

**PENGARUH KADAR NITRAT TERHADAP PERTUMBUHAN
DAN KADAR LIPID MIKROALGA *Melosira* sp. SEBAGAI
TAHAP AWAL PRODUKSI *BIOFUEL***

SKRIPSI

**Disusun untuk melengkapi syarat-syarat
guna memperoleh gelar Sarjana Sains**



DWI OKTAVIANI

3425122206

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM**


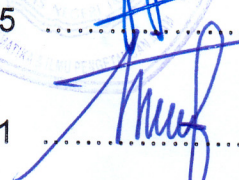
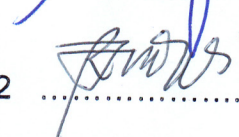
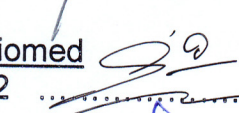
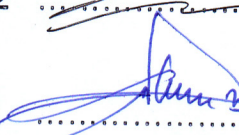
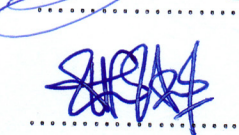
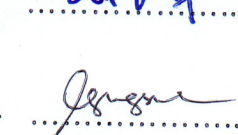
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA

2016

PERSETUJUAN PANITIA UJIAN SKRIPSI

PENGARUH KADAR NITRAT TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KADAR LIPID MIKROALGA *Melosira* sp. SEBAGAI TAHAP AWAL PRODUKSI BIOFUEL

Nama : Dwi Oktaviani
No. Reg : 34251222067

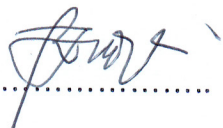
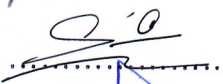
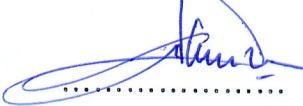

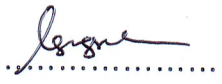
Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penanggung Jawab Dekan :Prof. Dr. Suyono, M.Si. NIP. 19671218 199303 1 005		10/08/2016
Wakil Penanggung Jawab Pembantu Dekan :Dr. Muktiningsih, M.Si NIP. 19640511 198903 2 001		09/08/2016
Ketua: :Dr. Reni Indrayanti, M.Si. NIP. 19621023 199803 2 002		08/08/2016
Sekretaris/Penguji :Ns. Sri Rahayu, S.Kep., M.Biomed NIP. 19790925 200501 2 002		03/08/2016
Anggota Pembimbing I :Dr. Adisyahputra, MS. NIP. 19601111 198703 1003		04/08/2016
Pembimbing II :Nilna Amelia, S.Si, M.Eng. NIP. 749523		01/08/2016
Penguji II :Agung Sedayu, S.Si, M.Sc. NIP. 19750911 200112 1 004		01/08/2016

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 25 Juli 2016

**HALAMAN PERSETUJUAN REVISI
SIDANG SKRIPSI**

**PENGARUH KADAR NITRAT TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KADAR LIPID
MIKROALGA *Melosira* sp. SEBAGAI TAHAP AWAL PRODUKSI BIOFUEL**

**Nama : Dwi Oktaviani
No. Reg : 34251222067**

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua	: <u>Dr. Reni Indrayanti, M.Si.</u> NIP. 19621023 199803 2 002		08/08/2016
Sekretaris/Penguji	: <u>Ns. Sri Rahayu, S.Kep., M.Biomed</u> NIP. 19790925 200501 2 002		03/08/2016
Anggota Pembimbing I	: <u>Dr. Adisyahputra, MS.</u> NIP. 19601111 198703 1003		04/08/2016
Pembimbing II	: <u>Nilna Amelia, S.Si, M.Eng.</u> NIP. 749523		01/08/2016
Penguji II	: <u>Agung Sedayu, S.Si, M.Sc.</u> NIP. 19750911 200112 1 004		01/08/2016

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 25 Juli 2016

ABSTRAK

DWI OKTAVIANI. Pengaruh Kadar Nitrat terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Melosira* sp. sebagai Tahap Awal Produksi *Biofuel*. Skripsi. Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. 2016.

Kebutuhan Indonesia di sektor energi semakin meningkat setiap tahunnya, sedangkan energi fosil yang merupakan sumber energi utama semakin menurun. Oleh sebab itu, perlu dilakukan usaha-usaha untuk mencari bahan bakar alternatif untuk memenuhi kebutuhan energi di Indonesia. Indonesia memiliki kekayaan alam, diantaranya mikroalga *Melosira* sp. yang dapat dikembangkan menjadi *biofuel* karena memiliki asam lemak C:16 (asam palmitat dan asam palmitoleat) yang tinggi. Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa *Melosira* sp. memiliki biomassa yang tinggi, namun kadar lipid nya cukup rendah. Kadar lipid dipengaruhi oleh zat hara, salah satunya yaitu nitrogen. Tujuan penelitian ini yaitu untuk menentukan kadar nitrat yang optimal untuk produksi lipid pada mikroalga *Melosira* sp. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Alga Pertamina *Research and Development* Pulogadung, Jakarta, pada bulan Desember 2015 - April 2016, meliputi tahap kultivasi, pemanenan, penghitungan biomassa, ekstraksi dan destilasi. Variasi konsentrasi kadar nitrat pada medium f/2 yaitu 0,88 M (kontrol), 0,58 M, 1,17 M, 1,47 M diberikan di tahap kultivasi pada aquarium. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Parameter yang diamati: kurva pertumbuhan, laju pertumbuhan, biomassa dan kadar lipid. Hasil penelitian menunjukkan laju pertumbuhan tertinggi didapatkan dari kadar nitrat 1,17 M dan 1,47 M. Biomassa tertinggi didapatkan dari kadar nitrat 1,47 M. Hal ini dikarenakan nitrat pada kultur dapat dimanfaatkan secara optimal untuk pembentukan biomassa melalui proses fotosintesis. Sedangkan kadar lipid tertinggi didapatkan dari perlakuan dengan kadar nitrat 0,58 M.

Kata kunci: *Melosira* sp., energi terbarukan, solusi krisis energi Indonesia, nitrat.

ABSTRACT

DWI OKTAVIANI. Effect of Nitrate Levels on the Growth and Lipid Levels in Microalgae *Melosira* sp. as the Early Stage of Biofuel Production. Undergraduate Thesis. Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, State University of Jakarta. 2016.

Indonesia needs in the energy sector is increasing every year, while fossil fuels are the main energy source decreases. Therefore, there should be efforts to find alternative fuels to complete Indonesia needs in energy. Indonesia has natural resources, such as microalgae *Melosira* sp. which can be developed into a biofuel because the fatty acids C:16 (palmitic acid and palmitoleic acid) are high. Previous research has suggested that *Melosira* sp has a high biomass, but low lipid levels. Lipid levels are influenced by nutrients, one of which is nitrogen. The aim of this research was to determine optimum nitrate levels for growth and lipid level of *Melosira* sp. This research was conducted in the Algae laboratory of Pertamina Research and Development Pulogadung, Jakarta, in December 2015-April 2016, includes the step of cultivation, harvesting, calculating biomass, extraction and distillation. Variations in the concentration of nitrate levels in medium f/2 is 0,88 M (control), 0,58 M, 1,17 M, 1,47 M given at the stage of cultivation in the aquarium. This study uses a completely randomized design (CRD). Parameter observed: the growth curve, growth rate, biomass and lipid levels. The results showed the highest growth rate obtained from the treatment with nitrate levels 1,17 M and 1,47 M. Highest biomass growth rate obtained from the treatment with nitrate levels 1,47 M. This is because the nitrate in the culture can be optimally used for the formation of biomass through photosynthesis. While the highest lipid levels obtained from the treatment with nitrate levels 0,58 M.

Keyword: *Melosira* sp., renewable energy, Indonesia critical energy solution, nitrate.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamiin, segala puji bagi Allah SWT. Berkat rahmat dan ridho-NYA penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam juga tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, karena berkat perjuangannya memerangi kejahiliah, penulis dapat berkarya tanpa terhalang penindasan kedzaliman. Skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

Bapak Dr. Adisyahputra, M.S. dan Ibu Nilna Amelia, S.Si, M.Eng. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, motivasi, masukan serta kesabaran untuk membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Ibu Ns. Sri Rahayu, S.Kep., M.Biomed. dan Bapak Agung Sedayu, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberi masukan dan saran kepada penulis dalam penulisan skripsi ini.

Pihak Pertamina *Learning Center* dan Pertamina *Research and Development* yang telah memberikan izin penelitian skripsi. Seluruh karyawan Pertamina *Research and Development*, terutama Mas Abinubli, Mas Isa, Mas M. Syarif, Mbak Nita, Uni Fifi, Mas Wawan, Mas Eko, Mbak Binta dan Mbak Wilda, yang telah berbaik hati membimbing,

menyemangati dan mendengarkan keluh kesah penulis dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Kedua orang tua penulis yaitu Bapak Fatoni dan ibu Nasiyah yang telah mendukung, mendoakan dan merestui seluruh tubuh dan jiwa ini untuk menyelesaikan amanah menuntut ilmu di tingkat perguruan tinggi dan juga untuk kakak penulis yaitu Eka Yunita yang telah membantu dan menyemangati penulis sehingga dapat terselesaikannya skripsi ini.

Keluarga besar Biologi 2012, terutama Ti-Be geng: Family, Stefani, Agustina, Putri, Hazleini, Andisa, Sherly, Tiya, Dinda, yang telah memberikan semangat dan dukungannya kepada penulis selama proses penelitian, sampai dengan terselesaikannya skripsi ini. Keluarga Kelompok Peneliti Muda UNJ yang telah memberikan ilmunya dan dukungan pada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Rekan seperjuangan penelitian tugas akhir di Pertamina *Research and Development*, yaitu Farah, Ratih, Hanifah, Rizal, Panji, Taufik dan Rahmat yang telah menyemangati dan membantu penulis dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi. Kak Siska Handayani yang telah memberikan dukungan, bantuan, saran dan ilmunya kepada penulis. Kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi semua pembaca dan dapat digunakan sebaik-baiknya.

Jakarta, Juni 2016

Dwi Oktaviani

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR DAN PERUMUSAN HIPOTESIS.....	4
A. Kajian Pustaka.....	4
1. <i>Melosira</i> sp.....	4
2. Lipid <i>Melosira</i> sp.	5
3. Pertumbuhan dan Perkembangan Sel <i>Melosira</i> sp	8
4. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga <i>Melosira</i> sp... ..	10
5. Peran Nutrisi Nitrat dalam Pertumbuhan Mikroalga	12
6. Kultivasi Mikroalga.	15
7. Ekstraksi Lipid	16
8. <i>Biofuel</i>	17

B. Kerangka Berpikir	19
C. Hipotesis Penelitian	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Tujuan Operasional	20
B. Tempat dan Waktu	20
C. Metode Penelitian	20
D. Rancangan Percobaan	21
E. Prosedur Penelitian	22
1. Alat dan Bahan	22
2. Cara Kerja	22
F. Teknik Pengumpulan Data	28
1. Skema Penelitian	29
G. Teknik Analisis Data	29
H. Hipotesis Penelitian	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
A. Pertumbuhan sel Mikroalga <i>Melosira</i> sp.	33
1. Kultivasi Mikroalga <i>Melosira</i> sp.	33
2. Pengamatan Morfologi Sel Kurva Pertumbuhan dan Laju Pertumbuhan	37
B. Biomassa <i>Melosira</i> sp.	43
C. Kadar Lipid	45
D. Pengaruh Kadar Nitrat terhadap Laju Pertumbuhan, Biomassa dan Kadar Lipid <i>Melosira</i> sp.	49
E. Korelasi antara Kadar Nitrat terhadap Kadar Lipid.	50
F. Korelasi antara Laju Pertumbuhan dan Kadar Lipid	52
BAB V PENUTUP	53
A. Kesimpulan	53
B. Implikasi	53
C. Saran	54

DAFTAR PUSTAKA.....	55
LAMPIRAN.....	60
SURAT IZIN PENELITIAN	
SURAT KEASLIAN SKRIPSI	

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Morfologi <i>Melosira</i> sp.....	4
2. Struktur Klorofil a.	13
3. Skema Penelitian.	29
4. Pertumbuhan <i>Melosira</i> sp. dalam Botol Duran (1 L).	35
5. Pertumbuhan <i>Melosira</i> sp. dalam Wadah Volume 10 L.....	37
6. Pengamatan Sel <i>Melosira</i> sp. di Bawah Mikroskop DSX.....	38
7. Kurva Pertumbuhan <i>Melosira</i> sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda..	40
8. <i>Melosira</i> sp. yang Sudah dikeringkan	43
9. Fase n-Hexana <i>Melosira</i> sp.	46
10. Destilat Lipid <i>Melosira</i> sp.	48
11. Kadar Nitrat yang diberikan dan Kadar Lipid yang dihasilkan oleh <i>Melosira</i> sp.....	51
12. Kadar Nitrat yang diberikan dan Laju Pertumbuhan serta Kadar Lipid yang dihasilkan oleh <i>Melosira</i> sp..	52
13. Desain Aquarium	61
14. Kultur <i>Melosira</i> sp. pada Tahap Keempat Usia 24 Jam (H1)	66
15. Kultur <i>Melosira</i> sp. pada Tahap Keempat Usia 72 Jam (H3)	67
16. Kultur <i>Melosira</i> sp. pada Tahap Keempat Usia 120 Jam (H5).	68
17. Kultur <i>Melosira</i> sp. pada Tahap Keempat Usia 168 Jam (H7)	69
18. Grafik Rata-Rata pH Harian pada Kultur <i>Melosira</i> sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda	76
19. Grafik Rata-Rata Suhu Harian pada Kultur <i>Melosira</i> sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda	76
20. Grafik Rata-Rata Intensitas Cahaya Harian pada Kultur <i>Melosira</i> sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda	77
21. Grafik Rata-Rata Salinitas Harian pada Kultur <i>Melosira</i> sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda.....	77

22. Sterilisasi Menggunakan Ultrasonik (A), Sterilisasi Menggunakan <i>Autoclave</i> (B) dan Sterilisasi Klorinasi (C).....	83
23. Preparasi Sampel untuk Penghitungan Jumlah Sel	83
24. Software Program Mikroskop DSX (A) dan Hardware Mikroskop Olympus dan Komputer	83
25. Proses Pemanenan (A) dan Proses Pengeringan (B).....	84
26. Penggerusan Mikroalga Kering (A) dan <i>Dry Algae Powder</i> (B).....	84
27. Penyaringan Ekstraksi Tahap I (A), Ekstraksi Tahap Kedua (B) dan Pengguncangan Ekstraksi Tahap Kedua (C)	84
28. Seperangkat Alat Destilasi	85

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Kandungan Lipid pada <i>Melosira</i> sp.....	7
2. Perbandingan antara Penggunaan Sistem Open Pond dengan <i>Photobioreactor</i> Sistem	16
3. Perbandingan <i>Biofuel</i> dari Beberapa Tanaman	18
4. Rancangan Percobaan	21
5. Komposisi <i>Larutan Stock</i> Medium F/2	24
6. Warna Kultur <i>Melosira</i> sp. Tahap Kedua Berdasarkan Usia Kultur.....	35
7. Warna Kultur <i>Melosira</i> sp. Tahap Ketiga Berdasarkan Usia Kultur	36
8. Warna Ekstrak pada Kedua Tahap Ekstraksi.....	45
9. Rerata Laju Pertumbuhan, Biomassa dan Kadar Lipid <i>Melosira</i> sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda	49

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Desain Aquarium Kultur Mikroalga.....	61
2. Jumlah sel <i>Melosira</i> sp. pada Tiap Perlakuan Nitrat yang Berbeda (Rata-Rata Chamber 1+ Chamber 2).....	62
3. Cara Perhitungan Jumlah Sel (sel/mL) dan Laju Pertumbuhan	63
4. Perhitungan Jumlah Sel <i>Melosira</i> sp. (sel/mL) Jumlah Sel <i>Melosira</i> sp. (sel/mL)	64
5. Cara Perhitungan Laju Pertumbuhan (k)	65
6. Kultur <i>Melosira</i> sp. Tahap keempat	66
7. Rerata Parameter Lingkungan	70
8. Parameter Lingkungan.....	76
9. Hasil Analisis Statistika	78
10. Dokumentasi Penelitian	83

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kebutuhan Indonesia di sektor energi terus meningkat setiap tahunnya, sedangkan energi fosil yang merupakan sumber energi utama terus menurun. Oleh sebab itu, perlu dilakukan usaha untuk mencari bahan bakar alternatif (Sharma, 2008). Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (ESDM), melalui Permen no. 25 tahun 2013, menganjurkan badan usaha untuk memanfaatkan dan mengutamakan bahan bakar minyak nabati (*biofuel*) dari produksi dalam negeri. Sejauh ini, sumber daya alam yang sudah dimanfaatkan untuk dijadikan *biofuel* yakni tanaman kelapa sawit, jarak pagar, sirsak, kedelai, dan kapuk (Sutarman, 2006). Namun, dalam budidaya tanaman tersebut dibutuhkan lahan yang luas, waktu panen yang lama dan juga beririsan dengan kepentingan pangan.

Di sisi lain, Indonesia memiliki kekayaan sumber daya alam, salah satunya yaitu mikroalga. Budidaya mikroalga tidak membutuhkan lahan yang luas, tidak memerlukan waktu panen yang lama dan juga tidak beririsan dengan kepentingan di sektor pangan. Salah satu mikroalga yang berpotensi dikembangkan sebagai bahan bioenergi ialah *Melosira* sp. karena mengandung asam lemak C:16 (asam palmitat dan asam palmitoleat) yang tinggi yaitu sebesar 46% dan 32% (Panggabean dan

Sutomo, 2012). Namun, berdasarkan penelitian sebelumnya diatom *Melosira* sp. yang diisolasi dari perairan estuaria Timika dilaporkan mengandung lipid yang cukup rendah, akan tetapi biomasnya 13 kali lipat dari bimoassa *Chaetoceros gracilis* (Panggabean dan Sutomo, 2012).

Kadar lipid pada mikroalga berkaitan dengan kadar unsur hara yang diberikan. Unsur hara yang berpengaruh terhadap kadar lipid dan pertumbuhan mikroalga salah satunya adalah nitrat. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat pengaruh variasi konsentrasi nitrogen terhadap pertumbuhan, pembentukan biomassa, maupun kadar lipid mikroalga. Pada *Spirulina fusiformis*, penurunan konsentrasi nitrogen memberikan dampak berupa penurunan pembentukan biomassa, penurunan kandungan protein dan penurunan kandungan klorofil (Chrimadhaet *al.*, 2006). Penurunan kandungan nitrogen pada *Chlorella pyrenoidosa* memberikan dampak berupa penurunan pembentukan biomassa tetapi menaikkan kandungan lipidnya (Nigamet *al.*, 2011).

Kadar nitrogen yang terlalu rendah dapat menyebabkan protein terpecah menjadi asam amino yang kemudian membentuk asetil-koA sehingga dapat menyebabkan meningkatnya kadar lipid (Colby, 1988: Widianingsih *et al.*, 2008).

Sejauh ini belum dilakukan penelitian mengenai pengaruh kadar nitrat terhadap pertumbuhan *Melosira* sp. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kadar nitrat optimal untuk

pembentukan biomassa dan lipid pada mikroalga *Melosira* sp. sebagai bahan utama pembuatan *biofuel*.

B. Perumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Berapakah kadar optimal nitrat untuk menghasilkan biomassa dan lipid yang tinggi?
2. Apakah terdapat pengaruh pada kadar nitrat terhadap kadar lipid *Melosira* sp.?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini yaitu:

1. Menentukan kadar nitrat optimal pada kadar lipid *Melosira* sp.
2. Mengkaji pengaruh kadar nitrat pada kadar lipid *Melosira* sp.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah mendapatkan informasi mengenai kadar nitrat yang optimal bagi pertumbuhan dan kadar lipid mikroalga *Melosira* sp. sehingga mikroalga *Melosira* sp. dapat dimanfaatkan sebagai *biofuel* alternatif dalam mengatasi krisis energi di tahun mendatang.

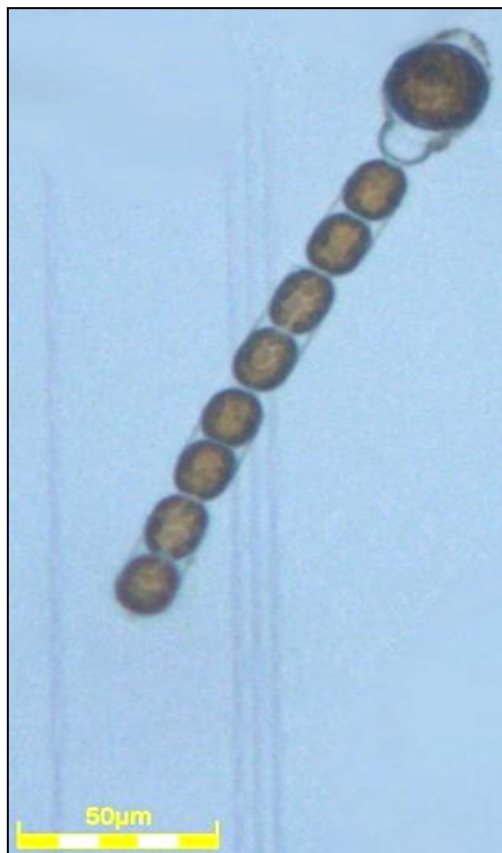
BAB II
KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR, DAN PERUMUSAN
HIPOTESIS

A. Kajian Pustaka

1. *Melosira* sp.

Melosira sp. memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kerajaan : Chromista
Divisi : Ochrophyta
Kelas : Coscinodiscophyceae
Bangsa : Melosirales
Suku : Melosiraceae
Marga : *Melosira*
Jenis : *Melosira* sp.
(Crawford dan Mann 1990).



Gambar 1. Morfologi *Melosira* sp.

Melosira sp. termasuk kedalam kelas Coscinodiscophyceae, merupakan jenis diatom kosmopolitan yang terdistribusi secara luas di seluruh lingkungan akuatik, bahkan pada lingkungan darat yang terendam secara berkala seperti permukaan batuan beberapa jenis tumbuhan dan binatang. *Melosira* sp. memiliki kandungan lipid dan klorofil-a berturut-turut 0,93 pg.cell⁻¹ dan 37,80 mg.L⁻¹. Lipid dari alga ini terdiri dari sebelas macam asam-asam lemak dengan komponen terbesar asam palmitat 46% dan asam palmitoleat 32 % (Panggabean dan Sutomo, 2012).

