



UNIVERSITAS INDONESIA

**KANDUNGAN DHA, EPA DAN AA DALAM MIKROALGA
LAUT DARI SPESIES *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*,
Chlorella aureus DAN *Porphyridium cruentum* YANG
DIKULTIVASI SECARA HETEROTROF**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik

**KHAIRUL HADI B
0806460515**


**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI BIOPROSES
DEPOK
JULI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Khairul Hadi B

NPM : 0806460515

Tanda Tangan : 

Tanggal : 3 JULI 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Khairul Hadi B

NPM : 0806460515

Program Studi: SI Reguler Teknologi Bioproses

Judul : Kandungan DHA, EPA, dan AA Dalam Mikroalga Laut Dari Spesies *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureus*, dan *Porphyridium cruentum* Yang Dikultivasi Secara Heterotrof

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Ir. Rita Arbianti, M.Si.

Pembimbing II : Sri Amini, M.Sc.

Penguji I : Dr. Ing. Ir. Misri Gozan, M.Tech

Penguji II : Dr. Tania Surya Utami, ST., MT

Penguji III : Dr. Ing. Doni Adinata, ST

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 3 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Puji Syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat rahmat dan karunia-Nya, akhirnya saya dapat menyelesaikan makalah tugas skripsi ini. Shalawat dan salam tak lupa turunkan kepada Sayyidina Nabi Muhammad SAW. Penulisan makalah skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat untuk menjadi Sarjana Teknik, Program Studi Teknologi Bioproses Universitas Indonesia. Saya menyadari bahwa ini semua tidak akan tercapai tanpa adanya bantuan, bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak, dari masa kuliah hingga penulisan makalah skripsi ini selesai. Oleh karena itu, saya ingin mengucapkan terima kasih pada:

1. Ir. Rita Arbianti, M.Si., selaku pembimbing akademis maupun pembimbing yang telah memberikan arahan dan masukan serta nasihat selama menjalani skripsi ini.
2. Sri Amini, M.Sc., selaku pembimbing yang telah memberikan arahan dan masukan serta nasihat selama menjalani skripsi ini.
3. Seluruh dosen Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia, atas kesabaran dan perhatiannya dalam memberikan ilmu pengetahuan untuk penulis.
4. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan kasih sayang, kesabaran dan dorongan semangat serta do'a untuk berbuat yang terbaik selama hidup.
5. Prof. Dr. Ir. Widodo W. Purwanto, DEA, selaku ketua Departemen Teknik Kimia
6. Dr. Ir. Heri Hermansyah M.Eng, selaku ketua Jurusan Teknologi Bioproses
7. Prof. Dr. Ir. Hari Eko Irianto, selaku Ketua Balai Besar Riset dan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Departemen Kelautan dan Perikanan yang telah mengizinkan untuk meneliti yang dibiayai oleh APBN anggaran tahun 2012, dan menggunakan datanya dalam penyusunan skripsi ini.
8. Nurrahmi Dewi F. M.Biotech, selaku kepala laboratorium bioteknologi BBRP2BKP.

9. Pak Mustomi atas bantuan dan saran-saran yang diberikan selama penelitian di BBRP2KP.
10. Mas Eko atas bantuan dan saran-saran yang diberikan selama melakukan penelitian di lantai 3 DTK.
11. Teman-teman Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia angkatan 2008.
12. Seluruh pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu,

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan tugas skripsi ini, oleh karena itu, diharapkan kritik ataupun saran yang membangun demi kesempurnaan makalah skripsi ini.

Depok, 3 Juli 2012



Khairul Hadi B

0806460515

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

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

Nama : Khairul Hadi B

NPM : 0806460515

Program Studi : S1 Reguler Teknologi Bioproses

Departemen : Teknik Kimia

Fakultas : Teknik

Jenis Karya : Skripsi

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

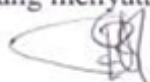
Kandungan DHA, EPA, dan AA dalam Mikroalga Laut dari Spesies *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureus*, dan *Porphyridium cruentum* yang Dikultivasi secara Heterotrof

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Depok
Pada tanggal : 3 Juli 2012

Yang menyatakan



(Khairul Hadi B)

ABSTRAK

Nama : Khairul Hadi B

Program Studi : S1 Reguler Teknologi Bioproses

Judul : Kandungan DHA, EPA, dan AA dalam Mikroalga laut dari spesies *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureus*, dan *Porphyridium cruentum* yang dikultivasi secara heterotrof

Salah satu dampak kekurangan gizi mikro di Indonesia adalah rendahnya tingkat kesehatan ibu hamil. Pemberian suplemen yang mengandung omega-3 dan 6 (DHA, EPA, dan AA), dapat menjadi solusi permasalahan tersebut. Salah satu sumber lain yang sangat potensial adalah mikroalga yang dikultivasi heterotrof. Pada penelitian ini dilakukan kultivasi mikroalga dari spesies *S.platensis*, *B. braunii*, *C aureius*, dan *P.cruentum* yang dikoleksi oleh Balai Besar Bioteknologi dan Perikanan, Slipi, Jakarta. Penelitian dilakukan dari kultivasi masing-masing mikroalga tersebut secara normal (autotrof), kemudian dikondisikan secara heterotrof dengan pemberian glukosa 0,5 g/L. Hasil penelitian menunjukkan spesies *S.platensis*, *B. braunii*, *C aureius*, dan *P.cruentum* memiliki kandungan lipid berturut-turut sebesar 5,297, 0,173, 0,528 dan 2,116 (% berat biomass kering). Kandungan DHA, EPA, dan AA dari *S. platensis*, *B. braunii*, *C. aureus* dan *P. cruentum* berturut-turut sebesar 0,003, $0,915 \cdot 10^{-3}$, $0,682 \cdot 10^{-3}$, $0,103 \cdot 10^{-3}$, $3,228 \cdot 10^{-5}$, $2,157 \cdot 10^{-5}$, $0,323 \cdot 10^{-3}$, $0,152 \cdot 10^{-3}$, $0,120 \cdot 10^{-3}$ dan $1,380 \cdot 10^{-3}$, $0,430 \cdot 10^{-3}$, $0,401 \cdot 10^{-3}$ (mg/g biomassa kering).

Kata kunci: Mikroalga heterotrof, MAE, Sonikasi, metabolisme akumulasi lipid.

ABSTRACT

Name : Khairul Hadi B

Study Program: Bachelor of Bioprocess Technology

Title : Composition of DHA, EPA, and AA in heterotrophic cultivated marine microalgae from species *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureus*, and *Porphyridium cruentum*

One of effects in deficient of micronutrient in Indonesia is the lower level of healthy pregnant mother. Giving suplemen containing omega-3 and omega-6 (DHA, EPA, and AA) can be solution for the problem. One of the other sources is heterotrophic cultivated microalgae. In this study, microalgae from species *S. platensis*, *B. braunii*, *C. aureus*, and *P. cruentum* that collected from Balai Besar Bioteknologi dan Perikanan, Slipi, Jakarta, will be cultivated. Once each microalgae are cultivated autotrophically, the culture were transformed to heterotrophic condition with glucose 0.5 g/L as carbon source. Results show that yield lipid from *S. platensis*, *B. braunii*, *C. aureus*, and *P. cruentum* respectively are 5.297, 0.173, 0.528, and 2.116 (% w/w dry biomass). Composition of DHA, EPA, and AA from *S. platensis*, *B. braunii*, *C. aureus*, and *P. cruentum* respectively are 0.003, $0.915 \cdot 10^{-3}$, $0.682 \cdot 10^{-3}$, $0.103 \cdot 10^{-3}$, $3.228 \cdot 10^{-5}$, $2.157 \cdot 10^{-5}$, $0.323 \cdot 10^{-3}$, $0.152 \cdot 10^{-3}$, $0.120 \cdot 10^{-3}$ and $1.380 \cdot 10^{-3}$, $0.430 \cdot 10^{-3}$, $0.401 \cdot 10^{-3}$ (mg/g dry biomass).

Keywords: Heterotrophic microalgae, Microwave assisted extraction, Sonication, lipid metabolism

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Masalah.....	4
1.5 Sistematika Penulisan.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Mikroalga	6
2.2 Fase-fase pertumbuhan Mikroalga	8
2.3 Pengaturan Akumulasi Lipid dalam Mikroorganisme Heterotrof.....	9
2.4 Omega-3 dan 6	10
2.5 Kultivasi Mikroalga.....	14
2.6 Pemanenan (<i>Harvesting</i>)	14
2.6.1 Flokulasi (Penggumpalan)	14
2.6.2 Sentrifugasi	15
2.6.3 Filtrasi (Penyaringan).....	15
2.7 Ekstraksi Lipid	16
2.7.1 Sonikasi	16
2.7.2 Ekstraksi Bantuan Gelombang Mikro.....	17

2.8	<i>State of The Arts</i>	17
3.	METODOLOGI PENELITIAN	22
3.1	Bahan dan Alat Penelitian	22
3.1.1	Alat Penelitian.....	22
3.1.2	Bahan Penelitian.....	23
3.2	Rancangan Penelitian	24
3.3	Rincian Tahap Penelitian.....	25
3.3.1	Kultivasi mikroalga.....	25
3.3.2	Penghitungan Kepadatan Sel Mikroalga.....	26
3.3.3	Rekoveri Biomassa Hasil Kultivasi	27
3.3.4	Ekstraksi Minyak	28
3.3.5	Analisis bilangan iodin pada lipid.....	30
3.3.6	Analisis DHA, EPA, dan AA pada lipid dengan GC.....	31
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1	Kultivasi mikroalga.....	34
4.2	Pertumbuhan Mikroalga	35
4.3	Laju Pertumbuhan Mikroalga	43
4.4	Pemanenan Mikroalga	44
4.5	Ekstraksi Minyak Mikroalga	47
4.6	Analisis bilangan iodine minyak mikroalga	51
4.7	Analisis GC Minyak Mikroalga.....	52
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	56
5.1	Kesimpulan.....	56
5.2	Saran	57
	DAFTAR PUSTAKA	58
	LAMPIRAN	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. 1 Biaya setiap kg biomassa alga serta	3
Gambar 2. 1 Berbagai macam kemungkinan	7
Gambar 2. 2 Penampilan ideal proses akumulasi lipid	9
Gambar 2. 3 Metabolisme Acetyl-CoA dalam.....	10
Gambar 2. 4 Struktur DHA	11
Gambar 2. 5 Struktur EPA	12
Gambar 2. 6 Struktur AA.....	13
Gambar 3. 1 Bagan proses keseluruhan dalam penelitian ini	25
Gambar 3. 2 Skema tahap kultivasi yang dimodifikasi.....	26
Gambar 3. 3 Skema pelaksanaan tahap rekoveri biomassa.....	28
Gambar 3. 4 Skema proses ekstraksi sampel kering.....	29
Gambar 3. 5 Skema proses ekstraksi sampel kering.....	30
Gambar 3. 6 Prosedur analisis bilangan iodine pada	31
Gambar 3. 7 Prosedur preparasi contoh sample.....	32
Gambar 4. 1 Diagram Pertumbuhan <i>Spirulina platensis</i> ,	36
Gambar 4. 2 Pertumbuhan <i>Spirulina platensis</i>	37
Gambar 4. 3 Diagram Pertumbuhan <i>Botryococcus braunii</i>	38
Gambar 4. 4 Diagram Pertumbuhan <i>Chlorella aureius</i>	39
Gambar 4. 5 Pertumbuhan <i>Chlorella protothecoides</i>	41
Gambar 4. 6 Diagram Pertumbuhan <i>Porphyridium cruentum</i>	42
Gambar 4. 7 Pertumbuhan <i>Porphyridium cruentum</i>	43
Gambar 4. 8 Diagram laju pertumbuhan mikroalga.....	44
Gambar 4. 9 Perbandingan konsentrasi akhir	46
Gambar 4. 10 Persentase rata-rata minyak.....	48
Gambar 4. 11 Perbandingan persentase kandungan minyak.....	50
Gambar 4. 12 Hasil jumlah kandungan mol ikatan.....	51
Gambar 4. 13 Perbandingan kandungan DHA, EPA, dan AA	52
Gambar 4. 14 Jumlah kandungan EPA dan DHA.....	53
Gambar 4. 15 Perbandingan kandungan DHA, EPA, dan AA	54

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Gambaran ringkasan dan penelitian yang dilakukan	21
---	----



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kekurangan zat gizi mikro (vitamin, mineral, komponen-komponen *trace*, dan asam lemak esensial) masih menjadi sorotan utama di Indonesia pada saat ini, terutama di daerah miskin dan sulit terjangkau. Fortifikasi (penambahan dari luar) adalah salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah ini. Salah satu contoh kekurangan gizi mikro terutama pada kategori asam lemak esensial khususnya omega-3, dan 6 dapat dilihat pada tingkat kesehatan ibu hamil, dimana anemia masih merupakan beban kesehatan masyarakat Indonesia. Prevalensi anemia pada ibu hamil sebesar 40 %.

Anemia pada ibu hamil menyebabkan meningkatnya resiko kelahiran premature dan lahir mati. Angka kematian bayi (AKB) per seribu kelahiran hidup di Indonesia adalah 35 pada tahun 2010 (<http://www.who.int>). Hasil dari penelitian yang dilakukan oleh Meiliati Aminyoto menyimpulkan bahwa pemberian suplemen omega-3 pada mereka dapat meningkatkan kadar Hb, menormalkan usia kehamilan dan meningkatkan status gizi bayi baru lahir, selain itu pemberian suplemen omega-3 dan 6, khususnya DHA, EPA, dan AA sangat diperlukan oleh bayi dalam perkembangan otaknya.

Selama ini, omega-3 dan 6 diperoleh dari minyak ikan laut, dimana masih memiliki kekurangan-kekurangan sebagai sumber utama. Ikan memiliki kapabilitas yang rendah untuk mensintesis omega-3 dan 6 atau dengan *yield* yang masih rendah, keawatiran akan persediaan ikan yang menipis dan kontaminasi logam berat, senyawa organik, dioxin yang dapat membahayakan kesehatan manusia (Guil-Guerrero, dkk., 2001), serta asam lemaknya yang tidak stabil dan berbau.

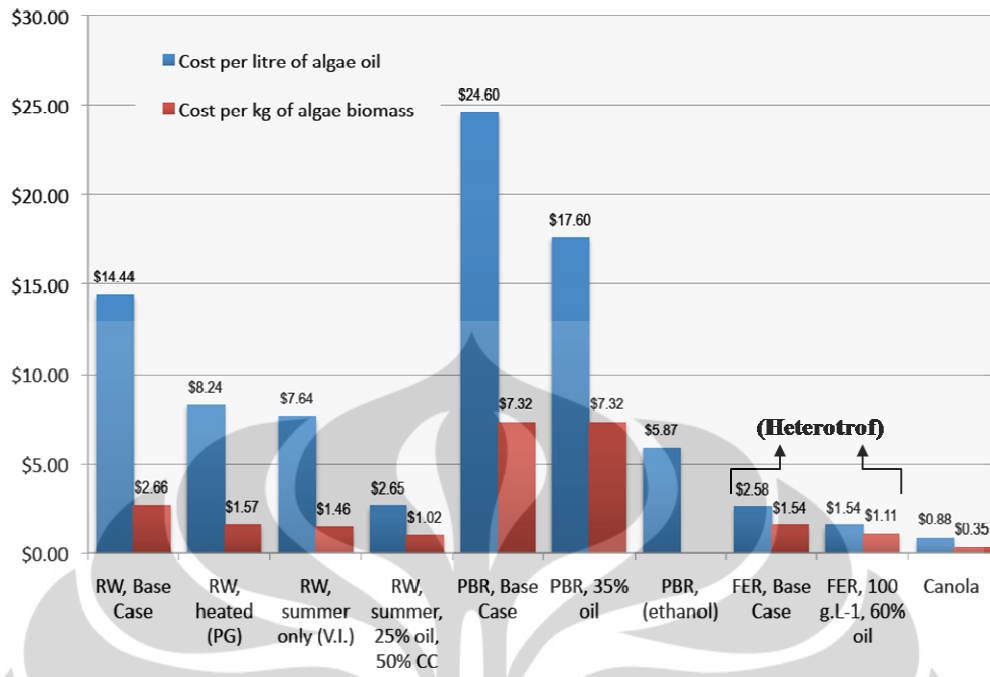
Mikroalga laut merupakan salah satu komoditi utama pada saat sekarang yang mampu menghasilkan omega-3, dimana pada umumnya mikroalga tersebut dikembangkan dengan kondisi autotrof, karena sebagian besar dari mikroalga tersebut termasuk kedalam kategori organisme fotoautotrof obligat. Kondisi

seperti ini memberikan keterbatasan pada sisi laju pertumbuhan dan populasi biomassa yang dihasilkan.

Untuk mengatasi keterbatasan tersebut, maka dilakukan pengembangan secara besar dengan menggunakan kolam terbuka yang mencontoh kondisi alamnya di lingkungan, hal ini telah dilakukan sejak tahun 1950 (Perez-Garcia, dkk., 2011), cara seperti ini masih memiliki kekurangan karena memanfaatkan banyak lahan yang bernilai tinggi, selain itu kondisi pertumbuhan yang tidak optimal dikarenakan faktor kedalaman, dan kemungkinan besar untuk terkontaminasi terutama lewat udara.

Dengan problema tersebut maka dikembangkan suatu fotobioreaktor yang mampu dikontrol dalam berbagai macam volum yang sudah didesain. Hambatan dalam pengembangan berkelanjutan pada desain fotobioreaktor untuk skala besar adalah banyak memakan biaya dan tidak ekonomis. Alternatif lain untuk menyikapi permasalahan-permasalahan yang sudah disebutkan ialah dengan mengembangkan metode kultivasi secara heterotrof, yaitu menumbuhkannya pada medium dalam kondisi gelap dan dengan senyawa organik sebagai sumber nutrisinya, sebagai gantinya yaitu dengan memanfaatkan sumber-sumber karbon organik yang sudah dilarutkan dalam media kultur. Cara seperti ini tidak hanya terbatas pada mikroalga heterotrof saja, tetapi juga pada beberapa mikroalga autotrof, dimana akan mempengaruhi komposisi-komposisi asam lemak didalam lipidnya.

Hasil analisis keekonomian yang dilaporkan oleh Alabi, dkk., (2009) menunjukkan bahwa sistem kultivasi heterotrof dengan menggunakan fermenter merupakan pilihan yang menarik untuk memproduksi minyak alga. Gambar 1.1 menunjukkan bahwa kondisi heterotrof dengan menggunakan fermenter memiliki biaya per kg biomassa alga dan biaya perliter minyak alga lebih rendah dibandingkan dengan biaya kultivasi dalam kondisi autotrof dengan menggunakan *Raceway Pond* maupun *Photobioreactor*.



Gambar 1. 1 Biaya setiap kg biomassa alga serta minyaknya yang diproduksi menggunakan sistem yang berbeda-beda dan skenario yang berbeda-beda RW = Race Way Pond, PBR = Photobioreactor, FER = (Alabi, dkk., 2009)

Beberapa spesies mikroalga yang telah dikoleksi dan dikembangkan di Indonesia yaitu *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureius* dan *Porphyridium cruentum*, memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan. *Porphyridium cruentum* memiliki kandungan minyak sebesar 3 % pada umur kultivasi 10 hari dalam kondisi autotrof. (Amini, 2010), dan mikroalga lainnya memiliki potensi yang hampir sama, dan telah dilaporkan dalam penelitian lain bahwa beberapa strain dari spesies *S.platensis*, *B.braunii*, *Chlorella* dan *P.cruentum* dapat dikultivasi secara heterotrof. Kandungan asam lemak pada lipid mikroalga diatas masih belum banyak diteliti terutama pada saat kondisi kultivasi heterotrofik, khususnya kandungan DHA, EPA dan AA.

Dengan diperolehnya sumber DHA, EPA dan AA selain ikan, diharapkan dapat menyukseskan program pemerintah dalam rangka mengatasi kekurangan gizi masyarakat dan mampu meningkatkan ketahanan pangan masyarakat. Dalam penelitian kali ini akan dilakukan pengecekan kandungan DHA, EPA, dan AA dalam minyak dari spesies mikroalga yang ditumbuhkan secara heterotrof. Selain

itu, hal ini merupakan objek penelitian yang menarik, karena akan lebih menggali potensi mikroalga melalui alternatif ini.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya, maka masalah yang dikemukakan dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh pola hidup heterotrof *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureius* dan *Porphyridium cruentum* terhadap *yield* biomassa dan lipid yang dihasilkan.
2. Bagaimana perbandingan minyak yang dihasilkan antara metode ekstraksi dengan bantuan sonikasi dan dengan bantuan *microwave*.
3. Bagaimana tingkat kandungan *unsaturated fatty acid* pada mikroalga tersebut berdasarkan analisis bilangan iodin.
4. Berapa komposisi DHA, EPA, AA, pada minyak mikroalga tersebut.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang diatas, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh pola hidup heterotrof *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureius* dan *Porphyridium cruentum* terhadap *yield* biomassa dan lipid yang dihasilkan.
2. Untuk mengetahui perbandingan minyak yang dihasilkan antara metode ekstraksi dengan bantuan sonikasi dan dengan bantuan *microwave*.
3. Untuk mengetahui tingkat kandungan *unsaturated fatty acid* pada mikroalga tersebut berdasarkan analisis bilangan iodin.
4. Untuk mengetahui komposisi DHA, EPA, AA, pada minyak mikroalga.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Semua mikroalga dikultur dengan menggunakan medium yang sama dan kondisi yang sama yang umum dilakukan pada saat kultivasi autotrof.
2. Jumlah penambahan glukosa pada setiap spesies sama.

Universitas Indonesia

1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika pada penulisan makalah seminar kali ini adalah sebagai berikut:

BAB 1: PENDAHULUAN

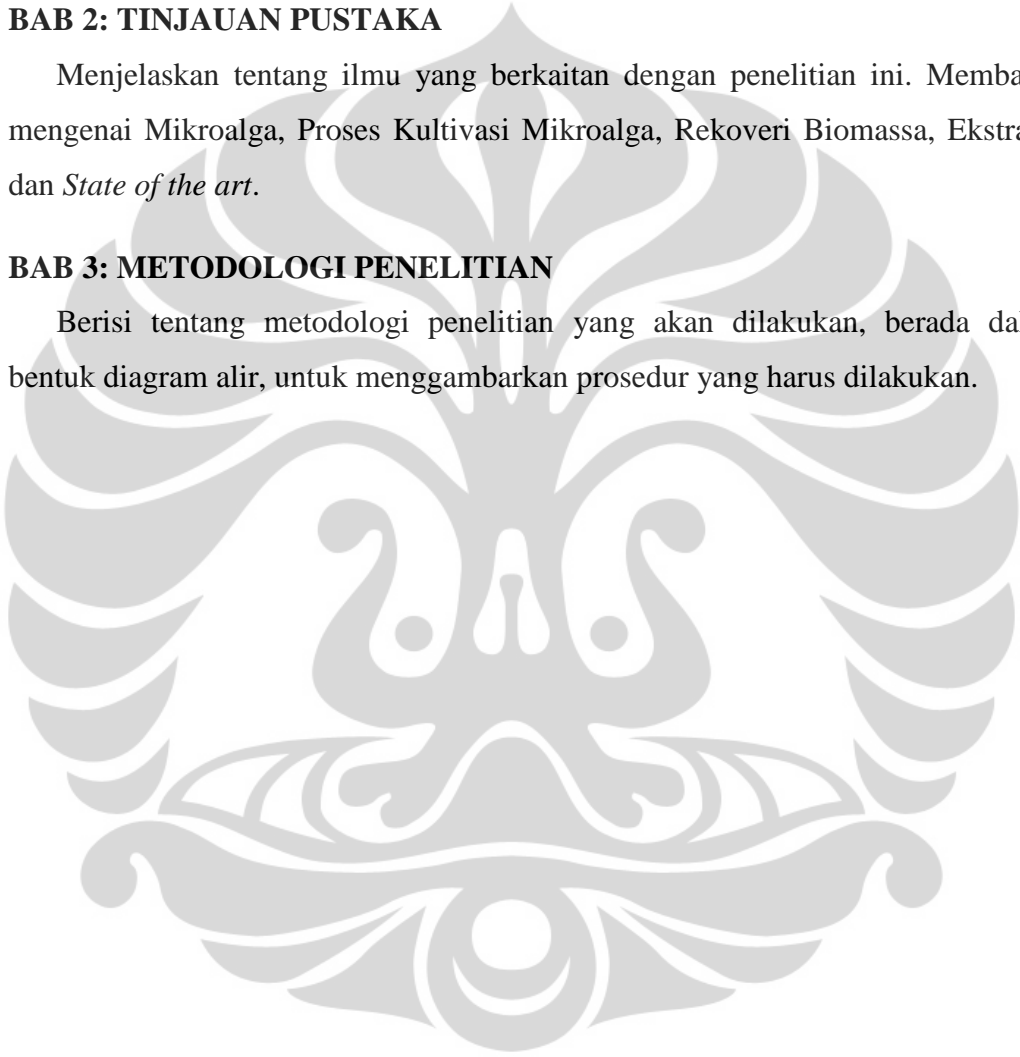
Menjelaskan mengenai latar belakang, rumusan masalah, tujuan, batasan masalah dan sistematika penulisan dari makalah ini.

