

**Alternatif Bahan Baku Bioetanol dari Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* yang
Dikultivasi dengan Variasi Intensitas Cahaya dan Konsentrasi
Palm Oil Mill Effluent (POME)**

Yuliyana Rahmawati¹⁾, Shinta Elystia²⁾, Sri Rezeki Muria³⁾

¹⁾Mahasiswa Prodi Teknik Lingkungan

²⁾Dosen Teknik Lingkungan ³⁾Dosen Teknik Kimia

Laboratorium Pencegahan dan Pengendalian Pencemaran Lingkungan
Program Studi Teknik Lingkungan S1, Fakultas Teknik Universitas Riau
Kampus Bina Widya Jl. HR. Soebrantas Km. 12,5 Simpang Baru, Panam,
Pekanbaru 28293

E-mail: yuliyana.rahmawatii@gmail.com

ABSTRACT

Development of a dynamic world energy consumption within the limitation of fossil energy reserve as well as the awareness on the environmental conservation evoke the increase of interest on a renewable energy. Chlorella pyrenoidosa is commonly recognized as an interesting species for bioethanol production due to its the carbohydrate content. Palm Oil Mill Effluent (POME) is a potential medium for microalgae to growth because it contains high nutrient sources. This research aimed to study the effect of POME concentration and light intensity to carbohydrate produced of microalgae C. pyrenoidosa. Microalgae cultivated in POME : Medium Dahril Solution (0:100; 25:75; 50:50; 75:25; 100:0) with light intensity (3000, 4000 and 5000 lux). The result showed the highest carbohydrate concentration was 289,69 mg/L at cultivation condition of POME : Medium Dahril Solution 50:50 with the light intensity 3000 lux.

Keywords: *Chlorella pyrenoidosa, Palm Oil Mill Effluent (POME), Dahril Solution Medium, Carbohydrates*

1. PENDAHULUAN

Perkembangan kebutuhan energi dunia yang dinamis di tengah semakin terbatasnya cadangan energi fosil serta kepedulian terhadap kelestarian lingkungan hidup, menyebabkan perhatian terhadap energi terbarukan semakin meningkat (Prastowo, 2007). Data

Departemen Energi dan Sumber Daya Mineral menyebutkan bahwa minyak bumi mendominasi 54 % penggunaan energi di Indonesia. Selain itu juga disebutkan bahwa cadangan minyak bumi hanya cukup untuk 18 tahun ke depan (ESDM, 2005). Untuk itu diperlukan sumber energi alternatif seperti biofuel untuk

memenuhi kebutuhan energi tersebut.

Biofuel dapat didefinisikan sebagai bahan bakar dalam bentuk gas, padat maupun cair yang berasal dari biomassa (Patil dkk., 2008). Salah satu biomassa yang dapat dijadikan bahan baku biofuel adalah mikroalga.

Mikroalga mempunyai prospek yang sangat baik untuk dikembangkan sebagai salah satu bahan baku penghasil biofuel karena memiliki kemampuan tumbuh dengan cepat serta tidak memerlukan lahan yang luas untuk kegiatan produksi. Di samping itu mikroalga memiliki kemampuan menyerap karbondioksida dengan baik (Erlangga dkk., 2015). Salah satu mikroalga yang potensial untuk dikembangkan adalah mikroalga *C. pyrenoidosa*.

C. pyrenoidosa adalah mikroalga hijau bersel tunggal bersifat eukariotik dan di dalam sitoplasma telah terdapat klorofil. Oleh karena itu, *C. pyrenoidosa* bersifat autotrof. Selama berfotosintesis, *C. pyrenoidosa* memiliki kemampuan untuk tumbuh dan berkembang biak dengan cepat (John dkk., 2011). *C. pyrenoidosa* merupakan salah satu jenis mikroalga yang tumbuh di kolam limbah cair produksi minyak sawit PTPN V Sei Pagar Provinsi Riau.

