

Pertumbuhan Dan Kandungan Lipid Mikroalga Yang Dikultur Menggunakan Pupuk Walne Dan Ekstraksi Menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* Sebagai Bahan Baku Biofuel Yang Berkelanjutan

Sarifah¹, Wa Iba², Ahmad Zaeni³

¹Prodi Bioteknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo

²Prodi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Halu Oleo

³Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo

Correspondence Email: wa.iba@uho.ac.id

Abstrak: Mikroalga adalah salah satu bahan baku bio-fuel generasi ketiga yang potensi untuk dikembangkan di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan dan kandungan lipid mikroalga yang dikultur menggunakan pupuk Walne dan diekstraksi menggunakan metode *microwave assisted extraction*. Kultur mikroalga terdiri dari 3 perlakuan yaitu mikroalga jenis *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *Tetraselmis chuii* dalam media Walne dengan 3 kali ulangan. Kepadatan sel awal kultur mikroalga adalah 10×10^4 sel.mL⁻¹. Kultur dilakukan selama 8 hari dengan menghitung kepadatan setiap 2 hari sekali menggunakan improved neubeur haemocytometer. Salinitas media kultur adalah 32 psu dengan intensitas cahaya $19.03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pH 8 dan 12:12 fotoperiod. Pemamanan dilakukan dengan menambahkan etanol 10 mL ke dalam kultur mikroalga kemudian dikeringkan selama 1 hari, selanjutnya ditimbang beratnya dan dilakukan analisis lipid menggunakan microwave dengan daya 450 watt. Pertumbuhan dari ketiga jenis mikroalga yang tertinggi pada *Nannochloropsis* sp. sebesar $165,1 \times 10^4$ sel.mL⁻¹, sedangkan pertumbuhan sel terendah pada *C. vulgaris* $31,01 \times 10^4$ sel.mL⁻¹. Kandungan lipid mikroalga yang tertinggi terdapat pada *T. chuii* sebesar 37,44 %, sedangkan kadar lipid terendah terdapat pada *C. vulgaris* sebesar 23,07%. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstraksi mikroalga hijau menggunakan microwave dengan daya rendah mampu menghasilkan lipid yang cukup tinggi.

Kata kunci: *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp., *T. chuii*, Media Walne, Pertumbuhan, Kandungan Lipid.

Abstract: *Microalgae is a third generation feed stock for bio fuel production. This study aims to determine the growth and lipid content of microalgae cultured in Walne media and extracted using microwave. Three species of green microalgae include Chlorella vulgaris, Nannochloropsis sp. and Tetraselmis chuii was cultured in triplicates. The initial cell was 10×10^4 sel.mL⁻¹. The culture was carried out for 8 days and increasing cell density was observed every other days using an improved Neubeur hemocytometer. The salinity of the culture was 32 psu with a light intensity of $19.03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pH 8 and 12:12 photoperiod. The culture was harvested by adding 10 mL of ethanol into the culture vessel, washed with freshwater and then air dried for a day. Microalgae then weighed and lipid analysis was performed using microwave at 450 watt. The highest growth was observed in Nannochloropsis sp. at 165.1×10^4 cells.mL⁻¹, whereas the lowest cell growth was found in C. vulgaris at 31.01×10^4 cell.mL⁻¹. The highest lipid content was found in T. chuii at 37.44%, whereas the lowest was in C.*



This work is licensed under a
Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

vulgaris at 23.07%. This study showed that considerably high lipid yield can be obtained using low energy microwave.

Keywords: *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp., *T. chuii*, *Walne Media*, *Growth*, *Lipid Content*.

Article History :

Received; 14-09-2023; Revised; 07-10-2023; Accepted; 04-11-2023

PENDAHULUAN

Mikroalga adalah alga berukuran mikro yang bisa dijumpai di air tawar maupun air laut, mikroalga juga disebut sebagai spesies uniseluler yang dapat hidup soliter maupun berkoloni. Mikroalga adalah bahan baku generasi ketiga untuk produksi biofuel. Hal ini karena organisme ini dapat menghasilkan minyak dalam kisaran antara 1.500–7.700 liter/hektar/panen, sedangkan umur panen untuk satu siklus panen antara 5–7 hari (Basmal, 2008). Mikroalga mempunyai kandungan minyak yang cukup tinggi yaitu mencapai 70% dari berat kering, tidak membutuhkan tanah subur, tidak berkompetisi dengan pangan sehingga dapat dimanfaatkan sebagai senyawa bioaktif seperti dalam bidang pangan, kesehatan, industri dan energi terbarukan yang lebih berkelanjutan seperti sebagai bahan baku biodiesel, bioethanol, biomethane dan biohydrogen (Barqi, 2014).

Berbagai jenis mikroalga telah diidentifikasi mempunyai kandungan lipid dan mikroalga tersebut diantaranya adalah *C. vulgaris*, *Nonnochloropsis* sp. dan *T. chui* (Assad dkk, 2010). Kandungan lipid pada mikroalga *C. vulgaris* sebesar 28-75%, *Nonnochloropsis* sp. sebesar 3168% dan *T. chui* sebesar 15-23% (Pratama, 2011). *C. vulgaris* merupakan mikroalga yang sering dibudiyakan untuk energi alternatif (Amini & Susilowati, 2010). *Nannochloropsis* sp. merupakan mikroalga yang mampu menghasilkan lipid hingga $\pm 68\%$ (berat kering) serta toleran dengan kondisi lingkungan. Kadar lipid yang besar tersebut dapat digunakan untuk keperluan biofuel (Widayat & Hadiyanto, 2016). *T. chui* merupakan mikroalga dari golongan alga hijau yang mempunyai prospek sebagai sumber energi (meliputi gas aviasi, biodiesel, gasoline, dan bioetanol) (Maligan dkk., 2016).

Lipid yang terdapat pada mikroalga diperkirakan dapat mencapai 200 kali dibandingkan dengan tumbuhan besar penghasil minyak, seperti kelapa sawit dan jarak pagar. Lipid yang terdapat dalam sel mikroalga dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu lemak netral glikolipid (tersimpan dalam membran) dan lemak polar (tersimpan dalam bentuk plasma). Lemak-lemak netral inilah yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan biofuel dan biodiesel (Pratama, 2011). *C. vulgaris*, *Nonnochloropsis* sp. dan *T. chui* mengandung asam lemak terutama asam palmitat yang tinggi berkisar antara 20-37 % (Jay et al., 2018; Chen et al., 2011; Schulze et al., 2016) sehingga memiliki potensi sebagai bahan yang dapat dipakai sebagai pengganti minyak fosil (Purwanti, 2015).

Pupuk Walne merupakan pupuk yang biasa digunakan sebagai media kultur mikroalga hijau seperti *Spirulina* sp. (Amanatin & Nurhidayati, 2013), *Chlorella* sp. (Chilmawati & Suminto, 2008), *Nannochloropsis* sp. (Yanuaris dkk., 2019) dan *T. chui* (Putra dkk., 2015).



