

KULTIVASI DAN EKSTRAKSI MINYAK DARI MIKROALGA

***Botryococcus braunii* DAN *Nannochloropsis* sp.**

SKRIPSI

Disusun untuk Melengkapi Syarat-Syarat

Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains



MUSDALIFAH

3425102445

PROGRAM STUDI BIOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA

2015

ABSTRAK

MUSDALIFAH. **Kultivasi dan Ekstraksi Minyak dari Mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.** Skripsi. Jakarta: Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. 2015.

Mikroalga memiliki potensi kandungan minyak nabati yang tinggi. Ekstraksi minyak dapat berlangsung efisien jika dilakukan penghancuran dinding sel mikroalga untuk membebaskan minyak yang terkandung di dalam sel sehingga dapat larut dengan pelarut organik (n-heksana). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pertumbuhan, pengaruh perbedaan pH dan jenis mikroalga pada ekstraksi menggunakan *microwave* terhadap minyak yang dihasilkan *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. Metode yang digunakan adalah eksperimen dengan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL). Kultivasi dilakukan hingga mencapai fase stasioner sehingga dapat dilakukan pemanenan biomassa untuk ekstraksi minyak. Analisis kandungan minyak menggunakan GC-FID. Data dianalisis dengan SPSS 16.0 menggunakan uji t dan uji anova dua arah. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kepadatan sel *Botryococcus braunii* dengan *Nannochloropsis* sp. ($p= 0,163$), demikian pula dengan tidak terdapat perbedaan jumlah minyak *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. ($p= 0,323$). Namun, hasil yang berbeda adalah perlakuan pH mempengaruhi hasil ekstraksi minyak ($p= 0,006$). Komposisi asam lemak pada *Nannochloropsis* sp. didominasi oleh asam lemak jenuh sedangkan *Botryococcus braunii* seimbang antara asam lemak jenuh dan asam tak jenuh.

Kata kunci: *Botryococcus braunii*, ekstraksi, kultivasi, mikroalga, minyak *Nannochloropsis* sp., pH, pertumbuhan.

ABSTRACT

MUSDALIFAH. **Cultivation and Oil Extraction from Microalgae *Botryococcus braunii* and *Nannochloropsis* sp.** Undergraduated Thesis. Jakarta: Departement of Biology, Faculty of Mathematic and Natural Science. State University of Jakarta. 2015.

Microalgae has high content of vegetable oil. The extraction of microalgae oil can be more efficient with the cell wall destruction, it was aimed to freeing oil that locked inside the cells and be soluble in organic solvent (n-hexane). The study aimed to determined the microalgae growth, the influence of different pH and different species of microalgae with extraction using *microwave* on oil production by *Botryococcus braunii* and *Nannochloropsis* sp. Experimental method with the randomized design was used in this study. The cultivation was performed until the stationery phase is reached so that the biomass can be harvested for oil extraction. The oil compound analysis is conducted using GC-FID. The data in this study has been tested by SPSS 16.0 with t-test and anova two ways. The statistic result showed that there is no differences in cell density of *Botryococcus braunii* and *Nannochloropsis* sp. ($p= 0,163$), likewise with there is no differences in amount of oil extract by *Botryococcus braunii* and *Nannochloropsis* sp. ($p= 0,323$). However, different results are pH treatment influencing oil extraction result ($p= 0,006$). Composition of fatty acid in *Nannochloropsis* sp. was dominated by saturated fatty acids, while the fatty acid composition of *Botryococcus braunii* was equal between saturated an unsaturated fatty acid.

Keywords: *Botryococcus braunii*, cultivation, extraction, growth, microalgae, *Nannochloropsis* sp., oil, pH.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan anugerah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “**Kultivasi dan Ekstraksi Minyak dari Mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis sp.***” ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Sains dari Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta.

Penyusunan skripsi ini tidak mudah dan telah melibatkan beberapa pihak yang membantu secara moral, materi, dan dukungan berupa motivasi kepada penulis. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak tersebut. Ucapan terima kasih disampaikan kepada:

1. Dra. Yoswita Rustam, M.Si., selaku pembimbing I yang telah memberikan waktu, tenaga, saran, pengarahan dan bimbingan agar skripsi menjadi lebih bermanfaat.
2. Sri Amini, M.Sc., selaku dosen pembimbing II yang juga telah memberikan waktu, tenaga, saran, dan nasehat sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini dengan lebih baik.
3. Dr. Adisyahputra, MS., selaku dosen penguji I yang telah banyak memberikan masukan, kritik dan arahan untuk membangun kesempurnaan skripsi ini.

4. Dra. Tri Handayani K, M.Si., selaku dosen penguji II yang juga telah banyak memberikan masukan, kritik dan arahan untuk membangun kesempurnaan skripsi ini.
5. Drs. M. Nurdin Martondang S, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, FMIPA UNJ.
6. Eka Putri Azrai, S.Pd., M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi atas segala arahan yang diberikan.
7. Seluruh dosen Jurusan Biologi UNJ yang telah banyak memberikan ilmu selama dalam masa perkuliahan.
8. Kedua orang tua, kakak, dan sahabat-sahabat yang selalu memberikan doa serta dukungan moril maupun materiil.
9. Seluruh staf Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.
10. Diini Fithriani M.Si., & Mbak Susi yang senantiasa memberi bimbingan selama penelitian.
11. Monika Rafaelina yang telah menjadi teman seperjuangan dalam penelitian, dan menjadi tempat berbagi ilmu.
12. Rekan-rekan Prodi Biologi 2010 yaitu Fitri, Heni, Puspita, Intan P.S, Nurliya, Resha, Aulia, Intan. M, Irfan, Nadia, Nisa, Wina, Rizki Indah, Syifa, Pidi, Tiwi, Ardi, Juliadi, Andes, Faisal, dan Dhani.

Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan dikemudian hari. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat

bagi penulis maupun untuk kemajuan ilmu pengetahuan Indonesia serta siapa saja yang membacanya.

Jakarta, Januari 2015

Penulis,

Musdalifah

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|------------|
| ABSTRAK | i |
| ABSTRACT | ii |
| KATA PENGANTAR | iii |
| DAFTAR ISI | vi |
| DAFTAR GAMBAR | ix |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Perumusan Masalah..... | 3 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 3 |
| D. Manfaat Penelitian..... | 3 |
| | |
| BAB II KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR, DAN PERUMUSAN HIPOTESIS | 5 |
| A. Kajian Pustaka..... | 5 |
| 1. Mikroalga..... | 5 |
| a. <i>Botryococcus braunii</i> | 7 |
| b. <i>Nannochloropsis</i> sp. | 8 |
| 2. Dinding Sel Mikroalga | 10 |
| 3. Komposisi Minyak Mikroalga | 11 |
| 4. Fase Pertumbuhan Mikroalga | 13 |
| 5. Kultivasi | 16 |
| 6. Pemanenan | 17 |
| 7. Ekstraksi Minyak Mikroalga | 18 |
| B. Kerangka Berpikir | 19 |
| C. Perumusan Hipotesis | 21 |
| | |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN | 22 |
| A. Tujuan Operasional Penelitian..... | 22 |
| B. Tempat dan Waktu Penelitian | 22 |
| C. Metode Penelitian | 22 |
| D. Tahapan Penelitian | 25 |
| E. Prosedur Penelitian | 28 |
| 1. Alat dan Bahan | 28 |
| 2. Cara Kerja | 28 |
| a. Pembuatan Pupuk Conwy..... | 28 |
| b. Kultivasi Mikroalga | 29 |
| c. Perhitungan Kepadatan Sel dan Laju Pertumbuhan <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp. | 29 |
| d. Pemanenan Biomassa | 30 |
| e. Kadar Air Mikroalga..... | 31 |

| | |
|---|-----------|
| f. Ekstraksi Minyak dari <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp. | 32 |
| g. Analisis Asam lemak Minyak Mikroalga menggunakan GC-FID | 33 |
| F. Hipotesis Statistik | 33 |
| G. Teknik Analisis Data | 35 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 36 |
| A. HASIL PENELITIAN | 36 |
| 1. Pertumbuhan Sel Mikroalga | 36 |
| a. Kepadatan Sel <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp. | 36 |
| b. Parameter Lingkungan Media Kultivasi..... | 37 |
| 2. Kandungan Minyak Mikroalga | 38 |
| a. Kadar Minyak <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp. | 38 |
| b. Kandungan Asam Lemak pada Minyak <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp..... | 39 |
| 3. Uji Hipotesis..... | 41 |
| a. Uji Pertumbuhan <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp. | 41 |
| b. Uji Faktor pH dan Jenis Mikroalga terhadap Kadar Minyak Mikroalga | 41 |
| B. PEMBAHASAN | 42 |
| 1. Pertumbuhan Sel Mikroalga..... | 42 |
| a. Kepadatan Sel Mikroalga..... | 42 |
| b. Parameter Lingkungan Media Kultivasi..... | 44 |
| 2. Kandungan Minyak dan Analisis Asam Lemak Mikroalga.... | 47 |
| a. Minyak Hasil Ekstraksi <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp. | 47 |
| b. Asam Lemak yang Terkandung pada Minyak <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp. | 50 |
| BAB V KESIMPULAN, IMPLIKASI DAN SARAN | 52 |
| A. Kesimpulan | 52 |
| B. Implikasi..... | 52 |
| C. Saran | 52 |

| | |
|--|-----------|
| DAFTAR PUSTAKA | 53 |
| LAMPIRAN | 58 |
| SURAT PENELITIAN..... | 71 |
| SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI | 72 |
| RIWAYAT HIDUP | 73 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|----------------|
| Gambar 1. <i>Botryococcus braunii</i> | 8 |
| Gambar 2. <i>Nannochloropsis</i> sp. | 9 |
| Gambar 3. Dinding sel mikroalga | 11 |
| Gambar 4. Proses transesterifikasi secara kimiawi | 13 |
| Gambar 5. Fase pertumbuhan mikroalga | 15 |
| Gambar 6. Desain penelitian kultivasi mikroalga | 23 |
| Gambar 7. Desain penelitian ekstraksi minyak..... | 23 |
| Gambar 8. Diagram alir kultivasi mikroalga | 25 |
| Gambar 9. Ekstraksi minyak mikroalga | 26 |
| Gambar10. Proses preparasi pemurnian minyak mikroalga | 27 |
| Gambar11. Kurva kepadatan sel <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp. | 36 |
| Gambar12. Kadar minyak hasil ekstraksi <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp. | 38 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|----------------|
| Tabel 1. Parameter Media Tumbuh untuk Kultivasi <i>Botryococcus braunii</i> dan <i>Nannochloropsis</i> sp. | 37 |
| Tabel 2. Profil Asam Lemak <i>Botryococcus braunii</i> | 39 |
| Tabel 3. Profil Asam Lemak <i>Nannochloropsis</i> sp..... | 40 |
| Tabel 4. Hasil Uji Anova Dua Arah Faktor pH Dan Jenis Mikroalga | 41 |
| Tabel 5. Data Kepadatan Sel <i>Botryococcus braunii</i> | 58 |
| Tabel 6. Data Kepadatan Sel <i>Nannochloropsis</i> sp..... | 59 |
| Tabel 7. Data Minyak Hasil Ekstraksi <i>Botryococcus braunii</i> & <i>Nannochloropsis</i> sp. | 60 |
| Tabel 8. Data Kadar Air <i>Botryococcus braunii</i> & <i>Nannochloropsis</i> sp..... | 61 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|----------------|
| Lampiran 1. Data pertumbuhan mikroalga & kadar minyak | 58 |
| Lampiran 2. Uji pertumbuhan mikroalga dengan uji t | 62 |
| Lampiran 3. Uji faktor pH dan jenis mikroalga dengan uji anova dua arah | 63 |
| Lampiran 4. Hasil uji GC-FID profil asam lemak | 65 |
| Lampiran 5. Dokumentasi Kegiatan dan Alat Penelitian | 67 |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Mikroalga memiliki potensi yang besar dan berpeluang untuk dikembangkan untuk keperluan riset dan teknologi sebagai bahan biodiesel. Biodiesel dari mikroalga hampir mirip dengan biodiesel yang diproduksi dari tumbuhan penghasil minyak (jarak pagar, sawit, dan lain-lain), sebab semua biodiesel diproduksi dari triasilgliserida yang merupakan minyak nabati (Chisty, 2007).

Pengembangan mikroalga sebagai sumber biodiesel mempunyai beberapa keunggulan, yaitu kecepatan pertumbuhan yang tinggi sehingga masa panennya cepat, mempunyai kandungan lipid yang tinggi, ramah lingkungan, nilai emisinya rendah, dan dapat diperbarui (Widianingsih *et al.*, 2012). Mikroalga jenis *Botryococcus braunii* memiliki kandungan minyak sebesar 25-75% dan *Nannochloropsis* sp. 20-35% dari berat kering (Chisty, 2007), selain itu mikroalga mempunyai beberapa keuntungan, diantaranya pertumbuhan yang lebih cepat dan tidak akan menghabiskan banyak lahan darat (Wijanarko dan Putri, 2012).

Hal yang penting diperhatikan dalam produksi minyak mikroalga adalah pemilihan jenis mikroalga, proses kultivasi dan ekstraksi minyak. Pemilihan jenis mikroalga yang mempunyai kandungan minyak yang tinggi sangat penting, hal ini berkaitan dengan karakteristik minyak dan keuntungan dalam ekstraksi. Kultivasi dilakukan untuk pertumbuhan

mikroalga dan penentuan fase pertumbuhan yang tepat untuk pemanenan biomassa sebagai bahan baku ekstraksi minyak. Ekstraksi minyak mikroalga saat ini masih menjadi kendala sehingga hasil ekstraksi minyak masih sangat kurang seperti yang diharapkan. Hal tersebut dikarenakan mikroalga merupakan organisme sel tunggal yang memiliki dinding sel yang sulit untuk dirusak (Sheehan *et al.*, 1998). Dinding sel mikroalga perlu dihancurkan untuk membebaskan minyak yang terkandung di dalam sel sehingga dapat larut dengan pelarut organik non polar seperti n-heksana.

Penghancuran dinding sel mikroalga secara efisien dapat dilakukan secara mekanik dan kimiawi. Salah satu proses pemecahan dinding sel secara mekanik adalah menggunakan alat *microwave*. Menurut Lee *et al.* (2009), bahwa metode ekstraksi menggunakan *microwave* merupakan cara yang paling mudah dan efisien untuk proses ekstraksi minyak dari mikroalga. Secara kimiawi proses ekstraksi dapat dilakukan dengan perbedaan tingkat keasaman (*acid treatment*).

Ekstraksi minyak dengan teknik mekanik melalui penggunaan *microwave* dan teknik kimiawi dengan perlakuan asam dilakukan dalam penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pH pada proses pemecahan dinding sel menggunakan alat *microwave* sehingga diharapkan dapat mengoptimisasi minyak hasil ekstraksi.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah terdapat perbedaan pertumbuhan mikroalga jenis *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.?
2. Apakah terdapat pengaruh perlakuan pH pada ekstraksi menggunakan *microwave* terhadap minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.?
3. Apakah terdapat perbedaan minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada ekstraksi menggunakan *microwave* ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pertumbuhan mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.
2. Mengetahui pengaruh pH pada ekstraksi menggunakan *microwave* terhadap minyak hasil ekstraksi dari *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.
3. Mengetahui asam lemak yang terkandung dalam minyak hasil ekstraksi yang tertinggi.

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai pertumbuhan mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

2. Memberikan informasi ekstraksi minyak dengan proses pemecahan dinding sel pada mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.
3. Memberikan informasi asam lemak yang terkandung pada minyak *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

BAB II
KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR, DAN
PERUMUSAN HIPOTESIS

A. Kajian Pustaka

1. Mikroalga

Mikroalga merupakan kelompok tumbuhan tingkat rendah berukuran mikroskopis yang hidup dari nutrien anorganik dan menghasilkan zat-zat organik dari CO₂ oleh fotosintesis. Mikroalga diklasifikasikan sebagai tumbuhan karena memiliki klorofil yang mampu melakukan fotosintesis dengan bantuan air, CO₂ dan sinar matahari. Morfologi mikroalga berbentuk uniseluler atau multiseluler tetapi belum ada pembagian tugas yang jelas pada komponen sel. Hal itulah yang membedakan mikroalga dari tumbuhan tingkat tinggi (Romimohtarto, 2004). Bentuk sel mikroalga beragam, ada yang berbentuk bulat, lonjong, memanjang seperti benang, bercabang atau tidak, hingga berbentuk tidak beraturan yang hidup berkelompok dan tersebar di perairan tawar maupun laut (Pranayogi, 2003).

