

INTEGRASI BIOREMEDIASI LIMBAH PETERNAKAN SAPI DAN KULTIVASI MIKROALGA *CHLORELLA VULGARIS* DAN *CHLORELLA PYRENOIDOSAE*

Afriyanti Azhar¹⁾, Abdi Dharma¹⁾, Armaini¹⁾, Nasril Nasir²⁾, Syafrizayanti¹⁾,
Zulkarnain Chaidir¹⁾

1) Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas

2) Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas

Email : riripayakumbuh@gmail.com

Submitted : 05-07-2017, Reviewed: 18-07-2017, Accepted: 30-08-2017

ABSTRACT

*Dairy manure that functioned as organic fertilizer has potential impact as environmental destructive waste because the absorption of inorganic nutrients in the fertilizer. On the other hand, microalgae growth is hindered by the high cost of culture, whereas organic and inorganic nutrient requirements. Dairy manure have the potential for microalgae nutrients, but are hindered by turbidity levels. Its has been tested for dilution dairy manure and treatments on fluorescence and sunlight sources and the addition of urea commercial fertilizer to absorbs organic and inorganic nutrients. Its prove the integration of bioremediation of dairy manure and microalgae cultivation *Chlorella pyrenoidosa* and *Chlorella vulgaris* can be performed and also serves as a source of carotenoid (chlorophyll)*

Keywords: Bio-remediation, turbidity, dairy manure, microalgae cultivation

ABSTRAK

Kotoran ternak yang difungsikan sebagai pupuk organik berpotensi sebagai limbah perusak lingkungan, karena tidak terserapnya nutrisi anorganik dalam pupuk. Di sisi lain, penumbuhan mikroalga terhalang oleh tingginya biaya kultur, padahal kebutuhan nutrisi organik dan anorganik pada limbah kotoran sapi berpotensi untuk nutrisi mikroalga, namun terhalang oleh tingkat kekeruhan. Ujicoba untuk pengenceran kotoran sapi dan perlakuan pada sumber cahaya fluorescence dan sinar matahari serta penambahan urea membuktikan pemakaian kotoran sapi menyerap nutrisi organik dan anorganik. Ini juga membuktikan integrasi bioremediasi limbah peternakan sapi dan kultivasi mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dan *Chlorella vulgaris* dapat dilakukan dan juga berfungsi sebagai sumber karotenoid (*chlorophyll*).

Kata kunci: Bioremediasi, Kekeruhan, Limbah Peternakan Sapi, Kultivasi Mikroalga

PENDAHULUAN

Peningkatan produksi ternak terutama di negara-negara berkembang karena meningkatnya kebutuhan konsumsi daging menghasilkan limbah peternakan. Limbah peternakan banyak dijadikan pupuk pertanian, namun hanya menguraikan zat organik, sedangkan zat-zat anorganik tidak terurai secara sempurna sehingga menjadi residu yang mengancam kebersihan lingkungan dan turunnya kualitas air tawar karena nutrisi yang tinggi

dari pupuk kandang. Oleh karena itu, diperlukan cara yang efektif untuk mengelola limbah peternakan (Mobin & Alam, 2014 ; L. Wang, Wang, Chen, & Ruan, 2010; Zhu, Hiltunen, & Li, 2015)

Limbah peternakan berpotensi sebagai nutrisi bagi pertumbuhan mikroalga yang hemat biaya dan berkelanjutan untuk bahan bakar, sebagai pengganti kebutuhan mikroalga akan zat kimia organik dan anorganik. Diketahui, saat ini, tidak ada teknologi untuk bahan bakar komersial mikroalga yang dapat memecahkan persoalan tekno-ekonomi dan menangani masalah keberlanjutan yang serius. Kultur mikroalga terkendala tingginya biaya produksi dan keberhasilan penggandaan biomassa mikroalga sebagai kandidat di energi terbarukan, karena ketergantungan pada zat kimia anorganik dan organik (Liu & Hu, 2013; Mobin & Alam, 2014 ; Wu, Ruan, Du, & Liu, 2012). Dalam prakteknya, penggunaan zat gizi yang kaya akan air limbah untuk mengolah mikroalga merupakan pilihan yang menjanjikan untuk menyerap limbah sebagai nutrisi dan produksi biofuel (Mobin & Alam, 2014). Limbah ternak kaya akan unsur nitrogen dan fosfor. Pemanfaatan limbah pada kultivasi mikroalga ditujukan untuk mendapatkan sumber biaya yang murah dan berkelanjutan. Mikroalga juga bisa meningkatkan kualitas air, karena kemampuan sel mikroalga menyerap nutrisi air limbah, terutama nitrogen dan fosfor, dapat menghilangkan kontaminan dan peningkatan akumulasi biomassa (Zhu et al., 2015)

Metabolisme karbon dan nitrogen akan erat kaitannya karena pada proses autotrof karbon dan nitrogen akan berbagi peran dalam penangkapan CO₂ dan pada heterotrof akan dibutuhkan pada asimilasi karbon organik. Karbon dan nitrogen juga akan berbagi peran sebagai penghasil energi pada siklus Tricarboxylic acid (TCA) dan rantai transpor elektron mitokondria (Carlsson, Beilen, Moller, & Clayton, 2007; Perez-Garcia, Escalante, E.de-Bashan, & Bashan, 2011), hal ini karena pemanfaatan mikroalga untuk bioremediasi limbah ternak tidak menghilangkan kemampuan untuk menangkap CO₂ di udara (L. Wang et al., 2010).