Palm Oil Mill Effluent (POME) merupakan limbah cair hasil proses produksi minyak sawit. POME biasanya hanya diolah menggunakan metode *aerobic* dan

anaerobi pond untuk menurunkan kadar COD dan BOD-nya, padahal POME masih mengandung unsur hara seperti N, P dan K yang dapat digunakan untuk nutrisi dalam pertumbuhan mikroalga. Namun selain nutrisi tersebut mikroalga juga membutuhkan nutrisi mikro untuk tumbuh dengan baik (Hadiyanto dan Nur, 2012). Oleh sebab itu dalam penelitian digunakan Medium Dahril *Solution* sebagai medium tambahan saat kultivasi. Medium ini mengandung mikronutrien seperti Fe, Mn, Cu, Zn, Cl, Na dan Vitamin B12 yang dapat melengkapi kebutuhan nutrisi mikroalga (Dahril, 2012).

Mikroalga memiliki komposisi kimia yang berbeda-beda, dipengaruhi oleh banyak faktor seperti jenis spesies dan kondisi kultivasi. Oleh karena itu terdapat peluang untuk memperoleh mikroalga dengan komposisi kimia tertentu dengan memanipulasi faktor lingkungannya seperti suhu, cahaya, pH, ketersediaan karbondioksida, garam dan nutrisi lainnya (Basmal, 2008).

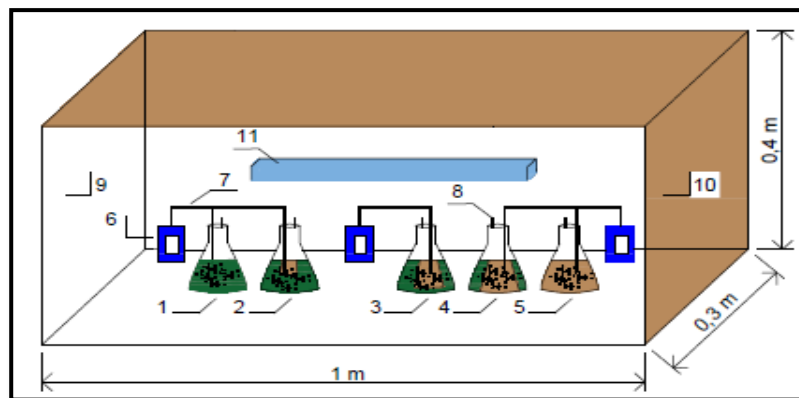
Dalam penelitian ini akan diteliti kondisi kultivasi optimum mikroalga untuk menghasilkan mikroalga dengan kandungan karbohidrat yang tinggi sebagai bahan baku bioetanol. POME digunakan sebagai sumber nutrisi sekaligus medium. Variasi dalam penelitian ini adalah konsentrasi POME dan intensitas cahaya.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Kultivasi dalam penelitian ini dilakukan pada *chamber* cahaya berukuran 1 m x 0,3 m x 0,4 m. Pencahayaan diperoleh dari lampu LED *white-fluorescent*, sedangkan proses pengontakan mikroalga dan medium dilakukan menggunakan pompa udara 3 L/menit.

Mikroalga yang digunakan diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. POME berasal dari kolam keempat pembuangan limbah cair PTPN V Sei Pagar. Nutrien tambahannya berupa Medium Dahril *Solution*.



Gambar 1. Desain Alat Kktivasi

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Perbanyakan Kultur

Mikroalga *C. pyrenoidosa* diperbanyak dalam Medium Dahril *Solution* hingga mikroalga memasuki fase eksponensial yakni hari ke-7 kultivasi. Pemiakan dilakukan dalam erlenmeyer 500 mL menggunakan aerasi secara kontinu dengan intensitas cahaya 3000 lux. Jumlah sel akan dihitung setiap 24 jam menggunakan *thoma* dan mikroskop.

2.2.2 Preparasi POME

Sampel POME diambil dari kolam keempat PTPN V Sei Pagar. Pengambilan sampe dilakukan

dengan metode *grab sampling*. POME disaring menggunakan kertas saring untuk menyisihkan partikel dan pasir yang berukuran. POME disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

2.2.3 Kultivasi *C. pyrenoidosa*

Suspensi mikroalga sebanyak 40 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer sesuai variasi yang telah ditentukan. Variasi konsentrasi POME : Medium Dahril *Solution* 0:100, 25:75, 50:50, 75:25 dan 100:0 masing-masingnya dilakukan variasi intensitas cahaya 3000, 4000 dan 5000 lux. Dilakukan

pengujian kandungan karbohidrat pada waktu kultivasi 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 dan 13 hari. Erlenmeyer ditutup rapat untuk mencegah kontaminasi.

