

**KADAR LIPIDA *Scenedesmus* sp PADA KONDISI MIKSOTROF
DAN PENAMBAHAN SUMBER KARBON DARI
HIDROLISAT PATI SINGKONG**

Mohamad Agus Salim
Masagus18@yahoo.com

Abstract

Currently microalgae received great attention since it can be used as a source of raw material for biofuel production that promises to be able to replace fossil fuels. Microalgae contain lipids that can be converted into biodiesel as a biofuel. The low content of lipids in microalgae cells is a barrier for producing biodiesel from microalgae cells on a large scale or commercial. Culture techniques microalgae *Scenedesmus* sp under mixotrophic conditions by providing a source of organic carbon in the form of cassava starch hydrolyzate (CSH) is expected to increase biomass and high lipid content. The purpose of this study was to determine the effect of CSH that can promote the growth and lipid content of microalgae *Scenedesmus* sp in culture with mixotrophic conditions. Experiment using a completely randomized design (CRD) with ten replications. Treatment consisted of four concentrations of CSH : 0 (control), 5, 10, and 15 gL⁻¹. The results showed cell density and cell growth rate of *Scenedesmus* sp highest concentration achieved in the treatment of CSH 5 g.L⁻¹, at 1.93 X 10⁶ sel.ml⁻¹ which occurred on day 9 and 0.43 sel.hari⁻¹ respectively. While the highest biomass concentration achieved in CSH 5 gL⁻¹ at 1.32 gL⁻¹ and the highest lipid content achieved by treatment of CSH concentration of 10 gL⁻¹ of 19.5 %. Sources of organic carbon in the form of CSH is able to increase the biomass and lipid content of cells cultured *Scenedesmus* sp under mixotrophic conditions.

Keywords : *Scenedesmus* sp , cassava starch hydrolyzate , lipid content, mixotrophic .

PENDAHULUAN

Dengan perkembangan ekonomi dunia yang terus meningkat, maka konsumsi energi global meningkat pula. Penggunaan bahan bakar fosil yang terus menerus pada saat ini tentunya akan meningkatkan pula apa yang disebut dengan gas rumah kaca, selanjutnya akan terjadi pemanasan global dan perubahan iklim dunia. Semua itu akan sangat mengganggu stabilitas ekologi, ketahanan pangan dan tentunya akan menambah jumlah orang yang miskin di dunia (Christenson dan Sims, 2011). Saat ini mikroalga mendapat perhatian besar karena dapat menjadi sumber bahan baku bagi produksi bahan bakar hayati yang menjanjikan untuk dapat menggantikan bahan bakar fosil. Mikroalga memiliki kandungan lipida yang tinggi yang dapat dijadikan biodisel sebagai bahan bakar hayati.

Harga minyak bumi terus meningkat menyebabkan perhatian baru tertuju pada produksi besar besaran

biodisel (Chen, 2011). Biodisel yang diproduksi dari mikroalga merupakan bahan bakar hayati yang menjanjikan karena bersifat lestari dan dapat dibiodegradasi (Chen dan Terry, 2011). Hasil biodisel dari mikroalga ini tergantung pada dua faktor yaitu jumlah biomassa dan kadar lipida dari setiap sel (Chisti, 2008).

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia dengan banyak perairan baik laut maupun air tawar yang kaya akan berbagai jenis mikroalga, namun belum tersedia banyak informasi mengenai potensi mikroalga sebagai penghasil lipida. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi mikroalga lokal Indonesia sebagai penghasil bahan bakar hayati, terutama berkaitan dengan masalah lipida yang dikandungnya. Berdasarkan beberapa penelitian Sheehan *et al.*, (1998) menyebutkan bahwa mikroalga mempunyai kemampuan yang sangat besar untuk menghasilkan lipida kurang lebih 60% dari berat kering. Menurut Christi (2007), total kandungan lipida dalam

mikroalga dapat bervariasi dari sekitar 1 – 85 % dari berat kering (produktivitas lipida), dengan nilai yang lebih tinggi dari 40% yang biasanya dicapai dalam kondisi stres. Hal ini tergantung dari jenis mikroalga, rata-rata pertumbuhan dan kondisi kultur mikroalga

Pertumbuhan dan perkembangan mikroalga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan kandungan nutrisi dalam media tumbuhnya. Kemampuan beberapa jenis mikroalga untuk merubah kandungan nutrisi akibat pengaruh lingkungan dapat dikelompokkan dalam tiga bentuk yaitu autotrof, heterotrof dan miksotrof (Richmond dan Hu, 2013). Dalam kultur autotrofik, mikroalga mempunyai pigmen klorofil yang dapat melakukan fotosintesis dan hidup dari nutrien anorganik serta menghasilkan zat-zat organik dari bantuan H_2O , CO_2 dan sinar matahari untuk menghasilkan energi (Pranayogi, 2003). Bentuk heterotrof memperoleh unsur-unsur dan kimia energi yang diperlukan untuk proses metabolisme dari senyawa organik

yang disintesis oleh organisme (Richmond dan Hu, 2013). Sedangkan pada kultur miksotrof, mikroalga menggunakan keduanya yakni fotosintesis dan konsumsi nutrisi organik (Crane, *et al.*, 2010).

Dalam mempertimbangkan kendala keuangan dan energi lingkungan, penelitian telah memulai di bidang kultur mikroalga miksotrofik. Alga dapat tumbuh secara signifikan lebih padat, memungkinkan hasil yang lebih besar, karena cahaya tidak perlu menembus alga. Biaya kultur lebih efisien karena tidak menuntut persyaratan ruang dan pemeliharaan. Sementara kultur pertumbuhan mikroalga autotrofik dinilai memiliki beberapa kelemahan. Reaktor mikroalga autotrof harus memiliki permukaan yang luas dan kedalaman yang dangkal agar mendapatkan paparan cahaya menjadi dekat dengan permukaan sumber cahaya. Persyaratan ruang dan kebutuhan cahaya konstan membuat kultur mikroalga autotrofik menjadi suatu proses yang mahal.