Mikroalga bersifat sebagai fitoplankton dalam struktur piramida makanan, fitoplankton memiliki peranan penting karena menempati posisi sebagai produsen primer. Sebagai dasar mata rantai pada siklus makanan di laut, fitoplankton menjadi makanan alami bagi zooplankton, selain itu

digunakan sebagai indikator kesuburan suatu perairan (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Mikroalga merupakan jenis ganggang yang paling banyak dikembangkan untuk keperluan riset dan teknologi. Hal ini dikarenakan mikroalga mempunyai beberapa keuntungan:

- Memiliki struktur sel yang sederhana dan kemampuan pengendalian sel dalam aktivitas sintesis senyawa-senyawa untuk pembentukan sel baru.
- Kemampuan berfotosintesis sangat tinggi.
- Memiliki siklus hidup yang pendek.
- Kemampuan mensintesis lemak sangat tinggi.
- Kemampuan bertahan pada lingkungan yang ekstrim.
- Tidak banyak membutuhkan nutrisi.
- Tidak bersaing dengan produk pangan. (Verma *et al.*, 2010)

Mikroalga berkembang biak dengan cepat secara aseksual (membelah diri) dan seksual (isogami). Hal ini menyebabkan pertumbuhan mikroalga lebih cepat daripada makroalga. Mikroalga dapat tumbuh dalam berbagai media yang mengandung cukup unsur hara, seperti N, P, K dan unsur mikro lainnya dan tumbuh baik pada temperatur optimal 25⁰C. Unsur nutrien yang diperlukan mikroalga dalam jumlah besar adalah C, N, P, S, Na, Mg, dan Ca. Unsur hara yang dibutuhkan dalam jumlah yang relatif sedikit adalah Fe, Cu, Mn, Zn, Si, B, Mo, dan Co (Manahan, 1984 ; Chumadi, 1992).

Mikroalga memiliki banyak kegunaan sebagai pakan pada pembenihan ikan, produk suplemen atau makanan kesehatan, menurunkan efek pemanasan global yaitu dengan menyerap karbondioksida dari udara. Saat ini mikroalga sedang dipelajari dan dikembangkan karena berpotensi untuk dijadikan biofuel karena kandungan minyak mentah relatif tinggi.

a. *Botryococcus braunii*

Botryococcus braunii secara taksonomi diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Chlorophyta

Kelas : Chlorophyceae

Bangsa : Chlorococcales

Suku : Dictyosphaeriaceae

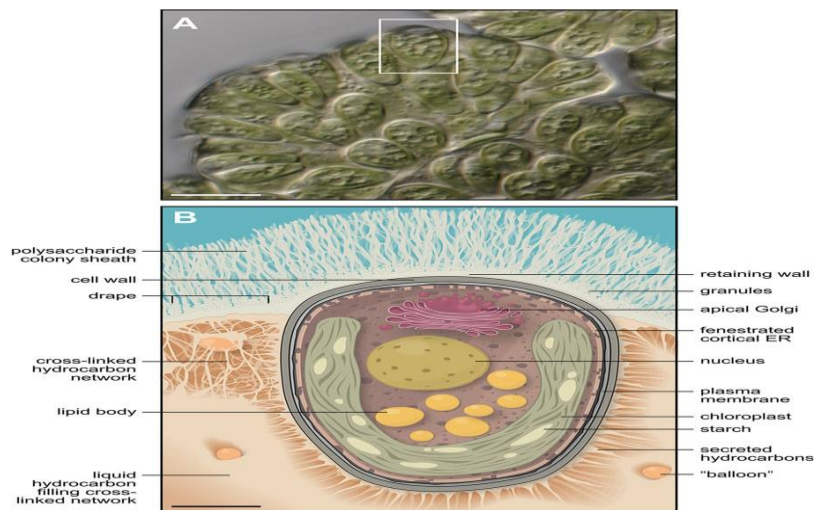
Marga : *Botryococcus*

Jenis : *Botryococcus braunii* (Wille, 1909).

Botryococcus braunii merupakan organisme uniseluler dan umumnya ditemukan berkoloni. Sel *Botryococcus braunii* berukuran $\pm 10\text{-}20\ \mu\text{m}$, non motil dan setiap pergerakannya sangat dipengaruhi oleh arus perairan (Kabinawa, 2008).

Botryococcus braunii banyak dijumpai di perairan danau, payau, sampai laut (Metzger & Largeau, 2005). *Botryococcus braunii* hidup dengan rentang salinitas 0-30 ppt (*parts per thousand*) atau permil (‰).

Menurut Lupi *et al.* (1991), kisaran optimal suhu untuk pertumbuhan *Botryococcus braunii* adalah 25-30°C.



Gambar 1. A. *Botryococcus braunii* 10 μm B. Struktur Organel (Weiss T L *et al.*, 2010)

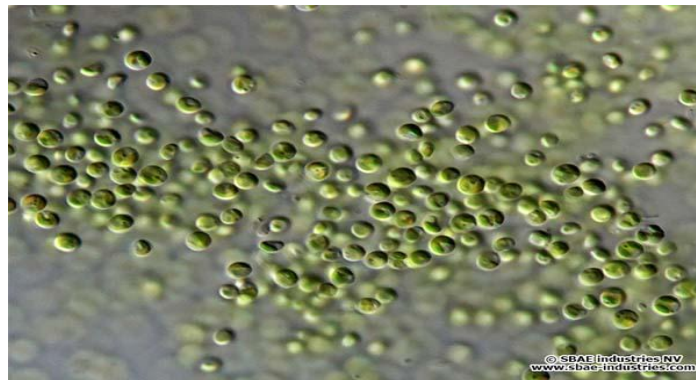
Botryococcus braunii memiliki fase pertumbuhan yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Fase stasioner ditandai dengan perubahan warna menjadi oranye disebabkan oleh akumulasi karetenoid yang meningkat. Jenis hidrokarbon yang dihasilkan pada fase ini memiliki kandungan 27-86% dari berat keringnya. Hidrokarbon rantai panjang dalam bentuk minyak atau triterpen tak bercabang dari spesies ini dikenal dengan nama *botryococcene* sangat potensial sebagai sumber energi atau biodiesel (Metzger & Largeau, 2005; Rao *et al.*, 2007).

b. *Nannochloropsis* sp.

Nannochloropsis sp. secara taksonomi diklasifikasikan sebagai berikut:

| | |
|--------|---|
| Filum | : Ochrophyta |
| Kelas | : Eustigmatophyceae |
| Bangsa | : Eustigmatales |
| Suku | : Eustigmataceae |
| Marga | : <i>Nannochloropsis</i> |
| Jenis | : <i>Nannochloropsis</i> sp. (Hibberd,1981) |

Nannochloropsis sp. merupakan salah satu spesies mikroalga yang uniseluler, non motil, memiliki ukuran sel 2-5 μm sel dan berbentuk bola. *Nannochloropsis* sp. merupakan alga hijau emas kelas Eustigmatophyceae (Rodolfi *et al.*,2003). *Nannochloropsis* sp. mempunyai pigmen; klorofil a, zeaxanthin, canthaxanthin, dan astaxanthin (Lubián *et al.*, 2000).



Gambar 2. *Nannochloropsis* sp. (Baker, 2012)

Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dipengaruhi oleh cahaya, nutrien, suhu, pH, dan salinitas. *Nannochloropsis* sp. dapat tumbuh pada salinitas 0-35 ppt. Salinitas 25-30 ppt merupakan salinitas optimum untuk pertumbuhan mikroalga ini. Kisaran suhu 25-30° C merupakan suhu optimum untuk tumbuh. Mikroalga ini masih dapat

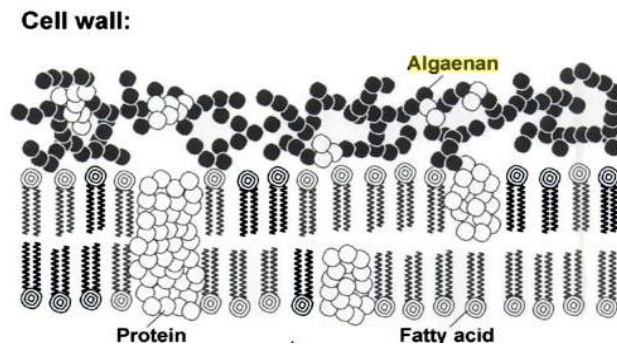
bertahan hidup pada suhu 40°C, tetapi tidak dapat tumbuh baik. *Nannochloropsis* sp. dapat tumbuh baik pada kisaran pH 8-9,5 dan intensitas cahaya 1000-10.000 Lux (Sudjiharno, 2007).

Nannochloropsis sp. memiliki beberapa kegunaan, contohnya dalam industri makanan, mikroalga ini dikenal sebagai sumber berbagai senyawa yang berharga seperti vitamin E dan akhir-akhir ini *Nannochloropsis* sp. telah diteliti secara lebih mendetail untuk kegunaan sebagai bahan biofuel masa depan dikarenakan mampu mengakumulasi minyak yang cukup tinggi sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku untuk produksi biofuel.

2. Dinding Sel Mikroalga

Mikroalga adalah organisme sel tunggal dengan dinding sel yang sulit untuk dirusak (Sheehan *et.al.*,1998). Sebagian dinding sel mikroalga mengandung selulosa dan beberapa spesies memiliki tambahan trilaminar sheat (TLS) yang mengandung algaenan, substansi yang dikenal untuk tahan terhadap degradasi (Allard *et al.*, 2002, Versteegh dan Blokker, 2004).

Algaenan merupakan biopolimer alifatik, tidak terhidrolisis, yang berfungsi sebagai komponen struktural di dinding sel alga sehingga cenderung lebih tahan kondisi daripada dinding sel mikroorganisme lain (Gelin *et al.*,1996).



Gambar 3. Dinding Sel Mikroalga (Knicker & Hatcher, 2001)

3. Komposisi Minyak Mikroalga

Lipid adalah golongan senyawa organik yang sangat heterogen yang menyusun jaringan tumbuhan dan hewan (Tarigan, 1983). Lipid mempunyai sifat umum antara lain: larut dalam pelarut organik tertentu seperti benzene, kloroform, dietil eter, n-heksana, dan metanol (Akoh *et al.*, 2002). Lipid mengandung unsur karbon, hidrogen, oksigen, dan kadang mengandung nitrogen dan fosfor; proses hidrolisis menghasilkan asam lemak atau dapat membentuk ester dengan asam lemak; dan berperan pada metabolisme tumbuhan dan hewan (Tarigan, 1983).

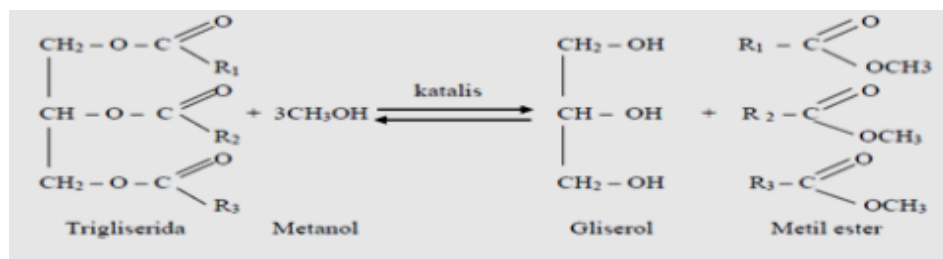
Menurut Ratledge (1991), lipid yang umumnya diakumulasi oleh mikroorganisme adalah Triasilgliserida (TAG) yang merupakan komponen utama cadangan energi dalam sel (Walker, 1998). TAG tersimpan atau terakumulasi pada bagian vakuola. TAG merupakan lipid yang terdiri atas gliserol polihidroksi alkohol dan asam karboksilat berantai panjang (asam lemak) dan banyak ditemukan di alam (Zumdahl, 2007). TAG yang banyak mengandung asam lemak jenuh berbentuk padat pada suhu ruang, dan memiliki titik cair tinggi disebut lemak. TAG yang banyak mengandung

asam lemak tidak jenuh, berbentuk cair pada suhu ruang, dan memiliki titik cair rendah disebut minyak (Ketaren, 1986; Boyer, 2002).

Senyawa TAG dari mikroalga dapat diubah ke dalam bentuk metil ester melalui transesterifikasi. Asam lemak metil ester (FAME) yang dihasilkan dapat digunakan sebagai bahan bakar biodiesel (Panggabean *et al.*, 2010). Sebagian besar minyak yang dihasilkan mikroalga memiliki susunan yang sama dengan minyak nabati. Kandungan minyak mikroalga yang cukup tinggi merupakan salah satu alasan pengembangan biodiesel dari mikroalga oleh negara-negara maju di Eropa, selain alasan yang terkait dengan lingkungan. Komposisi asam lemak mikroalga yang bervariasi menyebabkan karakteristik biofuel yang dihasilkan juga beragam. Asam lemak yang bervariasi pada mikroalga salah satunya dapat dimanfaatkan untuk biodiesel (Gouveia & Oliveira, 2009).

Biodiesel merupakan campuran dari alkali ether dan asam lemak yang diperoleh dari proses transesterifikasi minyak nabati atau minyak hewani (Shahzad *et al.*, 2010). Bahan baku diesel adalah hidrokarbon yang mengandung 8–10 atom karbon per molekul sementara hidrokarbon yang terkandung pada minyak nabati rata-rata adalah 16–20 atom karbon per molekul sehingga minyak nabati viskositasnya lebih tinggi (lebih kental) dan daya pembakarannya sebagai bahan bakar masih rendah. Minyak mikroalga dapat digunakan sebagai bahan bakar perlu dilakukan proses transesterifikasi.

Transesterifikasi adalah proses transformasi kimia molekul TAG yang besar dan bercabang dari minyak nabati dan lemak menjadi molekul yang lebih kecil, molekul rantai lurus, dan hampir sama dengan molekul dalam bahan bakar diesel. Minyak nabati atau lemak hewani bereaksi dengan alkohol (biasanya metanol) dengan bantuan katalis (biasanya basa) yang menghasilkan alkil ester atau untuk metanol, metil ester (Knothe *et al.*, 2005). Reaksi transesterifikasi TAG (minyak) bereaksi dengan metanol dalam katalis basa untuk menghasilkan biodiesel dan gliserol. Proses secara kimiawi dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 4. Proses transesterifikasi secara kimiawi (Parawira, 2010)

4. Fase Pertumbuhan Mikroalga

Pertumbuhan mikroalga dalam media kultur dapat diamati dengan melihat pertambahan besar ukuran sel mikroalga atau dengan mengamati pertambahan jumlah sel dalam satuan tertentu. Cara yang sering digunakan untuk mengetahui pertumbuhan mikroalga dalam media kultur, yaitu dengan menghitung kelimpahan atau kepadatan sel mikroalga dari waktu ke waktu. Penghitungan kepadatan sel dapat dilakukan menggunakan alat *haemocytometer*.

Selama pertumbuhan mikroalga dapat mengalami beberapa fase pertumbuhan (Fogg, 1995), yaitu:

(1) Fase Lag (adaptasi)

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

(2) Fase Logaritmik (log) atau Eksponensial

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

(3) Fase Penurunan Laju Pertumbuhan

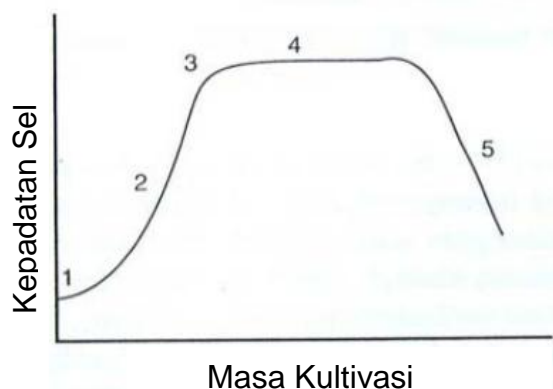
Laju pertumbuhan sel menurun akibat adanya kompetisi yang tinggi dalam media hidup dan zat makanan yang tersedia dalam media tidak mencukupi kebutuhan populasi yang bertambah dengan cepat pada fase eksponensial dan mengakibatkan hanya sebagian dari populasi yang mendapatkan cukup nutrisi untuk tumbuh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

(4) Fase Stasioner.

Fase ini memiliki laju reproduksi dan laju kematian relatif sama. Penambahan dan pengurangan jumlah mikroalga seimbang sehingga kepadatannya relatif tetap (stasioner). Selama fase ini jumlah sel cenderung konstan. Hal ini disebabkan oleh habisnya nutrisi dalam medium atau karena menumpuknya hasil metabolisme sehingga mengakibatkan pertumbuhan berhenti. Kebanyakan kasus, pergantian sel terjadi dalam fase stasioner. Fase ini adanya kehilangan sel yang lambat karena kematian yang diimbangi oleh pembentukan sel-sel yang baru melalui pembelahan. Bila hal ini terjadi, maka jumlah sel akan bertambah secara lambat meskipun jumlah sel hidup tetap.

