

PEMANFAATAN MIKROALGA *Chlorella sp.* UNTUK PRODUKSI LIPID DALAM MEDIA LIMBAH CAIR HOTEL DENGAN VARIASI RASIO C:N DAN PANJANG GELOMBANG CAHAYA

Shinta Elystia¹⁾, Sri Rezeki Muria²⁾, Sri Indira Puspa Pertiwi¹⁾

¹⁾Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik, Universitas Riau

²⁾Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Riau

Email: Shintaelystia@yahoo.com

Abstrak

Mikroalga memiliki kandungan lemak (lipid) dan asam lemak (fatty acid) yang dapat dikonversi menjadi salah satu energi alternatif biodiesel. Biodiesel adalah bahan bakar alternatif yang tidak beracun dan dapat terurai secara alami. Kelimpahan dan pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* yang sangat cepat dinilai ideal dan potensial untuk dijadikan sebagai bahan baku produksi bioenergi. Disisi lain mikroalga membutuhkan nutrisi seperti karbon dan nitrogen untuk pertumbuhannya. Sumber nutrisi dapat diperoleh dari limbah cair, seperti limbah cair hotel. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan kondisi terbaik untuk *Chlorella sp.* memproduksi kandungan lipid dengan memvariasikan rasio C: N 100: 7, 100: 13, 100: 32 dan panjang gelombang cahaya menggunakan lampu cahaya putih (380-750 nm), lampu biru (450-495 nm), lampu hijau (495-570 nm), dan lampu merah (620-750 nm) juga mengamati kemampuan *Chlorella sp.* untuk mengurangi nutrisi dalam media limbah cair. Percobaan dilakukan pada suhu kamar di bawah pencahayaan 2000 lux selama 15 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Chlorella sp.* menghasilkan konten lipid tertinggi (36,84%) pada rasio C: N 100: 7. Selain itu, Ketika alga dikultivasi dengan panjang gelombang cahaya berbeda menunjukkan bahwa *Chlorella sp.* tumbuh lebih baik dan menghasilkan kandungan lipid sebesar 40,91% di bawah cahaya biru (450-495 nm) bila dibandingkan dengan jenis cahaya lainnya.

Kata Kunci: *Chlorella sp.*, rasio C:N, limbah cair hotel, lipid, panjang gelombang cahaya

Abstract

Microalgae contains fat (lipids) and fatty acids that can be converted into biodiesel. Biodiesel is a non toxic and biodegradable alternative fuel. Abundance and growth of microalgae *Chlorella sp.*, which is very fast and considered ideal, has the potency to be used as raw material for bioenergy production. Microalgae needs nutrients such as carbon, nitrogen, and light for their growth. Nutrient source can be obtained from wastewater, such as wastewater from hotel. The objective of this study is to determine the best condition for *Chlorella sp.* producing high lipid content by varying the C:N ratio 100:7, 100:13, 100:32 and light wavelength using a white light lamp (380-750 nm), blue lamp (450-495 nm), green lamp (495-570 nm), and red lamp (620-750 nm), as well as observe *Chlorella sp.*'s ability to reduce nutrients in the medium. The experiment was conducted at room temperature under 2000 lux illumination for 15 days. The results showed that *Chlorella sp.* produced the highest lipid content (36,84%) under C:N ratio 100:7. Moreover, when algae was cultivated under different light, the wavelength showed that *Chlorella sp.* grew better and produced more lipid content (40,91%) under blue light (450-495 nm) when compared to the other types of light.

Keywords: *Chlorella sp.*, C:N ratio, hotel waste water, light wavelength, lipid

1. PENDAHULUAN

Tingginya tingkat pencemaran lingkungan akibat pembakaran bahan bakar fosil dan emisi CO₂ telah mendorong sejumlah peneliti untuk menemukan bahan bakar ramah lingkungan yang berasal dari bahan baku minyak nabati (Irhamny dkk, 2014; Ho dkk, 2017). Salah satu bahan bakar alternatif adalah biodiesel, yang merupakan bahan bakar bersifat non toksik dan *biodegradable*, yang diperoleh dengan cara transesterifikasi minyak *triglyceride* dengan *monohydric alcohol*.

Dikirim/submitted: 13 Juni 2019

Diterima/accepted: 5 Juli 2019

Biodiesel biasanya diproduksi dari minyak tanaman seperti minyak *canola*, minyak bunga matahari, minyak kedelai, minyak sawit, minyak kelapa, minyak jagung, minyak ikan, dan lemak ayam. Namun, penggunaan bahan baku yang berasal dari tanaman sering menimbulkan masalah terhadap pangan, efisiensi, dan masalah lingkungan sehingga diperlukan sumber bahan baku lainnya untuk produksi biodiesel (Liang dkk, 2012; Spolaore dkk, 2006; Chisti, 2008; Braunwald dkk, 2013).

Pemanfaatan mikroalga sebagai bahan baku biodiesel menjadi pilihan alternatif karena kandungan lipid mikroalga dapat mencapai 80% dari berat kering dan memiliki karakteristik mirip dengan minyak nabati. Mikroalga memiliki kelebihan lain yaitu kemampuan tumbuh dengan cepat, tidak berkompetisi dengan bahan pangan, tidak memerlukan area yang luas serta dapat tumbuh di air laut, air tawar maupun air limbah (Widjaja dkk, 2009). Faktor utama yang dibutuhkan mikroalga untuk hidup adalah cahaya, air, CO₂, dan nutrisi. Air dan nutrisi untuk kultivasi mikroalga dapat diperoleh dari limbah cair; oleh karena itu, selain sebagai lingkungan hidup mikroalga hal ini juga dapat dijadikan sebagai pengolahan air limbah (Irhamny dkk, 2014; Chiu dkk, 2015; Acevedo dkk, 2017). Limbah domestik merupakan limbah yang dihasilkan paling banyak tiap hari oleh berbagai aktivitas rumah tangga akibat peningkatan urbanisasi dan pertumbuhan penduduk (Romayanto dkk, 2006; Yang dkk, 2017). Limbah cair domestik yang dihasilkan mengandung nutrisi dengan konsentrasi tinggi dan apabila dibuang ke lingkungan dapat menyebabkan eutrofikasi dan mempengaruhi ekosistem sehingga perlu dilakukan pengolahan (Sriram dan Seenivasan, 2012).

Nutrisi seperti karbon (C) merupakan komponen penyusun utama mikroalga, karena berfungsi sebagai pembentuk struktur dan metabolisme protein, karbohidrat, lipid, dan asam nukleat sehingga ketersediaan karbon penting bagi pertumbuhan mikroalga sedangkan nitrogen (N) berperan dalam mengontrol biosintesis protein dalam sel (Lari dkk, 2016; Converti dkk, 2009). Rasio C:N telah dilaporkan sebagai faktor utama dalam metabolisme mikroalga, dengan meningkatnya rasio C:N kandungan lipid mikroalga dapat ditingkatkan (Lari dkk, 2016). Salah satu faktor penting dalam pertumbuhan mikroalga adalah cahaya. Cahaya merupakan sumber energi yang menjalankan proses fotosintesis, sehingga intensitas dan panjang gelombang cahaya sangat penting bagi pertumbuhan mikroalga (Pertamawati, 2010). Oleh karena itu penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh rasio C:N terbaik panjang gelombang cahaya terbaik dalam peningkatan kandungan lipid *Chlorella sp.* dan mempelajari kemampuan *Chlorella sp.* dalam menyisihkan nutrisi karbon dan nitrogen dalam medium limbah.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *chamber* berukuran 80x40x30 cm, erlenmeyer 250 ml, *aquarium pump*, cawan penguap, gelas ukur 10 ml dan 100 ml, pipet tetes, spatula, neraca analitik, gelas beker 250 ml, *tube lamp* putih, *tube lamp* biru, *tube lamp* hijau, *tube lamp* merah, lux meter, *hand counter*, mikroskop cahaya, dan *haemocytometer*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroalga *Chlorella sp.* dari Pusat Penelitian Alga Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, limbah cair hotel X Kota Pekanbaru, alkohol 70%, glukosa sebagai tambahan sumber karbon, urea sebagai tambahan sumber nitrogen, ekstraksi lipid menggunakan bahan methanol, kloroform dan NaCl 5%.

