

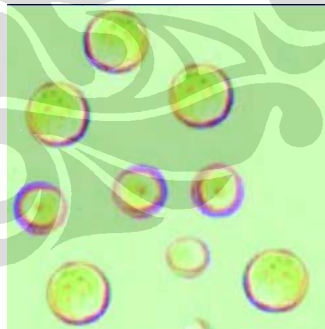
BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. MIKROALGA *Chlorella vulgaris* Buitenzorg

Chlorella sp. tergolong tumbuhan renik air berdasarkan UU RI No. 9 tahun 1985 tentang Perikanan, dimana *Chlorella sp.* termasuk komoditas perikanan. *Chlorella sp.* tergolong tumbuhan tingkat rendah berukuran 3 – 15 mikron yang telah hidup di bumi sejak 2,5 milyar tahun yang lalu dengan sifat genetik yang tidak mengalami mutai hingga sekarang (Wirosaputro, 2002)

Chlorella sp. merupakan organisme autotrof dan eukariotik. Autotrof berarti jenis tumbuhan yang belum mempunyai akar, batang dan daun sebenarnya; tetapi sudah memiliki klorofil. Sedangkan eukariotik artinya sel yang telah mengandung inti sel dan organel-organel lain.

Chlorella sp. memiliki kelebihan untuk tumbuh/berkembang biak dengan cepat. Hal ini juga yang menjadi penyebab mengapa *Chlorella sp.* menjadi mikroalga hijau yang saat ini banyak diteliti. *Chlorella sp.* yang paling sering dikembangkan dan digunakan dalam penelitian adalah *Chlorella vulgaris* dan *Chlorella pyrenoidosa*.



Gambar 2.1. Bentuk sel *Chlorella sp.*
(Grima, n.d)

Chlorella adalah mikro alga yang dominan di wilayah perairan darat Indonesia. *Chlorella vulgaris* Buitenzorg merupakan salah satu species mikro alga domestik alam tropis, dan tahan mikroba *pathogen*. Sama halnya dengan spesies *Chlorella* lainnya, *Chlorella vulgaris* Buitenzorg memiliki ketahanan terhadap kadar CO₂ tinggi dalam udara pengaerasi.

Dilihat dari taksinominya, *Chlorella vulgaris* memiliki klasifikasi berikut (*Chlorella*, Wikipedia, n.d) :

Kingdom	:	Flora
Division	:	Chlorophyta
Class	:	Trebouxiophyceae
Order	:	Chlorellales
Family	:	Chlorellaceae
Genus	:	Chlorella
Species	:	Chlorella minutissima, Chlorella pyrenoidosa, Chlorella vulgaris

2.2 KANDUNGAN ESSENSIAL DALAM SEL *CHLORELLA VULGARIS* BUITENZORG

Komposisi mikroalga *chlorella* sangat istimewa sebagai bahan asupan pangan bermutu tinggi karena memiliki manfaat:

1. Klorofil
Klorofil bertugas mengubah energi matahari menjadi energi kimia dalam tanaman berfungsi luas sebagai "pembersih alami" dalam tubuh manusia, pengontrol kandungan Ca (kalsium), membantu pencernaan protein, pencernaan, lemak, penyerapan unsur-unsur Fe (besi), serta menjaga darah tetap bersih dan sehat.
2. Dinding sel
tersusun dari selulosa, hemiselulosa dan linin, merupakan sumber serat yang sangat dibutuhkan manusia termasuk untuk pencegahan kanker usus. Sumber serat pada dinding sel *chlorella* secara kualitas dan kuantitas jauh lebih tinggi dibanding tanaman biasa.
3. Beta karoten
Merupakan satu-satunya karoten yang bisa dirubah menjadi vitamin A dalam tubuh. Vitamin A sangat penting bagi kesehatan , memegang peranan penting dalam penglihatan, pertumbuhan tulang, reproduksi, dan pembagian sel. Vitamin A juga membantu memelihara kulit dan lapisan lendir sehingga bisa bertahan dari serangan bakteri dan virus.

4. CGF (*Chlorella Growth Factor*)

Merupakan zat penting dalam *chlorella* yang berperan dalam pertumbuhan. Sel-sel. CGF yang terdapat dalam inti sel mengandung asam nukleat (DNA-RNA), asam amino, polipeptida dan sebagainya. CGF dapat meningkatkan pertumbuhan sampai 47% lebih tinggi. Dengan bertambahnya usia, maka kemampuan tubuh untuk pembentukan sel semakin melambat. Ada pakar yang menduga perlambatan ini terjadi pada usia 20 tahun. Dengan mengkonsumsi CGF, maka penyediaan asam nukleat yang tinggi dan tercukupi akan menunda proses penuaan sel. (KOMPAS Cyber Media - *Kesehatan*, 2002).

5. Protein

Chlorella memiliki kadar protein di atas 58%, tertinggi dibanding makhluk hidup lainnya. Dalam protein tersebut terdapat beragam asam amino esensial yang sangat dibutuhkan tubuh manusia. Selain berguna bagi pertumbuhan, kandungan protein alami yang dimiliki *Chlorella* juga membantu menjaga kandungan gula dalam darah (*Potensi Chlorella*, 2005)

2.3. FOTOSINTESIS

Fotosintesis adalah proses sintesis molekul organik dengan menggunakan bantuan energi cahaya matahari. Persamaan umum fotosintesis :



Fotosintesis pada tumbuhan dapat berlangsung apabila tersedia air, CO₂, klorofil dan cahaya. Air diserap oleh akar dari tanah yang merupakan donor hidrogen dan elektron. CO₂ masuk ke tumbuhan melalui stomata dan merupakan sumber karbon untuk pembentukan karbohidrat. Klorofil sebagai pigmen penyerap cahaya terdapat dalam kloroplas sebagai tempat berlangsungnya fotosintesis. Sedangkan cahaya menyediakan energi untuk memindahkan elektron dari air ke NADP⁺ (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*) dan menghasilkan ATP (Iriawati, SITH ITB, n.d).