Ciri khas diatom ditunjukkan dengan adanya pahatan tertentu pada dinding selnya yang terdiri dari silika, memiliki ketahanan yang tinggi terhadap tekanan lingkungan. Diatom merupakan anggota utama mikroalga yang paling sering dijumpai di seluruh perairan laut, baik perairan pantai maupun perairan oseanik (Arinardi *et al.*, 1994). Diatom epilitik memiliki katup yang terdiri dari pektin berkadar silikat tinggi atau berupa bantalan gelatin berbentuk setengah bola (*sphaerical*) yang diperkuat dengan kapur. Banyak faktor yang mempengaruhi komposisi diatom epilitik di perairan, baik secara alami seperti cahaya, arus, suhu dan tipe substrat (Hoagland dan Peterson, 1990: Ghosh dan Gaur, 1998) ataupun aktivitas manusia (Schuman dan Howarth, 1986).

2. Lipid *Melosira* sp.

Lipid adalah biomolekul yang tidak larut di dalam air, lipid dapat larut di dalam pelarut organik non polar seperti benzene, ester, heksana

dan metanol (Boyer, 2002). Lipid dapat dikelompokkan berdasarkan struktur dan karakteristiknya, meliputi lemak (*fat*), lilin, fosfolipid, sfingolipid, glikolipid, eikosanoat, steroid dan lipoprotein. Beberapa jenis lipid memiliki gugus polar dan non polar, sehingga bersifat amfipatik yang akan membentuk misel di dalam air (Ritter, 1996).

Lipid dari *Melosira* sp. terdiri dari komponen utama asam palmitat (16:0) dan palmitoleat (16:1) sangat sesuai untuk bahan bakar biodiesel (Matsumoto *et al.*, 2009; Panggabean *et al.*, 2012). Metil palmitoleat dengan ikatan karbon yang lebih pendek dari asam oleat memberikan keuntungan pada aplikasi suhu rendah. Titik leleh metil palmitoleat (-33,9°C) lebih rendah 14°C dari metil oleat (Knothe, 2008; Panggabean *et al.*, 2012).

Asam-asam lemak yang terdeteksi ada sebelas jenis terdiri dari 55% asam-asam lemak jenuh, 33% asam-asam lemak tidak jenuh dan 12% asam-asam lemak berikatan rangkap banyak. Komponen asam lemak utama pada *Melosira* sp. didominasi oleh asam palmitat sebesar 46% dan asam palmitoleat sebesar 32% (Panggabean *et al.*, 2012). Kandungan asam palmitat *Melosira* sp. lebih tinggi dibandingkan dengan beberapa mikroalga, asam palmitat pada *Nitzschia ovalis* yaitu 18,83%, pada *Thalassiosira* sp. yaitu 20,67%, pada *Synechococcus* sp. yaitu 18,81% (Pratoomyot *et al.*, 2005). Berikut tabel kandungan lipid pada *Melosira* sp.

Tabel 1.Kandungan Lipid pada *Melosira* sp

Fatty acid		%
Heksadekana		0,11
Heptadekana		0,06
Tetradekanoat (miristat)	C14:0	7,8
Pentadekanoat	C15:0	0,33
Trans-chrysanthemal		0,19
Cis-1-trimetilsilipent-3-en-1-yn		0,23
9,12,15-oktadekatrienoat (a-linoleat)	C18:3 (n-3)	1,44
9-heksadekaenoat (palmitoleat)	C16:1(n-7)	32,16
11- heksadekaenoat		0,36
Heksadekaenoat(palmitat)	C16:0	46,28
1,3-siklooktadiena		0,14
2-metoksi-3-metil 2 butaenoat		0,21
6,9,12-oktadekatrienoat (linoleat)	C18:3 (n-6)	0,13
Cis-5,6-dietenil-siklooktena		0,7
9,12-oktadekadienoat(linoleat)	C18:2(n-6)	0,98
12-oktadekaenoat		0,95
10-oktadekaenoat		1,15
9-oktadekaenoat (oleat)	C18:1(n-9)	0,63
Oktadekanoat (oleat)	C18:0	0,71
3-isopropil-2-hidroksisiklopent-2-e		0,22
Timidin		0,17
2-asetiloksi-hexanaoat		0,16
Metal arakhidonat		0,19
Z3,Z6,E8-dodekatrien-1-o1		3,43
7,10,13-heksadekatrienoat		0,13
8-metil dispiro[2.1.2.4]undekaena		0,33
13-dokosaenoat (erukat)	C22:1(n-9)	0,29
15-tetraeosaenoat (nerovat)	C24:1(n-9)	0,33
(Z,Z)-4-etil-3-metil-5-(5-(4-acc		0,18

(Sumber: Panggabean *et al.*, 2012)

3. Pertumbuhan dan Perkembangan Sel *Melosira* sp.

Istilah pertumbuhan sel mengacu kepada penambahan jumlah sel bukan mengacu kepada perkembangan individu organisme sel. Mikroalga memiliki kemampuan untuk menggandakan diri secara eksponensial disebabkan sistem reproduksinya adalah pembelahan biner, setiap sel membelah diri menjadi dua sel. Selang waktu yang dibutuhkan sel untuk membelah diri disebut dengan waktu generasi. Tiap spesies mikroalga memiliki waktu generasi yang berbeda-beda, yaitu berkembang biak secara aseksual dengan cara membelah diri dan membentuk autospora. Setiap sel yang sudah masak akan membelah diri dan menghasilkan 2 dan 4 autospora. Autospora adalah spora non flagella yang mempunyai bentuk seperti sel induknya, tetapi mempunyai ukuran tubuh yang lebih kecil. Selanjutnya autospora yang telah dihasilkan akan dibebaskan dari sel induk melalui penghancuran dinding sel dewasa dan berkembang hingga mencapai ukuran sel induknya (Round *et al.*, 1990). Menurut Brock dan Madigan (2003), terdapat empat fase pertumbuhan diatom selama proses kultivasi yang terdiri dari :

a. Fase lag

Fase lag adalah fase yang terjadi sesaat setelah penambahan inokulan ke media kultur. Fase ini juga disebut fase adaptasi dimana pada fase ini kultur umumnya hanya mengalami peningkatan ukuran sel tetapi

belum terjadi proses pembelahan sel, mikroalga memerlukan persiapan pembelahan.

b. Fase Eksponensial

Pada fase ini diawali dengan pembelahan sel dengan laju pertumbuhan yang tetap. Pada kondisi kultur yang optimum, laju pertumbuhan pada fase ini akan mencapai kondisi yang maksimal. Fase ini ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah menjadi dua sel. Selama fase ini sel-sel berada dalam keadaan yang stabil.

c. Fase Stasioner

Pada fase ini laju pertumbuhan berbanding lurus dengan laju kematian sehingga penambahan maupun pengurangan mikroalga relatif sama, oleh karena itu kepadatan kultur menjadi tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan sel ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel yang disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Dalam beberapa kasus, pergantian sel terjadi dalam masa stasioner dimana adanya kehilangan sel yang lambat karena kematian yang diimbangi dengan pembentukan sel-sel baru melalui pembelahan. Bila hal ini terjadi maka jumlah sel akan bertambah secara lambat, meskipun jumlah sel hidup akan tetap.

d. Fase Kematian

Pada fase ini laju kematian lebih cepat dibandingkan dengan laju pertumbuhan sehingga terjadi penurunan jumlah sel pada bak kultivasi. Penurunan kepadatan mikroalga ditandai dengan perubahan kondisi optimum yang dipengaruhi oleh suhu, intensitas cahaya, jumlah hara yang ada dan beberapa kondisi lingkungan yang lain.

4. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga *Melosira* sp.

a. Suhu

Suhu optimal bagi pertumbuhan diatom berkisar antara 28 °C sampai 30 °C (Inansetyo dan Kurniastuty, 1995). Suhu air di permukaan dipengaruhi oleh kondisi meteorologi. Faktor-faktor meteorologi yang berperan ialah curah hujan, penguapan, kelembaban udara, temperatur udara, kecepatan angin dan intensitas radiasi matahari.

Suhu mempengaruhi daya larut gas-gas yang diperlukan untuk fotosintesis seperti CO₂ dan O₂, gas-gas ini mudah terlarut pada suhu rendah dibandingkan pada suhu tinggi. Pengaruh suhu terhadap sifat fisiologi organisme perairan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi fotosintesis disamping cahaya (Odum 1971).

b. Cahaya

Fotosintesis bagi tumbuhan, baik tumbuhan darat maupun laut seperti mikroalga, bergantung pada adanya cahaya matahari. Laju fotosintesis tinggi apabila intensitas cahaya tinggi dan sebaliknya (Nybakken, 1992). Cahaya sangat berpengaruh terhadap fotosintesis pada mikroalga. Penetrasi cahaya dalam air sangat dipengaruhi oleh intensitas dan sudut datang cahaya pada permukaan air, kondisi permukaan air, dan bahan-bahan terlarut dan tersuspensi di dalam air (Boyd, 1988; Welch, 1980). Semakin kecil sudut datang cahaya akan mempengaruhi penetrasi cahaya ke dalam air. Sebaliknya makin tegak lurus sudutnya maka semakin sedikit cahaya yang dipantulkan (Nybakken, 1992). Mikroalga termasuk diatom dapat melakukan proses asimilasi bahan organik. Intensitas cahaya 5.000 –10.000 lux pada skala laboratorium (Balai Budidaya Laut, 2002).

c. Salinitas

Air laut dapat dikatakan merupakan larutan garam. Kadar garam air didefinisikan sebagai jumlah dari total garam terlarut yang ada dalam satu kilogram air laut dan biasanya diukur dengan konduktivitas. Semakin tinggi konduktivitas semakin tinggi kadar garamnya. Komposisi kadar garam tersebut selalu dalam keadaan yang konstan dalam jangka waktu yang panjang. Hal ini disebabkan karena adanya kontrol dari berbagai proses kimia dan biologi didalam perairan laut seperti penguraian

organisme yang mati dan penguapan air laut. Kondisi ini menyebabkan sebagian besar organisme yang hidup di perairan laut merupakan organisme yang memiliki toleransi (sensitivitas) terhadap perubahan salinitas yang sangat kecil atau organisme yang diklasifikasikan sebagai organisme stenohalin (Widodo dan Suadi, 2006). Diatom dapat tumbuh optimal pada salinitas 25 - 35 ‰. (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

d. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) merupakan hasil pengukuran aktivitas ion hydrogen dalam perairan dan menunjukkan keseimbangan antara asam dan basa air. pH juga merupakan faktor lingkungan yang mengendalikan fitoplankton dalam proses pengambilan nutrisi, keseimbangan nutrisi (karbondioksida, fosfat, dan nitrogen) sangat sensitif terhadap perubahan pH menurut (Muntsji, 1972). Nilai pH dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain aktivitas biologi seperti fotosintesis dan respirasi organisme, temperatur, dan keberadaan ion-ion dalam perairan tersebut (Pescod, 1973). pH optimal untuk pertumbuhan diatom yaitu 7 - 8,5 (Effendi, 2003).

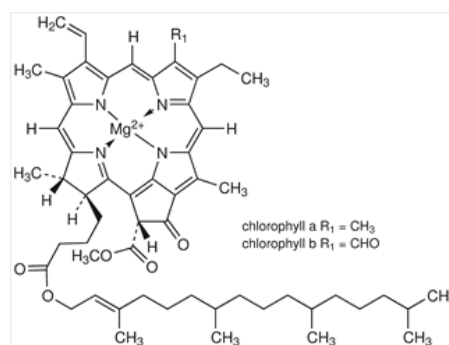
5. Peran Nutrisi Nitrat dalam Pertumbuhan Mikroalga

Nitrogen merupakan salah satu unsur kimia penting, baik untuk pembentukan protein maupun DNA. Umumnya, nitrogen diserap dalam bentuk nitrat (NO_3), urea, dan ammonium. Ketika ammonium digunakan sebagai sumber nitrogen utama, pH kultur dapat turun secara signifikan

selama sel aktif bekerja karena melepaskan ion H^+ . Jika menggunakan nitrat sebagai sumber nitrogen utama, pH kultur akan meningkat.

Menurut Sriharti dan Carolina (1995), konsentrasi nitrogen dan fosfat yang terdapat dalam media dapat mempengaruhi kandungan dan kadar lipid pada mikroalga. Kandungan nutrisi yang berbeda pada media dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kandungan sel mikroalga tertentu. Selain kandungan lipid, variasi komposisi nutrisi juga mempengaruhi kandungan klorofil. Kandungan klorofil dapat menjadi parameter pertumbuhan dalam menentukan biomassa mikroalga.

Nitrat dalam bentuk unsur N berperan penting dalam proses fotosintesis yang melibatkan klorofil sebagai alat utamanya. Klorofil a adalah suatu senyawa kompleks antara magnesium dan porfirin yang mengandung cincin siklontanon (cincin v). Keempat atom nitrogennya dihubungkan secara ikatan koordinasi dengan ion Mg^{2+} . Rantai sampingnya yang bersifat hidrofob adalah suatu terpenoid alkohol, fitol yang dihubungkan secara ikatan ester dengan gugus propionat dari cincin iv (Wirahadikusumah, 1985). Berikut gambar struktur klorofil a.



Gambar 2. Struktur Klorofil (Salisbury dan Ross, 1999)

Nitrat sangat penting keberadaannya dalam memicu pertumbuhan dan biomassa mikroalga diantaranya dalam proses fotosintesis. Hasil fotosintesis berupa karbohidrat dapat dipecah menjadi asam piruvat pada tahapan glikolisis. Asam piruvat didekarboksilasi menjadi asetil-koA yang dapat menghasilkan asam lemak. Asam lemak dan gliserol merupakan komponen penyusun lipid (Colby, 1988).

Nitrat digunakan sebagai sumber N dalam kultivasi diatom, karena nitrat memiliki kemampuan diserap yang lebih besar oleh diatom, dibandingkan dengan sumber N lainnya. Sehingga pertumbuhan dan akumulasi lipid dengan sumber N dari nitrat lebih tinggi dibandingkan dengan sumber N dari urea dan amoniak (Li *et al.*, 2008).

Ketika mikroalga dikultur dalam kondisi nitrogen terbatas sampai nitrogen sel turun di bawah nilai ambang batas, fotosintesis masih terus terjadi, meskipun pada tingkat yang rendah. Pada saat kondisi nitrogen yang terbatas, sel-sel akan mengalami perubahan warna (penurunan klorofil dan peningkatan karotenoid) dan terjadi akumulasi senyawa karbon organik seperti polisakarida dan minyak tertentu. Aliran karbon dialihkan dari sintesis protein mengarah ke sintesis lemak atau karbohidrat (Ernest, 2012). Menurut Widianingsih *et al.* (2011) kandungan unsur C dan N yang terlalu tinggi dapat menurunkan kadar lipid sel mikroalga. Konsentrasi nutrisi di dalam media kultur merupakan salah satu faktor penting yang menentukan reaksi biokimia dan komposisi sel mikroalga (Harahap *et al.*, 2013).

6. Kultivasi Mikroalga

Sebagian besar mikroalga menggunakan cahaya dan karbon dioksida (CO_2) sebagai sumber energi dan sumber karbon (organisme *photoautotrophic*). Pertumbuhan optimum mikroalga membutuhkan temperatur air berkisar 15 – 30 °C. Media pertumbuhan juga harus mengandung elemen inorganik yang berfungsi dalam pembentukan sel, seperti nitrogen, fosfor, dan besi. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengembangkan teknik, prosedur dan proses produksi mikroalga dalam jumlah besar. Teknik kultivasi dalam jumlah besar yang sering digunakan adalah sistem *Open ponds* dan sistem *photobioreactor* merupakan teknik budidaya mikroalga yang paling sering digunakan.

Pertamina *Research and Development* menggunakan sistem kultivasi berupa semi fotobioreaktor, alat ini berupa aquarium berkapasitas 250 L dilengkapi dengan sistem pemompaan udara dan tertutup. Kelebihan semi fotobioreaktor yaitu (i) konsumsi energi lebih rendah; (ii) efisiensi fotosintetis cukup tinggi; (iii) tidak terdapat ruang yang tidak terkena cahaya; (iv) mudah disterilisasi; dan (v) biaya pemanenan rendah. Perbandingan antara penggunaan sistem *open pond* dengan sistem *photobioreactor* dan semi fotobioreaktor dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan antara Penggunaan Sistem *Open Pond*, Semi Fotobioreaktor dan Sistem *Photobioreactor*

Faktor	<i>Open Pond</i>	<i>Photobioreactor</i>	Semi Fotobioreaktor
Ruang yang dibutuhkan	Tinggi	Rendah	Rendah
Kehilangan air	Sangat tinggi	Rendah	Rendah
Kehilangan CO ₂	Tinggi	Rendah	Rendah
Konsentrasi O ₂	Rendah	Tinggi, terjadi <i>build up</i>	Sedang
Temperatur	Bervariasi	Butuh pendingin	Bervariasi
Pembersihan	Tidak perlu	Perlu	Perlu
Kontaminasi	Tinggi	Tidak ada	Rendah
Kualitas biomassa	Bervariasi	Tergantung produksi	Tergantung produksi
Evaporasi	Tinggi	Tidak ada	Rendah
Biaya pemanenan	Tinggi	Lebih rendah	Lebih rendah
Kebutuhan energi (W)	4000	1800	800

(Sumber : Harun *et al.*, 2010 yang dimodifikasi)

7. Ekstraksi

Ekstraksi lipid merupakan salah satu tahap paling penting dan paling banyak dibahas dalam produksi biodiesel (Adam *et al.*, 2012; Rawat *et al.*, 2013). Dalam proses ini, lipid dipisahkan dari sel mikroalga menggunakan metode tertentu. Ekstraksi lipid dari biomassa mikroalga dapat dilakukan dengan metode fisik atau kimia atau gabungan keduanya.

Metode ekstraksi berbasis pelarut seperti metode soxhletasi dan maserasi sudah banyak dilakukan, misalnya dengan menggunakan *n*-hexana (Jones *et al.*, 2012), campuran pelarut kloroform/methanol (Bligh dan Dyer, 1959), atau methanol (Patil *et al.*, 2011). Metode soxhletasi ini membutuhkan waktu yang relatif lama karena hanya bergantung pada

pelarut yang digunakan dan tidak ada proses perusakan sel mikroalga. Metode ekstraksi dengan bantuan metode perusakan sel yang banyak diaplikasikan antara lain seperti sonikasi, *autoclave*, *osmotic shock*, dan *microwave*. Berdasarkan beberapa metode tersebut, sonikasi merupakan metode yang relatif lebih mudah dan dapat di-*scale-up*. Metode ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik atau *ultrasound-assisted extraction* (UAE) merupakan metode ekstraksi yang dibantu oleh gelombang ultrasonik. Gelombang ultrasonik berperan dalam perusakan sel dimana saat material sel ditempatkan dalam wadah yang diberi gelombang ultrasonik akan menghasilkan gelombang kejut atau *shock waves* karena peristiwa kavitasi yang mampu menyebabkan kerusakan mekanis pada sel (Suslick, 1988). Kerusakan sel tersebut menyebabkan material penyusun sel (termasuk lipid) keluar sel dan dapat dipisahkan.

8. Biofuel

Biofuel dapat secara luas didefinisikan sebagai padatan, cairan atau gas bakar yang mengandung atau diturunkan dari biomassa. Definisi yang lebih sempit mendefinisikan *biofuel* sebagai cairan atau gas yang berfungsi sebagai bahan bakar transportasi yang berasal dari biomassa. *Biofuel* dipandang sebagai bahan bakar alternatif yang menjanjikan karena lebih ramah lingkungan dan meningkatkan ketahanan energi.

Saat ini *biofuel* telah digunakan di berbagai negara, industry *biofuel* tersebar di Eropa, Amerika dan Asia. India, misalnya mengembangkan

biodiesel dari tanaman jarak pagar (*Jatropha* sp.). Kebanyakan *biofuel* dipakai untuk transportasi otomotif. India menargetkan penggunaan 5% bioetanol sebagai bahan bakar transportasi, sementara Tiongkok sebagai produsen utama etanol di Asia menargetkan 15% bioetanol sebagai bahan bakar transportasinya pada tahun 2010.

Biofuel dapat diproduksi dari sumber-sumber karbon dan dapat diproduksi dengan cepat dari biomassa. Sebagai negara kepulauan, Indonesia sangat potensial mengembangkan industri *biofuel* nya sendiri, khususnya dibidang mikroalga.

Kelebihan penggunaan mikroalga sebagai bahan produksi *biofuel* yaitu budidaya mikroalga tidak membutuhkan lahan yang luas, tidak memerlukan waktu panen yang lama dan juga tidak beririsan dengan kepentingan di sektor pangan. Selain itu, kandungan jenis asam lemak yang dapat dimanfaatkan sebagai *biofuel* juga tinggi. Berikut tabel perbandingan *biofuel* dari beberapa tanaman.

Tabel 3. Perbandingan *Biofuel* dari Beberapa Tanaman

Jenis Tanaman	Produksi Minyak (Gallon/Acre)
Jagung	18
Kapas	35
Kacang kedelai	48
Bunga matahari	102
Kanola	127
Jarak	202
Kelapa sawit	635
Ganggang mikro (10 g/m²/hari, 15% minyak)	1200
Ganggang mikro (50 g/m²/hari, 50% minyak)	10000

(Sumber: Pienkos, 2007)

B. Kerangka Berpikir

Mikroalga *Melosira* sp. merupakan salah satu kekayaan hayati Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku utama pembuatan *biofuel*, karena mengandung asam lemak C:16 (palmitat dan palmitoleat) yang tinggi, yaitu sebesar 46% dan 32%. Biomassa yang diperoleh dari *Melosira* sp. juga tinggi, yaitu 13 kali lipat biomassa *Chaetoceros gracilis*, namun kadar lipid yang dihasilkannya cukup rendah. Biomassa dan kadar lipid dipengaruhi oleh kadar unsur hara yang diberikan saat kultur *Melosira* sp. salah satunya yaitu nitrat. Sejauh ini penelitian mengenai *Melosira* sp. masih sedikit yang melakukannya, belum diketahui kadar nitrat yang optimal untuk meningkatkan kadar lipid dan biomassa alga *Melosira* sp. Oleh karena itu perlu diketahui komposisi nitrat yang optimal untuk pertumbuhan *Melosira* sp., sebagai penghasil *biofuel* untuk energi alternatif Indonesia.

C. Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis penelitian ini yaitu terdapat perbedaan jumlah laju pertumbuhan dan kadar lipid pada variasi konsentrasi nitrat pada kultur *Melosira* sp., terdapat hubungan terbalik antara kadar lipid dengan laju pertumbuhan, dan terdapat hubungan terbalik antara kadar nitrat yang diberikan dan kadar lipid.

