

KERAGAMAN DAN KARAKTERISASI MIKROALGA DARI SUMBER AIR PANAS CIWALINI YANG BERPOTENSI SEBAGAI SUMBER BIODISEL

Gunawan

Program Studi Biologi FMIPA Unlam, Banjarbaru
Email: gunawan_unlam@yahoo.com

ABSTRACT

The objectives of the research were to obtain specific microalgae that are able to produce high lipid, and to determine suitable culture technique for optimum growth and maximum lipid production. Microalgae were identified, isolated, selected and then grown on IMK medium at 27-29°C under continuous light irradiation for 24 hours. The microalgae were then selected for lipid content using Nile Red. The selected microalgae were then grown under the same medium and condition as before followed by selection based on their growth rate. To find an appropriate medium for specific microalgae, the selected microalgae were then grown on various media such as BG11, Zarrouk, MBM, PHM and BBM media. When a medium was selected, it was then used as the medium for the nitrogen source and light intensity experiments. Those selected microalgae from each location were cultured on the selected medium at different nitrogen concentration (0,5, 1 and 2 M) and different light intensities (35, 70 and 140 $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{sec}$). The result showed that Ciwalini has diversity index (H) 2,21. Identification indicated that ciwalini species was Chlorophyta. In this research maximum growth rate was at 2 M nitrogen concentration with 140 $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{sec}$ light intensity. Lipid content ranged from 11,7% - 28%. The highest lipid content was occurred on media 0,5 M nitrogen concentration and 140 $\mu\text{mol photon/m}^2/\text{sec}$ light intensity. Lipid Productivity ranged from 0,07-0,18 g/l/day.

Key words : microalga, biodiesel, hotspring

PENDAHULUAN

Dengan semakin menipisnya persediaan bahan bakar berbasis fosil, maka diperlukan bahan bakar pengganti yang bersifat terbarukan. Biodiesel merupakan bahan bakar alternatif yang dapat diperoleh dari minyak tumbuhan, lemak binatang, minyak kelapa, minyak jelantah, dan minyak jarak melalui proses transesterifikasi (Felizardo *et al.* 2006).

Biodiesel memberikan sedikit polusi dibandingkan bahan bakar berbasis fosil. Bahan bakar bio lebih mahal dibandingkan bahan bakar yang berbasis fosil, karena harga bahan baku yang mahal. Minyak alami sebagai bahan baku mempengaruhi 60%-70% harga biodiesel (Fukuda *et al.* 2001). Oleh sebab itu diperlukan usaha untuk mencari bahan

baku alternatif sehingga dihasilkan biodisel yang murah.

Mikroalga merupakan tumbuhan tingkat rendah yang memiliki potensi sebagai penghasil bahan baku biodisel. Berdasarkan beberapa penelitian, mikroalga mempunyai kemampuan yang sangat besar untuk menghasilkan minyak alami (lipid), lebih kurang 60% dari berat kering (Sheehan *et al.* 1998), pertumbuhan yang relatif cepat dan tidak memerlukan lahan yang luas untuk menghasilkan biomassa dan lipid (Chisti 2007).

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan kekayaan sumber daya hayati perairan baik jenis maupun jumlah yang sangat melimpah. Salah satu sumber daya hayati tersebut adalah mikroalga. Di Indonesia mikroalga belum banyak dieksplorasi, dan dikaji secara ilmiah sebagai bahan baku pembuatan biodisel. Salah satu karakter yang dijadikan dasar dalam memilih mikroalga untuk kultur skala besar dengan tujuan sebagai bahan baku biodisel adalah tumbuh di lingkungan *extrem*. Mikroalga yang tumbuh di lingkungan *extrem* akan mempunyai kelebihan yaitu tahan terhadap kontaminan (Griffith & Harrison 2008). Salah satu lingkungan *extrem*

adalah sumber air panas yang banyak terdapat di Indonesia.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel mikroalga yang diambil dari sumber air panas Ciwalini, Formalin 4%, *Nile Red*, dan media kultur (IMK, BG 11, Zarrouk, MBM, PHM dan BBM).

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi alat lapangan dan laboratorium. Adapun alat lapangan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut: *plankton net*, *water sampler vertical*, Jerigen (kapasitas 20 L), pH meter, sedangkan alat laboratorium yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut: mikroskop cahaya, mikroskop *fluorescence*, erlenmeyer 500 ml yang dilengkapi dengan aerator, cawan petri, pipet, sentrifuse dan timbangan.

