



TUGAS AKHIR - SB141510

ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROALGA YANG BERPOTENSI SEBAGAI BAHAN BAKU BIODIESEL DI PERAIRAN ESTUARIA SUNGAI PORONG

YUDI APRIYATMOKO
1511100004

Dosen Pembimbing:
Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.

JURUSAN BIOLOGI
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2015



Final Project - SB141510

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF
MICROALGAE THAT POTENTIAL AS RAW
MATERIAL FOR BIODIESEL IN ESTUARY OF
PORONG RIVER**

**Yudi Apriyatmoko
151110004**

**Advisor Lecturer:
Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.**

**BIOLOGY DEPARTMENT
Mathematics and Natural Science Faculty
Institute of Technology Sepuluh Nopember
Surabaya 2015**

LEMBAR PENGESAHAN

ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROALGA YANG BERPOTENSI SEBAGAI BAHAN BAKU BIODIESEL DI PERAIRAN ESTUARIA SUNGAI PORONG

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Sains
Pada
Jurusan S-1 Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

YUDI APRIYATMOKO

NRP. 1511 100 004

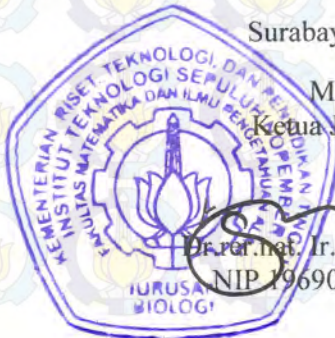
Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

Dini Ermavitalini, S.Si, M.Si..........(Pembimbing 1)

Surabaya, 27 Juli 2015

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi


Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si
NIP. 19690907 199803 2 001



ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF MICROALGAE THAT POTENTIAL AS RAW MATERIAL FOR BIODIESEL IN ESTUARY OF PORONG RIVER

Student name : Yudi Apriyatmoko
NRP : 1511 100 004
Department : Biology
Advisor Lecturer : Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.

Abstract.

Microalgae is an organism that very abundant in water and fast growing. High lipid contain in certain microalgae can be used as raw material for biodiesel. Estuary of Porong river area is had been a dump site for industrial waste, this condition will influences the microalgae metabolism especially in lipid biosynthesis. This study aims to know the type and characteristic of microalgae that found in estuari of Porong river with the potential as raw material for biodiesel. The ldetermination of microalgae lipid done by isolate microalgae then tested the lipid qualitatively using Nile Red with luminescence color at microscope fluorescence.

Based on the research has been obtained that genus of microalgae that can be isolated from the estuary of Porong river is *Oscillatoria*, *Nitzschia*, *Merismopedia*, *Navicula*, *Chlorella*, and *Melosira*. The analysis of lipids in qualitatively showed that the genus *Chlorella* and *Nitzschia* containing high accumulation of lipids intracellular.

Keyword: Biodiesel, Lipid, Microalgae, *Nile Red*

ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROALGA YANG BERPOTENSI SEBAGAI BAHAN BAKU BIODIESEL DI PERAIRAN ESTUARIA SUNGAI PORONG

Nama : Yudi Apriyatmoko
NRP : 1511 100 004
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.

Abstrak

Mikroalga merupakan organisme yang sangat melimpah di perairan dengan pertumbuhan yang sangat cepat. Kandungan lipid yang tinggi dalam biomassa mikroalga tertentu dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku biodiesel. Estuaria sungai porong merupakan perairan yang pernah menjadi lokasi pembuangan limbah industri, kondisi tersebut akan mempengaruhi metabolisme mikroalga terutama dalam proses biosintesis lipid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis dan karakteristik mikroalga yang ditemukan di perairan estuaria sungai porong yang berpotensi sebagai bahan baku biodiesel melalui seleksi terhadap kandungan lipid secara kualitatif. Penentuan lipid mikroalga dilakukan dengan cara mengisolasi mikroalga kemudian diuji kandungan lipidnya dengan menggunakan Nile Red dengan melihat pendaran warna pada mikroskop fluorescence.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa genus mikroalga yang dapat diisolasi dari perairan estuaria sungai porong adalah Oscillatoria, Nitzschia, Merismopedia, Navicula, Chlorella, dan Melosira. Hasil analisis lipid secara kualitatif menunjukkan bahwa genus Chlorella dan Nitzschia mengandung akumulasi lipid intraseluler yang tinggi.

Kata Kunci : Mikroalga, Lipid, Nile Red, Biodiesel

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, rasa syukur dipanjatkan kepada kehadiran Allah SWT yang telah memberikan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir (TA) dengan judul **Isoalasi dan Karakterisasi Mikroalga yang Berpotensi sebagai Bahan Baku Biodiesel di Perairan Estuaria Sungai Porong**. Penelitian TA ini dilakukan pada bulan Februari-Juni 2015. Penyusunan proposal TA ini merupakan suatu syarat untuk menyelesaikan mata kuliah Tugas Akhir serta untuk melakukan penelitian TA di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Dalam mengerjakan proposal penelitian TA tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing tugas akhir, serta penulis juga berterima kasih kepada Dra. Nurlita Abdulgani, M.Si. sebagai penguji I, Kristanti Indah P, S.Si., M.Si. sebagai penguji II dan Dini Ermavitalini S.Si., M.Si. sebagai penguji III yang telah membantu dalam kesempurnaan proposal seminar TA. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada orang tua, kakak dan adik yang selalu memberikan doa dan motivasinya. Penulisan proposal ini juga tidak lepas dari bantuan dan dukungan teman-teman seperjuangan angkatan 2011, dan seluruh pihak yang telah membantu.

Walaupun penulis menyadari masih banyak kekurangan, namun besar harapan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat.

Surabaya, 27 Juli 2015

Yudi Apriyatmoko

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
URAIAN SINGKAT	iii
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Mikroalga	5
2.2 Habitat Mikroalga	7
2.3 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga	7
2.3.1 Unsur Hara	8
2.3.2 Intensitas Cahaya	9
2.3.3 Suhu	9
2.3.4 pH dan Salinitas	10
2.3.5 O ₂ (Oksigen Terlarut)	10
2.3.6 Kecerahan	11
2.4 Potensi Mikroalga Sebagai Bahan Baku Biodiesel	11
2.5 Komposisi Kimia Mikroalga	14
2.6 Biosintesis Triasilgliserol (TAG) Pada Mikroalga	15
2.7 Produksi Biodiesel	19
2.8 Estuaria Sungai Porong	21

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
3.2 Prosedur Kerja.....	26
3.2.1 Pengambilan Data Parameter Lingkungan.....	26
3.2.1.1 Kecerahan Air.....	26
3.2.1.2 Suhu.....	26
3.2.1.3 Salinitas	26
3.2.1.4 pH perairan.....	27
3.2.1.5 Kadar Oksigen (DO).....	27
3.2.1.6 Amonium (NH_4^+), Nitrat (NO_3^-), Nitrit (NO_2^-) dan Fosfat (PO_4^{2-}).....	27
3.2.2 Pengambilan Sampel Mikroalga.....	27
3.2.3 Perhitungan Kelimpahan Mikroalga.....	28
3.2.4 Identifikasi dan Isolasi Sampel Mikroalga.....	29
3.2.5 Analisis Kualitatif kandungan Lipid Mikroalga...	31
3.3 Analisa Data.....	31

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Parameter Lingkungan Perairan	33
4.2 Komposisi dan Kelimpahan Mikroalga.....	35
4.2.1 Komposisi mikroalga perairan Estuaria Sungai Porong.....	35
4.2.2 Kelimpahan Mikroalga.....	39
4.2.2.1 Kelimpahan mikroalga di stasiun 1.....	40
4.2.2.2 Kelimpahan mikroalga di stasiun 2.....	41
4.2.2.3 Kelimpahan mikroalga di stasiun 3.....	43
4.3 Isolasi dan Kultur Mikroalga.....	45
4.4 Analisis Lipid Pada Mikroalga.....	53

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	59
5.2 Saran.....	59

DAFTAR PUSTAKA.....	61
LAMPIRAN.....	75

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Perbandingan potensi beberapa bahan bakar biodiesel.....	13
Tabel 2.2 Kandungan lipid dari beberapa jenis mikroalga.....	14
Tabel 2.3 Komposisi Kimia Mikroalga.....	15
Tabel 2.4 Kelimpahan Jenis Fitoplankton di Estuaria Sungai Porong.....	23
Tabel 3.1 Koordinat stasiun pengambilan sampel.....	26
Tabel 3.2 Parameter Fisika Kimia Perairan.....	32
Tabel 4.1 Pengamatan parameter fisika dan kimia perairan estuaria sungai porong.....	33
Tabel 4.2 Isolat mikroalga yang berhasil diisolasi dari perairan estuaria sungai porong.....	45
Tabel 4.3 Pengamatan kandungan lipid mikroalga secara kualitatif.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran 1	Kelimpahan mikroalga stasiun 1..... 75
Lampiran 2	Kelimpahan mikroalga stasiun 2..... 76
Lampiran 3	Kelimpahan mikroalga stasiun 3..... 77
Lampiran 4	Mikroalga yang ditemukan di semua pengamatan stasiun estuaria sungai porong..... 78
Lampiran 5	Kelimpahan mikroalga stasiun 1..... 79
Lampiran 6	Kelimpahan mikroalga stasiun 2..... 80
Lampiran 7	Kelimpahan mikroalga stasiun 3..... 81
Lampiran 8	Perhitungan kelimpahan mikroalga..... 82
Lampiran 9	KEMENLH No. 51. Tahun 2004..... 84
Lampiran 10	Data analisis parameter lingkungan..... 85
Lampiran 11	Dokumentasi penelitian..... 86

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebutuhan energi menjadi salah satu permasalahan bagi negar-negara di dunia. Perlu disadari bahwa sumber energi yang digunakan di Indonesia saat ini sebagian besar berasal dari bahan bakar fosil. Bahan bakar fosil yang digunakan yaitu minyak bumi, gas alam, dan batu bara. Kenyataannya bahwa cadangan sumber energi fosil dunia sudah semakin menipis. Penggunaan sumber energi fosil juga telah disadari menyumbang emisi gas rumah kaca. Kondisi ini memaksa dilakukannya pencarian sumber energi alternatif (Ansyori, 2004; Teresa *et al.*, 2010).

Energi alternatif yang sangat potensial menggantikan sumber energi fosil adalah berasal dari biomassa organisme yang diproses menjadi biofuel (Patil *et al.*, 2008). Penggunaan biofuel sebagai sumber energi alternatif memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan energi fosil yaitu biofuel lebih ramah lingkungan dan mengandung nilai oktan yang tinggi (Hidayat dan Syamsul, 2008). Salah satu biofuel adalah biodiesel.

Biodiesel merupakan bahan bakar dari minyak nabati dan lemak hewan yang menyerupai minyak diesel (Briggs, 2004). Menurut Teresa *et al.* (2009), pembuatan minyak diesel dari minyak nabati, minyak hewan dapat dilakukan dengan cara mengkonversi triasilgliserol menjadi metil ester asam lemak melalui proses esterifikasi.

Triasilgliserol (TAG) merupakan lipid yang terdiri dari gliserol polihidroksi alkohol dan asam karboksilat berantai panjang (Zumdahl, 1997). Menurut Guschina dan Harwood (2006), komponen utama lipid dalam mikroalga adalah Triasilgliserol (TAG). Semakin banyak kandungan lipid suatu bahan, maka semakin besar pula potensi bahan tersebut untuk menghasilkan biodiesel (Zuhdi, 2003).

Menurut Chisti (2007), mikroalga dengan kandungan lipid 70% mampu menghasilkan minyak nabati 136.400 L/Ha.

sedangkan kelapa sawit hanya menghasilkan minyak sebanyak 5.950 L/Ha. Kandungan lipid dalam biomassa mikroalga kering spesies tertentu dapat mencapai di atas 50% dengan pertumbuhan yang sangat cepat (Hossain *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2008; Masinggil, 2009). Berdasarkan hal tersebut mikroalga dapat dijadikan sebagai organisme yang dinilai ideal dan potensial sebagai bahan baku produksi biodiesel (Li, *et al.*, 2008; Raja, *et al.*, 2008; Gouveia dan Oliveira, 2009). Salah satu potensi alam di Indonesia adalah mikroalga atau fitoplankton (Yosta *et al.*, 2009). Kelimpahan mikroalga dan produksi TAG dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan yaitu unsur hara, suhu, salinitas, intensitas cahaya, pH, DO dan kecerahan (Bajpai, 1993). Produksi lipid pada mikroalga bervariasi terhadap parameter lingkungan. Perairan dengan unsur hara utama yaitu Fosfor (P) yang tinggi akan meningkatkan produksi lipid pada mikroalga, jika konsentrasi Nitrogen (N) dalam suatu perairan rendah akan meningkatkan kandungan lipid pada mikroalga (Borowitzka, 1988). Perairan dengan pH 5,9-7,5 dengan suhu yang lebih tinggi dari suhu normal akan meningkatkan kandungan lipid pada mikroalga (Bajpai, 1993).

Fitoplankton dengan kelimpahan yang tinggi umumnya terdapat di perairan sekitar muara sungai atau di perairan lepas pantai. Mikroalga di estuari umumnya mempunyai jumlah spesies yang sedikit tetapi jumlah individunya cukup banyak (Arinardi *et al.*, 1997). Estuari Sungai Porong termasuk pada ekosistem pesisir yang banyak dimanfaatkan untuk aktifitas manusia. Salah satu kegiatan yang memberikan dampak secara langsung pada organisme yaitu pembuangan lumpur yang dilakukan oleh PT. Lapindo Brantas ke sungai porong (Abida, 2009). Kondisi tersebut berpengaruh terhadap perubahan fisika kimia aliran sungai yaitu yaitu unsur hara, pH, kecerahan, suhu, dan salinitas. Kondisi tersebut diduga akan mempengaruhi kelimpahan dan produktivitas lipid pada mikroalga.

Penelitian yang dilakukan oleh Badan lingkungan hidup Surabaya pada tahun 2009 tentang komposisi jenis fitoplankton di

perairan sekitar estuaria porong ditemukan paling sedikit 90 spesies fitoplankton dimana 76 spesies diantaranya (84.44%) termasuk golongan diatom atau algae dan sisanya (15.56%) termasuk dalam golongan dinoflagellata atau zooflagellata (Badan Lingkungan Hidup, 2010). Namun, pada penelitian tersebut belum dilakukan pengujian terhadap kadar lipid intraseluler pada masing-masing spesies mikroalga. Berdasarkan hal tersebut akan dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi mikroalga yang memiliki potensi sebagai bahan baku biodiesel yaitu dengan mengetahui kadar lipid secara kualitatif di perairan sungai porong.

1.1 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka rumusan permasalahan dalam penelitian ini yaitu mikroalga apa saja di perairan estuaria sungai porong yang berpotensi sebagai bahan baku penghasil biodiesel.

1.2 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari perairan sungai porong pada bagian estuaria.
2. Isolasi mikroalga dari perairan estuaria sungai porong dilakukan dengan metode *streak plate*.
3. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium yang berasal dari lokasi sampling.
4. Penentuan lipid intraseluler pada mikroalga secara kualitatif yang dilakukan dengan pewarnaan *Nile Red*.
5. Mikroalga yang diuji kandungan lipidnya secara kualitatif adalah mikroalga yang berhasil di isolasi.
6. Identifikasi mikroalga dilakukan hingga tingkat genus.

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis dan karakteristik mikroalga yang ditemukan di perairan estuaria

sungai porong yang berpotensi sebagai bahan baku biodiesel melalui seleksi terhadap kandungan lipid secara kualitatif.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan dan mengetahui jenis-jenis mikroalga di perairan estuaria sungai porong yang menghasilkan lipid intraseluler sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk pembuatan dan pengembangan Biodiesel secara berkelanjutan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

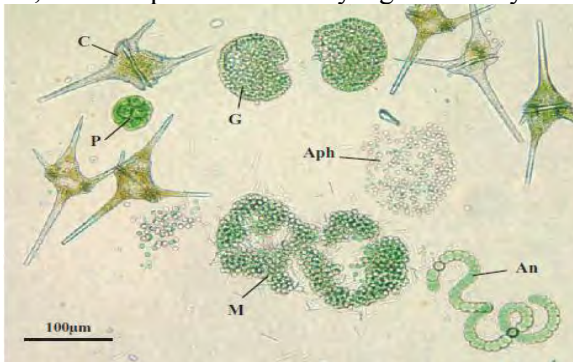
Mikroalga adalah kelompok mikroorganisme yang sebagian besar merupakan mikroorganisme fotoautotrof yang meliputi spesies prokariotik dan eukariotik. Organisme ini dapat berfotosintesis mengkonversi CO₂ dan mineral untuk biomassa, tetapi beberapa spesies juga tumbuh secara heterotrof (Duong *et al.*, 2012). Mikroalga umumnya bersel satu atau berbentuk benang dan mampu memproduksi komponen yang bernilai tinggi. Habitat hidupnya meliputi seluruh wilayah perairan di dunia, baik lingkungan air laut maupun air tawar. Organisme ini memiliki kemampuan mengubah energi matahari, air, dan karbon dioksida layaknya tumbuhan tingkat tinggi (Kawaroe, 2010).

Secara umum, mikroalga dapat dibagi ke dalam empat kelompok utama:

- a. Diatom (Bacillariophyceae). Mikroalga dalam kelompok ini mendominasi mikroalga di laut, namun beberapa jenis diketahui hidup di air tawar. Diketahui 100.000 jenis mikroalga yang termasuk dalam kelompok ini. Diatom mengandung silika terpolimerisasi dalam dinding sel. Karbon disimpan dalam bentuk minyak nabati maupun polimer karbohidrat yang disebut chrysolaminarin.
- b. Alga hijau (Chlorophyceae). Merupakan mikroalga yang memiliki kelimpahan tinggi terutama di perairan tawar dan hidup dalam bentuk soliter maupun koloni. Karbon disimpan terutama dalam bentuk pati.
- c. Alga hijau biru (Cyanophyceae). Mikroalga kelompok ini memiliki struktur yang lebih menyerupai bakteri dan berperan penting dalam fiksasi nitrogen. Diketahui sekitar 2000 jenis mikroalga yang termasuk dalam kelompok ini tersebar dalam berbagai habitat.

- d. Ganggang perang (Chrysophyceae). Kelompok alga ini menyerupai diatom, namun memiliki pigmen yang lebih rumit, dan nampak berwarna kuning, jingga atau cokelat (NREL, 2003).

Sebagai dasar mata rantai pada siklus makanan di laut, mikroalga menjadi makanan alami bagi zooplankton baik yang masih kecil maupun yang dewasa. Selain itu juga, mikroalga dapat digunakan sebagai indikator kesuburan suatu perairan. Namun beberapa mikroalga tertentu mempunyai peran menurunkan kualitas perairan laut apabila jumlahnya berlebihan. Sebagai contoh kelas Dinoflagellata yang pada tubuhnya memiliki kromatopora yang menghasilkan toksin (racun) dalam keadaan booming yang dapat mematikan ikan. Mikroalga menyimpan cadangan makanan di dalam sel granularnya. Komposisi biokimia yang terdapat pada cadangan makanan mikroalga bermacam-macam dan tergantung pada ukuran sel, daya cerna, dan komposisi biokimia yang dimilikinya.



Gambar 2.1 kelompok Mikroalga (Bellinger, 2010)

keterangan gambar : Dinophyta (c), Cyanophyta (An, Aph, M), Chlorophyta (P). An : Anabaena; Aph : Aphanothece, C : Ceratium; G : Gomphosphaeria; M : Microchystis; P : Pandorina.

2.2 Habitat Mikroalga

Mikroalga adalah salah satu organisme yang dapat tumbuh pada rentang kondisi yang luas di permukaan bumi. Mikroalga biasanya ditemukan pada tempat-tempat yang lembab atau benda-benda yang sering terkena air dan banyak hidup pada lingkungan berair di permukaan bumi. Mikroalga dapat hidup hampir di semua tempat yang memiliki cukup sinar matahari, air dan karbon-dioksida (Pelezar *et al.*, 1986).

Mikroalga kebanyakan hidup di air, karena 70% permukaan bumi terdiri dari air, maka diperkirakan banyaknya karbon yang terfiksasi melalui fotosintesis oleh mikroalga sama jumlahnya seperti flora daratan. Mikroalga mempunyai peranan penting bagi organisme lain (Isnansetyo *et al.*, 1995). Kemampuan bertahan hidup pada kondisi tertentu juga terdapat pada beberapa jenis mikroalga. Hal ini disebabkan oleh adanya lapisan *musilagenous* yang dapat melindungi organ sel yang ada dalam tubuh, sehingga dapat melindungi dari pengaruh kondisi lingkungan yang ekstrim. Mikroalga yang sering dijumpai pada perairan air tawar dengan penyebaran yang sangat luas pada umumnya adalah mikroalga dari divisi Chlorophyta, sedangkan pada perairan yang ekstrim banyak dijumpai mikroalga divisi Cyanophyta (Hariyati, 1994).

2.3 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga, diantaranya faktor abiotik (cahaya matahari, temperatur, nutrisi, O₂, CO₂, pH, salinitas) dan faktor biotik (bakteri, jamur, virus, dan kompetisi dengan mikroalga lain) (Harun *et al.*, 2010; Chisti, 2007). Produksi lipid dipengaruhi secara kualitatif dan kuantitatif oleh beberapa kondisi lingkungan. Menurut Bajpai (1993), parameter seperti unsur hara, intensitas cahaya, suhu, salinitas dan pH, dan O₂ berperan penting dalam biosintesis dan akumulasi lipid.

2.3.1 Unsur Hara

Nutrien (unsur hara) merupakan parameter penting yang mendukung pertumbuhan mikroalga selain suhu, derajat keasaman (pH), cahaya dan salinitas (Sen *et al.*, 2005). Mikroalga mendapatkan nutrisi dari air laut yang sudah mengandung nutrisi yang cukup lengkap. Namun pertumbuhan mikroalga dengan kultur dapat mencapai optimum dengan mencampurkan air laut dengan nutrisi yang tidak terkandung dalam air laut tersebut. Nutrien tersebut dibagi menjadi makronutrien dan mikronutrien. Makro-nutrien terdiri dari C, H, N, P, K, S, Mg dan Ca. Mikronutrien terdiri dari Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn dan Si. Faktor pembatas untuk pertumbuhan mikroalga adalah N dan P (Cahyaningsih, 2009).

1. Nitrogen

Nitrogen merupakan unsur penting bagi pertumbuhan alga pada fase vegetatif. Saat fase ini terjadi 3 proses penting yaitu pembelahan sel, pemanjangan sel dan tahap diferensiasi sel. Cornisi dan Karidys (1990), menyatakan bahwa nitrogen merupakan bagian penting dari protein, protoplasma, klorofil, dan asam nukleat. Vegetasi tingkat rendah maupun tingkat tinggi menyerap N dalam bentuk ammonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-). Organisme berklorofil yang kekurangan nitrogen akan berubah warna selnya menjadi kekuningan karena adanya penghambatan sintesis klorofil. Pemupukan nitrogen yang berlebihan akan mengakibatkan pertumbuhan vegetatif yang berlebihan. Kekurangan N juga akan membatasi pertumbuhan karena tidak ada pembentukan protoplasma baru.

2. Fosfor

Fosfor (P) merupakan salah satu unsur makro primer yang dibutuhkan oleh alga. Kekurangan unsur P dapat diamati dari adanya gejala tertundanya pematangan sel. Menurut Bold dan Wynne (1985), fosfor merupakan salah satu unsur yang berperan dalam proses penyusunan karbohidrat dan senyawa kaya nitrogen.

Gula terfosforilasi yang kaya energi muncul dalam proses fotosintesis. Fosforilasi adenosine menghasilkan adenosine monofosfat, difosfat, trifosfat (AMP, ADP, dan ATP) dimana tanaman menyimpan energinya untuk kelangsungan proses kimia lainnya. Fosfor juga berpengaruh baik pada proses pembelahan sel dan pembentukan lemak pada organisme.

2.3.2 Intensitas Cahaya

Cahaya adalah sumber energi dalam proses fotosintesis. Alga adalah organisme photoautotropik atau phototropik. Cahaya menjadi faktor pembatas fotosintesis pada intensitas yang rendah. Pada keadaan ini laju dari keseluruhan fotosintesis ditentukan oleh laju suplai energi cahaya (John & James, 2008).

2.3.3 Suhu

Suhu merupakan parameter penting dalam lingkungan perairan dan berpengaruh secara langsung maupun tidak langsung terhadap kehidupan di laut. Suhu mempengaruhi kehidupan di perairan secara fisik, kimia maupun biologis. Pengaruh suhu secara langsung mempengaruhi pemijahan, penetasan, aktivitas, dan pertumbuhan organisme. Sedangkan secara tidak langsung dapat menyebabkan perubahan kesetimbangan kimia. Suhu juga merupakan fungsi dari kelarutan gas-gas dalam air dimana kelarutan akan meningkatkan temperature rendah (James & Morrissey, 2004). Suhu optimum untuk pertumbuhan fitoplankton adalah 20-30°C. (Effendi, 2003). Penelitian pengaruh suhu pertumbuhan terhadap kandungan lipid pada mikroalga telah banyak dilakukan dan dilaporkan. Umumnya, peningkatan suhu pertumbuhan dari kisaran optimumnya akan seiring dengan peningkatan produksi lipid pada alga (Shaw, 1996).

2.3.4 Salinitas dan pH

Salinitas dan pH merupakan parameter oseanografi yang penting. Salinitas adalah salah satu faktor yang berpengaruh terhadap organisme air (khususnya mikroalga) dalam mempertahankan tekanan osmotik dalam protoplasma dengan air sebagai lingkungan hidupnya. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), alga *Phaeodactylum* sp. bertoleransi terhadap kadar garam 20 – 70‰ dan mengalami pertumbuhan optimal pada kisaran salinitas 35‰. *Chaetoceros* sp. Memiliki kisaran salinitas sangat tinggi yaitu 6-50‰, dengan kisaran salinitas 17-25‰ sebagai salinitas optimum untuk pertumbuhannya. Sedangkan pada *Skletonema costatum* salinitas yang optimum untuk pembentukan aukspora adalah 20-35‰. Alga pada umumnya dapat hidup dengan baik pada pH netral (pH 7).

Nilai pH menggambarkan intensitas keasaman dan kebasaan suatu perairan yang ditunjukkan oleh keberadaan ion hydrogen. Sebagian besar organisme akuatik sensitive terhadap adanya perubahan pH dan menyukai nilai pH sekitar 7-8,5. Nilai pH juga mempengaruhi proses biokimia perairan, seperti nitrifikasi. Perairan dengan nilai pH lebih kecil dari 4 merupakan perairan yang sangat asam dan dapat menyebabkan kematian organisme air, sedangkan pH lebih dari 9,5 merupakan perairan yang sangat basa dan dapat mengurangi produktivitas organisme air karena menyebabkan meningkatnya kandungan amoniak yang bersifat toksik bagi organisme. Barus (2004) dalam (Siregar, 2009). Air yang bersifat basa dan netral menjadikan organisme yang hidup di dalamnya lebih produktif untuk tumbuh dan berkembang dibandingkan dengan air yang bersifat asam.

2.3.5 O₂ (Kadar Oksigen)

Mikroorganisme memelurkan oksigen molekuler untuk mekanisme desaturasi dan jalur-jalur biosintetik PUFA. Jadi

ketersediaan oksigen menentukan derajat asam lemak tidak jenuh yang diproduksi (Bajpai, 1993).

2.3.6 Kecerahan

Keberadaan cahaya merupakan factor pembatas paling penting yang mempengaruhi distribusi fitoplankton. Untuk hidup, organisme ini harus tetap berada di daerah photic. Kedalaman dari daerah ini ditentukan oleh banyak variasi kondisi, termasuk penyerapan cahaya yang dipengaruhi oleh atmosfer, sudut dari matahari dan permukaan matahari, serta kejernihan air. Air sendiri bukanlah komponen yang paling transparan terhadap cahaya. Intensitas cahaya yang masuk ke perairan akan berkurang seiring dengan bertambahnya kedalaman air (John & James, 2008).

2.4 Potensi Mikroalga Sebagai Bahan Baku Biodiesel

Mikroalga merupakan mikroorganisme uniselular atau multi selular sederhana dengan ukuran 1-5 mikron yang mampu memenuhi kebutuhan energi secara mandiri dengan melakukan fotosintesis dan mampu berkembangbiak dengan sangat cepat. Beberapa jenis mikroalga mampu beradaptasi dan berkembangbiak dengan baik pada lingkungan yang bervariasi. Hal ini tentunya akan sangat mendukung pengembangannya sebagai bahan baku biofuel pada berbagai wilayah, tidak seperti bahan baku biofuel lainnya seperti kedelai, bunga matahari, minyak jarak dan minyak sawit yang hanya bisa dikembangkan pada wilayah tertentu saja. Berbagai keuntungan untuk pengembangan mikroalga sebagai sumber energi alternatif telah dikemukakan oleh Verma *et al.*, (2010) diantaranya yaitu:

- a. Memiliki struktur sel yang sederhana dan kemampuan untuk mengendalikan sel tanpa mengurangi produktifitasnya

- b. Kemampuan berfotosintesis sangat tinggi, sekitar 3–8% sinar matahari mampu dikonversikan menjadi energi dibanding tanaman tingkat tinggi lainnya yang hanya sekitar 0,5%
- c. Memiliki siklus hidup yang pendek ($\pm 1-10$ hari)
- d. Kemampuan untuk mensintesis lemak sangat tinggi ($\pm 40-86\%$ berat kering biomassa)
- e. Kemampuan bertahan pada kondisi lingkungan yang ekstrim (salinitas tinggi atau lingkungan yang tercemar)
- f. Tidak banyak membutuhkan pupuk dan nutrisi
- g. Tidak bersaing dengan produk pangan.

Salah satu jenis biofuel yang penting adalah biodiesel yang dapat menggantikan bahan bakar diesel. Mikroalga telah dipertimbangkan untuk produksi biodiesel berdasarkan kemampuan mereka untuk tumbuh cepat dan mengakumulasi sejumlah besar cadangan lipid, terutama dalam bentuk triasilgliserol (TAG) (Duong *et al.*, 2012). Mikroalga memiliki laju pertumbuhan dan produktivitas yang tinggi jika dibandingkan dengan pertumbuhan hutan, tanaman pertanian dan tumbuhan air lainnya, dan kebutuhan lahan yang jauh lebih sedikit dibandingkan bahan baku biofuel lain hingga mencapai 49-132 kali lipat lebih sedikit untuk menghasilkan biofuel yang sama serta penggunaannya sebagai bahan baku biofuel tidak berkompetisi dengan konsumsi manusia.

Proses pembiakan mikroalga hanya membutuhkan waktu 10 hari untuk siap dipanen sehingga secara matematis produktivitasnya mencapai (120.000 kg/Ha) lebih dari 20 kali lipat produktivitas minyak sawit (5.800 kg biodiesel/Ha tahun) dan 80 kali lipat dibandingkan minyak jarak (1.500 kg/biodiesel/Ha tahun) (Teresa *et al.*, 2010). Kadar karbohidrat mikroalga juga tinggi (29-31% berat kering untuk spesies *Chlorella*) lebih tinggi dari pada ubi singkong (23% berat kering) dan dengan memperhitungkan masa panen, secara matematis

produktivitas bioetanolnya mencapai lebih dari 100 kali lipat ubi singkong (Ansyori, 2008).

Tabel 2.1 Perbandingan potensi beberapa bahan bakar biodiesel (Chisti, 2007; Abou-Shanab *et al.*, 2009; Teresa *et al.*, 2010)

Tanaman	Kandungan minyak (L/ha)	Kebutuhan Luas Lahan (M ha)	Produktivitas Biodiesel (kg/ha.th)
Jagung	172	1540	152
Kacang kedelai	446	594	562
Kelapa	2689	99	2315
Kelapa sawit	5366	45	4747
Bunga matahari	1070	210	945
Mikroalga lipid rendah	58700	5	52927
Mikroalga lipid sedang	97800	3	86515
Mikroalga lipid tinggi	136900	2	121104

Tabel 2.2 Kandungan lipid dari beberapa jenis mikroalga (Chisti, 2007; Gouveia dan Oliviera, 2009).

Mikroalga	Kandungan lipid (%)
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chlorella sp</i>	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindriotheca sp</i>	16-37
<i>Dunaliella bioculata</i>	8
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Dunaliella salina</i>	14-20
<i>Isochrysis sp</i>	25-33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloropsis sp</i>	20-35

<i>Neochloris oleoandans</i>	31-68
<i>Nitzschia</i> sp	35-65
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	45-47
<i>Schizochytrium</i> sp	50-57
<i>Scenedesmus obliquus</i>	35-55
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	16-40
<i>Spirulina maxima</i>	4-9
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23

2.5 Komposisi Kimia Mikroalga

Komposisi sel semua jenis alga umumnya terdiri dari protein, karbohidrat, lemak (*fatty acid*) atau lipid, dan asam nukleat. Persentase keempat komponen tersebut bervariasi tergantung jenis alga. Ada jenis alga yang memiliki komponen fatty acids lebih dari 40% dan komponen fatty acids. Lemak merupakan unsur terbanyak ketiga yang terdapat di dalam organisme hidup. Lemak terdapat pula pada sel-sel organ vegetatif tumbuhan di dalam protoplasma. Lemak adalah salah satu bentuk lipid yang merupakan bentuk simpanan dari karbon, hidrogen, dan oksigen. Perbedaan komposisi lipid pada alga seringkali memperlihatkan sebagai hasil dari variasi pada lingkungan atau kondisi media biakan

Lipid netral (lipid non-polar) terutama terdiri dari triasilgliserol (TAG) tersusun atas molekul gliserol yang terikat tiga asam lemak. Secara umum, dalam kondisi pertumbuhan yang optimal alga akan menghasilkan banyak lipid polar (Borowitzka, 2005). Tetapi dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan atau kondisi stress untuk pertumbuhan, sebagian besar mikroalga mengubah jalur biosintesis lipid mereka menuju pembentukan dan akumulasi lipid netral (20%-50% berat kering), terutama dalam bentuk triasilgliserol (TAG) (Hu *et al.*, 2008). Lipid penyimpanan (*storage lipid*) terutama dalam bentuk TAG tersusun dari dominasi asam lemak jenuh dan asam lemak tak

jenuh yang dapat ditransesterifikasikan untuk menghasilkan biodiesel (Campbell, 2008).

