

PENGARUH FOTOPERIODE dan VARIASI KANDUNGAN NITROGEN (NaNO_3) TERHADAP LAJU PERTUMBUHAN dan KANDUNGAN *LIPID* MIKROALGA BLT0404

Yusuf Hendrawan*, Sumardi Hadi S, Sabrina Anggraini

Jurusan Keteknikian Pertanian - Fakultas Teknologi Pertanian - Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: yusuf_h@ub.ac.id

ABSTRAK

Mikroalga merupakan salah satu organisme yang dapat di nilai ideal dan potensial untuk dijadikan sebagai bahan baku produksi biofuel Kandungan *lipid* dalam biomassa mikroalga kering spesies tertentu dapat mencapai di atas 50%. Fotoperiode memegang peranan penting dalam laju pertumbuhan mikroalga. Ketika mikroalga dikultur dalam kondisi nitrogen terbatas, efek yang paling menonjol adalah degradasi aktif dan spesifik. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui laju pertumbuhan, kandungan *lipid* dan kandungan asam lemak yang dihasilkan dari berbagai perlakuan. penelitian ini metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor yaitu faktor I kandungan komposisi nitrogen (NaNO_3) dengan 4 level yaitu 25% NaNO_3 , 50% NaNO_3 , 75% NaNO_3 , dan 100% NaNO_3 dan faktor II dengan pebandingan fotoperiode 8 jam terang (8T) : 16 jam gelap (16G) dan 24 jam terang (24T) : 0 jam gelap (0G). Hasil laju pertumbuhan maksimum (μmaks) mikroalga BLT0404 yang tertinggi dihasilkan dari perlakuan 100% nitrogen dengan fotoperiode 24T:0G yaitu sebesar 14.1134×10^6 dan kandungan lipid terbesar dihasilkan dari perlakuan 25% nitrogen dengan fotoperiode 24T:0G yaitu sebesar 61.9% *dry weight*.

Kata kunci: fotoperiod, mikroalga, tingkat pertumbuhan

EFFECT PHOTOPERIODE and VARIATION CONTENT NITROGEN (NaNO_3) for GROWTH RATE and LIPID CONTENT MICROALGAE BLT0404

ABSTRACT

Microalgae is one organism that can be ideal and the potential value to be used as raw material for biofuel production in the lipid content of the dry biomass of certain species of microalgae can reach above 50%. Photoperiod plays an important role in the growth rate of microalgae. When microalgae cultured in conditions of limited nitrogen, the most prominent effect is active and specific degradation. This study was conducted to determine the rate of growth, lipid content and fatty acid content that is produced from a variety of treatments. This research method used was completely randomized design (CRD) with two factors: the first factor content of the composition of nitrogen (NaNO_3) with 4 levels of 25% NaNO_3 , 50% NaNO_3 , 75% NaNO_3 , and 100% NaNO_3 and factor II by Comparing photoperiod 8 hours of light (8T): 16 hour dark (16G) and 24 hours of light (24L): 0 hours dark (0G). Results of the maximum growth rate ($\mu\text{ maks}$) BLT0404 highest microalgae produced from 100% nitrogen treatment with photoperiod 24L: 0G is equal 14.1134×10^6 biggest and lipid content resulting from the treatment of 25% nitrogen with photoperiod 24L: 0G is equal to 61.9% *dry weight*.

Key words: Mikroalgae, Photoperiod, Grow Rate,

PENDAHULUAN

Cadangan dan produksi bahan bakar minyak bumi (fosil) di Indonesia mengalami penurunan 10% setiap tahunnya sedangkan tingkat konsumsi minyak rata-rata naik 6% per tahun. Oleh karena itu, untuk memenuhi tingkat konsumsi terhadap minyak dan mendorong pengembangan serta pemanfaatan energi alternatif terbarukan, bahan bakar nabati (BBN), diantaranya biodiesel dan bioetanol. Biodiesel adalah sebuah bahan bakar diesel alternatif yang dihasilkan dari sumber terbarukan (*renewable resources*) seperti lemak nabati dan lemak hewan. Biodiesel merupakan bahan bakar terbarukan karena bahan bakunya dibudidayakan oleh manusia,