BAB 2: TINJAUAN PUSTAKA

Menjelaskan tentang ilmu yang berkaitan dengan penelitian ini. Membahas mengenai Mikroalga, Proses Kultivasi Mikroalga, Rekoveri Biomassa, Ekstraksi dan *State of the art*.

BAB 3: METODOLOGI PENELITIAN

Berisi tentang metodologi penelitian yang akan dilakukan, berada dalam bentuk diagram alir, untuk menggambarkan prosedur yang harus dilakukan.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

Mikroalga pada umumnya merupakan tumbuhan renik berukuran mikroskopik yang memiliki diameter antara 3-30 mikrometer (Amini dan Susilowati, 2010), yang termasuk dalam kelas alga dan hidup sebagai koloni maupun sel tunggal diseluruh perairan tawar maupun laut. Morfologi mikroalga berbentuk uniseluler atau multiseluler tetapi belum ada pembagian fungsi organ yang jelas pada sel-sel komponennya. Mikroorganismenya ini mampu untuk berkembang biak dengan cepat secara aseksual (membelah diri), dan secara seksual (isogami).

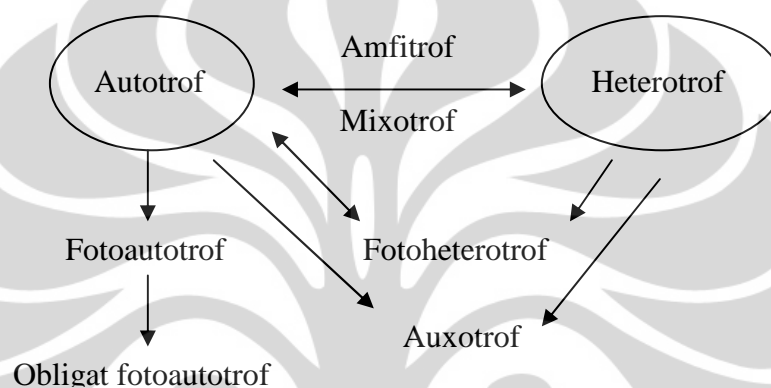
Mikroalga diklasifikasikan menjadi empat kelompok antara lain: diatom (*Bacillariophyceae*), alga hijau (*Chlorophyceae*), alga emas (*Chrysophyceae*), dan alga biru (*Cyanophyceae*) (Isnansetyo & Kurniastuti, 1995). Penyebaran habitat mikroalga biasanya di air tawar dan air laut. Berdasarkan distribusi vertikal di perairan, mikroalga dikelompokkan menjadi tiga yaitu hidup di zona euphotik (ephiplankton), hidup di zona disphotik (mesoplankton), dan hidup di zona aphotik (bathylankton), dan hidup di dasar perairan/bentik (hypoplankton) (Amini dan Susilowati, 2010).

Mikroalga merupakan kelompok organisme yang sangat beragam dan memiliki berbagai potensi yang dapat dikembangkan sebagai sumber pakan, pangan, dan bahan kimia lainnya. Kandungan senyawa pada mikroalga bervariasi tergantung dari jenisnya, faktor lingkungan dan nutrisinya. *Spirulina platensis* yang dikultur dengan menggunakan media Walne memiliki kandungan kadar protein, karbohidrat, dan lemak berturut-turut adalah 50,50 %, 15,48 %, 0,5 % (Widianingsih, dkk., 2008). Kandungan lemak rata-rata sel mikroalga bervariasi antara 1-70 % tetapi dapat mencapai 90 % berat kering dalam kondisi tertentu (Spolaore, dkk., 2006)

Beberapa jaringan sel mikroalga dapat dipergunakan dalam mengklasifikasikan sesuai dengan divisinya. Ada empat karakteristik yang digunakan untuk membedakan divisi mikroalga yaitu tipe jaringan sel, ada

tidaknya flagella, tipe komponen fotosintesis, dan jenis pigmen sel. Selain itu, morfologi dan sifat sel yang menempel baik yang berkoloni ataupun filamen merupakan informasi yang dapat digunakan untuk mengklasifikasikan masing-masing kelompok mikroalga (Graham dan Wilcox, 2000).

Mikroalga mampu untuk tumbuh dan berkembang dalam berbagai kondisi tergantung dengan spesiesnya, secara garis besar kondisi tersebut terbagi menjadi dua yaitu autotrof dan heterotrof. Kemungkinan-kemungkinan cara dalam memanfaatkan nutrisi dalam mikroalga dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 2. 1 Berbagai macam kemungkinan kondisi dalam memanfaatkan nutrisi (Grobbelar, 2004)

Organisme autotrof memenuhi kebutuhan energi dari mengabsorpsi cahaya matahari untuk mereduksi CO_2 dengan mengoksidasi substrat, terutama air dan menghasilkan O_2 . Organisme fotoautotrof hanya membutuhkan ion mineral anorganik dan fotoatotrof obligat adalah organisme yang tidak akan mampu untuk tumbuh dalam keadaan gelap. Sejauh ini kebanyakan alga tergolong kedalam kategori ini, meskipun beberapa ada yang membutuhkan substrat organik seperti vitamin untuk pertumbuhan.

Organisme heterotrof memenuhi kebutuhan energinya dari memanfaatkan substrat organik yang diproduksi oleh organisme lain, sedangkan organisme fotoheterotrof membutuhkan cahaya untuk memanfaatkan substrat organik. Juga senyawa organik dapat memenuhi kebutuhan energi untuk mikroalga. Auxotrofi adalah dimana mikroalga hanya membutuhkan sebagian kecil senyawa organik esensial seperti vitamin dan asam amino. Kondisi mixotrof dan amfitrof sama

dengan autotrof dan heterotrof, dimana baik itu senyawa organik maupun CO₂ dibutuhkan dalam pertumbuhan. Selain pada mikroorganisme yang tumbuh pada kondisi trofik yang obligat (autotrof dan heterotrof), perubahan-perubahan kondisi dalam memanfaatkan kondisi masih dapat mungkin terjadi.

2.2 Fase-fase pertumbuhan Mikroalga

Pertumbuhan mikroalga dalam medium ditunjukkan oleh bertambahnya jumlah sel, jumlah sel tersebut dapat diketahui dengan cara dihitung dengan menggunakan alat haemocytometer dan mikroskop dan hasilnya ditunjukkan dengan satuan kepadatan sel/ml, selain itu juga dapat diketahui dari konsentrasi biomass berat kering per ml yang diperoleh dengan cara disentrifugasi kemudian dikeringkan, ada empat fase pertumbuhan mikroalga yaitu:

- Fase lag

Yaitu fase awal pertumbuhan dimana laju pertumbuhan spesifik berada pada sub-maksimum, pada fase ini terjadi penyesuaian terhadap lingkungan karena terjadinya perubahan konsentrasi nutrisi dari inokulum sehingga menjadi kultur yang lebih besar.

- Fase Logaritmik atau Eksponensial

Merupakan periode dimana sel telah menyesuaikan diri dengan lingkungan dan mulai untuk tumbuh dan berkembang mengikuti deret eksponensial atau logaritmik selama masih terdapat nutrisi dan faktor-faktor lain yang menunjang pertumbuhan.

- Fase Stasioner

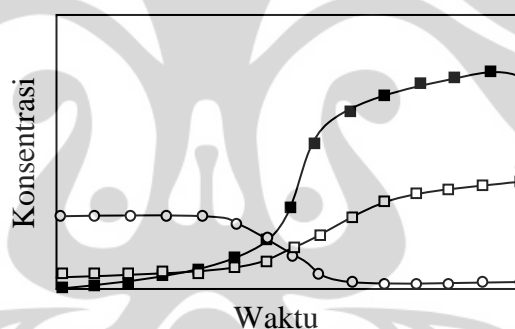
Merupakan periode dimana pembelahan sel mulai berkurang dimana ketersediaan nutrisi sudah mulai berkurang, dan kondisi lingkungan sudah tidak optimal, pada periode ini terjadi akumulasi zat-zat metabolit sekunder seperti polisakarida, lipid, dan zat bioaktif lainnya.

- Fase kematian

Merupakan periode dimana jumlah sel menurun drastis dikarenakan habisnya nutrisi, munculnya kontaminan, dan lingkungan yang sudah tidak mendukung.

2.3 Pengaturan Akumulasi Lipid dalam Mikroorganisme Heterotrof

Komposisi lipid dalam mikroorganisme tergantung pada jenis spesies dan lingkungan tempat hidupnya. Mikroorganisme tersebut menyimpan lipid dalam bentuk trigliserida, berbagai macam mikroorganisme eukariotik dapat menyimpan sejumlah trigliserida sedangkan bakteri tidak (Ratledge, 1993). Akumulasi lipid merupakan proses yang dinamik, yang tergantung pada mikroorganisme, lingkungan (pH, nutrisi, suhu, dan aerasi), dan fasa pertumbuhan. Sehingga untuk produksi *single cell oils* (SCOs), maka diperlukan pemilihan mikroorganisme yang sesuai, dan melakukan optimasi parameter-parameter pertumbuhannya. Banyak dari mikroorganisme tersebut yang mulai mengakumulasi lipid pada saat keberadaan sumber karbon yang berlebih, dan pada saat yang bersamaan. Pertumbuhannya dibatasi oleh ketiadaan nutrient yang lainnya, terutama sumber nitrogen.



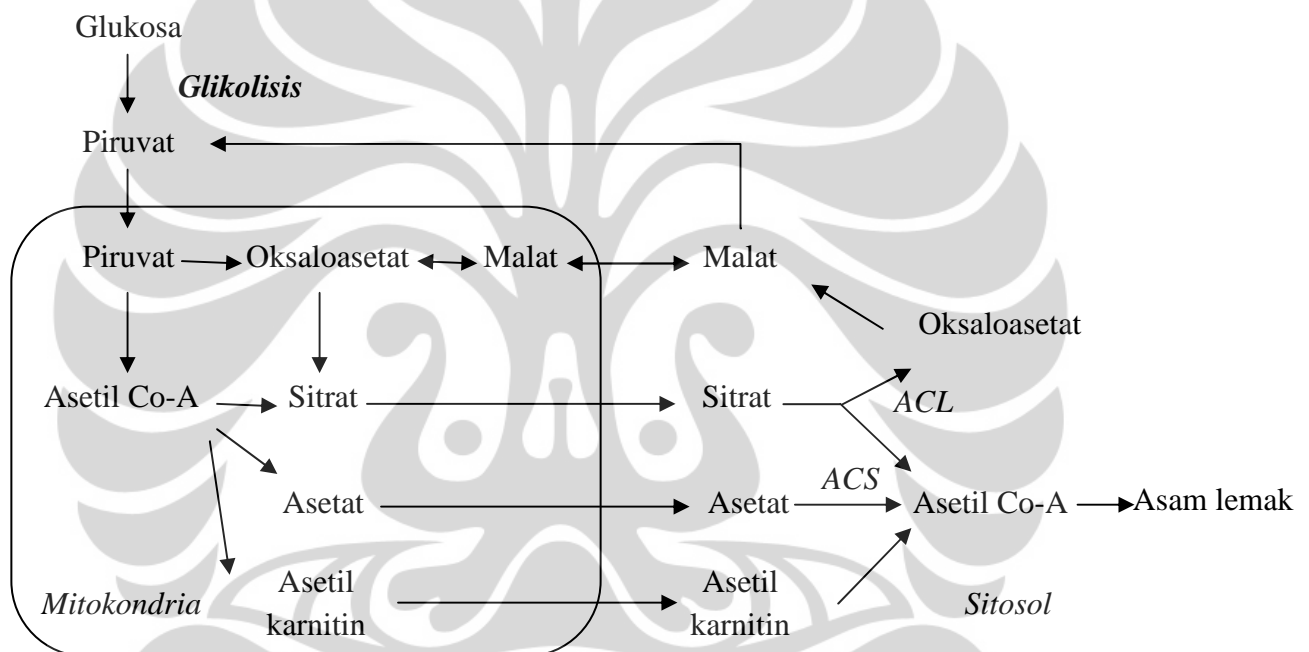
Gambar 2. 2 Penampilan ideal proses akumulasi lipid selama pertumbuhan mikroorganisme yang menghasilkan lipid pada keadaan *batch*. Dalam unit-unit yang tidak ditentukan, (■) Biomass kering, (□) Kandungan lemak dalam biomass kering dan (○) Konsentrasi nitrogen medium pertumbuhan (telah diolah kembali dari Swaaf, 2003)

Proses sintesis asam lemak merupakan proses cytosolic dengan acetyl-CoA sebagai komponen dasar (Ratledge dan Evans, 1989). Rute-rute penyediaan acetyl-CoA cytosolic tergantung pada sumber karbon yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Dan telah diteliti bahwa rute-rute mungkin dengan menggunakan gula-C6 sebagai sumber karbon. Aliran utama proses dari glukosa ke acetyl-CoA cytosolic, tergantung pada sumber karbon melibatkan proses glikolisis, perpindahan piruvat, perpindahan piruvat ke mitokondria,

Universitas Indonesia

mengkonversi pyruvat menjadi cytrate, memindahkan citrate kedalam sitosol dan memotong citrate dilakukan oleh ATP: citrate lyase untuk menghasilkan acetyl-CoA.(Gambar 2.3).

Secara teori, acetyl-CoA disediakan dalam cytosol dan cara yang lain, yaitu menumbuhkan mikroorganisme pada senyawa C2 seperti acetat dan etanol (Swaaf, 2003). Konversi asetat menjadi acetyl-CoA melibatkan reaksi enzimatik tahap satu yang dikatalis oleh enzim acetyl-CoA shynthetase. (Gambar 2.3). Acetyl CoA telah terlokalisasi dalam mitokondria, mikrosom dan sitosol (sitoplasma) pada yeast *Saccharomyces cerevisiae*.



Gambar 2. 3 Metabolisme Acetyl-CoA dalam mikroorganisme eukaryotik penghasil lipid (Swaaf, 2003), ACL=ATP:citrate lyase, ACS=acetyl-CoA synthetase.

2.4 Omega-3 dan 6

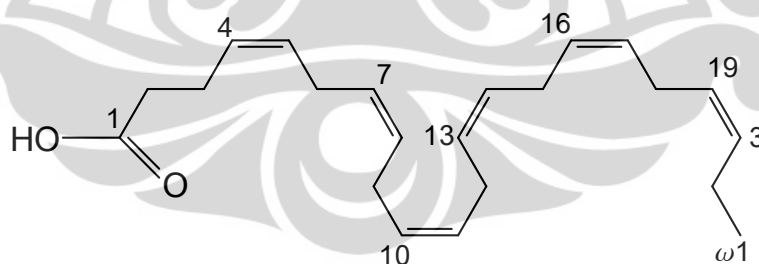
Merupakan asam lemak tak jenuh esensial yang memiliki ikatan rangkap (C=C) yang posisi pertamanya berada pada atom C ketiga (omega-3) dan keenam (omega 6) dari akhir rantai karbon (akhiran metil), sehingga disebut sebagai omega (ω) atau akhiran n. Omega-3 dan 6 yang banyak menjadi sorotan dalam gizi mikro adalah *arachidonic acid* (AA) (omega-6), *eicosapentenoic acid* (EPA),

dan *docosahexaenoic acid* (DHA) (omega-3), karena berperan penting dalam perkembangan otak terutama meningkatkan kemampuan kognitif visual pada bayi.

1. DHA

DHA (22:6 n-3) merupakan komponen primer dalam korteks otak besar manusia, dan retina. Sumber yang kaya akan DHA ialah mikroorganisme laut diantaranya terutama mikroalga dan *fungi*. Diantara *fungi* laut yang mengandung DHA yaitu *Thraustochytrium aureum* yang mengakumulasikan 50 % DHA dalam minyaknya (Certik dan Shimizu, 1999), *Schizochytrium* SR21 menghasilkan 15,5 g DHA/liter dalam 5 hari dalam fermentor (Certik dan Shimizu, 1999).

Mikroalga-mikroalga laut yang kaya akan DHA ialah *Cryptocodinium cohnii* UTEX L1649, *Amphidinium carterae* UTEX LB 1002, *Thraustochytrium aureum* ATCC 28211 yaitu berturut-turut sebesar 19,9 %, 17,0 % dan 16,1 % dari asam lemak keseluruhan, atau 19,5 mg/L, 8,5 mg/L, dan 1,0 mg/L (Vazhappily dan Chen, 1998). Spesies *Spirulina platensis*, *Chlorella aureus*, dan *Porphyridium cruentum* yang dikultivasi secara autotrof memiliki kandungan DHA berturut-turut sebesar 1,080, 1,585, dan 2,218 mg/g lipid (Amini, 2005). Mikroalga laut hetetrotof juga mampu dalam menghasilkan DHA seperti fermentasi semikontinyu heterotropik dari alga laut *Cryptocodinium cohnii* menghasilkan yield DHA yang tinggi sebesar 8 g/l (39 % dalam minyak, 25 % dalam biomass).



Gambar 2. 4 Struktur DHA (<http://en.wikipedia.org>.)

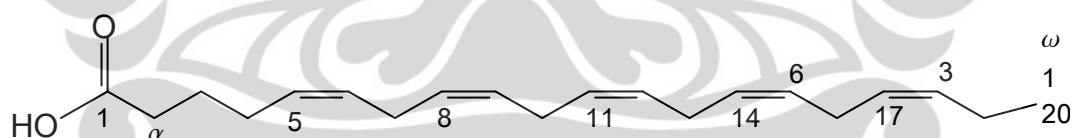
2. EPA

EPA (20:5 (n-3)) merupakan precursor pembentukan prostaglandin-3 yang bermanfaat pada perkembangan bayi. Sumber EPA dapat ditemukan pada

Universitas Indonesia

mikroalga laut yang juga mengandung DHA seperti yang telah disebutkan diatas dan *fungi* laut seperti beberapa spesies *Mortierella* yang berjumlah 25 % dari total asam lemak (Certik dan Shimzu, 1999) dan *Pythium* (Ratledge, 2004). Kebanyakan *fungi* yang memproduksi AA juga diidentifikasi mampu memproduksi EPA dan konsentrasi meningkat ketika *fungi* (khususnya *Mortierella* sp.) dikultivasi pada medium bersuhu rendah. Sistem enzim dari *Mortierella* sp melakukan katalisis proses konversi AA menjadi EPA (Δ^{17} desaturase) diaktivasi oleh keadaan dingin (Certik dan Shimzu, 1999).

Mikroalga-mikroalga laut yang kaya akan EPA ialah *Monodus subterraneus* UTEX 151, *Chlorella minutissima* UTEX 2341, *Phaeodactylum tricornutum* UTEX 642, yang berturut-turut sebesar 34,2 %, 31,3 % dan 21,4 % atau 96,3 mg/L, 36,7 mg/L dan 43,4 mg/L (Vazhappily dan Chen, 1998). Spesies *Spirulina platensis*, *Chlorella aureus*, dan *Porphyridium cruentum* yang tumbuh secara fotoautotrof memiliki kandungan EPA berturut-turut sebesar 2,890, 2,493, dan 2,001 mg/g lipid (Amini, 2005). Bakteri laut seperti *Shewanella putrefaciens* juga diyakini sebagai alternatif lain untuk produksi EPA secara komersil, strain ini mengakumulasikan lipid pada tubuhnya sebesar 15 % dengan kandungan EPA sebesar 25-40 % (Certik dan Shimzu, 1999). Namun, seluruh EPA terikat pada membran fosfolipid yang menyebabkan susahny dalam proses rekovernya.



Gambar 2. 5 Struktur EPA(<http://en.wikipedia.org>.)

Jumlah kebutuhan omega-3 khususnya DHA dan EPA yang harus dipenuhi oleh manusia perharinya tergantung pada usia dan jenis kelaminnya. Bayi yang baru lahir hingga umur 12 bulan membutuhkan 0,5 g. Anak yang berumur 1-3 tahun paling kurang membutuhkan 0,7 g. Anak yang berumur 4-8 tahun membutuhkan sekitar 0,9 g perhari. Untuk laki-laki yang berumur 9-13 tahun membutuhkan 1,2 g, sedangkan pada usia 14 tahun keatas membutuhkan 1,6 g. Untuk perempuan berumur 9-13 tahun membutuhkan sebesar 1,0 g, dan 1,1 g

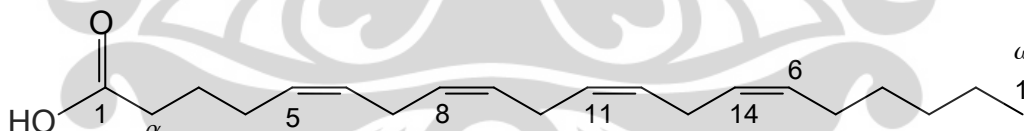
Universitas Indonesia

untuk usia 14 tahun keatas. Sedangkan ibu hamil membutuhkan sebanyak 1,4 g dan pada masa menyusui membutuhkan 1,3 g (<http://www.livestrong.com>).

3. AA (ARA)

AA (20:4 n-6) merupakan asam lemak dibutuhkan oleh tubuh karena sebagai penyusun membrane sel yang hadir pada fosfolipidnya, selain itu banyak terdapat pada otak, otot, dan hati. Spesies *Spirulina platensis*, *Chlorella aureus*, dan *Porphyridium cruentum* yang tumbuh secara fotoautotrof memiliki kandungan AA berturut-turut sebesar 3,015, 0,905, dan 1,628 mg/g lipid (Amini, 2005).

Genus *Mortierella* telah sering diteliti memiliki kemampuan untuk mengakumulasi AA pada suatu level industri, meskipun strain lainnya juga telah diamati. Produksi AA oleh *fungi* dapat ditingkatkan secara substansial dengan mengatur kondisi kultivasi dimana konsentrasi AA dalam minyak bervariasi diantara 30-70 % dengan 70-90 % dari AA yang dibentuk mengikat pada TAG (Certik dan Shimzu, 1999). Pada saat suhu turun, konsentrasi AA akan semakin tinggi dalam fosfolipid sebagaimana yang dihasilkan dari mekanisme adaptasi *fungi* pada fluiditas membran. SSF juga diterapkan untuk meningkatkan produk fungal yang kaya akan AA. Dari proses screening berbagai banyak *fungi*, *Mortierella alpina* CCF-185 menunjukkan produktivitas AA yang tinggi (Certik dan Shimzu, 1999), dimana 57,4 mg AA/g bioproduct (49 % AA dalam minyak).



Gambar 2. 6 Struktur AA (<http://en.wikipedia.org>.)

Jumlah kebutuhan omega-6 khususnya AA (asam arakidonat) yang harus dipenuhi oleh manusia perhari juga tergantung usia dan jenis kelamin. Bayi yang baru lahir hingga umur 6 bulan membutuhkan 4.4 g, dan umur antara 6-12 bulan membutuhkan 4.6 g. Anak yang berumur 1-3 tahun membutuhkan 7 g, dan pada usia 4-8 tahun membutuhkan 10 g. Laki-laki yang berumur 9-13 tahun membutuhkan 12 g, pada usia 14-18 tahun membutuhkan 16 g, pada usia 19-50 tahun membutuhkan 17 g, dan pada usia 51 tahun keatas membutuhkan 14 g.