Ketika proses fotosintesis dihapus yakni pada keadaan heterotrof, mikroalga mendapatkan energi dari senyawa organik yang mengubah gula menjadi lipida (Garcia *et al.*, 2010). Menurut Kong *et al.* (2012), penggunaan glukosa sebagai sumber energi alternatif secara signifikan lebih murah daripada menyediakan cahaya bagi mikroalga. Glukosa adalah substrat karbon kompleks yang dapat menghasilkan biomassa dan komponen biokimia pada mikroalga seperti lipida. Glukosa digunakan sebagai sumber karbon yang dapat meningkatkan pertumbuhan sel dan produktivitas biofuel dari mikroalga menjadi lebih efisien (Kong *et al.*, 2012). Salah satu sumber karbon yang digunakan sebagai nutrisi mikroalga adalah dengan memanfaatkan hasil hidrolisis pati berupa glukosa.

Kadar lipida yang tinggi untuk mengembangkan produksi biodisel telah dilakukan oleh para peneliti dengan kultur mikсотrof (Ceron *et al.* 2005). Kondisi mikсотrof pada suatu kultur dicirikan

dengan sumber energi dari cahaya dan sumber karbon bukan dari karbon anorganik (CO₂) melainkan dari karbon organik. Dengan kultur mikсотrof, banyak dari spesies mikroalga mampu mengakumulasi lipid dalam jumlah yang besar, karena mikroalga ini selain melaksanakan proses fotosintesis juga mampu menggunakan sumber karbon organik yang ada.

Pengaruh sumber karbon organik pada pertumbuhan dan kadar lipida telah diketahui untuk beberapa spesies mikroalga (Ceron *et al.* 2005). Kultur mikroalga pada kondisi mikсотrof dengan penambahan karbon organik mampu meningkatkan biomasa, sehingga menjadi alternatif dari kultur fotoautotrof yang konvensional (Fernández *et al.*, 2004). Pertumbuhan mikroalga pada kondisi mikсотrof memerlukan intensitas cahaya yang relatif lebih rendah sehingga tentunya akan mengurangi biaya penggunaan energi. Begitupun produktivitas yang tinggi dari kultur mikroalga pada kondisi mikсотrof

diyakini berasal dari terjadinya pengaruh sinergis antara penggunaan cahaya dan sumber karbon organik. Maka penggunaan sumber karbon organik pada kultur mikroalga harus memenuhi beberapa kriteria diantaranya, harus murah, mudah disterilkan, mampu memacu pertumbuhan mikroalga dan tentunya harus dapat menunjang sintesis lipida di dalam sel mikroalga (Cerón, *et al.* 2000).

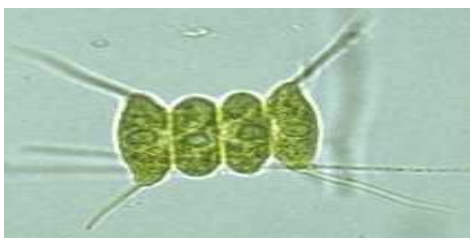
Diperkirakan biaya untuk sumber karbon organik ini dapat mencapai 80% dari biaya total penggunaan medium untuk kultur mikroalga pada kondisi mikсотrof (Bhatnagar *et al.*, 2011). Sumber karbon organik yang lebih murah harus ditemukan agar mampu menurunkan biaya kultur mikroalga pada kondisi mikсотrof (Liang *et al.*, 2009). Pilihan sumber karbon organik jatuh pada hidrolisat pati singkong, karena bahan baku singkong di Indonesia mudah diperoleh dan relatif murah serta mampu meningkatkan biomasa dan kadar lipida pada penelitian sebelumnya yang dikerjakan oleh penulis pada kultur

mikroalga *Scenedesmus sp* pada kondisi heterotrof (Salim, 2013)

Menurut literatur beberapa jenis mikroalga menunjukkan hasil yang lebih tinggi dan mampu melaksanakan metabolismenya dengan baik bila dikultur pada kondisi mikсотrof (Chojnacka dan Marquez-Rocha 2004). Kay (1991) mencatat bahwa *Chlorella sorokiniana* merupakan mikroalga uniseluler *nonmotile* air tawar, mampu mengakumulasi kadar lipida dan protein yang tinggi pada kultur dengan kondisi mikсотrof. Begitupun (Wan *et al.*, 2011) menganalisis pertumbuhan, kadar lipida dan tingkat ekspresi yang melibatkan jalur biosintesis *Chlorella sorokiniana* yang dipengaruhi oleh kondisi mikсотrof dan menghasilkan kadar lipida yang tinggi mencapai 51% (Ngagkham *et al.*, 2012). *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* memiliki kemampuan untuk menggunakan zat organik baik pada kondisi terang maupun gelap (Combres *et al.*, 1994). Pada pengamatan penulis sebelumnya terlihat

bahwa *Scenedesmus sp* mampu meningkatkan pertumbuhan dan kadar lipidanya pada kondisi heterotrof dan autotrof, dengan pemberian hidrolisat pati singkong (Salim, 2013).

Scenedesmus sp. merupakan salah satu mikroalga yang belum banyak diketahui potensinya, termasuk potensinya untuk menghasilkan biodiesel sehingga perlu dikaji dalam suatu penelitian. *Scenedesmus sp.* termasuk pada alga hijau (Chlorophyta) yang bentuknya panjang lurus dan sedikit lengkung. Besarnya sel dengan diameter sekitar 1 - 2 μm dan panjangnya sekitar 40 μm , berkelompok membentuk koloni yang terdiri dari 4 sampai 32 sel (Gambar 1).



Gambar 1. *Scenedesmus sp.*

Hidrolisat pati singkong diperoleh dengan cara menghidrolisis pati singkong

menggunakan enzim α -amilase dan glucoamilase. Proses hidrolisis pati merupakan reaksi pemecahan molekul amilum menjadi bagian-bagian penyusunnya yang lebih sederhana seperti dekstrin, isomaltosa, maltosa dan glukosa. (Rahmayanti, 2010).