Mikroalga merupakan salah satu organisme yang dapat di nilai ideal dan potensial untuk dijadikan sebagai bahan baku produksi biofuel (Li, *et al.*, 2008). Kandungan *lipid* dalam biomassa mikroalga kering spesies tertentu dapat mencapai di atas 50%. Seperti layaknya seluruh produsen primer, seperti tumbuhan mikroalga juga melakukan fotosintesis. Dalam proses fotosintesis tersebut cahaya memegang peranan penting, namun intensitas cahaya yang diperlukan oleh tumbuhan maupun alga berbeda-beda nilainya untuk pertumbuhan secara maksimum (Lavens dan Sorgeloos 1996). Fotoperiode juga mempengaruhi pada produksi kandungan *lipid* dan *fatty acid* pada mikroalga.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquabidest 450ml, timbangan digital, oven, autoklaf, spektrofotometer, lampu TL, laminar *air flow*, falkon 15ml dan 50ml, cawan petri, pipet pal, pipet Pasteur, shaker, GCMS. dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroalga BLT0404, media F/2-SW, *sea water*, alkohol, aquadest, kloroform, methanol, bf3, NaOH dan heksan.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode Rancang Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor yaitu faktor I kandungan komposisi nitrogen (NaNO_3) dengan 4 level yaitu 25% NaNO_3 , 50% NaNO_3 , 75% NaNO_3 , dan 100% NaNO_3 dan faktor II dengan pebandingan fotoperiode 8jam terang (8T): 16jam gelap (16G) dan 24jam terang (24T):0jam gelap (0G). dari kombinasi faktor-faktor tersebut didapatkan 8 perlakuan dan dilakukan 3 kali pengulangan sehingga didapatkan 24 perlakuan kombinasi.

Kultivasi

Isolat BLT0404 dikultivasi pada media F/2 SW dengan volume sebesar 400ml. kultivasi dilakukan dengan cara 40ml prekulturan yang ditambahkan kedalam 360ml media. Kultur di ukur *Optical Density* (OD) dengan panjang gelombang sebesar 680 nm. Kemudian kultur di samakan kandungan sel dengan kandungan ODnya sebesar 0.130. Kemudian kultur di kultivasi selama 15 hari dengan suhu ruangan sebesar 29°C dengan pH=6.

Pembuatan Media

Adapun komposisi dari media F/2SW adalah sebagai berikut:

No	Bahan Kimia	Berat Bahan(dalam 1liter)
1	NaNO ₃	0.5357 ml
2	Na ₂ SiO ₃ . 9H ₂ O	8.33 µl
3	F/2 Metal	1 ml
4	Na H ₂ PO ₄ . 2H ₂ O	0.0006 g
5	Vitamin B12	0.005 ml
6	Biotin	0.005 ml
7	Thiamin HCl	0.005 ml

Pada penelitian ini kandungan NaNO₃ dikurangi sesuai persentase dari perlakuan yang dilakukan yaitu 25%, 50%, 75% dan 100%. Dimana konsentrasi dari NaNO₃ adalah 1000kali pemekatan dari nilai yang tertera didalam komposisi tersebut.

Perlakuan Fotoperiode

Kultur isolate BLT 0404 dikultur didalam ruang kultur dengan suhu ruangan 29°C. Perlakuan fotoperiode dilakukan dengan tahapan:

- 8 jam diaerasi dalam kondisi terang menggunakan cahaya lampu dan 16jam dalam kondisi gelap (tanpa cahaya).
- 24 jam diaerasi dalam kondisi terang menggunakan cahaya lampu dan 0 jam dalam kondisi gelap (tanpa cahaya).

Dengan intensitas cahaya lampu TL sebesar 1552lux dipergunakan sebagai sumber energi untuk proses fotosintesis mikroalga.

Kurva pertumbuhan

Sampel masing-masing di ambil sebanyak 1 ml dan ambil 1 ml *sea water* sebagai *blanko*. Kemudian siapkan *spektrofotometer* masukkan *blanko* kedalam kuvet 1 ml kemudian di check *optical density*nya dengan panjang gelombang $\lambda = 680$ nm. Setelah di ukur *blanko*nya bersihkan kuvet. Setelah kuvet dibersihkan masukkan sampel kedalam kuvet lalu hitung *optical density*nya. Lakukan hal yang sama pada setiap sampel. Catat hasil *optical density*nya. Kemudian hitung laju pertumbuhannya.