This work is licensed under a
Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

Media Walne dapat digunakan sebagai medium berbasis pupuk komersial untuk kultur *Nannochloropsis* sp. yang mampu menghasilkan berat biomassa kering tertinggi yaitu sebesar 6,78 gram (Sari dkk., 2012). Menurut Wijoseno (2011), dalam penelitiannya menyatakan bahwa mikroalga yang dikultivasi pada medium Walne memiliki kadar lipid tertinggi sebesar (42.58 %).

Proses ekstraksi lipid dari mikroalga sebagai suatu produk dapat dilakukan dengan menggunakan metode konvensional dan modern. Metode ekstraksi secara konvensional pada umumnya menggunakan pelarut organik yang memiliki dampak negatif seperti adanya residu yang beracun, perubahan kimia senyawa ekstrak dan limbah yang sulit terdegradasi (Sasongko et al., 2018). Ekstraksi secara konvensional menggunakan katalis basa homogen seperti KOH, NaOH, CH₃OK dan CH₃ONa (Hidayati dkk, 2017). Metode ekstraksi modern merupakan ekstraksi yang menggunakan alat-alat seperti ultrasonik (EAE), gelombang mikro (MAE), ekstraksi fluida superkritis (SFE) dan ekstraksi fluida bertekanan (Sulaswatty, 2019). Radiasi gelombang mikro (MAE) telah diketahui mampu mempercepat proses transesterifikasi sehingga mengurangi waktu ekstraksi (Faisal dkk., 2015). MAE juga mampu menghasilkan ekstrak mikroalga dalam bentuk lipid, protein, karbohidrat dan pigmen yang lebih murni (Kapooore et al., 2018).

Beberapa penelitian tentang ekstraksi lipid mikroalga dengan menggunakan MAE telah dilakukan oleh Bintari dkk (2018), yang mengekstraksi lipid dari mikroalga *S. platensis* yang dikultur dalam media Walne dengan daya radiasi gelombang mikro dari 80 sampai 560 watt dengan meningkatnya rendemen lipid hingga 1,27%. Mikroalga *T. chui* yang diekstrak pada radiasi yang sama menghasilkan rendemen lipid sebesar 0.67%. Sedangkan Barqi (2014), menyatakan bahwa ekstraksi mikroalga *Chlorella* sp. yang dilakukan dengan daya 300 watt menghasilkan rendemen lipid sebesar 0.424%, sedangkan pada daya 450 watt sebesar 0.482%. Berbeda halnya dengan penelitian Nurmitasari dan Reza (2017), menyatakan bahwa lipid minyak tertinggi dari *Chlorella* sp. sebanyak 88.45% dihasilkan pada daya 300 watt, kemudian diikuti dengan yield 80.4% pada daya 450 watt, dan 74.4% pada daya 600 watt.

Walaupun daya microwave yang lebih tinggi (>1000 watt) dan suhu tinggi (>65°C) mampu menghasilkan lipid yang lebih tinggi (Kapooore et al., 2018) namun berbagai penelitian di atas menunjukkan bahwa daya microwave 450 watt cukup efektif dalam menghasilkan ekstrak lipid yang tinggi untuk mikroalga hijau. Daya dan suhu yang rendah akan menghemat listrik dalam proses ekstraksi lipid untuk bahan baku bio-fuel terutama untuk negara-negara berkembang seperti Indonesia. Oleh karena itu, dalam penelitian ini ekstraksi lipid tiga jenis mikroalga hijau (*C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chui*) yang dikultur dalam media Walne dilakukan dengan daya 450 watt untuk mengetahui efektivitasnya.

METODE PENELITIAN

Media kultur yang digunakan adalah media Walne dalam air laut steril dengan kisaran salinitas 32 psu dan suhu 25°C. Sel yang diperbanyak berasal dari stok biakan murni dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Halu Oleo. Kultivasi dilakukan di dalam



This work is licensed under a
Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

ruang kultur menggunakan wadah botol plastik volume 1,5 L dengan volume kultur 1000 mL dengan tiga kali ulangan untuk setiap jenis mikroalga. Kepadatan awal kultur yang digunakan adalah $1 \times 10^5 \text{ sel.mL}^{-1}$.

Peningkatan jumlah sel mikroalga ditentukan dengan menghitung jumlah sel setiap 2 hari sekali menggunakan alat improved neubauer haemocytometer dan handcounter dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 10 x selama 8 hari periode kultur (Iba et al., 2018).

Pemanenan kultur mikroalga dilakukan pada hari ke-8 saat kultur telah memasuki tahap stasioner sesuai metode oleh Iba et al. (2018). Pemanenan untuk menghitung biomassa mikroalga dilakukan dengan menyaring 10 mL mikroalga dari masing-masing perlakuan menggunakan kertas GF/F whatman microfiber filter ($\Phi=47 \text{ mm}$) yang telah dikeringkan pada oven $100 \text{ }^\circ\text{C}$ selama 1 jam dan ditimbang, proses penyaringan dilengkapi dengan alat pompa vacump. Setelah biomassa mikroalga didapatkan langkah selanjutnya adalah membungkus hasil saringan dari biomassa mikroalga dengan menggunakan aluminium foil dan disimpan ke dalam desikator. Sedangkan pemanenan untuk ekstraksi lipid dilakukan dengan menambahkan 10 mL larutan NaOH 1 M ke dalam 1000 mL kultur mikroalga (larutan NaOH 1 M dibuat dengan cara melarutkan 10 gram NaOH ke dalam 250 mL aquades), kemudian didiamkan selama 1×24 jam hingga terbentuk endapan. Selanjutnya menyaring hasil endapan dengan menggunakan kertas saring whatman nomor 93 yang telah ditimbang berat awalnya kemudian dibilas dengan air tawar untuk menghilangkan kadar garam dalam biomassa mikroalga. Mikroalga yang telah disaring kemudian dikering anginkan selama 1×24 jam kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu $75 \text{ }^\circ\text{C}$ selama 3 jam, selanjutnya berat mikroalga ditimbang menggunakan timbangan analitik dan disimpan ke dalam plastik sampel lalu dimasukkan ke dalam kulkas.

Perhitungan Pertumbuhan dan Produksi Biomassa

Perhitungan laju pertumbuhan dilakukan menggunakan rumus yang mengacu pada Iba et al., (2019) sebagai berikut ini:

$$\mu = \% \frac{N_t}{T_2 - T_1} \quad (*)$$

..... (1)

Keterangan : μ = Laju pertumbuhan harian ($\text{sel.mL}^{-1} \cdot \text{hari}^{-1}$)

N_t = Kepadatan sel akhir (sel.mL^{-1})

N_0 = Kepadatan sel awal (sel.mL^{-1})

$T_2 - T_1$ = Waktu dari N_0 ke N_t .