Penggandaan biomassa mikroalga dipasangkan dengan pengolahan air limbah dianggap sebagai salah satu cara yang paling menjanjikan untuk menghasilkan bio-energi dan produk sampingan berbasis bio secara ekonomi dan ramah lingkungan (Mobin & Alam, 2014 ; Zhu et al., 2015)

Persoalan utama pemanfaatan kotoran hewan untuk kultur mikroalga meliputi, *pertama* tingginya tingkat kekeruhan, (Jia & Yuan, 2016; Mobin & Alam, 2014) karena adanya partikel padat, yang akan mempengaruhi penetrasi cahaya secara signifikan. *Kedua*, konsentrasi hara tinggi terutama konsentrasi amonia tinggi, yang bisa menghambat pertumbuhan mikroalga. *Ketiga*, sebagian besar sumber karbon terikat dalam senyawa organik besar yang tidak larut dan mengganggu asimilasi mikroalga. *Keempat*, sejumlah besar air tawar diperlukan untuk mencairkan air limbah terkonsentrasi kecuali jika tersedia air *recycle* dan dapat digunakan kembali. *Kelima*, kemampuan strain alga beradaptasi dengan lingkungan (Mobin & Alam, 2014) dan *keenam*, terhalangnya cahaya oleh kekeruhan yang tinggi (Jia & Yuan, 2016).

Penelitian ini untuk mendapatkan metoda yang paling optimal untuk integrasi bioremediasi limbah peternakan dengan kultur mikroalga melalui pengelolaan konsentrasi dan komposisi kotoran sapi.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah Isolat mikroalga diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Jepara, milik Kementerian Kelautan dan Perikanan, Republik Indonesia. *Chlorella vulgaris* diisolasi dari air laut dan *Chlorella pyrenoidosa* yang diisolasi dari air tawar. Medium kultur untuk kontrol masing-masing isolat laut *Chlorella vulgaris* dikultur dengan *Bold Bassal Medium* sebagai kontrol dengan komposisi g L-1 NaNO₃ (0,25), KH₂HPO₄.3H₂O (0,075), KH₂PO₄ (0,175), MgSO₄.7H₂O (0,075), CaCl₂.2H₂O (0,084), FeSO₄.7H₂O (0,00498), EDTA, 2 Na-Mg Salt (0,05), NaCl (0,025), KOH(0,031) dan µg L-1 H₃BO₄ (11,42), MnCl₂.4H₂O(1,44), ZnSO₄.7H₂O (8,82), CuSO₄.5H₂O (1,57), Co(NO₃)₂.6H₂O (0,49), MoO₃ (0,71) dalam 1 liter aquades dan Isolat *Chlorella pyrenoidosa* dikultur dengan sorokin/krauss (Sorrokin & Krauss 1956) yang merupakan medium khusus untuk spesies *Chlorella*, dengan komposisi , KNO₃ (1,25), KH₂PO₄ (1,25), MgSO₄.7H₂O (1,0), CaCL₂.2H₂O (0,04), FeSO₄.7H₂O (0,05), EDTA, 2 Na-Mg Salt (0,5) , dan µg L-1 H₃BO₄ (114), MnCl₂.4H₂O (14), ZnSO₄.7H₂O(88), CuSO₄.5H₂O(16), Co(NO₃)₂.6H₂O (5), MoO₃(7), dengan pH final 6,8(Grobellaar, 2013). Kotoran sapi, Kotoran sapi yang digunakan adalah kotoran sapi yang telah kering (matang) dan biasa digunakan petani sebagai pupuk organik. Kotoran kering sapi diperoleh dari petani sapi lokal. Sampel berupa kotoran sapi diambil dari feses sapi pada hari yang sama dan kertas saring.

Alat yang digunakan terdiri atas wadah 500 mL dilengkapi pompa aquarium dan selang untuk aerasi, kertas saring, haemocytometer, mikroskop, handphone android.

Metode

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap

1. Pengenceran kotoran sapi dan penentuan tingkat pengenceran untuk pertumbuhan mikroalga, *Chlorella pyrenoidosa* dilabel A dan *Chlorella vulgaris* dilabel B, setelah pengenceran 20 X, kotoran sapi telah direndam 3 hari serta diautoclave dan diuji kembali pengenceran 500 ml, dengan komposisi kotoran sapi ditambah kelipatan 50 ml, mulai dari 50 ml : 450 ml hingga 500 ml : 0 dengan aquades. Setiap perlakuan tahap 1 ditandai dengan label angka romawi I sampai dengan X. Diukur pertumbuhan spesifik berdasarkan fase logaritma dan diuji selama 21 hari. Untuk mengetahui laju pertumbuhan spesifik yang ada selama penelitian dilakukan perhitungan persamaan laju pertumbuhan spesifik produksi biomassa pada fase logaritmik dan waktu yang diperlukan untuk sekali pembelahan sel. Laju pertumbuhan spesifik mikroalga (k) dihitung dengan rumus Hirata et al (1981)

$$K = 3,22 \frac{\text{Log}[n_1/n_0]}{T_1 - T_0}$$

N_t adalah kepadatan mikroalga pada waktu t , N_0 adalah kepadatan mikroalga awal, 3,222 adalah konstanta, T_0 adalah waktu awal dan T_t adalah waktu pengamatan

Waktu penggandaan(*doubling time*) dihitung berdasarkan rumus $\mu_{max} = 0.693/td$
 Densitas sel dihitung dengan haemocytometer dan perhitungan dilakukan dengan aplikasi android yang didownload dari google play store versi cell calculator V2.2 yang dikeluarkan oleh Photonics Technology Lab

2. Hasil dari uji terbaik untuk *specific growth rate* digunakan untuk penelitian tahap 2. Digunakan sumber cahaya berbeda untuk pertumbuhan mikroalga, biomassa dan densitas dari nutrien kotoran sapi yang telah diencerkan dengan menggunakan sumber cahaya yang berbeda dengan indikator BOD, COD,OD,pH dan laju pertumbuhan spesifik,kandungan chlorofil dan berat kering. Hasil uji dengan pencahayaan juga dibandingkan dengan penumbuhan pada pupuk urea.Masing-masing perlakuan
 - a. A0/BO kontrol medium
 - b. A1/B1 : Medium kotoran sapi dengan komposisi terbaik hasil tahap 1 dengan sinar fluorescence
 - c. A2/B2 : Medium kotoran sapi dengan komposisi terbaik hasil tahap 1 dengan sinar matahari
 - d. A3/B3 : Medium kotoran sapi dengan komposisi terbaik hasil tahap 1 ditambah pupuk urea 0,1 g/l (Yadavalli, S, & C.S.Rao, 2013)dengan sinar fluorescence.