Sebagaimana reaksi oksidasi penghasil energi, yaitu tempat bergantungnya semua kehidupan, fotosintesis meliputi reaksi oksidasi (reaksi terang) dan reduksi atau reaksi gelap (Ross, Salisbury dan Frank , 1995). Proses keseluruhan pada

reaksi terang adalah oksidasi air (pemindahan elektron disertai pelepasan O₂ sebagai hasil samping) dan menghasilkan sintesis ATP dan NADPH untuk membentuk senyawa organik pada reaksi gelap. Sedangkan reaksi gelap adalah reduksi CO₂ untuk membentuk senyawa organik, misalnya karbohidrat.

2.3.1. Reaksi Terang

Secara umum ada 3 reaksi utama yang terjadi pada reaksi terang yaitu :

1. Oksidasi H₂O, menurut persamaan :

$$2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+$$
2. Reduksi NADP⁺, menurut persamaan :

$$2 \text{NADP}^+ + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+ \rightarrow 2 \text{NADPH} + 2 \text{H}^+$$
3. Sintesis ATP (*ATP synthesis*), menurut persamaan :

$$\text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow \text{ATP}$$

Reaksi terang berlangsung pada sistem membran kompleks/*grana* (membran fotosintetik) yang tersusun dari protein kompleks, *electron carrier* dan molekul lemak. Reaksi terang mengkonversi energi menjadi berbagai produk (Paul, 2005). Pada langkah pertama adalah konversi foton menjadi bentuk elektron tereksitasi pada molekul antenna pigmen yang terdapat pada sistem antenna. Baik molekul donor maupun akseptor akan melekat pada protein kompleks pusat reaksi.

Pada proses fotosintesis, banyaknya energi yang disediakan oleh energi cahaya disimpan sebagai energi bebas redoks (sebuah bentuk energi bebas kimia) dalam NADPH yang kemudian akan digunakan untuk mereduksi karbon (Whitmarsh dan Govindjee, 2004)

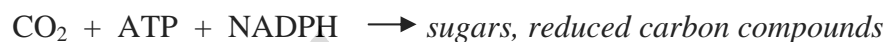
NADPH dan ATP yang terbentuk pada reaksi terang menyediakan energi untuk reaksi gelap fotosintesis, yang dikenal sebagai siklus Calvin atau siklus fotosintetik reduksi karbon.

2.3.2. Reaksi Gelap (Siklus Calvin)

Siklus Calvin merupakan suatu siklus dalam proses fotosintesis yang termasuk dalam reaksi gelap (*dark reaction/light independent*). Reaksi ini disebut juga reaksi fiksasi karbon dan berlangsung di bagian stroma dari kloroplas.

Chlorella menghilangkan CO₂ dari lingkungan dan mereduksinya menjadi karbohidrat dengan melalui siklus Calvin. Proses ini merupakan serangkaian reaksi biokimia yang mereduksi karbon dan menyusun ulang ikatan menghasilkan karbohidrat dari molekul CO₂. Untuk fiksasi karbon (fiksasi gas CO₂ yang bebas berdifusi menjadi bentuk yang nonvolatil berupa *reduced sugar*) dibutuhkan ATP (energi) dan NADPH (*reducing power*).

Reaksi yang terjadi dalam siklus Calvin secara umum dapat dituliskan sebagai berikut :



Senyawa-senyawa yang berperan dalam siklus Calvin antara lain :

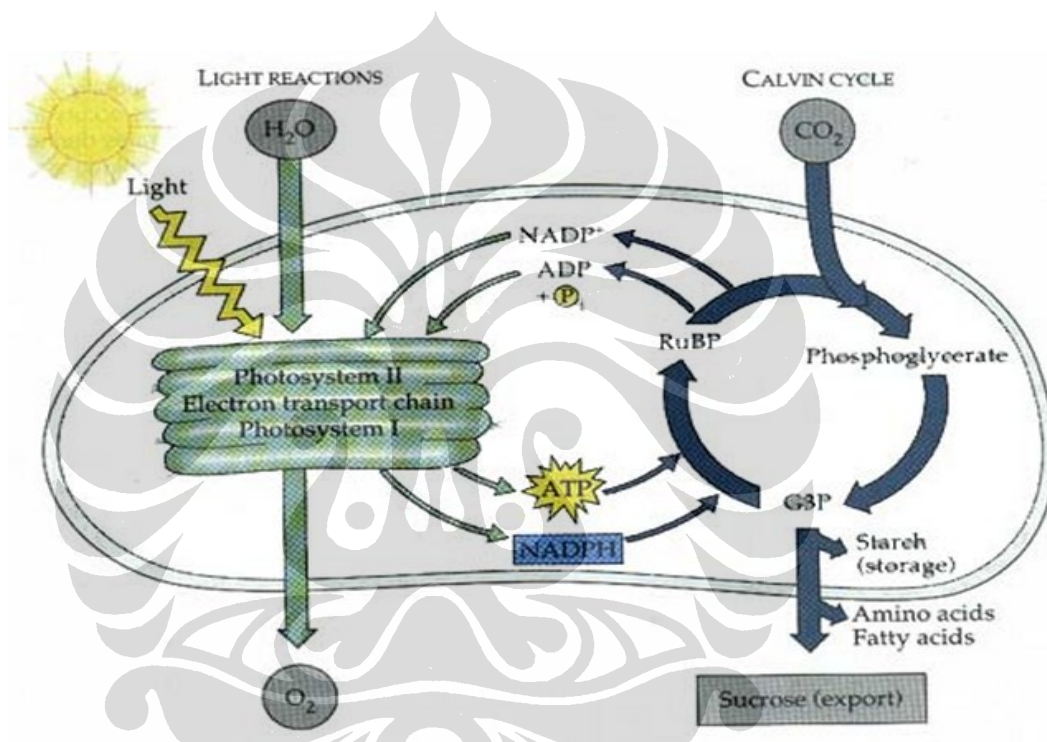
- **RuBP** (*ribulose biphosphate*) 5 karbon
- **PGA** (*phosphoglycerate*) 3 karbon
- **bPG** (*bis-phosphoglycerate*) 3 karbon
- **GP** (*glyceraldehyde-3-phosphate*) 3 karbon
- **CO₂** (*carbon dioxide*) 1 karbon