Sedangkan pada perempuan yang berumur 9-13 tahun membutuhkan 10 g, pada usia 14-18 tahun membutuhkan 11 g, pada usia 19-50 tahun membutuhkan 12 g, dan pada usia 51 tahun keatas membutuhkan 11 g. Ibu hamil dan menyusui membutuhkan 13 g (<http://www.livestrong.com>).

2.5 Kultivasi Mikroalga

Metode yang paling umum dalam kultivasi mikroalga adalah kultur *batch*. Dalam sistem kultur *batch* sederhana, inokulum dan medium ditempatkan dalam suatu tempat (*vessel, pond*), yang telah disesuaikan untuk pertumbuhannya. Beberapa perlakuan seperti agitasi dengan menggunakan *impeller (paddle)*, aerasi dengan menggunakan *bubbler* atau *blower (aerator)* diperlukan untuk memaksimalkan pertukaran gas dan persebaran nutrient secara merata dalam air (homogen) sehingga mengoptimalkan pemanfaatan substrat oleh mikroalga (Grima, dkk., 2004).

Model kultur seperti ini lebih disukai untuk diterapkan karena lebih praktis dalam pengoperasiannya, dan memudahkan dalam melakukan sterilisasi secara keseluruhan.

2.6 Pemanenan (*Harvesting*)

Semua proses ilir (*downstream processing*) diakhir periode kultivasi mikroalga meliputi satu atau lebih tahap pemisahan padat-cair. Biomassa dapat dipisahkan dari medium dengan cara sedimentasi, sentrifugasi, dan filtrasi, terkadang juga membutuhkan tahap flokulasi (penggumpalan) dengan penambahan zat *coagulant* (Grima, dkk., 2004).

2.6.1 Flokulasi (Penggumpalan)

Flokulasi ialah penggumpalan sel-sel dengan penambahan koagulan sehingga membentuk aggregate. Berdasarkan jenis koagulannya jenis flokulasi terbagi sebagai berikut:

a. Flokulasi dengan pengaturan pH

Nilai pH antara 11.8 dan 12 dapat memicu terjadinya flokulasi secara intensif, hal ini dapat dilakukan dengan penambahan senyawa basa seperti NaOH sebanyak 800 ppm. Dengan cara seperti ini akan terjadi pengendapan sehingga cairan pada lapisan atas dapat dengan mudah dipisahkan. Selain dengan menggunakan NaOH, MgOH juga dapat digunakan seperti untuk mengendapkan *Skeletonema costatum* (Grima, dkk., 2004)

b. Flokulasi dengan polimer kationik

Polimer kationik dapat menetralkan muatan negatif yang terdapat pada permukaan sel mikroalga, dan mengakibatkan adanya interaksi elektrostatis, yang mendorong terjadinya mekanisme penjembatanan (*bridging mechanism*). Parameter yang perlu diamati dalam memilih polimer ialah; berat molekul, densitas muatan, dan konfigurasi struktur.

2.6.2 Sentrifugasi

Hampir semua jenis mikroalga dapat dipisahkan dari kultur dengan cara sentrifugasi. Prinsipnya yaitu meningkatkan gaya gravitasi untuk mempercepat laju pengendapan. Rekoveri biomass pada proses sentrifugasi tergantung pada; Laju pengendapan biomass yang dipengaruhi oleh ukuran sel, *residence time* biomass dalam medan sentrifugal, jarak tempuh pada proses pengendapan. Parameter-parameter tersebut sangat diperhatikan pada sentrifuge yang berkapasitas besar dan beroperasi secara kontinyu, sedangkan pada sentrifuge yang berkapasitas kecil (500 ml) yang umum digunakan dalam laboratorium tidak demikian karena pada umumnya peralatan tersebut dioperasikan secara *batch*, dan proses dapat dioptimalkan dengan memvariasikan besarnya rpm, dan lama proses berlangsung.

2.6.3 Filtrasi (Penyaringan)

Penyaringan akan sangat bermanfaat pada proses kontinyu, dan tidak membutuhkan sterilitas yang tidak begitu ketat. Untuk kultur skala kecil dan beroperasi secara *batch*, pada umumnya alat penyaring (*filter cloth*) yang

dibutuhkan berupa kain satin yang terbuat dari benang-benang canvas. Sedangkan untuk skala yang lebih besar alat yang biasa digunakan untuk menyaring ialah *Rotary vacuum drum filter* dan *Chamber filter press* yang memiliki *filter cloth* yang umum terbuat dari canvas, nylon, Dacron, logam dan serat fiber.

Untuk menyaring spesies yang memiliki fragilitas yang tinggi, diperlukan metode penyaringan yang lebih baik lagi, agar zat metabolit yang diinginkan tidak hilang. Mikrofiltrasi dan ultrafiltrasi adalah metode yang paling sesuai. Kedua metode ini sama-sama menggunakan *membrane filter* berpori sebagai penyaring. Untuk mikrofiltrasi membran yang biasa digunakan terbuat dari polivinilidid (PVDF). Untuk ultrafiltrasi membran yang digunakan biasanya terbuat dari PVDF, poliakrilonitril (PAN), dan polietersulfon (PES).

2.7 Ekstraksi Lipid

Lipid merupakan salah satu komponen yang terdistribusi luas di dalam organisme, dapat berupa lipid sederhana atau kompleks. Lipid sederhana merupakan suatu bagian dari agregat besar (minyak, lemak, dan wax) yang secara khusus tersimpan dalam tempat penyimpanannya suatu jaringan, yang mana akan mudah untuk diekstrak dengan menggunakan heksana atau dietil eter. Sedangkan, lipid yang kompleks pada umumnya menjadi komponen penyusun membran (berinteraksi atau berikatan dengan protein dan polisakarida lainnya seperti phosphatidate, glycerophospholipids, Phosphatidylinositol, Phosphatidylcholine) kondisi seperti ini tidak mudah untuk diekstrak. Dalam masalah seperti ini, pelarut harus tidak hanya larut dalam lipid saja, namun juga mampu untuk berinteraksi dengan lipid dan matriks jaringan. Ekstraksi lipid dapat dilakukan dengan berbagai metode, seperti maserasi, soklet, SFE (*Supercritical Fluid Extraction*), tekanan tinggi, Sonikasi, dan MAE (*Microwave Assisted Extraction*). Pada kali ini akan dibahas mengenai ekstraksi dengan bantuan gelombang.

2.7.1 Sonikasi

Ekstraksi dengan cara seperti ini memanfaatkan gelombang dengan panjang 10 kHz-57 kHz, pancaran gelombang tersebut akan membuat gelembung sehingga

akan mengakibatkan kavitasi pada material yang terdapat dalam solven, ketika kavitasi tersebut terjadi pada dinding sel, maka dinding sel tersebut akan pecah dan komponen yang terkandung di dalamnya dapat larut ke dalam pelarut.

2.7.2 Ekstraksi Bantuan Gelombang Mikro

Metode ini mengkombinasikan penggunaan solven, panas dan gelombang mikro untuk mengekstraksi suatu senyawa. Pemanasan akibat gelombang mikro menyebabkan dinding sel hancur (Riastuti, dkk., 2010) . Sehingga analit yang akan diekstrak keluar dari sel dan dapat berdifusi ke pelarut hal ini akan semakin memudahkan solven untuk mengikat senyawa-senyawa terlarut dari biomass yang dimasukkan dalam alat tersebut.

Dengan menggunakan microwave, konversi lipid yang diperoleh akan jauh lebih banyak dengan waktu yang lebih cepat. Lee, dkk., (2009) telah menggunakan metode ini untuk mengekstrak lipid dari tiga mikroalga yaitu *Botryococcus sp*, *Chlorella vulgaris*, dan *Scenedesmus sp* kemudian membandingkan dengan metode-metode yang lain yaitu *autoclaving*, *bead-beating*, dan sonikasi. Ditunjukkan bahwa metode ini menunjukkan efisiensi tertinggi dari metode yang lainnya untuk seluruh spesies yang diuji. Dengan efisiensi untuk *Botryococcus sp*, *Chlorella vulgaris*, dan *Scenedesmus sp* berturut-turut adalah 28,6 %, 9,9 %, dan 10,4 %, dengan kondisi proses pada suhu 100 °C dan 2450 MHz, selama 5 menit untuk ukuran sampel sebanyak 0,5 g berat kering.

2.8 State of The Arts

Beberapa dari mikroalga yang akan diteliti telah berhasil dikembangkan secara heterotrof, mikroalga-mikroalga tersebut yaitu *Porphyridium cruentum* (Vazhappily dan Chen, 1998, Oh, dkk., 2009), *Chlorella protothecoide* (Xu, dkk., 2006), *Botryococcus braunii* (Tanoi, dkk., 2011) dan *Spirulina sp.* (Chojnacka dan Noworyta., 2004). Penelitian pada *Porphyridium cruentum* yang dilakukan oleh Vazhappily dan Chen, (1998) bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan DHA dan EPA secara fotoautotrof, juga meneliti pertumbuhan mikroalga ini dengan cara ditumbuhkan secara terpisah pada sumber karbon glukosa (5 g/L), dan asetat

Universitas Indonesia

(1 g/L) masing-masing di dalam medium Porphyridium, dengan menggunakan air laut buatan untuk melarutkan semua komponen media, kultur sebanyak 150 mL dalam flask berukuran 250 mL diperlakukan secara batch, pada suhu 25 °C di dalam orbital shaker dengan kecepatan 200 rpm, secara berkala, dari proses tersebut diketahui bahwa mikroorganisme dalam kondisi fotoautotrof kaya akan EPA sebanyak 17,9 mg/L atau 1,9 % w/w dari biomass, namun dalam penelitiannya tidak dilakukan lebih lanjut profil kandungan DHA dan EPA yang ditumbuhkan secara heterotrof.

Penelitian pada mikroorganisme yang sama yang dilakukan oleh Oh, dkk., (2009) bertujuan untuk mengamati pengaruh produksi lipid *Porphyridium cruentum* dengan kondisi yang berbeda yaitu autotrof (variasi periode pencahayaan) dan heterotrof (variasi sumber karbon). Mikroalga ini ditumbuhkan di medium F/2 yang mengandung NaNO₃, NaH₂PO₄.9H₂O, Ferric EDTA, MnCl₂, CoCl₂, CuSO₄.5H₂O, ZnSO₄.7H₂O, Na₂SiO₃.9H₂O. Vitamin B₁₂, Biotin, Thiamine-HCl dan air laut yang terfiltrasi. Pada kondisi heterotrof, sebagai sumber karbon ditambahkan glukosa dan gliserol sebanyak 10 g/L pada kultur yang terpisah. Kultur sebanyak 300 mL dikultivasi dalam erlemeyer 500 mL pada kondisi 30 °C dan kecepatan shaker 150 rpm selama 25 hari, dan di peroleh konsentrasi lipid maksimum untuk glukosa dan gliserol berturut-turut ialah 10,9 % w/w dan 2,2 % w/w, sedangkan pada kondisi autotrof konsentrasi paling tinggi didapat pada kondisi periode pencahayaan 12 jam terang, 12 jam gelap (12:12 h) yaitu sebesar 20 % w/w.

Penelitian pada *Chlorella protothecoides* oleh Xu, dkk., (2006) bertujuan untuk menghasilkan biodiesel dari lipid yang diperoleh melalui kultivasi secara heterotrof, dengan menggunakan medium Wu. Dalam penelitian ini dilakukan perbandingan antara dua kondisi yaitu autotrof dan heterotrof. Kondisi autotrof dilakukan secara aksenik dengan intensitas penyinaran sebesar 40 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ lalu diaerasi pada tekanan regular. Pada kondisi heterotrof, kedalam medium basal ditambahkan glukosa dengan konsentrasi 10 g/L, dan glisin sebagai sumber nitrogen dikurangi hingga 0,1 g/L, dalam kondisi ini juga dilakukan penambahan CPH (Tepung Jagung terhidrolisis) sebagai pengganti glukosa sebanyak 5 g/L.

Universitas Indonesia

Untuk kondisi heterotrof pada awalnya dilakukan pada erlemeyer 500 mL dengan medium 300 mL kemudian dilanjutkan didalam fermentor 5 L (Biostat Q, B.BRAUN, Germany) dengan medium 3 L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *C.protochoide* yang dikultivasi secara heterotrof memiliki kandungan lipid 55,2%.

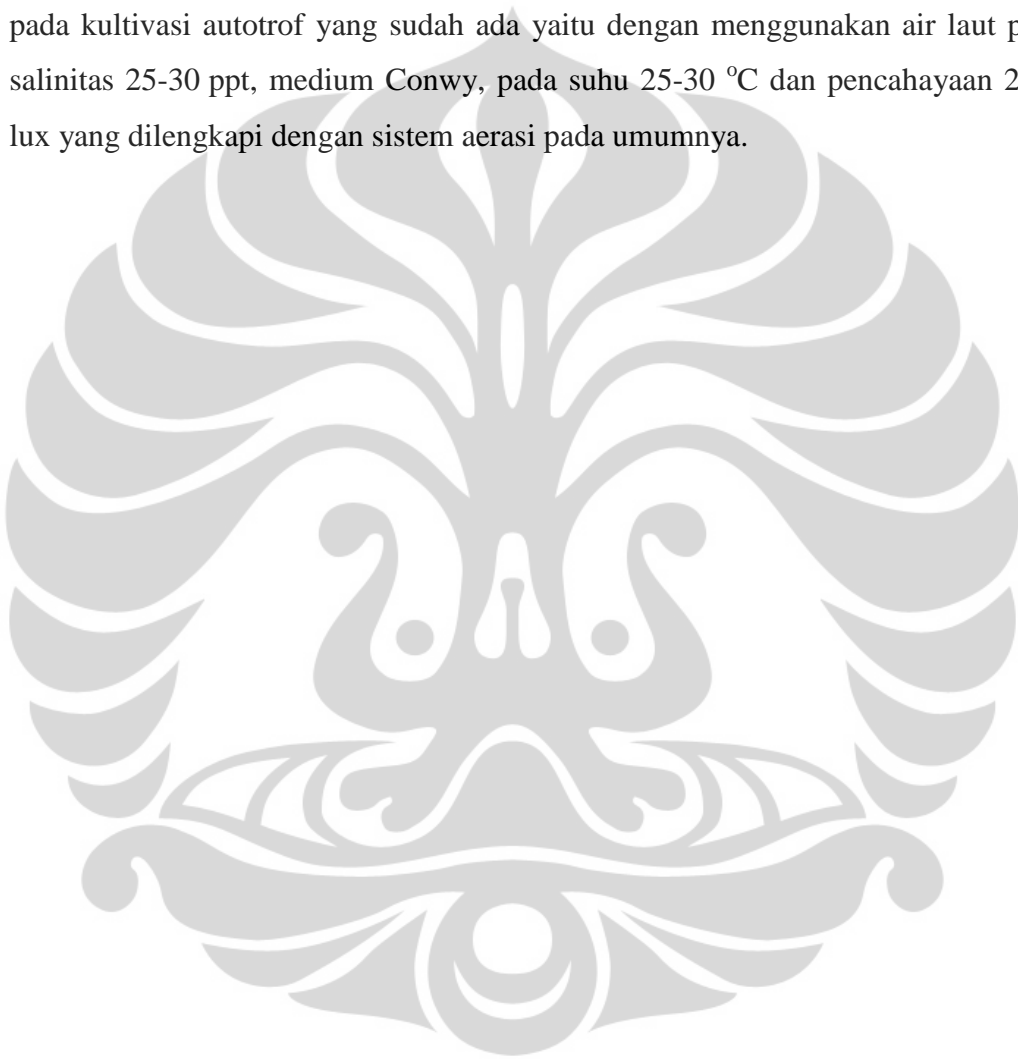
Penelitian pada *Spirulina* sp. oleh Chojnacka dan Noworyta, (2004) bertujuan untuk mengevaluasi kultur secara fotoautotropik, heterotrofik, dan mixotrofik. Mikroalga ini ditumbuhkan dalam medium liquid Zarrouk yang tiap liter mengandung (g) 2,50 NaNO₃, 0,5 K₂HPO₄, 10 NaHCO₃, 1 NaCl, 0,2 MgSO₄.7H₂O, 0,02 CaCl₂.2H₂O, 0,01FeSO₄.7H₂O, dengan pencahayaan 0-65 W m⁻² periode 12:12 (12 jam terang, dan 12 jam gelap), kondisi diberlakukan secara heterotrof dan mixotrof pada konsentrasi inisial 0,1 – 2,5 g.L⁻¹. Laju pertumbuhan spesifik mikroalga ini meningkat dengan penambahan glukosa sebanyak 2,5 g/L.

Penelitian pada *Botryococcus braunii* oleh Tanoi, dkk., (2011) bertujuan untuk mengamati pertumbuhan dan morfologi strain ini yang dikultivasi secara heterotrof. Strain dikultivasi dengan menggunakan medium Chu pada flask 500 mL dengan medium 200 mL dan menggunakan glukosa dan manosa 10 mM sebagai sumber karbon. Hasil menunjukkan bahwa sel dapat tumbuh pada kondisi gelap terus-menerus baik itu dengan glukosa atau dengan manosa sebagai sumber karbon. Dalam keberadaan glukosa pada kondisi gelap, sel, dan koloni-koloni dan granula-granula intraselular mengandung minyak yang lebih besar dibandingkan dengan tanpa menggunakan glukosa.

Penelitian yang akan dilakukan yaitu melakukan kultivasi mikroalga dari strain *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureus*, dan *Porphyridium cruentum* yang dikoleksi oleh BBRP2BKP Jakarta. *Spirulina*, *Chlorella*, dan *Porphyridium* telah dikultivasi dengan menggunakan medium Conwy (Amini, 2005) pada wadah yang berukuran 5 L dengan kadar garam 30 ppt yang diaerasi cukup kuat pada kondisi suhu 25 °C, dan intensitas cahaya 2000 lux. Proses kultivasi dilakukan selama 7 hari. Sedangkan *Botryococcus* (Susilowati dan Amini, 2009) yang bertujuan untuk mengamati kondisi optimal pada saat kultivasi autotrof. Kultivasi dilakukan pada medium Conwy sebanyak 75 mL, pada salinitas yang bervariasi 5-25 ppt, dan pencahayaan sebesar 2000 lux

dan pada suhu 20-26 °C, selama 15 hari. Kondisi optimal ditunjukkan pada salinitas 5 ppt, meskipun demikian, statistik menampilkan bahwa hasil variasi tersebut tidak beda nyata satu dengan yang lain.

Pada penelitian kali ini strain-strain *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureus*, dan *Porphyridium cruentum* yang dikoleksi oleh BBRP2BKP Jakarta dikultivasi pada kondisi heterotrof pada kondisi-kondisi yang mengacu pada kultivasi autotrof yang sudah ada yaitu dengan menggunakan air laut pada salinitas 25-30 ppt, medium Conwy, pada suhu 25-30 °C dan pencahayaan 2000 lux yang dilengkapi dengan sistem aerasi pada umumnya.



Tabel 2. 1 Gambaran ringkasan dan penelitian yang dilakukan

Heterotrof	Medium conwy	Glukosa	Penelitian yang dilakukan (2012)			
	Medium Chu termodifikasi	Glukosa				Tanoi, dkk., (2011)
	Medium F/2	Glukosa			Oh, dkk., (2009)	
		Gliserol				
	Medium Wu	Glukosa		Xu, dkk., (2006)		
		CPH				
	Medium Liquid Zarrouk	Glukosa	Chojnacka dan Noworyta, (2004)			
Medium Porphyridium	Glukosa			Vazhappily dan Chen, (1998)		
	Asetat					
Autotrof	Medium Conwy		Amini, (2005)			Susilowati dan Amini (2009)
			<i>Spirulina</i>	<i>Chlorella</i>	<i>P.cruentum</i>	<i>B.braunii</i>
Mikroalga						

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

Dalam bab ini akan dibahas mengenai pelaksanaan penelitian meliputi, alur penelitian yang akan dilakukan, alat serta bahan yang digunakan, menjelaskan mengenai variabel penelitian, dan prosedur penelitian. Penelitian kultivasi mikroalga dan ekstraksi dengan sonikasi dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Balai Penelitian Bioteknologi dan Perikanan, Slipi, Petamburan. (sejak bulan Februari 2012 sampai dengan Mei 2012) . Analisis GC dilakukan di Balai Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Bogor.

3.1 Bahan dan Alat Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu:

1. Termometer, digunakan untuk mengukur suhu pada saat kultivasi
2. *Flasks* berukuran 250 mL, sebagai wadah untuk kultivasi.
3. *Shake bath* untuk menempatkan flask.
4. *Centrifuge*, berfungsi untuk memisahkan biomassa dari kultur, dan untuk memisahkan hasil ekstraksi.
5. Botol kaca 30 mL, sebagai tempat menaruh sampel.
6. Toples kaca 3 L, sebagai tempat untuk membiakkan isolat pada medium kultur cair standar.
7. Blower
8. Beaker glass sebagai tempat bahan penelitian.
9. Gelas ukur sebagai alat untuk menentukan volume cairan yang akan dimasukkan.
10. Mortar keramik, sebagai wadah untuk menghaluskan.
11. Cawan petri untuk mengeringkan biomass mikroalga.
12. Kaca arloji, digunakan sebagai wadah untuk mengukur berat sampel.
13. Timbangan digital, untuk mengukur berat suatu sampel.
14. Oven, digunakan untuk mengeringkan biomassa.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

