

Pengaruh Konsentrasi KNO_3 pada Media yang Mengandung H_2CO_3 terhadap Pertumbuhan *Scenedesmus* sp.

Oleh: **Rino Nirwawan**

Peneliti Pertama pada Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi "LEMIGAS"

Jl. Ciledug Raya Kav. 109, Cipulir, Kebayoran Lama, P.O. Box 1089/JKT, Jakarta Selatan 12230 INDONESIA

Teregistrasi I Tanggal 16 Februari 2009; Diterima setelah perbaikan tanggal 21 April 2009

Disetujui terbit tanggal: 16 September 2009

S A R I

Komponen seluler *Scenedesmus* sp. yang berupa lemak berpotensi dipakai sebagai biodiesel. Berbasis pada kandungan lemaknya, telah dilakukan penelitian mengenai pertumbuhan *Scenedesmus* sp. dalam media PHM (*Provasoli for Haematococcus Medium*) dengan variasi kandungan bikarbonat H_2CO_3 pada konsentrasi 0, 50, 100, dan 200 mg/L. Bikarbonat ini berfungsi sebagai sumber CO_2 tambahan selain dari udara. Berdasarkan konsentrasi H_2CO_3 terbaik, penelitian pertumbuhan dilanjutkan dengan variasi kandungan KNO_3 pada konsentrasi 1000, 600, dan 200 mg/L sebagai sumber nitrogen. Jumlah populasi, kadar lemak, dan berat kering biomassa dipakai sebagai parameter pengujian.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel tertinggi ($5,78 \times 10^7$ sel/mL) diperoleh pada media dengan konsentrasi 100 mg/L H_2CO_3 dan KNO_3 1000 mg/L. Pada kondisi optimal tersebut diperoleh kadar lemak tertinggi (31,74%/berat kering) setelah inkubasi selama 8 jam sampai variasi konsentrasi 100 mg/L H_2CO_3 , peningkatan pertumbuhan *Scenedesmus* sp. sejalan dengan konsentrasi H_2CO_3 yang ditambahkan. Pada variasi konsentrasi KNO_3 , pertumbuhan *Scenedesmus* sp. yang baik terjadi dalam media yang mengandung 600 mg/L KNO_3 , namun kandungan lemaknya terlihat rendah. Peningkatan kadar lemak terjadi pada media dengan konsentrasi KNO_3 sebesar 1000 mg/L.

Kata kunci: H_2CO_3 , KNO_3 , Lemak seluler, *Scenedesmus* sp.

ABSTRACT

The lipid content in alga species Scenedesmus sp. is potentially used as biodiesel. Based on the lipid content, study on the growth of Scenedesmus sp. has been carried out in PHM medium (Provasoli for Haematococcus Medium) by varying the H_2CO_3 content in the range concentration of 0, 50, 100, and 200 mg/L. H_2CO_3 is known as CO_2 and N_2 resources instead of air. The best concentration of H_2CO_3 resulting optimal growth of Scenedesmus sp. was applied as mind base for further study. In this second step of study, the KNO_3 content was varied in the concentration range of 1000, 600, and 200 mg/L. The total population, lipid content and dry weight of biomass were used as parameters of examinations.

The result of the present study exhibits that the highest total cell of approx 5.78×10^7 cell/mL is obtained in the media having H_2CO_3 and KNO_3 content of approx 100 mg/L and 1000 mg/L respectively. In this optimal operating condition, the highest lipid content found is approx 31,74% dry weight and is produced within 8 hours of incubation. In the variation of KNO_3 concentration, the best growth of Scenedesmus sp. occurs in the media containing 600 mg/L KNO_3 . However the lipid content seems to be lower than dry weight of Scenedesmus sp. Increasing lipid content occurs in media with KNO_3 concentration of 1000 mg/L.

Key words: H_2CO_3 , KNO_3 , lipid content, *Scenedesmus* sp.

I. PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan salah satu sumber daya hayati yang berpotensi sebagai agen biodiesel. Beberapa faktor yang menjadikan mikroalga ini unggul sebagai bahan dasar biodiesel antara lain adalah kandungan lemak selulernya yang tinggi seperti *Scenedesmus* sp. yang mengandung lemak sekitar 16-40% per berat kering. Selain itu mikroalga juga memiliki beberapa peluang yang menjanjikan sebagai bahan dasar biodiesel seperti pertumbuhannya yang sangat cepat sehingga dapat menghasilkan komponen lemak seluler yang lebih tinggi dibandingkan tanaman terestrial seperti *castor*, bunga matahari, *safflower*, kelapa, kedelai, kelapa sawit dan jarak pagar (Oilgae, 2008). Menurut Riesing (2008) hasil komponen lemak seluler mikroalga dapat mencapai 8-25 kali lipat (galon/acre/tahun) daripada tanaman terestrial untuk menghasilkan komponen biodiesel.