Metode

Pengambilan Sampel Mikroalga

Pengambilan sampel mikroalga dilakukan dengan menyaring 5-10 liter air yang diambil dengan pompa vakum yang telah dilengkapi dengan *milipore*, selanjutnya *milipore* dimasukkan dalam botol falkon.

Identifikasi dan Isolasi Mikroalga

Sampel mikroalga diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor menggunakan mikroskop cahaya dengan bantuan buku identifikasi “*The Freshwater Algae*” karangan G.W. Prescott dan “*Introduction to The Algae*” karangan Harold C. Bold dan Michael J. Wyne.

Isolasi dilakukan untuk mendapatkan isolat yang akan digunakan untuk uji selanjutnya. Tahapan isolasi dilakukan dengan pemurnian sampel pada pengenceran bertingkat. Dari tahapan isolasi kemudian mikroalga diseleksi berdasarkan kecepatan tumbuh. Selanjutnya mikroalga terpilih ditumbuhkan pada beberapa media untuk mengetahui media yang sesuai untuk pertumbuhannya. Mikroalga terpilih kemudian dibiakkan untuk digunakan pada uji selanjutnya.

Keragaman Mikroalga

Data hasil identifikasi dan kelimpahan mikroalga masing-masing lokasi dihitung nilai indeks keanekaragaman Shanon Wiener, dengan rumus:

$$H = - \sum P_i^2 \log P_i$$

H = indeks keanekaragaman Shanon Wiener

P_i = Proporsi spesies ke-1 terhadap jumlah total

Nilai indeks keseragaman pada masing-masing lokasi dihitung dengan rumus:

$$E = \frac{H}{H_{\max}}$$

$H_{\max} = {}^2 \log S$

E = indeks keseragaman

S = jumlah spesies

Nilai indeks dominansi dihitung dengan rumus:

$$Id = \frac{\sum N_i (N_i - 1)}{N(N - 1)}$$

Id = Indeks dominansi

N_i = Jumlah individu jenis ke i

N = Jumlah total individu

Seleksi Mikroalga Berdasarkan Kandungan Lipid

Untuk mengetahui ada tidaknya lipid sebagai cadangan bahan organik yang dihasilkan sel, dilakukan dengan menggunakan pewarna *Nile Red* (NR). Larutan stock NR disiapkan dengan menambahkan 1 mg NR ke dalam 1 ml aseton. Mikroalga diwarnai dengan cara meneteskan 10 µl NR ke dalam 1 ml biakan mikroalga. Proses pewarnaan berlangsung selama 20-30 menit. Sel

mikroalga yang telah diwarnai diambil 1 tetes dan dilektakkan di atas glass objek kemudian diamati dibawah mikroskop *fluorescence*. Isolat yang diketahui mengandung lipid kemudian ditumbuhkan pada media IMK, pada tahapan ini isolat diseleksi lagi berdasarkan kecepatan tumbuh. Hasil akhir pada tahapan ini diperoleh 1 isolat dari masing-masing lokasi penelitian.

Seleksi Media

Seleksi media ini dilakukan dengan tujuan mendapatkan media yang cocok untuk pertumbuhan isolat mikroalga terpilih. Media yang digunakan adalah BG 11, Zarrouk, MBM, PHM dan BBM. Tahapan kultivasi ini dilakukan agar mikroalga terpilih dapat tumbuh dengan baik untuk mendapatkan jumlah dan masa sel yang cukup untuk digunakan pada tahapan uji selanjutnya. Tahapan ini dilakukan dengan menumbuhkan masing-masing isolat pada volume bertingkat yaitu 10 ml, 100 ml, 300 ml dan 500 ml yang dilakukan secara bertahap untuk masing-masing volume media. Setelah stok biakan pada volume media 500 ml mencapai *optical density* (OD) 1.0 atau lebih maka biakan mikroalga siap digunakan untuk uji selanjutnya.

