

TUGAS AKHIR

**PENGUNAAN METODE FILTRASI PADA TAHAP
PEMANENAN MIKROALGA – *CHLORELLA*
VULGARIS TERHADAP PRODUKSI BIODIESEL**

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik Lingkungan**



Disusun oleh :
LIDIA ELVINA
13.513.198

**PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2017**

TUGAS AKHIR
PENGGUNAAN METODE FILTRASI PADA TAHAP
PEMANENAN MIKROALGA – *CHLORELLA VULGARIS*
TERHADAP PRODUKSI BIODIESEL

USE OF FILTRATION METHOD ON HARVESTING STAGE OF
MICROALGAE - CHLORELLA VULGARIS FOR BIODIESEL
PRODUCTION

Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik Lingkungan



Disetujui,
Dosen Pembimbing:

Andik Yulianto, S.T., M.T
Tanggal : 11/10/2017

Lutfia Isna A., S.Si., M.Sc
Tanggal : 11. 10. 2017

Mengetahui :

Ketua Program Studi Teknik Lingkungan FTSP UII

Hudori, S.T., M.T
Tanggal : 17/10/2017

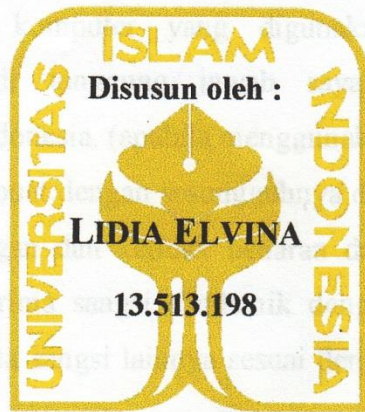


TUGAS AKHIR

PENGUNAAN METODE FILTRASI PADA TAHAP PEMANENAN MIKROALGA – *CHLORELLA VULGARIS* TERHADAP PRODUKSI BIODIESEL

USE OF FILTRATION METHOD ON HARVESTING STAGE OF MICROALGAE - *CHLORELLA VULGARIS* FOR BIODIESEL PRODUCTION

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik Lingkungan**



Disetujui,
بجاء الأستاذة الشريفة

Telah diperiksa dan Disetujui Oleh:
Dosen Penguji 1,

Andik Yulianto, S.T., M.T

Tanggal : 11/10/2017

Dosen Penguji 2,

Lutfia Isna A., S.Si., M.Sc

Tanggal : 11.10. 2017.

Dosen Penguji 3,

Puji Lestari., S.Si., M.Sc

Tanggal : 11.10. 2017.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun, baik di Universitas Islam Indonesia maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini adalah merupakan gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan Dosen Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat kata atau pendapat orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama penulis dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Program *software* komputer yang digunakan dalam penelitian ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya, bukan tanggung jawab Universitas Islam Indonesia. (apabila menggunakan *software* khusus)
5. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sangsi akademik dengan pencabutan gelar yang sudah diperoleh, serta sangsi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.
6. Hasil penelitian ini dapat dipublikasikan dengan arahan atau persetujuan Dosen Pembimbing tugas akhir.

Yogyakarta, 25 September 2017

Yang membuat pernyataan



Lidia Elvina

Laporan Tugas Akhir ini saya persembahkan kepada Mama, Papa dan Saudara-saudara saya yang selalu menjadi sahabat nomor satu, memotivasi, membangun ambisi, dan memberikan mimpi-mimpi untuk selalu berkembang.

Semoga kalian semua selalu diberikan perlindungan oleh Allah SWT.

Aamiin...

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji bagi Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir yang berjudul **“Penggunaan Metode Filtrasi Pada Tahap Pemanenan Mikroalga – *Chlorella vulgaris* Terhadap Produksi Biodiesel**”. Shalawat serta serta salam juga senantiasa tercurahkan kepada baginda besar Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya hingga akhir zaman.

Penulis menyadari selama proses belajar, pelaksanaan hingga penyusunan penelitian ini penulis selalu mendapatkan dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak . Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada :

1. Alm. Syamsir Nando, Ibu Yuliharnis dan Bapak Nurbali yang telah menjadi orangtua terhebat yang tak tergantikan. Terimakasih atas cinta, kasih sayang dan do'a-do'a yang tanpa henti.
2. Saudara-saudaraku, Yosi Eka Trisna, Rahmat Suryadin, Dina Yurika dan Dino Amanda yang telah menjadi saudara yang paling perfeksionis, ambisius sekaligus praktis dalam 22 tahun ini.
3. Bapak Hudori ST., MT, selaku Ketua Program Studi Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia, yang telah banyak memberikan inspirasi, ilmu dan pegalamannya.
4. Bapak Andik Yulianto, S.T., M.T, dan Mba Lutfia Isna Ardhayanti, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing yang telah benar-benar membimbing, berbagi ilmu dan memberikan solusi demi solusi selama bahkan jauh sebelum penelitian tugas akhir ini dimulai. Terimakasih dukungan, motivasi dan arahnya.

5. Seluruh dosen dan staf Program Studi Teknik Lingkungan FTSP Universitas Islam Indonesia, terima kasih atas pelajaran, pengalaman dan bantuan yang diberikan. Semoga ilmu dan pengalaman ini dapat bermanfaat bagi diri kami dan orang lain.
6. Kepada partner terbaik Nurin Retno Sawitri yang selalu optimis dalam mewujudkan ambisi bersama tahun ini. Terimakasih kerjasama sebelum dan selama pelaksanaan Tugas Akhir ini. Terimakasih telah menjadi partner yang visioner, partner bersakit-sakit dahulu ke Eropa kemudian.
7. Sahabat-sahabatku yang selalu ada “Geng Mie Ayam” (Bowin, Farah, Ulfa, Azki, Lita, Ican, Adel dan Acit), “An” (Dita, Nanda, Nindra, Yuri, Eca dan Tiwi), “Wacana” (yang isinya banyak). Partner Lab (Ulfa lagi, Popong dan Taty)
8. Sahabat SMA “101 Army” – Bestya Adhila, Ester Silvia, Ismail, Yesha Ocktaviani, Januar Efendi, Ochi Asmawati, Panji Pribadi, Yana dan Yani Safitri serta Alisman. Tidak ada yang salah dengan ke”alay”an, itu hanya bagian dari kehidupan sekarang kita mengejar mimpi sebagai dokter, peneliti, banker, insinyur dan mungkin saja dosen. Semangat!
9. Yuuka Konishi dan Amanda Almeida yang telah berbagi pengalaman berharga dan terus memberikan semangat hingga saat ini walaupun kita terpisah benua.
10. Keluarga besar mahasiswa Teknik Lingkungan FTSP UII angkatan 2013, terimakasih atas kebersamaannya sampai saat ini. Lakukan yang terbaik sahabat!!!
11. Seluruh pihak yang telah memberikan dampak sejauh ini. Terimakasih.

Semoga apa yang penulis sampaikan dalam penelitian ini dapat berguna bagi rekan-rekan mahasiswa maupun semua pihak yang membutuhkan sehingga dapat menjadi studi literatur bagi penelitian yang berhubungan.

Wassalamualaikum Wr. Wb.
Yogyakarta, 25 September 2017

ABSTRACT

Increased on production of microalgae at cultivation stage caused by several factors such as availability intensity of light, CO₂, nutrient and harvesting method. This research aimed to determine Fatty Acid Methyl Ester (FAME) component using Osmotic Shock extraction method with filtration method at harvesting stage through GCMS test. Chlorella vulgaris was taken from the facultative pool of IPLT Sewon, Bantul and cultivated on two photobioreactors with CO₂ fixation of 0.5 cc / min and variations in light intensity of 6225 lux during the day and 3660 lux at night. Microalgae lipid extraction using Osmotic Shock method using methanol / chloroform as solvent (1:2). The results showed that CO₂ fixation increased pH and cell density reached 12.1×10^6 cells / mL and 14.4×10^6 cells / mL on the fourth day, wet weight measurement for W1 sample was 3,274 gram while W42 sample was 3,592 gram. Myristoleat Acid (C_{14:1}) had identified through the transesterification process using sulfuric acid as catalyst with retention time 15,642 minutes in W42 sample using Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS).

Keywords: : Chlorella vulgaris, Biodiesel, Filtration, Wet Weight

ABSTRAK

Peningkatan produksi mikroalga pada tahap kultivasi disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya ketersediaan sinar matahari, CO₂, nutrien dan metode pemanenan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan komponen Fatty Acid Methyl Ester (FAME) menggunakan metode ekstraksi Osmotic Shock menggunakan metode filtrasi pada tahap pemanenan melalui uji GCMS. *Chlorella vulgaris* diambil dari kolam fakultatif IPLT Sewon Bantul dan dikultivasi pada dua photobioreactor dengan fiksasi CO₂ sebesar 0,5 cc/min dan variasi intensitas cahaya yaitu 6225 lux di siang hari dan 3660 lux di malam hari. Ekstraksi lipid mikroalga dilakukan dengan metode Osmotic Shock menggunakan pelarut metanol/kloroform (1:2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa fiksasi CO₂ meningkatkan nilai pH dan kerapatan sel mencapai $12,1 \times 10^6$ sel/mL dan $14,4 \times 10^6$ sel/mL pada hari keempat, pengukuran berat basah untuk sampel W1 sebanyak 3,274 gram sedangkan sampel W42 sebanyak 3,592 gram. Asam Miristoleat (C_{14:1}) telah teridentifikasi melalui proses transesterifikasi menggunakan asam sulfat sebagai katalis dengan waktu retensi 15,642 menit pada sampel W42 menggunakan Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS).

Kata Kunci: *Chlorella vulgaris*, Biodiesel, Filtrasi, Berat Basah

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
PERNYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRACT	vii
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi

DAFTAR GAMBAR..... xii

BAB I PENDAHULUAN..... 1

1.1	Latar Belakang	1
1.2	Rumusan Masalah	3
1.3	Tujuan Penelitian.....	3
1.4	Ruang Lingkup	3
1.5	Manfaat Penelitian.....	4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... 5

2.1	Mikroalga	5
2.1.1	Taksonomi <i>Chlorella vulgaris</i>	6
2.1.2	Morfologi <i>Chlorella vulgaris</i>	7
2.1.3	Pemanfaatan <i>Chlorella vulgaris</i>	9
2.2	Biodiesel	9
2.3	Filtrasi.....	11
2.4	Penelitian Sebelumnya	11
2.5	Hipotesis	13

BAB III METODE PENELITIAN 14

3.1	Tahapan Penelitian	14
3.2	Metode Pengumpulan Data	14
3.3	Waktu dan Lokasi Penelitian.....	15
3.4	Prosedur Penelitian.....	16
3.4.1	<i>Seeding</i> dan Aklimatisasi	16
3.4.2	Kultivasi Mikroalga.....	16
3.4.3	Filtrasi.....	17
3.4.4	Ekstraksi Lipid - Osmotic Shock	17
3.4.5	Transesterifikasi	18
3.5	Pengumpulan Data	18
3.6	Identifikasi Jumlah Sel Mikroalga	18

3.7	Analisis Data	18
3.7.1	Perhitungan Berat Mikroalga.....	18
3.7.2	Analisis GC-MS <i>Fatty Acid Methyl Ester</i>	19
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....		20
4.1	Identifikasi Mikroalga	20
4.2	<i>Seeding</i> dan Aklimatisasi	21
4.3	Kultivasi dan Analisis Sel <i>Chlorella vulgaris</i>	22
4.4	Pemanenan <i>Chlorella vulgaris</i> dengan Metode Filtrasi	26
4.5	Ekstraksi Lipid - <i>Osmotic Shock</i>	27
4.6	Sintesis Biodiesel - Transesterifikasi	31
4.7	Analisis GC-MS <i>Fatty Acid Methyl Ester</i>	33
BAB V KESIMPULAN		36
5.1	Kesimpulan.....	36
5.2	Saran	36
DAFTAR PUSTAKA		37
LAMPIRAN.....		40

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Taksonomi <i>Chlorella vulgaris</i>	7
Tabel 2.2	Komposisi lipid beberapa mikroalga (% Berat Kering).....	8
Tabel 2.3	Penelitian mikroalga	12
Tabel 4.1	Kondisi Analisis Standar GC-MS	33

Tabel 4.2 Komponen kimia larutan hasil transesterifikasi (Sampel W42)	34
---	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Penampang vertikal mikroalga.....	8
Gambar 2.2 <i>Overview</i> opsi mikroalga menjadi energi (<i>Algae-to-Energy</i>)	9