Selanjutnya produktivitas biomassa mikroalga dihitung berdasarkan presentase berat kering biomassa (dry weight/DW) dan presentase berat kering biomassa bebas abu (ash free dry weight/AFDW). DW diperoleh dengan mengeringkan biomassa pada microfiber filter di



dalam oven dengan suhu 75⁰C selama 3 jam. DW dihitung menggunakan rumus yang mengacu pada persamaan yang dituliskan oleh Iba *et al* (2018), sebagai berikut:

$$DW = \frac{g}{mL} \times \text{Volume} \quad (2)$$

AFDW dihitung dengan cara mengeringkan filter yang mengandung biomassa mikroalga dalam tanur selama 5 jam dengan suhu 450⁰C. Selanjutnya AFDW dihitung menggunakan rumus yang mengacu pada persamaan dalam Iba *et al* (2018), sebagai berikut:

$$AFDW = \frac{g}{mL} \times \text{Volume} \quad (3)$$

Selanjutnya produktivitas biomassa mikroalga dapat dihitung dengan persamaan 6 yang mengacu pada Yuli (2020), berikut:

$$\text{Produktivitas biomassa (g/L/hari)} = AFDW \times \mu$$

.....(4) **Ekstraksi dan Perhitungan Lipid dengan Microwave**

Mikroalga dieskrak kandungan lipidnya menggunakan metode microwave dengan daya 450 watt mengacu pada Panjaitan dkk (2017). Biomassa kering mikroalga sebanyak 2 gram ke dalam labu leher satu kemudian ditambahkan pelarut (heksana;metanol, 1:5) sebanyak 10 mL.

Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dalam microwave dengan daya 450 watt dengan panjang gelombang 2.45 GHz pada suhu 35-65 °C selama 10 menit. Selanjutnya hasil ekstraksi didinginkan dan disaring dengan filtrat vakum untuk memisahkan filtrat dan residu. Residu kemudian dicuci dengan 5 ml pelarut heksana-metanol (1:1 v/v) sebanyak tiga kali dengan tujuan agar minyak yang tertinggal diresidu dapat diperoleh kembali. Filtrat kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan didistilasi untuk memisahkan pelarut dan lipid mikroalga. Lipid yang dihasilkan kemudian dimasukkan ke dalam botol ampul yang telah di hitung berat awalnya dan menghitung % yield yang didapatkan. Perhitungan presentase berat lipid berdasarkan Devita dkk. (2018), sebagai berikut:

$$Yield(\%) = \frac{\text{AFDW}}{\text{Volume}} \times 100 \quad (5)$$



Analisis Data

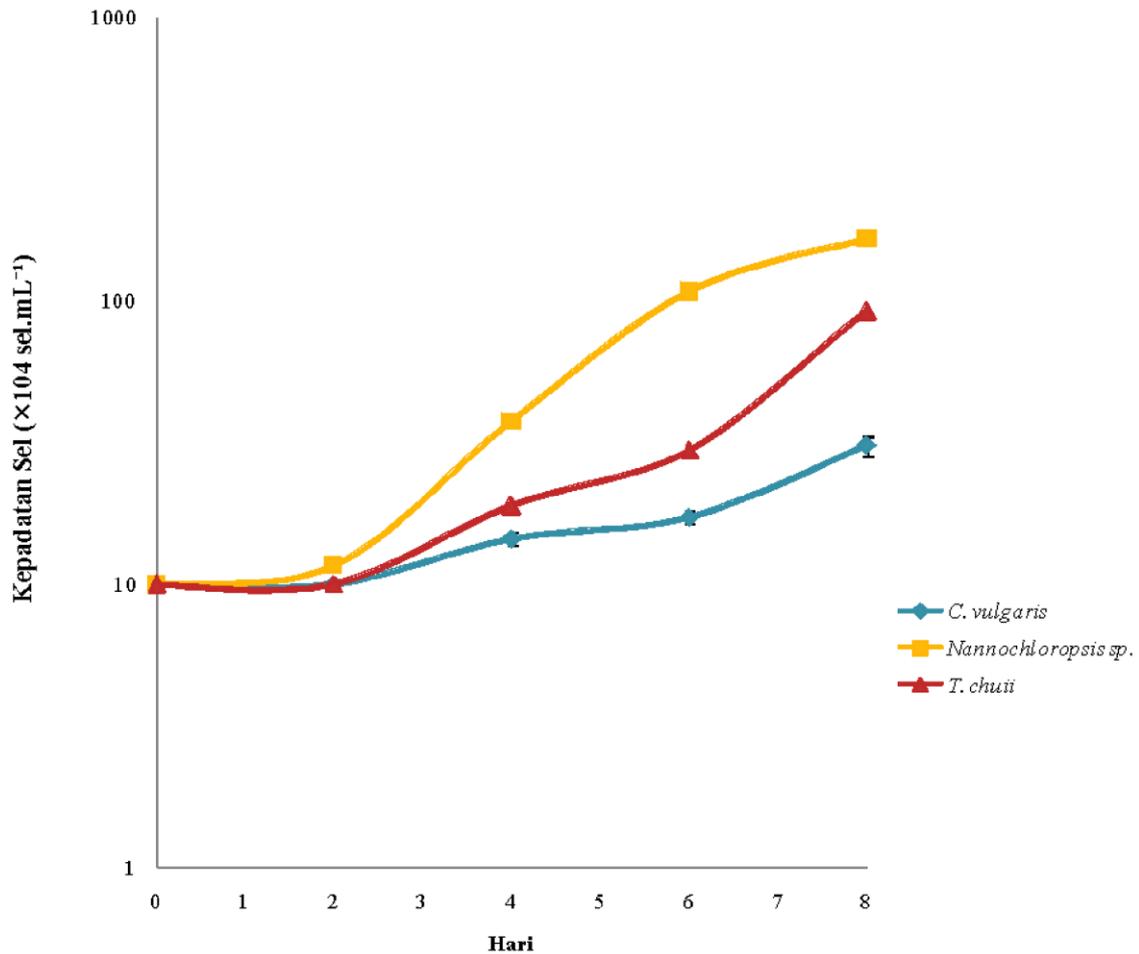
Pertumbuhan mikroalga disajikan dalam bentuk grafik dan dianalisa menggunakan *Repeated Measure analysis of variance* (ANOVA) sedangkan laju pertumbuhan spesifik, laju pertumbuhan spesifik, kandungan lipid, DW, AFDW dan produktivitas biomasa pada jenis mikroalga yang berbeda dianalisis menggunakan *one way* ANOVA. Apabila hasil berbeda nyata ($p < 0.05$) maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan bantuan aplikasi SPSS versi 22.0. Sedangkan untuk penyajian grafik menggunakan Microsoft Exel 2007.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan harian sel mikroalga mengalami fase adaptasi pada setiap jenis mikroalga. Nilai rata-rata kepadatan sel mikroalga dari yang tertinggi ke terendah untuk tiga jenis mikroalga yang diperoleh selama kultivasi berturut-turut yaitu *Nannochloropsis* sp. sebesar $165,1 \times 10^4$ sel.mL⁻¹, kemudian disusul oleh mikroalga *T. chui* sebesar $91,9 \times 10^4$ sel.mL⁻¹, sedangkan pertumbuhan kepadatan sel terendah terdapat pada mikroalga *C. vulgaris* sebesar $31,01 \times 10^4$ sel.mL⁻¹ (Gambar 1)

Berdasarkan hasil *Repeated Measure ANOVA* menunjukkan bahwa hari dan jenis mikroalga saling berinteraksi secara signifikan dan sangat mempengaruhi pertumbuhan sel mikroalga *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chui* selama penelitian ($p = 0,01$). Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroalga *C. vulgaris* tidak berbeda nyata dengan mikroalga *T. chui* namun berbeda nyata dengan mikroalga *Nannochloropsis* sp.