2.2.4 Analisis Karbohidrat

Analisis karbohidrat dilakukan dengan metode Nelson-Semogyi. Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan dalam *test tube* kemudian ditambahkan 10 mL H₂SO₄. Sampel dipanaskan dalam air mendidih menggunakan *hot plate* dengan suhu 80°C selama 75 menit. Kemudian diambil 1 mL sampel hasil pemanasan dan ditambahkan 1 mL reagen Nelson. Larutan tersebut selanjutnya dipanaskan kembali pada suhu 105°C selama 20 menit. Setelah dipanaskan, sampel ditambahkan 1 mL reagen *arsenomolybdat* dan aquades 7 mL. Selanjutnya diukur absorbansi masing-masing larutan tersebut menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh di plotkan pada kurva standar untuk mengetahui konsentrasi karbohidrat pada sampel.

Konsentrasi karbohidrat didapat dari persamaan regresi linear sebagai berikut:

$$Y = ax + b$$

Keterangan:

Y = Nilai absorbansi

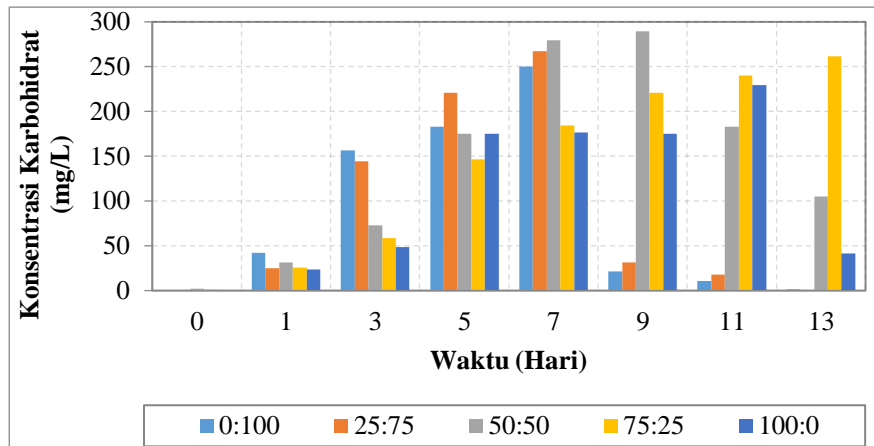
a dan b = Nilai persamaan regresi

x = Kadar karbohidrat (ppm)

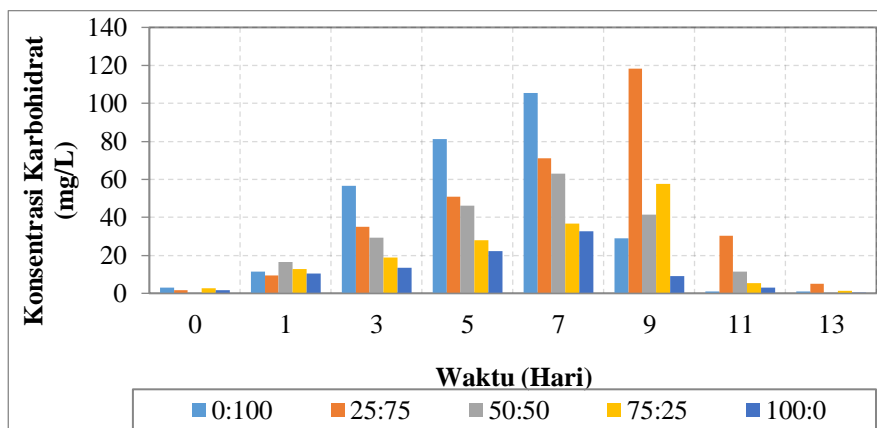
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Menurut Dayanada dkk., 2006 dan Banerjee dkk., 2002, mikroalga yang dikultivasi pada medium dengan kondisi kandungan nitrogen yang sedikit, mikroalga akan mengandung makromolekul dan senyawa cadangan karbon seperti karbohidrat. Menurut Nigam dkk. (2011) ketika sel mikroalga telah mencapai fase stasioner maka lebih banyak karbon disimpan dalam bentuk karbohidrat. Sulit untuk mengetahui fase stasioner dari kurva pertumbuhan mikroalga mengingat fase penurunan sel berlangsung dengan cepat namun waktu pengambilan data dilakukan tidak setiap hari (Ana dkk., 2012).