Hidrolisat merupakan produk hidrolisis pati singkong dapat digunakan oleh mikroalga termasuk *Scenedesmus sp* sebagai sumber karbon organik. Hidrolisat ini umumnya lebih cepat diserap karena molekul-molekul yang sederhana. Mikroalga akan memanfaatkan sumber karbon organik dengan mengabsorpsi sumber karbon tersebut apabila keadaan lingkungan menjadi miksotrof. Pada keadaan miksotrof, mikroalga tidak menggunakan CO_2 sebagai sumber karbonnya melainkan karbon organik yaitu hidrolisat pati singkong.

Rendahnya kandungan lipida pada sel mikroalga merupakan rintangan untuk memproduksi biodiesel dari sel mikroalga

dalam skala besar atau komersial. Teknik kultur mikroalga *Scenedesmus sp* pada kondisi mikсотrof dengan pemberian sumber karbon organik berupa hidrolisat pati singkong (HPS) diharapkan mampu meningkatkan biomasa dan kadar lipida yang tinggi.

Penelitian ini memiliki tujuan antara lain untuk mengetahui pengaruh perlakuan hidrolisat pati singkong terhadap peningkatan laju pertumbuhan, biomassa dan kandungan lipida mikroalga *Scenedesmus sp* pada kondisi mikсотrof. Kegunaan penelitian ini adalah untuk memperoleh bahan bakar alternatif yang dapat mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar fosil yaitu biodisel dari mikroalga jenis *Scenedesmus sp*. Biodisel yang dihasilkan ini memiliki sifat yang unggul yaitu ramah lingkungan (mengurangi efek rumah kaca), *biodegradable*, *renewable* dan tidak beracun. Selain itu kegunaan penelitian ini adalah untuk pendayagunaan singkong yang berlimpah di Indonesia. Mikroalga

mampu menggunakan nutrisi berupa pati singkong pada kondisi kultur mikсотrof dan mampu meningkatkan laju pertumbuhan, biomasa dan kandungan lipidanya. Lipida merupakan bahan untuk pembuatan biodisel.

BAHAN DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan sepenuhnya di Laboratorium Kultur Mikroalga Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati Bandung pada bulan Mei sampai Juni 2014.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan diantaranya mikroskop binokuler, *haemocytometer*, *cover glass*, selang kecil, lampu TL 40 watt, *magnetic stirrer*, tabung reaksi, gelas ukur, suntikan 1 ml, aerator, botol air mineral, kertas karbon, plastik, karet, timbangan, gelas ukur, *beaker glass*, pengaduk, oven dan rak kultur. Bahan

yang digunakan diantaranya Medium Basal Bold (MBB), heksana, etanol 95%, metanol, flokulan (FeCl_3), dan Aquadest.

Rancangan Percobaan

Penelitian bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi limbah cair tahu yaitu: 0% (kontrol), 5%, 10%, 15%. Setiap perlakuan terdiri dari 5 ulangan, maka diperoleh $4 \times 5 = 20$ unit percobaan.

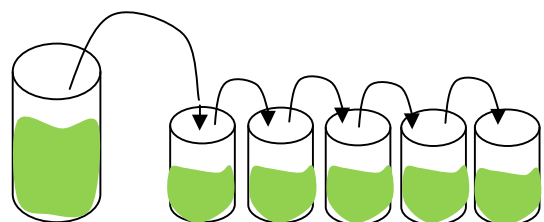
Persiapan Sampel dan Identifikasi

Sampel diambil dari kolam kebun Biologi UIN SGD Bandung. Sampel diambil secara horizontal menggunakan wadah bervolume 1 liter. Sampel-sampel terlebih dahulu di endapkan, selanjutnya endapan sampel diambil dan ditempatkan pada botol-botol sampel 100 ml. apabila kerapatan mikroalga terlalu rapat maka perlu dilakukan pengenceran 50%. Lalu beri formalin 4% untuk menjaga agar

sampel tidak rusak. Kemudian botol yang berisi air sampel tersebut dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi. Identifikasi serta penghitungan jumlah kerapatan mikroalga dilakukan dengan menggunakan haemocytometer di bawah mikroskop.

Isolasi mikroalga

Metode isolasi yang digunakan yaitu isolasi pengenceran. Metode isolasi ini dilakukan karena jenis mikroalga yang terkumpul sangat banyak dan ada salah satu spesies yang dominan. Cara ini dilakukan dengan memindahkan sampel kedalam beberapa tabung reaksi dengan komposisi unsur hara, kondisi suhu dan cahaya yang cocok untuk pertumbuhan alga yang akan diisolasi. Untuk mengetahui proses pengenceran berseri ini dapat dilihat Gambar 2.



Gambar 2. Proses isolasi alga dengan metode pengenceran.

Produksi Hidrolisat Pati Singkong

Tepung kanji sebanyak 1 kg ditambahkan air 1/3 bagian dari tepung. Kemudian tepung kanji tersebut dihidrolisis menggunakan enzim α -amilase 0,005 g pada suhu 80⁰C selama 2 jam dan glukoamilase 0,100 g pada suhu 60⁰ C selama 1 jam. Setelah didapat hidrolisat tepung singkong,

kemudian dibagi dalam konsentrasi 0, 5, 10 dan 15 g/l untuk dicampurkan ke medium basal bold pada masing–masing perlakuan dan diukur pH medium menggunakan pH meter sehingga didapat nilai pH medium sebelum kultur.

Percobaan Utama

Penginokulasian sel mikroalga dilakukan sebagai berikut. Memasukan kultur murni ke dalam botol air mineral berisi media yang telah disediakan. Selanjut kultur disimpan di rak kultur

dan diberi pengaturan faktor lingkungan temperature 22⁰C-27⁰C, pH 7. Penghitungan jumlah sel untuk mendapatkan data kerapatan sel dilakukan setiap 24 jam sekali mulai t₁ (hari ke-1) hingga t₁₄ (hari ke-14). Sebanyak 1 ml kultur diambil secara aseptik dari tiap-tiap tabung kultur menggunakan pipet Pasteur dan diletakkan ke dalam botol sampel. Selanjutnya, kultur diletakkan di atas haemocytometer. Sel dihitung dengan bantuan mikroskop. Sel mikroalga yang dihitung adalah sel yang hidup, baik dalam bentuk uniseluler maupun koloni.