(5). Fase Kematian

Fase ini ditandai dengan laju kematian yang lebih besar daripada laju reproduksi sehingga jumlah sel mengalami penurunan secara geometrik.



Keterangan:

1. Fase Lag
2. Fase Ekspensial
3. Fase Penurunan Laju Pertumbuhan
4. Fase Stasioner
5. Fase Kematian

Sumber: [Fase Pertumbuhan Mikroalga \(Fogg, 1995\)](#)

5. Kultivasi

Metode yang paling umum digunakan dalam kultivasi mikroalga adalah kultur sederhana dengan inokulum dan medium ditempatkan dalam suatu tempat yang telah disesuaikan untuk pertumbuhannya. Perlakuan seperti aerasi menggunakan aerator diperlukan untuk memaksimalkan pertukaran gas dan persebaran nutrisi secara merata dalam air sehingga mengoptimalkan pemanfaatan substrat oleh mikroalga (Grima *et al.*, 2004).

Pertumbuhan suatu jenis mikroalga sangat erat kaitan dengan ketersediaan unsur hara makro dan mikro serta dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga antara lain cahaya, suhu, salinitas, dan pH yang kemungkinan dapat memacu atau dapat menghambat pertumbuhan. Faktor genetik merupakan faktor internal yang sangat berpengaruh terhadap sifat-sifat pertumbuhan mikroalga (Erlina & Hastuti, 1986).

Kultur mikroalga dapat dilakukan di dalam atau di luar laboratorium. Kultivasi di dalam laboratorium (*indoor culture*) bertujuan untuk penyegaran isolat yang akan digunakan, untuk kemudian diperbanyak secara massal (*outdoor culture*). Kultur mikroalga dalam skala laboratorium biasanya memerlukan kondisi lingkungan yang terkontrol. Kultur massal di luar ruangan volume media air berkisar 30-100 liter. Media air dengan salinitas yang diinginkan dimasukkan ke dalam wadah,

kemudian diinokulasikan mikroalga yang berasal dari kultur skala laboratorium.

Pupuk yang digunakan yaitu pupuk Conwy dan diberikan sesuai takaran yang dibutuhkan. Pencahayaan hanya mengandalkan cahaya matahari pada siang hari. Aerasi dijaga jangan sampai terhenti, karena hal ini dapat menghambat pertumbuhan mikroalga dan dapat menyebabkan kematian (Isnanteoyo dan Kurniastuty, 1995).

6. Pemanenan

Proses akhir periode kultivasi mikroalga meliputi tahap pemisahan padat-cair. Pemanen biomassa mikroalga dilakukan dengan berbagai cara. Prinsip pemanenan yaitu biomassa dipisahkan dari media dengan cara sedimentasi, sentrifugasi, filtrasi dan tahap flokulasi (penggumpalan) dengan penambahan zat koagulan (Grima *et al.*, 2004).

a. Flokulasi

Flokulasi adalah penggumpalan sel-sel dengan dengan penambahan koagulan sehingga membentuk agregat. Flokulasi dengan pengaturan pH dengan nilai antara 11,8 dan 12 dapat memicu flokulasi secara intensif. Hal ini dapat dilakukan dengan penambahan senyawa basa seperti NaOH sebanyak 50 ppm sehingga terjadi pengendapan dan cairan pada lapisan atas dapat dengan mudah dipisahkan (Grima *et al.*, 2004).

b. Sentrifugasi

Sentrifugasi menggunakan prinsip meningkatkan gaya gravitasi untuk laju pengendapan untuk memisahkan padatan dan cairan. Efisiensi dari proses ini bergantung pada jenis mikroalga yang digunakan. Proses pemisahan ini didasarkan pada ukuran partikel dan perbedaan densitas dari komponen yang akan dipisahkan. Proses sentrifugasi dengan kecepatan tinggi secara efektif dapat memisahkan mikroalga dari cairan medianya (Grima *et al.*, 2004).

c. Filtrasi (Penyaringan)

Proses penyaringan pada kultur skala kecil umumnya menggunakan alat penyaring (*filter cloth*) berupa kain satin yang terbuat dari benang-benang canvas dan memiliki ukuran celah 1 mikron atau 60-70 mesh. Penyaringan dalam skala besar biasa menggunakan *Rotary vaccum drum filter* dan *Chamber filter press* yang memiliki *filter cloth* yang umum terbuat dari canvas, nylon, dacron, logam dan serat logam.

7. Ekstraksi Minyak Mikroalga

Ekstraksi merupakan suatu proses mengambil atau menarik senyawa yang terdapat dalam suatu bahan. Ekstraksi (termasuk pemecahan sel) merupakan poin yang sangat penting karena jumlah lipid yang terekstrak tergantung pada metode dan alat pemecahan, oleh karena itu menemukan metode atau perlakuan kondisi yang sesuai dalam pemecahan sel adalah kunci dalam meningkatkan efisiensi ekstraksi minyak.

Teknik ekstraksi sekarang ini dikembangkan dalam hal perusakan sel mikroalga. Adapun beberapa macam teknik ekstraksi, antara lain:

- Teknik ekstraksi secara mekanik terdiri dari metode pengepresan (*expeller/press*), *ultrasonic-assisted extraction*, dan *Microwave-assisted extraction* (MAE).
- Teknik dengan pelarut kimia: minyak dari mikroalga dapat diambil dengan menggunakan larutan kimia, misalnya dengan menggunakan benzena, ether, dan n-heksana.

Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini dengan kombinasi dari teknik ekstraksi secara mekanik menggunakan *microwave* dan perlakuan pH. Pelarut yang digunakan pada ekstraksi ini adalah pelarut organik non polar yaitu n-heksana.

B. Kerangka Berpikir

Kebutuhan energi yang semakin meningkat menyebabkan sumber energi semakin berkurang. Hal ini mendorong pencarian sumber energi terbarukan untuk mengantisipasi kelangkaan tersebut. Salah satu sumber energi baru adalah mikroalga. Mikroalga memiliki variasi jenis yang tinggi, pertumbuhan yang cepat sehingga masa tanam lebih singkat, produktivitas cukup besar sehingga dapat dipanen, dan mengandung asam lemak nabati yang tinggi sehingga mikroalga berpeluang sebagai bahan alternatif untuk pembuatan energi yang terbarukan.

Biodiesel dari mikroalga mirip dengan biodiesel yang diproduksi dari tumbuhan penghasil minyak sebab semua biodiesel diproduksi dari triasgliserida yang merupakan minyak nabati (Chisty, 2007). Seiring dengan pengadaan mikroalga sebagai sumber energi terbarukan perlu dilakukan hal penting seperti pemilihan jenis mikroalga, kultivasi, dan proses ekstraksi.

Botryococcus braunii dan *Nannochloropsis* sp. diketahui memiliki kemampuan mensintesis lipid yang cukup tinggi. Optimalisasi kultivasi dengan menumbuhkan mikroalga dalam lingkungan tertentu dapat menghasilkan biomassa optimum sesuai fase yang diinginkan. Hal penting lain adalah proses ekstraksi dalam produksi minyak mikroalga. Minyak hasil ekstraksi mikroalga saat ini masih sangat kurang dikarenakan mikroalga memiliki dinding sel yang sulit untuk dirusak dan terdapat lapisan tipis air pada permukaan biomassa mikroalga basah sehingga mencegah pelarut untuk mencapai bagian sel yang mengandung minyak dan mengakibatkan ketidakefisienan proses ekstraksi minyak.

Teknik-teknik untuk ekstraksi minyak dengan perusakan sel melibatkan ultrasonikasi, penggunaan *microwave*, ekstraksi cairan superkritis dan menggunakan pelarut konvensional saat ini sedang dipelajari. Salah satu teknik ekstraksi yaitu penggunaan *microwave* merupakan teknik yang sederhana dan mudah namun saat ini masih kurang memuaskan hasil minyak yang dihasilkan sehingga diperlukan kombinasi perlakuan untuk mengoptimalkan hasil minyak tersebut.

Menurut Lakitan (1996), kondisi pH yang rendah akan mengaktifkan enzim yang mematahkan ikatan antara polisakarida pembentuk dinding sehingga terjadi pelonggaran dinding sel dan kekakuan dinding sel berkurang. Kombinasi penggunaan *microwave* dengan perlakuan pH diharapkan mampu menghasilkan minyak yang optimum.

C. Perumusan Hipotesis

Berdasarkan kajian pustaka dan kerangka berpikir maka dapat dirumuskan hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

1. Terdapat perbedaan pertumbuhan mikroalga jenis *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada kondisi *outdoor*.
2. Terdapat pengaruh perlakuan pH pada ekstraksi menggunakan *microwave* terhadap minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.
3. Terdapat perbedaan minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada ekstraksi menggunakan *microwave*?

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tujuan Operasional Penelitian

1. Menghitung kepadatan sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada masa kultivasi secara *outdoor*.
2. Mengukur kadar minyak mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. dengan perlakuan pH pada ekstraksi menggunakan *microwave*.
3. Menganalisis kandungan asam lemak pada minyak *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. dengan GC-FID (Gas Chromatography-Flame Ionization Detector).

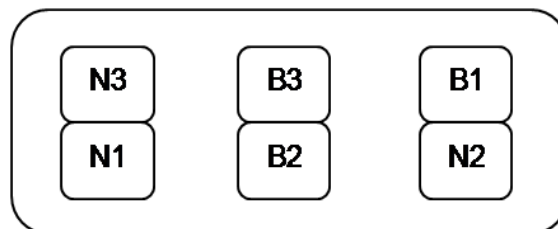
B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP) Petamburan, Slipi, Jakarta Barat pada bulan Juni - Agustus 2014.

C. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL). Kultivasi melibatkan 2 jenis mikroalga yaitu *Botryococcus braunii* dan

Nannochloropsis sp. Variabel bebas meliputi sistem kultur *outdoor*. Variabel terikat meliputi kepadatan sel. Pengulangan sebanyak 3 kali untuk masing-masing jenis mikroalga.

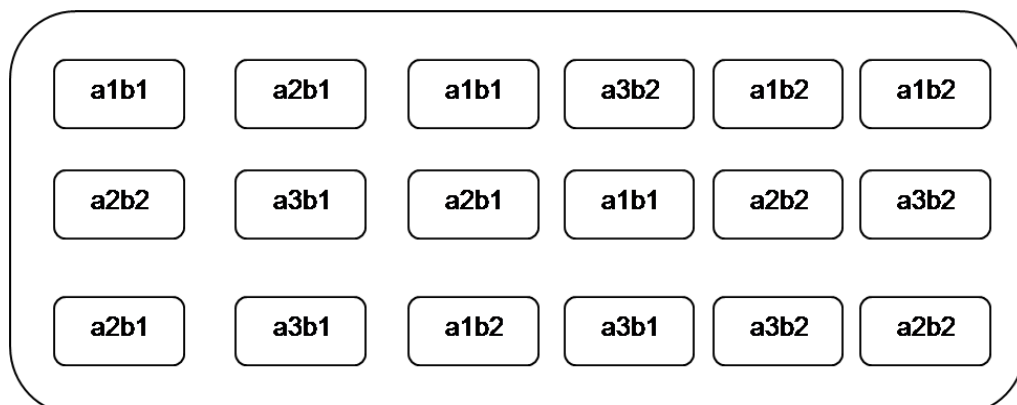


Gambar 6. Desain Penelitian Kultivasi Mikroalga

N = *Nannochloropsis* sp.

B = *Botryococcus braunii*

Ekstraksi minyak mikroalga terdiri dari faktor pertama adalah pH yang terdiri dari tiga taraf, yaitu: a1 = pH 5 , a2 = pH 7, dan a3 = pH 9. Faktor kedua yaitu jenis mikroalga terdiri dari dua taraf, yaitu b1 = *Botryococcus braunii* dan b2 = *Nannochloropsis* sp. Pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali tiap perlakuan. Variabel bebas meliputi pH dan jenis mikroalga. Variabel terikat meliputi kadar minyak. Pengulangan sebanyak 3 kali untuk masing-masing jenis mikroalga.



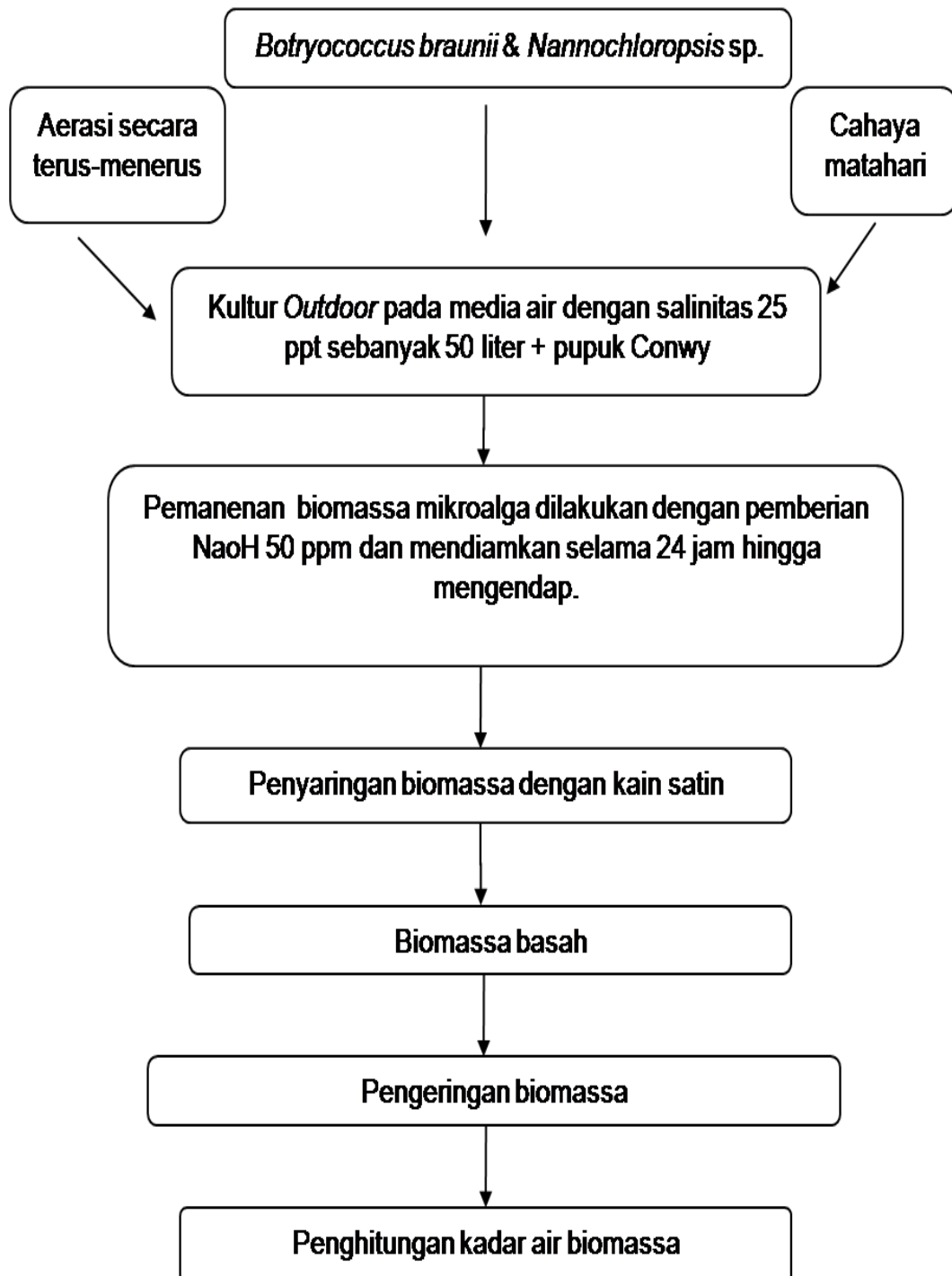
Gambar 7. Desain Penelitian Ekstraksi Minyak

