

# KULTIVASI MIKROALGA MENGGUNAKAN MEDIA AF6 PADA BERBAGAI PH

<sup>1)</sup>Jelizanur, <sup>2)</sup>Padil, <sup>3)</sup>Sri Rezeki Muria

<sup>1)</sup>Mahasiswa Program Studi Sarjana Teknik Kimia, <sup>2)</sup>Dosen Jurusan Teknik Kimia,

Fakultas Teknik, Universitas Riau

Kampus Binawidya JL. HR Subrantas Km 12,5 Pekanbaru 28293

jelizanur.ze@gmail.com

## Abstract

Microalgae cultivation is one technique to grow microalgae in a controlled environment. Cultivation aims to provide a single species in microalgae mass culture for harvesting. This research used AF6 media with a volume of 90 ml and 10 ml of microalgae. The purpose of this research was to cultivate microalgae using AF6 media with variations in pH 4, 6, 8 and types of microalgae namely *Chlamydomonas* sp (chl), *Chlamydomonas* sp (019), *Chlamydomonas* sp (4), *Chlamydomonas* sp (5), *Chlorella* sp (6). The results showed that pH had a significant effect on microalgae cultivation. Microalgae *Chlorella* sp (6) with a combination of treatment pH 8 and observation time of the 10th day was the best treatment of all types of microalgae cultivated that is equal to 0.1255.

*Keywords: microalgae, AF6 media, pH*

## 1. Pendahuluan

Mikroalga adalah organisme tumbuhan yang berukuran mikroskopik (diameter antara 3-30  $\mu\text{m}$ ) yang termasuk mikroorganisme fotosintetik dan tergolong organisme prokariot atau eukariot dapat tumbuh secara cepat dengan struktur uniseluler atau multiseluler (Quinn, 2011). Mikroalga melakukan aktivitas fotosintesis dengan bantuan air,  $\text{O}_2$  dan sinar matahari, serta menggunakan bahan anorganik seperti  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_4^+$ , dan  $\text{PO}_4^{4-}$ , sehingga menghasilkan energi kimiawi dalam bentuk biomassa seperti karbohidrat, lemak, protein dan lain-lain (Dimas, dkk, 2017).

Besarnya potensi mikroalga harus dioptimalkan mengingat kelimpahannya dialam perairan Indonesia amat terbatas, namun dengan penggunaannya cukup luas maka perlu dilakukan kultur mikroalga secara berkesinambungan (Addini, dkk, 2017).

Kultivasi mikroalga merupakan salah satu teknik untuk menumbuhkan mikroalga dalam lingkungan tertentu yang terkontrol. Kultivasi bertujuan untuk menyediakan spesies tunggal pada kultur masal mikroalga untuk pemanenan. Struktur uniseluler mikroalga memungkinkan mengubah energi matahari menjadi energi kimia dengan mudah. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga diantaranya faktor abiotik (cahaya, temperatur, nutrisi,  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ , pH, salinitas), faktor biotik (bakteri, virus, jamur, dan lain-lain), serta faktor teknik pemanenan. Mikroalga dapat tumbuh dengan sangat cepat pada kondisi iklim yang tepat. Umumnya mikroalga menduplikasi diri dalam jangka waktu 24 jam bahkan 3,5 jam selama fasa pertumbuhan eksponensial (Munawaroh, 2016).

mikroalga mampu dikultivasi menggunakan media AF6. Hal ini dikarenakan media yang terkandung pada media AF6 memiliki variasi nutrisi dan tingkat penetrasi cahaya yang lebih baik, sehingga proses fotosintesis pada media AF6 lebih optimal (Dimas, dkk, 2017).

Selain media kultur, faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga adalah pH. Derajat Keasaman (pH) akan mempengaruhi kinerja kerja suatu enzim. pH media berkisar antara 7,0- 8,0 cukup baik digunakan dalam kultur alga di laboratorium. Untuk mencegah terjadinya perubahan pH dalam media kultur alga, perlu ditambahkan EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetat*) ke dalam media, karena EDTA berfungsi sebagai *buffer* sehingga pH media akan tetap stabil (Kurnia, 2016).

Analisis pertumbuhan mikroalga dengan menggunakan *optical density* (OD) yaitu untuk memperoleh perhitungan *specific growth rate*. Laju pertumbuhan spesifik merupakan parameter yang menggambarkan kecepatan pertambahan sel mikroalga per satuan waktu.