Gambar 3.1 Diagram alir penelitian.....	14
Gambar 3.2 Tahapan pengumpulan data pembuatan biodiesel dari mikroalga	15
Gambar 3.3 Dimensi reaktor	16
Gambar 3.4 Dimensi reaktor mikroalga tahap kultivasi	17
Gambar 4.1 Penampakan <i>Chlorella vulgaris</i> pada penelitian Universitas Texas (a) dan sampel penelitian (b)	20
Gambar 4.2 <i>Seeding</i> dan Aklimatisasi mikroalga pada bulan ke-2 dan ke-3	21
Gambar 4.3 Kultivasi mikroalga pada hari ke-3 dan ke-4	23
Gambar 4.4 Grafik kenaikan pH	23
Gambar 4.5 Reaksi CO ₂ di air.....	24
Gambar 4.6 Sampel mikroalga pada kultivasi hari ke-0 dan ke-2	24
Gambar 4.7 Grafik kerapatan sel <i>Chlorella vulgaris</i>	25
Gambar 4.8 Persiapan pemanenan mikroalga	26
Gambar 4.9 Proses penyaringan mikroalga dengan kertas filter <i>Whatman</i>	27
Gambar 4.10 Kondisi <i>cake</i> mikroalga sebelum (kiri) dan setelah (kanan) ditambahkan HCl.....	28
Gambar 4.11 Proses pemisahan filtrat setelah dilakukan ekstraksi pada sampel W42 (kiri) dan sampel W1 (kanan).....	29
Gambar 4.12 Sampel akhir setelah ekstraksi	30
Gambar 4.13 Pemisahan cair-cair	31
Gambar 4.14 Reaksi transesterifikasi secara umum	32
Gambar 4.15 Hasil transesterifikasi ekstrak <i>Chlorella vulgaris</i>	32
Gambar 4.16 Kromatogram larutan sintesis biodiesel <i>Chlorella vulgaris</i> (sampel W1).....	33
Gambar 4.17 Kromatogram larutan sintesis biodiesel <i>Chlorella vulgaris</i> (sampel W42).....	33

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam 25 tahun mendatang, minyak bumi diprediksi akan habis sedangkan kebutuhan energi terus mengalami peningkatan. Berdasarkan proyeksi IEA (*International Energy Agency*) selama periode 2006-2030, akan terjadi rata-rata kenaikan kebutuhan energi sebesar 1,6% setiap tahunnya sedangkan permintaan energi dunia sebagian besar berasal dari negara *non Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD)*. Pertumbuhan permintaan energi China diproyeksikan paling besar diantara kawasan lain diikuti oleh India. Untuk Asia Tenggara, Indonesia ada pada urutan pertama dengan kebutuhan energi mencapai 44% disusul, Malaysia sebesar 23% dan Thailand 20% dari total kebutuhan energi ASEAN.

Data *ASEAN Center for Energy* juga menyebutkan bahwa kawasan ASEAN akan menerima permintaan energi fosil mencapai 80% pada 2030 yang permintaan terbesar akan datang dari sektor industri dengan kenaikan 2,7% setiap tahunnya hingga tahun 2035.

Kontribusi energi fosil pada 2013 mencapai 94,6 % dari total kebutuhan/konsumsi energi nasional sebanyak 1.357 juta Setara Barrel Minyak (SBM), terdiri dari minyak sebesar 44,0%, gas alam 21,9%, dan batubara 28,7%. Sedangkan sisanya sekitar 5,5 % dipasok dari energi baru dan terbarukan (EBT).

Kebijakan energi terbarukan Indonesia diatur dalam Peraturan Presiden RI No. 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional. Perpres ini bertujuan untuk menjamin keamanan pasokan energi dalam negeri dan untuk mendukung pembangunan yang berkelanjutan.

Sasaran Kebijakan Energi Nasional adalah :

- Tercapainya elastisitas energi lebih kecil dari 1 (satu) pada tahun 2025.
- Terwujudnya energi (primer) mix yang optimal pada tahun 2025

Berdasarkan Sasaran Energi (Primer) Mix tahun 2025 besaran persentase biofuel untuk menjamin ketahanan energi nasional mencapai 5%. Penggunaan biofuel sebagai bahan bakar baik dalam bentuk biodiesel maupun bioetanol diyakini sebagai langkah paling cerdas dalam mengembangkan energi minim emisi dengan menggunakan biomassa.

Biodiesel dipertimbangkan menjadi energi alternatif pengganti bahan bakar fosil. Biomassa adalah salah satu sumber energi terbaik (Kulkarni, 2006). Minyak nabati adalah bahan baku yang umum digunakan di dunia untuk menghasilkan biodiesel, diantaranya *rapeseed oil* (Eropa), *soybean oil* (Amerika), minyak sawit (Asia), dan minyak kelapa (Filipina) (Hambali, 2007). Namun penggunaan bahan baku tanaman menimbulkan perdebatan karena kebutuhan pangan akan bersaing dengan kebutuhan energi, sehingga penggunaan mikroalga sebagai bahan baku menjadi solusi yang sangat menjanjikan.

Mikroalga merupakan mikroorganisme fotosintesis penghasil minyak yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai salah satu alternatif bahan baku pembuatan biodiesel (Ondrey, 2008 dan Christi, 2007). Mikroalga merupakan kelompok fotosintetik eukariotik yang besar dan beragam dengan struktur sel yang sederhana, mulai dari bentuk uniselular hingga multiselular dan dapat ditemukan dimana saja selama ada air, karbon dioksida dan cahaya matahari termasuk tanah, es, danau, sungai, air panas dan lautan (Parker *et al*, 2008).

Dengan kondisi perairan Indonesia yang sangat besar yakni mencapai 2/3 bagian luas total maka pengembangan mikroalga terus dilakukan untuk meningkatkan produksi biofuel berbahan dasar mikroalga secara massal dan dapat diaplikasikan secara nyata.

Meningkatnya produksi mikroalga pada tahap kultivasi disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya ketersediaan sinar matahari, CO₂ dan nutrisi. Mikronutrien (Fe, Mn, Cu, Zn) memiliki andil yang besar dalam proses percepatan pertumbuhan alga. Selain itu teknik pemanenan yang tepat dapat membantu memaksimalkan kuantitas mikroalga yang dapat diolah menjadi biodiesel.

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan kandungan FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*) yang dihasilkan dengan pelarut metanol/kloroform pada tahap ekstraksi menggunakan metode filtrasi pada tahap pemanenan.

1.2 Rumusan Masalah

Biodiesel berbahan dasar biomassa menjadi salah satu sumber energi terbaik namun kebutuhan pangan dan energi menjadi saling bersinggungan. Mikroalga menjadi solusi terbaik tanpa harus mengganggu pasokan kebutuhan pangan. Potensi dan penelitian mengenai mikroalga perlu terus dilakukan untuk mengetahui teknik produksi yang paling efektif dengan penambahan CO₂ pada tahap kultivasi dan penggunaan metode filtrasi pada tahap pemanenan.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menentukan komponen *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) yang terbentuk dengan metode ekstraksi *Osmotic Shock* melalui Uji *Gas Chromatography – Mass Spectrometry* (GC-MS)

1.4 Ruang Lingkup

Untuk mendapatkan hasil pembahasan yang maksimal, maka perlu dilakukan pembatasan masalah yang akan dibahas. Sesuai dengan tujuan dari penelitian ini, maka batasan masalah dapat diuraikan sebagai berikut :

1. Tempat yang menjadi lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia.
2. Mikroalga yang digunakan adalah *Chlorella vulgaris* yang diambil dari kolam fakultatif IPLT (Instalansi Pengelolaan Limbah Tinja) Sewon, Bantul, Yogyakarta dimana mikroalga telah beradaptasi terhadap limbah tinja
3. Sistem pencahayaan yang digunakan adalah pencahayaan kontinyu. Siang hari menggunakan sinar matahari dan malam hari menggunakan lampu LED.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah mengetahui potensi besaran produksi biodiesel dari mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan teknik filtrasi sehingga dapat digunakan sebagai berkontribusi dalam penelitian pengembangan biodiesel

menggunakan mikroalga dan dapat digunakan sebagai referensi acuan dalam pemanfaatan dan pengembangan mikroalga dikemudian hari.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

Mikroalga diakui sebagai salah satu mikroorganisme tertua di bumi (Song *et al.*, 2008). Mikroalga berukuran seluler dan umumnya dikenal dengan sebutan fitoplankton. Habitat hidupnya berada di wilayah perairan atau di tempat-tempat lembab. Organisme ini merupakan produsen primer di perairan yang mampu berfotosintesis seperti tumbuhan tingkat tinggi lainnya. Mikroalga yang banyak ditemukan berasal dari kelas *Bacillariophyceae* (diatom), *Chrysophyceae* (alga coklat keemasan), *Chlorophyceae* (alga hijau), dan kelas *Chyanophyceae* (alga hijau-biru). Berdasarkan pigmen yang dimiliki, mikroalga dikelompokkan menjadi lima filum, yaitu: *Chlorophyta* (alga hijau), *Chrysophyta* (alga keemasan), *Pyrrophyta* (alga api), *Euglenophyta*, dan *Cyanophyta* (alga hijau-biru) (Kawaroe, Pratono, dkk., 2010).

Mikroalga *Chlorella* digunakan dalam pengolahan air limbah, produksi biodiesel, produksi listrik menggunakan sel bahan bakar mikroba, suplemen makanan hewan dan ketersediaan ekstrak berharga untuk produk kimia (Ponnuswamy, 2013).

Chlorella vulgaris adalah mikroalga yang termasuk ke dalam alga hijau (chlorophyta). Bentuk sel *Chlorella vulgaris* bulat, bulat lonjong dengan garis tengah sel antara 2-10 μm . *Chlorella vulgaris* berkembang biak dengan cara membelah diri dan pembentukan spora. *Chlorella vulgaris* bersifat fotoautotrof, yaitu dapat membentuk makanannya sendiri melalui proses fotosintesis.

Ada 4 fase pertumbuhan menurut Pelczar, *et al.* (1986) pada mikroalga yang dikultur, yaitu:

1. Fase lag/adaptasi

Pertumbuhan mikroalga pada umumnya diawali fase adaptasi yang merupakan tahap penyesuaian sel terhadap lingkungan baru. Pembelahan sel pada

fase tersebut belum terjadi atau jika ada berlangsung lambat dan relatif sedikit (Clegg dan Mackean, 2000). Pertumbuhan pada fase ini umumnya berupa penambahan massa dan ukuran sel (Pelczar *et al.*, 1986).

2. Fase eksponensial

Peningkatan jumlah sel yang pesat terjadi pada saat eksponensial. Sel-sel membelah dengan kecepatan maksimum dan aktivitas fotosintesis meningkat. Aktivitas fotosintesis yang tinggi menyebabkan protein dan komponen-komponen penyusun protoplasma lainnya tinggi, yang berperan dalam proses pertumbuhan. Kandungan protein yang dihasilkan pada fase eksponensial lebih tinggi dibandingkan fase stasioner (Fogg dan Thake, 1987).

3. Fase stasioner

Fase stasioner ditandai dengan terjadinya keseimbangan antara tingkat pertumbuhan dengan kematian sel. Pertambahan sel terjadi dalam jumlah kecil (Madigan *et al.*, 2000). Penurunan laju pertumbuhan pada fase stasioner disebabkan keterbatasan nutrisi dan terbentuknya senyawa metabolit sekunder, hasil metabolisme sel yang terakumulasi dalam media kultur dapat menghambat proses metabolisme sel (Pelczar *et al.*, 1986).

4. Fase kematian

Setelah fase stasioner, terjadi pengurangan jumlah sel secara bertahap. Sel-sel mati dengan kecepatan yang bervariasi, bergantung pada jenis dan kondisi lingkungan. Beberapa faktor yang menyebabkan kematian sel adalah jumlah nutrisi berkurang, jumlah suplai CO₂ dan O₂ berkurang, perubahan pH media, dan rendahnya penetrasi cahaya yang dipengaruhi oleh kerapatan sel (Fogg dan Thake, 1987).