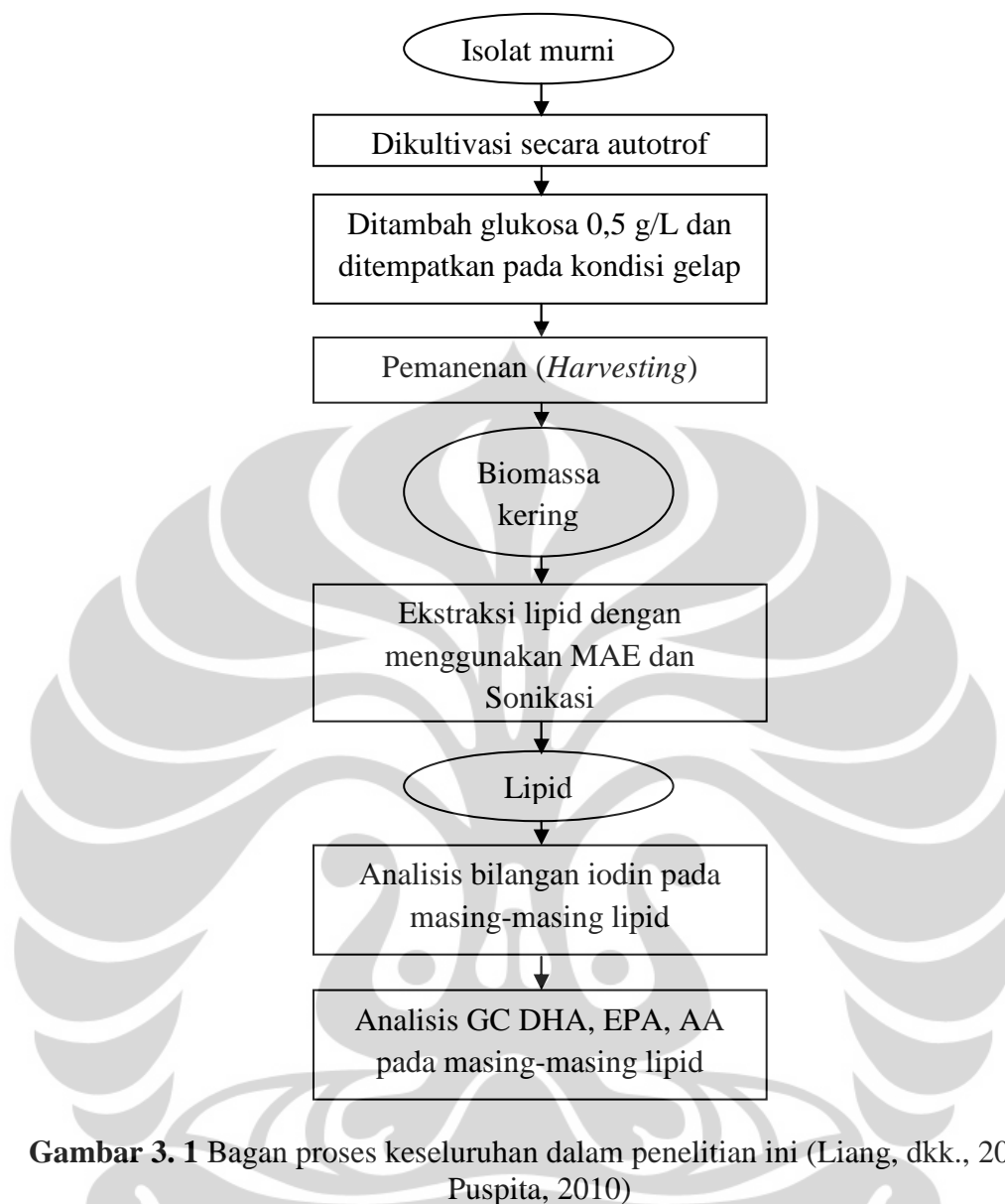
1. Isolat mikroalga yang dibutuhkan
 2. D + Glukosa (Merck, Pro Analysis)
 3. Natrium silikat (1mL/1 L aquadest)
 4. N-hexana (Merck, Pro Analysis)
 5. Air distilasi
 6. NaOH (Merck, Pro Analysis)
 7. Asam Sitrat (Merck, Pro Analysis)
 8. Pupuk Conwy (Amini, 2004) terdiri dari larutan A yang terdiri dari:

a) 100 g NaNO ₃ (Merck, Pro Analysis)	e) 33.6 g H ₃ BO ₃ (Merck, Pro Analysis)
b) 20 g NaH ₂ PO ₂ ·2H ₂ O (Merck, Pro Analysis)	f) 0.36 g MnCl ₂ ·4H ₂ O (Merck, Pro Analysis)
c) 0.78 g FeCl ₃ (Merck, Pro Analysis)	g) 1 L aquadest
d) 45 g Na-EDTA (Merck, Pro Analysis)	
- Didalam 1 L larutan A terdapat 1 mL Larutan B yang terdiri dari:
- | | |
|---|---|
| a) 2.1 g ZnCl ₂ (Merck, Pro Analysis) | c) 0.9 g CuSO ₄ ·5H ₂ O (Merck, Pro Analysis) |
| b) 2 g CoCl ₂ ·6H ₂ O (Merck, Pro Analysis) | d) 10 ml HCl pekat (Merck, Pro Analysis) |
| | e) 100 mL aquadest |
9. Kloroform (Merck, Pro Analysis)
 10. Pereaksi Wijs
 11. KI (Merck, Pro Analysis)
 12. Aquadest
 13. Na₂S₂O₃ (Merck, Pro Analysis)
 14. Larutan pati atau amilum (kanji)

3.2 Rancangan Penelitian

Metode dalam penelitian ini mengacu pada metode yang digunakan oleh Liang, dkk., (2009) dalam mengkondisikan pertumbuhan mikroalga secara heterotrof, dimulai dari melakukan kultivasi masing-masing spesies mikroalga secara autotrof pada kondisi cahaya 40 W (2000 lux), hal ini bertujuan untuk memastikan adanya pertumbuhan saat melakukan kultivasi pertama kali. Setelah dipastikan mikroalga tersebut tumbuh dan memiliki kepadatan sel yang cukup, maka perlakuan heterotrof diberlakukan pada kultur. Proses terjadinya pertumbuhan dipantau berdasarkan jumlah kepadatan sel per mL, dengan melakukan pengamatan menggunakan mikroskop. Setelah terjadi penurunan kepadatan sel yang signifikan, maka akan dilakukan pemanenan dengan metode yang dilakukan oleh Puspita, (2010) untuk mendapatkan biomass kering.

Setelah biomass kering diperoleh, maka akan segera dilakukan ekstraksi lipid dengan menggunakan dua cara yaitu dengan memanfaatkan gelombang (sonikasi), dan gelombang mikro (*microwave*). Setelah lipid diperoleh dilanjutkan dengan melakukan analisis bilangan iodin dari masing-masing lipid mikroalga, kemudian masing-masing lipid tersebut dianalisis dengan menggunakan GC untuk mengetahui kandungan DHA, EPA, dan AA.



Gambar 3. 1 Bagan proses keseluruhan dalam penelitian ini (Liang, dkk., 2009, Puspita, 2010)

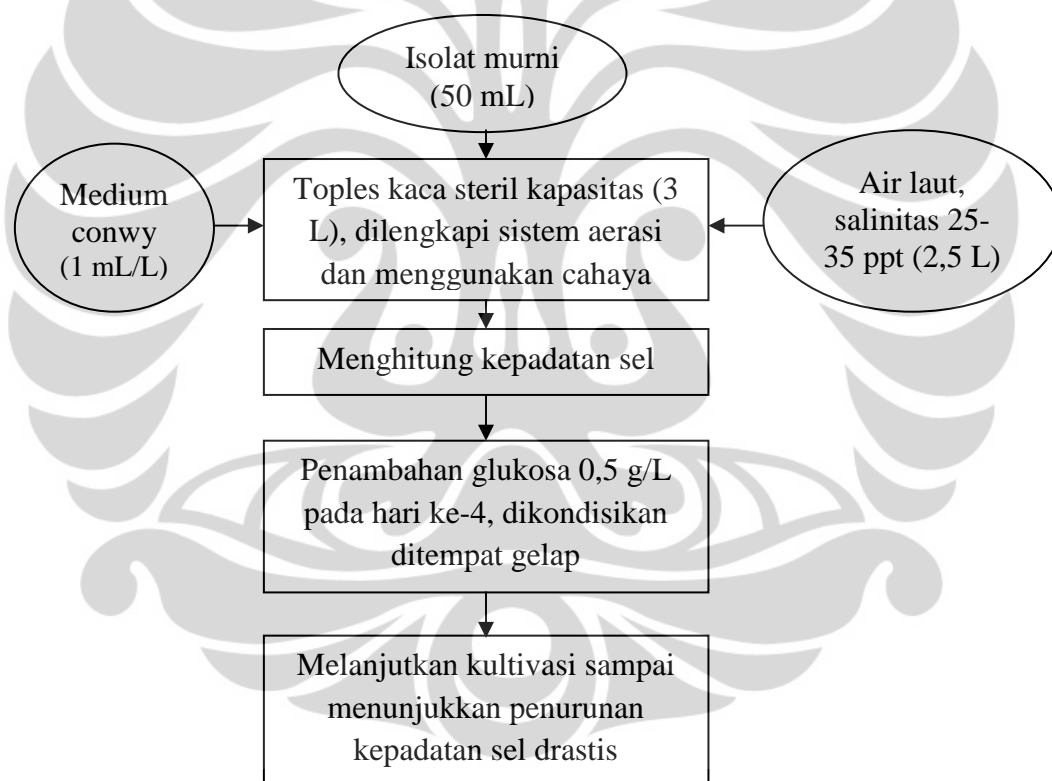
Proses ekstraksi dilakukan dengan dua metode yang berbeda yaitu MAE dan sonikasi, yang bertujuan untuk melihat jumlah perbedaan *yield* yang dihasilkan dengan metode yang berbeda, sehingga dapat diputuskan mana metode yang lebih baik digunakan.

3.3 Rincian Tahap Penelitian

3.3.1 Kultivasi mikroalga

Langkah-langkah yang dilakukan pada tahap kultivasi mengacu pada metode yang dilakukan oleh Liang, dkk., (2009) dalam tahap pengkondisian pertumbuhan

secara autotrof terlebih dahulu, inokulum mikroalga sebanyak 50 mL dimasukkan kedalam toples kaca dengan kapasitas 3 L yang sudah diisi dengan air laut dengan salinitas 35 ppt, kemudian ditambahkan pupuk Conway sebanyak 1 mL/L. setelah itu kultur ditutup dengan diberikan aerasi dengan menggunakan blower. Kultur ditempatkan dibawah cahaya lampu TL (*tube lamp*). Kepadatan sel pada sesaat setelah melakukan inokulasi dihitung, kemudian hal ini akan terus dilakukan pada jam yang sama keesokan harinya. Setelah menunjukkan adanya pertumbuhan, maka kultur diperlakukan secara heterotrof, dengan pemberian glukosa 0,5 g/l kedalam medium, cahaya lampu dimatikan dan toples dibungkus dengan plastik yang berwarna gelap. Kemudian kultivasi dilanjutkan sampai kepadatan sel menurun drastis.



Gambar 3. 2 Skema tahap kultivasi yang dimodifikasi (Liang, dkk., 2009)

3.3.2 Penghitungan Kepadatan Sel Mikroalga

Dalam menghitung kepadatan sel alat yang digunakan ialah *haemocytometer* dan mikroskop sedangkan untuk spesies *Spirulina* menggunakan *Seadwight Rafter*

Universitas Indonesia

Counter (SRC) sebagai pengganti haemocytometer dan alat bantu hitung. Saat menghitung *Spirulina*, sampel diambil sebanyak 1 mL dan meneteskannya kedalam tempat yang tersedia didalam SRC kemudian menutupnya dengan kaca preparat lalu ditaruh pada mikroskop untuk diamati dengan perbesaran 16 kali, dan setelah itu siap untuk dihitung. Sedangkan spesies lain ganti SRC dengan *haemocytometer neubauer* dan perbesaran mikroskop yang digunakan adalah 4 kali, dengan prinsip yang sama dengan SRC namun hasil perhitungan yang diperoleh dengan SRC langsung dituliskan dalam satuan sel/ml, sedangkan dengan menggunakan *haemacytometer* yaitu $\times 10^4$ sel/ml, hal ini karena wadah sample untuk *haemacytometer* hanya memiliki volume 10^{-4} ml. Setelah mendapatkan hasil perhitungan maka dilakukan perhitungan untuk mencari konstanta laju pertumbuhan yaitu dengan menggunakan persamaan (Oh-Hama dan Miyachi, 1992):

$$k = \frac{\log 10 \frac{N}{N_0}}{t - t_0} \times 3.32 \quad (3.1)$$

Keterangan:

N = Kepadatan sel pada waktu t (sel/ml)

N_0 = Kepadatan sel awal (sel/ml)

t_0 = Waktu awal (hari)

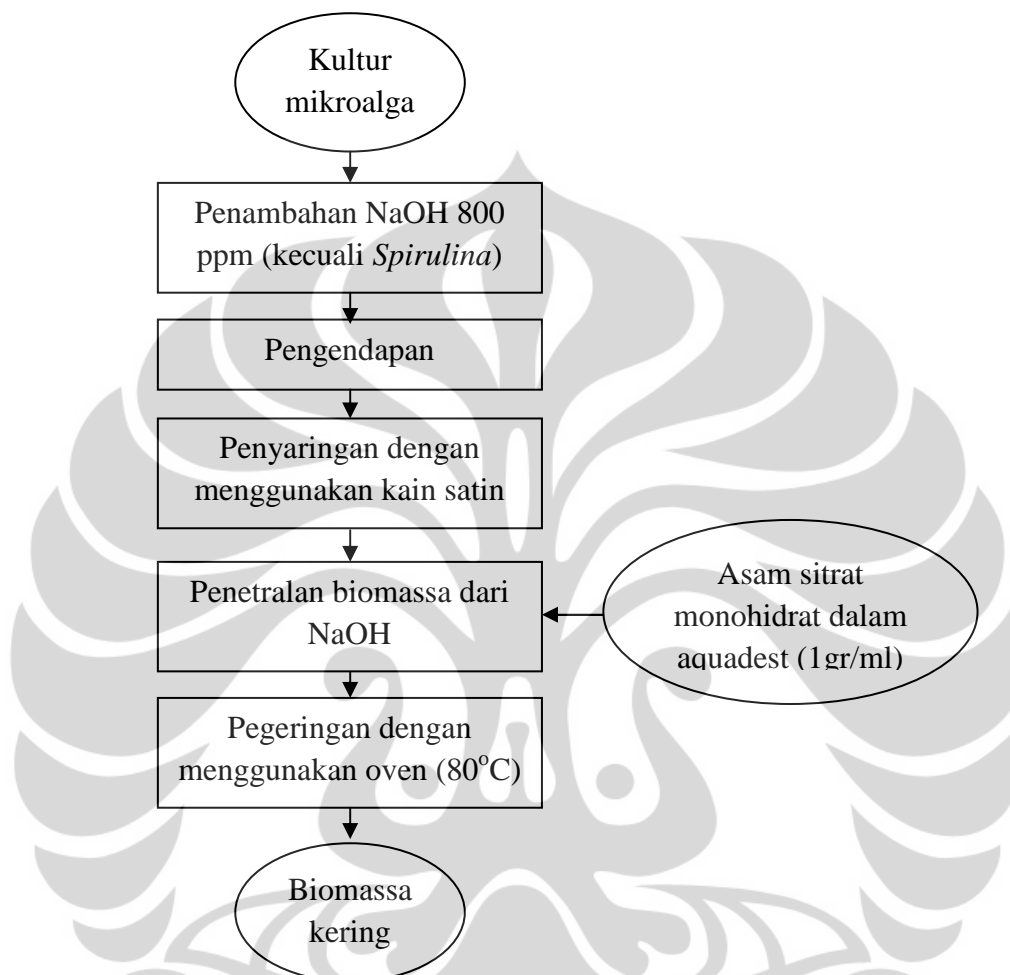
t = Waktu (hari)

3.32= Nilai konstanta (Faktor koreksi)

3.3.3 Rekoveri Biomassa Hasil Kultivasi

Setelah periode kultivasi, dilanjutkan dengan pengambilan biomassa. Langkah pertama yaitu melakukan flokulasi, dengan penambahan NaOH sebanyak 800 ppm (Puspita, 2010), kemudian diaerasi selama 1 jam, setelah itu perlengkapan sistem aerasi dimatikan dan dibiarkan selama 15 menit sampai terjadi pengendapan. Setelah itu supernatan yang terlihat bening dibuat, dan presipitat disaring dengan menggunakan dua lapis kain satin, untuk mengurangi kadar airnya, semua spesies diberlakukan dengan seperti ini kecuali *Spirulina platensis*

dapat langsung disaring hingga mendapatkan biomass basah. Biomass basah kemudian dikeringkan didalam oven pada suhu 80-90 °C. Skema proses dapat dilihat pada Gambar 3.3



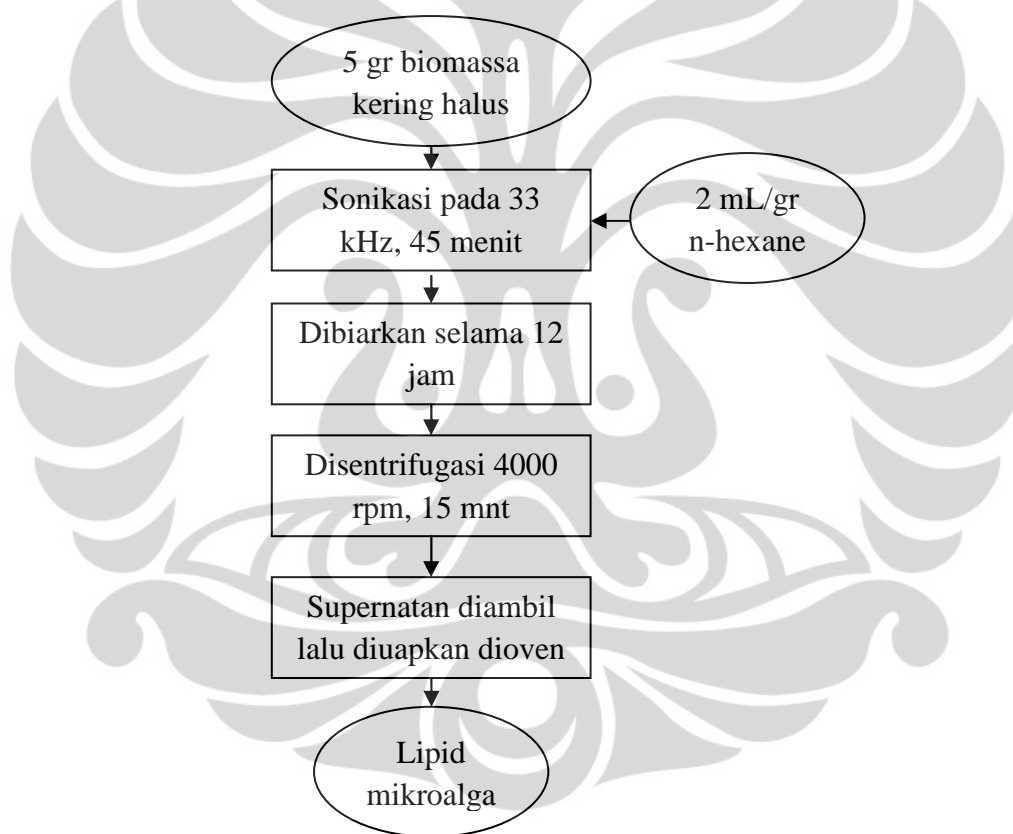
Gambar 3. 3 Skema pelaksanaan tahap rekoveri biomassa (Puspita, 2010)

3.3.4 Ekstraksi Minyak

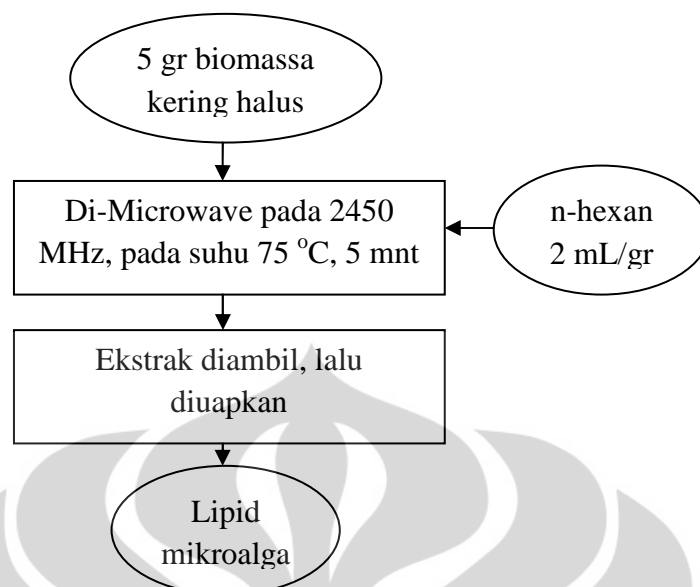
Pada proses ekstraksi, ada dua cara yang akan dilakukan, yaitu dengan menggunakan sonikasi dan MAE (*Microwave-assisted extraction*). Dengan cara sonikasi, 5 gr biomass kering yang sudah dihaluskan dengan menggunakan mortar keramik dicampur dengan n-hexana sebanyak 2 mL/gr, kemudian disonikasi selama 45 menit pada 33 kHz mengacu pada yang telah dikerjakan Amini, 2004, *Sonicator* yang digunakan ialah *cleaner sonicator* Branson 3015. Setelah itu dimaserasi selama 12 jam, kemudian disentrifugasi pada 4000 rpm, selama 15

menit. Ekstrak minyak yang sudah dipisahkan kemudian di uapkan didalam oven, sehingga yang tersisa adalah lipidnya. Skemanya dapat dilihat pada Gambar 3. 4.

Dengan menggunakan MAE prosedur mengacu pada metode yang dilakukan oleh Lee, dkk., (2009), sampel dengan jumlah dan pelarut yang sama dimasukkan kedalam reaktor kaca yang terhubung dengan kondenser yang ditempatkan pada *microwave* bermerek Panasonic yang telah dimodifikasi dengan menambahkan *temperature controller* dan kondenser, proses ekstraksi dilakukan pada kondisi panjang gelombang 2450 MHz, dengan suhu 75 °C, selama lima menit. Setelah itu ekstrak dipisahkan dan pelarutnya kemudian diuapkan, sehingga yang tersisa adalah lipidnya saja. Skemanya dapat dilihat pada Gambar 3. 5



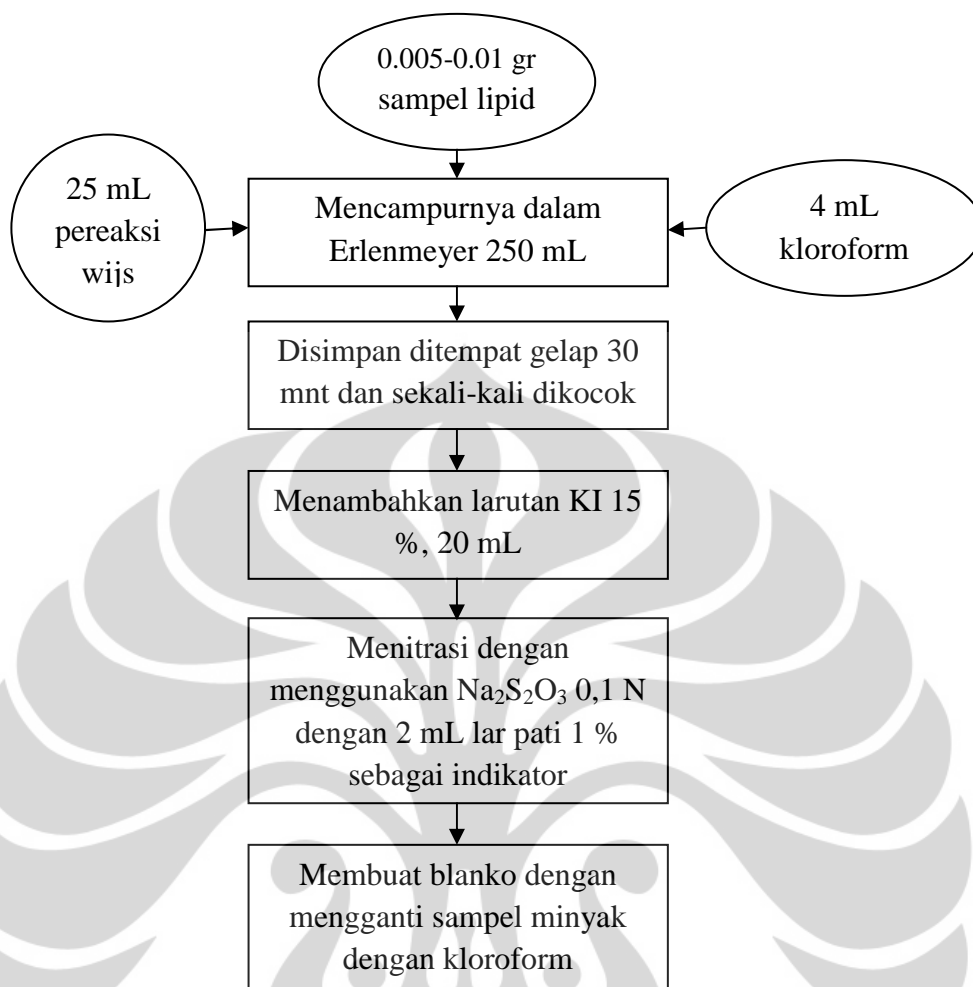
Gambar 3. 4 Skema proses ekstraksi sampel kering mikroalga melalui sonikasi (Amini, 2004)



Gambar 3. 5 Skema proses ekstraksi sampel kering mikroalga melalui MAE (Lee, dkk., 2009)

3.3.5 Analisis bilangan iodin pada lipid

Bilangan iodine adalah jumlah gram iodium yang diserap oleh 100 gr lipid. Nilai yang didapat menunjukkan derajat ketidakjenuhan lipid atau tingkat kandungan PUFAs yang terdiri dari ω -3, ω -6 dan ω -9. Prinsip kerja analisis ini ialah gliserida tak jenuh atau minyak mempunyai kemampuan mengabsorpsi sejumlah iodine, khususnya apabila dibantu dengan suatu *carrier* seperti iodinklorida atau iodinbromida, membentuk suatu senyawa yang jenuh. Jumlah iodine yang diabsorpsi menunjukkan ketidakjenuhan lipid. Kedalam sejumlah sample lipid ditambahkan iod berlebih, kelebihan iod dititrasi dengan natrium thiosulfat sehingga iodine yang diabsorpsi oleh lipid dapat diketahui jumlahnya