Kandungan Lipid

Pengamatan kandungan lipid dari mikroalga dilakukan dengan metode Bligh & Dryer yang telah dimodifikasi. Ekstraksi lipid dilakukan setiap hari selama 14 hari, dimulai dari kultivasi hingga mikroalga memasuki fase stasioner. Adapun cara *sampling*nya yaitu sampel dimasukkan kedalam falcon dengan volume 10 ml kemudian sampel di sentrifuge dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan supernatant (cairan) dan biomassa basah. Setelah didapatkan biomassa basahnya di tambahkan kloroform dan methanol dengan perbandingan 1:1 yaitu dengan volume sebesar 1.5 ml. kemudian sampel di shaker selama 2 jam setelah itu sampel ditambahkan aquadest sebanyak 1.5 ml kemudian sampel di *shaker* kembali selama 15 menit lamanya agar larutan dapat terbentuk 3 fase dimana fase atas adalah metanol dengan aquadest, fase kedua adalah biomassa dan fase bawah adalah kloroform dengan lipid. Kemudian diekstrak lipidnya masukkan kedalam botol vial diamkan selama ± 3 hari agar kloroform yang tercampur dengan lipid benar-benar hilang. Kemudian tahap selanjutnya adalah tahapan transesterifikasi.

a. Transesterifikasi

Pada proses transesterifikasi sampel yang berupa lipid hasil ekstraksi dimasukkan kedalam labu leher 3 kemudian ditambahkan dengan NaOH-methanol sebanyak 4 ml. Sampel kemudian direflux dengan suhu 80°C selama 20 menit kemudian ditambahkan dengan BF₃ methanol sebanyak 4 ml dan direflux kembali dengan suhu 80°C selama 20 menit kemudian ditambahkan NaCl dan heksan masing-masing sebanyak 4 ml dan dikocok selama 10 menit agar homogeny. Larutan kemudian dipindahkan kedalam botol vial kembali. Sampel didiamkan hingga terpisah menjadi dua fase, kemudian diambil fase yang berada diatas dan simpan kembali kedalam botol vial dengan volume 1.5 ml untuk menganalisa GC-MS.

b. Pengujian Profil Asam Lemak

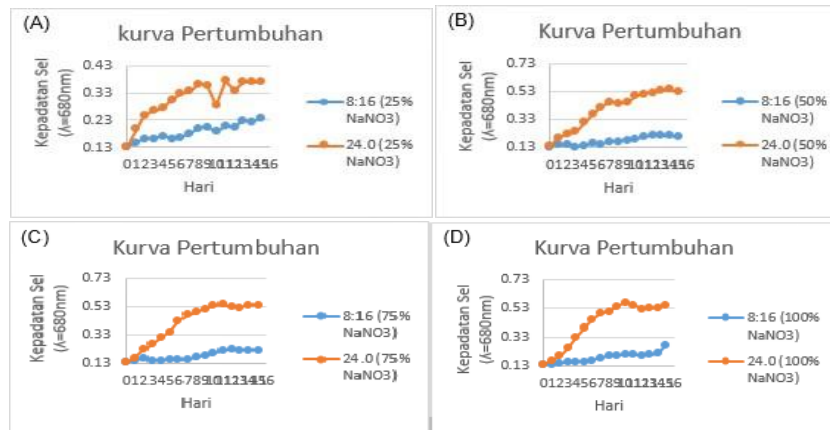
Hasil dari proses transesterifikasi berupa asam lemak yang belum diketahui kandungannya oleh karena itu perlu dilakukan proses GC-MS untuk menentukan *Fatty Acid Methyl Ester* yang terkandung dalam masing-masing sampel. Asam lemak yang disimpan didalam botol vial dimasukkan kedalam alat dengan suhu *injector* 250°C, suhu *detector* 230°C dan suhu *capiler* sebesar 250°C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Laju Pertumbuhan Mikroalga BLT 0404 Perbandingan Fotoperiode

Laju pertumbuhan mikroalga pada perbandingan fotoperiode 8 jam terang (8T) : 16 jam gelap (16G) dengan 24 jam terang (24T) : 0 jam gelap (0G) didapatkan dari hasil pengujian *optical density* menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang sebesar $\lambda=680\text{nm}$.