Komposisi kimia alga dalam persen berat kering ditunjukkan pada Tabel 2.2

Tabel 2.3 Komposisi Kimia Mikroalga (Becker, 1994).

Alga	Komposisi kimia (% berat kering)			
	Protein	karbohidrat	lemak	Asam nukleat
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-24	3-6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1,9	-
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2	-
<i>Spirogyra</i> sp.	6-20	33-64	11-21	-
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8	-
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20	-
<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-35	22-38	1-2
<i>Tetraselmis maculate</i>	52	15	3	-
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14	-
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9	2-5
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7	3-4,5
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11	5
<i>Anabaena cylindrical</i>	43-56	25-30	4-7	-

2.6 Biosintesis Triasilgliserol (TAG) Pada Mikroalga

Lipid merupakan golongan senyawa organik heterogen yang menyusun jaringan tumbuhan dan hewan. Lipid disusun oleh sejumlah senyawa lemak yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik seperti ester, aseton, kloroform dan benzena (Zamora, 2005). TAG umumnya ditemuykan sebagai cadangan minyak dan tergolong sebagai lipid non-polar. TAG umumnya tersusun tersusun atas tiga rantai asam lemak yang teresterifikasi melalui gugus hidroksil pada tulang punggung

gliserolnya. Senyawa TAG disintesis dari gasil fotosintat berupa molekul gula yang selanjutnya dikonversi menjadi sejumlah precursor yang dibutuhkan dalam biosintesis asam lemak. Glukosilis, merupakan bagian dari jalur biosintesis karbohidrat yang memiliki peranan penting dalam sintesis ini. Senyawa piruvat yang dihasilkan dari proses glikolisis akan di konversi menjadi asetil ko-A oleh kompleks enzim *piruvat dihidrogenase* yang terdapat dalam plastida (Durrett *et al.*, 2008).

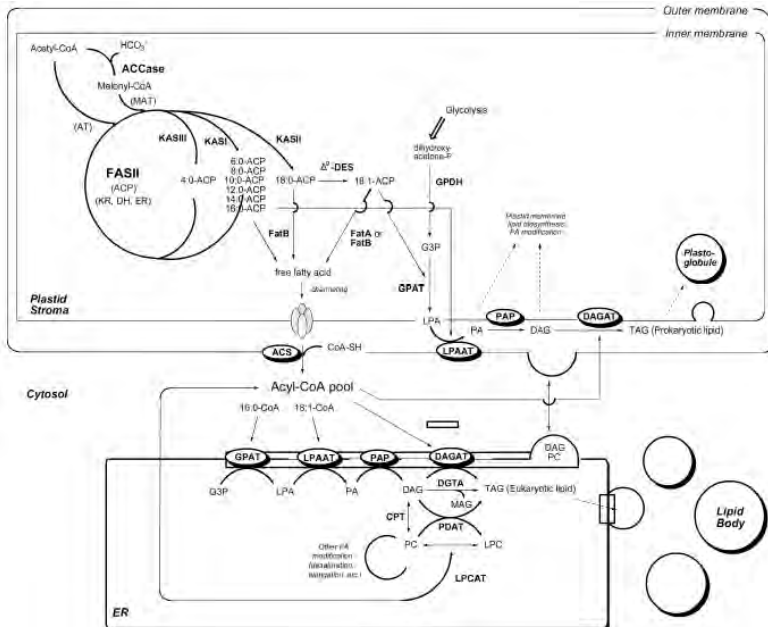
Asetil ko-A yang dihasilkan dari piruvat selanjutnya diaktifkan menjadi malonil ko-A yang dikatalis oleh kompleks enzim *asetil ko-A karboksilase (ACC)* di plastid (Nikolau *et al.*, 2003). Malonil ko-A yang dihasilkan oleh ACC menyusun donor karbon untuk masing-masing siklus lintasan biosintesis asam lemak. Sebelum memasuki proses biosintesisnya, gugus malonil ditransfer dari ko-A ke kofaktor protein yang disebut *acyl carrier protein (ACP)*, yang merupakan substrat utama kompleks enzim yang mensintesis asam lemak. Proses transfer ini dikatalis oleh enzim malonil *ko-A:ACP S-maloniltransferase (MAT)*.

Asam lemak dihasilkan melalui kompleks multisubunit yang dapat dengan mudah dipisahkan yang tersusun atas enzim monofungsional yang dikenal dengan enzim *fatty acid sintase (FAS)*. FAS menggunakan asetil ko-A sebagai unit awal dan malonil-ACP sebagai elongator. Malonil thioester selanjutnya memasuki rangkaian reaksi kondensasi dengan asetil ko-A dan akseptor asil-ACP. Reaksi kondensasi awal dikatalis oleh enzim 3-ketoasil-ACP sintase tipe III (KAS III) dan menghasilkan 4:0-ACP. Kondensasi selanjutnya dikatalis oleh KAS I (isoform KAS B) yang dapat menghasilkan 16:0-ACP dan KAS II (KAS A) yang akhirnya memperpanjang rantai 16:0-ACP menjadi 18:0-ACP (Pidkowich *et al.*, 2007).

Reaksi tambahan dibutuhkan setelah masing-masing tahapan kondensasi untuk memperoleh asam lemak jenuh dengan dua karbon yang lebih panjang dibandingkan saat siklus awal

yang dikatalis oleh sejumlah enzim seperti 3-ketoasil-ACP-reduktase (KAR), hidroksiasil-ACP-dehidratase, dan enoil-ACP-reduktase (ENR) (Mou *et al.*, 2000; Lepiniec., 2010). Selama proses sintesisnya, gugus asil dihidrolisis oleh asil-ACP-thioesterase (Fat A dan Fat B) yang melepaskan asam lemak bebas. Tipe Fat A melepaskan oleat dari ACP, sedangkan thioesterase Fat B aktif dengan asil-ACP jenuh dan tidak jenuh (Mayer dan Shanklin, 2007). Asam lemak selanjutnya diaktifkan menjadi ester ko-A di bagian membrane luar dari kloroplas oleh rantai panjang asil ko-A-sintetase (LACS) sebelum dibawa ke retikulum endoplasma (Baud dan lepiniec, 2010).

Kompleks FAS umumnya menghasilkan 18:0-ACP. Hanya saja, struktur stearate (18:0) ini jarang sekali dibawa dari plastida. Struktur asam lemak yang dibawa dari plastid ke RE sebagian besar terbentuk palminat (16:0). Struktur 16:0-ACP inilah yang dilepaskan oleh mesin FAS sebelum dikonversi menjadi 18:0-ACP.



Gambar 2.2 Jalur biosintesis lipid (Ohlrogge dan Browse, 1995).
 keterangan gambar : (1) AT = *acetyltransferase*, MAT = *malonyl-CoA acetyltransferase*, ACP = *acyl carrier protein*, KAS = *ketoacyl synthase*, FAS = *fatty acid biosynthesis*, KR = *ketoreductase*, DH = *dehydratase*, ER = *enoyl reductase*, GPDH = *glycerol-3-phosphate dehydrogenase*, GPAT = *glycerol-3-phosphate acyltransferase*, LPAAT = *lysophosphatidic acid acyltransferase*, PAP = *phosphatidic acid phosphatase*, DAGAT = *diacylglycerol acyltransferase*, ACS = *acetyl-CoA synthetase*, DGTA = *diacylglycerol hydroxymethyltrimethyl-b alanine*, CPT = *carnitine palmitoyltransferase*, PDAT = *phospholipid diacylglycerol acyltransferase*, LPCAT = *lysophosphatidylcholine acyltransferase*.

Malonil-koA di disitosol digunakan untuk sintesis VLCFA (very-log-chain-fatty-acid), yaitu asam lemak dengan 20 atau lebih atom karbon. Setelah dipisahkan dari ACP, asam

lemak. bebas dibawa dari plastid dan dikonversi menjadi asil-koA, asam lemak yang baru ini dapat diolah menjadi Triasilgliserol (TAG). Dalam proses ini dua rantai asil diesterifikasi dari asil ko-A menjadi gliserol-3-fosfat untuk membentuk asam fosfatidik (PA), yang selanjutnya beberapa seyawa fosfat tersebut akan dibuang sehingga terbentuk diasilgliserol (DAG). Dengan menggunakan asil ko-A sebagai donor asil, enzim *diasilgliserol asiltransferase* (DAGT) akan mengkonveksi DAG menjadi TAG (Durrett *et al.*, 2008).

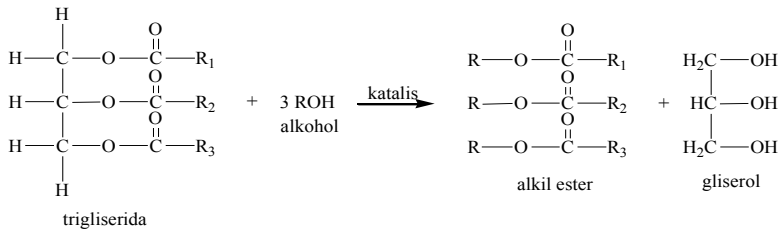
2.7 Produksi Biodiesel

Biodiesel dapat diperoleh dari minyak hewani maupun nabati dengan proses transesterifikasi. Proses konversi minyak dari mikroalga menjadi biodiesel dilakukan melalui tahapan transesterifikasi. Proses transesterifikasi diperlukan dalam pembuatan biodiesel karena minyak mikroalga mentah masih mengandung fosfat/fosfolipid yang dapat menyebabkan kerak, mengandung asam lemak bebas yang dapat menyebabkan korosif.

Biodiesel merupakan bahan bakar minyak yang mengandung mono-alkil ester dari asam lemak rantai panjang yang diturunkan dari minyak nabati maupun hewani. Biodiesel ini dilambangkan dengan B100 dimana 100 menunjukkan prosentase biodiesel. Biodiesel dapat dicampurkan dengan petrodiesel dan dinotasikan sebagai BXX, dimana XX merupakan prosentase biodiesel dalam campuran (Chisti, 2007). Proses transesterifikasi dikatalis oleh katalis asam atau katalis basa. Katalis basa dapat mempercepat reaksi transesterifikasi 4000 kali lebih cepat dari katalis asam. Hal ini menyebabkan katalis basa seperti sodium dan potasium sering digunakan, dan biasanya digunakan pada konsentrasi 1% dari berat minyak (Chisti, 2007). Proses transesterifikasi berguna dalam membantu menurunkan viskositas minyak nabati sehingga memiliki spesifikasi yang menyerupai petrodiesel (Benemann *et al.*, 2003). Oleh karena itu, biodiesel

adalah bahan bakar yang bermutu tinggi dan secara teknis biodiesel layak dimanfaatkan sebagai bahan bakar mesin diesel (Soerawidjaja, 2006). Sebagai negara agraris di kawasan tropis, ada banyak jenis sumber bahan baku nabati yang dapat diolah menjadi biodiesel yang beberapa diantaranya sudah dimanfaatkan sebagai sumber lipid atau minyak untuk keperluan komersial, seperti minyak sawit, minyak kelapa dan minyak jarak pagar. Sementara sebagian lainnya belum termanfaatkan secara optimal seperti mikroalga. Terdapat beberapa kelebihan pemanfaatan mikroalga sebagai sumber biodiesel dibandingkan sumber lainnya. Disamping itu, komoditas ini juga memiliki potensi lain seperti menjadi bahan pangan dan pakan ternak.

Ada beberapa cara ekstraksi minyak nabati yang berasal dari mikroalga menurut Oilgae (2006), diantaranya adalah 1) Pengepresan (Expeller/Press) yaitu penggunaan alat pengepres untuk mengekstraksi minyak yang terkandung dalam mikroalga. Mikroalga yang sudah siap panen dipanaskan dahulu untuk menghilangkan air yang masih terkandung di dalamnya, dengan menggunakan alat pengepres ini dapat diekstraksi sekitar 70 – 75% minyak yang terkandung dalam mikroalga. 2) Chemical solvent oil extraction yaitu penggunaan pelarut kimia. Minyak dari mikroalga dapat diambil dengan menggunakan larutan kimia, misalnya dengan menggunakan eter, hexana, metanol. 3) Supercritical Fluid Extraction yaitu penggunaan CO₂, CO₂ dicairkan dibawah tekanan normal kemudian dipanaskan sampai mencapai titik keseimbangan antara fase cair dan gas. Pencairan fluida inilah yang bertindak sebagai larutan yang akan mengekstraksi minyak dari mikroalga. Metode ini dapat mengekstraksi hampir 100% minyak yang terkandung dalam mikroalga.



Gambar 2.3 Reaksi pembentukan senyawa Biodiesel (Oilgae, 2006).

2.8 Estuaria Sungai Porong

Muara Sungai Porong menjadi titik pertemuan air dari Sungai Porong dengan perairan Selat Madura. Pembuangan limbah berupa lumpur yang telah dilakukan oleh PT. Lapindo Brantas selama ini di sungai Porong tentunya akan memberikan dampak nyata terhadap perubahan kondisi fisika dan kimia perairan terutama di muara Sungai Porong. Sebaran konsentrasi parameter fisika-kimia perairan sangat penting diketahui mengingat aspek-aspek tersebut sangat mempengaruhi kehidupan biota perairan.

Estuaria dibentuk dalam zona batas yang sempit antara laut, daratan dan kehidupannya umumnya pendek. Bentuk dan luas estuaria secara tetap diubah oleh erosi dan deposisi sedimen dan efek yang cepat disebabkan oleh kenaikan dan penurunan muka laut. Perubahan muka laut mungkin dapat secara eustatik (variasi volume air laut) atau isostatik (variasi level daratan) karena estuaria merupakan perairan yang subur, tempat bersauh yang terlindung, maka estuaria sangat penting bagi daratan disekitarnya dan merupakan pusat pengembangan bagi manusia.

Wilayah estuaria dapat dibagi menjadi tiga bagian : (1) wilayah pertama adalah estuaria bagian mulut sungai yang berhubungan dengan air tawar dan dipengaruhi oleh pasang surut

harian. (2) wilayah kedua, estuaria bagian tengah dan terjadi pencampuran antara air tawar dan air laut dengan baik, (3) wilayah ketiga, bagian estuaria yang berhubungan dengan laut bebas. Pada masing-masing wilayah estuaria memiliki kondisi salinitas, suhu, oksigen terlarut dan bahan sedimen serta variasi biologis, sehingga menyebabkan ekosistem estuaria menjadi lebih kompleks.

Sungai porong dibagian hilir mempunyai lebar 100-150 meter, dimuara mempunyai cabang 2 sungai. Debit rata-rata adalah $400 \text{ m}^3/\text{det}$ dan pada musim kemarau $5-10 \text{ m}^3/\text{det}$. Sungai porong di hilir, mulai dari jembatan tol porong – sidoarjo, airnya tidak dimanfaatkan untuk air tambak, kecuali di muara. Air sungai porong juga dimanfaatkan tempat hidup ikan-ikan payau dan tawar.

Kementrian lingkungan hidup (KLH) Surabaya telah melakukan kajian tentang intrusi air laut yang masuk ke estuaria sungai porong dengan model fisik. Berdasarkan hasil pengamatan, pola sirkulasi pencampuran air tawar dan air asin menunjukan bahwa estuaria sungai porong termasuk kedalam estuaria jenis *stratified estuary*. Sirkulasi di muara sungai atau estuaria sangat tergantung pada besarnya debit air tawar dari sungai. Sementara itu debit kali porong selama musim kemarau umumnya relatif rendah di bandingkan pada musim hujan dimana air dari sungai Brantas akan di alirkan terus ke sungai porong.

Penelitian terhadap kelimpahan jenis fitoplankton di estuaria sungai porong didapatkan spesies dari golongan diatom dan dinoflagellata. sebanyak 90 spesies yang ditemukan dari penelitian tersebut, namun tidak semua teramati selama pengamatan. Hanya beberapa spesies yang selalu teramati sedangkan sisanya hanya teramati beberapa kali. Spesies fitoplankton yang selalu teramati ditampilkan dalam table 2.3 (BLH, 2010).

Tabel 2.4 Kelimpahan Jenis Fitoplankton di Estuaria Sungai Porong (BLH, 2010).

No	Spesies	Famili
1	<i>Anabaena</i> sp	Nostocaceae
2	<i>Biddulphia</i> sp	Biddulphiaceae
3	<i>Chaetoceros</i> sp	Chaetocerotaceae
4	<i>Coscinodiscus</i> sp	Coscinodisceae
5	<i>Merismopedia</i> sp	Merismopediaceae
6	<i>Microcystis</i> sp	Chroococcaceae
7	<i>Navicula</i> sp	Naviculaceae
8	<i>Nitzchia</i> sp	Bacillariaceae
9	<i>Noctiluca cintilans</i>	Noctilucaceae
10	<i>Peridinium</i> sp	Peridiniaceae
11	<i>Phacus</i> sp	Euglenaceae
12	<i>Rhizosolenia</i> sp	Rhizosoleniaceae
13	<i>Skeletonema</i> sp	Skeletonemataceae
14	<i>Spirulina</i> sp	Oscillatoriaceae
15	<i>Stauroneis</i> sp	Stauroneidaceae
16	<i>Thalassiothrix</i> sp	Thalassionemataceae

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada periode bulan Februari-Juni 2015, yang berlokasi di perairan Estuari Sungai Porong Kabupaten Sidoarjo, Propinsi Jawa Timur.



Gambar 3.1 lokasi penelitian di estuaria sungai porong (sumber : modifikasi www.googlemap.com).

Pengambilan sampel mikroalga dan parameter kualitas air dilakukan satu kali pada lokasi yang telah ditentukan (gambar 3.1). Lokasi pengambilan sampel dibagi menjadi tiga lokasi, yaitu lokasi pertama (Sungai) adalah estuaria bagian mulut sungai yang berhubungan dengan air tawar dan dipengaruhi oleh pasang surut harian. Lokasi kedua (muara), estuaria bagian tengah daerah dimana terjadi pencampuran antara air tawar dan air laut dengan baik, dan lokasi ketiga (laut), bagian estuaria yang berhubungan

dengan laut bebas. Analisis sampel dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, FMIPA, ITS.

Tabel 3.1 koordinat stasiun pengambilan sampel

No	Stasiun	Koordinat	
		Lintang Selatan	Bujur Timur
1	Stasiun 1 (sungai)	7°33'31.47° S	112°51'12.82° E
2	Stasiun 2 (muara)	7°33'59.59° S	112°52'29.89° E
3	Stasiun 3 (laut)	7°34'08.08° S	112°52'48.83° E

3.2 Prosedur Kerja

3.2.1 Pengambilan Data Parameter Lingkungan

Data parameter lingkungan yang diambil di lokasi sampling adalah data fisika kimia perairan. Pengambilan parameter fisika kimia dilakukan secara langsung dengan metode visual dan analisis laboratorium terhadap kecerahan air, suhu, salinitas, pH, DO (*Disolved Oxygen*), Amonium (NH_4^+), Nitrat (NO_3^-), Nitrit (NO_2^-) dan Fosfat (PO_4^{2-}).

3.2.1.1 Kecerahan Air

Pengambilan data kecerahan air digunakan *Secchi disc*. *Secchi disc* dimasukkan kedalam kolom perairan sampai disc tidak terlihat dari permukaan. Selanjutnya *disc* ditarik dan diukur panjang tali dari *secchi disc* yang tenggelam.

3.2.1.2 Suhu

Suhu permukaan air laut diukur dengan DO meter *type 5510 Lutron*. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan DO meter kedalam air selama beberapa saat hingga menunjukkan nilai suhu perairan.

3.2.1.3 Salinitas

Salinitas diukur menggunakan *Hand Salino Refractometer ATC FG-217* yang memiliki tingkat ketelitian hingga 1 ‰, sebelum digunakan *Hand Salino Refractometer* dikalibrasi dengan menggunakan aquades hingga salinitas menjadi nol. Pengukuran dilakukan dengan cara meneteskan sampel air ke lensa kemudian ditutup dan dilihat nilai salinitasnya.

3.2.1.4 pH Perairan

pH perairan diukur dengan menggunakan pH meter *Jenko 610*. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan pH meter kedalam air selama beberapa saat hingga menunjukkan nilai pH perairan.

3.2.1.5 Kadar Oksigen terlarut / *Dissolved oxygen (DO)*

Kadar Oksigen yang terlarut dalam air diukur dengan menggunakan DO meter *type 5510 Lutron*. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan DO meter kedalam air selama beberapa saat hingga menunjukkan nilai kadar oksigen terlarut.

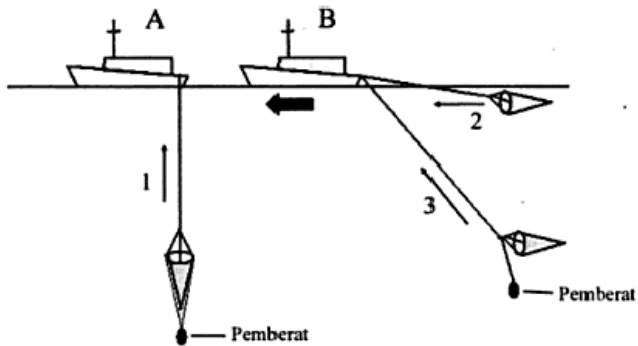
3.2.1.6 Amonium (NH_4^+), Nitrat (NO_3^-), Nitrit (NO_2^-) dan Fosfat (PO_4^{2-})

Unsur Hara Nitrogen (N) dan Fosfor (P) diukur dengan pengambilan sampel air sebanyak 600 ml di masing-masing titik. Kemudian sampel air yang diambil dari masing-masing titik dimasukkan ke dalam botol sampel. kemudian botol sampel dibawa dengan menggunakan *cooling box* ke Laboratorium Balai Standarisasi Industri untuk diujikan (Adlan *et al.*, 2012).

3.2.2 Pengambilan Sampel Mikroalga

Pengambilan sampel air dilakukan pada daerah atau bagian permukaan dengan kedalaman ± 50 cm tergantung intensitas cahaya matahari yang ada di lokasi penelitian, sehingga mikroalga yang tersaring adalah mikroalga yang hidup di atas permukaan air dan yang melayang-layang di dalam air. Sampel air untuk pengamatan Mikroalga diambil dari masing-masing stasiun yang disaring dengan menggunakan *plankton net* ukuran mata jaring $35 \mu\text{m}$ yang ditarik secara horizontal dengan metode *towing* selama 2 menit. kemudian sampel air yang tersaring pada *cod end* selanjutnya dituangkan ke dalam botol sampel (Arrinardi *et al.*, 1997). Perhitungan kelimpahan sampel mikroalga di tetesi dalam formalin 4 % dan ditambahkan Iodin sebanyak 3 tetes,

sedangkan sampel mikroalga yang akan di isolasi disimpan tanpa diberi pengawet (Sekadende *et al.*, 2004).



Gambar 3.2. Pengambilan sampel mikroalga dengan *Plankton net* (Sumber : LIPI, 2008).

Keterangan : (1) penarikan jaring secara vertikal, (2) penarikan jaring secara horizontal (3) penarikan secara miring (*oblique*)

3.2.3 Perhitungan Kelimpahan Mikroalga

Mikroalga yang dibawa dari lokasi penelitian kemudian diidentifikasi dan dihitung masing-masing kelimpahannya menggunakan *sedgewich rafter*. Penghitungan mikroalga dilakukan dengan cara memasukkan 1 ml air dari lokasi penelitian ke dalam *sedgewich rafter*, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x hingga 100x. Selanjutnya mikroalga yang teramati dihitung dengan *hand tally counter*. Pengamatan dilakukan pada 10 bidang pandang. Jumlah individu atau sel plankton dalam 1 m³ air dihitung dengan menggunakan metode penyapuan sebanyak 2 kali ulangan yaitu sebagai berikut (Basmî, 2000):

$$N = n_i \times 1/V_d \times V_t/V_s$$

Dengan ketentuan :

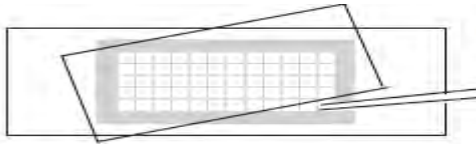
N = Jumlah total individu atau sel plankton per m³ (sel/m³)

n_i = Jumlah individu atau sel spesies ke-i yang tercacah

Vd = Volume air yang disaring (liter)

Vt = Volume air tersaring (ml)

Vs = Volume sampel di bawah gelas penutup (ml)



Gambar 3.3 *Sedgwick-Rafter Counting Cell* (sumber : Bellinger, 2010).

3.2.4 Isolasi Sampel dan Kultur Mikroalga

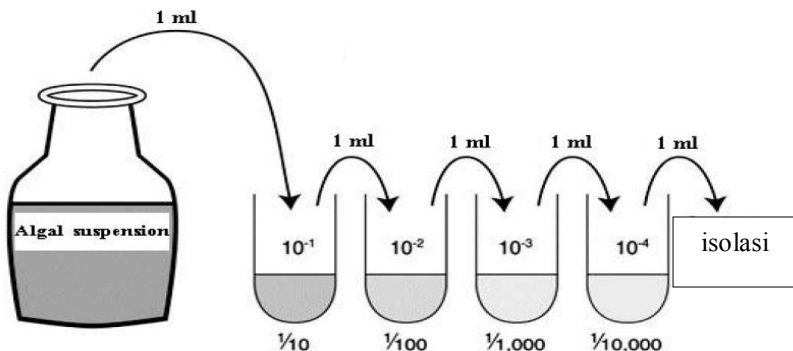
Identifikasi mikroalga dilakukan untuk mengetahui jenis mikroalga yang digunakan selama proses penelitian. Identifikasi mikroalga didasarkan pada karakteristik morfologi. Sampel mikroalga diidentifikasi menggunakan mikroskop cahaya dengan bantuan buku identifikasi *Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators* (Bellinger and David, 2010), buku *Easy Identification Of The Most Common Freshwater Algae* (Vuuren, 2006) dan *Identifying Marine Phytoplankton* (Carmelo, 1997)

Isolasi mikroalga dilakukan dengan menggunakan medium agar padat dengan media air yang steril. Media air tersebut diambil dari perairan estuaria sungai porong pada masing-masing stasiun. Sampel air yang diambil dari masing-masing stasiun disaring dengan menggunakan kertas saring dan air ditampung di dalam erlemayer 1 L untuk pembuatan medium dan sebanyak 100 ml untuk pengenceran sampel. Medium pertumbuhan mikroalga dibuat dengan mencampurkan air sampel yang telah tersaring dengan *bacto agar* 1,5%. Agar dan media tersebut selanjutnya disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C pada tekanan 1,5 atm selama 30 menit. Medium yang telah disterilisasi ditambahkan pupuk walne dan pupuk silikat (Santhanam, 2012).

Sampel mikroalga diencerkan dengan metode pengenceran bertingkat (*dillution method*). Sampel mikroalga diencerkan dari

10^{-1} hingga 10^{-3} atau sampai koloni sel mikroalga tidak terlalu banyak. Sampel mikroalga didalam flacon dikocok hingga homogen, selanjutnya 1 ml sampel mikroalga di masukan kedalam *test tube* dan ditambahkan 9 ml air steril dari lokasi pengambilan sampel. Selanjutnya di ambil 1 ml dari *test tube* 10^{-1} dan dipindahkan 1 ml sampel dengan pipet volume ke *test tube* 10^{-2} dan dilakukan prosedur pengulangan yang sama hingga *test tube* pada pengeceran 10^{-4} (Hagmeier, 1982).

Pemurnian mikroalga dilakukan dengan metode gores (*streak method*). Sebanyak 2 tetes sampel mikroalga dari masing-masing pengenceran di teteskan pada medium agar kemudian digores dengan jarum *ose* secara zigzag. Cawan petri yang berisi isolat mikroalga diinkubasi pada suhu 27°C di bawah cahaya lampu neon 30 Watt selama 7-14 hari sampai mikroalga tumbuh. Diatur juga *fotoperiode* 12:12 jam dalam 24 jam. Mikroalga yang tumbuh selanjutnya dipisahkan dengan metode gores pada medium agar sebanyak 16 gores dengan menggunakan jarum *ose* hingga mendapatkan mikroalga yang homogen. Mikroalga yang telah homogen selanjutnya dilakukan pengujian kandungan lipid secara kualitatif dengan menggunakan *Nile red* dan mikroalga yang lain dipindahkan ke *test tube* yang berisi medium cair untuk dikultur sesuai pertumbuhan mikroalga.



Gambar 3.4 Pengenceran sampel mikroalga.

3.2.5 Analisis Kualitatif Kandungan Lipid Mikroalga

Pengujian kualitatif kandungan lipid ini menggunakan mikroalga hasil isolasi. Kandungan lipid pada sel mikroalga dapat diketahui dengan menggunakan *Nile Red* (Cooksey *et al.*, 1987). Larutan stok *Nile Red* disiapkan dengan cara menambahkan 1 mg *Nile Red* ke dalam 10 ml aseton. Larutan stok *Nile Red* disimpan didalam suhu ruang dalam kondisi gelap dan tertutup. Pewarnaan sel mikroalga dengan *Nile red* dilakukan selama 30-40 menit, selanjutnya sel mikroalga diaduk dengan *vortex* hingga homogen. Sel mikroalga dalam tube sebanyak 1 ml selanjutnya dibilas dengan aquades dan pisahkan sel mikroalga dengan air melalui *sentrifuge*. Sel mikroalga yang telah terwanai diambil sebanyak 500 μ l ke preparat dan dilihat pendaran warna lipid intraseluler dengan menggunakan mikroskop *fluorescence* dengan panjang gelombang 450-495 nm. Di lihat pendaran warna pada sel mikroalga, mikroalga yang mempunyai kandungan lipid akan berwarna kuning mengkilat (Cooksey *et al.*, 1987). Selanjutnya pengujian kandungan lipid dilakukan pada semua mikroalga yang mampu terisolasi hingga tingkat genus.

3.3 Analisis Data

Penelitian dilakukan dengan metode deskriptif eksploratif terhadap jenis mikroalga, kelimpahan mikroalga terhadap parameter fisika kimia dari masing-masing stasiun. Pengujian kandungan lipid pada mikroalga dilakukan secara kualitatif terhadap sel mikroalga yang mampu diisolasi dari masing-masing stasiun.

Data yang didapatkan akan di tampilkan dalam bentuk tabel. kemudian data akan di interpestasikan dalam bentuk deskripsi berdasarkan stasiun pengambilan sampel mikroalga.

Tabel 3.2 Parameter Fisika Kimia Perairan

No	Parameter	Satuan	Alat	Keterangan
	Fisika			
1	Suhu	°C	Thermometer	<i>In situ</i>
2	Kecerahan	m	Secchi disk	<i>In situ</i>
	Kimia			
3	pH	-	pH meter	<i>In situ</i>
4	Salinitas	‰	Refractometer	<i>In situ</i>
5	DO	Mg/L	DO-meter	<i>In situ</i>
6	Nitrat	Mg/L	Spektrofotometer	Labolatorium
7	Nitrit	Mg/L	Spektrofotometer	Labolatorium
8	Amonium	Mg/L	Spektrofotometer	Labolatorium
9	Fosfat	Mg/L	Spektrofotometer	Labolatorium

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Parameter Lingkungan Perairan

Parameter lingkungan yang diambil pada saat sampling meliputi parameter fisika dan parameter kimia. Parameter fisika yang diambil pada saat sampling adalah kecerahan air dan suhu yang dilakukan secara *in situ*. Parameter kimia yang diambil meliputi salinitas, pH, DO (*Disolved Oxygen*), Amonium (NH_4^+), Nitrat (NO_3^-), Nitrit (NO_2^-) dan Fosfat (PO_4^{2-}). Pada pengukuran parameter kimia berupa salinitas, pH dan DO dilakukan secara *in situ* sedangkan yang lain di analisa di laboratorium.

Hasil dari pengamatan parameter fisik dan kimia perairan disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Pengamatan parameter fisik dan kimia perairan estuaria sungai porong.

No	Parameter	Stasiun 1	Stasiun 2	Stasiun 3	Baku mutu
Fisika					
1	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	28	27	28	20-30
2	Kecerahan (m)	0,1	0,14	1,06	-
Kimia					
3	pH	8,2	8,1	8,4	7-8,5
4	Salinitas (‰)	0	10	20	-
5	DO (mg/l)	3,6	7,85	10,0	>5
6	Nitrat (mg/l)	5,16	4,619	1,348	0,008
7	Nitrit (mg/l)	0,058	0,143	0,029	<0,5
8	Amonium (mg/l)	0,058	0,036	0,082	0,3
9	Fosfat (mg/l)	<0,22	<0,22	<0,22	0,015

Keterangan :

Analisa dilakukan oleh Balai Riset dan Standardisasi Industri Surabaya.

Berlaku dari tanggal 8 mei 2015 sampai tanggal 8 agustus 2015.