Modifikasi Faktor Lingkungan untuk Pertumbuhan Mikroalga

Uji ini bertujuan untuk mengetahui komposisi media yang tepat terutama konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya yang dapat meningkatkan kandungan lipid mikroalga. Percobaan ini merupakan percobaan faktorial dengan dua faktor yaitu: konsentrasi nitrogen (0,5, 1 dan 2 M) dan intensitas cahaya (35, 70, dan 140 $\mu\text{mol foton/m}^2$ /detik). Percobaan disusun berdasarkan rancangan split plot dengan tiga ulangan. Parameter yang diamati adalah laju pertumbuhan, biomasa, kandungan lipid dan produktivitas lipid. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam pada tingkat kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi dan Isolasi Mikroalga

Proses identifikasi dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dan bantuan buku identifikasi mikroalga. Tahapan isolasi diawali dengan mengisolasi sampel mikroalga dari lokasi penelitian. Dari tahapan isolasi ini didapatkan 8 isolat mikroalga. Setelah isolasi kemudian dilakukan tahapan seleksi.

Keragaman Mikroalga

Pada lokasi Ciwalini indeks keanekaragaman (H) sebesar 2,21 indeks keseragaman (E) 0,85. Semakin kecil nilai indeks keseragaman ($E < 0,4$) semakin besar keanekaragaman spesies dalam populasi (Krebs 1978). Menurut Browner (1990) komunitas dikatakan memiliki keanekaragaman yang tinggi bila terdapat kelimpahan yang sama/hampir sama diantara spesies penyusunnya. Keanekaragaman spesies yang tinggi menunjukkan kompleksnya suatu komunitas dan variasi spesies yang lebih besar.

Seleksi Mikroalga Berdasarkan Kandungan Lipid

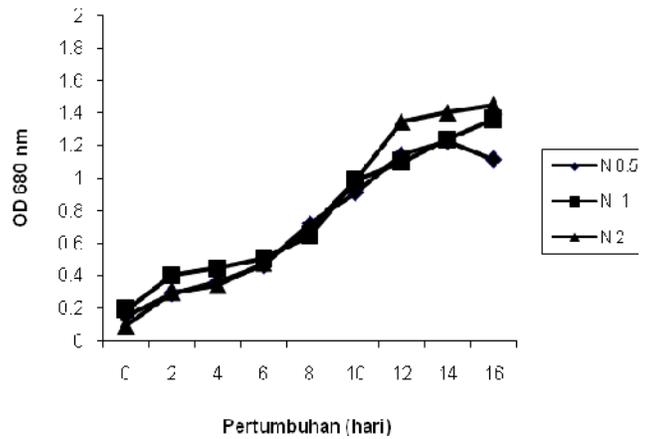
Seleksi yang dilakukan pada 8 isolat mikroalga dengan menggunakan *Nile Red* diketahui 5 isolat mengandung lipid. Carman *et al.* (1991), menyatakan bahwa lipid dan atau minyak yang ada dalam mikroalga yang diwarnai dengan *Nile Red* akan berwarna kuning atau orange terang. Isolat mikroalga yang diketahui mengandung lipid kemudian ditumbuhkan pada media IMK, pada tahapan ini isolat diseleksi lagi berdasarkan kecepatan tumbuh. Pada tahapan ini di dapatkan 1 isolat mikroalga yaitu Ciwalini 03.

Seleksi Media

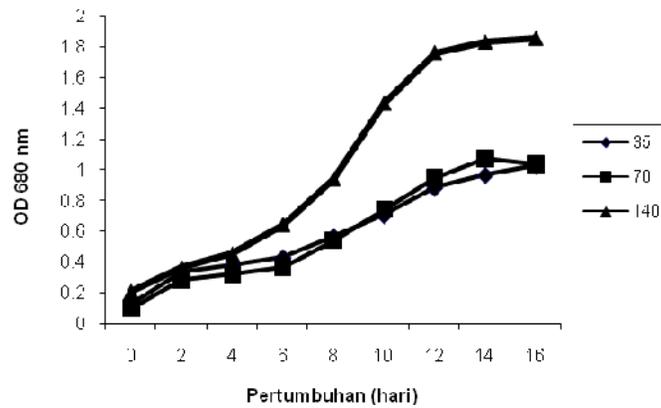
Seleksi media ini dilakukan dengan tujuan mendapatkan media yang cocok untuk pertumbuhan isolat mikroalga terpilih. Media yang digunakan adalah BG 11, Zarrouk, MBM, PHM dan BBM. Pada tahapan ini mikroalga diseleksi berdasarkan kecepatan tumbuh dan kondisi pertumbuhan. Dari seleksi media diketahui bahwa isolat dari Ciwalini tumbuh baik dengan media MBM. Kemudian isolat ditumbuhkan pada media yang sesuai dengan intensitas cahaya 2.500 lux dengan 24 jam fotoperiode pada 27 ± 2 °C. Tahapan kultivasi ini dilakukan agar mikroalga terpilih dapat tumbuh dengan baik untuk mendapatkan jumlah dan masa sel yang cukup untuk digunakan pada tahapan uji selanjutnya.