2.1.1 Taksonomi *Chlorella Vulgaris*

Berdasarkan taksonominya, *Chlorella vulgaris* memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Tabel 2.1 Taksonomi *Chlorella vulgaris*

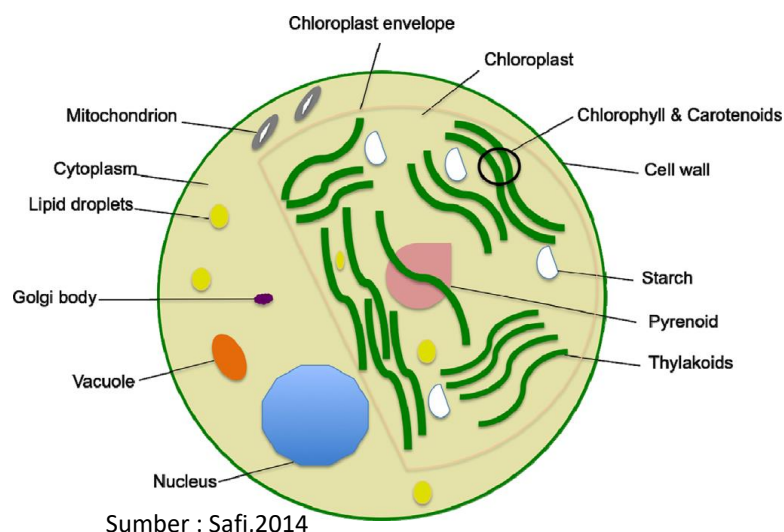
Klasifikasi ilmiah Chlorella	
Kingdom	<i>Plantae</i>
Divisio	<i>Chlorophyta</i>
Kelas	<i>Chlorophyceae</i>
Ordo	<i>Chlorococcales</i>
Familia	<i>Oocystaceae</i>
Genus	<i>Chlorella</i>
Spesies	<i>Chlorella vulgaris</i>

Sumber : Wikipedia

2.1.2 Morfologi *Chlorella Vulgaris*

Chlorella vulgaris adalah sel mikroskopis bola dengan diameter 2-10 μm dan memiliki banyak elemen struktur mirip dengan tanaman. Dinding sel dari sel anak secara bertahap meningkatkan ketebalan sampai mencapai 17-21 nm setelah pematangan sel, dimana lapisan *microfibrillar* terbentuk seperti lapisan kitosan pada glukosamin yang menyumbang kekakuan. Dalam tahap pematangan, ketebalan dinding sel dan komposisi yang tidak konstan karena mereka dapat berubah sesuai dengan pertumbuhan yang berbeda dan kondisi lingkungan.

Selain itu, beberapa laporan menjelaskan kekakuan dari dinding sel dikarenakan oleh lapisan sporopollenin, meskipun secara umum jarang ditemukan pada *Chlorella vulgaris* yang cenderung memiliki dinding sel dengan lapisan laminar. Sitoplasma adalah seperti gel substansi didefinisikan dalam penghalang membran sel dan terdiri dari air, protein larut dan mineral. Memiliki host organel internal *C. vulgaris* asmitochondria seperti, inti kecil, vakuola, sebuah chloroplast and tunggal badan Golgi (Safi, 2014).



Gambar 2.1 Penampang vertikal Mikroalga

Karakteristik taksonomi tradisional *Chlorella vulgaris* menunjukkan bahwa morfologi sifat biokimia digunakan dalam identifikasi, ukuran dan bentuk sel adalah variabel dan sangat tergantung pada berbagai usia, nutrisi dan faktor lingkungan. Pada **Tabel 2.2** dapat dilihat perbandingan persen minyak mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan mikroalga lainnya.

Tabel 2.2 Komposisi lipid beberapa mikroalga (% Berat Kering)

Mikroalga	Lipid (%)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	10 – 17
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	21 – 52
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	17
<i>Chlorella vulgaris</i>	12 – 17
<i>Spirogyra</i> sp.	33 – 64
<i>Euglena gracilis</i>	14 – 18
<i>Prymnesium parvum</i>	25 – 33
<i>Porphyridium cruentum</i>	40 – 57
<i>Synechococcus</i> s.	15

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat komposisi lipid dari *Chlorella vulgaris* berada pada angka 12 hingga 17 % dari total berat kering mikroalga.

2.1.3 Pemanfaatan *Chlorella vulgaris*

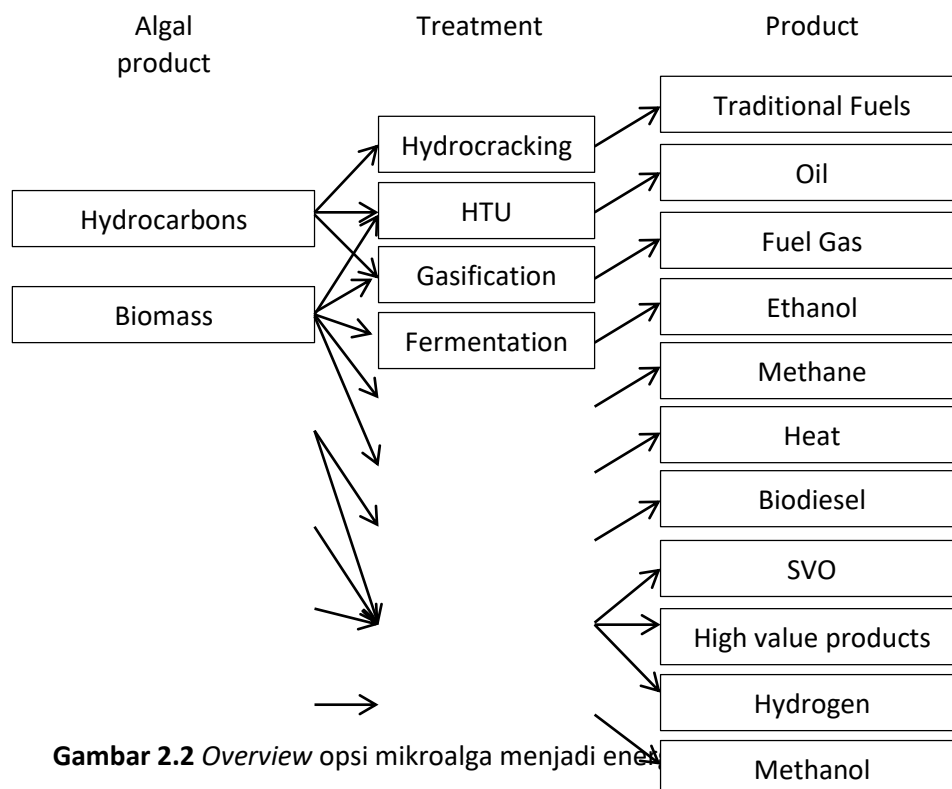
Dari kandungan esensialnya yang potensial, *Chlorella Vulgaris* merupakan organisme autotrof yang akhir-akhir ini banyak dimanfaatkan untuk bahan baku industri. Kemampuannya berfotosintesis dapat dimanfaatkan untuk mereduksi CO₂ dari udara sehingga mengurangi efek rumah kaca (Wang B. *et al*, 2008).

Selain itu, kandungan lipidnya yang cukup tinggi juga potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan biodiesel dengan menggunakan teknik ekstraksi atau pemisahan zat berdasarkan perbedaan kelarutannya. Pelarut yang digunakan pada tahap ekstraksi ada yang bersifat polar dan non-polar seperti kloroform, methanol, ethanol dan n-heksan.

2.2 Biodiesel

Ada beberapa cara untuk menghasilkan biofuel dengan menggunakan alga.

Gambar 2.2 menunjukkan beberapa opsi (FAO,2009).



Gambar 2.2 Overview opsi mikroalga menjadi energi

Biodiesel bersifat *non-toxic* dan *biodegradable* dengan kadar polutan yang rendah dan saat ini menerima banyak perhatian karena potensinya sebagai energi alternatif, berkelanjutan dan ramah lingkungan untuk petrodiesel, tidak mengandung sulfur dan bahan sisa setelah ekstraksi minyak dapat digunakan untuk produksi etanol atau sebagai pupuk (Demirbas,2011). Alkohol dengan rantai pendek seperti metanol pada tahap transesterifikasi digunakan untuk pembuatan biodiesel dengan menggunakan NaOH sebagai katalis (Vasudevan et al., 2008 dan Lam et al., 2012). Minyak mikroalga mengandung nilai-nilai yang tinggi dari asam palmitat, dan konsentrasi asam linoleat memenuhi persyaratan undang-undang Eropa untuk biodiesel (Converti,2009). Biodiesel memiliki beberapa keunggulan khusus ketika dibandingkan dengan bahan bakar diesel:

- Biodiesel dapat digunakan dalam mesin yang ada tanpa modifikasi.
- Biodiesel seluruhnya terbuat dari sumber nabati; tidak mengandung sulfur, hidrokarbon aromatik, logam atau residu minyak mentah.
- Biodiesel adalah bahan bakar oksigenasi ; emisi karbon monoksida dan jelaga cenderung menurun dibandingkan dengan bahan bakar diesel konvensional.
- Tidak seperti bahan bakar fosil, penggunaan biodiesel tidak berkontribusi dalam pemanasan global
- Keselamatan dan administrasi kesehatan mengklasifikasikan biodiesel sebagai cairan tidak mudah terbakar.
- Penggunaan biodiesel dapat memperpanjang umur mesin diesel karena kadar pelumas lebih tinggi dari solar minyak bumi.
- Biodiesel diproduksi dari minyak nabati /hewani dan karenanya meningkatkan bahan bakar atau ketahanan energi dan ekonomi mandiri

Mikroalga memiliki biomassa dan produktivitas lipid yang tinggi per unit areal dibandingkan dengan tanaman lain. Permintaan untuk bahan bakar dalam industri transportasi hanya bisa ditutupi oleh mikroalga sebagai sumber terbarukan (Christi, 2007). *Chlorella vulgaris* dikenal sebagai salah satu mikroalga hijau yang paling cepat berkembang. Pulz (Pulz,2002) melaporkan bahwa dengan menggunakan sistem tubular pada skala industri (700 m³) dengan luas wilayah 10.000 m², produksi tahunan yang

dapat diperoleh mencapai 130-150 ton berat kering *Chlorella*. Kadar lemak atau lipid dalam *Chlorella vulgaris* dapat meningkat secara signifikan, yaitu, antara 50% dan 70% (Yeh *et al.*, 2012).

2.3 Filtrasi

Pemanenan mikroalga menjadi masalah yang cukup menantang. Ada beberapa metode pemanenan yang umum digunakan pada mikroalga diantaranya flokulasi, setrifugasi, filtrasi dan belt press. Pemisahan mikroalga dengan air maupun larutan-larutan yang lain menjadi sulit karena harus memikirkan biaya dan waktu yang efektif (Shah J. *et al.*, 2014). Metode filtrasi umumnya digunakan pada tahap pemisahan padatan dan cairan (Surendhiran D, *et al.*, 2012).

Pada metode filtrasi, pemanenan biomassa mikroalga dilakukan melalui penyaring (filter), yang kemudian mikroalga tersebut akan terakumulasi menjadi pasta. Proses filtrasi ada yang berbentuk kontinu dan diskontinu. Metode filtrasi memungkinkan variasi dari ukuran filter dan membran tergantung dari jenis mikroalga, sangat disarankan untuk sel mikroalga dengan diameter cukup besar.

2.4 Penelitian Sebelumnya

Penelitian mengenai mikroalga telah banyak dilakukan dengan tahapan yang berbeda seperti masa kultivasi, ekstraksi hingga sintesis atau pengembangan penggunaan mikroalga-mikroalga yang jarang diteliti hingga berdasarkan banyaknya ketersediaan dan persebaran mikroalga pada area tertentu.

Daftar penelitian-penelitian terdahulu dapat dilihat pada **Tabel 2.3**.

Tabel 2.3 Penelitian mikroalga

No.	Peneliti	Judul	Tujuan	Hasil Penelitian
1.	Udom, et. al (2015)	<i>Harvesting microalgae grown on wastewater</i>	Melakukan analisis biaya dan perbandingan LCA alternatif panen yang berbeda yang dapat digunakan untuk alga yang tumbuh di air limbah untuk produksi biofuel.	• Alga tumbuh di fotobioreaktor menggunakan air limbah sebagai sumber pakan. • Garam logam multivalen dan polimer kationik yang mampu <i>recovery</i> >91%. • Merekomendasikan beltpress untuk proses dewatering mikroalga sebelum proses ekstraksi.
2	Sigita, et. al (2014)	<i>Batch Growth of Chlorella vulgaris CCA 896 versus Semi-Continuous Regimen for Enhancing Oil-Rich Biomass Productivity</i>	Meningkatkan akumulasi lipid pada sel <i>Chlorella</i> dengan menciptakan kondisi pertumbuhan di bawah tekanan.	• Lebih dari 56% lipid dapat terakumulasi pada pertumbuhan biomassa <i>Chlorella sp.</i> • Produktivitas paling tinggi berada di angka 0,30 g/L/d menggunakan semi-continuous Regimen • Dengan siklus pH-stress jumlah lipid tidak meningkat
3	Christi (2007)	<i>Biodiesel from Microalgae</i>	Mengetahui tentang potensi biodiesel dari mikroalga sebagai energi terbarukan dan netral dari karbon pengganti minyak bumi	• Biodiesel dari mikroalga dinyatakan layak secara teknis. Ini adalah satu-satunya biodiesel terbarukan yang dapat menggantikan bahan bakar dari minyak bumi. • Produksi biodiesel dari mikroalga secara low-cost membutuhkan pengembangan lanjutan melalui rekayasa genetik dan metabolik.

