

KULTIVASI DAN EKSTRAKSI MINYAK DARI MIKROALGA *Botryococcus braunii* DAN *Nannochloropsis* sp.

Cultivation and Oil Extraction from Microalgae Botryococcus braunii and Nannochloropsis sp.

MUSDALIFAH*, YOSWITA RUSTAM & SRI AMINI

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Jakarta (UNJ). Jl. Pemuda No. 10 Rawamangun, Jakarta Timur. 13220. Indonesia.

*Email: musdaliefha.1102@gmail.com

Tanggal publikasi online:

ABSTRACT

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.

PENDAHULUAN

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 mengoptimalkan minyak hasil ekstraksi.

METODOLOGI PENELITIAN

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.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL).

Cara Kerja Penelitian

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, NaNO₃, NaHPO₄ 2H₂O, Na-EDTA, H₃BO₄, FeCl₃.6H₂O, MnCl₂.4H₂O, dan NaOH. Adapun langkah-langkah kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut:

a. Pembuatan Pupuk Conwy

Larutan A dibuat dengan melarutkan 100 g NaNO₃, 20 g NaHPO₄.2H₂O, 45 g Na-EDTA, 33,6 g H₃BO₃, 0,78 g FeCl₃.6H₂O, 0,36 g MnCl₂.4H₂O dalam 1000 ml akuades dengan cara dipanaskan hingga mendidih dan tercampur merata. Pembuatan larutan B dilakukan dengan melarutkan 2,1 g ZnCl₂, 2,0 g CoCl₂.6H₂O, 0,9 g CuSO₄.5H₂O dan 0,9 g (NH₄)₂MoO₄.4H₂O, dalam 100 ml akuades 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. Pengeaerasian dilakukan selama ± 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 10⁶ sel/ml. Kultivasi dilakukan secara outdoor dengan pencahayaan menggunakan cahaya matahari serta pengeaerasian secara terus-menerus.

c. Perhitungan Kepadatan Sel dan Laju Pertumbuhan *B. 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) :

$$k = \frac{\log_{10} \frac{N}{N_0}}{T - T_0} \times 3.32$$

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) :

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

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 µl 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.

HASIL PENELITIAN

Pertumbuhan Mikroalga

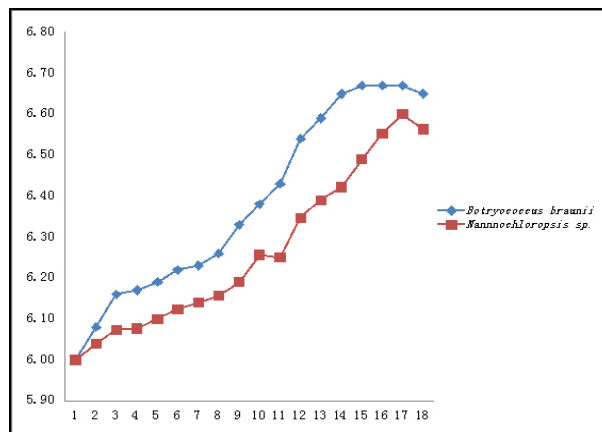
Kultivasi mikroalga dilakukan di luar ruangan (outdoor) pada media air dengan salinitas 25 ppt sebanyak 50 liter. Penghitungan kepadatan sel untuk mengetahui pertumbuhan mikroalga. Kepadatan sel awal *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis sp.* adalah 106 sel/ml.

a. Kepadatan Sel Botryococcus braunii dan Nannochloropsis sp.

Kepadatan sel merupakan jumlah sel mikroalga yang dinyatakan dalam log sel/ml. Gambar 1. memperlihatkan kurva kepadatan sel mikroalga pada *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis sp.* Peningkatan kepadatan sel terjadi sejak hari pertama kultivasi. (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).



Gambar 1. Kurva Kepadatan Sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis sp.* selama 18 hari kultivasi.

Kandungan Minyak Mikroalga

a. Kadar Minyak 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

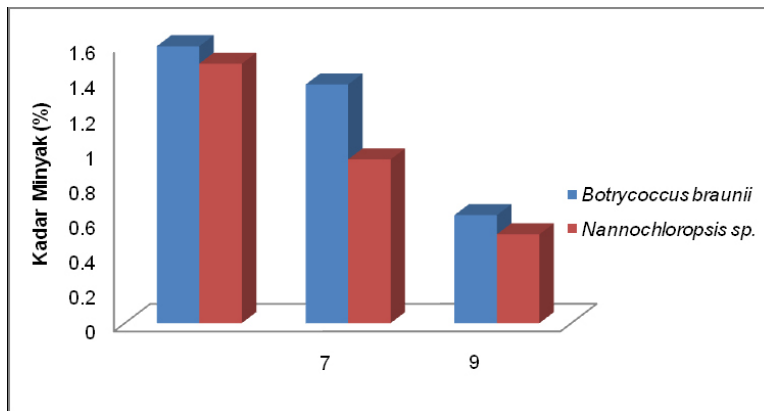
minyak *Botryococcus braunii* tertinggi terjadi pada pH 5 dan terendah pada pH 9 (Gambar 2). Hasil rerata kadar minyak dari ekstraksi 25 gram biomassa kering *Nannochloropsis sp.* dengan tingkat keasaman (pH) 5, 7, dan 9 berturut-turut adalah 1,49 % ; 0,94% ; dan 0,51%. Kadar minyak *Nannochloropsis sp.* tertinggi terjadi pada pH 5 dan terendah pada pH 9 (Gambar 2).

Tabel 1. Parameter lingkungan media kultivasi

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

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.



Gambar 2. Kadar Minyak Hasil Ekstraksi Botryococcus braunii dan Nannochloropsis sp.

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). 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).

PEMBAHASAN

Pertumbuhan Mikroalga

a. Kepadatan Sel Mikroalga

Pertumbuhan dari organisme hidup didefinisikan sebagai pertambahan 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 1.

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 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	
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	
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	

Gambar 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. 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.

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	53,960	0,574	Asam Lemak Tak Jenuh
Eicosapentaenoic acid methyl ester (EPA)			
cis-13,16-docosadienoic acid methyl ester; methyl nervonate	315,814	3,357	Asam Lemak Tak Jenuh
Total	9408,834	100	

b. Parameter Lingkungan Media Selama Kultivasi

Berdasarkan hasil uji t data kepadatan sel *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis* sp. 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 fotosintesis yang berguna untuk pembentukan senyawa karbon organik. Menurut Sujiharno (2007), *Nannochloropsis* sp. dapat tumbuh baik dengan intensitas cahaya

1.000-10.000 lux.

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 sintesa 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.* Gambar 2 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 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 berpotensi 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.

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.

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 Ultratrayectina*. 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 Wiconsin 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 Psychology*. 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., Prartono, 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. Maletserova, 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.