2.2. Variabel Penelitian

2.2.1. Variabel Tetap

Variabel tetap dalam penelitian ini sebagai berikut: temperatur ruangan (Putri, 2012), intensitas cahaya lampu 2000 lux (Mostafa dkk, 2012), pH 7 (Lari dkk, 2016), fotoperiod 12:12 (Perez-Pazos dan Pablo, 2011).

2.2.2. Variabel Bebas

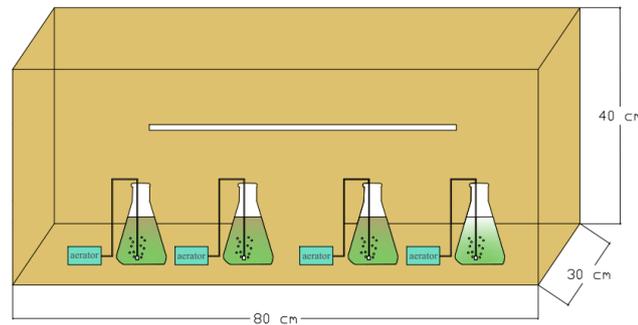
Rasio C:N 100:7, 100:13, dan 100:32 dengan penambahan glukosa dan urea. Kontrol menggunakan aquades yang ditambahkan glukosa dan urea dengan rasio C:N yang sama. Pada variasi ini digunakan lampu putih sebagai sumber pencahayaan, setelah didapatkan variasi rasio C:N terbaik kemudian dilanjutkan dengan variasi panjang gelombang menggunakan warna lampu berbeda, yaitu biru (450-495 nm), hijau (495-570 nm), dan merah (620-750 nm). Kontrol dilakukan menggunakan lampu LED putih (380-750 nm).

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Pemasangan Chamber

Desain *chamber* dibuat tertutup dengan dimensi 80 x 30 x 40 cm (p x l x t) dan percobaan dilakukan di dalam erlenmeyer 250 ml dengan volume kerja 200 ml. Sumber cahaya pada *chamber* menggunakan *tube lamp* LED putih dengan intensitas cahaya 2000 lux. Bagian dalam dari *chamber* dilapisi dengan aluminium foil agar intensitas cahaya yang dihasilkan dapat terkuantisasi sehingga mendapatkan penyinaran cahaya yang maksimal (Daniyati dkk, 2012). Pada bagian atas erlenmeyer terdapat saluran yang berfungsi sebagai aerasi dimana pada ujung saluran terdapat batu aerasi.

Aerasi ini berfungsi sebagai pengadukan agar terjadi kontak yang baik antara alga dan media tumbuh serta nutrisi yang diberikan. Desain alat penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Desain Alat Penelitian

2.3.2. Persiapan Limbah Cair Hotel

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah cair hotel yang diambil dari bak pengumpul kedua instalasi pengolahan limbah cair hotel. Limbah cair diendapkan dan disaring untuk memisahkan padatan yang tidak terlarut dalam air (Yang dkk, 2017) kemudian disterilisasi (Mostafa dkk, 2012). Karakteristik limbah cair hotel yang digunakan dalam penelitian ini terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Limbah Cair Hotel X Kota Pekanbaru

Parameter	Nilai	Baku Mutu*	Keterangan
pH	7,17	6-9	Memenuhi
COD (mg/L)	205	100	Tidak memenuhi
BOD (mg/L)	55,37	30	Tidak memenuhi
NO ₃ ⁻ (mg/L)	1	-	-
NH ₃ (mg/L)	6,650	10	Memenuhi
NO ₂ ⁻ (mg/L)	<0,017	-	-
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0,845	-	-

*Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia Nomor P.68 Tahun 2016 tentang Baku Mutu Air Limbah Domestik

2.3.3. Percobaan Utama

Chlorella sp. pada fase eksponensial diinokulasikan (10%, v/v) ke dalam erlenmeyer 250 ml, yang berisi medium limbah cair domestik dengan perbandingan rasio C:N 100:7, 100:13, dan 100:32 (Putri, 2012). Perbandingan rasio dilakukan dengan menambahkan glukosa sebagai sumber karbon dan urea sebagai sumber nitrogen. Sedangkan kontrol menggunakan medium aquades yang ditambahkan glukosa dan urea dengan rasio C:N yang sama. Setelah didapatkan rasio C:N terbaik, kemudian dilakukan variasi panjang gelombang cahaya. *Chlorella sp.* pada fase eksponensial diinokulasikan (10%, v/v) ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi limbah cair dengan rasio C:N

terbaik. Variasi panjang gelombang cahaya dilakukan dengan menggunakan lampu LED berwarna biru (450-495 nm), hijau (495-570 nm), merah (620-750 nm), dan putih (380-750 nm) sebagai kontrol.

2.3.4. Analisis Data

2.3.4.1. Pengujian pH

pH diuji menggunakan pH meter berdasarkan SNI 06-6989.11-2004.

2.3.4.2. Jumlah sel

Jumlah sel dihitung untuk mengetahui kepadatan sel dengan menggunakan mikroskop dan *haemocytometer*. Rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah sel *Chlorella sp.* adalah :

$$K = n \times 10^4$$

Keterangan:

K = jumlah sel (sel/mL)

n = jumlah total sel dalam kamar hitung sel

2.3.4.3. Specific Growth Rate

Specific growth rate dihitung untuk mengetahui tingkat laju pertumbuhan sel mikroalga per hari. *Specific growth rate* dapat dihitung dengan rumus (Asuthkar dkk, 2016):

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{\Delta t}$$

Keterangan:

X_2 = jumlah sel pada fase eksponensial (sel/mL)

X_1 = jumlah sel awal (sel/mL)

Δt = waktu yang dibutuhkan untuk meningkatkan konsentrasi dari X_1 hingga X_2 (hari)

2.3.4.4. Ekstraksi lipid

Ekstraksi lipid dilakukan dengan menggunakan metode Bligh-Dyer. Sebanyak 1 ml sampel dikeringkan hingga beratnya konstan. Kemudian lipid diekstraksi dengan larutan kloroform-metanol (2:1, v/v) sehingga terpisah menjadi lapisan kloroform dan metanol. Tambahkan metanol dan air untuk menghasilkan rasio pelarut akhir dari kloroform methanol:air sebesar 1:1:0,9. Lapisan kloroform dicuci dengan 20 ml larutan NaCl 5% dan diuapkan hingga kering. Total lipid ditentukan secara gravimetri (Yoo dkk., 2010). Perhitungan total lipid dapat dihitung dengan persamaan berikut (Putri, 2012):

$$Y (\%) = \frac{W_L}{W_{DA}} \times 100\%$$

Keterangan:

Y = Total lipid (%)

W_L = Berat lipid (g)

W_{DA} = Berat biomassa kering (g)

2.3.4.5 Berat kering

Untuk menentukan berat kering, mikroalga disentrifus pada 5000 rpm selama 5 menit, kemudian dicuci dengan aquades sebanyak 2 kali dan dikeringkan pada suhu 105°C hingga mencapai berat konstan (Leesing dkk, 2014; Cho dkk, 2011). Nilai berat kering dapat dihitung menggunakan rumus (Ogbonna, 2018):

$$\text{Berat kering} = W_2 - W_1$$

Keterangan:

W₂ = berat kertas saring dan biomassa kering (g)

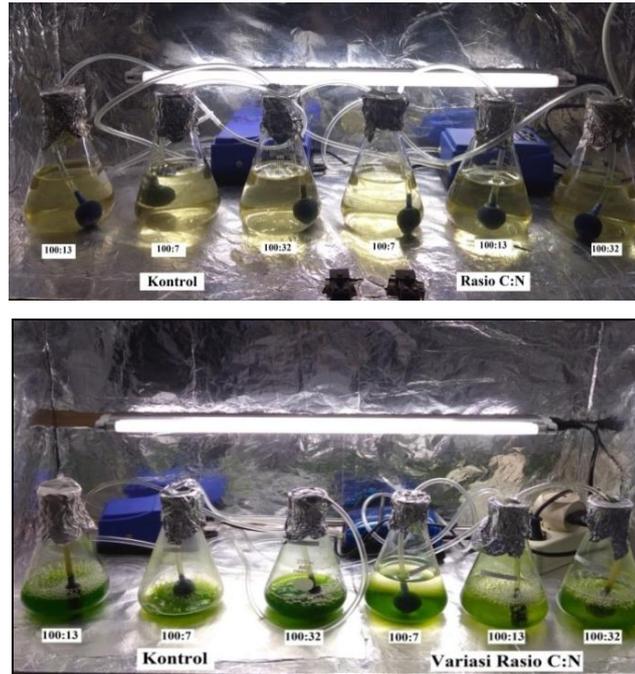
W₁ = berat kertas saring (g)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

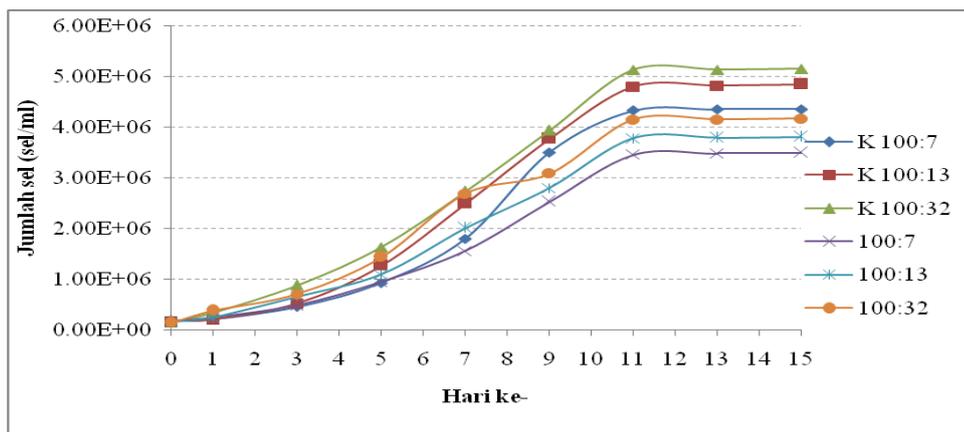
3.1. Pengaruh Rasio C:N dan Panjang Gelombang Cahaya terhadap Jumlah Sel dan *Specific Growth Rate*

Pada variasi rasio C:N perbedaan jumlah sel dapat terlihat pada warna kultur. Setelah dikultivasi selama 15 hari, warna kultur yang ditambahkan limbah pada rasio C:N 100:32 lebih pekat dibandingkan 100:13 dan 100:7. Begitu juga pada kontrol yang tidak ditambahkan limbah, warna terlihat lebih pekat pada rasio C:N 100:32 diikuti oleh 100:13 dan 100:7 yang dapat dilihat pada Gambar 2.

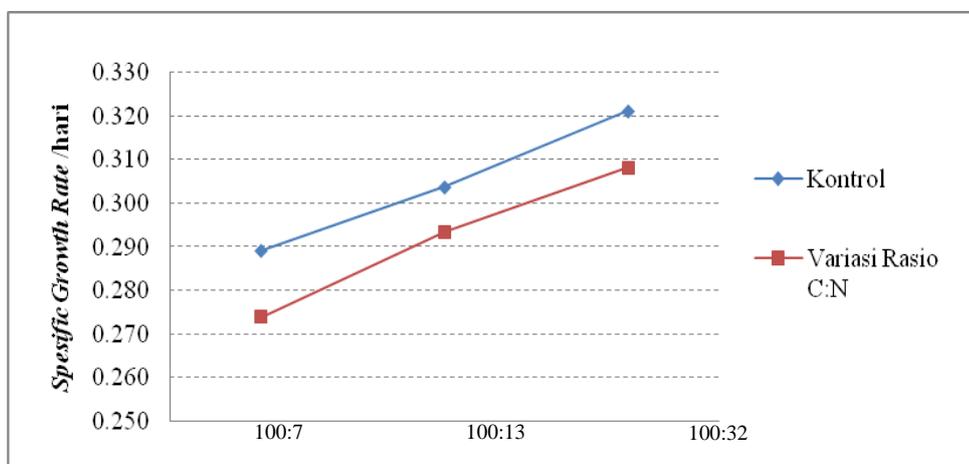
Pada Gambar 3 dan 4, jumlah sel *Chlorella sp.* pada variasi rasio C:N yang dikultur pada medium limbah mengalami fase *lag* pada hari ke-0 hingga hari ke-1. Begitu pula dengan kontrol tanpa menggunakan limbah, *Chlorella sp.* mengalami fase *lag* pada hari ke-0 hingga hari ke-1. Wang dkk (2009) mengatakan bahwa *Chlorella sp.* dapat beradaptasi dengan baik pada limbah domestik, bahkan tanpa mengalami fase *lag*. Menurut Hadiyanto dan Azim (2012) fase *lag* adalah fase adaptasi mikroalga dalam medium baru. Pada tahap ini mikroalga membutuhkan waktu untuk menyesuaikan diri karena lingkungan media cenderung berbeda dari lingkungan sebelumnya. Selama masa adaptasi sel alga lebih sensitif terhadap nutrien, temperatur, dan kondisi yang berbeda dari kondisi aslinya.



Gambar 2. Perubahan Warna Sebelum dan Sesudah Kultivasi Variasi Rasio C:N



Gambar 3. Pengaruh Rasio C:N terhadap Jumlah Sel *Chlorella sp*



Gambar 4. Specific Growth Rate pada Variasi Rasio C:N

Fase eksponensial atau fase *log* terjadi pada hari ke-3 hingga hari ke-9 baik pada medium yang dicampur limbah dan kontrol. Fase ini ditandai dengan terjadinya pertumbuhan sel yang cepat, sel membelah dengan laju konstan, dan keadaan pertumbuhan seimbang antara *supply* makanan dan kenaikan jumlah sel. Pada hari ke-11 mikroalga mengalami fase *declining relative growth* dimana pada fase tersebut mikroalga telah mencapai tahap populasi maksimum, karenaketersediaan makanan pada medium menjadi berkurang. Selain itu, fase *declining relative growth* juga dapat dipengaruhi oleh jumlah sel yang semakin banyak sehingga dapat menghalangi cahaya masuk ke medium. Pada hari ke-13 hingga hari ke-15 mikroalga mengalami fase stasioner. Fase stasioner adalah fase dimana jumlah sel pada pertumbuhan mikroalga relatif konstan dan jumlah nutrisi pada medium berkurang (Price dan Farag, 2013).