Pada perlakuan 8T:16G dengan kandungan nitrogen (NaNO₃) sebesar 25% fase stasioner terjadi pada hari ke-7 dengan nilai OD sebesar 0.181, dengan laju pertumbuhan maksimal sebesar 39.524×10^6 sel/ml. Kemudian pada perlakuan normal 24T:0G fase stasioner terjadi pada hari ke-13 dengan nilai OD sebesar 0.370, dengan laju pertumbuhan maksimal sebesar 95.162×10^6 sel/ml. Pada perlakuan 8T:16G dengan kandungan nitrogen (NaNO₃) sebesar 50% fase stasioner terjadi pada hari ke-7 dengan nilai OD sebesar 0.170, dengan laju pertumbuhan maksimal sebesar 39.787×10^6 sel/ml. Kemudian pada perlakuan normal 24T:0G fase stasioner terjadi pada hari ke-6 dengan nilai OD sebesar 0.416, dengan laju maksimal sebesar 99.152×10^6 sel/ml. Pada perlakuan 8T:16G dengan kandungan nitrogen (NaNO₃) sebesar 75% fase stasioner terjadi pada hari ke-10 dengan nilai OD sebesar 0.199, dengan laju pertumbuhan maksimal sebesar 42.323×10^6 sel/ml. Kemudian pada perlakuan normal 24T:0G fase stasioner terjadi pada hari ke-11 dengan nilai OD sebesar 0.546, dengan laju pertumbuhan maksimal sebesar 125.694×10^6 sel/ml. Pada perlakuan 8T:16G dengan kandungan nitrogen sebesar 100% fase stasioner terjadi pada hari ke-9 dengan nilai OD sebesar 0.203, dengan laju pertumbuhan maksimal 46.21×10^6 sel/ml. Kemudian pada perlakuan normal 24T:0G fase stasioner terjadi pada hari ke-9 dengan nilai OD sebesar 0.537, dan dengan laju pertumbuhan maksimal sebesar 141.134×10^6 sel/ml.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan mikroalga.

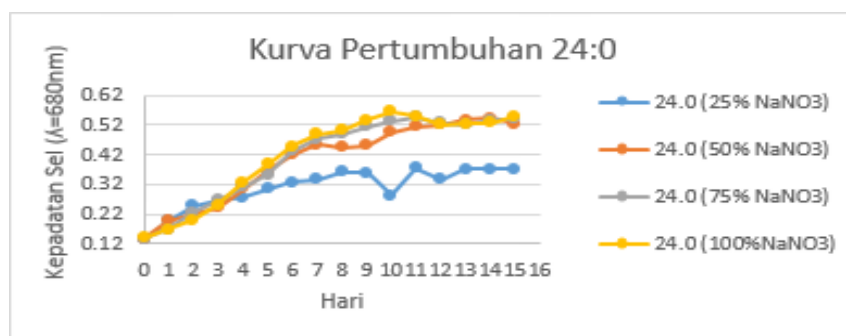
Gambar 1. Merupakan grafik pertumbuhan mikroalga yang telah diamati. Grafik (A) merupakan grafik kurva pertumbuhan mikroalga BLT 0404 dengan perbandingan fotoperiode 8T:16G dan 24T:0G dengan kandungan 25% nitrogen ($NaNO_3$). Grafik (B) merupakan kurva pertumbuhan mikroalga BLT 0404 dengan perbandingan fotoperiode 8T:16G dan 24T:0G dengan kandungan 50% nitrogen ($NaNO_3$). Grafik (C) merupakan kurva pertumbuhan mikroalga BLT 0404 dengan perbandingan fotoperiode 8T:16G dan 24T:0G dengan kandungan 75% nitrogen ($NaNO_3$). Grafik (D) merupakan kurva pertumbuhan mikroalga BLT 0404 dengan perbandingan fotoperiode 8T:16G dan 24T:0G dengan kandungan 100% nitrogen atau kandungan normal nitrogen.