HASIL DAN PEMBAHASAN

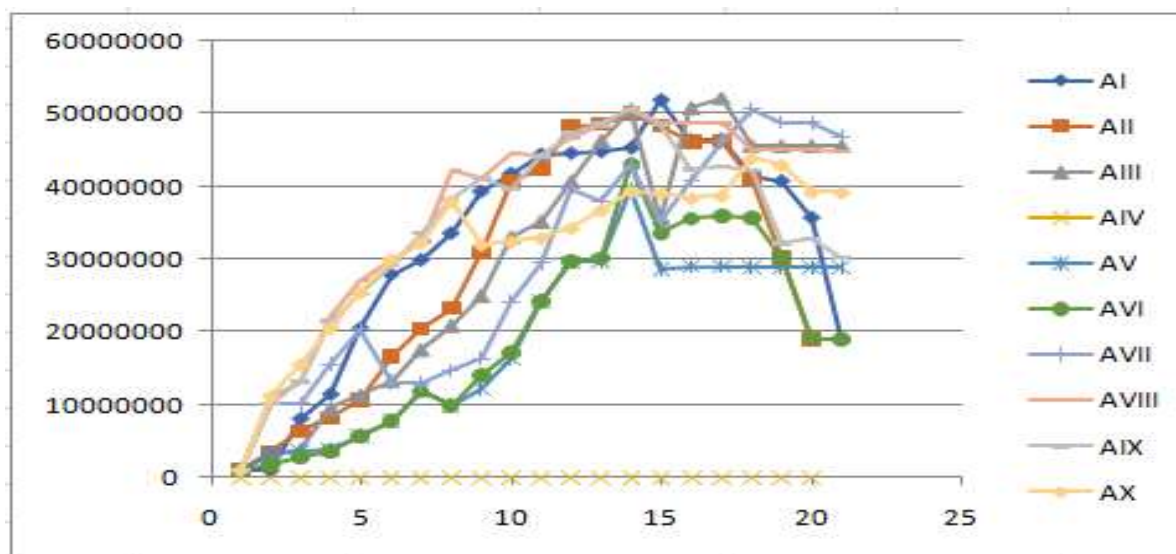
1. Komposisi Kotoran Sapi

Meskipun sejumlah penelitian menyatakan mikroalga *Chlorella vulgaris* tidak membutuhkan masa adaptasi, namun melihat terjadi pelambatan pertumbuhan maksimum enam hari pertama termasuk pada kontrol, dimungkinkan *Chlorella vulgaris* dan *Chlorella pyrenoidosa* mengalami fase adaptasi.

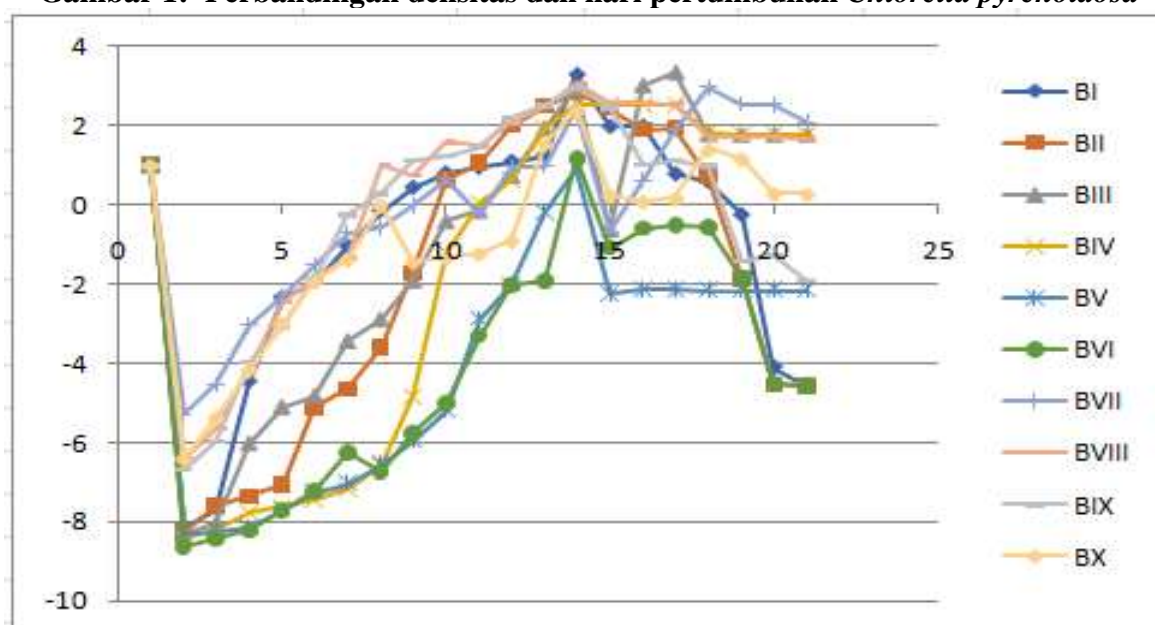
Mikroalga yang digunakan membutuhkan waktu penyesuaian untuk beradaptasi dengan lingkungan selama 6 hari awal, sehingga baru mencapai puncak pada hari ke-14. Pengenceran dilakukan untuk mendapatkan hasil terbaik untuk pertumbuhan terkait dengan komposisi medium terbaik dan untuk mengatasi persoalan kepadatan. Setelah pengenceran 20X dan pengaturan komposisi diperoleh data pertumbuhan spesifik (*specific growth rate*) dari mikroalga pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Pertumbuhan Spesifik (SGR) *Chlorella pyrenoidosa* (A) dan *Chlorella vulgaris* (B)