Gambar 1. Grafik pertumbuhan sel mikroalga dalam skala logaritma selama hari penelitian (rata-rata jumlah sel \pm SE)

Mikroalga diawal kultivasi mengalami peningkatan kepadatan sel sejak hari ke-2 kultivasi hingga hari ke-8. Hari ke-2 mikroalga *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chuii* telah memasuki fase lag, mikroalga tersebut sedang melakukan proses adaptasi dengan lingkungan kultivasi. Fase ini mikroalga membutuhkan waktu untuk menyesuaikan diri, karena lingkungan media cenderung berbeda dari lingkungan sebelumnya. Selama masa adaptasi sel alga lebih sensitif terhadap nutrisi, temperatur, dan kondisi yang berbeda dari kondisi aslinya (Elystia dkk, 2019). Hari ke-4 dan ke-6 mikroalga *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chuii* mengalami fase eksponensial. Selama fase ini sel membelah dengan cepat, sel-sel dalam keadaan stabil dan jumlah sel bertambah. Pembelahan sel terjadi pada fase ini dikarenakan nutrisi pada media Walne dan lingkungan kultivasi pertumbuhan mikroalga masih mendukung. Fase tersebut ditandai dengan naiknya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat beberapa kali lipat (Setyawati dkk., 2017). Hari ke-8 kepadatan sel mikroalga *C. vulgaris*, dan *T. chuii* belum mengalami fase stasioner atau masih mengalami fase log (fase pertumbuhan) berbeda halnya dengan mikroalga *Nannochloropsis* sp. mulai mengalami awal fase stasioner yang ditandai dengan penurunan kepadatan sel



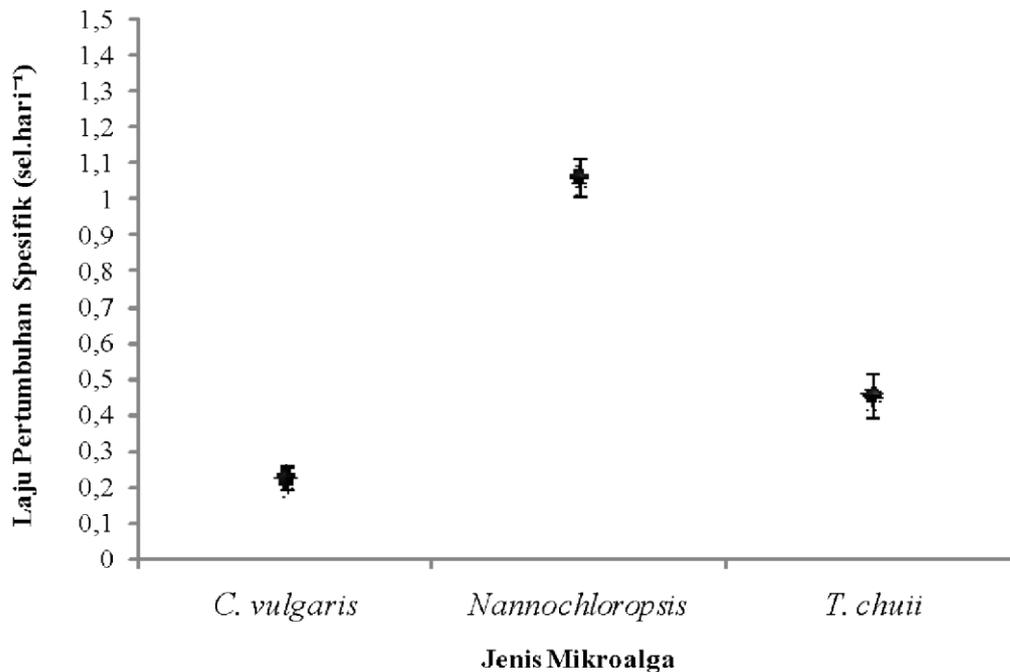
dibandingkan dengan fase eksponensial. Pertumbuhan sel mulai menurun dikarenakan nutrisi yang ada pada media Walne tersebut sudah mulai berkurang seiring dengan waktu kultur dan laju kematian lebih tinggi dari laju pertumbuhan (fase kematian) (Istirokhatun dkk, 2017). Fase ini menunjukkan bahwa laju pertumbuhan mikroalga sebanding dengan laju kematiannya sehingga kepadatan sel menjadi tetap, kondisi ini dapat digambarkan sebagai suatu grafik pertumbuhan yang konstan (Putra dkk., 2015).

Pertumbuhan mikroalga selain dipengaruhi oleh perbedaan jenis mikroalga, juga dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu nutrisi pada media kultur. Secara garis besar nutrisi dapat dibedakan menjadi 2 yaitu, makronutrien dan mikronutrien. Penelitian ini menggunakan media Walne sebagai media kultivasi, media Walne digunakan karena merupakan media umum yang digunakan proses kultivasi mikroalga. Sel mikroalga melakukan konsumsi senyawa organik dan nutrisi yang terdapat pada media Walne sebagai media pertumbuhan dan perkembangan. Unsur N berperan dalam pembelahan sel dalam proses reproduksi serta pembentukan dinding sel, sedangkan unsur Fosfor (P) digunakan oleh mikroalga untuk proses reproduksi (Dayanto dkk., 2013).

Nilai rata-rata laju pertumbuhan spesifik mikroalga dari yang tertinggi hingga rendah pada masing-masing perlakuan berturut-turut yaitu mikroalga *Nannochloropsis* sp. sebesar 1,0 sel.hari¹, kemudian disusul oleh mikroalga *T. chuii* yaitu 0,4 sel.hari¹, sedangkan nilai terendah terdapat pada mikroalga *C. vulgaris* yaitu 0,2 sel.hari¹. Laju pertumbuhan spesifik dari masing-masing perlakuan menunjukkan peningkatan yang berbeda-beda. Pertumbuhan spesifik tertinggi atau fase logaritmik mikroalga *C. vulgaris* dan *T. chui* terjadi pada hari ke-6 hingga hari ke-8, sedangkan pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. terjadi pada hari ke-2 hingga hari ke-6 (Gambar 2). Perbedaan laju pertumbuhan spesifik ini dikarenakan perbedaan jenis mikroalga yang digunakan ($p=0.01$). Perbedaan laju pertumbuhan spesifik dari masing-masing mikroalga tersebut juga dapat dipengaruhi oleh faktor internal dari mikroalga itu sendiri seperti ukuran sel yang mempengaruhi kecepatan pembelahan sel dan pemanfaatan nutrisi dalam media kultur karena strain atau spesies mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini berbeda (Ningsih dkk., 2017).

