



SKRIPSI - TK091383

**PENGARUH PH TERHADAP PERKEMBANGBIAKKAN
MIKROALGA *BOTRYOCOCCUS BRAUNII* ALAMI DAN
MUTANNYA**

Oleh:

Andi Kurniawan

NRP.2310100051

Erica Yunita Hutapea

NRP.2310100053

Dosen Pembimbing :

Prof.Dr.Ir.Arief Widjaja,M.Eng

NIP.1966 0523 1991 02 1001

**JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2014**



FINAL PROJECT - TK091383

**THE EFFECT OF PH ON GROWTH WILD
MICROALGAE *BOTRYOCOCCUS BRAUNII* AND
MUTANT**

By:

Andi Kurniawan

NRP.2310100051

Erica Yunita Hutapea

NRP.2310100053

Advisor:

Prof.Dr.Ir.Arief Widjaja,M.Eng

NIP.1966 05 23 1991 02 1001

**DEPARTEMENT OF CHEMICAL ENGINEERING
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY
SURABAYA 2014**

Pengaruh pH Terhadap Pertumbuhan Mikroalga *Botryococcus braunii* Alami dan Mutannya

Nama /NRP : 1.Andi Kurniawan NRP.2310100051
2.Erica Yunita Hutapea NRP.2310100053
Jurusan : Teknik Kimia FTI-ITS
Dosen Pembimbing : Prof.Dr.Ir.Arief Widjaja,M.Eng

ABSTRAK

Industri biodiesel merupakan industri yang berkembang pesat saat ini. Hal ini dikarenakan biodiesel merupakan bahan bakar yang ramah lingkungan dan terbarukan yang mampu menggantikan bahan bakar fosil sebagai energi alternatif. Para engineer dan penggunaan energi memfokuskan berbagai macam riset untuk mengembangkan proses industri biodiesel ke arah yang lebih ramah lingkungan dengan cara memanfaatkan sumber daya alam yang berpotensi mengandung minyak sebagai bahan baku pembuatan biodiesel. Salah satunya adalah mikroalga. Dalam memanfaatkannya mikroalga membutuhkan kadar pH yang sesuai dalam perkembangbiakannya sebab alga sulit berkembang biak dalam kondisi pH asam. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kadar pH pertumbuhan mikroalga dan pembuatan mutan mikroalga yang tahan terhadap kondisi pH asam.

Kata kunci: pH, Mikroalga botryococcus braunii, alami, Mutan

**The Effect of pH on Growth of Wild Microalgae
Botryococcusbraunii and Mutant**

Name/NRP : 1. Andi Kurniawan NRP.2310100051
2. Erica Yunita Hutapea NRP.2310100053
Departement : Teknik Kimia FTI-ITS
Advisor : Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M. Eng

ABSTRACT

The biodiesel industry is a rapidly growing industry at present. This is because biodiesel is an environmentally friendly fuel and renewable that can replace fossil fuels as an alternative energy. The engineer and use of focused energy research to develop a wide range of industrial biodiesel processes towards more environmentally friendly by utilizing the natural resources that have the potential to contain oil as raw material for biodiesel. One is a microalgae. In the make use of microalgae requires appropriate pH levels in reproduces and algae oil extraction process required an effective extraction method. This study was conducted to determine the effect of pH levels and lipid extraction method to produce optimal.

Keywords : Biodiesel, Microalgae Botryococcus Braunii, Algae oil, Mutant

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH PH TERHADAP PERKEMBANGBIAKAN
MIKROALGA *BOTRYOCOCCUS BRAUNII* ALAMI DAN
MUTANNYA**

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
Sarjana Teknik pada
Program Studi S-1 Jurusan Teknik Kimia
Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh :

ANDI KURNIAWAN

NRP.2310 100 051

ERICA YUNITA HUTAPEA

NRP.2310 100 053

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng (Pembimbing I)
2. Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng (Penguji I)
3. Prof. Dr. Ir. Mahfud, DEA (Penguji II)
4. Setiyo Gunawan, ST,Ph.D (Penguji III)



**SURABAYA
JULI 2014**

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur, Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas karunia dan rahmat-Nya yang telah menganugerahkan kesehatan dan hikmat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **Pengaruh pH Terhadap Perkembangbiakkan Mikroalga *Botryococcus Braunii* Alami dan Mutannya** tepat pada waktunya. Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi program Strata-1 di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan tidak lepas dari dukungan, bimbingan dan bantuan dari banyak pihak yang sangat berarti bagi penulis. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Engselaku Dosen Pembimbing Laboratorium Teknologi Biokimia, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng selaku Kepala Laboratorium Teknologi Biokimia, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
4. Bapak Setyo Gunawan, ST, Phd selaku Koordinator Tugas Akhir dan Skripsi Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya.
5. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya yang telah memberikan ilmunya kepada penulis.
6. Seluruh civitas akademika Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS yang telah memberikan dukungan moril kepada penulis.
7. Orang tua, saudara-saudari dan kekasih penulis, atas doa, bimbingan, perhatian, serta kasih sayang yang selalu tercurah selama ini.