a = pH

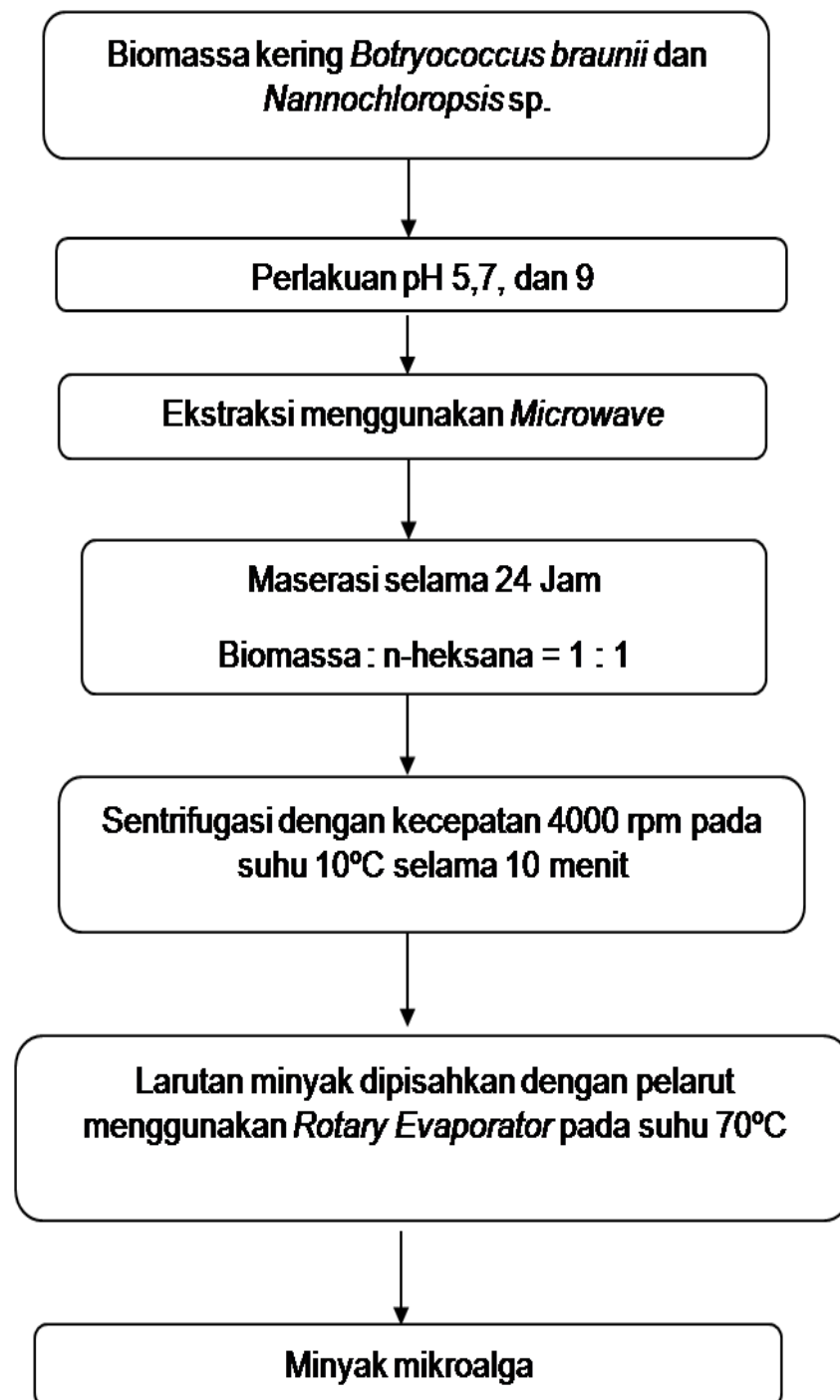
b = Jenis mikroalga

Penelitian ini diawali dengan mengkondisikan parameter pertumbuhan kultivasi untuk memastikan mikroalga tersebut tumbuh dan memiliki kepadatan sel yang cukup. Pertumbuhan mikroalga dipantau berdasarkan jumlah kepadatan sel/ml menggunakan alat *Haemocytometer* dengan bantuan mikroskop. Pemanenan biomassa mikroalga dilakukan saat kepadatan sel mencapai fase stasioner. Biomassa ini diberi perlakuan perbedaan tingkat keasaman (pH) 5, 7, dan 9, kemudian dilakukan ekstraksi minyak dengan metode menggunakan gelombang mikro (*microwave*). Minyak yang diperoleh dianalisis kandungan asam lemak menggunakan GC-FID.

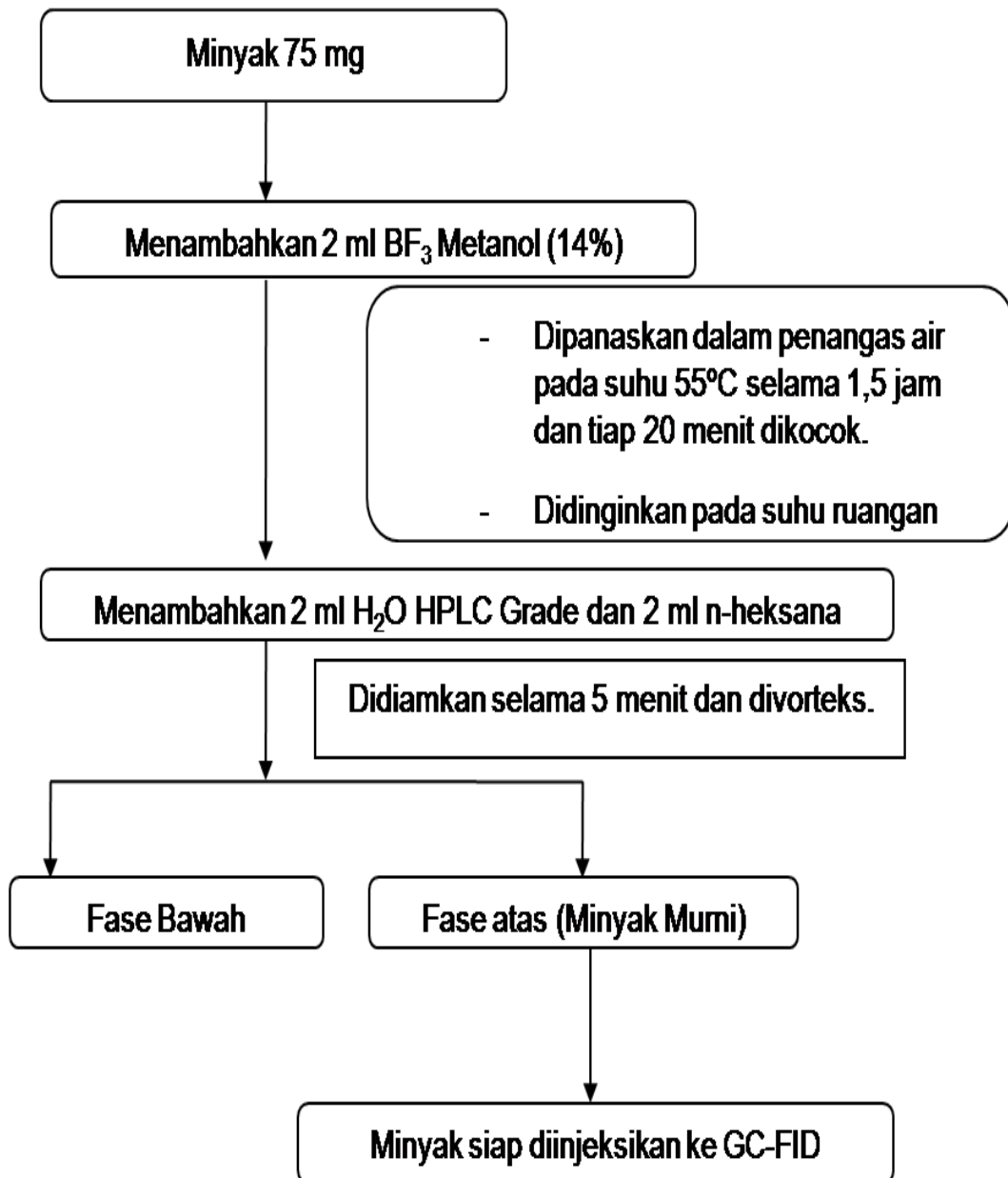
D. Tahapan Penelitian



Gambar 8. Diagram Alir Kultivasi Mikroalga



Gambar 9. Ekstraksi Minyak Mikroalga



Gambar 10. Proses preparasi pemurnian minyak mikroalga (Transesterifikasi) (Lab Instrumen BBP4BKP, 2014)

E. Prosedur Penelitian

1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah : aerator, *sentrifuge*, sonikator, autoklaf, *Haemocytometer Neubauer*, *hand counter*, kuvet kaca, filter paper, mikroskop, vortex, wadah kultivasi, corong pemisah, kertas pH dan desikator.

Bahan-bahan yang digunakan adalah stok biakan murni *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp., pupuk conwy, aquades, alkohol, asam sitrat, NaNO_3 , $\text{NaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Na-EDTA, H_3BO_4 , $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, dan NaOH.

2. Cara Kerja

a. Pembuatan Pupuk Conwy

Larutan A dibuat dengan melarutkan 100 g NaNO_3 , 20 g $\text{NaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 45 g Na-EDTA, 33,6 g H_3BO_4 , 0,78 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,36 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dalam 1000 ml akuades dengan cara dipanaskan hingga mendidih dan tercampur merata. Pembuatan larutan B dilakukan dengan melarutkan 2,1 g ZnCl_2 , 2,0 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,9 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan 0,9 g $(\text{NH}_4)_2\text{MgO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, dalam 100 ml aquades dengan cara dipanaskan. Pupuk Conwy dibuat dengan penambahan 1 ml larutan B ke dalam 1000 ml Larutan A (Amini, 2005).

b. Kultivasi Mikroalga

Tahap awal kultivasi dilakukan dengan menyiapkan 3 wadah (drum) untuk tiap jenis mikroalga. Media yang digunakan adalah air dengan salinitas 25 ppt sebanyak 50 liter dan telah disterilkan menggunakan kaporit 10 ppm. Pengeaerian dilakukan selama \pm 3 hari dan juga dapat ditambahkan Natrium thiosulfat untuk menetralkan kandungan klor dalam media.

Pemberian pupuk conwy untuk tiap 1 liter media sebanyak 1 ml. Mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. yang diperoleh dari kultur murni Laboratorium BBP4BKP dikultivasi dengan kepadatan awal 10^6 sel/ml. Kultivasi dilakukan secara *outdoor* dengan pencahayaan menggunakan cahaya matahari serta pengaerian secara terus-menerus.

c. Perhitungan Kepadatan Sel dan Laju Pertumbuhan *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

Perhitungan kepadatan sel mikroalga menggunakan alat *Haemocytometer Neubauer*. Kultur sel mikroalga diambil beberapa ml dan meneteskan pada *Haemocytometer Neubauer* menggunakan pipet tetes. Kepadatan sel dihitung dengan persamaan berikut:

$$\left(\frac{n}{x}\right) \left(\frac{10.000}{1}\right) = \text{sel/mL}$$

Keterangan:

n = total sel hasil perhitungan

x = faktor divisi berdasarkan persentase dari masing-masing kisi perhitungan yang digunakan pada penelitian ini yaitu 25% dengan faktor divisi = 1.

Laju pertumbuhan (k) sel dihitung dengan persamaan sebagai berikut (Oh-Hama & Miyachi, 1992) :

$$\text{laju pertumbuhan (k)} = \frac{\text{Log } 10 \frac{N}{N_0}}{t - t_0} \times 3,32$$

Keterangan:

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

N₀ = Kepadatan sel awal (sel/ml)

t = Waktu (Hari)

t₀ = Waktu awal (Hari)

3,32 = Nilai Konstanta.

d. Pemanenan Biomassa

Proses pemanenan dilakukan dengan penambahan zat koagulan NaOH dengan dosis 50 ppm ke dalam media agar terjadi pengendapan (flokulasi). Campuran mikroalga dan NaOH diaerasi selama kurang lebih 1 jam kemudian dibiarkan selama 1 hari hingga mengendap. Biomassa disaring menggunakan kain satin. Biomassa mikroalga yang terkumpul kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Biomassa mikroalga dibiarkan hingga mengendap sehingga terbagi menjadi dua lapisan, yaitu lapisan atas jernih dan lapisan bawah berwarna

hijau yang merupakan biomassa mikroalga. Lapisan atas yang jernih dibuang secara perlahan dan dihasilkan hanya biomassa basah mikroalga saja. Biomassa tersebut dikering anginkan selama 24 jam dibawah pencahayaan cahaya matahari.

e. Kadar Air Mikroalga.

Kadar air biomassa yaitu besar kandungan air di dalam biomassa mikroalga per satuan berat tertentu dinyatakan dalam persen (%). Cawan porselen ditimbang dan diberi kode, kemudian cawan dikeringkan pada temperatur 105°C pada oven selama 30 menit dan didinginkan dalam desikator selama 20 menit. Biomassa sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam cawan porselen dan ditimbang, kemudian dikeringkan pada suhu 105°C selama 24 jam dan selanjutnya didinginkan dalam desikator. Biomassa kembali ditimbang ulang.

Penentuan kadar air dilakukan dengan perhitungan menggunakan rumus (AOAC, 1999) :

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{\mathbf{a - b}}{\mathbf{c}} \times \mathbf{100\%}$$

Keterangan:

a = berat (cawan porselen + sampel) sebelum dikeringkan (g)

b = berat (cawan porselen + sampel) setelah dikeringkan (g)

c = berat sampel (g)

f. Ekstraksi Minyak dari *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

Biomassa hasil pemanenan ditimbang dan dibagi sama rata untuk tiap perlakuan pH 5, 7, dan 9. Menurunkan pH dilakukan dengan penambahan asam sitrat dan menaikkan pH dilakukan dengan penambahan NaOH hingga mencapai derajat keasaman yang diinginkan. Waktu perendaman pada tiap perlakuan pH ± 10 menit. Perlakuan pH dilakukan untuk memberi perlakuan terhadap dinding sel sebelum dilakukan dengan bantuan metode MAE (*Microwave-assisted extraction*) menggunakan alat *microwave* dengan panjang gelombang 2450 MHz pada suhu 75°C selama 10 menit.

Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan perbandingan pelarut n-heksana dengan biomassa yaitu 1:1. Pemisahkan pelarut n-heksana dengan biomassa dengan cara mensentrifugasi. Larutan n-heksana yang telah terkandung minyak dan telah terpisah dari biomassa dipisahkan kembali menggunakan evaporator sampai semua pelarut n-heksana menguap dan yang tersisa adalah minyaknya saja (Lee, 2009).

Rumus perhitungan kadar minyak :

$$\text{Kadar minyak (\%)} = \frac{a - b}{c} \times 100\%$$

Keterangan:

a = berat botol + minyak (g)

b = berat botol kosong (g)

c = berat sampel (g) (AOAC, 1999).

g. Analisis Asam lemak Minyak Mikroalga menggunakan GC-FID

Analisa GC-FID ini menggunakan SHIMADZU GC-FID 2010. Minyak mikroalga sebelum dianalisis terlebih dahulu dilakukan proses transesterifikasi atau diderivatisasi. Proses preparasi sampel minyak mikroalga dapat dilihat pada Gambar 10.

Sistem GC yang dipergunakan adalah kolom kapiler DB-WAX (30m x 0.25 mm LD). Program suhu oven adalah dengan suhu awal 140°C selama 5 menit, lalu dinaikkan hingga 240°C dengan kecepatan 40°C/menit. Kolom menggunakan helium sebagai fase gerak dengan suhu injektor dan detector yang diatur pada suhu 240°C.

Injeksi sampel dilakukan sebanyak 2 μ l dengan metode split sebanyak 50:1. Identifikasi senyawa asam lemak dilakukan dengan perbandingan puncak area ke standar metil ester asam lemak atau waktu retensi asam lemak standar FAME dengan sampel.

F. Hipotesis Statistik

1. Uji Pertumbuhan Mikroalga

$$H_0 : \mu_{K1} = \mu_{K2}$$

$$H_1 : \mu_{K1} \neq \mu_{K2}$$

Keterangan

H_0 : tidak terdapat perbedaan kepadatan sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

H_1 : terdapat perbedaan kepadatan sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

μ = rata-rata

K = kepadatan sel

1 = *Botryococcus braunii*

2 = *Nannochloropsis* sp.

2. Uji Faktor Perlakuan Terhadap Minyak Hasil Ekstraksi Mikroalga

a. Faktor pH

H_0 : $\mu_{Ma1} = \mu_{Ma2} = \mu_{Ma3}$

H_1 : salah satu rata-rata M tidak sama

Keterangan

H_0 : tidak terdapat pengaruh perlakuan pH pada ekstraksi menggunakan *microwave* terhadap minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

H_1 : terdapat pengaruh perlakuan pH pada ekstraksi menggunakan *microwave* terhadap minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

M = Kadar minyak

a1 = pH 5

a2 = pH 7

a3 = pH 9

b. Faktor Jenis Mikroalga

$$H_0 : \mu_{Mb1} = \mu_{Mb2}$$

$$H_1 : \mu_{Mb1} \neq \mu_{Mb2}$$

Keterangan

H_0 : tidak terdapat perbedaan minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada ekstraksi menggunakan *microwave*.

H_1 : terdapat perbedaan minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada ekstraksi menggunakan *microwave*.

M = Kadar minyak

b1 = *Botryococcus braunii*

b2 = *Nannochloropsis* sp.