Pemanenan

Pemanenan dilakukan dengan cara flokulasi menggunakan FeCl₃, dilakukan pada setelah mikroalga *Scenedesmus sp.* dikultur selama 13 hari. Cara flokulasi tersebut adalah dengan meneteskan FeCl₃ pada mikroalga kemudian dihomogenisasi. Hasilnya adalah biomasa mikroalga akan mengendap, kemudian biomasa tersebut dipisahkan dari airnya dengan cara

membuang air tersebut secara perlahan. Setelah air berkurang maka biomasa tersebut disaring pada kertas saring (berbentuk pasta). Mikroalga hasil pemanenan yang berbentuk pasta, kemudian di oven pada suhu 80°C selama 20 menit. Pengeringan ini bertujuan untuk mengetahui besarnya jumlah biomasa.

Pengamatan

Penelitian ini dibatasi dengan melakukan pengamatan pada kultur mikroalga *Scenedesmus sp* dengan pemberian hidrolisat pati singkong mengetahui pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan produksi lipida. Adapun parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu:

Kerapatan Sel dan Laju Pertumbuhan

Penghitungan jumlah atau kerapatan sel yaitu menggunakan haemocytometer. Haemocytometer merupakan alat yang terbuat dari gelas yang dibagi menjadi kotak-kotak pada dua tempat bidang pandang. Kotak tersebut berbentuk bujur

sangkar dengan sisi 1 mm dan tinggi 0,1 mm³ atau 10⁻⁴ ml. Untuk mengetahui kerapatan mikroalga dengan cara menghitung mikroalga yang terdapat pada kotak bujur sangkar yang mempunyai sisi 1 mm. Apabila jumlah mikroalga yang didapat adalah N. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) kerapatan mikroalga adalah : $K = N \times 10^4$, dimana K adalah kerapatan dan N adalah jumlah.

Untuk laju pertumbuhan relatif (μ) dihitung berdasarkan rumus menurut Chrimadha, *et al.* (2006):

$$\mu = \frac{\ln (X_t/X_0)}{t}$$

keterangan : μ adalah laju tumbuh (pembelahan sel/hari), t adalah waktu (hari) X_t adalah kepadatan sel pada waktu t , dan X_0 adalah kepadatan sel awal.

Biomassa Mikroalga

Mikroalga kering didapat dari pengovenan pasta basah mikroalga pada suhu 80°C selama 20 menit untuk satu

gram. Hasilnya adalah pasta kering mikroalga, pasta kering tersebut ditimbang untuk mendapatkan beratnya.

Kadar lipida

Analisis lipida dilakukan dengan metode *chemical solvent oil extraction*, yaitu dengan menggunakan bahan kimia sebagai pelarut. Mikroalga hasil pemanenan yang berbentuk pasta kemudian ditimbang untuk mendapatkan berat basah, lalu di oven pada suhu 80°C selama 20 menit. Hasil pengovenan berupa pasta kering kemudian ditimbang lagi untuk mendapatkan berat keringnya, lalu pasta kering mikroalga tersebut dicampur etanol 99,8% dengan perbandingan 75 ml : 10 g. Kemudian dilakukan homogenisasi diatas *magnetic stirrer* selama 1 jam. Lalu dipindahkan pada tabung reaksi dengan tujuan memisahkan ampas dengan cairannya. Pemisahan dilakukan dengan bantuan suntikan. Kemudian cairan tersebut dicampur dengan aquadest dan N-Heksana (perbandingan 75ml :

75ml/10gam mikroalga). Kemudian diambil endapan lipida dan selanjutnya diletakkan dalam tabung reaksi dan dipanaskan untuk menghilangkan pelarut kimia yang ditambahkan sebelumnya. Perhitungan % total lipida mikroalga mikro adalah:

$$\% \text{ Total lipid} = \frac{Lw}{Bw} \times 100$$

Keterangan: Lw = Bobot lipida (g), Bw = Biomasa (g) (Ardiles, 2011).

Analisis Data

Data-data berupa biomassa dan kadar lipida yang dihasilkan, selanjutnya dianalisis secara statistik. Analisa data yang digunakan adalah Uji Variansi dan jika terdapat beda nyata pada selang kepercayaan 95% dari perlakuan tersebut, maka dilakukan uji lanjut menggunakan Uji jarak berganda *Duncan*. Sedangkan laju pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus sp.* dihitung menggunakan persamaan regresi kuadratik untuk memperoleh nilai pembelahan sel per hari. Proses pengolahan

data menggunakan software SPSS series 14.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

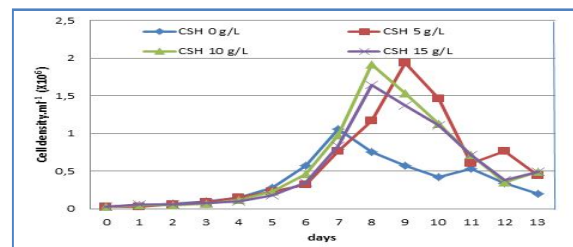
Kerapatan Sel Mikroalga *Scenedesmus sp.*

Pengamatan pola pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus sp.* dengan pemberian beberapa konsentrasi HPS menunjukkan terdapat dua puncak pertumbuhan (Gambar 3). Kultur *Scenedesmus sp* pada kondisi mikсотrof, kerapatan sel tertinggi yaitu $1,93 \times 10^6$ sel.ml⁻¹ yang dicapai pada perlakuan konsentrasi HPS 5 g.l⁻¹ pada puncak pertama pertumbuhan di hari ke-9, sementara puncak yang kedua terjadi pada hari ke-12 dengan kerapatan sel mencapai $0,77 \times 10^6$ sel. ml⁻¹.