Perlakuan	Komposisi		SGR (A)	SGR(B)
	Kotoran Sapi	Aquades		
I	50 ml	450 ml	0,190	1,348
II	100 ml	400 ml	0,042	0,186
III	150 ml	350 ml	0,125	0,595
IV	200 ml	300 ml	0,077	0,394
V	250 ml	250 ml	0,406	N/A
VI	300 ml	200 ml	0,501	N/A
VII	350 ml	150 ml	0,174	1,257
VIII	400 ml	100 ml	0,069	0,298
IX	450 ml	50 ml	0,053	0,229
X	500 ml	0 ml	0,096	0,624



Gambar 1: Perbandingan densitas dan hari pertumbuhan *Chlorella pyrenoidosa*



Gambar 2: Perbandingan densitas dan hari pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

Pada Gambar 1, terlihat densitas A1 sebelum mencapai puncak lebih rendah dibandingkan AIII, AIV, AVII dan dan A X pada tahapan awal, namun pertumbuhan AX tidak stabil pada hari ke enam begitu juga dengan AIV dan AVI. A1 lebih stabil dan mendapatkan peak tertinggi.

Tingginya unsur hara dan pencahayaan pada tahapan awal memungkinkan mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* tumbuh, namun seiring dengan proses penyerapan nutrisi dan meningkatnya densitas mikroalga menurun dan A1 mendapatkan puncak tertinggi.

Setelah pengenceran 20X diuji kembali komposisi seperti pada tabel 1. Ada beberapa model/tren pertumbuhan yang diperoleh, *pertama* dengan komposisi kotoran sapi lebih kecil dibandingkan akuades semakin kecil perbandingan kotoran sapi dengan akuades maka semakin baik specific growth ratenya. *Kedua*, komposisi kotoran sapi sama dan seimbang dengan

akuades, specific growth rate terbaca lebih kecil dibandingkan katagori pertama namun pada *Chlorella vulgaris* pertumbuhan tidak terbaca. Ketiga, pada kondisi kotoran sapi lebih besar komposisi dibandingkan dengan aquades untuk pengenceran.

Pada tahapan pemilihan komposisi medium diperoleh densitas sel meningkat seiring dengan rendahnya tingkat kekeruhan. Pada *Chlorella pyrenoidosa*, densitas sel, $5,181 \times 10^6$ sel/ml, dengan *specific growth rate* 0,190 dan *doubling time* 3,65/day dan pada *Chlorella vulgaris* $3,286 \times 10^6$ sel per mililiter, *specific growth rate* 1,348 dan *doubling time* 0,514/day. Dari Gambar 2 pengujian komposisi pada tahap pertama, diperoleh komposisi terbaik pada kedua spesies dilihat dari *specific growth rate* dan densitas sel adalah perlakuan AI dan BI, keduanya dengan komposisi 50 ml kotoran sapi dan 450 ml aquades. Rata-rata fase stasioner diperoleh antara hari ke delapan hingga hari ke -13 dan puncak peak pertama tercapai pada hari ke-14. Penentuan fase stasioner ini penting, karena terkait dengan kebutuhan nutrisi. (Agwa, Ibe, & Abu, 2013; Hassanpour, Abbasabadi, Ebrahimi, Hosseini, & Sheikhbaglou, 2015; H. Wang et al., 2014; Zuliani et al., 2016) . Penentuan fase stasioner didasari pada fase logaritme pertumbuhan mikroalga yang dibandingkan dengan kontrol A0 dan B0 masing-masing *Chlorella pyrenoidosa* dan *Chlorella vulgaris*.

Dalam kondisi jumlah aquades dan jumlah limbah kotoran sapi seimbang parameter densitas tidak bisa dihitung pada *Chlorella vulgaris*. Kemungkinan, melambatnya pertumbuhan mikroalga karena tingginya kekeruhan pada mikroalga, menghambat pertumbuhan, namun tidak menghentikan pertumbuhan mikroalga, yang terlihat dari kurva pertumbuhan, dimana pada komposisi media yang tinggi pertumbuhan mikroalga justru meningkat dan bisa dihitung setelah tercapainya fase stasioner pada media kontrol. Kemungkinan sebelum tercapainya puncak, penyerapan (*removal*) nutrisi berlangsung lambat dan setelah tercapai peak atau fase puncak pertumbuhan nutrisi yang tersisa diserap kembali oleh mikroalga untuk pertumbuhannya. Pada jumlah aquades sama dengan pengenceran kotoran sapi dari sisi komposisi nutrisi diserap untuk pertumbuhan dan setelah tercapainya fase puncak pertumbuhan melambat dan tidak ada lagi aktifitas untuk mendapatkan nutrisi baru pada tahap dua.

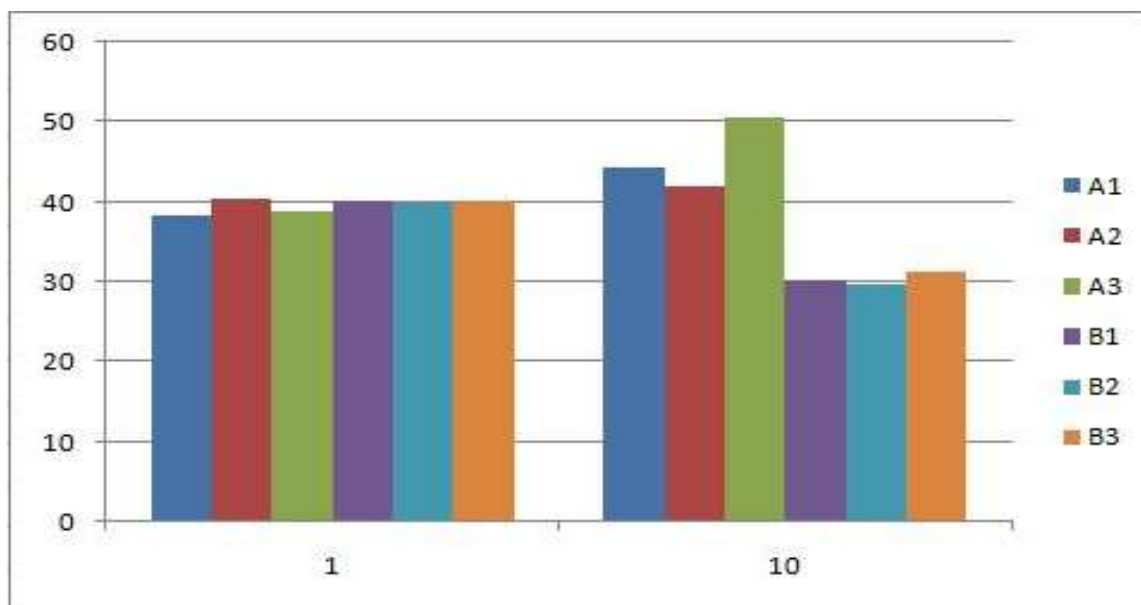
Dari tahapan pertama diperoleh hasil dari komposisi kotoran sapi terbaik adalah pada pengenceran dengan label AI dan BI dengan perbandingan kotoran sapi dan aquades 1:9. Dicatat juga, untuk komposisi kotoran sapi lebih besar perbandingannya dibandingkan aquades pertumbuhan melambat, namun setelah tercapainya peak, terjadi pertumbuhan kembali.