G. Teknik Analisis Data

Data kepadatan sel dianalisis dengan uji t dan data kadar minyak hasil ekstraksi terhadap faktor pH dan jenis mikroalga dianalisis dengan uji anova dua arah menggunakan software SPSS versi 16 dengan taraf signifikansi yaitu 0,05.

BAB IV

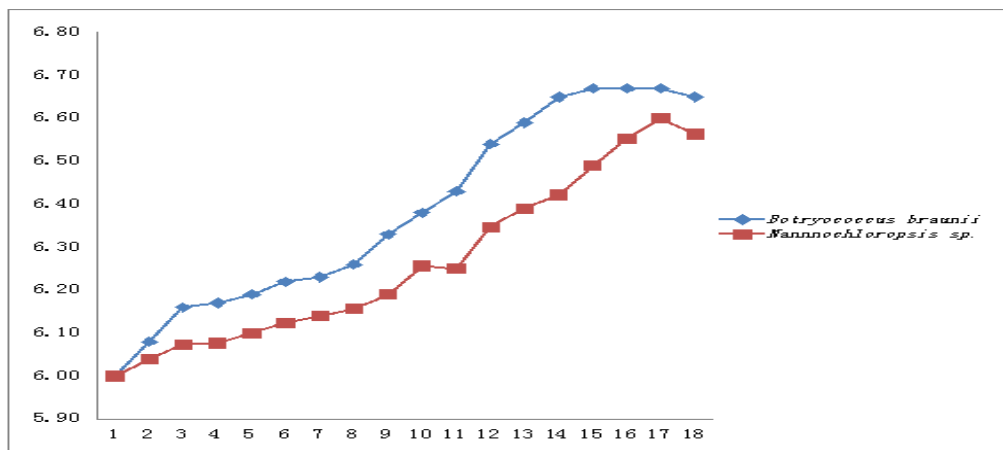
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PENELITIAN

1. Pertumbuhan Mikroalga

Kultivasi mikroalga dilakukan di luar ruangan (*outdoor*) pada media air dengan salinitas 25 ppt sebanyak 50 liter. Penghitungan kepadatan sel untuk mengetahui pertumbuhan mikroalga. Kepadatan sel awal *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. adalah 10^6 sel/ml.

a. Kepadatan Sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.



Gambar 11. Kurva Kepadatan Sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. selama 18 hari kultivasi

Kepadatan sel merupakan jumlah sel mikroalga yang dinyatakan dalam log sel/ml. Gambar 11 memperlihatkan kurva kepadatan sel mikroalga pada *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. Peningkatan kepadatan sel terjadi sejak hari pertama kultivasi (Gambar 11). Puncak kepadatan sel *Botryococcus braunii* mencapai 6,67 log sel/ml

pada hari ke-15 kultivasi sedangkan *Nannochloropsis* sp. mencapai 6,60 log sel/ml pada hari ke-17. Kepadatan sel pada hari ke 18 menunjukkan fase stasioner atau jumlah sel cenderung konstan karena telah terjadi penurunan pembelahan sel secara bertahap.

b. Parameter Lingkungan Media Kultivasi

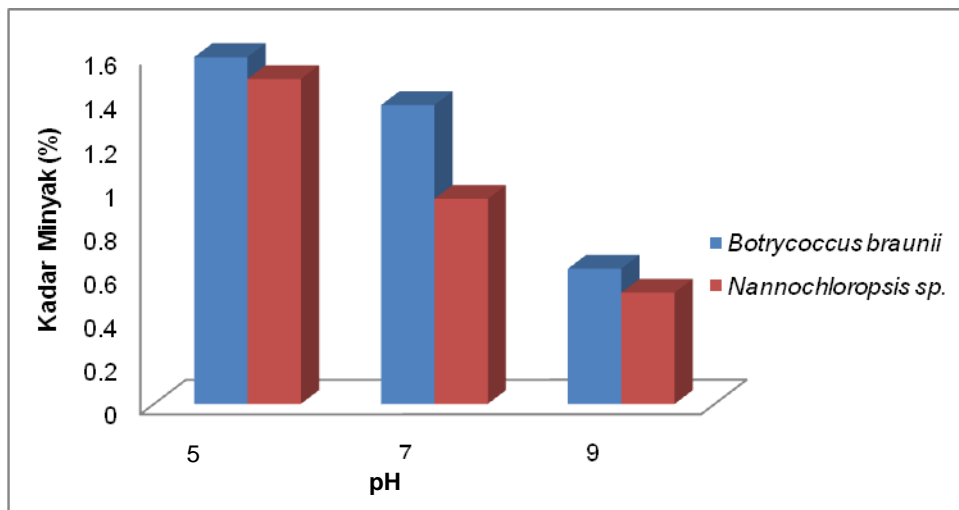
Data parameter lingkungan media tumbuh untuk kultivasi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. disajikan pada Tabel 1. Pengukuran suhu selama kultivasi berkisar antara 25-30° C. Sumber pencahayaan yang digunakan untuk kultivasi adalah cahaya matahari dengan intensitas 6500 lux (Tabel 1). Salinitas awal pada media kultivasi yaitu 25 ppt dan mengalami kenaikan selama proses kultivasi hingga mencapai 30 ppt pada kedua jenis mikroalga (Tabel 1).

Tabel 1. Parameter Media Tumbuh untuk Kultivasi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

| Parameter | <i>Botryococcus braunii</i> (Hari ke 1-18) | <i>Nannochloropsis</i> sp. (Hari ke 1-18) |
|-------------------|---|--|
| Suhu | 25-30° C | 25-30° C |
| Salinitas | 25-30 ppt | 25-30 ppt |
| Intensitas Cahaya | 6500 lux | 6500 lux |

2. Kandungan Minyak Mikroalga

a. Kadar Minyak *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.



Gambar 12. Kadar Minyak Hasil Ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

Hasil rerata kadar minyak dari ekstraksi 25 gram biomassa kering *Botryococcus braunii* dengan tingkat keasaman (pH) 5, 7 dan 9 berturut-turut adalah 1,59% ; 1,37% ; dan 0,62%. Kadar minyak *Botryococcus braunii* tertinggi terjadi pada pH 5 dan terendah pada pH 9 (Gambar 12). Hasil rerata kadar minyak dari ekstraksi 25 gram biomassa kering *Nannochloropsis* sp. dengan tingkat keasaman (pH) 5, 7, dan 9 berturut-turut adalah 1,49 % ; 0,94% ; dan 0,51%. Kadar minyak *Nannochloropsis* sp. tertinggi terjadi pada pH 5 dan terendah pada pH 9 (Gambar 12).

b. Kandungan Asam Lemak pada Minyak *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

Analisis kandungan asam lemak diambil dari hasil minyak tertinggi yaitu pada pH 5 jenis *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. Prinsip analisis komposisi asam lemak menggunakan GC-FID adalah mengubah komponen asam lemak menjadi senyawa derivat metil ester asam lemak (Fatty Acid Methyl Esther atau FAME). Hasil analisis uji GC-FID ditunjukkan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Profil Asam Lemak *Botryococcus braunii*

| Senyawa | Konsentrasi | % | Jenis Asam Lemak |
|--|-------------|-------|----------------------|
| Methyl Octanoate | 41,745 | 0,756 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Decanoate | 18,743 | 0,339 | Asam Lemak Jenuh |
| | | 21,39 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Tridecanoate | 1181,657 | 9 | Asam Lemak Jenuh |
| | | 29,79 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Pentadecanoate | 1645,129 | 2 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Heptadecanoate | 103,152 | 1,868 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Behenate | 79,658 | 1,443 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Linolenat | 273,018 | 4,944 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| cis-10-Pentadecenoic acid methyl ester | 32,092 | 0,581 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| | | 11,93 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| cis-10-Heptadecanoic acid methyl ester | 659,024 | 4 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| Methyl Arachidate | 505,943 | 9,162 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| Methyl Palmitoleate | 265,565 | 4,809 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid methyl ester | 174,236 | 3,155 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| Methyl cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid methyl ester (EPA) | 263,016 | 4,763 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| cis-13,16-docosadienoic acid methyl ester ; methyl nervonate | 279,109 | 5,054 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| Total | 5522,086 | 100 | |

Profil asam lemak *Botryococcus braunii* terdiri 14 jenis asam lemak berbeda yaitu 8 jenis asam lemak tak jenuh dan 6 jenis asam lemak jenuh (Tabel 2). Persentase profil asam lemak terbesar yaitu Methyl Pentadecanoate (29,792%) dan persentase terkecil yaitu Methyl Decanoate (0,339%) (Tabel 2).

Tabel 3. Profil Asam Lemak *Nannochloropsis* sp.

| Senyawa | Konsentrasi | % | Jenis Asam Lemak |
|--|-------------|--------|----------------------|
| Methyl Decanoate | 341,282 | 3,627 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Laurate | 5694,984 | 60,528 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Tridecanoate | 814,269 | 8,654 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Pentadecanoate | 1594,601 | 16,948 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Arachidate | 390,794 | 4,153 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Behenate | 61,477 | 0,653 | Asam Lemak Jenuh |
| Methyl Linolenat | 141,653 | 1,506 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| Methyl cis-5,8,11,14,17 Eicosapentaenoic acid methyl ester (EPA) | 53,960 | 0,574 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| cis-13,16-docosadienoic acid methyl ester; methyl nervonate | 315,814 | 3,357 | Asam Lemak Tak Jenuh |
| Total | 9408,834 | 100 | |

Profil asam lemak *Nannochloropsis* sp. terdiri dari 9 jenis asam lemak berbeda yaitu 3 jenis asam lemak tak jenuh dan 6 jenis asam lemak jenuh (Tabel 3). Persentase profil asam lemak terbesar yaitu Methyl Laurate (60,528%) dan persentase terkecil yaitu Methyl cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid methyl ester (EPA) (0,574%) (Tabel 3).

3. Uji Hipotesis

a. Uji Pertumbuhan *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

Uji hipotesis statistik data kepadatan sel menggunakan uji t dengan taraf signifikansi 0,05. Berdasarkan hasil uji statistik data kepadatan sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. didapatkan nilai signifikansi (p) adalah 0,163 (Lampiran 2). Nilai signifikansi yang didapat lebih besar dari 0,05 sehingga terima H_0 yaitu tidak terdapat perbedaan kepadatan sel antara *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

b. Uji Faktor pH dan Jenis Mikroalga terhadap Kadar Minyak

Tabel 4. Hasil Uji Anova Dua Arah Faktor pH Dan Jenis Mikroalga

| Variabel | Faktor | Nilai Signifikansi (p) |
|----------|-----------------|----------------------------|
| Kadar | pH | 0,006 |
| Minyak | Jenis Mikroalga | 0,323 |

Uji hipotesis statistik data kadar minyak mikroalga menggunakan anova dua arah dengan taraf signifikansi 0,05. Hasil yang ditunjukkan pada Tabel 4 diketahui nilai signifikansi (p) untuk faktor pH adalah 0,006. Nilai signifikansi yang didapat lebih kecil dari 0,05 sehingga tolak H_0 yaitu terdapat pengaruh pH pada ekstraksi menggunakan *microwave* terhadap minyak hasil ekstraksi mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. Nilai signifikansi (p) pada faktor jenis mikroalga yaitu 0,323. Hal tersebut menunjukkan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 maka terima H_0 yaitu tidak terdapat perbedaan minyak hasil ekstraksi

antara *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada ekstraksi menggunakan *microwave*.

B. PEMBAHASAN

1. Pertumbuhan Mikroalga

a. Kepadatan Sel Mikroalga

Pertumbuhan dari organisme hidup didefinisikan sebagai penambahan massa atau ukuran diikuti oleh dengan sintesis makromolekul dan menghasilkan struktur organisme yang baru. Pertumbuhan mikroalga umumnya diukur dari kepadatan sel pada setiap volum kultur (Log sel/ml). Setiap jenis mikroalga memiliki kemampuan berbeda dalam mengkonsumsi media tumbuh yang ditambahkan ke dalam wadah kultivasi sehingga menyebabkan perbedaan kepadatan sel. Nilai kepadatan sel diturunkan dengan pendekatan logaritma (Log) kemudian diplotkan ke dalam suatu grafik sehingga didapatkan kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. disajikan pada Gambar 11.

Kultivasi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. memiliki kepadatan sel awal yang sama yaitu $\pm 1 \times 10^6$ sel/ml. Kepadatan sel kedua mikroalga tersebut terus mengalami peningkatan hingga mencapai puncak populasi 6,67 log sel/ml pada *Botryococcus braunii* di hari ke-15 kultivasi sedangkan *Nannochloropsis* sp. 6,60 log sel/ml di hari ke-17.

Tabel 5 pada Lampiran 1 menunjukkan bahwa *Botryococcus braunii* dari awal kultivasi mengalami peningkatan kepadatan sel sejak

hari ke-2 kultivasi hingga hari ke-15. *Botryococcus braunii* diduga mengalami fase adaptasi yang singkat atau tidak terlihat karena peningkatan kepadatan sel terjadi dari awal kultivasi. Hal ini dimungkinkan mikroalga tersebut telah mampu beradaptasi dengan lingkungan kultivasi dan langsung mengalami fase eksponensial. Selama fase ini sel membelah dengan cepat, sel-sel dalam keadaan stabil dan jumlah sel bertambah. Pembelahan sel terjadi pada fase ini dikarenakan nutrisi dan lingkungan kultivasi pertumbuhan mikroalga masih mendukung. Hari ke-16 dan ke-17 kepadatan sel mulai mengalami awal fase stasioner hingga akhir fase stasioner pada hari ke-18. Fase ini ditandai dengan penurunan dibandingkan dengan fase eksponensial dan laju reproduksi sama dengan laju kematian sehingga penambahan dan pengurangan jumlah mikroalga seimbang sehingga kepadatan relatif konstan.

Tabel 6 pada Lampiran 1 memperlihatkan peningkatan kepadatan sel *Nannochloropsis* sp. masih rendah pada hari ke-2 sampai ke-6. Hal ini dikarenakan awal kultivasi *Nannochloropsis* sp. mengalami fase adaptasi (lag) sehingga pertumbuhan sel lambat dikarenakan alokasi energi dipusatkan untuk penyesuaian diri terhadap media kultur yang baru dan untuk pemeliharaan sehingga hanya sebagian kecil energi yang digunakan untuk pertumbuhan. Menurut Kastanek *et al.*, (2010), fase adaptasi terjadi pada awal kultivasi terhadap lingkungan yang baru.

Fase eksponensial dimulai pada hari ke-9 kultivasi. Kepadatan sel *Nannochloropsis* sp. mulai terjadi peningkatan hingga hari ke-17. Hari ke-

18 terlihat terjadi penurunan kepadatan sel yang diperkirakan memasuki fase awal stasioner.

Kultivasi kedua mikroalga tersebut dilakukan hingga mencapai fase stasioner. Hal tersebut dilakukan untuk penentuan fase yang tepat dalam pemanenan biomassa. Pemanenan biomassa mikroalga dilakukan pada fase stasioner dikarenakan pada fase ini terjadi akumulasi metabolisme sekunder seperti lipid sehingga biomassa dapat dijadikan bahan baku untuk ekstraksi minyak dari mikroalga. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Guzman *et al.* bahwa pada fase stasioner telah terjadi penurunan pembelahan sel secara bertahap dan sel mulai menyimpan hasil metabolit dalam bentuk lipid.

b. Parameter Lingkungan Media Selama Kultivasi

Berdasarkan hasil uji t data kepadatan sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. (Lampiran 2) tidak menunjukkan adanya perbedaan. Kedua mikroalga tersebut sama-sama dapat tumbuh baik dengan penambahan kepadatan sel selama kultivasi atau mengalami fase-fase pertumbuhan seperti fase lag, fase eksponensial dan fase stasioner. Hal tersebut dapat terjadi diduga selama penelitian ini proses kultivasi mikroalga faktor lingkungan seperti cahaya, salinitas, dan suhu dipertahankan kondisinya pada keadaan optimum bagi pertumbuhan mikroalga sehingga pertumbuhan dapat berjalan dengan baik dan tidak terdapat kontaminan yang tidak diinginkan selama proses kultivasi berlangsung (Tabel 1). Menurut Richmond (1988), faktor lingkungan

sekitar sangat penting diperhatikan karena sangat mempengaruhi terhadap pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroalga.

Kondisi suhu lingkungan selama kultivasi *Botryococcus braunii* berkisar 25-30°C. Suhu berfluktuasi dikarenakan siklus penyinaran harian matahari terhadap lingkungan dan kultur. Kisaran suhu tersebut masih merupakan rentang optimum pertumbuhan *Botryococcus braunii* sehingga mampu tumbuh dengan baik. Hal tersebut diperjelas oleh Lupi *et al.* (1991) bahwa kisaran optimal suhu untuk pertumbuhan *Botryococcus braunii* adalah 25-30°C.