Biodiesel dapat dipakai untuk campuran solar. Pemakaian solar di Indonesia diperkirakan 44.000.000 kL/tahun. Kebutuhan solar untuk industri sebesar 6.000.000 kL/tahun, PLN (Perusahaan Listrik Negara) sebesar 12.000.000 kL/tahun, dan transportasi sebesar 26.000.000 kL/tahun. Asumsi kebutuhan biodiesel sekitar 20%, maka dalam tiap tahun kebutuhan biodiesel sebesar 4.120.000 kL/tahun (Direktorat Jenderal Energi dan Sumber Daya Mineral). Sementara itu, kemampuan produksi biodiesel pada tahun 2006 sebesar 110.000 kL/tahun sedangkan pada tahun 2007 akan ditingkatkan sebesar 200.000 kL/tahun (Irawan dan Hidayat, 2003). Dengan demikian, produksi biodiesel masih jauh dari perkiraan kebutuhan nasional.

Salah satu usaha untuk meningkatkan kapasitas produksi biodiesel dengan melakukan eksplorasi terhadap agen biodiesel. Sumber utama produksi biodiesel saat ini sebagian besar berasal dari tanaman terestrial, namun usaha untuk mengeksplorasi mikroalga penghasil biodiesel belum banyak dilakukan.

Untuk meningkatkan produksi minyak dari mikroalga ini, ada beberapa teknologi yang dapat diterapkan di antaranya adalah dengan meningkatkan kadar lemak melalui defisiensi nitrogen. Defisiensi ini mampu menghambat pembelahan sel sehingga terjadi akumulasi kadar lemak yang diproduksi di dalam sel. Oleh karena itu, dalam penelitian ini telah dilakukan usaha untuk meningkatkan kadar lemak yang diproduksi oleh *Scenedesmus* sp. melalui variasi

Tabel 1.1
Produksi lemak bioagen biodiesel

Bioagen biodiesel	Produksi lemak (galon/acre/tahun)
Jagung	18
Kedelai	48
<i>Safflower</i>	83
Bunga matahari	102
<i>Rapeseed</i>	127
Kelapa sawit	635
Micro Algae	5000-15000

konsentrasi KNO_3 . Dengan demikian diharapkan *Scenedesmus* sp. ini dapat digunakan sebagai bioagen bahan bakar alternatif selain *petroleum diesel* (*petrodiesel*).

Dalam studi ini akan diteliti pertumbuhan mikroalga jenis *Scenedesmus* sp. hasil isolasi di Indonesia dengan berbagai variasi kultur, terutama pada peningkatan kandungan asam lemak yang dihasilkan oleh mikroalga tersebut.

A. Mikroalga sebagai Bioagen penghasil Biodiesel

Mikroalga dapat memproduksi lemak jauh lebih tinggi daripada tanaman terestrial yaitu dapat mencapai 15000 galon/acre/tahun (Oilgae, 2008). Dengan produksi lemak demikian, mikroalga mampu mendukung usaha biodiesel sebagai bahan bakar alternatif (Riesing, 2008). Pada Tabel 1.1 terlihat keunggulan mikroalga sebagai penghasil biodiesel.

Secara teoretis, produksi biodiesel dari mikroalga dapat menjadi solusi yang realistis untuk mengganti solar. Karena minyak mikroalga dapat diproduksi dengan cepat dalam jumlah banyak, dan lahan tidak terlalu luas. Sebaliknya tanaman seperti kelapa sawit dan kacang-kacangan membutuhkan lahan yang sangat luas dan waktu yang relatif lama untuk menghasilkan minyak nabati.

Semua jenis mikroalga memiliki komposisi kimia sel yang terdiri dari protein, karbohidrat, asam lemak (*fatty acids*) dan asam nukleat. Presentase keempat komponen tersebut bervariasi tergantung jenis mikroalga. Ada jenis mikroalga yang memiliki komponen asam lemak lebih dari 40%. Komponen

asam lemak inilah yang akan diekstraksi dan diubah menjadi biodiesel. Komposisi kimia sel pada beberapa jenis mikroalga dapat dilihat pada Tabel 1.2.

Biodiesel yang berupa metil ester pada dasarnya dapat diproduksi dari trigliserida minyak nabati termasuk mikroalga. Biasanya asam lemak yang menyusun trigliserida mikroalga berupa asam lemak tak jenuh poli (*polyunsaturates*) di mana semakin tinggi kandungan asam lemak tak jenuh poli akan mengurangi kestabilan biodiesel yang dihasilkan. Selain itu asam lemak tak jenuh poli memiliki titik cair yang lebih rendah dibandingkan asam lemak tak jenuh mono (*monounsaturates*), dengan demikian biodiesel yang berasal dari mikroalga dapat juga dimanfaatkan pada cuaca dingin. Oleh karena itu buruknya kinerja biodiesel pada temperatur rendah (dingin) dapat diatasi dengan penggunaan biodiesel berbasis mikroalga.

