



TUGAS AKHIR - SB184830

**PENGARUH VARIASI PEMBERIAN AERASI DAN
PUPUK DIATOM TERHADAP PERTUMBUHAN
DAN KANDUNGAN LIPID MIKROALGA
Skeletonema costatum.**

RIRIS DWI INDAH BARIROH
0131154000019

Dosen Pembimbing
Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si
Ir. Endang Purwanti Setyaningsih., M.T

DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2019



TUGAS AKHIR - SB184830

**PENGARUH VARIASI PEMBERIAN AERASI DAN
PUPUK DIATOM TERHADAP PERTUMBUHAN
DAN KANDUNGAN LIPID *Skeletonema
costatum*.**

RIRIS DWI INDAH BARIROH
01311540000019

Dosen Pembimbing
Kristanti Indah Purwani, S.Si.,M.Si
Ir. Endang Purwanti Setyaningsih., M.T

DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2019



FINAL PROJECT- SB184830

**THE EFFECT VARIOUS GIVE AERATION AND
DIATOM FERTILIZERS ON THE GROWTH AND
LIPID CONTENT OF MICROALGAE
*Skeletonema costatum***

RIRIS DWI INDAH BARIROH
01311540000019

Advisor
Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si
Ir. Endang Purwanti Setyaningsih., M.T

BIOLOGY DEPARTMENT
FACULTY OF SCIENCE
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2019

HALAMAN PENGESAHAN
TUGAS AKHIR

PENGARUH VARIASI PEMBERIAN AERASI DAN
PUPUK DIATOM TERHADAP PERTUMBUHAN
DAN KANDUNGAN LIPID MIKROALGA
Skeletonema costatum.

Oleh:

RIRIS DWI INDAH BARIROH
NRP. 0131154000019

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si..... (Pembimbing 1)

Ir. Endang Purwanti Setyaningsih., M.T..... (Pembimbing 2)

Surabaya, 22 Juli 2019



PENGARUH VARIASI PEMBERIAN AERASI DAN
PUPUK DIATOM TERHADAP PERTUMBUHAN DAN
KANDUNGAN LIPID MIKROALGA

Skeletonema costatum.

Nama Mahasiswa : Riris Dwi Indah Bariroh
NRP : 0131154000019
Departemen : Biologi
Dosen Pembimbing : Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si
: Ir. Endang Purwanti, S., M.T

Abstrak

Skeletonema costatum adalah mikroalga diatom dengan kandungan lipid sebesar 7,42%. Pertumbuhan S. costatum dipengaruhi beberapa faktor salah satunya yaitu aerasi. Aerasi berfungsi untuk sirkulasi air pada media kultur, sehingga tidak terjadi proses startifikasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan aerasi dengan kombinasi pupuk diatom pada pertumbuhan dan kandungan lipid S. costatum. Parameter yang diamati meliputi perhitungan kepadatan sel, biomassa dan uji TAG menggunakan mikroskop fluorescence serta total lipid dengan metode Soxhletasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P1 (komposisi pupuk KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l) dengan aerasi 12 jam berpengaruh terhadap kepadatan sel S. costatum dengan jumlah 395×10^3 sel/ml. Perlakuan P3 (komposisi pupuk KNO_3 37,5 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l) dengan aerasi 36 jam berpengaruh terhadap biomassa S. costatum sebesar 0,40 gram. Perlakuan P2 (komposisi pupuk KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l) dengan cekaman aerasi 12, 24 menunjukkan kandungan TAG dengan pendaran warna kuning serta kandungan total lipid sebesar 70%.

Kata kunci: aerasi, lipid, mikroalga, S. costatum.

THE EFFECT VARIOUS GIVE AERATION AND
DIATOM FERTILIZERS ON THE GROWTH AND LIPID
CONTENT OF MICROALGAE *Skeletonema costatum*

Student Name : Riris Dwi Indah Bariroh
NRP : 0131154000019
Department : Biologi
Supervisor : Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si
: Ir. Endang Purwanti S., M.T

Abstract

Skeletonema costatum is microalgae diatom with lipid content of 7.42%. The growth of *S. costatum* is influenced by several factors, one of them is aeration. Aeration function is to circulate the water on culture media so that the stratification process does not occur. This study aim is to determine the effect of aeration treatment with a combination of diatom fertilizer on the growth and lipid content of *S. costatum*. *S. costatum* is treated then calculated cell density, biomass and TAG test using fluorescence microscopy and total lipids using the Soxhletation method. The results show that P1 (KNO₃ 75 gr / l and Na₂SiO₃ 30 gr / l) with an aeration of 12 hours has an effect on the density of *S. costatum* cells in the amount of 395 x 10³ cells/ml. The treatment of P3 (KNO₃ 37.5 gr / l and Na₂SiO₃ 15 gr / l) with aeration of 36 hours affected the biomass of *S. costatum* by 0.40 grams. The treatment of P2 (KNO₃ 0 gr / l and Na₂SiO₃ 15 gr / l) with aeration stresses 12, 24 hours show TAG content with yellow emission and total lipid content 70%

Keywords: aeration, lipids, microalgae, *Skeletonema costatum*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyusun proposal Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh cekaman aerasi terhadap Pertumbuhan Dan Kandungan Lipid Mikroalga *Skeletonema costatum* Pada Media Fisiogis Dengan Cekaman Aerasi”. Proposal Tugas Akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mengerjakan Tugas Akhir di departemen Biologi FIA ITS.

Penyusunan proposal ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Kristanti Indah Purwani, S.Si., M.Si dan Ir. Endang Purwanti Setyaningsih, M.T selaku dosen pembimbing,
2. Ibu Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si dan Ibu Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si selaku penguji,
3. Ibu Tutik Nurhidayati, S.Si., M.Si yang juga ikut membantu membimbing dalam penyelesaian Proyek Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT) Kementerian Ristek Dikti.
4. Orangtua atas bimbingan, dukungan dan doanya, serta
5. Teman-teman angkatan 2015 atas dukungan moril yang diberikan.

Penulis menyadari bahwa proposal Tugas Akhir ini masih belum sempurna, sehingga kritik dan saran yang membangun penulis harapkan demi perbaikan laporan selanjutnya. Penulis berharap semoga proposal Tugas Akhir ini dapat bermanfaat serta dapat memberikan informasi bagi semua pihak.

Surabaya, 15 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
Abstrak.....	ix
<i>Abstract</i>	xi
KATA PENGANTAR.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah.....	2
1.4 Tujuan.....	3
1.5. Manfaat.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Biodisel.....	5
2.2 Mikroalga.....	5
2.3 <i>Skeletonema costatum</i>	7
2.4 Fase pertumbuhan <i>Skeletonema costatum</i>	8
2.5 Faktor lingkungan.....	10
2.6 Nitrogen.....	11
2.7 Silikat.....	13
2.8 Penelitian Aerasi.....	13
2.9 Lipid dan FAME.....	14
2.10 TAG (Triasilgliserida).....	17
2.11 Analisis Lipid Dengan Metode Soxhlet.....	18
2.12 Metode Ekstraksi Minyak Mikroalga.....	18
BAB III METODOLOGI.....	21
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2 Metode yang Digunakan.....	21

3.2.1 Sterilisasi alat dan bahan kultur	21
3.2.2 Persiapan pupuk dalam kultur <i>S. costatum</i>	22
3.2.3 Pembuatan Kurva Pertumbuhan <i>S. costatum</i> dan Penentuan Waktu Starter.....	22
3.2.4 Penentuan Masa Panen	23
3.2.5 Pembuatan Starter <i>S. costatum</i>	24
3.2.6 Perlakuan penelitian	24
3.2.7 Pemanenan <i>S. costatum</i>	25
3.2.8 Parameter Pengamatan	25
3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data	27
3.3.1 Rancangan Penelitian	27
3.3.2 Analisis Data.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Kurva Pertumbuhan <i>S. costatum</i>	29
4.2 Pengaruh Cekaman Kombinasi Pupuk Dan Aersi Terhadap Biomassa Kultur <i>S. costatum</i>	37
4.3 Kandungan Lipid Mikroalga <i>Skeletonema costatum</i>	40
4.4 Pengaruh Kombinasi nutrien dan aerasi <i>S.costatum</i> Terhadap Total Lipid.....	47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Skema reaksi transesterifikasi.....	5
Gambar 2.2	<i>Skeletonema costatum</i>	8
Gambar 2.3	Sintesis TAG pada cekaman nitrogen.....	13
Gambar 3.1	Ruang Haemocytometer.....	23
Gambar 4.1	Kurva Pertumbuhan <i>S.costatum</i> 12 jam aerasi.....	29
Gambar 4.2	Kurva Pertumbuhan <i>S.costatum</i> 24 jam aerasi.....	31
Gambar 4.3	Kurva Pertumbuhan <i>S.costatum</i> 36 jam aerasi.....	33
Gambar 4.4	Morfologi <i>S.costatum</i> pada salah satu W Haemocytometer.....	35
Gambar 4.5	Indeks warna uji kualitatif Lipid.....	44
Gambar 4.6	Hasil uji soxhlet kultur <i>S.costatum</i>	48

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Struktur Molekul Komponen Lipid.....	16
Tabel 3.1	Perlakuan Penelitian.....	24
Tabel 4.1	Biomassa Mikroalga <i>S.costatum</i> dari Hasil Pemanenan 8L.....	37
Tabel 4.2	Data Pengamatan Triasilgliserol.....	41
Tabel 4.3	Hasil Uji Kualitatif Kandungan Lipid <i>S.costatum</i>	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema Kerja.....	63
Lampiran 2	Pengukuran Kepadatan Sel Kultur <i>S.costatum</i> 12 jam aerasi.....	64
Lampiran 3	Pengukuran Kepadatan Sel Kultur <i>S.costatum</i> 24 jam aerasi.....	64
Lampiran 4	Pengukuran Kepadatan Sel Kultur <i>S.costatum</i> 36 jam aerasi.....	65
Lampiran 5	Hasil Biomassa Kultur <i>S.costatum</i>	66
Lampiran 6	Uji Anova Two Way Biomassa <i>S.costatum</i>	66
Lampiran 7	Uji lanjut Tukey Interaksi Antara Kombinasi Pupuk Dengan Aerasi.....	67
Lampiran 8	Uji Lanjut Tukey Aerasi.....	67
Lampiran 9	Uji Lanjut Tukey Kombinasi Pupuk.....	67
Lampiran 10	Uji Tukey Kepercayaan 95%.....	68
Lampiran 11	Pengukuran Kepadatan Sel Kultur <i>S.costatum</i>	68
Lampiran 12	Perlakuan Penelitian <i>S.costatum</i>	69
Lampiran 13	Pemanenan Biomassa.....	70
Lampiran 14	Uji Analisis Kandungan Triasilgliserol.....	71
Lampiran 15	Uji Kuantitatif Kandungan Total Lipid Metode Soxhlet.....	72

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroalga adalah mikroorganisme bersel satu dengan struktur sederhana (Yanuhar, 2016). Kandungan lemak (lipid) dan asam lemak (*fatty acids*) yang ada di dalam mikroalga merupakan sumber energi. Kandungan lemak dan asam lemak dihasilkan dari proses fotosintesis yang merupakan hidrokarbon dan dapat menghasilkan energi yang belum digali dan dimanfaatkan (Kawaroe, dkk., 2010). Total kandungan minyak dan lemak dari mikroalga berkisar antara 1% sampai 70% dari berat kering. Kandungan lipid dalam mikroalga dalam bentuk gliserol dan asam lemak dengan panjang rantai C14 sampai C22 (Kawaroe, dkk., 2010). Mikroalga memiliki bagian *biochemical* yang penting yaitu karbohidrat yang dapat diubah menjadi ethanol melalui proses fermentasi (Kawaroe, dkk., 2010).

Mikroalga yang efektif menghasilkan suatu kandungan lipid yang tinggi adalah salah satu jenis mikroalga diatom (Graham *et al.*, 2012). *Skeletonema costatum* adalah salah satu jenis mikroalga diatom yang memiliki 7,42% lipid (Pratiwi *et al.*, 2015). *Skeletonema costatum* memiliki pertumbuhan yang cepat yaitu dalam waktu 0,340 hari dengan waktu tanam 1,625 hari (Pratiwi *et al.*, 2015).

Skeletonema costatum membutuhkan oksigen untuk menunjang pertumbuhannya untuk meningkatkan dan mempercepat pemasukan oksigen dalam tubuhnya dapat dilakukan dengan perlakuan aerasi. Aerasi diperlukan terutama untuk sirkulasi air media sehingga tidak terjadi stratifikasi, selain itu agar pupuk yang diberikan bisa diterima secara merata. Aerasi dibutuhkan sebagai akselerasi pemasukan udara terutama CO₂ dan O₂ (Fitriani, 2017). Akselerasi yang baik untuk *S.costatum* tidak terlalu besar, karena apabila aerasi terlalu besar maka akan memutuskan filament sehingga *Skeletonema costatum* akan hancur (Fitriani, 2017). Pemberian Aerasi penting untuk

mensuplai oksigen pada media kultur. Kadar DO yang dibutuhkan berkisar 5-9 ppm (Fitriani, 2017) .

Pada penelitian ini menggunakan data hasil penelitian sebelumnya (Aini, 2018) yaitu terdapat perlakuan N1Sil (KNO_3 75 gr/l Na_2SiO_3 30 gr/l), N2Sil (KNO_3 37,5 Na_2SiO_3 30 gr/l), dan N3Sil (KNO_3 0 gr/l Na_2SiO_3 30 gr/l) mempunyai kepadatan sel yang tinggi . Pertumbuhan N1Sil aerasi 24 jam merupakan kepadatan sel yang tinggi diantara ketiga perlakuan aerasi. Pendaran warna kuning terdapat pada perlakuan N2Si2 (KNO_3 37,5 g/l dan Na_2SiO_3 15 g/l) 48 jam aerasi, N2Si3 (KNO_3 37,5 dan Na_2SiO_3 0 g/l) dan N3Si3 (KNO_3 0 g/l dan Na_2SiO_3 0 g/l) 24 jam aerasi. Pada penelitian ini akan memperpendek perlakuan aerasi dengan waktu 12 jam, 24 jam dan 36 jam dari penelitian sebelumnya.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang akan dibahas pada penelitian ini adalah

1. Bagaimana pengaruh kombinasi pupuk diatom dengan perlakuan aerasi terhadap pertumbuhan *Skeletonema costatum*?
2. Bagaimana pengaruh kombinasi pupuk diatom dengan perlakuan aerasi terhadap kandungan lipid *S. costatum*?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah

1. Kultur murni mikroalga *Skeletonema costatum* yang digunakan pada penelitian diperoleh dari BBAP (Balai Budidaya Air Payau) Situbondo, Jawa Timur.
2. Parameter pengamatan pertumbuhan *S. costatum* dilakukan melalui pengukuran kepadatan sel haemocytometer.
3. Analisis Kandungan Lipid secara kualitatif mikroskop Fluorescence.
4. Analisis Kandungan Lipid secara kuantitatif Soxhlet di Laboratorium Fundamental lantai 2 Departemen Kimia ITS.

5. Penggunaan kombinasi pupuk diatom didapatkan dari penelitian terdahulu.
6. Penggunaan air laut di BPBAP Situbondo tanpa memperhatikan kandungan air laut tersebut.
7. Kondisi kultur mikrolaga meliputi temperatur, salinitas, pH, intensitas cahaya diatur diawal kultur.
8. Perubahan faktor lingkungan (pH, salinitas, suhu, intensitas cahaya) selama proses kultur diabaikan.

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui pengaruh perlakuan aerasi dengan kombinasi pupuk diatom terhadap pertumbuhan *Skeletonema costatum*.
2. Mengetahui pengaruh perlakuan aerasi dengan kombinasi pupuk diatom terhadap kandungan lipid *Skeletonema costatum*.