Kondisi salinitas awal pada media kultivasi *Botryococcus braunii* yaitu 25 ppt dan mengalami peningkatan mencapai 30 ppt selama kultivasi. Fluktuasi salinitas ini diduga karena adanya proses penguapan yang dipercepat dengan pengaerasian dan fluktuasi penyinaran matahari. *Botryococcus braunii* dapat tumbuh dengan salinitas berkisar 0-30 ppt sehingga mikroalga ini mampu tumbuh dengan baik dengan salinitas berkisar 25-30 ppt dan masih dalam rentang salinitas pertumbuhan. Apabila salinitas melebihi dari rentang pertumbuhan dimungkinkan *Botryococcus braunii* tidak dapat mentoleransi sehingga tumbuh dengan tidak baik atau mati. Menurut Hart *et al.* (1991), *Botryococcus braunii* menunjukkan penurunan pertumbuhan pada salinitas yang lebih tinggi yang disebabkan karena menurunnya proses fotosintesis.

Intensitas cahaya yang digunakan pada saat kultivasi 6500 lux. Pertumbuhan *Botryococcus braunii* yang terjadi optimum pada intensitas

cahaya tersebut. Energi cahaya merupakan faktor penting untuk pembentukan biomassa alga. Proses fotosintesis *Botryococcus braunii* menggunakan klorofil untuk mengubah sumber CO₂ menjadi biomassa dengan bantuan energi cahaya matahari dan senyawa mikronutrien.

Kondisi suhu lingkungan kultivasi pada *Nannochloropsis* sp. mengalami fluktuasi pada kisaran 25-30°C (Tabel 1). Kirasan suhu tersebut masih dalam kondisi optimum untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. sehingga dapat tumbuh dengan baik yang ditandai penambahan jumlah kepadatan tiap harinya selama kultivasi. Menurut Converti (2009) dan Elzenga (2000), *Nannochloropsis* sp. dapat tumbuh optimum pada suhu 25-30°C dan masih dapat hidup hingga suhu 40°C tetapi tidak dapat tumbuh dengan baik. Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang penting untuk mempengaruhi tingkat pertumbuhan dan metabolisme mikroalga. Suhu juga mempengaruhi daya larut gas-gas yang diperlukan untuk fotosintesis, seperti CO₂ dan O₂. Gas-gas ini mudah terlarut pada suhu rendah daripada suhu tinggi, akibatnya laju fotosintesis meningkat pada suhu rendah (Suseno, 1976).

Selama proses kultivasi *Nannochloropsis* sp., kondisi salinitas berkisar 25-30 ppt. Kisaran tersebut *Nannochloropsis* sp. dapat tumbuh dengan baik. Menurut Converti (2009) dan Elzenga (2000), kisaran salinitas optimum *Nannochloropsis* sp. berkisar 25-30 ppt. Setiap mikroalga memiliki kondisi salinitas optimum yang berbeda-beda, hal ini dikarenakan tingkat ketahanan setiap mikroalga terhadap perubahan

lingkungan juga berbeda-beda. Semakin tinggi perbedaan salinitas dengan habitat asal maka adaptasi yang dilakukan mikroalga akan semakin berat begitu pula sebaliknya. Akibat dari proses adaptasi yang berat yaitu proses pertumbuhan dan reproduksi mikroalga tersebut terganggu. Salinitas berpengaruh terhadap tekanan osmosis dan mekanisme osmoregulasi yang secara langsung akan mempengaruhi proses metabolisme yang berakibat terhadap penurunan pertumbuhan populasi.

Nannochloropsis sp. dikultivasi dengan intensitas cahaya 6500 lux. Intensitas cahaya tersebut masih merupakan rentang optimum pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. Kebutuhan akan cahaya bervariasi tergantung kedalaman kultur dan kepadatannya. Intensitas cahaya merupakan sumber energi dalam proses fotosintetis yang berguna untuk pembentukan senyawa karbon organik. Menurut Sujiharno (2007), *Nannochloropsis* sp. dapat tumbuh baik dengan intensitas cahaya 1.000-10.000 lux.

2. Kandungan Minyak dan Analisis Asam Lemak Mikroalga

a. Minyak Hasil Ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

Hasil rerata berat biomassa kering dari pemanenan *Botryococcus braunii* yaitu 157,5 gram sedangkan *Nannochloropsis* sp. menghasilkan 145,11 gram dalam media 50 liter. Pemanenan biomassa mikroalga

dilakukan hingga mencapai fase stasioner yang memiliki kadar total lipid yang lebih besar dibandingkan dengan fase eksponensial karena pada fase ini terjadi akumulasi metabolit seperti lipid. Menurut Panggabean, (2011) bahwa produksi lipid atau penumpukan cadangan lemak terjadi pada fase stasioner yaitu ketika nutrisi utama seperti nitrogen untuk sintesis protein atau untuk produksi biomassa sudah tidak mencukupi lagi.

Ekstraksi minyak mikroalga pada penelitian ini dilakukan dengan upaya optimalisasi proses pemecahan dinding sel agar mempermudah minyak dapat keluar dari sel dan larut dengan pelarut n-Heksana. Ekstraksi dilakukan secara mekanik dengan menggunakan *microwave* dengan bantuan gelombang mikro yang dapat membantu dalam proses pemecahan dinding sel. Lee *et al.* (2010) melaporkan bahwa pemecahan dinding sel menggunakan *microwave* merupakan cara yang paling mudah dan efisien untuk proses ekstraksi minyak dari mikroalga. Namun hasil ekstraksi masih kurang memuaskan sehingga kombinasi dalam ekstraksi diperlukan seperti penambahan perlakuan pH.

Berdasarkan hasil uji statistik Anova Dua Arah menunjukkan bahwa faktor perlakuan pH berpengaruh terhadap kadar minyak *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. (Lampiran 3). Tabel 7 (Lampiran 1) memperlihatkan perbedaan kadar minyak *Botryococcus braunii* pada tiap pH. Kadar minyak dengan persentase terbesar adalah pH 5 (1,59%) dan terkecil pada pH 9 (0,62%). Hal yang sama juga terjadi pada kadar minyak

hasil ekstraksi minyak *Nannochloropsis* sp. yaitu persentase terbesar pada pH 5 (1,49%) dan persentase terkecil pada pH 9 (0,51%).

Penelitian ini menunjukkan perlakuan perbedaan tingkat keasaman dapat membantu meningkatkan efektivitas proses ekstraksi minyak dari sel mikroalga. Semakin rendah pH (kondisi asam) perendaman biomassa maka semakin tinggi minyak yang dihasilkan (Gambar 12). Kondisi asam mengakibatkan semakin banyak dinding sel yang terdegradasi dan semakin banyak kandungan minyak yang terekstrak oleh pelarut n-heksana. Menurut Lakitan (1996), kondisi pH yang rendah akan mengaktifkan enzim yang mematahkan ikatan antara polisakarida pembentuk dinding sehingga terjadi pelonggaran dinding sel dan kekakuan dinding sel berkurang. Hal ini diperkuat oleh Salisbury dan Ross, (1995) bahwa pH rendah ini diduga bekerja dengan mengaktifkan beberapa enzim perusak dinding sel tertentu, yang tidak aktif pada pH tinggi. Enzim tersebut diduga memutuskan ikatan pada polisakarida dinding, sehingga memungkinkan dinding lebih mudah merenggang.

Berdasarkan hasil uji statistik anova dua arah (Lampiran 3) menunjukkan bahwa faktor spesies tidak berpengaruh signifikan terhadap kandungan minyak *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. Hasil kadar minyak antara kedua mikroalga tersebut tidak jauh berbeda. Menurut Derenne *et al.* (1992) faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap produksi lipid seperti salinitas, fotoperiod, intensitas cahaya, nitrogen, dan suhu. Kawaroe *et al.* (2010) juga mengatakan bahwa

akumulasi lemak dalam mikroalga mempunyai kecenderungan untuk meningkat jika organisme tersebut mengalami tekanan (Kawaroe, *et al.*, 2010).

b. Asam Lemak yang Terkandung pada Minyak *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis sp.*

Hasil pengujian GC-FID didapatkan data komposisi profil asam lemak atau metil ester asam lemak mikroalga dari *Botryococcus braunii* dengan total konsentrasi asam lemak sebesar 5522,086 µg/ml dengan presentase asam lemak jenuh sebesar 55,597% dan asam lemak tidak jenuh sebesar 44,403% (Tabel 2). Perbedaan presentase asam lemak tak jenuh dengan asam lemak jenuh tidak terlalu jauh dan hampir berimbang.

Nannochloropsis sp. memiliki total konsentrasi asam lemak sebesar 9408,834 µg/ml dengan presentase asam lemak jenuh 85,909% dan asam lemak tidak jenuh 14,091% sehingga asam lemak jenuh lebih mendominasi dibandingkan asam lemak tidak jenuh (Tabel 3).

Profil asam lemak yang terkandung dalam minyak mikroalga berkaitan dengan properti biodiesel yang dihasilkan. Asam lemak tak jenuh memiliki titik cair yang lebih rendah dibandingkan dengan asam lemak jenuh sehingga memiliki kemampuan mengalir yang baik pada suhu rendah. Hal sebaliknya terjadi dengan asam lemak jenuh yang memiliki titik cair yang tinggi sehingga pada suhu rendah akan cenderung tidak berbentuk cair atau menjadi gel. Menurut Hu *et al.* (2008) dan

Chinnasamy *et al.* (2010) bahwa asam lemak jenuh akan cenderung berbentuk gel pada suhu rendah namun menghasilkan biodiesel dengan kestabilan oksidatif yang tinggi.

Berdasarkan hasil penelitian terhadap kejenuhan asam lemak dari minyak mikroalga yang dihasilkan maka yang paling berpeluang menghasilkan biodiesel dengan properti yang baik adalah minyak *Botryococcus braunii* yang memiliki asam lemak jenuh yang hampir seimbang asam lemak tidak jenuh. Hal tersebut diharapkan biodiesel yang akan dihasilkan memiliki stabilitas oksidatif yang baik namun masih memiliki kemampuan mengalir pada suhu rendah.

BAB V

KESIMPULAN, IMPLIKASI DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kultivasi *Botryococcus braunii* memiliki pertumbuhan kepadatan sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Nannochloropsis* sp.
2. pH mempengaruhi kadar minyak *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada ekstraksi menggunakan *microwave*.
3. Komposisi asam lemak pada *Botryococcus braunii* memiliki asam lemak jenuh dan tak jenuh yang seimbang sedangkan *Nannochloropsis* sp. didominasi oleh asam lemak jenuh.

B. Implikasi

Penelitian ini dapat menjadi referensi mengenai perlakuan asam dapat membantu meningkatkan efektivitas proses ekstraksi minyak dari smikroalga. Semakin rendah pH (kondisi asam) perendaman biomassa maka semakin tinggi rendemen minyak yang dihasilkan.

C. Saran

Dari penelitian ini disarankan untuk melakukan penelitian kombinasi perlakuan pH pada biomassa mikroalga dengan teknik ekstraksi menggunakan bahan pelarut lain untuk menghasilkan kandungan minyak yang lebih tinggi sehingga dapat dijadikan sumber bahan baku biofuel.

DAFTAR PUSTAKA

- Akoh, C.C., David B. M. 2002. *Food Lipid 2nd edition*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Allard, B., M-N. Rager, dan J. Templier. 2002. *Occurrence of high molecular weight lipids (c80+) in the trilaminar outer cell walls of some freshwater microalgae. a reappraisal of algaenan structure*. Org. Geochem., 33 : 789-801.
- Amini, S. 2004. Pengaruh umur ganggang halus jenis *Chlorella* sp. dan *Dunaliella* sp. terhadap pigmen klorofil dan karotenoid sebagai bahan baku makanan kesehatan. *Seminar Nasional Perikanan Indonesia 2004*.
- Amini, S. dan R. Susilowati 2010. Produksi biodisel dari mikroalga *Botryococcus braunii*. *Squalen*. 5 : 23-42.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 1995. *Official methods of analysis of the association of official analytical chemist. Vol IIA*. AOAC International. Washington.
- Banerjee,A.,Sharma,R.,Chisty,Y., dan Banerjee, U.C. 2002. *Botryococcus braunii: A renewable source of hydrocarbons and other chemicals*. *Critical Reviews in Biotechnology*. 22 (3): 245-279.
- Blokker, P., 2000. Structural analysis of resistant polymers in extant algae and ancient sediments. *Geologica Ultratrajectina*. 193: 1-145.
- Borowitzka, M.A. 1992. Fats, oils, and hydrocarbons microalgae biotechnology. *Section The Algae Cambridge Univ. Pres* : 257-287.
- Briggs, M,. 2004. *Widescale Biodiesel Production from Algae*. New York: Heidelberg.
- Chinnasamy., Ashish, Bhatnagar., Ryan, W. Hunt., Das, K.C. 2010. Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. *J.Biortech.*, 101: 3097-3105.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from Microalgae. *Biotechnology Advances* 25 (3) : 294-306.
- Conwy, C.B dan Walton,M.J. 1989. *Intermedier metabolism: 259-329*.

- Derenne S., Largeau C., Berkaloff C., Rousseau B., Wilhelm C. dan Hatcher P. G. 1992. Non-hydrolysable Macromolecular Constituents from outer walls of *Chlorella fusca* and *Nanochlorum eucaryotum*. *Phytochemistry* 31 (6): 19-23.
- El Nabris, Kamal. 2012. Development of cheap and simple culture medium for the microalgae *Nannochloropsis* sp. Based on Agricultural Grade Fertilizers Available in the Local Market of Gaza Strip (Palestine). *Journal of Al Azhar University-Gaza (Natural Sciences)* 14: 61-76.
- Erlina, A. dan Hastuti. 1986. *Kultur Plankton*. Jakarta: Ditjenkan-IDRC.
- Fogg, G. E. 1995. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*, The University of Wisconsin Press, Medison.
- Gelin, F., Boogers, I., Noordeloos, A.A.M., Damste, J.S.S., Hatcher, P.G., de Leeuw, J.W., 1996. Novel, resistant microalgal polyethers: An important sink of organic carbon in the marine environment? *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60 (7): 1275-1280.
- Gouveia, L. & Oliveira, A.C. 2009. Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 36: 269-274.
- Grima, E.M.,. 2004. *Downstream Processing of Cell-mass and Product. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Psycology*. A. Richmod. UK, Blackwell Publishing Company.
- Hart, B.T., Bailey, P., Edwards, R., Hortlek, K., James, K., Mc Mohan, A., Meredith, C., Swading, K., 1991. A review of the salt sensitivity of the Australian fresh water biota. *Hydrobiologia* 210: 105-144.
- He´ctor, Mendoza, H.M. Guzman, A de la Jara Valido, A De Le Jara, L.C. Duarte, dan K.F. Presmanes, 2010. Estimate by means of flow cytometry of variation in composition of fatty acids from *Tetraselmis suecica* in response to culture conditions. *Aquacult. Int.*, 18: 189-199.
- Hibberd, D.J. 1981. Notes on the Taxonomy and Nomenclature of the Alga Classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (synonym Xanthophyceae). *Journal of the Linnean Society of London, Botany*.
- Hirayama S, R. Ueda, Y. Ogushi, A. Hirano, Y. Samejima, KH. Nami, S. Kunito, 1998; Ethanol production from carbon dioxide by fermentative microalgae. In: Inui T, Anpo M, Izui K, Yanagida S, Yamaguchi T, editors. *Advances in Chemical Conversions for*

Mitigating Carbon Dioxide, *Studies in Surface Science and Catalysis 114, Elsevier Science BV 6* : 57-60.

- Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, Ghirardi M, Posewitz M, Seibert M, dan Darzins A. 2008. Microalgae triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J* 54: 621–639.
- Isnansteyo, A. dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton*. Yogyakarta: Kanisius.
- Kawaroe, M., Prariono, T., Sunuddin, A., Sari, S.W., dan Augustine, D., 2010. *Mikroalga: Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. Bogor: PT. Penerbit IPB Press.
- Kastanek F, S. Sabata, O. Solcova, Y. Maleterova, P. Kastanek, I. Branyikova, K. Kuthan & V. Zachleder. 2010. In-field experimental verification of cultivation of microalgae *Chlorella* sp. using the flue gas from a cogeneration unit as a source of carbon dioxide. *Waste Manag. & Res.* 11 : 961-966.
- Ketaren, S. 1986. *Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI Press.
- Knicker H, Hatcher PG. 2001. Sequestration of organic nitrogen in sapropel from Mangrove Lake, Bermuda. *Org Geochem* 32: 733-744.
- Lee, J. K., 2009. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Biosource Technology* 101: S75-S77.
- Lee, S.J., Yoon, B.D., Oh, H.M., 1998, Rapid Method for the Determination of Lipid from the Green Alga *Botryococcus braunii*. *Biotechnol Tech.*, 12: 553-556.
- Lubián, L. M., Montero. O., Moreno-Garrido. I., Huertas I. E., Sobrino C., González-del Valle, M., dan Parés, G.J. 2000. *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae) as source of commercially valuable pigments. *J. Appl. Phycol* 12: 249-255.
- Lupi FM, Fernandes HML, Sa Correia I, Novais JM. 1991. Temperature profiles of cellular growth exopolysaccharide synthesis by *Botryococcus braunii*. *J. Phycol.*, 3: 35.
- Melanie S., dan Diini F. 2014. *Pengaruh Perlakuan pH Dan Pemecahan Dinding Sel Menggunakan Sonicator Dan Microwave Pada Ekstraksi Minyak Mikroalga Jenis Botryococcus braunii*: Yogyakarta.

