan permasalahan yang dikaji dalam penelitian ini adalah:

- Bagaimana kinerja fotobioreaktor *outdoor* skala pilot untuk kultivasi *Chlorella vulgaris* dengan sistem terang gelap alami dilihat dari ketahanan biomassa terhadap fluktuasi kondisi lingkungan, laju pertumbuhan, dan kandungan esensial yang dimiliki.

1.3 Tujuan Penelitian

Secara umum tujuan dari penelitian ini adalah melakukan evaluasi terhadap kinerja fotobioreaktor skala pilot luar ruangan dengan cara:

1. Mendapatkan informasi profil pertumbuhan mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan sistem kultivasi terang gelap alami.
2. Mengetahui tingkat ketahanan *Chlorella vulgaris* terhadap kondisi lingkungan yang berubah-ubah.
3. Mengetahui pengaruh siklus pencahayaan terang gelap terhadap kandungan esensial *Chlorella vulgaris*.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioproses Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
2. *Chlorella vulgaris* yang digunakan diperoleh dari koleksi kultur Sub Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Dinas Kelautan dan Perikanan Kota Depok.
3. Jenis medium kultur yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Walne*.
4. Sistem reaktor yang digunakan adalah fotobioreaktor pelat datar dengan volume total 280 dm³ dan volume isian sebesar 150 dm³ yang dialiri udara dengan laju alir 1,5 cfm atau setara dengan 42,45 L/min.
5. Suhu operasional yang digunakan adalah suhu luar ruangan yang berkisar antara 25-40⁰C.

6. Pada penelitian ini air yang digunakan untuk kultivasi didapat melalui air PAM tanpa proses perlakuan khusus.

1.5 Sistematika Penulisan

Adapun sistematika penulisan yang digunakan untuk penulisan makalah seminar ini dapat disusun sebagai berikut :

BAB I PENDAHULUAN

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

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menjelaskan teori umum tentang mikroalga hijau *Chlorella sp.*, proses fotosintesis, faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan produksi mikroalga *Chlorella sp.* pada medium terbatas dan bioreaktor.

BAB III METODE PENELITIAN

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

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini berisi tentang hasil observasi serta analisis dari penelitian yang telah dilakukan disertai pembahasan atas apa yang telah didapatkan.

BAB V KESIMPULAN

Bab ini berisi tentang kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian yang telah dilakukan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Pada bab ini akan dibahas mengenai tinjauan pustaka yang menjadi referensi penelitian. Beberapa topik yang akan diuraikan antara lain mengenai Mikroalga *Chlorella sp.*, faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi biomassa *Chlorella sp.* pada medium terbatas dan fotobioreaktor.

2.1 Mikroalga *Chlorella sp.*

Mikroalga merupakan organisme tumbuhan paling primitif berukuran seluler yang umumnya dikenal dengan nama fitoplankton. Mikroalga hidup pada daerah-daerah perairan ataupun daerah yang berkelembaban tinggi diseluruh dunia. Organisme ini merupakan produsen primer perairan yang mempunyai kemampuan fotosintesis seperti layaknya tumbuhan tingkat tinggi.

Chlorellasp. merupakan mikroalga yang termasuk dalam kelas alga hijau atau *Chlorophyceae*. Mikroalga ini belum memiliki akar, batang, dan daun sejati, tetapi telah memiliki pigmen klorofil sehingga bersifat fotoautotrof. Tubuhnya terdiri atas satu sel (uniseluler) dan ada juga yang bersel banyak (multiseluler) dengan sifat yang cenderung membentuk koloni. Mikroalga hijau ini banyak tersebar di habitat air maupun tanah dan diduga sebagai asal mula tumbuhan. Selnya berbentuk bulat, bulat lonjong dengan diameter antara 2-8 μm . *Chlorella sp.* hanya melakukan reproduksi tipe aseksual, yaitu dengan pembelahan diri tipe mitosis. Selnya bereproduksi dengan membentuk dua sampai delapan sel yang terdapat dalam sel induk dan akan dilepaskan jika kondisi lingkungan mendukung (Kawaroe, Partono *dkk.*, 2010).

Mikroalga *Chlorella sp.* merupakan organisme fotosintetik yang mempunyai kemampuan fiksasi CO_2 yang baik karena kandungan klorofilnya yang sangat tinggi dibandingkan dengan seluruh alga hijau bahkan seluruh tanaman tingkat tinggi didunia (28,9 g/kg). Mikroalga ini merupakan mikroalga primitif yang telah ada sejak 2,5 miliar tahun yang lalu, namun populasinya masih dapat bertahan sampai sekarang karena beberapa sebab yaitu:

1. Kestabilan sifat genetik dari pengaruh luar.
2. Memiliki daya dan mekanisme perbaikan DNA yang tinggi untuk beradaptasi dengan lingkungannya yang baru.
3. Bentuk dan sifat dinding sel yang sangat kuat sehingga tahan terhadap pengaruh luar (Suriawiria, 2005).

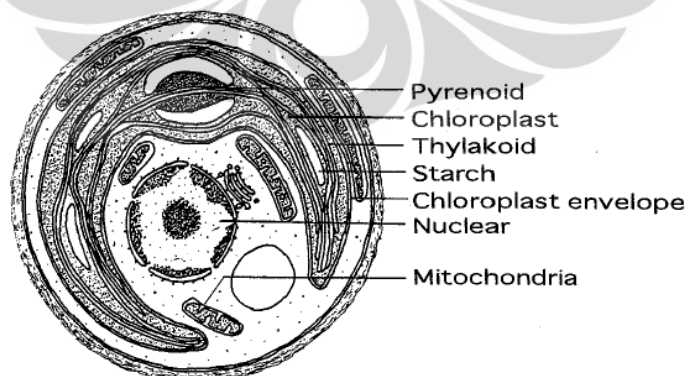
2.1.1 Taksonomi *Chlorella sp.*

Berdasarkan taksonominya, *Chlorella sp.* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Haeckel, 1886)
SubKingdom	: <i>Viridaeplantae</i> (Cavalier-Smith, 1981)
Filum	: <i>Chlorophyta</i>
Kelas	: <i>Chlorophyceae</i> (T.Christensen, 1994)
Ordo	: <i>Chlorococcales</i>
Famili	: <i>Oocystaceae</i>
Genus	: <i>Chlorella sp.</i> (Beijerinck, 1890)

2.1.2 Morfologi *Chlorella sp.*

Chlorella vulgaris merupakan alga yang termasuk kedalam organisme uniselular. Jenis selnya adalah eukariotik dengan kemampuan fotosintetis untuk menghasilkan makanannya. Struktur sel mikroalga *Chlorella vulgaris* dapat dilihat pada gambar 2.1 berikut:



Gambar 2.1. Struktur sel *Chlorella vulgaris*
(Isao Maruyama, 1997)

1. Inti Sel

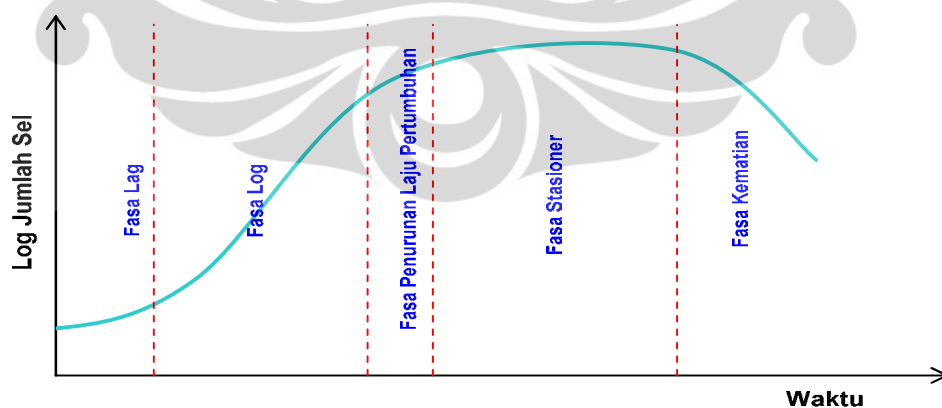
Inti sel atau disebut juga nukleus merupakan organel yang terdapat dalam sel mikro alga. Inti sel mengandung sebagian besar materi genetik sel dengan bentuk DNA linier panjang yang membentuk kromosom dengan beragam jenis protein. Pada saat proses pembelahan terjadi, materi genetik yang berada dalam inti sel induk diturunkan kepada sel anak hasil pembelahan mitosis.

Fungsi utama nukleus adalah mengontrol seluruh aktivitas sel seperti fotosintesis dan kapan saat pembelahan terjadi. Nukleus juga berfungsi untuk mengorganisasikan gen saat terjadi pembelahan sel, memproduksi mRNA untuk kode protein, sebagai tempat sintesis ribosom dan tempat replikasi DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*).

Pada saat akan terjadi pembelahan akan terbentuk nukleolus dalam inti sel. Nukleolus merupakan anak inti sel yang muncul saat sel akan mengalami pembelahan. Nukleolus terbentuk dari kumpulan RNA (*Ribo Nucleic Acid*) yang berperan dalam sintesis protein.

2.1.3 Fase Pertumbuhan *Chlorella sp.*

Secara garis besar pola pertumbuhan semua spesies mikroalga tergolong sama. Saat kultivasi dilakukan terjadi fase pertumbuhan yang terbagi menjadi lima tahap, yaitu:



Gambar 2.2. Kurva Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* (Wirosaputro, 2002)

1. Fase lag (*Lag Phase*)

Merupakan fase pertama pada pertumbuhan mikroalga saat kultivasi. Fase ini terjadi setelah pemberian inokulum kedalam media kultur dimana terjadi penundaan pertumbuhan yang dikarenakan *Chlorella sp.* melakukan adaptasi terhadap medium yang baru sebelum terjadinya pembelahan sel. Adaptasi disini merupakan suatu masa penyesuaian terhadap medium baru yang kaya akan nutrisi setelah dipindahkan dari medium sebelumnya dimana sel-sel kekurangan metabolit dan enzim. Pada fase ini kemungkinan mikroalga dapat mengalami *stressing* secara fisiologis karena terjadi perubahan kondisi lingkungan dari media awal ke media baru.

2. Fase logaritmik/eksponensial (*Log Phase*)

Fase logaritmik merupakan fase lanjutan dari fase lag, dimana pada fase ini mikroalga yang dikultivasi akan mengalami penambahan biomassa. Sel mikroalga yang dikultivasi pada fase ini berada dalam keadaan stabil dan akan mengalami pembelahan diri secara cepat. Bahan sel baru terbentuk dengan laju tetap, akan tetapi bahan-bahan tersebut bersifat katalitik dan massa bertambah mengikuti fungsi eksponensial. Hal ini bergantung pada satu dua hal, yaitu adanya kemungkinan zat makanan dalam pembenihan habis, sehingga menghasilkan metabolit yang beracun yang tertimbun dan menghambat laju pertumbuhan.

Pada fase eksponensial struktur sel berada pada kondisi normal dan secara nutrisi terjadi kesetimbangan antara nutrisi dalam media dan kandungan nutrisi dalam sel. Pada akhir fase ini kandungan protein dalam sel begitu tinggi, sehingga berada dalam kondisi yang paling optimal untuk tujuan lebih lanjut baik untuk pembibitan maupun pemanfaatan lainnya.

3. Fase penurunan laju pertumbuhan (*Declining Growth*)

Pada fase ini tetap terjadi penambahan jumlah sel namun laju pertumbuhannya menurun. Hal ini terjadi karena adanya kompetisi yang tinggi dalam media hidup dan nutrisi yang tersedia tidak mencukupi kebutuhan populasi yang bertambah dengan cepat pada fase eksponensial. Tidak seimbang nya jumlah nutrisi dengan populasi yang ada mengakibatkan hanya sebagian mikroalga yang mendapat nutrisi dengan cukup untuk tumbuh dan membelah.

4. Fase Stasioner

Pada fase stasioner jumlah sel cenderung konstan. Hal ini disebabkan oleh menipisnya zat makanan atau menumpuknya metabolit beracun dalam medium sehingga pertumbuhan terhambat. Akan tetapi dalam banyak kasus, pergantian sel terjadi dalam fase stasioner, yaitu adanya kehilangan sel yang lambat karena kematian yang diimbangi oleh pembentukan sel-sel yang baru melalui pertumbuhan dan pembelahan. Bila hal ini terjadi, jumlah seluruh sel akan bertambah secara lambat meskipun jumlah sel yang hidup akan konstan.

5. Fase Kematian

Dalam fase kematian terjadi penurunan jumlah sel mikroalga. Hal ini diindikasikan oleh kematian sel mikroalga karena adanya perubahan kualitas air ke arah yang buruk, penurunan kandungan nutrisi dalam media kultivasi dan kemampuan metabolisme mikroalga yang menurun akibat dari umur yang sudah menua. Selama fase ini, jumlah sel yang mati persatuan waktu secara perlahan-lahan bertambah sedangkan jumlah sel yang mengalami pembelahan menurun drastis. Pada umumnya warna air pada media kultivasi akan berubah, terjadi buih di permukaan media kultivasi dan warna yang pudar serta gumpalan mikroalga yang mengendap didasar bioreaktor.

2.1.4 Pemanfaatan *Chlorella vulgaris*

Dari kandungan esensialnya yang potensial, *Chlorella vulgaris* merupakan organisme autotrof yang akhir-akhir ini banyak dimanfaatkan untuk bahan baku industri. Kemampuannya berfotosintesis dapat dimanfaatkan untuk mereduksi CO₂ dari udara sehingga mengurangi efek rumah kaca (Wang B.et. al, 2008). Selain itu, kandungan lipidnya yang cukup tinggi juga potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan biodiesel.

Selain sebagai sumber potensial untuk menghasilkan energi hijau, *Chlorella vulgaris* juga banyak dimanfaatkan di dalam bidang kesehatan dan pengobatan penyakit. Studi yang banyak diteliti mengenai beberapa komponen utama *Chlorella vulgaris* adalah:

1. Dinding Sel

Dinding sel yang sangat tebal dan komposisinya terdiri dari 27% protein, 9,2% lemak, 15,4% selulosa, 31% hemiselulosa, 3,3% glukosamin, dan abu yang banyak mengandung besi serta kapur. Khasiat dinding sel ini menurut Sargowo dan Ratmawati (2002) adalah:

- Merangsang kekebalan tubuh sehingga tidak mudah terserang penyakit yang disebabkan oleh virus (batuk dan pilek); bakteri (disentri, tifus dan bisul); dan sebagainya.
- Menyerap atau mengikat kolesterol sehingga tidak akan menyebabkan tekanan darah tinggi.
- Menyerap atau mengikat racun, baik yang berasal dari bahan kimia, makanan atau bakteri.
- Merangsang produksi sel-sel kekebalan saluran pencernaan sehingga tidak mudah terserang infeksi saluran pencernaan atau diare.

2. Klorofil

Klorofil yang jumlahnya 3% dengan bantuan cahaya matahari mampu mengubah air dan zat asam arang menjadi oksigen serta bahan makanan yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Manfaat klorofil bagi kesehatan yang telah diteliti diantaranya adalah (Sargowo dan Rahmawati, 2002):

- menghambat pertumbuhan bakteri jahat di dalam saluran cerna dan merangsang pertumbuhan bakteri yang berguna untuk pencernaan makanan sehingga tidak mudah sariawan dan diare.
- Bersifat deodoran, sehingga dapat mengurangi bau badan, bau mulut, bau nafas, juga bau yang berasal dari gas perut (flatus).
- Merangsang tumbuhnya fibroblast sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka.
- Memperbaiki fungsi hati sehingga dapat menjalankan fungsi metabolisme makanan dan detoksifikasi racun.
- Merangsang pembentukan sel darah merah (eritrosit).
- Mencegah dan memperbaiki pengerasan pembuluh darah, untuk mencegah tekanan darah tinggi, penyakit reumatik dan jantung.
- Memperlancar aliran darah.

- Bersifat anti-proteolitik, untuk mencegah penyakit alergi, dan tumor atau kanker.
- Bersifat antioksidan sehingga dapat mengikat radikal bebas.

3. β - karoten

β - karoten terdapat dalam jumlah 18-20 kali lebih banyak dari pada β -karoten dalam wortel, pepaya atau tomat. Manfaat β -karoten adalah sebagai berikut (Sargowo dan Ratnawati, 2002):

- Sebagai antioksidan
- Merangsang kekebalan tubuh
- Sumber vitamin A

4. CGF (*Chlorella Growth Factor*)

CGF terkandung dalam nukleus pada sel *Chlorella*. CGF ini mengandung bahan pertumbuhan yang disebut *Ribo Nucleic Acid* (RNA) sebanyak 10% dan *Deoxy Ribo Nucleic Acid* (DNA) 3%. Dengan adanya RNA dan DNA dalam jumlah yang cukup, *Chlorella vulgaris* mampu berkembang biak dengan sangat cepat, menjadi 4 kali lipat hanya dalam waktu 16-20 jam. Satu sel *Chlorella vulgaris* baru mati setelah berkembang biak menjadi 10.000 sel (Jensen, 1990). Manfaat CGF adalah (Sargowo dan Ratnawati, 2002) :

- menghambat pertumbuhan tumor ganas (kanker).
- Meningkatkan regenerasi atau peremajaan sel-sel tubuh yang rusak.

5. Protein

Protein dalam *Chlorella vulgaris* terdiri dari asam amino esensial yang sangat diperlukan oleh tubuh karena tidak bisa disintesis oleh tubuh manusia sendiri. Selain berguna bagi pertumbuhan, kandungan protein alami yang dimiliki *Chlorella vulgaris* juga membantu menjaga gula dalam darah.

2.2 Faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

Seperti halnya organisme lainnya, pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dipengaruhi oleh beberapa hal. Untuk mendapatkan hasil kultivasi yang optimal, tentu diperlukan pengetahuan tentang faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *Chlorella vulgaris*. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam kultivasi untuk mendapatkan hasil yang optimal diantaranya seperti kualitas dan

kuantitas nutrisi, intensitas cahaya, tingkat keasaman (pH), temperatur, dan sistem aerasi yang digunakan (Kawaroe, Partono dkk., 2010).

2.2.1 Nutrien

Pemberian nutrisi yang benar akan sangat mempengaruhi terhadap pertumbuhan mikroalga maupun juga terhadap kandungan esensial yang dimiliki. Secara garis besar kebutuhan nutrisi mikroalga dapat dikelompokkan menjadi dua hal yakni mikronutrien dan makronutrien. Makronutrien antara lain C, H, N, P, K, S, Mg, dan Ca. Sedangkan mikronutrien yang dibutuhkan antara lain adalah Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn, dan Si (Kawaroe, Partono dkk., 2010). Defisiensi nutrisi yang diberikan pada mikroalga akan mempengaruhi kandungan protein, pigmen fotosintesis, karbohidrat dan lemak yang terkandung. Setiap nutrisi yang diberikan mempunyai fungsi yang khusus, seperti N, P, dan S yang berfungsi untuk pembentukan protein, sedangkan Na dan Fe berperan untuk pembentukan klorofil.