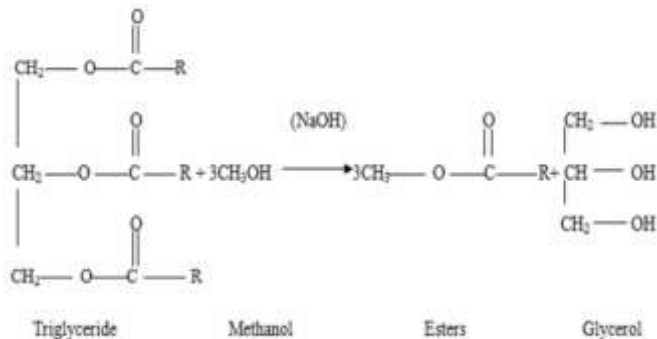
1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah meningkatkan pertumbuhan dan kandungan lipid pada *Skeletonema costatum* dengan perlakuan aerasi pada media cekaman fisiologis nutrien N dan Si sebagai metode budidaya kandidat biodisel.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biodiesel

Biodiesel adalah bahan bakar alternatif yang dihasilkan oleh reaksi kimia antara minyak nabati atau lemak hewani dengan alkohol rantai pendek (Julianti, 2014). Proses pembuatan biodiesel secara konvensional pada umumnya menggunakan proses transesterifikasi minyak tumbuhan dengan alkohol rantai pendek, menggunakan katalis homogen asam atau basa, misalnya H_2SO_4 , $NaOH$, dan KOH (Julianti, 2014). Bahan baku diesel adalah hidrokarbon yang mengandung 8-10 atom karbon per molekul (Amini dkk., 2010).



Gambar 2.1 Skema reaksi transesterifikasi (Raqeab, 2015).

Melalui transesterifikasi, trigliserida bereaksi dengan alkohol dan menghasilkan biodiesel atau FAM (fatty acid methyl ester) (Haryanto, 2015).

2.2 Mikroalga

Mikroalga adalah mikroorganisme bersel satu dengan struktur sederhana (Yanuhar, 2016). Beberapa mikroalga multisel tersusun dari dinding sel, membran sel, kloroplas, mitokondria, ribosom dan inti sel. Mikroalga ada yang bersifat prokariotik dan

eukariotik dengan memiliki kemampuan untuk melakukan fotosintesis. Mikroalga yang bersifat prokariotik *Cyanobacteria* dan mikroalga yang bersifat eukariotik yaitu *Chlorophyceae* serta diatom *Skeletonema costatum* (Yanuhar, 2016). Mikroalga dibagi menjadi empat kelompok, yaitu diatom (*Bacillariophyceae*), alga hijau (*Chlorophyceae*), alga emas (*Chrysophyceae*) dan alga biru (*Cyanophyceae*) (Amini, 2010).

A. Bacillariophyceae (Diatom)

Diatom adalah mikroalga uniseluler fotosintetik yang memiliki dinding khas terbuat dari silika. Pola, ukuran, dan ornamentasi dinding sel yang khas menjadi ciri taksonomi jenis-jenis diatom. Diatom memiliki klorofil a, c, alfa, dan betakaroten, serta xantofil (fucoxantin, diadinoxantin, dan diatoxantin) sehingga warnanya menjadi coklat keemasan. Diatom juga dibagi menjadi dua bentuk, yaitu dapat berupa centric diatom maupun pennate diatom. Centric diatom berbentuk simetri radial dan reproduksinya secara oogamy, sedangkan pennate diatom berbentuk kurang lebih simetri bilateral dan bereproduksi secara isogamy (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

B. Alga Hijau (*Chlorophyceae*)

Kelompok alga yang paling banyak ditemukan, ciri khas *Chlorophyta* adalah warna tubuh sel yang mengandung pigmen warna klorofil. *Chlorophyta* merupakan organisme prokaryotik. Memiliki kloroplas tipe klorofil a dan b, memiliki pigmen tambahan berupa karotin, dan komponen dinding selnya adalah selulosa (Kasrina, 2012).

C. Alga Emas (*Chrysophyceae*)

Chrysophyceae merupakan sel eukariotik yang terdapat membran inti dan nukleus. Ciri khas yaitu bagian pinggirnya bergerigi pada bagian dalam yaitu dinding sel terdiri atas dua belahan atau katup yang saling menutup. Pigmen dominan karoten berupa xantofil yang memberikan warna keemasan.

Pigmen lainnya adalah fukoxantin, klorofil a dan klorofil c. Memiliki dinding sel yang mengandung selulosa, silika, kalsium karbonat, dan beberapa kitin (Kasrina, 2012).

D. Alga Biru (Cyanophyceae)

Cyanophyceae merupakan sel eukariotik, memiliki membran inti dan nukleus, memiliki dinding sel yang tebal (peptidoglikan), lentur, dan sel-selnya tidak memiliki flagel. Ciri khas yaitu berwarna hijau kebiru-biruan, membentuk filamen panjang lurus, dan halus. Pigmen fotosintesis yaitu klorofil a, karotenoid serta pigmen fikobilin yang terdiri dari fikosianin dan fikoeritin (Bold, 1985).

Mikroalga memiliki persebaran zona distribusi di perairan yaitu zona euphotik, zona disphotik, zona aphotik dan yang hidup di dasar perairan bentik (Amini, 2010). Pertumbuhan mikroalga membutuhkan pertumbuhan nutrisi tertentu anorganik, mikronutrien dan makronutrien. Unsur makronutrien terdiri dari N, P, K, C, Si, S, dan Ca di mana unsur mikronutrien terdiri dari Fe, Zn, Cu, Mg, Mo, Co, B, dan lain-lain (Pratiwi, 2015).

2.3 *Skeletonema costatum*

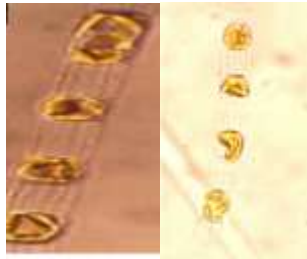
Mikroalga yang efektif menghasilkan suatu kandungan lipid yang tinggi adalah salah satu jenis mikroalga diatom (Graham *et al.*, 2012). *Skeletonema costatum* adalah salah satu jenis mikroalga diatom yang memiliki 7,42% lipid (Pratiwi *et al.*, 2015). *Skeletonema costatum* memiliki pertumbuhan yang cepat yaitu dalam waktu 0,340 hari dengan waktu tanam 1,625 hari (Pratiwi *et al.*, 2015).

Skeletonema costatum adalah diatom yang merupakan alga unisel filamentik yang selnya berbentuk kotak yang terdiri atas epitheca (bagian yang lebih besar) dan hypotheca (bagian yang lebih kecil) yang bertangkup menjadi satu. Spesies ini tergolong pennate diatom yang berkembang biak secara isogami (Armanda, 2013). Bagian hypothecanya berlubang-lubang yang polanya khas dan indah yang tersusun atas silicon

oksida (SiO_2) dengan diameter sel 4 – 15 mikron (Armanda, 2013).

Klasifikasi *Skeletonema costatum* :

- Kingdom : Chromista
- Division : Chrysophyta
- Class : Bacillariophyceae
- Order : Thalassiosirales
- Family : Skeletonemaceae
- Genus : Skeletonema
- Species : *Skeletonema costatum* (Kumar, 2014)



Gambar 2.2 *Skeletonema costatum* (Kumar, 2014) .

2.4 Fase pertumbuhan *Skeletonema costatum*

Secara normal *skeletonema costatum* bereproduksi secara aseksual, yaitu dengan pembelahan sel. Pembelahan sel yang terjadi berulang-ulang ini akan mengakibatkan ukuran sel menjadi lebih kecil secara berangsur-angsur hingga generasi tertentu (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995) Fase ini disebut juga fase istirahat. Pada fase ini, sel diatom beradaptasi dengan medium dan lingkungan kulturnya (suhu, salinitas, pH). Diatom sudah bermetabolisme sehingga ukuran selnya meningkat. Namun diatom belum menunjukkan pertumbuhan populasi (kenaikan jumlah sel) yang nyata, karena masih dalam proses adaptasi. Dalam adaptasi ini, diatom sudah mulai memanfaatkan nutrisi yang ada, meskipun belum optimum, sehingga beberapa enzim yang terkait pembelahan selnya juga belum tersintesis dengan optimal.

A. Fase Lag

Fase ini disebut juga fase istirahat. Pada fase ini, sel diatom beradaptasi dengan medium dan lingkungan kulturnya (suhu, salinitas, pH). Diatom sudah bermetabolisme sehingga ukuran selnya meningkat. Namun diatom belum menunjukkan pertumbuhan populasi (kenaikan jumlah sel) yang nyata, karena masih dalam proses adaptasi. Dalam adaptasi ini, diatom sudah mulai memanfaatkan nutrisi yang ada, meskipun belum optimum, sehingga beberapa enzim yang terkait pembelahan selnya juga belum tersintesis dengan optimal (Armanda, 2013). Fase istirahat terjadi pada saat sel *S. costatum* dimasukkan ke dalam wadah percobaan sampai sel *S. costatum* mempersiapkan pertumbuhannya (Fauziah, 2015).

B. Fase Eksponensial

Pada fase ini, jumlah sel mengalami peningkatan secara cepat. Puncak pertumbuhan populasi diatom terjadi pada fase ini. Fase ini adalah bukti sel telah berhasil beradaptasi dan optimal dalam pemanfaatan nutrisinya (Armanda, 2013).

C. Fase Stasioner

Tahapan stasioner tahapan terjadinya penurunan kecepatan perkembangan secara bertahap. Jumlah populasi konstan dalam waktu tertentu sebagai akibat dari penghentian pembiakan sel-sel secara total atau adanya keseimbangan antara tingkat kematian dan tingkat pertumbuhan (Fauziah, 2015).

D. Fase Kematian

Fase kematian ditandai dengan penurunan kepadatan sel *S. costatum* disebabkan oleh unsur hara yang tersedia di dalam media budidaya semakin berkurang, sehingga tidak dapat memenuhi kebutuhan sel *S. costatum*. (Fauziah, 2015). Pada fase ini, penurunan jumlah sel *S. costatum* lebih besar daripada pada fase stasioner. Penurunan jumlah sel ini karena seluruh sel secara alami mengalami kematian. Salah satu faktor yang mempercepat

kematian ini adalah berkurangnya jumlah nutrisi dan semakin banyaknya metabolit sekunder diatom yang dapat menghambat pertumbuhan sel secara alami (Armanda, 2013).

2.5 Faktor lingkungan

Skeletonema costatum dalam pertumbuhannya dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain faktor suhu, pH, salinitas, intensitas cahaya, CO₂, nutrisi, dan aerasi (Latala, 1991).

A. Suhu

Skeletonema costatum hidup pada suhu 3 sampai 34 °C dengan suhu optimum 25 sampai 27 °C (Uddin, 2007).

B. pH

S. costatum tumbuh baik pada pH 7-8. Penurunan pH dapat menurunkan aktivitas fotosintesis (Anggraeni & Sandhi, 2015).

C. Salinitas

Skeletonema tumbuh dengan baik pada salinitas berkisar antara 15 sampai 34 ppt dengan pertumbuhan optimal dicapai pada 25 sampai 29ppt (Uddin, 2007).

D. Intensitas Cahaya

Tingkat pertumbuhan *Skeletonema* meningkat dengan intensitas cahaya yang berlanjut sampai 500 sampai 10.000 lux dan menurun pada intensitas melebihi 10.000 lux (Uddin, 2007).

E. CO₂

S. costatum memerlukan CO₂ sebagai proses fotosintesis. CO₂ yang baik untuk pertumbuhan *Skeletonema costatum* adalah dengan kadar CO₂ sebesar 1-2% (Anggraeni & Sandhi, 2015).

F. Unsur Hara

Skeletonema costatum membutuhkan nutrisi untuk melakukan pertumbuhan, nutrisi ini dibagi menjadi dua yaitu makro dan mikro. Unsur makro terdiri dari N, P, K, C, Si, S, dan Ca. Unsur mikro terdiri dari Fe, Zn, Cu, Mg, Mo, Co, dan B (Anggraeni & Sandhi, 2015).

G. Aerasi

Proses aerasi mempengaruhi dalam pertumbuhannya, hal ini dikarenakan pada proses aerasi terjadinya proses pemasukan gas-gas yang diperlukan untuk proses fotosintesis (Supriyantini, 2013). Dalam mempertahankan kelangsungan hidup dan reproduksi secara ekologis perubahan suhu menyebabkan perbedaan komposisi dan kelimpahan *S. costatum*. Proses aerasi sangat penting untuk mempertahankan suhu tetap homogen, serta penyebaran nutrisi tetap merata. Sirkulasi air dapat mencegah pengendapan plankton dan menimbulkan getaran air yang menyerupai getaran di alam (Fitriani, 2017).

Aerasi diperlukan terutama untuk sirkulasi air media sehingga tidak terjadi stratifikasi, selain itu agar pupuk yang diberikan bisa diterima secara merata. Aerasi dibutuhkan sebagai akselerasi pemasukan udara terutama CO₂ dan O₂. Akselerasi yang baik untuk *S. costatum* tidak terlalu besar, karena apabila aerasi terlalu besar maka akan memutuskan filament sehingga *Skeletonema costatum* akan hancur. Pemberian aerasi sangat penting untuk mensuplai oksigen pada media kultur (Fitriani, 2017).

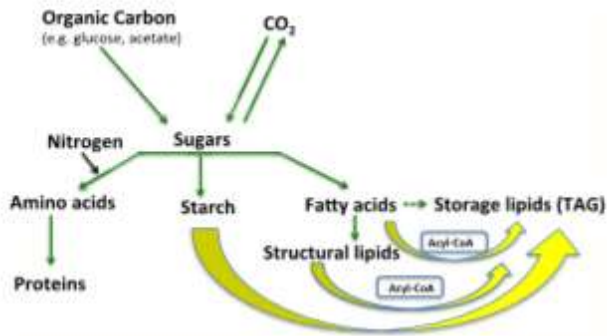
2.6 Nitrogen

Nitrogen adalah komponen penting untuk komposisi, pembentukan dan fungsinya protein dan DNA dalam sel mikroalga. Dalam kondisi kandungan nitrogen rendah (stres nitrogen), fotosintesis tetap berjalan meskipun lajunya menurun sampai nitrogen sel berada di bawah ambang batas. Aliran karbon tetap oleh fotosintesis, tetapi dialihkan dari jalur sintesis protein

ke sintesis lemak atau karbohidrat (Adetola 2011). Pengurangan nitrogen anorganik sebagai nutrisi pada media kultur merupakan salah satu metode untuk mempersingkat fase eksponensial pada kultur mikroalga (Muhaemin dkk, 2014). Unsur nitrogen diperlukan untuk membantu proses pembentukan klorofil, fotosintesis, protein, lemak dan persenyawaan organik lainnya (Resmawati dkk, 2012). Selain itu, kekurangan nitrogen memicu akumulasi TAG dan lipid netral sebagai bentuk pertahanan dari stres jangka panjang (Ma *et al*, 2016).

Nitrogen di alam tersedia dari siklus nitrogen meliputi amonifikasi, nitrifikasi, asimilasi nitrogen, denitrifikasi, dan fiksasi nitrogen. Amonifikasi suatu proses pembentukan amonia dari materi organik. Amonia juga mampu mengalami asimilasi menjadi asam amino dan dapat diasimilasi secara langsung oleh kelompok diatom, alga selular dan tanaman tingkat tinggi. Nitrifikasi merupakan reaksi oksidasi yaitu proses pembentukan nitrit atau nitrat dari amonia. Proses ini dapat berlangsung secara biologis maupun kimiawi. Asimilasi nitrogen merupakan proses pemanfaatan nitrogen untuk pembentukan asam amino dalam protoplasma oleh fitoplankton, alga, dan bakteri. Senyawa amonium dan nitrit merupakan bagian penting dari siklus nitrogen di alam. Denitrifikasi merupakan reaksi reduksi nitrat menjadi nitrit, nitrit oksida, dan gas nitrogen. Sedangkan fiksasi nitrogen merupakan pengikatan gas nitrogen menjadi amonia dan nitrogen organik (Hastuti, 2011).

Ketika unsur N tercukupi, maka pembentukan protein berjalan dengan baik, tetapi apabila unsur N tidak tercukupi, maka tidak akan terbentuk asam amino atau protein. Namun ketika unsur N tidak tercukupi akan terbentuk asam lemak dalam bentuk TAG (Goncalves *et al*, 2016).