B. *Scenedesmus* sp. dan kebutuhan bikarbonat untuk pertumbuhannya

Scenedesmus sp. merupakan mikroalga hijau berkoloni yang non motil dengan sel saling berjajar. Selnya berkoloni secara linear dengan susunan 1, 2, 4, 8, atau 16 sel. Selnya berbentuk silinder dengan ujung runcing (Gambar 1). Jika diamati dengan mikroskop elektron, maka dinding sel tampak seperti kutil yang halus, bersisir, dan retikulasi yang jelas. Dinding selnya juga mengandung algaenans berupa polimer hidrokarbon yang mampu menyimpan bahan bakar fosil tertentu dan menyebabkan peristiwa sedimentasi pada danau. Senyawa ini berperan penting sebagai adesi sel ke dalam koloni. Setiap sel mengandung kloroplas seperti cawan dengan pirenoid tunggal (Graham dan Wilcox, 2000; Silicasecchidisk, 2008).

Sumber karbon anorganik utama yang digunakan mikroalga adalah H_2CO_3 yang terlarut dalam perairan

Table 1.2
Komposisi Kimia mikroalga ditunjukkan dalam zat kering (%)

Komposisi Kimia	Protein	Karbohidrat	Lemak	Nucleic Acid
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	3-6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1.9	-
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2	-
<i>Spirogyra</i> sp.	6-20	33-64	11-21	-
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8	-
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20	-
<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-38	1-2
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3	-
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14	-
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9	2-5
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7	3-4.5
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11	5
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7	-

Becker, (1994)

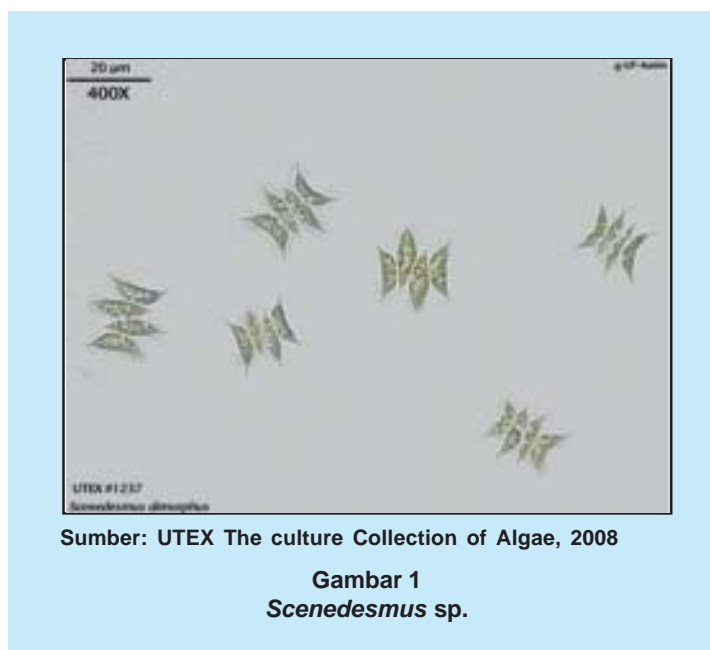
(Sze, 1998). Mikroalga menggunakan H_2CO_3 untuk mengatasi masalah difusi CO_2 . H_2CO_3 tersebut akan diubah menjadi CO_2 melalui aktivitas karbonik anhidrase eksternal (Moroney dan Somancy, 1999). Karbonik anhidrase eksternal berperan untuk mengkatalis perubahan H_2CO_3 menjadi CO_2 , kemudian masuk ke dalam sel melalui transpor aktif. Karbonik anhidrase eksternal terletak di ruang periplasmik yaitu daerah antara membran sel dengan dinding sel. Enzim tersebut telah ditemukan pada beberapa mikroalga hijau di antaranya *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Dunaliella*, dan *Scenedesmus* (Graham dan Wilcox, 2000).

Kemampuan mikroalga menggunakan HCO_3^- untuk fotosintesis berkaitan erat dengan adanya karbonik anhidrase eksternal. CO_2 yang dihasilkan melalui aktivitas enzim tersebut kemudian di fiksasi oleh pirenoid kloroplas untuk proses fotosintesis (Moroney dan Somanchi, 1999). Selanjutnya fiksasi CO_2 digunakan sebagai prekursor dalam biosintesis asam lemak (Heldt dan Heldt, 2005).

C. Biosintesis Asam Lemak mikroalga yang dipengaruhi defisiensi Nitrogen

Biosintesis asam lemak mikroalga dipengaruhi oleh konsentrasi nitrogen. Konsentrasi nitrogen yang cukup menyebabkan aktivitas *in vitro* ACCase meningkat sehingga terjadi peningkatan rata-rata biosintesis asam lemak. Namun, kadar lemak mengalami penurunan seiring dengan percepatan pembelahan sel. Sebaliknya, konsentrasi nitrogen yang rendah (defisiensi nitrogen) menyebabkan aktivitas *in vitro* ACCase menurun sehingga terjadi penurunan rata-rata biosintesis asam lemak. Namun, kadar asam lemak mengalami peningkatan seiring dengan hambatan pembelahan sel. Secara *immunoblotting*, hal tersebut dapat diketahui bahwa pada kondisi kecukupan nitrogen akan meningkatkan aktivitas *in vitro* ACCase, tetapi pada kondisi defisiensi nitrogen akan menurunkan aktivitas *in vitro* ACCase (Livne dan Sukenik, 1992).