Nutrien yang diberikan pada mikroalga bergantung pada jenis mikroalga yang dikultivasi. Oleh karena itu, perlu dilakukan pemilihan medium yang tepat untuk kultivasi *Chlorella vulgaris*. Ada beberapa jenis medium yang digunakan dalam kultivasi *Chlorella vulgaris* seperti N-8 medium, *Benneck*, BG-11, Fitzgerald medium dan lain sebagainya. Semua medium yang telah disebutkan tersebut telah sesuai dengan kebutuhan nutrisi *Chlorella vulgaris*.

2.2.2 Intensitas Cahaya

Sebagai organisme yang bersifat fotoautotrof, cahaya memegang peranan penting dalam pertumbuhan *Chlorella vulgaris*. Cahaya yang dibutuhkan *Chlorella vulgaris* sebagai energi untuk melakukan proses fotosintesis berkisar antara 2-3 klux. Oleh karena itu intensitas cahaya yang tepat sangat penting, namun intensitas cahaya yang diperlukan tiap alga yang diperlukan untuk tumbuh secara maksimum berbeda-beda. Misalnya pada alga biru hijau yang akan melimpah pada intensitas cahaya rendah dan suhu tinggi (Kawaroe, Partono dkk., 2010).

Dalam teknik pencahayaanmikroalga, ada tiga hal yang dapat dilakukan yaitu teknik pencahayaan kontinu, pencahayaan gelap terang (fotoperiodesitas), dan alterasi. Berikut akan dijelaskan tentang teknik pencahayaan yang sering dilakukan pada kultivasi mikroalga:

✓ Pencahayaan Kontinu

Pada pencahayaan kontinu untuk *Chlorella sp.* dilakukan iluminasi dengan cahaya tampak (370-900 nm) secara terus menerus hingga mencapai fase stasionernya. Pada penelitian yang telah lalu menunjukkan bahwa perlakuan dengan teknik pencahayaan kontinu pada *Chlorella vulgaris* memberikan hasil pertumbuhan paling optimum dibandingkan dengan teknik pencahayaan gelap terang.

✓ Pencahayaan terang gelap (Fotoperiodesitas)

Teknik pencahayaan terang gelap dilakukan juga dengan cahaya tampak (370-900 nm), namun selang waktu tertentu saja dan kemudian diperlakukan tanpa pencahayaan atau gelap. Kondisi terang dilakukan selama 8 jam dan kondisi gelap dilakukan selama 6 jam, seperti halnya kondisi alami periode cahaya matahari. Perlakuan pencahayaan terang gelap mempunyai kelebihan pada efisiensi energi cahaya yang digunakan, namun laju pertumbuhannya masih lebih rendah dibandingkan dengan iluminasi kontinu.

✓ Alterasi

Pada teknik pencahayaan alterasi, intensitas cahaya yang diberikan disesuaikan dengan pertambahan jumlah sel *Chlorella vulgaris* yang ada medium akan menjadi semakin pekat sehingga cahaya yang diterima oleh sel *Chlorella vulgaris* yang ada dalam bioreaktor tidaklah merata. Peningkatan intensitas cahaya dilakukan agar intensitas cahaya yang cukup dapat diterima oleh sel *Chlorella vulgaris* baik yang berada pada bagian depan sampai yang paling belakang dimana lebih jauh dari sumber cahaya. Teknik alterasi ini sebelumnya telah dibuktikan dan menghasilkan biomassa yang lebih tinggi dibandingkan dengan teknik pencahayaan kontinu biasa pada *Cyanobacterium a. Cylindrica* (Wijanarko, Asami dkk., 2004)

2.2.3 Aerasi

Aerasi dilakukan untuk mencegah terjadinya penggumpalan atau pengendapan pada kultur mikroalga, selain itu berfungsi memastikan bahwa semua sel mikroalga mendapat cahaya dan nutrisi yang sama dimanapun berada, untuk menghindari stratifikasi suhu dan tercampurnya air dengan suhu berbeda, terutama pada kultivasi diluar laboratorium dan untuk meningkatkan pertukaran cahaya antara medium kultivasi dan udara (Kawaroe, Partono dkk., 2010).

Pada penelitian yang dilakukan di Departemen Teknik Kimia, Universitas Indonesia, digunakan *bubble* dari aliran udara yang mengandung CO₂ sebagai aerator agar tidak terjadi penggumpalan pada kultur dan memberikan kontak pada medium untuk melarutkan CO₂ sebagai substrat pada fotosintesis alga.

2.2.4 Temperatur

Temperatur pada kultivasi mikroalga merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan. Setiap mikroalga mempunyai temperatur ideal yang berbeda-beda untuk kultivasinya. Namun sebagian besar mikroalga mempunyai toleransi temperatur pada kisaran 16-35 °C. Sedangkan menurut Reynold (1990), suhu optimal bagi pertumbuhan mikroalga adalah 25-40 °C. Sedangkan untuk temperatur ideal bagi kultivasi *Chlorella vulgaris* berkisar antara 23-30 °C (Darmawan, 2010). Temperatur yang terlalu tinggi saat kultivasi akan menghambat metabolisme mikroalga, mendenaturasi protein yang ada dalam sel dan asam nukleat.

2.2.5 Derajat Keasaman (pH)

Pada saat proses fotosintesis penyerapan karbon dioksida dalam air terjadi dan menyebabkan penurunan CO₂ terlarut. Penurunan kandungan karbondioksida terlarut mengakibatkan peningkatan pH medium. Perubahan pH juga dapat mempengaruhi kinerja enzim yang berperan dalam metabolisme mikroalga.

Menurut Boyd (1990), kesetimbangan karbonat dapat bertindak sebagai pH buffer pada medium kultivasi. Pada keadaan basa, ion bikarbonat akan membentuk ion karbonat dan melepas ion hidrogen yang bersifat asam, sehingga kondisi medium menjadi netral. Sebaliknya pada kondisi asam, bikarbonat

terhidrolisis dan melepaskan ion hidrogen oksida yang bersifat basa dan membuat kondisi lingkungan menjadi netral.



Rata-rata derajat keasaman (pH) untuk kultivasi sebagian besar spesies mikroalga berkisar antara 7-9, dengan rata-rata pH optimum berkisar 8,2-8,7 (Lavens and Sorgeloos 1996).

2.3 Fotosintesis pada *Chlorella vulgaris*

Fotosintesis adalah suatu proses biokimia yang dilakukan tumbuhan, alga, dan beberapa jenis bakteri untuk menghasilkan makanan dengan memanfaatkan energi cahaya. Hampir semua makhluk hidup bergantung dari energi yang dihasilkan dalam fotosintesis. Akibatnya fotosintesis menjadi sangat penting bagi kehidupan di bumi. Fotosintesis juga berjasa menghasilkan sebagian besar oksigen yang terdapat di atmosfer bumi. Organisme yang menghasilkan energi melalui fotosintesis disebut sebagai fototrof.

Arti fotosintesis sendiri adalah proses penyusunan atau pembentukan dengan menggunakan energi cahaya atau foton. Sumber energi cahaya alami adalah matahari yang memiliki spektrum cahaya infra merah (tidak kelihatan), merah, jingga, kuning, hijau, biru, nila, ungu dan ultra ungu (tidak kelihatan).

Pada proses fotosintesis, cahaya yang digunakan adalah spektrum cahaya tampak, dari ungu sampai merah. Inframerah dan ungu tidak digunakan dalam fotosintesis.

Dalam fotosintesis, dihasilkan karbohidrat dan oksigen. Oksigen merupakan hasil sampingan dari fotosintesis dimana volumenya dapat diukur. Oleh sebab itu, untuk mengetahui tingkat produksi fotosintesis adalah dengan mengatur volume oksigen yang dikeluarkan dari tumbuhan.

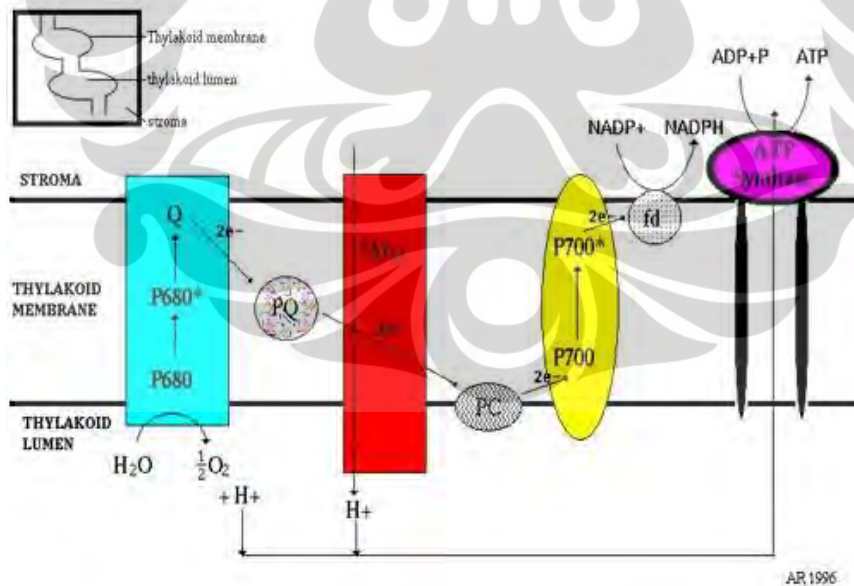
2.3.1 Komponen Fotosintesis Mikroalga Hijau *Chlorella vulgaris*

Komponen-komponen yang berperan dalam proses fotosintesis *Chlorella* adalah kloroplas, sistem antena penyerapan cahaya dan pusat reaksi fotokimia utama.

a) Kloroplas

Proses fotosintesis pada *Chlorella* terjadi di dalam kloroplas, dimana organel-organel ditemukan di dalam sel. Kloroplas menyediakan energi dan karbon tereduksi yang diperlukan untuk pertumbuhan *Chlorella* dan perkembangannya, sementara itu media hidupnya menyediakan CO₂, air, nitrogen, senyawa organik dan mineral-mineral yang penting yang diperlukan oleh kloroplas untuk biogenesis.

Di dalam kloroplas terdapat sistem membran yang kompleks. Dikenal dengan membran fotosintetik (*membrane thylakoid*), yang mengandung cukup protein yang diperlukan untuk reaksi terang. Protein yang diperlukan untuk fiksasi dan reduksi CO₂ terdapat di luar membran fotosintetik. Membran fotosintetik terbentuk terutama dari lemak, gliserol dan protein.



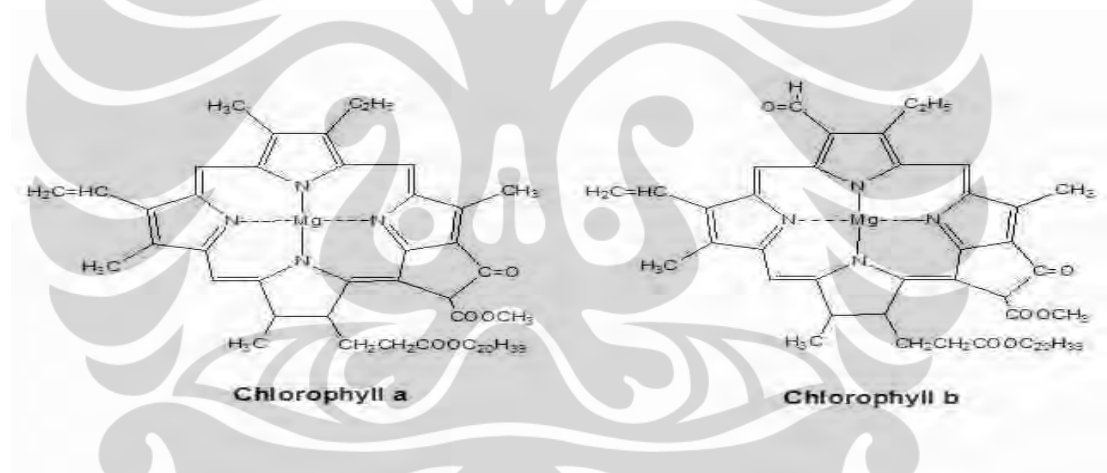
Gambar 2.3 Transfer elektron pada membran tilakoid dalam kloroplas
(www.sciencegateway.org)

Masing-masing kloroplas dibentuk dari lapisan dalam dan luar *envelopemembrane* dan berbentuk seperti lensa *konveks meniscus* dengan diameter 5-10 mikron. *Envelope membrane* bagian dalam berfungsi sebagai *barrier* untuk mengontrol fluks organik dan bertanggung jawab atas molekul yang keluar masuk kloroplas. Air dapat dengan bebas melalui *envelope membrane*, juga bagi molekul netral seperti CO₂ dan O₂.

b) Sistem antena penyerapan cahaya

Salah satu faktor utama yang menggerakkan fotosintesis adalah cahaya tampak (panjang gelombang 400 hingga 700 nm) yang teradsorb oleh molekul pigmen (terutama klorofil a dan b serta karotenoid).

Struktur kimia dari klorofil a dan b dapat dilihat pada gambar. Pada klorofil b, CH₃ pada cincin II digantikan oleh grup CHO. *Chlorella* akan kelihatan hijau dikarenakan klorofil yang dimilikinya.



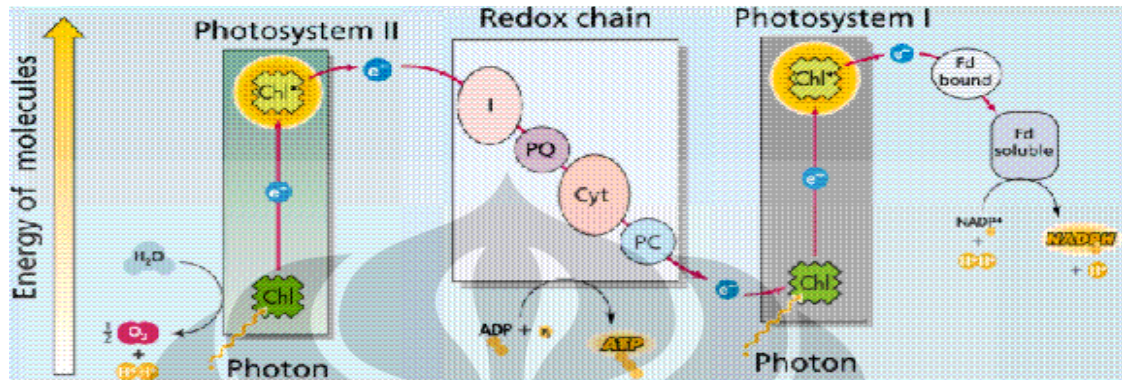
Gambar 2.4 Struktur Klorofil a dan Klorofil b

(www.benbest.com/nutrceut/phytochemicals.html)

Masing-masing klorofil ini memiliki kelebihan pada daya absorpsi terhadap panjang gelombang tertentu. Cahaya yang dikumpulkan oleh 200-300 molekul pigmen akan diikat oleh protein kompleks yang berada di dalam membran fotosintetik. *Light harvesting complex* akan mengelilingi pusat reaksi yang berfungsi sebagai antena. Fotosintesis akan dimulai dengan absorpsi foton oleh molekul antena, yang berlangsung sekitar femto detik (10^{-15} s) dan menyebabkan transisi dari elektron stabil menjadi elektron tereksitasi. Dalam waktu 10^{-15} detik bentuk tereksitasi akan menurun karena relaksasi vibrasi.

c) Pusat reaksi fotokimia utama

Terdapat dua pusat reaksi fotokimia utama dalam proses fotosintesis yaitu fotosistem II dan fotosistem I seperti ditunjukkan pada gambar



Gambar 2.5. Reaksi Fotokimia Utama Pada Fotosistem II dan Fotosistem I (http://www.biology.arizona.edu/the_biology_project/the_biology_project.html)

Fotosistem II menggunakan energi untuk menggerakkan dua reaksi kimia, oksidasi air dan reduksi *plastoquinone*. Fotosistem II kompleks terdiri dari 15 lebih *polypeptide* dan sekurangnya sembilan komponen redoks yang berbeda (klorofil, pheophytin, plastoquinone, tyrosine, Mn, Fe, Cytochrome b559, karotenoid dan histidine) yang menjalankan transfer elektron *light-induced*. Fotosistem II merupakan satu-satunya protein kompleks yang dapat mengoksidasi air dan menghasilkan pelepasan O₂ ke atmosfer.

Fotosistem I terdiri dari protein heterodimer yang berfungsi sebagai ligan untuk kebanyakan elektron *carrier*. Pusat reaksi dijalankan oleh sistem antena yang mengandung dua ratus molekul klorofil (terutama klorofil a). Pada keadaan terang, fotosistem II akan mengumpukan elektron ke fotosistem I. Elektron ini akan ditransfer dari fotosistem II ke fotosistem I oleh *intermediate carrier*. Reaksi tersebut adalah transfer elektron dari molekul air ke NADP⁺, menghasilkan bentuk tereduksi yaitu NADPH yang akan digunakan bersama ATP dan CO₂ yang difiksasi untuk membentuk senyawa organik pada reaksi gelap (siklus Calvin).

2.3.2 Reaksi Fotosintesis

Fotosintesis adalah reaksi kimia dimana energi pencahayaan diubah menjadi energi kimia dalam glukosa. Mikroalga hijau seperti tumbuhan tingkat tinggi pada

umumnya menggunakan proses ini untuk mensintesis gula dan gas oksigen yang merupakan komponen penting dalam kehidupan. Secara kimia, proses fotosintesis merupakan reaksi oksidasi-reduksi dimana oksigen dioksidasi dan hidrogen, ATP dan NADP direduksi.

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

a) Reaksi Terang

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

Secara umum, terdapat tiga reaksi utama yang terjadi pada reaksi terang, yaitu:

1. Oksidasi H₂O, menurut persamaan:



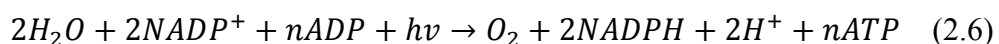
2. Reduksi NADP⁺, menurut persamaan:



3. Sintesis ATP, menurut persamaan:



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



Pada organisme fotosintetik oksigenik, terdapat dua pusat reaksi yang berbeda, yaitu fotosistem II dan fotosistem I yang bekerja bersamaan secara seri. Pada keadaan terang, fotosistem II mengumpukan elektron ke fotosistem I. Elektron ini akan ditransfer dari fotosistem II ke fotosistem I oleh *intermediate carrier*.