Urutan reaksi siklus Calvin antara lain :

1. $3 \text{ RuBP (total 15C)} + 3 \text{ CO}_2 \text{ (total 3C)} \longrightarrow 6 \text{ PGA (setiapnya 3C , total 18C)}$
 - Reaksi ini dikatalisis oleh Rubisco (*ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase*), yang merupakan enzim berlimpah di bumi
 - Tiga molekul CO₂ ditambah energi merupakan *net reactant*
2. $6 \text{ PGA} + 6 \text{ ATP} \longrightarrow 6 \text{ bPG (18C)} + 6 \text{ ADP}$
 - Fosfat yang berenergi tinggi ditransfer dari ATP menjadi PGA menjadi bPG
3. $6 \text{ PGA} + 6 \text{ NADPH} \longrightarrow 6 \text{ bPG (18C)} + 6 \text{ NADP}^+$
 - Elektron benergi tinggi dari NADPH digunakan untuk mereduksi bPG menjadi GP
4. $5 \text{ GP (15C)} + 3 \text{ ATP} \longrightarrow 3 \text{ RuBP (15C)}$

Pada tahap pertama, CO₂ digabung dalam *ribulose-5-biphosphate* (*5-carbon sugar*) membentuk beberapa 3-C *sugars* (*3-phosphoglycerate*). Dari sini, beberapa molekul organik akan direduksi menjadi *fructose-6-phosphate*, dan

beberapa akan dikonversi balik menjadi *ribulose-5-biphosphate*, sehingga siklus dapat berjalan kembali. *Fructose-6-phosphate* kemudian digunakan dalam jalur biosintesa untuk memproduksi asam amino, asam nukleat, lemak dan karbohidrat. Konversi keseluruhan dari 6 molekul CO_2 menjadi 1 molekul *fructose-6-phosphate* membutuhkan 12 molekul ATP dan 12 molekul NADPH. Sehingga persamaan energi yang terjadi dalam siklus Calvin adalah : (*Calvin Cycle uses ATP and NADPH converting CO_2 to sugar in three phase, 2003*)



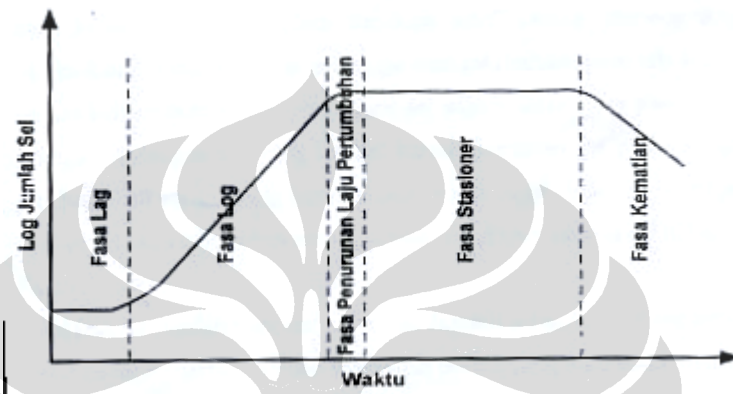
Gambar 2.2 . Reaksi terang dan gelap fotosintesis
(Iriawati, SITH ITB, n.d)

2.5. PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN SEL *CHLORELLA*

Chlorella sp. mempunyai waktu generasi yang sangat cepat. Oleh karena itu dalam waktu yang relatif singkat, perbanyakan sel akan terjadi sangat cepat, terutama jika tersedia cahaya sebagai sumber energi, walaupun dalam jumlah minimal. Pada umumnya perbanyakan sel terjadi dalam kurun waktu 4 - 14 jam, tergantung pada lingkungan pendukungnya (Surawiria, 1987). Pada saat sel

membelah, *Chlorella sp* memerlukan lebih banyak sulfur, tetapi pada saat fotosintesis juga memerlukan nitrogen yang terikat sulfur (Wirosaputro, 2002).

Apabila sejumlah kecil *Chlorella sp* diinokulasikan dalam medium kultur terbatas dan jumlah sel *Chlorella sp* dihitung sebagai fungsi waktu, maka pola pertumbuhan berdasarkan jumlah sel dapat dikelompokkan menjadi 5 fase yaitu fase tunda (*lag phase*), fase eksponensial (*log phase*), fase penurunan laju pertumbuhan, fase stasioner dan fase kematian (Fogg, 1975).



Gambar 2.3. Kurva pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* pada medium terbatas (Wirosaputro,2002)

1. Fase tunda (*lag phase*)

Setelah pemberian inokulum ke dalam media kultur, terjadi fase tunda yang disebabkan oleh penyesuaian lingkungan yang baru sebelum memulai pembiakan (pembelahan sel). Penyesuaian dalam hal ini berarti suatu masa ketika sel-sel kekurangan metabolit dan enzim akibat keadaan yang tidak menguntungkan dalam pembiakan sebelumnya.

2. Fase pertumbuhan logaritmik (*log phase*)

Selama fase ini sel membelah dengan cepat, sel-sel berada dalam keadaan stabil, dan jumlah sel bertambah dengan kecepatan konstan. Bahan sel baru terbentuk dengan laju tetap, akan tetapi bahan-bahan tersebut bersifat katalitik dan massa bertambah secara eksponensial. Hal ini tergantung pada satu dari dua hal yang terjadi, yaitu kalau tidak satu atau lebih zat makanan dalam pembenihan habis, maka tentu hasil metabolisme beracun akan tertimbun dan menghambat pertumbuhan.