Penelitian mikroalga terus berkembang ditandai dengan banyaknya jurnal baik internasional maupun nasional seperti pada tabel di atas. Maka akan dilakukan studi awal pemanfaatan mikroalga sebagai bahan baku biodiesel menggunakan metode filtrasi pada tahap pemanenan di lingkungan Universitas Islam Indonesia.

2.5 Hipotesis

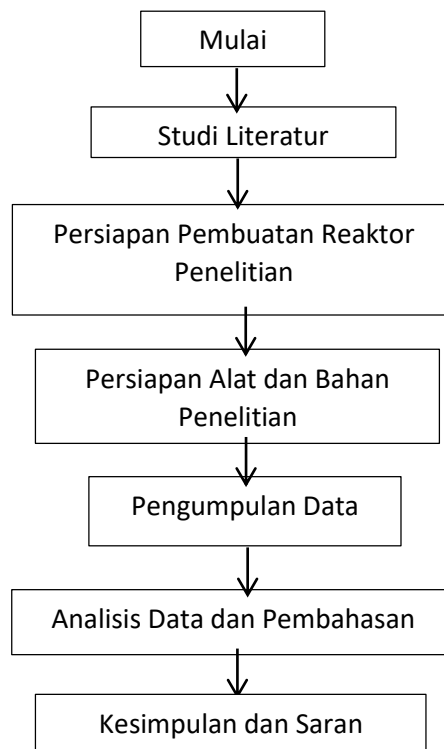
Adapun hipotesis yang akan dibuktikan dalam penelitian ini yaitu mengidentifikasi Fatty Acid Methyl Ester (FAME) pada mikroalga *Chlorella vulgaris* yang dapat digunakan sebagai biodiesel dengan rentang rantai karbon C_{14} hingga C_{22} .

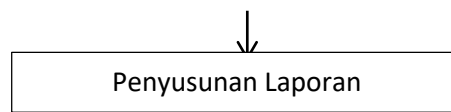
BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tahapan Penelitian

Berikut ini adalah diagram alir penelitian.



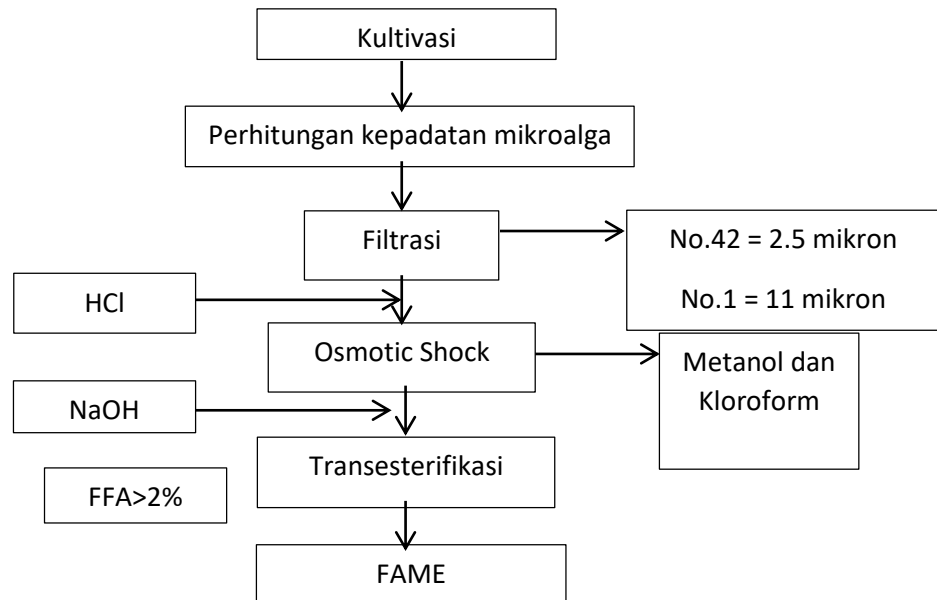


Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.2 Metode Pengumpulan Data

Data yang akan digunakan adalah data primer dan data sekunder. Data sekunder berupa teori-teori yang didapatkan dari observasi serta studi literatur. Sedangkan data primer didapatkan dengan melakukan penelitian di laboratorium.

Adapun perolehan data primer dilakukan melalui beberapa tahapan sebagai berikut:



Gambar 3.2 Tahapan Pengumpulan Data Pembuatan Biodiesel dari Mikroalga

3.3 Waktu dan Lokasi Penelitian

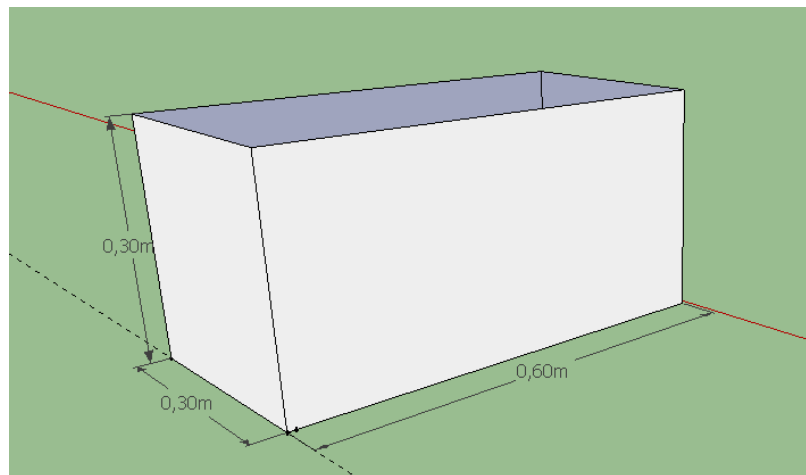
Pelaksanaan Penelitian ini berlangsung dari bulan April 2017 hingga Agustus 2017 bertempat di Laboratorium Bioteknologi dan Laboratorium Kualitas Air, Teknik Lingkungan Falkutas Teknik Sipil dan Perencanaan, Laboraturium Patologi Klinik, Pendidikan Dokter Falkutas Kedokteran, dan Laboratorium FMIPA Terpadu, Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia yang terletak di Jalan Kaliurang Kilometer 14,5, Kabupaten Sleman, Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Seeding dan Aklimatisasi

Seeding dan aklimatisasi merupakan perlakuan untuk mempersiapkan kultur mikroalga dapat beradaptasi dengan lingkungan pada tahap kultivasi. Proses ini dilakukan selama dua minggu dengan menambahkan pupuk NPK sebanyak 35 mg/L setiap dua hari sebagai sumber nutrisi mikroalga.

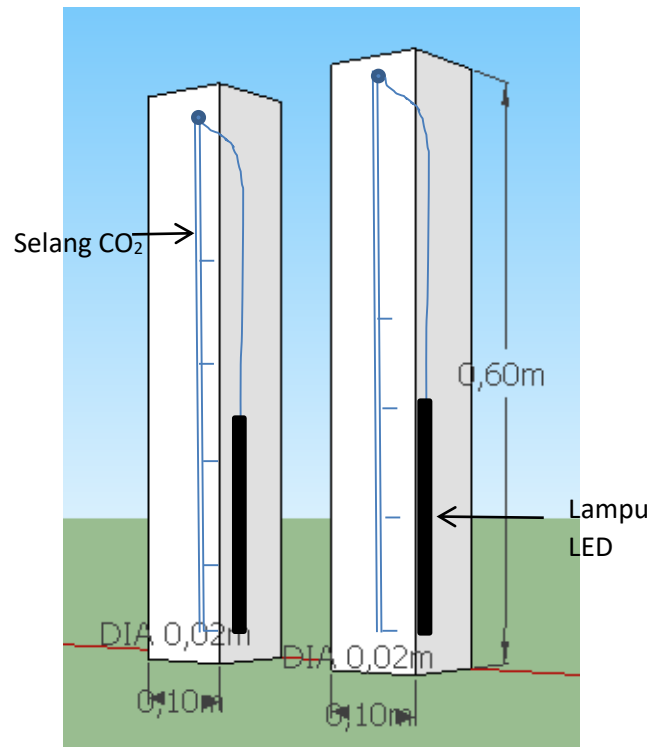
Dalam dua minggu dilakukan pengamatan hingga media kultur mikroalga menjadi hijau pekat selanjutnya mikroalga siap dikultivasi jika jumlah sel mencapai 6×10^6 sel/mL (Adi M. *et al*, 2015). Pada tahapan ini digunakan reaktor dengan dimensi 60 cm x 30 cm x 30 cm.



Gambar 3.3 Dimensi reaktor

3.4.2 Kultivasi Mikroalga

Kultivasi dimulai dengan meletakkan reaktor tertutup dengan kondisi terkontrol di luar laboratorium. Sistem pencahayaan yang digunakan adalah sistem penyinaran 24 jam dengan menggunakan lampu *Ligh-Emitting Diode* (LED) dengan intensitas cahaya 3860 lux. Proses kultivasi dan perhitungan sel mikroalga dilakukan selama 4 hari. Mengalirkan gas CO₂ sebesar 0,5 cc/min menggunakan pompa dosis melalui diffuser (Chiu *et al*, 2008).



Gambar 3.4 Dimensi reaktor mikroalga tahap kultivasi

3.4.3 Filtrasi

Teknik pemanenan yang digunakan adalah Filtrasi. Teknik ini menggunakan kertas saring *Whatman* No.1 dan No. 42 dengan ukuran pori masing-masing yakni 2,5 μm dan 11 μm berbahan selulosa.

3.4.4 Ekstraksi Lipid - *Osmotic Shock*

Pada tahapan ini dilakukan ekstraksi dengan metode *Osmotic Shock* dan mikroalga yang digunakan berada pada fase basah dengan menggunakan magnetic stirrer. Penambahan HCl 5 M dilakukan untuk memecah lapisan lipid. Pelarut yang digunakan adalah kloroform dan methanol dengan perbandingan 2:1 (v/v) (Byreddy A. *et al*, 2015). Kemudian dilakukan penambahan NaOH 5M untuk proses penetralan. Proses pengadukan dilakukan selama 60 menit dengan 200 rpm dan suhu 25° C dan dimaserasi selama 18 jam pada suhu ruang. Filtrat yang dihasilkan selanjutnya dipisahkan menggunakan *Rotary Evaporator*.

3.4.5 Transesterifikasi

Tahapan ini menggunakan katalis asam yakni asam sulfat (H_2SO_4) dan pelarut metanol/kloroform. Hasil ekstraksi yang dihasilkan kemudian dipanaskan dengan suhu 90°C untuk menguapkan pelarut selama 50 menit dengan kecepatan pengadukan sebesar 50 rpm menggunakan *magnetic stirrer* (Chiu *et al*, 2011).

3.5 Pengumpulan Data

Pengumpulan data penelitian ini berupa intensitas cahaya, pH, kerapatan sel pada tahap kultivasi dan berat basah mikroalga pada tahap pemanenan. Reaktor yang digunakan memiliki dimensi 60 cm x 10 cm x 10 cm sebanyak 2 buah selanjutnya disebut dengan W1 dan W42 dengan penambahan CO_2 sebesar 0,5 cc/min selama 4 hari berturut-turut. Selain itu dilakukan pemanenan dengan kertas filter *Whatman* No.1 dan No.42.