Baku mutu sesuai KEPMENLH No. 51 Tahun 2004

Stasiun 1= Sungai

Stasiun 2= Muara

Stasiun 3= Laut

Berdasarkan hasil analisis data terhadap parameter lingkungan perairan didapatkan bahwa nilai parameter fisika yaitu kecerahan pada stasiun 1 yang berada di aliran sungai porong memiliki nilai 0,1 m. Nilai tersebut menunjukkan bahwa kondisi perairan di stasiun 1 termasuk dalam kondisi keruh. Stasiun 2 yaitu daerah muara, memiliki nilai kecerahan sebesar 0,14 m, stasiun 3 yaitu di daerah laut memiliki nilai kecerahan sebesar 1,06 m. Besarnya nilai kecerahan pada tiap stasiun dapat mencerminkan kemampuan sinar matahari masuk ke dalam perairan secara optimum, sehingga proses fotosintesis fitoplankton terutama mikroalga dapat berjalan dengan baik (Odum, 1996). Suhu rata-rata di tiap stasiun pengamatan adalah 27-28°C. Tinggi rendahnya suhu pada tiap stasiun ini dipengaruhi oleh kedalaman perairan dan intensitas cahaya matahari yang masuk. Nilai suhu di setiap stasiun menunjukkan nilai yang sesuai untuk pertumbuhan fitoplankton, sesuai Nybakken (1992) yang menyebutkan bahwa suhu air optimum untuk pertumbuhan fitoplankton berkisar 20-30°C.

Parameter kimia pH rata-rata di perairan adalah 8,1-8,4. Nilai pH tersebut menunjukkan bahwa perairan termasuk dalam kategori basa. Pescod (1973), bahwa pH optimum untuk pertumbuhan fitoplankton berkisar antara 7-8,5. Nilai salinitas berurutan meningkat dari stasiun 1 hingga stasiun 3. Nilai salinitas terendah berada pada stasiun 1 yaitu 0 ‰, sedangkan nilai salinitas tertinggi berada di stasiun 3 yaitu 20 ‰. Rendahnya nilai salinitas di stasiun 1 dipengaruhi oleh volume dan debit air tawar dari aliran hulu sungai. Tingginya nilai salinitas pada stasiun 2 dan stasiun 3 di pengaruhi oleh pasang surut air laut dan berkurangnya paparan air tawar dari sungai. Nilai salinitas di perairan estuaria sungai porong tergolong dalam kisaran minimum, hal ini sesuai dengan pernyataan Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), yang menyatakan bahwa salinitas optimal bagi plankton adalah antara 20-35 ‰. DO memiliki peranan penting terhadap keberadaan organisme di perairan khususnya

dalam proses respirasi dan fotosintesis. Nilai rata-rata DO dari hasil pengamatan antara 3,6-10 mg/L dimana yang memiliki nilai DO terendah adalah stasiun 1 sedangkan yang tertinggi berada di stasiun 3. Sesuai Kep MENLH No. 51 tahun 2004 bahwa baku mutu DO untuk perairan yaitu >5 .

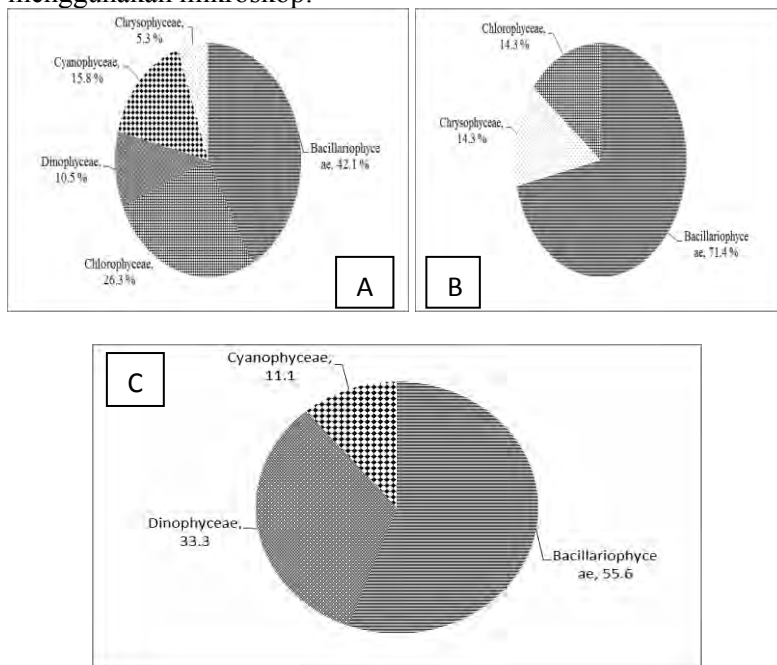
Berdasarkan pengukuran laboratorium terhadap unsur nitrat, nitrit dan Fosfat di perairan didapatkan nilai dalam kategori optimal untuk pertumbuhan fitoplankton sesuai dengan KEPMENLH. No 51 tahun 2004. Kadar nitrat di Estuaria Sungai Porong dengan kisaran 1,34-5,16 mg/L. Kadar nitrit didapatkan nilai kandungan nitrit di stasiun 1 sebesar 0,085 mg/L, stasiun 2 sebesar 0,143 mg/L dan stasiun 3 sebesar 0,029 mg/L. Kadar amonium di estuaria Sungai porong berkisar antara 0,036-0,082 mg/L. Baku mutu kadar ammonium untuk pertumbuhan organisme laut adalah 0,3 mg/l. kadar nilai ammonium di perairan ini lebih rendah dibandingkan dengan baku mutu yang ditetapkan Kep MENLH NO. 51 Tahun 2004. Menurut Raymont (1980), ada jenis fitoplankton yang lebih dahulu menggunakan nitrat dan ada juga yang lebih dahulu menggunakan amonium. Hasil pengukuran kadar kandungan fosfat di semua stasiun pengamatan didapatkan nilai yang sama yaitu $<0,22$ mg/L. Kep MENLH No.51 Tahun 2004 menetapkan ambang batas kandungan fosfat untuk kehidupan biota laut sebesar 0,015 mg/l. Hal ini berarti nilai yang didapat menunjukkan bahwa nilai tersebut masih dapat memenuhi untuk kehidupan biota laut.

4.2 Komposisi dan Kelimpahan Mikroalga

4.2.1 Komposisi mikroalga perairan Estuaria Sungai Porong

Identifikasi mikroalga menggunakan dasar buku *Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators* (Bellinger dan David, 2010), buku *Easy Identification Of The Most Common Freshwater Algae* (Vuuren, 2006) dan *Identifying Marine Phytoplankton* (Carmelo, 1997). Proses identifikasi

mikroalga dilakukan dengan melihat bentuk morfologi sel dengan menggunakan mikroskop.



Gambar 4.1 Komposisi Kelas Mikroalga Estuaria Sungai Porong
Keterangan : A. Stasiun 1 (sungai), B. Stasiun 2 (muara), C. Stasiun 3 (laut)

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Estuaria Sungai Porong terhadap komposisi mikroalga didapatkan lima kelas yaitu kelas Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Cyanophyceae, Dinophyceae, dan Chrysophyceae. Pada stasiun 1 terdiri dari kelas Bacillariophyceae (8 genus), kelas Chlorophyceae (5 genus), Cyanophyceae (3 genus), Dinophyceae (2 genus), dan Chrysophyceae (1 genus). Pada stasiun 2 terdiri atas kelas Bacillariophyceae (2 genus), Chlorophyceae (1 genus), dan Chrysophyceae (1 genus). Pada stasiun 3 terdiri atas

Bacillariophyceae (5 genus), Dinophyceae (3 genus), dan Cyanophyceae (1 genus). Pada stasiun 1 komposisi mikroalga tertinggi yaitu kelas Bacillariophyceae dengan prosentase 42,1%, diikuti kelas Chlorophyceae 26,3%, kelas Cyanophyceae 15,8% , kelas Dinophyceae 10,5%, dan kelas Chrysophyceae 5,3%. Pada stasiun 2 Kelas Bacillariophyceae memiliki prosentase tertinggi yaitu 71,4% diikuti dengan kelas Chlorophyceae dan kelas Chrysophyceae masing-masing 14,3%. Pada stasiun 3 ditemukan kelas Bacillariophyceae dengan prosentase 55,6% diikuti kelas Dinophyceae 33,3% dan kelas Cyanophyceae 11,1%.

Kelas Bacillariophyceae merupakan kelompok yang paling banyak ditemukan. Pada semua stasiun pengambilan sampel ditemukan mikroalga kelas Bacillariophyceae. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nontji (2007), umumnya fitoplankton yang terdapat di perairan laut adalah dari jenis diatom (Bacillariophyceae), diikuti dengan dinoflagellata (Dinophyceae) dan alga biru (Cyanophyceae). Dibandingkan dengan kelas lainnya mikroalga kelas Bacillariophyceae termasuk jenis mikroalga yang mampu menyesuaikan diri terhadap kondisi lingkungan dan memanfaatkan unsur hara secara optimal untuk pertumbuhannya. Bentuk adaptasi dari kelas Bacillariophyceae yaitu dengan cara memanfaatkan struktur *frustula* pada tubuhnya untuk melayang di permukaan air. Hal ini bertujuan agar diatom mendapatkan cahaya matahari yang cukup untuk melakukan fotosintesis (Sachlan, 1982; Duxbury *et al.*, 2002). Menurut Arinardi *et al.* (1997), kelas Bacillariophyceae lebih mampu beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang ada, kelas ini bersifat kosmopolitan serta mempunyai toleransi dan daya adaptasi yang tinggi.

Kelas Chlorophyceae adalah kelas dari mikroalga yang ditemukan di stasiun 1 dan stasiun 2. Keberadaan kelas ini di stasiun 1 lebih besar dibandingkan di stasiun 2 karena kelas Chlorophyceae termasuk dalam fitoplankton air tawar. Keberadaannya di stasiun 2 disebabkan oleh debit arus sungai

yang deras sehingga membawa mikroalga tersebut ke estuaria bagian muara. Menurut Hadi dan Radjawane (2009), bahwa arus pasang surut yang terjadi di daerah estuaria memiliki tipe arus pasang surut yang berubah-ubah. Ditambahkan oleh Subakti (2012), bahwa ketika air laut mulai surut maka massa air cenderung meninggalkan estuaria menuju laut lepas. Kondisi demikian menyebabkan dominasi air sungai di daerah muara. Disebutkan dalam NREL (2003), bahwa Kelas Chlorophyceae merupakan mikroalga yang memiliki kelimpahan tinggi terutama di perairan tawar dan hidup dalam bentuk soliter maupun koloni.

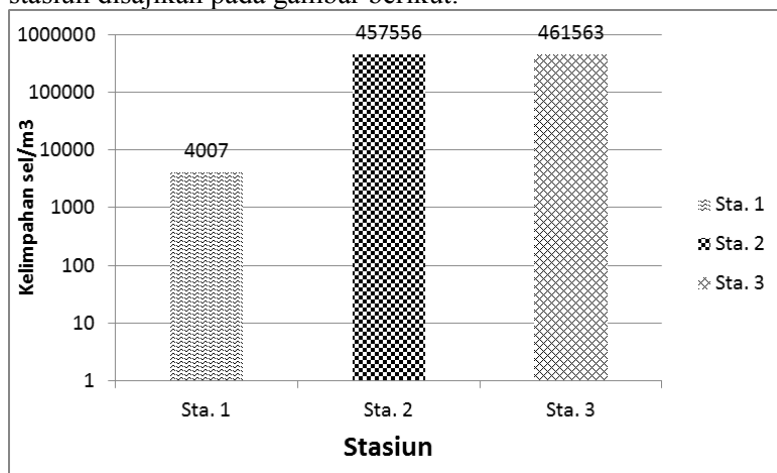
Kelas Dinophyceae (Dinoflagellata) memiliki klorofil a dan klorofil c dalam tubuhnya (Bold dan Wyne, 1985). Mikroalga ini bereproduksi dengan pembelahan diri. Jenis mikroalga dari kelas Dinophyceae ditemukan di perairan estuaria stasiun 1 dan stasiun 3. Hal ini sesuai dengan Nontji (2006), Dinoflagellata (kelas Dinophyceae) adalah grup fitoplankton yang sangat umum ditemukan di laut setelah diatom. Hal yang membedakan dengan diatom adalah adanya flagella yang terdapat pada tubuhnya. Organisme ini termasuk ke dalam Dinoflagellata dan ditemukan di air tawar maupun air laut.

Kelas Cyanophyceae merupakan mikroalga yang bersifat prokariot. Bentuk sel Cyanophyceae umumnya berupa sel tunggal, koloni atau filament. Dalam bentuk koloni atau filamen alga ini mampu melakukan proses fiksasi nitrogen sehingga dapat menyebabkan ledakan populasi *blooming* baik di perairan tawar maupun perairan laut (Sachlan, 1982). Kelas Chrysophyceae atau sering disebut sebagai alga keemasan karena kloroplasnya mengandung pigmen karoten dan xantofil dalam jumlah banyak dibandingkan dengan klorofil. Berdasarkan hasil sampling di perairan estuaria porong mikroalga kelas Cyanophyceae ditemukan di stasiun 1 dan stasiun 3, sedangkan kelas Chrysophyceae ditemukan di stasiun 1 dan stasiun 2. Hal ini menunjukkan bahwa kedua kelas dari mikroalga tersebut mampu hidup dan tumbuh di perairan tawar dan laut. Mikroalga dari kelas

Cyanophyceae dan Chrysophyceae dapat ditemukan di semua perairan tawar dan laut (Luttge, 1976).

4.2.2 Kelimpahan mikroalga

Kelimpahan mikroalga menunjukkan jumlah genus yang ditemukan di perairan estuaria sungai porong. Berdasarkan data pengamatan terhadap mikroalga di masing-masing stasiun pengamatan didapatkan kelimpahan mikroalga yang hampir sama pada tiap stasiun pengambilan. Kelimpahan mikroalga antar stasiun disajikan pada gambar berikut:



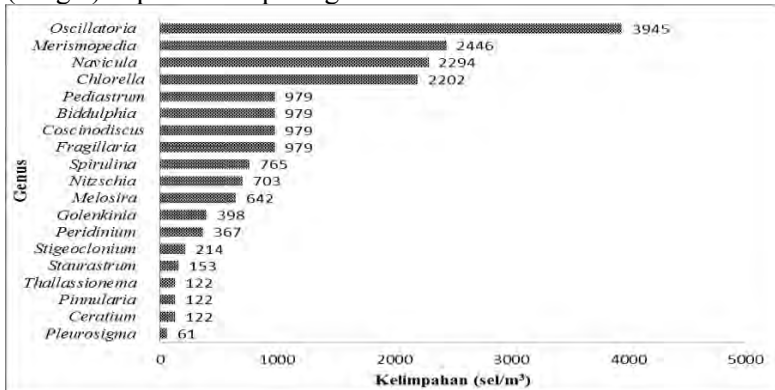
Gamba 4. 2 Grafik kelimpahan mikroalga perairan estuaria sungai porong.

Kelimpahan mikroalga di stasiun 3 menunjukkan kelimpahan yang paling tinggi dibandingkan dengan stasiun lainnya. Dari semua genus yang ditemukan di masing-masing stasiun, mikroalga kelas Bacillariophyceae merupakan mikroalga yang memiliki kelimpahan tertinggi pada semua stasiun. Hal ini terjadi karena mikroalga dari kelas ini mampu beradaptasi dengan lingkungan tempat hidupnya dibandingkan dengan genus dari kelas yang lainnya (Nybakken, 2005).

Genus *Nitzschia* dan *Oscillatoria* merupakan genus yang ditemukan di semua stasiun sedangkan genus yang lain hanya ditemukan di beberapa stasiun. Genus *Nitzschia* melimpah di stasiun 3 dengan kelimpahan sebesar 120.895 sel/m^3 , sedangkan genus *Oscillatoria* melimpah di stasiun 2 sebesar 394.836 sel/m^3 . Berdasarkan hasil perhitungan terhadap kelimpahan sel mikroalga di perairan estuaria sungai porong didapatkan jumlah total sel mikroalga sebanyak 923.126 sel/m^3 .

4.2.2.1 Kelimpahan mikroalga di stasiun 1

Pada stasiun 1 (sungai) genus mikroalga yang ditemukan sebanyak 19 genus. Kelimpahan mikroalga pada stasiun 1 (sungai) dapat dilihat pada grafik berikut:



Gambar 4.3 grafik kelimpahan mikroalga di stasiun 1.

Berdasarkan gambar 4.3 kelimpahan total sel mikroalga di stasiun 1 sebesar 4007 sel/m^3 . Kelimpahan mikroalga tertinggi berasal dari kelas Cyanophyceae yaitu *Oscillatoria* sebesar 888 sel/m^3 sedangkan kelimpahan terendah pada stasiun 1 yaitu genus *Pleurosigma* sebesar 14 sel/m^3 .

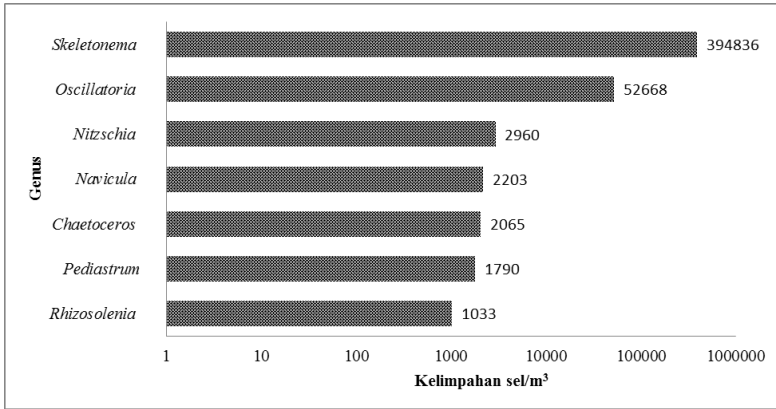
Genus mikroalga yang melimpah pada stasiun 1 merupakan genus dari kelas Cyanophyceae. Kelas Cyanophyceae termasuk dalam golongan alga hijau biru. Alga ini merupakan organisme prokariotik sehingga organel sel tersebar didalam

sitoplasma. *Oscillatoria* merupakan salah satu genus dari kelas Cyanophyceae yang menjadi produsen dan komponen penting dalam siklus nitrogen. Sel *Oscillatoria* yang memiliki kelimpahan yang tinggi karena tubuh mikroalga ini berbentuk filamen dan sel-selnya rapat sehingga di dalam tiap filamen yang teramati terdapat banyak jumlah sel. Hal ini sesuai dengan Cartonno (2005), yang menyatakan bahwa ciri-ciri *Oscillatoria* yaitu tubuh berbentuk filamen dan memiliki susunan sel yang rapat serta memiliki pembelahan sel yang sangat cepat.

Genus mikroalga yang memiliki kelimpahan yang paling sedikit di stasiun 1 adalah *Pleurosigma*. *Pleurosigma* termasuk dalam mikroalga kelas Bacillaryophyceae dan termasuk dalam golongan diatom. Sel *Pleurosigma* ditemukan lebih sedikit dibandingkan dengan genus lainnya. Hal ini dikarenakan lokasi sampling di stasiun 1 kurang cocok untuk pertumbuhan mikroalga jenis ini. Keberadaan genus *Pleurosigma* pada stasiun 1 diduga karena terbawa oleh aliran air laut ke sungai pada saat pasang. Sesuai dengan pernyataan Vureen (2006), genus *Pleurosigma* merupakan sel mikroalga yang hidupnya sendiri dan habitatnya cenderung di dasar perairan dengan salinitas tinggi.

4.2.2.2 Kelimpahan mikroalga di stasiun 2

Pengambilan mikroalga di stasiun 2 (muara) ditemukan mikroalga dengan genus yang lebih sedikit dibanding dengan stasiun lainnya, akan tetapi memiliki jumlah sel yang banyak dari tiap genus tersebut. Daerah muara merupakan daerah pertemuan antara air sungai dan air laut dimana terjadinya *up-welling* dan *down-welling* pada perairan sehingga unsur hara melimpah. Kelimpahan mikroalga yang ditemukan di stasiun 2 dapat dilihat pada (gambar 4.5).



Gambar 4.4 grafik kelimpahan mikroalga di stasiun 2

Kelimpahan total mikroalga pada stasiun 2 sebesar 457.556 sel/m^3 . Dari semua genus yang ditemukan pada stasiun 2 di dominasi oleh kelas Bacillariophyceae, sedangkan terdapat juga mikroalga kelas Chrysophyceae dan kelas Chlorophyceae. Genus *Skeletonema* lebih dominan ditemukan pada saat pengamatan dengan kelimpahan sebesar 394.836 sel/m^3 , diikuti dengan genus *Oscillatoria* dengan kelimpahan 52.668 sel/m^3 dan genus *Nitzschia* sebesar 2960 sel/m^3 . Kelimpahan mikroalga terkecil pada stasiun 2 adalah genus *Rhizosolenia* sebesar 1.033 sel/m^3 .

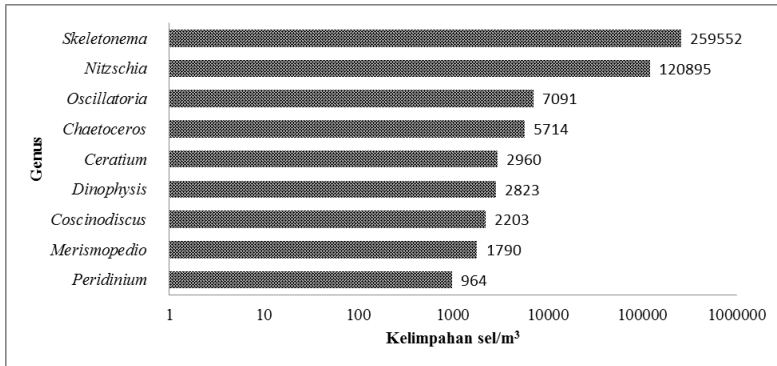
Genus mikroalga yang mendominasi stasiun 2 adalah *Skeletonema*. Genus ini memiliki kelimpahan tertinggi dan termasuk golongan diatom dari kelas Bacillariophyceae. Menurut Arinardi *et al.* (1997), *Skeletonema* dapat memanfaatkan kadar zat hara lebih cepat daripada diatom lainnya. Mikroalga ini membentuk untaian rantai yang terdiri dari beberapa sel. Sel *skeletonema* berbentuk kotak yang dipenuhi oleh sitoplasma. Ciri morfologi dari *Skeletonema* yaitu mempunyai ukuran sel berkisar 4-15 mikron dan antara sel yang satu dengan lainnya dapat membentuk untaian rantai yang panjang. Sel *Skeletonema* terdiri

dari 2 bagian yaitu bagian atas yang disebut epiteka dan bagian bawah yang disebut hipoteka, pada bagian hipoteka terdapat lubang-lubang yang berpola khas yang terbuat dari silikon oksida dan selnya dilindungi oleh sitoplasma (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Kelimpahan mikroalga terendah pada stasiun 2 yaitu *Rhizosolenia*. Genus ini jarang ditemukan pada saat pengamatan di bawah mikroskop. *Rhizosolenia* termasuk mikroalga dalam golongan diatom yang bersifat autotrof (Smithsonian, 2012). Sel *Rhizosolenia* berbentuk silinder yang menyempit membentuk kerucut pada kedua ujungnya, dengan sel yang hidupnya *soliter* (Horner, 2002). Mikroalga ini hidup di daerah muara dan laut dengan kadar salinitas tinggi. Berdasarkan hasil uji parameter kimia di stasiun 2 didapatkan nilai salinitas sebesar 10 ‰. Nilai salinitas tersebut kurang cocok untuk habitat *Rhizosolenia*. Kadar salinitas yang sesuai untuk pertumbuhan *Rhizosolenia* sebesar 24-36 ‰ (EOL, 2005).

4.2.2.3 Kelimpahan mikroalga di stasiun 3

Dari hasil pengamatan laboratorium didapatkan 3 kelas mikroalga yaitu kelas Bacillariophyceae, Cyanophyceae dan Dinophyceae. Sebagian besar jenis mikroalga yang di temukan berasal dari kelompok diatom dan kelompok dinoflagellata. Kelimpahan mikroalga yang didapatkan pada stasiun 3 dapat dilihat pada grafik berikut:



Gambar 4.5 grafik kelimpahan mikroalga di stasiun 3

Mikroalga yang melimpah pada stasiun 3 adalah *Skeletonema* sebesar 229.552 sel/m³ dan *Nitzschia* sebesar 120.895 sel/m³. Beberapa genus lain juga ditemukan pada saat pengamatan yaitu *Coscinodiscus*, *Ceratium*, *Oscillatoria*, *Chaetoceros*, *Mesrismopedia*, *Dinophysis*, *Nitzschia*. *Ceratium* dan *Dinophysis* termasuk kelompok dinoflagellata sedangkan genus yang lain termasuk kedalam kelompok diatom. Kelimpahan terkecil pada stasiun ini adalah *Peridinium* dengan kelimpahan sebesar 4.281 sel/m³.

Lokasi pengambilan sampel di stasiun 3 merupakan daerah estuaria hilir atau di daerah yang mendekati laut. Daerah ini memiliki salinitas dan nilai DO yang sangat tinggi. Kelimpahan mikroalga *Skeletonema* dan *Nitzschia* dipengaruhi oleh parameter lingkungan perairan.

4.3 Isolasi dan Kultur Mikroalga

Proses isolasi dan kultur mikroalga merupakan bagian dari tahapan yang dilakukan terlebih dahulu sebelum dilakukan analisis lipid secara kualitatif terhadap sel mikroalga. Isolasi yang dilakukan terhadap mikroalga dari perairan estuaria sungai porong berlangsung hingga didapatkan genus mikroalga yang terdiri dari satu genus. Mikroalga yang tumbuh dapat dilihat secara makroskopis dan mikroskopis. Genus mikroalga yang berhasil diisolasi dapat dilihat pada tabel (4.2).

Tabel 4.2 Isolat mikroalga yang berhasil diisolasi dari perairan estuaria sungai porong.

Stasiun	Genus	Jumlah
1	<i>Oscillatoria</i>	6
	<i>Nitzschia</i>	
	<i>Merismopedia</i>	
	<i>Navicula</i>	
	<i>Chlorella</i>	
	<i>Melosira</i>	
2	<i>Oscillatoria</i>	3
	<i>Nitzschia</i>	
	<i>Navicula</i>	
3	<i>Oscillatoria</i>	2
	<i>Nitzschia</i>	

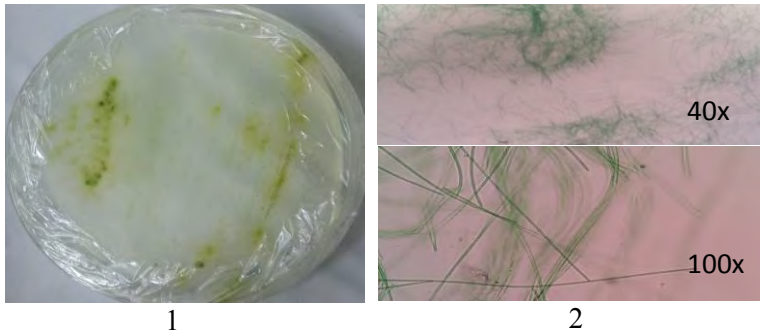
Berdasarkan tabel 4.2 disebutkan bahwa genus yang diperoleh dari kultur mikroalga berjumlah 11 genus. Semua genus yang terisolasi adalah sel mikroalga yang murni yaitu sel yang terdiri dari satu genus, karena telah dilakukan purifikasi secara berulang terhadap isolat yang tumbuh pada tiap cawan petri. Sampel mikroalga yang diambil dari stasiun 1 didapatkan 6 genus mikroalga yang mampu diisolasi yaitu *Oscillatoria*, *Nitzschia*, *Merismopedia*, *Navicula*, *Chlorella* dan *Melosira*. Isolat mikroalga dari stasiun 2 didapatkan 3 genus yaitu *Oscillatoria*,

Nitzschia, dan *Navicula*. Mikroalga yang mampu diisolasi dari stasiun 3 didapatkan 2 genus yaitu *Oscillatoria* dan *Nitzschia*. *Oscillatoria* dan *Nitzschia* adalah genus yang dapat diisolasi dari semua stasiun pengambilan sampel. Pertumbuhan mikroalga pada medium agar tumbuh setelah 5-6 hari kultur. Mikroalga yang tumbuh pada medium agar akan membentuk koloni tersendiri dan berwarna sesuai dengan pigmen masing-masing sel. Terbentuknya koloni pada medium agar sebagai indikator bahwa unsur hara yang ada dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel. Mikroalga memperoleh nutrisi dari medium yang mengandung unsur hara dengan cara mengasorpsi secara langsung melalui membrane sel. Dalam pertumbuhan dan perkembangannya sel mikroalga sangat dipengaruhi oleh ketersediaan unsur hara (makro dan mikro) dan lingkungan. Unsur hara tersebut berfungsi untuk pembentukan protein, metabolisme karbohidrat, pembentukan klorofil dan dinding sel.

1. Mikroalga *Oscillatoria*

Genus mikroalga *Oscillatoria* dikelompokkan dalam kelas Cyanophyceae pada famili Oscillatoiaceae. *Oscillatoria* berukuran 8-30 μm berwarna hijau karena adanya pigmen klorofil. *Oscillatoria* bersifat uniseluler dan non motil dengan sel membentuk koloni berbentuk filamen dan bereproduksi dengan fragmentasi (Guiry, 2015). Genus *Oscillatoria* merupakan genus yang dapat tumbuh di semua jenis perairan baik tawar, laut dan air panas (Vurren, 2006).

Pengamatan genus *Oscillatoria* secara makroskopis pada cawan petri menunjukkan bahwa sel *Oscillatoria* tumbuh membentuk filamen berwarna hijau seperti benang. Pertumbuhan genus *Oscillatoria* dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tempat kultur. Hasil pengamatan terhadap suhu selama kultur sel antara 25°C – 27°C . kondisi ini masih dalam keadaan yang ideal untuk pertumbuhan mikroalga. Sebagian besar mikroalga dapat hidup pada suhu antara 16 – 35°C (Kawaroe, 2010).



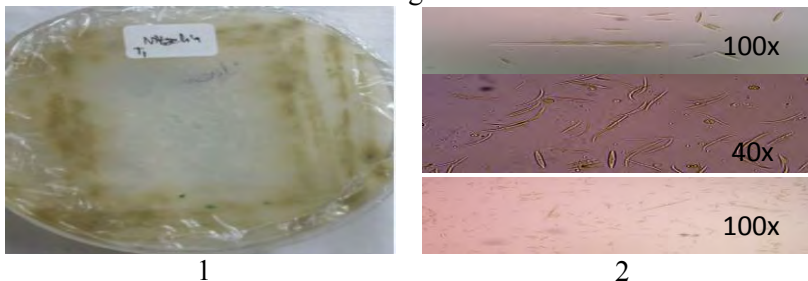
Gambar 4.6 *Oscillatoria*

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis perbesaran 40x dan 100x

2. Mikroalga *Nitzschia*

Genus ini termasuk dalam kelas Bacillariophyceae dengan famili Bacillariaceae. *Nitzschia* memiliki ukuran sel dengan panjang 5-100 μm dan lebar 2.5-12 μm . Sel ini bersifat soliter berbentuk oval memanjang dan memiliki *raphe* (rongga udara) pada kedua ujungnya. Masing-masing *raphe* pada kedua sisi sel mengandung kloroplas yang besar. Kloroplas tersebut mengandung pigmen klorofil yang berguna untuk proses fotosintesis (Vurren, 2006).

Pengamatan secara makroskopis, isolat *Nitzschia* berwarna coklat dalam medium agar.

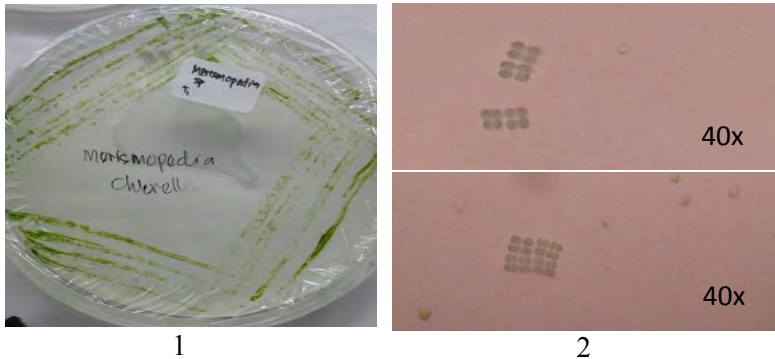


Gambar 4.7 *Nitzschia*

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x dan 100x.

3. Mikroalga *Merismopedia*

Genus ini termasuk dalam kelas Cyanophyceae dari famili Merismopediaceae. *Merismopedia* memiliki sel yang berbentuk bulat, memiliki panjang 3-6 μm dan lebar 4,5 μm . Sel tersebut ditemukan dalam bentuk koloni yang teratur (John *et al.*, 2002). Koloni berbentuk persegi yang terdiri dari selapis sel berwarna hijau biru yang tersusun rapat dalam barisan dan diselimuti oleh matriks berlendir. Warna hijau biru pada sel *Merismopedia* merupakan pigmen yang berguna untuk proses metabolisme sel.



Gambar 4.8 *Merismopedia*

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x.

4. Mikroalga *Navicula*

Genus ini termasuk dalam kelas Bacillariophyceae dari famili Naviculaceae. *Navicula* memiliki bentuk batang atau silindris yang disisipi oleh substansi kersik pada dinding selnya berupa silika. Substansi ini menyebabkan bentuk sel relatif tetap. Pada bagian katup terdapat kloroplas yang terdiri dari pigmen karoten dan xantofil sehingga menyebabkan klorofil tidak terlalu

tampak. Mikroalga ini bereproduksi dengan cara membelah diri (Vurren, 2006).



Gambar 4.9 *Navicula*

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x dan 100x.

5. Mikroalga *Chlorella*

Genus ini termasuk dalam kelas Chlorophyceae dari famili Chlorellaceae. Mikroalga jenis *Chlorella* memiliki bentuk sel bulat, berwarna hijau, pergerakannya tidak motil dan struktur tubuhnya tidak memiliki flagel. Organisasi selnya berbentuk uniseluler, multiseluler, dan membentuk koloni. Mikroalga ini hanya melakukan reproduksi tipe aseksual, yaitu pemberlahan diri secara mitosis (Kawaroe, 2010).