Analisa laju pertumbuhan yang diperoleh dari penelitian didasarkan pada hasil perhitungan kepadatan sel mikroalga, untuk menentukan lama waktu yang diperlukan mikroalga dalam sekali pembelahan sel. Kepadatan sel dan laju pertumbuhan mikroalga dihitung setiap hari selama masa kultivasi sehingga dapat menggambarkan setiap fase pertumbuhan mikroalga. Laju pertumbuhan menggambarkan kecepatan pertumbuhan sel-sel mikroalga persatuan waktu yang dapat dipakai sebagai tolak ukur untuk mengetahui daya dukung medium atau nutrisi

terhadap pertumbuhan dan pembelahan sel mikroalga (Istirokhatun, 2017).

Penelitian ini bertujuan Menentukan pengaruh pH media AF6 pada pertumbuhan berbagai jenis mikroalga dan menentukan laju pertumbuhan mikroalga dengan mengukur *optical density* menggunakan spektrofotometer.

## 2. Metodologi Penelitian

### 2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah media AF6, aquades, NaOH, HCl, larutan *buffer*, mikroalga *Chlamydomonas* sp (chl), *Chlamydomonas* sp (019), *Chlamydomonas* sp (4), *Chlamydomonas* sp (5), dan *Chlorella* sp (6).

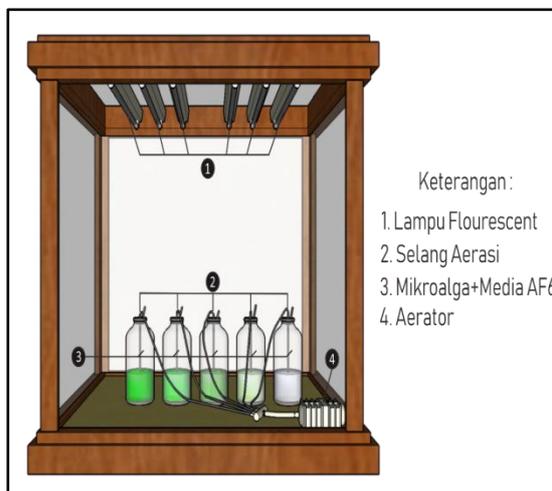
### 2.2 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah aerator, *aluminium foil*, botol sampel 250 ml dan 5 ml, corong, timbangan analog, erlenmeyer 1000 ml, gelas ukur 100 ml dan 1000 ml, inkubator, *hot plate*, labu ukur, lampu *fluorescent* 500 lux, penangas air, pH meter, pipet tetes, selang aerasi, spektrofotometer UV-VIS, *thermometer*, dan timbangan analitik.

### 2.3 Variabel

Variabel tetap pada penelitian ini adalah suhu 35°C, waktu kultivasi 10 hari, siklus pencahayaan kontinyu 24 jam, proses aerasi pada tekanan 0,05 MPa, panjang gelombang spektrofotometer UV-VIS yaitu 660 nm, volume mikroalga 5 ml dan media AF6 95 ml untuk *pre culture*. Untuk kultivasi volume mikroalga 10 ml dan media AF6 90 ml.

Variabel berubah pada penelitian ini adalah pH media AF6 : 4, 6 dan 8, jenis mikroalga ( chl, 4, 5, 6, 19) dan waktu pengambilan sampel.



**Gambar 1** Rangkaian alat kultivasi mikroalga

## 2.4 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan 5 tahap yaitu :

### 1. Persiapan Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan adalah mikroalga yang didapat dari jepang, *solution A* yaitu aquades 200 ml; NaNO<sub>3</sub> 14 g; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 2,2 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 3g; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 1 g; Fe-Citrate 0,2 g; Citric Acid 0,2 g, *solution B* yaitu aquades 100 ml; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,5 g, vitamin yaitu aquades 100 ml; Biotin 0,2 mg; Thiamine 1 mg; vitamin B6 0,1 mg; vitamin B12 0,1 mg, PIV *Metals* yaitu aquades 100 ml; FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 98 mg; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 18 mg; ZnSO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O 11 mg; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 2 mg; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 1,25 mg; Na<sub>2</sub> EDTA·2H<sub>2</sub>O 500mg. Langkah pertama adalah membuat media AF6 dengan memasukkan *solution A*, *solution B*, PIV *Metals*, vitamin kedalam erlemeyer, kemudian diaduk hingga homogen.