Gambar 3. 6 Prosedur analisis bilangan iodine pada lipid mikroalga (Apriantono dkk, 1989)

$$\text{BilanganIod} = \frac{(\text{titer blanko} - \text{titer sample}) \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 12.69}{\text{berat sampel dalam gram}} \quad (3.2)$$

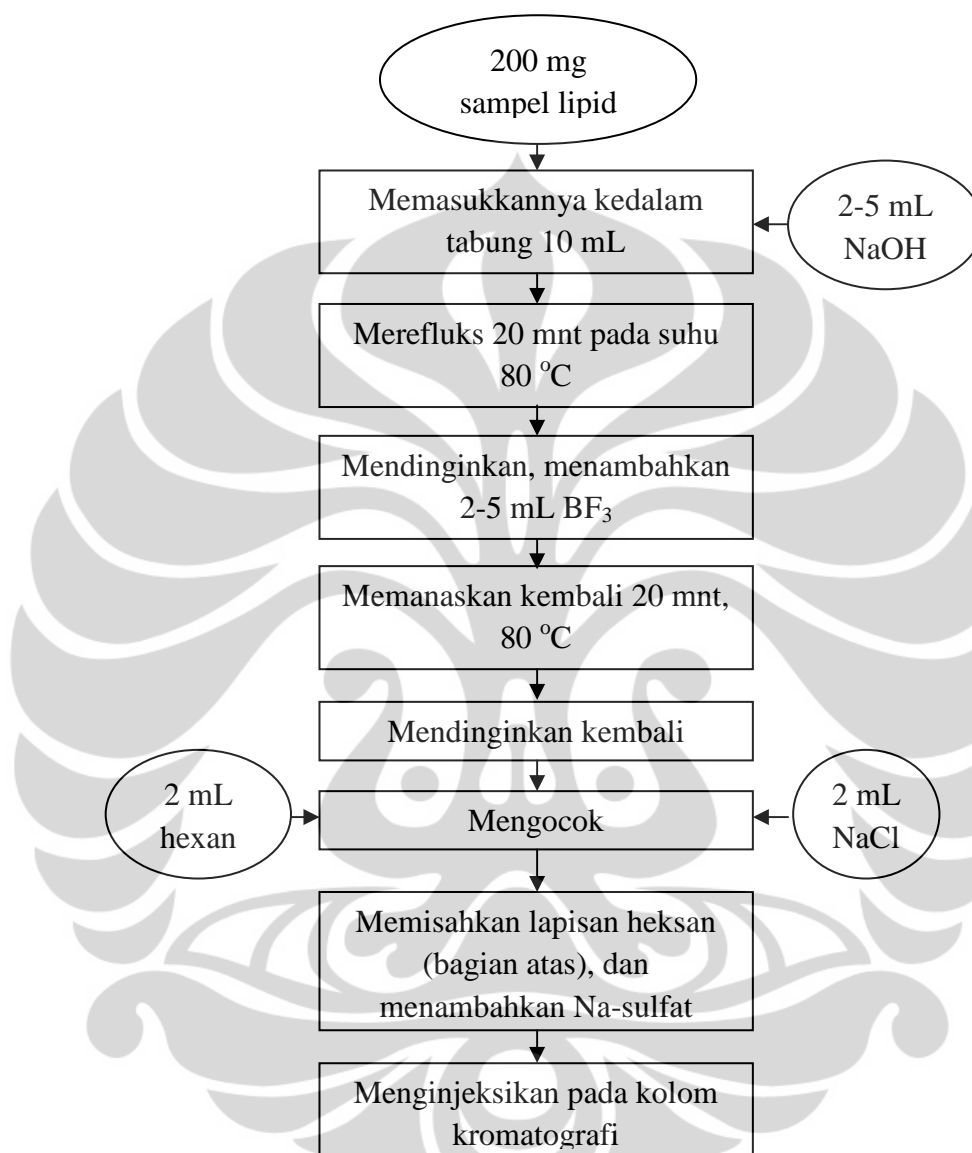
3.3.6 Analisis DHA, EPA, dan AA pada lipid dengan GC

Kandungan DHA, EPA, dan AA pada masing-masing lipid mikroalga akan dianalisis dengan menggunakan GC. Sampel dikirimkan pada Balai Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Bogor. Dengan prosedur kerja sebagai berikut:

- A. Acuan : AOAC, 1995; 28.057
- B. Peralatan yang digunakan ialah tabung reaksi ukuran 50 ml dan 125 ml serta kondensor dengan panjang 20-30 cm.

C. Pereaksi yang digunakan ialah BF_3 (125 g dalam 100 ml metanol), larutan NaOH 0,5 N dalam methanol, dan heksan.

D. Preparasi sampel



Gambar 3. 7 Prosedur preparasi contoh sample minyak yang akan diinjeksikan kedalam kolom kromatografi gas (AOAC, 1995; 28.057)

Kondisi alat kromatografi gas yang digunakan yaitu:

Detektor : FID, suhu = 250 °C, suhu injektor = 200 °C
 Gas pembawa : N_2 dan H_2 , dengan kecepatan alir= 20-50 mL/mnt
 Kolum : DEGS, panjang 3 m

Universitas Indonesia

Suhu kolom terprogram : 150-180 °C/5 °C/menit

Perhitungan:

$$\frac{\text{Luas area contoh}}{\text{Luas area standar}} \times \text{konsentrasi standar} \times F \text{ koreksi} \quad (3.3)$$

Bobot contoh



Universitas Indonesia

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kultivasi mikroalga

Dalam melakukan *screening*, masing-masing mikroalga yang dikultivasi akan dikondisikan terlebih dahulu, hal ini bertujuan agar masing-masing mikroalga tersebut mampu untuk beradaptasi dengan lingkungan barunya. Pada penelitian ini, setiap inokulum spesies dikultivasi terlebih dahulu selama 1-2 minggu, untuk *Spirulina platensis* dan *Botryococcus braunii* persiapan inokulum dilakukan selama 10 hari, pada media anorganik Conwy. Setelah itu masing-masing inokulum spesies dikultivasi dengan dibagi sama rata dan dilakukan sebanyak 3 kali dalam setiap spesies dalam waktu yang bersamaan. Kultivasi akan dihentikan, kemudian akan dilakukan pemanenan manakala kepadatan sel mikroalga tersebut turun.

Mikroalga dikultivasi dalam kapasitas 2,5 liter. Pada spesies *P.cruentum* dan *Chlorella aureius*, penanaman inokulum pada kedua spesies ini tidak langsung berhasil karena kedua spesies ini memiliki toleransinya kontaminan cukup rendah dibandingkan dengan dua spesies sebelumnya yang merupakan mikroalga yang kosmopolit (Komarek dan Marvan, 1992). Penambahan glukosa pada kultivasi *S.platensis*, *B.braunii*, dan *C. aureius* pada hari keempat dan *P. cruentum* pada hari kedua.

Selama melakukan proses kultivasi dilakukan proses pengecekan kondisi lingkungan, hal ini karena faktor lingkungan sangat berperan dalam pertumbuhan mikroalga, faktor-faktor yang diamati antara lain, suhu berada pada kisaran 27-31 °C, pH pada 8-8,6, dan salinitas air laut yang berkisar antara 25-30 ppt.

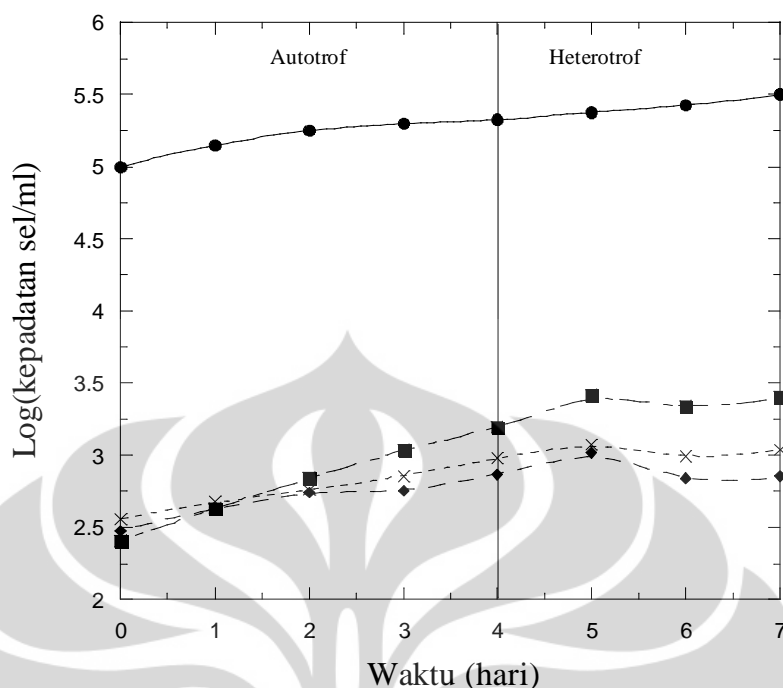
Selama empat hari pertama (kecuali *P.cruentum*) ditumbuhkan atau dikondisikan secara autotrof dengan penyinaran cahaya lampu 2000 lux, kemudian pada hari selanjutnya diperlakukan secara heterotrof, tanpa cahaya matahari dan dengan menambahkan glukosa sebanyak 0,5 g/l pada hari keempat, sedangkan untuk *P.cruentum* penambahan glukosa dilakukan pada hari kedua, karena kepadatan selnya pada waktu itu sudah cukup padat. Hal ini dilakukan

untuk memastikan terjadinya pertumbuhan pada mikroalga yang sedang dikultivasi dan untuk meminimalisir adanya kontaminasi dari bakteri atau mikroorganisme lain karena medium terlebih dahulu didominasi oleh mikroalga yang dikultur.

4.2 Pertumbuhan Mikroalga

Kepadatan sel ini merupakan salah satu parameter pertumbuhan yang dapat digunakan sebagai acuan untuk mengetahui apakah mikroalga tersebut tumbuh atau tidak disamping dengan menggunakan konsentrasi biomass. Pada saat menentukan jumlah sel dibutuhkan sel-sel yang menyebar secara tunggal, dalam beberapa kasus diperlukan sonikasi atau tripinisasi untuk memisahkan sel-sel yang saling beragregasi satu sama lain. Untuk *Spirulina* dan mikroalga yang tergolong dalam kategori cyanobacteria yang berfilamen, kepadatan selnya dihitung dengan menggunakan *Seadwight Rafter Counter* yang memiliki kapasitas preparat sebesar 1 mL.

Sedangkan kepadatan sel mikroalga lainnya dihitung dengan menggunakan *haemocytometer neubaer*, hasil perhitungan kepadatan sel ditampilkan dalam diagram pertumbuhan Log (kepadatan sel/mL) terhadap hari. Diagram pertumbuhan ini ditampilkan dalam bentuk Logaritma karena lebih cenderung untuk menunjukkan kondisi yang lebih representatif (Oh-Hama dan Miyachi, 1992). Untuk spesies *Spirulina platensis*, tren kurva pertumbuhannya dapat dilihat pada Gambar 4.1.



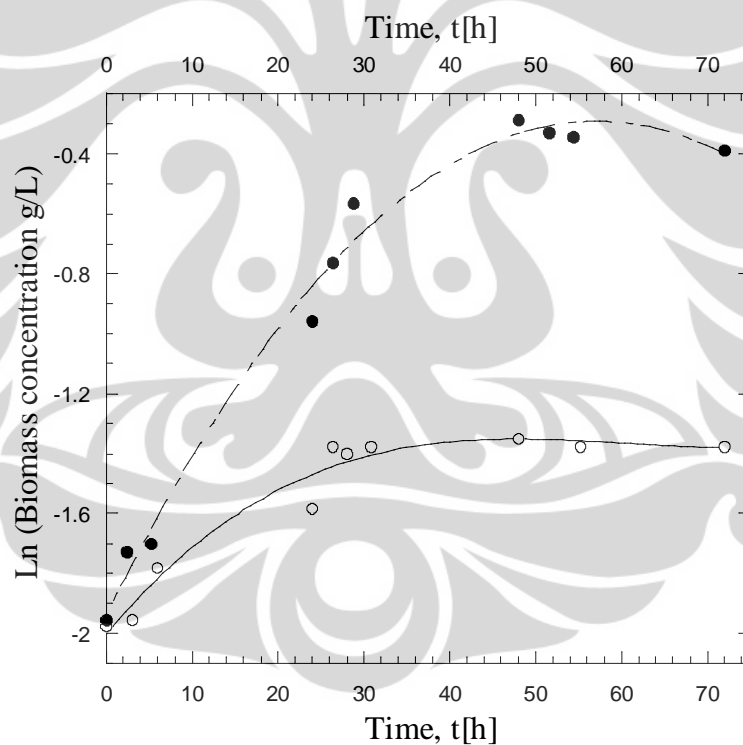
Gambar 4. 1 Pertumbuhan *Spirulina platensis*, dengan glukosa pada hari ke-4 ((■) ulangan 1, (◆) ulangan 2, (x) ulangan 3), masing-masing ulangan berada pada suhu 29 °C, salinitas akhir 35 ppt, dan pH 8,1 (●) Tanpa glukosa (Lestari, 2010)

Pada diagram meskipun dengan kepadatan sel yang berbeda, perbandingan antara perlakuan autotrof (Lestari, 2010) dengan penambahan glukosa (heterotrof) pada kondisi operasi akhir disetiap ulangan yaitu suhu 29 °C, salinitas akhir 35 ppt, dan pH 8,1, dapat dilihat pada tren kurva pada hari keenam dan seterusnya, pada grafik autotrof dapat dilihat bahwa pertumbuhan semakin meningkat meskipun dengan jumlah yang signifikan, sedangkan pada kultivasi yang dilakukan secara berulang tiga kali dengan pemberian glukosa pada hari ke-4, hasil analisis ANOVA satu arah dengan tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha=0,05$) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan diantara ulangan tersebut, dan semuanya menunjukkan penurunan pertumbuhan pada hari keenam dan seterusnya. Hal ini menunjukkan bahwa *S.platensis* memiliki affinitas yang rendah dalam memanfaatkan glukosa sebagai sumber nutrisi (Smith, dkk., 1976), selain itu dengan ketersediaan glukosa dalam medium dapat memancing pertumbuhan kontaminan, yang bersifat predator bagi *S.platensis*, seperti *Amoeba. sp.*, dan lain-lain yang menjadi menghambat dan menurunkan laju pertumbuhan mikroalga ini.

Universitas Indonesia

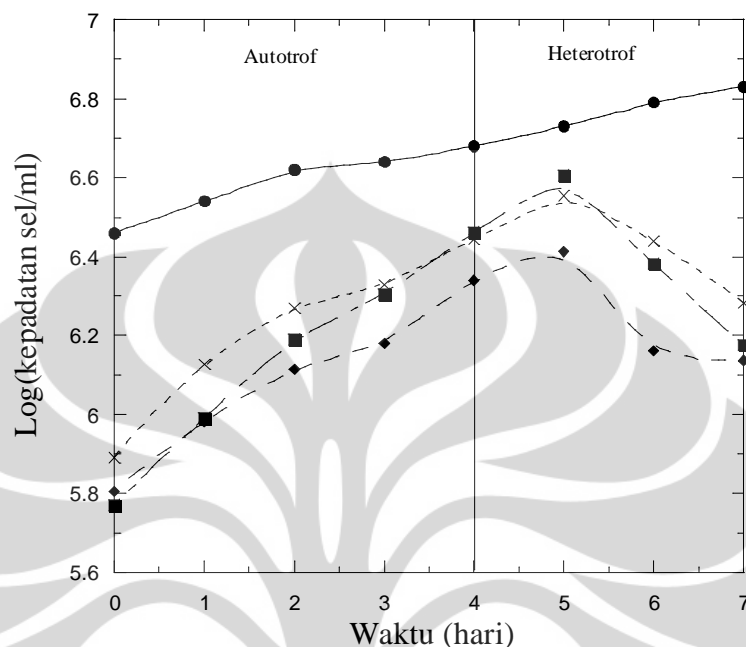
Dalam hasil penelitian yang dilakukan oleh Chojnacka dan Noworyta, (2004) pada *Spirulina sp* yang dikultivasi secara heterotrof dengan perlakuan pemberian glukosa sebanyak 0,1 g/L dan 2,5 g/L. Sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 4.2, bahwa dalam 3 hari proses kultivasi (72 jam), konsentrasi biomasnya terlihat mengalami peningkatan hingga mencapai kondisi stasioner. Kemudian dari hasil tersebut dapat diketahui dengan jumlah konsentrasi glukosa sebesar 2,5 g/L, pertumbuhan yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi glukosa sebesar 0,1 g/L.

Perbedaan hasil tersebut kemungkinan besar diakibatkan oleh kondisi asal spesies pada saat pengisolasian, selain itu tingkat aksenitas pada saat prosedur dilakukan yang bertujuan untuk menghindari kontaminasi dari spesies atau predator lain.



Gambar 4. 2 Pertumbuhan *Spirulina platensis* dalam kondisi (H) heterotrof dengan konsentrasi glukosa yang berbeda (g/L); (○) ($C_{GI} = 0,1$ g/L), (●) ($C_{GI} = 2,5$ g/L) (Chojnacka dan Noworyta, 2004)

Pada spesies *Botryococcus braunii* pola tren kurva pertumbuhannya baik itu dengan kondisi heterotrof (hari ke-4), maupun pada kondisi autotrof (Puspita, 2010) dapat dilihat pada Gambar 4.3. dibawah



Gambar 4. 3 Pertumbuhan *Botryococcus braunii* dengan glukosa pada hari ke-4 ((■) ulangan 1, (◆) ulangan 2, (x) ulangan 3) (●) Tanpa glukosa (Puspita, 2010)

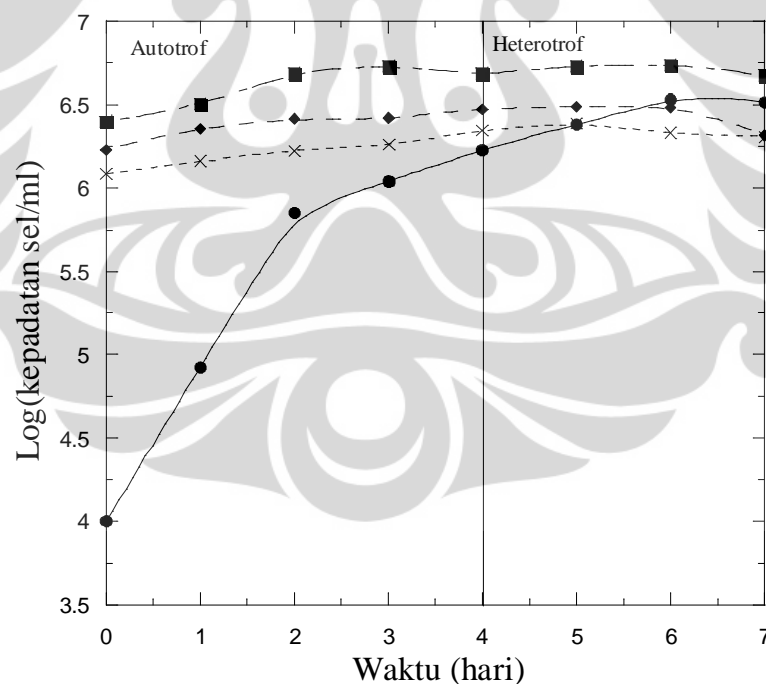
Pada diagram diatas dapat dilihat perbandingan antara dua kondisi penumbuhan. Pada kultur yang hanya diperlakukan secara autotrof (tanpa glukosa) pertumbuhan terus mengalami peningkatan dari sejak awal kultivasi, sedangkan pada kondisi yang diperlakukan secara heterotrof dengan kondisi operasi akhir disetiap ulangan yaitu suhu 29 °C, salinitas akhir 35 ppt, dan pH 8,1, pada hari keempat menunjukkan penurunan pada hari keenam dan ketujuh, sedangkan pertumbuhan yang meningkat pada hari kelima, sebagaimana yang juga terjadi pada spesies *S.platensis*, mengindikasikan masih adanya sisa-sisa pemanfaatan nutrisi secara autotrof pada hari ke-lima. Prosedur dilakukan dalam tiga kali ulangan dan hasil uji ANOVA satu arah dengan tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha=0.05$) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara ulangan-ulangan tersebut. Penurunan yang terjadi secara signifikan pada *B. braunii* menunjukkan bahwa spesies (strain) ini tidak mampu mengasimilasikan glukosa dengan baik yang mungkin dapat disebabkan karena kondisi kultivasi

Universitas Indonesia

pada saat itu tidak optimal untuk mengaktifkan enzim *glucose transporter* dalam sel tersebut.

Selain itu juga, penelitian yang serupa juga dilaporkan oleh Weetall, (1985) bahwa *B.braunii* yang berasal dari *Texas Culture Collection*, tidak dapat tumbuh pada kondisi heterotrof, sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Tanoi, dkk., 2009 di Jepang menunjukkan bahwa spesies *B. braunii* strain B70 mampu mengasimilasikan glukosa dalam medium AF-6, yang ditunjukkan terjadinya penambahan konsentrasi biomassa (mg/L), selama 19 hari kultivasi pada *microplate*. Perbedaan seperti ini umumnya kondisi dan jenis medium pertumbuhan yang sangat mempengaruhi apakah dapat tumbuh secara heterotrof atau pun autotrof, selain itu juga tingkat aksenitas dalam melakukan prosedur.

Pada spesies *Chlorella aureius* pola tren kurva pertumbuhannya baik itu dengan kondisi heterotrof (hari keempat) pada kondisi operasi akhir disetiap ulangan yaitu salinitas akhir 32 ppt, dan pH 8,1, maupun pada kondisi autotrof (Amini, 2004) dapat dilihat pada Gambar 4.4. dibawah

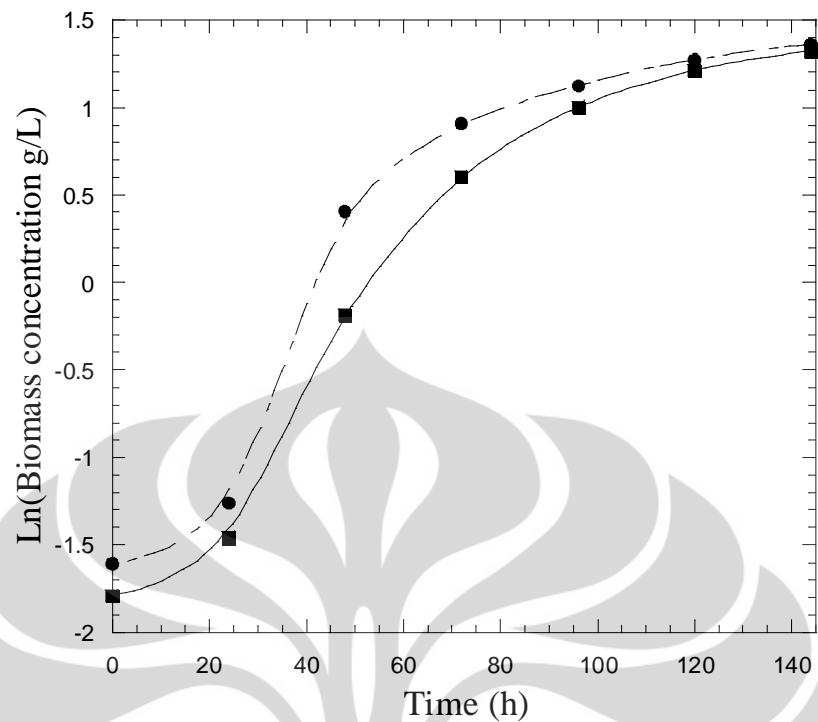


Gambar 4. 4 Pertumbuhan *Chlorella aureius* dengan glukosa pada hari ke-4 ((■) ulangan 1, (◆) ulangan 2, (x) ulangan 3)(●) Tanpa glukosa (Amini, 2004)

Pada diagram diatas terlihat perbandingan antara pola pertumbuhan *C.aureius* yang diberlakukan secara autotrof (Amini, 2004), dengan yang diberlakukan secara heterotrof pada hari ke-4. Pada kondisi autotrof terjadi peningkatan kepadatan sel, hingga pada hari ke-5 sampai hari ke-7, pertumbuhan hampir stagnan. sedangkan pada kondisi heterotrof pada hari ke-4, prosedur dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dan hasil analisis ANOVA satu arah dengan tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha=0.05$) bahwa data dari ulangan tersebut beda nyata satu dengan yang lain. Meskipun demikian, pola yang ditampilkan oleh hasil ulangan tersebut hampir sama yaitu, pola pertumbuhannya pada hari ke-5 sampai hari ke-7 hampir stagnan. Hal ini dapat disimpulkan bahwa *C.aureius* mampu mengasimilasikan glukosa, namun belum optimal. Penelitian yang membahas mengenai spesies ini yang ditumbuhkan secara heterotrof masih sangat sedikit, namun rata-rata penelitian-penelitian yang sudah dilakukan mengatakan bahwa spesies *Chlorella* mampu ditumbuhkan secara heterotrof (Oh-Hama dan S. Miyachi, 1986).