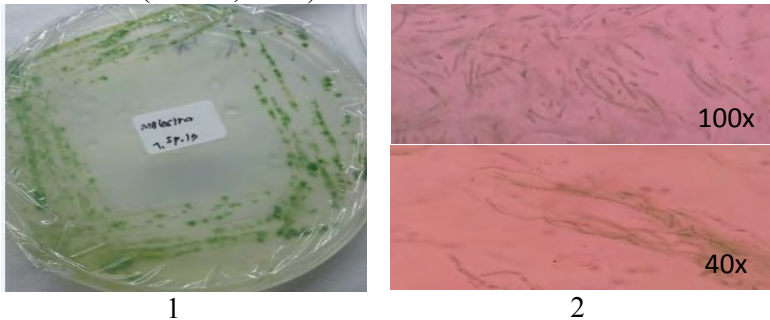


Gambar 4.10 *Chlorella*

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x dan 100x.

6. Mikroalga *Melosira*

Melosira merupakan genus mikroalga dari kelas Bacillariophyceae famili Melosiraceae. *Melosira* memiliki sel berbentuk silinder yang saling terhubung membentuk filament, dinding selnya terdiri dari silika. *Melosira* dapat tumbuh di perairan tawar dan perairan laut (Horner, 2002). Sel berukuran 5-40 μm dan memiliki kloroplas yang mengandung pigmen fotosintesis (Vurren, 2006).



Gambar 4.11 *Melosira*

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x dan 100x.

Keberhasilan dalam proses kultur mikroalga sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan serta proses isolasi yang dilakukan. Semua mikroalga yang mampu diisolasi adalah mikroalga yang pernah ditemukan pada saat pengamatan untuk perhitungan kelimpahan mikroalga. Dari data kelimpahan mikroalga dari semua stasiun tidak semua mikroalga mampu diisolasi namun hanya beberapa mikroalga yang mampu tumbuh pada medium kultur. Komposisi medium kultur yang digunakan untuk mengisolasi menjadi salah satu faktor keberhasilan dalam proses isolasi mikroalga. Komponen utama medium kultur mikroalga tersebut terdiri dari agar, air dari lokasi sampling, dan

tambahan pupuk *walne* serta silika. Komponen medium tersebut digunakan untuk pertama kali isolasi sampel. Isolasi selanjutnya menggunakan medium yang hanya terdiri dari agar dan air dari lokasi sampling.

Mikroalga yang terisolasi dari semua stasiun merupakan mikroalga air tawar dan air laut atau keduanya. Faktor lingkungan seperti pH, suhu, salinitas dan unsur hara menjadi faktor yang mempengaruhi pertumbuhan isolat dalam medium kultur. Namun unsur hara N dan P menjadi faktor pembatas untuk pertumbuhan mikroalga (Cahyaningsih, 2009). Kandungan unsur N dan P (nitrit, nitrat, amonium dan fosfat) dalam medium kultur mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Kadar unsur N dan P dalam medium kultur di tiap cawan petri berbeda-beda, kandungan unsur N dan P pada tiap medium ditunjukkan dalam (tabel 4.1). Keberhasilan isolasi mikroalga tidak sepenuhnya bergantung pada unsur hara yang tersedia tetapi juga bergantung pada banyak faktor termasuk salah satunya adalah jenis mikroalga dan medium yang digunakan. Mikroalga yang mampu beradaptasi dengan perubahan lingkungan kultur adalah mikroalga yang dapat tumbuh dan memperbanyak selnya. Secara umum, mikroalga *Oscillatoria* dan *Nitzschia* menunjukkan laju pertumbuhan yang baik karena dapat tumbuh di semua medium kultur dengan berbagai parameter lingkungan. Genus *Skeletonema* yang mendominasi perairan stasiun 1 dan stasiun 2 tidak dapat tumbuh pada saat diisolasi. Komposisi medium agar yang digunakan saat isolasi diduga tidak cocok untuk pertumbuhan genus tersebut. *Skeletonema* pada medium kultur membutuhkan medium yang khusus untuk pertumbuhannya. Medium yang cocok untuk pertumbuhan mikroalga *Skeletonema* berupa agar dengan tambahan pupuk *f/2*. Menurut Renaud *et al.* (1998) penggunaan medium dengan tambahan pupuk *f/2* dapat mempercepat pertumbuhan *Skeletonema* dibanding dengan diatom lainnya. Mikroalga yang memiliki range toleransi yang luas terhadap kondisi lingkungan merupakan salah satu karakter mikroalga

yang dapat dibudidayakan dengan skala besar terutama untuk tujuan sebagai sumber biodiesel (Borowitzka, 1992).

Nitrogen merupakan makronutrien yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga dalam kegiatan metabolisme sel yaitu transportasi, asimilasi dan biosintesis protein (Borowitzka, 1988). Dengan demikian ketersediaan nitrogen dalam medium kultur dapat menyebabkan metabolisme sel akan berjalan dengan baik, termasuk sintesis klorofil. Adanya kandungan klorofil dalam sel mikroalga yang meningkat maka proses fotosintesis akan berjalan dengan baik, sehingga pertumbuhan mikroalga akan optimal. Menurut Vonshak *et al.*, (2000), setiap jenis mikroalga memiliki perbedaan komposisi protein dan lemak dalam komposisi biokimia pada tubuhnya, tergantung kemampuannya dalam menggunakan unsur nitrogen (N) dan fosfor (P) untuk metabolismenya.

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempunyai pengaruh terhadap kadar total lipid (Spolaore *et al.*, 2006). Suhu yang digunakan dalam kultur mikroalga sebesar 27 °C. Mikroalga dapat tumbuh optimal pada suhu 20-30 °C. Nilai suhu di ruangan kultur dapat ditoleransi untuk pertumbuhan mikroalga. Schenk *et al.* (2008) menyatakan mikroalga mengakumulasi lipid pada keadaan tertentu. Pada kondisi lingkungan tidak optimal mikroalga tetap melakukan fotosintesis dengan bantuan CO₂ dan mengakumulasinya dalam bentuk karbohidrat dan lipid. Mikroalga mengakumulasi total lipid dalam jumlah banyak sampai menemukan lingkungan tumbuh yang baik.

Salinitas merupakan salah satu sifat kimia air yang secara langsung maupun tidak langsung dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Salinitas pada masing-masing medium berbeda tiap stasiunnya, nilai salinitas meningkat dari stasiun 1 hingga stasiun 3. Perbedaan salinitas ini menunjukkan kemampuan masing-masing mikroalga dalam melakukan adaptasi tergantung jenis dan perubahan salinitas dari habitat asalnya.

Perlakuan fotoperiode dilakukan dengan menginkubasi mikroalga di bawah cahaya lampu neon, dengan periode menyala selama 24 jam dan periode gelap-terang 12:12 jam. Periode terang dan gelap dilakukan untuk menyerupai kondisi seperti di alam sehingga memungkinkan kondisi kultur sesuai dengan habitat aslinya. pH rata-rata dalam medium kultur adalah basa dengan nilai 8,1-8,4. Semakin tinggi nilai pH dalam medium kultur akan mempengaruhi kadar CO₂ didalam medium, hal ini juga akan berpengaruh terhadap proses fotosintesis mikroalga (Wijanarko *et al.*, 2007).

4.4 Analisis Lipid Total Pada Mikroalga





Analisis kandungan lipid total dilakukan pada semua genus mikroalga yang dapat diisolasi. Analisis dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan metode pewarnaan. Pewarnaan dilakukan untuk melihat kandungan lipid pada sel mikroalga. Pewarnaan lipid total pada mikroalga menggunakan pewarna *Nile red* (9-diethylamino-5-benzo[α] phenoxazinone) (Greenspan *et al.*, 1985). Penggunaan *Nile red* untuk melihat kandungan lipid secara kualitatif merupakan metode yang umum digunakan terhadap organisme seperti bakteri, yeast, dan mikroalga (Hu *et al.*, 2009). Larutan *Nile red* digunakan untuk mengetahui kandungan lipid pada mikroalga melalui pendaran warna (Cooksey *et al.*, 1987). Pendaran positif pada mikroalga ditunjukkan dengan adanya pendaran kuning pada sel ketika dipaparkan lampu *fluorescence*, sedangkan pendaran negatif ditunjukkan dengan warna merah pada sel mikroalga. Warna kuning pada sel mikroalga menunjukkan lipid dan warna merah menunjukkan sel mikroalga yang terpapar lampu *fluorescence* (Mata *et al.*, 2010). Mikroalga yang mengandung lipid akan menunjukkan pendaran warna kuning mengkilap (Gunawan, 2010; Priscu, 1990; Cooksey *et al.*, 1987). Gunawan (2010), menyatakan bahwa perubahan warna terjadi karena *Nile red* bereaksi dengan lipid yang terkandung dalam sel mikroalga

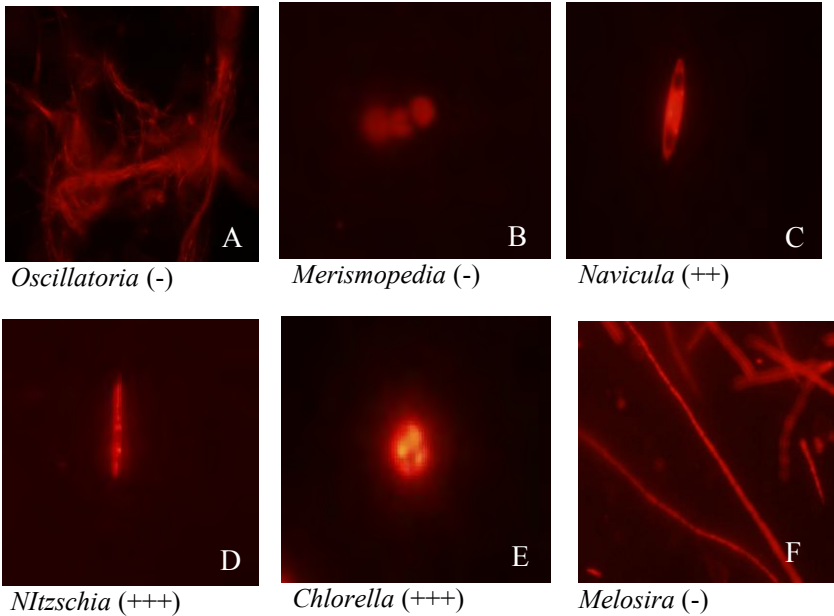
dengan mengubah ligand menjadi kuning. Pendaran warna sel mikroalga dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Pengamatan Kandungan Lipid Mikroalga Secara Kualitatif dengan *Nile Red*

Stasiun	Genus	Pendaran warna pada mikroalga			
		-	+	++	+++
1	<i>Oscillatoria</i>	√			
	<i>Nitzschia</i>				√
	<i>Merismopedia</i>	√			
	<i>Navicula</i>			√	
	<i>Chlorella</i>				√
	<i>Melosira</i>	√			
2	<i>Oscillatoria</i>	√			
	<i>Nitzschia</i>		√		
	<i>Navicula</i>			√	
3	<i>Oscillatoria</i>	√			
	<i>Nitzschia</i>				√

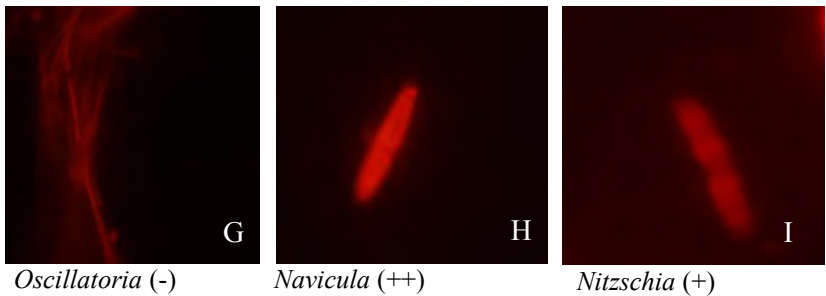
Keterangan :

- | | | | |
|---------------|--------------------------|---|---------------------------------|
| - | : Pendaran merah |  | = tidak ada akumulasi lipid |
| + | : Pendaran kuning rendah |  | = akumulasi lipid sedang |
| ++ | : Pendaran kuning sedang |  | = akumulasi lipid tinggi |
| +++
tinggi | : Pendaran kuning kuat |  | = akumulasi lipid sangat tinggi |



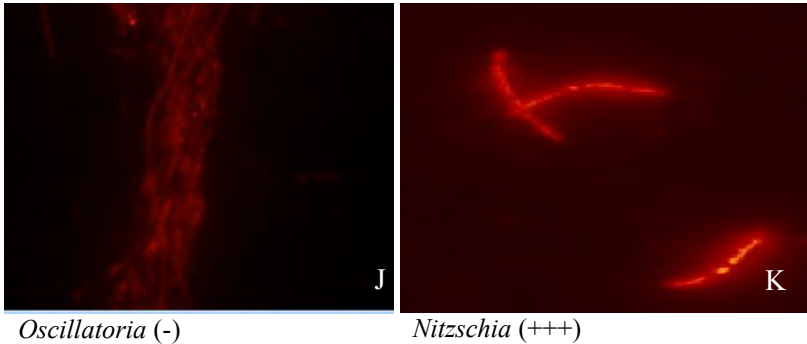
Gambar 4.12 Pendaran warna sel mikroalga dari stasiun 1

Keterangan : A. *Oscillatoria*; B. *Merismopedia*; C. *Navicula*;
D. *Nitzschia*; E. *Chlorella*; F. *Melosira*



Gambar 4.13 Pendaran warna sel mikroalga dari stasiun 2

Keterangan : G. *Oscillatoria*; H. *Navicula*; I. *Nitzschia*



Gambar 4.14 Pendaran warna sel mikroalga dari stasiun 3
Keterangan : J. *Oscillatoria*; K. *Nitzschia*

Deteksi lipid menggunakan *nile red* menghasilkan pendaran warna kuning. Pendaran warna dihasilkan dari reaksi antara *nile red* dengan sel mikroalga. Penambahan pelarut aseton membantu memfasilitasi permeabilitas dari membran sel sehingga pewarna *nile red* dapat masuk ke dalam sel dan jaringan. Mekanismenya diawali dengan induksi air melewati membran lipid bilayer dengan cara mengubah fluiditas membran (Huang *et al*, 2009)

Dari 11 mikroalga yang diisolasi diketahui tidak semuanya mengalami pendaran warna saat dilakukan *staining* di bawah mikroskop *fluorescence*. Intensitas pendaran lipid dipengaruhi oleh kandungan lipid di dalam sel yang dihasilkan selama kultur diinkubasi. Produksi lipid pada sel mikroalga dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Mikroalga pada kondisi stress lingkungan menghasilkan lipid lebih banyak. Selain itu kandungan lipid pada mikroalga dikontrol oleh gen karena hanya strain atau spesies tertentu yang mampu menghasilkan lipid (Hu *et al*, 2008).

Pendaran warna yang terjadi pada sel mikroalga memiliki daya pendar yang bervariasi. Setiap pendaran yang dihasilkan menunjukkan akumulasi lipid pada tiap selnya. Mikroalga yang

memiliki pendaran kuning kuat diduga mengakumulasi lipid yang tinggi di dalam selnya. Hal ini diindikasikan dengan adanya perubahan sel menjadi kuning. Sedangkan mikroalga yang tidak mengakumulasi lipid dalam sel diindikasikan dengan tidak adanya pendaran didalam sel sehingga sel berwarna merah. Semakin kuat pendaran warna kuning menunjukkan tingginya akumulasi lipid dalam sel. Genus *Nitzschia* dan *Chlorella* memiliki pendaran warna sangat tinggi setelah dipaparkan lampu *fluorescence*. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan lipid dalam sel mikroalga tersebut sangat tinggi. Beberapa genus mikroalga lainnya hanya berwarna merah saat dilakukan pewarnaan, hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadi akumulasi lipid pada genus mikroalga.

Lipid yang diproduksi dari sel mikroalga dibagi menjadi dua kelompok yaitu lipid non-polar dan lipid polar. Lipid non-polar dalam sel mikroalga berbentuk TAG (Triasilgliserol) yang terdiri dari asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh yang dapat diolah menjadi biodiesel melalui transesterifikasi. Lipid polar dalam sel mikroalga berbentuk fosfolipid dan sterol yang bertindak sebagai penyusun membran sel dan organel. Dalam kondisi lingkungan yang kurang optimal sel mikroalga cenderung memanfaatkan lipid non-polar (TAG) dalam tubuhnya dan mengubah jalur metabolismenya untuk membentuk energi sehingga sel dapat mempertahankan diri dalam kondisi lingkungan yang tidak optimal (Harwood *et al.*, 2002).

Sintesis lipid terutama TAG di dalam sel mikroalga terjadi pada saat fotosintesis terutama pada saat reaksi terang, lipid yang dihasilkan disimpan dalam sitosol dan lipid non-polar yang dihasilkan selanjutnya akan disintesis menjadi lipid polar dalam reaksi gelap (Thompson, 1996). Pada dasarnya mikroalga yang hidup dalam kondisi lingkungan yang optimal maupun kurang optimal tetap melakukan sintesis lipid dalam tubuhnya, tetapi kemampuan akumulasi lipid tiap genus mikroalga berbeda-beda. Perbedaan dalam hal adaptasi inilah yang menyebabkan

tinggi rendahnya lipid yang dihasilkan dari tiap jenis mikroalga (Sato et al., 2008). Hasil dari metabolisme mikroalga dalam kondisi optimal didapatkan kadar lipid yang relatif rendah yaitu sekitar 5-20% dari berat keringnya. Hal ini berbeda ketika kondisi lingkungan kurang optimal, mikroalga akan tercekam dan mengubah jalur biosintesis lipid terhadap pembentukan dan akumulasi lipid netral (20-50%) dari berat keringnya terutama dalam bentuk TAG. TAG yang dihasilkan digunakan untuk pertahanan dalam kondisi lingkungan yang kurang optimal. Selain itu disebutkan juga oleh Miao *et al.*, (2006) dan Hu *et al.*, (2006), bahwa sintesis lipid dalam bentuk TAG dapat terjadi dalam kondisi tidak optimal dan lipid dalam bentuk TAG merupakan prekursor bahan baku biodiesel.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa genus mikroalga yang dapat diisolasi dari perairan estuaria sungai porong adalah *Oscillatoria*, *Nitzschia*, *Merismopedia*, *Navicula*, *Chlorella*, dan *Melosira*. Hasil analisis lipid secara kualitatif menunjukkan bahwa genus *Chlorella* dan *Nitzschia* merupakan genus yang memiliki kandungan lipid intraseluler tinggi yang dibuktikan dengan adanya pendaran warna kuning cerah pada sel mikroalga.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan penulis dalam penelitian ini yaitu,

1. Perlu dilakukan penelitian analisis kandungan lipid secara kuantitatif terhadap mikroalga memiliki kandungan lipid intraseluler tinggi.
2. Perlu dilakukan pemilihan medium isolasi yang sesuai untuk pertumbuhan mikroalga, sehingga mikroalga yang diinginkan dapat diisolasi pada medium kultur.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

Abida, I.W. 2009. Struktur Komunitas dan Kelimpahan Fitoplankton di Perairan Muara Sungai Porong Sidoarjo. **Jurnal kelautan** 3 (1) : 36-41.

Abida dan indah. 2009. **Hidrodinamika Fisika Kimia Perairan Muara Sungai Porong Sidoarjo**. Madura: Senta.

Abou-Shanab, R., Hun-Joen, B., Song H., Kim Y., dan Hwang, J. 2009. Alga-Biofuel ; Potential Use as Sustainable Alternative green Energy. **Power and Energy Engineering** 1 (1) : 4-6.

Adlan M., Wan M., Khairun, Chuah, Shahril., dan Mohd N., 2012. Tropical Marine Phytoplankton Assemblages and Water Quality Characteristic Associated with Thermal Discharge from a Coastal Power Station. **Journal of Natural Science Research**.

Ansyori, 2004, **Etanol sebagai Bahan Bakar Alternatif**. Jakarta: Erlangga.

Arinardi, O.H., Trimaningsih, S.H., dan Riyono. 1997. **Kisaran Kelimpahan dan Komposisi Plankton Predominan Di Kawasan Timur Indonesia**. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI.

Bajpai, P. dan P.K. Bajpai. 1993. Eicosapentaenoic Acid (EPA) Production from Microorganisms : A Review. **Journal of Biotechnology** 30 : 161-183.

Bersanti, L dan Gualtieri, P. 2006. *Algae Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. London: CRC Press Taylor and Francis Group.

Basmi, J. 2000. **Planktonologi : Plankton Sebagai Bioindikator Kualitas Perairan**. IPB. Bogor

Baud, s. dan I. Lepinieć. 2010. Reviews; physiological and developmental regulation of seed oil production. **Progress in lipid research** Doi:10.1016/j.plipres.2010.01.001

Becker, E. W. 1994. **Microalgae Biotechnology and Microbiology**. England: Cambridge University.

Bellinger, E. G., dan Sigeo D. 2010. **Freshwater Algae Identification and Use as Bioindicators**. West Sussex, England; John Willey & Sons.

Benemann, J.C., Van , O.M.J, Massingill, J.C., dan Weissman, B.DE. 2003. **The controlled eutrophication process: using microalgae for CO₂ utilization and agricultural fertilizer recycling**. New York: Cambridge University Press.

BLH (Balai Lingkungan Hidup). 2010. **Identifikasi Kondisi Lingkungan Wilayah Estuaria Sungai Porong**. Surabaya.

Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J., 1988. **Microalgal biotechnology**. New York: Cambridge University Press.

Boyd, C.E. 1990. **Water Quality in Pond for Aquaculture**. Alabama: Alabama Aquacultural Experiment Station, Auburn University

Briggs, M. 2004. **Widescale Biodiesel production from algae**. <<http://www.unh.edu/p2/article/biodiesel/algae.html>> [27 Desember 2014]

Brown, M.R., Dunstan, G.A., Norwood, S.J., dan Miller, K.A. 1996. Effects of harvest stage and light on the biochemical

composition of the diatom *Thalassiosira pseudonana*. **J. Phycol.** 32, 64–73.

Campbell, Reece. 2008. **Biologi Edisi Kedelapan Jilid 1**. Jakarta : Penerbit Erlangga

Campbell, M.N. 2008. Biodiesel: Algae as renewable source for liquid fuel. **Guelph Engineering journal**. (1): 2-7.

Carman, K.R, Thistle D, dan Ertman, S.C. 1991. Nile red as a Probe for lipid storage Products in Benthic Copepods. **J Mar Exol Progress Series**. 74:307

Cartono, 2005. **Biologi Umum Untuk Perguruan Tinggi LPTK**. Bandung : Penerbit Prisma Press.

Chen, W., Zhang, C., Song, L., Sommerfeld, M., dan Hu, Q. A. 2009. high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae. **J. Microbiol. Methods** . 77, 41–47.

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from Mikroalgae. **Biotechnology advances**. 25. Pp.294-306.

Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P., Del Borghi, M. 2009. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. **Chem. Eng. Process**. 48, 1146–1151

Cooksey KE, Guckert JB, Williams SA, Collis PR. 1987. Fluorometric determination of the neutral lipid content of microalgal cells using nile red. **J Microbiol Methods** 6:333-345.

Dahuri, R. 2004. **Pengelolaan Sumberdaya Wilayah Pesisir dan Lautan Secara Terpadu**. Jakarta: Cetakan ketiga. Pradnya Paramita.

Delucchi, M.A. 2003. **A Lifecycle Emission Model (LEM): Lifecycle Emissions from Transportation Fuels; Motor Vehicles, Transportation Modes, Electricity Use, Heating and Cooking Fuels** Institute of Transport Studies. USA: University of California: Davis, CA.

Durrett, t. P. C. Benning, dan j., Ohlrogge. 2008. Plant triacylglycerols as feedstocks for the production of biofuels. **The Plant journal** 54: 593-607.

Duxbury. 2002, **Fundamentals of Oceanography, 4th ed Chapter Select**. General Resources.

Edward G, Bellinger., David C, Sigeo. 2010. **Freshwater Algae : Identification and Use as Bioindicators**. New Delhi. Willey-Blackwell.

Effendi, H. 2003. **Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber daya dan Lingkungan Perairan**. Yogyakarta: Kanisius.

Encyclopedia of life (EOL). 2011. *Rhizosolenia setigera* Brightwell 1858. <http://www.eol.org>. diakses 14 juni 2015.

Fachrul, Melati F. 2007. **Metode Sampling Bioekologi**. Jakarta: Bumi Aksara.

Fairus, A.M.S, Gunawan,A dan Munandar DS. 2010. Budidaya massal *Spirulina platensis* di perairan laut Jepara. **Jurnal Simposium Bioteknologi 252 Akuakultur**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Guckert, J.B., dan Cooksey, K.E. 1990. Triglyceride accumulation and fatty acid profile changes in *Chlorella* (chlorophyta) during high pH-induced cell cycle inhibition. *J. Phycol.*, 26, 72–79.

Gouveia L, dan Oliveira AC.. 2009. Microalgae as A Raw Material For Biofuels Production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology** ; 36: 269–274.

Greenspan, P., Mayer, E.P., dan Fowler, S.D. 1985. Nile red—A selective fluorescent stain for intracellular lipid droplets. **J. Cell Biol.** 100, 965–973.

Gunawan. 2010. Keragaman dan Karakteristik Mikroalga dari Sumber Air Panas yang Berpotensi sebagai Biodiesel. **Tesis**. Bogor. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.

Gurr , M.I., Harwood, J.L., dan Frayn, K.N. 2002. **Lipid Biochemistry: An Introduction, 5th ed.**; Blackwell: Oxford, UK.

Guschina, I.A. dan J.L. Harwood 2006. Lipids and lipid Metabolism in Eukaryotic algae. **Pro g. Lipid Res** 45:160-186.

Hadi, S. dan Radjawane, I. M. 2009. **Arus Laut**. Bandung: Diktat Kuliah Prodi Oseanografi. ITB.

Hambali E, Suryani A, Setyaningsih D, Soerawidjaja TH, Brojonegoro TP, Prawita T., dan Mujdalipah S. **Prosiding Simposium Biodisel Indonesia**. Jakarta, 5-6 September 2006. LPPM IPB: Pusat penelitian Surfaktab dab Bioenergi. Hlm 105-114.

Hariyati, R. 1994. **Kelimpahan dan keanekaragaman mikroalga di sumber air panas Gonoharjo Kendal**. Semarang: Majalah Penelitian Lembaga Penelitian UNIP.

Hidayat., dan Syamsul, H., 2008. **Generasi Ketiga BBM dari Kolam Hijau**. Jakarta: Gatra.

Horner, R. A. 2002. **A Taxonomix Guide to Some Common Phytoplankton**. Biopress Limited, Dorsert Press, Dochester, UK. 200.

Hossain ABMS, Salleh A, Boyce AN, Chowdhury P, dan Naqiuddin M., 2008. Biodiesel Fuel Production From Algae As Renewable Energy. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology** 4 (3) : 250–254.

Hossain ABMS, Salleh A, Boyce AN, Chowdhury P, dan Naqiuddin M.. 2008. Biodiesel Fuel Production From Algae As Renewable Energy. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology** 4 (3) : 250–254.

Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, Ghirardi M, Posewitz M, Seibert M, *et al.* 2008, Microalgal Triacylglycerols As Feedstocks For Biofuels Production: Perspectives And Advances. **The Plant Journal** 54 : 621–639.

Hu Q, Sommerfeld M., Jarvis E., Ghirardi M, Posewitz M., dan Seibert M. 2008. Microalgal Triacylglycerols As Feedstocks For Biofuels Production: Perspectives And Advances. **The Plant Journal** 54 : 621–639.

Hutagalung, H dan Rozak, A. 1997. **Metode Analisis Air Laut, Sedimen dan Biota. Buku Kedua**. Jakarta: Puslitbang Oseanologi-LIPI.

- Isnansetyo A, Kurniastuty. 1995. **Teknik kultur phytoplankton dan zooplankton**. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- James, G. S., dan Morrissey, J. F. 2004. Introduction to the Biology Marine Life 8th Edition. Canada: Jones and Bartlett.
- John, D.M., Witthon, B.A., dan A.J. Brook. 2002. **The freshwater algal flora of the British Isles**. England : Cambridge University press.: xii + 702h.
- John, F. M., dan James, L. S. 2008. **Introduction to the iology of Marine Life**. Canada: Jones and Bartlet Learning.
- Jomas, Carmelo R. 1997. **Identifying Marine Phytoplankton**. Academic Press. California. USA
- Kanz, T., dan Bold, H.C. 1969. **Physiological Studies, Morphological and Taxonomical Investigation of Nostoc and Anabaena in Culture**. Austin (TX): University of Texas, 6924.
- Kawaroe, M. 2010. **Mikroalgae untuk biofuel**. Pusat Penelitian Surfaktan dan Bioenergi: Institut Pertanian Bogor.
- Kawaroe, M. 2007. The Prospect of Marine Microalgae as Biofuel (Oilgae) for Future Alternative of Energy Source. **Proceeding Indonesian Aquaculture**. 30 Juli- 2 Agustus 2007.
- Keputusan Menteri lingkungan Hidup: Peraturan No. 51 Tahun 2004. Indonesia
- Lee, J-Y., Yoo, C., Jun S., Ahn, C., dan Oh, H. 2010. Comparison of Several Methods for Effective Lipid Extraction from Microalgae. **Bioresources Technology** 101 : S75-S77.
- Li, Y., Horsman, M. Wang, B., Wu, N., Lan, C. 2008. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green

alga *Neochloris oleoabundans*. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 81 : 629–636.

Luttge, U., dan Pitman, M.G. 1976. **Transport in Plants II: Part A cells**. Berlin: Springer-Verlag

Markham, J.W., dan Hagmeier, E. 1982. Observatons on the effects of germanium dioxido on the growth of macro-algae and diatoms. **journal Phycologia** 21(2):125-130.

Massinggil, M. J. 2009. **15 Years of Experience Producing microalgae Feedstock and Resulting. Co-Products**, Kent Bioenergy Corporation, San Diego.

Mata, T.M., Martins, A.A., dan Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: **A review. Renew. Sustain. Energy** Rev.14, 217–232

M.D. Guiry in Guiry, M.D., dan Guiry, G.M. 2015. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <<http://www.algaebase.org>>; diakses 08 Juli 2015.

Morgan-Kiss, R.M., Priscu, J.C., Pocock, T., Gudynaite-Savitch, L., dan Huner, N.P.A. 2006. Adaptation and acclimation of photosynthetic microorganisms to permanently cold environments. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, 70, 222–252.

National Renewable Energy Laboratory. 2003. **A look back at the U.S. department of energy’s aquatic species program-biodiesel from algae**. Colorado: NREL; (NREL Report).

Nikolau, b.J., j. B. Ohlrogge, dan e. S. Wurtele. 2003. Plant Biocontaining carboxylases. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 414: 211-222

Nontji, A. 1984. Biomassa dan Produktivitas Fitoplankton di Perairan Teluk Jakarta Serta Kaitannya dengan Faktor-faktor Lingkungan. **Disertasi**. Fakultas Pascasarjanan. Institut Pertanian Bogor.

Nybakken, J. W. 1988. Biologi Laut, Suatu pendekatan ekologis. Terjemahan: Koesoebiono, D. G Bensen, M. Eidman. Marine Biology, **An Ecology Approach**. 443

Odum, E.P. 1996. **Dasar – Dasar Ekologi**. Yogyakarta: FMIPA IPB. Gadjah Mada University Press. 625p.

Ohlrogge, J. dan Browse, J. 1995. Lipid Biosynthesis. **The Plant Cell** 7: 957-970.

Oil algae. 2006. Algae oil extraction. <http://www.oilgae.com>> [26 desember 2014].

Patil, V., K. Q. Trinh, H. R., dan Gliserod. 2008. Towards Sustainable Production of Biofuels from Microalgae. **International Journal of Molecular Sciences** Vol 9, 1188-1195.

Pelezar MJ, dan Chan MJ. 1986. **Dasar-dasar mikrobiologi I**. Jakarta: Universitas Indonesia.

Pescod, M. B. 1971. **Water Supply and Waste Water Disposal in Developing Countries**. Bangkok: 309 h

Pidkowich, m S., h. T. Nguyen, i. Heilmaan, t. Ischebeck, dan j. Shanklin. 2007. Modulating seed β -ketoacyl-acyl carrier protein synthase ii level converts the composition of a temperate seed oil

to that of a palm-like tropical oil. **Proceeding of national academy of sciences** 104 (11): 4742-4747

Priscu, J. C., Priscu, L. R., Palmisano, A. C., dan Sullivan, C. W. 1990. Estimation of neutral lipid levels in Antarctic sea ice microalgae by Nile red fluorescence. **Antarctic sci** vol. 2. 149-155

Puspitasari. 2003. Struktur komunitas fitoplankton dan hubungannya dengan sebaran nutrisi (Fosfat, Nitrat, dan Silikat) di perairan Selat Bali. **skripsi**. Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.

Raja R, Hemaiswarya S, Kumar NA, Sridhar S. dan Rengasamy R., 2008. A Perspective On The Biotechnological Potential of Microalgae. **Critical Reviews in Microbiology** 34(2):77-88.

Rao, R.A., Dayananda, R., Sarada, T.R., Shamala, G.A., dan Ravishankar. 2007. Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. **Bioresource Technol** 98:560-564.

Raymont, J. E. G. 1980. **Plankton Productivity in the Oceans. (Second Edition). Vol. 1.** USA: Phytoplankton. Pergamon Press. Oxford.

Renaud, S.M., Thinh, L.-V., Lambrinidis, G., dan Parry, D.L. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. **Aquaculture**, 211, 195-214.

Renaud, S.M, L.V.Thinh, and D.L. Parry. 1998. The Gross Chemical Composition and Fatty Acid Composition of 18 Species

of Tropical Australian Microalgae for Possible Use in Mariculture. **Journal of Aquaculture** , Elsevier (170): 147-159

Reynolds, C.S. 1990. **The Ecology of Freshwater Phytoplankton**. London : Cambridge University Press.