Pola pertumbuhan *Scenedesmus sp* pada perlakuan konsentrasi HPS 0 g.l⁻¹ (kontrol) mencapai puncak pertama pada hari ke-7 dengan kerapatan sel $1,05 \times 10^6$ sel.ml⁻¹, sedangkan puncak ke-2

pertumbuhannya dicapai pada hari ke-11 dengan kerapatan sel mencapai $0,54 \times 10^6$ sel.ml⁻¹. Pada perlakuan konsentrasi HPS 10 g.l⁻¹ dan 15 g.l⁻¹ mencapai puncak pertumbuhan yang sama yaitu hari ke-8 dengan kerapatan sel masing masing $1,91 \times 10^6$ sel.ml⁻¹ dan $1,65 \times 10^6$ sel.ml⁻¹ sedangkan puncak pertumbuhan yang keduanya dicapai bersamaan pula yaitu pada hari ke-13 dengan kerapatan yang sama yaitu $0,49 \times 10^6$ sel.ml⁻¹.

Puncak pertumbuhan *Scenedesmus sp* tertinggi dengan kerapatan sel yang maksimum pada semua perlakuan HPS dicapai pada puncak pertama. Selanjutnya pertumbuhan akan menurun dan mencapai puncak pertumbuhan yang kedua namun dengan kerapatan sel yang lebih rendah dari puncak pertumbuhan yang pertama.



Gambar 3. Kerapatan sel mikroalga *Scenedesmus sp.* pada kultur Mikсотrof

dengan perlakuan berbagai konsentrasi HPS.

Kultur mikroalga pada kondisi miksotrof akan melaksanakan proses fotosintesis sebagai jalur fiksasi karbon utama, namun pada saat siang hari terjadi gabungan antara fotosintesis autotrof dengan asimilasi senyawa karbon heterotrof. Pada proses fotosintesis, fiksasi karbon anorganik dipengaruhi oleh intensitas cahaya sementara asimilasi karbon heterotrof dipengaruhi oleh ketersediaan karbon organik.

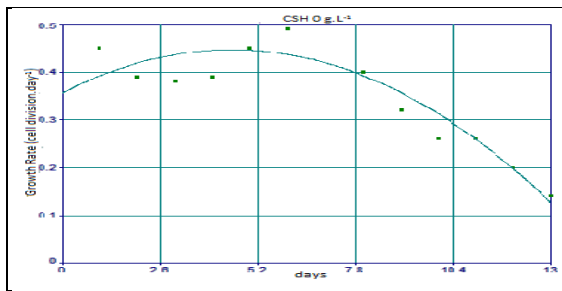
Pada miksotrof, kehadiran senyawa organik memiliki pengertian bahwa pertumbuhan sel tidak hanya tergantung pada fotosintesis. Pertumbuhan mikroalga meningkat selama fase terang pada medium yang diberi HPS dan sedikit saja biomassa yang hilang pada fase gelap (Zhang *et al.*, 1999). Meskipun pertumbuhan heterotrof dan fotosintesis dilaporkan terjadi secara bersamaan atau terpisah pada kultur miksotrof mikroalga,

pemberian karbon organik dapat mengubah baik fotosintesis maupun metabolisme heterotrof dan akan menurunkan produksi pigmen fotosintesis (Ogbonna dan Tanaka, 1998). Pada kultur miksotrof terjadi metabolisme autotrof maupun heterotrof, bila terdapat faktor pembatas bagi berjalannya proses metabolisme yang baik seperti cahaya dan bahan organik maka dapat menghambat pertumbuhan (Zhang *et al.*, 1999).

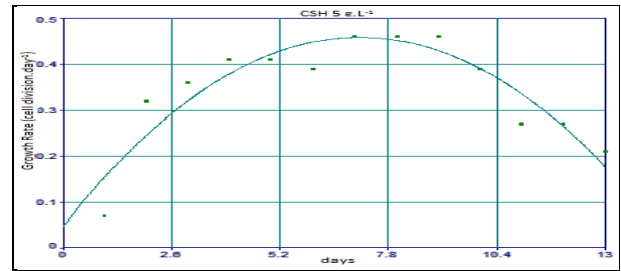
Laju Pertumbuhan Mikroalga *Scenedesmus sp.*

Berdasarkan kurva hiperbola dengan persamaan regresi kuadratik selama 13 hari kultur miksotrof, laju pertumbuhan maksimum *Scenedesmus sp* pada perlakuan konsentrasi HPS 0 g.l⁻¹ dengan pembelahan sel 0.42 sel.hari⁻¹ yang terjadi pada hari ke-4,5 (Gambar 4), pada perlakuan konsentrasi HPS 5 g.l⁻¹ dengan pembelahan sel 0.43 sel.hari⁻¹ yang terjadi pada hari ke-7,2 (Gambar 5), pada perlakuan

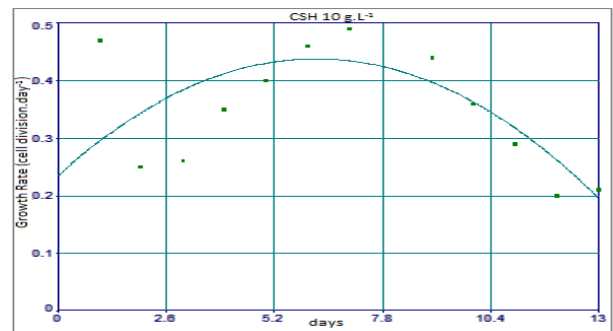
konsentrasi HPS 10 g.l⁻¹ dengan pembelahan sel 0.42 sel.hari⁻¹ yang terjadi pada hari ke-7,0 (Gambar 6) dan pada perlakuan konsentrasi HPS 15 g.l⁻¹ dengan pembelahan sel 0.41 sel.hari⁻¹ yang terjadi pada hari ke-3,9 (Gambar 7). Sehingga laju pertumbuhan paling tinggi terjadi pada perlakuan HPS 15 g.l⁻¹ dengan pembelahan sel 0,41 sel.hari⁻¹ pada hari 3,9.