Gambar 2. 3 Sintesis TAG pada Cekaman Nitrogen (Goncalves *et al*, 2016).

2.7 Silikat

Silikat (SiO_4^{4-}) merupakan nutrisi yang sangat dibutuhkan oleh diatom untuk pembentukan dinding sel, ketersediaan silikat yang cukup dalam perairan dapat meningkatkan pertumbuhan diatom. Reynolds (2006), menyatakan bahwa silikat merupakan salah satu komponen penting yang mendukung metabolisme sel dari diatom. Kandungan Silikat terlarut pada suatu perairan yang rendah dapat menghambat laju pembelahan sel dan menurunkan aktivitas metabolisme sel diatom.

2.8 Penelitian Aerasi

Penelitian aerasi ini telah dilakukan oleh Afifah dan Joni (2013) dengan judul “Efek Aerasi dan Konsentrasi Substrat pada Laju Pertumbuhan Alga Menggunakan Sistem Bioreaktor Proses Batch”. Penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium dan dilakukan variasi perlakuan terhadap waktu aerasi dengan (tanpa aerasi, 12 jam dan 24 jam). Hasil penelitian ini didapatkan bahwa

aerasi yang paling efisien digunakan untuk laju produksi alga adalah dengan pemberian aerasi 12 jam. Pada sampel aerasi 12 jam saat alga tidak melakukan fotosintesis pada malam hari, suplai oksigen tetap terjaga dari aerator. Jika dibandingkan dengan perlakuan aerasi 24 jam akan menyebabkan suplai oksigen yang tinggi dan memberikan tekanan yang lebih besar didalam sampel yang akan menyebabkan terjadinya lisis. Sedangkan pada perlakuan tanpa aerasi akan berpengaruh terhadap pertumbuhan alga tersebut, hal ini dikarenakan aerasi mempunyai fungsi penting yaitu sebagai suplai oksigen.

Penelitian mengenai tingkat aerasi (0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1 vvm) terhadap pertumbuhan *Scenedesmus quadricauda* menunjukkan hasil bahwa konsentrasi biomassa pada awal fase stasioner awal dan laju pertumbuhan meningkat seiring dengan meningkatnya aerasi (Than *et al*, 2015).

Penelitian pada perlakuan aerasi dilakukan oleh Aini (2014) dengan melakukan pemberian aerasi selama 0 jam, 24 jam dan 48 jam pada mikroalga *Skeletonema costatum*. Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa dari perlakuan 24 jam aerasi menunjukkan peningkatan kepadatan sel, kemudian pada perlakuan aerasi 48 jam terlihat penurunan.

2.9 Lipid dan FAME

Lipid adalah senyawa makro molekul penyusun sel yang tersusun dari atom-atom hidrogen, karbon dan oksigen. Lipid merupakan molekul non polar yang larut dalam pelarut organik non polar seperti benzena, eter, heksana, metanol. Di dalam sel mikroalga, komposisi atom hidrogen lebih banyak dibandingkan atom karbon dan oksigen. Atom hidrogen pada mikroalga pada umumnya memiliki ikatan rangkap 18 sampai 32. Lipid pada mikroalga pada umumnya menghasilkan asam lemak. Asam lemak yang biasa dijumpai adalah asam palmitat, dimana asam palmitat merupakan senyawa yang berpotensi sebagai biodiesel (Endrawati, 2012) . Sintesis lipid dari protein diawali dengan perubahan protein menjadi asam amino dengan bantuan enzim

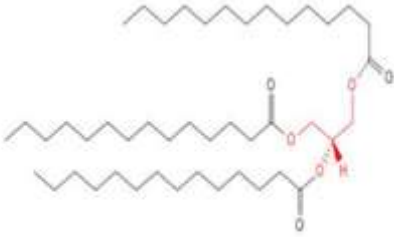

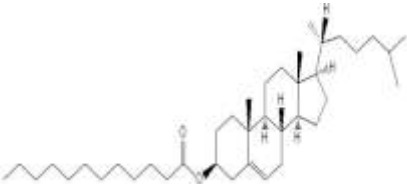
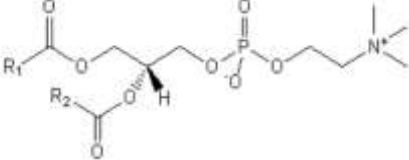
protease, sebelum terbentuk lemak asam amino mengalami deaminasi terlebih dahulu, setelah itu memasuki daur Krebs. Banyak jenis asam amino yang langsung ke asam piruvat sehingga menghasilkan asetil ko-A. Asam amino serin, alanin, valin, leusin, isoleusin dapat terurai menjadi asam piruvat, selanjutnya asam piruvat menjadi gliserol sehingga menghasilkan fosfogliseraldehid. Fosfogliseraldehid dengan asam lemak akan mengalami esterifikasi membentuk lipid (Campbell *et al.*, 2002).

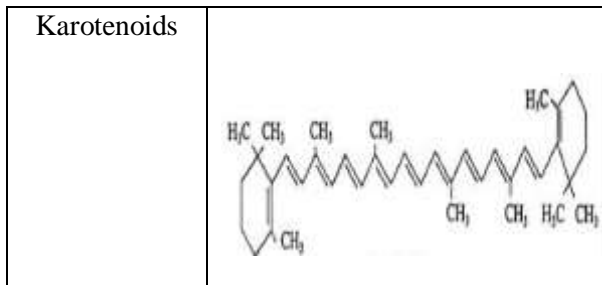
Menurut (Prartono *et al.*., 2013) bahwa kandungan lipid pada mikroalga cenderung berbanding terbalik dengan tingkat pertumbuhannya, hal ini disebabkan beberapa faktor lingkungan yang berperan dalam mempengaruhi proporsi relatif asam lemak dan kandungan total lipid. Semakin tinggi tingkat pertumbuhan, semakin sedikit jumlah kandungan lipid (Prartono *et al.*., 2013) . Hal ini bahwa dengan tingkat pertumbuhan yang lambat, energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan diubah menjadi produksi lipid sebagai penyimpan makanan (Prartono *et al.*., 2013)

Lipid dalam mikroalga merupakan komponen yang tersusun dari neutral lipid dan polar lipid. Neutral lipid terdiri dari triasilgliserida, waxe ester, hidrokarbon, free fatty acid dan sterol. Polar lipid terdiri dari komponen fosfolipid, glikolipid, dan karotenoid (Katili, 2012).

Tabel 2. 1 Struktur Molekul Komponen Lipid

(Katili, 2012)

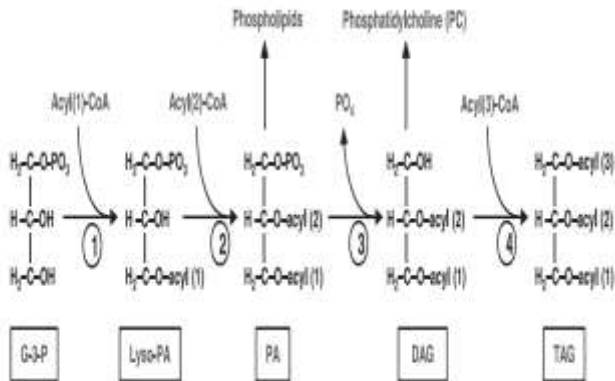
Kategori	Struktur Molekul
Trigliserida	
Fatty Acids	
Sterol	
Gliserolphosfolipid	



Sebanyak 80% - 95% komponen lipid dibangun oleh Triglicerida atau Triasilgliserol (TAG). Triglicerida tersusun atas tiga asam lemak yang teresterifikasi kedalam molekul gliserol. Sifat fisik TAG berbeda, tergantung pada sumber asal mereka. TAG yang berasal dari lemak hewan padat pada suhu kamar, sedangkan yang diperoleh dari minyak nabati berwujud cair pada suhu kamar (Jim, 2013).

2.10 TAG (Triasilgliserida)

Biosintesis triasilgliserol dalam alga terjadi melalui jalur gliserol langsung. Asam lemak yang diproduksi di kloroplas secara berurutan ditanfer dari CoA ke posisi 1 dan 2 dari gliserol 3-fosfat yang menghasilkan formasi dari metabolisme pusat asam fosfatidik (PA). Defosforilasi asam fosfatidik dikatalisis oleh fosfatase spesifik melepaskan diasilgliserol (DAG). Pada proses terakhir TAG, asam lemak ketiga ditanfer keposisi kosong dari DAG, reaksi ini dikatalisi oleh diacylglycerol asyltansferase (Hu, *et al.*, 2008).



Gambar 2. 4 Biosintesis TAG (Hu, *et al.*, 2008).

2.11 Analisis Lipid Dengan Metode Soxhlet

Penentuan kadar minyak atau lemak suatu bahan dapat dilakukan dengan alat ekstraktor Soxhlet. Ekstraksi dengan alat Soxhlet merupakan cara ekstraksi yang efisien, karena pelarut yang digunakan dapat diperoleh kembali. Dalam penentuan kadar minyak atau lemak, bahan yang diuji harus cukup kering, karena jika masih basah akan memperlambat proses ekstraksi begitu juga air dapat turun ke dalam labu dan akan mempengaruhi perhitungan (Ketaren dalam Budimarwati, 2011).

2.12 Metode Ekstraksi Minyak Mikroalga

Menurut McMichens (2009) terdapat beberapa metode ekstraksi yang dapat digunakan dalam ekstraksi minyak mikroalga antara lain:

A. Metode Mekanik

Metode mekanik terdiri dari metode pengepresan dan ultrasonic-assisted extraction. Pada metode pengepresan alga yang sudah siap panen dikeringkan terlebih dahulu untuk

mengurangi kadar air yang masih terdapat di mikroalga. Selanjutnya dilakukan pengepresan biomassa dengan alat pengepresan untuk mengekstraksi minyak yang terkandung dalam alga (Andrews, 2008). Sedangkan pada metode ultrasonic menggunakan reaktor ultrasonik. Gelombang ultrasonik digunakan untuk membuat gelembung kavitasi pada material larutan. Ketika gelembung pecah dekat dengan dinding sel maka akan terbentuk gelembung kejut dan pancaran cairan yang akan membuat dinding sel pecah. Pecahnya dinding sel akan membuat komponen di dalam sel keluar bercampur dengan larutan

B. Metode Pelarut Kimia

Menurut Amini (2010), larutan heksana dapat digunakan langsung untuk mengekstraksi minyak dari alga atau dikombinasikan dengan alat pengepres. Minyak dan larutan heksana dapat dipisahkan dengan proses distilasi. Proses ekstraksi minyak tergantung pada kepolaran pelarut, ukuran, partikel, rasio pelarut, temperatur dan waktu ekstraksi (Chaiklahana *et al*, 2008)

C. Supercritical Fluid Extraction

Pada metode ini dapat mengekstraksi hampir 100% minyak yang terkandung dalam biomassa. Metode ini menggunakan peralatan yang khusus. Metode ini dengan cara CO₂ dicairkan dibawah tekanan normal kemudian dipanaskan sampai mencapai titik kesetimbangan anantara fase cair dan gas. Pencairan fluida inilah yang akan bertindak sebagai larutan yang akan mengekstraksi minyak dari alga (Amini, 2010).

D. Osmotic Shock

Metode osmotic Shock banyak digunakan untuk mengeluarkan komponen komponen dalam sel. Tekanan osmotic dalam sel akan berkurang sehingga akan membuat sel pecah dan komponen didalam akan keluar (Amini, 2010).

BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan mulai bulan Agustus hingga Februari 2019 di Laboratorium Pakan Alami, Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo, Jawa Timur. Analisis kandungan lipid total dilakukan di Laboratorium Patologi dan Anatomi RSKI (Rumah Sakit Khusus Infeksi) Universitas Airlangga Surabaya. Pada uji Soxhlet di laboratorium Departemen Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember dan di Laboratorium Biosains dan Teknologi Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

3.2 Metode yang Digunakan

3.2.1 Sterilisasi alat dan bahan kultur

Peralatan kultur mikroalga yang akan disterilisasi meliputi peralatan gelas dan non gelas. Pertama-tama sterilisasi alat gelas dicuci bersih menggunakan detergen dan dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya, dilakukan pencucian dengan HCl 0,2% dan dibilas kembali dengan air tawar, dikeringkan di ruang yang terkena sinar matahari. Sedangkan untuk sterilisasi peralatan non gelas yang tidak tahan panas dilakukan dengan merendam dalam diterjen dan dibilas dengan air mengalir. Selain itu, dilakukan perendaman dengan klorin yang telah dicampur air. Kemudian ditunggu 24 jam dan dibilas air bersih. Terdapat peralatan non gelas seperti selang aerasi yang cara sterilisasi dengan merendam dalam deterjen dan dibilas dan dilakukan perendaman dengan klorin selama 24 jam dan di bilas, setelah itu dilakukan perendaman dengan air panas selama 2 menit (Triswanto, 2011).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah air laut dengan kadar salinitas 34 ppt. Sterilisasi air laut dilakukan dengan cara konvensional, yaitu air laut direbus hingga mendidih kemudian mendinginkannya hingga mencapai suhu ruang.

3.2.2 Persiapan pupuk dalam kultur *S. costatum*

Pupuk yang digunakan dalam kultur *S. costatum* adalah pupuk diatom yang meliputi KNO_3 , PO_4 , EDTA, Fe_3 , Na_2SiO_3 yang dilarutkan dengan 200 ml aquades dan dihomogenkan. Setelah itu botol elemeyer yang digunakan untuk pembuatan pupuk diatom ditutup dengan aluminium foil dan dilakukan perebusan hingga mendidih.

Komposisi Pupuk Diatom dengan konsentrasi:

1. Komposisi pupuk diatom P1(Kontrol) (Anonim, 2013)

KNO_3	: 75 g/L
PO_4	: 5 g/L
EDTA	: 5 g/L
Fe_3	: 3,15 g/L
NaSiO_3	: 30 g/L

2. Komposisi pupuk diatom P2

KNO_3	: 0 g/L
PO_4	: 5 g/L
EDTA	: 5 g/L
Fe_3	: 3,15 g/L
NaSiO_3	: 15 g/L

3. Komposisi Pupuk diatom P3

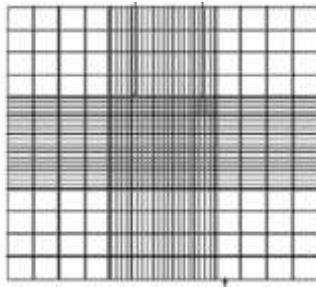
KNO_3	: 37,5 g/L
PO_4	: 5 g/L
EDTA	: 5 g/L
Fe_3	: 3,15 g/L
NaSiO_3	: 15 g/L

3.2.3 Pembuatan Kurva Pertumbuhan *S. costatum* dan Penentuan Waktu Starter.

Kurva pertumbuhan ini bertujuan untuk mengetahui 1/2 fase eksponensial. Pada tahap ini bibit *S. costatum* yang digunakan didapatkan dari Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo. Volume kultur mikroalga dalam pembuatan kurva pertumbuhan dibutuhkan sebanyak 500 ml, sehingga bibit

S. costatum yang dibutuhkan ialah sebanyak 50 ml dan diinokulasikan ke dalam 450 ml media kultur (air laut yang diberi 0,5 ml pupuk diatom). Selanjutnya diukur kepadatan sel *Skeletonema costatum* setiap 6 jam hingga fase kematian menggunakan *haemocytometer improved Neubauer* (Rudiyanti, 2011). Kemudian dibuat kurva Pertumbuhannya dan ditentukan waktu Starter. Waktu starter *S. costatum* yaitu $\frac{1}{2}$ fase eksponensial.

$$\text{Kepadatan sel} = \frac{\sum \text{sel} \times 10^4}{4} \text{ sel/ml (Rudiyanti, 2011).}$$



Gambar 3. 1 Ruang Haemocytometer (Ma'rufatin, 2016).

Keterangan : Sel yang dihitung pada ruang W dengan sel yang hidup dan normal.