Reaksi tersebut adalah transfer elektron dari molekul air ke NADP^+ , menghasilkan bentuk yang tereduksi yaitu NADPH.

Pada proses fotosintesis, banyaknya energi yang disediakan oleh energi cahaya disimpan sebagai energi bebas redoks (sebuah bentuk energi bebas kimia) dalam NADPH, yang kemudian akan digunakan untuk mereduksi karbon

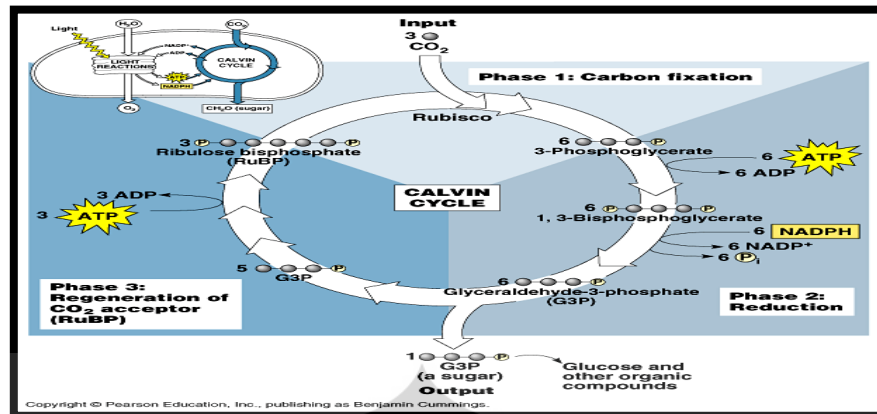
Efek dari reaksi terang adalah konversi energi radian menjadi energi bebas redoks dalam bentuk NADPH dan transfer energi grup fosfat dalam bentuk ATP. Pada reaksi terang, transfer elektron tunggal dari air menjadi NADP^+ melibatkan sekitar 30 ion logam dan 7 grup aromatik. Ion logam termasuk 20 ion Fe,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

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

b) Reaksi Gelap

Siklus Calvin merupakan suatu siklus dalam proses fotosintesis yang termasuk dalam reaksi gelap. Kata "Calvin" berasal dari nama seorang peraih *Nobel Prize* pada tahun 1950-an karena telah melakukan eksperimen berbagai reaksi, yaitu Melvin Calvin. *Chlorella* menghilangkan CO_2 dari lingkungan dan mereduksinya menjadi karbohidrat melalui siklus Calvin. Proses ini merupakan serangkaian reaksi biokimia yang mereduksi karbon dan menyusun ulang ikatan menghasilkan karbohidrat dari molekul CO_2 . Untuk fiksasi karbon (fiksasi gas CO_2 yang bebas berdifusi menjadi bentuk yang non-volatil berupa *reduced sugar*) dibutuhkan ATP (energi) dan NADPH (*reducing power*).

ATP dan NADPH yang dihasilkan dalam proses fotosintesis memicu berbagai proses biokimia. Pada tumbuhan proses biokimia yang terpicu adalah siklus Calvin yang mengikat karbondioksida untuk membentuk ribulosa (dan kemudian menjadi gula seperti glukosa). Reaksi ini disebut reaksi gelap karena tidak bergantung pada ada tidaknya cahaya sehingga dapat terjadi meskipun dalam keadaan gelap (tanpa cahaya).

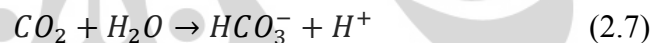


Gambar 2.6 Siklus Calvin untuk reaksi gelap

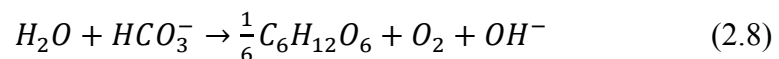
(www.superglossary.com/biology/Rubp.html)

2.3.3 Fotosintesis Mikroalga Hijau *Chlorella vulgaris*

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



Senyawa bikarbonat ini yang kemudian diserap oleh sel *Chlorella*. Proses metabolisme yang terjadi dalam sel selanjutnya adalah reaksi antara bikarbonat tersebut dan air yang terdapat dalam sel (siklus Calvin) membentuk senyawa organik seperti glukosa dan ion OH⁻ menggunakan energi ATP dan NADPH dari konversi cahaya pada reaksi terang, sebagaimana tergambar pada persamaan reaksi berikut (Wijanarko, Asami dkk., 2004):



Sehingga diketahui bahwa hasil fotosintesis dari mikroalga hijau *Chlorella* adalah ion OH⁻, oksigen molekular, dan senyawa organik yang akan digunakan sebagai cadangan makanan, apabila tidak mendapatkan cahaya dan CO₂ untuk pertumbuhan dan pembelahan selnya (heterotrof).

Seperti yang kita ketahui bahwa fotosintesis adalah bagian dari

metabolisme, maka apabila metabolisme ini terganggu maka pertumbuhan dari *Chlorella* akan mengalami hambatan.

2.3.4 Faktor yang mempengaruhi fotosintesis

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

2.4 Kultivasi *Chlorella vulgaris*

2.4.1 Prinsip Kultivasi *Chlorella vulgaris*

Pada dasarnya setiap jenis mikroalga memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Perbedaan karakteristik ini haruslah dipahami terlebih dahulu agar kita bisa mengetahui metode kultivasi yang tepat dan memilih jenis mikroalga yang sesuai

dengan tujuan kultivasi. Secara umum karakteristik yang sebaiknya dimiliki spesies mikroalga untuk kultivasi adalah:

- Dapat mentoleransi perubahan temperatur lingkungannya.
- Toleransi terhadap perubahan keasaman dan salinitas media kultivasi.
- Toleransi terhadap intensitas cahaya yang ditunjukkan dengan respon pertumbuhan khususnya pada mikroalga fotoautotrof.
- Karakteristik ukuran, daya apung, dan tingkah laku yang memudahkan untuk pemanenan.
- Tahan terhadap kontaminan, predator, dan penyakit.
- Toleransi terhadap kandungan nutrisi yang tinggi.
- Siklus hidup yang memungkinkan untuk kultivasi pada sistem kontinu sebagai bibit.

Spesies mikroalga yang memenuhi kriteria diatas akan memungkinkan untuk dikultivasi baik dalam skala laboratorium maupun skala massal.

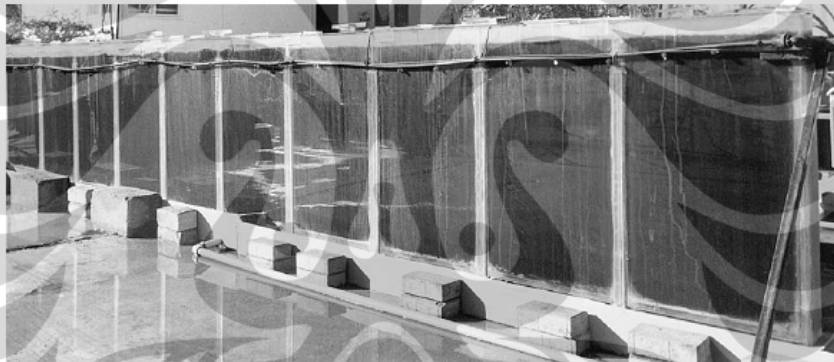
2.4.2 Sistem Kultivasi *Chlorella vulgaris*

Secara umum sistem kultivasi mikroalga dapat dibagi menjadi dua, yaitu sistem kultivasi terbuka maupun sistem kultivasi tertutup. Pemilihan sistem kultivasi yang tepat sangat ditentukan oleh tujuan dari kultivasi tersebut. Misalnya, pada kultivasi mikroalga yang ditunjukkan untuk produksi pangan dan obat-obatan akan cenderung lebih dipilih sistem kultivasi tertutup dimana pada sistem ini kita dapat meminimalkan jumlah kontaminan berbahaya yang berkaitan dengan isu kehygienisan pangan.

Ada banyak hal yang perlu dipertimbangkan dalam pemilihan sistem kultivasi. Menurut Borowitzka (1992) ada beberapa hal yang perlu dipertimbangkan dalam pemilihan sistem kultivasi mikroalga khususnya untuk kepentingan komersial diantaranya faktor biologis alga, lokasi, biaya pekerja, kebutuhan energi, ketersediaan air, nutrisi, cuaca, dan tujuan dari produk akhir alga yang dikultivasi. Dari beberapa pertimbangan tersebut kita dapat menentukan karakteristik dari sistem kultivasi yang kita butuhkan sehingga dapat dihasilkan produk dari kultivasi mikroalga yang mempunyai nilai ekonomis tinggi.

✓ Sistem Kultivasi Tertutup

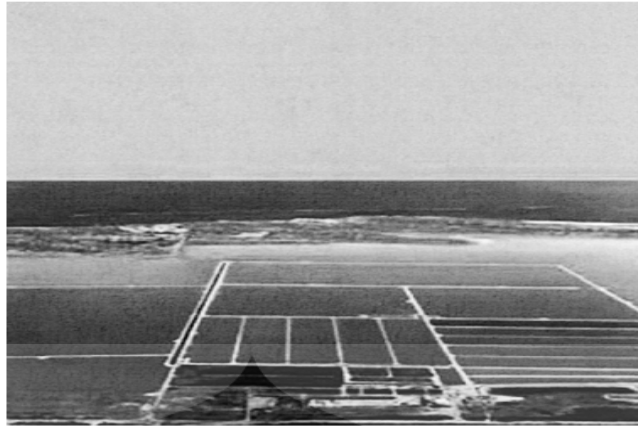
Konsep sistem kultivasi tertutup banyak dipilih karena kemudahannya untuk mengontrol kondisi untuk kultivasi alga yang membutuhkan kondisi selektif. Selain itu, sistem kultivasi tertutup digunakan untuk mencegah kontaminasi dari logam berat dan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan pada proses pengolahan alga menjadi produk turunannya (Borowitzka, 1998). Pada umumnya produktivitas biomassa yang dihasilkan dari sistem kultivasi tertutup lebih baik. Produktivitas yang lebih baik dari sistem kultivasi tertutup ini disebabkan oleh beberapa hal diantaranya terjaganya kultur murni dari kontaminan sehingga tidak ada persaingan dalam pertumbuhan, efisiensi pemanfaatan cahaya sebagai energi fotosintesis alga, dan terjaganya kondisi kultivasi optimum seperti pH, temperatur, dan laju transfer massa yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga.



Gambar 2.7 Flat-plate photobioreactor salah satu contoh sistem kultivasi tertutup

✓ Sistem Kultivasi Terbuka

Sistem kultivasi terbuka menjadi salah satu alternatif karena sistemnya yang mudah dan lebih murah dibandingkan dengan sistem kultivasi tertutup (Borowitzka, 1998). Sistem kultivasi ini pada umumnya menggunakan kolam terbuka dengan memanfaatkan cahaya matahari sebagai sumber energi. Walaupun lebih ekonomis dibandingkan dengan sistem kultivasi tertutup namun sistem ini memiliki beberapa kekurangan diantaranya sering terjadinya efek *shelf shading* dalam sel, jumlah CO₂ yang terdifusi ke udara cukup besar, membutuhkan area yang luas, seringnya terjadi kontaminasi oleh bahan kimia maupun mikroorganisme, dan biomassa yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan sistem kultivasi tertutup (C.U Ugwu, et.al, 2007)



Gambar 2.8 Sistem kultivasi terbuka *D. salina* di Hutt Lagoon Australia

2.4.3 Kontaminan dalam Kultivasi *Chlorella vulgaris*

Dalam kultivasi mikroalga perlu dilakukan pemeriksaan yang seksama terkait bibit yang digunakan. Selain itu saat kultivasi juga perlu dijaga dalam kondisi yang aseptik agar tidak terjadi kontaminasi baik dari mikroalga lain ataupun dari bakteri. Adanya kontaminasi dari mikroorganisme lain dalam media kultur dapat merugikan karena akan timbul persaingan dalam perebutan nutrisi sehingga dapat menurunkan produktivitas biomassa yang diinginkan. Beberapa jenis mikroorganisme yang seringkali menjadi kontaminan saat kultivasi mikroalga antara lain (Kawaroe, Partono dkk., 2010):

a. Protozoa

Pada kultivasi mikroalga protozoa merupakan salah satu organisme yang seringkali mengontaminasi kultur. Jenis protozoa yang seringkali mengontaminasi mikroalga adalah *Ciliata* dan *Amoeba* yang berbentuk soliter, namun ada juga yang berkoloni. Karakter dari mikroorganisme ini adalah perenang bebas dan beberapa dari organisme ini bersaing dengan mikroalga untuk mendapatkan nutrisi, sedangkan yang lain memakan mikroalga atau mengakumulasi racun yang dapat membunuh *rotifer*, *artemia*, dan Ikan.

Kelas *Ciliata*

Ciliata memiliki silia yakni alat tubuh menyerupai rambut yang digunakan *Ciliata* untuk bergerak dan memantau lingkungan di sekitarnya. Beberapa spesies yang sering dijumpai dalam sistem kultivasi yaitu:

✓ Ordo Holotricha

Paramecium memiliki sel bebetuk cerutu dengan lebar 25-40 μm dan panjang antara 50-150 μm , serta memiliki mulut yang jelas. Organisme ini hidup di air tawar dan memiliki vakuola kontraktil untuk membantu proses osmoregulasi dan mengeluarkan nitrogen. Banyak organisme ini memakan alga, bakteri, dan ciliata yang berukuran lebih kecil. Beberapa spesies berbentuk kaki dan beberapa diantaranya berbentuk kista.

Selain *Paramecium*, salah satu ordo holotricha yang memangsa alga adalah *Colpoda*. Organisme ini berbentuk menyerupai ginjal dengan panjang 15-20 μm dan panjang 25-30 μm . Organisme ini merupakan perenang aktif dan umum ditemukan dalam kultur alga yang dikultivasi tidak dalam keadaan aseptik.

✓ Ordo Spirothrica

Euplotes tergolong dalam kelas Ciliata yang mempunyai cilia termodifikasi yang dinamakan cirri. Cirri berfungsi sebagai alat gerak dan sekaligus sebagai alat indera untuk memantau lingkungan sekitar. Organisme ini berukuran cukup besar yaitu sekitar lebar 40-50 μm dan panjang 90-120 μm .

✓ Ordo Sarcodina

Sarcodina termasuk dalam protozoa karena organisme ini menggunakan pseudopodia (kaki semu) untuk bergerak dan makan. Organisme ini memakan protozoa lainnya, mikroalga, rotifer, dan bahan organik mati. Kelompok ini mencakup foraminifera yang mengeluarkan cangkang terbuat dari kalsium dan juga radiolaria yang cangkangnya terbuat dari silikon.

✓ Ordo Amoeba

Amoeba merupakan mikroorganisme yang dapat bergerak di dasar air dan memakan organisme kecil lainnya. Amoeba menggunakan pseudopodianya untuk memangsa organisme kecil lain. Amoeba memiliki ukuran yang bervariasi antara 20-70 μm .

b. Bakteri

Bakteri hampir dapat ditemukan di semua tempat baik pada perairan maupun daratan. Organisme ini merupakan bagian yang penting dari banyak proses biologis pada sistem kultivasi mikroalga. Bakteri memiliki hubungan

dengan *cyanobacteria* atau alga biru-hijau. Jumlah bakteri dalam kultivasi mikroalga biasanya kecil selama masa pertumbuhan eksponensial dan meningkat seiring dengan kematian mikroalga dan melepaskan senyawa organik.

c. Nematoda

Nematoda atau cacing gelang berukuran kecil terkadang ditemukan pada kultivasi mikroalga, namun secara umum tidak menimbulkan masalah khusus. Akan tetapi, nematoda biasanya bersifat parasit dimana dalam bentuk perenang bebas ditemukan dalam lingkungan sistem kultivasi dan secara aktif memakan bakteri dan mikroalga.

d. Fungi

Fungi mencakup jamur, lumut, dan cendawan. Pada sistem kultivasi yang telah berlangsung lama biasanya kandungan glukosanya cukup tinggi. Kondisi seperti ini akan mendukung tumbuhnya jamur yang dapat mengganggu sistem kultivasi mikroalga yang ada.

e. Rotifer

Rotifer merupakan salah satu organisme yang pada umumnya digunakan sebagai larva ikan. Namun, rotifer dapat berubah menjadi pengkontaminasi dan memakan mikroalga yang dikultivasi. Bahkan sebuah inokulum rotifer yang kecil dapat menghancurkan kultivasi mikroalga dalam waktu yang sangat singkat. Oleh karena itu perlu menjaga sistem kultivasi mikroalga dari kontaminasi rotifer.

2.5 State of the Art

Penelitian tentang mikroalga menjadi sangat menarik pada beberapa waktu terakhir dikarenakan banyaknya penelitian menunjukkan potensinya yang besar untuk dimanfaatkan dalam berbagai macam kebutuhan manusia. Beberapa penelitian dilakukan dengan mereayasa sistem kultivasi diarahkan untuk mendapatkan yield biomassa yang optimal. Ada pula rekayasa terhadap medium kultivasi untuk meningkatkan kandungan esensial tertentu seperti lipid yang dimanfaatkan sebagai bahan baku biodiesel. Secara garis besar penelitian yang

dilakukan terhadap mikroalga saat ini bertujuan untuk meningkatkan yield biomassa yang didapat, meningkatkan kandungan esensial yang dimiliki mikroalga, atau melakukan rancang sistem untuk efisiensi terhadap proses produksi yield mikroalga.

Penelitian tentang mikroalga khususnya *Chlorella vulgaris* telah banyak dilakukan di Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia, namun selama ini yang dilakukan masih dalam skala laboratorium. Wijanarko (2006) misalnya melakukan variasi perlakuan pencahayaan untuk mendapatkan *yield* biomassa yang optimal dengan energi yang efisien. Sementara itu Bayu (2004) melakukan pengujian pencahayaan fotoperiodesitas terang gelap untuk mendapatkan profil pertumbuhan *Chlorella vulgaris*. Pada penelitian lainnya Rahayu (2006) melakukan pemodelan terhadap kultivasi *Chlorella vulgaris* dengan intensitas pencahayaan alami matahari untuk melihat produktivitas kultivasinya.