BAB III METODOLOGI

A. Tujuan Operasional

Adapun tujuan operasional pada penelitian ini, yaitu:

1. Menghitung biomassa *Melosira* sp. pada setiap perlakuan di tahap kultur skala aquarium.
2. Menghitung kadar lipid yang dihasilkan *Melosira* sp. pada setiap perlakuan.
3. Membuat kurva pertumbuhan *Melosira* sp. pada setiap perlakuan.

B. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan selama 4 bulan (Desember 2015 - April 2016), di laboratorium Alga Pertamina *Research and Development*, Pulogadung, Jakarta.

C. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksperimen, dengan rancangan acak lengkap (RAL).

Penentuan banyaknya ulangan dilakukan menggunakan rumus dibawah

ini (Gomez dan Gomez, 1976):

$$(tr - 1) - (t - 1) \geq 8$$

$$(4r - 1) - (4 - 1) \geq 8$$

$$(4r-1) - 3 \geq 8$$

$$4r - 4 \geq 8$$

$$4r \geq 12$$

$$r = 12/4$$

$$r \geq 3$$

Keterangan:

t = treatment (perlakuan)

r = ulangan

Berdasarkan perhitungan diatas, banyaknya ulangan yang digunakan adalah 3 kali ulangan.

D. Rancangan Percobaan

Rancangan Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Berikut tabel Rancangan Percobaan.

Tabel 4. Rancangan Percobaan

Kadar Nitrat	Ulangan		
	I	II	III
0,88 M (Kontrol)	A1	B1	C1
0,58 M	A2	B2	C2
1,17M	A3	B3	C3
1,47 M	A4	B4	C4

Variasi nitrat terdiri dari: 0,58 M, 0,88 M, 1,17 M dan 1,47 M dengan ulangan sebanyak 3 kali, sehingga terdapat 12 unit percobaan.

Variasi tersebut didapat dari penelitian sebelumnya (Ernest, 2012). Adapun parameter yang diamati, yaitu biomassa, laju pertumbuhan dan kadar lipid.

E. Prosedur Penelitian

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu mikroskop Olympus, *haemocytometer*, *hand counter*, destilator, ultrasonik, peralatan gelas, oven, aquarium, lampu neon, *air stone*, *air pump*, selang, pH meter, lux meter, salinometer, membran penyaring dan filter air. Bahan yang digunakan yaitu kultur murni *Melosira* sp. Air laut, pelarut n-hexana, methanol, medium f/2 dan aquadest.

2. Cara Kerja

a. Kultivasi

Kultivasi mikroalga *Melosira* sp. pada medium f/2, dengan kadar nitrat yang bervariasi. Kultivasi mikroalga *Melosira* sp. dilakukan dalam ruangan (*indoor*) dan luar ruangan (*outdoor*). Adapun cara kerja kultivasi *Melosira* sp. sebagai berikut (Prosedur Kerja Pertamina *Research and Development*):

- 1) Alat dan bahan meliputi air laut dalam botol kaca dan peralatan gelas disterilisasi menggunakan *Autoclave* pada suhu 121 °C dengan

tekanan 2 atm selama 15 menit. Sementara *air stone* disterilisasi dengan menggunakan ultrasonik pada suhu 80 °C selama 40 menit.

- 2) Nutrient (*stock solution*) medium f/2 yang terdiri dari: NaNO_3 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{NaSiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, *Trace metals solution* ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), *vitamins solution* (thiamine, biotin, cyanocobalamin) dibuat dalam volume 1000 mL (Komposisi medium f/2 dapat dilihat pada tabel 5).
- 3) Kultur murni pada erlenmeyer 100 mL di sub-kultur sebanyak 100 μL ke botol duran 1 L yang berisi air laut dan medium f/2. Pada tahap ini kultur dilengkapi dengan *aerator* dan diberi pencahayaan dengan lampu selama 14 jam, perbandingan terang: gelap (14 jam:10 jam), dengan salinitas awal 32 ppt, suhu 28-32 °C, pH awal 7 dan intensitas cahaya 5.000-10.000 lux. Dibiarkan tumbuh dan berkembang selama 7 hari.
- 4) Air laut dalam wadah 10 L disterilisasi secara kimiawi menggunakan senyawa hipo chloride sebanyak 10 mL dan dilengkapi dengan pemberian *aerator*.
- 5) Kultur dari botol duran 1 L di sub-kultur ke wadah 10 L, yang sebelumnya telah diberikan nutrisi medium f/2, sub kultur dilakukan di luar ruangan (*outdoor*) dan dibiarkan tumbuh dan berkembang selama 7 hari.

- 6) Air laut dalam aquarium 250 L disterilisasi kimiawi menggunakan senyawa hipoklorida sebanyak 25 mL dan dilengkapi dengan pemberian *aerator*.
- 7) Kultur dari botol duran 10 L di sub-kultur ke aquarium 250 L, yang sebelumnya telah diberikan nutrisi medium f/2 dengan variasi kadar nitrat 0,88 M ($0,075 \text{ g.L}^{-1}$), 0,58 M ($0,05 \text{ g.L}^{-1}$), 1,47 M ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$), dan 1,17 M ($0,125 \text{ g.L}^{-1}$).
- 8) Selama kultur pada aquarium dilakukan pengamatan parameter lingkungan meliputi: suhu, pH, salinitas dan intensitas cahaya, serta pengamatan pertumbuhan sel menggunakan *haemocytometer*.
- 9) Kultur yang sudah siap panen (pada awal kematian) dipanen dengan menggunakan teknik filtrasi.

Tabel 5. Komposisi Larutan *Stock* Medium f/2

Komponen	<i>Stock solution</i>	Konsentrasi	Volume yang digunakan
NaNO ₃	75 g/L	$8.82 \times 10^{-1} \text{ M}$	1 mL
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	5 g/ L	$3.62 \times 10^{-5} \text{ M}$	1 mL
Na ₂ SiO ₃ 9H ₂ O	30 g/ L	$1.06 \times 10^{-4} \text{ M}$	1 mL
<i>Trace metal solution</i>			1 mL
FeCl ₃ 6 H ₂ O		$1.17 \times 10^{-5} \text{ M}$	
Na ₂ EDTA 2 H ₂ O		$1.17 \times 10^{-5} \text{ M}$	
CuSO ₄ 5 H ₂ O	9.8 g/ L	$393 \times 10^{-8} \text{ M}$	
Na ₂ MoO ₄ 2 H ₂ O	6.3 g/ L	$2.60 \times 10^{-8} \text{ M}$	
ZnSO ₄ 7 H ₂ O	22.0 g/ L	$7.65 \times 10^{-8} \text{ M}$	
CoCl ₂ 6 H ₂ O	10.0 g/ L	$4.20 \times 10^{-8} \text{ M}$	
MnCl ₃ 4 H ₂ O	180.0 g/ L	$9.10 \times 10^{-7} \text{ M}$	
<i>Vitamin solution</i>			0.5 mL
Thiamine HCl (Vit. B ₁)		$2.96 \times 10^{-7} \text{ M}$	
Biotin (Vit. H)	1.0 g/ L	$2.05 \times 10^{-9} \text{ M}$	
Cyanocobalamin (Vit. B ₁₂)	1.0 g/ L	$3.69 \times 10^{-10} \text{ M}$	

Sumber: Guillard, R.R.L., 1975

b. Pengamatan Pertumbuhan *Melosira* sp.

Pengamatan pertumbuhan mikroalga *Melosira* sp. dengan menghitung kepadatan sel setiap hari. Adapun langkah kerja pengamatan pertumbuhan mikroalga *Melosira* sp. berdasarkan Hansen (2000), sebagai berikut:

- 1) Sebanyak 100 μ L *Melosira* sp. diletakkan di *haemocytometer* yang telah dibersihkan dengan alkohol.
- 2) *Haemocytometer* ditutup dengan *cover glass*.
- 3) Preparat diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x10 dan 10 x 100.
- 4) Sel *Melosira* sp. yang terdapat pada lima kotak besar (pojok kanan atas, pojok kiri atas, pojok kanan bawah, pojok kiri bawah dan tengah) setiap kotak besar mengandung 16 kotak kecil dihitung satu per satu.
- 5) Jumlah sel dihitung berdasarkan rumus Hansen (2000) sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sel/mL} = \frac{(\text{jumlah sel chamber 1} + \text{chamber 2})}{2} \times 5 \times 10.000$$

Keterangan:

Jumlah sel chamber 1 = jumlah sel yang terdapat pada 5 kotak besar di chamber 1

Jumlah sel chamber 2 = jumlah sel yang terdapat pada 5 kotak besar di chamber 2

Konstanta 5 dan 10.000 merupakan pengali

- 6) Laju pertumbuhan relatif (k) *Melosira* sp. dihitung pada pertumbuhan yang dipercepat (fase logaritmik) dengan rumus Fogg (1965) sebagai berikut:

$$K = \frac{\log N_1 - \log N_0}{(t_1 - t_0)}$$

Keterangan:

N_1 = jumlah sel akhir

N_0 = jumlah sel awal

t_1 = waktu pertumbuhan awal

t_0 = waktu pertumbuhan akhir

c. Panen dan Penghitungan Biomassa

Panen biomassa dilakukan pada hari ke 8 setelah sub kultur pada aquarium 250 L. Adapun cara kerja pemanenan seperti berikut:

- 1) Air laut dikeluarkan dari aquarium.
- 2) Mikroalga *Melosira* sp. yang menempel pada dinding kaca aquarium diambil dengan menggunakan sekop plastik.
- 3) Mikroalga *Melosira* sp. yang masih bercampur dengan air laut dipisahkan menggunakan teknik filtrasi, teknik pemisahan ini melibatkan membran yang permeabel untuk melewatkan cairan sekaligus menahan padatan sehingga kedua komponen ini terpisah, membran berukuran 400 *mesh*.
- 4) Bobot biomassa *Melosira* sp. ditimbang pada neraca analitik.
- 5) Biomassa basah yang masih mengandung air, dikeringkan pada oven suhu 80 °C sampai mencapai berat konstan.

d. Ekstraksi

Adapun cara kerja ekstraksi lipid dari biomassa *Melosira* sp. sebagai berikut (Jones, 2012):

- 1) Sebanyak 5 gr mikroalga diekstraksi dengan menggunakan methanol 96% (1:10), proses ekstraksi dilakukan pada ruang asam.
- 2) Ekstrak pada erlenmeyer di guncang selama 15 menit dan dibiarkan selama 18 jam, agar suspensi dan filtrat terpisah.
- 3) Ekstrak disaring dengan menggunakan kain tipis untuk didapatkan fase methanol.
- 4) Fase methanol diekstrak kembali dengan pelarut n-hexana dan aquadest menggunakan labu pemisah.
- 5) Ekstrak pada corong pisah diguncang selama 30 menit agar fase n-hexana dan methanol terpisah. Setelah terpisah, fase methanol dibuang dan fase n-hexana disimpan untuk dilanjutkan ke proses destilasi.

e. Destilasi

Adapun cara kerja destilasi lipid dari hasil ekstraksi *Melosira* sp. sebagai berikut (Bligh dan Dyer, 1959):

- 1) Perangkaian peralatan destilasi, meliputi kondensor, termometer, labu alas bulat, *heating mantle*, erlenmeyer dan selang *inlet* serta *outlet*.
- 2) Hasil ekstraksi berupa fase n-hexana dimasukkan kedalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan termometer.

- 3) *Heating mantle* dinyalakan agar suhu meningkat sampai dengan 68°C (saat destilasi berlangsung suhu tidak boleh melebihi suhu 68°C).
- 4) N-hexana akan terpisah dengan lipid. Lipid tetap berada di labu alas bulat, sedangkan n-hexana akan menguap dan mengalir ke erlenmeyer.

f. Pengukuran Kadar Lipid

Berat destilat berupa lipid, didinginkan mencapai suhu kamar, kemudian ditimbang dan dihitung melalui rumus berikut untuk mengetahui kadar lipid. Perhitungan kandungan lipid didasarkan pada rumus :

$$\text{Persentase Lipid} = \frac{\text{BL} \times 100\%}{\text{BB}}$$

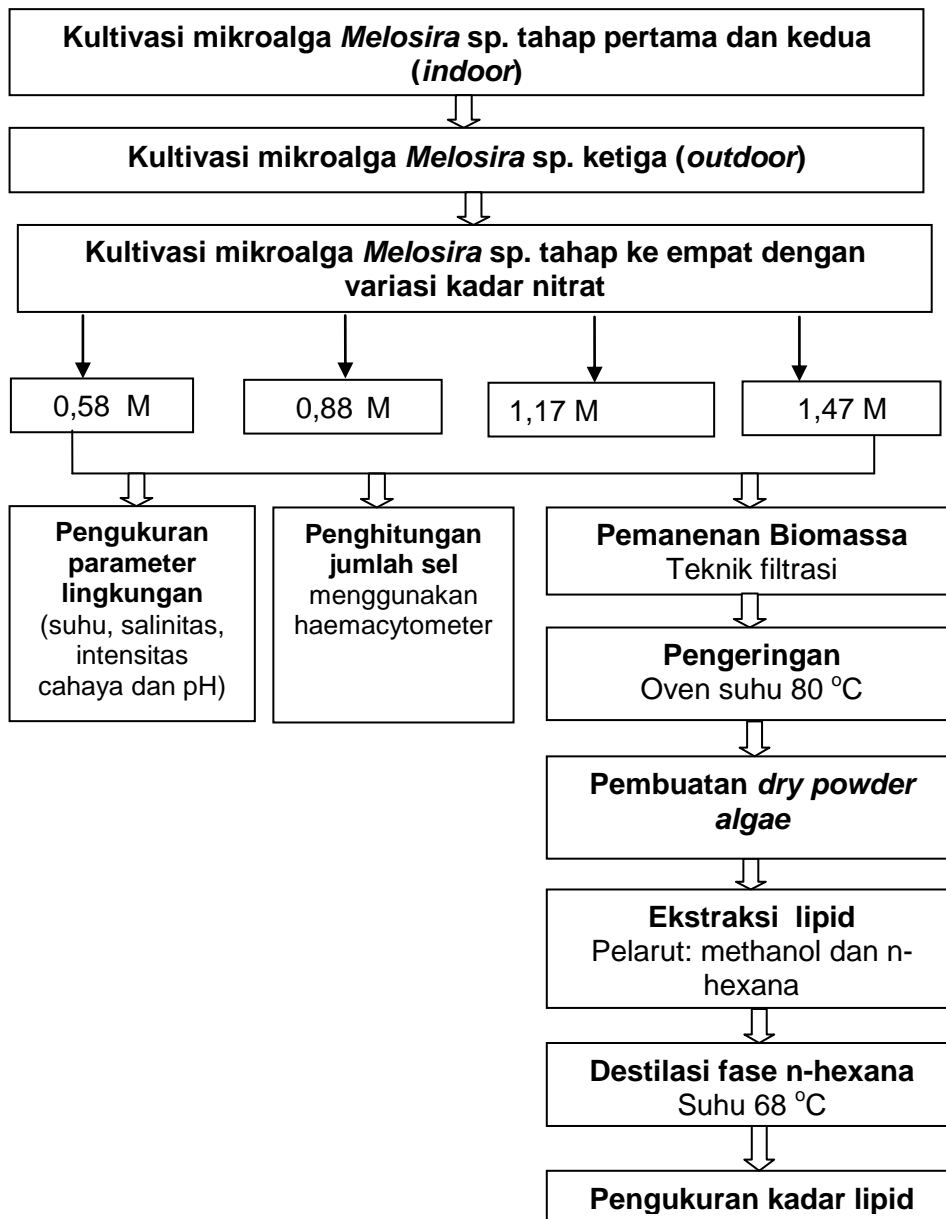
Keterangan : BL = berat lipid sampel (gram)

BB = berat biomassa sampel (gram) (Bathien dan Diemar, 1963; Hermawan, 2004).

F. Teknik Pengumpulan Data

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah kurva pertumbuhan *Melosira* sp., laju pertumbuhan *Melosira* sp., biomassa mikroalga *Melosira* sp. dan kadar lipid (volume lipid akhir destilasi).

1. Skema Penelitian



Gambar 3. Skema Penelitian

G. Teknik Analisis Data

Data kuantitatif berupa laju pertumbuhan, biomassa dan kadar lipid dari empat variasi kadar nitrat dengan pengulangan masing-masing tiga

kali pengulangan, diolah menggunakan teknik analisis data ANOVA (*Analysis of Variance*) 1 arah (*one-way*) pada $\alpha = 0,05$, yang dilanjutkan dengan uji Duncan pada $\alpha = 0,05$. Untuk mengetahui korelasi antara kadar nitrat dan kadar lipid serta laju pertumbuhan digunakan uji korelasi *bivariate* pada $\alpha = 0,05$.

H. Hipotesis Statistik

1. Laju Pertumbuhan

H₀: $\mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$

H₁: $\mu_A \neq \mu_B \neq \mu_C \neq \mu_D$

Dimana: μ_A = Rata-rata laju pertumbuhan *Melosira* sp. pada media f/2 dengan 0,58 M NaNO₃

μ_B = Rata-rata laju pertumbuhan *Melosira* sp. pada media f/2 dengan 0,88 M NaNO₃

μ_C = Rata-rata laju pertumbuhan *Melosira* sp. pada media f/2 dengan 1,17 M NaNO₃

μ_D = Rata-rata laju pertumbuhan *Melosira* sp. pada media f/2 dengan 1,47 M NaNO₃

2. Jumlah Biomassa

H₀: $\mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$

H₁: $\mu_A \neq \mu_B \neq \mu_C \neq \mu_D$

Dimana: μ_A = Rata-rata biomassa *Melosira* sp. pada media f/2 dengan

0,58 M NaNO_3

μ_B = Rata-rata biomassa *Melosira* sp. pada media f/2 dengan

0,88 M NaNO_3

μ_C = Rata-rata biomassa *Melosira* sp. pada media f/2 dengan

1,17 M NaNO_3

μ_D = Rata-rata biomassa *Melosira* sp. pada media f/2 dengan

1,47 M NaNO_3

3. Kadar Lipid

$H_0: \mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D$

$H_1: \mu_A \neq \mu_B \neq \mu_C \neq \mu_D$

Dimana: μ_A = Rata-rata kadar lipid *Melosira* sp. pada media f/2 dengan

0,58 M NaNO_3

μ_B = Rata-rata kadar lipid *Melosira* sp. pada media f/2 dengan

0,88 M NaNO_3

μ_C = Rata-rata kadar lipid *Melosira* sp. pada media f/2 dengan

1,17 M NaNO_3

μ_D = Rata-rata kadar lipid *Melosira* sp. pada media f/2 dengan

1,47 M NaNO_3

4. Korelasi Kadar Lipid dengan Biomassa

$H_0 = \rho = 0$

$H_1 = \rho \neq 0$

Dimana ρ = Korelasi antara kadar lipid dan biomassa

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pertumbuhan Sel Mikroalga *Melosira* sp.

1. Kultivasi Mikroalga *Melosira* sp.

a. Tahap Pertama (Kultivasi 100 mL) dan Tahap Kedua (Kultivasi 1 L)

Nutrien yang diberikan pada kultur terdiri dari NaNO_3 , NaH_2PO_4 , H_2O , $\text{NaSiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, Trace metals solution ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), vitamins solution (*thiamine*, *biotin*, *cyanocobalamin*). Nutrien tersebut diperlukan bagi pertumbuhan alga, yaitu untuk mensintesis komponen organik sel.

Nitrogen merupakan unsur utama bagi pertumbuhan organisme fotosintetik karena berfungsi sebagai penyusun protein dan asam nukleat, dengan demikian dapat diartikan sebagai penyusun protoplasma secara keseluruhan (Sarief, 1986).

Unsur P merupakan unsur penting bagi semua aspek kehidupan terutama dalam transformasi energi metabolik (Kuhl, 1974). Unsur P juga merupakan penyusun ikatan pirofosfat dari ATP (Adenosine Tri Phosphat) yang kaya energi (Nicholls, 1993).

Unsur hara K merupakan unsur hara makro yaitu unsur hara yang dibutuhkan dalam jumlah banyak oleh tumbuhan. Menurut Nicholls (1993),

kalium digunakan oleh sel-sel tanaman selama proses asimilasi energi yang dihasilkan oleh proses fotosintesis.

Unsur Ca (kalsium) berperan penting dalam menstabilkan dinding sel dan kofaktor enzim. Kalsium terlibat dalam formasi rangka alga dan dapat disimpan dalam bentuk kalsit atau arogonit dalam dinding sel.

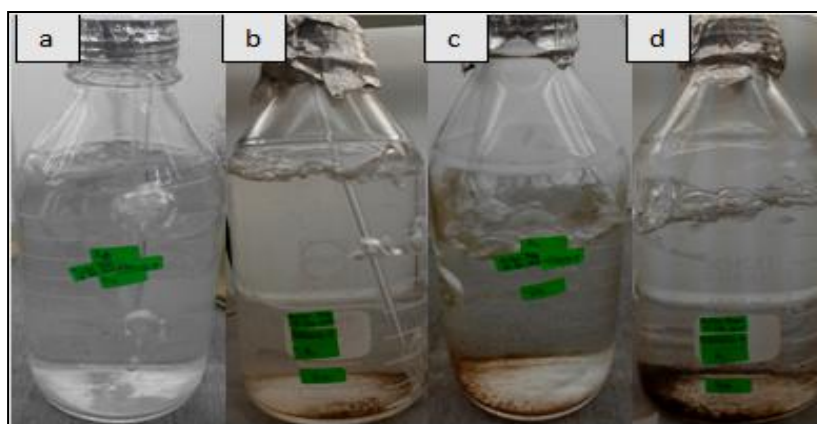
Natrium berperan dalam berbagai macam transpor melalui membran sel. Selain itu, natrium berperan dalam transformasi molekul nitrogen menjadi ammonia. Unsur Fe berperan sebagai kofaktor pada pembentukan klorofil, sehingga secara tidak langsung, unsur besi dapat mempengaruhi sintesis klorofil (Chrimadha *et al.*, 2006; Lakitan, 2011). Unsur mg merupakan unsur inti penyusun klorofil sehingga unsur ini sangat berpengaruh terhadap pembentukan klorofil. Unsur mg juga membantu metabolisme fosfat, respirasi tanaman dan aktivator beberapa sistem enzim (Winarso, 2005). Sulfur merupakan unsur vital sebagai konstituen dari beberapa asam amino esensial, seperti metionin dan sistein.