3.2.4 Penentuan Masa Panen

Penentuan Masa panen termasuk uji pendahuluan pada penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui fase eksponensial akhir untuk menentukan pemanenan *S. costatum* (Haesman *et al*, 2001) . Penentuan masa panen menggunakan bibit *S. costatum* yang diambil 10% dari kultur umur starter. Volume kultur mikroalga yang dibuat 500 ml sehingga bibit *S. costatum* yang dibutuhkan sebanyak 50 ml yang diinokulasikan ke dalam 450 ml media kultur dan ditambah 0,5 ml pupuk diatom sesuai dengan perlakuan. Kepadatan sel diukur setiap 6 jam sekali dari hari pertama sampai fase kematian untuk menentukan masa panen. Masa panen *S. costatum* yaitu pada fase eksponensial akhir.

3.2.5 Pembuatan Starter *S. costatum*

Pembuatan starter *S. costatum* digunakan sebagai perlakuan penelitian pada volume 8 L. Pembuatan starter *S. costatum* dilakukan dengan mengkultur *S. costatum* sampai fase eksponensial dengan didasarkan dengan hasil pembuatan kurva pertumbuhan pada sub bab 3.2.3. Pembuatan starter dilakukan dalam skala 16L. Wadah kultur diisi media kultur sebanyak 14,4L dengan kombinasi air laut dan pupuk diatom (14. 384 ml air laut dan 12 ml pupuk diatom). Selanjutnya, media kultur diaerasi selama 24 jam dan diberi pencahayaan lampu TL-40 watt (Armanda, 2013).

3.2.6 Perlakuan penelitian

Perlakuan dalam media kultur *S. costatum* dengan konsentrasi cekaman N dan Si sebesar dan perlakuan aerasi :

Tabel 3. 1. Perlakuan Penelitian

Aerasi \ Pupuk	P1	P2	P3
	12 Jam	A1	A2
24 Jam	A4	A5	A6
24 Jam	A7	A8	A9

Keterangan:

P1 : Konsentrasi KNO_3 75 gr/L dan Na_2SiO_3 30 gr/L

P2 : Konsentrasi KNO_3 0 gr/L dan Na_2SiO_3 15 gr/L

P3 : Konsentrasi KNO_3 37,5 gr/L dan Na_2SiO_3 15 gr/L

Masing-masing media kultur perlakuan pada media kultur tersebut dilakukan dalam skala 8 L (7192 ml air laut dan 8 ml pupuk diatom). Selanjutnya diinokulasi bibit *S. costatum* 10% dari volume media yaitu sebanyak 800 ml.

3.2.7 Pemanenan *S. costatum*

Pemanenan *S. costatum* dilakukan dengan menggunakan kain satin pada fase eksponensial akhir. Hal ini dikarenakan pada eksponensial akhir, kultur mikroalga memiliki kemampuan akumulasi lipid tinggi. Kemudian hasil pemanenan diukur biomassa, kualitatif dianalisis secara kuantitatif kandungan lipid totalnya menggunakan metode Soxhlet (Duong *et al.*, 2012).

3.2.8 Parameter Pengamatan

3.2.8.1 Analisis Kualitatif TAG

Pada penelitian ini dilakukan dengan larutan Nile Red (Cooksey, 1987). Pembuatan larutan stok Nile Red dengan mencampur 1 mg Nile Red ke dalam 10 ml aseton, kemudian disimpan pada suhu ruang dalam kondisi tertutup dan gelap. Setelah itu pewarna sel mikroalga dengan Nile Red dengan meneteskan 0,2 ml larutan stock Nile Red ke dalam 1 ml mikroalga *S. costatum* pada mikrotube dan dihomogenkan dengan vortex selama 30-40 menit. Kemudian dibilas dengan aquades ke dalam mikrotube dengan perbandingan 1:1. Selanjutnya sel dipisahkan dengan disentrifugase. Bagian supernatan dibuang dan bagian natan dihomogenkan menggunakan vortex. Diambil 30 μ l natan hasil sentrifugasi, kemudian diteteskan ke preparat dan dilihat pendaran warna lipid intraselulernya pada sel mikroalga dengan menggunakan mikroskop fluorescence dengan panjang gelombang 450-495 nm. Dilihat pendaran warna pada mikroalga, apabila berwarna kuning mengkilat artinya mikroalga tersebut mengandung lipid (Cooksey *et al.*, 1987).

3.2.8.2 Analisis Kandungan Lipid Total dengan Metode Soxhlet

Analisis kandungan lipid total mikroalga *S. costatum* dilakukan menggunakan metode soxhlet sebagaimana yang telah dilakukan oleh Abdulgani dkk (2007) dan Li *et al* (2014). Sebanyak 2 gram sampel kering mikroalga dibungkus dalam selongsong kertas saring yang telah berisi sampel mikroalga

dalam bentuk kering, kemudian bagian ujung selongsong kertas saring ditali dengan benang. Selanjutnya dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak berisi batu didih yang telah diketahui bobotnya. Selanjutnya, diekstrak dengan pelarut campuran heksana dan etanol dengan perbandingan 3:1 selama kurang lebih 6 jam. Ekstrak lipid dikering ka dalam oven pada suhu 105°C. Lalu ditimbang. Presentase kadar lipid total dengan rumus :

$$\text{Kadar lipid total (\%)} = \frac{\text{berat lipid total (gr)}}{\text{berat sampel (gr)}} \times 100\%$$

(Shahidi, 2003)

3.2.8.3 Metode Pengukuran Biomassa

Biomassa diukur berdasarkan berat kering (mg/L) (Vonshak & Torzillo, 2004). Analisis biomassa dilakukan setelah dipanen dengan menghitung berat basah dan kering. Berat basah mikroalga diukur dengan menimbang berat masing-masing mikroalga setelah di saring dengan menggunakan kain satin. Selanjutnya mikroalga pada cawan porselen di oven Memmer dengan suhu 70°C selama 1 minggu. Kemudian ditimbang hingga diperoleh berat keringnya.

Biomassa = (Berat Kertas + Berat *S.costatum* kering) – Berat Kertas. (Mahdi dkk, 2012)

3.2.8.4 Parameter pendukung

Parameter pendukung dalam penelitian ini adalah suhu, pH, dan salinitas. Pengukuran terhadap parameter pendukung ini dilakukan satu kali pada saat pertama kultur.

3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor yang terdiri dari konsentrasi pupuk diatom dan aerasi. Perlakuan dalam penelitian ini terdiri dari 9 perlakuan, dimana masing-masing perlakuan dilakukan 2 kali pengulangan.

3.3.2 Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan cara mendeskripsikan pengaruh cekaman aerasi dan cekaman Nutrien terhadap pertumbuhan dan kandungan lipid mikroalga *S. costatum*. Data akan ditampilkan dalam bentuk tabel dan akan diinterpretasikan dalam bentuk deskripsi. Data dari perlakuan uji biomassa akan dianalisis secara statistik dengan metode ANOVA dan akan diuji lanjut menggunakan metode Tukey, dimana hipotesis untuk mengetahui pemberian konsentrasi medium tercekam nutrient N dan Si dan perbedaan waktu aerasi yang berbeda terhadap peningkatan pertumbuhan dan kandungan lipid mikroalga *S. costatum* sebagai berikut:

H₀ : Pemberian konsentrasi medium tercekam nutrient N, Si dan aerasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap peningkatan pertumbuhan dan kandungan lipid mikroalga *S. costatum*

H₁ : Pemberian konsentrasi medium tercekam nutrient N, Si dan aerasi yang berbeda berpengaruh terhadap peningkatan pertumbuhan dan kandungan lipid mikroalga *S. costatum*.

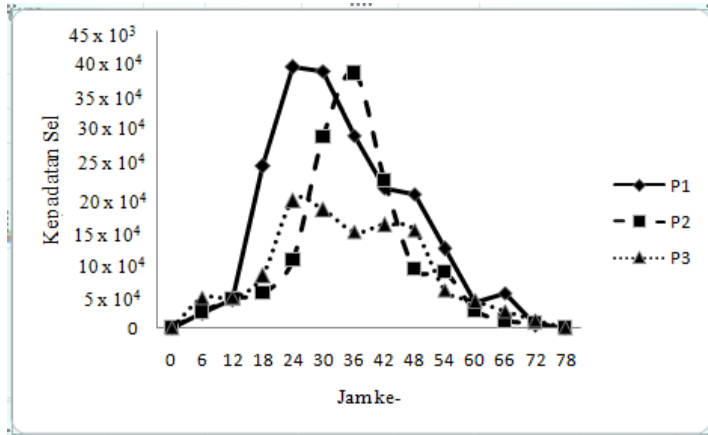
Jika H₀ ditolak maka terdapat pengaruh pemberian konsentrasi medium tercekam nutrient N, Si dan aerasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap peningkatan pertumbuhan dan kandungan lipid mikroalga *S. costatum*, maka dilanjutkan dengan uji Tukey dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) untuk mengetahui signifikansi perbedaan tiap perlakuan dengan kontrol.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kurva Pertumbuhan *S. costatum*

Pertumbuhan merupakan proses perubahan yang terjadi pada organisme baik bertambahnya panjang atau bertambahnya berat maupun jumlah sel (Fauziah, 2015). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *S.costatum* yaitu lingkungan dan nutrisi (Fauziah, 2015). Kultur *S.costatum* membutuhkan nutrisi yang berperan mendukung pertumbuhannya. Nutrisi yang diperlukan terdiri dari unsur makro dan unsur mikro (Cahyaningsih, 2006). Pengukuran kepadatan sel dilakukan pada kultur 500 ml yang bertujuan untuk mengetahui fase-fase pertumbuhan *S.costatum* terutama fase eksponensial yang berfungsi untuk mengetahui proses pemanenan *S.costatum*. Kurva pertumbuhan *S.costatum* dengan perlakuan yang berbeda-beda ditunjukkan pada Gambar 4.1, 4.2, 4.3 sebagai berikut..



Gambar 4. 1 Kurva Pertumbuhan *S. costatum* 12 jam Aerasi.
Keterangan gambar:

P1:Konsentrasi KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l + 12 jam aerasi

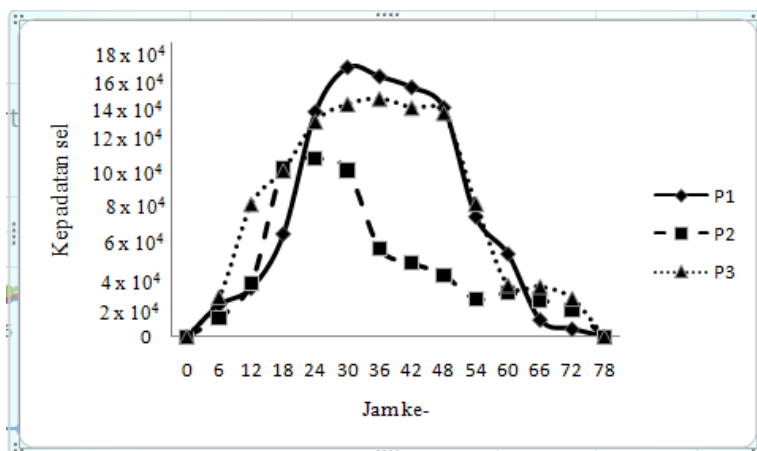
P2:Konsentrasi KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l + 12 jam aerasi

P3:Konsentrasi KNO_3 37,5 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l+12 jam aerasi

Pada Gambar 4.1 terlihat fase lag dengan P1 terjadi pada jam ke 0 sampai jam ke 6, kemudian mengalami fase eksponensial mulai dari jam ke 12- 24. Kepadatan sel tertinggi pada P1 di jam 24 sebesar 395000 sel/ml, dilanjutkan pada fase stasioner jam ke 30 , setelah itu mengalami penurunan kepadatan sel dari jam ke 36. Apabila konsentrasi KNO_3 0 gr/l dengan Na_2SiO_3 diberi setengah dosis yaitu 15 gr/l fase lag mulai jam 0-18, fase eksponensial dari jam ke 24-36 dengan mengalami kepadatan sel pada jam ke 36 sebesar 386250 sel/ml, fase stasioner jam ke 42- 54 dan mengalami fase kematian pada jam ke 60. Pada perlakuan P3 dengan konsentrasi KNO_3 37,5 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/ l didapatkan fase lag mulai jam 0-12 dan mengalami fase eksponensial jam ke 18-24, fase stasioner pada jam 30- 42. Dengan fase kematian pada jam ke 48. Pada perlakuan P3 kepadatan sel sebesar 192500 sel/ml. Pada gambar 4.1 dapat disimpulkan bahwa kepadatan sel tertinggi pada kombinasi pupuk pertama dengan konsentrasi KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l. Hal ini dikarenakan pada pupuk pertama memiliki konsentrasi Na_2SiO_3 dan KNO_3 yang lebih besar dari pada pupuk kedua dan pupuk ketiga. Dimana silika merupakan elemen yang utama untuk diatom khususnya berfungsi untuk pembentukan dinding sel (Umiatun *et al.*, 2017), sedangkan pada unsur nitrogen adalah unsur makro yang berfungsi sebagai pertumbuhan, metabolisme dan pembentukan protein dan asam nukleat dimana pembelahan sel memerlukan pasokan nitrogen untuk melakukan proses pembelahannya (Brown, 1993).

Perbandingan antara pupuk kedua dan pupuk ketiga dengan perbandingan konsentrasi KNO_3 . *Skeletonema costatum* yang dikultur pada P2 dengan konsentrasi KNO_3 0 gr/l, sedangkan pada konsentrasi P3 dengan KNO_3 37,5 gr/l. Pada perbandingan konsentrasi tersebut bahwa P2 mengalami defisiensi nitrogen daripada P3, dimana nitrogen merupakan unsur terpenting untuk pertumbuhan, metabolisme sel alga dan sebagai unsur dasar dalam pembentukan protein dan asam nukleat (Brown, 1993). Gambar 4.1 terlihat perbandingan P2 dan P3,

dimana P2 mengalami penurunan kepadatan sel lebih cepat daripada P3, hal ini didukung oleh pernyataan Jeffreys *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa alga yang tercekam memiliki fase pertumbuhan lebih singkat daripada ketika tumbuh di lingkungan yang normal.



Gambar 4. 2 Kurva Pertumbuhan *S. costatum* 24 jam Aerasi.

Keterangan gambar:

P1:Konsentrasi KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l + 24 jam aerasi

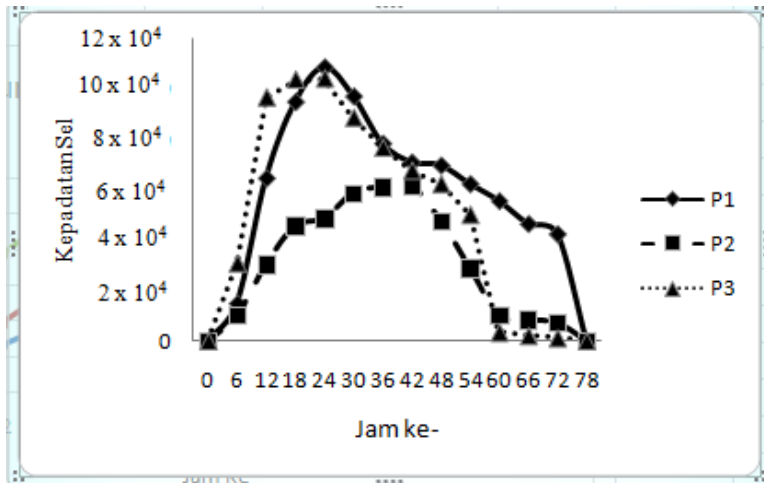
P2:Konsentrasi KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l + 24 jam aerasi

P3:Konsentrasi KNO_3 37,5 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l + 24 jam aerasi

Berdasarkan Gambar 4.2 dengan pupuk pertama konsentrasi KNO_3 75 gr/l dan NaSiO_3 30 gr/l dengan terlihat fase lag mulai dari jam 0-6 dan mulai mengalami fase ekponensial pada jam ke 12-30 dengan puncak ekponensial pada jam ke 30 jumlah kepadatan sel sebesar 164687,5 sel/ml. Kurva pertumbuhan pada pupuk pertama mengalami fase stasioner pada jam 36-42 dan mulai mengalami penurunan pada jam 42 sampai jam ke 78. Pada perlakuan kedua dengan menurunkan konsentrasi nitrogen 0 gr/ l dan penurunan setengah dosis konsentrasi silika dari pupuk pertama dengan 15 gr/l, fase lag pada jam ke 0- 6 dan

mengalami fase eksponensial mulai dari jam ke 12-24 kepadatan sel tertinggi pada puncak jam ke 24 sebesar 108750 sel/ml, selanjutnya mengalami fase stasioner jam ke 30 dan mulai mengalami penurunan kepadatan sel atau fase kematian pada jam ke 36. Pada perlakuan pupuk ketiga dengan menurunkan setengah dosis nitrogen maupun silika dari perbandingan dosis pupuk pertama, dimana terlihat fase lag pada jam ke 0-6, terlihat peningkatan kepadatan sel sampai pada titik puncaknya pada jam ke 36 dengan kepadatan sel dengan pupuk sebesar 145937,5 sel/ml dan mengalami fase stasioner pada jam ke 42-48 dan mulai mengalami penurunan kepadatan sel pada jam ke 54. Dapat disimpulkan pada gambar 4.2 bahwa pada pupuk pertama dengan konsentrasi KNO_3 75 gr/l dan NaSiO_3 30 g/l mengalami kepadatan sel paling tinggi daripada perlakuan pupuk yang lain, hal ini dikarenakan konsentrasi silika yang tinggi dimana silika berfungsi untuk pembentukan dinding sel mikroalga diatom dan pada unsur nitrogen yang tinggi berfungsi untuk proses pembelahan. Pernyataan diatas sama dengan Umiatun *et al* (2017) bahwa silika merupakan elemen yang dibutuhkan diatom terutama untuk melakukan pembentukan sel. Fitriani (2017) menyatakan bahwa nitrogen termasuk dalam unsur makro nutrien yang dibutuhkan mikroalga dalam jumlah yang cukup besar untuk pertumbuhan.