Laju pertumbuhan spesifik (μ) merupakan parameter yang menggambarkan kecepatan penambahan sel mikroalga per satuan waktu. Laju pertumbuhan spesifik (specific growth rate) berbanding lurus dengan pertumbuhan karena dengan laju pertumbuhan spesifik yang optimal akan menghasilkan pertumbuhan mikroalga tersebut akan optimal pula (Sigalingging dkk., 2019). Hal ini menunjukkan bahwa proses pembelahan sel mikroalga *Nannochloropsis* sp. menjadi lebih cepat dibandingkan mikroalga *T. chui* dan *C. vulgaris* sehingga penambahan sel per satuan waktu menjadi lebih besar seiring dengan penambahan waktu itu sendiri. Laju pertumbuhan spesifik menggambarkan hubungan antara pengaruh media Walne dengan kepadatan sel sehingga kecepatan pembelahan sel mikroalga per satuan waktu dapat dipakai sebagai tolak ukur untuk mengetahui daya dukung medium atau nutrisi terhadap pertumbuhan dan pembelahan sel mikroalga (Ochthreeani dkk., 2014).





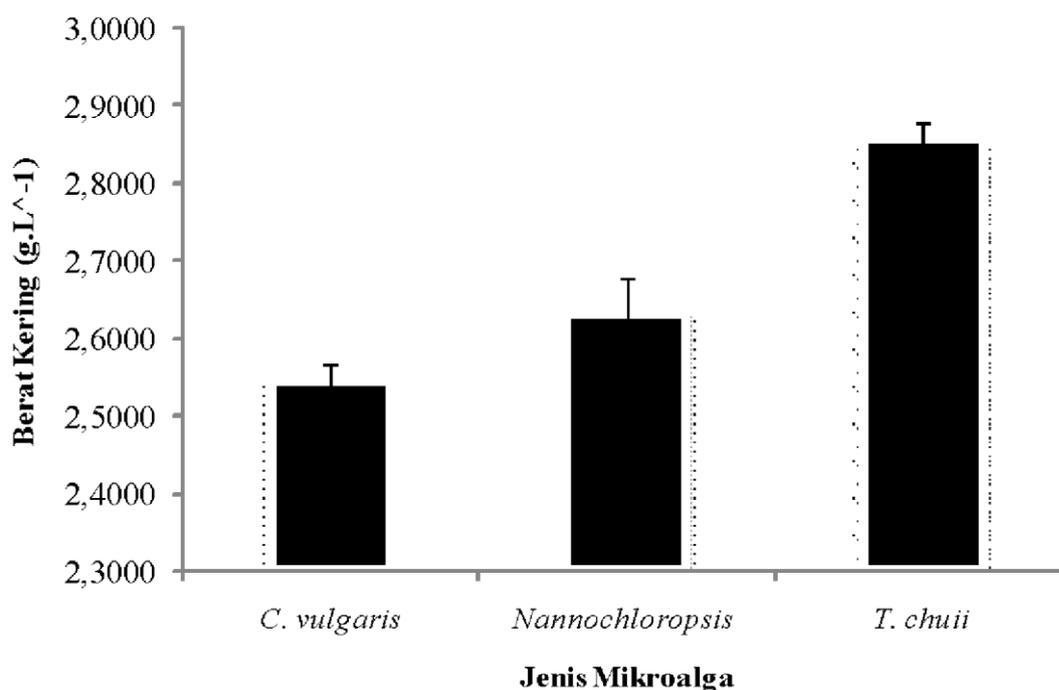
Gambar 2. Laju pertumbuhan spesifik (rata-rata \pm SE) tiga jenis mikroalga yang dikultur dalam media Walne

Produksi Biomassa Mikroalga

Berat kering mikroalga dari yang tertinggi dan terendah yaitu jenis mikroalga *T. chui* sebesar $2,9 \text{ g.L}^{-1}$, kemudian di ikuti mikroalga *Nannochloropsis* sp. sebesar $2,7 \text{ g.L}^{-1}$, serta mikroalga *C. vulgaris* dengan perolehan nilai berat kering terendah sebesar $2,5 \text{ g.L}^{-1}$. (Gambar 3). Berdasarkan hasil analisis ragam ANOVA menunjukkan bahwa, jenis mikroalga yang berbeda dalam kultur media Walne memberi pengaruh sangat nyata terhadap berat kering (DW) mikroalga *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chui* ($p=0,02$). Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa mikroalga *C. vulgaris* tidak berbeda nyata dengan mikroalga *Nannochloropsis* sp. namun berbeda nyata dengan mikroalga *T. chui*.

Hasil analisis menunjukkan bahwa berat kering (DW) mikroalga dipengaruhi oleh proses pemanenan sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Djunaedi (2015), bahwa perlakuan pemanenan yang berbeda memberikan respon terhadap berat kering. Faktor lain yang mempengaruhi berat kering mikroalga adalah nutrisi, aerasi, salinitas, pH dan suhu untuk pertumbuhan dari mikroalga tersebut (Ermavitalini et al., 2019). Jenis mikroalga juga merupakan faktor yang mempengaruhi berat kering mikroalga. Penelitian ini menggunakan jenis mikroalga yang berbeda yaitu *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chui* dengan ukuran selnya tidak sama. Mikroalga *T. chui* memiliki ukuran sel yang lebih besar yaitu berkisar 7-12 mikron (Nurmalitasari dkk., 2014) dibandingkan mikroalga *Nannochloropsis* sp. memiliki ukuran sel 2-4 mikron dan mikroalga *C. vulgaris* memiliki ukuran sel 2-8 mikron (Arifah, 2014) sehingga nilai berat kering mikroalga *T. chui* lebih besar.



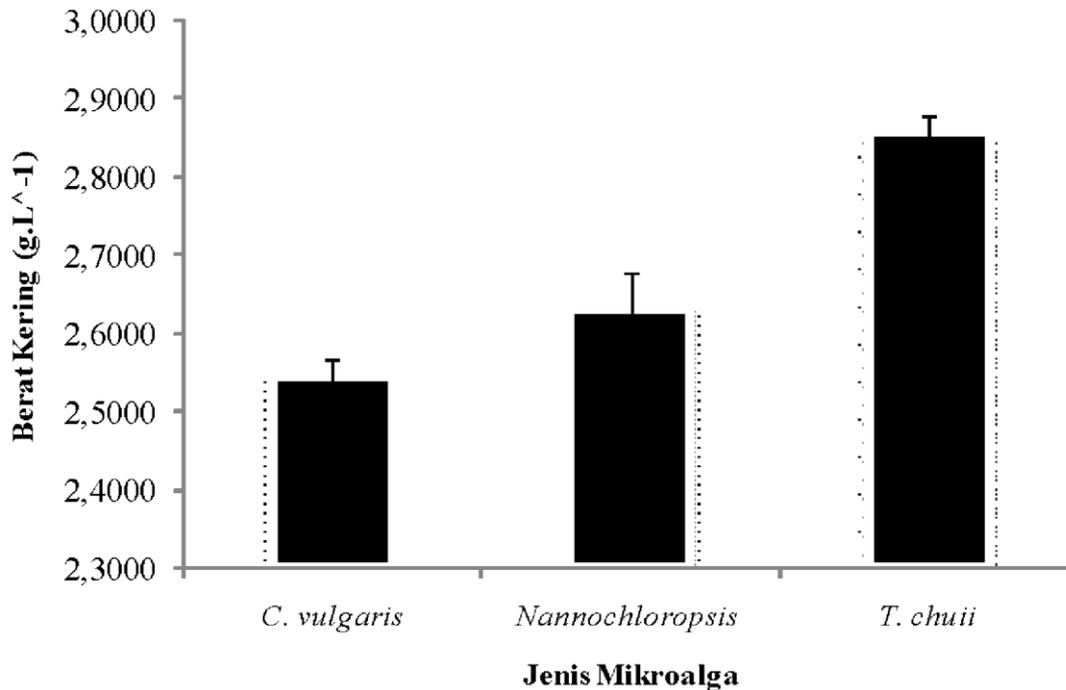


Gambar 3. Berat kering mikroalga (rata-rata \pm SE) yang dikultur menggunakan media Walne