3. Fase penurunan laju pertumbuhan

Pada fase ini, laju pertumbuhan sel menurun akibat adanya kompetisi yang tinggi dalam media hidup, dan zat makanan yang tersedia dalam media tidak mencukupi kebutuhan populasi yang bertambah dengan cepat pada fase eksponensial. Akibatnya hanya sebagian dari populasi yang mendapatkan cukup nutrisi untuk tumbuh dan membelah.

4. Fase stasioner

Selama fase ini jumlah sel cenderung konstan. Hal ini disebabkan oleh habisnya nutrisi dalam medium atau karena menumpuknya hasil metabolisme yang beracun sehingga mengakibatkan pertumbuhan berhenti. Dalam kebanyakan kasus, pergantian sel terjadi dalam fase stasioner, dimana adanya kehilangan sel yang lambat karena kematian yang diimbangi oleh pembentukan sel-sel yang baru melalui pembelahan. Bila hal ini terjadi maka jumlah sel akan bertambah secara lambat meskipun jumlah sel hidup tetap.

5. Fase kematian (*death phase*)

Pada fase ini jumlah populasi menurun. Jumlah sel yang mati per satuan waktu perlahan-lahan bertambah dan akhirnya kecepatan mati dari sel-sel menjadi konstan.

2.6. FOTOBIOREAKTOR UNTUK KULTIVASI MASSA ALGA (Ugwu *et al*, 2006)

Alga bisa tumbuh dalam sistem kultur terbuka maupun sistem tertutup (fotobioreaktor). Awalnya pertumbuhan alga dilakukan pada sistem terbuka (*open pond*) yang dirintis di Jerman (Eropa) selama perang dunia II. Pada waktu itu alga ditumbuhkan untuk suplemen makanan. Dengan semakin berkembangnya penelitian dari waktu ke waktu, biomassa alga makin bertambah pemanfaatannya. Alga dimanfaatkan antara lain untuk menghasilkan bahan kimia tertentu dan suplemen yang berguna untuk manusia dan binatang. Alga dimanfaatkan untuk produksi beberapa senyawa ekstraselular dan juga untuk biosorpsi logam berat. Hal yang lain yang bisa dimanfaatkan dari alga adalah kemampuan fiksasi CO₂.

Dengan semakin berkembangnya pemanfaatan alga, maka diperlukan suatu tempat kultivasi yang lebih efektif, yaitu dalam sistem tertutup atau fotobioreaktor. Fotobioreaktor lebih menguntungkan dari sistem open pond karena kemudahan untuk peningkatan skala dari skala lab ke skala industri. Selain itu pada fotobioreaktor lebih mudah untuk mengontrol kondisi kultivasinya. Dengan fotobioreaktor, produktivitas biomassa yang tinggi bisa dicapai dan kontaminasi lebih mudah dihindari.

2.5.1. Jenis-jenis Fotobioreaktor

Sistem kultur alga bisa diberikan perlakuan cahaya dengan cahaya buatan, cahaya matahari atau dengan keduanya. Pencahayaan sistem kultur alga secara alami dengan luas permukaan pencahayaan yang luas meliputi *open ponds* (Hase et al., 2000), *flat-plate* (Hu et al., 1996), *horizontal/serpentine tubular airlift* (Camacho Rubio et al., 1999), dan *inclined tubular photobioreactors* (Ugwu et al., 2002). Secara umum, fotobioreaktor skala laboratorium diberi cahaya buatan (baik secara internal maupun eksternal) menggunakan lampu *fluorescent* atau distributor cahaya lainnya. Beberapa jenis dari fotobioreaktor ini meliputi *bubble column* (Degen et al., 2001; Ogonna et al., 2002; Chini Zittelli et al., 2003), *airlift column* (Harker et al., 1996; Kaewpintong et al., 2007), *stirred-tank* (Ogonna et al., 1999), *helical tubular* (Hall et al., 2003), *conical* (Watanabe and Saiki, 1997), *torus* (Pruvost et al., 2006), dan fotobioreaktor tipe *seaweed* (Chetsumon et al., 1998).

Dari beberapa jenis fotobioreaktor yang dikembangkan untuk memproduksi biomassa mikroalga, masing-masing memiliki kelebihan dan keterbatasan. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Perbandingan antara beberapa sistem kultivasi mikroalga

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

Sumber : Ugwu et al., 2002

2.5.2. Kondisi Operasi yang Mempengaruhi Mikroalga dalam Fotobioreaktor (Wijanarko, 2006)

Beberapa kondisi operasi yang dapat mempengaruhi produksi biomassa mikroalga yang dikembangkan dalam bioreaktor kolom gelembung tembus cahaya :

1. Energi cahaya

Cahaya sebagai sumber energi untuk kehidupan fotoautotropik merupakan faktor pembatas yang mendasar dalam *photobiotechnology*. Pada pencahayaan yang intens, laju fotosintesis akan berbanding lurus proporsional dengan intensitas cahaya, sampai intensitas iluminasi yang tinggi dapat merusak sistem reseptor fotosintetik dalam beberapa menit, yang dinamakan *photoinhibition*.