Pada aerasi 24 jam pada pupuk kedua dengan konsentrasi nitrogen 0 g/l dan silika 15 g/l dengan kepadatan yang paling rendah hal ini dikarenakan pada keadaan kultur pada pupuk kedua tidak adanya unsur nitrogen yang akan mengakibatkan penurunan pertumbuhan mikroalga. Hal ini disebabkan karena nitrogen merupakan unsur hara yang diperlukan dalam pembentukan klorofil, dimana klorofil sangat dibutuhkan dalam proses fotosintesis. Ketika unsur nitrogen diturunkan konsentrasinya, maka pembentukan klorofil menjadi terhambat yang mengakibatkan proses fotosintesis terhambat. Terhambatnya proses fotosintesis menyebabkan pertumbuhan sel mikroalga *Skeletonema costatum* terhambat (Aminatin, 2013).



Gambar 4. 3 Kurva Pertumbuhan *S. costatum* 36 jam Aerasi.

Keterangan gambar:

P1:Konsentrasi KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l + 36 jam aerasi

P2:Konsentrasi KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l + 36 jam aerasi

P3:Konsentrasi KNO_3 37,5 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l + 36 jam aerasi

Pada Gambar 4.3 aerasi 36 jam pupuk pertama dengan konsentrasi KNO_3 75 g/l dan Na_2SiO_3 30 g/l terlihat fase pertumbuhannya, dimana tidak terlihat fase lag sehingga pada jam ke 0-24 mengalami fase eksponensial dengan puncak eksponensial jam ke 24 kepadatan sel 108750 dan mengalami fase stasioner pada jam ke 30-60 selanjutnya kepadatan sel mulai mengalami penurunan pada jam ke 60 sampai jam ke 78.. Sedangkan pada pupuk ke dua dengan dosis nitrogen 0 g/l dan silika 15 g/l mengalami fase eksponensial pada jam 0-42 dengan kepadatan sel sebesar 61350 selanjutnya mengalami fase stasioner pada jam ke 24. Pada jam ke 54 mengalami penurunan kepadatan sel yang cukup signifikan. Perlakuan pupuk ketiga dengan dosis pupuk setengah dari perlakuan pertama tidak terlihat fase lag, langsung jam 0 menunjukkan fase eksponensial sampai pada jam ke 24, kepadatan sel sebesar 104375 sel/ml. Pada pupuk ke tiga tidak terlihat juga fase stasioner, kepadatan sel pada jam ke 54 menunjukkan penurunan yang sangat drastis sampai pada jam 78.

Dari gambar 4.3 dapat disimpulkan bahwasannya pada perlakuan pupuk pertama mengalami kepadatan sel yang tinggi daripada perlakuan pupuk dua maupun pupuk ke tiga. Perbandingan kepadatan sel dari pupuk pertama dan pupuk ketiga bahwasannya pada pupuk ketiga sel cepat mengalami fase kematian daripada pupuk pertama, hal ini didukung oleh pernyataan Jeffreys *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa alga yang tercekam memiliki fase pertumbuhan lebih singkat daripada ketika tumbuh di lingkungan yang normal. Pada pupuk ke dua kepadatan sel yang rendah. Hal ini dikarenakan pada pupuk ke dua dengan dosis nitrogen yang 0 g/l mengakibatkan proses pertumbuhan terhambat.

Menurut Amanatin (2013) bahwa nitrogen merupakan makronutrien yang mempengaruhi pertumbuhan dalam aktifitas metabolisme sel, nitrogen juga merupakan bahan penting penyusun asam amino, amida, nukleotida, dan nukle protein serta essensial untuk proses pembelahan sel. Keterbatasan nitrogen dapat mengakibatkan pengurangan biomassa, pengurangan komposisi pigmen dan aktivitas fotosintesis (El-Sheekh, 2013). Menurut Hu (2004) sel mikroalga dalam keadaan nitrogen terbatas di lingkungan akan menyebabkan sel tersebut menyerap nitrogen anorganik secara cepat untuk menjadi senyawa biokimia yang aktif, kemudian karbohidrat didalam sel digunakan untuk memenuhi kebutuhan proses perubahan fisiologi sel yang akhirnya akan menurunkan fiksasi karbondioksida, kandungan klorofil serta produksi jaringan. Sedangkan silika sangat dibutuhkan untuk kebutuhan mineral dalam pertumbuhannya. Silika diberikan pada jenis diatom untuk pembentukan dinding sel. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lavens dan Sorgeloos (1996), bahwa silika khusus diberikan pada kultur jenis diatom dan merupakan komponen penting bagi pembentukan dinding sel eksternal.

Perbandingan dari Gambar 4.1, 4.2, 4.3 menunjukkan kepadatan sel *S. costatum* pada 12 jam aerasi berkisar 192500-395000 sel/ml. Pada gambar 4.2 24 jam aerasi menunjukkan

kepadatan sel berkisar 108750-164687,5 sel/ml. Pada gambar 4.3 36 jam aerasi dengan kisaran kepadatan sel 61350-108750 sel/ml. Dari perlakuan tersebut menunjukkan lebih tinggi kepadatan sel pada perlakuan 12 jam aerasi dan perlakuan 24 jam aerasi. Kemudian kepadatan sel lebih menurun apabila diberi perlakuan 36 jam aerasi. Afifah dan Joni (2013) menyatakan bahwa aerasi yang paling efisien untuk memproduksi alga adalah aerasi 12 jam, hal ini dikarenakan pada aerasi 12 jam alga tidak melakukan fotosintesis pada malam hari agar suplai oksigen tetap terjaga. Pada penelitian sebelumnya menurut Aini, (2018) bahwa dengan pemberian aerasi 24 jam pada kultur mikroalga *S.costatum* memberikan kepadatan sel yang tinggi. Aerasi diberikan menggunakan aerator yang akan menghasilkan gelembung pada dasar reaktor. Aerasi berfungsi sebagai pengaduk (sirkulasi) media dan mikroalga dalam fotobioreaktor, adanya sirkulasi dapat mencegah terjadinya pengendapan sel dan meningkatkan pertukaran gas ke media (Rusdiani, 2016).



Gambar 4. 4 Morfologi *S.costatum* pada salah satu ruang W Haemocytometer.

Keterangan:

- A. Perlakuan P1 (Konsentrasi KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l + 12 jam aerasi)
- B. Perlakuan P2 (Konsentrasi KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l + 36 jam aerasi)
- a. Sel Lisis

Berdasarkan Gambar 4.4 (A) dapat dilihat bahwa pertumbuhan *Skeletonema costatum* pada perlakuan P1 12 jam

terlihat bentuk morfologi yang berbentuk kotak, berantai panjang, berpigmen. *Skeletonema costatum* pada perlakuan P3 dengan aerasi 36 jam terlihat sel mengalami lisis, pigmen warna dari *skeletonema costatum* tidak ada warna coklat, terdapat protoplasma yang kosong. Menurut Setyaningsih (2018) bahwa sel *S.costatum* lisis dengan bentuk morfologi yang tidak beraturan dengan protoplasma kosong dan sel-sel rusak. Perbandingan dua perlakuan tersebut dikarenakan perbedaan komposisi nutrisi dan pemberian aerasi yang berbeda. Perlakuan P1 12 jam mengandung konsentrasi nitrogen dan silika yang optimal untuk pembentukan sel dan pertumbuhan, hal ini dikarenakan nitrogen merupakan unsur terpenting untuk pertumbuhan dan metabolisme sel (Brown, 1993). Komponen nutrisi silika merupakan elemen yang dibutuhkan diatom terutama untuk pembentukan dinding sel (Umiatun *et al.*, 2017). Pemberian aerasi diperlukan terutama untuk sirkulasi air media sehingga tidak terjadi stratifikasi, selain itu agar pupuk yang diberikan bisa diterima secara merata. Aerasi dibutuhkan sebagai akselerasi pemasukan udara terutama CO₂ dan O₂ (Fitriani, 2017). Pemberian aerasi yang terlalu lama akan menyebabkan suplai oksigen yang tinggi dan memberikan tekanan yang lebih besar didalam kultur, sehingga menyebabkan sel menjadi lisis atau kematian sel (Afifah dan Joni, 2013).

Sumeru dan Anna (1992) sel *S. costatum* normal berbentuk kotak dengan sitoplasma memenuhi dinding sel. Penelitian Balzano *et al.*, (2010) menunjukkan bahwa cekaman menyebabkan perubahan bentuk morfologi *S. costatum*, kondisi yang tercekam pertumbuhan sel mengalami gangguan dimana tingkat kerusakan sel semakin tinggi. Hal ini didukung oleh pernyataan Jeffreys *et al.*, (2013) bahwa alga yang tercekam memiliki fase pertumbuhan lebih singkat daripada alga yang terdapat dikondisi yang normal.

Hasil pengukuran pendukung dilakukan hanya satu kali pengukuran pada saat awal kultur yang meliputi suhu, pH dan salinitas. Pengukuran suhu pada awal kultur berkisar 26°C. Hal ini sesuai dengan tumbuh optimal dari mikroalga *S. costatum*

berkisar 25°C sampai 27°C (Uddin, 2007). Hasil pengukuran pH sekitar 7. Menurut Anggraeni & Sandhi (2015) bahwa ketika pH mengalami penurunan akan mengakibatkan penurunan aktivitas fotosintesis, bahwasannya *S.costatum* dapat tumbuh baik dengan pH 7-8. Salinitas pada awal kultur sebesar 33 ppt. Salinitas di perairan sangat penting untuk mempertahankan tekanan osmosis antara protoplasma dengan perairan. Semakin tinggi salinitas maka semakin tinggi tekanan osmosis tubuhnya dengan menyesuaikan diri (Odum, 1998). *S.costatum* tumbuh dengan baik pada salinitas berkisar 15-34 ppt dengan pertumbuhan optimal 25-29 ppt (Uddin, 2007).

4.2 Pengaruh Cekaman Kombinasi Pupuk Dan Aersi Terhadap Biomassa Kultur *S. costatum*.

Hasil pemanenan biomassa 8 L kultur *S.costatum* pada berbagai perlakuan pada tabel 4.1 berikut :

Tabel 4. 1 Biomassa Mikroalga *S. costatum* dari hasil pemanenan 8 L

kombinasi pupuk	Aerasi		
	A1	A2	A3
P1	0,18 ^d	0,36 ^{abc}	0,35 ^{abcd}
p2	0,22 ^{bcd}	0,20 ^{cd}	0,39 ^{ab}
P3	0,31 ^{abcd}	0,35 ^{abcd}	0,40 ^a

Huruf yang berbeda menunjukkan hasil berbeda nyata berdasarkan Uji Tukey dengan taraf kepercayaan 95%

Keterangan:

P1.A1 : Konsentrasi KNO₃ 75 gr/l dan Na₂SiO₃ 30 gr/l + 12 jam aerasi

P1.A2 : Konsentrasi KNO₃ 75 gr/l dan Na₂SiO₃ 30 gr/l + 24 jam aerasi

P1.A3 : Konsentrasi KNO₃ 75 gr/l dan Na₂SiO₃ 30 gr/l + 36 jam aerasi

P2.A1 : Konsentrasi KNO₃ 0 gr/l dan Na₂SiO₃ 15 gr/l + 12 jam aerasi

P2.A2 : Konsentrasi KNO₃ 0 gr/l dan Na₂SiO₃ 15 gr/l + 24 jam aersi

P2.A3 : Konsentrasi KNO₃ 0 gr/l dan Na₂SiO₃ 15 gr/l + 36 jam aersi

P3.A1 : Konsentrasi KNO₃ 37,5 gr/l dan Na₂SiO₃ 15 gr/l + 12 jam aerasi

P3.A2 : Konsentrasi KNO₃ 37,5 gr/l dan Na₂SiO₃ 15 gr/l + 24 jam aerasi

P3.A3 : Konsentrasi KNO₃ 37,5 gr/l dan Na₂SiO₃ 15 gr/l + 36 jam aersi

Berdasarkan hasil uji ANOVA *two way* (lampiran 6) dengan interaksi antara perlakuan pupuk dengan aerasi berpengaruh signifikan terhadap biomassa kultur *S.costatum.*, dengan ditunjukkan nilai *p-value* sebesar 0,040 yang berarti nilai alpha kurang dari 0,05 sehingga kombinasi interaksi tersebut berpengaruh signifikan, Selanjutnya dengan uji lanjut Tukey (lampiran 7) terlihat pengelompokkan gruping huruf.

Dari hasil Tabel uji lanjut tukey dari tabel 4.1 terlihat bahwa pemberian aerasi 24 jam dan 36 jam memiliki biomassa yang tinggi daripada pemberian aerasi 12 jam. Hal ini dengan meningkatnya pemberian aerasi, maka dapat meningkatkan biomassa. Sel dapat memperoleh nutrisi dalam media kultivasi secara merata hal ini dikarenakan adanya sirkulasi air dalam wadah kultur yang menambahkan gas pada kultur, apabila gas tersebut berupa oksigen dengan pemberian aerasi yang optimal dapat meningkatkan kadar oksigen yang terlarut. Bahwasannya ketika kadar oksigen terlarut tinggi maka kualitas media kultur menjadi baik (Than *et al.*, 2015).

Pada kombinasi pupuk di tabel 4.1 terlihat dari ketiga perlakuan kombinasi pupuk terlihat pupuk P2 dengan konsentrasi KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l didapatkan hasil biomassa yang rendah daripada kombinasi P1 dengan komposisi KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l, dan P3 dengan komposisi KNO_3 37,5 gr/l Na_2SiO_3 15 gr/l. Hal ini dikarenakan pada P2 mengalami defisiensi nitrogen maupun silika, dimana nitrogen merupakan unsur makronutrien yang mempengaruhi pertumbuhan dalam aktifitas metabolisme sel, nitrogen juga merupakan suatu bahan penting penyusun asam amino, amida, nukleotida, nukle protein serta esensial untuk proses pembelahan sel (Amanatin, 2013). Menurut El-Sheekh (2013) bahwa keterbatasan nitrogen dapat mengakibatkan pengurangan biomassa, komposisi pigmen dan aktivitas fotosintesis. Sedangkan unsur silika sangat dibutuhkan mikroalga diatom untuk pembentukan dinding selnya (Umiatun *et al.*, 2017).