### 2. Pre Culture

Media AF6 yang terlebih di sterilkan dahulu, kemudian masukkan media AF6 95 ml didalam botol kaca yang berukuran 250 ml dan ditambahkan mikroalga 5 ml, di biarkan selama 7 hari dibawah cahaya lampu dan di aduk 2 kali sehari. Perlakuan ini bertujuan untuk mendapatkan mikroalga dapat mudah beradaptasi dengan media yang digunakan.

### 3. Persiapan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *incubator*, aerator, *hot plate*, pH meter, timbangan analog, erlemeyer 1 L, pipet tetes, botol kaca 250 ml, Selang plastik, pengaduk, dan botol 10 ml untuk sampel.

### 4. Kultivasi Mikroalga

Media AF6 yang disterilkan pada suhu 120°C selama 15 menit terlebih dahulu di atur pH nya menjadi 4, 6, 8. Kemudian masukkan media AF6 sebanyak 90 ml kedalam botol kaca 250 yang telah disediakan, lalu tambahkan 10 ml mikroalga yang telah di *pre culture*. Hidupkan aerator, dan biarkan proses aerasinya berlangsung selama 10 hari. Setiap 2 hari sekali sampel mikroalga diambil untuk dilakukan pengujian absorbansi.

### 5. Pengamatan Pertumbuhan Mikroalga

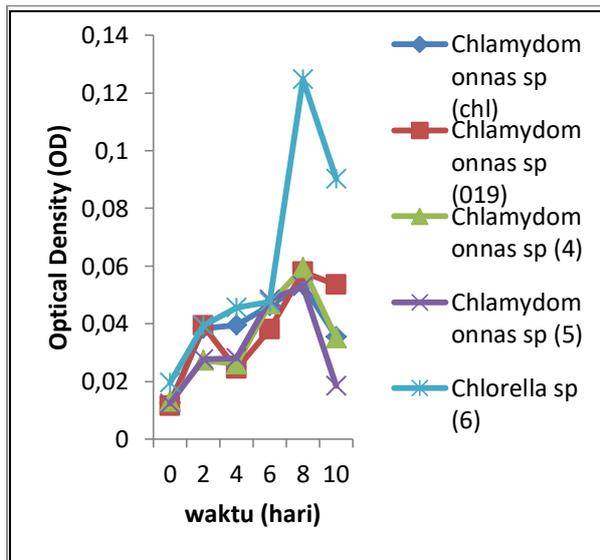
Pengamatan fase laju pertumbuhan mikroalga dilakukan dengan cara menguji *optical density* (OD) masing-masing mikroalga tersebut menggunakan *spectrofotometer UV-VIS* setiap 2 hari sekali sampai laju pertumbuhan mikroalga tersebut pada fase kematian.

## 3. Hasil dan Pembahasan

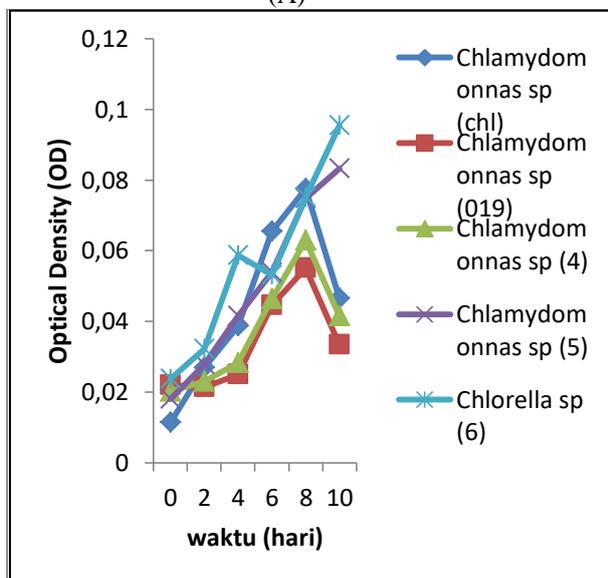
### 3.1 Pengaruh pH terhadap pertumbuhan mikroalga

Pada penelitian ini dilakukan kultivasi mikroalga menggunakan media AF6 pada pH yaitu 4, 6, 8 yang bertujuan untuk menentukan pengaruh pH media AF6 pada pertumbuhan berbagai jenis mikroalga sekaligus menentukan laju pertumbuhan mikroalga dengan mengukur *optical density* (OD)