Aktivitas pembelahan sel berdampak terhadap kadar lemak yang diproduksi oleh mikroalga (Livne dan Sukenik, 1992). Pembelahan sel membutuhkan ATP (Farabee, 2001) yang dihasilkan oleh oksidasi asam lemak dengan melibatkan metabolisme lemak. Tahap pertama dalam meta-



bolisme lemak yaitu hidrolisis lemak di dalam sitoplasma yang menghasilkan gliserol dan asam lemak. Selanjutnya asam lemak dioksidasi menjadi asetil CoA di dalam mitokondria. Asetil CoA kemudian diubah menjadi ATP, CO_2 , dan H_2O menggunakan siklus asam sitrat dan rantai transpor elektron (Ophardt, 2003).

II. METODE PENELITIAN

A. Pembuatan stok inokulum *Scenedesmus* sp.

Isolat *Scenedesmus* sp. diperoleh dari perairan rawa sekitar Cibinong, Bogor. Mikroalga tersebut ditanam di media cair untuk dipelihara menjadi stok kultur. Stok inokulum *Scenedesmus* sp. dibuat dengan cara menginokulasikan 5% stok kultur yang berumur 2 minggu ke dalam 500 mL media PHM. Pencahayaan kultur selama inkubasi menggunakan lampu putih fluorescens Philips TL 36W/54 dengan intensitas cahaya 5-7 Klux. Setelah inkubasi, jumlah sel dihitung menggunakan *haemocytometer* Neubauer. Jumlah sel yang akan diinokulasikan untuk perlakuan selanjutnya kurang lebih 10^5 sel/mL.

B. Pertumbuhan *Scenedesmus* sp. dengan variasi konsentrasi H_2CO_3

Stok inokulum sebanyak 15% diinokulasikan ke dalam 500 mL media PHM dengan variasi konsentrasi H_2CO_3 (0, 50, 100, dan 200 mg/L). Selanjutnya diinkubasi selama 20 hari pada suhu ruang. Selama inkubasi dilakukan penghitungan jumlah sel setiap dua hari sekali untuk dilihat kurva pertumbuhannya.

Untuk penentuan jumlah selnya menggunakan *haemocytometer* Neubauer yang dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sel (sel / ml)} = \frac{\text{Jumlah sel terhitung}}{(5 \text{ kotak}) \times (1 \times 10^{-4} \text{ cm}^3)}$$

C. Produksi lemak *Scenedesmus sp.* dengan variasi konsentrasi KNO_3

Stok inokulum sebanyak 15% dinokulasikan dalam 500 mL media PHM dengan konsentrasi HCO_3 optimal yang menghasilkan pertumbuhan sel *Scenedesmus sp.* terbaik. Selanjutnya dilakukan perlakuan KNO_3 dengan konsentrasi 200, 600, dan 1000 mg KNO_3 . Setelah 8 hari inkubasi dilakukan pengukuran berat kering dan kadar lemak.

D. Produksi lemak *Scenedesmus sp.* pada konsentrasi HCO_3 dan KNO_3 yang terbaik mendukung pertumbuhan tertinggi

Stok inokulum sebanyak 15% diinokulasikan ke dalam 1000 mL media PHM (mengandung H_2CO_3 dan KNO_3 optimum). Selanjutnya inkubasi dilakukan selama 20 hari pada suhu ruang untuk diukur berat kering dan ekstraksi lemak setiap empat hari sekali.

E. Pengukuran berat kering dan kadar lemak

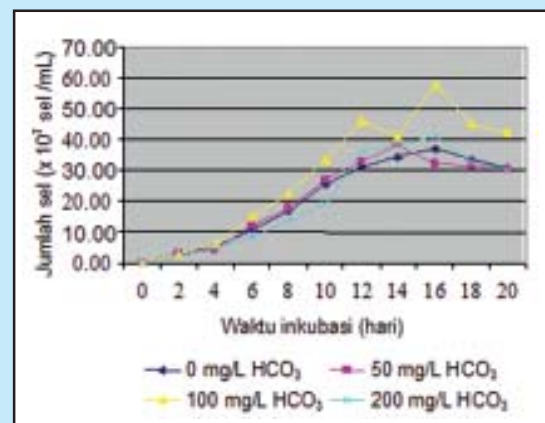
Berat kering didasarkan atas pengukuran biomassa setelah sejumlah kumpulan sel *Scenedesmus sp.* dikeringkan pada $105^\circ C$ selama 24 jam. Kadar lemak diukur setelah sejumlah biomassa kering diekstraksi dengan metanol, kloroform dan akuades dengan perbandingan 1 : 1 : 0,9 selama 30 menit. Selanjutnya setelah biomassa dipisahkan dari pelarutnya dan dikeringkan, dilakukan penimbangan untuk mengukur kandungan lemak

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pertumbuhan *Scenedesmus sp.* pada Variasi Konsentrasi H_2CO_3

Scenedesmus sp. membutuhkan tiga komponen utama untuk pertumbuhan yaitu cahaya matahari, CO_2 , dan air (Oilgae, 2008). CO_2 tersebut dapat diperoleh dari udara atau pengubahan H_2CO_3 oleh karbonik anhidrase. Selanjutnya CO_2 akan difiksasi untuk proses fotosintesis (Moroney dan Somanchi, 1999). Kurva pertumbuhan *Scenedesmus sp.* pada variasi konsentrasi H_2CO_3 dapat dilihat pada Gambar 3.1.