Penelitian tentang mikroalga lainnya juga dilakukan Ogbonna dan Tanaka (1996) dimana terfokus untuk mengetahui pengaruh pencahayaan terang gelap pada kultivasi *Chlorella pyreidinosa*. Hasil yang didapatkan yang menunjukkan adanya pengurangan biomassa akibat ketiadaan energi cahaya dan perbedaan komposisi biokimia tiap perlakuannya. Richmond (2001) melakukan kultivasi luar ruangan dengan menggunakan *flat-plate photobioreactor* untuk memaksimalkan energi cahaya matahari pada kultivasi *Nannochloropsis sp.* Sedangkan penelitian lainnya yang dilakukan oleh Feng, dkk (2012) diteliti tentang akumulasi lipid pada kultivasi luar ruangan menggunakan *flat-plate photobioreactor*. Pada penelitian lainnya juga dilakukan kultivasi *Alexandrium minutum* dengan menghitung efisiensi energi khususnya energi pencahayaan menggunakan pencahayaan alami dan pencahayaan buatan (Itoiz, E.S., dkk., 2012). Berikut ditampilkan tabel yang merupakan State of the Art dari penelitian yang dilakukan ini :

Tabel 2. 1 *State of the Art* Penelitian

		Sistem Pencahayaan						
		Kontinu	Terang Gelap	Alami	Kontinu	Terang Gelap	Alami	
Skala Kultivasi	Labortorium	(Yeh, K.L., Chang, J.S., 2012)						Flat-plate photobioreactor Sistem Reaktor
	Pilot			Penelitian ini			(Feng P., dkk., 2011)	
	Massal							
Skala Kultivasi	Labortorium	(Wijanarko, A., 2006)	(Bayu, 2004)	(Rahayu, 2006)	(Richmond, A., 2001)	(Ogbonna dan Tanaka, 1996)		Non-Flat plate photobioreactor Sistem Reaktor
	Pilot					(Itoiz, dkk., 2012)		
	Massal							
		Chlorella vulgaris			Non-Chlorella vulgaris			
		Jenis Mikroalga						

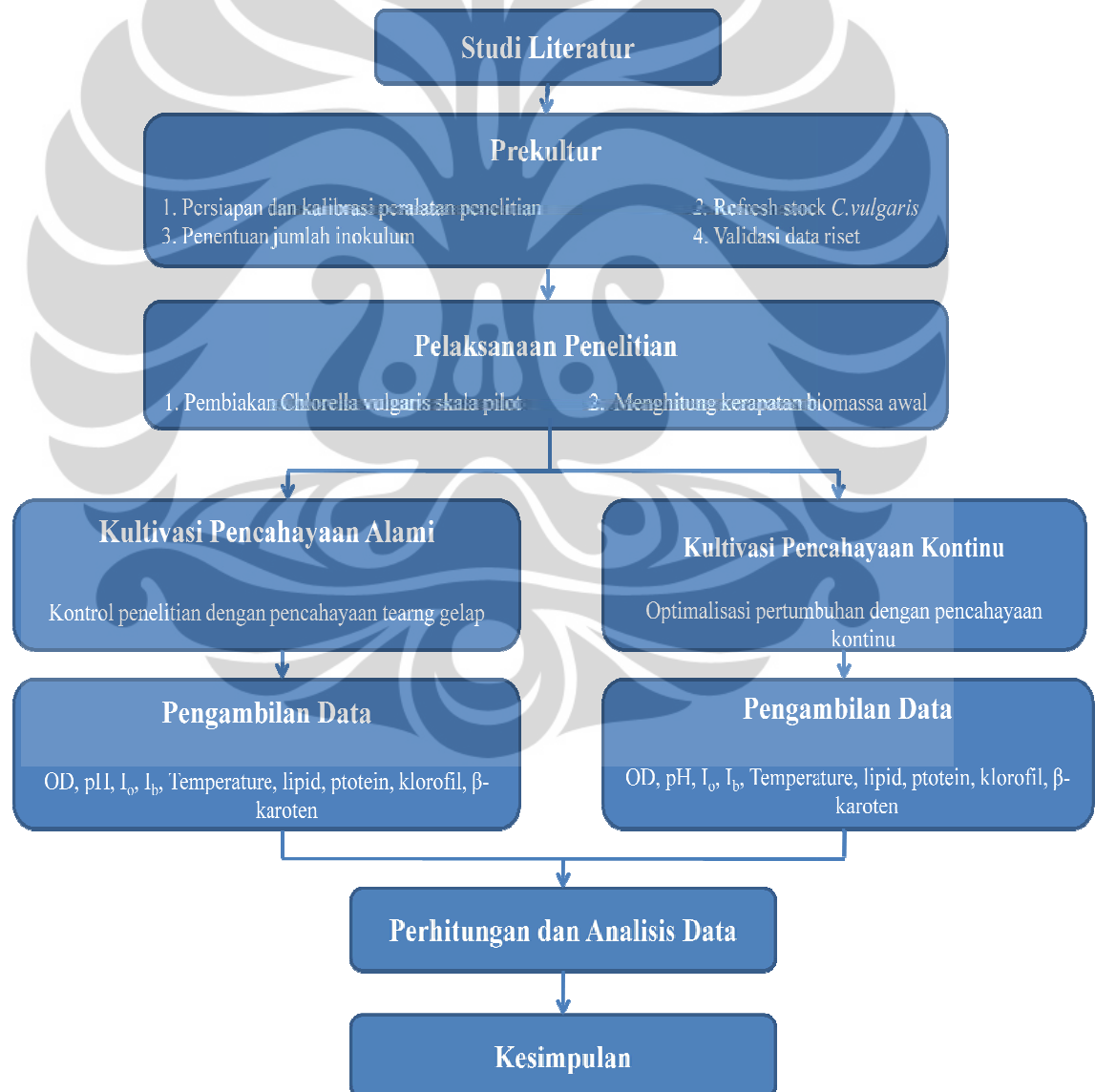
BAB III

METODE PENELITIAN

Pada bab ini akan dijelaskan mengenai diagram alir penelitian, alat dan bahan penelitian, variabel penelitian, prosedur serta metode perhitungan data hasil observasi yang akan digunakan dalam penelitian ini.

3.1 Diagram Alir Penelitian

Skema proses penelitian ini dapat digambarkan dalam diagram alir pada gambar berikut ini:



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

1. Starter mikroalga hijau *Chlorella vulgaris* yang didapatkan dari Dinas Perikanan Darat Kota Depok.
2. Sera CO₂-Tabs plus sebagai sumber karbon pada kultivasi *Chlorella vulgaris*.
3. ZnCl₂, CoCl₂.6H₂O, CuSO₄.5H₂O dan (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O untuk pembuatan larutan TMS.
4. *Cyanocobalamine*, *Thiamine*, dan *Biotin* sebagai larutan vitamin.
5. FeCl₃.6H₂O, MnCl₂.4H₂O, H₃BO₃, EDTA (*disodium salt*), NaH₂PO₄.2H₂O, dan NaNO untuk pembuatan larutan nutrisi.
6. Air bersih yang bersumber dari PAM untuk pembuatan medium kultur.
7. Alkohol untuk sterilisasi peralatan.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan di reaktor yang dirangkai dalam satu sistem instrumen antara lain:

1. Fotobioreaktor berbentuk *flat-plate* berkapasitas 280 L dari bahan kaca transparan.
2. Fotobioreaktor berbentuk *flat-plate* berkapasitas 18 L dan 40 L dari bahan kaca transparan untuk *refresh* alga.
3. Sparger berbentuk pipa yang berlubang-lubang untuk sistem aerasi dalam reaktor 280 L sebanyak 4 buah.
4. Selang silikon untuk penghubung *air pump* ke sparger.
5. *Air pump* kapasitas 140 L/min merk resun LP-100
6. Flowmeter udara untuk pengukuran laju alir.
7. Sumber cahaya sinar tampak berupa lampu Philip Halogen 23 W/ 220-240 V/ 1420 lm/ 62 lm/W *cool day light*.
8. *Y-junction* untuk memecah aliran udara/gas
9. *T-septum* dari bahan logam sebagai tempat sampel konsentrasi gas masuk dan keluar dari reaktor.

10. Gelas beaker aliran gas keluaran fotobioreaktor sebagai penahan aliran udara masuk dari lingkungan.

Peralatan berikut merupakan instrumen untuk pengambilan data penelitian, baik variabel bebas maupun variabel terkaitnya, yaitu:

1. *Optical Density* 600 nm (OD_{600}) dengan spektrofotometer Double-Beam, spektrofotometer model 200-20 untuk mengukur kerapatan biomassa dalam medium kultur.
2. Luxmeter (Luxtron LX-103) untuk kecepatan flux cahaya awal dan transmisi.
3. *pH meter electrode* (Hanna Model HI 8014) untuk monitor pH medium kultur.
4. *Stopwatch* untuk mengukur waktu.
5. Penggaris untuk mengukur ketinggian level liquid.

Peralatan lain sebagai tambahan antara lain :

1. Peralatan *glassware* yang terdiri dari erlenmeyer, pipet ukur, pipet tetes, gelas ukur, botol dampel dan beaker glass yang memiliki volume tertentu sesuai dengan kebutuhan.
2. Bola karet untuk pipet ukur.

3.3 Variabel Penelitian

1. Variabel kontrol, yaitu variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga hubungan antara variabel bebas terhadap variabel terikat tidak dipengaruhi faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kontrol meliputi : OD_{awal} , Volume kultivasi, Komposisi medium, laju alir udara
2. Variabel terikat, yaitu variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat meliputi : pH medium, laju pertumbuhan biomassa, kandungan lipid, protein, klorofil, dan β -karoten.
3. Variabel bebas, yaitu variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel terikat. Variabel bebas meliputi : sistem pencahayaan (sistem terang gelap dan kontinu).

3.4 Prosedur Penelitian

Tahapan proses penelitian yang akan dilakukan dapat dijabarkan sebagai berikut :

3.4.1 Studi Literatur

Studi literatur dilakukan sebelum tahap persiapan, *pre-culture*, dan pelaksanaan penelitian. Dimana pada tahap ini semua literatur yang mendukung berjalannya penelitian baik dari buku, jurnal ataupun karya ilmiah lainnya dikumpulkan dan dipelajari dengan seksama.

3.4.2 Tahap Persiapan

Kalibrasi Alat

Sebelum dilakukan penelitian, maka perlu dilakukan kalibrasi alat yang terkait sebagai alat ukur untuk mengambil data beberapa variabel. Hal ini bertujuan agar pengukuran yang dilakukan terhadap variabel yang ada tepat dan sesuai dengan kondisi aktual yang ada.

Alat-alat yang diperlukan untuk dikalibrasi meliputi:

1. Flowmeter udara
2. pH-meter
3. Spektrofotometer dengan memvalidasi grafik hubungan antara OD dengan jumlah kerapatan sel (X_{sel}).

Cara-cara melakukan kalibrasi untuk setiap peralatan dilakukan sesuai dengan petunjuk atau *manual book* yang ada.

3.4.3 Tahap *Pre-Culture*

3.4.3.1 Persiapan dan Perangkaian Alat

Peralatan riset dirangkai dalam suatu lemari kaca untuk melindungi reaktor dari kontaminan. Reaktor yang digunakan berukuran 280 L. Reaktor yang digunakan dihitung nilai α_{kaca} -nya sebagai fungsi dari intensitas. Nilai α_{kaca} ini digunakan untuk mengetahui hambatan cahaya dari reaktor dikarenakan ukurannya dan tebalnya yang berbeda-beda sehingga pada perhitungan dapat diketahui jumlah cahaya yang digunakan mikroalga untuk pertumbuhannya dengan tepat.

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

Kemudian dipasang rangkaian alat filtrasi di dinding dalam reaktor, untuk penghubung rangkaian filtrasi digunakan selang silikon dan satu buah flowmeter udara yang dihubungkan dengan satu buah air flow.

Kalibrasi flowmeter juga dilakukan agar dapat diketahui dengan tepat skala dari masing-masing flowmeter. Hal ini penting karena laju alir udara yang terlalu tinggi memberikan efek *shear stress* pada medium kultivasi sehingga membuat pertumbuhan *C. vulgaris* terhambat.

Kemudian untuk sumber iluminasi digunakan lampu halogen dengan kekuatan intensitas cahaya sampai 110 Klux. Karena lampu ini berdaya 12 V maka dipasang transformator untuk menurunkan tegangan dari 220 V ke 12 V.

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



Gambar 3.2Rangkaian alat penelitian

3.4.3.2 Pembuatan Medium *Walne*

Medium yang digunakan sebagai medium kultur media pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dalam riset ini adalah medium *Walne*. Medium *Walne* dibuat dari tiga larutan yang terdiri dari larutan nutrien, larutan *trace metal* (TMS), dan larutan vitamin. Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat larutan tersebut yaitu:

Tabel 3.1 Komposisi larutan trace metal (TMS)

No	Zat terlarut	Jumlah (gram)
1	ZnCl ₂	2.1
2	CoCl ₂ .6H ₂ O	2
3	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,9
4	CuSO ₄ .5H ₂ O	2
		Untuk 100 ml larutan

Tabel 3.2 Komposisi larutan vitamin

No	Zat Terlarut	Jumlah
1	<i>Cyanocobalamin</i>	10 mg
2	<i>Thiamine</i>	10 mg
3	<i>Biotine</i>	200 µg
		Untuk 100 ml larutan

Tabel 3.3 Komposisi larutan nutrient

No	Zat Terlarut	Jumlah
1	FeCl ₃ .6H ₂ O	1,3 gram
2	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,36 gram
3	H ₃ BO ₃	33,6 gram
4	EDTA (<i>disodium salt</i>)	45 gram
5	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	20 gram
6	NaNO ₃	100 gram
7	Larutan TMS	1 ml

Pertimbangan dalam penggunaan medium *Walne* karena semua nutrisi yang diperlukan *Chlorella vulgaris* untuk tumbuh dapat dipenuhi oleh medium *Walne*. Selain itu, penggunaan medium ini juga mengacu pada hasil riset-riset sebelumnya yang memberikan hasil cukup baik untuk digunakan sebagai media kultivasi mikroalga *Chlorella vulgaris*.

Cara membuat medium :

1. Menyiapkan bahan-bahan yang diperlukan untuk membuat lautan *trace metal* diantaranya $ZnCl_2$ 2,1 gram; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 2 gram; $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ 0,9 gram, dan $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 2 gram. Semua zat tersebut dilarutkan pada akuades 100 ml dan diaduk agar larut.
2. Menyiapkan bahan-bahan untuk membuat larutan vitamin diantaranya *Cyanocobalamine* 10 mg, *thiamine* 10 mg, *biotin* 200 μ g. Ketiga zat tersebut dilarutkan dalam 100 ml akudes dan diaduk hingga larut. Larutan yang terjadi akan berwarna merah jambu.
3. Menyiapkan bahan-bahan untuk membuat larutan nutrien diantaranya $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 1,3 gram, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0,36 gram, H_3BO_3 33,6 gram, EDTA (*disodium salt*) 45 gram, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 20 gram, $NaNO_3$ 100 gram, dan 1 ml larutan TMS yang telah dibuat sebelumnya. Semua zat tersebut dilarutkan dalam akuades hingga volume 1 liter dan diaduk hingga semuanya larut. Larutan yang terjadi akan berwarna kuning keemasan.
4. Untuk membuat medium *Walne* larutkan 1 ml larutan nutrient dan 0,1 ml larutan vitamin untuk setiap pembuatan 1 liter medium kultivasi. Air yng telah ditambahkan larutan nutrien dan larutan vitamin telah siap untuk digunakan sebagai media kultivasi.

3.4.3.3 Pemiakan Kultur Murni *Chlorella vulgaris*

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

1. Menyiapkan medium serta peralatan pemiakan (wadah, selang udara, tutup wadah) lalu disterilkan terlebih dahulu.
2. Stok murni *Chlorella vulgaris* dimasukkan kedalam wadah steril dan dicampur dengan medium *Benneck* yang telah steril. Perbandingan antara jumlah stok *Chlorella* dengan medium dapat diatur sesuai kebutuhan riset. Pemandahan

ini harus dijaga steril, dilakukan dalam *transfer box*, lingkungan disterilkan dengan alkohol 70% dan menggunakan api bunsen.

3. Lalu medium kultur tersebut di-*bubbling* dengan menggunakan kompresor udara sebesar 1v/vm. Pada tahap ini juga harus diberikan cahaya namun dengan intensitas yang kecil ± 1000 lx.
4. Pembiakan dapat dilakukan selama satu minggu atau lebih bila bertujuan untuk memperbanyak stok yang ada, tetapi jika hanya untuk melewati *lag time* dapat dilakukan selama 2-3 hari atau ± 60 jam, tergantung jumlah selnya.

3.4.3.4 Penentuan Jumlah Inokulum *Chlorella vulgaris*

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

1. Homogenisasi yang dilakukan dengan pengadukan medium kultur sampai semua endapan *Chlorella vulgaris* yang ada merata di dalamnya.
2. Pengambilan sejumlah volume inokulum stok yang teraduk merata dan memasukkannya ke dalam *glass cuvette*.
3. Penghitungan kerapatan biomassa dapat dilakukan dengan alat bantu spektrofotometer, didapatkan data absorbansi kemudian menggunakan kurva kalibrasi OD Vs X_{sel} .

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Pada tahap penelitian selalu dilakukan tindakan aseptik untuk menghindari kontaminasi mikrobial yang dapat menghamabat pertumbuhan mikroalga. Hal ini dilakukan dengan bunsen dan alkohol berkadar 70%.

Setelah perlakuan tindakan aseptik selesai, dan inokulum *Chlorella vulgaris* ditentukan jumlahnya kemudian inokulum dipindahkan ke dalam reaktor untuk memulai penelitian. Kondisi pH dan intensitas cahaya (I_0 dan I_b) juga diukur sebelum sistem dioperasikan. Selanjutnya kondisi operasi diatur dengan laju alir udara diatur konstan pada 1,5 cfm atau setara dengan 42,45 L/min. Sedangkan

pada pencahayaan kontinu menggunakan cahaya lampu 10.000 lux selama 14 jam sehari dan pada siklus terang gelap dibiarkan bergantung pada kondisi matahari.