Sachlan, M. 1982. **Planktonologi**. Semarang: UNDIP.

Santhanam. P., Balaji. P.B., Perumal.P., Ananth. S., Devi, Shenbaga. A., dan Kumar D.S., 2012. Isolation and Culture Microalgae. **Workshop on Advance in Aquaculture Technology** : 166-181.

Sato, N.,Hagio, M., Wada, H., dan Tsuzuki, A.M. 2000. Environmental effects on acidic lipids of thylakoid membranes. **Biochem. Soc. Trans.** 28, 912–914.

Sekadende, B. C., Mbonde, A.S., Shayo , S., dan Lyimo, T. J. 2004. Phytoplankton species Diversity and Abundance in Satellite Lake Viktoria Basin (Tanzania Side). **Tanzanian Journal Science**.

Shcenk, P.M., Thomas-Hall, S.R., Stephens, E., Marx, U., Mussgnug, J., Posten, C., Kruse, O., dan Hankamer, B. 2008. Second generation biofuels: High-efficiency microalgae for biodiesel production. **BioEnergy Res** 1: 20-43

Siregar, M. H. 2009. Studi Keanekaragaman Plankton di Hulu Sungai Asalan Porsea. Skripsi. Medan: Departemen Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara.

Smithsonian Institution. 2012. *Rhizosolenia setigera* Brightwell 1858. <http://www.sms.si.edu/irlspec/Rhizos-setigera.htm> diakses

14 juli 2015. Smith F dan Raven JA .1979. Intracellular pH and its regulation. **Ann Rev Plant Physiol** 30:289–311

Spolaore,P., Joannis, C.C., Duran, E., Isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. **J Biosci Bioeng** 101:87–96.

Surbakti, H. 2012. Karakteristik Pasang Surut dan Pola Arus di Muara Sungai Musi Sumatera Selatan. **Jurnal Penelitian Sains FMIPA Universitas Sriwijaya**. 15(1D): 35 – 39

Takagi M., Karseno., dan Yoshida T. 2005. **Efect of Salt Concentration on Intraseluler Accumulation of Lipids and Triacyglyceride in Marine Microalga Dunaliella**. J Biosci

Teresa M. M., Antonio A. M. dan Caetano, N.S. 2010, Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review. **Renewable and Sustainable Energy** 14 217-232

Teresa M. M., Antonio A. M. dan Caetano, N.S. 2010. Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review. **Renewable and Sustainable Energy**. 14 : 217-232.

Thompson, G.A. 1996. Lipids and membrane function in green algae. **Biochim. Biophys. Acta**, 1302, 17–45

Tomas, Carmelo R. 1997. **Identifying Marine Phytoplankton**. Florida: Academic Press.

Verma, N.H., Mehrotra, S., Amitesh Shukla, A., dan Mishra, B.N. 2010. Prospective of biodiesel production utilizing microalgae as the cell factories: A comprehensive discussion. **African Journal of Biotechnology**. 9 (10): 1402–1411.

Vonshak, A., Cheung, SM., dan Chen, F. 2000. Mixotrophic growth modifies the response of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (cyanobacteria) cells to light. **J Phycol**, 36: 675-679

Vuuren, SJ., Taylor, Jonathan GK., Carin V, G., dan Annelise. 2006. **Easy Identification of the Most Common Freshwater Algae**. South-Africa. North-west University and Department of Water Affairs and Forestry.

Yani, A.P. 2003. Identifikasi jenis-jenis mikroalga di sumber air panas sungai air putih zona penyanggah taman nasional kerinci seblat di Kecamatan Lebong Utara Propinsi Bengkulu. **J penelitian UNIB** 9: 42-44

Zuhdi, M.F.A. 2003. Biodiesel Sebagai Alternatif Pengganti Bahan Bakar Fosil Pada Motor Diesel. **Laporan Riset**. RUT VIII Bidang Teknologi, Lembaga Ilmu Pengtahuan Indonesia, Kementerian Riset dan Teknologi RI.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LAMPIRAN

Lampiran 1. Kelimpahan mikroalga stasiun 1

Lokasi : perairan estuaria sungai porong bagian sungai

Koordinat : 7°33'31.47°S
112°51'12.82°E

Kondisi lingkungan : musim hujan, siang hari, arus deras, perairan keruh.

Genus	Famili	Kelas	ni	N (sel/m³)
<i>Biddulphia</i>	Biddulphiaceae	Bacillariophyceae	32	220
<i>Golenkinia</i>	Micractiniaceae	Chlorophyceae	13	90
<i>Coscinodiscus</i>	Coscinodiscaceae	Bacillariophyceae	32	220
<i>Nitzschia</i>	Bacillariaceae	Bacillariophyceae	23	158
<i>Peridinium</i>	Peridiniaceae	Dinophyceae	12	83
<i>Spirulina</i>	Oscillatoriaceae	Cyanophyceae	3	21
<i>Staurastrum</i>	Desmidiaceae	Chlorophyceae	5	34
<i>Navicula</i>	Naviculaceae	Chrysophyceae	75	516
<i>Pinnularia</i>	Pinnulariaceae	Bacillariophyceae	4	28
<i>Ceratium</i>	Ceratiaceae	Dinophyceae	4	28
<i>Fragillaria</i>	Bacillariaceae	Bacillariophyceae	32	220
<i>Melosira</i>	Melosiraceae	Bacillariophyceae	21	145
<i>Merismopedia</i>	Merismopediceae	Cyanophyceae	80	551
<i>Pediastrum</i>	Hydrodictyaceae	Chlorophyceae	32	220
<i>Oscillatoria</i>	Oscillatoriaceae	Cyanophyceae	129	888
<i>Pleurosigma</i>	Pleurosigmataceae	Bacillariophyceae	2	14
<i>Thalassionema</i>	Thalassionemataceae	Bacillariophyceae	4	28
<i>Stigeoclonium</i>	Chaetophoraceae	Chlorophyceae	7	48
<i>Chlorella</i>	Chlorellaceae	Chlorophyceae	72	496
<i>Total</i>				4007

Keterangan : ni=jumlah sel. N=kelimpahan

Lampiran 2. Kelimpahan mikroalga stasiun 2

Lokasi : Perairan estuaria porong bagian muara.

Koordinat : 7°33'59.59° S

112°52'29.89° E

Kondisi Lingkungan : musim hujan, siang hari, perairan keruh.

Genus	Famili	Kelas	ni	N (sel/m³)
<i>Skeletonema</i>	Skeletonemaceae	Bacillariophyceae	5735	394836
<i>Navicula</i>	Naviculaceae	Chrysophyceae	32	2203
<i>Chaetoceros</i>	Chaetocerotaceae	Bacillariophyceae	30	2065
<i>Oscillatoria</i>	Oscillatoriaceae	Bacillariophyceae	765	52668
<i>Rhizosolenia</i>	Rhizosoleniaceae	Bacillariophyceae	15	1033
<i>Nitzschia</i>	Bacillariaceae	Bacillariophyceae	43	2960
<i>Pediastrum</i>	Hydrodictyaceae	Chlorophyceae	26	1790
<i>Total</i>				457556

Keterangan: ni= jumlah sel. N=kelimpahan

Lampiran 3. Kelimpahan mikroalga stasiun 3

Lokasi : Perairan Estuaria porong bagian laut

Koordinat : 7°34'08.08° S

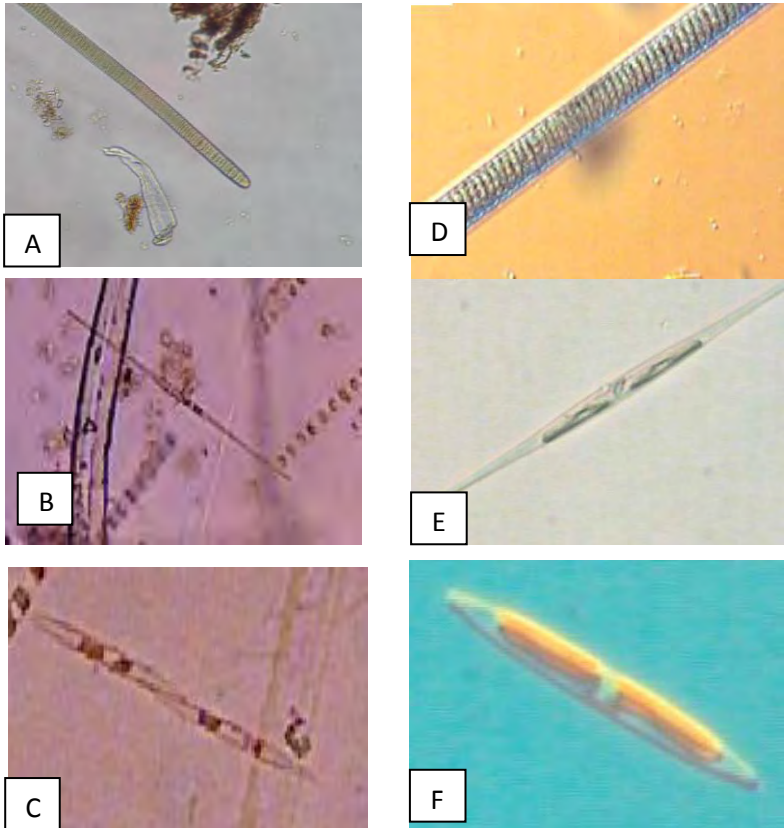
112°52'48.83° E

Kondisi lingkungan : musim hujan, siang hari, perairan jernih dan asin.

Genus	Famili	Kelas	ni	N (sel/m³)
<i>Skeletonema</i>	Skeletonemaceae	Bacillariophyceae	3770	259552
<i>Coscinodiscus</i>	Coscinodiscaceae	Bacillariophyceae	32	2203
<i>Ceratium</i>	Ceratiaceae	Dinophyceae	43	2960
<i>Oscillatoria</i>	Oscillatoriaceae	Bacillariophyceae	103	7091
<i>Chaetoceros</i>	Chaetocerotaceae	Bacillariophyceae	83	5714
<i>Peridinium</i>	Peridiniaceae	Dinophyceae	14	964
<i>Merismopedio</i>	Merismopediaceae	Cyanophyceae	26	1790
<i>Dinophysis</i>	Dinophysiaceae	Dinophyceae	41	2823
<i>Nitzchia</i>	Bacillariaceae	Bacillariophyceae	1756	120895
<i>Total</i>				403993

Keterangan : ni= jumlah sel. N= kelimpahan.

Lampiran 4. Mikroalga yang ditemukan di semua pengamatan stasiun estuaria sungai porong

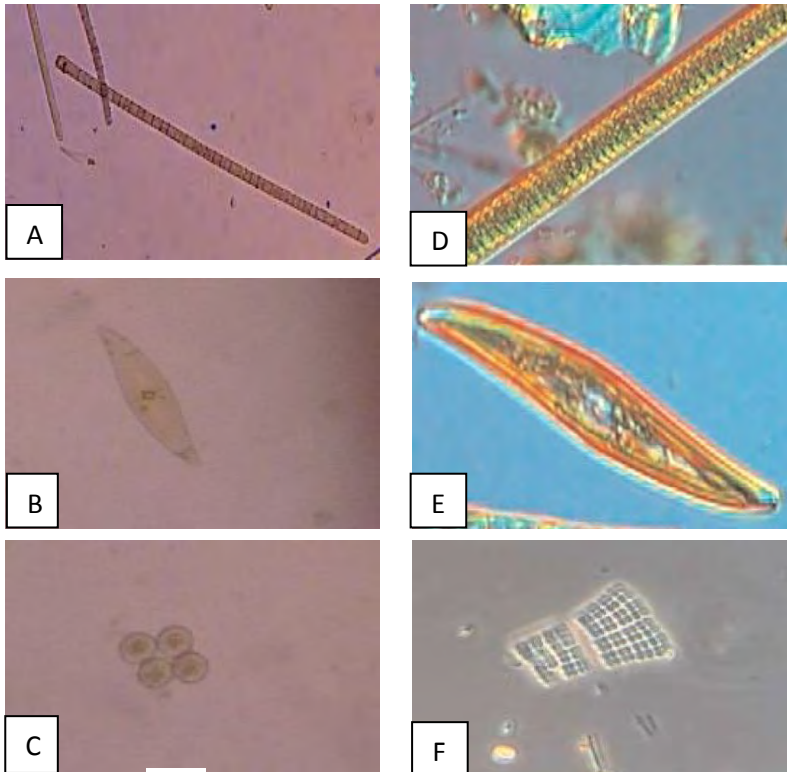


Keterangan :

A. *Oscillatoria* dengan perbesaran 100x. B. *Nitzschia* dengan perbesaran 100x. C. *Nitzschia* dengan perbesaran 100x. D. *Oscillatoria* E. *Nitzschia* F. *Nitzschia*

Gambar literatur dikutip dari buku: *Easy Identification Of The Most Common Freshwater Algae*. A, B, C (dokumentasi pribadi), D, E, F (gambar literatur).

Lampiran 5. Kelimpahan mikroalga stasiun 1

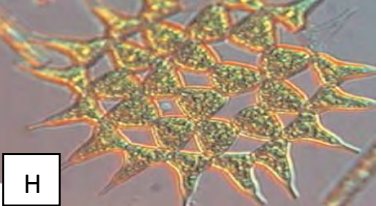
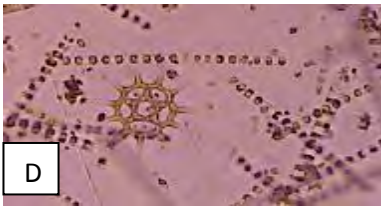
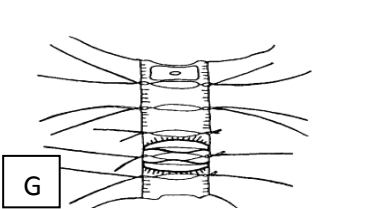
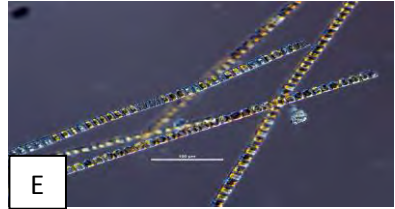
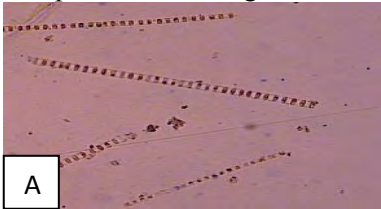


Keterangan :

A. *Oscillatoria* dengan perbesaran 100x. B. *Pleurosigma* dengan perbesaran 40x. C. *Merismopedia* dengan perbesaran 40x. D. *Oscillatoria* E. *Pleurosigma* F. *Merismopedia*.

Gambar literatur dikutip dari buku *Easy Identification Of The Most Common Freshwater Algae*. A, B, C (dokumentasi pribadi), D, E, F (gambar literatur).

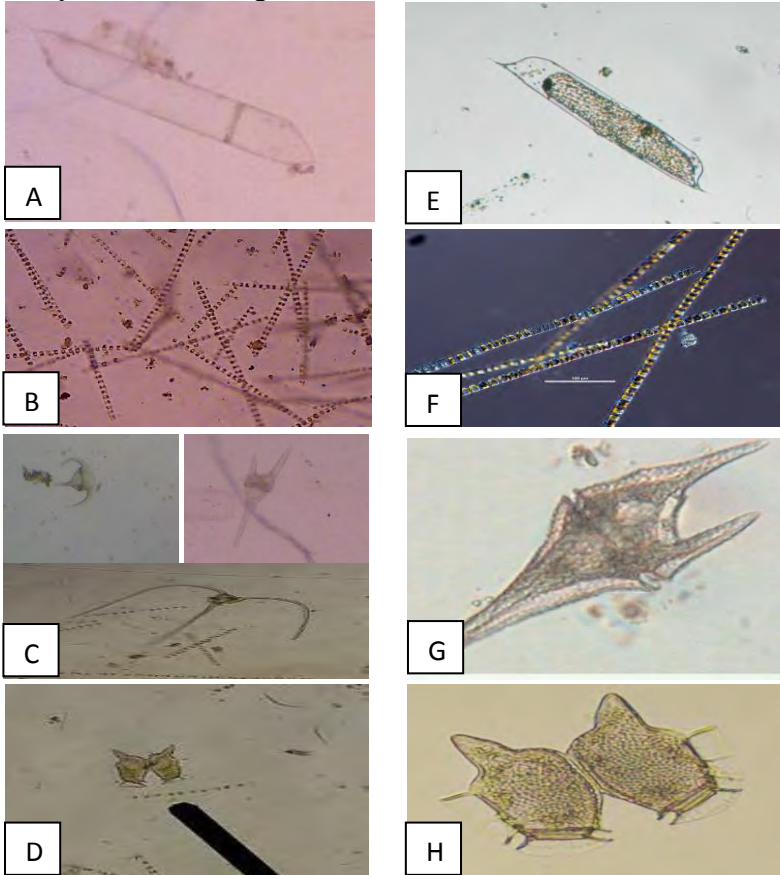
Lampiran 6. mikroalga stasiun 2



Keterangan : A. *Skeletonema* dengan perbesaran 40x B. *Rhizosolenia* dengan perbesaran 100x. C. *Chaetoceros* dengan perbesaran 40x. D. *Pediastrum* dengan perbesaran 40x. E. *Skeletonema* F. *Rhizosolenia* G. *Chaetoceros* H. *Pediastrum*

Gambar literatur dikutip dari buku *Easy Identification Of The Most Common Freshwater Algae*, buku *Identifying Marine Phytoplankton* dan www.eos.ubc.ca. A, B, C, D (dokumentasi pribadi), E, F, G, H (gambar literatur).

Lampiran 7. mikroalga stasiun 3



Keterangan : A. *Rhizosolenia* dengan perbesaran 100x. B. *Skeletonema* dengan perbesaran 40x. C. *Ceratium* dengan perbesaran 40x. D. *Dinophysis* dengan perbesaran 40x. E. *Rhizosolenia* F. *Skeletonema*. G. *Ceratium* H. *Dinophysis*

Gambar literatur dikutip dari buku *Easy Identification Of The Most Common Freshwater Algae*, buku *Identifying Marine Phytoplankton* dan www.eos.ubc.ca. A, B, C, D (dokumentasi pribadi), E, F, G, H (gambar literatur).

Lampiran 8. Perhitungan kelimpahan mikroalga
Rumus perhitungan kelimpahan fitoplankton.

$$N = n_i \times 1/V_d \times V_t/V_s$$

Dengan ketentuan :

N = Jumlah total individu atau sel plankton per m³ (sel/m³)

n_i = Jumlah individu atau sel spesies ke-i yang tercacah

V_d = Volume air yang disaring (liter)

V_t = Volume air tersaring (ml)

V_s = Volume sampel di bawah gelas penutup (ml)

Diketahui

Genus	Famili	Kelas	n _i	N
<i>Biddulphia</i>	Biddulphiaceae	Bacillariophyceae	32	220

- n_i : **32 sel**

- V_d : 8715 liter

Diperoleh dengan menggunakan perhitungan

$$V_d = A \cdot d$$

$$V = s/t$$

$$A = \pi \cdot r^2$$

A = luas permukaan plankton net

D = jarak penarikan (m)

V = kecepatan perahu. 2 knot = 1,028 m/s

S = Jarak

t = waktu

$$\pi = 3.14$$

r = jari-jari plankton net.

$$A = \pi \cdot r^2$$

$$= 3.14 \cdot 15^2$$

$$= 706.5$$

$$S = v \cdot t$$

$$= 1.028 \cdot 120$$

$$=123,36 \text{ m}$$

$$V_d = A \cdot d$$

$$= 706,5 \times 123,36$$

$$= 87153,84 \text{ liter}$$

$$= \mathbf{87,153 \text{ m}^3}$$

- V_t : **60 ml**. (jika dilakukan pengenceran dikalikan sebanyak pengenceran yang dilakukan).
- V_s : **1 ml**

$$N = n_i \times 1/V_d \times V_t/V_s$$

$$N = 32 \times 1/87,15 \times 60/1$$

$$N = \mathbf{220 \text{ sel/m}^3}$$

Lampiran 9. KEMENLH-NO.51.Th. 2004

BAKU MUTU AIR LAUT
UNTUK BIOTA LAUTLampiran III.
Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup
Nomor: Tahun 2004

No.	Parameter	Satuan	Baku mutu
FISIKA			
1.	Keecerahan ^a	m	coral: >5 mangrove: - lamun: >3
2.	Kebauan	-	alami ²
3.	Kekeruhan ^a	NTU	<5
4.	Padatan tersuspensi total ^b	mg/l	coral: 20 mangrove: 80 lamun: 20
5.	Sampah	-	nihil ¹⁽⁴⁾
6.	Suhu ^c	°C	alami ^{3(c)} coral: 28-30 ^(c) mangrove: 28-32 ^(c) lamun: 28-30 ^(c)
7.	Lapisan minyak ⁵	-	nihil ¹⁽⁵⁾
KIMIA			
1.	pH ^d	-	7 - 8,5 ^(d)
2.	Salinitas ^e	‰	alami ^{3(e)} coral: 33-34 ^(e) mangrove: s/d 34 ^(e) lamun: 33-34 ^(e)
3.	Oksigen terlarut (DO)	mg/l	>5
4.	BOD5	mg/l	20
5.	Ammonia total (NH ₃ -N)	mg/l	0,3
6.	Fosfat (PO ₄ -P)	mg/l	0,015
7.	Nitrat (NO ₃ -N)	mg/l	0,008
8.	Sianida (CN ⁻)	mg/l	0,5
9.	Sulfida (H ₂ S)	mg/l	0,01
10.	PAH (Poliaromatik hidrokarbon)	mg/l	0,003
11.	Senyawa Fenol total	mg/l	0,002
12.	PCB total (poliklor bifenil)	µg/l	0,01
13.	Surfaktan (deterjen)	mg/l MBAS	1
14.	Minyak & lemak	mg/l	1
15.	Pestisida ^f	µg/l	0,01
16.	TBT (tributil tin) ⁷	µg/l	0,01
Logam terlarut:			
17.	Raksa (Hg)	mg/l	0,001
18.	Kromium heksavalen (Cr(VI))	mg/l	0,005
19.	Arsen (As)	mg/l	0,012

Lampiran 10. Data analisis parameter lingkungan



**BADAN PENGAJIAN KEBIJAKAN IKLIM DAN MUTU INDUSTRI
BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI SURABAYA
LABORATORIUM PENGUJIAN DAN KALIBRASI
BARISTAND INDUSTRI SURABAYA**

Jl. Jagir Wonokromo No. 360 Surabaya (60244), Telp. (031) 8410054, (031) 70000034, Fax. (031) 8410480
<http://surabaya.bpkimi.kemepen.go.id/>

LAPORAN PENGUJIAN
No. 1543/LHU/2/VI/2015

No. Analisa : P. 1885 s/d P. 1887
Contoh : Air Sungai Porong
Kode : T1; T2; T3
Diterima Tanggal : 08 Mei 2015
Catatan Sampel : 600 ml air dalam wadah botol

Nama Pengirim : YUDI APRIYATMOKO
Alamat : Keputih Gang Makam Sukolilo - SURABAYA

No	No. Analisa	Kode	Parameter PCu (mg/L)	Metode Uji	Parameter NO _x -N (mg/L)	Metode Uji	Parameter NO _x -N (mg/L)	Metode Uji	Parameter Bp ₅ (mg/L)	Metode Uji
1	P. 1885	T1	< 0,22	Standar Methods 20 th ed. 1998	5,16	SNI 06-2400-1991	0,058	SNI 06-6989-9-2004	0,058	SNI 06-6989-30-2005
2	P. 1886	T2	< 0,22	Standar Methods 20 th ed. 1998	4,819	SNI 06-2400-1991	0,143	SNI 06-6989-9-2004	0,036	SNI 06-6989-30-2005
3	P. 1887	T3	< 0,22	Standar Methods 20 th ed. 1998	1,348	SNI 06-2400-1991	0,029	SNI 06-6989-9-2004	0,062	SNI 06-6989-30-2005

Catatan : Parameter uji sesuai permintaan



Surabaya, 18 Mei 2015
Deputi Penyelia
Laboratorium Lingkungan
Cesir Wajandani N. ST
ANP. 159402212005022001

Perhatian :
Laporan Hasil Uji hanya berlaku untuk contoh diatas.
Laporan Hasil Uji ini tidak boleh digandakan/ditiriskan/diuploading.

Lampiran 11. Dokumentasi penelitian.



Perairan estuaria sungai porong



Kondisi perairan sungai



Sampling fitoplankton dengan towing horizontal



Pengukuran parameter lingkungan



Pembuatan medium kultur



Isolasi dan kultur mikroalga

BIODATA PENULIS



Yudi Apriyatmoko dilahirkan di Pringsewu, Lampung pada 09 oktober 1993. Memulai pendidikan pertamanya di SDN 1 Pajaresuk, dari sini terlihat keseriusanya dalam mendalami ilmu pengetahuan. Setelah lulus, ia melanjutkan sekolahnya di SMPN 3 Pringsewu. Di SMP ini ia mulai menyukai ilmu pengetahuan alam terutama Biologi dan beberapa kegiatan ekstrakurikuler seperti pramuka. Setelah lulus dari SMP ia melanjutkan sekolahnya di SMAN 1 Lebong Utara, Bengkulu. Ketertarikanya dengan ilmu pengetahuan alam, ia menjadi juara III dalam lomba OSN Bidang Biologi tingkat kabupaten Lebong dan menjadi peserta OSN tingkat Provinsi Bengkulu pada tahun 2009. Pada saat kenaikan kelas 12, ia melanjutkan sekolahnya di SMAN 1 Curup, Bengkulu. Pada tahun 2011 ia lulus SNMPTN undangan dan melanjutkan pendidikanya di Pulau Jawa.

Di Pulau Jawa ia berkuliah di jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya. Kecintaanya dengan ilmu biologi menjadikan laki-laki ini senang mengikuti kegiatan yang berhubungan dengan *Eco Campus*. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Oceanografi, Biologi Umum, Perkembangan Hewan dan Perkembangan Tumbuhan. Pada tahun 2012 Ia menjadi salah satu Pemandu di Biologi ITS angkatan ke-6, staff Departemen Saintek (Sains dan Teknologi) Himpunan Mahasiswa Biologi, dan staff Departemen Pembinaan LDJ (Lembaga Dakwah Jurusan) FKIQ Jurusan Biologi. Keikutsertaannya dalam Organisasi menjadikan ia sebagai Ketua Himpunan Mahasiswa Biologi ITS pada tahun 2013. Ketertarikannya mengenai sampling Bioekologi, penulis juga menjadi salah satu anggota surveyor Laboraturium Ekologi Jurusan Biologi ITS.

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Kelompok Mikroalga..... 6
Gambar 2.2	Jalur biosintesis lipid..... 18
Gambar 2.3	Reaksi pembentukan senyawa alkil ester. 21
Gambar 3.1	lokasi penelitian di estuaria sungai porong 25
Gambar 3.2	Pengambilan sampel mikroalga dengan <i>Plankton net.</i> 28
Gambar 3.3	<i>Sedgwick-Rafter Counting Cell</i> 29
Gambar 3.4	Pengenceran sampel mikroalga..... 30
Gambar 4.1	Komposisi kelas mikroalga Estuaria Sungai Porong..... 36
Gambar 4.2	Grafik kelimpahan mikroalga di perairan estuaria sungai porong..... 39
Gambar 4.3	Grafik kelimpahan mikroalga di stasiun 1 40
Gambar 4.4	Grafik kelimpahan mikroalga di stasiun 2 42
Gambar 4.5	Grafik kelimpahan mikroalga di stasiun 3 44
Gambar 4.6	<i>Oscillatoria</i> 47
Gambar 4.7	<i>Nitzschia.</i> 47
Gambar 4.8	<i>Merismopedia</i> 48

Gambar 4.9	<i>Navicula</i>	49
Gambar 4.10	<i>Chlorella</i>	49
Gambar 4.11	<i>Melosira</i>	50
Gambar 4.12	Pendaran warna mikroalga dari stasiun 1	55
Gambar 4.13	Pendaran warna mikroalga dari stasiun 2	55
Gambar 4.14	Pendaran warna mikroalga dari stasiun 3	56

Isolasi dan Karakterisasi Mikroalga yang Berpotensi sebagai Bahan Baku Biodiesel di Perairan Estuaria Sungai Porong

Yudi Apriyatmoko dan Dini Ermavitalini

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: dinierma@bio.its.ac.id

Abstrak— Mikroalga merupakan organisme yang sangat melimpah di perairan dengan pertumbuhan yang sangat cepat. Kandungan lipid yang tinggi dalam biomassa mikroalga tertentu dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku biodiesel. Estuaria sungai porong merupakan perairan yang pernah menjadi lokasi pembuangan limbah industri, kondisi tersebut akan mempengaruhi metabolisme mikroalga terutama dalam proses biosintesis lipid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis dan karakteristik mikroalga yang ditemukan di perairan estuaria sungai porong yang berpotensi sebagai bahan baku biodiesel melalui seleksi terhadap kandungan lipid secara kualitatif. Penentuan lipid mikroalga dilakukan dengan cara mengisolasi mikroalga kemudian diuji kandungan lipidnya dengan menggunakan Nile Red dengan melihat pendaran warna pada mikroskop fluorescence. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa genus mikroalga yang dapat diisolasi dari perairan estuaria sungai porong adalah *Oscillatoria*, *Nitzschia*, *Merismopedia*, *Navicula*, *Chlorella*, dan *Melosira*. Hasil analisis lipid secara kualitatif menunjukkan bahwa genus *Chlorella* dan *Nitzschia* mengandung akumulasi lipid intraseluler yang tinggi.

Kata Kunci— mikroalga, lipid, Nile Red, biodiesel

I. PENDAHULUAN

Sumber energi dari bahan bakar fosil yang semakin menipis menjadi permasalahan bagi negara-negara di dunia, sehingga diperlukan bahan bakar pengganti yang bersifat terbarukan. Biodiesel merupakan bahan bakar yang diperoleh dari minyak tumbuhan atau lemak hewan melalui proses transesterifikasi dengan alkohol [1]. Biodiesel menyumbang sedikit polusi dibanding dengan bahan bakar fosil, tetapi memiliki harga yang lebih mahal [2]. Oleh sebab itu diperlukan usaha untuk mencari bahan bakar alternatif sehingga diperoleh biodiesel yang lebih murah. Mikroalga merupakan organisme yang memiliki potensi sebagai bahan baku biodiesel. Organisme uniseluler ini memiliki kemampuan fotosintesis yang lebih besar dibandingkan tumbuhan tingkat tinggi [3]. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, mikroalga memiliki kemampuan yang sangat besar yaitu dapat menghasilkan lipid lebih dari 60% dari bobot kering [4].

Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh lingkungan yaitu unsur hara, suhu, salinitas, pH, DO, dan kecerahan [5]. Kondisi lingkungan pertumbuhan yang tidak optimal akan memicu

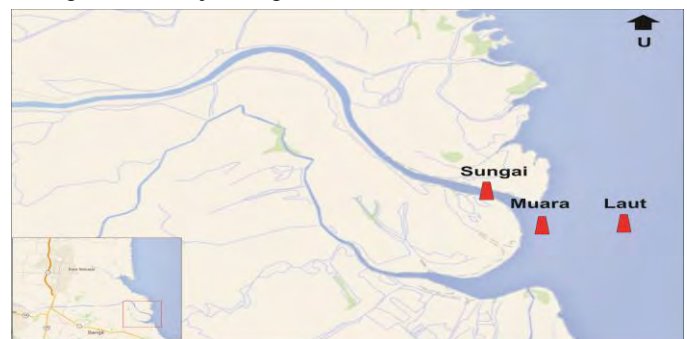
mikroalga untuk memproduksi lipid intraseluler yang lebih tinggi [6]. Mikroorganisme yang mengakumulasi lipid tinggi memiliki potensi sebagai bahan baku biodiesel [7]. Salah satu lingkungan yang diduga kurang optimal untuk pertumbuhan mikroalga adalah perairan estuaria sungai porong. Estuari sungai porong termasuk pada ekosistem pesisir yang banyak dimanfaatkan untuk aktifitas manusia dan menjadi tempat pembuangan lumpur yang dilakukan oleh PT. Lapindo Brantas ke sungai porong [8].

Penelitian yang telah dilakukan oleh [9], didapatkan genus mikroalga dari golongan diatom dan dinoflagellata. Genus mikroalga yang ditemukan belum pernah dilakukan pengujian terhadap kadar lipid intraseluler pada masing-masing genus mikroalga. Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi mikroalga yang memiliki potensi sebagai bahan baku biodiesel yaitu dengan mengetahui kadar lipid secara kualitatif.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada periode bulan Februari-Juni 2015, yang berlokasi di perairan Estuari Sungai Porong Kabupaten Sidoarjo, Propinsi Jawa Timur.



Gambar 1. 1 lokasi penelitian di estuaria sungai porong

Analisis sampel dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, FMIPA, ITS

B. Pengambilan Data Parameter Lingkungan

Data parameter lingkungan yang diambil di lokasi sampling adalah data fisika kimia perairan. Pengambilan parameter fisika kimia dilakukan di 3 stasiun dengan metode visual dan analisis

laboratorium terhadap kecerahan air, suhu, salinitas, pH, DO (Disolved Oxygen), Amonium (NH_4^+), Nitrat (NO_3^-), Nitrit (NO_2^-) dan Fosfat (PO_4^{2-}).