Pada akhir masa kultivasi, jumlah sel tertinggi dalam medium yang dicampur dengan limbah dicapai pada C:N 100:32, yaitu $4,17 \times 10^6$ sel/ml dengan *specific growth rate* 0,308/hari dan jumlah sel terendah pada C:N 100:7, yaitu $3,49 \times 10^6$ sel/ml dengan *specific growth rate* 0,274/hari. Sedangkan pada medium kontrol yang tidak ditambahkan limbah, jumlah sel tertinggi adalah pada C:N 100:32, yaitu $5,15 \times 10^6$ sel/ml dengan *specific growth rate* 0,321/hari dan jumlah sel terendah adalah pada C:N 100:7, yaitu $4,17 \times 10^6$ sel/ml dengan *specific growth rate* 0,289/hari. Jumlah sel pada kontrol lebih besar karena kontrol hanya menggunakan sumber nutrisi sederhana sehingga dapat langsung digunakan dalam metabolisme (Sharma dkk, 2015). Sementara pada medium yang dicampur limbah terdapat bermacam zat organik dan anorganik (seperti Fe, Mg, P, Ca, K) dimana dibutuhkan konsentrasi tertentu agar mikroalga dapat tumbuh baik (Lam dan Lee, 2011).

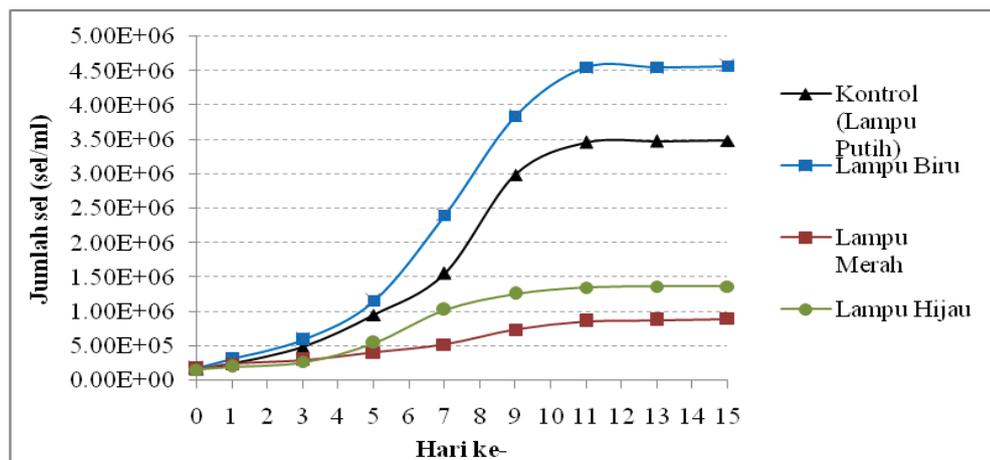
Jumlah sel pada C:N 100:32 lebih tinggi dibandingkan dengan C:N 100:13 dan 100:7, karena menurut Irhamny dkk (2014) semakin tinggi penambahan nitrogen maka jumlah sel akan semakin tinggi. Hal ini juga didukung oleh Nigam dkk (2011) yang mengatakan bahwa mikroalga tidak dapat tumbuh tanpa nitrogen dan pertumbuhannya berbanding lurus dengan konsentrasi nitrogen dalam medium.

Setelah didapatkan rasio C:N terbaik, maka dilakukan upaya peningkatan lipid dengan variasi panjang gelombang dengan menggunakan warna lampu berbeda. Warna lampu yang digunakan adalah putih (380-750 nm) sebagai kontrol, biru (450-495 nm), hijau (495-570 nm), dan merah (620-750 nm). Pada Gambar 5 menunjukkan bahwa *Chlorella sp.* mengalami fase *lag* pada hari ke-0 hingga hari ke-1. Pada hari ke-3 hingga hari ke-9 sel mengalami fase eksponensial yang ditandai dengan meningkatnya jumlah sel secara cepat. Pada hari ke-11 jumlah sel tidak

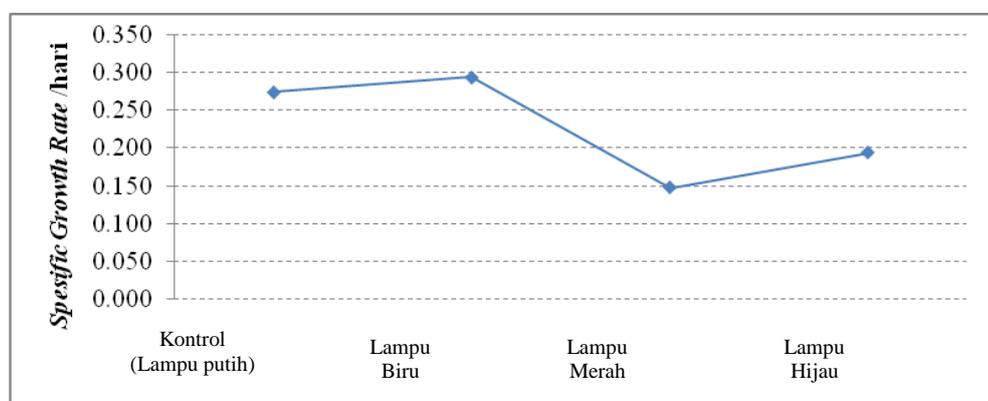
Dikirim/submitted: 13 Juni 2019

Diterima/accepted: 5 Juli 2019

bertambah secara signifikan yang berarti *Chlorella sp.* telah mencapai pertumbuhan maksimum atau berada pada fase *declining relative growth* (Price dan Farag, 2013). Kemudian pada hari ke-13 hingga hari ke-15 sel mengalami fase stasioner. Pada Gambar 6, Jumlah sel mikroalga *Chlorella sp.* tertinggi adalah pada kultivasi yang menggunakan lampu biru (450-495 nm) mencapai $4,57 \times 10^6$ sel/ml dengan *specific growth rate* 0,294/hari. *Chlorella sp.* yang dikultivasi menggunakan lampu merah (620-750 nm) mengalami pertumbuhan sel yang paling rendah jika dibandingkan dengan lampu hijau dan biru, dengan jumlah sel $9,00 \times 10^5$ sel/ml dan *specific growth rate* 0,194/hari.



Gambar 5. Pengaruh Panjang Gelombang terhadap Jumlah Sel

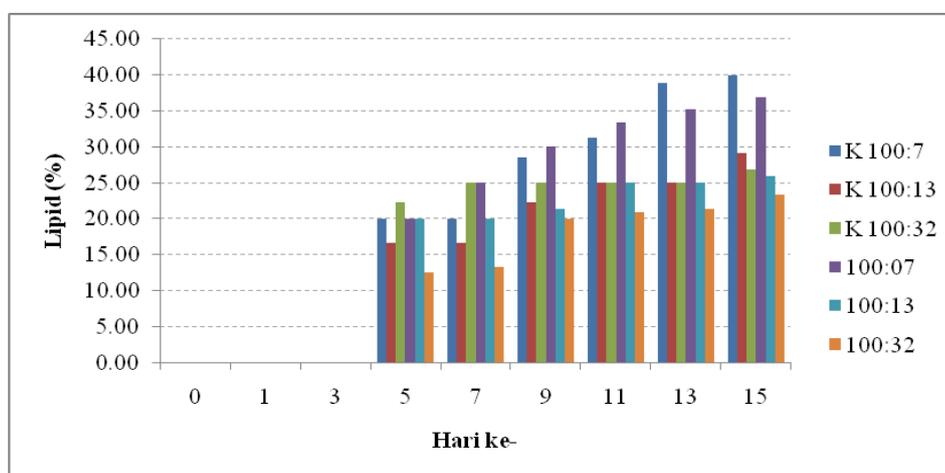


Gambar 6. Spesific Growth Rate pada Variasi Panjang Gelombang

Asuthkar dkk (2016) mengatakan bahwa lampu biru memiliki panjang gelombang terpendek dibandingkan warna lampu lainnya, yaitu 450-495 nm. Panjang gelombang yang pendek menghasilkan energi yang besar. Besarnya energi mempengaruhi pembelahan sel sehingga jumlah sel mikroalga dapat meningkat dengan cepat. Perez-Pazos dan Pablo (2011) mengatakan bahwa warna lampu biru dapat memberikan penetrasi cahaya lebih dalam sehingga meningkatkan jumlah sel dan densitas sel mikroalga.