Kultivasi *Melosira* sp. pada tahap ini dilakukan selama 7 hari pada botol duran (1 L). Selama waktu tersebut, kultur *Melosira* sp. menunjukkan adanya pertumbuhan sel yang ditandai dengan semakin pekatnya warna kultur. Warna ini disebabkan oleh kandungan pigmen pada *Melosira* sp. berwarna cokelat lebih banyak daripada pigmen berwarna hijau (Arinardi *et al.*, 1994). Berikut tabel perubahan warna kultur *Melosira* sp.

Tabel 6. Warna Kultur *Melosira* sp. Tahap Kedua Berdasarkan Usia Kultur

Usia Kultur	Warna Kultur
1x24 jam	Cokelat
3x24 jam	Cokelat +
5x24 jam	Cokelat ++
7x24 jam	Cokelat +++

Semakin lama waktu kultivasi maka semakin pekat pula warna kultur *Melosira* sp. Perubahan warna kultur *Melosira* sp. pada setiap periode dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Pertumbuhan *Melosira* sp. dalam Botol Duran (1 L): usia 1x24 jam (A), usia 3x24 jam (B), 5x24 jam (C), 7x24 jam (D).

Pada kultivasi tahap pertama dan kedua dilakukan di laboratorium (*indoor*), sehingga kebutuhan cahaya dipasok oleh cahaya dari lampu neon yang dipasang pada rak dengan fotoperiode terang : gelap (14 : 10), dikondisikan seperti pada kondisi alamiah. Kultur *Melosira* sp. pada botol duran (1L) juga dilengkapi dengan sistem aerasi, yaitu pemberian udara

pada kultur, sebagai pemasok CO₂ dan O₂ untuk kebutuhan fotosintesis dan respirasi sel.

Gas CO₂ dan cahaya sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan *Melosira* sp., yaitu saat fotosintesis. Pada proses fotosintesis, cahaya dan gas CO₂ diperlukan sebagai bahan baku untuk pembentukan senyawa metabolit dan biomassa. Mikroalga *Melosira* sp. memiliki tingkat pertumbuhan yang relatif singkat sehingga kebutuhan CO₂ cukup tinggi.

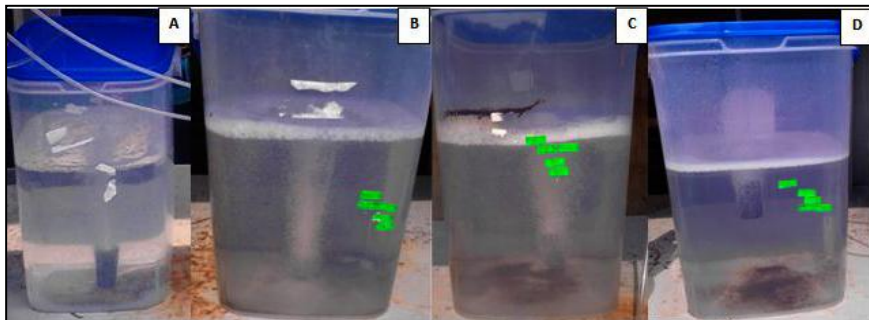
b. Tahap Ketiga (Kultivasi pada Wadah Plastik Volume 10L)

Setiap harinya (1x24 jam), *Melosira* sp. mengalami pertambahan jumlah sel, yang ditandai dengan perubahan warna pada kultur. Berikut tabel perubahan warna kultur *Melosira* sp.

Tabel 7. Warna Kultur *Melosira* sp. Tahap Ketiga Berdasarkan Usia Kultur

Usia Kultur	Warna Kultur
1x24 jam	Cokelat
3x24 jam	Cokelat +
5x24 jam	Cokelat ++
7x24 jam	Cokelat +++

Semakin lama waktu kultivasi maka semakin pekat pula warna kultur *Melosira* sp. Perubahan warna kultur *Melosira* sp. pada setiap periode dapat dilihat pada gambar 5.



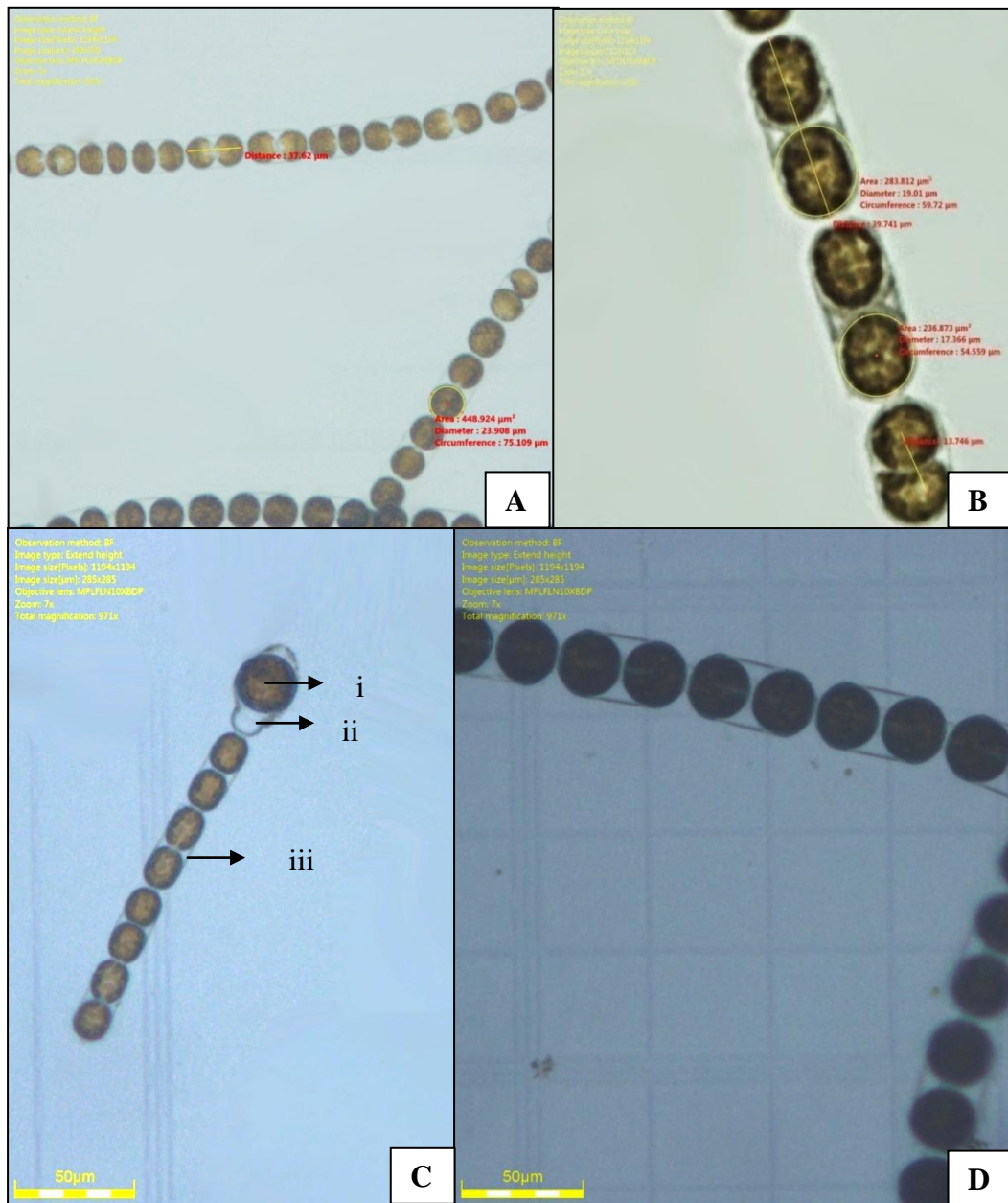
Gambar 5. Pertumbuhan *Melosira* sp. dalam Wadah Volume 10 L: usia 1x24 jam (A), usia 3x24 jam (B), 5x24 jam (C), 7x24 jam (D).

c. Tahap Keempat (Kultivasi pada Aquarium Volume 250L)

Penanaman awal *Melosira* sp. pada setiap perlakuan ((0,88 M (0,075 g.L⁻¹); 0,58 M (0,05 g.L⁻¹); 1,47 M (0,1 g.L⁻¹); dan 1,17M (0,125 g.L⁻¹)) memiliki kepadatan 1×10^5 sel/ml. Pada hari ke-1, koloni mikroalga *Melosira* sp. masih sangat sedikit, jumlah sel nya dapat dilihat pada kurva pertumbuhan (gambar 7). Pada hari ke-2 kultur mikroalga *Melosira* sp. mengalami perubahan warna yaitu menjadi coklat muda dan pada hari berikutnya sampai dengan hari ke-4, kultur semakin coklat pekat. Pertumbuhan *Melosira* sp. ditandai dengan peningkatan jumlah sel dan perubahan warna kultur menjadi coklat lebih pekat. Namun, pada hari ke-5 sel kultur tidak mengalami perubahan warna, seterusnya hingga hari ke-8. Gambar kultur mikroalga *Melosira* sp. dapat dilihat pada lampiran 6.

2. Pengamatan Morfologi Sel, Kurva Pertumbuhan dan Laju Pertumbuhan *Melosira* sp.

Pertumbuhan mikroalga *Melosira* sp. diamati dengan menggunakan *haemocytometer* dibawah mikroskop DSX olympus. Berikut gambar sel *Melosira* sp. yang diamati setiap 1x24 jam.



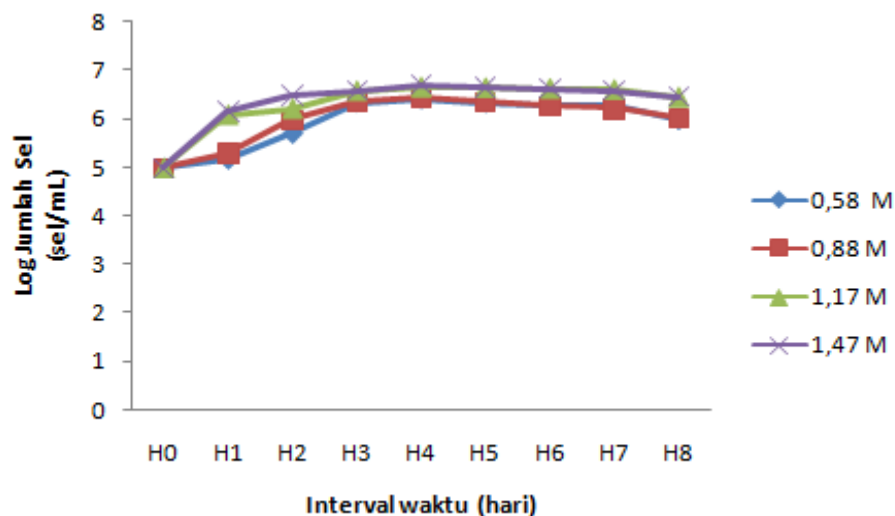
Gambar 6. Pengamatan sel *Melosira* sp. di bawah mikroskop DSX. Perbesaran 10 x 10 (A), Perbesaran 40 x 10 (B), Terminal *auxospore* (i), *Mucilage* (ii), *Pseudoculcus* (iii), Pengamatan pada *chamber* hitung (D).

Melosira sp. memiliki warna coklat tua, hidup berkoloni dan merupakan uniselular. Ciri khas yang dimiliki oleh diatom yaitu dinding selnya terdiri atas silikat. Silikat merupakan unsur penting dalam

pembentukan dinding seldan cangkang bagi kelompok diatom (Endar, 2012). Pembentukan dinding sel pada *diatom* berfungsi sebagai ketahanan terhadap lingkungan. Ciri khas diatom ditunjukkan dengan adanya pahatan tertentu pada dinding selnya yang terdiri dari silikat, sehingga memiliki ketahanan yang tinggi terhadap tekanan lingkungan (Arinardi *et al.*, 1994).

Berdasarkan hasil pengamatan dengan mikroskop, Sel *Melosira* sp. berbentuk silinder memiliki diameter $\pm 19 \mu\text{m}$. Luas permukaan $\pm 283 \mu\text{m}^2$. Ciri khas yang dimiliki oleh genus *Melosira* yaitu selnya berpasangan (dua sel) dan diantara pasangan satu dengan yang lainnya dibatasi oleh bantalan lendir (*mucilage*) (gambar 6. ii). Menurut Round *et al.* (1990) mekanisme pergerakan diatom disertai dengan sekresi lendir (*mucilage*) ke dalam *raphe* (celah yang menembus dinding yang mengandung silika). *Mucilage* mengandung polisakarida sulfat. *Melosira* sp. berkembangbiak dengan menggunakan *auxospore* (gambar 6.i). *Auxospore* merupakan spora reproduksi pada diatom yang dibentuk oleh penyatuan dua sel (Round *et al.*, 1990).

Perhitungan sel *Melosira* sp. pada kamar hitung (kotak 16) di kedua chamber (atas dan bawah). Perhitungan dilakukan setiap 1x24 jam. Hasil pengamatan pada kedua *chamber* (*chamber 1* dan *chamber 2*) dihitung menggunakan rumus Hansen (2000). Berikut kurva pertumbuhan mikroalga *Melosira* sp. pada variasi kadar nitrat yang berbeda



Gambar 7. Kurva Pertumbuhan *Melosira* sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda

Berdasarkan kurva diatas, dapat diketahui bahwa pola pertumbuhan *Melosira* sp. perlakuan kadar nitrat 0,58 M dan 0,88 M memiliki empat fase pertumbuhan, yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Sedangkan, perlakuan kadar nitrat 1,17M dan 1,47 M, memiliki tiga fase pertumbuhan, yaitu fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Perbedaan ini disebabkan jumlah nutrisi yang terdapat pada setiap kultur berbeda, sehingga pertumbuhan sel pada setiap kultur akan berbeda pula. Pada saat mikroalga dapat mengkonsumsi nutrisi dalam media tumbuh secara optimal, maka mikroalga tersebut memasuki fase eksponensial dengan menghasilkan warna kultur lebih pekat seiring dengan meningkatnya kepadatan sel kultur (Pranayogi, 2003). Tidak adanya fase lag pada perlakuan kadar nitrat 1,17M dan 1,47 M, juga dapat dijelaskan bahwa pertumbuhan mikroalga di dalam kultur biasanya tidak mengalami fase lag bila kondisi

lingkungannya sudah sesuai dengan lingkungan sebelumnya (Panggabean dan Sutomo, 2000).

Fase eksponensial terjadi pada H1-H4, dengan jumlah sel yang berbeda-beda pada perlakuan kadar nitrat 1,17M dan 1,47 M. Kultur *Melosira* sp. mengalami pertumbuhan logaritmik selama 4 hari (Panggabean dan Sutomo, 2012). Sedangkan, pada 0,88 M fase eksponensial terjadi pada H2-H4. Kemudian memasuki fase stasioner pada hari ke 5 sampai dengan hari ke-7. Menurut Setyaningsih *et al.*, (2008), fase stasioner merupakan fase pertumbuhan yang konstan karena nutrien semakin berkurang dan populasi semakin padat. Pada hari ke-8 memasuki fase *death* (kematian).

Perbedaan jumlah sel pada setiap perlakuan mengakibatkan perbedaan laju pertumbuhan (*growth rate*), penghitungan laju pertumbuhan pada penelitian ini menggunakan rumus Fogg (1965).

Berdasarkan hasil pengamatan kurva pertumbuhan, diketahui bahwa t_1 (waktu pertumbuhan akhir) selama 4 hari yaitu saat pertumbuhan logaritmik (fase eksponensial). Sedangkan N_1 (jumlah sel akhir) yaitu jumlah sel pada hari ke-4 (H4) sebagai akhir fase eksponensial, karena pada hari ke-5 jumlah sel mengalami penurunan. Sehingga dapat didefinisikan bahwa hari ke-5 telah memasuki fase stasioner.

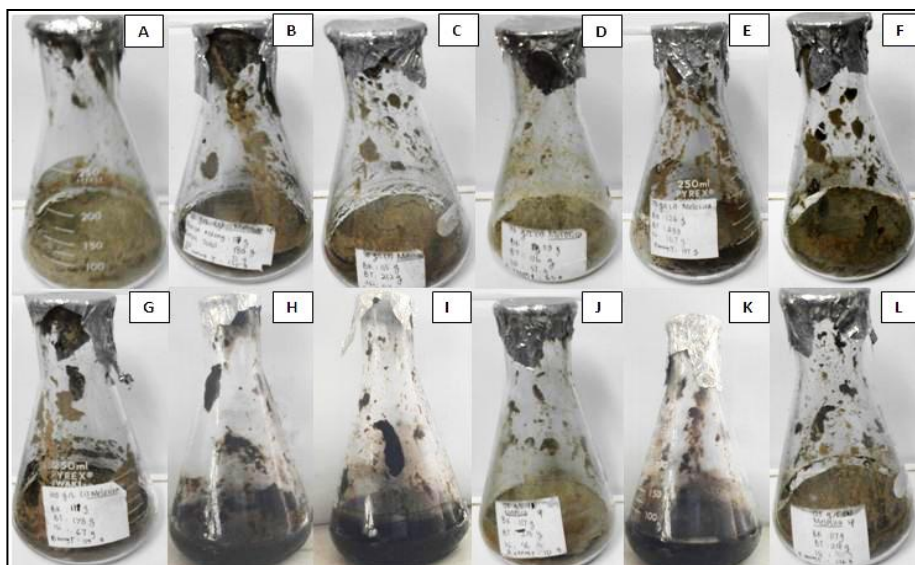
Hasil analisis Anova (Lampiran 9) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh perlakuan kadar nitrat yang berbeda terhadap laju pertumbuhan *Melosira* sp. Uji duncan menunjukkan bahwa yang memiliki pengaruh

terbesar pada laju pertumbuhan adalah kadar nitrat 1,17 M dan 1,47 M. Pada kadar nitrat 1,17 M dan 1,47 M laju pertumbuhan yang dihasilkan signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kadar nitrat lainnya, yaitu masing-masing sebesar 0,410 pembelahan/hari dan 0,423 pembelahan/hari. Semakin tinggi kadar nitrat, maka semakin tinggi pula laju pertumbuhan (k) *Melosira* sp. Hal ini dikarenakan suplai nitrat sebagai makronutrien yang lebih tinggi dapat dimanfaatkan sebagai unsur pembangun struktur klorofil dan pembangun struktur protein. sehingga pembelahan sel dan fotosintesis yang terjadi lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kadar nitrat 0,58 M; 0,88 M; 1,17 M. Jumlah protein dalam bentuk enzim yang banyak akan membantu proses pengangkutan menjadi lebih cepat, sehingga biomassa yang merupakan hasil fotosintesis dapat terakumulasi lebih banyak. Penelitian yang dilakukan oleh Burrell dan Phillips (1925) menunjukkan hasil yang sama yaitu pada pemberian nitrat yang berlebih pada medium kultur mikroalga menyebabkan pertumbuhan mikroalga 2 kali lebih cepat.

Laju pertumbuhan (*growth rate*) berbanding lurus dengan biomassa mikroalga karena dengan laju pertumbuhan yang optimal akan menghasilkan biomassa yang optimal pula. Mikroalga yang mempunyai pertumbuhan baik akan lebih aktif mengkonversi CO₂ menjadi biomassa sehingga produktivitas biomassa menjadi tinggi (Setiawan *et al.*, 2008).

B. Biomassa *Melosira* sp.

Mikroalga *Melosira* sp. dikeringkan untuk didapatkan bobot biomassa keringnya. Pengeringan dilakukan agar air yang terdapat pada hasil panen dapat menguap. Berikut gambar mikroalga *Melosira* sp. yang sudah dikeringkan.



Gambar 8. *Melosira* sp. yang sudah dikeringkan: 0,58 M ulangan ke-1 (A); 0,58 M ulangan ke-2 (B); 0,58 M ulangan ke-3 (C); 0,88 M ulangan ke-1 (D); 0,88 M ulangan ke-2 (E); 0,88 M ulangan ke-3 (F); 1,17 M ulangan ke-1 (G); 1,17 M ulangan ke-2 (H); 1,17 M ulangan ke-3 (I); 1,47 M ulangan ke-1 (J); 1,47 M ulangan ke-2 (K); 1,47 M ulangan ke-3 (L).

Hasil analisis Anova (Lampiran 9) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh perlakuan kadar nitrat yang berbeda terhadap bobot biomassa kering (gr) *Melosira* sp. Uji duncan menunjukkan bahwa yang memiliki pengaruh terbesar pada biomassa adalah kadar nitrat 1,47 M. Pada kadar nitrat 1,47 M biomassa yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan kadar nitrat lainnya, yaitu sebesar 11,67 gr.

Pembentukan biomassa berkaitan dengan aktivitas fotosintesis oleh klorofil dan sintesis klorofil-a dapat berlangsung dengan ketersediaan N yang cukup. Nitrogen dibutuhkan sebagai elemen-elemen penyusun protein dan klorofil (Berg *et al.*, 2002). Semakin tinggi kadar nitrat, maka pembentukan klorofil pada *Melosira* sp. semakin tinggi, sehingga memicu pertumbuhan biomassa.

Nitrat sebagai sumber nitrogen anorganik yang paling umum digunakan oleh mikroalga termasuk *Melosira* sp. tidak dapat digunakan secara langsung dalam proses metabolisme selnya. Mula-mula nitrat akan direduksi terlebih dahulu menjadi nitrit yang dikatalis oleh enzim reduktase (NaR), kemudian dilanjutkan oleh reduksi nitrit menjadi ammonium oleh enzim nitrit reduktase (NiR) sebagai katalisatornya. Selanjutnya nitrogen dalam bentuk ammonium inilah yang akan digunakan sebagai bahan pembentuk makromolekul sel (Salisbury dan Ross, 1992).

Rendahnya biomassa yang dihasilkan pada perlakuan pemberian kadar nitrat 0,58 M diduga disebabkan oleh peristiwa dinamika penggantian sel-sel klorofil yang rusak akibat fotooksidasi, melibatkan asam-asam amino dan enzim-enzim yang mengandung N (Borowitzka dan Moheimani, 2013).

Apabila terjadi defisiensi N pada mikroalga proses penggantian tersebut akan terhambat dan mengakibatkan kekurangan pigmen fotosintetik klorofil dan fikobilin yang mengandung N (Dennis dan Turpin, 1997).

C. Kadar Lipid

Ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan teknik maserasi menurut Jones *et al.* (2012) yang dimodifikasi. Pelarut yang digunakan yaitu methanol, aquadest dan n-hexana. Ekstraksi dengan menggunakan dua jenis pelarut methanol (polar) dan n-hexana (non-polar), perbedaan jenis kepolaran ini bertujuan agar lipid dapat terekstrak dengan optimal.