Dari Tabel 4.1 interaksi antara kombinasi pupuk dengan aerasi terlihat bahwa P3.A3 (KNO_3 37,5 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l + 36 aerasi) berbeda nyata dengan P1.A1 (KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l+ 12 aerasi) hal ini dikarenakan pada kultur P3.A3 memiliki kadar oksigen terlarut yang tinggi, bahwa pemberian aerasi berfungsi untuk sirkulasi air pada media sehingga tidak terjadi stratifikasi (Fitriani, 20017). Pemberian aerasi yang optimal dan pemberian aerasi yang berlebih dapat meningkatkan biomassa *S. costatum* (Than *et al.*, 2015). Pada P3.A3 kombinasi pupuk 50% dari KNO_3 dan Na_2SiO_3 dengan pemberian aerasi 36 jam memiliki biomassa yang cukup tinggi sebesar 0,40 g/l. Hal ini sesuai dengan literatur bahwa kondisi lingkungan pada kultur mikroalga yang tidak optimal atau saat defisit unsur hara, maka akan mengubah jalur biosintesis lipid dan juga dapat menurunkan kecepatan pembelahan sel, sel tersebut akan merangkai asam lemak menjadi lipid simpanan (Hu *et al.*, 2008). Perlakuan cekaman nitrogen dapat meningkatkan lipid yang tinggi (Widianingsih dkk, 2012).

Dari hasil biomassa dapat kita bandingkan dari hasil kurva pertumbuhan. Bahwa hasil kurva pertumbuhan terlihat kurva pertumbuhan tidak sama dengan data biomassa. Hal ini pada kurva pertumbuhan yang kepadatan paling tinggi pada kurva dengan aerasi 12 jam, sedangkan pada biomassa perlakuan 36 jam memiliki biomassa yang tinggi. Prayitno (2016) menyatakan pola pertumbuhan mikroalga tidak selalu sama dengan biomassa, hal ini dimana produksi biomassa yang tinggi dapat diperoleh dari waktu pemanenan yang lebih singkat daripada perlakuan yang lain (Chiu *et al.*, 2009). Perbedaan antara kepadatan sel dan biomassa dikarenakan pada saat kurva pertumbuhan 12 jam sel melakukan pembelahan yang berulang-ulang, sedangkan pada perlakuan 36 jam tidak mengalami pembelahan yang berulang-ulang tetapi melakukan pembelahan secara seksual melalui pembentukan axospora. Fitriani (2017) menyatakan bahwa perkembangan *S.costatum* terbagi menjadi 2 cara yaitu pembelahan aseksual dan seksual. Secara aseksual dengan

pembelahan sel. Pembelahan sel yang berulang-ulang mengakibatkan ukuran sel semakin mengecil, disaat ukuran sel telah mencapai batas maksimal maka reproduksi *S.costatum* tidak akan terjadi secara aseksual tetapi berubah menjadi reproduksi seksual dengan pembentukan axospora. Axospora akan membentuk bagian epitheka dan hipotheka yang tumbuh menjadi sel yang besar.

Hasil pengukuran pendukung dilakukan hanya satu kali pengukuran pada saat awal kultur yang meliputi suhu, pH dan salinitas. Pengukuran suhu pada awal kultur berkisar 26°C. Hal ini sesuai dengan tumbuh optimal dari mikroalga *S. costatum* berkisar 25°C sampai 27°C (Uddin, 2007). Hasil pengukuran pH sekitar 7. Menurut Anggraeni & Sandhi (2015) bahwa ketika pH mengalami penurunan akan mengakibatkan penurunan aktivitas fotosintesis, bahwasannya *S.costatum* dapat tumbuh baik dengan pH 7-8. Salinitas pada awal kultur sebesar 33 ppt. Salinitas di perairan sangat penting untuk mempertahankan tekanan osmosis antara protoplasma dengan perairan. Semakin tinggi salinitas maka semakin tinggi tekanan osmosis tubuhnya dengan lingkungan semakin tinggi pula energi yang diperlukan untuk menyesuaikan diri (Odum, 1998). *S.costatum* tumbuh dengan baik pada salinitas berkisar 15-34 ppt dengan pertumbuhan optimal 25-29 ppt (Uddin, 2007).


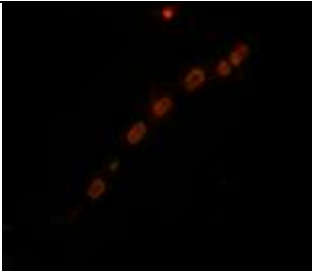
4.3 Kandungan Lipid Mikroalga *Skeletonema costatum*.

Lipid adalah senyawa makro molekul penyusun sel yang tersusun dari atom-atom hidrogen, karbon dan oksigen. Di dalam sel mikroalga, komposisi atom hidrogen lebih banyak dibandingkan atom karbon dan oksigen. Atom hidrogen pada mikroalga pada umumnya memiliki ikatan rangkap 18 sampai 32. Lipid pada mikroalga pada umumnya menghasilkan asam lemak (Widianingsih, 2012). Analisis kandungan lipid dilakukan secara kualitatif dengan metode pewarnaan. Pewarnaan tersebut menggunakan pelarut *Nile red* yang digunakan pewarnaan intraseluler lipid untuk mengevaluasi kandungan lipid pada

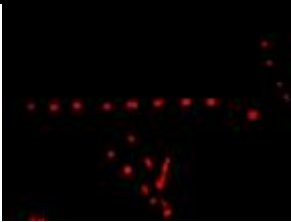
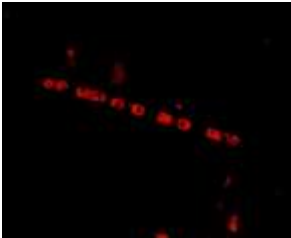
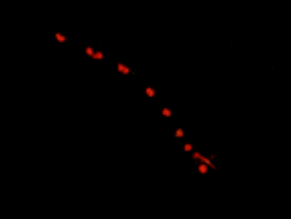
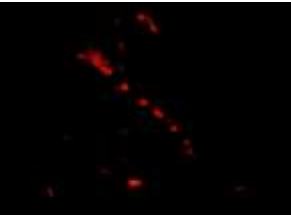
mikroalga, melalui pendaran warna (Cooksey et al., 1987). Pandaran kuning ketika dipaparkan lampu fluorescence, maka pandaran tersebut positif, sedangkan pandaran negatif ditunjukkan dengan warna merah (Mata *et al.*, 2010). Perubahan warna tersebut karena Nile red bereaksi dengan lipid yang terkandung dalam sel dengan mengubah ligan warna merah menjadi kuning (Carman, 1991).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terdapat beberapa pendaran warna dari pemberian *Nile red* terhadap beberapa perlakuan kombinasi pupuk dengan aerasi pada kultur *Skeletonema costatum*. yang teramati pada mikroskop fluorescence pada tabel 4.2.

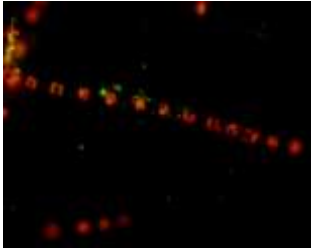

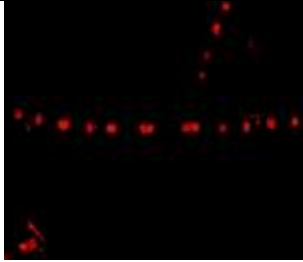
Tabel 4. 2 Data Pengamatan Triasilgliserol

Perlakuan	Gambar
P1 12 Jam	
P1 24 Jam	

Lanjutan Tabel 4.2 Data Pengamatan Triasilgliserol

P1 36 Jam	
P2 12 Jam	
P2 24 Jam	
P2 36 Jam	

Lanjutan Tabel 4.2 Data Pengamatan Triasilgliserol

P3 12 Jam	
P3 24 Jam	
P3 36 Jam	

Keterangan:

P1:Konsentrasi KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l

P2:Konsentrasi KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l

P3:Konsentrasi KNO_3 37,5 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l



Gambar 4. 5 Indeks warna uji kualitatif Lipid

Keterangan Kandungan Lipid

1: +

2: ++

3: +++

4: ++++

5: +++++

(Semakin banyak tanda (+) semakin tinggi kandungan lipid).

Tabel 4. 3 Hasil Kualitatif Kandungan Lipid *S. costatum*.

Nutrien	12 jam aerasi	24 jam aerasi	36 jam aerasi
P1	+++++	+++	+
P2	++++	++++	++
P3	+++++	+++	+

Keterangan:

P1:Konsentrasi KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l

P2:Konsentrasi KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l

P3:Konsentrasi KNO_3 37,5 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l

Berdasarkan tabel 4.2 dan 4.3 dapat diketahui bahwa *Skeletonema costatum* yang memandarkan warna kuning paling kuat adalah *S.costatum* dengan perlakuan P1 12 jam (KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 g/l) P3 12 jam (KNO_3 37,5 g/l dan Na_2SiO_3 15 g/l). Dapat dilihat pada tabel 4.1 biomassa pada perlakuan P1 12 jam memiliki biomassa yang rendah yaitu sebesar 0,18 g. berdasarkan data tabel biomassa dan triasilgliserol dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang mempunyai akumulasi lipid yang tinggi bukan merupakan perlakuan dengan nilai biomassa yang tinggi pula.

Pada tabel 4.3 dapat disimpulkan bahwa P2 mendominasi tinggi pada kandungan lipid. P2 dengan komposisi KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l bahwa dengan kondisi nitrogen terbatas sel

cenderung mengumpulkan metabolisme karbon dalam bentuk lipid (Ahlgren, 2003). Menurut Belloti (2013) bahwa tidak adanya nitrogen akan menghambat pertumbuhan mikroalga. Kekurangan nutrisi nitrogen akan memicu akumulasi pembentukan TAG dan lipid netral sebagai bentuk pertahanan dari stres jangka panjang (Ma *et al.*, 2016). Pada lingkungan yang tercekam Si, sel akan lebih menggunakan energinya untuk pembelahan selnya. Kondisi kekurangan Si maka akan terjadinya pembentukan dinding sel yang tidak normal. Hal ini berpengaruh pada turgiditas sel. Ketika lingkungan hipertonik, maka cairan akan masuk ke dalam sel yang bersifat hipotonik secara terus menerus, sehingga akan menyebabkan sel akan pecah. Hal ini sesuai dengan Sheehan *et al.*, (1998) menyatakan bahwa pada kondisi tercekam suatu organisme meningkatkan lipid untuk menjaga kondisi dalam sel *S.costatum* yang kekurangan Si.

Pada perbandingan aerasi terlihat dari 3 perlakuan aerasi yang memancarkan pendaran warna kuning yang tinggi terdapat pada perlakuan aerasi 12 jam, hal ini berbanding terbalik dengan hasil biomassa bahwasannya biomassa pada perlakuan 12 jam aerasi didapatkan hasil paling rendah dibandingkan dengan perlakuan aerasi yang lain. Pemberian aerasi yang tidak optimal dapat menyebabkan suplai oksigen yang terlalu tinggi atau terlalu rendah yang akan menyebabkan mikroalga berusaha mempertahankan diri dengan mengakumulasi lipid dalam keadaan tercekam (Afifah dan Joni, 2013). Menurut Matsunaga *et al.*, (2009) terdapat dua macam lipid yaitu lipid netral termasuk hidrokarbon dan triasilgliserida berwarna kuning sedangkan lipid polar berwarna merah.

Terdapat faktor lain selain nutrisi dan aerasi yang mempengaruhi kandungan lipid antar lain salinitas, pH, suhu, intensitas cahaya, fotoperiod (Musdalifah, 2015). Dalam penelitian ini dilakukan pengamatan parameter faktor lingkungan tetapi tidak diukur setiap jamnya hanya saja diukur waktu pertama kultur. Hal ini yang dapat mempengaruhi kandungan lipid tersebut.

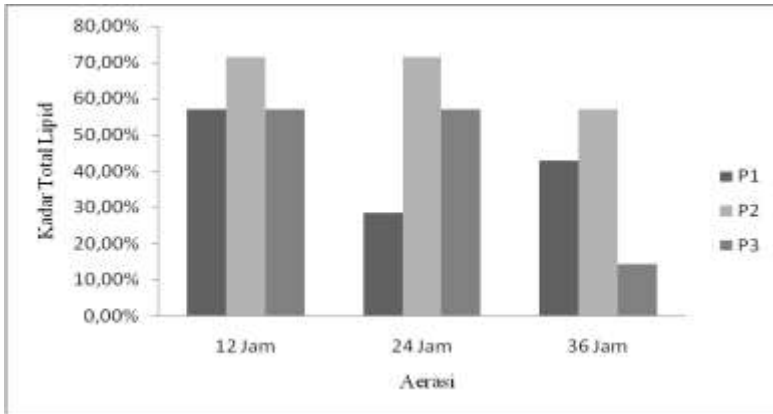
Mikroalga memiliki kondisi lingkungan yang optimum yang berbeda-beda pada tiap mikroalga. Pada salinitas, semakin tinggi perbedaan salinitas dengan habitat asal maka adaptasi yang dilakukan mikroalga semakin berat atau semakin tercekam begitu pula sebaliknya. Akibat dari proses adaptasi yang berat atau tercekam maka proses metabolisme mikroalga terganggu pula (Musdalifah, 2015). Nilai pH mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroalga. Perubahan nilai pH yang drastis dari keadaan pH yang optimum akan sangat mempengaruhi kerja enzim serta berpengaruhnya proses fotosintesis. Hal ini dikarenakan pH merupakan faktor yang paling penting yang dapat mengatur perubahan suhu, oksigen, dan kelimpahan mikroalga (Sukmawan, 2014). Dari faktor-faktor lingkungan tersebut ketika mikroalga tidak hidup pada lingkungan yang optimum, maka mikroalga mengalami cekaman terhadap lingkungan yang tidak sesuai.

Mekanisme pewarnaan sel tersebut meliputi pemisahan nile red dari pelarut pembawanya, penyebaran pewarna dengan pelarutnya melewati dinding sel dan membran sel menuju sel, memindahkan/transfer pewarna ke tetesan lipid, interaksi antara pewarna dengan lipid menghasilkan pendaran, difusi pelarut pembawa keluar dari sel (Halim *et al*, 2015). Biosintesis TAG pada mikroalga melalui jalur gliserol langsung dengan enzim asiltransferase yang menentukan komposisi asil TAG. Asam lemak yang diproduksi di kloroplas secara berurutan Acyl-CoA ditambahkan ke glycerol-3-pospat oleh enzim glycerol-3-pospat *acyl transferase* untuk membentuk lyso -PA, selanjutnya terbentuk *phosphaditic acid* (PA) oleh enzim lyso-phosphaditic acid acyl transferase. Phosphaditic acid (PA) mengalami defosforilasi oleh enzim spesifik *phosphaditic acid phosphatase* yang mengkatalisis pembentukan diasilgliserol (DAG). Pada tahap akhir, Acyl CoA ditambahkan ke rantai diasilgliserol yang dikatalisis oleh enzim diacylglycerol acyl transferase untuk membentuk triasilgliserol (Hu *et al*, 2008).

4.4 Pengaruh Kombinasi nutrien dan aerasi *S.costatum* Terhadap Total Lipid.

Metode Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus, sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Dewi dkk, 2008). Prinsip Soxhletasi adalah penyaringan yang berulang-ulang sehingga hasil yang didapat sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit. Pelarut organik dapat menarik senyawa organik dalam bahan alam secara berulang-ulang. Kadji, *et al.* (2013) menyatakan, ekstraksi cara soxhlet menghasilkan rendemen yang lebih besar jika dibandingkan dengan maserasi. Hal ini disebabkan karena dengan adanya perlakuan panas yang dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang tidak larut didalam kondisi suhu kamar, serta terjadinya penarikan senyawa yang lebih maksimal oleh pelarut yang selalu bersirkulasi dalam proses kontak dengan simplisia sehingga memberikan peningkatan rendemen.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil total kadar lipid kultur mikroalga *S.costatum* sebagai berikut



Gambar 4. 6 Hasil uji soxhlet kultur *S.costatum*.