3.2. Pengaruh Rasio C:N terhadap Produksi Lipid

Pada akhir kultivasi, *Chlorella sp.* yang dikultivasi menggunakan limbah mengalami peningkatan lipid. Kandungan lipid tertinggi dihasilkan pada rasio C:N 100:7 diikuti oleh 100:13 dan 100:32, yaitu 36,84%, 25,93%, dan 23,33% (Gambar 7). Pada penelitian ini peningkatan kandungan lipid berbanding terbalik dengan jumlah sel. Kandungan lipid tertinggi dihasilkan pada rasio C:N 100:7 dimana pada rasio tersebut jumlah sel yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan rasio 100:13 dan 100:32. Peningkatan lipid pada kondisi kekurangan nitrogen sesuai dengan penelitian Putri (2012), yang melaporkan bahwa kandungan lipid tertinggi *Chlorella sorokiniana* juga dihasilkan pada rasio C:N 100:7. Pada penelitian Fakhry dkk (2015) juga menghasilkan lipid tertinggi pada kondisi mikroalga *Nannochloropsis salina* kekurangan nitrogen.



Gambar 7. Pengaruh Rasio C:N terhadap Produksi Lipid

Nitrogen merupakan makronutrien penting yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme lipid (Fakhry dkk, 2015). Meningkatnya kandungan lipid pada kondisi kekurangan nutrisi disebabkan oleh laju produksi komponen sel yang rendah, tetapi produksi minyak tetap tinggi. Lingkungan stres seperti kurangnya nitrogen menyebabkan pembelahan sel terhambat, tetapi tidak memperlambat produksi minyak (Irhamny dkk, 2014).

Pada kondisi kekurangan nitrogen, sel mikroalga menjadi lebih sensitif terhadap kondisi lingkungannya, sehingga sel mikroalga memodifikasi *biosynthetic pathway* untuk memproduksi dan mengakumulasi lipid netral, umumnya dalam bentuk *triacylglycerol* atau TAG (Binnal dan Babu, 2017; Fakhry dkk, 2015). Hu dkk (2008) dan Taggar dkk (2015) menjelaskan ketika pertumbuhan alga terhambat, alga tidak mensintesis nutrisi untuk pertumbuhan selnya melainkan sel mengalihkan dan menyimpan asam lemak untuk diubah menjadi TAG. Pada kondisi pertumbuhan normal, ATP dan NADPH yang diproduksi dari fotosintesis digunakan untuk pertumbuhan

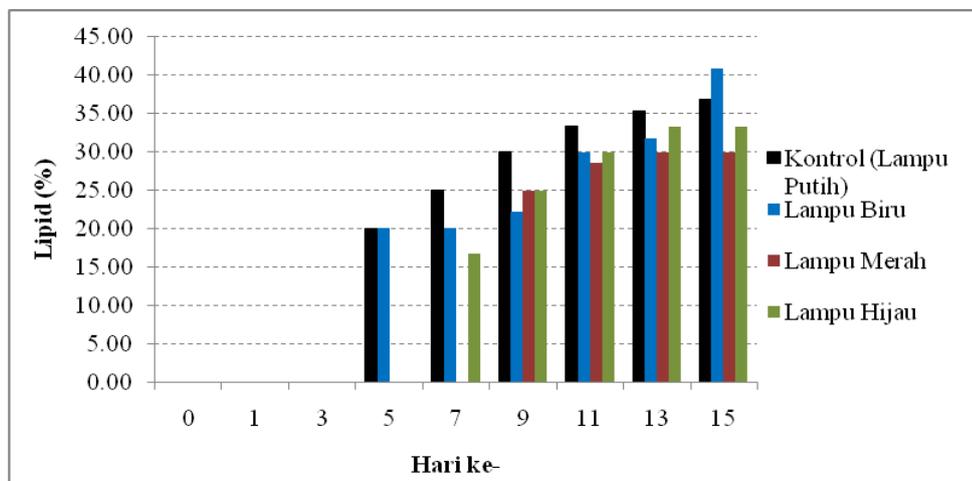
biomassa. Dalam siklus fotosintesis ADP dan NADP^+ yang diubah menjadi ATP dan NADPH dapat terbentuk kembali. Pada keadaan pertumbuhan yang terganggu karena kekurangan nutrisi, aseptor elektron utama untuk fotosintesis, yaitu NADP^+ dapat menjadi habis. Hal ini dapat menyebabkan kerusakan sel mikroalga. Dengan demikian NADPH dikonsumsi dalam biosintesis asam lemak sehingga terjadi peningkatan produksi asam lemak yang kemudian digunakan untuk membentuk TAG, sehingga NADP^+ dapat terbentuk kembali.

Selain itu Lari dkk (2012) dan Yodsuwan dkk (2017) menjelaskan bahwa pada kondisi konsentrasi nitrogen yang kecil mikroalga akan mensintesis karbon terlebih dahulu melalui proses glikolisis. Hasil dari glikolisis akan membentuk *glyceraldehid-3-phosphate* (G3P) yang selanjutnya diubah menjadi piruvat dan *acetyl co-A*. Selain itu pada kondisi mikroalga kekurangan nitrogen, kandungan pada membran tilakoid menurun sehingga enzim *acyl hydrolase* teraktivasi dan terjadi hidrolisis fosfolipid yang meningkatkan asam lemak *acetyl co-A*. Kemudian enzim *diacylglycerol acyltransferase*, yaitu enzim untuk mengubah *acetyl co-A* menjadi lipid juga teraktivasi sehingga kandungan lipid menjadi meningkat.

3.3. Pengaruh Panjang Gelombang Cahaya terhadap Produksi Lipid

Pada variasi panjang gelombang cahaya, produksi lipid *Chlorella sp.* semakin meningkat setelah dikultivasi selama 15 hari. Kandungan lipid tertinggi dicapai pada kultivasi menggunakan lampu biru, yaitu 40,91% (Gambar 8). Penelitian yang dilakukan oleh Asuthkar dkk (2016) juga menghasilkan lipid tertinggi pada kultivasi *Chlorella pyrenoidosa* menggunakan lampu biru. Kandungan lipid yang didapatkan 1,07 mg/g berat kering. Penelitian Wong dkk (2016) yang menggunakan mikroalga *Chlorella vulgaris* mendapatkan hasil peningkatan lipid tertinggi pada kultivasi menggunakan lampu biru sebesar 34,06%. Meningkatnya kandungan lipid pada kondisi kekurangan nutrisi disebabkan oleh laju produksi komponen sel yang rendah, tetapi produksi minyak tetap tinggi. Lingkungan stress seperti kurangnya nitrogen menyebabkan pembelahan sel terhambat, tetapi tidak memperlambat produksi minyak (Irhamny dkk, 2014). Pada variasi panjang gelombang cahaya berbeda, kandungan lipid yang dikultivasi menggunakan lampu biru lebih tinggi, hal ini dijelaskan dalam penelitian Perez-Pazos dan Pablo (2011) serta Asuthkar dkk (2016) lampu berwarna biru memiliki panjang gelombang terpendek (450-495 nm) dibandingkan lampu putih (380-750 nm), lampu merah (620-750 nm), dan lampu hijau (495-570 nm). Energi yang besar dapat meningkatkan penetrasi cahaya yang masuk ke dalam sel dan mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Selain itu, Wong dkk (2016) menjelaskan bahwa lampu berwarna biru mempengaruhi

aktivitas enzim (*ribulose biphosphate, carboxylase/oxygenase* dan *carbonic anhydrase*) sehingga memicu akumulasi lipid.