Nilai rata-rata berat kering bebas abu setiap perlakuan yang tertinggi adalah mikroalga *T. chui* sebesar 2,0 g.L⁻¹, dan mikroalga *Nannochloropsis* sp. sebesar 1,7 g.L⁻¹, sedangkan yang terendah yaitu pada mikroalga *C. vulgaris* sebesar 1,6 g.L⁻¹ (Gambar 4). Berdasarkan hasil analisis ragam ANOVA menunjukkan bahwa, jenis mikroalga yang berbeda dalam kultur media Walne memberi pengaruh sangat nyata terhadap berat kering bebas abu (AFDW) mikroalga *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chui* ($p=0.00$). Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa mikroalga *C. vulgaris* tidak berbeda nyata dengan mikroalga *Nannochloropsis* sp. namun berbeda nyata dengan mikroalga *T. chui*.

Nilai kadar abu (AFDW) yang tertinggi diperoleh pada mikroalga *T. chui* hal ini disebabkan karena tingginya nilai berat kering *T. chui* sebelum diabukan selain itu, mikroalga *T. chui* dapat memanfaatkan kandungan garam pada media Walne karena ukuran selnya yang lebih besar. Kadar abu memiliki hubungan dengan mineral suatu bahan dan mineral tersebut dapat berupa garam. Tingginya kadar abu yang diperoleh pada penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber mineral (makro nutrien) (Darsi dkk., 2012). Mikroalga mampu menggunakan media Walne sebagai media pertumbuhannya dikarenakan dalam media Walne terdapat unsur mineral berupa logam, fosfor maupun nutrien lainnya (Widianingsih dkk., 2010).



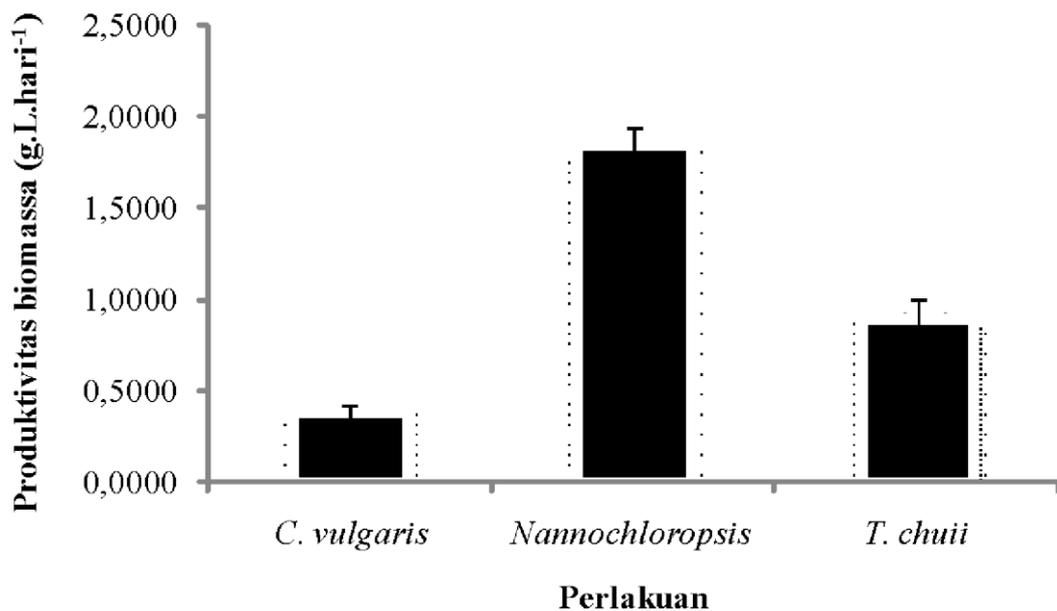


Gambar 4. Berat kering bebas abu (rata-rata \pm SE) tiga jenis mikroalga

Nilai rata-rata produktivitas biomassa dari masing-masing kultur mikroalga dari yang tertinggi terdapat pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. sebesar 1,8 g.L⁻¹.hari⁻¹, kemudian mikroalga *T. chui* sebesar 0,8 g.L⁻¹.hari⁻¹ dan produktivitas biomassa yang terendah terdapat pada mikroalga *C. vulgaris* sebesar 0,3 g.L⁻¹.hari⁻¹ (Gambar 5). Berdasarkan hasil analisis ragam ANOVA menunjukkan bahwa, jenis mikroalga yang berbeda dalam kultur media Walne memberi pengaruh sangat nyata terhadap produktivitas biomassa mikroalga *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chui* ($p=0,01$). Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa mikroalga *C. vulgaris* tidak berbeda nyata dengan mikroalga *T. chui* namun berbeda nyata dengan mikroalga *Nannochloropsis* sp.

Mikroalga yang digunakan pada penelitian ini berberda-beda sehingga produktivitas biomasanya juga berbeda, produktivitas biomassa *Nannochloropsis* sp. lebih tinggi dibandingkan *C. vulgaris* dan *T. chui*. Nilai produktivitas biomassa dipengaruhi oleh laju pertumbuhan spesifik mikroalga dapat dilihat pada Gambar 2. Mikroalga *Nannochloropsis* sp. memiliki laju pertumbuhan spesifik yang lebih tinggi dibandingkan *C. vulgaris* dan *T. chui* sehingga nilai produktivitas biomasanya lebih tinggi. Kultur *Nannochloropsis* sp. biasanya menggunakan pupuk Walne karena dalam waktu singkat pupuk dapat meningkatkan kepadatan sel sehingga setelah panen (masa puncak) \pm 5 (lima) hari. Keseluruhan faktor tersebut akan menentukan waktu yang dibutuhkan oleh kultur mikroalga hingga mencapai akhir fase eksponensial (Ochthreeani dkk., 2014).





Gambar 5. Produktivitas biomassa (rata-rata ± SE) tiga jenis mikroalga yang dikultur menggunakan media Walne

Kandungan Lipid Mikroalga

Nilai kadar lipid tertinggi terdapat pada mikroalga *T. chui* sebesar 37.44 %, kemudian mikroalga *Nannochloropsis* sp. sebesar 24.32 %, sedangkan kadar lipid terendah terdapat pada mikroalga *C. vulgaris* sebesar 23.07 % (Tabel 1) Meningkatnya kadar lipid dari mikroalga ditentukan dari besarnya biomassa yang diperoleh, hal ini sejalan dengan penelitian Bintari & Elyani (2017), menyatakan bahwa peningkatan daya sebanding dengan transfer massa hingga mencapai titik tertentu, yakni diperolehnya rendemen yang optimum. Selain itu meningkatnya kadar lipid dari mikroalga ditentukan dari besarnya biomassa yang diperoleh, hal ini sejalan dengan penelitian Bintari & Elyani (2017), menyatakan bahwa peningkatan daya sebanding dengan transfer massa hingga mencapai titik tertentu, yakni diperolehnya rendemen yang optimum.