Keterangan:

P1 :Konsentrasi KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l

P2 :Konsentrasi KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l

P3 :Konsentrasi KNO_3 37,5 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l

Dari gambar 4.4 hasil uji soxhlet bahwa pada pupuk P2 dengan konsentrasi KNO_3 0 g/l dan Na_2SiO_3 15 g/l terlihat tinggi daripada pupuk 1 dan pupuk 3. Pada pemberian aersi 12 jam dengan kombinasi pupuk defisiensi nitrogen 100% dan silika 50% didapatkan berat tertinggi yaitu 70% dan aerasi 24 jam pupuk 2 dengan nilai 70%. Dapat disimpulkan dari diagram batang kadar total lipd bahwa pada keseluruhan kadar total lipid tinggi dengan pemberian konsentrasi KNO_3 0 g/l dan Na_2SiO_3 15 g/l. Hal ini berbanding terbalik dengan biomassa dimana pada tabel 4.1 pada pemberian aerasi 12 jam, 24 jam ataupun 36 jam pada pupuk kedua dengan konsentrasi KNO_3 0g/l dan Na_2SiO_3 15 g/l terlihat nilai biomassa yang rendah daripada kombinasi pupuk yang lain. Menurut Nurmalitasari, (2014) bahwa kondisi pertumbuhan yang optimal, mikroalga memproduksi sejumlah besar biomassa tetapi kandungan lipid relatif rendah. Pada pupuk kedua konsentrasi nitrogen tidak ada, dimana nitrogen merupakan komponen penting untuk komposisi, pembentukan dan berfungsi protein dan

DNA dalam sel mikroalga. Dalam kondisi kandungan nitrogen rendah atau tercekam proses fotosintesis tetap berjalan meskipun lajunya menurun, tetapi dialihkan dari jalur sintesis protein ke sintesis lemak atau karbohidrat (Adetalo, 2011). Sehingga dalam kondisi defisiensi nitrogen dapat memicu akumulasi lipid simpanan dalam bentuk TAGs sebagai bentuk pertahanan diri dari stress jangka panjang (Ma *et al*, 2016). Ketika mengalami defisiensi Si, diatom hanya dapat memproduksi sedikit dinding sel, karena pada *S.costatum* silika sangat penting untuk pembentukan dinding sel pada mikroalga diatom salah satunya *Skeletonema costatum*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Perlakuan kombinasi aerasi dan pupuk diatom berpengaruh terhadap kepadatan sel dan biomassa dengan P1(KNO_3 75 gr/l dan Na_2SiO_3 30 gr/l) aerasi 12 jam menghasilkan kepadatan sel *Skeletonema costatum*, sebesar 395×10^3 sel/ml, perlakuan P3 (KNO_3 37,5 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l) dengan aerasi 36 jam menghasilkan biomassa sebesar 0,40 gram.
2. Perlakuan kombinasi aerasi dan pupuk diatom berpengaruh terhadap kandungan lipid dengan P2(KNO_3 0 gr/l dan Na_2SiO_3 15 gr/l) aerasi 12, 24 menunjukkan kandungan TAG dengan pendaran warna kuning serta kandungan total lipid sebesar 70%.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan penulis dalam penelitian ini yaitu perlu dilakukan penelitian uji esterifikasi pada perlakuan kombinasi pupuk dengan aerasi.

DAFTAR PUSTAKA

Abdulgani, N., Zuhdi, M. F. A., dan Sukei. 2007. Potensi Mikroalga *Skeletonema costatum*, *Chorella vulgaris*, dan *Spirulina platensis* sebagai Bahan Baku Biodiesel. **Laporan Penelitian**. Surabaya: ITS Press.

Adetola, T.G. 2011. **Effect of Nitrogen , Iron and Temperature on Yield and Composition of Microalgae (thesis)**. Stilwater: Oklahoma State University.

Afifah, A, S., Joni, H. 2013. Efek Aerasi dan Konsentrasi Subtrat Pada Laju Pertumbuhan Alga Menggunakan Sistem Bioreaktor Proses Batch. **Jurnal Teknik Pomits**, 2(1): 1-5.

Ahlgren, G., Hyestrand, P. 2003. Nitrogen Limitation Effect of Different Nitrogen Sources on The Nutritional Quality of Two Fresh Water Organism *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae) and *Synechococcus* sp. (Cyanophyceae). **Journal of Phycology**, 39: 906-917.

Aminatin, D.S., Tutik, N. 2013. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Media Ekstrak Tauge (MET) dengan Pupuk Urea Terhadap Kadar Protein *Spirulina* sp. **Jurnal Sains Dan Seni Pomits** Vol. 2, No.2.

Amini, S dan Susilowati, R. 2010. Produksi Biodisel dari Mikroalga *Batryococcus brunni*. **Squalen**. Vol, 5: 71-77.

Andrews, R., Kunlei L., Mark C., Czarena C., and Aubrey S. 2008. Feasibility of capture and utilization of CO₂ from kentucky power plants by algae systems. **Technical Review of the Literature Related to the Cultivation and Harvesting of Algae for CO₂ Fixation and the Co-Production of Fuels and Chemicals**. University of Kentucky. USA. 21 pp.

Anggraeni, M. D dan Shandi, P. A. 2015. Produksi Biomassa, Lipid dan Protein Sel Tunggal Mikroalga *Nannochloropsh* Sp Sebagai Suplemen Makanan. **Penelitian Hibah Bersaing**. Bali: Universitas Udayana.

Armanda, D. T. 2013. Pertumbuhan Kultur Mikroalga Diatom *Skeletonema costatum* Isolat Jepara Pada Medium F/2 Dan Medium Conway. **Bioma**. Vol 2(1): 9-12

Balzano, S., Dianarsano, Kooistra, W, H, C, E. 2010. Effects of Salinity on The Growth Rate and Morphology of Ten *Skeletonema* Strains. **Journal of Plankton Reserach**, 0(0):1-9.

Belloti, G, Marco, B., Benedtta, D, C., Paolo, D, C., Marco, S. 2013. Effect of Nitrogen and Phosporus Starvation on *Chlorella vulgaris* Lipid Productivity and Quality under Different Tropic Reginens for Biodisel Production. American: **Journal of Plant Sciences**, 4: 44-51.

Bold, H.C and M. J. Whyne. 1985. **Introduction to the Algae : strycture and Reproduction**. Sec.ed. Pretice-Hall, In: New Jersey

Brown, L, M. Sparague, S., Jarvis, E, E., Dunahay, T, G. Roesseler, P, G., Zeiler, K, G. 1993. **Biodisel from Aquatic Species**. National Renewble Laboratory. Us: Department of energy. Colorado Mildwest Research Institut.

Cahyaningsih, S., Ahmad,N., Sugeng, J. P. 2006. Kultur **Murni Phytoplankton**. Departemen Kelautan Dan Perikanan Budidaya Air payau. Situbondo.

Campbell, N. A., Reece, J, B., Mitchell, L., G. 2002. **Biologi**. Jakarta: Erlangga.

Carman, K. R., Thistle, D., Ertman, S. C., Foy, M. 1991. Nile Red as A Probe for Lipid Storage Product in Benthic Copepods. **J. Mar Ecol.** Vo. 74: 307-311.

Chaiklahana, R., Chirasuwana, N., Loha, V., and Bunnag, B. 2008. Lipid and Fatty Acids Extraction from the Cyanobacterium *Spirulina*. **Science Asia.** 34: 299-305.

Cooksey, K, E. 1987. **Final Report to The Solar Energy Research Institute.** Departement of Microbiology. Montana State University.

Dewi, A. T. C., Fitria, R., Lailatul, Q., Mahfud. 2018. Potensi klorofil ekstrak mikroalga hijau (*Chlorella* sp.) dan Daun Suji (*Pleomele angustifolia*) menggunakan metode Soxhlet sebagai Dye Sentizer pada Dye Sensitized Solar Cells. **Jurnal Teknik ITS Vol.7, No. 1**

Duong, V. T., Li, Y., Nowak, E., and Schenk, M. 2012. Microalgae Isolation and Selection for Prospective Biodiesel Production. **Journal of Energies.** Vol 5:1835-1849

El-sheekh, A., Abomohra, A., Hanelt, D. 2013. Optimation of Biomass and Fatty Acid Productivity of *Scenedesmus obliquos* as a Promising Microalga for Biodiesel Production. **Journal of Microbiology and Biotechnology,** 29: 915-922.

Endrawati, H., Christin, M., Widianingsih. 2012. Densitas dan Kadae Total Lipid Mikroalga *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Fotoperioda yang Berbeda. **Buletin Oseanografi Marina** Vol, 1 (33- 38).

Fauziah, F. & Hatta, M. 2015. Pengaruh Pemberian Kascing (Bekas Cacing) Dengan Dosis yang berbeda dalam kultur *Skeletonema Costatum*. **Acta Aquatic Sciences Journal,** 2(1), ISSN: 2406-9825.

Fitriani., Fendy., Rochmady. 20017. Pengaruh Pemberian Pupuk Anorganic (NPK + Silikat) dengan dosis berbeda terhadap kepadatan *Skeletonema costatum* pada pembenihan udang windhu. **Jurnal Akuakultur Pesisir dan Pulau-pulau Kecil Volume 1 No.1.**

Goncalves, E.C., Wilkie, A.C., Kirst, M., Rathinasabapathi, B. 2016. Metabolic Regulation of Triacylglycerol Accumulation in The Green Algae: Identification of Potential Targets for Engineering to Improve Oil Yield. **Plant Biotechnology Journal**, Vol. 14: 1649-1660

Graham,James M., Linda E.Graham., Shahrizim B.Zulkifly., Brian F.Pfleger., Spencer W.Hoover., Jun Yoshitani. 2012. Freshwater Diatoms as a Source of Lipid for Biofuels. **J Ind Microbiol Biotechnol** 39:419–428.

Haesman, M.P., Sushames, T.M., Diemar, J.A., O'Connor, W. A., and Foulkes, L, A. 2001. Prosuotion of Microalga Concentrares for Aquaculture Part 2: Development and Evaluation of Haversting, Preservation, Storage, and Feeding Technology. **Final Report of FRDC Project**. Vol 93:123-342.

Halim, R., Webley, P.A. 2015. Nile Red Staining for Oil Determination in Microalgal Cells: A New Insight through Statistical Modelling. **International Journal of Chemical Engineering**, Vol. 2015: 1-14.

Hariyanto, A., Ully, S., Sugeng, T., Sigit, P. 2015. Produksi Biodisel Dari Transesterifikasi Minyak Jelantah Dengan Bantuan Gelombang Mikro: Pengaruh Intensitas Daya Dan Waktu Reaksi Terhadap Rendemen Dan Krakteristik Biodise. **Agritech**, Vol 35, No 2

Hastuti, Y.P. 2011. Nitrifikasi dan Denitrifikasi di Tambak. **Jurnal Akuakultur Indonesia**, Vol. 10 (1): 89-98.

Hu, Q. 2004. **Environmental Effect on Cell Composition in Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology** Richmond A, Ed Blackwell. United Kingdom:Oxford 83-93.

Hu, Q., Milton, S., Eric, J., Maria, G., Matthew, P., Michael, S., Al, D. 2008. Microalgal triacylglycerol as feedstock for biofuel production perspectives and advance. **The Plant Journal** 54 621-639.

Ip, S, f., Chen, F. 2005. Employment of Reactive Oxygen Species to Enhance Astaxanthin Formation in *Chlorella Zofingiensis* in Heterotrophic Culture. **Process Biochemistry**, 40: 3491-3496.

Isnansetyo, Alim., dan Kurniastuty. 1995. **Teknik kultur Phytoplankton Zooplankton (Pakan alam untuk pembenihan organisme laut)**. Yogyakarta. Kanisius

Jeffreys, C., Rosenberger, J., Rorrer, G, L. 2013. Fed-Batch Cultivation and Bioprocess Modeling of *Cylotella s*, for Enhanced Fatty Acid Production by Controlled Silicon Limitation , **Alga Research**, 2: 16-27.

Jim, E. L. 2013. Metabolisme Lipoprotein. **Jurnal Biomedik (JBM)**, Vol. 5, No. 3:149-156

Julianti, N, K., Tantri, K, W., Ignatius, G., Achmad, R. 2014. Pembuatan Biodisel Dari Minyak Kelapa Sawit RBD Dengan Menggunakan Katalis Berpromotor Ganda Berpenyangga γ -Alumina (CaO/MgO/ γ -Al₂O₃) dalam Reaktor Fluidized Bed. **Jurnal Teknik Pomits** Vol, 3. No, 2 ISSN 2337- 3539.

Kadji, M. H., M. R. J. Runtuwene., dan G. Citraningtyas. 2013. **Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak**

Etanol Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). FMIPA UNSRAT. Manado.

Kasrina., Sri, I., Wahyu, E, J. 2012. Ragam Jenis Mikroalga Di Air Rawa Kelurahan Bentirang Permai Kota Bengkulu Sebagai Alternatif Sumber Belajar Biologi SMA. **Jurnal Exacta**, Vol X No. 1 ISSN 1412-3617.

Katili, V.R.A. 2012. Komposisi Asam Lemak Mikroalga *Skeletonema costatum*, *Thalassiora* sp, *Chaetoceros garcilis*. **Skripsi**. Bogor. Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB.

Kawaroe, M., Prariono, T., Sunuddin, A., Sari, S.W., Augustine, D., 2010. **Mikroalga: Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar**. Bogor PT. Penerbit IPB Press.

Ketaren, S. 1986. **Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan**. Cetakan Pertama. UI. Press. Jakarta.

Kumar, S., and Prabu, V. A. 2014. Culture of the phytoplankton *Skeletonema costatum*, Cleve, 1873. **Journal Curr Microbiology App Science**. Vol 3(1) :129-136

Latala, Adam. 1991. **Effects of salinity, temperature and light on the growth and morphology of green planktonic algae**. Gdynia. Oceanologia

Lavens and Soergeloos. 1996. **Influence of Dietary Vitamin C Dosage on Turbot (*Scophthalmus maximus*) and European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*)**. Nursery Stages. University of Heidelberg, Germany.

Li, Y., Forough G, N., Forough, G, N., Sourabh, G., Tania, C, A., Kristofer, J, T., Wael, A, G., Simon, T., Perr, M, S. 2014. A Comparative Study: the impact of different lipid extraction

method on current microalgal lipid research. **Microbial Cell Factories** (13-14),.

Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C.Q., and Calero, N.D. 2008. Biocatalysts and Bioreactor Design. **BiotechProg**. Vol 24:815-820.

Ma, X. N., Chen, T.P., Liu, B.Y., Feng, C. 2016. Lipid Production from *Nannochloropsis*. **Journal Mar. Drugs**, Vol. 14 (61): 1-18.

Mahdi, M.Z., Titisari, Y.N., Hadiyanto. 2012. Evaluasi Pertumbuhan Mikroalga Dalam Medium Pome: Variasi Jenis Mikroalga, Medium Dan Waktu Penambahan Nutrisit. **Jurnal Teknologi Kimia dan Industri**, Vol. 1 (1): 284-291.

Mata, T. M., Martins, A. A., Caetano, N. S., 2010. Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review, **Renew. Sustainable Energy Rev**, Vol. 14: 217-232.

Matsunaga, T., Matsumoto, M., Maeda, Y., Sugiyama, H., Sato, R., Tanaka, T. 2009. Characterization of Marine Microalgae, *Scenedesmus* sp. strain JPCCGA0024 toward Biofuel Production,” **Biotechnol. Let**, Vol. 31: 1367-1372.

Ma'rufatin, A. 2016. Pengaruh Pemanenan Mikroalga (*Chlorella* sp) Secara Kontinyu Terhadap Pertumbuhan Di Dalam Fotobioreaktor. **JRL** Vol. 9 No. 1 19-30

McMichens, R, B. 2009. **Algae as a Source for Biodiesel Paper of University of Maryland**, College Park Library (unpublished). 40 pp

Muhaemin, M., Practica, F., Dona, R.S., Agustina, T. 2014. Starvasi Nitrogen dan Pengaruhnya Terhadap Biomassa dan

Protein Total *Nannochloropsis* sp. **Maspari Journal**, Vol. 6 (2). 98-103

Musdalifah., Yoswita, R., Sriamini. 2015. Kultivasi dan Ekstraksi Minyak Dari Mikroalga *Botryococcus braunii* Dan *Nannochloropsis* sp. **Bioma** 11 (1).