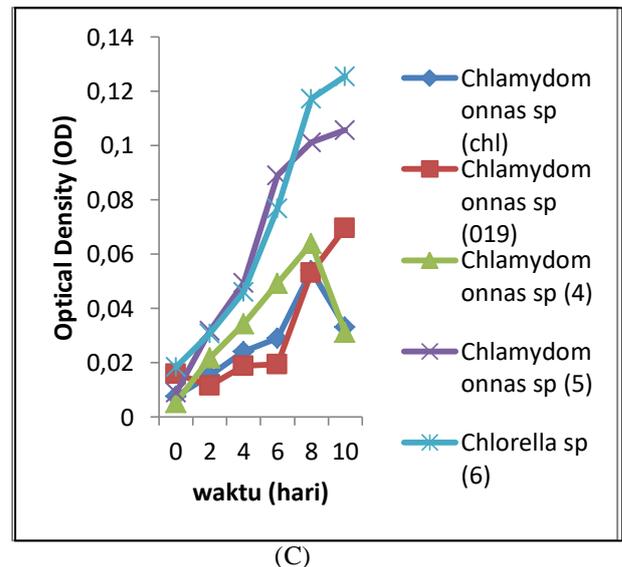
menggunakan spektrofotometer. Adapun hasil pengaruh pH terhadap pertumbuhan berbagai mikroalga yang digunakan dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



(A)



(B)



(C)

**Gambar 2** Hubungan antara waktu kultivasi dengan *optical density* (OD) pada (A) pH 4, (B) pH 6, (C) pH 8.

Pada Gambar 2 dapat dilihat semakin lama waktu kultivasi, maka *optical density* semakin tinggi, baik untuk pH 4, 6, dan 8. Hal tersebut dikarenakan mikroalga mengalami pertumbuhan setiap harinya dengan cara pembelahan sel, sehingga *optical density* mikroalga meningkat seiring berjalannya waktu. Dan hal ini menunjukkan bahwa mikroalga memanfaatkan nutrisi dalam medium dengan sangat baik, sehingga *optical density* mikroalga dapat mencapai nilai tertinggi seperti digambarkan dalam grafik. Dapat dilihat bahwa pH berpengaruh untuk pertumbuhan mikroalga.

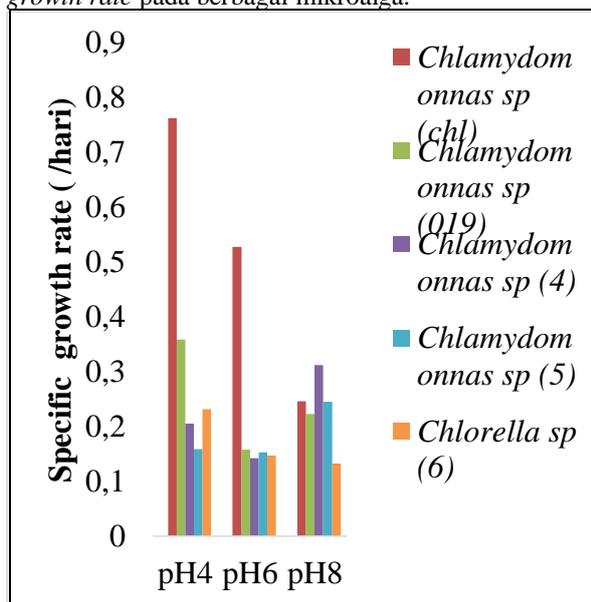
Pada penelitian ini nilai *optical density* tertinggi sebesar 0,1255 pada mikroalga *Chlorella* sp (6) di pH 8, hari ke-10. Penelitian sebelumnya mendukung hasil penelitian ini, sukmanan (2014) yang melakukan kultivasi mikroalga *nannochloropsis* sp dengan perbandingan media kultur air laut dan bibit *nannochloropsis* sp adalah 70 : 30, suhu 28-30°C , intensitas cahaya 3800-4500 lux, salinitas 30‰, dan pH 8-8,4. Dan didapatkan kondisi optimum pertumbuhan *Nannochloropsis* sp terjadi pada salinitas 30 dan pH 8 yaitu sebesar 0,41 g/l. Arnata (2013) melakukan penelitian tentang produksi biomassa dan potensi nutrisi *nannochloropsis* sp dengan mencampurkan 30% kultur mikroalga kedalam 70% media tumbuh dengan pH 6, suhu 28°C, intensitas cahaya 2500 lux, dan salinitas 30 ppt. dan didapatkan produksi biomassa optimalnya sebesar 0,33g/l. apabila dibandingkan dengan kedua penelitian tersebut, maka pada pH basa dapat terjadinya pertumbuhan mikroalga yang baik.