Pada kebanyakan mikroalga, fotosintesis akan jenuh pada radiasi sekitar 1,700 – 2,000 $\mu\text{E}/(\text{m}^2)$. Beberapa spesies *phytoplankton* tumbuh dengan laju optimal pada 50 $\mu\text{E}/(\text{m}^2)$ dan akan mengalami *photoinhibition* pada 130 $\mu\text{E}/(\text{m}^2)$. Pada jenis bioreaktor tembus cahaya *tubular* atau *plate-type*, dengan rasio luas permukaan dan volume (*surface-to-volume ratio*; SVR) 20-80 m^2/m^3 dan besarnya pencahayaan sampai 1.15 $\mu\text{E}/(\text{m}^2\text{s})$, dengan *layer thickness* sampai 5 mm, produktivitas dapat mencapai sampai 2-5 g berat kering per hari. Meskipun penelitian bioteknologi telah berkembang pesat, tetapi masih terdapat sedikit informasi tertulis berkenaan dengan proses singkat (*short-term process*) dari adaptasi terhadap cahaya (*photoadaptation*), yaitu mengenai inhibisi cahaya (*light inhibition*) atau efek pencahayaan jenuh (*light saturation effect*) dalam bioreaktor tembus cahaya sistem tertutup. Adaptasi terhadap cahaya secara umum memerlukan waktu sekitar 10-40 menit, merupakan penjelasan atas terjadinya ketidaksesuaian antara produktivitas medium kultur alga pada pencahayaan optimum dengan produktivitas medium kultur alga sistem terbuka yang mengalami pencahayaan siklus terang-gelap alamiah (Richmond et al, 1980).

2. Keseimbangan CO₂/O₂

Penyesuaian keseimbangan CO₂/O₂ pada laju fotosintesis yang tinggi, terjadi dengan menggunakan CO₂ pada reaksi dengan enzim utama RUBISCO

pada *carboxylating* dalam siklus *Calvin*, bukan menggunakan O_2 untuk proses respirasi (katabolisme pada suasana terang; *photorespiration*). Dalam medium kultur alga dengan densitas sel yang tinggi, kecukupan CO_2 harus dipenuhi, dan keberadaan O_2 harus dihilangkan sebelum mencapai konsentrasi penghambatan reaksi fotosintesis (*inhibitory concentration*). Konsentrasi CO_2 biasanya dijaga dalam margin yang sempit. Kandungan CO_2 dalam udara 0.03% merupakan kondisi suboptimal bagi pertumbuhan tumbuhan, dan kebanyakan tumbuh-tumbuhan dapat mentoleransi konsentrasi CO_2 hanya sampai 0.1 %. Tetapi kebanyakan strain dari mikroalga toleran terhadap konsentrasi CO_2 , pada suhu $35^\circ C$, kebanyakan spesies *Chlorella* dapat menyesuaikan diri dengan kondisi kandungan CO_2 dalam udara sampai 12 %.

3. Nutrisi dan nilai pH

Ketersediaan nutrisi yang cukup untuk mikroalga adalah pre-kondisi untuk fotosintesis yang optimal. Defisiensi nutrisi akan menyebabkan gangguan pada metabolisme dan ketidaksesuaian produksi pada fasa antara proses fotosintesis. Deviasi dari nilai pH optimum akan mempengaruhi reaksi dan produktivitas terkait dengan ketersediaan ion bikarbonat, salah satu bentuk CO_2 yang terlarut dalam air dalam medium kultur yang berperan dalam transfer CO_2 dari medium kultur ke sitoplasma sel melalui dinding dan membran semipermeabel sel tersebut. Oleh karena itu kondisi yang terkendali dalam bioreaktor tembus cahaya harus dijaga pada rasio optimum (Sivonen, 1990; Falkner et al., 1995; Kaplan et al., 1980; Healey, 1973; Yagishita et al., 1993).

2.6. HIDRODINAMIKA ALIRAN DALAM FOTOBIOREAKTOR KOLOM GELEMBUNG DAN EFEKNYA PADA MIKROALGA

Hidrodinamika (karateristik pencampuran) merupakan fungsi dari geometri reaktor dan kondisi operasi (laju alir gas dan cairan). Hidrodinamika mempengaruhi efisiensi fotosintesis, produktivitas dan komposisi sel. Beberapa parameter hidrodinamika yang diukur dalam suatu liquida antara lain, volume, bentuk dan kecepatan gelembung, *gas hold up*, kecepatan cairan, *slip velocity*,

dispersi aksial, bilangan *Reynold*, waktu pencampuran dan koefisien perpindahan massa (Babcock Jr *et al*, 2002).

Dua parameter penting dalam hidrodinamika adalah *gas holdup* dan koefisien perpindahan massa. Dua parameter ini sangat tergantung dengan kecepatan superfisial gas yang beraerasi di kolom. Kecepatan superfisial gas sendiri merupakan kondisi operasi yang harus ditentukan sebelum kultivasi dan menentukan hasil biomassa yang didapat. Jika pengesetan kecepatan superfisial gas kurang bagus maka hasil kurang optimal.

Syahri (2008) telah melakukan *scale up* produksi biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg dari skala lab 250 ml menjadi skala menengah 18 L dengan sistem pengaturan pencahayaan. Dalam penelitiannya, saat menentukan kecepatan superfisial aliran gas-udara (U_G), sistem yang dilakukan adalah dengan mengukur RTD (*Residence Time Distribution*) untuk melihat U_G yang menghasilkan waktu tinggal yang sama dengan volume 18 L. Setelah U_G didapatkan ternyata pola turbulensinya setelah dilihat secara visual ternyata terlalu besar jika dibandingkan pola turbulensi di volume 250 ml. Karena itu nilai U_G diturunkan hingga pola turbulensi kira-kira sama dengan skala lab. Setelah diujikan dengan produksi biomassa *Chlorella vulgaris* Buitenzorg ternyata hasilnya jauh berbeda. Hasil biomassa di reaktor skala menengah lebih rendah 1,34 kali untuk pencahayaan alterasi dan lebih rendah 1,36 kali untuk pencahayaan kontinu jika dibanding dengan hasil biomassa di reaktor skala lab. Hal ini menunjukkan bahwa untuk *scale up*, penentuan U_G untuk menghasilkan biomassa yang sama atau setara di dua reaktor yang berbeda masih menjadi masalah.