3.6 Pengambilan Data

Pengambilan data dilakukan setiap 2 jam sekali, dimana data yang diambil antara lain OD_{600} , pH, I_0 dan I_b . Langkah-langkah pengambilan data dilakukan dengan:

1. Sampel mikroalga diambil dari media untuk diukur dengan spektrofotometer pada OD_{600}
2. Pada sampel juga dapat dilakukan pengukuran pH menggunakan pH meter. Hasil pengukuran berupa data absorbansi yang dapat korelasikan pada kurva kalibrasi untuk mendapat jumlah sel (X_{sel}).
3. Tingkat intensitas cahaya dapat diukur dengan alat luxmeter. Pengukuran intensitas cahaya dilakukan dua kali yakni didepan *flat plate glass* bioreaktor yang menunjukkan intensitas cahaya yang diterima oleh reaktor (I_0) dan dibelakang *flat plate glass* bioreaktor yang menunjukkan intensitas cahaya yang ditransmisikan (I_b).
4. Temperatur operasi dilakukan dengan termometer yang terendam dalam media kultur.
5. Data terakhir yang diambil adalah data persentase kandungan esensial *C.vulgaris* hasil kultivasi. Adapun uji kandungan yang dilakukan adalah uji kandungan lipid, klorofil, β -karoten, dan protein. Berikut beberapa metode yang dilakukan untuk menuguji kandungan esensial:

a. Uji Kandungan Lipid (*Bligh dan Dyer, 1959*)

- ✓ Sampel *C. vulgaris* yang telah dipecah dinding selnya disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan sekitar 8.500 rpm sehingga terjadi pemisahan antar *C.vulgaris* dan medium.
- ✓ *Cake* yang didapat dipisahkan dari supernatannya dan diukur volumenya.
- ✓ Setiap 1 ml *cake* dicampurkan dengan 2 ml metanol dan 1 ml kloroform menggunakan vortex.

- ✓ Setelah tercampur sempurna *cake* tersebut tersebut ditambahkan 1 ml kloroform dan 1 ml air demineralisasi kemudian di-*vortex* kembali.
- ✓ Sampel lalu disentrifugasi selama 10 menit.
- ✓ Setelah terjadi pemisahan, ambil bagian bawah yang merupakan campuran lipid (berwarna kuning) dengan pipet tetes.
- ✓ Lipid kemudian dikeringkan dari kloroformnya dengan pemanas pada suhu sekitar 70°C.
- ✓ Berat lipid didapatkan dari selisih antara berat cawan kosong dan berat cawan dengan lipid kering.

b. Uji Kandungan klorofil dan β -karoten

- ✓ Sampel *C. vulgaris* dicampurkan aseton dengan perbandingan 1:1 dalam tabung 10 ml.
- ✓ Kemudian ditambahkan *glass bead*.
- ✓ Lakukan sonikasi menggunakan sonikator selama ± 45 menit
- ✓ Lakukan sentrifugasi selama ± 30 menit.
- ✓ Untuk klorofil ukur absorbansinya pada panjang gelombang 645 nm dan 663 nm (dengan larutan standarnya adalah aseton).
- ✓ Untuk β -karoten absorbansi yang digunakan adalah pada panjang gelombang 450 nm.

c. Uji Kandungan Protein (Lowry, 1951)

- ✓ Larutan protein standar (BSA 200 $\mu\text{g/ml}$) dan air demineralisasi dicampurkan dalam jumlah tertentu (tabel 3.2) dalam tabung reaksi sehingga diperoleh berbagai konsentrasi antara 20 -200 mg dalam larutan standar 1 ml.
- ✓ Pada tabung lain dicampurkan juga sampel protein dan air demineralisasi sehingga volume total larutan sampel 2,0 ml.
- ✓ Kemudian larutan biuret 5 ml ditambahkan ke dalam masing-masing tabung yang berisi larutan protein (standar dan sampel) dan segera di-*vortex*. Campuran reaksi diinkubasi pada suhu kamar tepat 10 menit. Untuk menghitung reaksi digunakan *stopwatch*, dan waktu dihitung saat

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

- ✓ Kemudian pada menit ke-10 sebanyak 0,5 ml reagen Folin ditambahkan ke dalam campuran meski reaksi dan segera dikocok menggunakan vortex. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit setelah penambahan reagen Folin.
- ✓ Serapan masing-masing larutan diukur tepat pada menit ke-30 yang ditetapkan pada panjang gelombang 750 nm.

Tabel 3.4 Penentuan kadar protein dengan metode *Lowry*

	Blanko	Larutan Standar				Sampel protein		
No. Tabung	1	2	3	4	5	6	7	8
Standar BSA (ml)	-	0,8	1,2	1,5	1,8	-	-	-
Sampel Protein (μL)	-	-	-	-	-	5	50	200
Aquades (ml)	2	1,2	0,8	0,5	0,2	1,995	1,95	1,8
Larutan Biuret (ml)	5							
Reagen Folin	0,5							

3.7 Pengolahan Data

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

1. Pengolahan Data OD_{600}

Nilai OD yang didapatkan dari hasil penelitian akan dikonversi menjadi nilai X_{seld} dimana dapat didefinisikan sebagai berat kering biomassa (X) dari *Chlorella vulgaris* di luar medium hidupnya. Jumlahnya dapat dihitung secara langsung dengan menggunakan data absorbansi pada 600 nm dan mengorelasikannya dengan menggunakan kurva kalibrasi OD_{600} Vs X . Dari pengolahan ini dapat dibuat kurva pertumbuhan X Vs t .

Selanjutnya dibuat model pendekatan untuk mendapatkan suatu persamaan yang menyatakan hubungan antara X dengan t atau $X = f(t)$. Persamaan ini digunakan untuk menghitung nilai laju pertumbuhan spesifik (μ) yaitu laju

pertumbuhan produksi biomassa pada fasa logaritmik dan merupakan waktu yang diperlukan untuk sekali pembelahan sel. Pada pengolahan ini model yang digunakan adalah persamaan kinetika monod, yaitu:

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

dimana :

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

N = jumlah sel (sel/cm^3)

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

t = waktu (h)

2. Pengolahan Data Kandungan Esensial

- Lipid

$$\% \text{ lipid} = \frac{\text{berat lipid kering}}{\text{berat biomassa kering}} \times 100\% \quad (3.2)$$

- Klorofil

$$\text{klorofil a (mg/L)} = 12,25 \times A(663) - 2,25 \times A(645) \quad (1)$$

$$\text{klorofil b (mg/L)} = 22,9 \times A(645) - 4,64 \times A(663) \quad (2)$$

$$\text{klorofil a + b (mg/L)} = 7,34 \times A(663) - 17,76 \times A(645) \quad (3)$$

- β -karoten

$$\beta \text{ karoten (mg/L)} = \frac{1000 \times A(450) - 3,27 \times (\text{klorofil a}) - 104(\text{klorofil b})}{227} \quad (4)$$

Hasil dari keseluruhan pengolahan data untuk setiap metode pencahayaan akan disajikan dalam bentuk beberapa grafik yang nantinya akan dibandingkan untuk menarik kesimpulan pengaruh kondisi pencahayaan siklus terang gelap matahari terhadap laju pertumbuhan dan kandungan esensial *Chlorella vulgaris*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab ini akan dijelaskan mengenai data yang diperoleh, pengolahan data, dan analisis dari data yang telah didapat selama penelitian tersebut.

4.1 Hasil Pengamatan dan Analisis

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

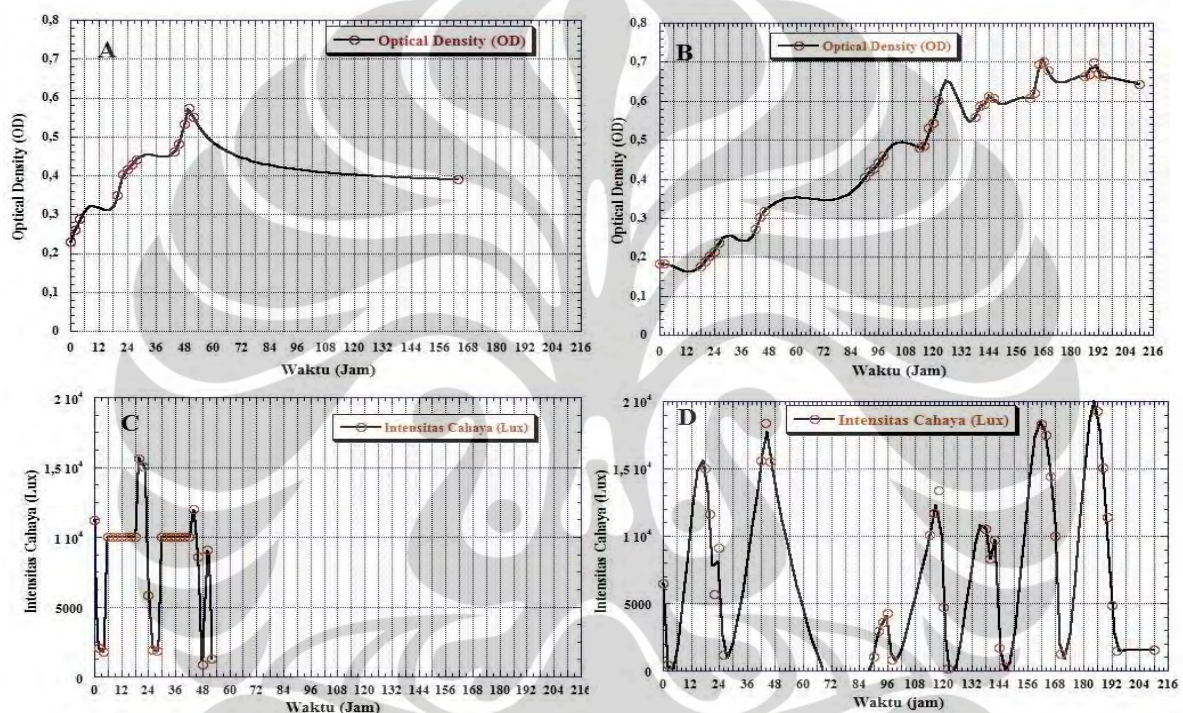
4.1.1 Pengaruh Intensitas Cahaya terhadap Laju Pertumbuhan *C. vulgaris*

Pengambilan data ini dilakukan pada kondisi *outdoor* dimana dalam sehari data intensitas cahaya maupun *Optical Density* diambil sebanyak 5 kali. Pengambilan data dilakukan setiap selang 2 jam sekali dimulai pada pukul 09.00 pagi dan diakhiri pada pukul 17.00. Sinar matahari menjadi hal yang sangat penting bagi organisme fotosintetik seperti mikroalga karena sebagai energi dalam reaksi fotosintesis yang terjadi.

Dari data grafik ditunjukkan bahwa pada 12 jam pertama terjadi penurunan nilai OD dimana pada fase ini terjadi adaptasi *Chlorella vulgaris* yang baru saja dipindahkan dari tahapan *refresh* di dalam ruangan ke fotobioreaktor dengan kondisi pencahayaan dan temperatur yang berbeda dari sebelumnya. Pada fase ini biasanya terjadi *stressing* secara fisiologis karena terjadi perubahan kondisi lingkungan hidupnya. Terjadinya perubahan-perubahan semacam inilah maka *C. vulgaris* mengalami proses penyesuaian terlebih dahulu sebelum mengalami pertumbuhan (Kawaroe, Partono dkk., 2010).

Pada waktu-waktu berikutnya tampak kurva *Optical Density* menunjukkan adanya peningkatan yang cukup signifikan khususnya terjadi dimana intensitas sinar matahari sangat tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa adanya aktivitas pembelahan sel yang tinggi saat siang hari. Pada saat ini *C. vulgaris* melakukan proses fotosintesis dengan sangat signifikan dan proses pembelahan sel terjadi dengan baik dikarenakan kelimpahan sinar matahari sebagai sumber energi

tersedia dengan cukup. Pengaruh intensitas sinar matahari terhadap perubahan nilai *Optical Density* dapat juga kita lihat pada kisaran jam ke 80-100 dimana dari grafik ditunjukkan bahwa intensitas sinar matahari pada saat itu cukup rendah. Kendatipun pada masa-masa tersebut kultur *C. vulgaris* pada umumnya mengalami fase eksponensial dimana laju pertumbuhan sangat namun dari grafik dapat terlihat bahwa perubahan *Optical Density* dari kultur terjadi tidak begitu signifikan apabila dibandingkan pada rentang waktu lainnya saat intensitas sinar matahari yang ada cukup tinggi.



Gambar 4.1 Grafik pengaruh intensitas cahaya terhadap laju pertumbuhan. (A) Nilai Optical Density Kontinu, (B) Nilai Optical Density Terang Gelap, (C) Intensitas Cahaya Kontinu, (D) Intensitas Cahaya Terang Gelap

Jika kita perhatikan lebih lanjut pada rentang waktu 120-132 jam dan waktu-waktu berikutnya setelah melewati siklus malam hari dimana intensitas cahaya dapat dikatakan bernilai nol, maka akan kita dapati fenomena penurunan nilai *Optical Density*. Penurunan nilai *Optical Density* ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan kerapatan sel pada malam hari. Hal ini merupakan gejala yang normal dimana pada kondisi tidak ada matahari aktivitas fotosintesis *C. vulgaris* berhenti dan hanya sebatas pada upaya sintesis protein dan pemeliharaan kondisi

sel. Energi yang digunakan pada malam hari untuk aktivitas sel tersebut didapat dari penguraian senyawa organik dari cadangan makanannya (Ogbonna dan Tanaka, 1996). Penguraian senyawa organik dari sisa cadangan makanan tersebut menyebabkan pengurangan kerapatan sel pada malam hari sehingga nilai *Optical Density* turun pada pengukuran di awal pagi.

Secara keseluruhan dapat kita lihat dari grafik bahwa pada jam ke 150-200 kultur *C.vulgaris* mengalami fase stasioner. Fase ini diindikasikan dengan adanya pertumbuhan yang relatif konstan akibat keseimbangan katabolisme dan anabolisme dalam sel (Kawaroe, Partono dkk., 2010). Fase ini sebagai awal menuju fase kematian dimana kualitas medium sudah tidak mendukung lagi untuk pertumbuhan *C.vulgaris* yang baik.

Pada pencahayaan kontinu menggunakan campuran sumber cahaya yakni sinar matahari pada pagi hari dan sinar lampu pada malam hari. Pencahayaan menggunakan sinar matahari dilakukan dari rentang pukul 09.00-17.00 dimana pada rentang tersebut intensitas cahaya matahari cukup tinggi. Sedangkan sisanya yakni pada pukul 17.00 sampai pukul 09.00 pagi keesokan harinya digunakan cahaya lampu dengan intensitas yang diatur pada 10000 lux. Seperti halnya pada kultivasi pertama, pada kultivasi kedua dengan pencahayaan kontinu ini pengambilan data dilakukan setiap 2 jam sekali.

Dari grafik peningkatan OD pada kultivasi dengan pencahayaan kontinu dapat dilihat bahwa laju peningkatan *C. vulgaris* jauh lebih cepat. Hal ini dapat kita ketahui dari grafik yang menaik lebih tinggi dibandingkan grafik *Optical Density* pada pencahayaan terang gelap. Semakin tinggi intensitas cahaya yang diberikan pada organisme fotosintesis maka laju pertumbuhan spesifik dan produksi biomasnya juga akan semakin tinggi sampai pada titik maksimumnya (Hirata, S., 1996). Lama masa pencahayaan yang lebih panjang dibanding pencahayaan terang-gelap membuat energi yang dibutuhkan *C. vulgaris* untuk fotosintesis tercukupi dan aktivitas fotosintesisnya terjadi terus.

Sementara jika kita perhatikan pada jam ke-52 terjadi penurunan grafik pertumbuhan *C.vulgaris*. Hal ini dapat disebabkan oleh turunnya intensitas sinar matahari pada waktu tersebut seperti ditunjukkan pada grafik. Penurunan signifikan intensitas matahari yang terjadi dapat memicu terhambatnya aktivitas

fotosintesis sel. Selain itu, pada kondisi kepadatan sel yang tinggi juga dapat menyebabkan terjadinya *self shading* sehingga penetrasi sinar matahari ke dalam fotobioreaktor berkurang. Melihat dimensi foto bioreaktor yang ada yakni 77,5 cm x 37,5 cm x 96,5 cm dan *Optical Density* saat itu yang mencapai 0,574 sangat mungkin terjadi efek *self shading* karena kerapatan sel yang sudah cukup tinggi tidak semua sel *C.vulgaris* dalam fotobioreaktor mendapatkan sinar yang cukup.

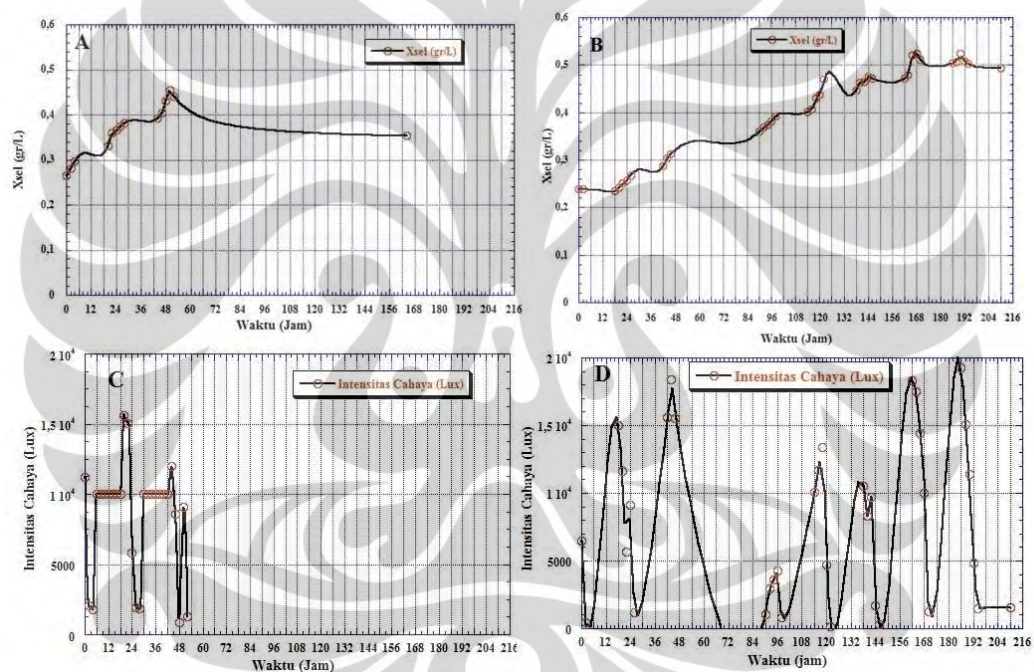
Kultivasi dengan pencahayaan kontinu dilakukan tidak selama dengan kultivasi terang gelap karena rusaknya proses kultivasi. Memasuki jam ke-60, siang hari cenderung terjadi kondisi mendung dan hujan sehingga kultur tidak mendapatkan energi sinar matahari yang cukup untuk berfotosintesis. Udara yang menjadi lembab saat musim hujan membuat resiko kontaminasi sangat tinggi pada masa ini. Pada musim hujan dengan pencahayaan menggunakan sinar buatan yang berasal dari lampu juga menyebabkan banyaknya serangga yang menghampiri dan masuk ke dalam media kultur. Serangga yang masuk ke media kultur dapat menjadi vektor masuknya bakteri patogen atau mikroorganisme merugikan yang membuat kultivasi mikroalga. Dari beberapa kali kultivasi dengan pencahayaan kontinu yang gagal ini, proses kontaminasi dari mikroorganisme patogen tampaknya menjadi faktor utama.