Pada gambar 3.1 menjelaskan bahwa secara keseluruhan, fase log pada kurva pertumbuhan tersebut tidak tampak baik pada 0, 50, 100, dan 200 mg/L HCO_3 . Fenomena ini diduga disebabkan oleh inokulum yang dikultur masih mengalami masa adaptasi. Pernyataan ini sesuai seperti yang dikatakan oleh Maier dkk. (2000) bahwa ketika inokulum dikulturkan ke dalam media baru maka terjadi fase log yang ditandai dengan pertumbuhan setelah beberapa jam untuk melakukan adaptasi fisiologis. Adaptasi tersebut merupakan waktu yang dibutuhkan mikrobia dalam menginduksi *messenger RNA* (mRNA) dan sintesis protein terhadap media baru. Selain itu, fase log juga tidak tampak disebabkan oleh jumlah sel inokulum (5×10^5 sel/ml) atau volume inokulum (15%) yang masih tergolong tinggi. Lebih lanjut Maier, dkk (2000) menjelaskan bahwa panjang



Gambar 3.1
Kurva kadar lemak dan berat kering
scenedesmus sp.

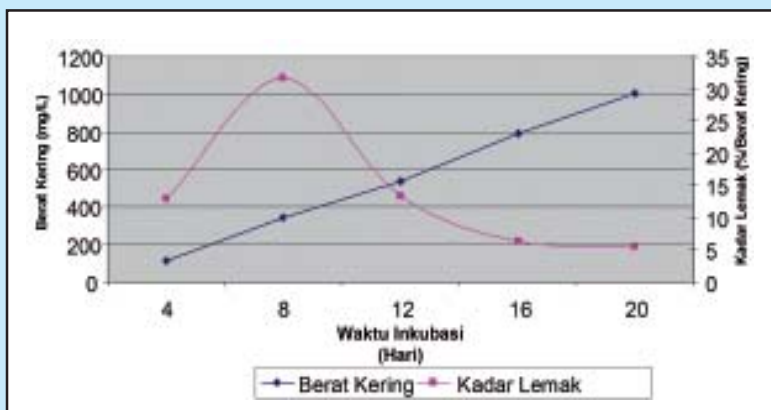
Tabel 3.1
Jumlah sel tertinggi *scenedesmus sp.*
ada variasi konsentrasi H_2CO_3

Konsentrasi HCO_3 (mg/L)	Jumlah sel (sel/mL)
0	$3,688 \times 10^7$
50	$3,843 \times 10^7$
100	$5,787 \times 10^7$
200	$4,067 \times 10^7$

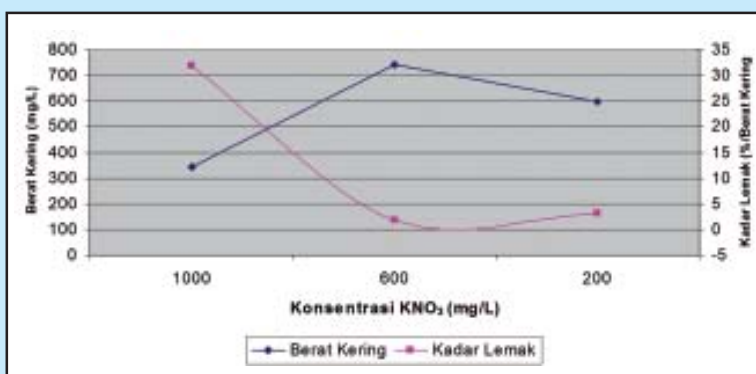
fase log dapat dikontrol karena tergantung dari tipe media dan densitas inokulum.

Fase log pada masing-masing media kultur ini adalah berbeda. Sze (1998) menjelaskan bahwa H_2CO_3 merupakan sumber karbon anorganik utama yang digunakan mikroalga dalam proses pertumbuhan. Meskipun ditumbuhkan pada konsentrasi H_2CO_3 yang berbeda, pertumbuhan *Scenedesmus* sp. tetap mengalami fase log. Fase log pada 50 mg/L H_2CO_3 ($3,843 \times 10^7$ sel/mL) terjadi pada hari ke 14 sedangkan fase log pada 0 mg/L H_2CO_3 ($3,688 \times 10^7$ sel/mL), 100 mg/L H_2CO_3 ($5,787 \times 10^7$ sel/mL) dan 200 mg/L H_2CO_3 ($4,067 \times 10^7$ sel/mL) terjadi pada hari ke-16. Fase log terjadi akibat pembelahan sel yang sangat cepat hingga pada waktu tertentu. Menurut Maier, dkk. (2000) bahwa fase log ditandai dengan periode pembelahan sel ketika rata-rata peningkatan sel di dalam kultur adalah sebanding terhadap jumlah sel pada beberapa waktu tertentu. Dengan demikian, fase log pada *Scenedesmus* sp. terjadi pada hari ke 14 sampai 16. Jumlah sel tertinggi pada fase log dengan variasi konsentrasi H_2CO_3 terjadi jika *Scenedesmus* sp. dikulturkan dengan dengan 100 mg/L H_2CO_3 . Ini berarti bahwa bikarbonat dengan konsentrasi 100 mg/L H_2CO_3 paling mendukung pertumbuhan *Scenedesmus* sp. dibandingkan dengan variasi konsentrasi H_2CO_3 yang lain. Oilgae (2008) menjelaskan bahwa pertumbuhan mikroalga dapat ditingkatkan dengan meningkatkan konsentrasi H_2CO_3 di dalam media kultur.