2.6.1 Gas Holdup

Pada fotobioreaktor kolom gelembung, banyak penelitian mengatakan bahwa ada regim aliran dasar yang terbentuk dalam kolom gelembung, yaitu homogen heterogen (Sarraf *et al*, 1999; Krishna *et al* 1999; Magaud *et al*, 2001). Ketika kolom diaerasi dengan udara, kolom mulai tereksan dengan secara "homogen" dan ketinggian kolom bertambah hampir linear dengan kecepatan superfisial gas. Regim ini disebut *homogeneous bubbly flow regime*. Pada regim ini bisa dilihat parameter *gas hold up*. *Gas hold up* adalah persentase volum gas

pada dua atau tiga fasa campuran dalam kolom (Moshtari *et al* , 2009). *Gas hold up* merupakan salah satu parameter karakteristik hidrodinamik paling penting pada kolom gelembung (Yuanxin *et al*, 2001).

Gas hold up sangat berhubungan dengan ukuran gelembung. Gelembung yang kecil bisa membentuk *gas holdup* yang besar. *Gas hold up* adalah persen volume gas dalam dua atau tiga fase campuran dalam kolom (Moshtari, Babakhani, Moghaddas; 2009).

$$\varepsilon = \frac{V_G}{V_L + V_G} \dots\dots\dots(2.1)$$

Karena *total interfacial area* untuk perpindahan massa oksigen tergantung pada volume total gas dalam sistem sebagaimana ukuran gelembung rata-rata, laju perpindahan massa yang besar dicapai pada *gas-holdup* yang besar pula.

2.6.2 Koefisien Perpindahan Massa ($k_L a$)

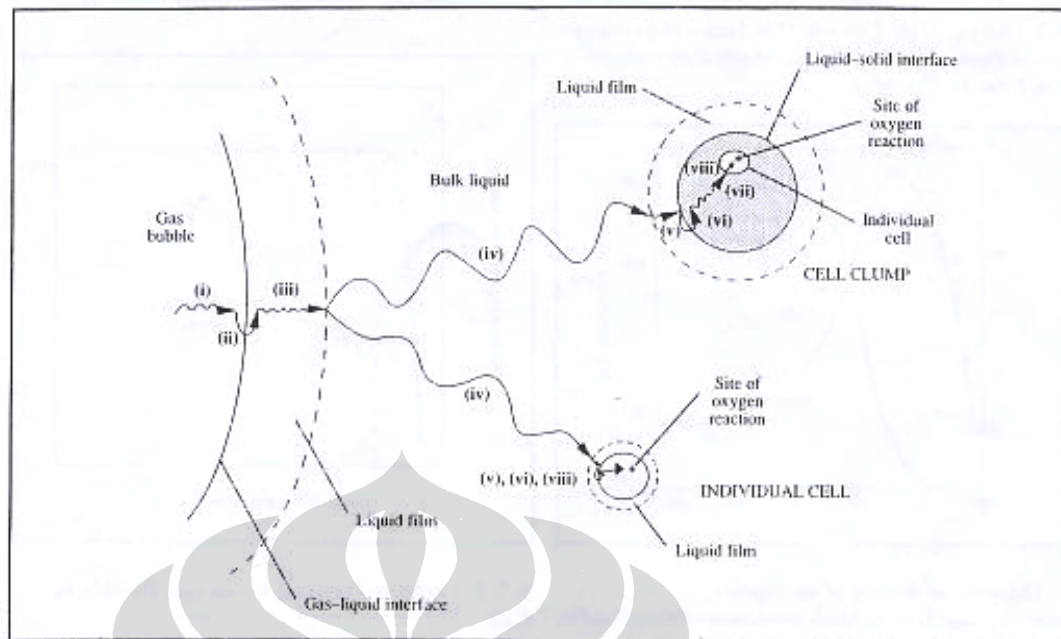
Dalam proses fotosintesis, peranan gas CO₂ sangat penting dalam proses reaksi. Agar gas CO₂ bisa bereaksi dengan baik maka dibutuhkan proses perpindahan massa yang baik. Hal ini ditandai dengan adanya koefisien perpindahan massa atau k_{La} (CO₂).

Koefisien perpindahan massa ($k_L a$), adalah koefisien perpindahan massa volumetrik gas yang terjadi di fasa cairan (h⁻¹) (Doran, 1995). k_L adalah koefisien perpindahan gas (cm/h) sedangkan a adalah gas-liquid interfacial area (cm²/cm³). Maka $k_L a$ adalah koefisien perpindahan massa volumetrik (h⁻¹).

Dalam mengukur $k_L a$ (CO₂) akan lebih mudah jika dengan melakukan pengukuran $k_L a$ (O₂) terlebih dahulu. Hal ini karena cara pengukuran $k_L a$ (O₂) lebih mudah dan hemat biaya (Grima *et al* ,1992). Dimana harga $k_L a$ (O₂) nantinya dikonversi menjadi $k_L a$ (CO₂) berdasarkan perbedaan difusivitasnya.

2.6.2.1. Proses Perpindahan Massa

Ada beberapa tahapan perpindahan oksigen dari gelembung gas ke tempat reaksi intraselular (Doran, 1995) seperti tampak pada gambar 2.3 berikut.