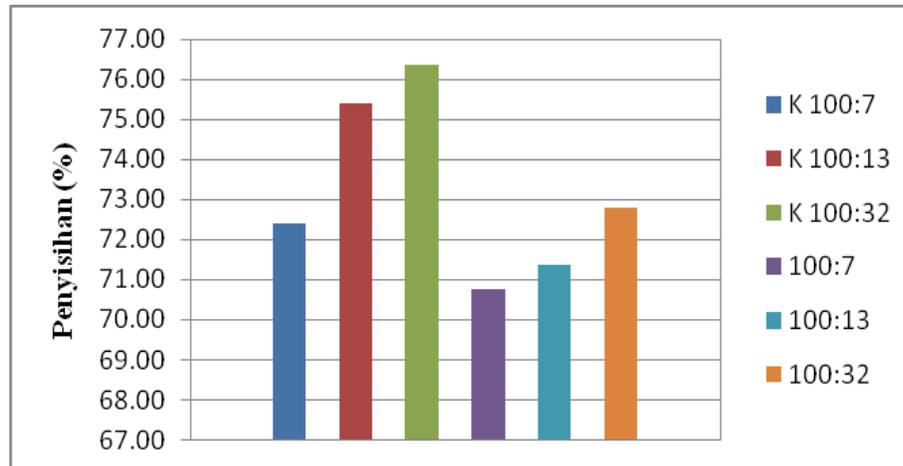
Gambar 8. Pengaruh Panjang Gelombang terhadap Produksi Lipid

3.4. Penyisihan Nutrien dalam Medium

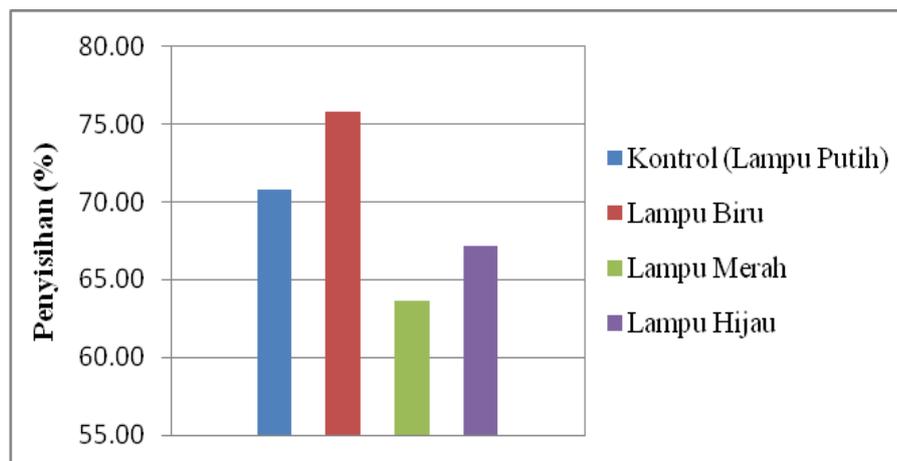
Pada akhir kultivasi, konsentrasi karbon pada medium yang ditambahkan mengalami penurunan menjadi 50,28 mg/l, 45,82 mg/l, dan 42,20 mg/l pada rasio C:N 100:7, 100:13, dan 100:32 dari konsentrasi awal 172 mg/l, 160 mg/l, dan 155 mg/l. Sedangkan pada medium yang tidak ditambahkan limbah atau kontrol mengalami penurunan konsentrasi karbon menjadi 29 mg/l, 27,05 mg/l, dan 25,53 mg/l pada rasio C:N 100:7, 100:13, dan 100:32 dari konsentrasi awal 105 mg/l, 110 mg/l, dan 108 mg/l. Efisiensi penyisihan konsentrasi karbon (Gambar 9) tertinggi adalah pada medium yang tidak ditambahkan limbah atau kontrol, yaitu 72,38%, 75,41%, dan 76,36% pada rasio C:N 100:7, 100:13, dan 100:32. Pada medium yang ditambahkan limbah efisiensi penyisihan hanya 70,77%, 71,36%, dan 72,77% pada rasio C:N 100:7, 100:13, dan 100:32. Hasil ini juga didapatkan pada penelitian Putri (2012), pada penelitiannya dijelaskan bahwa tidak semua sumber karbon dapat di metabolisme oleh alga, melainkan sumber karbon sederhana seperti glukosa lebih mudah untuk dimanfaatkan mikroalga dibandingkan dengan sumber karbon kompleks yang berasal dari limbah.

Pada variasi panjang gelombang (Gambar 10), konsentrasi karbon dalam medium berkurang menjadi 50,28 mg/l, 38,23 mg/l, 56,40 mg/l, dan 52,56 mg/l pada kultivasi menggunakan lampu putih (kontrol), biru, merah, dan hijau. Hal ini menunjukkan bahwa mikroalga dapat menggunakan karbon organik sebagai sumber nutrisi (Li dkk, 2011). Pada penelitian ini penurunan konsentrasi karbon terbesar yaitu pada variasi yang menghasilkan densitas sel tinggi, yaitu rasio C:N 100:32 dan variasi panjang gelombang menggunakan lampu biru (450-495 nm). Namun jika dibandingkan

pada penelitian Putri (2012) penyisihan karbon tertinggi adalah pada variasi rasio C:N 100:7 sebesar 58,5%. Hal ini sesuai dengan penelitian Malla dkk (2015) yang menunjukkan bahwa semakin tinggi jumlah kepadatan sel alga atau densitas alga maka penurunan konsentrasi parameter semakin baik.



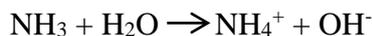
Gambar 9. Efisiensi Penyisihan Karbon pada Variasi Rasio C:N



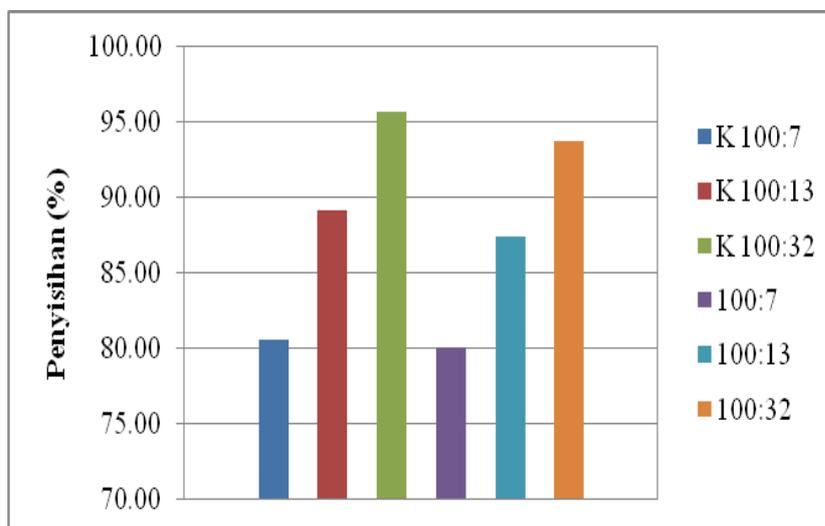
Gambar 10. Efisiensi Penyisihan Karbon pada Variasi Panjang Gelombang