Laju Pertumbuhan Mikroalga BLT 0404 Perbandingan Kandungan Nitrogen

Dapat dilihat pada kandungan nitrogen sebanyak 25% pada hari ke-8 dan ke-9 mengalami keseimbangan jumlah sel dengan nilai ODnya 0.203 dengan laju pertumbuhan rata-rata sebesar 45.24×10^6 sel/ml. Kemudian pada kandungan nitrogen sebanyak 50% dari hari ke-7 dan ke-8 dengan nilai ODnya 0.171 dengan laju pertumbuhan rata-rata sebesar 34.64×10^6 sel/ml. Selanjutnya pada kandungan nitrogen 75% pada hari ke-7 terjadi fase stasioner dimana pada fase ini jumlah sel seimbang dan konstan dengan nilai ODnya 0.158 dengan laju pertumbuhan rata-rata sebesar 39.41×10^6 sel/ml. Kemudian pada kandungan nitrogen sebanyak 100% dimana pada hari ke-8 dan hari ke-9 terjadi keseimbangan jumlah sel dengan nilai ODnya 0.190 dengan laju pertumbuhan rata-rata sebesar 51.88×10^6 sel/ml. Sehingga menandakan bahwa pada hari tersebut sudah mencapai fase stasioner. Pada kandungan nitrogen sebesar 25% dapat dilihat pada hari ke-8 mikroalga mengalami keseimbangan jumlah sel dengan nilai ODnya 0.350 dengan laju pertumbuhan rata-rata 72.84×10^6 sel/ml. Selanjutnya dapat dilihat pada kandungan nitrogen sebanyak 50% pada hari ke-7 dan ke-8 merupakan fase stasioner dimana pada fase ini jumlah sel dengan nilai ODnya 0.450 dengan rata-rata laju pertumbuhan sebesar 92.92×10^6 sel/ml. Selanjutnya pada kandungan nitrogen sebanyak 75% dapat dilihat bahwa pada hari ke-7 dan ke-8 terjadi keseimbangan jumlah sel dimana terjadi yang disebut fase stasioner yaitu fase dimana jumlah selnya seimbang dengan nilai ODnya 0.482 dengan rata-rata laju pertumbuhannya sebesar 94.40×10^6 sel/ml. Selanjutnya pada kandungan nitrogen normal yaitu kandungan nitrogen 100% pada hari ke-7 dan ke-8 terjadi fase stasioner dimana jumlah selnya seimbang dengan nilai ODnya 0.496 dengan rata-rata laju pertumbuhan sebesar 94.93×10^6 sel/ml.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan dengan Fotoperiode 8T:16G dengan Berbagai Kandungan Nitrogen



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Dengan Fotoperiode 24T:0G Dengan Berbagai Kandungan Nitrogen

Berbeda dengan perlakuan pada hari ke-7 dimana pada perlakuan variasi nilai kandungan nitrogen menghasilkan nilai yang besar dari pada F Tabel 1% ($10.33 > 5.29$) sehingga perlakuan variasi nilai kandungan nitrogen berbeda sangat nyata atau memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap pertumbuhan mikroalga hari ke-7. Karena hanya perlakuan variasi nitrogen yang berbeda nyata, maka uji lanjut dengan uji BNT 5%.

Pengaruh Variasi Kandungan Nitrogen Terhadap Kandungan Lipid pada Perbandingan Fotoperiode 8T:16G

Kandungan *lipid* yang dihasilkan pada kandungan nitrogen sebesar 25% dengan kandungan lemak sebesar 56.3% *dry weight*, menghasilkan nilai yang lebih tinggi di banding dengan kandungan nitrogen yang lebih besar. Selanjutnya pada kandungan nitrogen 50%. kandungan *lipid* yang dihasilkan adalah 50% *dry weight*. kandungan nitrogen 75% menghasilkan kandungan *lipid* sebesar 48% *dry weight*. dan yang terakhir pada kandungan nitrogen 100% dengan kandungan *lipid* sebesar 53.4% *dry weight*.

Pengaruh pencahayaan pada perlakuan ini menghasilkan nilai kandungan *lipid* yang tidak menentu, dapat dilihat pada **gambar 3** pada hari ke-0 sampai hari ke-6 kandungan *lipid* mikroalga BLT 0404 mengalami naik dan turun. Hal ini disebabkan oleh faktor pencahayaan pada mikroalga yang menyebabkan mikroalga tersebut mengalami *stressing*. Hal ini juga dapat disebabkan oleh faktor pemberian aerasi yang tidak seimbang karena perlakuan 8T:16G kultur dimasukkan kedalam kardus sehingga selang aerasi menjadi tergeser yang menyebabkan pemberian aerasi yang tidak merata.

Pemberian aerasi bertujuan untuk pengadukkan mikroalga agar mikroalga yang dikultur dapat tercampur merata, hal ini yang mengakibatkan naik dan turunnya kandungan *lipid* pada hari ke-0 sampai hari ke-6, dan pada hari tersebut mikroalga belum mengalami fase stasioner sehingga kandungan *lipid* yang dihasilkan tidak meningkat secara terus menerus berbeda dengan hari ke-7 sampai hari ke-14 dimana kandungan *lipid* meningkat setiap harinya.