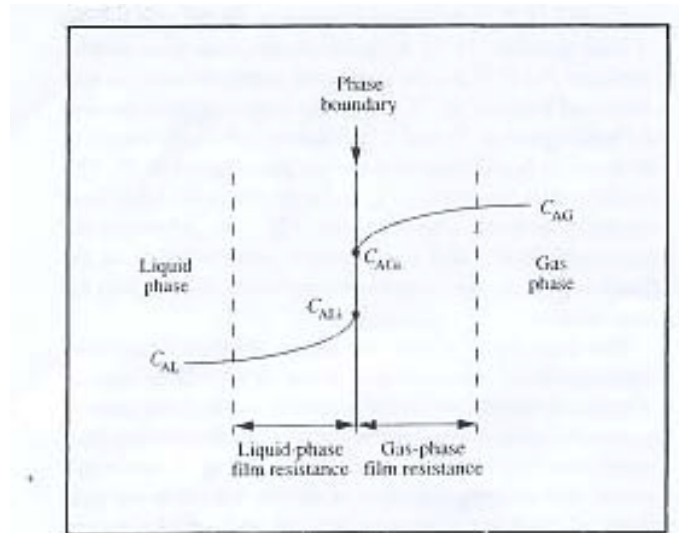


Gambar 2.4. Proses perpindahan massa dari gelembung gas ke sel

Tahapannya adalah sebagai berikut :

- (i). Perpindahan dari bagian dalam (*interior*) gelembung ke bagian batas (*interface*) gas-cairan.
- (ii). Pergerakan melewati bagian batas gas-cairan.
- (iii). Difusi melalui film cairan yang relatif stagnan di sekitar gelembung.
- (iv). Perpindahan melalui *bulk* cairan.
- (v). Difusi melalui film cairan yang relatif stagnan di sekitar sel.
- (vi). Pergerakan melewati bagian batas cairan-sel.
- (vii). Jika sel dalam bentuk flok, gumpalan atau partikel padat, difusi melalui padatan ke individu sel; dan
- (viii). Perpindahan melalui sitoplasma ke tempat reaksi.

Sebagai catatan, tahanan karena lapisan batas gas di dalam gelembung telah diabaikan; karena rendahnya kelarutan oksigen dalam larutan kental., kita dapat mengasumsikan bahwa tahanan cairan-film mendominasi perpindahan massa gas-cairan. Jika sel secara individu lebih terlarut dalam cairan daripada dalam gumpalan, maka tahap (vii) dihilangkan.



Gambar 2.5. Gradien konsentrasi untuk perpindahan massa gas-cairan (Doran,1995)

Besarnya bermacam-macam tahanan perpindahan massa tergantung dari komposisi dan sifat *rheological* cairan, intensitas pencampuran, ukuran gelembung, ukuran gumpalan sel, karakteristik adsorpsi lapisan batas dan beberapa faktor. Untuk kebanyakan bioreaktor analisis berikut adalah valid:

- (i). Perpindahan melalui fasa bulk gas dalam gelembung adalah relatif cepat
- (ii). Lapisan batas gas-cairan sendiri berkontribusi mengabaikan tahanan.
- (iii). Film cairan di sekitar gelembung adalah tahanan utama dalam perpindahan oksigen .
- (iv). Dalam fermenter yang tercampur baik, gradien konsentrasi dalam bulk cairan diminimalkan dan tahanan perpindahan massa dalam wilayah ini adalah kecil. Bagaimanapun, pencampuran cepat sangat sulit dicapai dalam larutan fermentasi yang kental; jika ini adalah kasusnya, tahanan perpindahan oksigen di bulk cairan mungkin penting.
- (v). Karena sel tunggal lebih kecil dari gelembung gas, film cairan di sekitar tiap sel lebih tipis daripada di sekitar gelembung dan efeknya pada perpindahan massa secara umum dapat diabaikan. Di lain pihak, jika sel dalam bentuk gumpalan besar, tahanan film cairan bisa signifikan.
- (vi). Tahanan pada bagian batas sel-cairan secara umum diabaikan
- (vii). Jika sel adalah gumpalan, tahanan intrapartikel akan signifikan sebagaimana oksigen harus berdifusi melalui pellet padat untuk mencapai bagian dalam sel. Besarnya tahanan ini tergantung dari ukuran gumpalan.

- (viii). Tahanan perpindahan oksigen di intrseluler diabaikan karena kecilnya jarak yang ditempuh.

Persamaan perpindahan massanya adalah sebagai berikut ;

$$N_A = k_{L,a}(C_{AL}^* - C_{AL}) \dots \dots \dots (2.2)$$

2.6.2.1. Cara Mengukur $k_{L,a}$

Karena sulitnya memprediksi $k_{L,a}$ di bioreaktor dengan menggunakan korelasi, maka koefisien perpindahan massa untuk oksigen biasanya ditentukan dengan eksperimen. Teknik untuk mengukur $k_{L,a}$ telah direview oleh van't Riet (1979).

a. Metode Kesetimbangan Oksigen

Teknik ini berdasarkan persamaan perpindahan massa gas-cairan (2.2) diatas. Dalam eksperimennya, kandungan oksigen dari aliran gas menuju dan dari fermenter diukur. Dari kesetimbangan massa saat *steady state*, perbedaan aliran oksigen antara masukan dan keluaran harus sama dengan laju perpindahan oksigen dari gas ke liquid.

$$N_A = \frac{1}{V_L} [(F_g C_{AG})_i - (F_g C_{AG})_o] \dots \dots \dots (2.3)$$

Dimana V_L adalah volume cairan dalam fermenter, F_g adalah laju alir volumetrik gas, C_{AG} adalah konsentrasi oksigen dalam fasa gas, dan subscript i dan o menunjukkan aliran gas inlet dan outlet. Pernyataan pertama sisi kanan persamaan diatas menunjukkan laju oksigen yang masuk ke fermenter dalam aliran gas inlet.; sedangkan pernyataan kedua menunjukkan laju pada saat oksigen keluar. Perbedaan antara keduanya adalah laju oksigen yang berpindah keluar dari gas ke cairan N_A . Karena konsentrasi gas secara umum diukur dalam tekanan parsial, hokum gas ideal bias diaplikasikan ke dalam persamaan diatas:

$$N_A = \frac{1}{RV_L} \left[\left(\frac{F_g p_{AG}}{T} \right)_i - \left(\frac{F_g p_{AG}}{T} \right)_o \right] \dots \dots \dots (2.4)$$