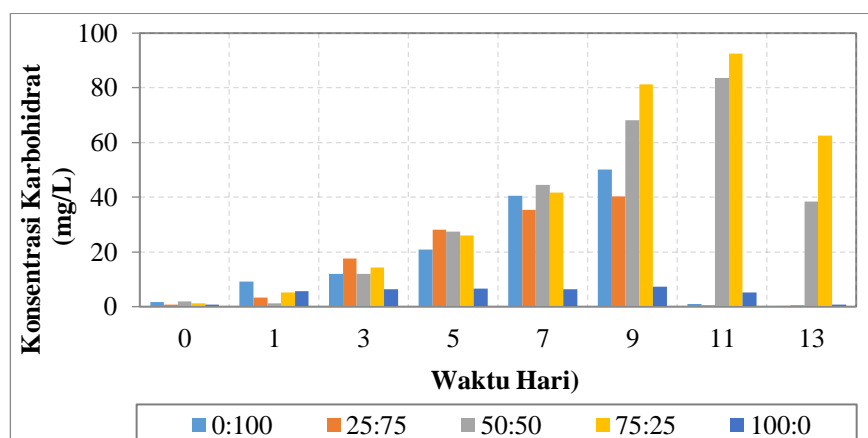
Perhitungan konsentrasi karbohidrat menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Dari alat tersebut akan dihasilkan nilai absorbansi. Nilai absorbansi yang tinggi menunjukkan tingginya kadar karbohidrat di dalam mikroalga. Setelah didapatkan nilai absorbansi data diolah untuk menghasilkan kadar karbohidrat dari mikroalga. Berikut grafik kandungan karbohidrat dari mikroalga *C. pyrenoidosa* dapat dilihat pada Gambar 2. berikut:



(A)



(B)

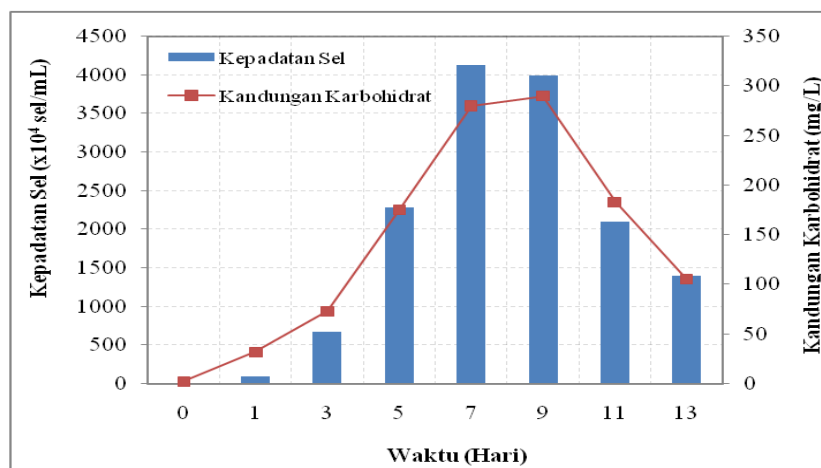


(C)

Gambar 2. Grafik Kandungan Karbohidrat Mikroalga *C. pyrenoidosa* (A) 3000 Lux, (B) 4000 Lux dan (C) 5000 Lux

Dari Gambar 2 didapatkan bahwa kandungan karbohidrat tertinggi terjadi pada mikroalga dengan variasi intensitas cahaya 3000±300 lux dengan konsentrasi POME : Medium Dahril *Solution* 50:50 dengan kandungan karbohidrat sebesar 289,69 mg/L. Hal ini dikarenakan mikroalga tumbuh optimum pada intensitas cahaya 3000±300 lux. Jika mikroalga berada pada lingkungan yang sesuai, maka laju pertumbuhan sel dan metabolisme sel akan meningkat, dengan meningkatnya laju pertumbuhan maka biomassa yang dihasilkan akan semakin banyak dan karbohidrat yang dihasilkan akan semakin banyak pula (Hadiyanto dan Azim, 2012). Kandungan karbohidrat