Modifikasi Faktor Lingkungan untuk - Optimasi Lipid Mikroalga Pertumbuhan

Mikroalga Ciwalini 03 tumbuh baik dengan media MBM, sumber nitrogen adalah NaNO_3 dengan konsentrasi: 0,5 M, 1 M dan 2 M, dengan intensitas cahaya 35, 70 dan 140 $\mu\text{mol foton/m}^2$ /detik. Pola pertumbuhan mikroalga pada berbagai konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya disajikan pada pada Gambar 1.



(a)

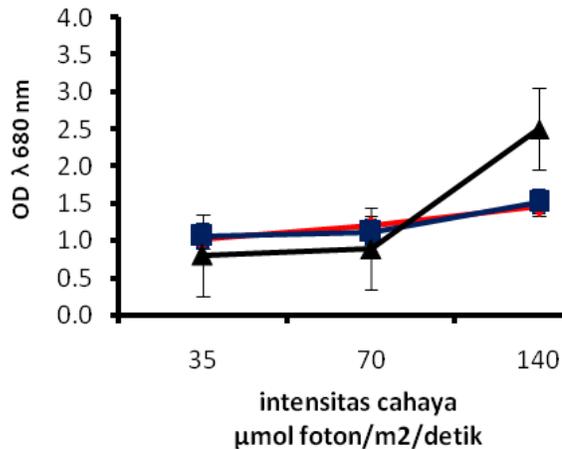


(b)

Gambar 1 Pola pertumbuhan mikroalga Ciwalini 03 pada berbagai konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya (a) konsentrasi nitrogen (0,5, 1, 2 M) (b) intensitas cahaya (35, 70, 140 $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{detik}$).

Sebagaimana organisme lainnya, diartikan bahwa kisaran kebutuhan unsur pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan seperti intensitas cahaya, suhu, salinitas, pH dan unsur hara. Dari gambar diatas respon laju pertumbuhan mikroalga dari empat lokasi terhadap konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya bervariasi. Hal ini dapat diartikan bahwa kisaran kebutuhan unsur pertumbuhan mikroalga dari empat lokasi bergantung pada beberapa faktor termasuk jenis mikroalga. Pada konsentrasi nitrogen 2 M secara umum menghasilkan laju pertumbuhan mikroalga tertinggi sedangkan pada konsentrasi nitrogen 0,5

M secara umum laju pertumbuhan lebih tinggi dibandingkan dengan terhambat. Demikian juga intensitas intensitas cahaya 35 $\mu\text{mol foton/m}^2$ /detik. cahaya 140 $\mu\text{mol foton/m}^2$ /detik secara umum menghasilkan laju pertumbuhan



Gambar 2 Pengaruh konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya terhadap pertumbuhan mikroalga Ciwalini 03

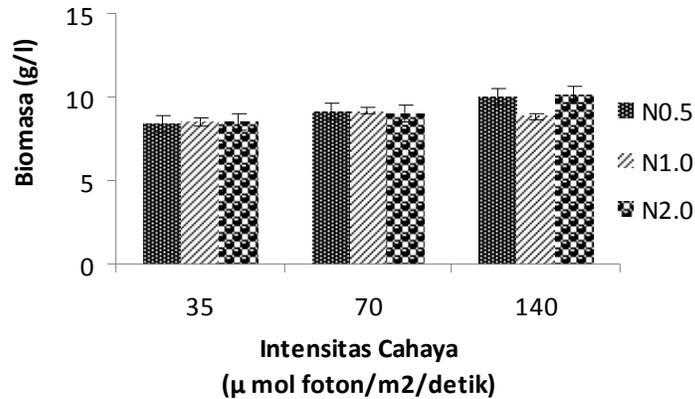
Pada konsentrasi nitrogen 2 M dan intensitas cahaya 140 $\mu\text{mol foton/m}^2$ /detik merupakan pertumbuhan tertinggi. Sedangkan pada konsentrasi nitrogen rendah 0,5 M dan intensitas cahaya 35 $\mu\text{mol foton/m}^2$ /detik memiliki laju pertumbuhan yang rendah. Hal ini dapat diartikan bahwa kebutuhan hara yang tercukupi dan faktor lingkungan yang mendukung akan menghasilkan laju pertumbuhan yang baik. Di mana unsur hara akan dimanfaatkan mikroalga sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya. Hal ini sesuai dengan Bold dan Wyne (1985), yang menyatakan bahwa nitrogen