Dari penelitian ini, pengenceran merupakan salah satu solusi untuk mendapatkan pertumbuhan dan untuk mengatasi persoalan kekeruhan pada medium kotoran sapi. Komposisi pengenceran, salah satu penentu laju pertumbuhan mikroalga dan penentuan densitas atau kepadatan sel mikroalga.

2. Kualitas Air

Tabel 2. Data COD dan BOD *Chlorella pyrenoidosa* (A) dan *Chlorella vulgaris* (B)

Perlakuan	Hari	COD	BOD(5)	Persentase
A1	1	520	200	38,46
	10	90	40	44,44
A2	1	517	209	40,43
	10	105	44	41,90
A3	1	553	215	38,88
	10	95	48	50,53
B1	1	631	253	40,10
	10	102	31	30,39
B2	1	630	252	40,00
	10	101	30	29,70
B3	1	632	254	40,19
	10	102	32	31,37



Gambar 3. Persentase penurunan COD dan BOD (5) pada hari (1) dan hari (10)

Tabel 3. Data pH *Chlorella pyrenoidosa* (A) dan *Chlorella vulgaris* (B)

Hari	pH									
	A ₀	A ₁	A ₂	A ₃	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	B ₃	
1	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8
2	7,1	7,1	7,2	7,2	7	6,9	7,1	7,2	7,2	7
3	7,1	7,1	7,3	7,3	7,3	6,9	7,1	7,3	7,3	7,3
4	7,1	7,1	7,3	7,3	7,3	6,9	7,1	7,3	7,3	7,3
5	7,3	7,1	7,3	7,3	7	6,9	7,1	7,3	7,3	7
6	7,3	7,1	7,3	7,3	7,7	6,9	7,1	7,3	7,3	7,7
7	7,3	7,1	7,3	7,3	7,7	6,9	7,1	7,3	7,3	7,7
8	7,3	7,1	7,3	7,3	7,8	6,9	7,1	7,3	7,3	7,8
9	7,3	7,1	7,3	7,3	7,8	6,9	7,1	7,3	7,3	7,8
10	7,4	7,2	7,4	7,4	8,1	7,1	7,2	7,4	7,4	8,1
11	7,4	7,2	7,4	7,4	8,1	7,1	7,2	7,4	7,4	8,1
12	7,3	7,2	7,3	7,3	8,1	7,2	7,2	7,3	7,3	8,1
13	7,3	7,2	7,1	7,1	8,1	7,2	7,2	7	7	8,1
14	7,3	7,2	7,1	7,1	8,2	7,2	7,2	7	7	8,2
15	7,1	7	7,1	7,1	8,2	7	7	7	7	8,2
16	7,1	7	7,1	7,1	7,9	6,7	7	7	7	7,9
17										
	7,2	7	7,1	7,1	7,7	7	7	7	7	7,70
18	6,8	7	7,1	7,1	7,6	6,3	7	7	7	7,6
19	6,8	6,8	6,9	6,9	7,6	6,3	6,8	6,9	6,9	7,6
20	6,3	6,8	6,9	6,9	7,6	6,3	6,8	6,9	6,9	7,6
21	6,3	6,2	6,9	6,9	7,6	6	6,2	6,9	6,9	7,6

Dari nilai COD dan BOD terjadi penyerapan nutrien yang cukup baik untuk mikroalga, meskipun fase stasioner dimulai hari ke delapan, berdasarkan indikator COD dan BOD pada fase hari ke 10 hingga 14 merupakan fase stasioner terbaik.

Kultur mikroalga pada air limbah memungkinkan pertumbuhan biomassa juga tanpa cahaya. Selain itu, degradasi molekul organik oleh mikroalga untuk memperoleh energi dan massa menyebabkan pengurangan kandungan polutan (Caprio et al., 2016). Secara umum, dari hasil COD dan BOD diperoleh informasi bahwa mikroalga dapat menyerap cemaran lingkungan dalam waktu 5 hari sebanyak hampir 40% persen dan dalam waktu 10 hari hampir 95%. Perubahan nilai COD dan BOD membuktikan bahwa kultur menggunakan limbah kotoran sapi efektif untuk pengelolaan lingkungan, namun proses fotosintesis masih berlangsung yang berarti penangkapan CO₂ di udara masih berlangsung sejalan dengan Zuliani L et al (2016) juga telah dibuktikan bahwa penggunaan karbon alternatif tidak mengurangi pengambilan CO₂ oleh mikroalga dari udara (L. Wang et al., 2010).