Tabel 1. Kandungan Lipid *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chui* yang diekstrak menggunakan MAE 450 watt selama 10 menit

No	Jenis Mikroalga	Kepadatan Sel ($\times 10^4$ Sel.ml ⁻¹)	Lipid (%)
1	2	3	4
1.	<i>C. vulgaris</i>	31,01	23.07 %
2.	<i>Nannochloropsis</i> sp.	165,1	24.32 %
3.	<i>T. chui</i>	91,9	37.44 %



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

Berdasarkan hasil analisis ragam ANOVA menunjukkan bahwa pemberian pupuk Walne memberikan pengaruh nyata terhadap kadar lipid mikroalga *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chui* ($p=0,02$). Menurut Hasanudin (2012), produksi lipid didalam sel mikroalga berhubungan dengan intensitas cahaya dan ketersediaan nutrisi. Aktifitas fotosintesis yang semakin cepat akan meningkatkan pertumbuhan sel, namun di sisi lain semakin meningkatnya pertumbuhan sel dapat menurunkan kandungan nutrisi yang ada di dalam media, sehingga mikroalga akan cenderung membentuk lipid sebagai cadangan makanan.

Mikroalga jenis *Nannochloropsis* sp. dalam penelitian ini tidak memiliki kandungan lipid yang tinggi seperti di penelitian lain yang mencapai 31-68 % berat kering (Wijanarko & Putri, 2012; Purwanti, 2015; Kapoore et al. 2018). Hal ini diduga karena perbedaan daya microwave dan lama ekstraksi. Kapoore et al. 2018 melakukan ekstraksi lipid pada kondisi 2.45 GHz, 1200 W, 120 °C selama 50 min. Namun demikian penelitian ini menunjukkan bahwa dengan kondisi microwave pada daya rendah dan waktu ekstraksi yang singkat dapat diperoleh lipid yang cukup tinggi pada ketiga jenis mikroalga yang dikultur.

KESIMPULAN

Pertumbuhan dan produktivitas biomassa tertinggi pada mikroalga hijau yang dikultur menggunakan media Walne ditemukan pada jenis *Nannochloropsis* sp., sedangkan jenis *T. chui* mengandung lipid paling tinggi saat diekstrak menggunakan microwave pada daya 450 W selama 10 menit. Oleh karena itu penggunaan microwave untuk ekstraksi lipid sangat disarankan untuk produksi lipid sebagai bahan baku biofuel yang berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanatin, D.R., & Nurhidayati, T. (2013). Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Media Ekstrak Tauge (MET) dengan Pupuk Urea Terhadap Kadar Protein Spirulina sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(2), 2–5.
- Amini, S., & Syamdidi. (2006). Konsentrasi Unsur Hara Pada Media dan Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dengan Pupuk Anorganik Teknis dan Analis. *Jurnal Perikanan*, 8(2), 201–206. <https://doi.org/10.22146/jfs.141>
- Arifah, S. (2014). Studi Kemampuan *Nannochloropsis* sp. dan *Chlorella* sp. Sebagai Agen Bioremediasi Logam Berat Merkuri (Hg) dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan. Skripsi. Universitas Airlangga.
- Assadad, L., Utomo, B.S.B., & Sari, R.N. (2010). Pemanfaatan Mikroalga Sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Squalen*, 5(2), 51–58.
- Barqi, W.S. (2014). Pengambilan Minyak Mikroalga *Chlorella* sp. dengan Metode Microwave Assisted Extraction. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 4(1), 34–41. <https://doi.org/10.15294/jbat.v3i1.5764>



This work is licensed under a
Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

- Basmal, J. (2008). Peluang dan Tantangan Produksi Mikroalga Sebagai Biofuel. *Jurnal Squalen*, 3(1), 34–39.
- Bintari, Y.R., & Elyani, H. (2017). Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari *Cladophora* sp. dengan Metode Solvent Free Microwave Assisted Extraction (SFMAE). *Journal Of Islamic Medicine Research*, 1(1), 1–11.
- Chen, C.Y., Yeh, K.L., Aisyah, R., Lee, D.J., & Chang, J.S. (2011). Cultivation, Photobioreactor Design and Harvesting of Microalgae for Biodiesel Production: A Critical Review. *Bioresource Technology*, 102(1), 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.159>
- Chilmawati, D., & Suminto. (2008). Penggunaan Media Kultur yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. *Jurnal Saintek Perikanan*, 4(1), 42–49. <https://doi.org/10.14710/Ijfst.4.1.42-49>
- Darsi, R., Supriadi, A., & Sasanti, A.D. (2012). Karakteristik Kimiawi dan Potensi Pemanfaatan *Dunaliella salina* dan *Nannochloropsis* sp. *Journal Fishtech*, 1(1), 14–25. <https://www.neliti.com/id/publications/60990>
- Dayanto, L. B. D., Diantari, R., & Hudaidah, S. (2013). Pemanfaatan Pupuk Cair TNF® untuk Budidaya *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 2(1), 1–6.
- Devita, I., Isnaini, & Diansyah, G. (2018). Kultivasi Mikroalga *Chaetoceros* sp. dan *Spirulina* sp. untuk Potensi Biodiesel. *Jurnal Maspari*, 10(2), 123–130.
- Djunaedi, A. (2015). Produksi Biomassa Mikroalga (*Tetraselmis chuii*) dengan Sistem Pemanenan Berbeda. *Jurnal Kelautan Tropis*, 18(2), 107–111.
- Elystia, S., Lestari, A.S., & Muria, S.R. (2019). Peningkatan Kandungan Lipid dan Biomassa Mikroalga *Scenedesmus* sp. dari Media Kultivasi Limbah Cair Tahu Sebagai Bahan Baku Biodiesel. *Jurnal Teknik Lingkungan*, 5(2), 19–28.
- Ermavitalini, D., Dwirejeki, S., Nurhatika, S., & Saputro, T.B. (2019). Pengaruh Kombinasi Cekaman Nitrogen dan Fotoperiode Terhadap Biomassa, Kandungan Kualitatif Triasilgliserol dan Profil Asam Lemak Mikroalga *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Akta Kimindo*, 4(1), 32–49.
- Faisal, A., Usman, T., & Alimuddin, A.H. (2015). Transesterifikasi Langsung Mikroalga (*Chlorella* sp.) dengan Radiasi Gelombang Mikro. *JKK*, 4(2), 76–80.
- Hasanudin, M. (2012). Pengaruh Perbedaan Intensitas Cahaya Terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Scenedesmus* sp. yang Dibudidayakan pada Limbah Cair Tapioka. *Skripsi*. <https://doi.org/10.1017/Cbo9781107415324.004>
- Hidayati, N., Ariyanto, T.S., & Septiawan, H. (2017). Transesterifikasi Minyak Goreng Bekas Menjadi Biodiesel dengan Katalis Kalsium Oksida. *Jurnal Teknologi Bahan Alam*, 1(1), 1–5.
- Iba, W., Rice, M., Maranda, L., & Wikfors, G. (2018). Growth Characteristics of Newly Isolated Indonesian Microalgae Under Different Salinity. *Journal Indonesian Aquaculture*, 13(2), 71–81. <https://doi.org/10.15578/Iaj.13.2.2018.71-81>