adalah komponen yang penting sebagai sumber nutrisi mikroalga untuk pertumbuhannya. Intensitas cahaya yang mencukupi akan menghasilkan laju pertumbuhan yang baik, dimana intensitas cahaya akan berpengaruh pada proses fotosintesis mikroalga. Selain ketersediaan nutrien, laju pertumbuhan mikroalga juga berhubungan dengan proses biokimia yang terjadi di dalam sel mikroalga.

Biomasa

Analisis interaksi faktor nitrogen dan cahaya dilakukan untuk mengetahui

kondisi yang dapat meningkatkan biomasa mikroalga.



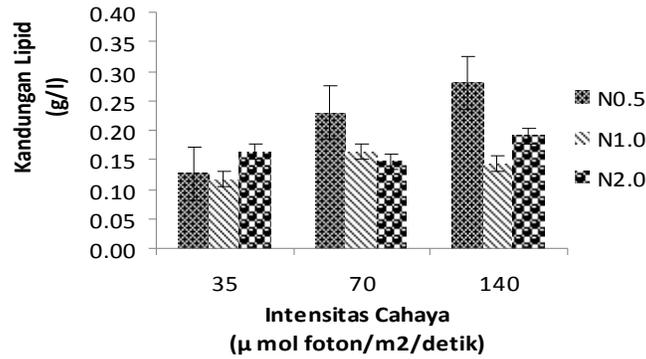
Gambar 3 Pengaruh konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya terhadap produksi biomasa mikroalga Ciwalini 03.

Produksi biomasa mikroalga diukur untuk mendapatkan persen total produksi lipid. Berdasarkan hasil penelitian, secara umum produksi biomasa tertinggi pada konsentrasi nitrogen 2 M dan intensitas cahaya 140 μmol foton/m²/detik, hal ini sejalan dengan laju pertumbuhannya yang juga tinggi. Perbedaan produksi biomasa mikroalga ini dapat dihubungkan dengan konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya yang diberikan. Perbedaan produksi biomasa juga disebabkan oleh perbedaan kemampuan masing-masing isolat untuk memanfaatkan nitrogen dan intensitas

cahaya untuk menghasilkan biomasa yang optimal. Produksi biomasa berhubungan dengan kemampuan mikroalga dalam memanfaatkan hara pada kultur biakan (Becker 1994).

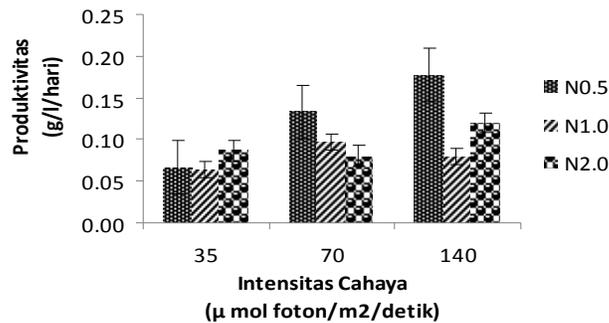
Kandungan Lipid

Mikroalga yang telah ditumbuhkan pada yang sesuai kemudian diukur kandungan lipid dan produktivitas lipidnya. Pengaruh konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya terhadap kandungan lipid dan produktivitas lipid mikroalga disajikan pada Gambar 4 dan 5.



Gambar 4 Pengaruh konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya terhadap kandungan lipid mikroalga Ciwalini 03.

Produktivitas Lipid



Gambar 5 Pengaruh konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya terhadap produktivitas Lipid mikroalga Ciwalini 03.