4.1.2 Pengaruh pencahayaan terhadap biomassa sel *C. vulgaris* (X_{sel})

Seperti halnya pengaruh cahaya terhadap nilai *Optical Density* sel, cahaya juga berpengaruh terhadap kerapatan sel saat kultivasi. Kerapatan sel sangat erat kaitannya dengan banyaknya sel *C. vulgaris* yang ada dalam setiap liter medium. Pada saat banyaknya sel dalam medium tinggi maka akan dihasilkan nilai *Optical Density* dan kerapatan sel (X) yang tinggi. Hal ini akan berbanding lurus terhadap intensitas pencahayaan yang tinggi dimana saat intensitas pencahayaan yang diberikan mencukupi maka nilai kerapatan sel akan naik secara signifikan.

Pada grafik kerapatan sel (X) dengan pencahayaan kontinu tampak kenaikan nilai kerapatan sel (X) lebih cepat. Namun gejala penurunan kerapatan sel (X) atau *night biomass loss* terjadi juga lebih awal dibanding pada siklus terang gelap. Gejala penurunan kerapatan sel (X) ini terjadi pada jam ke-52 dimana pada jam tersebut terjadi pada sore hari saat intensitas cahaya matahari mulai berkurang.

Nilai kerapatan sel (X) yang tinggi pada waktu tersebut membuat penetrasi sinar matahari juga tidak sebaik sebelumnya akibat adanya *self shading*. Sumber cahaya dari lampu yang diberikan tidaklah secara signifikan memberikan penyinaran yang baik karena hanya berasal dari satu arah dan intensitas yang ada tidaklah sekuat cahaya matahari. Apabila kondisi penyinaran kontinu yang diberikan cukup maka tidak akan terjadi penurunan kerapatan sel (X) karena proses fotosintesis terus terjadi sehingga tidak terjadi penguraian karbohidrat yang berasal dari sel itu sendiri untuk sumber tenaga. Perbandingan nilai intensitas cahaya yang diberikan dan dimensi reaktor yang cukup besar membuat fenomena penurunan kerapatan sel terjadi.



Gambar 4.2 Pengaruh intensitas cahaya terhadap kerapatan sel (X_{sel}). (A) Kerapatan sel kontinu, (B) Kerapatan sel terang gelap, (C) Intensitas Cahaya Kontinu, (D) Intensitas Cahaya Terang Gelap

Seperti halnya penjelasan sebelumnya, bahwa pada jam ke-60 keatas cuaca untuk kultivasi tidak terlalu menguntungkan. Curah hujan yang tinggi pada siang hari sehingga kultur tidak mendapatkan cahaya yang cukup serta lembabnya udara membuat resiko kontaminasi dengan kultivasi outdoor ini begitu tinggi. Selain itu pencahayaan pada malam hari dengan lampu buatan menaruk serangga yang banyak muncul saat musim hujan masuk ke media kultur yang juga menjadi salah satu faktor meningkatnya resiko kontaminasi kultivasi.

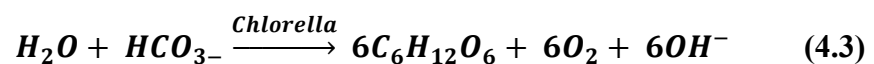
Kerapatan sel (X) juga sangat terkait dengan proses respirasi sel pada malam hari. Dapat dilihat pada grafik pencahayaan terang gelap bahwa terjadi penurunan nilai kerapatan sel (X) dimana disebabkan pengaruh ketiadaan cahaya pada malam hari. Pada kondisi ketiadaan cahaya sumber energi untuk aktivitas sel berasal dari penguraian karbohidrat yang diproduksi pada reaksi fotosintesis. Penguraian karbohidrat yang terjadi pada malam hari ini menyebabkan nilai kerapatan sel (X) berkurang dan akan meningkat lagi pada saat siang hari dimana sel kembali melakukan fotosintesis. Energi yang didapatkan dari pemecahan molekul karbohidrat ini digunakan sel untuk perawatan sel dan sintesis protein (Ogbonna dan Tanaka, 1996).

4.1.3 Perubahan pH dalam kultivasi *C. vulgaris*

Perubahan pH dalam kultivasi mikroalga menandakan adanya aktivitas fotosintesis *C. vulgaris*. Dari hasil penelitian yang pernah dilakukan menunjukkan bahwa peningkatan jumlah sel dalam medium cenderung meningkatkan jumlah pH medium (Dianursanti dan Joni, 2003). Gas CO₂ yang terkandung dalam medium kultivasi akan berubah menjadi senyawa bikarbonat seperti pada reaksi berikut:

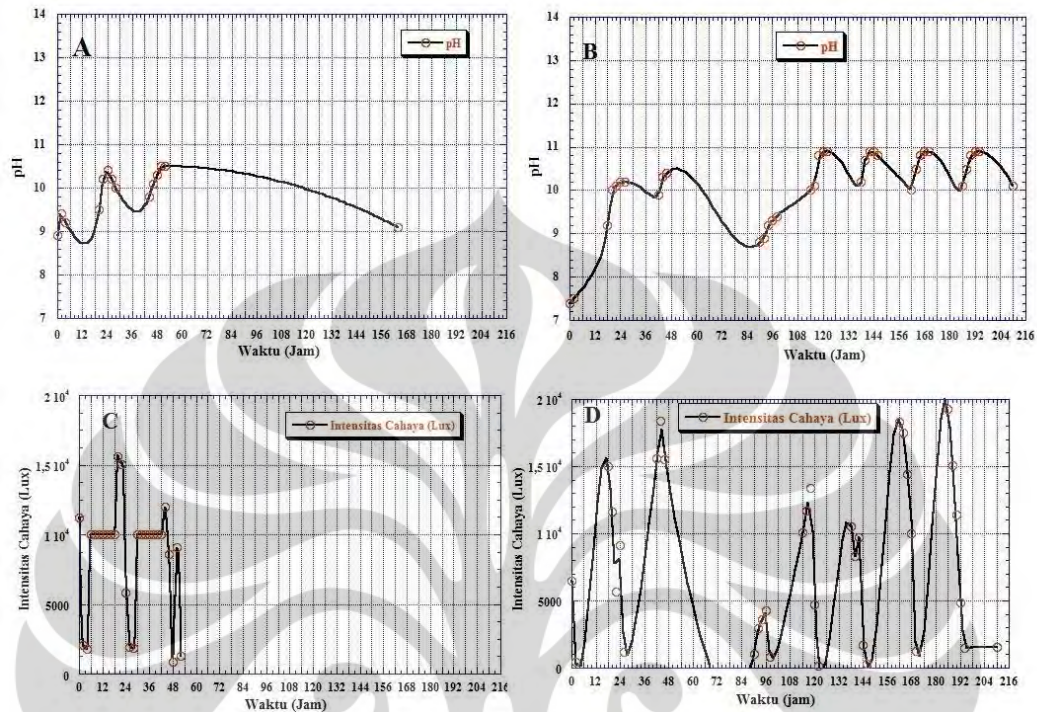


Chlorella vulgaris menyerap karbon tidak dalam bentuk CO₂ melainkan dalam bentuk senyawa bikarbonat (Bayu, 2004). Proses fotosintesis yang terjadi pada siang hari menyebabkan peningkatan aktivitas sel dan laju konsumsi senyawa bikarbonat tersebut. Senyawa bikarbonat ini dalam sel nantinya akan bereaksi dengan membentuk senyawa organik seperti glukosa dan ion OH⁻ sebagaimana reaksi berikut ini:



Persamaan reaksi diatas menunjukkan adanya glukosa sebagai hasil proses fotosintesis dan pelepasan ion OH⁻ ke medium kultur yang menyebabkan pH

meningkat. Glukosa yang diproduksi saat fotosintesis disimpan sebagai cadangan makanan oleh *Chlorella vulgaris* dan pada saat tidak ada cahaya dipecah sebagai sumber energi dalam aktivitas sel (Ogbonna dan Tanaka, 1996).



Gambar 4.3 Grafik perubahan pH terhadap intensitas cahaya. (A) Nilai pH kultur kontinu, (B) Nilai pH kultur terang gelap, (C) Nilai intensitas cahaya kontinu, (D) Nilai intensitas cahaya terang gelap.

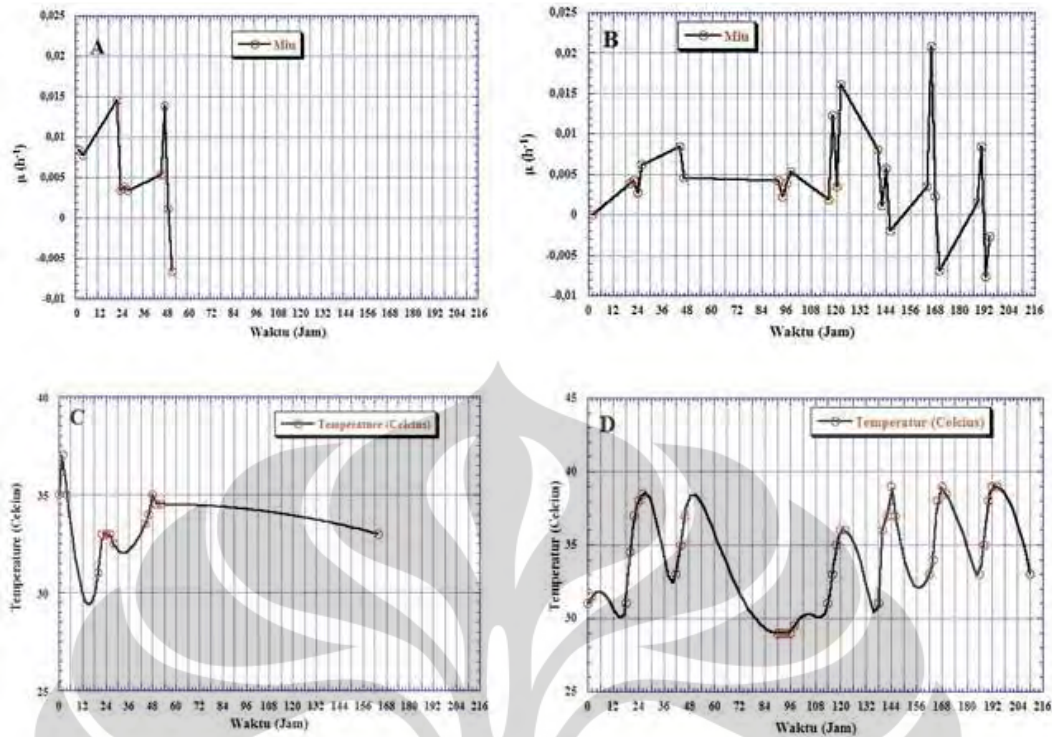
Data dari grafik pH pada pencahayaan terang gelap menunjukkan kenaikan pH yang cukup signifikan saat hari semakin siang. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas fotosintesis sel yang tinggi dimana penyerapan senyawa bikarbonat pada medium kultivasi berlangsung sangat cepat. Penyerapan senyawa bikarbonat yang bersifat asam ini menyebabkan pH kultur *C. vulgaris* meningkat drastis. Peristiwa pembelahan sel juga mempengaruhi dimana jumlah sel yang semakin banyak membuat laju konsumsi senyawa bikarbonat akan meningkat. Namun saat kita perhatikan kembali grafik yang terbentuk, maka pengukuran nilai pH pada awal pagi lebih rendah dibandingkan dengan siang hari sebelumnya. Hal ini menunjukkan adanya penurunan pH kultur pada malam hari dimana pada kondisi tidak ada cahaya sel melakukan respirasi dan melepas CO₂ yang membuat pH medium kultivasi kembali menurun. Hal ini terjadi seperti halnya siklus yang berulang dimana pada siang hari pH kultur akan naik karena aktivitas fotosintesis

yang meningkat dan pada malam hari pH kultur akan turun karena sel melakukan respirasi dan melepaskan CO₂ yang membuat pH kembali turun (W.A Wurtz, n.d.).

Sementara pada grafik pH pencahayaan kontinu menunjukkan adanya peningkatan nilai pH di dua jam pertama kultivasi dan menurun di 2 jam berikutnya. Hal ini dikarenakan proses awal dimulainya kultivasi pada siang hari pukul 13.00 sehingga langsung terjadi proses fotosintesis yang signifikan dengan adanya kelimpahan cahaya matahari. Namun pada pengukuran pukul 17.00 terjadi penurunan nilai pH yang mengindikasikan adanya peralihan aktivitas fotosintesis ke aktivitas respirasi sel yang lebih cenderung melepas CO₂ ke medium sehingga menurunkan nilai pH. Peristiwa ini juga bersamaan dengan penurunan intensitas sinar matahari pada sore hari. Pada waktu berikutnya dimana sumber cahaya yang digunakan adalah cahaya lampu dengan intensitas 10.000 lux menunjukkan adanya peningkatan nilai pH dibandingkan dengan pengukuran terakhir pada malam hari kendatipun peningkatan nilai pH tidaklah signifikan. Peningkatan nilai pH tersebut karena adanya energi cahaya dari lampu yang dimanfaatkan untuk energi fotosintesis. Berbeda dengan pencahayaan pada siang hari, pencahayaan menggunakan bantuan lampu dimana arah sinarnya hanya datang dari bagian depan reaktor membuat penyerapan cahaya oleh kultur *C. vulgaris* tidaklah optimal sehingga aktivitas fotosintesisnya tidak semaksimal saat siang hari dengan penerimaan sinar yang lebih besar dan merata.

4.1.4 Pengaruh Temperatur terhadap Kultivasi *C.vulgaris*

Temperatur atau suhu merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam kultivasi mikroalga. Temperatur optimal dalam kultivasi mikroalga berbeda-beda tergantung lokasi, media yang digunakan serta jenis mikroalga yang dikultivasi. Pada suhu yang terlalu rendah perumbuhan mikroalga dapat terhambat sedangkan pada suhu yang amat tinggi dapat menimbulkan kematian (Kawaroe, Partono dkk., 2010). Pada penelitian kali ini temperatur atau suhu menjadi sebuah faktor pertumbuhan yang sulit dikendalikan mengingat kultivasinya yang dilakukan dengan sistem udara terbuka atau *outdoor*.



Gambar 4.4 Grafik pengaruh temperatur terhadap laju pertumbuhan (μ). (A) Nilai μ pencahayaan kontinu, (B) Nilai μ pencahayaan terang gelap, (C) Grafik temperatur pencahayaan kontinu, (D) Grafik temperatur pencahayaan terang gelap.

Secara keseluruhan jika dilihat dari grafik pertumbuhan *C. vulgaris*, temperatur tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap laju pertumbuhannya. Ini dikarenakan temperatur medium selama kultivasi berkisar antara 25-40 °C yang artinya masih merupakan rentang optimal bagi pertumbuhan mikroalga *C. vulgaris*. Fenomena ini terjadi baik pada pencahayaan terang gelap maupun pada pencahayaan kontinu. Peristiwa penurunan nilai *Optical Density* pada malam hari lebih disebabkan oleh faktor ketiadaan cahaya dibanding dengan faktor temperatur yang masih dalam rentang normal pertumbuhan yang ideal bagi *C. vulgaris*. Namun menurut Ogbonna dan Tanaka (1996), penjagaan temperatur kultivasi yang rendah pada malam hari akan mengurangi aktivitas respirasi sel sehingga dapat mereduksi terjadinya pengurangan kerapatan sel atau apa yang sering disebut *night biomass loss*. Grima dkk., (1995) melaporkan bahwa pengaturan temperatur pada nilai 16 °C di malam hari mengurangi terjadinya *night biomass loss* hingga 5% pada kultivasi mikroalga *Phaeodactylum tricurnutum*.

4.1.5 Pengaruh Perlakuan Pencahayaan pada Kandungan Esensial *C. vulgaris*

Kandungan esensial yang dimiliki *C. vulgaris* yang akan diuji adalah lipid, protein, klorofil, dan β -karoten. Karena kerusakan yang terjadi saat kultivasi sistem pencahayaan kontinu, maka perbandingan dari kultivasi sistem pencahayaan terang-gelap alami skala pilot didapatkan data dari kultivasi dengan pencahayaan kontinu medium *Walne* dengan skala 18 L dan sumber karbon menggunakan gas CO_2 yang dialirkan pada medium dengan kandungan nitrogen normal yang dilakukan Anggraini (2012). Meskipun tidak sepenuhnya kondisi lingkungannya sama, namun diharapkan dapat menjadi perbandingan yang paling mendekati kesamaan perlakuannya. Ketersediaan sinar matahari terhadap kandungan esensialnya ini secara tidak langsung berhubungan dengan reaksi metabolisme yang terjadi akibat bantuan dari energi sinar matahari.

Dari hasil uji yang dilakukan pada sampel sistem pencahayaan terang-gelap menunjukkan kadar protein yang cukup tinggi yakni 115,94 ppm atau sekitar 50,63 % dari berat kering. Pada hasil yang didapatkan oleh sampel sistem pencahayaan kontinu didapatkan kandungan protein yang lebih tinggi yakni 149,86 ppm. Kandungan protein yang cukup tinggi pada pencahayaan dengan siklus terang gelap dikarenakan kondisi ketiadaan cahaya berlangsung cukup panjang yakni ± 14 jam dalam sehari dimana pada kondisi ketiadaan cahaya aktivitas fotosintesis sel tidak terjadi dan hanya terjadi respirasi sel. Pada proses respirasi sel proses sintesis protein berlangsung sangat cepat sehingga masa ketiadaan cahaya ini membuat akumulasi protein yang cukup banyak dalam sel (*Ogbonna dan Tanaka, 1996*). Kandungan klorofil pada sistem pencahayaan terang gelap yang ada sangat kecil yakni hanya 1,83 ppm sedangkan untuk pencahayaan kontinu mencapai 4,33916 ppm dimana hal ini terkait dengan keberadaan nitrogen sebagai nutrisi dalam medium *Walne*. Pada medium *Walne* keberadaan nitrogen sebagai salah satu unsur yang dibutuhkan dalam pembentukan klorofil sangat sedikit sehingga kandungan klorofil yang terbentuk juga sedikit. Sementara itu jumlah β -karoten yang berhasil diuji juga menunjukkan hasil yang sedikit.