Nitrogen adalah salah satu unsur pembentuk komponen intraseluler alga. Kandungan nitrogen pada medium menjadi penting, apabila nitrogen tidak tersedia maka sintesis protein tidak dapat dilakukan. Selain itu, unsur makronutrien ini memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan metabolisme mikroalga (Lari dkk, 2016). Pada alga, nitrogen yang digunakan dapat berasal dari nitrat, nitrit, dan ammonium. Namun sumber nitrogen yang dapat langsung digunakan dalam proses pembentukan protein dari asam amino adalah ammonium sehingga nitrat dan nitrit harus dikonversi

terlebih dahulu menjadi ammonium, sesuai dengan reaksi berikut (Said dan Sya'bani, 2014; Whitton dkk, 2015):



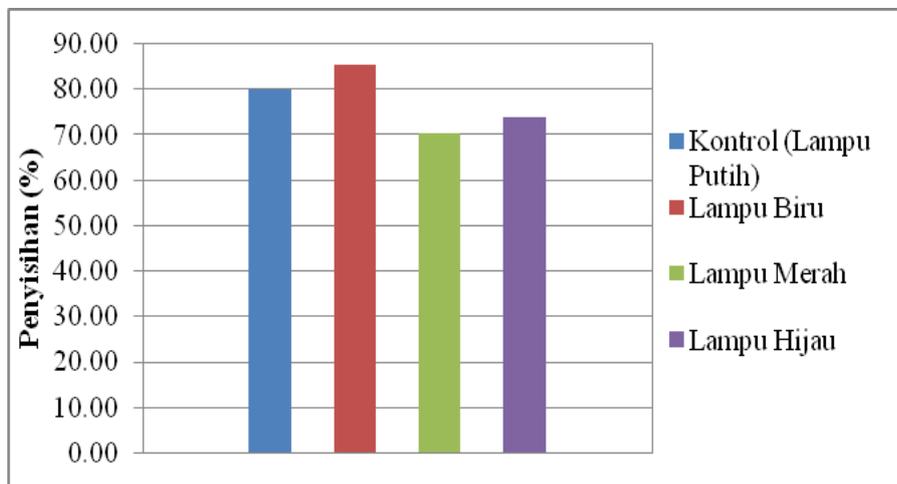
Konsentrasi nitrogen akhir pada medium yang ditambahkan limbah adalah 3 mg/l, 2,66 mg/l, dan 2,50 mg/l pada rasio C:N 100:7, 100:13, dan 100:32 dengan efisiensi penyisihan (Gambar 11) sebesar 80,04%, 87,45%, dan 43,75%. Pada medium yang tidak ditambahkan limbah, konsentrasi nitrogen juga mengalami penurunan menjadi 1,68 mg/l, 1,57 mg/l, dan 1,43 mg/l pada rasio C:N 100:7, 100:13, dan 100:32 dengan efisiensi penyisihan sebesar 80,56%, 89,18%, dan 95,67%. Penyisihan nitrogen pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Wang dkk (2009) yang mengatakan bahwa kultivasi *Chlorella vulgaris* pada limbah domestik mampu menyisihkan nitrogen hingga 100%. Pada penelitian Putri (2012), rasio C:N 100:32 juga memberikan efisiensi tertinggi dalam penyisihan nitrogen.



Gambar 11. Efisiensi Penyisihan Nitrogen pada Variasi Rasio C:N

Pada variasi panjang gelombang konsentrasi nitrogen pada kultivasi menggunakan lampu putih (kontrol), biru, merah, dan hijau mengalami penurunan menjadi 3 mg/l, 2,12 mg/l, 4,98 mg/l, dan 4,20 mg/l dengan efisiensi penyisihan 80,04%, 85,58%, 70,37%, dan 73,82% ditunjukkan pada Gambar 12. Penyisihan nitrogen tertinggi adalah pada kultivasi yang menghasilkan jumlah sel terbesar, yaitu kultivasi menggunakan lampu biru. Hal ini sesuai yang dikemukakan oleh Zhang dkk (2008) bahwa semakin tinggi jumlah sel maka efisiensi penyisihan bahan organik akan semakin

tinggi. Penyisihan nutrien dalam medium berkaitan dengan peningkatan jumlah sel dalam medium. Pada saat jumlah sel mikroalga meningkat maka kandungan nutrien dalam medium turut berkurang karena mikroalga dapat memanfaatkan nutrien untuk pertumbuhannya (Mostafa dkk, 2012).



Gambar 12. Efisiensi Penyisihan Nitrogen pada Variasi Panjang Gelombang

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah rasio C:N terbaik dalam meningkatkan kandungan lipid *Chlorella sp.* adalah 100:7 dengan kandungan lipid sebesar 36,84% pada rasio C: N 100: 7 dan kandungan lipid meningkat menjadi 40,91% pada kultivasi menggunakan lampu biru (450-495 nm). Mikroalga *Chlorella sp.* mampu menyisihkan karbon dan nitrogen di dalam medium dengan efisiensi tertinggi 72,77% dan 75,80% pada rasio 100:32 serta 93,75% dan 85,58% pada kultivasi menggunakan lampu biru (450-495 nm).

DAFTAR PUSTAKA

- Acevedo, S., Pino, N.J dan Penuela, G.A. (2017). Biomass Production of *Scenedesmus sp* and Removal of Nitrogen and Phosphorus in Domestic Wastewater. *Ingenieria Y Competitividad*, 19(1), 177-185.
- Al-Kayyis, H.K dan Susanti, H. (2016). Perbandingan metode Somogyi-Nelson dan Anthrone-Sulfat pada Penetapan Kadar Gula Pereduksi dalam Umbi Cilembu. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 13(2), 81-89.
- Asuthkar, M., Gunti, Y., Rao S.G., Rao, C.S.dan Yadavalli, R. (2016). Effect of Different Wavelengths of Light on the Growth of *Chlorella pyrenoidosa*, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(2), 847-851.

- Braunwald, T., Schwemmlin, L., Graeff-Honninger, S., French, WT, Hernandez, R., Holmes, W.E dan Claupein, W. (2013). Effect of different C/N-ratios on carotenoid and lipid production by *Rhodotorula glutinis*. *Appl Microbial Biotechnol*, 97, 6581-6588.
- Binnal, P dan Babu, P. N. (2017). Statistical Optimization of Parameters Affecting Lipid Productivity of Microalgae *Chlorella protothecoides* Cultivated in Photobioreactor Under Nitrogen Starvation. *South African Journal of Chemical Engineering*, 23, 26-37.
- Chiu, S.Y., Kao, C., dan Chen, T. (2015). Cultivation of Microalgal *Chlorella* for Biomass and Lipid Production Using Wastewater as Nutrient Resource. *Bioresource Technology*, 184, 179-189.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from Microalgae. *Biotechnol Adv*, 25, 294-306.
- Cho, SC., Choi, WY, Oh, SH., Lee, CG., Seo, YC., Kim, JS., Song, CH., Kim, GV., Lee, SY., Kang, DH., dan Lee., HY. (2011). Enhancement of Lipid Extraction from Marine Microalgae Associated with high-pressure homogenization process, *J Biomed Biotechnol*.
- Converti, A., Alessandro, A., Cassaza, E.Y.O., Patrizia, P., Marco, D.B. (2009). *Chemical Engineering and Processing: Process*.
- Daniyati, R., Yudoyono, G., Rubiyanto, A. (2012). Desain *Closed Photobioreaktor Chlorella Vulgaris* Sebagai Mitigasi CO₂, 1, 1-5. *Jurnal Sains dan Seni*.
- Fakhry, E.M. dan El Maghraby, D.M. (2015). Lipid Accumulation in Response to Nitrogen Limitation and Variation of Temperature in *Nannochloropsis salina*. *Botanical Studies*, 56(6), 1-8.
- Hadiyanto dan Maulana, A. (2012). *Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan*. Semarang: UPT UNDIP Press.
- Ho, SH., Chen, YD., Chang, CY., Lai, YY., Chen, CY., Kondo, A., Ren, NQ., Chang, JS. (2017). Feasibility of CO₂ Mitigation and Carbohydrate Production by Microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N used for Bioethanol Fermentation Under Outdoor Conditions: Effects of Seasonal Changes. *Biotechnology for Biofuels*, 10(27), 1-13.
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., dan Darzins, A. (2008). Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. *Plant Journal*, 54, 621-639.
- Irhamny, E dan Viena, V. (2014). Kultivasi Mikroalga Hijau Pada Sumber Nitrogen Berbeda Untuk Ekstraksi Lipida. *Jurnal Purifikasi*, 14(2), 99-105.