Berdasarkan hasil di atas dapat dikatakan bahwa konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya mempengaruhi produksi lipid dan produktivitas lipid mikroalga Ciwalini 03. Pada konsentrasi nitrogen tinggi mikroalga Ciwalini 03 memiliki produksi lipid yang rendah, sebaliknya pada konsentrasi nitrogen yang rendah menghasilkan lipid yang lebih tinggi. Mikroalga Ciwalini 03 menghasilkan lipid tertinggi pada konsentrasi nitrogen 0.5 M dengan

intensitas cahaya 140 $\mu\text{mol foton /m}^2$ /detik. Lipid merupakan kelompok senyawa yang kaya akan karbon dan hidrogen. Senyawa yang termasuk lipid adalah lemak dan minyak. Dimana lipid dalam jaringan tanaman terbentuk dari proses respirasi dengan mengoksidasi karbohidrat (Salisbury & Cleon 1992). Disamping konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya ketersediaan unsur hara lain dapat mempengaruhi produksi lipid mikroalga. Nitrogen dibutuhkan tanaman termasuk mikroalga dalam jumlah yang cukup untuk dapat menjalankan kehidupannya. Kebutuhan nitrogen dan intensitas cahaya masing-masing mikroalga berbeda, hal ini terlihat pada perbedaan laju pertumbuhan, biomasa, kandungan lipid dan produktivitas lipid mikroalga.

Pada konsentrasi nitrogen dan intensitas tinggi mikroalga Ciwalini 03 memiliki laju pertumbuhan yang tinggi dengan biomasa yang juga tinggi tetapi memiliki kandungan dan produktivitas lipid yang rendah, sebaliknya pada konsentrasi nitrogen dan intensitas cahaya rendah menghasilkan laju pertumbuhan dan biomasa yang rendah tapi memiliki kandungan dan produktivitas lipid yang tinggi. Hal ini dapat diartikan bahwa pada umumnya meningkatnya konsentrasi

nitrogen menyebabkan peningkatan biomassa, protein, klorofil dan lipid menurun. Pada konsentrasi nitrogen yang rendah mikroalga akan terdiri dari lipid (Borowitzka & Borowitzka 1988). Menurut Becker *et al* (1994), mikroalga yang tumbuh pada kondisi yang kekurangan nitrogen dalam kultur biakan akan cenderung mengakumulasi sejumlah besar lipid dimana biomasa, protein, dan asam nukleat menurun.

KESIMPULAN

1. Ciwalini memiliki indeks keanekaragaman (H) sebesar 2,21 indeks keseragaman (E) 0,85.
2. Produksi biomasa mikroalga Ciwalini 03 sebesar 10,2 g/l memiliki kandungan lipid tertinggi 28% dengan produktivitas lipid 0,18 g/l/hari.
3. Kondisi yang sesuai untuk menghasilkan lipid yang optimum pada mikroalga Ciwalini 03 adalah pada konsentrasi nitrogen 0,5 M dengan intensitas cahaya 140 $\mu\text{mol foton /m}^2$ /detik.

DAFTAR PUSTAKA

- Becker EW, Baddiley SJ, Carey NH, Higgins IJ, Potter WG. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. New York: Cambridge University Press.

- Bold HC, Wynne MJ. 1985. *Introduction to the algae. Structure and Reproduction*. 2nd ed. New Jersey: Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs.
- Borowitzka MA, Borowitzka LJ. 1988. *Microalgal Biotechnology*. New York: Cambridge University Press.
- Browner JE, Zar dan CN, Ende. 1990. *Field and Laboratory Methods for General Ecology*. Third Edition. Wm.C.Brown Publishers. Dubuque. hlm 237.
- Chisti Y. 2007. Research review paper biodiesel from microalgae. *J Biotechnology Advances* 25 : 294–306
- Carman KR, Thistle D, Ertman SC, Foy M. 1991. Nile Red as a Probe for Lipid Storage Products in Benthic Copepods. *J Mar Ecol Progress series* 74:307-311
- Felizardo P, Correia MJN, Raposo I, Mendes JF, Berkemeier R, Bordado JM. 2006. Production of biodiesel from waste frying oil. *J Waste Manag* 26: 487–94.
- Fukuda H, Kondo A, Noda H. 2001. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *J Biosci Bioeng* 92: 405–16.
- Griffiths JM, Harrison TLS. 2008. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J Appl Phycology*.
- Krebs, CJ. 1978. *Ecology. The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. Second Edition. Harper and Row. New York. hlm 678.
- Salisbury FB, Cleon WR. 1992. *Fisiologi dan Biokimia Tumbuhan*. Bandung; ITB Press.
- Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, Roessler P. 1998. *A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program—Biodiesel from Algae*. The National Renewable Energy Laboratory, A national laboratory of the U.S. Department of Energy.