Tabel 4.1 Hasil Uji Kandungan Esensial *C.vulgaris*

	Data Kandungan Esensial Terang-Gelap					Protein
	Lipid	β -karoten	Chlorophyll-a	Chlorophyll-b	Chlorophyll a+b	
	5,4	0,686757	1,41345	0,58326	1,8306	
	Data Kandungan Esensial Kontinu					Protein
	14,08	3,20156	2,70295	2,0689	4,33916	
Satuan	% berat kering	ppm	ppm	Ppm	Ppm	ppm

Pada pengukuran kandungan lipid, berat kering lipid yang didapat hanya 5,4% dari berat biomassa sedangkan pengukuran pada sistem pencahayaan kontinu mencapai 14,08 % ppm. Jumlah yang sedikit ini sangat mungkin dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti proses pemecahan dinding sel yang tidak optimal, tingginya pengotor pada sampel atau ketidakmurnian pelarut yang digunakan. Penggunaan pelarut yang tepat untuk ekstraksi lipid sangat penting mengingat akan mempengaruhi kuantitas zat terlarut yang akan dianalisis. Meskipun medium jumlah nitrogen yang terkandung dalam medium *Walne* sangat kecil dimana hal ini seharusnya dapat membentuk lipid yang tinggi namun kondisi lingkungan yang fluktuatif membuat lipid dapat dipecah menjadi sumber energi bagi keperluan sel lainnya. Kondisi lingkungan inilah yang menyebabkan jumlah lipid yang didapatkan rendah. Secara keseluruhan hasil pengukuran menunjukkan kandungan esensial dengan menggunakan pencahayaan kontinu relatif lebih tinggi, hal ini berkaitan dengan asupan karbon yang terus menerus melalui aliran gas CO₂ dan kondisi yang lebih aseptik dibandingkan di luar ruangan membuat kualitas biomassa yang dikultivasi dalam ruangan menjadi lebih baik. Sementara dari hasil pengujian terhadap kandungan asam lemak dengan sistem pencahayaan terang gelap menggunakan *Gas Chromatography-MS* ditemukan dua jenis asam lemak yang terkandung dalam lipid yaitu asam heksadekanoat dan asam oktadekanoat.

BAB V

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini yaitu:

1. Pada kondisi pencahayaan terang gelap alami selama 200 jam didapatkan nilai *Optical Density* (OD) tertinggi 0,702 yang dicapai saat jam ke-168.
2. Pada kondisi pencahayaan terang gelap alami terjadi penurunan kerapatan sel pada malam hari karena pengaruh ketiadaan cahaya dimana *Chlorella vulgaris* menguraikan cadangan makanannya sebagai sumber energi (heterotrof).
3. Mikroalga *Chlorella vulgaris* mampu bertahan dengan baik di luar ruangan dengan kisaran temperatur antara 25-40 °C.
4. Dari hasil uji kandungan esensial *Chlorella vulgaris* yang didapat setelah 200 jam kultivasi didapatkan kandungan lipid sebesar 5,4%, protein 50,36 % , total klorofil 1,8306 ppm dan β -karoten 0,686 ppm.
5. Kultivasi luar ruangan berisiko besar terjadinya kontaminasi sehingga dapat menurunkan produktivitas biomassa bahkan bisa merusak kultivasi yang dilakukan.

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah :

1. Sebaiknya dilakukan uji kualitas air kultivasi sehingga dapat mengantisipasi adanya zat kimia berbahaya atau bakteri patogen yang merusak.
2. Sebaiknya reaktor ditutup dengan kawat kasa untuk menghindari kontaminasi serangga yang sering masuk ke dalam media kultivasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, P., (2012). *Efek Keterbatasan Nitrogen Dalam Medium Walne Pada Budidaya Biomassa Chlorella Vulgaris Buitenzorg Dalam Reaktor Pelat Datar*. Departemen Teknik Kimia. Depok. Universitas Indonesia. Sarjana.
- Bayu, V.T. (2004). *Pengaruh Kondisi Terang Gelap (Fotoperiodesitas) Terhadap Produksi Biomassa Dan Fiksasi CO₂ Oleh Chlorella Sp. Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung*. Departemen Teknik Kimia. Depok. Universitas Indonesia. Sarjana.
- Becker, E.W., (1994). *Microalgae : Biotechnology and microbiology*. Cambridge : Cambridge University Press
- Bligh, E.G. dan Dyer, W.J. (1959) *A Rapid Method of total lipid extraction and purification*. *Can.J,Biochem.Physiol.* 37: 911-917
- Borowitzka, M. A. (1999). "*Commercial production of microalgae : ponds, tanks, tubes and fermenters.*" *Biotechnology*70: 313-321.
- Burlew, J. S. (1953). *Algae Culture. From Laboratorie to Pilot Plant*. Washington D.C, Carnegie Institution of Washington.
- Chisti, Y., (2005). *Biodiesel from microalgae*. Research review paper. *Biotechnology Advances*. Elsevier. 25 : 297-306.
- Chisti, Y. (2007). "*Biodiesel from microalgae.Research review paper.*" *Biotechnology advance*25: 297-306.
- Darmawan, H. (2010). *Pengaturan Kecepatan Aliran Hisap Dalam Perlakuan Filtrasi Pada Sirkulasi Aliran Media Kultur Untuk Peningkatan Produksi Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg*. Teknik Kimia. Depok, Universitas Indonesia. Sarjana.
- Dianursanti dan Joni, "*Tesis : Pengaruh Intensitas cahaya terhadap produksi Biomassa dan fiksasi CO₂ menggunakan Clamydomonas sp.*" Universitas Indonesia, Depok 2003

- Feng, P., Deng, Z., Hu, Z., Fan, L., 2011. *Lipid Accumulation and growth of Chlorella ziofongiensis in flat plate photobioreactors outdoor*. Bioresource technology. 102 : 10577-10584
- Grima, E.M., Perez, J.A.S., Camacho, F.G., Selvilla, J.M.F., Fernandez, F.G.A., dan Cardona, J.U. (1995) *Biomass and icosapentanoic acid productivity from an outdoor batch culture of Phaeodactylum tricurnutum UTEX 640 in airlift tubular photobioreactor*, Appl. Microbiol. Biotechnol. 42 : 658-663
- Hirata S., M. Hayashitani and S. Tone (1996), *Characterization of Chlorellacell cultures in batch and continuous operations under a photoautotrophic condition*, Journal of Chemical Engineering of Japan, 29 (6) 953-959.
- Isao Maruyama, T. N., Ikuro Shigeno, Yotaro Ando & Kazutsugu Hirayama (1997). "*Application of unicellular algae Chlorella vulgaris for the massculture of marine rotifer Brachionus.*" Hydrobiologia 358: 133-138.
- Itoiz, E.Z., Grunewald, C.F., Gasol, C.M., Garces, E., Alacid, E., Rossi, S., Rieradevall, J., 2012. *Energy Balance and Enviromental impact analysis of marine microalgal biomass production for biodiesel generation in a photobioreactor pilot plant*. Biomass and Bioenergy. 39 : 324-335
- Kapdan, I. K. and F. Kargi (2006). "*Bio-hydrogen Production from Waste Materials.*" Enzyme Microb. Technol. **38**: 569-582.
- Kawaroe, M., T. Partono, dkk., (2010). *Mikroalga : Produksi dan pemanfaatannya untuk Bio Bahan bakar*. Bogor, IPB Press.
- Lavens, P. and P. Sorgeloos (1996). "*Manual on the production and use live food for aqua culture.*" FAO Fisheries Technical Paper 361.
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951) J.Biol.Chem 193 : 265 (The Original Method).
- Mata, T. M., A. A. Martins, dkk., (2010). "*Microalgae for biodiesel production and other application : A review.*" Renewable and sustainable energy reviews **14**: 217-232

- Nakanishi H., Nozue H., Suzuki K., Kaneko Y., Taguchi G., Hayashida N., (2005). *Characterization of the Arabidopsis thaliana mutant pcb2 which accumulate divinyl chlorophyll*. Plant Cell Physiol 46 : 467-473
- Ogbonna, J.C., Tanaka, H., 1998. *Cyclic Autotrophic/Heterotrophic cultivation of Photosynthetic Cells : A Method of Achieving Continuous Cells Growth Under Light/Dark Cycles*. Bioresource Technology. 65 : 65-72
- Ogbonna, J.C., Tanaka, H., 1996. *Night Biomass Loss and Changes in Biochemical Composition of Cells During Light/Dark Cyclic Culture of Chlorella pyreidonosa*. Journal of Fermentation and Bioengineering. 82 : 558-564.
- Pulz, O. (2001). *Photobioreactor : Production System for Phototropic Microorganism*.
- Puteri, Y. T. (2007). *Penentuan Kecepatan Superfisial CO₂ optimum untuk peningkatan produksi Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung*. Departemen Teknik Kimia. Depok, Universitas Indonesia. Sarjana.
- Rahayu, E.S. (2006). *Peningkatan Produksi Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg Dengan Pencahayaan Alami Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung Yang Disusun Seri*. Departemen Teknik Kimia. Depok, Universitas Indonesia. Sarjana.
- Richmond, A. (2004). *Handbook of microalgal culture : biotechnology and applied phycology*. Blackwell Science Ltd.
- Roijackers, R.M.M., Driever, Steven M., Van Nes, Egbert H., (2005) *Growth Limitation of Lemna Minor due to high plant density*. Aquatic Botany, 81 :245-251
- Sargowo, D., Ratnawaty, R., (2002). *Pengaruh Zat Aktif Ganggang Hijau terhadap Produk Radikal Bebas dan Fraksi Lipid Penderita Dislipidemia Usia Lanjut*. Medika, 28(11) : 693-701

- Sheehan, J dkk.,(1998) *A Look Back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program : Biodiesel from Algae* (NREL/TP-580-24190), National Renewable Energy Institute.
- Spolaore, P., J. C. Claire, dkk., (2006). "*The use of fuel containing Chlorella vulgaris in a diesel engine.*" *Bioscience and Bioengineering* 101: 87-96.
- Spolaore P., Joannis-Cassan, Duran E., Isambert A. (2006). *Commercial Application of microalgae*. *Journal of Biosciences and Bioengineering* 101 (2) : 87-96
- Suriawiria, U. (2005). *Chlorella untuk kesehatan dan kebugaran*. Jakarta, Papas Sinar Sinanti.
- Teja, P. G. (2009). *Peningkatan produksi biomassa Chlorella vulgaris dalam fotobioreaktor kolom gelembung skala menengah dengan penentuan parameter hidrodinamik*. Departemen Teknik Kimia. Depok, Universitas Indonesia.
- Ugwu, C.U., Aoyagi, H., Uchiyama, H., (2008) *Photobioreactor for mass culture microalgae*. 99 : 4021-4028
- Wijanarko, Anondo (2006). *Peningkatan Produksi Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg dan Fiksasi CO₂ dalam kolom gelembung seri dengan Pengaturan Cahaya*. Depok : Departemen Teknik Kimia-Universitas Indonesia
- Wijanarko, A., K. Asami, dkk.,. (2004). "*The Kinetics of Growth and The CO₂ Concentrating Mechanism of the Filamentous Cyanobacterium Anabaena cylindrica in a Bubble Column.*" *Journal of Chemical Engineering of Japan* **37**: 1019-1025.
- Wirosaputro, S. (2002). *Chlorella untuk kesehatan global, teknik budidaya dan pengolahan*. Yogyakarta, Gadjah Mada University Press.
- Wurtz, William A., (n.d) *Pond pH and Ammonia Toxicity. Daily pH cycle and Ammonia Toxicity*, *World Aquaculture*, 34(2) : 20-21

Yeh, K.L., Chang, J.S., 2012. *Effect of cultivation and media composition on cell growth and lipid productivity of indigenous microalga Chlorella vulgaris ESP-31*. *Bioresource Technology*. 105 : 120-127



LAMPIRAN A
DATA KULTIVASI TERANG GELAP

1. Data hasil pengukuran harian

No.	Hari/Tanggal	Jam	Jam ke-	pH	OD (gd.S)	OD (Acuan)	Xsel (gr/L)	μsel	Temperatur	Depan I	Depan II	Belakang I	Belakang II	Kanan I	Kanan II	Kiri I	Kiri II	Average	Average II
1	Kamis 3 Mei 2012	15.00	0	7,4	0,137	0,182115	0,238345		31 °C	8560	5570	5670	634	6390	576	5160	601	6445	1845,25
2		17.00	2	7,5	0,137	0,182115	0,238345	0,0000	31,5 °C	364	35	542	21	576	26	388	42	467,5	31
3	Jumat 4 Mei 2012	09.00	18	9,2	0,132	0,17514	0,234502		31 °C	6790	859	30200	583	9330	1192	13750	909	15017,5	885,75
4		11.00	20	10	0,142	0,18909	0,242189	0,0038	34,5 °C	11000	1094	9680	180	10980	1357	14970	1050	11657,5	920,25
5		13.00	22	10,1	0,153	0,20435	0,250544	0,0042	37 °C	6080	182	5590	158	5400	199	5460	288	5632,5	206,75
6	Sabtu 5 Mei 2012	15.00	24	10,2	0,16	0,2142	0,255024	0,0027	38 °C	14040	348	6270	292	7720	456	8360	415	9097,5	377,75
7		17.00	26	10,2	0,176	0,23652	0,268323	0,0061	38,5 °C	1910	44	1033	24	919	24	729	28	1147,75	30
8	Sabtu 5 Mei 2012	09.00	42	9,9	0,201	0,271395	0,287539		33 °C	9780	410	23200	218	10090	418	19160	355	15557,5	350,25
9		11.00	44	10,3	0,223	0,302055	0,304449	0,0085	35 °C	13880	427	15690	188	13650	509	30200	383	18355	376,75
10		13.00	46	10,4	0,235	0,318825	0,313673	0,0046	37 °C	19200	332	11820	151	13850	384	17170	355	15510	305,5
11	Minggu 6 Mei 2012	09.00	90	8,8	0,296	0,40392	0,36056		29 °C	1005	2	925	2	1491	3	788	2	1052,25	2,25
12		11.00	92	8,9	0,307	0,419265	0,369015	0,0042	29 °C	2890	11	2750	9	3400	16	2690	18	2932,5	13,5
13	Senin 7 Mei 2012	13.00	94	9,2	0,313	0,427635	0,373627	0,0023	29 °C	3620	14	3370	12	3850	20	3590	19	3607,5	16,25
14		15.00	96	9,3	0,323	0,441585	0,381313	0,0038	29 °C	4970	14	3870	10	4490	19	3670	18	4250	15,25
15		17.00	98	9,4	0,337	0,461115	0,392074	0,0054	29,5 °C	1385	1	650	0	739	2	586	0	840	0,75

16	09.00	114	10	0,35	0,47925	0,402067	31 °C	9710	33	11830	31	7910	28	10870	49	10080	35,25
17	11.00	116	10,1	0,355	0,486225	0,40591	0,0019 33 °C	10140	35	13280	33	8530	35	14890	59	11710	40,5
18	13.00	118	10,8	0,387	0,530865	0,430507	0,0123 35 °C	18820	69	8770	21	9740	36	16170	72	13375	49,5
19	15.00	120	10,9	0,396	0,54342	0,437424	0,0035 36 °C	6130	15	3990	9	5170	14	3610	10	4725	12
20	17.00	122	10,9	0,438	0,60201	0,469708	0,0161 36 °C	71	0	131	0	167	0	95	0	116	0
21	09.00	138	10,2	0,407	0,558765	0,44588	31 °C	10380	52	13510	41	8220	31	9870	42	10495	41,5
22	11.00	140	10,7	0,428	0,58806	0,462021	0,0081 36 °C	9260	27	8520	21	7900	23	7630	21	8327,5	23
23	13.00	142	10,9	0,431	0,592245	0,464327	0,0012 37 °C	13850	40	6850	14	7970	17	10250	35	9730	26,5
24	15.00	144	10,9	0,446	0,61317	0,473857	0,0058 39 °C	1515	0	1844	0	1940	0	1471	0	1692,5	0
25	17.00	146	10,8	0,441	0,606195	0,472013	-0,0019 37 °C	309	0	258	0	305	0	221	0	273,25	0
26	09.00	162	10	0,441	0,606195	0,472013	33 °C	11040	40	21300	52	11850	50	29100	103	18322,5	61,25
27	11.00	164	10,5	0,45	0,61875	0,478931	0,0035 34 °C	12240	53	19850	53	12920	41	25000	87	17502,5	58,5
28	13.00	166	10,8	0,504	0,69408	0,520438	0,0208 38 °C	17580	61	10420	31	11830	53	17780	60	14402,5	51,25
29	15.00	168	10,9	0,51	0,70245	0,52505	0,0023 39 °C	19500	43	6040	10	6780	23	7630	23	9987,5	24,75
30	17.00	170	10,9	0,492	0,67734	0,511214	-0,0069 38,5 °C	1910	0	1015	0	1133	0	965	0	1255,75	0
31	09.00	186	10,1	0,482	0,66339	0,503528	33 °C	10010	38	29500	86	12120	53	25400	99	19257,5	69
32	11.00	188	10,5	0,456	0,66897	0,506602	0,0015 35 °C	12800	42	15580	46	13000	45	19000	76	15095	52,25
33	13.00	190	10,8	0,508	0,69966	0,523513	0,0085 38 °C	18800	74	8860	23	8840	24	9010	32	11377,5	38,25
34	15.00	192	10,9	0,488	0,67176	0,50814	-0,0077 39 °C	5890	11	4080	7	5110	11	4220	12	4825	10,25
35	17.00	194	10,9	0,481	0,661995	0,502759	-0,0027 39 °C	2430	0	1037	0	1492	0	1036	0	1498,75	0
36	09.00	210	10,1	0,468	0,64386	0,492767	-0,0006 33 °C	8370	46	16160	62	10460	61	28200	150	15797,5	79,75

2. Perhitungan kandungan esensial pencahayaan terang gelap

- **Lipid**

Kandungan lipid diukur dengan metode Bligh Dyer dimana digunakan alga kering seberat 0,5 gr. Didapatkan kadar lipid dari perhitungan sebesar :

$$\% \text{ lipid} = \frac{\text{berat lipid}}{\text{berat sample alga kering}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ lipid} = \frac{0,027}{0,5 \text{ gr}} \times 100 \% = 5,4 \%$$

- **Klorofil dan β -karoten**

No	A(645)	A(663)	A(450)
1	0,051	0,127	0,221175
2	0,052	0,126	0,221175
3	0,05	0,125	0,221175
Average	0,051	0,126	0,221175