- Lam, M. K., dan Lee, K. T. (2011). Renewable and Sustainable Bioenergies Production from Palm Oil Mill Effluent (POME): Win-Win Strategies Toward Better Environmental Protection. *Biotechnol Adv*, 29, 124-141.
- Lari, Z., Moradi-Kheibari, N., dan Ahmadzadeh, H., Abrishamchi, P., Moheimani, N.R., Murry, M.A. (2016). Bioprocess Engineering of Microalgae to Optimize Lipid Production Through Nutrient Management. *Journal of Applied Phycology*, 26(6), 3235-3250.
- Leesing, R., Thidarat P, dan Mutiyaporn P. (2014). Effect of Nitrogen and Carbon Source on Growth and Lipid Production from Mixotrophic Growth of *Chlorella sp.* *International Journal of Biotechnology and Bioengineering*, KKU-S2, 8(4).
- Liang, H.M., Wu, N., Lan, C.Q., dan Dubois-Calero, N. (2012). Biofuels from Microalgae. *Biotechnology Progress*, 24 (4), 815–820.
- Malla, F.A., Khan, S.A., Rashmi., Sharma, G.K., Gupta, N., dan Abraham, G. (2015). Phycoremediation potential of *Chlorella minutissima* on primary and tertiary treated wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Ecological Engineering*, 75, 343–349.
- Martin-Juarez, J., Markou, G., Muylaert, K., Lorenzo-Hernando, A., dan Balado, S. (2017). Breakthroughs in Bioalcohol Production from Microalgae: Solving the Hurdles. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*, 183-207.
- Martono, H., Besmanto, N., Anwar, A dan Sukar. (2006). Tingkat Efektivitas Instalasi Pengolahan Limbah Cair Hotel-hotel di Yogyakarta. *Bul. Penel.Kesehatan*, 34(1), 37-45.
- Mostafa, Soha., Emad, S dan Mahmoud, G.I. (2012). Cultivating Microalgae in Domestik Wastewater for Biodiesel Production. *Notulae Scientia Biologicae*, 4(1), 56-65.
- Nigam, P. S. dan Singh, A. (2011). Production of Liquid Biofuels from Renewable Resources. *Progress in Energy and Combustion Science*, 37, 52-68.
- Ogbonna, I.O., dan Ogbonna, J.C (2018). Effects of Carbon Source on Growth Characteristics and Lipid Accumulation by Microalga *Dictyosphaerium sp.* with Potential for Biodiesel Production. *Energy and Power Engineering*, 10, 29-42.
- Perez-Pazos, JV dan Fernandez-Izquierdo, P. (2011). Synthesis of Neutral Lipids in *Chlorella sp* Under Different Light and Carbonate Conditions). *Ciencia, Tecnologia y Futuro*, 4(4), 47-58.
- Pertamawati. (2010). Pengaruh Fotosintesis terhadap Pertumbuhan Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) dalam Lingkungan Fotoautotrof secara *Invitro*. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 12(1), 31-37.

- Price, K dan Ihab, H. F. (2013). Resources Conservation in Microalgae Biodiesel Production. *International Journal of Engineering and Technical Research*, 1(8), 49-56.
- Putri, E.V. (2012). Cultivation of Microalgae Using Palm Oil Mill Effluent for Lipid Production, Thesis, Faculty of Civil Engineering, Universiti Teknologi Malaysia.
- Romayanto, M.E.W., Wiryanto, dan Sajidan. (2006). Pengolahan Limbah Domestik dengan Aerasi dan Penambahan Bakteri *Pseudomonas putida*. *Bioteknologi*, 3(2), 42-49.
- Said, N.I dan Sya'bani, M.R. (2014). Penghilangan Amoniak di Dalam Air Limbah Domestik dengan Proses *Moving Bed Biofilm Reactor* (MBBR). *JAI*, 7(1), 44-65.
- Sharma, A.K., Sahoo, P.K dan Singhal, S. (2015). Influence of Different Nitrogen and Organic Carbon Sources on Microalgae Growth and Lipid Production. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 10(1), 48-53.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., dan Isambet, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101 (2), 87–96.
- Sriram, S dan Seenivasan, R. (2012). Microalgae Cultivation in Wastewater for Nutrient Removal. *J Algal Biomass Utiln*, 3(2), 9-13.
- Taggar, M.S., Singh, I dan Sooch, S.S. (2015). Lipid Accumulation in Microalgae and its Induction Under Different Stress Conditions for Biodiesel Production. *Impending Power Demand and Innovative Energy Paths*, 222-228.
- Wang, L., Min, M., Li, Y., Chen, P., Chen, Y., Liu, Y., Wang, Y., dan Ruan, R. (2009). Cultivation of Green Algae *Chlorella sp* in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant. *Appl Biochem Biotechnol*, 162(4), 1174-1186.
- Whitton, R., Ometto, F., Pidou, M., Jarvis, P., Villa, R., dan Jefferson, B. (2015). Microalgae for Municipal Wastewater Nutrient Remediation: Mechanism, Reactors, and Outlook for Tertiary Treatment. *Journal of Environmental Technology Review*, 4(1), 133-148.
- Widjaja, A., Chien, CC dan Ju, YS. (2009). Study of Increasing Lipid Production from Fresh Water Microalgae *Chlorella vulgaris*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 40, 13-20.
- Wong, Y.K., Ho, Y.H., Ho, K.C., Leung, H.M., Chow, K.P., dan Yung, K.K.L. (2016). Effect of Different Light Sources on Algal Biomass and Lipid Production in Internal Leds-Illuminated Photobioreactor, 2(2), 1-8. Leds-Illuminated Photobioreactor. *Journal of Marine Biology and Aquaculture*, 2(2), 1-8.
- Yang, YC., Jian, JF, Kuo, CM., Zhang, WX., dan Lin, CS. (2017). Biomass and Lipid Production of *Chlorella sp.* using Municipal Wastewater under Semi-continuous Cultivation.

International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering, 101 (3).

Yodsuwan, N., Sawayama, S dan Sirisansaneeyakul, S. (2017). Effect of Nitrogen Concentration on Growth, Lipid Production, and Fatty Acid Profiles of the Marine Diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Agriculture and Natural Resources*, 51, 190-197.

Yoo, Chan., Jun, SY., Lee, JY., Ahn, CY., dan Oh, HM. (2010). Selection of Microalgae for Lipid Production Under High Levels Carbon Dioxide. *Bioresource Technology*, 101, 571-574.

Zhang, E., Wang, B., Wang, Q., Zhang, S., dan Oh, HM. (2008). Ammonia-Nitrogen and Orthophosphate Removal by Immobilized Isolated from Municipal Wastewater for Potential Use in Tertiary Treatment. *Bioresource Technology*, 99, 3787-3793.