Penyerapan nutrien pada mikroalga, organik dan anorganik untuk pertumbuhan dan proses pertumbuhan dengan mengambil sumber karbon dari nutrien kotoran sapi, tidak menghalangi proses bioremediasi. Artinya, pertumbuhan mikroalga justru berlangsung pada dua jalur, fotosintesis dan pemanfaatan karbon organik. Proses bioremediasi, bisa dilakukan dengan mengatur proses metabolisme pada sumber karbon, organik maupun sumber karbon yang diperoleh melalui proses fotosintesis. Dengan tetap berjalannya, proses fotosintesis dan dari riset sebelumnya (Zuliani et al., 2016) dinyatakan medium tidak berpengaruh terhadap proses PSII, membuktikan bahwa bioremediasi bisa sejalan dengan pertumbuhan mikroalga. pH naik pada pada pencahayaan matahari dan sebelum tercapainya peak (perlakuan A3 dan B3).

Nilai pH yang netral dan cenderung basa berperan untuk mempercepat pertumbuhan. pH pada pupuk anorganik naik lebih tinggi dibandingkan dengan organik. Ini sejalan dengan penelitian pada *Dunaliella Salina*, tidak ada pengaruh pH antara 6-9 pada mikroalga. (Ying, 2014)

Cahaya, Klorofil dan Pertumbuhan

Mikroalga dapat tumbuh dengan proses metabolisme autotrof, heterotrof ataupun mixotrof. Karena mikroalga berfotosintesis dan sejumlah mikroalga memanfaatkan sinar matahari menjadi energi cahaya baik cahaya buatan ataupun cahaya alami dan memanfaatkan karbondioksida (CO₂) sebagai sumber karbon. Proses ini dinamakan autotrof (phototrophic) (Carlsson et al., 2007; Perez-Garcia et al., 2011). Berbeda dengan autotrof yang memanfaatkan karbon anorganik menjadi karbon organik, heterotrof memanfaatkan molekul organik dari lingkungan. Mixotropi /heterofototrof bisa memanfaatkan cahaya dan bahan organik sebagai sumber carbon. Mixotrof merupakan varian dari heterotrophic dengan CO₂ dan kandungan zat organik diasimilasi terus menerus dan keduanya memanfaatkan pernafasan dan fotosintesis bersamaan. Penumbuhan heterotrophic dan mixotrophic banyak dikombinasikan dengan penyediaan nutrien yang murah melalui modifikasi medium tumbuh.

Chlorella merupakan mikroalga yang bisa tumbuh pada kondisi phototrophic, heterotrophic dan mixotrophic. *Chlorella* bisa mengubah energi matahari melalui fotosintesis menjadi energi kimia (Priyadarshani & Rath, 2012). *Chlorella vulgaris* tumbuh optimum pada suhu 25-30°C dengan pencahayaan alami dan menghasilkan konsentrasi yang tinggi pada biomassa, klorofil, dan kandungan protein, namun hanya ditemukan sedikit karotenoid dan asam amino. (Sarma, Singh, & Sharma, 2012)

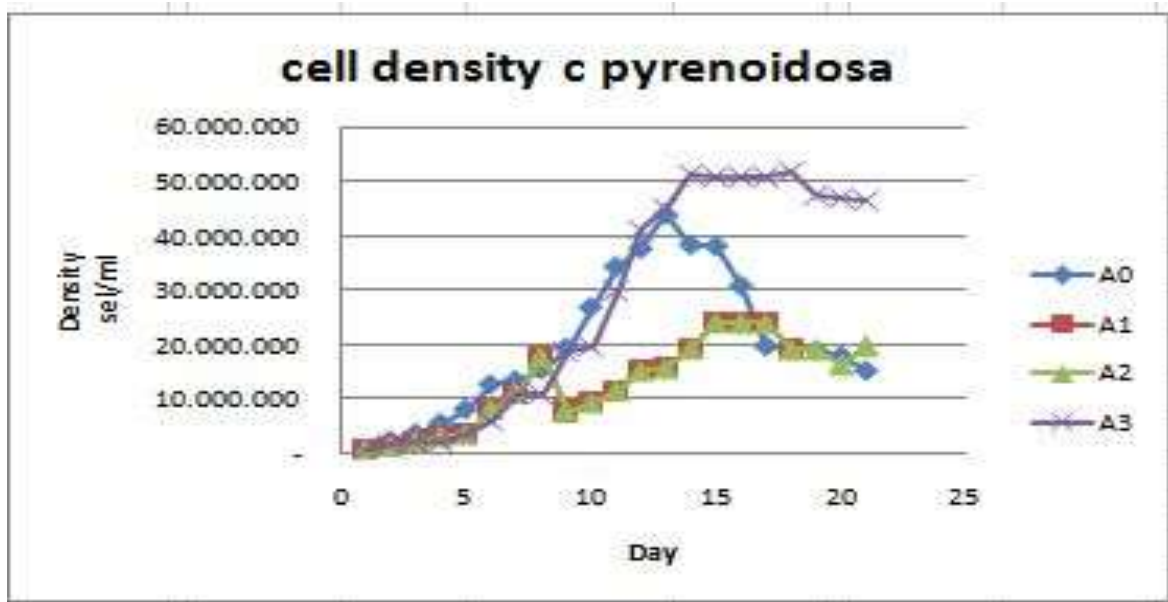
Klorofil adalah molekul yang bekerja sebagai fotoreseptor di daun tanaman, klorofil A dan klorofil b merupakan fotoreseptor pada tanaman dan saling memenuhi kebutuhan energi tanaman dengan penyerapan cahaya matahari yang berbeda. Perbedaan respon terhadap kondisi lingkungan dipengaruhi oleh spesies dan habitat awal mikroalga. *Specific growth rate* tertinggi pada *Chlorella pyrenoidosa* habitat air tawar tercapai pada nutrisi dengan kotoran sapi dan penyinaran matahari, sedangkan pada *Chlorella vulgaris* habitat air laut *specific growth rate* tertinggi adalah dengan penambahan urea, namun *doubling time* terbanyak terdapat pada perlakuan nutrien dengan kotoran sapi dan cahaya fluorescence.