- Melanie S., Diini F. 2011. *Pengaruh Variasi pH Terhadap Perolehan Minyak dan Profil Asam Lemak Nannochloropsis sp.* : Yogyakarta.
- Metzger, P., Largeau, C., 2005. *Botryococcus braunii*: a rich source for hydrocarbons and related ether lipids. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66 : 486-496.
- Mironyuk VI, Einor LO . 1968. Oxygen exchange and pigment content in various forms of *Dunaliella salina* Teod. under conditions of increasing NaCl content. *Gidrobiol. J.* 4: 23-29.
- Müllner H, Zweytick D, Leber R, Turnowsky F, Daum G. .2004. Targeting of proteins involved in sterol biosynthesis to lipid particles of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim Biophys. Acta Press.*
- Ohama ,T. dan Miyachi, S. 1992. *Chlorella. Microalgae Biotechnology.* Cambridge. Univ Press.
- Pandey J.P., dan Amit Tiwari. 2010. Optimization of Biomass Production of *Spirulina maxima*. *J. Algal Biomass Utln.*, 1(2) : 20-32.
- Panggabean, M.G. L., Sutomo, Noerdjito, D. R., dan Afdal. 2010. Mikroalga Laut Sebagai Produsen Biodiesel. *Final Report.* Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jakarta.
- Panggabean, M.G. L. 2011. Fiksasi karbon dioksida pada mikroalga *Chlorella sp.* strain Ancol dan *Nannochloropsis oculata*. *J. Oseanologi dan Limnologi* : 309-321.
- Pranayogi, D. 2003. Studi Potensi Pigmen Klorofil dan Karotenoid dari Mikroalga Jenis Chlorophyceae. *Skripsi.* Universitas Lampung. Dipublikasikan: 59 hlm.
- Rao, A.R., Dayananda, C., Sarada, R., Shamala, T.R., Ravishankar, G.A. 2007. Effect of Salinity on Growth of Green Alga *Botryococcus braunii* and Its Constituents. *Bioresource Technology* 98: 560-564.
- Richmond, J.E. 1988. *Plankton and productivity in the oceans.* Oxford: Pergamon Press.
- Rodolfi L., Chini Zittelli G., Barsanti L., Rosati G., dan Tredici M. R. 2003. Growth Medium Recycling in *Nannochloropsis* Mass Cultivation. *Biomolecular Engineering* : 243-248.
- Romimohtarto, K. 2004. *Meroplankton Laut.* Jakarta: Djambatan.

- Salisbury, F.B., dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi tumbuhan*. Jilid 1 Terjemahan Diah R. Lukman dan Sumaryo. Bandung: ITB
- Shahzad, I., and Nisar, M.F. 2010. Algae as an alternative and renewable resource for biodiesel production. *The Biol. (E-Journal of Life Sciences)* 1 (1): 16-23.
- Sheehan, J., T. Dunahay, J. Benemann, P. Roessler. 1998. *A look Back at The U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae*. National Renewable Energy Laboratory: Colorado USA.
- Sudjiharno. 2007. *Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Seri Budidaya Laut No 9. Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut. Lampung.
- Tarigan, P. 1983. *Kimia Organik Bahan Makanan*. Penerbit Alumni. Bandung, Indonesia: 160 hlm.
- Trabi, M, G.M. Gubitz, W. Steiner, dan N. Foidl. 1998. Fermentation of *Jatropha curcas* Seeds and Press Cake with *Rhizopus oryzae*. In: *Biofuels and Industrial*. Product from *Jatropha curcas* Symposium : 206-210.
- Versteegh, G.J.M., dan P. Blokker. 2004. Resistant macromolecules of extant and fossil microalgae. *Phycol. Res* 52: 325-339.
- Zumdahl, S.A., dan Zumdahl, S.S., 2007. *Chemistry. Seventh edition*. New York, Houghton Mifflin Company : 350 hlm

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Pertumbuhan Mikroalga dan Kadar Minyak
Mikroalga.

Tabel 5. Data Kepadatan Sel *Botryococcus braunii*.

| Hari Ke- | B1 | | B2 | | B3 | | Rata-rata (mean) | |
|----------|-------------------------------|------|-------------------------------|------|-------------------------------|------|-------------------------------|------|
| | Sel/ml (x10 ⁴) | Log | Sel/ml (x10 ⁴) | Log | Sel/ml (x10 ⁴) | Log | Sel/ml (x10 ⁴) | Log |
| 1 | 100 | 6.00 | 100 | 6.00 | 100 | 6.00 | 100 | 6.00 |
| 2 | 120 | 6.07 | 121 | 6.08 | 125 | 6.09 | 122 | 6.08 |
| 3 | 137 | 6.13 | 149 | 6.17 | 147 | 6.16 | 145 | 6.16 |
| 4 | 144 | 6.15 | 155 | 6.19 | 153 | 6.18 | 151 | 6.17 |
| 5 | 151 | 6.17 | 161 | 6.20 | 159 | 6.20 | 157 | 6.19 |
| 6 | 158 | 6.19 | 180 | 6.25 | 167 | 6.22 | 169 | 6.22 |
| 7 | 165 | 6.21 | 187 | 6.27 | 170 | 6.23 | 174 | 6.23 |
| 8 | 183 | 6.26 | 197 | 6.29 | 178 | 6.25 | 186 | 6.26 |
| 9 | 202 | 6.30 | 247 | 6.39 | 202 | 6.30 | 217 | 6.33 |
| 10 | 220 | 6.34 | 297 | 6.47 | 226 | 6.35 | 248 | 6.38 |
| 11 | 239 | 6.37 | 345 | 6.53 | 250 | 6.39 | 278 | 6.43 |
| 12 | 357 | 6.55 | 397 | 6.59 | 305 | 6.48 | 355 | 6.54 |
| 13 | 361 | 6.55 | 494 | 6.69 | 345 | 6.53 | 400 | 6.59 |
| 14 | 402 | 6.60 | 512 | 6.70 | 449 | 6.65 | 454 | 6.65 |
| 15 | 436 | 6.63 | 529 | 6.72 | 458 | 6.66 | 475 | 6.67 |
| 16 | 435 | 6.63 | 530 | 6.72 | 459 | 6.66 | 475 | 6.67 |
| 17 | 436 | 6.63 | 520 | 6.71 | 460 | 6.66 | 472 | 6.67 |
| 18 | 430 | 6.63 | 519 | 6.71 | 414 | 6.62 | 454 | 6.65 |

Keterangan

B = *Botryococcus braunii*

Tabel 6. Data Kepadatan Sel *Nannochloropsis* sp.

| Hari Ke- | N1 | | N2 | | N3 | | Rata-rata (mean) | |
|----------|--------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|------|
| | Sel/ml ($\times 10^4$) | Log | Sel/ml ($\times 10^4$) | Log | Sel/ml ($\times 10^4$) | Log | Sel/ml ($\times 10^4$) | Log |
| 1 | 100 | 6.00 | 100 | 6.00 | 100 | 6.00 | 100 | 6.00 |
| 2 | 115 | 6.06 | 116 | 6.01 | 114 | 6.05 | 115 | 6.04 |
| 3 | 118 | 6.07 | 123 | 6.08 | 120 | 6.07 | 120 | 6.07 |
| 4 | 120 | 6.03 | 128 | 6.03 | 121 | 6.05 | 123 | 6.04 |
| 5 | 125 | 6.09 | 134 | 6.12 | 125 | 6.09 | 128 | 6.10 |
| 6 | 132 | 6.12 | 140 | 6.14 | 130 | 6.11 | 134 | 6.12 |
| 7 | 141 | 6.14 | 145 | 6.16 | 134 | 6.12 | 140 | 6.14 |
| 8 | 145 | 6.16 | 146 | 6.16 | 141 | 6.15 | 144 | 6.16 |
| 9 | 150 | 6.17 | 168 | 6.22 | 153 | 6.18 | 157 | 6.19 |
| 10 | 161 | 6.20 | 198 | 6.37 | 160 | 6.20 | 173 | 6.26 |
| 11 | 169 | 6.22 | 215 | 6.33 | 159 | 6.20 | 181 | 6.25 |
| 12 | 200 | 6.30 | 310 | 6.49 | 180 | 6.25 | 230 | 6.35 |
| 13 | 227 | 6.35 | 437 | 6.64 | 152 | 6.18 | 272 | 6.39 |
| 14 | 233 | 6.36 | 514 | 6.71 | 157 | 6.20 | 301 | 6.42 |
| 15 | 295 | 6.46 | 536 | 6.72 | 198 | 6.29 | 343 | 6.49 |
| 16 | 393 | 6.59 | 554 | 6.74 | 214 | 6.33 | 387 | 6.55 |
| 17 | 479 | 6.68 | 580 | 6.76 | 231 | 6.36 | 430 | 6.60 |
| 18 | 413 | 6.61 | 736 | 6.86 | 167 | 6.22 | 439 | 6.56 |

Keterangan

N = *Nannochloropsis* sp.

Tabel 7. Data Minyak Hasil Ekstraksi *Botryococcus braunii* & *Nannochloropsis* sp.

| pH 9 | Berat Botol (gr) (a) | Sampel Biomassa (gr) (c) | BB + Sampel Kering (gr) (b) | b-a | Kadar Minyak dengan kadar air 5 % |
|-------------|----------------------|--------------------------|-----------------------------|------|-----------------------------------|
| B19 | 147.75 | 30 | 147.76 | 0.01 | 0.31 |
| B29 | 148.43 | 30 | 148.45 | 0.02 | 0.63 |
| B39 | 150.02 | 30 | 150.05 | 0.03 | 0.92 |
| Mean | | | | | 0.62 |
| N19 | 151.29 | 30 | 151.31 | 0.02 | 0.61 |
| N29 | 71.32 | 30 | 71.34 | 0.02 | 0.53 |
| N39 | 100.83 | 30 | 100.85 | 0.02 | 0.41 |
| Mean | | | | | 0.51 |
| pH 7 | Berat Botol (gr) (a) | Sampel Biomassa (gr) (c) | BB + Sampel Kering (gr) (b) | b-a | Kadar Minyak dengan kadar air 5 % |
| B17 | 150.16 | 30 | 150.21 | 0.05 | 1.58 |
| B27 | 147.49 | 30 | 147.53 | 0.04 | 1.19 |
| B37 | 153.15 | 30 | 153.2 | 0.05 | 1.36 |
| Mean | | | | | 1.37 |
| N17 | 155.19 | 30 | 155.21 | 0.02 | 0.66 |
| N27 | 150.7 | 30 | 150.73 | 0.03 | 0.85 |
| N37 | 88.65 | 30 | 88.69 | 0.04 | 1.31 |
| Mean | | | | | 0.94 |
| pH 5 | Berat Botol (gr) (a) | Sampel Biomassa (gr) (c) | BB + Sampel Kering (gr) (b) | b-a | Kadar Minyak dengan kadar air 5 % |
| B15 | 147.62 | 30 | 147.69 | 0.07 | 2.08 |
| B25 | 150.52 | 30 | 150.58 | 0.06 | 1.62 |
| B35 | 148.19 | 30 | 148.23 | 0.04 | 1.08 |
| Mean | | | | | 1.59 |
| N15 | 152.22 | 30 | 152.3 | 0.08 | 2.49 |
| N25 | 150.98 | 30 | 151.03 | 0.05 | 1.23 |
| N35 | 125.14 | 30 | 125.17 | 0.03 | 0.77 |
| Mean | | | | | 1.49 |

Tabel 8. Data Kadar Air *Botryococcus braunii* & *Nannochloropsis* sp.

| Data Kadar Air <i>Botryococcus braunii</i> & <i>Nannochloropsis</i> sp. | | | | | | |
|--|-------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------|---------------|----------------------|
| pH 9 | Berat Botol (gr) | BB+Sampel Biomassa (gr) (a) | BB + Sampel Kering (gr) (b) | a-b (gr) | Sampel | Kadar Air (%) |
| B19 | 49.779 | 50.779 | 49.878 | 0.901 | 1.00 | 90.1 |
| B29 | 49.870 | 50.870 | 49.968 | 0.902 | 1.00 | 90.2 |
| B39 | 49.422 | 50.422 | 49.525 | 0.897 | 1.00 | 89.7 |
| Mean | | | | | | 90.0 |
| N19 | 49.904 | 50.904 | 50.006 | 0.898 | 1.00 | 89.8 |
| N29 | 50.322 | 51.322 | 50.439 | 0.883 | 1.00 | 88.3 |
| N39 | 49.884 | 50.884 | 50.035 | 0.849 | 1.00 | 84.9 |
| Mean | | | | | | 87.7 |
| pH 7 | Berat Botol (gr) | BB+Sampel Biomassa (gr) (a) | BB + Sampel Kering (gr) (b) | a-b (gr) | Sampel | Kadar Air (%) |
| B17 | 49.881 | 50.881 | 49.977 | 0.904 | 1.00 | 90.4 |
| B27 | 50.025 | 51.025 | 50.128 | 0.897 | 1.00 | 89.7 |
| B37 | 50.164 | 51.164 | 50.275 | 0.889 | 1.00 | 88.9 |
| Mean | | | | | | 89.6 |
| N17 | 50.215 | 51.215 | 50.310 | 0.905 | 1.00 | 90.5 |
| N27 | 50.243 | 51.243 | 50.354 | 0.889 | 1.00 | 88.9 |
| N37 | 49.902 | 50.902 | 49.996 | 0.906 | 1.00 | 90.6 |
| Mean | | | | | | 90.0 |
| pH 5 | Berat Botol (gr) | BB+Sampel Biomassa (gr) (a) | BB + Sampel Kering (gr) (b) | a-b (gr) | Sampel | Kadar Air (%) |
| B15 | 50.459 | 51.459 | 50.564 | 0.895 | 1.00 | 89.5 |
| B25 | 49.952 | 50.952 | 50.069 | 0.883 | 1.00 | 88.3 |
| B35 | 50.168 | 51.168 | 50.282 | 0.886 | 1.00 | 88.6 |
| Mean | | | | | | 88.8 |
| N15 | 50.443 | 51.443 | 50.542 | 0.901 | 1.00 | 90.1 |
| N25 | 50.217 | 51.217 | 50.340 | 0.877 | 1.00 | 87.7 |
| N35 | 49.888 | 50.888 | 50.010 | 0.878 | 1.00 | 87.8 |
| Mean | | | | | | 88.5 |

Lampiran 2. Uji pertumbuhan mikroalga menggunakan uji t

Hipotesis

H_0 : Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kepadatan sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

H_1 : Terdapat perbedaan yang signifikan antara kepadatan sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

Kriteria Uji

Jika nilai Sig. > α (0,05) maka, H_0 diterima (tidak terdapat perbedaan signifikan)

Jika nilai Sig. < α (0,05) maka, H_0 ditolak (terdapat perbedaan signifikan)

| | | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|---------------|-----------------------------|-------|------------------------------|------|----------------|-----------------|----------------------|---|-------|
| | | | t | df | Sig (2-tailed) | Mean Difference | Std.Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | Lower | Upper |
| Kepadatan Sel | Equal variances assumed | 1.426 | 34 | .163 | 61.28889 | 43.06436 | -26.12842 | 148.90620 | |
| | Equal variances not assumed | 1.426 | 32.791 | .163 | 61,38889 | 43,06436 | -26.24747 | 149.02534 | |

Berdasarkan hasil diatas diketahui nilai signifikansi (p) adalah $0,163 > 0,05$ jadi terima H_0 artinya tidak terdapat perbedaan kepadatan sel *Botryococcus braunii* & *Nannochloropsis* sp.

Lampiran 3. Uji Faktor pH dan Jenis Mikroalga Terhadap Kadar Minyak Menggunakan Anova Dua Arah dengan dengan software statistik SPSS 16.0

- **Hipotesis**

- a. Faktor Perlakuan Perbedaan pH

H_0 : Tidak ada pengaruh faktor pH pada ekstraksi menggunakan *microwave* terhadap minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

H_1 : Ada pengaruh faktor pH pada ekstraksi menggunakan *microwave* terhadap minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.