3.6 Identifikasi Jumlah Sel Mikroalga

Identifikasi alga dilakukan dengan metode *Haemocytometer* dengan mengambil sample dari reaktor W1 dan W42. Sampel kemudian disisipkan ke alat *Hecytometer* kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 kali dan dilakukan perhitungan. Sedangkan identifikasi alga dengan pengamatan pembesaran 40 kali lalu dibandingkan dengan literatur.

$$\text{Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{\text{Jumlah sel perkotak} \times \text{Faktor pengenceran}}{0,0004} \dots\dots\dots(3.1)$$

3.7 Analisis Data

3.7.1 Perhitungan Berat Mikroalga

Setelah dilakukan proses filtrasi dengan kertas filter *Whatman* No.1 dan No.42, kedua kertas ditimbang dengan timbangan analitik sebelum dan sesudah terbentuknya

endapan alga. Kedua nilai dibandingkan untuk mendapatkan berat basah alga dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Berat Alga Basah} = W2 - W1 \dots\dots\dots (3.2)$$

Keterangan :

W1 : Berat kertas filter

W2 : Berat kertas filter setelah proses filtrasi

3.7.2 Analisis GC-MS *Fatty Acid Methyl Ester*

Fatty Acid Methyl Ester (FAME) dapat dianalisa dengan menggunakan instrumen GC-MS. Minyak yang telah diekstraksi dan di transesterifikasi kemudian dicampurkan dengan pelarut awal yakni metanol dan kloroform kemudian dilakukan perbandingan dengan larutan standar biodiesel untuk mengetahui persentase *yield* lipid komposisi metil ester yang dihasilkan dari mikroalga *Chlorella vulgaris*. Data hasil pengamatan dilakukan analisis data secara deskriptif.

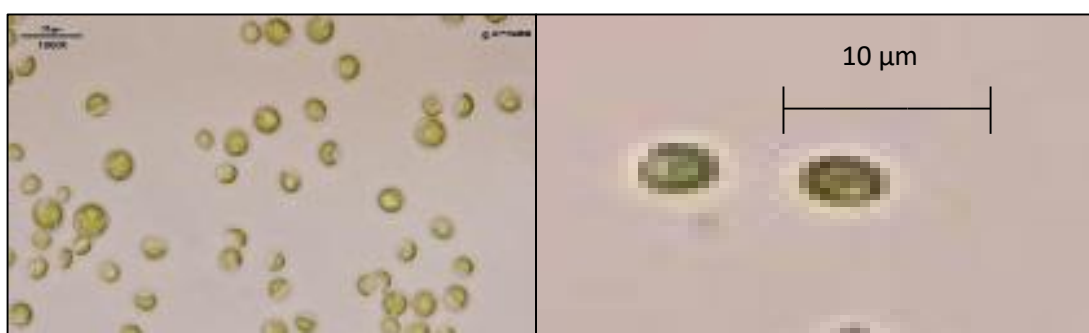
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Mikroalga

Mikroalga yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroalga bersumber dari kolam fakultatif IPLT (Instalansi Pengelolaan Limbah Tinja) Sewon, Bantul, Yogyakarta. Mikroalga telah beradaptasi dengan baik dengan lumpur tinja yang ditandai dengan warna hijau pekat pada permukaan kolam.

Fitur morfologi sel mikroalga seperti dinding, bentuk dan dimensi sel diobservasi dengan teliti secara mikroskopik. Gambar mikroskopis mikroalga ditunjukkan pada **Gambar 4.1**.





Gambar 4.1 Penampakan *Chlorella vulgaris* pada penelitian Universitas Texas (a) dan sampel penelitian (b)

Dari perbandingan gambar diatas dapat dilihat bahwa morfologi *Chlorella vulgaris* yang digunakan pada penelitian ini sesuai dengan morfologi pada literatur. Mikroalga yang berasal dari Sewon berwarna hijau pada intinya yang menunjukkan kandungan parietal tunggal kloroplas yang mengisi hampir keseluruhan sel, dengan bentuk bundar dan memiliki ukuran 5 – 6 μm . Ciri tersebut menunjukkan klasifikasi ganggang hijau (Bellinger et. al. 2015).

4.2 Seeding dan Aklimatisasi

Proses *seeding* dan aklimatisasi mikroalga *Chlorella vulgaris* dilakukan selama lebih kurang 3 bulan dengan mengambil bibit mikroalga dan dilakukan pengenceran 1:2 dengan air kran. Pengenceran ini bertujuan untuk menaikkan volume bibit alga yang didapat yang dibutuhkan untuk membuat kultur baru pada tahap kultivasi.

Tahap aklimatisasi dilakukan dengan menambahkan lampu LED, aerator dan pupuk NPK untuk memenuhi kebutuhan makronutrien mikroalga. Penambahan aerator untuk memberikan pasokan oksigen agar dapat mencegah penggumpalan dan pengendapan pada kultur mikroalga (Kawaroe *et al.* , 2010). Proses ini dilakukan hingga mendapatkan kultur berwarna hijau pekat yang menunjukkan sel-sel mikroalga telah berproduksi dan memiliki densitas sel yang tinggi dengan kerapatan sel lebih dari 6×10^6 sel/mL.



Gambar 4.2 Seeding dan aklimatisasi mikroalga pada bulan ke-2 dan ke-3

Proses *seeding* dan aklimatisasi umumnya dilakukan selama 2 minggu. dengan kondisi awal bibit mikroalga berwarna hijau segar, reaktor diletakkan di laboratorium mikrobiologi Teknik Lingkungan, FTSP, UII. Dilakukan pengukuran pH secara acak menggunakan pH meter, hasilnya menunjukkan kadar pH media kultur berada pada angka 4 dan warna kultur kuning kehijauan menunjukkan tingkat kerapatan sel yang rendah. Untuk itu dilakukan penambahan NaOH 1M untuk menaikkan pH kultur agar berada pada angka 7-8. Rodolfi *et. al.* (2009) menyatakan bahwa pH yang baik untuk pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dengan rentang pH 6,5 hingga 7,0, dan mengakumulasi lipid pada pH 7 hingga 8,5.

Namun terganggunya proses aklimatisasi tidak terjadi karna penurunan pH. Penurunan pH merupakan efek dari turunnya kerapatan sel secara bertahap. Hal ini terjadi dikarenakan jumlah CO₂ dan O₂ berkurang dan rendahnya penetrasi cahaya yang masuk ke reaktor.

Saat memasuki bulan ketiga dilakukan pemindahan ke luar ruangan dengan sinar matahari langsung untuk memenuhi kebutuhan mikroalga dalam proses fotosintesis. Terjadi perubahan yang signifikan dimana mikroalga dapat beradaptasi dengan baik, ditandai oleh berubahnya warna kultur dari bening atau hijau muda menjadi hijau pekat. Warna hijau pekat mengindikasikan naiknya kerapatan sel mikroalga.

4.3 Kultivasi dan Analisis Sel *Chlorella vulgaris*

Setelah didapatkan kultur yang hijau pekat, sel alga dipindahkan ke reaktor alga dengan perbandingan 1:4 (v/v) sebanyak 0,5 liter alga dari bak pembibitan ke kultur baru pada masing masing reaktor dengan menggunakan air kran.

Ada beberapa faktor yang memengaruhi pertumbuhan mikroalga baik abiotik maupun biotik. Untuk faktor abiotik termasuk temperatur, mineral, CO₂, pH, kualitas air, intensitas dan siklus cahaya; sedangkan faktor biotik adalah ketahanan dan densitas sel.

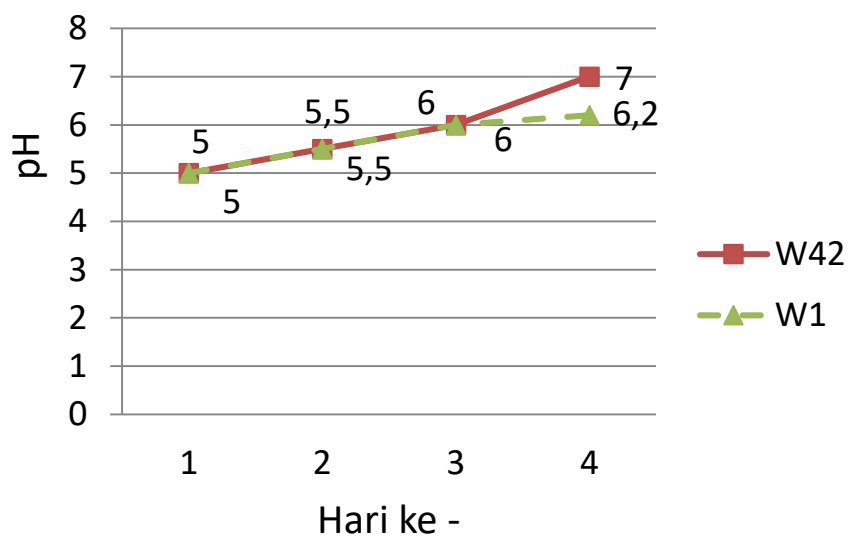
Cahaya dan temperatur menjadi faktor utama dalam kultivasi alga. Berdasarkan penelitian Satriaaji, *et al* (2016) pertumbuhan mikroalga dengan menggunakan intensitas cahaya 5000 lux menghasilkan yield lipid yang lebih tinggi dibandingkan 4000 lux. Untuk memaksimalkan cahaya yang masuk ke media kultur maka digunakan sistem penyaluran secara kontinyu Intensitas cahaya yang digunakan penelitian ini mencapai 6225 lux untuk jumlah cahaya total yang diukur menggunakan luxmeter dibawah sinar matahari dan lampu LED yang dipasang didalam reaktor dan 3860 lux pada malam hari.



Gambar 4.3 Kultivasi mikroalga pada hari ke-3 dan ke-4

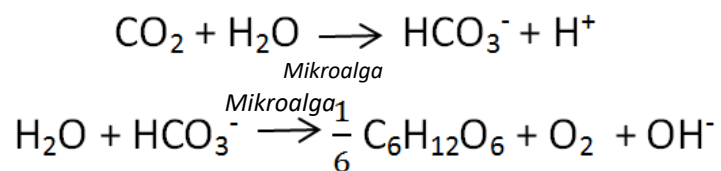
Dari **Gambar 4.3**, melalui pengamatan visual, pada hari pertama warna mikroalga hijau muda dan terus semakin pekat pada hari keempat yang menunjukkan sel-sel mikroalga terus membelah diri.

Untuk kondisi kultivasi tahap awal, pH berada pada angka 5 dan terus mengalami kenaikan hingga angka 6,2 untuk reaktor W1 dan 7 untuk reaktor W42 pada hari keempat dan dapat dilihat lebih jelas pada **Gambar 4.4**.



Gambar 4.4 Grafik kenaikan pH

Perubahan pada tahap kultivasi menunjukkan berjalannya proses fotosintesis *Chlorella vulgaris* dimana dikatakan peningkatan jumlah sel cenderung meningkatkan jumlah pH pada medium (Dianursani dan Joni, 2003). Proses pengalirkan gas CO₂ sebesar 0,5 cc/min menggunakan pompa dosis melalui diffuser secara terus menerus selama 4 hari penuh mempengaruhi kultur mikroalga selama tahap kultivasi. Hal ini dikarenakan suplai CO₂ akan berubah menjadi senyawa bikarbonat dalam air dimana *Chlorella vulgaris* akan menyerap karbon tidak dalam bentuk CO₂ melainkan bentuk senyawa bikarbonat tersebut. Reaksi CO₂ dalam air dapat dilihat pada **Gambar 4.5**.



Gambar 4.5 Reaksi CO₂ di air

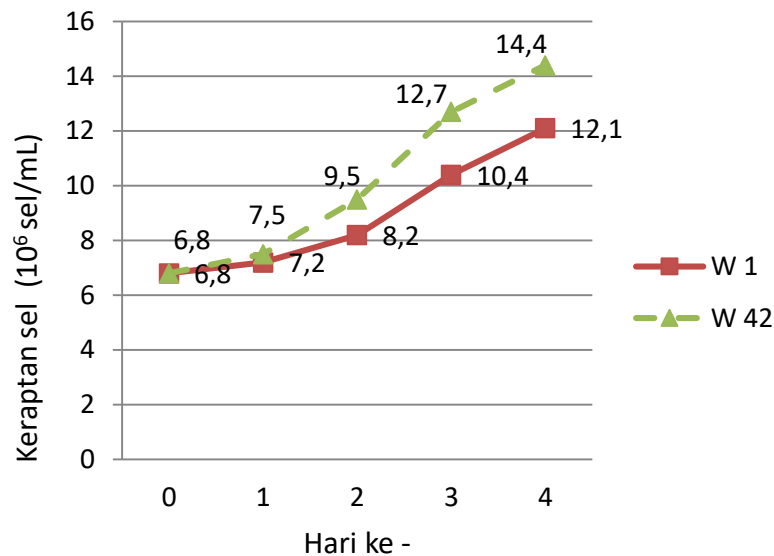
Saat terjadi fotosintesis senyawa bikarbonat akan bereaksi dan membentuk senyawa organik selanjutnya melepaskan ion OH⁻ ke media kultur sehingga berdampak pada pH menjadi semakin basa. Selain itu kondisi ini juga ditandai dengan berubahnya warna media kultur mikroalga menjadi lebih pekat. Perubahan media kultur mengindikasikan mikroalga dapat berfotosintesis secara optimal.