Tabel 4. Klorofil dan Pertumbuhan Spesifik *Chlorella pyrenoidosa* (A) dan *Chlorella vulgaris* (B)

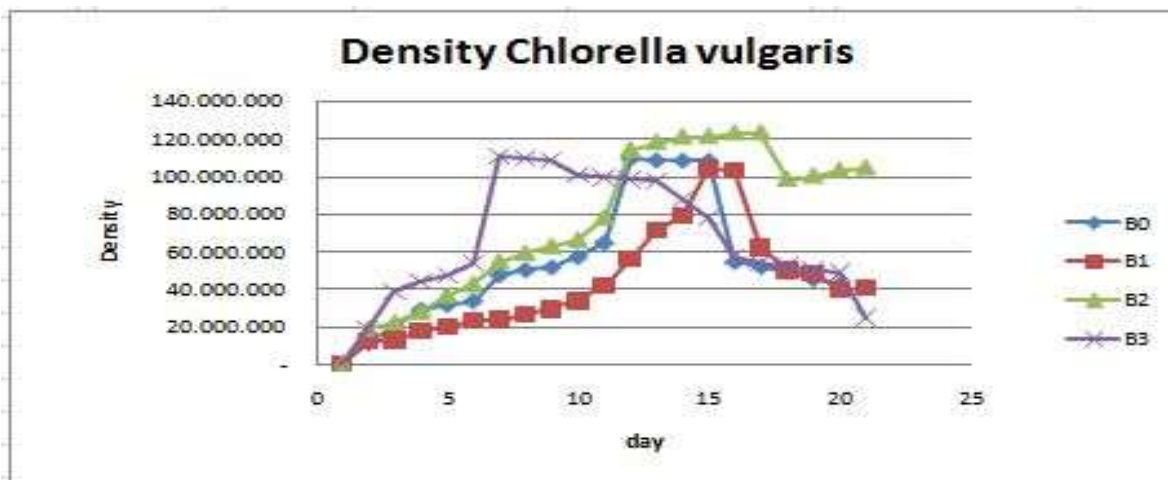
Indikator	A ₀	A ₁	A ₂	A ₃	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃
Cl A	0,4772	0,3945	0,2038	0,4018	0,2129	0,1793	0,9537	1,1443
Cl B	0,3538	0,5265	1,1937	1,0437	0,7191	1,0747	1,0933	0,4812
Chl a+ Chl B	0,831	0,921	1,3975	1,4455	0,932	1,254	2,047	1,6255
SGR	0,215	0,291	0,307	0,177	0,732	0,404	0,533	0,992
dt	3,225	2,381	2,257	3,909	0,946	1,716	1,300	0,699

Pada kondisi cahaya bukan pembatas nilai chlorophyll akan tinggi, sinar matahari pada A₃ dan B₃ akan menurunkan nilai klorofil, namun karena densitas yang padat, maka terjadi penurunan intensitas cahaya, sehingga jumlah chlorophyll meningkat dibandingkan dengan A₂ dan B₂, selain juga adanya kemungkinan peningkatan konsentrasi asetat pada A₂ dan B₂.

Sintesis klorofil pada spesies *Golenkinia* dihambat 10 kali lipat pertumbuhan dalam gelap karena adanya asetat atau jika ada peningkatan konsentrasi asetat dalam terang, terutama jika pertumbuhannya mengandung kadar nitrogen rendah (Ellis, Spooner, & Yakulis, 1975).



Gambar 4. Grafik Densitas *Chlorella pyrenoidosa*



Gambar 5. Grafik Densitas *Chlorella vulgaris*

Faktor suspensi sel dan densitas ini sejalan dengan penelitian tingkatan pembatasan cahaya pada pertumbuhan merupakan faktor pengendali utama sintesis klorofil selama pertumbuhan fotoautotrof *Chlorella* (Beale & Appleman, 1971). Kandungan klorofil dari sel meningkat saat cahaya terbatas pada pertumbuhan seperti terjadi pada kultur padat, atau dalam kultur di bawah intensitas cahaya rendah, bila pemanfaatan cahaya kurang efisien melalui penghambatan sebagian fotosintesis dengan 3- (p-klorofenil) -1, dimetilurea. Kandungan klorofil berkurang saat cahaya tidak berperan sebagai pembatas pertumbuhan, seperti yang terjadi pada sel dengan intensitas cahaya tinggi.

Kelambatan awal laju sintesis klorofil dalam kultur yang baru diinokulasi dapat dikaitkan dengan cahaya inisial yang tidak membatasi pertumbuhan, dan kemudian menjadi

pertumbuhan yang membatasi saat suspensi sel menjadi lebih padat. (Beale & Appleman, 1971) Gambar 3 dan Gambar 4 menunjukkan, densitas pada A₂ dan B₂ lebih sedikit dibandingkan dengan A₃ dan B₃. Sedangkan pada A₃ dan B₃, intensitas cahaya matahari awal menjadi penentu keberadaan klorofil meskipun kemudian terjadi pelambatan karena adanya suspensi dan densitas sel yang padat.

Eksperimen kultur terus menerus mendukung kesimpulan di atas dengan menunjukkan bahwa dalam keadaan mapan kondisi kandungan klorofil berbanding terbalik dengan cahaya yang relatif tersedia (Beale & Appleman, 1971).

Pembatasan cahaya terjadi pada A₂, B₂ menyebabkan pertumbuhan mikroalga pada komposisi yang hampir seimbang kemungkinan disebabkan oleh terbentuknya asetat dalam jumlah tinggi, (Caprio et al., 2016 ; Mobin & Alam, 2014).

Secara umum, halangan terhadap penetrasi cahaya terjadi karena kepadatan densitas dan lonjakan awal densitas terjadi karena kecukupan nutrisi, cahaya dan pH.

SIMPULAN

Mikroalga mampu tumbuh pada medium kotoran sapi dan lebih efektif jika dilakukan pengenceran 20 X dan pengenceran ulang dengan komposisi kotoran sapi yang sudah diencerkan lebih kecil dibandingkan dengan akuades (1:9). Pertumbuhan mikroalga tidak menghambat penangkapan CO₂ di udara dan dari indikator COD dan BOD kualitas air membaik dan tidak menghalangi pertumbuhan mikroalga.