Pada pertumbuhannya, mikroalga ini tergantung pada faktor lingkungan, seperti derajat keasaman (pH), karena pH lingkungan akan mempengaruhi metabolisme sel mikroalga. Derajat keasaman

media menentukan kelarutan dan ketersediaan ion mineral sehingga dengan ketersediaan *nutrient* yang cukup akan mempengaruhi penyerapan *nutrient* oleh sel. Kisaran pH untuk pertumbuhan pada kebanyakan mikroalga yaitu antara pH 7-9 (Becker, 1994).

### 3.2 Laju Pertumbuhan Mikroalga

Analisis pertumbuhan mikroalga dengan menggunakan *optical density* (OD) yaitu untuk memperoleh perhitungan *specific growth rate*. Laju pertumbuhan spesifik merupakan parameter yang menggambarkan kecepatan pertambahan sel mikroalga per satuan waktu. Berikut grafik hubungan antara pH media AF6 dengan *specific growth rate* pada berbagai mikroalga.



**Gambar 3** *Specific growth rate* mikroalga pada berbagai pH media AF6.

Dari gambar 3 dapat dilihat bahwa semakin meningkatnya pH media AF6 pada berbagai mikroalga, maka semakin rendah *specific growth rate* nya. Hal ini disebabkan karena pH mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga.

Pada penelitian ini, pada pH 4 dapat menghasilkan *specific growth rate* tertinggi pada mikroalga *Chlamydomonas sp. (chl)* sebesar 0,7625/hari. Penelitian sebelumnya mendukung hasil penelitian ini, pada penelitian musdalifah dkk (2015) melakukan kultivasi dan ekstraksi minyak dari mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Nannochloropsis sp* dengan variasi waktu pengujian kepadatan sel dan pH, didapatkan kepadatan sel nya sebesar 6,67 log sel/hari pada *Botryococcus braunii* dan 6,60 log sel/hari. Dan didapat kadar minyak dari ekstraksi 25 gram biomassa kering untuk mikroalga *Botryococcus braunii* dengan tingkat keasaman (pH) 5, 7 dan 9 berturut-turut adalah 1,59% ; 1,37% ; dan 0,62%. Hasil rata-rata kadar minyak dari ekstraksi 25 gram biomassa kering *Nannochloropsis sp* dengan tingkat keasaman (pH) 5, 7, dan 9 berturut-turut adalah

1,49 % ; 0,94% ; dan 0,51%. Kadar minyak *Nannochloropsis sp.* tertinggi terjadi pada pH 5 dan terendah pada pH 9. Hal ini menunjukkan perlakuan perbedaan tingkat keasaman dapat membantu meningkatkan efektivitas proses ekstraksi minyak dari sel mikroalga. Semakin rendah pH (kondisi asam) perendaman biomassa maka semakin tinggi minyak yang dihasilkan. Kondisi asam mengakibatkan semakin banyak dinding sel yang terdegradasi. Menurut Lakitan (1996), kondisi pH yang rendah akan mengaktifkan enzim yang mematahkan ikatan antara polisakarida pembentuk dinding sehingga terjadi pelonggaran dinding sel dan kekakuan dinding sel berkurang. Hal ini diperkuat oleh Salisbury dan Ross, (1995) bahwa pH rendah ini diduga bekerja dengan mengaktifkan beberapa enzim perusak dinding sel tertentu, yang tidak aktif pada pH tinggi.

### 4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi pH medium pada kultivasi mikroalga, maka nilai *optical density* nya semakin tinggi. Dan laju pertumbuhan mikroalga akan lebih baik jika dilakukan aerasi secara terus menerus dan menggunakan media AF6 dengan pH 8. Didapatkan nilai optimum nya sebesar 0,1255 dan *specific growth rate* yang tertinggi pada mikroalga *Chlamydomonas sp. (chl)* sebesar 0,7625/hari.

### Daftar Pustaka

- Addini, I. dkk., 2017. Pertumbuhan Mikroalga *Spirulina Plantensis* Yang Dikultur Dengan Media Teknis.
- Arnata, W. dkk. 2013. Produksi Biomassa Nutrisi Mikroalga *Nannochloropsis sp.* K4. Universitas Udayana.
- Azimatur., 2014. Potensi Mikroalga Sebagai Sumber Pangan fungsional di Indonesia.
- Becker, E.W., 2007, *Micro-algae as source of protein. Biotechnology Advances* .Vol. 25:207-210.
- Dimas, A. dkk., 2017. Pemanfaatan Air Lindi TPA Jati Barang Sebagai Media Alternatif Kultivasi Mikroalga Untuk Perolehan Lipid. Universitas Diponegoro, Semarang. Vol. 6, No. 1. <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/tlingkungan>.
- Durmaz, Y., 2007, *Vitamin E (α-tocopherol) production by marine microalgae Nannochloropsis oculata in nitrogen limitation*.
- Fogg G.E, Thake B. 1987. *Algae Culture and Phytoplankton Ecology Second edition. The University of Winconsin Press. London.*
- Handayani, N. A., 2012. Potensi Mikroalga Sebagai Sumber Biomassa Dan Pengembangan Produk Turunannya.