Ekstraksi pada kedua tahap memiliki karakteristik yang berbeda, diantaranya yaitu perbedaan warna dan fase. Perbedaan warna yang dihasilkan pada masing-masing tahap disebabkan oleh zat terlarut pada ekstraksi tersebut. Berikut tabel warna filtrat pada kedua tahap ekstraksi.

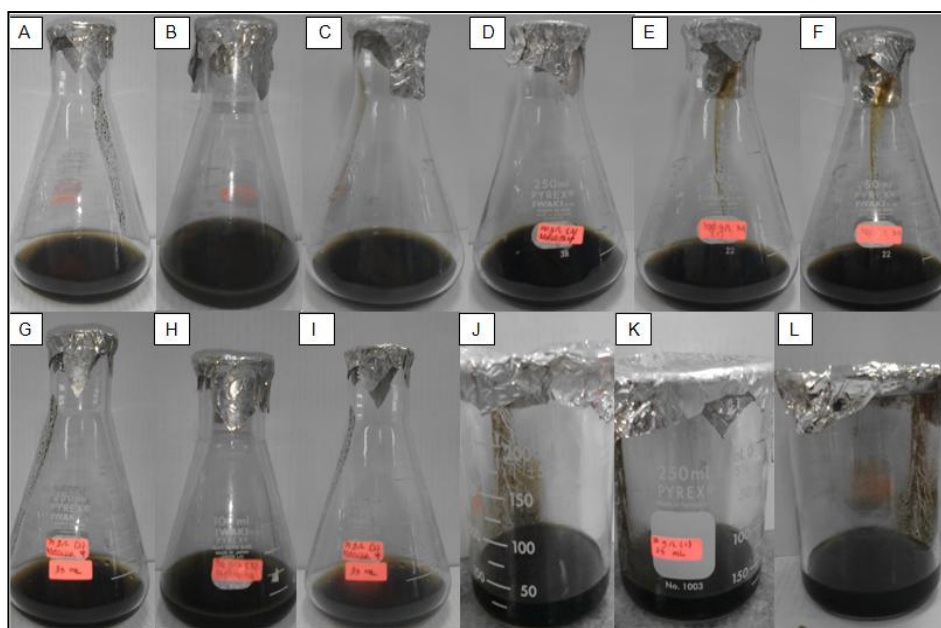
Tabel 8. Warna Ekstrak pada Kedua Tahap Ekstraksi

Ekstraksi tahap ke -1 (Pelarut methanol)	Ekstraksi tahap ke-2 (Pelarut n-hexana dan aquadest)
Hijau pekat	Dua fase: fase n-hexana (hitam) fase hidroalkoholik methanol (cokelat)

Ekstrak tahap pertama dengan menggunakan pelarut methanol, memiliki warna hijau pekat, hal ini disebabkan oleh pigmen yang larut dalam pelarut. Pelarut jenis alkohol ikut mengekstrak beberapa kontaminan seperti gula, asam amino, garam-garam dan pigmen (Medina *et al.*, 1998). Sedangkan ekstraksi pada tahap kedua dengan menggunakan pelarut n-hexana dan aquadest, ekstrak terbagi menjadi

dua fase, yaitu fase n-hexana yang berwarna hitam, karena mengandung senyawa lipid dan fase hidroalkoholik methanol yang berwarna cokelat.

Berikut gambar ekstrak fase n-hexana.



Gambar 9. Fase n-hexana *Melosira* sp. : 0,58 M ulangan ke-1 (A); 0,58 M ulangan ke-2 (B); 0,58 M ulangan ke-3 (C); 0,88 M ulangan ke-1 (D); 0,88 M ulangan ke-2 (E); 0,88 M ulangan ke-3 (F); 1,17 M ulangan ke-1 (G); 1,17 M ulangan ke-2 (H); 1,17 M ulangan ke-3 (I); 1,47 M ulangan ke-1 (J); 1,47 M ulangan ke-2 (K); 1,47 M ulangan ke-3 (L).

Fase n-hexana mengandung lipid, namun lipid tersebut masih berikatan dengan n-hexana, oleh karena itu perlu dilakukan pemurnian untuk didapatkan lipid dengan teknik destilasi. Destilasi dilakukan dengan memperhatikan titik didih pelarut (n-hexana) yaitu 68 °C, suhu pada sistem tidak boleh melebihi suhu titik didih n-hexana. Pada suhu tersebut akan terjadi penguapan n-hexana, namun tidak terjadi penguapan lipid. Lipid yang terdapat pada labu alas bulat diambil dan ditempatkan pada botol vial yang sudah ditimbang terlebih dahulu menggunakan neraca analitik.

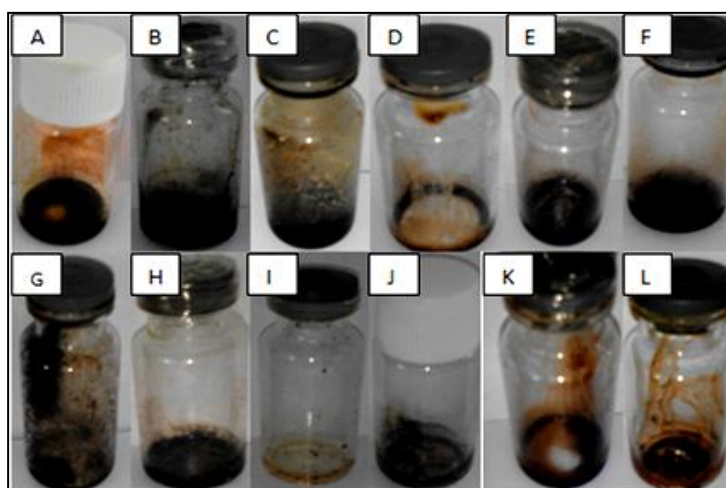
Botol vial yang telah berisi lipid kemudian ditimbang untuk diketahui bobot lipid pada setiap perlakuan kadar nitrat yang berbeda.

Kadar lipid tertinggi diperoleh pada perlakuan kadar nitrat yang terendah yaitu 0,58 M, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Panggabeh, 2012 namun pada jenis mikroalga yang berbeda. Kondisi *stress* kekurangan N menyebabkan terganggunya sintesis membran lipid yang mengandung komponen asam-asam lemak tidak jenuh dan menyebabkan terjadinya akumulasi asam-asam lemak netral cadangan dalam sel dalam bentuk triacylglycerol (TAG) pada alga (Hu *et al.*, 2008). Akumulasi asam lemak inilah yang diinginkan dalam aplikasi mikroalga sebagai sumber bahan alternatif pengganti bahan bakar fosil.

Nitrat (NO_3^-) adalah bentuk utama nitrogen di perairan alami dan merupakan nutrient utama bagi pertumbuhan tanaman dan alga. Nitrat digunakan oleh mikroalga untuk melangsungkan metabolisme dan bereproduksi (Bergman 1999: Bagus Ida 2015). Kandungan lipid dalam mikroalga biasanya dalam bentuk gliserol dan asam lemak. Akumulasi lipid biasanya terjadi dalam periode tekanan lingkungan, termasuk dalam kondisi kekurangan nutrisi ketika masa pertumbuhan. Dalam beberapa kasus, senyawa lipid bisa ditingkatkan dengan melakukan pemiskinan nitrogen dengan faktor tekanan yang lain (Kawaroe *et al.*, 2010). Mikroalga memiliki sistem metabolisme yang ada di protoplasma, pada konsentrasi nitrogen rendah seluruh alga memiliki kandungan dan produktivitas yang tinggi, sebaliknya pada konsentrasi nitrat yang tinggi

kandungan produktivitas lipidnya rendah. Hal ini sesuai dengan pendapat Borowitzka (1988) yang menyatakan bahwa pada konsentrasi nitrogen yang rendah, mikroalga mengandung banyak lipid. Kimball (1991) berpendapat bahwa ada hubungan metabolisme antara karbohidrat, protein dan lemak yaitu kompetisi asetil ko-A, yang merupakan *precursor* pada beragam jalur biosintesis seperti lemak, protein dan karbohidrat.

Kadar nitrat 0,58 M dibawah standar kadar nitrat pada medium f/2 yaitu 0,88 M, sehingga dapat diartikan bahwa pada kondisi tersebut mikroalga berada dalam stress lingkungan. Pada kondisi ini, mikroalga akan cenderung membentuk lipid sebagai cadangan makanan daripada membentuk karbohidrat dan senyawa lainnya. Hal ini disebabkan karena mikroalga lebih banyak menggunakan atom karbon untuk membentuk lipid daripada karbohidrat, sebagai akibat meningkatnya aktifitas enzim asetil ko-A karboksilase (Sheehan *et al.*, 1998). Berikut gambar destilat lipid.



Gambar 10. Destilat lipid *Melosira* sp. kadar nitrat: 0,58 M ulangan ke-1 (A); 0,58 M ulangan ke-2 (B); 0,58 M ulangan ke-3 (C); 0,88 M ulangan ke-1 (D); 0,88 M ulangan ke-2 (E); 0,88 M ulangan ke-3 (F); 1,17 M ulangan ke-1 (G); 1,17 M ulangan ke-2 (H); 1,17 M ulangan ke-3 (I); 1,47 M ulangan ke-1 (J); 1,47 M ulangan ke-2 (K); 1,47 M ulangan ke-3 (L).

D. Pengaruh Kadar Nitrat terhadap Laju Pertumbuhan, Biomassa dan Kadar Lipid *Melosira* sp.

Tabel 9. Rerata Laju Pertumbuhan, Biomassa dan Kadar Lipid *Melosira* sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda

Kadar Nitrat (M)	Laju Pertumbuhan (pembelahan/hari) ± SE	Biomassa (gr) ± SE	Kadar Lipid (%) ± SE
0,58	0,349 ^a ±0,009	8,33 ^a ± 0,33	11,86 ^c ± 0,15
0,88	0,355 ^a ±0,008	8,67 ^a ± 0,67	7,66 ^b ± 0,99
1,17	0,410 ^b ±0,008	8,67 ^a ± 0,33	6,47 ^a ± 0,86
1,47	0,423 ^b ±0,004	11,67 ^b ± 0,33	6,22 ^a ± 0,19

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada $\alpha=0,05$ uji Duncan

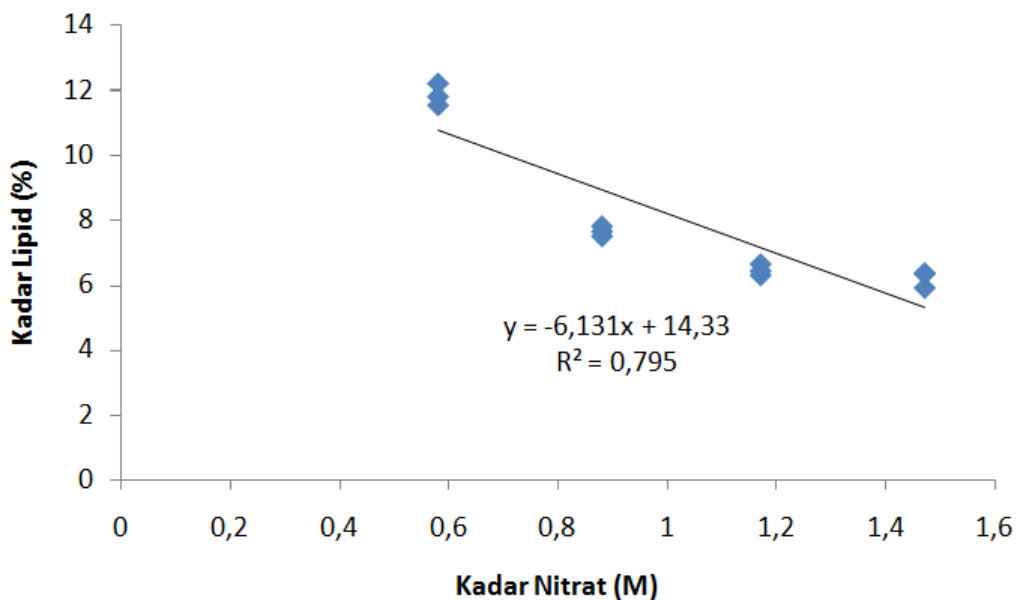
Berdasarkan data di atas dapat diketahui bahwa semakin tinggi kadar nitrat yang diberikan pada kultur *Melosira* sp., maka semakin tinggi pula laju pertumbuhan dan biomassa *Melosira* sp. Namun, semakin tinggi kadar nitrat yang diberikan pada kultur *Melosira* sp., kadar lipid yang dihasilkan semakin rendah. Hal ini dapat dijelaskan bahwa kadar nitrat 1,17 M merupakan batas kritis pertumbuhan vegetatif, karena pada kadar nitrat yang lebih tinggi, yaitu 1,47 M, laju pertumbuhan (*growth rate*) mikroalga *Melosira* sp. tidak berbeda jauh dengan 1,17 M. ketika organisme fotosintetik memasuki masa vegetatif, maka organisme tersebut sangat membutuhkan unsur hara N, sehingga saat itu unsur hara N berperan vital bagi organisme tersebut. Unsur hara ini memiliki fungsi mensintesis klorofil yang kemudian digunakan organisme fotosintetik untuk fotosintesis (Bojovic, 2009).

E. Korelasi antara Kadar Nitrat yang diberikan terhadap Kadar Lipid

Berdasarkan hasil uji korelasi *bivariate* (lampiran 9) diketahui bahwa terdapat korelasi terbalik antara kadar nitrat yang diberikan terhadap kadar lipid yang dihasilkan. Kadar nitrat yang rendah dapat meningkatkan kadar lipid *Melosira* sp. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pada saat mikroalga dikultur pada kondisi *stress* nutrien, proses metabolismenya akan terganggu, yaitu adanya kompetisi antara pembentukan biomassa dan TGA melalui proses asimilasi fotosintesis dan mengubah jalur metabolisme untuk menstimulasi biosintesis lipid. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Fakhry dan Maghraby, 2015 yaitu terdapat korelasi terbalik antara kadar nitrat yang diberikan pada kultur *Nannochloropsis salina* dengan kadar lipid yang diproduksinya.

Kondisi *stress* nutrien memungkinkan senyawa piruvat yang dihasilkan dari proses glikolisis akan dikonversi menjadi asetil ko-A oleh kompleks enzim piruvat dehidrogenase yang terdapat di plastida. Asetil ko-A yang dihasilkan dari piruvat selanjutnya diaktifkan menjadi malonil ko-A yang dikatalis oleh kompleks enzim asetil ko-A karboksilase. Malonil ko-A menyusun donor karbon untuk masing-masing siklus lintasan biosintesis asam lemak. Asam lemak dihasilkan melalui kompleks multi subunit yang tersusun oleh enzim fatty acid synthase. Asam lemak yang telah dihasilkan kemudian diaktivasi untuk menggabungkan asam lemak tersebut ke membran lipid (Campbell, 2008). Akumulasi lipid saat mikroalga berada pada kondisi nitrat yang rendah distimulasi oleh enzim

isocitrate dehydrogenase (Spolaore *et al.*, 2006). Berikut grafik kadar nitrat yang diberikan dan kadar lipid yang dihasilkan oleh *Melosira* sp.

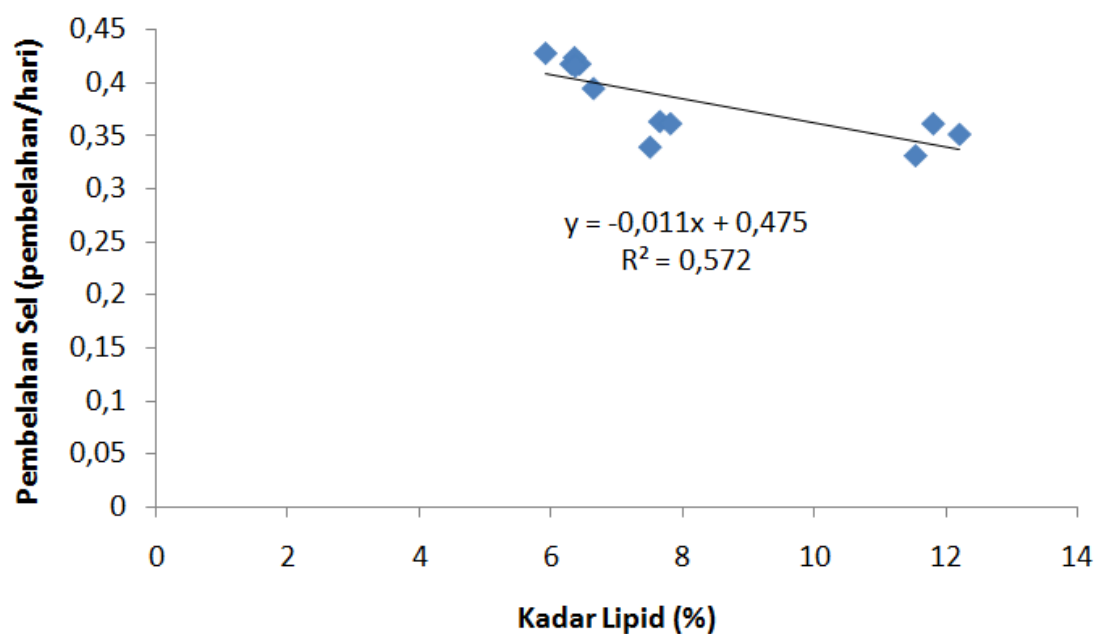


Gambar 11. Kadar Nitrat yang diberikan dan Kadar Lipid yang dihasilkan oleh *Melosira* sp.

F. Korelasi antara Laju Pertumbuhan dan Kadar Lipid

Berdasarkan hasil uji korelasi *bivariate* (lampiran 9) diketahui bahwa terdapat korelasi terbalik antara laju pertumbuhan dan kadar lipid. Hal ini dapat dijelaskan bahwa nitrat yang diberikan pada kultur *Melosira* sp. dalam kadar yang tinggi dimanfaatkan secara maksimal untuk melakukan pertumbuhan dan pembelahan sel, sedangkan saat kultur *Melosira* sp. berada pada konsisi *stress nutrient*, terjadi pengubahan jalur metabolisme, yaitu pembentukan lipid lebih tinggi dibandingkan pembentukan protein yang digunakan untuk pertumbuhan, dikarenakan adanya kompetisi antara pembentukan biomassa dan TGA melalui proses

asimilasi fotosintesis dan mengubah jalur metabolisme untuk menstimulasi biosintesis lipid. Alga merespon kekurangan nitrogen sebagai sinyal untuk mengumpulkan energi dan kemudian meneruskan respon ini dengan mengakumulasi lipid (William, *et al.*, 2015). Berikut grafik kadar lipid dan laju pertumbuhan yang dihasilkan oleh *Melosira* sp.



Gambar 12. Kadar Nitrat yang diberikan dan Laju Pertumbuhan serta Kadar Lipid yang dihasilkan oleh *Melosira* sp.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat perbedaan laju pertumbuhan pada setiap perlakuan, hasil yang menunjukkan signifikans (*significant*) yaitu pada perlakuan kadar nitrat 1,17 M dan 1,47 M.
2. Terdapat perbedaan bobot biomassa pada setiap perlakuan, hasil yang menunjukkan signifikansi tinggi (*highly significant*) yaitu pada perlakuan kadar nitrat 1,47 M.
3. Terdapat perbedaan kadar lipid pada setiap perlakuan, hasil yang menunjukkan signifikansi tinggi (*highly significant*) yaitu pada perlakuan kadar nitrat 0,58 M.
4. Terdapat hubungan terbalik antara kadar nitrat yang diberikan terhadap kadar lipid yang dihasilkan *Melosira* sp.
5. Terdapat hubungan terbalik antara laju pertumbuhan dan kadar lipid yang dihasilkan *Melosira* sp.

B. Implikasi

Hasil penelitian ini memberikan informasi bahwa unsur hara, salah satunya nitrat sangatlah penting dalam mempengaruhi biomassa dan produktivitas lipid mikroalga *Melosira* sp. Lipid tertinggi diperoleh dari

kadar nitrat terendah pada percobaan ini, yaitu 0,58 M. Dengan demikian, kadar nitrat 0,58 M dapat digunakan pada kultivasi *Melosira* sp. untuk mendapatkan kadar lipid yang tinggi dibandingkan dengan kontrol.

C. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran dari peneliti yaitu:

1. Sebaiknya dalam kultivasi mikroalga *Melosira* sp. kadar nitrat yang digunakan yaitu 0,58 M, agar mendapatkan hasil kadar lipid yang lebih tinggi dibandingkan kadar lipid yang diperoleh dari kontrol.
2. Sebaiknya dilakukan kombinasi kadar nitrat rendah dengan kadar silikat tinggi, agar didapatkan biomassa dan kadar lipid yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arinardi, O. H, Trimaningsih dan Sudirdjo. 1994. *Pengantar tentang Plankton serta Kisaran Kelimpahan dan Plankton Predominan di Sekitar Pulau Jawa dan Bali*. Jakarta: Puslitbang Oseanologi-LIPI.
- Bagus, Ida Gede Brahmantara. 2015. Pengaruh Konsentrasi Penambahan Sodium Nitrat dan Sodium Fosfat pada Media Guillard terhadap Konsentrasi Biomassa Dan Lemak Mikroalga. *Nannochloropsis* sp. *Skripsi*. Bali: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana.
- Brock dan Madigan. 1991. *Biology of Microorganisms*. Sixth rd. Prentice-Hall International, Inc.
- Balai Budidaya Laut. 2002. *Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Balai Budidaya Lampung. Dirjen Budidaya. Kementerian Kelautan dan Perikanan: 13–55.
- Berg, J.M.; Tymoczko, J.L.; and Stryer, L. 2002. *Biochemistry 5th Edition*. WHFreeman: 108-109.
- Bligh, EG dan Dyer WJ. 1959. A Rapid Method for Total Lipid Extraction and Purification. *Biochem Physiol*.37: 911-917.
- Bojovic, B., dan A. Markovic. 2009. Correlation Between Nitrogen Content and Chlorophyll Content in Wheat. *Kragujevac Journal Sci*. 31: 69-74.
- Borowitzka, M.A. 1988. *Algal Growth Media And Sources Of Algal Cultures*. In : *Borowitzka, M.A & L.J Borowitzka (Eds) Microalga Biotechnology*. Cambridge: Cambridge University Press: 456-465.
- Borowitzka, Michael A., Moheimani, Navid Reza (Eds.). 2013. *Algae for Biofuels and Energy*. New York: Springer.
- Burrell, R.C dan T.G. Phillips. 1925. The Determinations of Nitrate Nitrogen in Plants. *Journal of Biological Chemistry*. 65: 229-234.
- Chrismadha, T, Panggabean, LM, & Mardiaty, Y. 2006. Pengaruh Konsentrasi Nitrogen dan Fosfor terhadap Pertumbuhan, Kandungan Protein, Karbohidrat dan Fikosianin pada Kultur *Spirulina fusiformis*, *Berita Biologi*. 8: 163-169.
- Colby, DS.1988. *Biokimia*. Alih Bahasa: Adji Dharma, EGC, Jakarta.