Persamaan Pengukuran Klorofil dan β -karoten

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

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

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

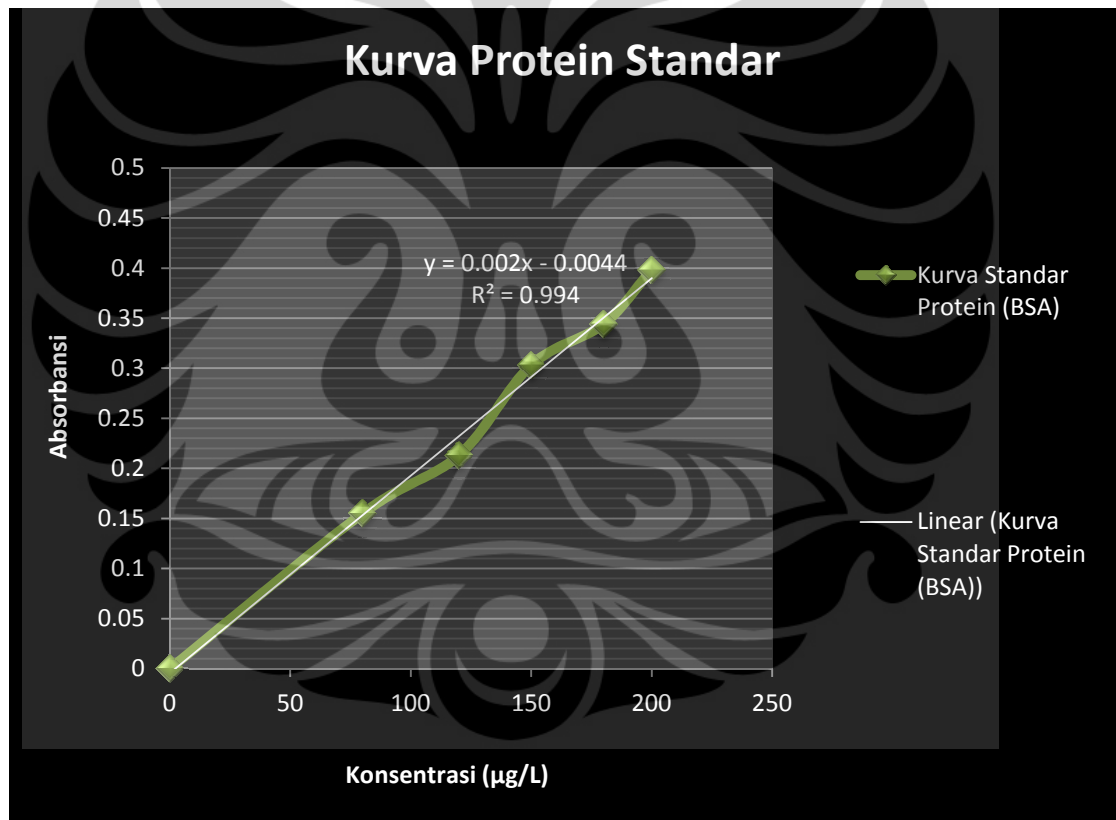
$$\beta\text{-karoten (mg/L)} = (1000 \times A_{450} - 3,27 \times (\text{klorofil a}) - 104 (\text{klorofil b}))/227$$

Dari hasil pengukuran tersebut yang kemudian di substitusi ke dalam persamaan maka didapatkan konsentrasi klorofil dan β -karotennya :

- ✓ Klorofil a = 1,41345 mg/L atau 1,41345 ppm
- ✓ Klorofil b = 0,58326 mg/L atau 0,58326 ppm

- ✓ Klorofil a + b = 1,8306 mg/L atau 1,8306 ppm
- ✓ β -karoten = 0,6867576 mg/L atau 0,6867576 ppm
- Pengukuran protein

Konsentrasi	OD
0	0
80	0,155
120	0,213
150	0,303
180	0,344
200	0,398



Dari sampel 200 μ L yang diujikan didapatkan nilai absorbansi $A_{750} = 0,227$

Dengan mensubstitusi ke persamaan $y = 0,002x - 0,04$ sebagai nilai y , didapatkan kandungan protein dari sampel yang diberikan 115,943 μ g per

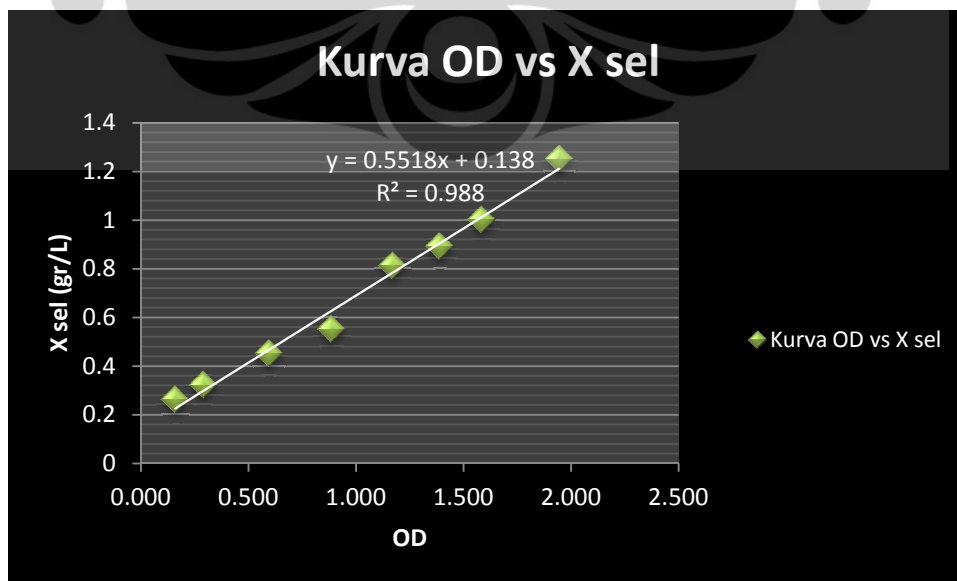
200 μ L (OD sampel 1,83) dimana berat kering sel adalah 1,146 gr/L .
 Perhitungan persentase sel didapatkan :

Persentase protein dalam sampel adalah _____

3. Kurva Perhitungan Berat Kering Sel

Dari beberapa sampel yang diencerkan dan dikur didapatkan hasil :

No.	Perbandingan	OD			OD (Average)	X sel (mg/L)	X sel (gr/L)
1	0,5 : 9,5	0,160	0,159	0,159	0,159	260	0,26
2	1 : 9	0,292	0,291	0,290	0,291	320	0,32
3	2 : 8	0,601	0,595	0,589	0,595	450	0,45
4	3 : 7	0,885	0,887	0,888	0,887	550	0,55
5	4 : 6	1,169	1,172	1,171	1,171	810	0,81
6	5 : 5	1,392	1,389	1,385	1,389	890	0,89
7	6 : 4	1,589	1,582	1,579	1,583	1.000	1
8	7 : 3	1,946	1,945	1,945	1,945	1.250	1,25



Dari kurva Od vs Xsel didapatkan sebuah persamaan yakni $y = 0,551x + 0,138$ yang menghubungkan antara nilai *Optical Density* (OD) dan kerapatan sel (Xsel).

3. Hasil Analisis Asam lemak dengan GC-MS

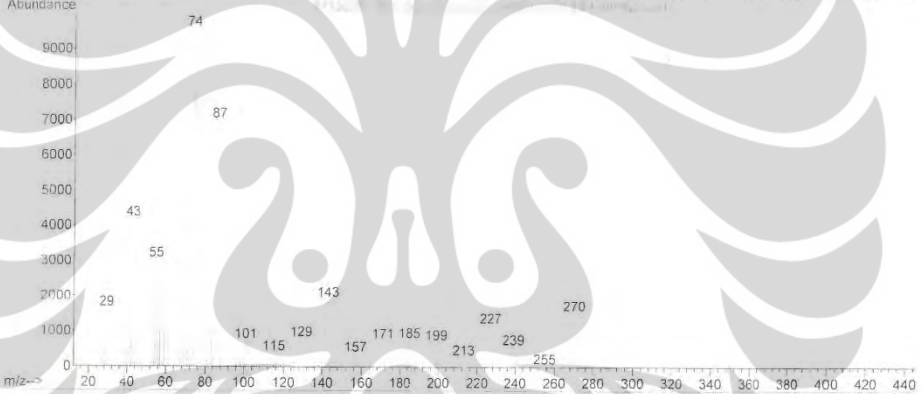
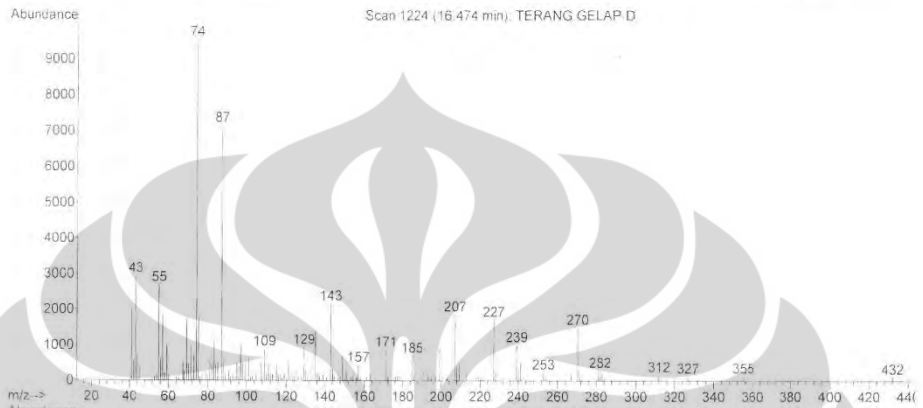
Berikut hasil peak yang didapat dari pengujian asam lemak yang dilakukan dengan analisis GC-MS :



Dari hasil tersebut diketahui terdapat 2 asam lemak yang terkandung dalam lipid alga yakni asam heksadekanoat dan asam oktadekanoat. Asam lemak tersebut terdeteksi pada retention time 16.76 (asam heksadekanoat) dan 17.79 (asam oktadekanoat).

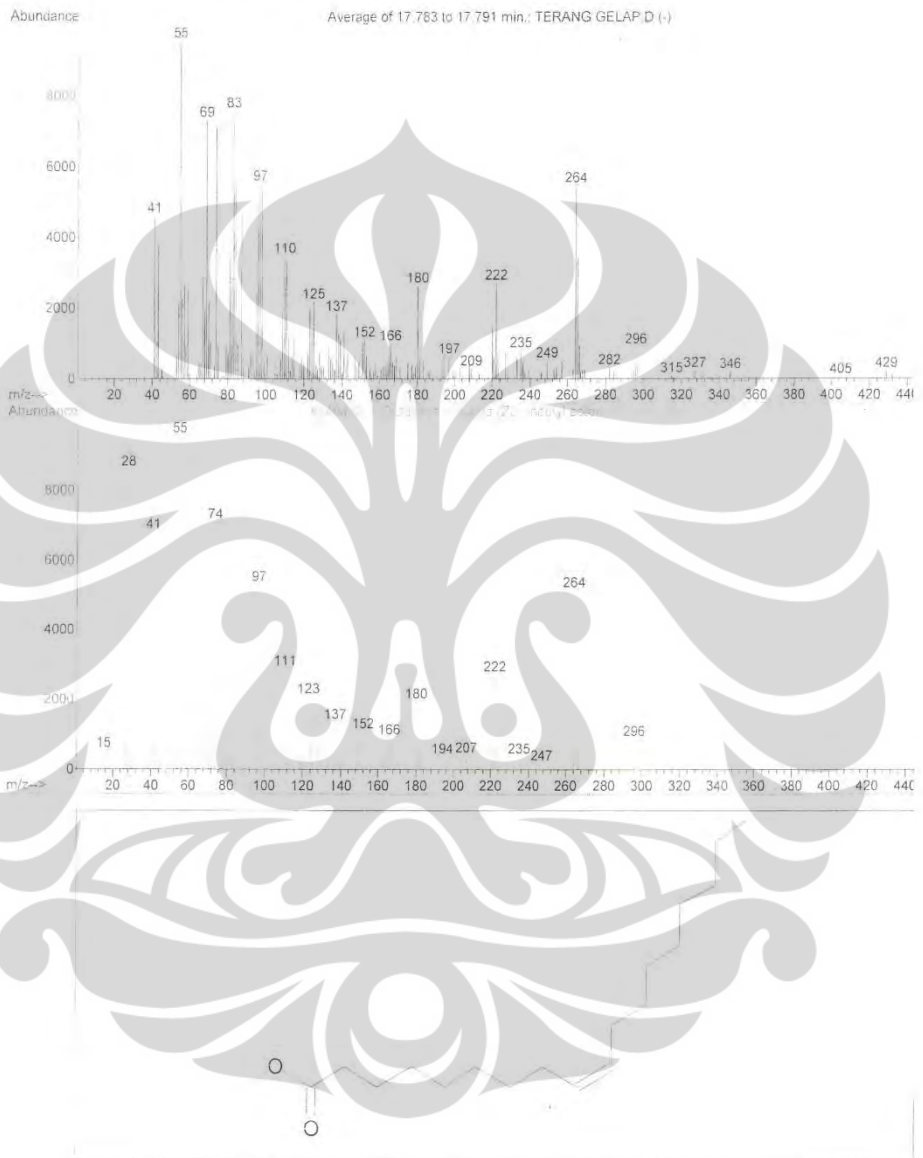
- ✓ Hasil uji GC-MS yang menunjukkan adanya kandungan asam heksadekanoat.

Library Searched : C:\Database\wiley7n.l
Scan : 98
Library Name : Hexadecanoic acid, methyl ester \$\$ Palmitic acid, methyl ester \$\$ n-Hexadecanoic acid methyl ester \$\$ Metholene 2216 \$\$ Methyl hexadecanoate \$\$ Methyl n-hexadecanoate \$\$ Methyl palmitate \$\$ Uniphat A60

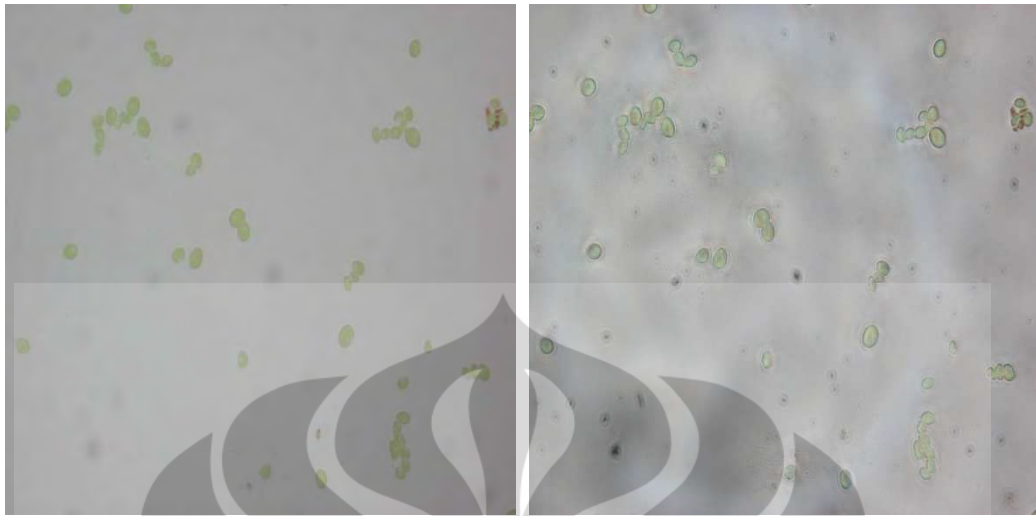


✓ Hasil uji GC-MS yang menunjukkan adanya asam oktadekanoat.

Searched : C:\Database\wiley7n.l
99
9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl oleate \$\$ Methyl
cis-9-octadecenoate \$\$ Oleic acid methyl ester \$\$ Oleic acid, methyl
ester \$\$ Emery oleic acid ester 2301 \$\$ OLEIC ACID-METHYL ESTER \$\$ (Z)-9-
-9-OCTADECENOIC ACID, METHYL ESTER \$\$ (Z)-9-



3. Hasil Foto Mikroskop *Chlorella vulgaris* kultivasi Terang Gelap



LAMPIRAN B
DATA KULTIVASI PENCAHAYAAAN KONTINU

1. Data hasil pengukuran harian

No.	Hari/Tanggal	Jam	Jam ke-	pH	OD (Gd.S)	OD (Acuan)	Xsel (gr/L)	ysel	Temperatur	Depan I	Depan II	Belakang I	Belakang II	Kanan I	Kanan II	Kiri I	Kiri II	Average I	Average II
1	Senin 14 Mei 2012	13.00	0	8,9	0,171	0,229545	0,264479		35	16730	213	9470	165	8765	121	9820	117	11196,3	154
2		15.00	2	9,4	0,193	0,250235	0,281389	0,00846	37	5560	27	833	14	898	40	960	44	2062,75	31,25
3		17.00	4	9,2	0,213	0,258135	0,295782	0,00789	35	5890	16	347	7	414	21	328	36	1744,75	20
4	Selasa 15 Mei 2012	09.00	20	9,5	0,257	0,349515	0,330583		31	9450	175	10910	236	22800	152	19400	201	15640	191
5		11.00	22	10,2	0,295	0,402525	0,359791	0,0146	33	11290	119	13740	100	12750	190	22300	196	15015	151,25
6		13.00	24	10,4	0,304	0,41508	0,366709	0,00346	33	7330	43	4690	25	4440	43	6830	60	5822,5	42,75
7	Rabu 16 Mei 2012	15.00	26	10,2	0,314	0,42903	0,374396	0,00384	33	6410	19	510	18	392	23	438	15	1937,5	18,75
8		17.00	28	10	0,323	0,441585	0,381313	0,00346	32,5	6125	17	410	11	523	22	338	27	1849	19,25
9		09.00	44	9,8	0,338	0,46251	0,392843		33,5	9120	54	9850	46	15720	67	13200	81	11975	62
10	Kamis 17 Mei 2012	11.00	46	10,1	0,352	0,48204	0,403604	0,00538	34	8260	33	8650	31	10400	44	7100	38	8602,5	36,5
11		13.00	48	10,3	0,368	0,53226	0,481275	0,01384	35	634	0	1022	0	751	0	942	0	837,25	0
12		15.00	50	10,5	0,418	0,57411	0,454335	0,01153	34,5	17200	54	5650	17	6790	33	6720	37	9090	35,25
13	Jumat 18 Mei 2012	17.00	52	10,5	0,401	0,550395	0,441268	-0,00653	34,5	5050	9	65	0	82	0	66	0	1315,75	2,25
14		09.00	164	9,1	0,286	0,38897	0,352873		33	7730	0	12360	35	10930	68	32000	56	15755	39,75