Perbedaan pola pertumbuhan *Scenedesmus* sp. dengan variasi konsentrasi H_2CO_3 tidak berbeda nyata. Namun, terlihat ada kecenderungan peningkatan pertumbuhan *Scenedesmus* sp. pada media kultur dengan konsentrasi 100 mg/L H_2CO_3 . Oilgae (2008) menjelaskan bahwa pertumbuhan mikroalga dapat ditingkatkan dengan meningkatkan



Gambar 3.2 Pengaruh konsentrasi H_2CO_3 terhadap pertumbuhan *scenedesmus* sp.



Gambar 3.3 Kurva kadar Lemak dan Berat Kering *Scenedesmus* sp. pada variasi konsentrasi KNO_3 .

konsentrasi CO_2 . Dengan demikian, konsentrasi tersebut merupakan kisaran toleransi maksimum dari H_2CO_3 bagi pertumbuhan *Scenedesmus* sp.

Jika dibandingkan dengan kultur *Scenedesmus* sp. pada perlakuan 0 mg/L H_2CO_3 , maka dengan perlakuan 100 mg/L H_2CO_3 mampu meningkatkan pertumbuhan hingga 1,57 kali lipat seperti terlihat pada Tabel 3.1. Kultur *Scenedesmus* sp. pada 100 mg/L H_2CO_3 kemungkinan mengalami peningkatan proses fotosintesis dengan bertambahnya CO_2 hasil reaksi H_2CO_3 dengan adanya enzim karbonik anhidrase. Menurut Moroney dan Somanchi (1999) *Scenedesmus* sp. memanfaatkan H_2CO_3 secara langsung melalui difusi pada membran plasma sel,

selanjutnya diubah oleh karbonik anhidrase menjadi CO_2 . Karbonik anhidrase berperan dalam dehidrasi H_2CO_3 menjadi CO_2 kemudian digunakan dalam proses fotosintesis.

B. Produksi Lemak *Scenedesmus sp*

Kurva kadar lemak dan berat kering *Scenedesmus sp.* pada media dengan konsentrasi H_2CO_3 sebesar 100 mg/L dapat dilihat pada Gambar 3.1. Kadar lemak *Scenedesmus sp.* berkisar antara 5,54 – 31,74%/berat kering. Kadar lemak *Scenedesmus sp.* dalam penelitian ini lebih rendah daripada hasil penelitian yang dipublikasikan oleh Oilgae yaitu (2008) sekitar 16 – 40 %/berat kering. Perbedaan kadar lemak tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan kondisi kultur yang berpengaruh terhadap biosintesis asam lemak. Menurut Weldy dan Huesemann (2008) perbedaan kadar lemak mikroalga tergantung dari kondisi kultur dan fase pertumbuhan. Hubungan antara peningkatan waktu inkubasi dengan berat kering menunjukkan korelasi positif dan signifikan. Semakin lama waktu inkubasi maka semakin tinggi berat kering. Berat kering tertinggi tercapai pada hari ke 20 (1004,67 mg/L) sedangkan berat kering terendah tercapai pada hari ke-4 (116,67 mg/L).

Hubungan antara perbedaan waktu inkubasi dengan kadar lemak menunjukkan korelasi negatif dan signifikan. Semakin lama waktu inkubasi maka semakin rendah kadar lemak. Kadar lemak tertinggi tercapai pada hari ke 8 (31,74 %/berat kering) sedangkan kadar lemak terendah tercapai pada hari ke-20 (5,54%/berat kering).

Bila dihubungkan dengan kadar lemaknya peningkatan berat kering menunjukkan korelasi negatif dan signifikan. Pada 4 jam inkubasi awal, kadar lemak meningkat sejalan dengan peningkatan berat kering. Pada inkubasi berikut, semakin tinggi berat kering maka semakin rendah kadar lemaknya.