Penurunan BOD dan COD membuktikan bahwa mikroalga dapat menyerap nutrisi namun juga tidak mengganggu kepada proses fotosintesis. Kandungan Chlorophyll berbanding terbalik dengan cahaya, dipengaruhi oleh cahaya inisial, spesies dan pertumbuhan juga dimungkinkan terhalang oleh konsentrasi asetat yang terbentuk. Terhalangnya sinar untuk pertumbuhan disebabkan oleh kepadatan sel yang terbentuk dan bukan kekeruhan oleh nutrisi/kotoran sapi.

Bioremediasi dan kultur mikroalga dapat berlangsung sejalan dengan pengondisian lingkungan dan pengondisian metabolisme melalui pencahayaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agwa, O. K., Ibe, S. N., & Abu, G. O. (2013). *Heterotrophic cultivation of Chlorella sp. using different waste extracts* Vol. 2. *International Journal of Biochemistry and Biotechnology* (pp. 289-297).
- Beale, S. I., & Appleman, D. (1971). Chlorophyll synthesis in chlorella: regulation by degree of light limitation of growth. *Plant Physiol*, 47(2), 230-235.
- Caprio, F. D., Masciocchi, B., Visca, A., Altimari, P., Toro, L., Iaquaniello, G., & Pagnanelli, F. (2016). Two Stage Process of Microalgae Cultivation for Starch and Carotenoid Production *Chemical Engineering Transactions*, 49, 415-420. doi:10.3303/CET1649070
- Carlsson, A.S.; van Beilen, J.B.; Möller, R.; Clayton, D. Micro- and Macro-Algae: Utility for Industrial Applications; Bowles, D., Ed.; CPL Press: Newbury, UK, 2007. [[Google Scholar](#)]
- Ellis, R., Spooner, T., & Yakulis, R. (1975). Regulation of chlorophyll synthesis in the green alga *Golenkinia*. *Plant Physiol*, 55(4), 791-795.
- Grobellaar, J. U. (2013). Inorganic Algal Nutrition. In A. Richmond & Q. Hu (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture : Applied Phycology and Biotechnology* (pp. 123-133): Blackwell Publishing.

- Hassanpour, M., Abbasabadi, M., Ebrahimi, S., Hosseini, M., & Sheikhabaglou, A. (2015). Gravimetric Enrichment of High Lipid and Starch Accumulating Microalgae. *Bioresource Technology*, 196, 17-21 doi:10.1016/j.biortech.2015.07.046
- Jia, H., & Yuan, Q. (2016). Removal of nitrogen from wastewater using microalgae and microalgae–bacteria consortia. *Cogent Environmental Science*, 2, 1275089. <http://dx.doi.org/10.1080/23311843.2016.1275089>
- Liu, J., & Hu, Q. (2013). Chlorella : Industrial Production of Cell Mass and Chemicals. In A. Richmond & Q. Hu (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture : Applied Phycology and Biotechnology* (2nd edition ed., pp. 329-338): Blackwell Publishing Ltd.
- Mobin, S., & Alam, F. (2014). *Biofuel Production from Algae Utilizing Wastewater* Paper presented at the 19th Australian Fluid Mechanics Conference, Melbourne, Australia.
- Perez-Garcia, O., Escalante, F. M. E., E.de-Bashan, L., & Bashan, Y. (2011). Review : Heterotrophic cultures of microalgae : Metabolism and potential products. *Water Research*, 45, 11-36. doi:10.1016/j.watres.2010.08.037
- Priyadarshani, I., & Rath, B. (2012). Commercial and industrial application of micro algae- A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3(4), 89-100.
- Sharma R, Singh GP, Sharma VK (2012) Effects of Culture Conditions on Growth and Biochemical Profile of Chlorella Vulgaris. *J Plant Pathol Microb* 3:131.doi:10.4172/2157-7471.1000131
- Wang, H., Ji, C., Bi, S., Zhou, P., Chen, L., & Liu, T. (2014). Joint production of biodiesel and bioethanol from filamentous oleaginous microalgae Tribonema sp. *Bioresour Technol*, 172, 169-173. doi:10.1016/j.biortech.2014.09.032
- Wang, L., Wang, Y., Chen, P., & Ruan, R. (2010). Semi-continius Cultivation of Chlorella vulgaris for Treating Undigested and digested Dairy Manures. *Appl Biochem Biotechnol*, 162, 2324-2332.
- Wu, X., Ruan, R., Du, Z., & Liu, Y. (2012). Current Status and Prospects of Biodiesel Production from Microalgae. *Energies*, 5(12), 2667-2682. doi:10.3390/en5082667
- Yadavalli, R., S, R. R., & C.S.Rao. (2013). Lipid Productivity Of Chlorella pyrenoidosa In A Customized Lab Scale Photobioreactor Under Stress Conditions. *International Journal of ChemTech Research*, 5(2), 719-726.
- Ying K, James Gilmour D, Zimmerman WB (2014) Effects of CO2 and pH on Growth of the Microalga Dunaliella salina. *J Microb Biochem Technol* 6:167-173. doi: 10.4172/1948-5948.1000138
- Zhu, L., Hiltunen, E., & Li, Z. (2015). Continuous production of high-value products, biodiesel and biogas from microalgae cultivated with livestock waste compost: A feasible study *International Scientific Journal Environmental Science*, 4(1). diunduh di <http://environment.scientific-journal.com> tanggal 30 Mei 2017.
- Zuliani, L., Frison, N., Jelic, A., Fatone, F., Bolzonella, D., & Ballottari, M. (2016). Microalgae Cultivation on Anaerobic Digestate of Municipal Wastewater, Sewage Sludge and Agro-Waste. *Int J Mol Sci*, 17(10), 1692. doi:10.3390/ijms17101692