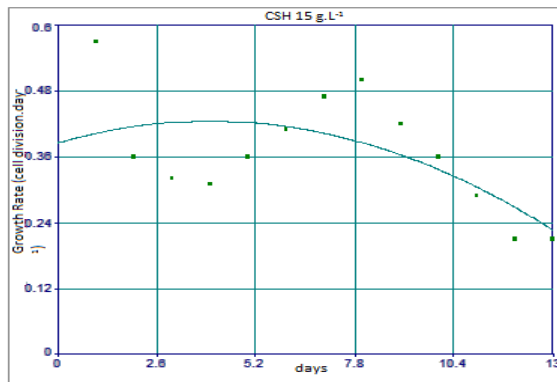
Gambar 4. Laju pertumbuhan relatif microalga *Scenedesmus sp.* dengan perlakuan 0 g.l⁻¹ HPS pada MBB selama 13 hari. (Persamaan regresi $Y = 0.356 + 0.040X - 0.004X^2$)



Gambar 5. Laju pertumbuhan relatif microalga *Scenedesmus sp.* dengan perlakuan 5 g.l⁻¹ HPS pada MBB selama 13 hari. (Persamaan regresi $Y = 0.047 + 0.0116X - 0.008X^2$)



Gambar 6. Laju pertumbuhan relatif microalga *Scenedesmus sp.* dengan perlakuan 10 g.l⁻¹ HPS pada MBB selama 13 hari. (Persamaan regresi $Y = 0.236 + 0.605X - 0.005X^2$)



Gambar 7. Laju pertumbuhan relatif mikroalga *Scenedesmus sp.* dengan perlakuan 15 g.l⁻¹ HPS pada MBB selama 13 hari. (Persamaan regresi $Y = 0.385 + 0.019X - 0.002X^2$)

Pada laju pertumbuhan relatif mikroalga *Scenedesmus sp* (Gambar 4, 5, 6, 7) terlihat mikroalga tidak memerlukan adaptasi lagi terhadap faktor lingkungan yang ada. Hal tersebut terjadi karena medium yang digunakan yaitu MBB, merupakan medium yang sama saat digunakan pada kultur pemeliharaan. Wang *et al.* (2012) melaporkan bahwa mikroorganisme yang hidup pada medium yang sama pada kultur percobaan dan

pemeliharaan akan memiliki jumlah sel yang sama karena memiliki kondisi lingkungan yang sama yang menyebabkan fase adaptasi tidak akan terlihat dan sel akan cepat memasuki fase eksponensial. Laju pertumbuhan relatif mikroalga *Scenedesmus sp* menunjukkan hasil yang sama dengan jumlah pembelahan sel per harinya yang tidak jauh berbeda namun pada perlakuan konsentrasi HPS 15 g.l⁻¹ pembelahan sel tertinggi dicapai pada waktu yang lebih cepat yaitu pada hari ke-3,9. Dengan penambahan HPS 5 g.l⁻¹ pada kultur mikсотrof *Scenedesmus sp* mampu meningkatkan biomassa sekitar dua kali lipat.

Biomassa Mikroalga *Scenedesmus sp*

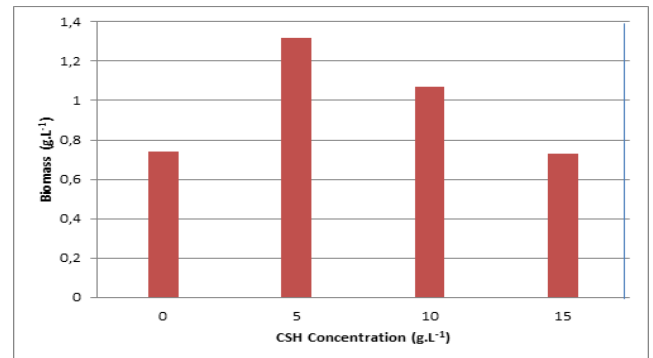
Berdasarkan hasil analisis variansi, perlakuan berbagai konsentrasi HPS sebagai sumber karbon organik untuk pertumbuhan sel mikroalga *Scenedesmus sp* pada kondisi mikсотrof menunjukkan berbeda nyata pada selang kepercayaan 95% ($F > 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian beberapa konsentrasi

HPS dapat mempengaruhi pertumbuhan (Wang *et al.*, 2009).

Selanjutnya hasil dapat dilihat pada Gambar 8 bahwa pemberian HPS pada konsentrasi 5 g.l⁻¹ mampu menghasilkan biomasa tertinggi sebesar 1.32 g.l⁻¹. Abubakar *et al.* (2012) menyatakan bahwa konsentrasi zat organik yang optimum diperlukan untuk kultur mikroalga yang sehat, selain dipersyaratkan pula bahwa kultur mikroalga harus murni (satu spesies). Pemberian glukosa pada kultur *Ankistrodesmus convolutus* dapat meningkatkan kadar karbohidrat pada kondisi mikсотrof (Chu *et al.* 1995). Kadar biomassa secara nyata meningkat dengan pemberian HPS pada kondisi kultur yang mikсотrof

Kultur sel mikсотrof menggunakan baik cahaya maupun sumber karbon organik yang menyebabkan proses dan produksi biomassa mikroalga paling efisien (Lee *et al.*, 1996). Bila energi cahaya untuk fiksasi CO₂ menurun pada kultur mikсотrof, kebanyakan energi digunakan

untuk asimilasi karbon. Meskipun jumlah energi yang digunakan minimum, kultur mikсотrof menyediakan energi paling efisien dari pada kultur yang lain (Shi *et al.* (1999).

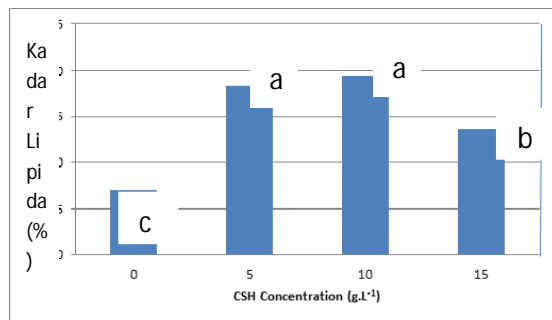


Gambar 8. Pengaruh HPS terhadap biomassa mikroalga *Scenedesmus sp* (nilai yang diikuti dengan huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada selang kepercayaan 95%).