mikroalga terbesar secara berurutan pada variasi intensitas cahaya yang sama pada medium dengan konsentrasi 25:75, 0:100, 75:25 dan 100:0 mengandung karbohidrat sebesar 267,67 mg/L; 249,95 mg/L; 261,67 mg/L dan 229,15 mg/l. Variasi intensitas cahaya 4000 lux kandungan karbohidrat terbaik pada konsentrasi 25:75 yakni sebesar 118,18 mg/L, untuk konsentrasi lainnya rata-rata dibawah 100 mg/L, sedangkan untuk variasi intensitas cahaya 5000 lux kandungan karbohidrat rata-rata dibawah 50 mg/L. Berikut grafik hubungan antara kepadatan sel dan kandungan karbohidrat mikroalga *C. pyrenoidosa*:



Gambar 3 Grafik Hubungan antara Kepadatan Sel dan Kandungan Karbohidrat mikroalga *C. pyrenoidosa*

Pada Gambar 3 didapatkan kandungan karbohidrat terbaik pada saat mikroalga memasuki fase stasioner yakni pada hari ke-9

kultivasi. Menurut Ho dkk. (2012) dan Siaut dkk. (2011) bahwa berkurangnya kadar nitrogen akan meningkatkan kandungan karbohidrat mikroalga, karena pada

kondisi ini mikroalga akan mengubah protein atau peptida menjadi karbohidrat dan lipid. Di bawah lingkungan yang tertekan, mikroalga dapat mengakumulasi karbohidrat dalam jumlah yang lebih besar di dalam dinding selnya (terutama dalam bentuk selulosa dan polisakarida larut) dan di dalam plastida (terutama dalam bentuk pati) (Domozych dkk., 2012). Glukosa polimer yang diproduksi dari selulosa atau pati pada komponen utama dinding sel adalah produk mikroalga yang tersimpan. Mikroalga dianggap sebagai bahan baku yang menjanjikan untuk produksi bioetanol karena mikroalga memiliki dinding sel berbasis selulosa dengan mengakumulasi pati sebagai sumber utama karbohidrat. Pati dan dinding sel mikroalga dapat diubah menjadi gula terfermentasi untuk produksi bioetanol (Wang dkk., 2011). Mikroalga *C. pyrenoidosa* mengakumulasi pati sebagai energi primer dan cadangan karbon, sedangkan lipid sebagai penyimpanan sekunder (Silva dan Sforza, 2016).

Akumulasi karbohidrat pada mikroalga terjadi karena fiksasi CO₂ selama proses fotosintesis. Fotosintesis adalah proses biologi yang memanfaatkan ATP/NADPH untuk mengkonversi CO₂ untuk menghasilkan glukosa dan gula lain pada reaksi gelap atau yang disebut siklus calvin (Lehninger dkk., 2005). CO₂ akan diubah menjadi

karbohidrat dengan menggunakan energi kimia dalam bentuk ATP dalam siklus Calvin, yang terbentuk dalam reaksi terang. Reaksi gelap dimulai melalui siklus Calvin-Benson. Siklus Calvin-Benson pada mikroalga bertujuan untuk mengubah senyawa ribulosa 1,5 bifosfat menjadi senyawa dengan jumlah atom karbon tiga yaitu senyawa 3-phosphogliserat. Mekanisme siklus Calvin-Benson dimulai dengan fiksasi karbon yaitu pengikatan atau fiksasi 6 molekul CO₂ dari udara ke dalam molekul organik yang sudah ada di dalam kloroplas (Ho dkk., 2017).