C. Pengambilan Sampel Mikroalga

Pengambilan sampel mikroalga dilakukan pada daerah atau bagian permukaan dengan kedalaman ± 50 dengan metode *towing* horizontal. Sampel untuk pengamatan Mikroalga diambil dari masing-masing stasiun yang disaring dengan menggunakan *plankton net* ukuran mata jaring $35 \mu\text{m}$, sampel air yang tersaring pada *cod end* selanjutnya dituangkan ke dalam botol sampel [10]. Mikroalga yang tersaring dihitung kelimpahannya dengan menggunakan rumus berikut:

$$N = n_i \times \frac{1}{V_d} \times \frac{V_t}{V_s} \quad [11]$$

ket :

N = Jumlah total individu atau sel plankton per m^3 (sel/m^3)

n_i = Jumlah individu atau sel spesies ke-i yang tercacah

V_d = Volume air yang disaring (liter)

V_t = Volume air tersaring (ml)

V_s = Volume sampel di bawah gelas penutup (ml)

D. Isolasi dan Kultur Mikroalga

Sampel mikroalga diidentifikasi menggunakan mikroskop cahaya dengan bantuan buku identifikasi *Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators* [12], buku *Easy Identification Of The Most Common Freshwater Algae* [13] dan *Identifying Marine Phytoplankton* [14]. Isolasi mikroalga dilakukan dengan menggunakan medium agar padat dengan media air yang berasal dari lokasi sampling. Medium pertumbuhan mikroalga dibuat dengan mencampurkan air sampel yang telah tersaring dengan *bacto agar* 1,5%. Isolasi dilakukan dengan menggunakan *dilution method* dan *streak method*. Medium yang berisi isolat mikroalga diinkubasi pada suhu 27°C di bawah cahaya lampu neon 30 Watt selama 7-14 hari sampai mikroalga tumbuh. Diatur juga *fotoperiode* 12:12 jam dalam 24 jam. Mikroalga yang tumbuh selanjutnya dipisahkan dengan metode gores pada medium agar sebanyak 16 gores dengan menggunakan jarum *ose* hingga mendapatkan mikroalga yang homogen.

E. Analisis Kualitatif Kandungan Lipid Mikroalga

Kandungan lipid pada sel mikroalga dapat diketahui dengan menggunakan *Nile Red* [15]. Larutan stok *Nile Red* disiapkan dengan cara menambahkan 1 mg *Nile Red* ke dalam 10 ml aseton. Pewarnaan sel mikroalga dengan *Nile red* dilakukan selama 30-40 menit, selanjutnya sel mikroalga diaduk dengan *vortex* hingga homogen. Sel mikroalga dalam tube sebanyak 1 ml selanjutnya dibilas dengan aquades dan pisahkan sel mikroalga dengan air melalui *sentrifuge*. Sel mikroalga yang telah terwanai diambil sebanyak $500 \mu\text{l}$ ke preparat dan dilihat pendaran warna lipid intraseluler dengan menggunakan mikroskop *fluorescence* dengan panjang gelombang 450-495 nm. Di lihat pendaran warna pada sel mikroalga, mikroalga yang mempunyai kandungan lipid akan berwarna kuning mengkilat [15]. Selanjutnya pengujian kandungan lipid dilakukan pada semua mikroalga yang mampu terisolasi hingga tingkat genus

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Parameter Lingkungan Perairan

Parameter lingkungan perairan termasuk dalam kategori optimal untuk pertumbuhan mikroalga sesuai dengan [16]. Parameter fisika berupa kecerahan dan suhu berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga di perairan. Besarnya nilai kecerahan pada tiap stasiun dapat mencerminkan kemampuan sinar matahari masuk ke dalam perairan secara optimum, sehingga proses fotosintesis fitoplankton terutama mikroalga dapat berjalan dengan baik [16]. Tinggi rendahnya suhu pada tiap stasiun ini dipengaruhi oleh kedalaman perairan dan intensitas cahaya matahari yang masuk [17]. Parameter kimia berupa pH, Salinitas, DO termasuk dalam kondisi untuk pertumbuhan mikroalga. pH perairan sungai porong tergolong pH basa. Pengukuran laboratorium terhadap unsur nitrat, nitrit dan fosfat di perairan didapatkan nilai dalam kategori optimal untuk pertumbuhan fitoplankton sesuai dengan [16]. kadar nilai ammonium di perairan ini lebih rendah dibandingkan dengan baku mutu yang ditetapkan [16]. Menurut [18], ada jenis fitoplankton yang lebih dahulu menggunakan nitrat dan ada juga yang lebih dahulu menggunakan amonium. Berdasarkan hal tersebut plankton di perairan ini diduga adalah jenis yang lebih dahulu menggunakan amonium kemudian beralih ke nitrat sehingga sesaat setelah peralihan tersebut kadar nitrat lebih tinggi dibanding dengan kadar amonium.

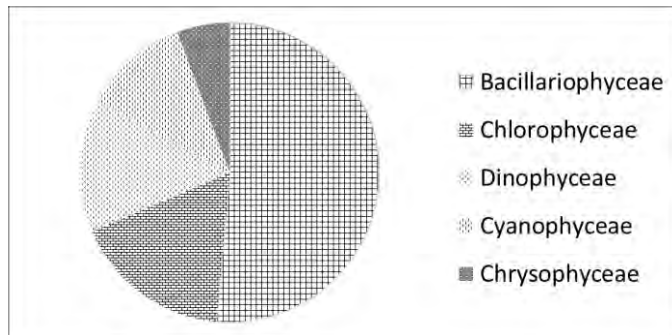
Tabel 1. Parameter Lingkungan Estuaria Sungai Porong.

No	Parameter	Stasiun 1	Stasiun 2	Stasiun 3	Baku mutu
Fisika					
1	Suhu ($^\circ\text{C}$)	28	27	28	20-30
2	Kecerahan (m)	0,1	0,14	1,06	-
Kimia					
3	pH	8,2	8,1	8,4	7-8,5
4	Salinitas (‰)	0	10	20	-
5	DO (mg/l)	3,6	7,85	10,0	>5
6	Nitrat (mg/l)	5,16	4,619	1,348	0,008
7	Nitrit (mg/l)	0,058	0,143	0,029	<0,5
8	Amonium (mg/l)	0,058	0,036	0,082	0,3
9	Fosfat (mg/l)	<0,22	<0,22	<0,22	0,015

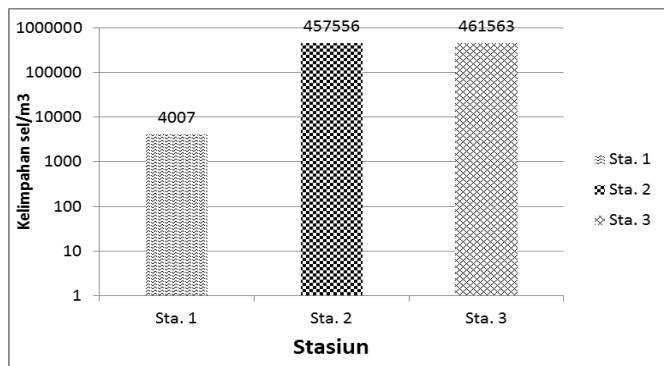
Ket : Analisa dilakukan oleh Balai Riset dan Standardisasi Industri Surabaya. Berlaku dari tanggal 8 mei 2015 sampai tanggal 8 agustus 2015. Baku mutu sesuai dengan [16]. Stasiun 1= Sungai; Stasiun 2= Muara; Stasiun 3= Laut

B. Komposisi dan Kelimpahan Mikroalga

komposisi mikroalga didapatkan lima kelas yaitu kelas *Bacillariophyceae*, *Chlorophyceae*, *Cyanophyceae*, *Dinophyceae*, dan *Chrysophyceae*. Kelas *Bacillariophyceae* merupakan kelompok yang paling banyak ditemukan. Pada semua stasiun pengambilan sampel ditemukan mikroalga kelas *Bacillariophyceae*. Hal ini sesuai dengan pernyataan [19], umumnya fitoplankton yang terdapat di perairan laut adalah dari jenis diatom (*Bacillariophyceae*), diikuti dengan dinoflagellata (*Dinophyceae*) dan alga biru (*Cyanophyceae*). Menurut [10], kelas *Bacillariophyceae* lebih mampu beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang ada, kelas ini bersifat kosmopolitan serta mempunyai toleransi dan daya adaptasi yang tinggi.



Gambar 2. Komposisi Kelas mikroalga



Gambar 3. Kelimpahan Genus Mikroalga

Kelimpahan mikroalga menunjukkan jumlah genus yang ditemukan di perairan estuaria sungai porong. Berdasarkan data pengamatan terhadap mikroalga di masing-masing stasiun pengamatan didapatkan kelimpahan mikroalga yang hampir sama pada tiap stasiun pengambilan, yang lainnya. Stasiun 3 memiliki kelimpahan paling tinggi. Genus *Nitzschia* dan *Oscillatoria* merupakan genus yang ditemukan di semua stasiun sedangkan genus yang lain hanya ditemukan di beberapa stasiun.

C. Isolasi dan Kultur Mikroalga

Genus yang diperoleh dari kultur mikroalga berjumlah 11 genus. Semua genus yang terisolasi adalah sel mikroalga yang murni yaitu sel yang terdiri dari satu genus, karena telah dilakukan purifikasi secara berulang terhadap isolat yang tumbuh pada tiap cawan petri. Sampel mikroalga yang diambil dari stasiun 1 didapatkan 6 genus mikroalga yang mampu diisolasi yaitu *Oscillatoria*, *Nitzschia*, *Merismopedia*, *Navicula*, *Chlorella*, dan *Melosira*. Keberhasilan isolasi

mikroalga tidak sepenuhnya bergantung pada unsur hara yang tersedia tetapi juga bergantung pada banyak faktor termasuk salah satunya adalah jenis mikroalga dan medium yang digunakan. Mikroalga yang mampu beradaptasi dengan perubahan lingkungan kultur adalah mikroalga yang dapat tumbuh dan memperbanyak selnya. Secara umum, mikroalga *Oscillatoria* dan *Nitzschia* menunjukkan laju pertumbuhan yang baik karena dapat tumbuh di semua medium kultur dengan berbagai parameter lingkungan. Genus *Skeletonema* yang mendominasi perairan stasiun 1 dan stasiun 2 tidak dapat tumbuh pada saat diisolasi. Komposisi medium agar yang digunakan saat isolasi diduga tidak cocok untuk pertumbuhan genus tersebut. *Skeletonema* pada medium kultur membutuhkan medium yang khusus untuk pertumbuhannya. Medium yang cocok untuk pertumbuhan mikroalga *Skeletonema* berupa agar dengan tambahan pupuk *f/2*. Menurut [20], penggunaan medium dengan tambahan pupuk *f/2* dapat mempercepat pertumbuhan *Skeletonema* dibanding dengan diatom lainnya. Mikroalga yang memiliki range toleransi yang luas terhadap kondisi lingkungan merupakan salah satu karakter mikroalga yang dapat dibudidayakan dengan skala besar terutama untuk tujuan sebagai sumber biodiesel [21].

D. Analisis Kualitatif Lipid Mikroalga

Kandungan lipid pada mikroalga ditunjukkan dengan adanya pendaran warna pada sel. Pendaran positif pada mikroalga ditunjukkan dengan adanya pendaran kuning pada sel ketika dipaparkan lampu *fluorescence*, sedangkan pendaran negatif ditunjukkan dengan warna merah pada sel mikroalga. Warna kuning pada sel mikroalga menunjukkan lipid dan warna merah sel mikroalga yang terpapar lampu *fluorescence* [22]. Pendaran warna sel mikroalga dapat dilihat pada (tabel 2).

Tabel 2. Pendaran Warna pada Mikroalga

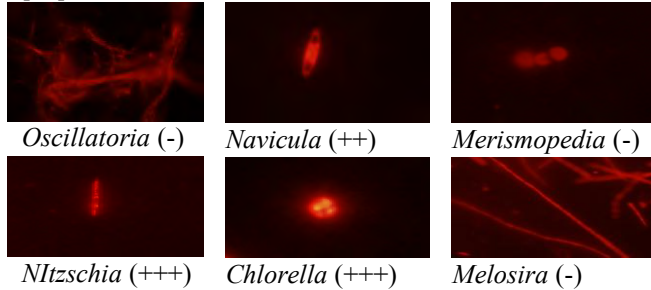
Stasiun	Genus	Pendaran warna pada mikroalga			
		-	+	++	+++
1	<i>Oscillatoria</i>	√			
	<i>Nitzschia</i>				√
	<i>Merismopedia</i>	√			
	<i>Navicula</i>			√	
	<i>Chlorella</i>				√
	<i>Melosira</i>	√			
2	<i>Oscillatoria</i>	√			
	<i>Nitzschia</i>		√		
	<i>Navicula</i>			√	
3	<i>Oscillatoria</i>	√			
	<i>Nitzschia</i>				√

Keterangan :

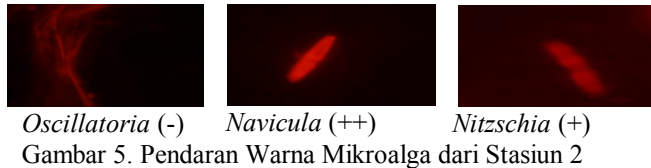
- : Pendaran merah
- + : Pendaran kuning rendah
- ++ : Pendaran kuning sedang
- +++ : Pendaran kuning kuat
- = tidak ada akumulasi lipid
- = akumulasi lipid sedang
- = akumulasi lipid tinggi
- = akumulasi lipid sangat tinggi

Deteksi lipid menggunakan *nile red* menghasilkan pendaran warna kuning. Pendaran warna dihasilkan dari reaksi antara *nile red* dengan sel mikroalga. Penambahan pelarut aseton membantu memfasilitasi permeabilitas dari membran sel sehingga pewarna *nile red* dapat masuk ke dalam sel dan jaringan. Mekanismenya diawali dengan induksi air melewati

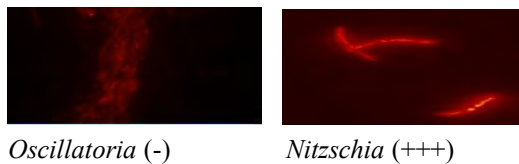
membran lipid bilayer dengan cara mengubah fluiditas membran [23].



Gambar 4. Pendaran Warna Mikroalga dari Stasiun 1



Gambar 5. Pendaran Warna Mikroalga dari Stasiun 2



Dari 11 mikroalga yang diisolasi diketahui tidak semuanya mengalami pendaran warna saat dilakukan *staining* di bawah mikroskop *fluorescence*. Intensitas pendaran lipid dipengaruhi oleh kandungan lipid di dalam sel yang dihasilkan selama kultur diinkubasi. Produksi lipid pada sel mikroalga dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Mikroalga pada kondisi stress lingkungan menghasilkan lipid lebih banyak. Selain itu kandungan lipid pada mikroalga dikontrol oleh gen karena hanya strain atau spesies tertentu yang mampu menghasilkan lipid [24].

Genus *Nitzschia* dan *Chlorella* memiliki pendaran warna sangat tinggi setelah dipaparkan lampu *fluorescence*. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan lipid dalam sel mikroalga tersebut sangat tinggi. Lipid yang diproduksi dari sel mikroalga dibagi menjadi dua kelompok yaitu lipid non-polar dan lipid polar. Lipid non-polar dalam sel mikroalga berbentuk TAG (Triasilgliserol) yang terdiri dari asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh yang dapat diolah menjadi biodiesel melalui transesterifikasi. Lipid polar dalam sel mikroalga berbentuk fosfolipid dan sterol yang bertindak sebagai penyusun membran sel dan organel. Dalam kondisi lingkungan yang kurang optimal sel mikroalga cenderung memanfaatkan lipid non-polar (TAG) dalam tubuhnya dan mengubah jalur metabolismenya untuk membentuk energi sehingga sel dapat mempertahankan diri dalam kondisi lingkungan yang tidak optimal [25].

Hasil dari metabolisme mikroalga dalam kondisi optimal didapatkan kadar lipid yang relatif rendah yaitu sekitar 5-20% dari berat keringnya. Hal ini berbeda ketika kondisi lingkungan kurang optimal, mikroalga akan tercekam dan mengubah jalur biosintesis lipid terhadap pembentukan dan akumulasi lipid netral (20-50%) dari berat keringnya terutama dalam bentuk TAG. TAG yang dihasilkan digunakan untuk pertahanan dalam kondisi lingkungan yang kurang optimal. Selain itu disebutkan

juga oleh [24], bahwa sintesis lipid dalam bentuk TAG dapat terjadi dalam kondisi tidak optimal dan lipid dalam bentuk TAG merupakan prekursor bahan baku biodiesel.

IV. KESIMPULAN

Genus mikroalga yang dapat diisolasi dari perairan estuaria sungai porong adalah *Oscillatoria*, *Nitzschia*, *Merismopedia*, *Navicula*, *Chlorella*, dan *Melosira*. Hasil analisis lipid secara kualitatif menunjukkan bahwa genus *Chlorella* dan *Nitzschia* merupakan genus yang memiliki kandungan lipid intraseluler tinggi yang dibuktikan dengan adanya pendaran warna kuning cerah pada sel mikroalga

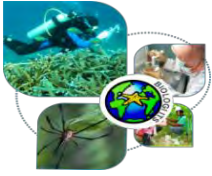
UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si. atas dukungannya baik moral maupun material, penulis juga mengucapkan kepada seluruh pihak yang turut membantu selama pelaksanaan kegiatan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Chisti, Y., "Biodiesel from Mikroalgae", (2007) *Biotechnology advances*. 25. Pp.294-306
- [2] H. Fakuda, A. Kondo, dan H., "Noda, Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oil", (2001), *J Biosci Bioeng* 92: 405-16
- [3] M. Huesemann, R. Bartha, dan TS Hausmann. "An Innovative Approach for Screening Marine Mikroalgae for Maximum Flue Gas CO₂ Biofixation Potential", (1987) *J of Undergraduate Research U.S. Department of Energy* 97:102-107
- [4] National Renewable Energy Laboratory (NREL), "A look back at the U.S. department of energy's aquatic species program-biodiesel from algae", (2003) Colorado: NREL; (NREL Report).
- [5] P, Bajpai dan P.K. Bajpai, "Eicosapentaenoic Acid (EPA) Production from Microorganisms", (1993) *A Review. Journal of Biotechnology* 30 : 161-183
- [6] I. A, Guschina. dan J.L. Harwood, "Lipids and lipid Metabolism in Eukaryotic algae", (2006.) *Pro g. Lipid Res* 45:160-186.
- [7] Zuhi, M.F.A.. "Biodiesel Sebagai Alternatif Pengganti Bahan Bakar Fosil Pada Motor Diesel", Laporan Riset. RUT VIII Bidang Teknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Kementerian Riset dan Teknologi RI (2003).
- [8] I.W, Abida, "Struktur Komunitas dan Kelimpahan Fitoplankton di Perairan Muara Sungai Porong Sidoarjo", (2009) *Jurnal kelautan* 3 (1) : 36-41
- [9] BLH (Balai Lingkungan Hidup), "Identifikasi Kondisi Lingkungan Wilayah Estuaria Sungai Porong," Surabaya (2010).
- [10] O.H Arinardi, S.H Trimaningsih, dan Riyono, "Kisaran Kelimpahan dan Komposisi Plankton Predominan Di Kawasan Timur Indonesia" Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI (1997).
- [11] J. Basmi, "Planktonologi : Plankton Sebagai Bioindikator Kualitas Perairan", IPB. Bogor (2000)
- [12] E. G, Bellingier, dan Sigeo D, "Freshwater Algae Identification and Use as Bioindicators", West Sussex, England; John Willey & Sons (2010).
- [13] S.J, Vuuren, Taylor, Jonathan GK., Carin V, G., dan Annelise, "Easy Identification of the Most Common Freshwater Algae", South-Africa. North-west University and Department of Water Affairs and Forestry (2006)
- [14] Jomas, Carmelo R, "Identifying Marine Phytoplankton", Academic Press. California. USA (1997).
- [15] K. E, Cooksey, Guckert J. B, Williams SA, dan Collis P.R, "Fluorometric determination of the neutral lipid content of microalgal cells using Nile red" (1987) *J Microbiol Methods* 6:333-345g.
- [16] Keputusan Menteri lingkungan Hidup: Peraturan No. 51 Tahun 2004. Indonesia

- [17] J. W, Nybakken, “Biologi Laut, Suatu pendekatan ekologis”, Terjemahan: Koesoebiono, D. G Bensen, M. Eidman. Marine Biology, (1988) *An Ecology Approach*. 443
- [18] J. E. G, Raymont,, “Plankton Productivity in the Oceans. (Secod Edition)”, Vol. 1. USA: Phytoplankton. Pergamon Press. Oxford (1980)
- [19] A. Nontji, “Biomassa dan Produktivitas Fitoplankton di Perairan Teluk Jakarta Serta Kaitannya dengan Faktor-faktor Lingkungan” Disertasi. Fakultas Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor (1984)
- [20] S.M, Renaud, L.V.Thinh, dan D.L. Parry, “The Gross Chemical Composition and Fatty Acid Composition of 18 Species of Tropical Australian Microalgae for Possible Use in Mariculture”, (1998) *Journal of Aquaculture*, Elsevier (170): 147-159
- [21] M. A, Borowitzka, dan L. J, “Borowitzka, Microalgal biotechnology”, New York: Cambridge University Press (1988).
- [22] T.M, Mata, A,A Martin, dan Caetano, N.S “Microalgae for biodiesel production and other applications”, (2010) *A review. Renew. Sustain. Energy Rev.*14, 217–232
- [23] Huang G-H, Chen G, Chen F. Rapid screening method for lipid production in alga based on Nile red fluorescence. *Biomass Bioenergy*. 2009;33:1386–92.
- [24] Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, Ghirardi M, Posewitz M, dan Seibert M. “Microalgal Triacylglycerols As Feedstocks For Biofuels Production: Perspectives And Advances”, (2008) *The Plant Journal* 54 : 621–639.
- [25] M. I Gurr, J. L Harwood, dan K. N, Frayn, “Lipid Biochemistry: An Introduction, 5th end”, Blackwell: Oxford, UK (2002).



ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROALGA YANG BERPOTENSI SEBAGAI BAHAN BAKU BIODIESEL DI PERAIRAN ESTUARIA SUNGAI PORONG

Oleh :

Yudi Apriyatmoko

1511100004

Dra. Nurlita Abdulgani, M.Si

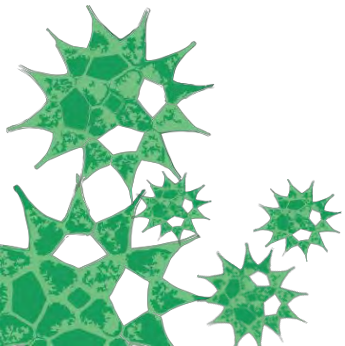
Penguji 1

Kristanti Indah P, S.Si., M.Si.

Penguji 2

Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.

Penguji 3



OUTLINE



Pendahuluan

Metodologi



Hasil

Kesimpulan



PENDAHULUAN

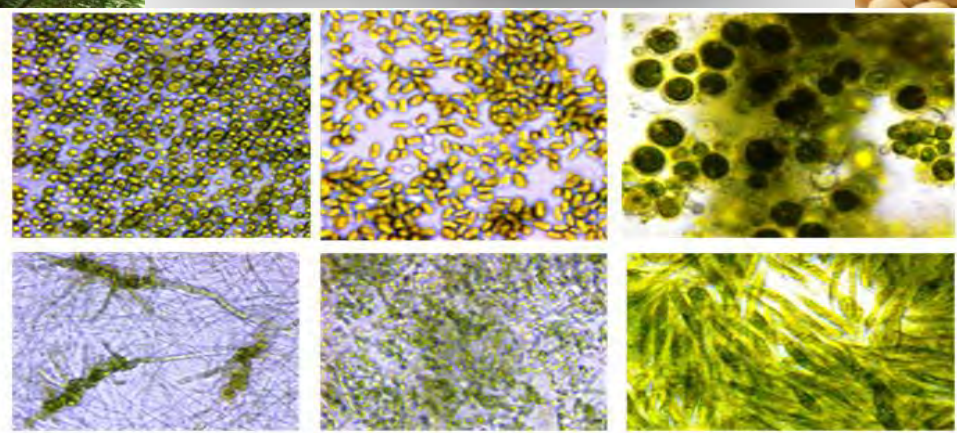
Latar Belakang

Indonesia merupakan negara berkembang yang hampir setiap penduduknya memiliki kendaraan bermotor.





Energi alternatif dapat diperoleh dari biomassa organisme yang diproses menjadi biofuel (Patil *et al.*, 2008)



→ 121104 kg/ha.th



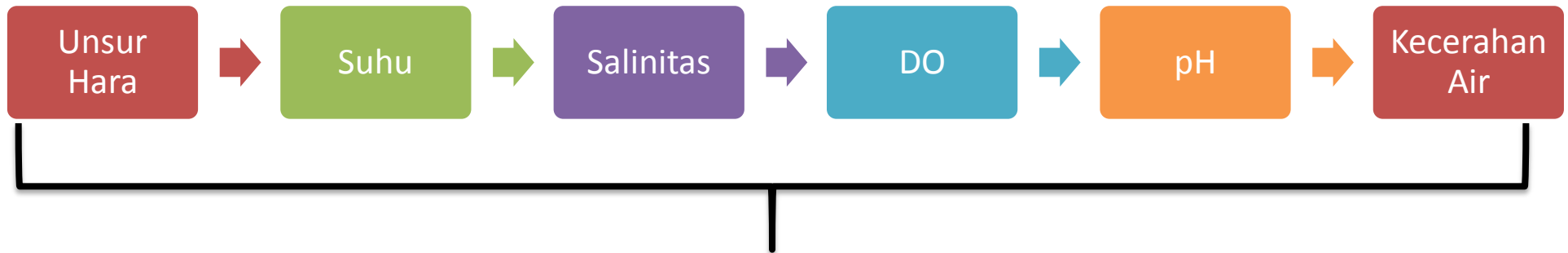
Mikroalga



Lipid
(Triasilgliserol/
TAG)

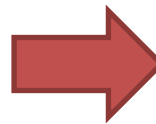


Biodiesel



Kelimpahan dan Produksi TAG pada Mikroalga

Estuaria sungai porong merupakan kawasan ekosistem pesisir yang mendapatkan dampak langsung dari aktifitas Industri yang dilakukan oleh PT. Lapindo Brantas.



Kondisi fisika, kimia dan biologis Perairan akan berubah.



Kelimpahan dan Produksi Triasilgliserol berubah.



Isolasi dan Karakterisasi mikroalga yang berpotensi sebagai bahan baku biodiesel di perairan estuaria sungai porong

Rumusan Masalah

1. Mikroalga apa saja di perairan estuaria sungai porong yang berpotensi sebagai bahan baku penghasil biodiesel.

Batasan Masalah

1. Mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari perairan sungai porong pada bagian estuaria.
2. Isolasi mikroalga dari perairan estuaria sungai porong dilakukan dengan metode *streak plate*.
3. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium yang berasal dari lokasi sampling.
4. Penentuan lipid intraseluler pada mikroalga secara kualitatif yang dilakukan dengan pewarnaan *Nile Red*.
5. Mikroalga yang diuji kandungan lipidnya secara kualitatif adalah mikroalga yang berhasil di isolasi.
6. Identifikasi mikroalga dilakukan hingga tingkat genus

Tujuan

mengetahui jenis dan karakteristik mikroalga yang ditemukan di perairan estuaria sungai porong yang berpotensi sebagai bahan baku biodiesel melalui seleksi terhadap kandungan lipid secara kualitatif.

Manfaat

untuk mendapatkan dan mengetahui jenis-jenis mikroalga di perairan estuaria sungai porong yang menghasilkan Triasilgliserida (TAG) sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk pembuatan dan pengembangan Biodiesel secara berkelanjutan.

METODOLOGI

Waktu dan Lokasi

Waktu

- Penelitian dilakukan pada bulan Februari- Juni 2015

Lokasi Penelitian

- Pengambilan sampel mikroalga dan parameter lingkungan di estuaria sungai porong.
- Analisis sampel dilakukan di Laboraturium Ekologi dan Laboraturium Botani Biologi, FMIPA, ITS dan Labotarium khusus infeksi UNAIR.

Pengambilan Data Parameter Lingkungan Dan Sampel Mikroalga



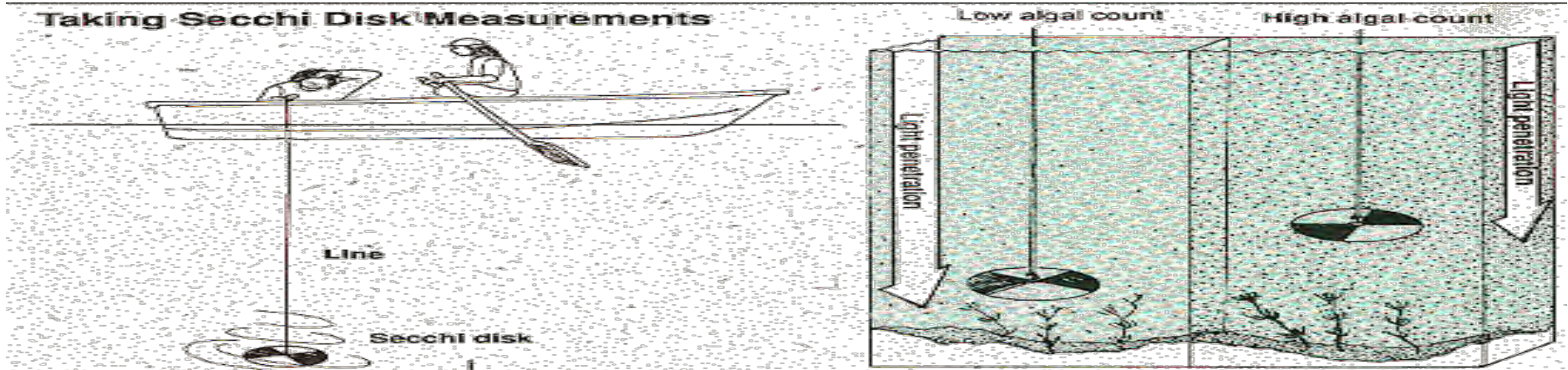
Lokasi penelitian di estuaria sungai porong (sumber : modifikasi www.googlemap.com)

Tabel 3.1 Koordinat stasiun pengamilan sampel

No	Stasiun	Koordinat	
		Lintang Selatan	Bujur Timur
1	Stasiun 1 (tawar)	7°33'31.47° S	112°51'12.82° E
2	Stasiun 2 (muara)	7°33'59.59° S	112°52'29.89° E
3	Stasiun 3 (laut)	7°34'08.08° S	112°52'48.83° E

Data Parameter Lingkungan

Kecerahan Air



Secchi disk



Disk dicelupkan kedalam air
Sampai warna disk tidak
terlihat



Diukur tali disk yang tercelup

Suhu dan *Dissolved Oxygen (DO)*/ Kadar Oksigen Terlarut



DO meter *type*
5510 Lutron



DO meter dikalibrasi
hingga menunjukkan
Nilai 0.



Di celupkan kedalam
permukaan air kurang lebih
selama 3 menit

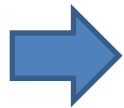
Nilai suhu dan DO yang muncul pada layar
Dicatat.



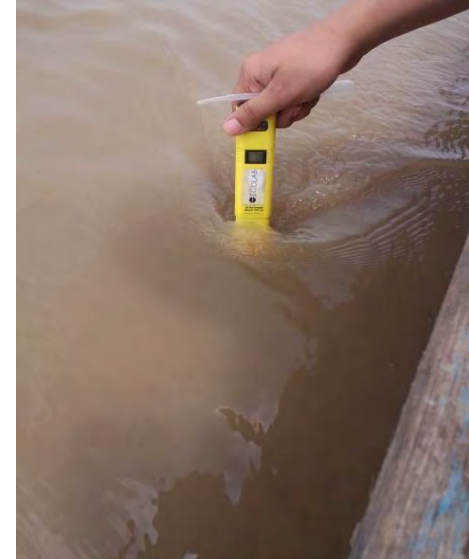
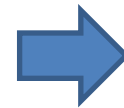
pH Perairan



pH meter *Jenko 610*



pH meter dikalibrasi
dengan akuades



pH meter di celupkan
Ke dalam permukaan air kurang
lebih sekitar 3 menit.

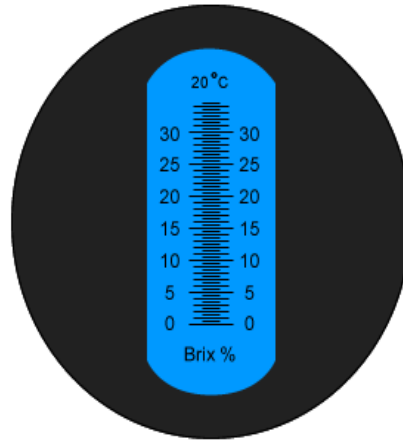
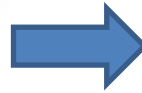
Nilai pH yang muncul pada
Layar dicatat.



Salinitas



*Hand Salino Refractometer
ATC FG-217*



Dikalibrasikan
dengan aquades
Hingga salinitas
menjadi 0



2 tetes air sampel dari tiap stasiun
di teteskan pada kaca prisma



Nilai yang muncul
Pada papan skala
Dicatat.