Kadar Lipida Mikroalga *Scenedesmus sp*

Berdasarkan analisis variansi konsentrasi HPS dapat mempengaruhi produksi lipida total. Pada Gambar 9. terlihat bahwa konsentrasi HPS optimum yaitu 5 g.l⁻¹ and

10 g.l⁻¹ dengan kadar lipida 18,0% dan 19,5%.



Gambar 9. Perbandingan konsentrasi HPS (g.l⁻¹) terhadap kadar lipid mikroalga *Scenedesmus sp* (nilai yang diikuti dengan huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata pada selang kepercayaan 95%).

Shah (2012) menyatakan bahwa konsentrasi bahan organik yang optimum diperlukan untuk kultur mikroalga. Bila konsentrasinya tidak pas maka kemungkinan akan terjadi kompetisi atau kontaminasi dengan spesies mikroalga lainnya. Begitupun bahan organik yang sesuai dengan kultur mikroalga tunggal diperlukan untuk menghindari kontaminasi.

Day and Tsavalos (1996), menyatakan bahwa kadar lipida pada kultur

miksotrof sel mikroalga akan meningkat atau menurun yang tergantung pada spesies mikroalga yang digunakan. Produksi lipida pada kultur miksotrof mikroalga tergantung pada spesies mikroalga, kondisi kultur dan konsentrasi sumber karbon organik. Kultur miksotrof didefinisikan secara luas sebagai sistem pertumbuhan dengan karbon organik dan CO₂ secara menyeluruh yang mempengaruhi metabolisme pada fotosintesis dan juga respirasi. Laju pertumbuhan pada kultur miksotrof pada dasarnya adalah jumlah dari laju pertumbuhan sel yang ditumbuhkan pada kondisi fotoautotrof dan heterotrof (Richmond, 2004).

Percobaan yang sama juga menunjukkan kadar lipid yang tinggi dicapai bila sel ditumbuhkan pada kultur yang diberi hidrolisat pati jagung yang ditunjukkan dengan meningkatnya laju pertumbuhan dan kerapatan sel (Ana *et al.*, 2012). Mikroalga dapat melaksanakan fotosintesis dan fiksasi karbon dioksida

melalui siklus Calvin seperti sel tumbuhan tingkat tinggi. Sel mikroalga dapat menangkap energi cahaya sebagai sumber energi dan asimilasi CO₂ sebagai sumber karbon. Selanjutnya sumber bahan organik juga dapat digunakan sebagai sumber karbon dan energi oleh banyak mikroalga. Dengan beragamnya sumber karbon organik akan mengubah metabolisme sel, terutama pengaruh cahaya pada metabolisme karbon dan energi (Chen *et al.*, 2000).

Dengan relatif murah nya singkong, akan sangat kompetitif terhadap sumber karbon organik lainnya yang akan digunakan untuk produksi biomassa dan lipida dari mikroalga (Chen, 2011) Triasilgliserida (TAG) berfungsi sebagai penyimpan energi di dalam sel mikroalga, bila telah diekstraksi maka akan dengan mudah dirubah menjadi biodisel melalui reaksi transesterifikasi (Sharma *et al.*, 2012). Kemampuan mikroalga untuk bertahan pada beragam kondisi ekstrim

menunjukkan beragamnya kadungan lipida dalam mikroalga. Lebih lanjut, beberapa mikroalga memiliki kemampuan untuk memodifikasi metabolisme lipida secara efisien sebagai respons terhadap perubahan lingkungan. Pada kondisi pertumbuhan yang optimum akan dihasilkan sejumlah biomassa yang besar tetapi dengan kadar lipida yang relatif rendah. Pada lingkungan yang tidak menguntungkan atau kondisi stress beberapa mikroalga mengubah jalur biosintesis lipidanya menuju kepembentukan dan akumulasi lipida netral, terutama dalam bentuk TAG, yang memungkinkan mikroalga bertahan pada kondisi tidak menguntungkan ini (Sharma *et al.*, 2012).



Gambar 10. Kultur mikroalga *Scenedesmus sp* pada kondisi miksotrof dengan pemberian hidrolisat pati singkong (HPS).

Kultur mikсотrof akan menghasilkan kadar klorofil yang rendah (Gambar 10). Xu *et al.* (2006) menyatakan bahwa sel mikroalga pada kultur mikсотrof akan mengandung tetesan minyak yang berwarna kuning, begitupun Miao dan Wu (1005) menyatakan bahwa kultur mikroalga *C. prototechoides* akan menyimpan lipida pada vesikula yang berwarna kuning.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kultur mikroalga pada kondisi mikсотrof mendapat perhatian penting karena lebih praktis dan merupakan cara yang paling menjanjikan untuk meningkatkan produktivitas. Mikroalgae dapat beradaptasi terhadap beragam sumber karbon organik termasuk hidrolisat pati singkong. kerapatan sel dan laju pertumbuhan sel *Scenedesmus sp* tertinggi dicapai pada perlakuan konsentrasi HPS 5 g.L⁻¹ masing masing pada $1,93 \times 10^6$

sel.ml⁻¹ yang terjadi pada hari ke-9 dan 0,43 sel.hari⁻¹. Sementara itu biomasa tertinggi dicapai pada konsentrasi HPS 5 g.L⁻¹ sebesar 1,32 g.L⁻¹ sedangkan kadar lipida tertinggi dicapai oleh perlakuan konsentrasi HPS 10 g.L⁻¹ sebesar 19,5%. Pemberian sumber karbon organik berupa HPS mampu meningkatkan biomasa dan kadar lipida sel *Scenedesmus sp* yang dikultur pada kondisi mikсотrof.