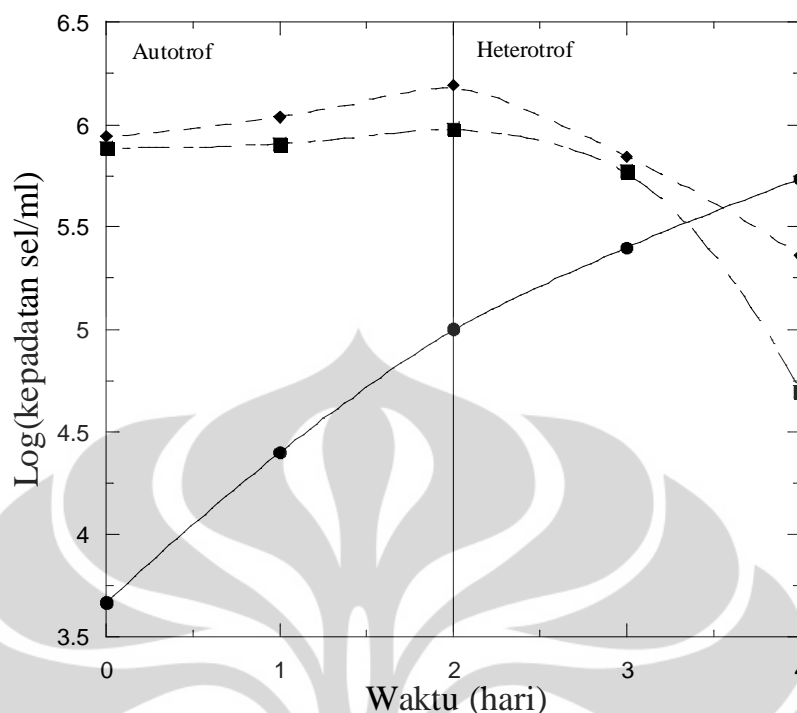
Dalam penelitian yang dilakukan oleh Xu, dkk., (2006) pada spesies *Chlorella protothecoides* yang dikultivasi heterotrof secara aksenik, dengan menggunakan glukosa sebagai sumber karbon dengan konsentrasi 10 g/L, dan tepung jagung yang terhidrolisis (CPH) dengan konsentrasi 5 g/L sebagai sumber karbon pada fermentor dengan kapasitas 5 L dan volume kerja sebesar 3 L dan pada *erlenmeyer flask*, hasil menunjukkan bahwa *C. protothecoides* memiliki kemampuan untuk tumbuh secara heterotrof dengan kandungan lipid kasar sebesar 55,3 % yang dikultivasi selama 6 hari, dan ditunjukkan pada Gambar 4.6 bahwa pertumbuhan dengan menggunakan CPH sebagai sumber karbon lebih baik dibandingkan jika menggunakan glukosa. Hal ini dikarenakan CPH mengandung komponen-komponen lain yang bermanfaat untuk pertumbuhan spesies ini.

Perbedaan hasil tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu perbedaan spesies maupun strain, tingkat aksenitas yang berbeda dan kondisi lingkungan seperti pH dan suhu yang tidak dibahas lebih lanjut dalam literature yang diperoleh.



Gambar 4. 5 Pertumbuhan *Chlorella protothecoides* secara heterotrof dengan menggunakan glukosa 10 g/L (■) dan bubuk jagung terhidrolisis (CPH) 5 g/L (●) (Xu dkk, 2006)

Pada spesies *Porphyridium cruentum* pola tren kurva pertumbuhannya baik itu dengan kondisi heterotrof (hari ke-2) pada kondisi operasi akhir disetiap ulangan yaitu salinitas akhir 30 ppt, dan pH 8,0, dan pada kondisi autotrof (Amini, 2008) dapat dilihat pada Gambar 4.7. dibawah

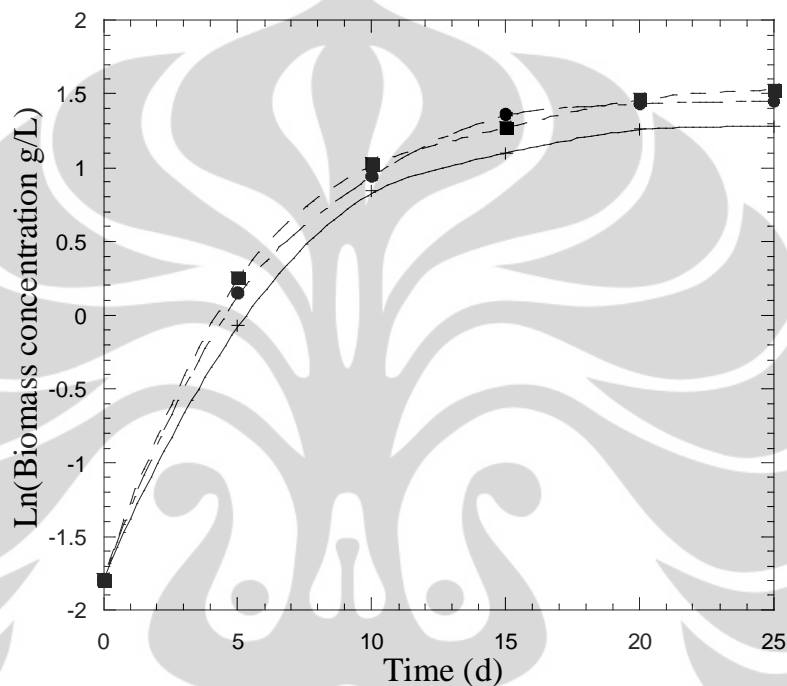


Gambar 4. 6 Pertumbuhan *Porphyridium cruentum* dengan glukosa pada hari-2 ((■) ulangan 1, (◆) ulangan 2), (●) tanpa glukosa (Amini, 2008)

Pada diagram diatas dapat dibandingkan antara pola pertumbuhan yang diperlakukan secara autotrof, dan heterotrof pada hari kedua. Pada kondisi autotrof terlihat bahwa kepadatan sel *P.cruentum* terus bertambah, sedangkan pada kondisi heterotrof pada hari ke-3, pada hari ke-4 jumlah kepadatan selnya menunjukkan penurunan cukup signifikan hasil uji ANOVA terhadap pengulangan yang dilakukan menunjukkan tidak beda nyata pada tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa strain ini tidak memiliki kemampuan untuk mengasimilasikan glukosa sebagai sumber nutrisi.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Oh, dkk., (2009) menunjukkan bahwa strain *P.cruentum* yang berasal dari *Korea Marine Microalgae Culture Center* mampu untuk tumbuh secara heterotrof dengan glukosa sebagai sumber karbon dengan menggunakan medium F/2 didalam air laut yang disaring. Proses kultivasi berlangsung selama 25 hari (Gambar 4.7). Demikian pula penelitian yang dilakukan oleh Vazhappilly dan Chen, 1998 pada strain *P.cruentum* UTEX 161 yang dikultur dalam medium *Porphyridium* selama 10 hari dengan glukosa

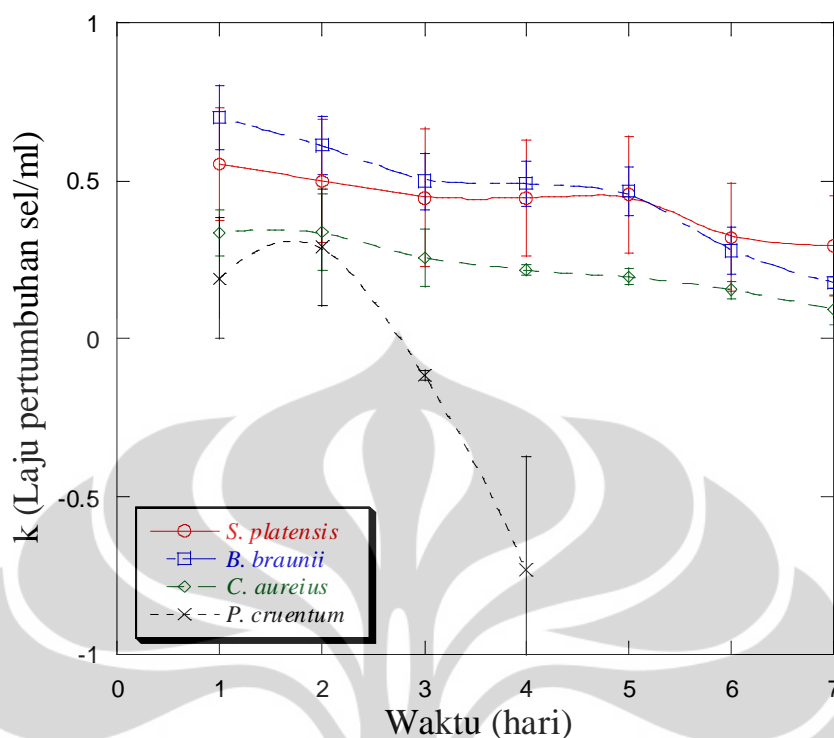
sebagai sumber karbon, dan hasilnya menunjukkan bahwa strain tersebut dapat tumbuh dengan baik dengan konsentrasi biomass akhir sebesar 0,964 g/L. Perbedaan hasil yang sudah dilakukan dengan referensi-referensi yang diperoleh terletak pada strain yang digunakan itu sendiri meskipun spesiesnya sama, selain itu juga kondisi dan jenis medium pertumbuhan sangat mempengaruhi apakah dapat tumbuh secara heterotrof atau pun autotrof.



Gambar 4. 7 Pertumbuhan *Porphyridum cruentum* tanpa menggunakan cahaya, suhu 25°C (+). Suhu 30°C (●). Suhu 35°C (■). (Oh, dkk., 2009)

4.3 Laju Pertumbuhan Mikroalga

Dari data-data pada grafik pertumbuhan spesies mikroalga-spesies mikroalga sebelumnya, dapat diketahui laju pertumbuhannya dengan menggunakan persamaan (3.1) Oh-Hama dan Miyachi, (1992), dan diperoleh grafik laju pertumbuhan perharinya sebagai berikut:



Gambar 4. 8 Diagram laju pertumbuhan mikroalga dengan penambahan glukosa pada hari ke-4 (*P. cruentum* hari ke-2)

Dari grafik tersebut dapat dilihat perbandingan antara strain-strain mikroalga yang diuji, dan dapat diketahui bahwa mikroalga yang paling mampu bertahan dengan kondisi heterotrof adalah *Chlorella aureus*, karena tingkat signifikan penurunan laju pertumbuhannya lebih rendah dari mikroalga yang lain, dan diketahui bahwa mikroalga yang tidak bisa bertahan pada kondisi ini adalah *Porphyridium cruentum*.

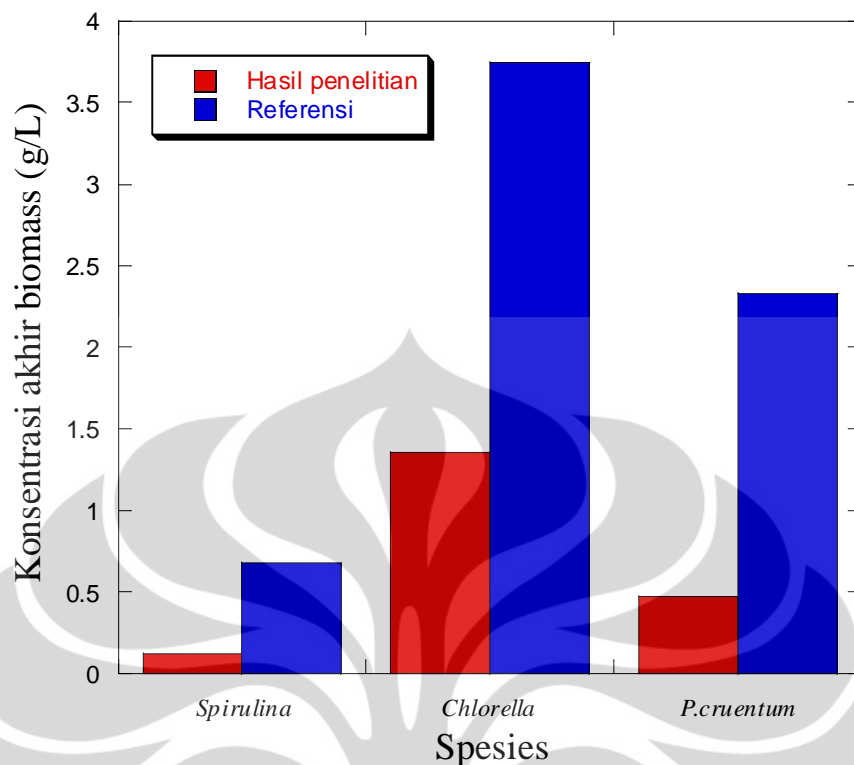
4.4 Pemanenan Mikroalga

Setelah kepadatan sel mikroalga menurun secara signifikan, maka akan dilakukan pemanenan, untuk *B. braunii*, *S. platensis*, *C. aureus* dilakukan pada hari ketujuh, sedangkan pada *P. cruentum* dilakukan pada hari keempat, hal ini karena jumlah sel dalam setiap ml sangat menurun drastis pada saat itu. Masing-masing spesies tersebut dipanen dengan cara yang berbeda, *S. platensis* dipanen dengan cara filtrasi menggunakan dua lapis kain satin sebagai filter, sedangkan *B. braunii*, *P. cruentum*, dan *C. aureus* diflokulasikan terlebih dahulu dengan

menggunakan NaOH dengan kadar 800 ppm (Puspita, 2010) sehingga flokulan-flokulan yang terbentuk akan mengendap, supernatant atau lapisan atas dibuang sedangkan sisanya disaring sebagaimana sebelumnya untuk mengurangi kadar airnya, setelah itu segera dilakukan penetralan dengan menggunakan asam sitrat monohidrat 1 gr/mL aquades hingga pH turun dari 10 hingga menjadi 8, sesuai dengan pH awal penetralan ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui kadar NaOH yang terdapat pada biomass sehingga yield minyak yang sebenarnya dapat diketahui, selain itu juga untuk mereaksikan NaOH yang tersisa untuk membentuk garam, untuk menghindari penurunan kandungan minyak oleh reaksi saponifikasi. Asam sitrat dipilih sebagai zat penetral karena selain zat tersebut aman dan biasa untuk digunakan pada makanan, juga dapat mengikat molekul NaOH lebih banyak dibandingkan dengan HCl maupun asam sulfat. Reaksi penetralan asam sitrat dapat dilihat sebagai berikut.



Presipitat dan hasil penetralan yang telah diperoleh dikeringkan dulu di oven pada suhu 80 °C untuk mendapatkan biomassa kering. Jumlah konsentrasi akhir biomass yang diperoleh pada spesies *S.platensis*, *B.braunii*, *C.aureius*, dan *P.cruentum* berturut-turut sebesar 0,120, 0,900, 1,360, dan 0,474 (g/L). Jumlah biomassa yang diperoleh dalam penelitian ini lebih kecil dari beberapa referensi yang sudah ada, Chojnacka and Noworyta, 2003 melakukan penelitian pada *Spirulina* yang dikultivasi secara heterotrof dan diperoleh konsentrasi biomassa akhir sebesar 0,679 g/L, Xu, dkk., (2006) melakukan penelitian pada *Chlorella protothecoides* yang dikultivasi secara heterotrof dan mendapatkan konsentrasi akhir biomass sebesar 3,750 g/L, sedangkan Oh, dkk., (2010) melakukan penelitian pada *P.cruentum* yang dikultivasi secara heterotrof dan diperoleh besar konsentrasi biomassa akhir sebesar 2,330 g/L, sedangkan untuk spesies *B. braunii* belum ada referensi lain yang melaporkan jumlah konsentrasi yang diperoleh saat dikultivasi secara heterotrof. Hasil perbandingan biomass yang diperoleh dengan beberapa referensi dapat dilihat pada Gambar 4.10.



Gambar 4. 9 Perbandingan konsentrasi akhir rata-rata biomassa (g/L) dari hasil penelitian dengan referensi yang ada *Spirulina* (Chojnacka and Noworyta, 2003) *Chlorella* (Xu dkk, 2006) *P. curentum* (Oh, dkk., 2010)



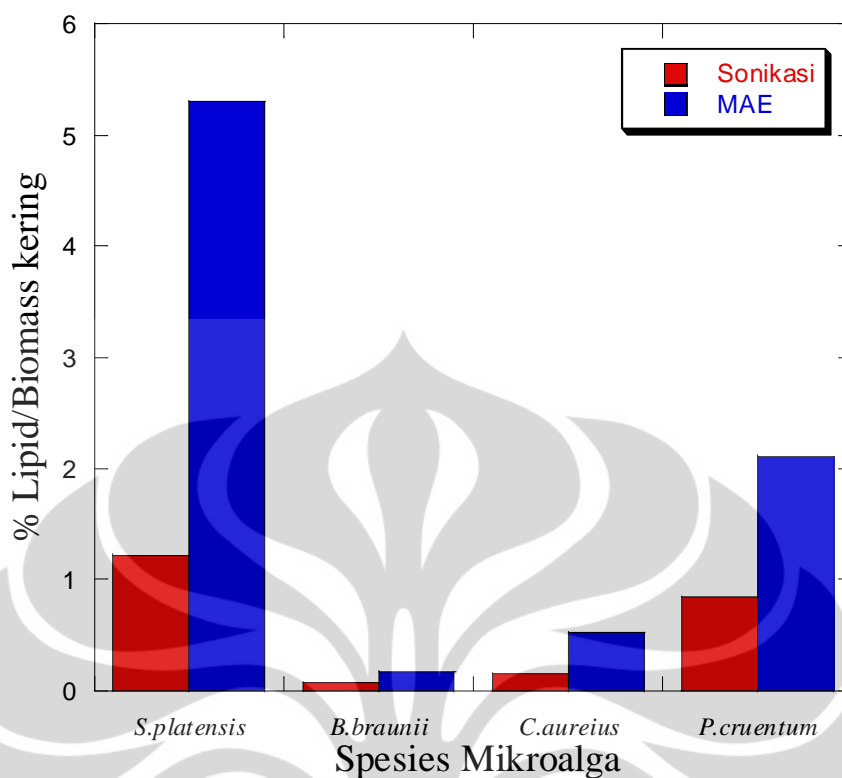
Gambar 4. 10 Biomassa kering mikroalga yang diperoleh setelah kultivasi

Pada grafik diatas dapat dilihat bahwa jumlah konsentrasi akhir biomassa yang diperoleh lebih kecil dibandingkan dengan beberapa literatur yang diperoleh, hal ini dapat disebabkan karena faktor pertumbuhan yang menunjukkan penurunan jumlah pertumbuhan. Faktor tersebut yaitu ketidakmampuan dalam menggunakan glukosa sebagai sumber karbon karena kondisi lingkungan dan medium yang tidak sesuai, dan munculnya kontaminasi oleh mikroorganismelain yang bersifat predator bagi mikroalga.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Wen dan Chen, (2000) pada spesies *Nitzschia laevis* yang dikultivasi secara heterotrof dengan menjadikan silikat dan glukosa sebagai parameter, hasil menunjukkan bahwa konsentrasi sel kering (biomass kering) tertinggi yaitu sebesar 5,5 g/L medium, dihasilkan dengan menggunakan glukosa dengan konsentrasi 20 g/L dan silikat sebesar 32 mg/L pada medium pertumbuhan. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Liang, dkk., (2009) terhadap spesies *Chlorella vulgaris* strain 259 yang dikultivasi secara autotrof, heterotrof maupun mixotrof, dengan menggunakan glukosa dan gliserol sebagai sumber karbon, hasil menunjukkan bahwa glukosa merupakan sumber karbon yang paling sesuai dengan konsentrasi 1% untuk menghasilkan pertumbuhan optimal pada kondisi heterotrof dibandingkan dengan kondisi yang lain dengan konsentrasi biomassa sebesar 2 g/L. Kemampuan mikroalga-mikroalga tersebut untuk tumbuh dalam kondisi heterotrof dengan glukosa sebagai sumber karbon menunjukkan bahwa mikroalga tersebut memiliki *Hexose/H⁺ symport system* untuk mengasimilasikan glukosa (Garcia, dkk., 2011)

4.5 Ekstraksi Minyak Mikroalga

Biomass basah dan kering mikroalga diekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan n-hexana, dengan cara yang berbeda-beda, yaitu dibantu dengan proses sonikasi menggunakan sonikator *Branson 3510* selama 45 menit, pada frekuensi 33 kHz, dengan solven n-hexane dengan jumlah 2 ml/ gr sample, dan treatment gelombang mikro pada suhu tinggi dengan menggunakan microwave selama 5 menit dengan menggunakan solven n-hexane 2 ml/gr sampel menggunakan *microwave* Panasonic yang sudah dimodifikasi dengan suhu 75 °C, 2450 MHz. Data-data dapat dilihat pada grafik dibawah



Gambar 4. 11 Persentase rata-rata minyak yang terkandung dalam biomassa kering (%w/w) melalui metode sonikasi (33 kHz, suhu 50 °C, 45 menit) dan MAE (2450 MHz, suhu 75 °C, 5 menit)



Gambar 4. 12 Lipid yang masih diperoleh dari proses ekstraksi

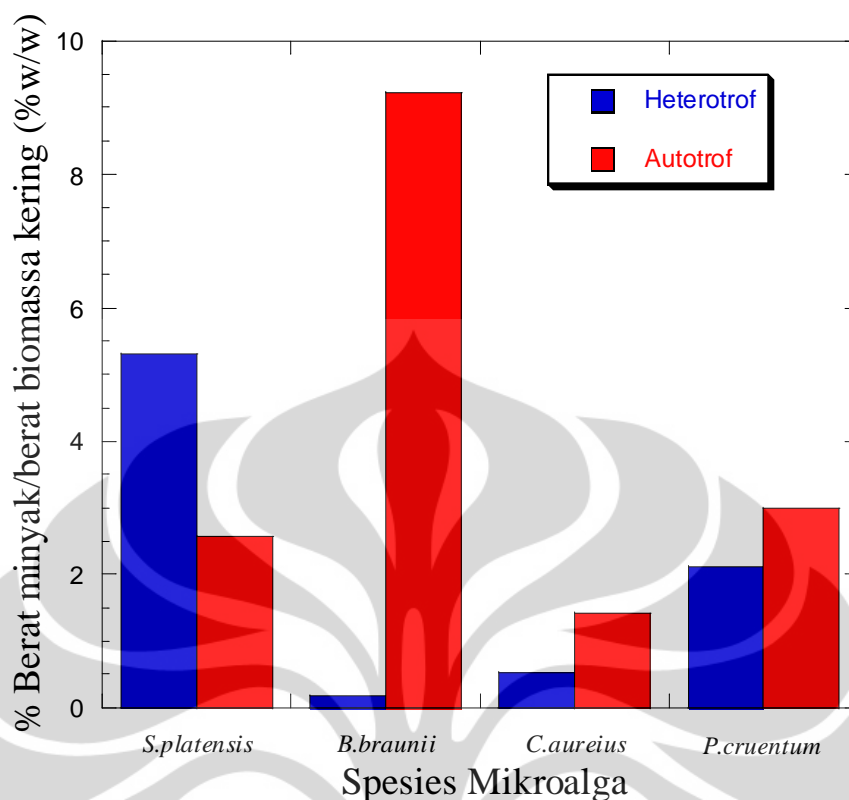
Dari hasil uji ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95 % jumlah konversi minyak diatas dengan menggunakan dua metode ekstraksi yang berbeda tidak menunjukkan perbedaan nyata. Dengan prosedur yang lebih ringkas dan waktu yang lebih cepat maka dengan menggunakan metode MAE lebih disukai dengan Sonikasi.