4. KESIMPULAN

Kondisi pertumbuhan optimum mikroalga *C. pyrenoidosa* yaitu pada rasio POME : Medium Dahril *Solution* 50:50 dengan intensitas cahaya 3000 lux menghasilkan mikroalga dengan konsentrasi karbohidrat 289,69 mg/L.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Ana, P. A., Fernandes, B. Vicente, A. A., Jose, T. Dan Giuliano, D. 2012. Mixotrophic Cultivation of *Chlorella vulgaris* Using Industrial Dairy Waste as Organic Carbon Source. *Bioresource Technology*. 118: 61-66.
- Banerjee, A. Sharma, R., Chisti, Y., Banerjee, U. C. 2002. *Botryococcus braunii*: A Renewable Source of Hydrocarbons and Other

- Chemicals. *Critical Reviews in Biotechnology*. 22(3): 245-279.
- Basmal, J. 2008. Peluang dan Tantangan Pemanfaatan Mikroalga sebagai *Biofuel*. *Squalen Buletin Pascapanen Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 3(1):34-39.
- Dahril, T. 2012. *Rotifer, Biologi dan Pemanfaatannya*. Pekanbaru: Unri Press.
- ayanada, C., Sarada, T. R. Shamala dan Ravishankar, G. A. 2006. Influence of Nitrogen Source on Growth, Hydrocarbon and Fatty Acid Production by *Botryococcus braunii*. *Asians Journal Plant Scientist*. 5: 799-804.
- Domozych, D. S., Ciancia, M., Fangel, J.U., Mikkelsen, M.D., Ulvskov, P., Willats, W. G. T. 2012. The Cell Walls of Green Algae: A Journey Through Evolution and Diversity. *Frontiers in Plant Science*. 3(82).
- ESDM (Departemen Energi dan Sumber Daya Mineral). 2005. Pergeseran Kebijakan Energi akan Menguntungkan Sumatera Selatan. http://dbm.djmbp.esdm.go.id/old/portaldpmb/modules/_news_detail.php?_id=1518. Diakses pada tanggal 4 Februari 2019.
- Erlangga, A.Y., Nugroho, C., dan Miskah, S. (2015). Pembuatan Bioetanol dari Mikroalga dengan Variasi Konsentrasi Asam, Waktu Hidrolisis, dan Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*. Universitas Sriwijaya.
- Hadiyanto dan Azim, M. 2012. *Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan*. Semarang: UNDIP Press.
- Ho, S. H. Chen, C. Y. dan Chang, J. S. 2012. Effect of Light Intensity and Nitrogen Starvation on CO₂ Fixation and Lipid/Carbohydrate Production of An Indegeneous Microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Biotechnology Technology*. 113: 244-252.
- Ho, S. H., Chen, C. Y. D., Chang, C. Y., Lai, Y. Y., Chen, C. Y., Kondo, A., Ren, N. Q., dan Chang, J. S. 2017. Feasibility of CO₂ Mitigation and Carbohydrate Production by Microalgae *Scenedesmus obliquus* CNW-N Used for Bioethanol Fermentation Under Outdoor Conditions: Effect of Seasonal Changes. *Biotechnology for Biofuels*, 10: 27.
- John , R., Anisha, G. S. dan Nampoothiri, M. K. 2011. Ashok Pandey and Microalgal Biomass: A renewable Source for Bioethanol. *Biosource Technology*. 102:186-193.
- Kothari, R., Pathak, V. V., Kumar, V. dan Singh, D. P. 2012. Experimental Study for Unicellular Alga *Chlorella pyrenoidosa* on Dairy Waste Water: An intregated Approach for Treatment and Bioethanol Production. *Bioresource Technology*, 116: 466-470.
- Lehninger. 2005. *Dasar-Dasar Biokimia I*. Jakarta: Erlangga.

- Nigam. S., Rai, M. P. dan Sharma, R. 2011. Effect of Nitrogen on Growth and Lipid Content of *Chlorella pyrenoidosa*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 7(3): 124-129.
- Patil, V.K., Tran, Q., dan Giselrod, H.R. 2008. Towards Sustainable Production of Biofuels from Microalgae. *International Journal of Molecular Science*, 9: 118-125.
- Prastowo, B. 2007. Potensi Sektor Pertanian Sebagai Penghasil dan Pengguna Energi Terbarukan. *Perpektif*, 6(2): 84-92.
- Siaut, M., Cuiene, S., Cagnon, C., Fessler, B., Nguye, M., Carrier, P., Beyly, A., Beisson, F., Triantaphylides, C., Li-Beisson, Y. H., Peltier, G. 2011. Oil Accumulation in The Model Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii*: Characterization, Variability Between Common Laboratory Strains and Relationship with Starch Reserves. *BMC Biotechnology*. 11(7).