- Crawford, RM dan Mann, DG. 1990. *The Diatoms: Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge University Press. London. UK: 747.
- Dennis, D.T. dan D.H. Turpin. 1997. *Plant Metabolism*. Singapore: Addison Wesley Longman Singapore Ltd.
- Dwidjoseputro, D. 1978. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. PT Gramedia, Jakarta.
- Endar, Vivi Herawati *et al.* 2012. Pengaruh Penggunaan Dua Jenis Media Kultur Teknis yang Berbeda terhadap Pola Pertumbuhan, Kandungan Protein dan Asam Lemak Omega 3 EPA (*Chaetoceros gracilis*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 1: 221-235.
- Ernest, 2012. Pengaruh Kandungan Ion Nitrat terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.
- Fakhry dan Maghraby. 2015. Lipid Accumulation in Response to Nitrogen Limitation and Variation of Temperature in *Nannochloropsis salina*. *Springer*. 56:6.
- Fogg, G. E. 1987. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. London: The University of Wisconsin Press, Ltd.
- Ghosh, M dan J. P. Gaur. 1998. Current Velocity and Establishment of Stream Algal Periphyton Communities. *Aquatic Botany*. 60:1-10.
- Gomez, Kwanchai dan Gomez, Arturo. 1984. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. US: A Wiley-Interscience Publication.
- Guillard, R.R.L. 1975. *Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates*: 26-60. In Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. New York, USA: Plenum Press
- Hansen. 2000. *Laboratory Procedures "Hemocytometer"*. University of Florida.
- Harahap, PS, Susanto, AB, Susilaningsih, D, dan Delicia, YR. 2013. Pengaruh Substitusi Limbah Cair Tahu untuk Menstimulasi Pembentukan Lipida pada *Chlorella* sp. *Marine Research*. 2: 80-86.
- Harun, R., Singh, M., Forde, G.M., Danquah, M.K. 2010. Bioprocess Engineering of Microalgae to Produce a Variety of Consumer

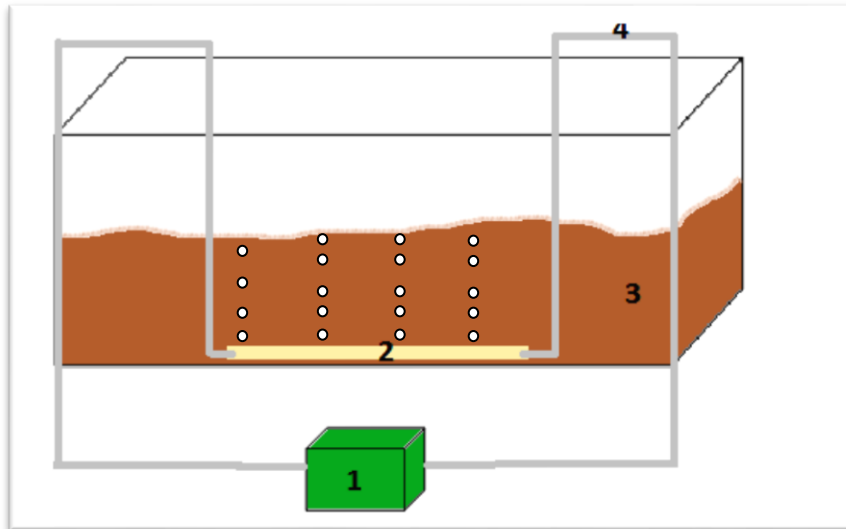
- Products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.14: 1037–1047.
- Hermawan A., 2004. The Protein, Lipids and Fatty Acids contents of *Tetraselmis* sp. with Various culture media. Master of Science (Aquaculture). *Thesis*. Departement of Aquaculture. Thailand. Kasetsart University: 71.
- Hu Q, *et al.* 2008. Microalgal Triacylglycerols as Feedstocks for Biofuel Production: Perspectives and Advances. *Plant J*. 54: 621-639.
- Peraturan Menteri ESDM Republik Indonesia Nomor 25 Tahun 2013 Tentang Perubahan Atas Peraturan Menteri ESDM No. 32 Tahun 2008 Tentang Penyediaan, Pemanfaatan dan Tata Niaga Bahan Bakar Minyak Nabati (*Biofuel*) sebagai Bahan Bakar Lain.
- Jones, *et al.* 2012.Extraction of Algal Lipids and Their Analysis by HPLC and Mass Spectrometry.*J. Am. Oil Chem. Soc.* 89: 1371–1381.
- Kawaroe *et al.* 2010. *Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. Bogor: IPB Press.
- Kimball, J.W. 1991. *Biologi*. Erlangga. Jakarta.
- Kuhl, A. 1974. Phosporus. In Stewart, W.D.P. (Ed.) *Algal Physiology and Biochemistry*. *Blackwell Scien*: 610-654.
- Lakitan, B. 2011. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Medina, Robles A., E. Molina Grima, A. Gimenez Gimenez, and M. J. Ibanez Gonzalez. 1998. Downstream Processing of Algal Polyunsaturated Fatty Acids. *Biotechnology Advances*.16:517-580.
- Muntsji, A.R. 1972. Beberapa Aspek Biologi Rumput Laut. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor Fakultas Pertanian.
- Nicholls, R.E. 1993. *Hidroponik Tanaman Tanpa Tanah*. Semarang: Dahara Prize: 85-86.
- Nigam, Subhasha., Monika PR., & Sharma R. 2011. Effect of Nitrogen on Growth and Lipid Content of *Chlorella pyrenoidosa*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*.7: 126-131.
- Nybakken, J., W. 1992. *Biologi Laut; Suatu Pendekatan Ekologis*. Jakarta: PT.Gramedia Pustaka Utama.

- Odum, E. P. 1971. *Fundamentals of Ecology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company Ltd.
- Panggabean Maria Lily Goretti dan Sutomo. 2000. Morfologi dan Reproduksi *Melosira* sp. *Pros. Sem. Nas. Biologi XVI*, Kampus ITB Bandung: 388-393.
- Panggabean Maria Lily Goretti dan Sutomo. 2012. Pertumbuhan Biomasa, Klorofil-A, Asam Lemak Mikroalga *Melosira* sp. *Puslit Oseanografi & Puslit Limnologi, LIPI*. 38: 105-113.
- Patil NB, Gajbhiye M, Ahiwale SS, Gunjal AB, Kapadnis BP. 2011. Optimization of indole 3-acetic acid (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolated from sugarcane. *J. Environ Sci*. 2: 307-314.
- Pescod, M.B. 1973. *Investigation of Rational Effluent and Stream Standard for Tropical Countries*. Bangkok: AIT.
- Pienkos, Philip T. and Al Darzins. 2009. The Promise and Challenges of Microalgal-Derived Biofuels. *Journal Biofr*.3:431–440.
- Pranayogi, D. 2003. *Studi Potensi Pigmen Klorofil dan Karotenoid dari Mikroalga Jenis Chlophyceae*. Lampung: Universitas Lampung.
- Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., and Bux, F. 2013. Biodiesel from Microalgae: A Critical Evaluation From Laboratory To Large Scale Production. *Appl. Energy*: 444–467.
- Round *et al.* 1990. *Diatoms: Biology and Morphology of the Genera*. UK: Cambridge University Press.
- Salisbury, F. B dan C.W. Ross. 1992. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Terjemahan oleh Diah R. Lukman dan Sumaryono, 1995. Bandung: ITB-Press.
- Sarief, E. S. 1986. *Ilmu Tanah Pertanian*. Bandung: Pustaka Buana: 157.
- Schuman dan Howarth. 1986. Diatoms as Indicator of Pollution. *Proceeding of the Eighth The International Symposium 1984* (ed. M Richard). *KLoeltz Scientific Books*: 757-766.
- Setiawan, S., Sari, M., dan Yuliusman. 2008. Mekanisme Absorpsi CO₂ dengan Menggunakan Fitoplankton. *Jurnal Ilmiah Bioteknologi*. 19: 115-119.

- Setyaningsih *et al.*, 2008. Ekstraksi Senyawa Anti Bakteri Dari Diatom *Chaetoceros gracilis* dengan Berbagai Metode. *Jurnal Biologi Indonesia*: 23-33.
- Sharma. Y.C., Singh. B. 2008. Advancements in Development and Characterization of Biodiesel: A Review. *Fuel*. 87: 2355-2373.
- Sheehan *et al.* 1998. *A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program Biodiesel from Algae*. National Renewable Energy Laboratory.
- Sheng J., Vannela R., Rittmann BE. 2011. Evaluation of Methods to Extract and Quantify Lipids from *Synechocystis* PCC 6803. *Bioresour Technol.*102: 1697-1703.
- Sriharti dan Carolina. 1995. Kualitas Algae Bersel Tunggal *Chlorella* sp. pada Berbagai Media. *Seminar Ilmiah Hasil Penelitian dan Pengembangan Bidang Fisika Terapan*. Balai Pengembangan Teknologi Tepat Guna, Puslitbang Fisika Terapan-LIPI, Subang.
- Suslick, K. S. 1988. *Ultrasounds: Its Chemical, Physical and Biological Effects*. New York: VHC Publishers.
- Welch EB. 1980. *Ecological Effect of Waste Water*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Widianingsih, Hartati R, H Endrawati, Yudiati E & Iriani VR. 2011. Pengaruh Pengurangan Konsentrasi Nutrien Fosfat dan Nitrat Terhadap Kandungan Lipid Total *Nannochloropsis oculata*. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 16: 24-29.
- Widianingsih, Ridho A, Hartati R & Harmoko. 2008. Kandungan Nutrisi *Spirulina platensis* yang dikultur pada Media yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 13: 167-170.
- Widodo dan Suadi. 2006. *Pengelolaan Sumberdaya Perikanan Laut*. Yogyakarta.
- William *et al.* 2015. Effect of Nitrate Depletion on Lipid Accumulation by the Marine Microalga *Nannochloropsis Oculata*. *Bol. Inst. Pesca*. 41: 811 – 816.
- Winarso, S. 2005. *Kesuburan Tanah Dasar Kesehatan dan Kualitas Tanah*. Yogyakarta: Gava Media.
- Wirahadikusumah, Muhammad. 1985. *Biokimia: Metabolisme Energi, karbohidrat dan Lipid*. Bandung: ITB-Press.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Desain Aquarium Kultur Mikroalga



Gambar 13. Desain Aquarium

Keterangan: 1. *Air pump*, 2. *Air stone*, 3. Kultur *Melosira* sp., 4. Selang udara

Lampiran 2. Jumlah Sel *Melosira* Sp. pada Tiap Perlakuan Nitrat yang Berbeda (Rata-Rata Chamber 1+ Chamber 2)

Perlakuan	Hari ke-	Ulangan ke-		
		1	2	3
Nitrat 0,58 M	1	2	4	3
	2	9	10	11
	3	35	38	56
	4	43	51	57
	5	32	58	36
	6	50	43	18
	7	39	21	51
	8	12	34	11
Nitrat 0,88 M	1	5	6	1
	2	12	4	5
	3	43	54	41
	4	57	47	56
	5	68	22	42
	6	31	40	37
	7	47	29	20
	8	11	17	35
Nitrat 1,17M	1	27	16	29
	2	29	35	32
	3	75	81	66
	4	76	94	94
	5	91	76	88
	6	94	69	83
	7	78	87	69
	8	43	61	61
Nitrat 1,47 M	1	29	17	38
	2	52	51	77
	3	62	66	52
	4	99	103	92
	5	93	87	87
	6	81	83	88
	7	68	79	84
	8	67	51	56

Lampiran 3. Cara Perhitungan Jumlah Sel (sel/mL) dan Laju Pertumbuhan

Rumus perhitungan jumlah sel

$$\text{Jumlah sel} = \frac{(\text{jumlah sel chamber 1} + \text{jumlah sel chamber 2})}{2} \times 5 \times 10.000$$

Contoh : Perlakuan Nitrat 0,58 M hari ke-1 (H1)

A. Ulangan ke-1

$$\text{Jumlah sel} = \frac{(3+1)}{2} \times 5 \times 10.000$$

$$\text{Jumlah sel} = \frac{4}{2} \times 5 \times 10.000$$

Jumlah sel= 100.000 sel/mL

B. Ulangan ke-2

$$\text{Jumlah sel} = \frac{(3+5)}{2} \times 5 \times 10.000$$

$$\text{Jumlah sel} = \frac{8}{2} \times 5 \times 10.000$$

Jumlah sel= 200.000 sel/mL

C. Ulangan ke-3

$$\text{Jumlah sel} = \frac{(2+4)}{2} \times 5 \times 10.000$$

$$\text{Jumlah sel} = \frac{6}{2} \times 5 \times 10.000$$

Jumlah sel= 150.000 sel/mL

D. Rata-Rata

$$\text{Jumlah sel} = \frac{\text{ulangan ke-1} + \text{ulangan ke-2} + \text{ulangan ke-3}}{3}$$

$$\text{Jumlah sel} = \frac{100.000 + 200.000 + 150.000}{3}$$

Jumlah sel = 150.000 sel/mL

Lampiran 4. Perhitungan Jumlah Sel *Melosira* sp. (sel/mL)
Jumlah Sel *Melosira* sp. (sel/mL)

Perlakuan	0,58	0,88 M	1,17M	1,47 M
Hari ke-				
0	100000	100000	100000	100000
1	150000	200000	1200000	1400000
2	500000	950000	1600000	3000000
3	2150000	2300000	3700000	3700000
4	2500000	2650000	4400000	4900000
5	2100000	2200000	4250000	4450000
6	1850000	1800000	4100000	4200000
7	1850000	1600000	3900000	3850000
8	950000	1050000	2750000	2900000

Lampiran 5. Cara Perhitungan Laju Pertumbuhan (k)

Rumus perhitungan Laju Pertumbuhan (k)

$$K = \frac{\log N_1 - \log N_0}{(t_1 - t_0)}$$

Keterangan: N_1 = jumlah sel akhir

N_0 = jumlah sel awal

t_1 = waktu pertumbuhan awal

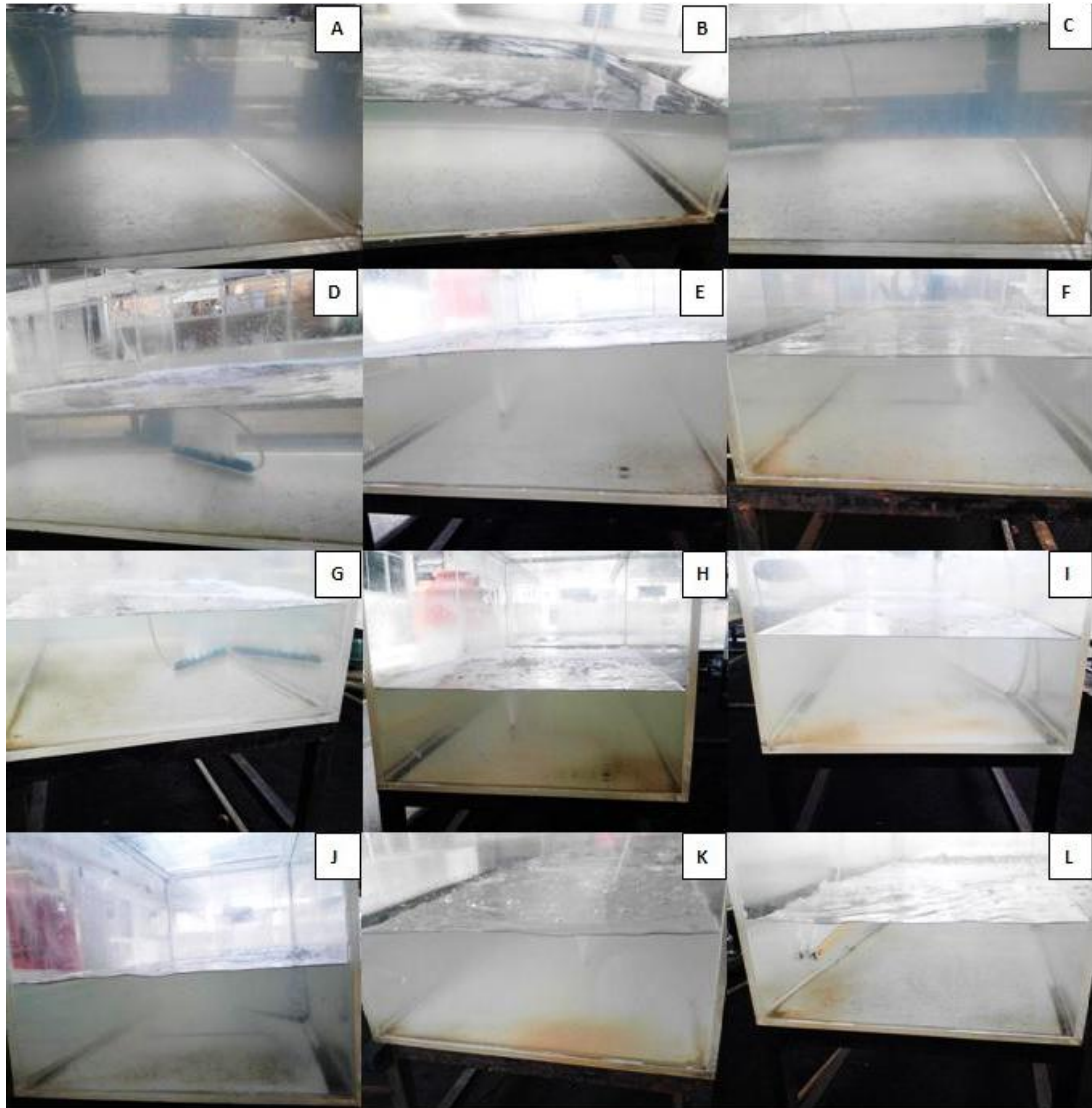
t_0 = waktu pertumbuhan akhir

Contoh : Perlakuan Nitrat 0,58 M

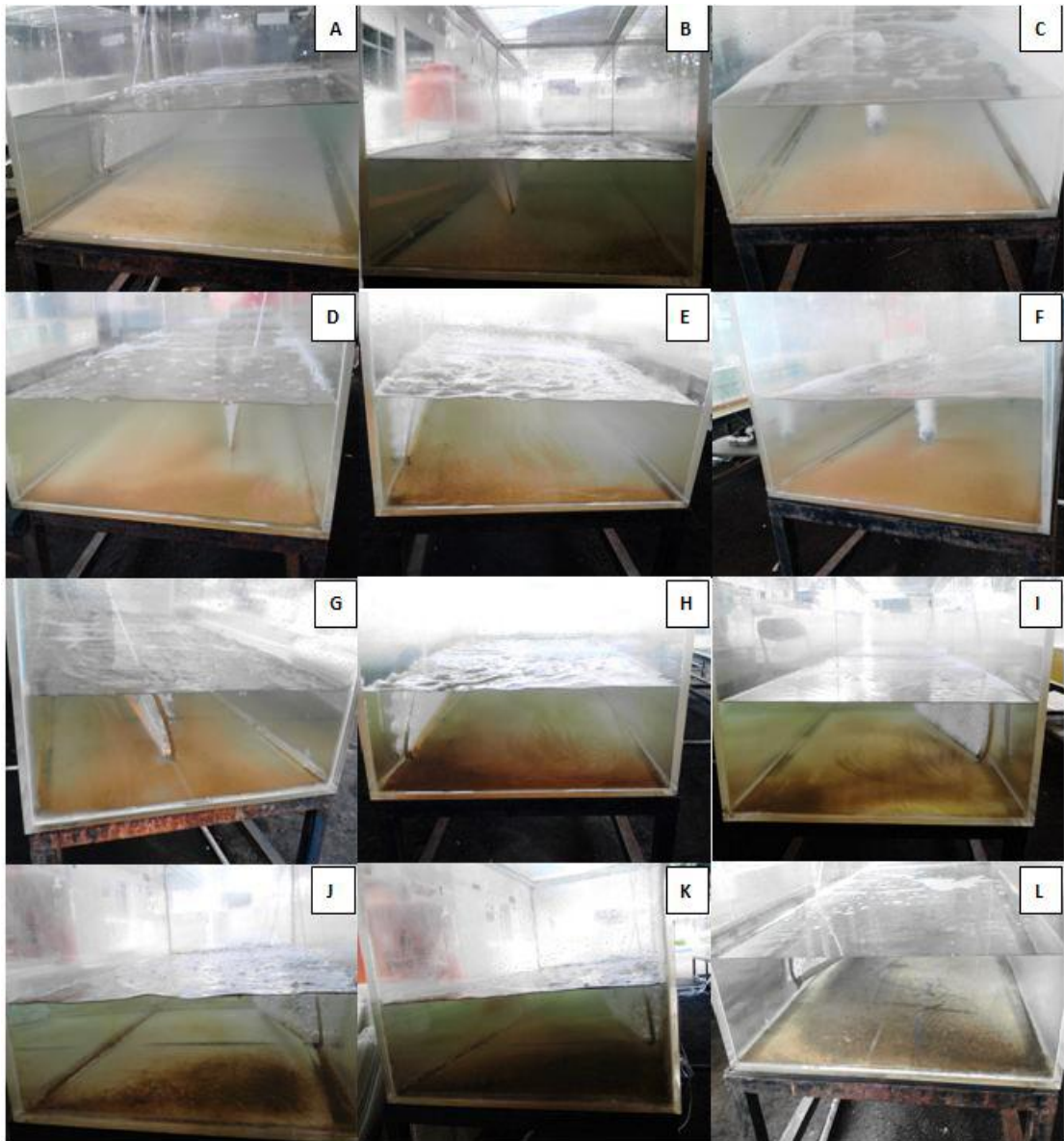
$$K = \frac{\log 2.500.000 - \log 100.000}{(4-0)}$$

$$K = 0,349 \text{ pembelahan/hari}$$

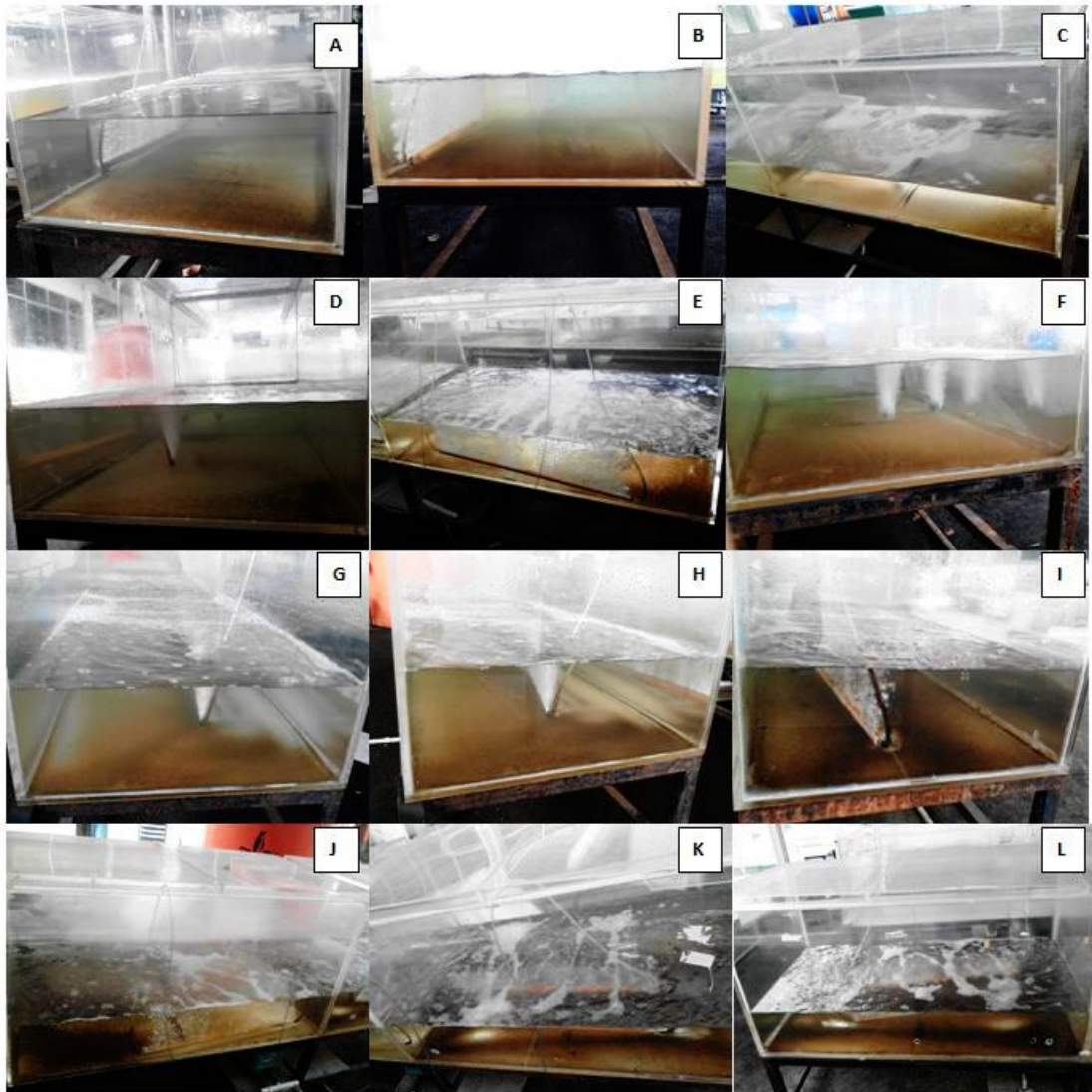
Lampiran 6. Kultur *Melosira* sp. Tahap Keempat