Pengaruh Variasi Kandungan Nitrogen Terhadap Kandungan *Lipid* Pada Perbandingan Fotoperiode 24T:0G

Dapat dilihat pada kandungan nitrogen 25% dengan kandungan *lipid* yang terbesar di banding dengan jumlah nitrogen lainnya yaitu sebesar 61.9% *dry weight*. Kemudian disusul pada kandungan nitrogen 50% yang pada hari ke-11 kandungan *lipid* meningkat dan memiliki kandungan *lipid* sebesar 60.2% *dry weight*. Pada kandungan nitrogen 75% memiliki kandungan *lipid* sebesar 57.9% *dry weight*. Selanjutnya pada kandungan nitrogen sebanyak 100% menghasilkan kandungan *lipid* sebesar 55.6% *dry weight*. Dengan kandungan nitrogen normal kandungan *lipid* yang dihasilkan lebih sedikit dibandingkan dengan kandungan rendah nitrogen.

Kandungan *lipid* yang dihasilkan pada perlakuan ini dapat ditunjukkan pada **Gambar 4** bahwa pada perlakuan 24 jam terang : 0 jam gelap dengan kandungan nitrogen sebanyak 25% menghasilkan kandungan persentase *lipid* yang lebih tinggi menghasilkan kandungan *lipid* sebesar 64.1%*dry weight* pada hasil akhir dan juga mengalami kenaikan cenderung konstan dengan rata-rata kenaikan sebesar $\pm 58\%$ dibandingkan dengan kandungan nitrogen yang lainnya. Hal ini dibuktikan oleh (Sheehan *et al.* 1998). Pada kondisi stress lingkungan yaitu konsentrasi nitrogen rendah, mikroalga akan cenderung membentuk *lipid* sebagai cadangan makanan daripada membentuk karbohidrat dan senyawa lainnya. Hal ini disebabkan karena mikroalga lebih banyak menggunakan atom karbon untuk membentuk *lipid* daripada karbohidrat, sebagai akibat meningkatnya aktifitas enzim asetil ko-A karboksilase



Gambar 3. Grafik Kandungan *Lipid* dengan Intensitas Cahaya 8T:16G dengan Kandungan Jumlah Nitrogen 25%, 50%, 75% dan 100%.



Gambar 4. Grafik Kandungan *Lipid* dengan Intensitas Cahaya 24T: 0G dengan Kandungan Jumlah Nitrogen 25%, 50%, 75% dan 100%

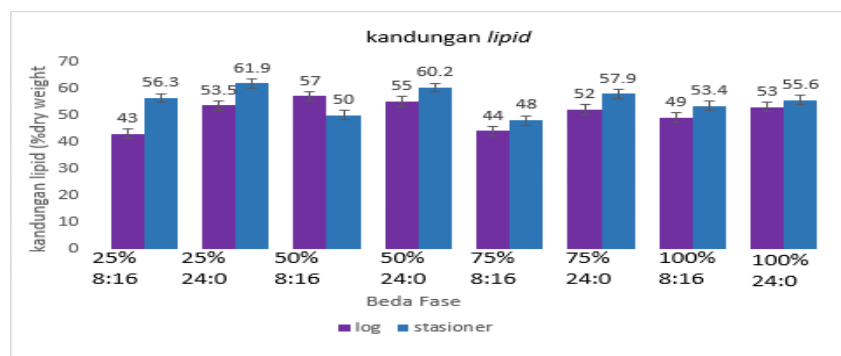
Berdasarkan tabel analisis ragam (anova) dapat dilihat bahwa F hitung perlakuan fotoperiode lebih besar dari pada F tabel 1% ($10.04 > 8.53$) sehingga dapat disimpulkan bahwa perlakuan fotoperiode berbeda sangat nyata atau memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap kandungan *lipid* hari ke-7. dan juga pada hari ke-8 berdasarkan tabel analisis (ragam (anova) dapat dilihat bahwa F hitung perlakuan fotoperiode lebih besar dari pada F tabel 1% ($27 > 8.53$) sehingga dapat disimpulkan bahwa perlakuan fotoperiode berbeda sangat nyata atau memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap kandungan *lipid* hari ke-8. Karena

hanya perlakuan fotoperiode yang berbeda nyata, maka uji lanjut dengan uji BNT 5% hanya dilakukan pada perlakuan variasi nitrogen.