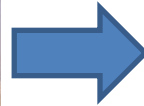


Dipaparkan dengan cahaya

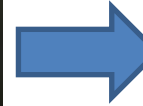
Amonium (NH_4^+), Nitrat (NO_3^-), Nitrit (NO_2^-) dan Fosfat (PO_4^{2-})



Air sampel dari tiap stasiun



Dimasukan kedalam Botol sampel 600 ml

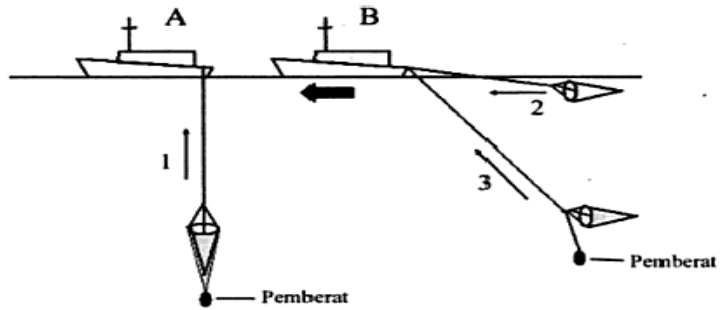


Botol sampel Dimasukan dalam Cool box

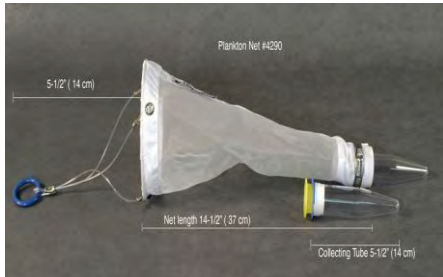
Dianalisis di Labolaturium Balai Standarisai Industri Surabaya



Pengambilan Sampel Mikroalga



Sampel mikroalga di ambil dengan menggunakan Plankton net dengan ukuran mata jaring $35\ \mu\text{m}$. Pengambilan mikroalga dilakukan dengan cara Menarik net dengan tali.



Plaknton net



Ditarik dipermukaan air
Sampai seluruh mulut
Plankton tenggelam



Jaring disemprot dengan
sprayer



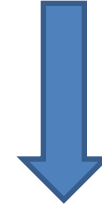
Sampel mikroalga di masukan dalam
Plakon.



Sampel mikroalga di
Tampung dalam *cod end*

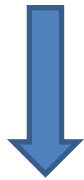


Sampel Mikroalga di awetkan dalam beri formalin 4% dan lugol 3-4 tetes.



Dihitung Kelimpahannya

Sampel mikroalga tanpa pengawet.



Di Isolasi

Perhitungan Kelimpahan Mikroalga

Perhitungan kelimpahan mikroalga menggunakan *Sedgewick rafter*.



Sampel Mikroalga



Sampel di teteskan pada *Sedgewich rafter* sebanyak 2 tetes

Sampel diamati dibawah mikroskop compound



Dicatat taksa yang ditemukan dan Dihitung kelimpahannya dengan rumus :

$$N = n \times (1/Vd) \times (Vt/Vs)$$

Dengan ketentuan :

N = Jumlah total individu atau sel plankton per m³ (sel/m³)

ni = Jumlah individu atau sel spesies ke-i yang tercacah

Vd = Volume air yang disaring (liter)

Vt = Volume air tersaring (ml)

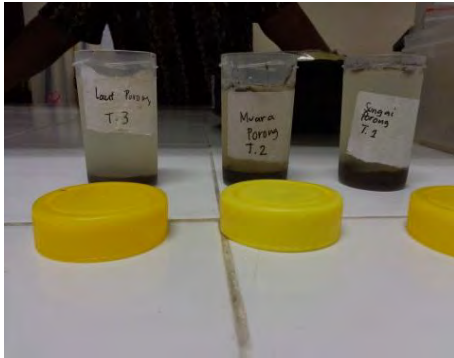
Vs = Volume sampel di bawah gelas penutup (ml)



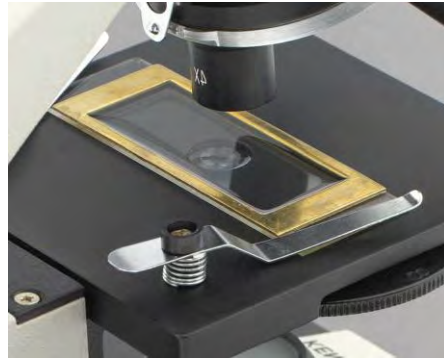
= lajur pengamatan plankton

Skema model alur pengamatan fitoplankton pada sedgwick rafter

Identifikasi Mikroalga



Sampel mikroalga



Isolat mikroalga



Koloni mikroalga diambil dengan Jarum ose, diletakan pada prepatat dan ditetesi akuades



Diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x.



buku identifikasi *Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators* (Bellinger and David, 2010) dan buku *Easy Identification Of The Most Common Freswater Algae* (Vuuren, 2006).

Isolasi Mikroalga

Pembuatan Medium



Air dari tiap stasiun



Disaring dengan Kertas saring



Ditampung dalam erlenmeyer 1 L Untuk membuat medium dan 100 ml untuk pengenceran sampel



Ditambahkan 1,5 % Bakto agar dan di tutup alumunium foil.



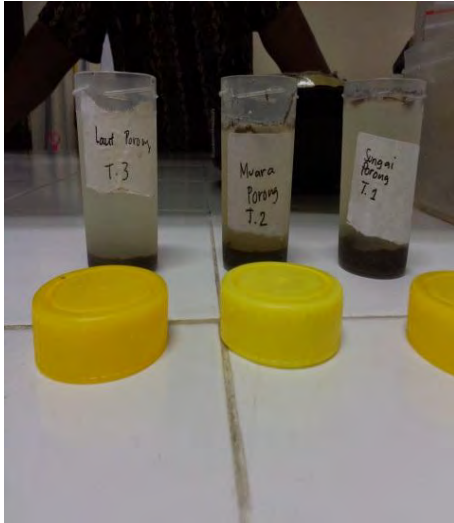
Medium ditunggu sampai hangat.



Disterilisasi dengan *autoclave* dengan suhu 121°C pada tekanan 1,5 atm selama 30 menit.



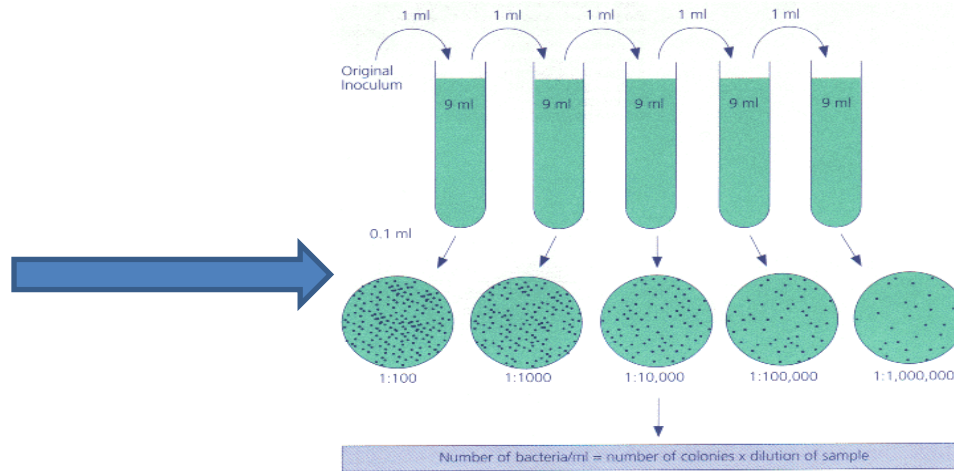
Pengenceran Bertingkat (*dillution method*)



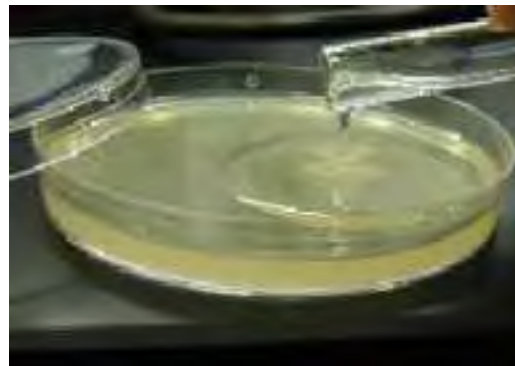
Sampel mikroalga tanpa formalin



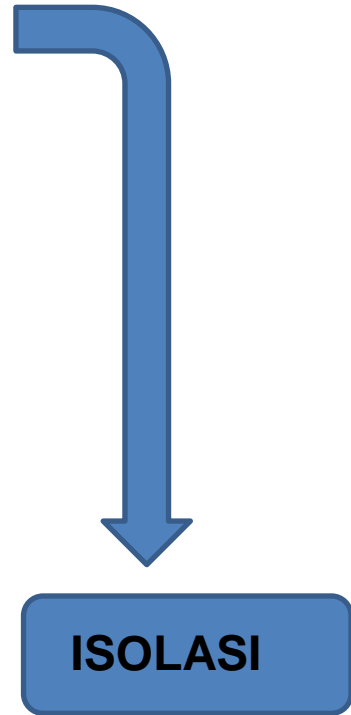
Medium yang telah di *autoclave*



Pengenceran dilakukan pada test tube hingga pengenceran 10^{-4} .

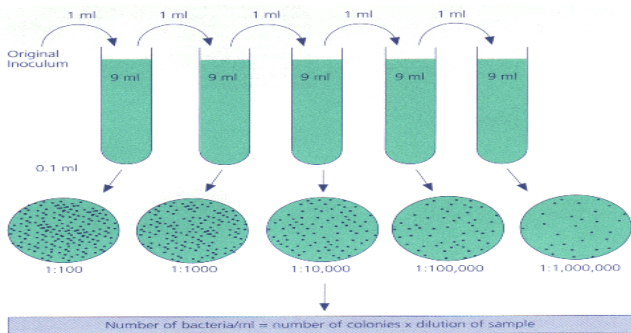


Dituangkan pada cawan petri hingga merata.

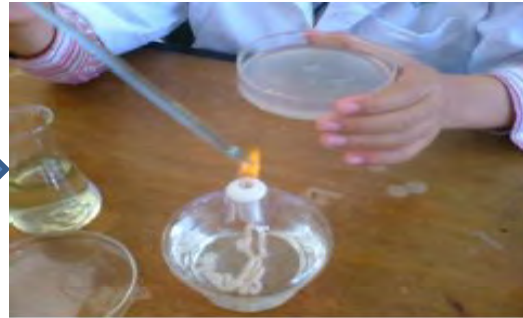


ISOLASI

Purifikasi Mikroalga



Sebanyak 2 tetes sampel dari tiap pengenceran di teteskan pada medium agar



Isolat di inokulasi pada media agar dengan menggunakan jarum ose secara zig zag dengan 16 goresan.



Cawan petri yang berisi isolat mikroalga diinkubasi pada suhu 25-27°C di bawah cahaya lampu neon 30 Watt selama 7-14 hari sampai mikroalga tumbuh

diamati jenis dan pertumbuhan mikroalga pada medium agar

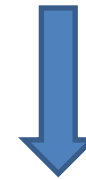
Isolasi mikroalga dilakukan pada kondisi Aseptis dalam LAF (*Laminar air flow*)



Koloni Mikroalga yang tumbuh setelah diinkubasi

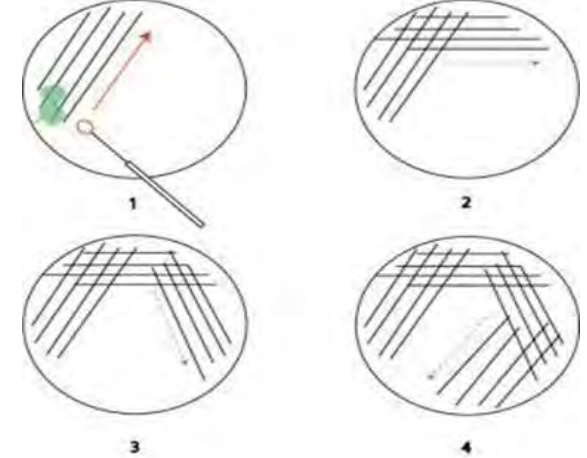
diinokulasi pada kaca objek ditambahkan 1 tetes aquades

Inokulum difiksasi pada bunsen



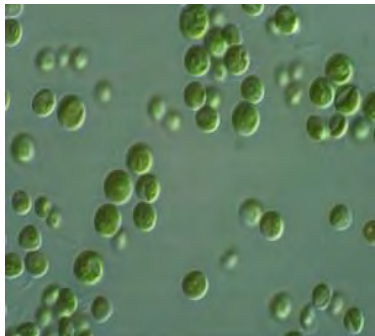
diamati dan diidentifikasi

Isolat yang teridentifikasi



Inokulum di ambil dengan Jarum ose

Diinokulasi dengan metode streak 16 gores



Diamati dibawah mikroskop

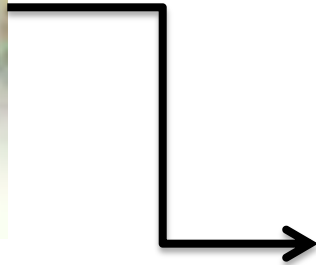


Cawan petri yang berisi isolat mikroalga diinkubasi pada suhu 25-27°C di bawah cahaya lampu neon 30 Watt selama 7-14 hari sampai mikroalga tumbuh

Monogenus mikroalga



Monogenus mikroalga



**Analisis Kualitatif Lipid
Mikroalga**

Analisis Kualitatif Kandungan Lipid Mikroalga

Pengujian kualitatif kandungan lipid ini menggunakan monogenus mikroalga hasil isolasi. Kandungan lipid pada sel mikroalga dapat diketahui dengan menggunakan *Nile Red* (Cooksey *et al.*, 1987).



Nile Red



Dilarutkan dalam Aceton



Stok Nile Red disimpan Pada suhu ruang dalam keadaan tertutup.



Di tambahkan ke dalam sel mikroalga



Di analisis dengan menggunakan mikroskop *fluorescence*

Pendaran warna yang timbul pada sel mikroalga diamati, mikroalga yang mempunyai kandungan lipid akan berwarna kuning kuning mengkilat (Cooksey *et al.*, 1987).

Analisis Data

Penelitian dilakukan dengan metode deskriptif eksploratif terhadap jenis mikroalga, kelimpahan mikroalga terhadap parameter fisika kimia.

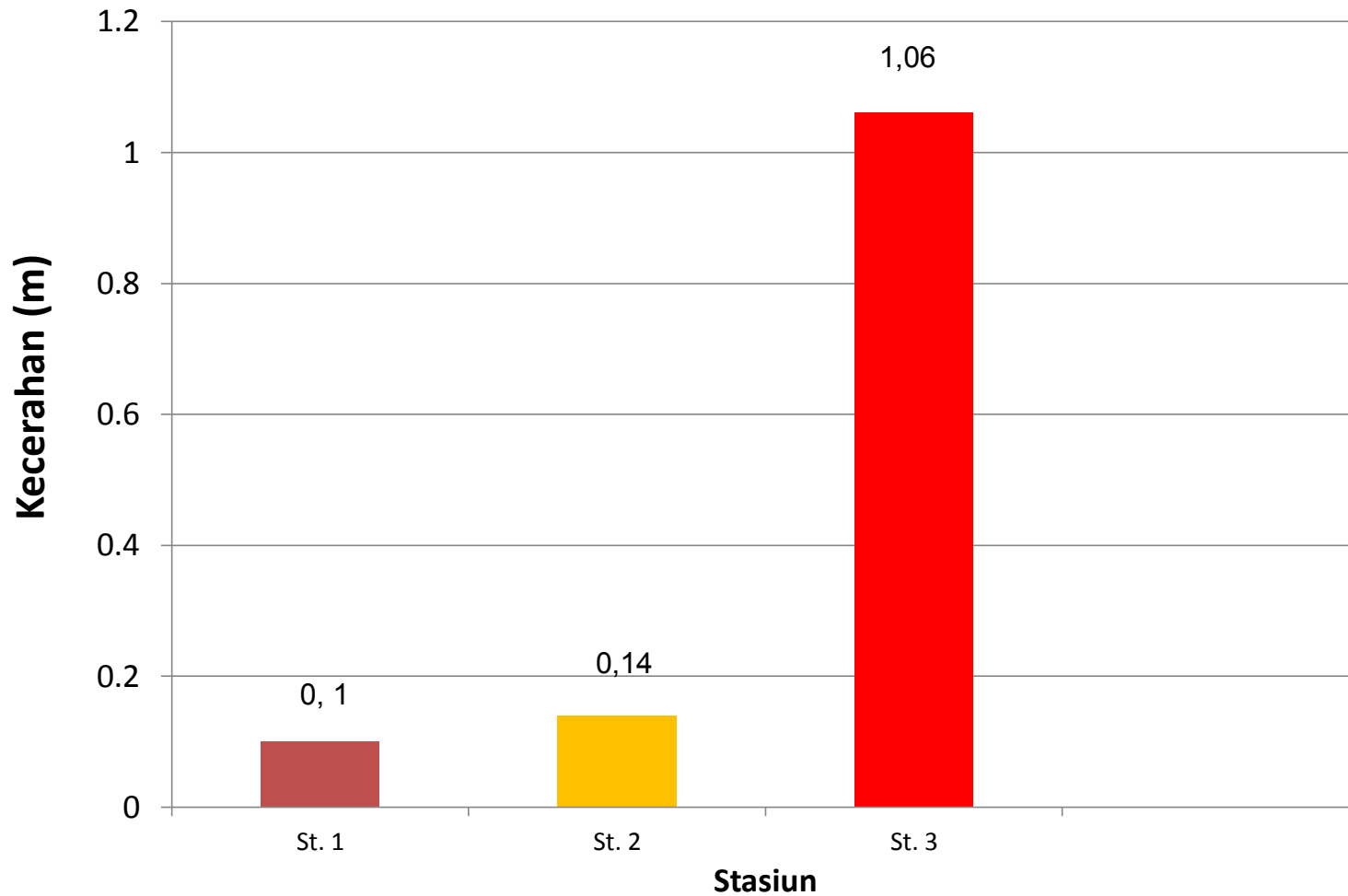
Pengujian kandungan lipid pada mikroalga dilakukan secara kualitatif terhadap sel mikroalga yang mampu diisolasi.

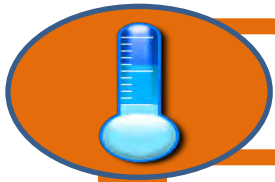
HASIL

Parameter Lingkungan Perairan

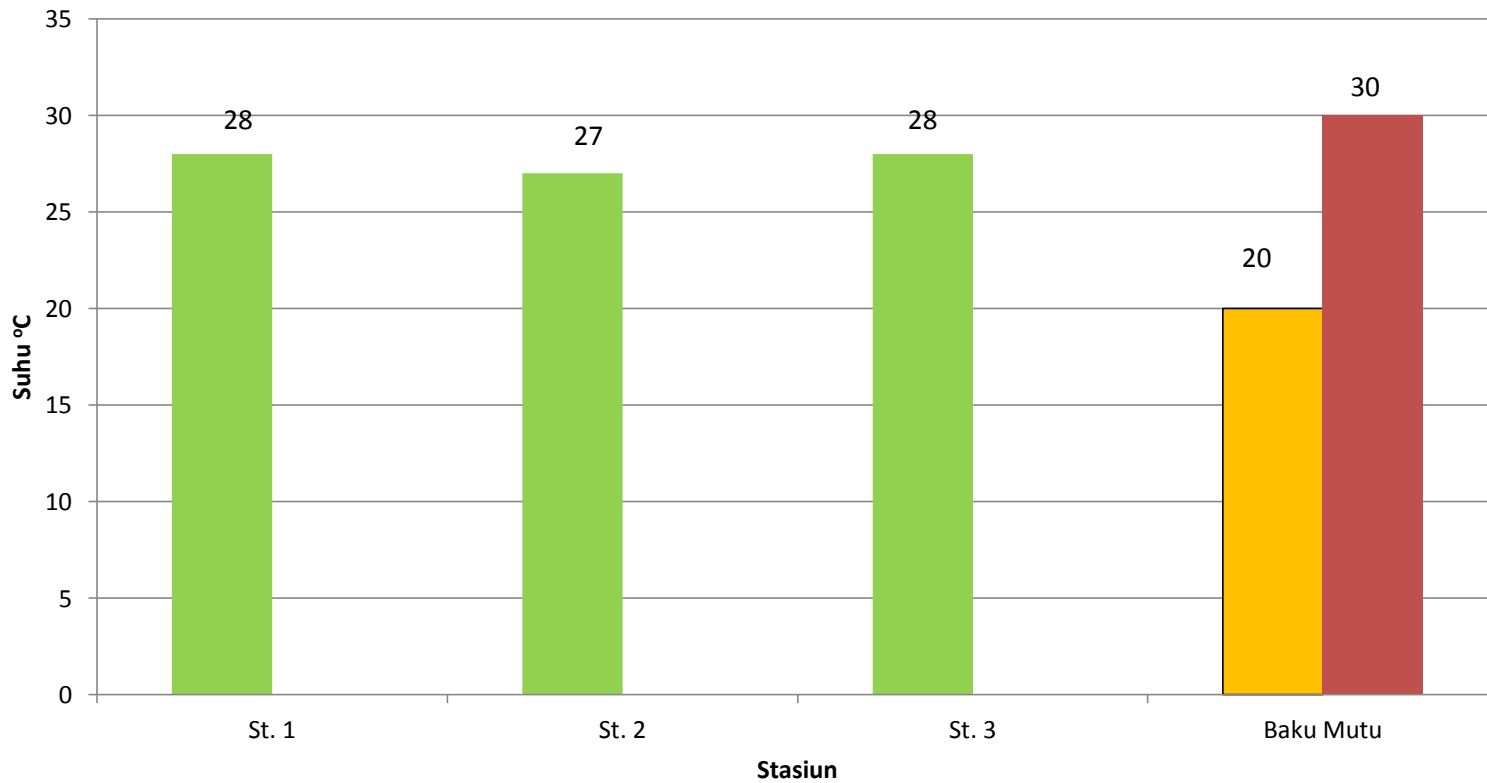


Kecerahan





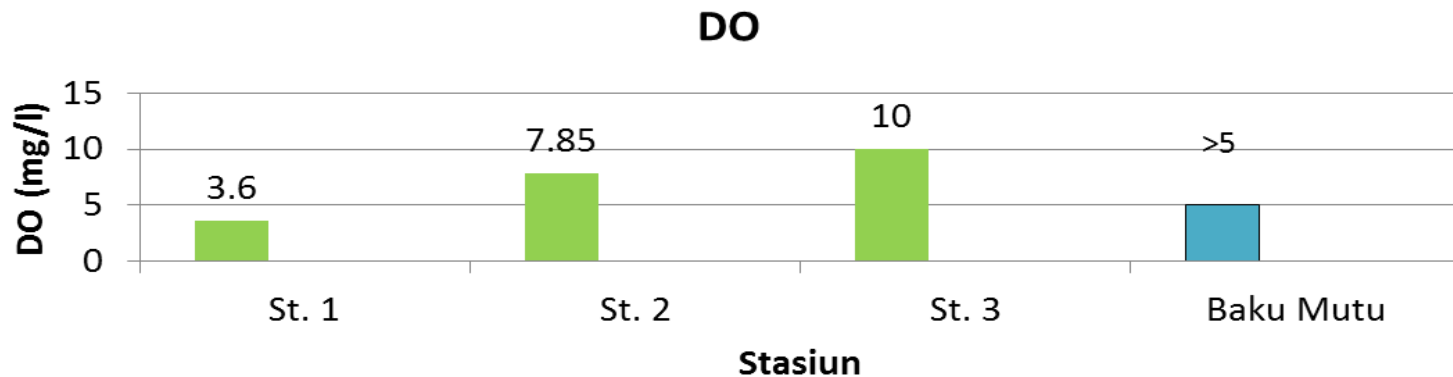
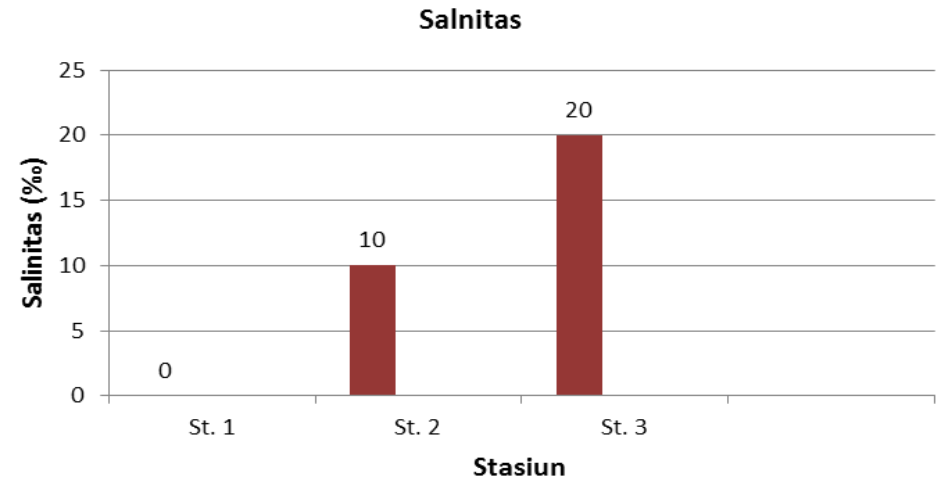
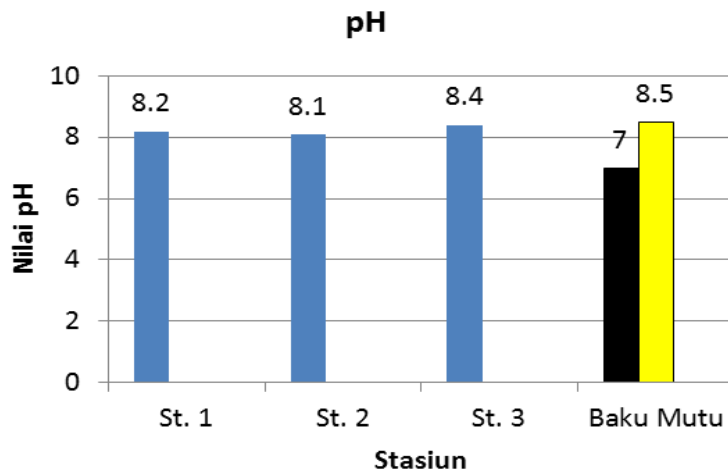
Suhu



Keterangan : Baku mutu menurut Nybakken (1992).



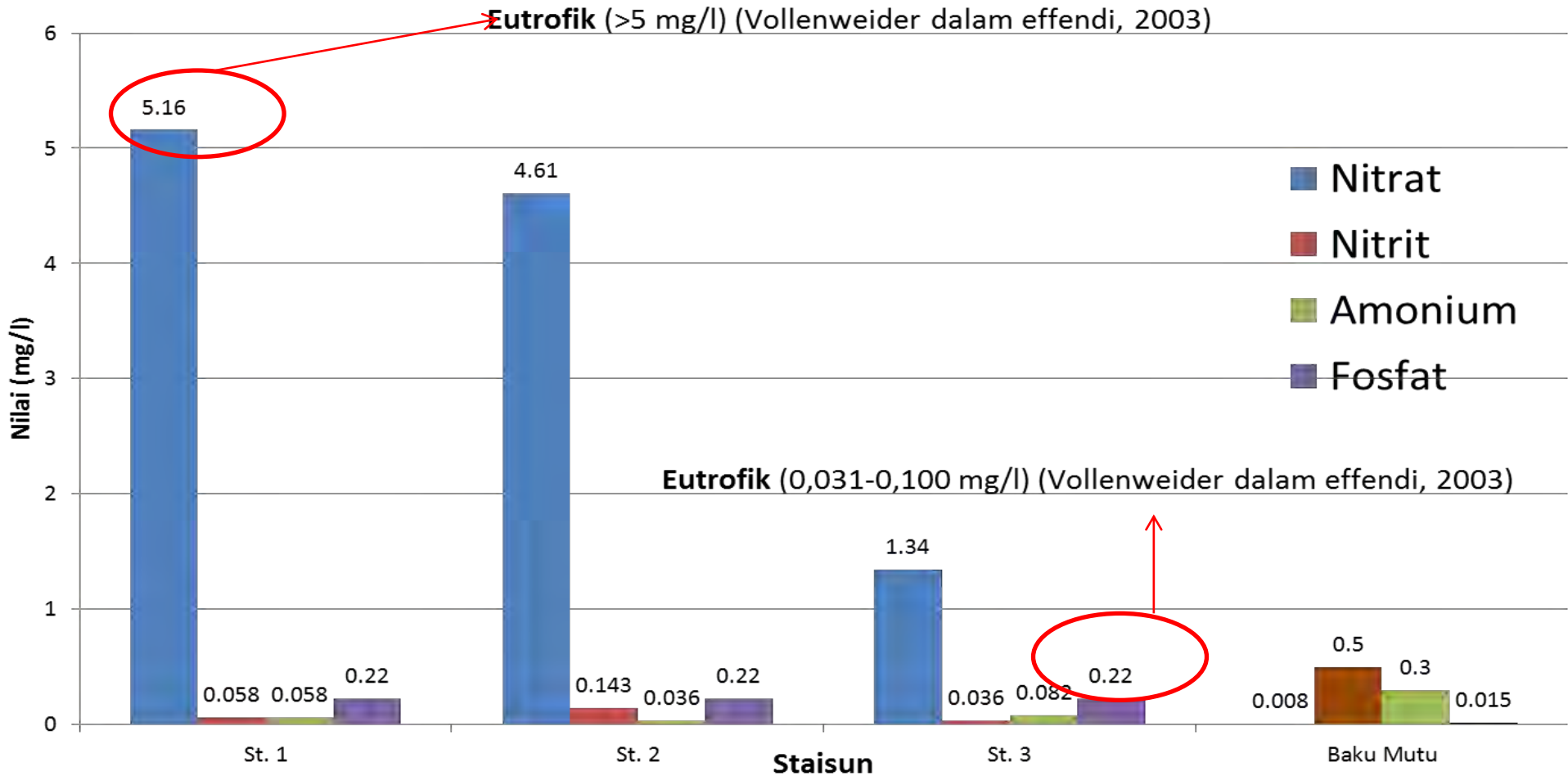
pH, Salinitas, DO



Keterangan : Baku mutu sesuai dengan KEMENLH No. 51 Tahun 2004



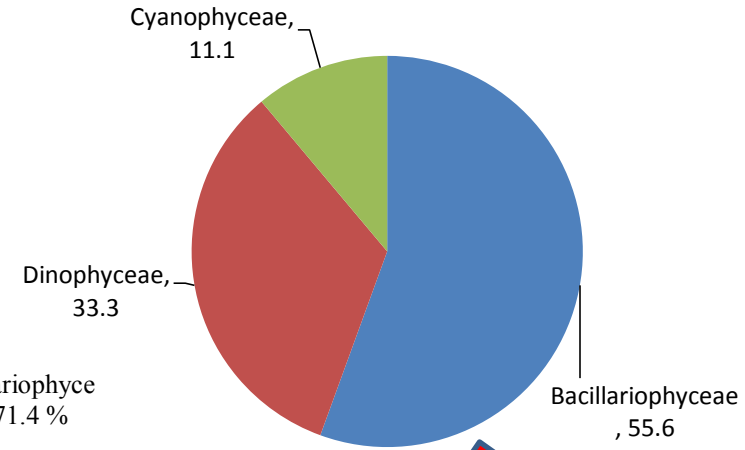
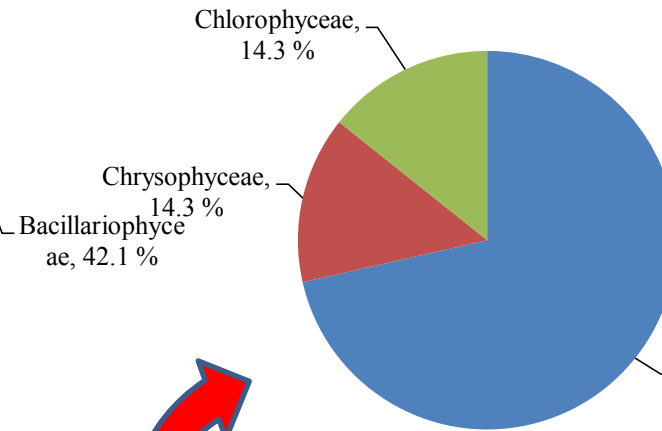
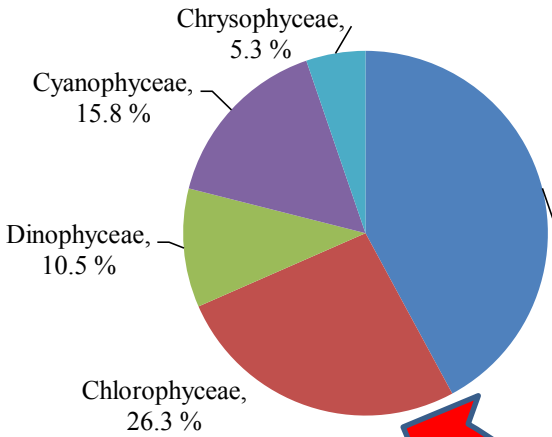
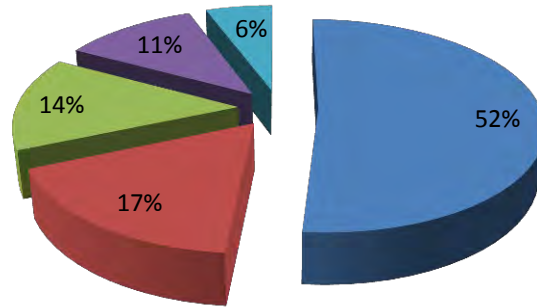
Nitrat, Nitrit, Amonium, Fosfat



Keterangan : Baku mutu menurut KEPMENLH NO. 51 Tahun 2004

Komposisi Kelas Mikroalga di Estuaria Sungai Porong

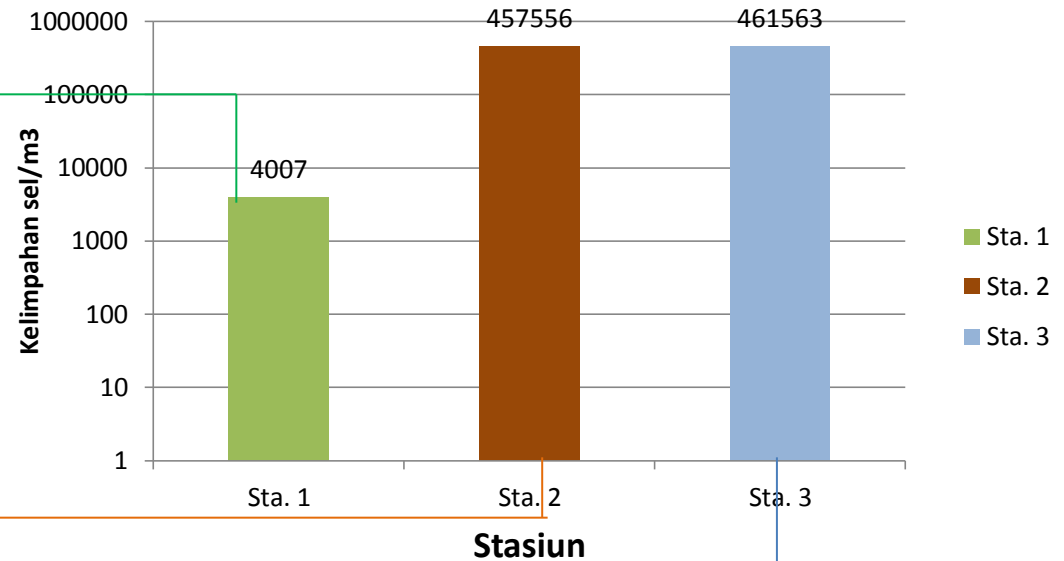
■ Bacillariophyceae ■ Chlorophyceae ■ Dinophyceae ■ Cyanophyceae ■ Chrysophyceae



Kelimpahan Genus Mikroalga di Perairan Estuaria Sungai Porong

Kelimpahan mikroalga sebesar 4007 sel/m³ Genus *Oscillatoria* memiliki kelimpahan paling tinggi sebesar 888 sel/m³, sedangkan kelimpahan terendah berada pada genus *Pleurosigma* sebesar 14 sel/m³.