Dimana R adalah konstanta gas universal (Tabel 2.5, hal. 20, “*Bioprocess Engineering Principle*” ,1995), p_{AG} adalah tekanan parsial oksigen dalam gas dan T adalah temperatur absolut. Karena tekanan parsial oksigen

dalam masukan dan keluaran aliran gas biasanya tidak terlalu berbeda selama operasi di fermenter, maka dua hal ini harus diukur secara akurat, misalnya dengan spektrofotometer massa. Temperatur dan laju alir gas juga harus diukur dengan hati-hati untuk memastikan keakuratan nilai N_A yang ditentukan. Sekali N_A diketahui dan C_{AL} dan C_{AL}^* ditentukan dengan menggunakan *dissolved-oxygen electrode* dan estimasi solubilitas oksigen (bagian 9.8, “*Bioprocess Engineering Principle*”, 1995), maka k_{La} dapat dihitung menggunakan persamaan 2.2

b. Metode Dinamik

Metode ini digunakan untuk mengukur k_{La} berdasarkan kesetimbangan massa oksigen dalam keadaan *unsteady state*. Keuntungan utama dari metode ini dibanding metode yang *steady state* adalah rendahnya biaya akan kebutuhan alat.

Ada beberapa perbedaaan versi metode dinamik; namun satu yang akan dijelaskan disini. Awalnya, fermenter berisi sel dalam kultur batch. Seperti tampak pada gambar 2.5, suatu waktu t_0 dari broth adalah saat *de-oxygenated* baik dengan mengalirkan nitrogen ke dalam tangki atau dengan menyedot aliran udara jika kultur mengkonsumsi oksigen. Konsentrasi oksigen terlarut C_{AL} akan turun selama periode ini. Udara lalu dipompakan kembali kedalam broth dengan laju alir yang konstan dan penambahan C_{AL} dimonitor berdasarkan fungsi waktu. Hal yang perlu diperhatikan adalah konsentrasi oksigen harus diatas C_{crit} sehingga laju pengambilan oksigen oleh sel tidak tergantung dari level oksigen. Dengan asumsi *re-oxygenation* broth berlangsung cepat relative terhadap pertumbuhan sel, level oksigen terlarut akan dengan cepat mencapai nilai *steady state* \bar{C}_{AL} yang merefleksikan kesetimbangan antara supply oksigen dan konsumsi oksigen dalam system. C_{AL1} dan C_{AL2} adalah dua konsentrasi oksigen yang diukur selama *re-oxygenation* pada saat t_1 dan t_2 . Kita dapat mengembangkan persamaan untuk k_{La} sesuai dengan data eksperimen.

Selama tahap *re-oxygenation*, system tidak *steady state*. Laju perubahan konsentrasi oksigen terlarut selama periode ini sma dengan laju

perpindahan oksigen dari gas ke cairan, dikurangi laju pengambilan oksigen oleh sel.

$$\frac{dC_{AL}}{dt} = k_L a (C_{AL}^* - C_{AL}) - q_0 x \dots\dots\dots(2.5)$$

Dimana $q_0 x$ adalah laju konsumsi oksigen. Ketika $C_{AL} = \bar{C}_{AL}$ maka $dC_{AL}/dt = 0$ karena itu ; $q_0 x = k_L a (C_{AL}^* - C_{AL}) \dots\dots\dots(2.6)$

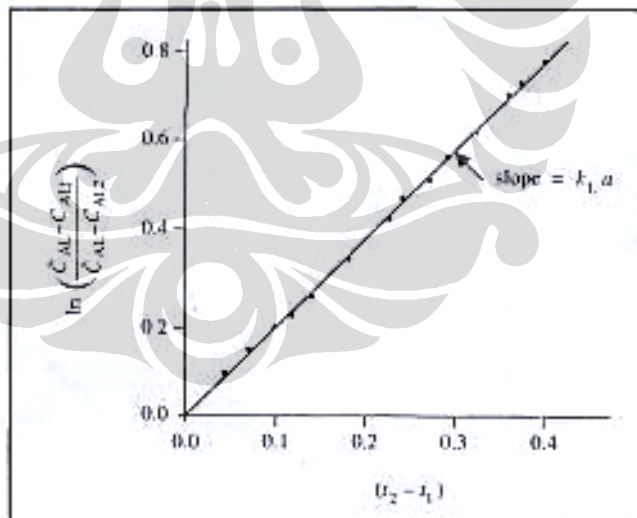
Substitusi persamaan diatas ke persamaan 2.5 maka :

$$\frac{dC_{AL}}{dt} = k_L a (\bar{C}_{AL} - C_{AL}) \dots\dots\dots(2.7)$$

Asumsi $k_L a$ konstan terhadap waktu, persamaan diatas diintegrasikan menjadi:

$$k_L a = \frac{\ln \left(\frac{\bar{C}_{AL} - C_{AL1}}{\bar{C}_{AL} - C_{AL2}} \right)}{t_2 - t_1} \dots\dots\dots(2.8)$$

Jika ada beberapa data (C_{AL}, t_1) dan (C_{AL}, t_2) maka $k_L a$ dapat diestimasi lebih akurat menggunakan grafik berikut.



Gambar 2.6. Evaluasi $k_L a$ menggunakan metode dinamik (Doran,1995)

c. Metode Oksidasi Sulfit

Metode ini berdasarkan oksidasi *sodium sulphite* menjadi *sulphate* dengan suatu katalis misalnya Cu^{2+} . Walaupun metode sulfite telah digunakan secara ekstensif namun hasil yang ditunjukkan tergantung dari kondisi operasi dalam cara yang tidak diketahui, dan biasanya memberikan nilai $k_L a$ yang lebih tinggi dari teknik lainnya.