Pada penelitian yang dilakukan Oh, dkk., (2009) terhadap *P. cruentum* yang dikultivasi secara heterotrof dengan glukosa (10 g/L) sebagai sumber karbon dan periode kultivasi selama 25 hari kultivasi, dengan ekstraksi menggunakan solven

CHCl_3 :Metanol dengan perbandingan volume 2:1 dan rasio solven terhadap bubuk kering biomass sebesar 20:1 (v/v) diperoleh lipid dengan *yield* sebesar 10,9 % berat kering biomassa. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Xu, dkk., (2006) pada spesies *Chlorella protothecoides* yang dikultivasi secara heterotrof dengan glukosa (10 g/L) sebagai sumber karbon dan periode kultivasi selama 6 hari, dengan ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana diperoleh lipid kasar dengan *yield* sebesar 55,2 % biomassa kering.

Lipid yang diperoleh dalam penelitian ini jauh lebih kecil dibandingkan dengan yang dilaporkan dalam referensi tersebut, hal ini dapat disebabkan oleh umur kultivasi dan metode ekstraksi yang menggunakan solven dalam jumlah banyak atau kondisi proses yang tidak disebutkan oleh investigator melainkan hanya menyebutkan pelarut yang digunakan saja. Sedangkan dalam penelitian yang telah dilakukan pelarut yang digunakan ialah n-heksana dengan perbandingan rasio 2:1 (v/v) dengan metode sonikasi dan MAE yang mana kondisinya telah dijelaskan diatas.

Perbandingan persentase lipid per biomassa kering yang diperoleh dengan kultivasi yang dimodifikasi secara heterotrof dengan kondisi autotrof dan heterotrof dari beberapa referensi dapat dilihat pada Gambar 4.12.



Gambar 4. 13 Perbandingan persentase kandungan minyak mikroalga yang dikondisikan secara heterotrof (Merah) dengan kondisi autotrof (Biru) (*S.platensis* auto (Amini, 2009), *B.braunii* auto (Puspita, 2010), *C.aureius* auto (Amini, Unpublished), *P.cruentum* auto (Amini, 2009))

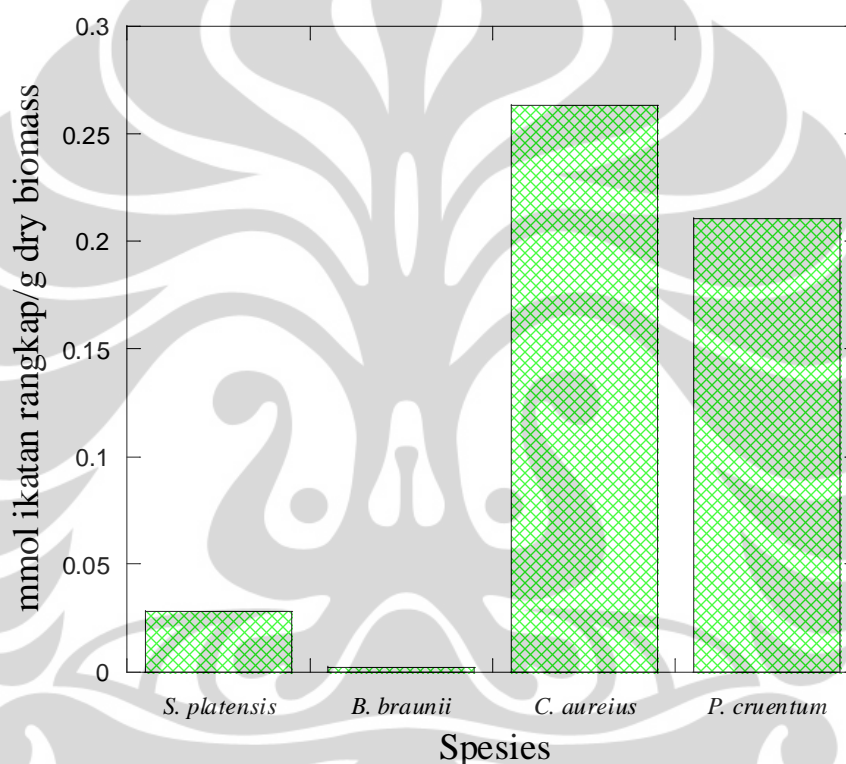
Dari gambar diatas diketahui bahwa kandungan lipid *S.platensis* dimodifikasi secara heterotrof memiliki persentasi lipid sebesar 5,297 % lebih tinggi dibandingkan dengan yang dikultivasi secara autotrof yaitu sebesar 2,570 %, kecil kemungkinan jika keberadaan glukosa yang menaikkan tingkat kandungan lipid, karena pertumbuhan mikroalga ini menurun, metode ekstraksi yang digunakan yang mempengaruhi jumlah lipid yang diperoleh, kultivasi secara heterotrof diekstrak dengan MAE sedangkan pada kondisi autotrof menggunakan maserasi biasa. Kandungan lipid dari *B.braunii* yang dimodifikasi secara heterotrof sebesar 0,173 % jauh lebih kecil dibandingkan dengan yang kultivasi autotrof yakni sebesar 9,230 %. Kandungan lipid dari *C.aureius* yang dimodifikasi secara heterotrof sebesar 0,528 % lebih kecil dibandingkan dengan kondisi autotrof sebesar 1,420 %. Kandungan lipid dari *P.cruentum* yang dimodifikasi secara heterotrof sebesar 2,116 % lebih kecil dari autotrof sebesar 3,000 %.

Universitas Indonesia

lipid yang diakumulasikan oleh mikroalga *B.braunii*, *C.aureius*, dan *P.cruentum* kecil disebabkan karena pertumbuhan yang menurun karena kondisi heterotrof.

4.6 Analisis bilangan iodine minyak mikroalga

Hasil analisis menunjukkan bahwa minyak yang terkandung dalam biomass *C. aureius* memiliki serapan jumlah iodin tertinggi yaitu sebanyak, kemudian serapan jumlah iodin terendah terdapat pada minyak yang terkandung dalam biomassa *B. braunii*.



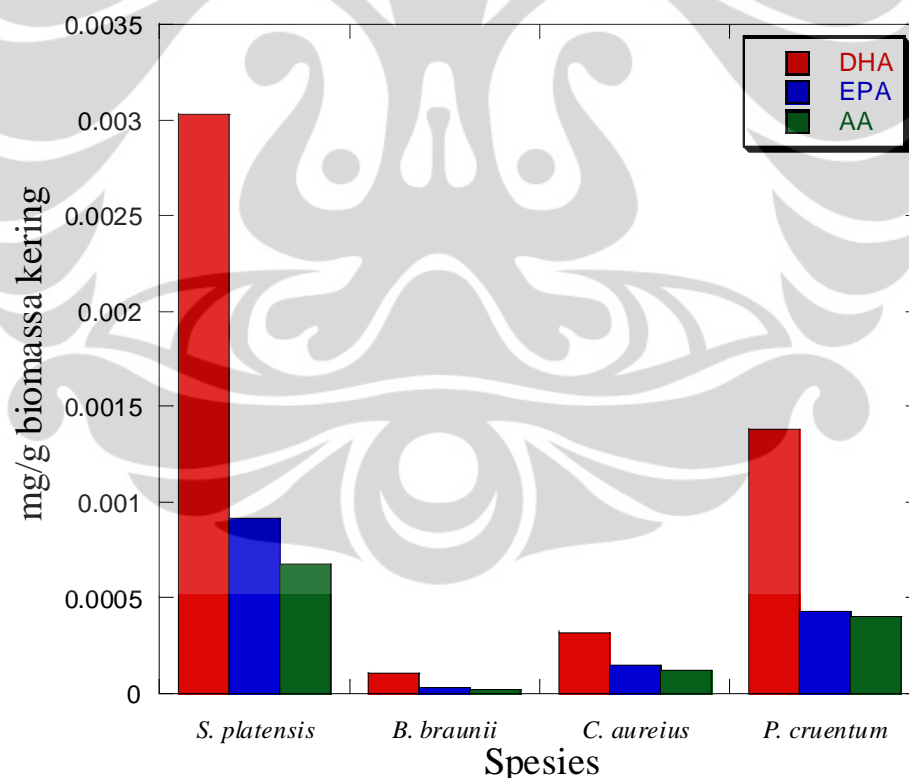
Gambar 4. 14 Hasil jumlah kandungan mol ikatan rangkap pada minyak mikroalga yang diperoleh dari hasil analisis bilangan iodin

Pada gambar diatas dapat diketahui bahwa tingkat ketidakjenuhan atau banyaknya ikatan rangkap total dari tinggi ke rendah yang ditunjukkan oleh jumlah serapan iodin dari tinggi ke rendah berturut-turut ialah *C.aureius*, *P.cruentum*, *S.platensis*, dan *B.braunii*, yaitu sebesar 0,263, 0,028, 0,211, dan 0,002 mmo; ikatan rangkap (C=C)/ g dry biomass. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan *unsaturated fatty acid* yang tertinggi dimiliki oleh *C.aureius*, sedangkan yang

terendah ditunjukkan oleh spesies *B.braunii*. Sebagaimana yang ditunjukkan oleh beberapa literatur bahwa spesies *B.braunii* merupakan mikroalga sumber penghasil hidrokarbon (Fang, dkk., 2004, Guschina dan Harwood, 2006)

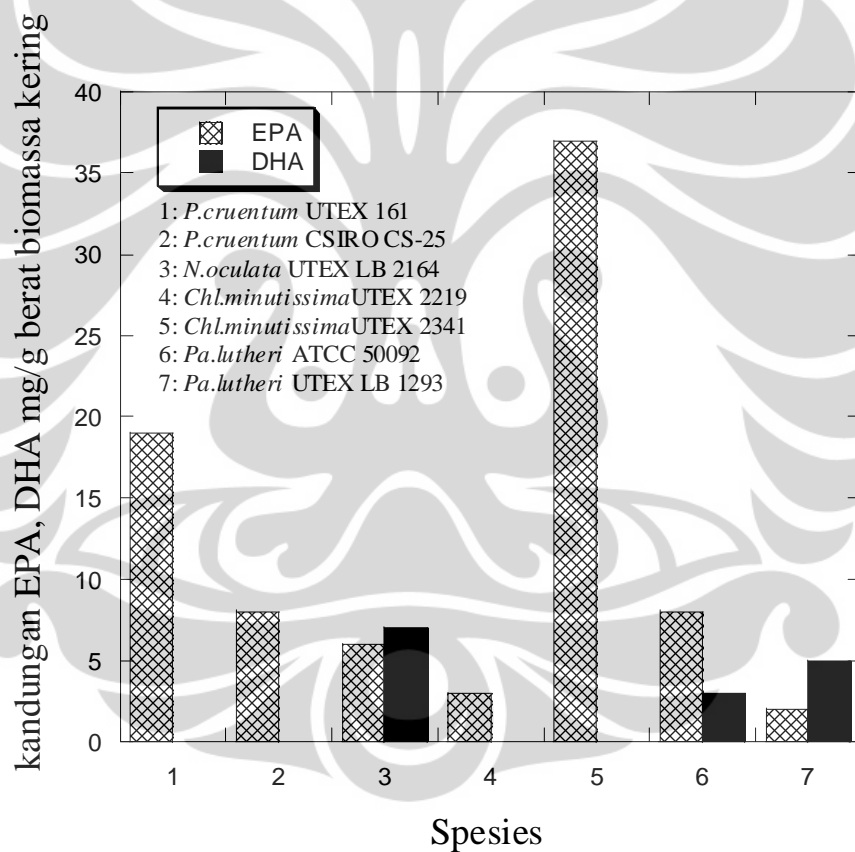
4.7 Analisis GC Minyak Mikroalga

Hasil analisis GC minyaknya menunjukkan bahwa minyak yang terkandung dalam biomassa *S.platensis* memiliki kandungan kumulatif dari DHA, EPA, dan AA yang tertinggi, yang mempunyai DHA sebesar 0,003 mg/g *dry biomass*, sedangkan kandungan kumulatif tertinggi kedua terdapat pada spesies *P.cruentum* yang memiliki DHA tertinggi yaitu sebesar 0,001 mg/g *dry biomass*. Sedangkan tingkat kumulatif yang terendah terdapat pada spesies *B.braunii* yang memiliki kandungan DHA, EPA, dan AA berturut-turut sebesar $1,033 \cdot 10^{-4}$; $3,22818 \cdot 10^{-5}$; dan $2,157 \cdot 10^{-5}$ (mg/g *dry biomass*). Ringkasan perbandingannya dapat dilihat pada Gambar 4.13.



Gambar 4. 15 Perbandingan kandungan DHA, EPA, dan AA di dalam minyak kasar mikroalga *S.platensis*, *B.braunii*, *C.aureius*, dan *P.cruentum*

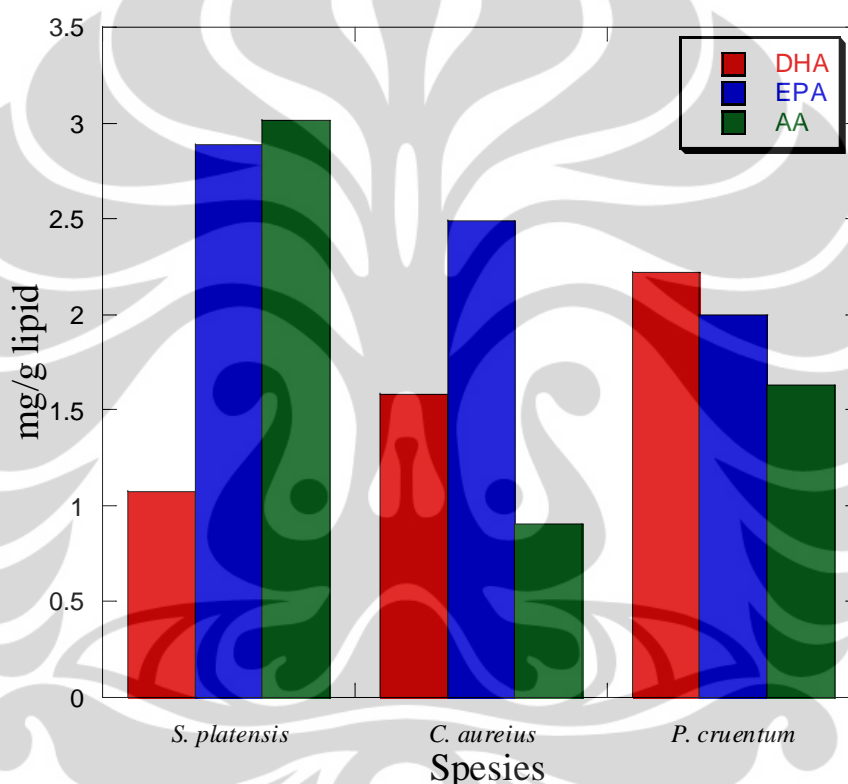
Pada penelitian yang dilakukan oleh Vazhappilly dan Chen, (1998) terhadap beberapa koleksi strain mikroalga yang dikultivasi dengan kondisi heterotrof dengan menggunakan glukosa dengan konsentrasi 5 g/L sebagai sumber karbon diantaranya yaitu *Por. cruentum* UTEX 161, *Por. purpureum* CSIRO CS-25, *N. oculata* UTEX LB 2164, *Chl. minutissima* UTEX 2219, *Chl. minutissima* UTEX 2341, *Pa. lutheri* ATCC 50092 dan *Pa. lutheri* UTEX LB 1293 mampu untuk tumbuh dalam kondisi heterotrof. Spesies tersebut memiliki jumlah EPA dalam kondisi fotoautotrof berturut-turut sebesar 19, 8, 6, 3, 37, 8 dan 2 mg/g berat *dry biomass*. Sedangkan jumlah DHA berturut-turut sebesar 0,0, 0,0, 7, 0,0, 0,0, 3 dan 5 mg/g berat *dry biomass*. Sebagaimana yang dapat dilihat pada Gambar 4. 16.



Gambar 4. 16 Jumlah kandungan EPA dan DHA terhadap biomassa dari beberapa mikroalga yang dikultivasi dalam kondisi fotoautotrof (Vazhappilly dan Chen, 1998)

Pada spesies *B.braunii* yang dikultivasi secara termodifikasi heterotrof memiliki kandungan DHA, EPA, dan AA sebesar $1,033 \cdot 10^{-4}$, $3,228 \cdot 10^{-5}$, dan

$2,157 \cdot 10^{-5}$ (mg/g *dry biomass*) mg/g minyak, namun pada kondisi autotrof dari beberapa literatur tidak ditemukan kandungan omega tiga dan enam khususnya DHA, EPA, dan AA dalam lipidnya. Spesies ini akan mengakumulasi lipid yang mempunyai asam lemak palmitat (19,5 % berat lemak), oleat (22,92 % berat lemak), linoleat (11,77 % berat lemak), dan linoleat (55,41 % berat lemak) (Fang, dkk., 2004), selain spesies ini juga mengakumulasi lemak hidrokarbon dan eter, yang diklasifikasikan sebagai (1) n-alkadiena, dan triena (2) triterpenoid botryococcena (3) tetreterpenoid, lycopadiena (Guschina dan Harwood, 2006).



Gambar 4. 17 Perbandingan kandungan DHA, EPA, dan AA dalam minyak kasar mikroalga yang dikultivasi dengan kondisi autotrof sepenuhnya (Amini, 2005)

Jumlah DHA, EPA, dan AA yang diperoleh dari spesies *S.platensis*, *C.aureius*, dan *P.cruentum* yang dikultivasi secara termodifikasi heterotrof jauh lebih kecil dibandingkan dengan kultivasi pada kondisi autotrof, sebagaimana yang dapat dilihat pada Gambar 4. 17. Kandungan DHA, EPA, dan AA pada spesies *S.platensis* secara berturut-turut sebesar 1,080, 2,890, 3,015 mg/g minyak,

sedangkan pada spesies *C.aureius* 1,585, 2,493, 0,905 mg/g minyak, dan pada spesies *P.cruentum* 2,218, 2,001, 1,628 mg/g minyak (Amini, 2005).

Kecilnya kandungan yang EPA, DHA, dan AA yang dihasilkan pada penelitian ini disebabkan karena pengaruh kondisi kultur, seperti suhu dan aerasi. Sensitivitas ekstrim komposisi asam lemak tak jenuh terhadap suhu, untuk menjaga fluiditas membrane sel, telah dilaporkan oleh beberapa penelitian (Vazhappilly dan Chen, 1998). Asam lemak tak jenuh berubah berdasarkan suhu tergantung jumlah oksigen yang terlarut didalam kultur dan juga tergantung terhadap ketersediaan oksigen molekular intraselular.

Selain itu, pada kondisi heterotrof asam lemak jenuh lebih cenderung terbentuk dibandingkan dengan PUFA, namun pada beberapa mikroalga, seperti *Tetraselmis spp*, *N.laevis*, dan *N. alba*, mampu menghasilkan PUFA dengan konsentrasi yang lebih tinggi pada kondisi heterotrof (Perez-Garcia, dkk., 2011), dan produktivitas PUFA omega tiga dari mikroalga dalam sistem fermentasi (heterotrof) lebih tinggi hingga dua kalilipat dari pada yang dihasilkan oleh kapang atau bakteri (Barclay, dkk., 1994).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Saat ditambahkan glukosa 0,5 g/L kedalam medium kultivasi pada mikroalga *S.platensis* mengalami penurunan dari log kepadatan sel 3,2 sel/ml menjadi 3,16 sel/ml, mikroalga *B.braunii* mengalami penurunan dari log kepadatan sel 6,42 sel/ml menjadi 6,20 sel/ml, mikroalga *C.aureius* mengalami penurunan dari log kepadatan sel 6,52 sel/ml menjadi 6,47 sel/ml, dan mikroalga *P.cruentum* mengalami penurunan dari log kepadatan sel 6,10 sel/ml menjadi 5,15 sel/ml.
2. Ekstraksi dengan menggunakan MAE lebih optimal dibandingkan dengan sonikasi, *yield* lipid yang dihasilkan dengan menggunakan metode ekstraksi MAE untuk spesies atau strain *S.platensis*, *B.braunii*, *P.cruentum*, dan *C.aureius* berturut-turut ialah 5,297, 0,173, 2,116 dan 0,528 % lipid/biomass kering, sedangkan *yield* lipid yang dihasilkan dengan menggunakan metode sonikasi untuk spesies *S.platensis*, *B.braunii*, *P.cruentum*, dan *C.aureius* ialah 1,219, 0,076, 0,151 dan 0,838 % lipid/biomass kering.
3. Jumlah mol ikatan rangkap pada minyak mikroalga spesies atau strain *S.platensis*, *B.braunii*, *P.cruentum*, dan *C.aureius* berturut-turut ialah 0,263, 0,028, 0,211 dan 0,002 mmol / g *dry biomass*.
4. Kandungan DHA, EPA dan AA dari *S.platensis* berturut-turut ialah 0,003, 0,915 $\cdot 10^{-3}$ dan 0,682 $\cdot 10^{-3}$ mg/g *dry biomass*. Kandungan DHA,EPA dan AA dari *B.braunii* berturut-turut ialah 0,103 $\cdot 10^{-3}$, 3,228 $\cdot 10^{-5}$; dan 2,157 $\cdot 10^{-5}$ mg/g *dry biomass*. Kandungan DHA,EPA dan AA dari *C. aureius* berturut-turut ialah 0,323 $\cdot 10^{-3}$, 0,152 $\cdot 10^{-3}$ dan 0,120 $\cdot 10^{-3}$ mg/g *dry biomass*. Kandungan DHA, EPA dan AA dari *P.cruentum* berturut-turut ialah 1,380 $\cdot 10^{-3}$, 0,430 $\cdot 10^{-3}$ dan 0,401 $\cdot 10^{-3}$ mg/g *dry biomass*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan pengecekan kemampuan untuk ditumbuhkan pada kondisi heterotrof dari tahap isolasi pada media agar.