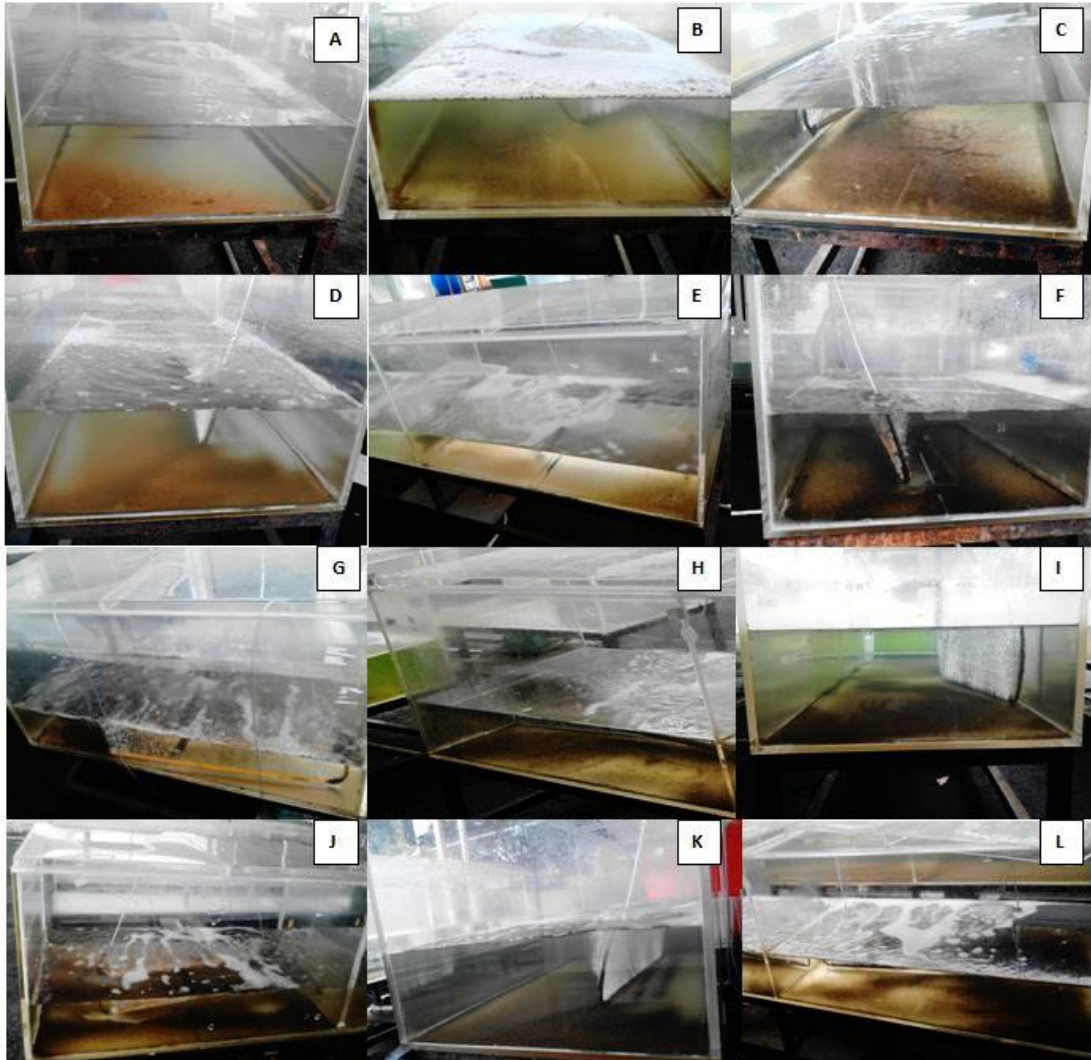
Gambar 14. Kultur *Melosira* sp. pada Tahap Keempat Usia 24 Jam (H1) dengan Kadar Nitrat: : 0,58 M ulangan ke-1 (A); 0,58 M ulangan ke-2 (B); 0,58 M ulangan ke-3 (C); 0,88 M ulangan ke-1 (D); 0,88 M ulangan ke-2 (E); 0,88 M ulangan ke-3 (F); 1,17 M ulangan ke-1 (G); 1,17 M ulangan ke-2 (H); 1,17 M ulangan ke-3 (I); 1,47 M ulangan ke-1 (J); 1,47 M ulangan ke-2 (K); 1,47 M ulangan ke-3 (L)



Gambar 15. Kultur *Melosira* sp. pada Tahap Keempat Usia 72 Jam (H3) dengan Kadar Nitrat: 0,58 M ulangan ke-1 (A); 0,58 M ulangan ke-2 (B); 0,58 M ulangan ke-3 (C); 0,88 M ulangan ke-1 (D); 0,88 M ulangan ke-2 (E); 0,88 M ulangan ke-3 (F); 1,17 M ulangan ke-1 (G); 1,17 M ulangan ke-2 (H); 1,17 M ulangan ke-3 (I); 1,47 M ulangan ke-1 (J); 1,47 M ulangan ke-2 (K); 1,47 M ulangan ke-3 (L)



Gambar 16. Kultur *Melosira* sp. pada Tahap Keempat Usia 120 Jam (H5) dengan Kadar Nitrat: 0,58 M ulangan ke-1 (A); 0,58 M ulangan ke-2 (B); 0,58 M ulangan ke-3 (C); 0,88 M ulangan ke-1 (D); 0,88 M ulangan ke-2 (E); 0,88 M ulangan ke-3 (F); 1,17 M ulangan ke-1 (G); 1,17 M ulangan ke-2 (H); 1,17 M ulangan ke-3 (I); 1,47 M ulangan ke-1 (J); 1,47 M ulangan ke-2 (K); 1,47 M ulangan ke-3 (L).



Gambar 17. Kultur *Melosira* sp. pada Tahap Keempat Usia 168 Jam (H7) dengan Kadar Nitrat : 0,58 M ulangan ke-1 (A); 0,58 M ulangan ke-2 (B); 0,58 M ulangan ke-3 (C); 0,88 M ulangan ke-1 (D); 0,88 M ulangan ke-2 (E); 0,88 M ulangan ke-3 (F); 1,17 M ulangan ke-1 (G); 1,17 M ulangan ke-2 (H); 1,17 M ulangan ke-3 (I); 1,47 M ulangan ke-1 (J); 1,47 M ulangan ke-2 (K); 1,47 M ulangan ke-3 (L).

Lampiran 7. Rata-rata Parameter Lingkungan Harian

Perlakuan	Hari, Tanggal (hari ke-)	Parameter Lingkungan				Rata-rata			
		pH	Suhu (°C)	Intensitas Cahaya (Lux)	Salinitas (ppt)	pH	Suhu (°C)	Intensitas Cahaya (Lux)	Salinitas (ppt)
5,8x10 ⁻¹ M (1)		7	31,4	6740	32	7	31	5.943	32
5,8x10 ⁻¹ M (2)		7	31,6	6710	32				
5,8x10 ⁻¹ M (3)		7	31	4380	32				
8,82x10 ⁻¹ M (1)	Kamis, 14 Januari 2016 (H0)	7	31,7	7200	32	7	32	6.250	32
8,82x10 ⁻¹ M (2)		7	31,7	5980	32				
8,82x10 ⁻¹ M (3)		7	31,6	5570	32				
11,7 x 10 ⁻¹ M (1)		7	31,7	4970	32	7	32	5.817	33
11,7 x 10 ⁻¹ M (2)		7	31,7	5180	33				
11,7 x 10 ⁻¹ M (3)		7	31,7	7300	33				
14,7x10 ⁻¹ M (1)		7	31,6	5150	32	7	32	5.920	32

14,7x10-1 M (2)		7	31,7	5970	32				
14,7x10-1 M (3)		7	31,7	6640	32				
5,8x10-1 M (1)		7	30,4	5510	32	7	31	5.617	32
5,8x10-1 M (2)		7	30	5460	32				
5,8x10-1 M (3)		7	32,2	5880	32				
8,82x10-1 M (1)		7	30	4670	32	7	30	5.347	32
8,82x10-1 M (2)	Jumat, 15 Januari 2016 (H1)	7	30,1	5700	32				
8,82x10-1 M (3)		7	30,1	5670	32				
11,7 x 10-1 M (1)		7	29,9	4750	33	7	30	4.690	33
11,7 x 10-1 M (2)		7	29,9	4980	33				
11,7 x 10-1 M (3)		7	29,9	4340	33				
14,7x10-1 M (1)		7	29,6	4620	32	7	30	5.257	32
14,7x10-1 M (2)		7	30,1	5520	32				
14,7x10-1 M (3)		7	30,1	5630	32				
5,8x10-1 M (1)		7	28,5	6760	32	7	29	6.027	32
5,8x10-1 M (2)		7	28,7	4700	32				
5,8x10-1 M (3)	Sabtu, 16 Januari 2016 (H2)	7	29	6620	32				
8,82x10-1 M (1)		7	28,5	4660	32	7	29	4.463	32
8,82x10-1 M (2)		7	28,6	4320	32				
8,82x10-1 M (3)		7	28,5	4410	32				
11,7 x 10-1 M (1)		7	28,5	4300	33	7	29	4.593	33

11,7 x 10-1 M (2)		7	28,5	4700	33				
11,7 x 10-1 M (3)		7	28,5	4780	33				
14,7x10-1 M (1)		7	28,1	4700	32	7	28	4.480	32
14,7x10-1 M (2)		7	28,5	4330	32				
14,7x10-1 M (3)		7	28,5	4410	32				
5,8x10-1 M (1)		7	28,9	4600	32	7	29	5.970	32
5,8x10-1 M (2)		7	29,4	6160	32				
5,8x10-1 M (3)		7	29,4	7150	32				
8,82x10-1 M (1)		7	28,8	5710	32	7	29	5.433	32
8,82x10-1 M (2)		7	29	5380	32				
8,82x10-1 M (3)	Minggu, 17 Januari 2016 (H3)	7	28,8	5210	32				
11,7 x 10-1 M (1)		7	28,7	5010	33	7	29	4.743	33
11,7 x 10-1 M (2)		7	28,7	5040	33				
11,7 x 10-1 M (3)		7	28,3	4180	33				
14,7x10-1 M (1)		8	28,7	5740	32	8	29	5.437	32
14,7x10-1 M (2)		8	29,1	5380	33				
14,7x10-1 M (3)		8	29	5190	32				
5,8x10-1 M (1)	Senin, 18 Januari 2016 (H4)	7	31,6	7900	32	7	32	7.960	32
5,8x10-1 M (2)		7	31,9	7660	32				
5,8x10-1 M (3)		7	32	8320	32				

8,82x10-1 M (1)		8	31,9	7750	32	8	32	7.167	32
8,82x10-1 M (2)		8	32,2	8350	32				
8,82x10-1 M (3)		8	31,9	5400	32				
11,7 x 10-1 M (1)		8	31,9	5170	33	8	32	6.543	33
11,7 x 10-1 M (2)		8	32	7600	33				
11,7 x 10-1 M (3)		8	31,6	6860	33				
14,7x10-1 M (1)		8	32	7860	32	8	32	7.800	32
14,7x10-1 M (2)		8	31,9	7600	33				
14,7x10-1 M (3)		8	32	7940	32				
5,8x10-1 M (1)		8	31,3	5400	33	8	31	4.840	33
5,8x10-1 M (2)		8	31,2	4020	32				
5,8x10-1 M (3)		8	31,7	5100	33				
8,82x10-1 M (1)		8	31,7	5770	33	8	32	5.867	33
8,82x10-1 M (2)	Selasa, 19 Januari 2016 (H5)	8	31,7	6210	33				
8,82x10-1 M (3)		8	31,7	5620	32				
11,7 x 10-1 M (1)		8	32	7750	33	8	32	6.297	33
11,7 x 10-1 M (2)		8	31,6	5780	33				
11,7 x 10-1 M (3)		8	31,6	5360	33				
14,7x10-1 M (1)		8	31,6	5460	33	8	32	5.980	33
14,7x10-1 M (2)		8	31,7	6350	33				
14,7x10-1 M (3)		8	31,7	6130	32				

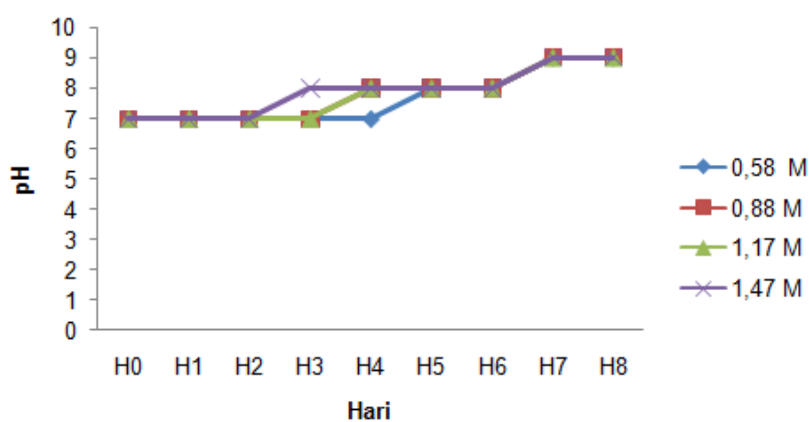
5,8x10-1 M (1)		8	29,5	5170	34	8	30	5.193	34
5,8x10-1 M (2)		8	29,5	5240	33				
5,8x10-1 M (3)		8	29,5	5170	34				
8,82x10-1 M (1)		8	29,3	5090	33	8	30	6.470	33
8,82x10-1 M (2)	Rabu, 20 Januari 2016 (H6)	8	30	8760	33				
8,82x10-1 M (3)		8	29,3	5560	33				
11,7 x 10-1 M (1)		8	29,3	5980	33	8	30	5.933	33
11,7 x 10-1 M (2)		8	29,5	5860	33				
11,7 x 10-1 M (3)		8	29,8	5960	34				
14,7x10-1 M (1)		8	29,5	5580	34	8	30	6.360	33
14,7x10-1 M (2)		8	29,8	6770	33				
14,7x10-1 M (3)		8	29,8	6730	33				
5,8x10-1 M (1)		9	29,3	5230	34	9	29	5.453	34
5,8x10-1 M (2)		9	29,5	5460	33				
5,8x10-1 M (3)		9	29,5	5670	34				
8,82x10-1 M (1)	Kamis, 21 Januari 2016 (H7)	9	29,6	5700	34	9	30	5.773	34
8,82x10-1 M (2)		8	29,6	5870	33				
8,82x10-1 M (3)		9	29,6	5750	34				
11,7 x 10-1 M (1)		9	29,7	5880	34	8	30	5.997	34
11,7 x 10-1 M (2)		8	30,1	6200	33				
11,7 x 10-1 M (3)		8	29,6	5910	34				

14,7x10-1 M (1)		9	30	6120	34	9	30	5.917	34
14,7x10-1 M (2)		9	29,6	5890	34				
14,7x10-1 M (3)		9	29,6	5740	34				
5,8x10-1 M (1)		9	31,2	5900	34	9	31	5.853	34
5,8x10-1 M (2)		9	31	5810	34				
5,8x10-1 M (3)		9	31,2	5850	34				
8,82x10-1 M (1)		9	31,2	5760	34	9	31	5.873	34
8,82x10-1 M (2)		9	31,3	5900	34				
8,82x10-1 M (3)		9	31,6	5960	34				
11,7 x 10-1 M (1)	Jumat 22	9	31	5780	34	9	31	6.003	34
11,7 x 10-1 M (2)	Januari	9	31,1	5920	34				
11,7 x 10-1 M (3)	2016	9	31,5	6310	34				
	(H8)								
4,7x10-1 M (1)		9	31,6	6340	34	9	32	6.553	34
14,7x10-1 M (2)		9	31,7	6790	34				
14,7x10-1 M (3)		9	31,7	6530	34				

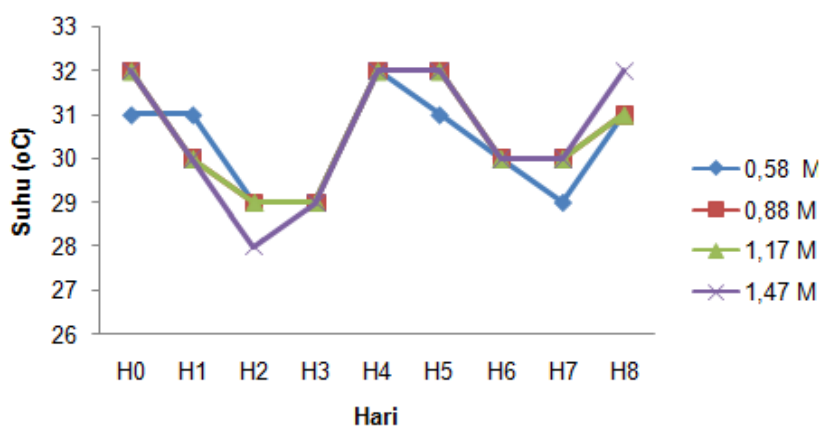
Lampiran 8. Parameter Lingkungan

Rata-Rata Parameter Lingkungan pada Kultur *Melosira* sp.

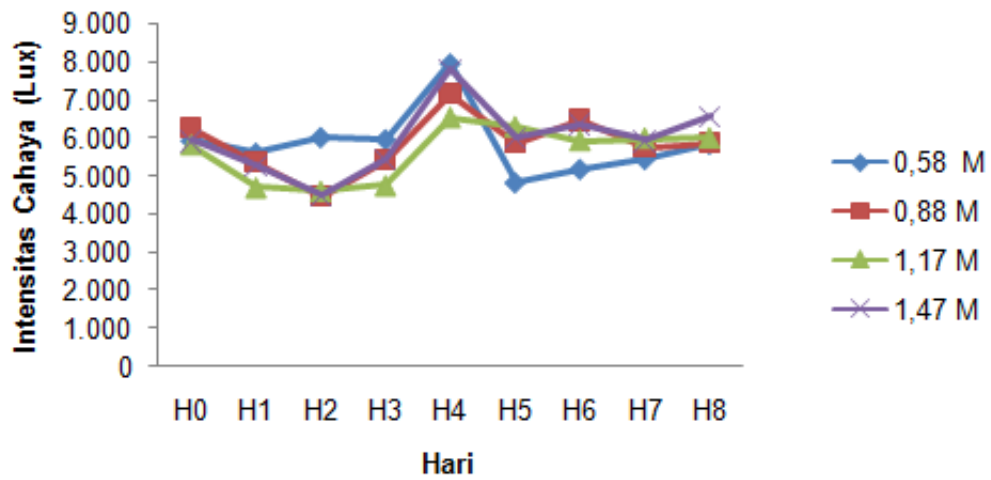
Perlakuan	pH	Suhu (°C)	Intensitas Cahaya (Lux)	Salinitas (ppt)
0,58 M	7,67	30,33	5.873	32,78
0,88 M	7,78	30,56	5.849	32,67
1,17 M	7,78	30,56	5.624	33,22
1,47 M	7,89	30,56	5.967	32,67



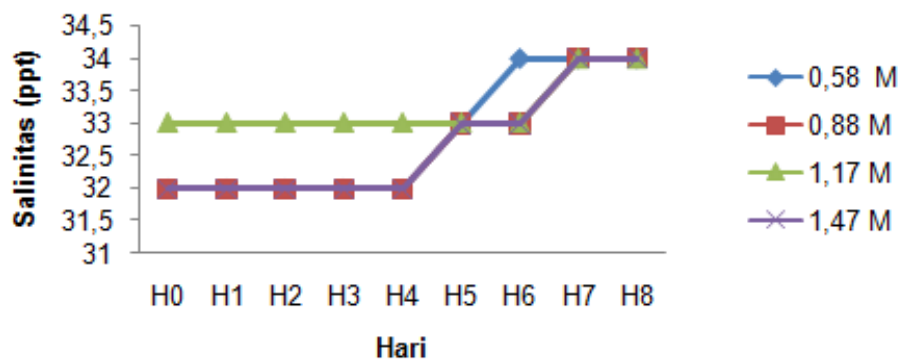
Gambar 18. Grafik Rata-Rata pH Harian pada Kultur *Melosira* sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda



Gambar 19. Grafik Rata-Rata Suhu Harian pada Kultur *Melosira* sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda



Gambar 20. Grafik Rata-Rata Intensitas Cahaya Harian pada Kultur *Melosira sp.* pada Kadar Nitrat yang Berbeda



Gambar 21. Grafik Rata-Rata Salinitas Harian pada Kultur *Melosira sp.* pada Kadar Nitrat yang Berbeda

Lampiran 9. Hasil Analisis Statistika

Pengaruh Kadar Nitrat terhadap Laju Pertumbuhan Mikroalga *Melosira* sp.