- b. Faktor Jenis Mikroalga

H_0 : Tidak terdapat perbedaan minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada ekstraksi menggunakan *microwave*.

H_1 : Terdapat perbedaan minyak hasil ekstraksi *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada ekstraksi menggunakan *microwave*.

- **Kriteria Uji**

Jika $\text{Sig.} > \alpha$ (0,05) maka, H_0 diterima (tidak terdapat pengaruh signifikan)

Jika $\text{Sig.} < \alpha$ (0,05) maka, H_0 ditolak (terdapat pengaruh signifikan)

Deskriptif Data

Kadar Minyak

| Spesies | pH | Rerata | Standar Deviasi | Standar Eror |
|-----------------------------|-------|--------|-----------------|--------------|
| <i>Botryococcus braunii</i> | pH 5 | 1.5933 | .5005 | .2889 |
| | pH 7 | 1.3767 | .1955 | .1128 |
| | pH 9 | .6200 | .3051 | .1761 |
| | Total | 1.1967 | .5397 | .5778 |
| <i>Nannochloropsis</i> sp. | pH 5 | 1.4967 | .2904 | .5141 |
| | pH 7 | .9400 | .3342 | .1929 |
| | pH 9 | .5167 | .1006 | .0581 |
| | Total | .9844 | .6402 | .2550 |

Uji Anova Dua Arah – Kadar Minyak

| | df | Mean Square | F | Sig. |
|-----------------|----|-------------|-------|------|
| Jenis Mikroalga | 1 | .203 | 1.048 | .323 |
| pH | 2 | 1.451 | 7.508 | .006 |
| Error | 14 | .193 | | |

Taraf signifikansi yang digunakan yaitu 0,05. Berdasarkan hasil diatas diketahui nilai signifikansi (p) untuk faktor pH adalah $0,006 < 0,05$ jadi H_0 ditolak yaitu terdapat pengaruh pH pada ekstraksi menggunakan *microwave* terhadap minyak hasil ekstraksi mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. Nilai (p) pada faktor jenis mikroalga $0,323 > 0,05$ jadi H_0 diterima yaitu tidak terdapat perbedaan minyak hasil ekstraksi antara *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. pada ekstraksi menggunakan *microwave*.

Lampiran 4. Hasil Uji Profil Asam Lemak Menggunakan Uji GC-FID

Botryococcus braunii

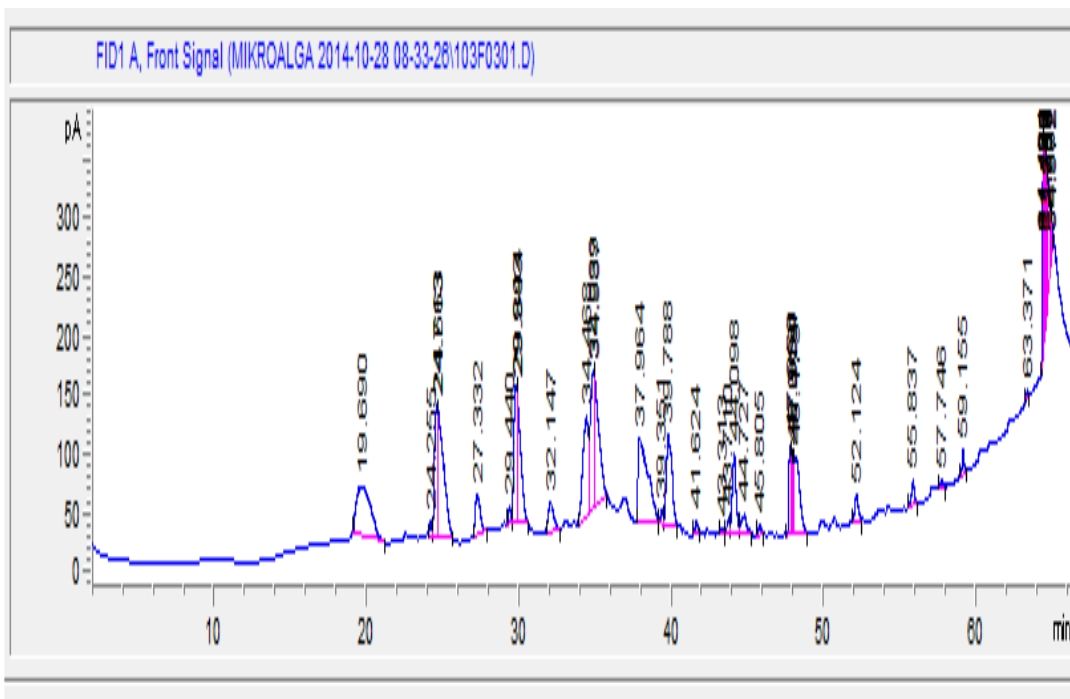
Performance Report



Agilent Technologies

| | | | |
|-------------------------|---|--------------------------|----------|
| Data file: | C:\CHEM32\1\DATA\MIKROALGA 2014-10-28 08-33-26\103F0301.D | Sample type: | Sample |
| Sample name: | Botrycoccus braunii | Location: | Vial 103 |
| Description: | | Injection: | 1 of 1 |
| Sample amount: | 0.000 | Injection volume: | 1.000 |
| Instrument: | GC Agilent 7890A | Acq. operator: | SYSTEM |
| Injection date: | 10/28/2014 11:02:59 AM | | |
| Acq. method: | FAME MIX DBWAX.M | | |
| Analysis method: | FAME MIX | | |
| Last changed: | 10/28/2014 10:58:26 AM | | |

| | | | |
|---------------------|--------------------|----------------------|---------|
| Column name: | Fatty Acids DB-WAX | Length: | 30.0 mm |
| Serial #: | 2680.42269 | # Injections: | 295 |
| Diameter: | 320.00 mm | | |
| Dead volume: | | | |



Nannochloropsis sp.

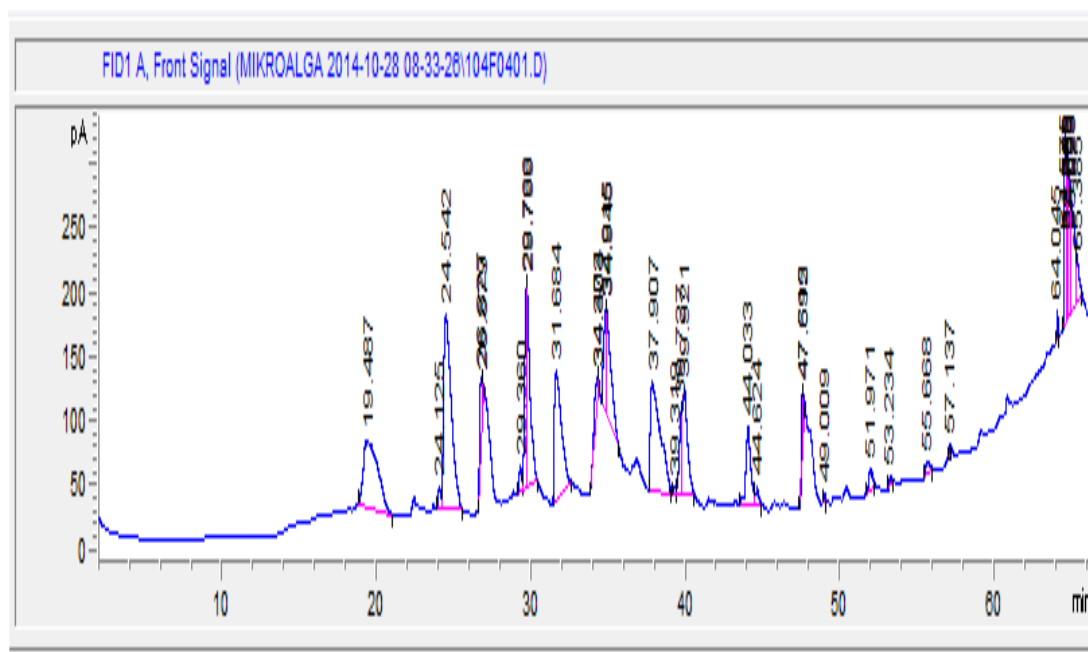
Performance Report



Agilent Technologies

| | | | |
|-------------------------|---|--------------------------|----------|
| Data file: | C:\CHEM32\1\DATA\MIKROALGA 2014-10-28 08-33-26\104F0401.D | Sample type: | Sample |
| Sample name: | Nannochloropsis sp. | Location: | Vial 104 |
| Description: | | Injection: | 1 of 1 |
| Sample amount: | 0.000 | Injection volume: | 1.000 |
| Instrument: | GC Agilent 7890A | Acq. operator: | SYSTEM |
| Injection date: | 10/28/2014 12:17:07 PM | | |
| Acq. method: | FAME MIX DBWAX.M | | |
| Analysis method: | FAME MIX | | |
| Last changed: | 10/28/2014 10:58:26 AM | | |

| | | | |
|---------------------|--------------------|----------------------|---------|
| Column name: | Fatty Acids DB-WAX | Length: | 30.0 mm |
| Serial #: | 2680.42269 | # Injections: | 296 |
| Diameter: | 320.00 mm | | |
| Dead volume: | | | |



Lampiran 5. Dokumentasi Kegiatan dan Alat Penelitian



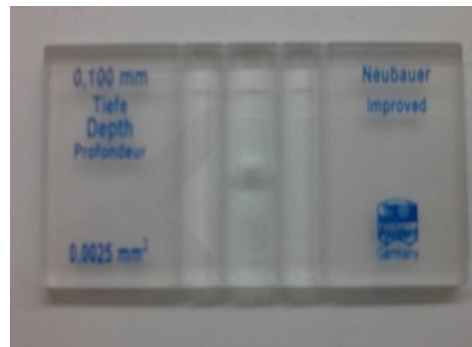
Gambar 5.1 Stok Mikroalga



Gambar 5.2 Bahan Pupuk Conwy



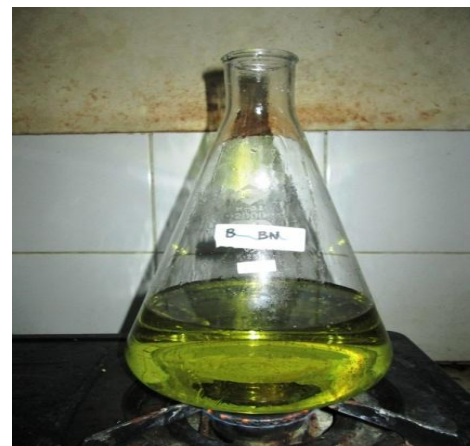
Gambar 5.3 Refraktometer



Gambar 5.4 Haemacytometer



Gambar 5.5 Penghitungan Sel Mikroalga



Gambar 5.6 Pembuatan Pupuk Conwy



Gambar 5.7 *Sentrifuge*



Gambar 5.8 *Kultivasi Outdoor*



Gambar 5.9 *Kultivasi Botryococcus braunii*



Gambar 5.10 *Kultivasi Nannochloropsis sp.*



Gambar 5. 11 *Pemanenan Nannochloropsis sp.*



Gambar 5.12 *Pemanenan Botryococcus braunii*



Gambar 5.13 Pemecahan dinding sel dengan *microwave*



Gambar 5.14 Hasil Sentrifius Sampel



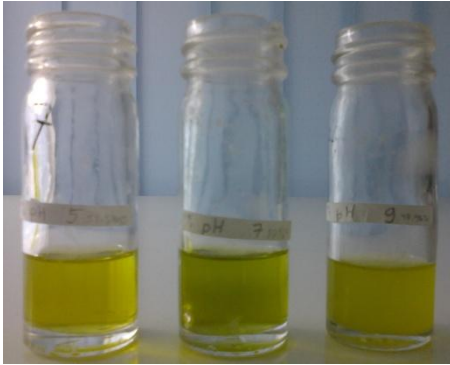
Gambar 5.15 Proses Maserasi Sampel



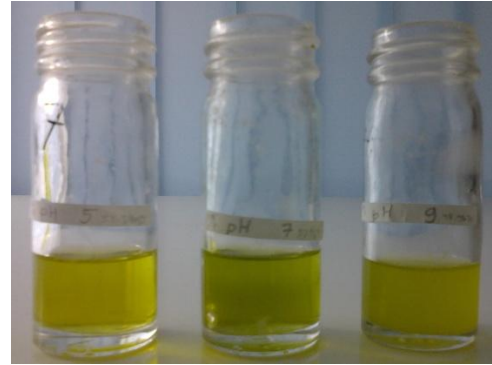
Gambar 5.16 Minyak *Botryococcus braunii* + n-heksana



Gambar 5.17 Minyak *Nannochloropsis* sp. + n-heksana



Gambar 5.18 Rendemen Minyak *Botryococcus braunii*



Gambar 5.18 Rendemen Minyak *Nannochloropsis* sp.

SURAT PENELITIAN



*Building
Future
Leaders*

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
Kampus B, Jl. Pemuda No. 10 Rawamangun Jakarta 13220
Telepon : (021) 4894909 Fax. : (021) 4894909 E-mail : dekanfmipa@unj.ac.id

Nomor : 106/6.FMIPA/DT/2014
Hal : Permohonan ijin Melaksanakan
Observasi Penelitian Tentang Mikroalga

12 Februari 2014

Yth. Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan
Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan
Jl. KS. Tubun Petamburan VI Jakarta
di
Jakarta.

Dengan hormat,

Sehubungan dengan persyaratan untuk mendapatkan gelar Sarjana pada Institusi kami maka dengan ini kami memohon kepada Bapak/Ibu Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, untuk memberi kesempatan kepada mahasiswa kami atas nama:

| No | Nama | No Reg. | Judul |
|----|------------------|------------|---|
| 1. | Musdalifah | 3425102445 | Konsultasi Judul dengan Pembimbing di Tempat Penelitian dan Langkah-Langkah Selanjutnya |
| 2. | Monika Rafaelina | 3425102451 | |

Untuk melaksanakan Penelitian agar mendapatkan kompetensi yang harus dimiliki sebagai Sarjana nantinya. Adapun penelitian tersebut akan dilaksanakan pada Bulan Februari 2014.

Merupakan suatu kehormatan bagi kami atas kesempatan yang diberikan semoga hal ini bisa memberikan manfaat bagi kedua pihak.

Demikian permohonan ini kami sampaikan atas perhatian dan kerjasamanya yang baik diucapkan terima kasih.


 Pembantu Dekan I
 Dr. Mukti Hesti, M.Si.
 NIP. 196405111989032001

Tembusan:

1. Dekan
2. Kaprodi Biologi
3. Kasubag Pendidikan
4. Mahasiswa ybs.

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya yang bertanda tangan dibawah ini, mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta:

Nama : Musdalifah
No. Registrasi : 3425102445
Jurusan : Biologi
Prodi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang saya buat dengan judul “Kultivasi dan Ekstraksi Minyak Mikroalga Dari *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp.” adalah:

1. Dibuat dan diselesaikan oleh saya sendiri, berdasarkan data yang diperoleh pada bulan Juni - Agustus 2014.
2. Bukan merupakan duplikat skripsi yang telah dibuat oleh orang lain atau jiplakan karya tulis orang lain dan bukan terjemahan karya tulis orang lain.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan saya bersedia menanggung segala akibat yang timbul jika pernyataan saya ini tidak benar.

Jakarta, Januari 2015

Yang membuat
pernyataan



Musdalifah

RIWAYAT HIDUP



MUSDALIFAH. Dilahirkan di Jakarta, 11 Februari 1992 dari Ayah bernama Alidin dan Ibu bernama Djuriah. Penulis merupakan anak keenam dari enam bersaudara. Pendidikan formal yang pernah ditempuh oleh penulis, yaitu: SDN Cempaka Putih Timur 05 Pagi (1998-2004), SMP Negeri 71 Jakarta (2004-2007), dan SMA Negeri 30 Jakarta (2007-2010). Tahun 2010 penulis diterima di Universitas Negeri Jakarta melalui jalur Seleksi Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama perkuliahan, penulis pernah mengikuti berbagai kegiatan seperti CABI (Cakrawala Biologi), SIMBOL (Studi Ilmiah Biologi), KKL (Kuliah Kerja Lapangan) di Cagar Alam Batu Kahu, Bali tahun 2013, serta mengikuti pelatihan “Training on Coral Ecological Method” pada tahun 2011. Penulis pernah terdaftar sebagai anggota organisasi *Community Marine of Conservation (CMC) Acropora*. Penulis juga pernah berkesempatan melakukan Praktek Kerja Lapangan di Laboratorium Bioteknologi, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan pada tahun 2013.