DAFTAR PUSTAKA

- Alabi., A., dkk. 2009. *Microalgae Technologies & Process For Biofuels/Bioenergy Production In British Columbia*. Current Technology, Suitability & Barriers to Implementation. T. B. C. I. Council. Canada, Seed Science.Ltd.
- A. J. Dijkstra, W. W. C. dan G. Knothe. 2007. *The Lipid Handbook*. Analysis. F. D. Gunstone, J. L. Harwood and A. J. Dijkstra. Boca Raton London, New York. CRC Press.
- Amini, S. 2004. *Pengaruh Umur Ganggang Halus Laut Jenis Chlorella sp. Dan Dunaliella sp. Terhadap Pigmen Klorofil Dan Karotenoid Sebagai Bahan Baku Makanan Kesehatan*. Seminar Nasional Perikanan Indonesia 2004.
- Amini, S. 2005. *Skrining Mikroalga Penghasil Kandungan Asam Lemak Omega-3*. Seminar Nasional Perikanan Indonesia 2005.
- Amini, S. 2008. *Pertumbuhan Dan Kandungan Biokimia Mikroalga*. Seminar Nasional Perikanan Indonesia 2008.
- Amini, S. 2010. *Pengaruh Umur Pertumbuhan Pada Kandungan Minyak Nabati Mikroalga Porphyridium cruentum*. Semnaskan UGM, 2010.
- Amini, S. dan R. Susilowati 2010. *Produksi Biodiesel dari Mikroalga Botrococcus braunii*. Squalen Vol 5:23-32.
- Anonim. Polyunsaturated fatty acids. http://en.wikipedia.org/polyunsaturated_fatty_acids.html. Diakses tanggal 2 Agustus 2011
- Anonim. Omega 3. http://en.wikipedia.org/Omega-3_fatty_acid.html. Diakses tanggal 2 Agustus 2011
- Anonim. Omega 6. http://en.wikipedia.org/Omega-6_fatty_acid.html. Diakses tanggal 2 Agustus 2011
- Anonim. DHA. http://en.wikipedia.org/Docosahexaenoic_acid.html. Diakses tanggal 2 Agustus 2011
- Anonim. EPA. http://en.wikipedia.org/Eicosapentaenoic_acid.html. Diakses tanggal 2 Agustus 2011
- Anonim. AA. http://en.wikipedia.org/Arachidonic_acid.html. Diakses tanggal 2 Agustus 2011

- Anonim. Birth Mortality. [http:// www.who.int/maternal_child_adolescent/document/childmortality_booklet_2011.pdf](http://www.who.int/maternal_child_adolescent/document/childmortality_booklet_2011.pdf). Diakses tanggal 4 Juni 2012
- Anonim. Daily requirement of omega 3,6. [http:// www.livestrong.com/ How Much Omega-3, -6 & -9 Do You Need Daily.html](http://www.livestrong.com/HowMuchOmega-3,-6&-9DoYouNeedDaily.html). Diakses tanggal 4 Juni 201
- AOAC.1995. *Official methods of analysis of the association of official analytical chemist*. Vol. IIA. AOAC International, Washington: 28.057.
- Apriantono, A. 1989. *Analisis Pangan*. P.T Penerbit IPB Press.
- Barclay, W.R., dkk. 1994. *Heterotrophic production of long chain omega-3 fatty acids utilizing algae and algae-like microorganisms*. J. Appl. Phycol. 6, 123e129.
- Bligh, E. G. dan W. J. Dyer. 1959. *A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification*. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37(The National Research Council of Canada): 912-917.
- Certik, M. dan S. Shimizu. 1999. *Biosynthesis and Regulation of Microbial Polyunsaturated Fatty Acid Production*. Journal of Bioscience and Bioengineering 87: 1-14.
- Chojnacka, K. dan A. Noworyta. 2004. *Evaluation of Spirulina sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures*. Enzyme and Microbial Technology 34: 461-465.
- Fang, J.-Y., dkk. 2004. *Fatty acids in Botryococcus braunii accelerate topical delivery of flurbiprofen into and across skin*. International Journal of Pharmaceutics 276: 163-173.
- Graham, L. E. dan Wilcox L. W. 2000. *Algae*. Prentice-Hall, USA p: 78-79.
- Grima, E. M., dkk. 2004. *Downstream Processing of Cell-mass and Products*. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. A. Richmod. UK, Blackwell Publishing Ltd.
- Grobbelar, J. U. 2004. *Algal Nutrition mineral nutrition*. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology. A. Richmond. UK, Blackwell Publishing Company.
- Guedes, A. C., dkk. 2011. *Fatty acid composition of several wild microalgae and cyanobacteria, with a focus on eicosapentaenoic, docosahexaenoic and α -*

- linolenic acids for eventual dietary uses*. Food Research International xxx: xxx-xxx.
- Guil-Guerrero, dkk. 2001. *Eicosapentaenoic and arachidonic acids purification from the red microalga Porphyridium cruentum*. Bioseparation 9: 299–306.
- Guschina, I. A. dan J. L. Harwood. 2006. *Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae*. Progress in Lipid Research 45: 160–186.
- Isnansteyo, A. dan Kurniastuty 1995. *Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton*. Kanisius, Yogyakarta.
- Komarek, J. dan M. P. 1992. *Morphological differences in natural populations of the genus Botryococcus (Chlorophyceae)*. Arch Protistenk 141: 65-100.
- Lee, Y.-K. 2004. *Algal Nutrition Heterotrophic Carbon Nutrition*. Handbook of microalgal culture. A. Richmond. UK, Blackwell Science Ltd.
- Lee, J.-Y, dkk. 2009. *Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae*. Bioresource Technology 101: S75–S77.
- Lestari, S. D. 2010. *Kultivasi Dan Ekstraksi Minyak Nabati Dari Mikroalga Laut Jenis Nannochloropsis sp, Dan Spirulina platensis Dengan Metode Pengepresan Dan Bligh-Dyer*. Jakarta, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Liang, Y., N, dkk. 2009. *Biomass and lipid productivities of Chlorella vulgaris under autotrophic, heterotrphic and mixotrophic growth condition*. Biotechnol Lett 31: 1043-1049.
- Libkind, D., dkk. 2008. *Fatty acid composition of cold-adapted carotenogenic basidiomycetous yeasts*. Revista Argentina de Microbiología 40: 193-197.
- Oh-Hama, T. dan S. Miyachi. 1992. *Chlorella*. M. A. Borowitzka and L. J. Borowitzka, Cambridge Univ. Press. 25.p.
- Oh, S. H., dkk. 2009. *Lipid production in Porphyridium cruentum grown under different culture conditions*. Bioscience and Bioengineering 108: 429–434.
- Park, D. W., dkk. 2002. *Sterol composition of dark-grown Isochrysis galbana and its implication in the seed production of Pacific oyster, Crassostrea gigas*. Journal of Applied Phycology 14: 351–355.

- Perez-Garcia, dkk. 2011. Review : *Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products*. Water Research 45: 11-36.
- Puspita, T. 2010. *Kultivasi Dan Ekstraksi Minyak Nabati Mikroalga Laut Jenis Tetraselmis sp, Dan Botryococcus braunii Menggunakan Pelarut Yang Berbeda*. Jakarta, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Ratledge, C. dan C. Evans. 1989. *Lipids and their metabolism*. In: Rose AH, Harrison JS (eds) *The yeasts*, 2nd ed. Academic Press. London. pp: 367-455.
- Ratledge, C. 2004. *Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production*. Biochimie 86: 807-815.
- Riastuti, dkk. 2010. *Optimasi Proses Ekstraksi untuk Produksi Antioksidan Alami dari Daun Sempur Air (Dillenia indica)*. Depok, Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Schlechtriem, dkk. 2006. *Effect of Temperature on the Fatty Acid Composition and Temporal Trajectories of Fatty Acids in Fasting Daphnia pulex (Crustacea, Cladocera)*. 41: 397-400.
- Smith, dkk. 1976. *Biochemical basis of obligate autotrophy in blue-green algae and thiobacilli*. J. Bacteriol 94: 972-983.
- Spolaore, P., dkk. 2006. *Commercial Applications of microalgae*. Journal of Bioscience and Bioengineering 101: 87-96.
- Susilowati, R. dan S. Amini. 2009. *Optimalisasi Media Kultivasi Mikroalga Botryococcus braunii Dalam Salinitas Yang Berbeda*. Seminar Nasional Tahunan VI Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan.
- Swaaf. 2003. *Docosahexaenoic acid production by the marine alga Cryptocodinium cohnii*. Technische Universiteit Delft. Rotterdam, Delft University. Doctor: 135.
- Swaaf, dkk. 1999. *Optimisation of docosahexaenoic acid production in batch cultivations of Cryptocodinium cohnii*. Journal of Biotechnology 70: 185-192.
- Swaaf, dkk. 2003. *High-cell-density fed-batch cultivation of the docosahexaenoic acid producing marine alga Cryptocodinium cohnii*. Biotechnology and Bioengineering 81: 666-672.

- Swaaf, dkk. 2003. *Fed-batch cultivation of the docosahexaenoic acid producing marine alga *Cryptocodinium cohnii* on ethanol*. Applied Microbiology and Biotechnology.
- Tanoi, dkk. 2011. *Effects of carbon source on growth and morphology of *Botryococcus braunii**. Journal of applied Phycology 23: 25-33.
- Vazhappilly, R. dan F. Chen. 1998. *Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid Production Potential of Microalgae and Their Heterotrophic Growth*.
- Weetall, H. 1985. *Studies on the nutritional requirements of the oil producing alga *Botryococcus braunii**. Appl Biochem Biotech 11: 377-391.
- Wen, Z.-Y. dan F. Chen. 2000. *Heterotrophic production of eicosapentaenoid acid by the diatom *Nitzschia laevis*: effects of silicate and glucose*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 25: 218-224.
- Widianingsih, dkk. 2008. *Kandungan nutrisi *Spirulina platensis* yang dikultur pada media berbeda*. Ilmu Kelautan (13) 3: 167.
- Xu, dkk. 2006. *High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters*. Journal of Biotechnology 126: 499-507.

LAMPIRAN

A. Perhitungan kepadatan sel/ml

Hari	Kepadatan sel <i>S. platensis</i> (sel/ml)					
	Tempat 1	Tempat 2	Tempat 3	Rata-rata (N)	Log N	k
1	253	298	358	303	2,48	-
2	426	424	472	441	2,64	0,540
3	687	546	576	603	2,78	0,496
4	1082	563	716	787	2,90	0,459
5	1557	738	952	1082	3,03	0,459
6	2577	1038	1177	1597	3,20	0,479
7	2168	689	977	1278	3,11	0,346
8	2506	711	1079	1432	3,16	0,320

Hari	Kepadatan sel <i>B. braunii</i> (sel/ml)					
	Tempat 1	Tempat 2	Tempat 3	Rata-rata (N)	Log N	k
1	590000	640000	780000	670000	5,83	-
2	980000	960000	1340000	1093333	6,04	0,706
3	1550000	1300000	1860000	1570000	6,20	0,614
4	2020000	1520000	2130000	1890000	6,28	0,498
5	2890000	2190000	2780000	2620000	6,42	0,492
6	4020000	2590000	3590000	3400000	6,53	0,468
7	2410000	1450000	2750000	2203333	6,34	0,286
8	1500000	1370000	1920000	1596667	6,20	0,179

Hari	Kepadatan sel <i>C. aureius</i> (sel/ml)					
	Tempat 1	Tempat 2	Tempat 3	Rata-rata (N)	Log N	k
1	2520000	1700000	1210000	1810000	6,26	-
2	3190000	2250000	1450000	2296667	6,36	0,343
3	4840000	2590000	1680000	3036667	6,48	0,373
4	5350000	2620000	1820000	3263333	6,51	0,283
5	4820000	2970000	2200000	3330000	6,52	0,220
6	5360000	3060000	2430000	3616667	6,56	0,200
7	5450000	3030000	2140000	3540000	6,55	0,161
8	4720000	2060000	2030000	2936667	6,47	0,100

Hari	Kepadatan sel <i>P. cruentum</i> (sel/ml)				
	Tempat 1	Tempat 2	Rata-rata (N)	Log N	K
1	870000	770000	820000	5,91	-
2	1090000	800000	945000	5,98	0,205
3	1560000	960000	1260000	6,10	0,310
4	700000	590000	645000	5,81	-0,115
5	230000	50000	140000	5,15	-0,637

B. Analisis ANOVA satu arah pada pertumbuhan mikroalga

Pengajuan hipotesis

Ho : Tidak ada perbedaan yang nyata diantara ulangan yang dilakukan

H1 : Ada perbedaan yang nyata diantara ulangan yang dilakukan

<i>S. platensis</i>			
Hari	log(ul 1)	log(ul 2)	log(ul 3)
0	2,403	2,474	2,554
1	2,629	2,627	2,674
2	2,837	2,737	2,760
3	3,034	2,751	2,855
4	3,192	2,868	2,979
5	3,411	3,016	3,071
6	3,336	2,838	2,990
7	3,399	2,852	3,033

Source of variation	Degree of freedom(df)	Sum of Squares (SS)	Mean of Squares (MS)	Ftest(RUf)
antar sampel (<i>factor variation</i>)	2	8,665	0,138	2,038
Dalam sampel (<i>error variation</i>)	21	1,426	0,068	
Total	23	10,092		

Kesimpulan

Terima Ho

<i>B.braunii</i>			
Hari	log(ul 1)	log(ul 2)	log(ul 3)
0	5,771	5,806	5,892
1	5,991	5,982	6,127
2	6,190	6,114	6,270
3	6,305	6,182	6,328
4	6,461	6,340	6,444
5	6,604	6,413	6,555
6	6,382	6,161	6,439
7	6,176	6,137	6,283

<i>Source of variation</i>	<i>Degree of freedom(df)</i>	<i>Sum of Squares (SS)</i>	<i>Mean of Squares (MS)</i>	<i>Ftest(RUf)</i>
antar sampel (<i>factor variation</i>)	2	18,669	0,046	0,920
Dalam sampel (<i>error variation</i>)	21	1,051	0,050	
Total	23	19,721		

Kesimpulan Terima Ho

<i>C.aureius</i>			
Hari	log(ul 1)	log(ul 2)	log(ul 3)
0	6,401	6,230	6,083
1	6,504	6,352	6,161
2	6,685	6,413	6,225
3	6,728	6,418	6,260
4	6,683	6,473	6,342
5	6,729	6,486	6,386
6	6,736	6,481	6,330
7	6,674	6,314	6,307

<i>Source of variation</i>	<i>Degree of freedom(df)</i>	<i>Sum of Squares (SS)</i>	<i>Mean of Squares (MS)</i>	<i>Ftest(RUf)</i>
antar sampel (<i>factor variation</i>)	2	19,301	0,298	26,577
Dalam sampel (<i>error variation</i>)	21	0,236	0,011	
Total	23	19,536		

Kesimpulan: Tolak Ho

Universitas Indonesia

<i>P.cruentum</i>		
Hari	log(ul 1)	log(ul 2)
0	5,940	5,886
1	6,037	5,903
2	6,193	5,982
3	5,845	5,771
4	5,362	4,699

Source of variation	Degree of freedom(df)	Sum of Squares (SS)	Mean of Squares (MS)	Ftest(RUf)
antar sampel (<i>factor variation</i>)	1	11,524	0,129	0,667
Dalam sampel (<i>error variation</i>)	8	1,546	0,193	
Total	9	13,069		

Kesimpulan: Terima Ho

C. Penentuan kadar biomassa basah dan kering

<i>Spirulina platensis</i>				
kapasitas 50 liter	Biomass basah (g)	kadar air (%)	Berat kering (g)	Berat (g)/liter
Tempat 1	52,7	90,0	5,270	0,105
Tempat 2	54,3	91,2	4,778	0,096
Tempat 3	97,3	92,5	7,298	0,146
Rata-rata	68,1	91,2	5,97	0,12

<i>Botryococcus braunii</i>				
kapasitas 50 liter	Biomass+NaOH basah (g)	kadar air (%)	Berat kering+NaOH (g)	Berat (NaOH)(g)/liter
Tempat 1	630	93	44,1	0,882
Tempat 2	750	93	52,5	1,05
Tempat 3	660	93	46,2	0,924
Rata-rata	680	93	48,6	0,97
<i>Botryococcus braunii (Non-NaOH)</i>				
kapasitas 50 liter	Biomass basah (g)	kadar air (%)	Berat kering (g)	Berat (g)/liter
Tempat 1	574	93	40,180	0,804

Universitas Indonesia

Tempat 2	701	93	49,070	0,981
Tempat 3	615	93	43,050	0,861
Rata-rata	630	93	45,04	0,90

<i>Chlorella aureius</i>				
kapasitas 2.5 liter	Biomass+NaOH basah (g)	kadar air (%)	Berat kering+NaOH (g)	Berat (NaOH)(g)/liter
Tempat 1	50,425	67,495	16,391	6,556
Tempat 2	47,778	67,495	15,530	6,212
Tempat 3	54,526	67,495	17,724	7,089
Rata-rata	50,910	67,495	16,548	6,62
<i>Chlorella aureius (Non-NaOH)</i>				
kapasitas 2.5 liter	Biomass basah (g)	kadar air (%)	Berat kering (g)	Berat (g)/liter
Tempat 1	18,360	82,19	3,270	1,308
Tempat 2	17,932	82,19	3,194	1,277
Tempat 3	20,758	82,19	3,697	1,479
Rata-rata	19,017	67,495	3,387	1,355

<i>Porphyridium cruentum</i>				
kapasitas 11 liter	Biomass+NaOH basah (g)	kadar air (%)	Berat kering+NaOH (g)	Berat (NaOH)(g)/liter
	118,267	83,919	19,019	1,73
<i>Porphyridium cruentum (Non-NaOH)</i>				
kapasitas 11 liter	Biomass basah (g)	kadar air (%)	Berat kering (g)	Berat (g)/liter
	29,49	83,919	4,742	0,431
kapasitas 2.5 liter		83,919	1,290	0,516
Rata-rata				0.474

D. Penentuan kadar minyak mikroalga

Metode Sonikasi

<i>S.platensis</i>	biomassa kering	Berat minyak (Sonikasi)	% minyak
1	2,989	0,052	1,740
2	2,641	0,026	0,984
3	2,254	0,021	0,932
Rata-rata	2,628	0,033	1,219

<i>B.braunii</i>	biomassa kering	Berat minyak (Sonikasi)	%minyak
	5,268	0,004	0,076

<i>C.aureius</i>	Sampel crude biomass (g)	Berat minyak (g)	%minyak
1	3,511	0,002	0,104
2	1,309	0,002	0,160
3	3,536	0,001	0,059
	Rata-rata		0,151

<i>P.cruentum</i>	Sampel crude biomass (g)	Berat minyak (g)	%minyak
1	3,531	0,005	1,240
2	1,279	0,004	0,313
3	4,727	0,003	0,482
Rata-rata			0,838

Metode MAE (*Microwave assisted extraction*)

Jenis spesies	Berat biomass kering (g)	Berat minyak (g)	%minyak
<i>Spirulina platensis</i>	0,438	0,023	5,297
<i>B. braunii</i>	5,268	0,009	0,173
<i>Chlorella aureius</i>	2,879	0,015	0,528
<i>P. cruentum</i>	0,572	0,012	2,116

Uji ANOVA satu arah antara hasil ekstraksi metode Sonikasi dan MAE

Pengambilan keputusan

Ho = Kedua metode tidak memiliki perbedaan yang signifikan

H1 = Kedua metode memiliki perbedaan yang signifikan

No	Spesies	Sonikasi	MAE
1	Botry	0,076	0,173
2	Chlorella	0,151	0,528
3	Porphy	0,838	2,116
4	Spirulina	1,219	5,297

Source of variation	Degree of freedom(df)	Sum of Squares (SS)	Mean of Squares (MS)	Ftest(RUf)
antar sampel (<i>factor variation</i>)	1	2,600	4,249	1,474
Dalam sampel (<i>error variation</i>)	6	17,298	2,883	
Total	7	19,897		

Kesimpulan : Terima Ho

E. Analisis Bilangan Iodin

Spesies	g iod/g lipid	g lipid/g dry biomass	g iod/ g dry biomass	mol ikatan rangkap/g dry biomass	mmol/g
<i>Chlorella aureius</i>	12,64	$5,28 \cdot 10^{-3}$	$6,68 \cdot 10^{-2}$	$2,63 \cdot 10^{-4}$	0,26
<i>Spirulina platensis</i>	0,13	$5,30 \cdot 10^{-2}$	$7,09 \cdot 10^{-3}$	$2,79 \cdot 10^{-5}$	$2,79 \cdot 10^{-2}$
<i>Porphyridium cruentum</i>	2,53	$2,12 \cdot 10^{-2}$	$5,35 \cdot 10^{-2}$	$2,12 \cdot 10^{-4}$	0,21
<i>Botryococcus braunii</i>	0,28	$1,73 \cdot 10^{-3}$	$4,86 \cdot 10^{-4}$	$1,92 \cdot 10^{-6}$	$1,92 \cdot 10^{-3}$

F. Gambar-gambar

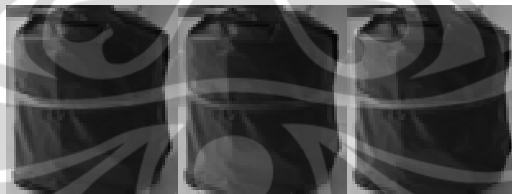
Inokulum mikroalga kiri ke kanan (*S.platensis*, *B.braunii*, *C.aureius*, dan *P.cruentum*)



Kultur mikroalga



Kondisi Heterotrof

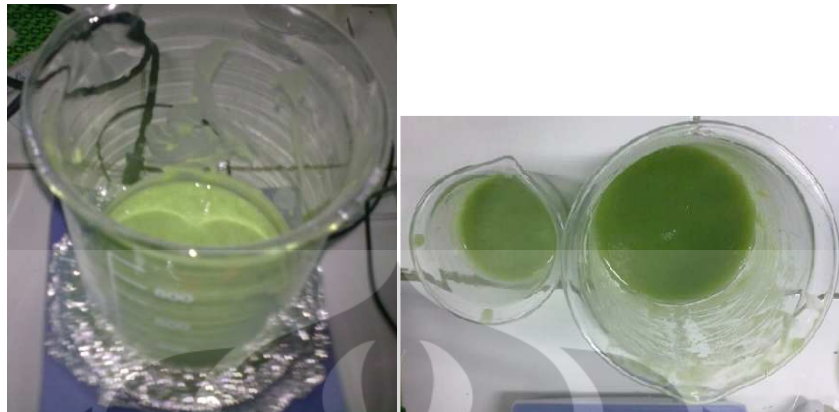


Penyaringan (*Harvesting*)

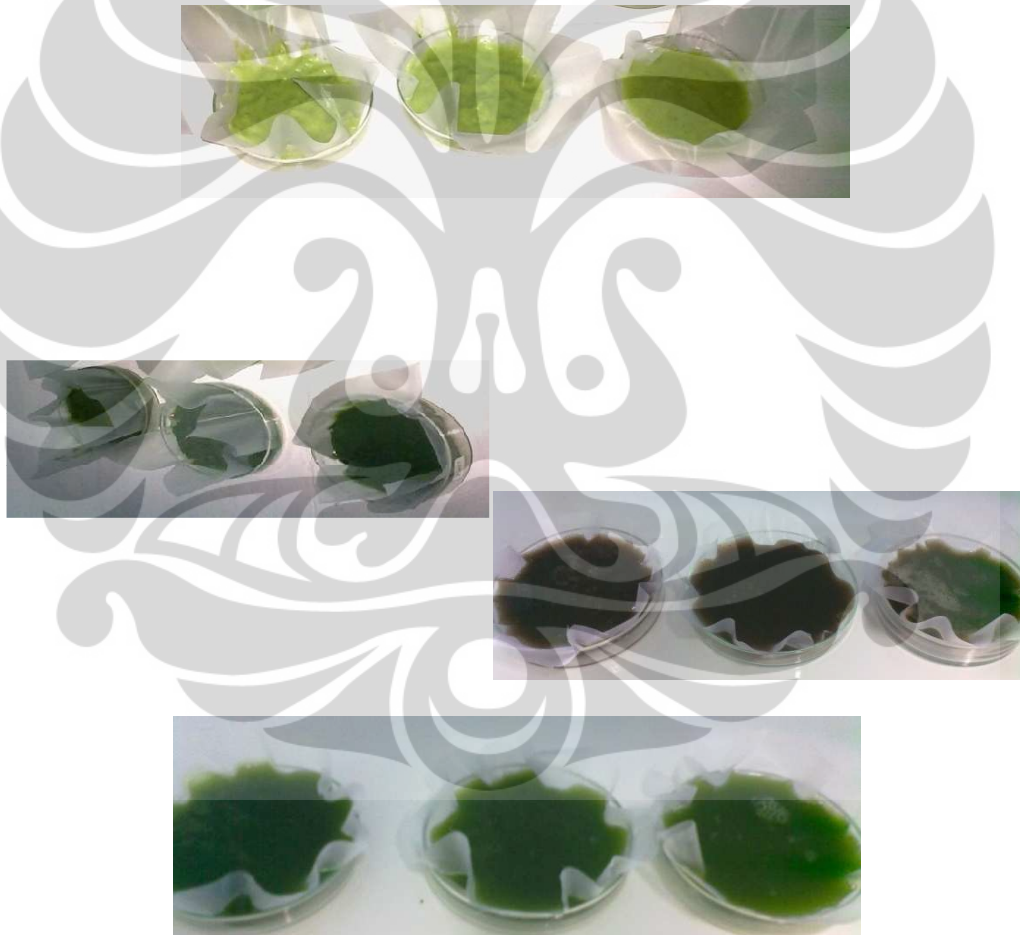


Universitas Indonesia

Penetralan NaOH dengan Asam Sitrat (Sebelum, sesudah)



Biomassa basah yang akan dikeringkan di dalam oven



Universitas Indonesia

Alat Ekstraksi (*MAE*, Sonikator)



Analisis bilangan iodine (sebelum titrasi, sesudah titrasi)