- Iba, W., Utami, C., & Balubi, A. M. (2019). The Growth of *Chlorella vulgaris* Cultured in Liquid Organic Fertilizer of Water Hyacinth H (*Eichhornia crassipes*) at Different Salinities. *Aquacultura Indonesiana*, 20(2), 117–126. <https://doi.org/10.21534/ai.v20i2.158>
- Istirokhatun, T., Aulia, M., & Utomo, S. (2017). Potensi *Chlorella* sp. untuk Menyisihkan COD dan Nitrat dalam Limbah Cair Tahu. *Jurnal Presipitasi : Media Komunikasi dan Pengembangan Teknik Lingkungan*, 14(2), 88. <https://doi.org/10.14710/Presipitasi.V14i2.88-96>
- Jay, M.I., Kawaroe, M., & Effendi, H. (2018). Lipid and Fatty Acid Composition Microalgae *Chlorella vulgaris* Using Photobioreactor and Open Pond. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 141(1), 2–8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/141/1/012015>
- Kapoor, R.V., Butler, T.O., Pandhal, J., & Vaidyanathan, S. (2018). Microwave-Assisted Extraction for Microalgae: From Biofuels to Biorefinery. *Biology*, 7(1), 18. <https://doi.org/10.3390/biology7010018>
- Maligan, J.M., Adhianata, H., & Zubaidah, E. (2016). Produksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba dari Mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan Metode UAE (Kajian Jenis Pelarut dan Jumlah Siklus Ekstraksi). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 17(3), 203–213.
- Ningsih, D.R., Widiastuti, E.L., Murwani, S., & Tugiyono. (2017). Kadar Lipid Tiga Jenis Mikroalga pada Salinitas yang Berbeda. *Jurnal Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*, 4(1), 23–29.
- Nurmalitasari, E., Ridlo, A., & Sunaryo. (2014). Injeksi Karbon Dioksida (CO₂) pada Media Pemeliharaan Terhadap Biomassa dan Kandungan Total Lipid Mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Journal Of Marine Research*, 3(3), 388–394.
- Nurmitasari, Y., & Reza, A.R. (2017). Ekstraksi Minyak dari Mikroalgae (*Chlorella* sp.) dengan Microwaved Assisted Extraction Sebagai Bahan Pembuatan Biodiesel. Skripsi. Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Octhreeani, A.M., Supriharyono, & Soedarsono, P. (2014). Pengaruh Perbedaan Jenis Pupuk Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. Dilihat dari Kepadatan Sel dan Klorofil A Pada Skala Semi Massal. *Journal Diponegoro Of Maquares*, 3(2), 102–108.
- Panjaitan, R., Asrim, W.O.M., & Dr. Lailatul Qadariah, S.T., M. . (2017). Pembuatan Biodiesel Dari Mikroalga *Chlorella* sp. dengan Metode Microwave-Assisted Transesterification Secara In Situ. Skripsi. Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Pratama, I. (2011). Pengaruh Metode Pemanenan Mikroalga Terhadap Biomassa dan Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris*. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Purwanti, A. (2015). Pengaruh Proses Ekstraksi Bertekanan dalam Pengambilan Lipid dari Mikroalga Jenis *Nannochloropsis* sp. dengan Pelarut Metanol. *Jurnal Teknologi Technoscintia*, 7(2), 112–117.
- Putra, I.K.R.W., Anggreni, A.A.M.D., & Arnata, I.W. (2015). Pengaruh Jenis Media Terhadap Konsentrasi Biomassa dan Klorofil Mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 3(2), 40–46.



- Sari, A.S.P., Wisanti, & Ratnasar, E. (2012). Pengaruh Pemberian Jenis Pupuk yang Berbeda Terhadap Laju Pertumbuhan Populasi dan Kadar Lemak *Nannochloropsis oculata*. *Jurnal Lentera Bio*, 1(1), 55–62.
- Sasongko, A., Nugroho, R.W., Setiawan, C.E., Utami, I.W., & Pusfitasar, M.D. (2018). Aplikasi Metode Nonkonvensional pada Ekstraksi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi Terpadu*, 6(1), 8–13. <https://doi.org/10.32487/Jtt.V6i1.433>
- Schulze, P.S.C., Pereira, H.G.C., Santos, T.F.C., Schueler, L., Guerra, R., Barreira, L.A., Perales, J.A., & Varela, J.C.S. (2016). Effect of Light Quality Supplied by Light Emitting Diodes (LEDs) on Growth and Biochemical Profiles of *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis chunii*. *Algal Research*, 16(1), 387–398. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.034>
- Setyawati, F., Satyantini, W.H., Arief, M., & Kismiyati. (2017). Teknik Kultur *Tetraselmis chunii* dalam Skala Laboratorium Di PT. Central Pertiwi Bahari, Rembang, Jawa Tengah. *Journal of Aquaculture And Fish Health*, 7(2), 63–69.
- Sigalingging, F.A., Padil, & Muria, S.R. (2019). Kultivasi Mikroalga Menggunakan Media AF6 Berdasarkan Perbedaan Volume Solution A Media AF6. *Jurnal Jom Fteknik*, 6(1), 247–255.
- Sulaswatty, A. (2019). Penerapan Teknologi Nonkonvensional dalam Ekstraksi Komponen Utama Atsiri dan Produk Turunannya Di Indonesia (LIPI (Ed.)). Agustus 2019.
- Widayat, & Hadiyanto. (2016). Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu untuk Produksi Biomassa Mikroalga *Nannochloropsis sp.* sebagai Bahan Baku Biodiesel. *Reaktor*, 15(4), 253. <https://doi.org/10.14710/Reaktor.15.4.253-260>
- Widianingsih, Ridho, A., Hartati, R., & Harmoko. (2010). Kandungan Nutrisi *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Media yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 13(3), 167–170. <https://doi.org/10.14710/Ik.Ijms.13.3.167-170>
- Wijanarko, B., & Putri, L. D. (2012). Ekstraksi Lipid dari Mikroalga (*Nannochloropsis sp.*) Dengan Solven Methanol dan Chloroform. *Jurnal Teknologi Kimia Dan Industri*, 1(1), 130–138.
- Wijoseno, T. (2011). Uji Pengaruh Variasi Media Kultur Terhadap Tingkat Pertumbuhan dan Kandungan Protein, Lipid, Klorofil, dan Kaotenoid Pada Mikroalga *Chlorella vulgaris* Buitenzorg. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Yanuaris, L. M., Kusdarwati, R., & Kismiyati. (2019). Pengaruh Fermentasi *Actinobacillus sp.* pada Kotoran Sapi Sebagai Pupuk Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis Sp.* *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 4(1), 1–6. <https://doi.org/10.1017/Cbo9781107415324.004>
- Yuli, N. (2020). Pertumbuhan dan Kandungan Protein Mikroalga *Chlorella vulgaris* yang Dikultur Menggunakan Limbah Cair Hotel. Skripsi. Universitas Halu Oleo.