Kandungan *Lipid* Berdasarkan Beda Fase

Kandungan *lipid* terbanyak dalam perlakuan 8T:16G di hasilkan pada fase stasioner dapat dilihat pada **gambar 5**. Pada fase stanioner kandungan *lipid* lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan *lipid* pada fase log. Selama mengalami fase tersebut, keberadaan nutrisi memegang peranan yang sangat penting yang menyebabkan pertumbuhan dan kematian pada mikroalga. Salah satu makronutrisi yang penting dalam pertumbuhan mikroalga adalah Nitrogen (N) dalam media kultur. Pemberian N pada kultur berupa kalium nitrat (KNO₃). Dapat dilihat nilai kandungan lipid tertinggi di hasilkan pada kandungan nitrogen 25% hal ini dikarenakan pada kandungan nitrogen 25% mikroalga cepat mengalami *stressing*. Semakin kecil komposisi persentase nitrat yang diberikan pada media kultur maka semakin besar kandungan total *lipid*nya. Pada perlakuan fotoperiode 24T:0G dihasilkan nilai kandungan *lipid* tertinggi dihasilkan dari kandungan nitrogen sebesar 25% pada fase stasioner, dimana kandungan *lipid* yang dihasilkan sekitar 61.9% *dry weight* dapat dilihat pada **Gambar 5**. Kedua perlakuan fotoperiode menghasilkan nilai yang kandungan *lipid* yang tertinggi pada fase stasioner dan pada kandungan nitrogen 25% dari normal.

Berdasarkan tabel analisis ragam (anova) yang didapatkan pada hari ke-13 perlakuan variasi kandungan nitrogen, adapun F hitung perlakuan variasi kandungan nitrogen lebih besar dari pada F Tabel 1% ($5.65 > 5.29$) sehingga perlakuan variasi kandungan nitrogen berbeda sangat nyata atau memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap kandungan *lipid* hari ke-13. Karena hanya perlakuan variasi Nitrogen yang berbeda nyata, maka uji lanjut dengan uji BNT 5% hanya dilakukan pada perlakuan variasi nitrogen.



Gambar 1. Kandungan *lipid* berdasarkan fase dari semua perlakuan

Hasil penelitian yang dilakukan pada perlakuan ini memiliki hasil yang berbeda dengan perlakuan sebelumnya yang dilakukan oleh Hadi Endrawati, dkk 2012. yang dimana perlakuannya menggunakan mikroalga *Spirulina platensis* dimana hasil pengamatan terhadap kadar total lipid *S. platensis* dengan perlakuan perbedaan waktu pencahayaan menunjukkan persentase kadar total lipid pada fase eksponensial dan fase stasioner terbesar didapatkan pada perlakuan 4 jam terang 20 jam gelap dengan persentase rata-rata sebesar 46,1%. Sedangkan pada perlakuan ini total kandungan lipid yang tertinggi dihasilkan dari perlakuan 24 jam terang 0 jam gelap yang menghasilkan kandungan lipid sebesar 61.9% *dry weight*, hal ini karena perbedaan jenis mikrolaga yang dapat mempengaruhi perbedaan kandungan lipid yang dihasilkan.

Data Hasil Uji GCMS Untuk Kandungan Asam Lemak (*Profil Fatty Acid*)

Berdasarkan hasil uji asam lemak menggunakan uji GCMS (*gas chromatography microscopy*) didapatkan hasil kandungan asam lemak dari semua sampel. Pada uji GCMS ini dapat diketahui berbagai macam kandungan asam lemak yang terdapat didalam setiap sampelnya.

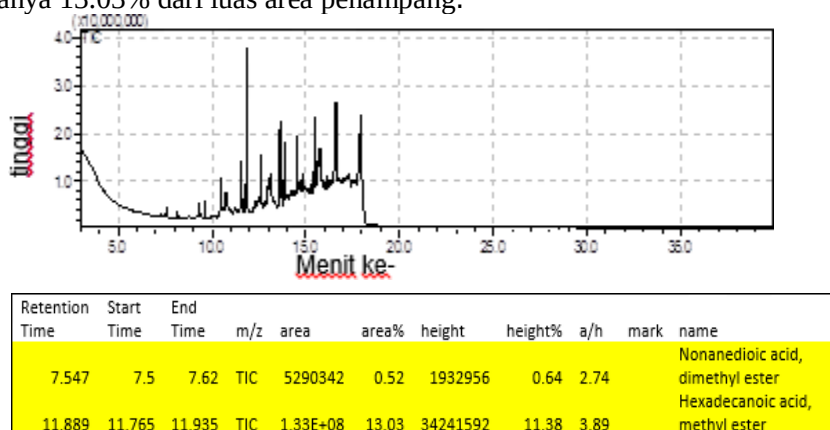
Tabel 2. Tabel Kandungan dan Lemak dari masing-masing sampel

nama senyawa	%senyawa								SI
	25% 8.16	25% 24.0	50% 8.16	50% 24.0	75% 8.16	75% 24.0	100% 8.16	100% 24.0	
metil ester Methyl palmitate	3.12	-	0.95	0.21	0.58	0.31	-	-	96
metil ester metil nonadecanoate	0.26	0.52	1.6	-	-	0.27	0.96	-	91
Methyl Linoleat	5.8	-	-	-	-	-	-	-	92
metil Palmitoleat	0.38	13.03	7.76	12.67	9.64	12.27	10.34	11.95	96