8. Sahabat – sahabat terbaik penulis, Sosilita ITS 2013, Angkatan K-50 Teknik Kimia ITS atas segala canda tawanya yang mengisi hari-hari penulis dikala suntuk mengerjakan proposal skripsi ini.
9. Keluarga besar Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), khususnya teman-teman di Laboratorium Biokimia Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS atas semua dukungan, semangat, serta kerjasamanya.
10. Serta semua pihak lainnya yang tidak bisa disebutkan penulis satu persatu yang telah membantu selama penyelesaian laporan ini.

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan, untuk itu penulismengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya, dimana nantinya laporan proposal skripsi ini dapat memberikan sumbangsih bagi para pembacanya.

Surabaya, 10 Juli 2014

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul	
Halaman Pengesahan	
Abstrak.....	i
Abstract.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Daftar isi.....	v
Daftar Gambar.....	vii
Daftar Tabel.....	viii
BAB I	PENDAHULUAN
	I.1 Latar Belakang..... 1
	I.2 Tujuan Penelitian 3
	I.3 Batasan Masalah..... 3
	I.4 Perumusan Masalah..... 3
	I.5 Manfaat Penelitian..... 5
BAB II	TINJAUAN PUSTAKA
	II.1 Potensi Mikroalga sebagai Bahan Baku Diesel..... 6
	II.2 <i>Botryococcus braunii</i> 10
	II.3 Mutasi Genetika 13
	II.4 Ultraviolet 14
	II.5 Asam Nitrit..... 17
	II.6 Cara Mengukur Pertumbuhan Mikroalga..... 18
	II.7 Turbidimetri..... 20
BAB III	METODOLOGI PENELITIAN
	III.1 Bahan dan Peralatan yang digunakan..... 22
	III.2 Gambar Alat..... 24
	III.3 Variabel Penelitian..... 24
	III.4 Prosedur Penelitian..... 25
	III.5 Diagram Alir Penelitian..... 28
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN
	IV.1 Review Penelitian Terdahulu..... 33
	IV.2 Pertumbuhan Mikroalga <i>Botryococcus braunii</i> alami pada pH 3-8..... 38

IV.3 Pertumbuhan Mikroalga <i>Botryococcus braunii</i> mutan dengan sinar UV.....	46
IV.4 Pertumbuhan Mikroalga <i>Botryococcus braunii</i> mutan dengan sinar HNO ₂	53
IV.5 Perbandingan Pertumbuhan <i>Botryococcus braunii</i> alami dengan hasil mutasi sinar UV.....	60
IV.6 Perbandingan Pertumbuhan <i>Botryococcus braunii</i> alami dengan hasil mutasi HNO ₂	63
IV.7 Perbandingan Pertumbuhan <i>Botryococcus braunii</i> alami dengan hasil mutasi HNO ₂ dan UV.....	68
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1 Kesimpulan.....	75
V.2 Saran.....	77
DAFTAR PUSTAKA	
DAFTAR NOTASI	
APPENDIKS	

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Komposisi kimiawi berbagai jenis mikroalga.....	12
Tabel IV.1 Jumlah sel <i>Botryococcus braunii</i> alami pada pH 3 – 8	45
Tabel IV.2 Jumlah sel <i>Botryococcus braunii</i> hasil mutasi dengan UV pada pH 3 – 8.....	52
Tabel IV.3 Jumlah sel <i>Botryococcus braunii</i> hasil mutasi dengan HNO ₂ pada pH 3 – 8.....	59
Tabel IV.4 Kenaikan jumlah sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan dibandingkan dengan jumlah sel <i>Botryococcus braunii</i> alami...	68
Tabel IV.5 Tabel Perubahan pH media mikroalga dari hari 1-5.....	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 <i>Botryococcus braunii</i> koloni.....	10
Gambar II.2 <i>Botryococcus braunii</i> individu.....	10
Gambar II.5 Mutagenesis dengan HNO ₂	17
Gambar II.6 Perhitungan Jumlah Bakteri dengan MetodeHemasitometer.....	19
Gambar II.7 Pengukuran Pertumbuhan dengan Cara Kekeruhan.....	20
Gambar IV.1 Mekanisme CO ₂ oleh mikroalga.....	35
Gambar IV.2 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> alami pada pH = 3.....	39
Gambar IV.3 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> alami pada pH = 4.....	40
Gambar IV.4 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> alami pada pH = 5.....	41
Gambar IV.5 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> alami pada pH =6.....	42
Gambar IV.6 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> alami pada pH = 7.....	43
Gambar IV.7 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> alami pada pH = 8.....	44
Gambar IV.8 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 3.....	46