C. Produksi Lemak *Scenedesmus sp.* pada variasi Konsentrasi KNO_3

Kadar lemak *Scenedesmus sp.* diharapkan meningkat di bawah kondisi stres lingkungan. Sheehan, dkk. (1998) dan Fabregas dkk. (1996) menjelaskan bahwa kondisi stres tersebut berupa kondisi defisiensi atau surplus nutrien yang mampu meningkatkan kadar lemak sehingga menunjukkan akumulasi lemak di dalam sel. Peningkatan kadar

Tabel 3.2
Kadar lemak *scenedesmus sp.*
pada variasi konsentrasi KNO_3

Konsentrasi KNO_3 mg/L	Kadar Lemak (%/berat kering)
1000	31,74
600	1,89
200	3,05

lemak di dalam sel seiring dengan penurunan rata-rata pembelahan sel. Rata-rata pembelahan sel berkaitan dengan berat kering *Scenedesmus sp.* Kadar lemak dan berat kering *Scenedesmus sp.* pada media kultur dengan variasi konsentrasi KNO_3 dapat dilihat pada gambar 3.3.

Berdasarkan gambar 3.3. terlihat bahwa berat kering *Scenedesmus sp.* pada media dengan kandungan KNO_3 1000 mg/L adalah sebesar 344,67 mg/L sedangkan dengan kandungan nitrat 600 mg/L maka berat kering *Scenedesmus sp.* adalah sebesar 740,67 mg/L, dan dengan kandungan KNO_3 200 mg/L berat kering mikroalga tersebut adalah sebesar 597,33 mg/L. Dari hasil ini terlihat bahwa pada media dengan konsentrasi KNO_3 600 mg/L peningkatan berat kering cukup nyata (tinggi). Oleh karena itu konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi KNO_3 yang cukup mendukung dalam meningkatkan pembelahan sel sesuai dengan yang dikemukakan oleh Livne dan Sukenik (1992). Sebaliknya pada kandungan KNO_3 sebesar 1000 dan 200 mg/L, berat kering *Scenedesmus sp.* cenderung menurun,

Dalam Gambar 3.3 tersebut juga terlihat bahwa kadar lemak dari *Scenedesmus sp.* pada media dengan konsentrasi KNO_3 1000 mg/L adalah sebesar 31,74 %/ berat kering, sedangkan pada konsentrasi nitrat 600 mg/L didapatkan kadar lemak sebesar 1,89%/berat kering dan pada media dengan konsentrasi 200 mg/L diperoleh kadar lemak sebesar 3,05%/berat kering. Ini menunjukkan bahwa kadar KNO_3 yang cukup baik untuk meningkatkan pertumbuhan sel justru menurunkan kadar lemak. Sedangkan pada konsentrasi KNO_3 yang kurang (200 mg/L) atau berlebih (1000 mg/L) mendukung peningkatan kadar lemak. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Fabregas dkk. (1996) dan Singh dan Kumar (1992), di mana pertumbuhan mikroalga dalam me-

dia dengan defisiensi dan surplus nitrogen mampu untuk meningkatkan kadar lemak.

Perbedaan berat kering dan kadar lemak pada media kultur dengan variasi konsentrasi KNO_3 adalah berbeda nyata. Hasil tersebut menunjukkan bahwa berat kering dan kadar lemak dipengaruhi oleh ketersediaan konsentrasi KNO_3 dalam media kultur. Kadar lemak tertinggi (31,74%/berat kering) diperoleh pada media kultur dengan 1000 mg/L KNO_3 . Media kultur pada 1000 mg/L KNO_3 mampu meningkatkan kadar lemak dengan menghambat pembelahan sel yang ditandai dengan penurunan berat kering (3445,67 mg/L). Hambatan pembelahan sel diduga karena konsentrasi KNO_3 dalam media kultur tergolong tinggi. Fabregas dkk., (1996) telah meneliti pada *Phaedactylum tricornutum* yang dikulturkan dalam media dengan konsentrasi nitrogen tinggi (8-16 mmol nitrogen/liter). Konsentrasi tersebut mampu menghambat pembelahan sel sehingga kadar lemak meningkat.

Peningkatan kadar lemak juga terjadi pada media kultur dengan 200 dan 600 mg/L KNO_3 , namun demikian peningkatan tersebut tidak berbeda nyata, sehingga kedua konsentrasi tersebut dianggap sama. Namun, 200 mg/L KNO_3 memiliki kecenderungan untuk meningkatkan kadar lemak dengan menghambat pembelahan sel yang ditandai dengan penurunan berat kering. Hambatan dalam pembelahan sel diduga karena konsentrasi KNO_3 dalam media kultur tergolong rendah. Penelitian Livne dan Sukenik (1992) pada *Isochrysis galbana* menjelaskan bahwa kondisi kultur dengan defisiensi nitrogen mampu menurunkan aktivitas in vitro enzim ACCase. Enzim ini mengkatalis reaksi awal dalam biosintesis asam lemak (Ohlrogge dan Browse, 1995). Penurunan aktivitas enzim ACCase mampu menurunkan rata-rata biosintesis asam lemak. Namun, kadar lemak mengalami akumulasi di dalam sel seiring dengan hambatan dalam pembelahan sel (Livne dan Sukenik, 1992).