Nurmalitasari, E., Ali, R, S. 2014. Injeksi Karbon Dioksida (CO₂) Pada Media Pemeliharaan Terhadap Biomassa dan Kandungan Total Lipid Mikroalga *Tetraselmis chuii*. **Journal Of MaRINE Research** Vol 3, No 3: 388-394.

Odum, E., P. 1998. **Dasar-Dasar Ekologi Edisi Ketiga**. Yogyakarta: Gajah Mada Universitas Press.

Prartono,Tri., Mujizat Kawaroe., Viky Katili. 2013. Fatty Acid Composition of Three Diatom Species *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira* sp. and *Chaetoceros gracilis*. **International Journal of Environment and Bioenergy**, 6(1): 28-43. ISSN: 2165-8951

Pratiwi,Syam., Tutik Nurhidayati., Sri Nurhatika., Dini Ermavitalini., Anton Muhibbudin. 2015. The Influences of Physiological Stress from Silicon (Si) Nutrient toward Total Lipid Content at *Skeletonema costatum*. **J. Appl. Environ. Biol. Sci.**, 5(11)68-71. ISSN: 2090-4274

Prayitno, J. 2016. Pola Pertumbuhan dan Pemanenan Biomassa dalam Fotobioreaktor Mikroalga Untuk Penangkapan Carbon. **Jurnal Teknologi Lingkungan** Vol 17 No 1.

Raqeab, A., and Bhargavi, R. 2015. Biodiesel Production from waste cooking oil. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, 7(12): 670-681.

Reynolds, C. S. 2006. **The Ecology of Fitoplankton**. Cambridge University Press. USA.

Resmawati, M. B., Endang, D.M., Laksmi, S. 2012. Pengaruh Pemberian Pupuk Cair Limbah Ikan Lemuru (*Sardinella sp*) Terhadap Kepadatan Populasi *Spirullina platensis*. **Journal of Marine and Coastal Science**, Vol. 1 (1): 22-33.

Rudiyanti, S. 2011. Pertumbuhan *Skeletonema costatum* Pada Berbagai Tingkat Salinitas Media. **Jurnal Saintek Perikanan**. Vol 6(2) 69-76.

Rusdiani, R. R., Rachmat, B., Hanif, M. 2016. Optimalisasi Teknologi Fotobioreaktor Mikroalga Sebagai Dasar Perencanaan Strategi Mitigasi Gas CO₂. **Jurnal Teknik ITS** Vol.5, No 2.

Shahidi, F. 2003. Extraction and Measurement of Total Lipid. **Current Pr Otocols in Food Analytical Chemistry**. Vol 7(1).

Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., Roessler, P. 1998. **A Lolk Back at the U.S Departemen of Energy Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae**. Washington National Renewable Energy.

Sukmawan, M, A., Nyoman, S, A., I Wayan, A. 2014. Optimization Salinity And Initial pH On The Biomass Production Of *Nannochloropsis sp. K-4*. **Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri**. Vol.2 No1 : 19-28.

Sumeru, S, U., Anna S. 1992. Pakan Udang Windhu, Yogyakarta: Penerbit Kanasius.

Supriyantini, Endang. 2013. Pengaruh Salinitas terhadap Kandungan Nutrisi *Skeletonema costatum*. **Buletin Oseanografi Marina**. Vol. 2:51- 57

Than, N, T. Yoshimitsu, U., Noridah, O., Lukman, I. 2015. The Effect of Aeration Rate on The Growth of *Scenedesmus*

quadricauda in Column Photobioreactor. **Journal Of The Japan Institute of Energy**, 94: 177-180.

Triswanto, Y. 2011. Kultivasi Diatom penghasil Biofuel Jenis *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira* sp, dan *Chaetoceros gracilis* pada Sistem Indoor dan Outdoor. **Skripsi**. Departemen Ilmu dan Teknologi kelautan. Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor.

Uddin, Sheik Aftab., Muhammad Zafar. 2007. Mass culture of marine diatom *Skeletonema costatum* (Grevillege) cleve collected from the bay of Bengal. **Pakistan Journal of Marine Sciences**, Vol. 16(1): 33-38.

Umiatun, S., Carmudi. 2017. Hubungan Antara Kandungan Silika Dengan Kelimpahan Diatom Benthik di Sepanjang Sungai Pelus Kabupaten Banyumas. **Scripta Biologica**, 4(1): 61-67.

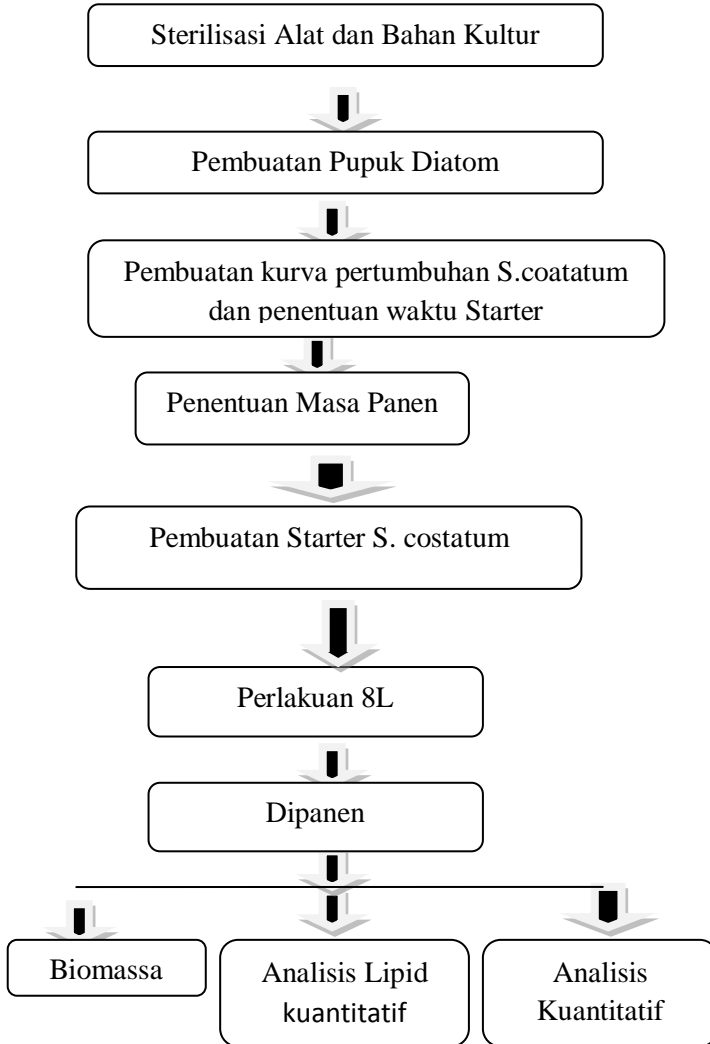
Vonshak, A., Torzillo, G. 1985. **Environmental Stress Physiology In Handbook of Microbial Culture**. UK: Oxford. 57-82

Widianingsih., Retno, H., H. Endrawati., Valentina, R. Iriani. 2012. Kandungan Lipid Total *Nannochloropsis oculata* pada Kultur dengan Berbagai Fotoperiode. **Jurnal Ilmu Kelautan**, Vol. 17 (3): 119-124.

Yanuhar,Uun. 2016. **Mikroalga Laut**. Malang: UB Press

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja



Lampiran 2. Pengukuran kepadatan sel kultur *S.costatum* 12 jam aearsi.

Jam ke-	P1	P2	P3
0	0	0	0
6	21875	23750	45000
12	41875	43437,5	45500
18	245000	52050	78560
24	395000	102187,5	192500
30	389062,5	289764	178549
36	291562,5	386250	145760
42	212187,5	223437,5	155937,5
48	203437,5	88625	147812,5
54	119812,5	85000	57612,5
60	38125	26562,5	40000
66	53125	10312,5	24687,5
72	3125	6562,5	11562,5
78	0	0	0

Lampiran 3. Pengukuran kepadatan sel kultur *S.costatum* 24 jam aearsi.

Jam ke-	P1	P2	P3
0	0	0	0
6	19375	11540	24375
12	29687,5	32812,5	81250
18	62812,5	103125	101875
24	137500	108750	131975
30	164687,5	101562,5	142593,8
36	159125	53750	145937,5
42	152500	45000	140312,5
48	140125	37500	137187,5

Lanjutan Lampiran 3 Pengukuran kepadatan sel kultur *S.costatum*
24 jam aearsi.

54	73375	22817,5	81562,5
60	50625	26562,5	31562,5
66	10312,5	22500	30625
72	4687,5	16250	23437,5
78	0	0	0

Lampiran 4. Pengukuran kepadatan sel kultur *S.costatum* 36 jam
aearsi.

Jam ke-	P1	P2	P3
0	0	0	0
6	14875	10000	30937,5
12	64687,5	30312,5	96875
18	95000	45625	103937,5
24	108750	48626	104375
30	97187,5	58750	88750
36	78437,5	61093,75	76875
42	70961,5	61350	67812,5
48	69752,5	47625	62500
54	62375	28937,5	50250
60	55625	10187,5	3437,5
66	46562,5	8375	2125
72	42500	7187,5	1187,5
78	0	0	0

Lampiran 5. Hasil biomassa kultur *S.costatum*

Perlakuan	Berat Basah		Berat Kering		Biomassa	
	I	II	I	II	I	II
A1	1,183	1,95	0,75	0,76	0,17	0,18
A2	2,47	2,6	0,8	0,79	0,22	0,21
A3	1,17	1,98	0,9	0,87	0,32	0,29
A4	4,27	2,98	1	0,88	0,42	0,3
A5	2,46	2,55	0,78	0,78	0,2	0,2
A6	3,81	3,51	0,98	0,87	0,4	0,29
A7	1,86	3,59	0,9	0,95	0,32	0,37
A8	3,17	5	0,98	0,95	0,4	0,37
A9	3,37	2,57	1,01	0,95	0,43	0,37

Lampiran 6. Uji Anova two way Biomassa *S. costatum*.

Factor Information

Factor Type Levels Values

s Fixed 3 P1; P2; P3

d Fixed 3 12 jam; 24 jam; 36 jam

Analysis of Variance

Source DF Adj SS Adj MS F-Value P-Value

s 2 0,02173 0,010867 5,65 0,026

d 2 0,06310 0,031550 16,41 0,001

s*d 4 0,03047 0,007617 3,96 0,040

Error 9 0,01730 0,001922

Total 17 0,13260

Lampiran 7. Uji lanjut Tukey interaksi antara kombinasi pupuk dengan aerasi.

Tukey Pairwise Comparisons: Response = a, Term = s*d

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

s*d	N	Mean	Grouping
P3 36 jam	2	0,400	A
P2 36 jam	2	0,385	A B
P1 24 jam	2	0,360	A B C
P1 36 jam	2	0,345	A B C D
P3 24 jam	2	0,345	A B C D
P3 12 jam	2	0,305	A B C D
P2 12 jam	2	0,215	B C D
P2 24 jam	2	0,200	C D
P1 12 jam	2	0,175	D

Lampiran 8. Uji lanjut Tukey Aerasi

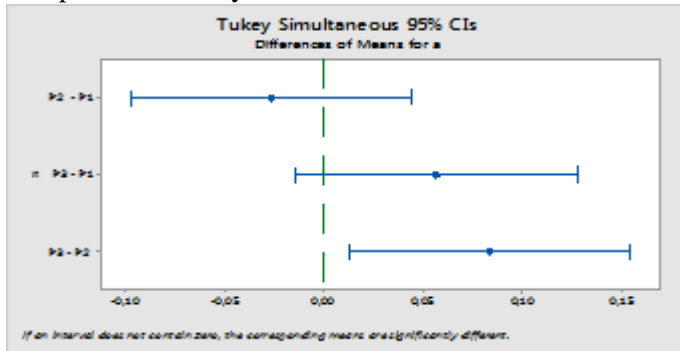
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

d	N	Mean	Grouping
36 jam	6	0,376667	A
24 jam	6	0,301667	B
12 jam	6	0,231667	B

Lampiran 9. uji lanjut Tukey kombinasi pupuk.

s	N	Mean	Grouping
P3	6	0,350000	A
P1	6	0,293333	A B
P2	6	0,266667	B

Lampiran 10. Tukey 95%

Lampiran 11. Pengukuran kepadatan sel kultur *S.costatum*

No	Perlakuan	Keterangan
1		Bibit <i>S. costatum</i> 50 ml
2		449,5 air laut + pupuk diatom 0,5
3		Diaerasi
4		Diukur kepadatan sel








Lampiran 12. Perlakuan Penelitian *S.costatum*

No	Perlakuan	Keterangan
1		Air Laut 7,192ml
2		Pupuk yang telah diberi konsentrasi yang berbeda. (8 ml)
3		Diambil kultur mрни bibit <i>S.costatum</i> 800ml
4		Semua bahan dimasukkan ke dalam toples 8 L dan diaerasi selama 12 jam 24 jam dan 36 jam.







Lampiran 13. Pemanenan Biomassa

No		
1		Kultur Perlkuan yang telah diaerasi dan sudah menunjukkan fase ekponensial.
2		Dituangkan di toples dan disaring dengan kain satin.
3		Didapatkan hasil berat basah.
4		Dilakukan pengovenan.

Lampiran 14. Uji analisis Kandungan Triasilgliserol

No	Perlakuan	Keterangan
1		Stock Nile Red (1mg Nile Red + 10 ml aseton).
2		Hasil kultur pemanenan diambil 1ml +0,2 Stock Nile Red.
3		Dimasukkan kedalam mikrotube dan dihomogenkan selama 30 detik. Setelah itu dibilas dengan aquades.
4		Di spektrofotometer
5		Dihomogenkan lagi dalam 30 detik
6		Setelah itu ditetaskan 1 tetes ke prepatat
7		Dan diamati di mikroskop fluorescent.

Lampiran 15. Uji Kuantitatif Kandungan Total Lipid Metode Soxhlet.

NO	Perlakuan	Keterangan
1		Hasil pemanenan kultur mikroalga <i>S.costatum</i> yang telah dioven.
2		Dimasukkan serbuk mikroalga dikeras saring yang ujungnya ditali dengan benang.
3		Dimasukkan Heksana: etanol dengan perbandingan 3:1
4		Di Soxhlet selama 6 Jam
5		Ekstrak minyak setelah di Soxhlet
6		Dilakukan Pengovenan dengan suhu 105°C.

Lampiran 16. Perhitungan kadar total lipid

Perlakuan	Berat Soxhlet	Hasil
P1 12 jam	0,04	57,14
P2 12 jam	0,05	71,42
P3 12 jam	0,04	57,14%
P1 24 jam	0,02	28,57%
P2 24 jam	0,05	71,42%
P3 24 jam	0,04	57,14%
P1 36 jam	0,03	42,80%
P2 36 jam	0,04	57,14%
P3 36 jam	0,01	14,28%

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Kota Lamongan pada tanggal 13 Maret 1997, dengan Ibu bernama UMMU dan Ayah bernama Yaskun. Riwayat pendidikan penulis sebagai berikut: SDN Sukorejo II Lamongan, SMPN 1 Deket, SMAN 1 Lamongan, Institut Teknologi 10 Nopember Departemen Biologi.

Pengalaman Organisasi yang diikuti penulis selama menempuh pendidikan di Biologi ITS adalah sebagai Staff Departemen Entrepreneur Himpunan Mahasiswa Biologi ITS PERIODE 2016/2017, Staf ahli Departemen Entrepreneur Himpunan Mahasiswa Biologi ITS (HIMABITS) periode 2017/2018. Selain itu pengalaman kepanitian yang pernah diikuti meliputi LKMM TD HIMABITS pada tahun 2016, participant of EPW ON Talk National Seminar pada tahun 2016, Staff Departemen Kesejahteraan anggota pada ITS Badminton Community periode 2017-2018, sie konsum BOF (*Biology Opus Fair*) 9 tahun 2016, Koordinator Olimpiade BOF IX Wilayah Lamongan tahun 2017, IBC Intern Cup Sie Pubdekdok pada tahun 2015, latihan keterampilan mahasiswa wirausaha pada tahun 2015, panitia publikasi dan dokumentasi pada acara ITS OPEN pada tahun 2016, dan Juara 1 Kategori Ganda Putri dalam acara IBC Intern Cup pada tahun 2016.