Diperoleh beberapa senyawa penyusun dari biodiesel, dengan komponen biodiesel metil palmitate dan metil palmitoleat. Senyawa utama yang merupakan komponen utama dari senyawa yang terkandung dalam biodiesel. Dari analisa Gas Kromatografi didapatkan bahwa pada perlakuan 25% kandungan NaNO_3 dengan fotoperiode 8T:16G memiliki senyawa yang paling lengkap hal ini dapat di tunjukkan bahwa pada semua.

kandungan senyawa mikroalga tersebut dihasilkan senyawa-senyawa yang kemungkinan merupakan alkil ester dari masin-masing asam lemaknya. Hasil ini sama dengan dengan perlakuan sebelumnya yang dilakukan oleh Shintawati, 2011 dimana pada perlakuan sebelumnya hasil metil palmitate dan metil palmitoleat menghasilkan nilai tertinggi, pada penelitian sebelumnya mikroalga yang digunakan adalah *Chlorella sp.*

Sedangkan pada perlakuan 25% kandungan NaNO_3 dengan fotoperiode 24T:0G di dapatkan senyawa *metil Palmitoleat* tertinggi hasilnya dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya dapat dilihat pada **gambar 6**. di dalam hasil uji terlihat bahwa puncak tertinggi dihasilkan pada waktu tunggu (*retention time*) menit ke-11.889, dimana pada saat itu asam lemak yang terbaca pada hasil uji gas kromatografi ini adalah *metil Palmitoleat* dengan nilai %areanya 13.03% dari luas area penampang.



Gambar 2. Hasil Analisa Uji GC-MS pada perlakuan 25% 24T:0G

KESIMPULAN

Perlakuan fotoperiode 8T:16G lebih cepat memasuki fase stasioner dibandingkan dengan fotoperiode 24T:0G karena pada fotoperiode 8T:16G mikroalga cepat mengalami *stressing*, Variasi kandungan nitrogen juga mempengaruhi laju pertumbuhan dimana kandungan nitrogen yang lebih rendah yaitu kandungan nitrogen 25%, juga mengakibatkan mikroalga cepat memasuki fase stasioner dibanding dengan kandungan nitrogen normal yaitu 100%. Dari berbagai perlakuan di dapatkan hasil kandungan *lipid* tertinggi yang dihasilkan

dari kandungan nitrogen 25% pada fotoperiode pada fase stasioner dan pada perlakuan 24T:0G yang menghasilkan kandungan *lipid* sebesar 61.9%. Hasil transesterifikasi *lipid* yang kemudian dilanjutkan dengan uji GC-MS menghasilkan berbagai macam profil asam lemak dimana pada hasil uji GC-MS di dapatkan pada hasil nitrogen 25% di dalam fotoperiode 8T:16G merupakan sampel yang memiliki kandungan senyawa penyusun biodiesel paling lengkap dan pada kandungan 25% nitrogen pada fotoperiode 24T:0G menghasilkan *methyl palmitoleat* tertinggi hasilnya di banding dengan sampel lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Hadi Endrawati, Christin M dan Widianingsih. 2012. **Densitas dan Kadar Total Lipid Mikroalga *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Fotoperioda yang Berbeda.** Buletin Oseanografi Marina April 2012. vol. 1 33 – 38
- Lavens P dan Sorgeloos P (eds). 1996. ***Manual on the production and use of live food for aquaculture.***
- Li, Y., Mark Horsman, Nan Wu, Christoper Q. Lan and Nathalie Dubois Calero. 2008. ***Biofuels from Microalgae.*** International Journal of Molecular Science 9, 1188-1195.
- Sheehan J. Dunhay T, Beneman J, Rosseler P. 1998. ***A loock back at the U.S.*** department of energy's Aquatic Spesies Program-Biodiesel from Algae.
- Shintawati, 2011. **Produksi Biodiesel dari Mikroalga *Chlorella Sp* dengan Metode Esterifikasi In-Situ.** Skripsi. Universitas Dipenegoro. Semarang