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0,58 M	3	.34867	.015275	.008819	.31072	.38661	.332	.362
0,88 M	3	.35533	.013317	.007688	.32225	.38841	.340	.364
1,17 M	3	.41033	.013279	.007667	.37735	.44332	.395	.418
1,47 M	3	.42267	.006110	.003528	.40749	.43784	.416	.428
Total	12	.38425	.035706	.010307	.36156	.40694	.332	.428

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.099	3	8	.378

Uji ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.013	3	.004	27.284	.000
Within Groups	.001	8	.000		
Total	.014	11			

Uji Duncan

Kadar_Nitrat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0,58 M	3	.34867	
0,88 M	3	.35533	
1,17 M	3		.41033
1,47 M	3		.42267

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Pengaruh Kadar Nitrat terhadap Kadar Lipid Mikroalga *Melosira* sp.

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0,58 M	3	11.8633	.33710	.19462	11.0259	12.7007	11.55	12.22
0,88 M	3	7.6633	.15503	.08950	7.2782	8.0484	7.51	7.82
1,17 M	3	6.4667	.17156	.09905	6.0405	6.8928	6.31	6.65
1,47 M	3	6.2167	.25697	.14836	5.5783	6.8550	5.92	6.37
Total	12	8.0525	2.37685	.68614	6.5423	9.5627	5.92	12.22

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.933	3	8	.468

Uji ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61.677	3	20.559	352.743	.000
Within Groups	.466	8	.058		
Total	62.143	11			

Uji Duncan

Kadar_Nitrat	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1,47 M	3	6.2167		
1,17 M	3	6.4667		
0,88 M	3		7.6633	
0,58 M	3			11.8633

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Pengaruh Kadar Nitrat terhadap Biomassa *Melosira sp.*

Descriptives

Kadar Nitrat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0,58 M	3	8.33	.577	.333	6.90	9.77	8	9
0,88 M	3	8.67	1.155	.667	5.80	11.54	8	10
1,17M	3	8.67	.577	.333	7.23	10.10	8	9
1,47 M	3	11.67	.577	.333	10.23	13.10	11	12
Total	12	9.33	1.557	.449	8.34	10.32	8	12

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.286	3	8	.156

Uji Anova

Biomassa	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.000	3	7.333	12.571	.002
Within Groups	4.667	8	.583		
Total	26.667	11			

Uji Duncan

Kadar_Nitrat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0,58 M	3	8.33	
0,88 M	3	8.67	
1,17M	3	8.67	
1,47 M	3		11.67

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Korelasi dan Regresi antara Laju Pertumbuhan dan Kadar Lipid *Melosira* sp.

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
Kadar_Lipid	8.0525	2.37685	12
Laju_Pertumbuhan	.38425	.035706	12

Uji Korelasi

		Kadar_Lipid	Laju_Pertumbuhan
Kadar_Lipid	Pearson Correlation	1	-.756
	Sig. (1-tailed)		.002
	N	12	12
Laju_Pertumbuhan	Pearson Correlation	-.756	1
	Sig. (1-tailed)	.002	
	N	12	12

Regresi

Model Summary^d

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Durbin-Watson
1	.756 ^a	.572	.529	1.63057	.911

a. Predictors: (Constant), Laju_Pertumbuhan

b. Dependent Variable: Kadar_Lipid

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	
		B	Std. Error	Beta			Tolerance	VIF
1	(Constant)	27.400	5.312		5.159	.000		
	Laju_Pertumbuhan	-50.352	13.769	-.756	-3.657	.004	1.000	1.000

a. Dependent Variable: Kadar_Lipid

Korelasi dan Regresi antara Kadar Nitrat dan Kadar Lipid *Melosira* sp.

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
Kadar_Lipid	8.0525	2.37685	12
Kadar_Nitrat	2.50	1.168	12

Uji Korelasi

		Kadar_Lipid	Kadar_Nitrat
Kadar_Lipid	Pearson Correlation	1	-.891
	Sig. (1-tailed)		.000
	N	12	12
Kadar_Nitrat	Pearson Correlation	-.891	1
	Sig. (1-tailed)	.000	
	N	12	12

Model Summary^d

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Durbin-Watson
1	.891 ^a	.794	.773	1.13149	.795

a. Predictors: (Constant), Kadar_Nitrat

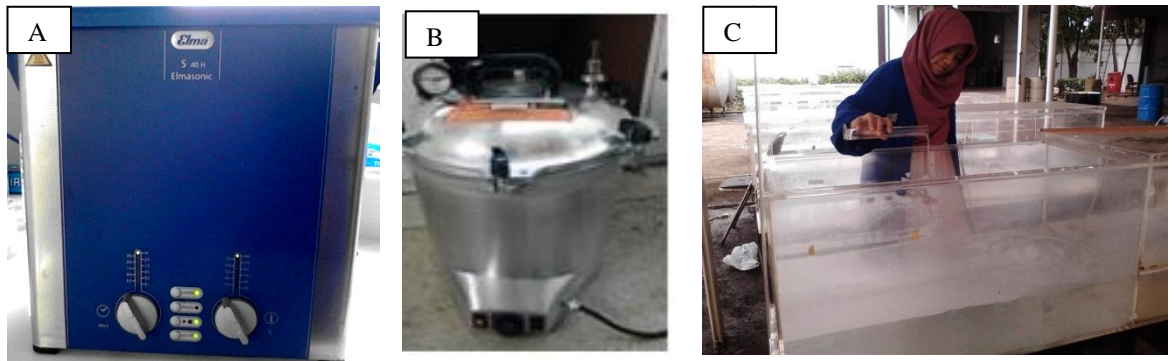
b. Dependent Variable: Kadar_Lipid

Coefficients^a

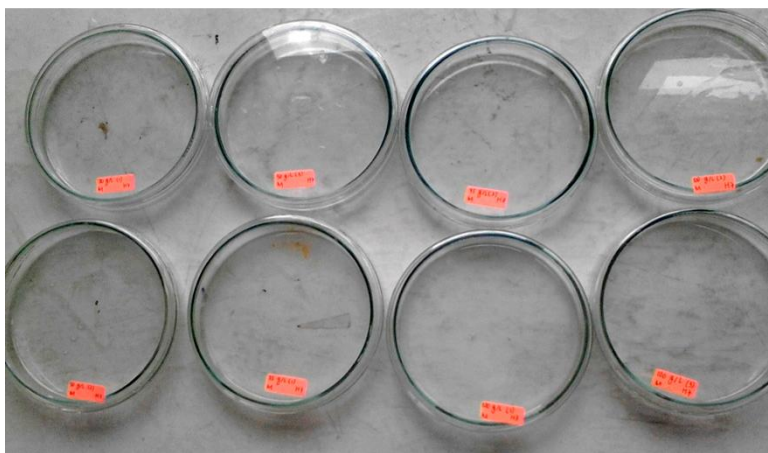
Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Collinearity Statistics	
B	Std. Error	Beta			Tolerance	VIF
12.587	.800		15.732	.000		
-1.814	.292	-.891	-6.208	.000	1.000	1.000

a. Dependent Variable: Kadar_Lipid

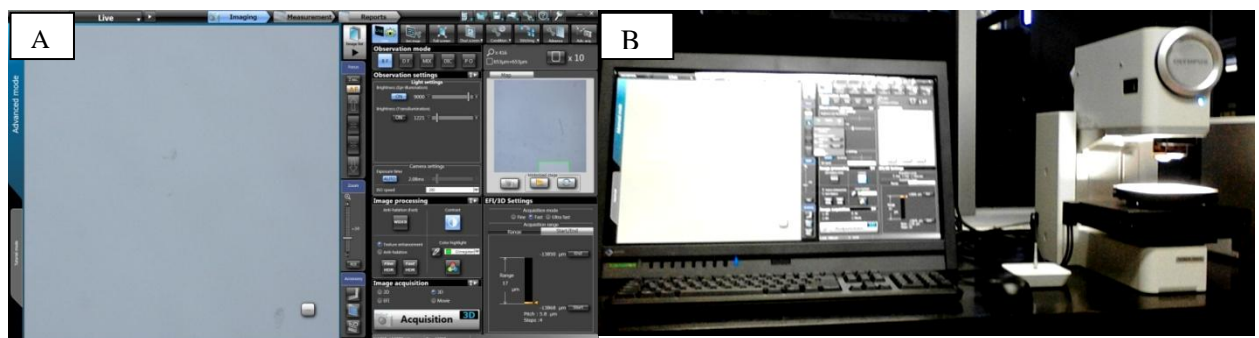
Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian



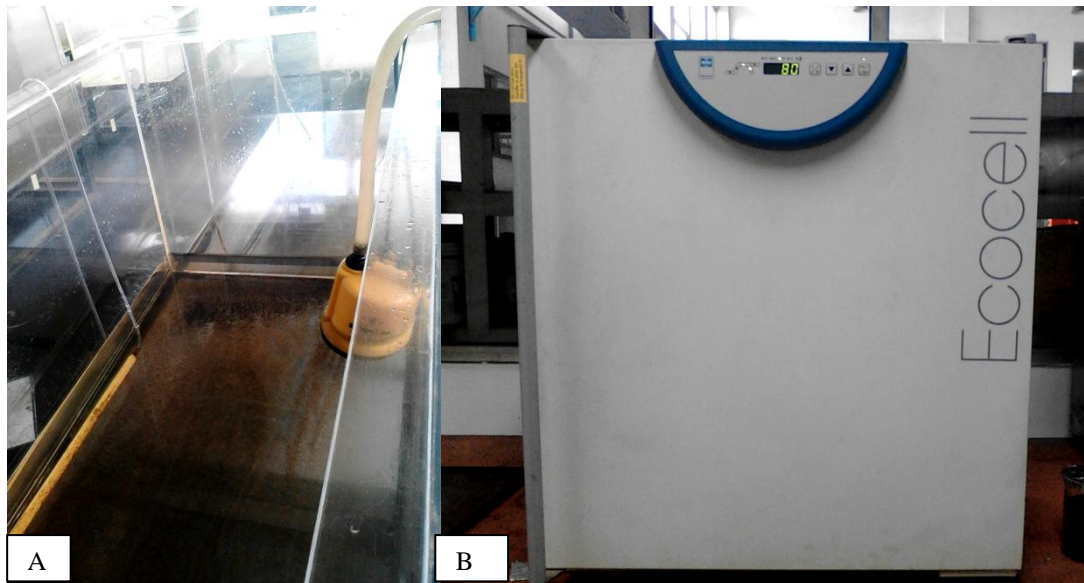
Gambar 22. Sterilisasi menggunakan Ultrasonik (A), *Autoclave* (B) dan Klorinasi (C).



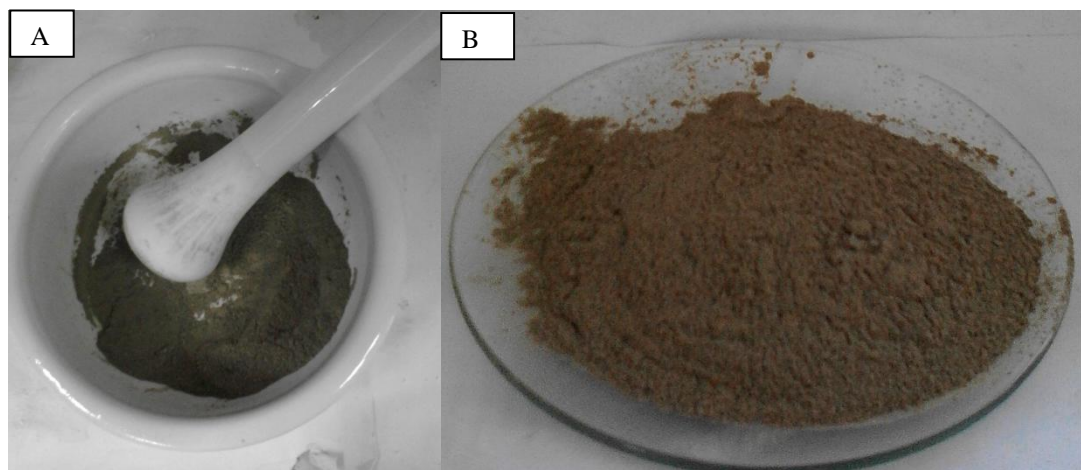
Gambar 23. Preparasi Sampel untuk Penghitungan Jumlah Sel



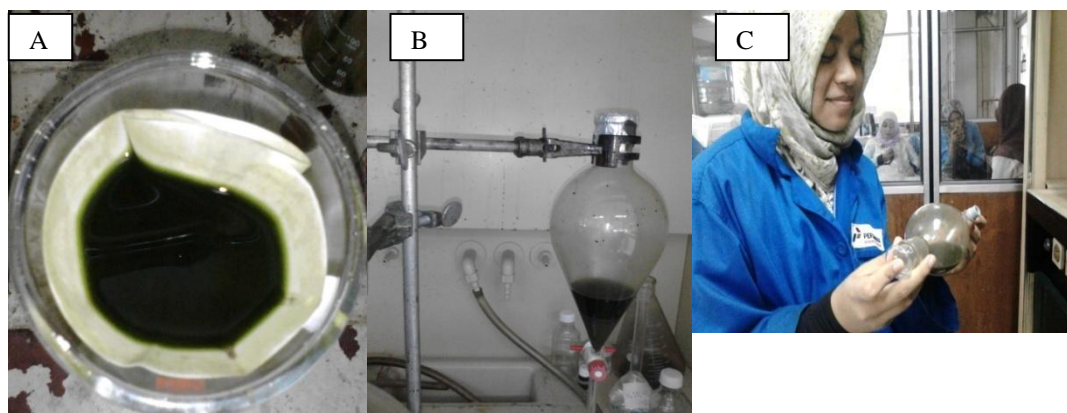
Gambar 24 . Software Program Mikroskop DSX (A) dan Hardware Mikroskop Olympus dan Komputer



Gambar 25. Proses Pemanenan (A) dan Proses Pengeringan (B)



Gambar 26. Penggerusan Mikroalga Kering (A) dan *Dry Algae Powder* (B)



Gambar 27. Penyaringan Ekstraksi Tahap I (A), Ekstraksi Tahap Kedua (B) dan Pengguncangan Ekstraksi Tahap Kedua (C)



Gambar 28. Seperangkat Alat Destilasi



Jakarta, 13 Mei 2016
 Nomor : 132-157/PKL/K10460/2016-S8
 Perihal : Permohonan PKL / Magang / Penelitian Mahasiswa
 Lampiran : 3 (tiga) lembar yang terdiri atas :
 - Tata Tertib Pelaksanaan Praktek Kerja Lapangan (PKL) / Penelitian
 - Draft SURAT PERJANJIAN KERJA PRAKTEK yang menjadi lampiran persyaratan untuk ditandatangani para pihak
 - Daftar Hadir Peserta PKL/Magang/Penelitian

Yang terhormat,

Sdr Dwi Oktaviani NIM : 3425122206 HP : +6283879329986 email : dwioktaviani64@gmail.com

Mahasiswa dari Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Jakarta

Dengan Alamat : Jakarta

Ref. Surat Pengantar dari Fakultas/Program Studi : 846/6.FMIPA/DT/2016 tgl 21 Oktober 2015 perihal terkait : Permohonan Izin melaksanakan Observasi , dengan ini disampaikan bahwa kami dapat memfasilitasi permohonan untuk melaksanakan PKL/Magang/Penelitian di lingkungan PT Pertamina sebagai berikut:

Lokasi/Fungsi	Periode Pelaksanaan	Keterangan Fungsi
Laboratory & Technical Services	Desember-April 2016	Product & Process Development - Research & Development

Dengan ini disampaikan bahwa Surat Persetujuan Permohonan PKL / Magang / Penelitian ini berlaku dan dianggap syah bila Saudara sudah menandatangani Surat Perjanjian Kerja Praktek dan untuk diserahkan ke Pejabat yang berwenang untuk ditandatangani sebelum pelaksanaan PKL. Dan selanjutnya harap Saudara menyerahkan dokumen hardcopy persyaratan PKL ke Fungsi : Learning Support - Pertamina Corporate University "&"- Lantai-3 Gdg Legita - "&"Jl. Sinabung II Terusan Simprug - Jakarta Selatan.

Demikian disampaikan dan atas perhatiannya diucapkan terima kasih.

Direktorat SDM & Umum,
 Pjs. Learning Support Manager

Sriyanto

Note :

1. Harap bantuan Saudara untuk memberitahukan surat ini ke kampus bila diperlukan.
2. SURAT PERJANJIAN KERJA PRAKTEK terlampir harap dicetak berwarna untuk saudara tandatangi dan untuk diserahkan ke Pejabat yang berwenang untuk ditandatangani sebelum pelaksanaan PKL.

Indonesian Oil & Gas Company
 Head Office
 Jalan Medan Merdeka Timur 1A
 Jakarta 10110 Indonesia
 T +62 21 381 5111, +62 21 381 6111
 F +62 21 384 6865, +62 21 384 3882
 www.pertamina.com

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertandatangan dibawah ini, mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetshuan Alam Universitas Negeri Jakarta,

Nama : Dwi Oktaviani
No. Registrasi : 3425122206
Program Studi : Biologi

menyatakan bahwa skripsi yang saya buat dengan judul "Pengaruh Kadar Nitrat terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Melosira* sp. sebagai Tahap Awal Produksi *Biofuel*" adalah:

1. Ditulis dan diselesaikan oleh saya sendiri berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian dari bulan Desember 2015 sampai April 2016.
2. Bukan merupakan duplikasi skripsi yang pernah dibuat oleh orang lain dan bukan terjemahan karya tulis orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Saya bersedia menanggung segala akibat yang timbul jika pernyataan ini tidak benar.

Jakarta, 30 Juni 2016

Pembuat pernyataan,



Dwi Oktaviani
NIM. 3425122206

DAFTAR RIWAYAT HIDUP PENULIS



DWI OKTAVIANI. Dilahirkan di Wonosobo pada tanggal 16 Oktober 1994. Anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan suami istri Bapak Fatoni dan Ibu Nasiyah. Penulis sekarang bertempat tinggal di Jalan Rasamala VII, Menteng Dalam, Tebet, Jakarta Selatan. Pendidikan formal yang pernah ditempuh adalah MI RPDI Al-Bayan, lulus tahun 2006. Kemudian melanjutkan di SMPN 15 Jakarta lulus tahun 2009 dan melanjutkan di SMAN 79 Jakarta, lulus pada tahun 2012. Pada tahun 2012, penulis diterima sebagai mahasiswa program S1 Biologi di Universitas Negeri Jakarta melalui jalur SNMPTN tulis.

Selama masa perkuliahan, penulis mengikuti organisasi Kelompok Peneliti Muda UNJ dan Kelompok Studi Primata *Macaca* UNJ. Penulis mengikuti kegiatan Cakrawala Biologi di Gunung Bunder pada tahun 2012, Studi Ilmiah Biologi pada tahun 2013, Pelatihan Penelitian dan Organisasi pada tahun 2013, 2014 dan 2015.

Penulis beberapa kali mendapat penghargaan atas lomba yang diikuti: Hibah Program Kreativitas Mahasiswa bidang penelitian dari DIKTI, dengan judul “Potensi Antosianin pada Daun Adam Eva (*Rhoeo discolor*) sebagai Bahan Pewarna Alami Minuman” pada tahun 2015; Hibah Program Kreativitas Mahasiswa bidang pengabdian kepada masyarakat dari DIKTI, dengan judul “Limbah *Baglog* Jamur sebagai Media

Pertumbuhan Cacing *Lumbricus rubellus* Guna Masyarakat Mandiri dan Sejahtera di Pasir Angin, Bogor”; Juara 1 Lomba Karya Tulis Ilmiah di Fakultas Ekonomi UNJ dengan judul “Fotobioreaktor Mikroalga sebagai Solusi Pengurangan Emisi CO₂ di DKI Jakarta”; Juara 1 Pekan Ilmiah Mahasiswa PKM yang diadakan oleh Humanitarian Forum Indonesia-BNPB, dengan judul “Fotobioreaktor Mikroalga bantuan Energi Surya sebagai Solusi Pengurangan Emisi CO₂ di DKI Jakarta”. Penulis juga pernah menjadi pemakalah pada acara Pertemuan Ilmiah Tahunan tahun 2016 di Insitut Teknologi Bandung yang diadakan oleh BNPB, dengan judul “Fotobioreaktor Mikroalga bantuan Energi Surya sebagai Solusi Pengurangan Emisi CO₂ di DKI Jakarta”.

Seminar yang pernah diikuti penulis diantaranya Seminar Nasional mengenai Pemanfaatan Nuklir dan Pentingnya Go Pangan Lokal; Pengurangan Resiko Kebencanaan; *Stem Cell*; Pentingnya Penelitian. Pada tahun 2014, penulis menjadi asisten praktikum untuk mata kuliah Pengantar Kimia Organik dan Biomolekul.

Pada tahun 2014, penulis mengikuti kegiatan KKL (Kuliah Kerja Lapangan) dengan judul penelitian “Pemanfaatan Gulma Kirinyuh sebagai Herbisida Alami pada Pertumbuhan Kacang Hijau dan Penghambatan Pertumbuhan Bayam Liar” yang dilakukan di kawasan hutan Wanagama, Yogyakarta, dan PKL (Praktek Kerja Lapangan) “Kultivasi dan Ekstraksi Lipid Mikroalga *Melosira* sp. untuk Pembuatan *Biofuel* di Pertamina *Research and Development* pada tahun 2015.