Media kultur pada 1000 dan 200 mg/L KNO_3 mampu meningkatkan kadar lemak seperti pada Tabel 3.2. jika dibandingkan dengan media kultur pada 600 mg/L KNO_3 maka kadar lemak meningkat sebesar 1,61 kali lipat ketika konsentrasi KNO_3 diturunkan hingga 200 mg/L. Kemudian kadar lemak meningkat sebesar 16,79 kali lipat ketika konsentrasi KNO_3 ditingkatkan hingga 1000 mg/L. Penelitian yang telah dilakukan Singh dan Kumar (1992) pada

Botryococcus spp. yang dikulturkan pada kondisi defisiensi nitrogen menghasilkan peningkatan kadar lemak sebesar 1,6 kali lipat.

IV. KESIMPULAN

Dalam studi ini dapat dilihat bahwa KNO_3 dan ion H_2CO_3 dapat mempengaruhi pertumbuhan dan kandungan lemak mikroalga jenis *Scenedesmus sp.* Ion bikarbonat yang mendukung pertumbuhan tertinggi *Scenedesmus sp.* ($5,79 \times 10^7$ sel/mL) diperoleh pada konsentrasi H_2CO_3 100 mg/L. Produksi lemak *Scenedesmus sp.* pada konsentrasi 100 mg/L berkisar antara 5,54-31,74%/berat kering. Sedangkan produksi lemak tertinggi *Scenedesmus sp.* pada konsentrasi KNO_3 1000 mg/L adalah 31,74%/berat kering.

KEPUSTAKAAN

1. Becker, E. W. (1994) Microalgae: Biotechnology and microbiology. Cambridge University press, Cambridge, Great Britain.
2. Fabregas, J., M. Patino, E.D. Morales, B. Cordero, dan A. Otero. 1996. Optimal Renewal Rate and Nutrient Concentration for the production of the Marine Microalga *Phaedactylum tricornutum* in Semicontinuous Cultures. Applied and Environmental Microbiology, Jan. 1996, p. 266-268 Vol. 62, No. 1.
3. Farabee, M. J. 2001. Cell Division: Binary Fission and Mitosis. <http://www.emc.maricopa.edu/faculty/farabee/BIOBK/BioBookTOC.html>. Tanggal akses 25 Mei 2008
4. Graham, L. E. dan L. W. Wilcox. 2000. Algae. Prentice-Hall, Inc. New Jersey.
5. Heldt, H. W. dan F. Heldt. 2005. Plant Biochemistry. Elsevier Academic Press. New York.
6. Irawan, G. dan K. Hidayat. 2003. Prospek Biodiesel Cerah. <http://www.sinarharapan.co.id/feature/otomotif/2005/1208/oto1.html>. Tanggal akses 01 Maret 2008.
7. Livne, A. dan A. Sukenik. 1992. Lipid Synthesis and Abundance of Acetyl CoA Carboxylase in *Isochrysis galbana* (Prymnesiophyceae) Following Nitrogen Starvation. Plant and Cell Physiology, Vol. 33, No. 8, p 1175-1181.
8. Maier, R.M., I.L. Pepper, dan C.P. Gerba. 2000. Environmental Microbiology. Academic Press. San Diego.

9. Moroney, J. V. dan A. Somanchi. 1999. How Do Algae Concentrate CO₂ to Increase the Efficiency of Photosynthetic Carbon Fixation? *Plant Physiol.* (1999) 119: 9-16.
10. Ohlrogge, J. dan J. Browse. 1995. Lipid Biosynthesis. *The Plant Cell*, Vol. 7, p 957-970.
11. Oilgae. 2008. Algae Oil. <http://www.oilgae.com/algae/oil>. Tanggal akses 20 Februari 2008
12. Ophardt, C. E. 2003. Lipid Catabolism Summary. <http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/622overview.html>. Tanggal akses 25 Mei 2008
13. Riesing, T.F. 2008. Cultivating Algae for liquid Fuel Production. <http://www.permacultureactivist.net/> Tanggal akses 20 Februari 2008.
14. Sheehan, J., T. Dunahay, J. Benemann, dan P. Roessler. 1998. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program *Biodiesel* from Algae. National Renewable Energy Laboratory U.S. Department of Energy. United State of America.
15. Silicasecchidisk, 2008. *Scenedesmus* Morfologi. http://silicasecchidisk.conncoll.edu/LucidKeys/Carolina_Key/html/Scenedesmus_Main.html. Tanggal akses 08 Maret 2008
16. Singh, Y. dan H. D. Kumar. 1992. Lipid and Hydrocarbon Production by *Botryococcus* spp. Under Nitrogen Limitation and Anaerobiosis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol. 8, No. 2, p 121-124
17. Sze, P. 1998. *A Biology of the Algae*, Third Edition. The McGraw-Hill Companies, Inc. New York.
18. UTEX, 2008. *The Culture Collection of Algae*. The University of Texas, Austin.
19. Weldy, C. S. dan M. Huesemann. 2008. Lipid Production by *Dunaliella salina* in Batch Culture: Effects of Nitrogen Limitation and Light Intensity. <http://www.scied.science.doe.gov>. Tanggal akses 02 Mei 2008. ✓