- Universitas Diponegoro, Semarang. Vol. 33, No. 2.
- Hasanudin, M., 2012. Pengaruh Perbedaan Intensitas Cahaya Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Lipid Mikroalga *Scenedesmus* sp. Yang Dibudidayakan Pada Limbah Cair *Tapioca*.
- Istirokhatun, T. 2017. Potensi *Chlorella* Sp Untuk Menyisihkan COD Dan Nitrat Dalam Limbah Cair Tahu. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Kato, S. 1982. *Laboratory culture and morphology of Colacium vesiculosum Ehrb. (Euglenophyceae)*. *Jap. J. Phycol.* 30: 63-67. (in Japanese with English summary).
- Kawaroe, M. T. dkk., 2010. Mikroalga : Potensi dan Pemanfaatannya Untuk Produksi Bio Bahan Bakar. Penerbit Institut Pertanian Bogor Press. Bogor.
- Krichnavaruk, S., Worapanne, Sorawit, dan Prasert. (2004). *Optimal Growth Conditions and the Cultivation of Chaetoceros calcitrans in Airlift Photobioreactor*. *Chemical Engineering*. 105: 91-98
- Kurnia, I., 2016. Optimasi Pertumbuhan Dan Hidrolisis Lignoselulosa Dari Mikroalga *Chlorella Vulgaris* Untuk Meningkatkan Kadar Glukosa Sebagai Bahan Baku *Bioethanol*. Universitas Andalas. Padang.
- Lakitan., 1996. Dasar-dasar fisiologi tumbuhan. Jakarta.
- Manalu, S., 2010. Karakterisasi Pertumbuhan Mikroalga Dan Eliminasi Nutrien Dari Limbah Cair Peternakan Dengan Sistem Semi Kontiniu.
- Munawaroh, S. Z., 2016. Potensi Mikroalga Yang Dikultivasi Pada Media Limbah Cair Industri Karet Remah Dengan Sistem *Open Pond* Sebagai Sumber Protein.
- Nurhayati, C. 2014. Pengaruh pH, Konsentrasi Isolat *Chlorella Vulgaris* Dan Waktu Pengamatan Terhadap Tingkat Cemar Limbah Cair *Crumb Rubber*. Universitas Sriwijaya, Palembang. Vol. 25, No. 2.
- Provasoli, L. and Pintner, I.J. 1960. *Artificial media for fresh-water algae: problems and suggestions*. pp. 84-96. In Tyron, C.A. Jr. and Hartman, R.T. (eds.) *The Ecology of Algae. Special Publ. 2, Pymatuning Laboratory of Field Biology, Univ. Pittsburgh, PA.*
- Quinn J. 2011. *Microalgae To Biofuels Through Experimentally Validated Models*. For Collins, Colorado: Colorado State University In Partial Fulfillment Of The Requirements For The Degree Of Doctor Of Philosophy.
- Salisbury, F.B., dan C.W. Ross. 1995. Fisiologi tumbuhan. Jilid 1 Terjemahan Diah R. Lukman dan Sumaryo. Bandung: ITB
- Sukmawan, M. A. dkk., 2014. *Optimization Salinity And Initial pH On The Biomass Production of Nannochloropsis* sp. K-4. *Teknologi Pertanian Unud*. Vol. 2 No. 1 (19-28).
- Vonshak. 1985. *Spirulina Plantesis Growth in Pen Raceway Ponds Using Fresh Water Supplemented with Carbon, Nitrogen and Metal Ions*. Rio Grande do Sul. Brasil.
- Watanabe, M.M., Kawachi, M., Hiroki, M. and Kasai, F. (Eds.) 2000. *NIES Collection List of Strains*. 6th Ed. NIES, Japan. 159 pp.
- Widyastuti, C.R, 2014. Sintesis Biodisel Dan Minyak Mikroalga *Chlorella Vulgaris* Dengan Reaksi Transesterifikasi Menggunakan Katalis KOH.