Saran

Dari penelitian yang telah dilaksanakan, dapat disusun beberapa saran yaitu sebagai berikut : perlu adanya penerapan penelitian ini untuk jenis mikroalga air tawar yang lainnya, perlu diversifikasi sumber karbon lain selain singkong mengingat Indonesia kaya bahan baku yang dapat dijadikan sumber karbon, perlu segera dilakukan aplikasi di lapangan untuk mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar minyak yang akan habis dan tidak ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar L U, Mutie A M, Kenya, E U, and Muhoho A. (2012) Characterization of algae oil (oilgae) and its potential as biofuel in Kenya, *Journal of Applied Phytotechnology in Environmental Sanitation*, 1 (4): 147-153.
- Ana P. Abreu, Bruno Fernandes, Antonio A. Vicente, Jose Teixeira, Giuliano Dragone. 2012. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. *Bioresource Technology* 118 : 61–66
- Cerón García, M. C., A. Sánchez Mirón, J. M. Fernández Sevilla, E. Molina Grima, and F. García Camacho. 2005. Mixotrophic growth of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. Influence of different nitrogen and organic carbon sources on productivity and biomass composition. *Process Biochem.* 40: 297-305.
- Cerón García, M. C., J. M. Fernández Sevilla, F. G. Acién Fernández, E. Molina Grima, and F. García Camacho. 2000. Mixotrophic growth of *Phaeodactylum tricornutum* on glycerol: Growth rate and fatty acid profile. *J. Appl. Phycol.* 12: 239-248.
- Chen, Y.F. 2011. *Production of Biodiesel from Algal Biomass: Current Perspectives and Future*; Academic Press: Waltham, MA, USA, 2011; p. 399.
- Chen Yang, Qiang Hua, Kazuyuki Shimizu. 2000. Energetics and carbon metabolism during growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic light-autotrophic/dark-heterotrophic conditions *Biochemical Engineering Journal* 6 : 87–102
- Chen Yen-Hui and Terry H. Walker. 2011. Biomass and lipid production of heterotrophic microalgae *Chlorella protothecoides* by using biodiesel-derived crude glycerol, *Biotechnol Lett.*
- Chrimadha, T. Panggabean, L. M. mardiaty, Y. 2006. Pengaruh Konsentrasi Nitrogen dan Fosfor Terhadap Pertumbuhan, Kandungan Protein, Karbohidrat dan Fikosianin Pada Kultur *Spirulina fusiformis*. *Berita Biologi*. Bogor.
- Chisti, Y. 2007. *Biodiesel from Microalgae*. *Journal of*

- Biotechnology Advances. Vol: 11, (25) :294-306.
- Chisti, Y. 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends Biotech.*, 26, 126–131.
- Christenson, L., Sims, R. 2011. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnol. Adv.* 2011, 29, 686–702.
- Chojnacka K, Marquez-Rocha F-J (2004) Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. *Biotechnology* 3(1):21–34
- Combres C, Laliberte G, Reyssac JS, de LaNoüe J (1994) Effect of acetate on growth and ammonium uptake in the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Physiol Plant* 91:729–734
- Fernández Sevilla, J. M., M. C. Cerón García, A. Sánchez Mirón, E. H. Belarbi, F. García Camacho, and E. Molina Grima. 2004. Pilot plant-scale outdoor mixotrophic cultures of *Phaeodactylum tricornutum* using glycerol in vertical bubble column and airlift photobioreactors: Studies in fedbatch mode. *Biotechnol. Prog.* 20: 728-736.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton*. Kanisius : Yogyakarta.
- Lee, Y.-K., Ding, S.-Y., Hoe, C.-H., Low, C.-S., 1996. Mixotrophic growth of *Chlorella sorokiniana* in outdoor enclosed photobioreactor. *J. Appl. Phycol.* 8 (2), 163–169.
- Liang YN, Sarkany N, Cui Y (2009) Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. *Biotechnol Lett* 31(7):1043–1049. doi:10.1007/s10529-009-9975-7
- Miao X L, and Wu Q Y. (2005) Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil, *Bioresour Technol*, 97:841–846
- Ngangkham M, Sachitra K R, Radha P, Anil K S, Dolly W D, Chandragiri S and Rachapudi B N P. 2012. Biochemical modulation of growth, lipid quality and productivity in mixotrophic cultures of *Chlorella sorokiniana*. Springer Plus.
- Rahmayanti, D. 2010. Pemodelan dan Optimasi Hidrolisa Pati Menjadi Glukosa dengan Metode Artificial Neural Network Genetic Algorithm (ANN-GA). *Skripsi*. Semarang.

- Richmond, A., dan Hu, Q. 2013. *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*, Second Edition. Edited by C John Wiley & Sons, Ltd. Published by Blackwell Publishing Ltd.
- Schenk P, Thomas-Hall S, Stephens E, Marx U, Mussgnug J, Posten C (2009) Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bio Energy Res* 1:20–43
- Shah D. (2012) Effect of glucose supplementation on nighttime biomass loss and productivity of microalgae *Chlorella*, submitted in partial fulfillment of requirements for the degree. *Masters of Science in Chemical Engineering at The Cleveland State University*
- Sharma K K, Schuhmann H and Schenk P M. (2012) High lipid induction in microalgae for biodiesel production. *Energies*, 5: 1532-1553;
- Sheehan., Dunahay., Benemann, J., Roessler P. 1998. *Biodiesel from Algae*. The National Renewable Energy Laboratory, A national laboratory of the U.S. Department of Energy.
- Shi, X.-M., Liu, H.-J., Zhang, X.-W., Chen, F., 1999. Production of biomass and lutein by *Chlorella protothecoides* at various glucose concentrations in heterotrophic cultures. *Process Biochem.* 34 (4), 341–347.
- Wang H, Fu R, and Pei G. (2012) A study on lipid production of the mixotrophic microalgae *Phaeodactylum tricornutum* on various carbon sources, *African Journal of Microbiology Research*, 6(5) : 1041-1047.
- Wang L, Min M, Li Y, Chen P, Chen Y, Liu Y, Wang Y, Ruan R. (2009) Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant, *Appl Biochem Biotechnol*, DOI 10.1007/s12010-009-8866-7
- Xu H, Miao X L, and Wu Q Y. (2006) High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters, *J. Biotechnol*, 126:499–507
- Zhang, X.W., Zhang, Y.M., Chen, F., 1999. Application of mathematical models to the determination optimal glucose concentration and light intensity for mixotrophic culture of *Spirulina platensis*. *Process Biochem.* 34, 477–481.