Kerapatan sel menjadi standar layak tidaknya mikroalga untuk dilakukan pemanenan. Perhitungan sel *Chlorella vulgaris* dilakukan dengan metode *Haemocytometer* dengan mengambil sampel mikroalga pada media kultur.



Gambar 4.6 Sampel mikroalga pada kultivasi hari ke-0 dan ke-2

Kerapatan sel *Chlorella vulgaris* selama masa kultivasi terus mengalami peningkatan setiap hari. Data kerapatan sel dapat dilihat pada **Grafik 4.7** dengan W1 mewakili reaktor W1 yang selanjutnya disebut sampel W1 dan W422 mewakili reaktor W42 yang selanjutnya disebut sampel W42.



Gambar 4.7 Grafik kerapatan sel *Chlorella vulgaris*

Berdasarkan grafik, kerapatan sel mikroalga terus meningkat setiap harinya. Kedua sampel pada awal masa kultivasi memiliki kerapatan sel yang sama yakni $6,8 \times 10^6$ sel/mL. Kedua sampel terus mengalami peningkatan pada sel alga yang dihasilkan namun pada hari ketiga dan keempat terdapat perbedaan nilai yang cukup besar dimana sampel W42 memiliki kerapatan sel yang lebih besar yakni $14,4 \times 10^6$ sel/mL sedangkan W1 sebesar $12,1 \times 10^6$ sel/mL.

Perbedaan yang terjadi bisa disebabkan oleh dua hal. Kemungkinan pertama, tidak dilakukan pengadukan terhadap kedua reaktor secara terus menerus, pengadukan yang terjadi hanya pada saat pemberian pupuk NPK sebagai nutrisi agar pupuk dapat tersebar di media kultur hal ini mengakibatkan jumlah sel mikroalga pada kedua reaktor berbeda. Kemungkinan kedua, sampel uji yang diambil tidak dilakukan pada waktu yang sama. Pengambilan sampel yang diambil pada pagi hari cenderung

memiliki kerapatan sel yang lebih sedikit dibandingkan sampel yang diambil pada siang hari, hal ini berhubungan dengan proses fotosintesis yang terjadi pada malam hari yang tidak maksimal karna intensitas cahaya yang kurang akan menyebabkan kerapatan sel pada pagi hari menurun.

4.4 Pemanenan *Chlorella vulgaris* dengan Metode Filtrasi

Mikroalga yang telah dikultivasi selama 4 hari selanjutnya dilakukan pemanenan. Pemanenan *Chlorella vulgaris* dilakukan dengan metode filtrasi, penggunaan kertas *Whatman* No.1 (W1) dan No.42 (W42).



Gambar 4.8 Persiapan pemanenan mikroalga

Proses filtrasi berjalan cukup lambat dikarenakan hanya memanfaatkan gravitasi bumi untuk menyaring alga yang dihasilkan. Sampel W1 memerlukan waktu 2 jam 15 menit untuk menyaring satu liter mediu kultur mikroalga dengan menggunakan dua kertas saring dan menghasilkan berat basah sebesar 3,274 gram. Untuk sampel W42 membutuhkan waktu yang lebih lama mencapai 2 jam 56 menit dan menghasilkan berat basah yang lebih banyak yakni 3,592 gram.

Karena ukuran pori yang kecil mikroalga yang tersaring akan menutupi pori-pori yang ada dengan membentuk pasta/*cake* sehingga memperlambat proses penyaringan dan akan membutuhkan waktu yang lebih lama untuk penyaringan mikroalga dalam jumlah besar. Kedua kertas filter yang digunakan memiliki kategori yang berbeda

berdasarkan ukuran pori, kertas filter *Whatman* No.1 masuk kedalam kategori *medium flow filter paper* sedangkan *Whatman* No.42 masuk kedalam kategori *slow filter paper*.



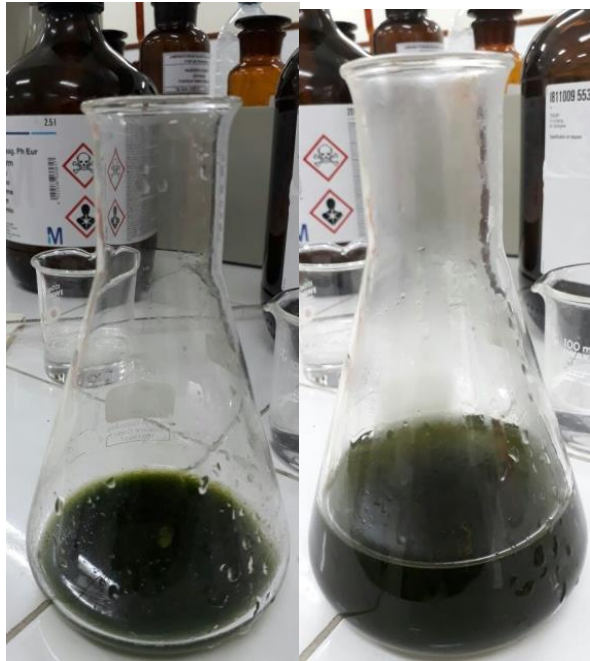
Gambar 4.9 Proses penyaringan mikroalga dengan kertas filter *Whatman*

Perbedaan hasil berat basah yang didapat dikarenakan oleh ukuran pori pada kertas filter *Whatman* No.42 lebih kecil dan dapat menyaring alga yang memiliki diameter paling kecil 2,5 μm , sehingga mikroalga yang disaring lebih banyak dibandingkan kertas filter *Whatman* No.1 yang memiliki ukuran pori sebesar 11 μm .

Perbedaan berat basah mikroalga pada kedua sampel memang tidak terlihat signifikan dalam jumlah yang kecil. Namun, jika diproyeksikan dengan menggunakan volume media kultur 1000 L, kemungkinan dapat menghasilkan mikroalga sebesar 1309,6 gram untuk sampel W1 dan 1436,8 gram untuk sampel W42 dengan perbandingan kedua sampel mencapai 127,2 gram.

4. 5 Ekstraksi Lipid – *Osmotic Shock*

Proses ekstraksi lipid dilakukan dengan metode *Osmotic Shock*. Metode ini lebih menghemat energi dibandingkan metode umum lainnya. Dengan menggunakan HCl 5M yang bertujuan untuk merusak membran sel sehingga lipid pada mikroalga dapat keluar. Mikroalga yang telah berbentuk *cake* kemudian ditambahkan HCl 5M sebanyak 150 mL sebelum dilakukan ekstraksi.



Gambar 4.10 Kondisi cake mikroalga sebelum (kiri) dan setelah (kanan) ditambahkan HCl

Pada **Gambar 4.10** dapat dilihat perbedaan warna sampel sebelum dan setelah ditambahkan HCl 5M. Sampel yang awalnya berwarna hijau tua berubah menjadi cokelat kehijauan, hal ini dikarenakan sel mikroalga langsung bereaksi terhadap asam kuat sehingga membran-membran sel mikroalga terbakar dan mengubah warna lapisan luar mikroalga.

Ekstraksi dilakukan selama 60 menit dengan kecepatan pengadukan 200 rpm pada suhu kamar. **Gambar 4.11** menunjukkan kondisi sampel setelah proses ekstraksi selesai dan pada tahap proses pemisahan cake mikroalga dengan larutan. Dari gambar tersebut kedua sampel berubah warna, sampel W42 berubah menjadi hijau pekat sedangkan sampel W1 menjadi hijau muda. Karena pada proses pengadukan, klorofil yang dimiliki *Chlorella vulgaris* ikut terekstrak keluar dan mengubah warna filtrat. Pada tahap ini dapat dilihat lapisan tipis minyak dibagian atas sampel.



Gambar 4.11 Proses pemisahan filtrat setelah dilakukan ekstraksi pada sampel W42 (kiri) dan sampel W1 (kanan)

Setelah pemisahan dilakukan pemisahan cake mikroalga, filtrat yang dihasilkan dicampurkan dengan metanol/kloroform sebagai bahan pelarut lipid. Metanol/kloroform merupakan kombinasi pelarut polar dan non-polar dengan perbandingan 1:2. Hal ini dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya yang menyebutkan kombinasi pelarut ini lebih efektif untuk mikroalga *Chlorella sp.* (Byreddy A. *et al*, 2015). Membran lipid lebih efektif untuk diekstraksi dengan pelarut organik polar seperti etanol dan metanol, yang akan menurunkan interaksi hidrofobik diantara molekul lipid tetapi juga melemahkan ikatan hidrogen dan interaksi elektrostatis yang mengikat membran lipid terhadap membran protein. Sedangkan kloroform berguna sebagai pengikat lipid yang bersifat non-polar.

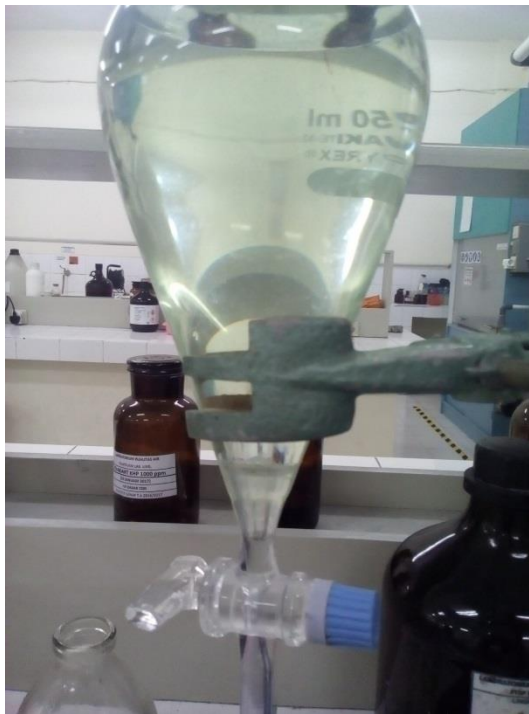
Setelah proses perusakan membran sel untuk meningkatkan ekstraksi lipid dilanjutkan dengan proses Maserasi. Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan cara perendaman sampel yang menggunakan pelarut organik dan dilakukan pada suhu ruang, perendaman ini akan menyebabkan pemecahan dinding sel dan membran sel akibat dari perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga lipid yang terdapat di dalam sitoplasma akan larut dalam pelarut organiknya. Proses maserasi ini berjalan selama 18 jam agar lipid mikroalga yang telah dirusak membran selnya oleh HCl dapat terikat

dengan pelarut polar yang digunakan. Hasil ekstraksi *Osmotic Shock* dapat dilihat pada **Gambar 4.12.**



Gambar 4.12 Sampel akhir setelah ekstraksi

Tahapan selanjutnya adalah proses pemisahan pelarut dan minyak *crude* mikroalga dengan *Rotary Evaporator* dengan maksimal suhu 70° C. Namun hal ini tak dapat dilakukan dikarenakan filtrat yang dihasilkan mengandung aquades, HCl dan NaOH, dimana ketiga komponen tersebut memiliki perbedaan titik didih yang cukup besar dengan kemampuan instrumen yang digunakan. Selanjutnya, dilakukan teknik pemisahan cair-cair dengan menggunakan bantuan corong pemisah.



Gambar 4.13 Pemisahan cair-cair

Setelah didiamkan selama 2 jam, maka terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas merupakan campuran antara metanol/air sedangkan lapisan bawah merupakan chloroform. **Gambar 4.13** menunjukkan lipid terdapat pada lapisan bawah tercampur dengan kloroform, dan molekul yang lebih polar seperti protein dan gula terbagi kedalam fase polar dari metanol/air. Kloroform dan lipid yang berada dilapisan bawah diambil secara perlahan-lahan tanpa membawa lapisan atas.

Selanjutnya dilakukan penguapan pada suhu 70°C dan terus dilakukan pemantauan hingga menghasilkan cairan yang tidak ikut teruapkan yang kemudian dianggap sebagai ekstrak lipid. Jumlah yang dihasilkan sekitar 5 hingga 6 tetes.