Kelimpahan mikroalga sebesar 457.556 sel/m³. Genus *Skeletonema* memiliki kelimpahan paling tinggi sebesar, kelimpahan terendah berada pada genus *Rhizosolenia* sebesar 1033 sel/m³.



Kelimpahan mikroalga sebesar 461.563 sel/m³. Genus *Skeletonema* memiliki kelimpahan tertinggi sebesar 229.552 sel/m³, kelimpahan terendah berada pada genus *Peridinium* 4.281 sel/m³.

Kelimpahan total sel mikroalga di perairan estuaria sungai porong sebesar 923.126 sel/m³. Genus *Nitzschia* dan *Oscillatoria* merupakan genus mikroalga yang ditemukan di semua stasiun



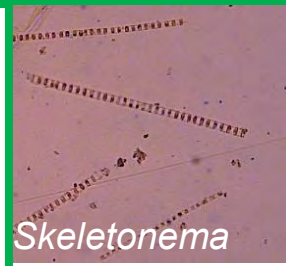
Oscillatoria



Pleurosigma



Merismopedia



Skeletonema



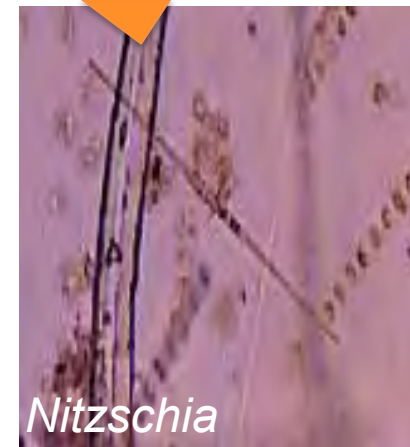
Rhizosolenia



Chaetoceros



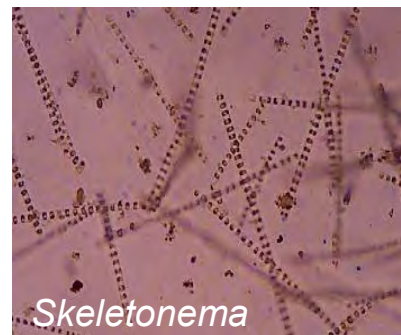
Oscillatoria



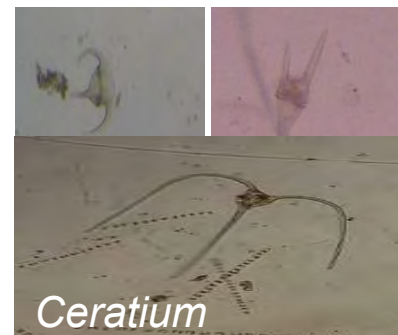
Nitzschia



Rhizosolenia



Skeletonema



Ceratium



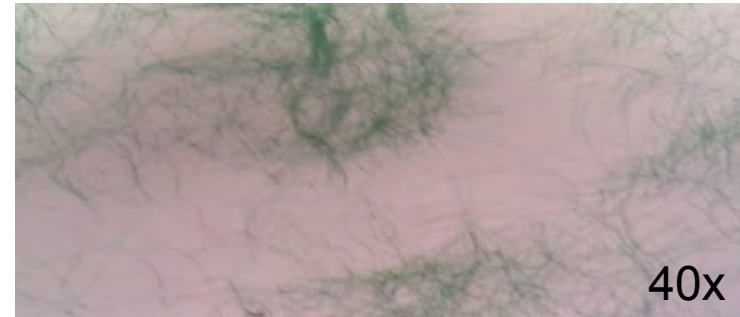
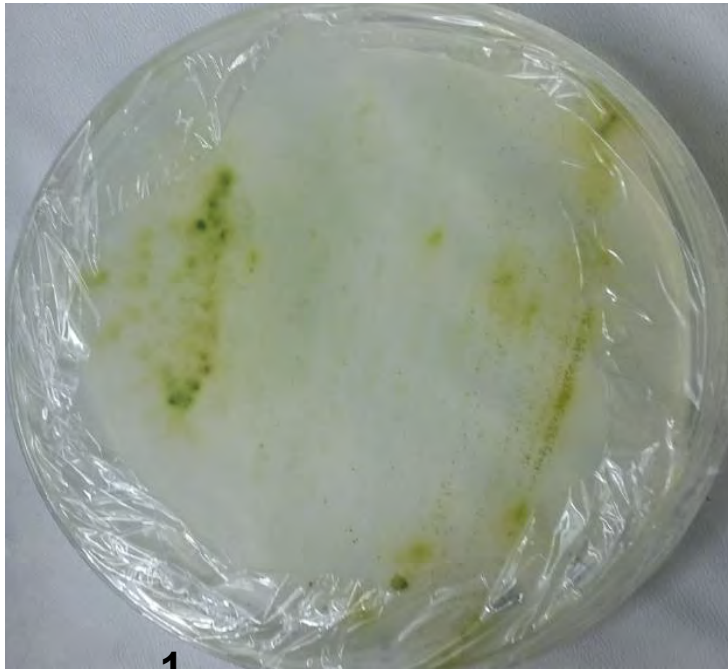
Dinophysis



Isolasi dan Kultur Mikroalga

Stasiun	Genus	Jumlah
1	<i>Oscillatoria</i>	6
	<i>Nitzschia</i>	
	<i>Merismopedia</i>	
	<i>Navicula</i>	
	<i>Chlorella</i>	
	<i>Melosira</i>	
2	<i>Oscillatoria</i>	3
	<i>Nitzschia</i>	
	<i>Navicula</i>	
3	<i>Oscillatoria</i>	2
	<i>Nitzschia</i>	

Oscillatoria

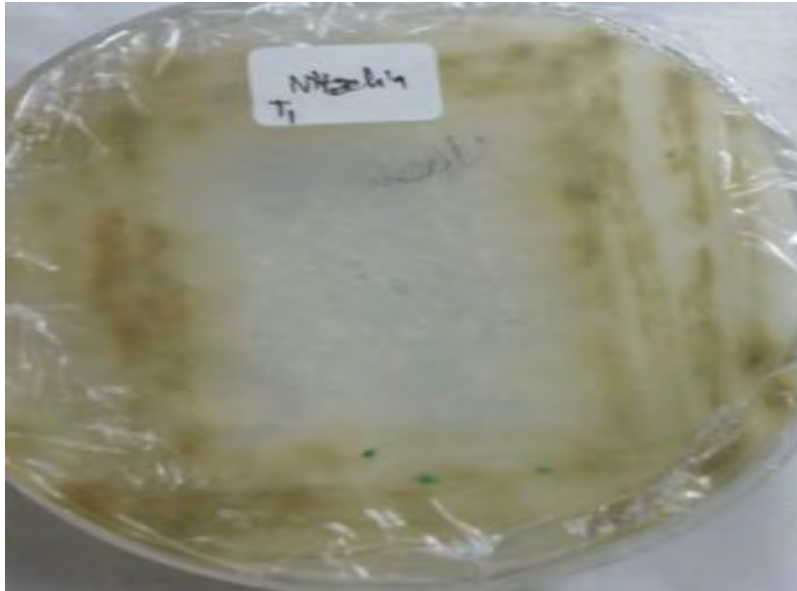


Keterangan:

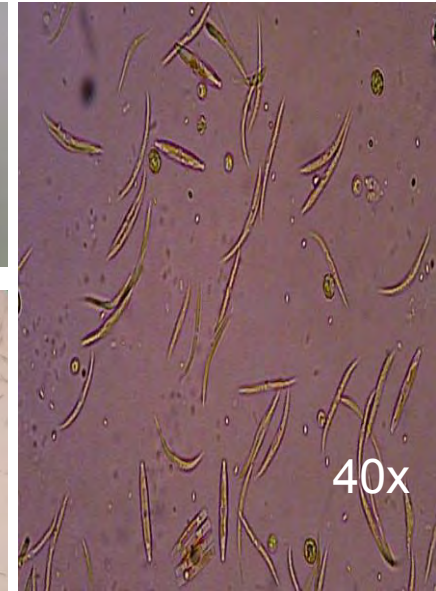
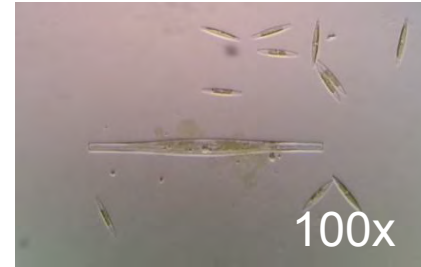
1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis perbesaran 40x dan 100x

- Mikroalga *Oscillatoria* dikelompokkan dalam kelas Cyanophyceae pada famili Oscillatoiaceae.
- berukuran 8-30 μm berwarna hijau karena adanya pigmen klorofil.
- *Oscillatoria* bersifat uniseluler dan non motil
- sel membentuk koloni berbentuk filamen dan bereproduksi dengan fragmentasi (Guiry, 2015).
- dapat tumbuh di perairan tawar dan laut (Vurren, 2006).

Nitzschia



1



2

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x dan 100x

- *Nitzschia* merupakan genus dari kelas Bacillariophyceae dengan famili Bacillariaceae.
- *Nitzschia* memiliki ukuran sel dengan panjang 5-100 μm dan lebar 2.5-12 μm .
- bersifat soliter berbentuk oval memanjang dan memiliki *raphe* (rongga udara) pada kedua ujungnya. (Vurren, 2006)

Merismopedia



1



40x



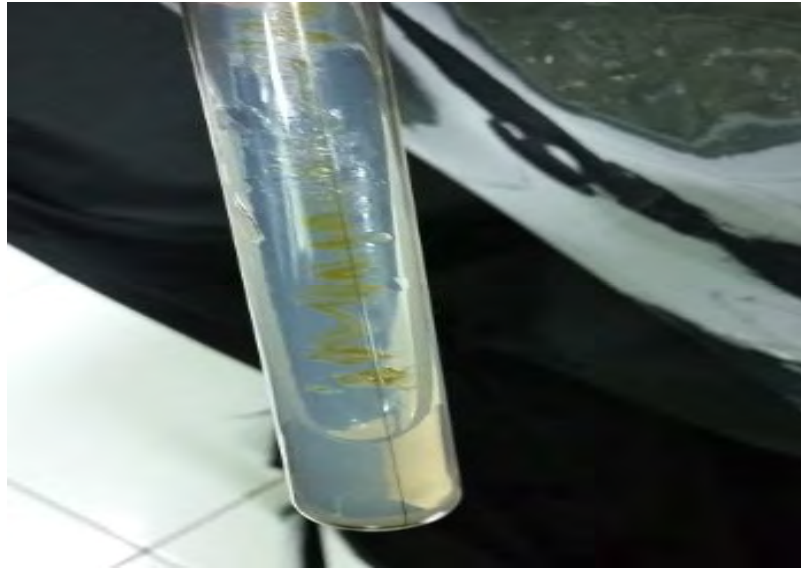
40x

2

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x

- *Merismopedia* termasuk dalam kelas Cyanophyceae dari famili Merismopediaceae
- *Merismopedia* memiliki sel yang berbentuk bulat, memiliki panjang 3-6 μm dan lebar 4,5 μm .
- Sel tersebut ditemukan dalam bentuk koloni yang teratur (John *et al.*, 2002)

Navicula



1



100x



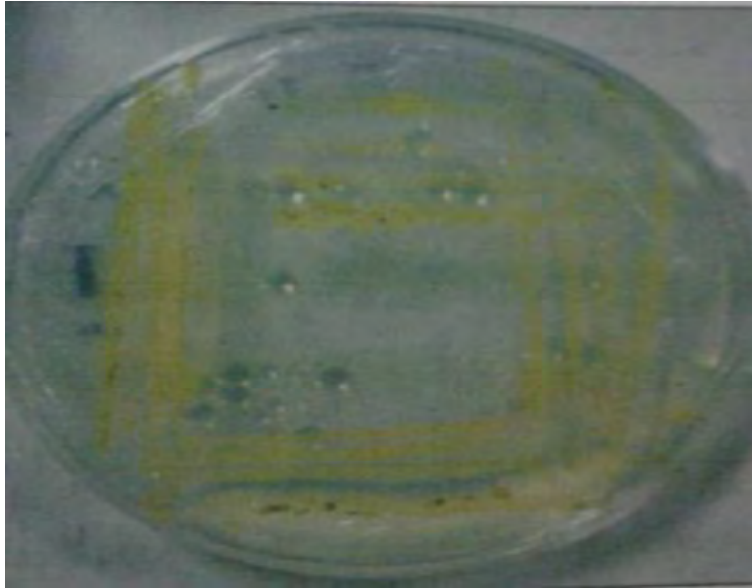
40x

2

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x dan 100x.

- Mikroalga *Navicula* termasuk dalam kelas Bacillariophyceae dari famili Naviculaceae
- *Navicula* memiliki bentuk batang atau silindris yang disisipi oleh substansi kersik pada dinding selnya berupa silika

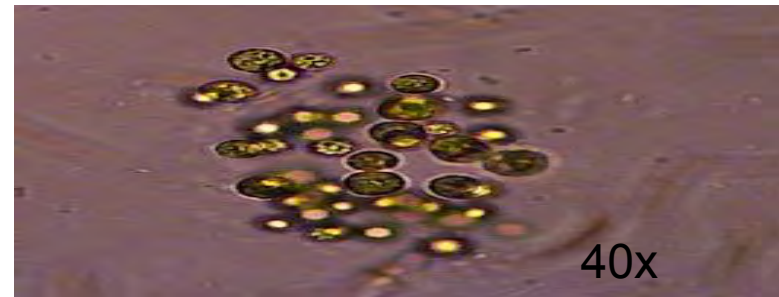
Chlorella



1



100x



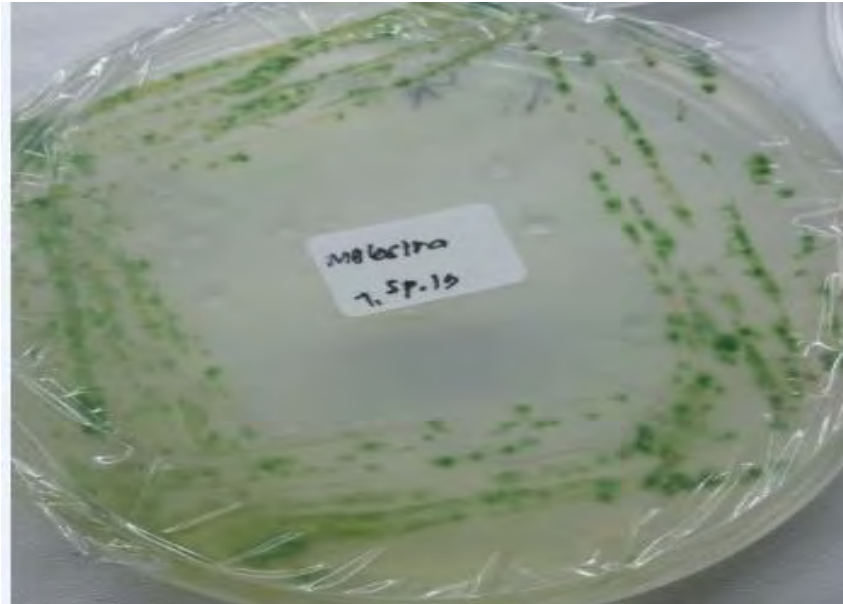
40x

2

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x dan 100x.

- *Chlorella* termasuk dalam kelas Chlorophyceae famili Chlorellaceae
- Memiliki bentuk bulat, motil dan tidak memiliki flagella
- Bersifat uniseluler dan membentuk koloni
- Bereproduksi dengan pembelahan

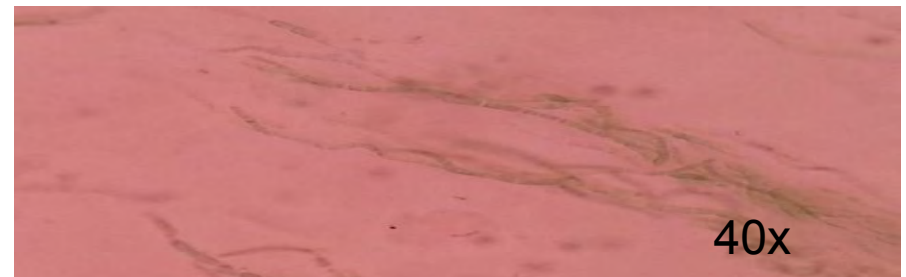
Melosira



1



100x



40x

2

Keterangan: 1. Pengamatan makroskopis. 2. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x dan 10x.

- *Melosira* merupakan genus mikroalga dari kelas Bacillariophyceae famili Melosiraceae.
- *Melosira* memiliki sel berbentuk silinder yang saling terhubung membentuk filament, dinding selnya terdiri dari silika.
- *Melosira* dapat tumbuh di perairan tawar dan perairan laut (Horner, 2002).
- Sel berukuran 5-40 μm dan memiliki kloroplas yang mengandung pigmen fotosintesis (Vurren, 2006)

Analisis Lipid Pada Mikroalga

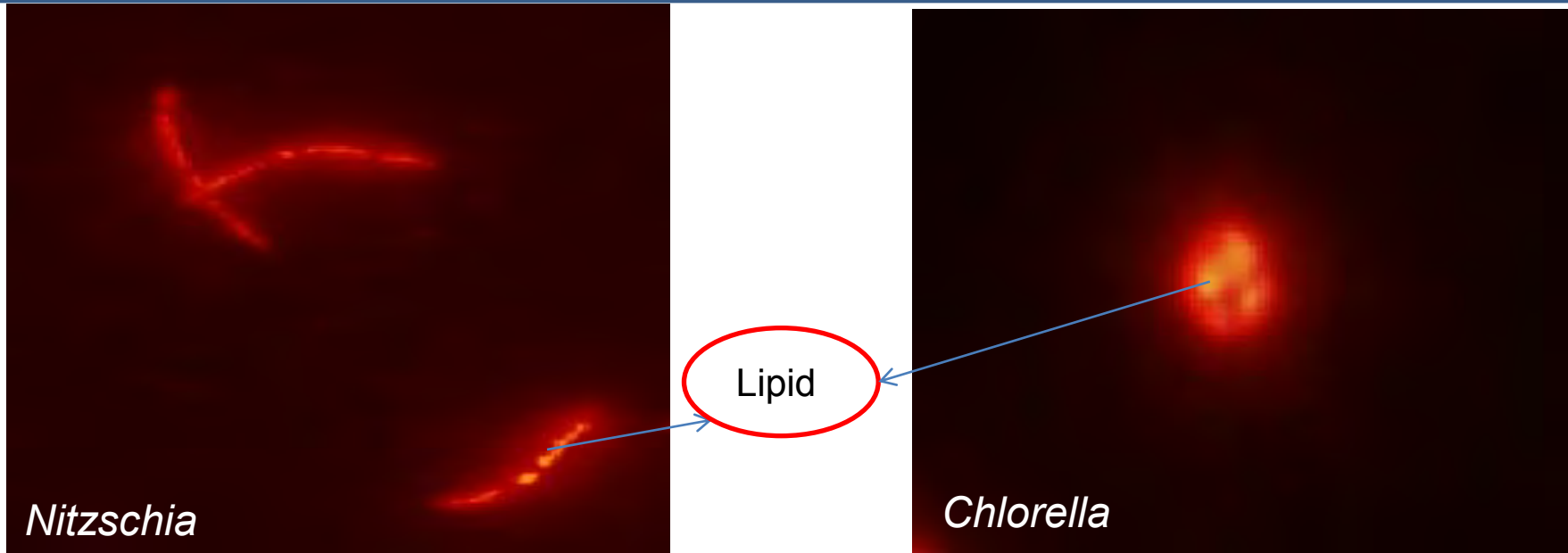
Stasiun	Genus	Pendaran warna pada mikroalga			
		-	+	++	+++
1	<i>Oscillatoria</i>	√			
	<i>Nitzschia</i>				√
	<i>Merismopedia</i>	√			
	<i>Navicula</i>			√	
	<i>Chlorella</i>				√
	<i>Melosira</i>	√			
2	<i>Oscillatoria</i>	√			
	<i>Nitzschia</i>		√		
	<i>Navicula</i>			√	
3	<i>Oscillatoria</i>	√			
	<i>Nitzschia</i>				√

Keterangan :

- | | | |
|-----|--------------------------|---------------------------------|
| - | : Pendaran merah | = tidak ada akumulasi lipid |
| + | : Pendaran kuning rendah | = akumulasi lipid sedang |
| ++ | : Pendaran kuning sedang | = akumulasi lipid tinggi |
| +++ | : Pendaran kuning kuat | = akumulasi lipid sangat tinggi |

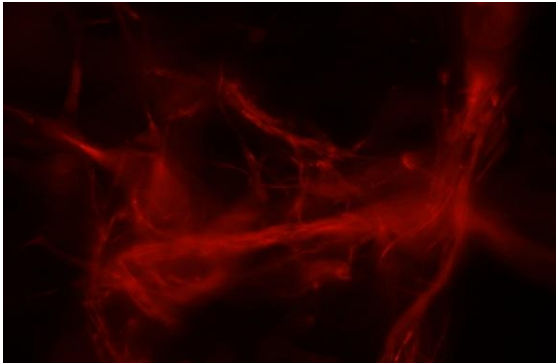
Pendaran lipid

- Terjadi pendaran warna kuning pada sel mikroalga.
- Warna kuning menunjukkan kandungan lipid dalam sel (Gunawan, 2010; Priscu, 1990; Cooksey *et al.*, 1987)

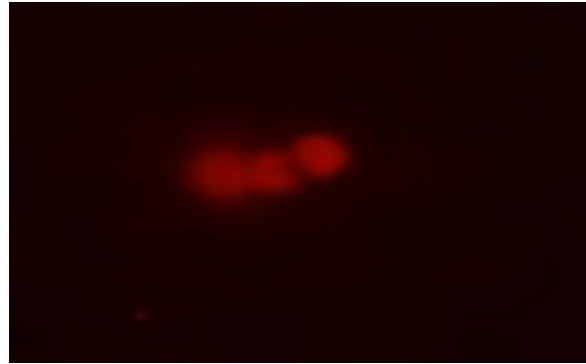


- Lipid dalam mikroalga terdiri dari dua kelompok yaitu lipid non-polar dan lipid polar.
- Lipid non-polar dalam sel mikroalga berbentuk TAG (Triasilgliserol) yang terdiri gliserol dan asam lemak
- Lipid polar dalam sel mikroalga berbentuk fosfolipid dan sterol dalam sel

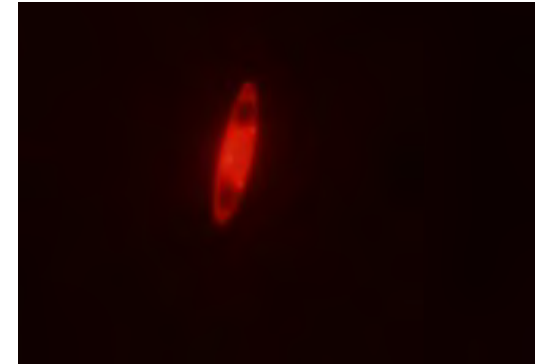
Pendaran warna pada fluorensence



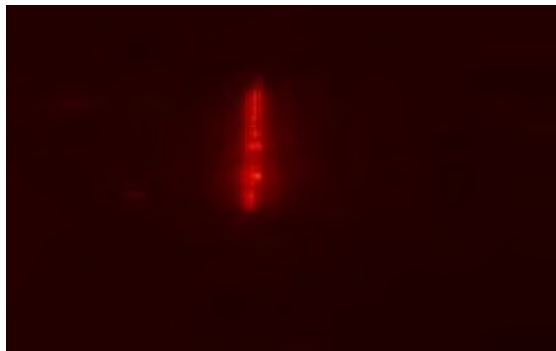
Oscillatoria (-)



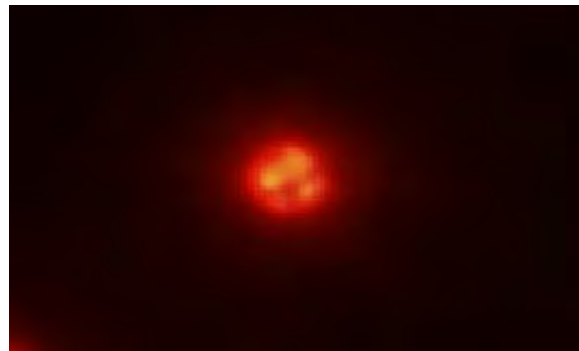
Merismopedia (-)



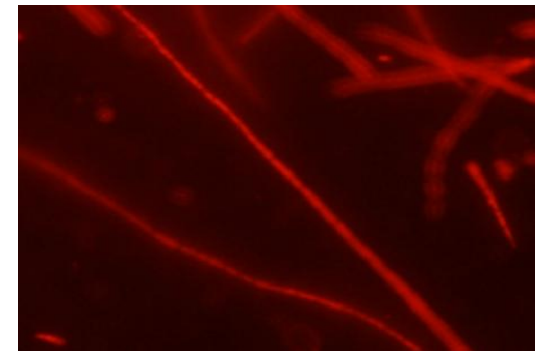
Navicula (++)



Nitzschia (+++)

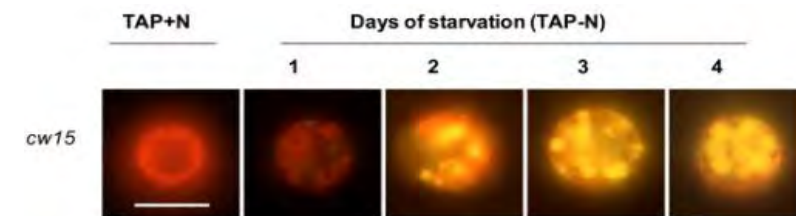


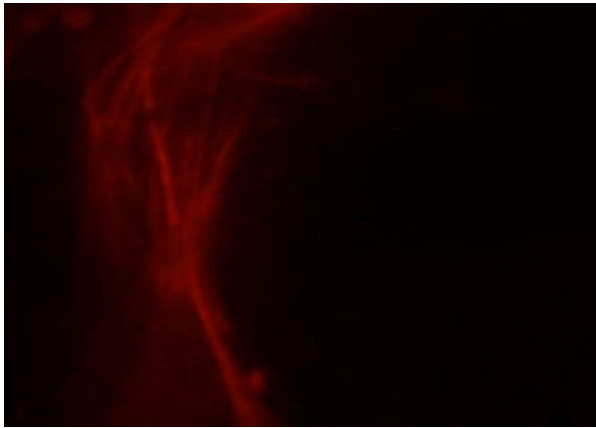
Chlorella (+++)



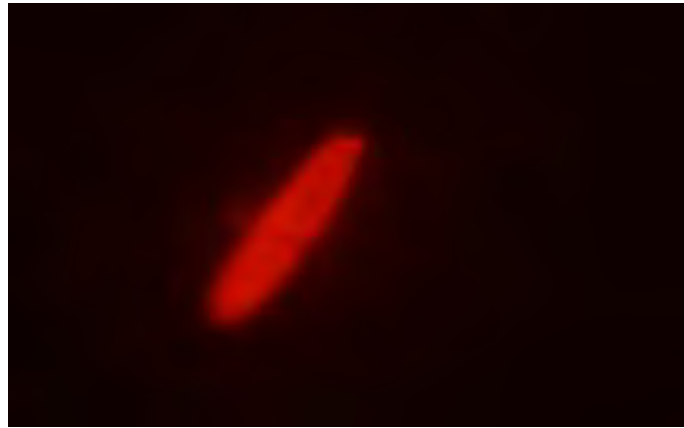
Melosira (-)

Keterangan : pendaran warna sel mikroalga stasiun 1

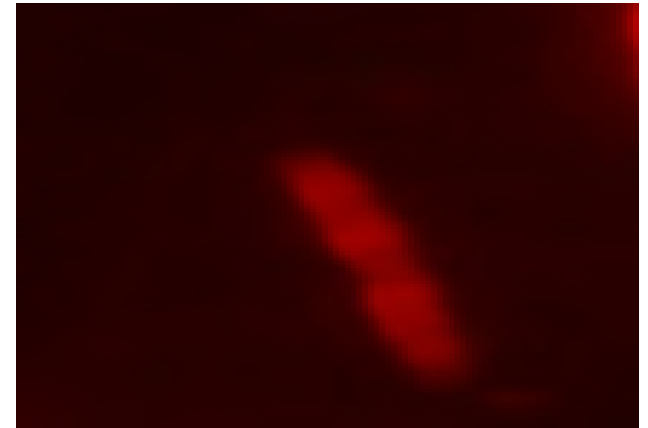




Oscillatoria (-)

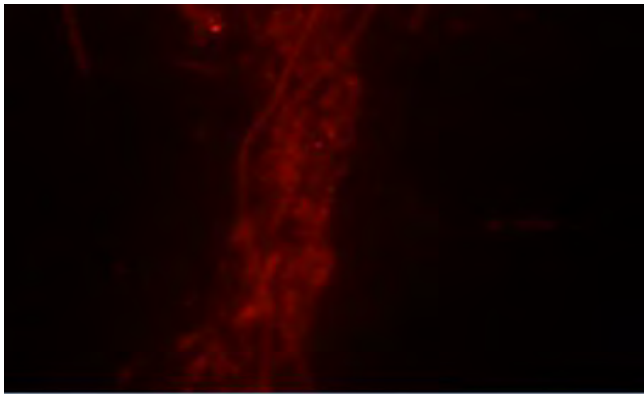


Navicula (++)

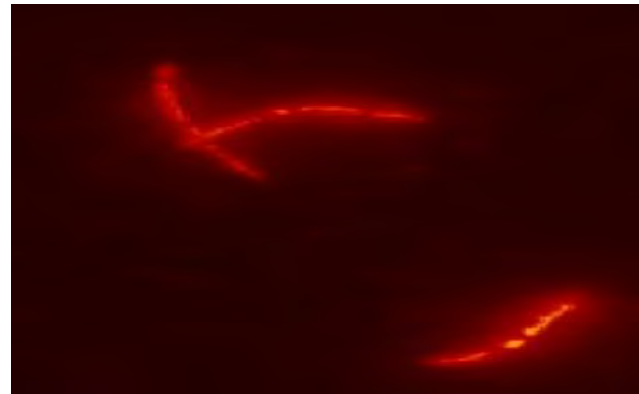


Nitzschia (+)

Keterangan : Pendaran warna sel mikroalga dari stasiun 2

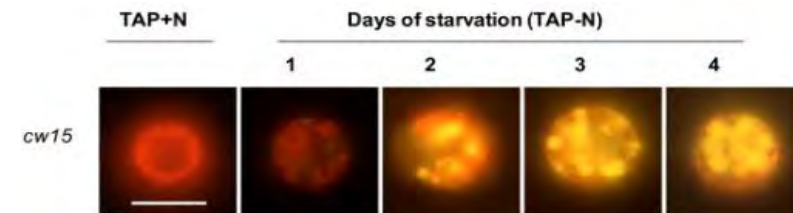


Oscillatoria (-)



Nitzschia (+++)

Keterangan : Pendaran warna sel mikroalga dari stasiun 3



KESIMPULAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. genus mikroalga yang dapat diisolasi dari perairan Estuaria Sungai Porong adalah *Oscillatoria*, *Nitzschia*, *Merismopedia*, *Navicula*, *Chlorella*, dan *Melosira*.
2. Hasil analisis lipis secara kualitatif menunjukkan bahwa genus *Chlorella* dan *Nitzschia* merupakan genus yang memiliki kandungan lipid intraseluler tinggi yang dibuktikan dengan adanya pendaran warna kuning cerah dari metode fluorescence pada sel mikroalga.

Saran

- Perlu dilakukan penelitian analisis kandungan lipid secara kuantitatif terhadap mikroalga memiliki kandungan lipid intraseluler tinggi.
- Perlu dilakukan pemilihan medium isolasi yang sesuai untuk pertumbuhan mikroalga, sehingga mikroalga yang diinginkan dapat diisolasi pada medium kultur.

TERIMA
KASIH