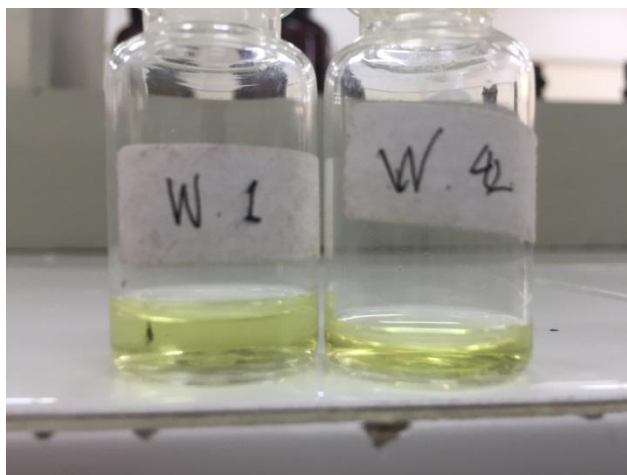
4.6 Sintesis Biodiesel – Transesterifikasi

Transesterifikasi dapat dilakukan jika minyak bebas (FFA) tidak lebih dari 2%, maka dapat dilakukan sintesis *single step*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pelarut organik yakni metanol-kloroform, asam sulfat dan ekstrak lipid yang telah dihasilkan pada tahapan sebelumnya.



Gambar 4.14 Reaksi transesterifikasi secara umum

Asam sulfat digunakan sebagai katalis agar mempercepat reaksi yang diinginkan pada proses transesterifikasi ini. Setelah dilakukan pengadukan dengan *magnetic stirrer* pada suhu 90°C selama 40 menit dilakukan pencucian dengan menggunakan aquades sebanyak 1 mL.



Gambar 4.15 Hasil transesterifikasi ekstrak *Chlorella vulgaris*

Umumnya akan terbentuk dua lapisan dengan lapisan pelarut pada bagian atas sedangkan FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*) pada lapisan bawah. Lapisan FAME akan mengalami perubahan warna menjadi kuning gelap dikarenakan proses pemanasan yang berlangsung. Namun seperti yang terlihat pada **Gambar 4.15** tidak terlihat adanya batasan lapisan secara visual. Hal ini kemungkinan terjadi karena konsentrasi biodiesel yang sangat kecil hingga tidak adanya indikasi biodiesel pada larutan.

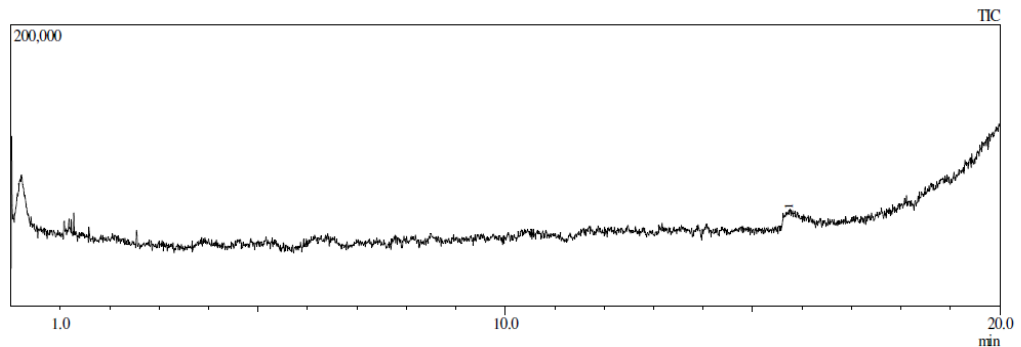
4.7 Analisis GC-MS Fatty Acid Methyl Ester

Larutan yang dihasilkan pada tahap sintesis biodiesel tidak dapat diidentifikasi secara visual. Uji senyawa biodiesel dilakukan dengan menggunakan Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS). Metode analisis GC-MS adalah dengan membaca spektra yang terdapat pada kedua metode yang digabung tersebut. Pada spektra GC sampel dengan senyawa yang banyak akan menghasilkan puncak (peak) yang banyak. Berdasarkan waktu retensi yang sudah diketahui dari literatur, dapat diketahui senyawa apa saja yang ada pada sampel. Metode GC-MS yang digunakan pada sampel ini dapat dilihat pada tabel berikut.

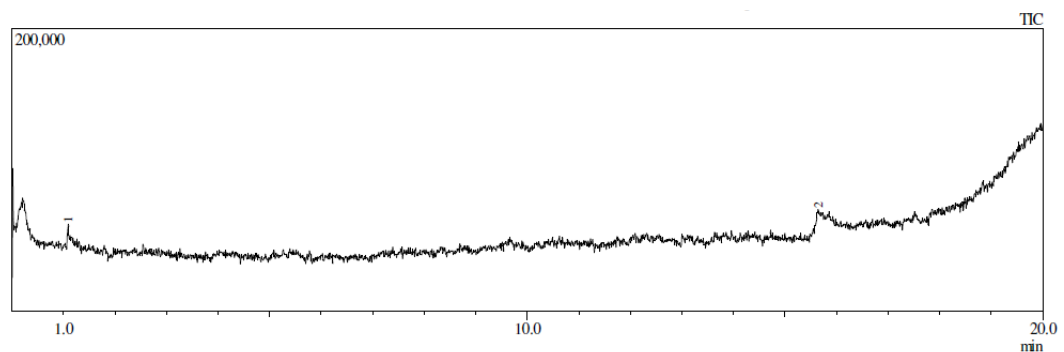
Tabel 4.1 Kondisi Analisis Standar GC-MS

Column Oven Temp.	80° C
Inject Temp.	300° C
Inject Mode	Split
Flow Control Mode	Pressure
Pressure	42.3 kPa
Total Flow	3110 mL/min
Column Flow	2 mL/min
Linear Velocity	52.1 mL/min
Purge Flow	3 mL/min
Split Ratio	153
Oven Temp. Program	80°C 320°C hold time 5 minutes
Start Time	0.00 min
End Time	29.00 min

Kedua sampel kemudian dianalisis untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung. Hasil kromatogram dapat dilihat pada Gambar 4.16 dan Gambar 4.17.



Gambar 4.16 Kromatogram larutan sintesis biodiesel *Chlorella vulgaris* (sampel W1)



Gambar 4.17 Kromatogram larutan sintesis biodiesel *Chlorella vulgaris* (sampel W42)

Pada Analisa kromatogram kedua sampel diatas, sampel W1 hanya menghasilkan 1 peak pada waktu retensi 15,733 menit dengan 5 senyawa teridentifikasi tanpa komponen asam lemak. Sedangkan sampel W42 menghasilkan 2 peak dengan 10 senyawa dengan komponen asam lemak yang terdeteksi pada peak ke 2 dan dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Komponen kimia larutan hasil transesterifikasi (sampel W42)

No	Waktu Retensi	Area (%)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Referensi
----	---------------	----------	--------------	---------------	-----------

1	15,642	64,04	Myristoleate Acid/ Methyl Myristoleate	C ₁₄ H ₂₆ O ₂ (C _{14:1})	DIN EN14103:2011
---	--------	-------	---	---	------------------

Pada sampel W42 teridentifikasi kandungan asam lemak dari lipid mikroalga *Chlorella vulgaris* yang berpotensi menjadi bahan baku biodiesel. *Miristoleate Acid/ Methyl Miristoleat* teridentifikasi pada waktu retensi 15,642 menit sedangkan berdasarkan European method EN14103:2011 for the determination of FAME content waktu retensi *Miristoleate Acid/ Methyl Miristoleat* berada pada 16,275 menit. *Myristoleate Acid/ Methyl Myristoleat* merupakan asam lemak tak jenuh (*unsaturated fatty acid*) berantai sedang (C_{14:1}). Komponen asam lemak ini juga ditemukan pada penelitian Ivanova et. al (2013) dan Prartono et. al. (2013) dengan konsentrasi yang kecil.

Tidak banyaknya FAME yang terdeteksi besar kemungkinan dikarenakan proses transesterifikasi dilakukan tidak menggunakan refluks tertutup sehingga saat pemanasan dengan suhu 90° C, minyak yang telah terekstraksi ikut menguap dengan senyawa kloroform. Kloroform sendiri memiliki titik didih 61,2° C, lipid yang terikat pada kloroform ikut teruapkan dan menyisakan air, pelarut dan katalis pada sampel yang dihasilkan.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan Uji GC-MS dilaboratorium *Myristoleate Acid/ Methyl Myristoleat* dengan rantai sedang (C_{14:1}) teridentifikasi pada sampel W42 dengan waktu retensi 15,642 menit yang berpotensi menjadi bahan baku biodiesel.

5.2 Saran

1. Sebaiknya *seeding* dan kultivasi dilakukan diluar ruangan agar intensitas cahaya dari sinar matahari dapat meningkatkan jumlah sel.

2. Proses transesterifikasi harus dilakukan dengan refluks tertutup untuk menghindari pelarut yang digunakan menguap bersama lipid yang telah terikat selama terpapar panas.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi M., *et al*, 2015. **Fiksasi Emisi Karbon Dioksida dengan Kultivasi Mikroalga Menggunakan Nutrisi dari Air Limbah Industri Susu**. Jurnal Riset Industri. Vol. 9 No.1 Hal. 13-21.
- Bellinger EG, Sigeo DC (2015) **Freshwater Algae: Identification, Enumeration and Use as Bioindicators**, second ed., John Wiley & Sons Ltd.
- Byreddy. A.R. ,*et al*. 2015. **Comparison of Cell Disruption Methods for Improving Lipid Extraction from Thraustochytrid Strains**. Marine Drugs. 13, 5111 – 5127.
- Chisti, Y.. 2007. **Biodiesel from Microalgae**. *Biotechnology Advances*.. 25: 297-306
- Chiu SY, *et al*. 2011. **Microalgal Biomass production and on-site bioremediation of carbon dioxide, nitrogen oxide and sulfur dioxide from flue gas using *Chlorella Sp* cultures**. *Bioresour Tecnol*. 102: 9135-42.
- Clegg, C. J. & DG. Mackean. 2000. **Advanced Biology Principle and Applications**. London: John Murray (Publisher) Ltd
- Converti,A; *et al*. 2009. **Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella Vulgaris* for biodiesel production**. *Chem. Eng. Process. Process Intensif*. 48.1146-1151.
- Dianursanti. 2003. **Peningkatan Produksi Biomassa *Chlorella Vulgaris* Melalui Perlakuan Teknik Pemerangkapan Sel dalam Aliran Sirkulasi Media Kultur**. Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia
- DIN EN14103:2011. **Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Ester (FAME) – Determination of ester and linolenic acid methyl ester content**. European Comittee for Standarization, Management Centre: Avenue Marnix 17: B-1000 Brussels
- Demirbas A. 2011. **Impotance of Alage Oil as a Source of Bidiesel**. *Energy Conversion and Management*, 53, 163 – 170.
- Fogg, G. E. & B. Thake. 1987. **Algal Cultures and Phytoplankton Ecology**. Wincosin: 3rd The University of Wincosin Press
- Food and Agriculture Organization. 2009. **The State of Food and Agriculture**.

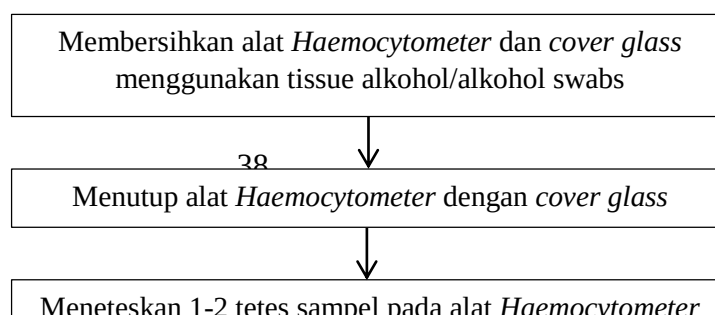
- Kawaroe, M., Tri Prartono, Adriani Sunuddin, Dahlia Wulan Sari, dan Dina Augustine. 2010. **Mikroalga: Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar**. Bogor: IPB Press
- Kulkarni, M.G., Dalai A. K.. 2006. **Waste Cooking Oil – an Economic Source for Biodiesel: A review**. Ind Eng Chem Res. 45: 2901-13
- L. Rodolfi, Z. G. Chini, Bassi, N. and "et al.", 2009. **Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor**", Biotechnol Bioeng 102:100-112.
- Lam, Man K., et al.. 2016. **Cultivation of Chlorella vulgaris Using Nutrients Source from Domestic Wastewater for Biodiesel Production: Growth Condition and Kinetic Studies**. Renewable Energy. Elsevier. 103 (2017) 197-207.
- Lang, X., et al, 2002. **Preparation and characterization of biodiesel from various Bio-Oils Bioresour. Technol.**, 80; 53-62.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., dan Parker, J.. 2000. **Brock Biology of Microorganism. 9th Edition**. New Jersey: Prentice-Hall Inc
- Ondrey, G.. 2008. **Commercial Production and Debut of A New Solid-acid Catalyst for Making Biodiesel**. Chemical Engineering. 115(2): 12
- Pelczar, M. J. & E. C. S. Chan. 1986. Penterjemah, Ratna Siri Hadieoetomo dkk. **Dasar-Dasar Mikrobiologi I**. Jakarta: UI-Press
- Parker MS, Mock T, Armbrust EV. 2008. **Genomic insights into marine microalgae**. Annu. Rev. Genet. 42 ; 619-645.
- Peraturan Presiden RI No. 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional**
- Ponnuswamy, Indhumathi, Soundarajan Madhavan, Syed Shabudeen. 2013. **Isolation and Characterization of Green Microalgae for Carbon Sequestration, Waste Water Treatment and Biofuel Production**. International Journal of Bio-Science and Bio-Technology. Vol. 5, No. 2
- Pulz, O. 2001. **Photobioreactor : Production systems for phototrophic microorganism**. Appli. Microbiol Biotechnol. 57, 287-293.
- Satriaji, Edwin, Muhammad Zainuri, Ita widowati. 2016. **Study of Growth and N, P Content Of Microalgae Chlorella vulgaris Cultivated In Different Culture Media and Light Intensity**. Jurnal Teknologi. Vol 78. No.4-2
- Shah J. H., et al. 2014. **Comprehensive Overview on Various Method of Harvesting Microalgae According to Indian Perspective**. International Conference on Multidisciplinary Research & Practice. Vol. I Issue VII. 313-317.
- Sharma, K.K.: Schumann, H: Schenk, P.M. 2012. **High Lipid Induction in Microalgae for biodiesel Production**. Energies, 5, 1532-1553

- Sharma, Y.C., Singh, B ; Korstad, J. 2011. **Advancements in solid acid catalysts for ecofriendly and economically viable synthesis of biodiesel, biofuels, bioprod.** Bioref 5 : 69-92.
- Sigita Vaiciulyte, Giulia Padovani, Jolanta Kostkeviciene dan Pietro Carlozzi. 2014. **Batch Growth of *Chlorella vulgaris* CCALA 896 versus Semi-Continuous Regimen for Enhancing Oil-Rich Biomass Productivity.** *Enegies* 3840-3857
- SNI 7182:2015. **Biodiesel**
- Spolaore,P.et al.,2006. **Commercial Application of Microalgae.** *Journal of bioscience and bioengineering.* 101(2),pp.87-96.
- Surendhiran D. And Vijay M. 2012. **Microalagl Biodiesel – A Comprehensive Review on the Potentil and Alternative Biofuels.** *Research Journal of Chemical Sciences.* Vol 2(11). 71-82.
- Tri Prartono, Mujizat Kawaroe, Vicky Katili. 2013. **Fatty Acid Compositionof Three Diatom Species *Skeletonen costatum*, *Thalassiosira sp.* And *Chaetoceros gracilis*.** *International Journal of Environment and Bioenergy*, 28 – 43.
- Udom, Innocent, *et al.* 2015. **Harvesting microalgae grown on wastewater.** *Biosource Technology.* Elsevier. 139. 101-106.
- V. Ivanova, M. Stancheva, D. Petrova. 2013. **Fatty Acid Composition of Black Sea *Ulva rigida* and *Cystoseira crinita*.** *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 42-47.
- Vasudevan PT, Birggs M. 2008. **Biodiesel production-current state of the art and challenges.** *J. In. Microbiol Biotechnol*, 35. 421-430.
- Wang B. *et al*, 2008. **CO₂ Bio-Mitigation Using Microalgae.** *Microbiology and Biotechnology.* Vol. 79, No. 5, pp. 707-718
- Widyastuti, C. R., Ayu Candra Dewi. 2015. **Sintesis Biodiesel dari Minyak Mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan Reaksi Transesterifikasi Menggunakan Katalis KOH.** *Teknik Kimia D3 Universitas Semarang*
- Yeh, K –L: et al,. 2012. **Effects of cultivation conditions and media composition on cell growth and lipid productivity of indigenous microalga *Chlorella Vulgaris*,** *ESP-31. Bioresour. Technol*, 105, 120-127.

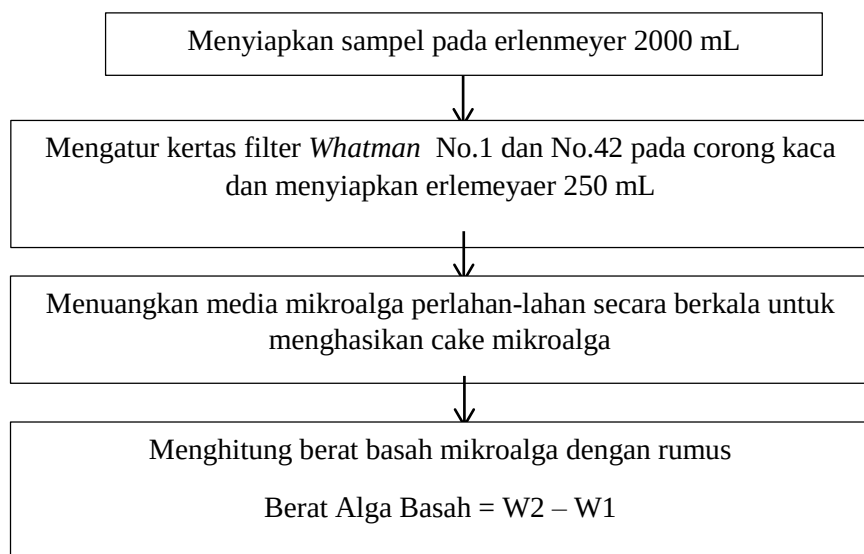
LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 (Tata Cara Pengujian)

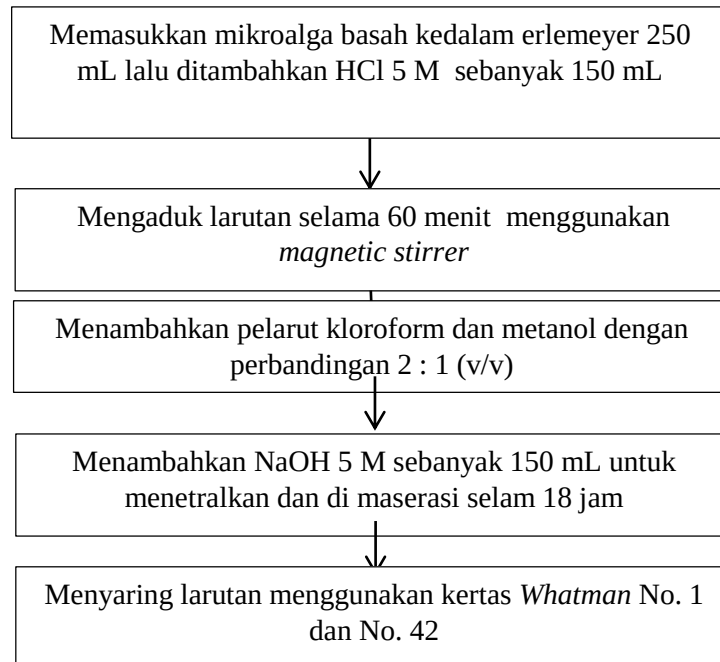
1. Cara Kerja Identifikasi Jumlah Sel Mikroalga dengan *Haemocytometer*



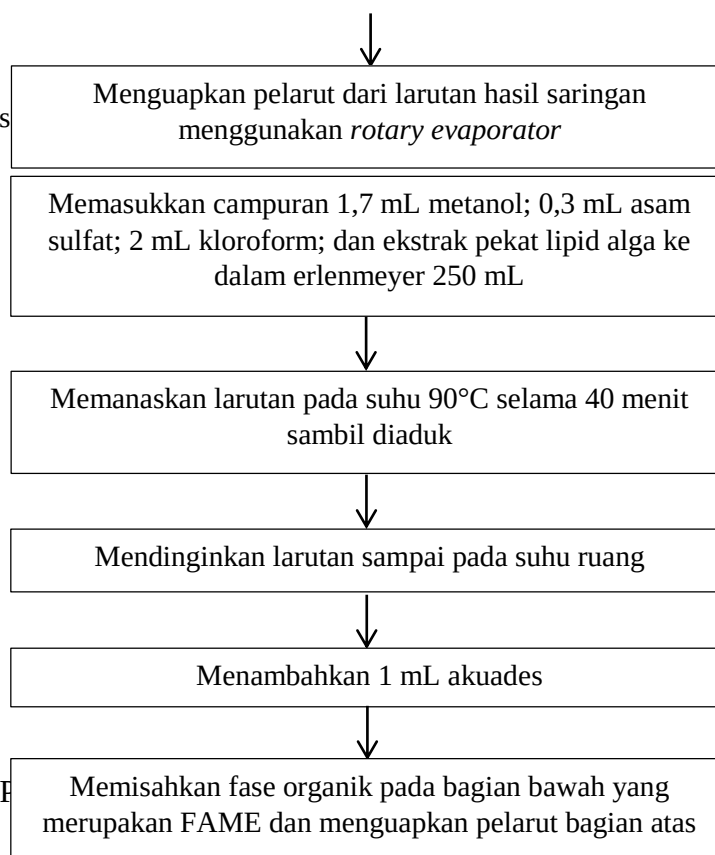
2. Cara Kerja Pemanenan Mikroalga



3. Cara Kerja Ekstraksi



4. Cara Kerja Trans



LAMPIRAN 2 (Data P

1. Data Pengamatan, Pengujian, dan Contoh Perhitungan Identifikasi Jumlah Sel Mikroalga dengan Alat *Haemocytometer*

Hari ke-	Kerapatan Sel ($\times 10^6$ sel/mL)	
	Reaktor W1	Reaktor W42
0	6,8	6,8
1	7,2	7,5
2	8,2	9,5
3	10,4	12,7
4	12,1	14,4

Perhitungan:

Diketahui : Faktor pengenceran hari ke-0 = 2

Faktor pengenceran hari ke-1 sampai hari ke-4 = 4

a. Sampel W1

Hari ke-0:

$$\text{Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{\text{Jumlah sel perkotak} \times \text{Faktor pengenceran}}{0,0004}$$

$$= \frac{(763+597) \times 2}{0,0004}$$

$$= 6,8 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-1: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(310+411) \times 4}{0,0004}$$

$$= 7,2 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-2: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(348+472) \times 4}{0,0004}$$

$$= 8,2 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-3: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(343+667) \times 4}{0,0004}$$

$$= 10,4 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-4: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(641+569) \times 4}{0,0004}$$

$$= 12,1 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

b. Sampel W42

Hari ke-0:

$$\text{Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{\text{Jumlah sel perkotak} \times \text{Faktor pengenceran}}{0,0004}$$

$$= \frac{(763+597) \times 2}{0,0004}$$

$$= 6,8 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-1: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(518+232) \times 4}{0,0004}$$

$$= 7,5 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-2: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(621+329) \times 4}{0,0004}$$

$$= 9,5 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-3: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(529+742) \times 4}{0,0004}$$

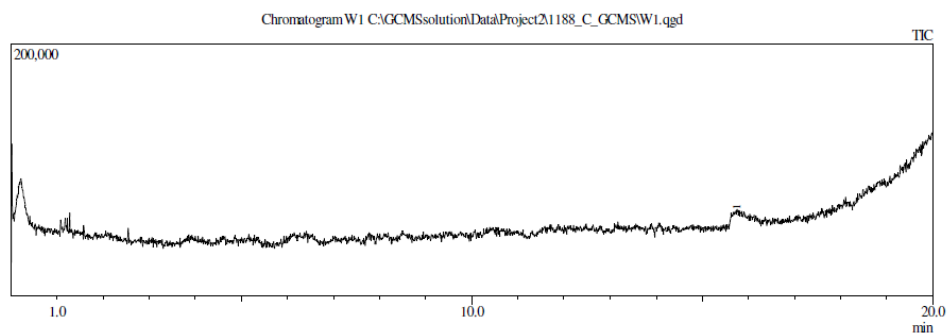
$$= 12,7 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-4: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(716+724) \times 4}{0,0004}$$

$$= 14,4 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

LAMPIRAN 3. Kromatogram Sampel W1 dan W42

Sample Information
Analyzed by : Admin
Analyzed : 8/28/2017 2:14:41 PM
Sample Name : W1
Sample ID : 3
Injection Volume : 0.10
Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project2\1188_C_GCMSW1.qgd
Tuning File : C:\GCMSsolution\System1\Tune1\Tuning 01082017.qgt



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Peak Report TIC		
				Area	Area%	Height
1	15.733	15.717	15.883	122307	100.00	14632
				122307	100.00	14632