Gambar IV.9 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 4.....	47
Gambar IV.10 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 5.....	48
Gambar IV.11 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 6.....	49
Gambar IV.12 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 7.....	50
Gambar IV.13 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 8.....	51
Gambar IV.14 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 3.....	53
Gambar IV.15 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 4.....	54
Gambar IV.16 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 5.....	55
Gambar IV.17 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 6.....	56
Gambar IV.18 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 7.....	57
Gambar IV.19 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> mutan pada pH = 8.....	58
Gambar IV.20 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> alami pada pH = 3 – 8.....	60

Gambar IV.21 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcusbraunii</i> hasil mutasi UV pada pH = 3 -8.....	61
Gambar IV.22 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> alami pada pH = 3-8.....	64
Gambar IV.23 Grafik pertumbuhan sel <i>Botryococcus braunii</i> HNO ₂ pada pH = 3 – 8.....	65
Gambar IV.24 Grafik pertumbuhan sel Mikroalga <i>Botryococcus braunii</i> mutan dengan UV pada pH = 3-8.....	66
Gambar IV.25 Grafik pertumbuhan sel Mikroalga <i>Botryococcus braunii</i> mutan dengan HNO ₂ pada pH = 3 – 8.....	67
Gambar IV. 26 Mikroalga Alami dengan perbesaran mikroskop 10x.....	69
Gambar IV. 27 Mikroalga Alami dengan perbesaran mikroskop 40x.....	69
Gambar IV. 28 Mikroalga Mutasi UV dengan perbesaran mikroskop 10x.....	70
Gambar IV.29 Mikroalga Mutasi UV dengan perbesaran mikroskop 40x	70
Gambar IV.30 Mikroalga Mutasi HNO ₂ dengan perbesaran mikroskop 10x.....	71
Gambar IV.31 Mikroalga Mutasi HNO ₂ dengan perbesaran mikroskop 40x.....	71

DAFTAR NOTASI

No	Notasi	Keterangan	Satuan
1.	A	Luas Kotak Hemsitometer	mm ²
2.	d	Tebal Hemsitometer	mm
3.	M	Molaritas	Molar
4.	MR	Berat Molekul	-
5.	m	Massa	Gram
6.	n	Jumlah Mol	Mol
7.	V	Volume	mL

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki beragam sumber daya energi. Sumber daya energi berupa minyak, gas, batubara, panas bumi, air dan sebagainya digunakan dalam berbagai aktivitas pembangunan baik secara langsung maupun diekspor untuk mendapatkan devisa. Sumber daya energy minyak dan gas adalah penyumbang terbesar devisa hasil ekspor. Kebutuhan akan bahan bakar minyak dalam negeri juga meningkat seiring meningkatnya pembangunan. Sejumlah laporan menunjukkan bahwa sejak pertengahan tahun 80-an terjadi peningkatan kebutuhan energi khususnya untuk bahan bakar mesin diesel yang diperkirakan akibat meningkatnya jumlah industri, transportasi dan pusat pembangkit listrik tenaga diesel (PLTD) diberbagai daerah di Indonesia. Peningkatan ini mengakibatkan berkurangnya devisa negara disebabkan jumlah minyak sebagai andalan komoditi ekspor semakin berkurang karena dipakai untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri. Disisi lain, bahwa cadangan minyak yang dimiliki Indonesia semakin terbatas karena merupakan produk yang tidak dapat diperbaharui. Terlebih lagi, bahan bakar yang dipakai ini (bahan bakar fosil) dapat menyebabkan kerusakan lapisan ozon yang menyebabkan kerusakan lapisan ozon yang menimbulkan efek rumah kaca. Oleh sebab itu, perlu dilakukan usaha-usaha untuk mencari bahan bakar alternatif (Rahmat,dkk,2013).

Bertambahnya jumlah populasi di dunia seiring dengan perkembangan zaman, mengakibatkan kebutuhan energy dunia semakin meningkat sehingga persediaan energi, khususnya energy dari bahan bakar fosil yang tidak dapat diperbaharui (seperti : minyak/gas bumi dan batubara) cenderung menipis bahkan mungkin habis. Oleh karena itu, untuk mengurangi

ketergantungan akan sumber energi tersebut, manusia perlu mencari energi alternatif lain yang dapat diperbaharui dan lebih ramah lingkungan.

Usaha mendapatkan sumber energy yang dipandang tidak akan pernah habis terus dilakukan karena sifatnya yang terbarukan misalnya, tenaga surya, air, angin, panas bumi, dan biomassa yang belakangan ini kian digalakkan. Pemerintah telah mengeluarkan Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2006 tentang Kebijakan Energi Nasional Untuk mengembangkan sumber energy alternatif sebagai pengganti BBM yang pada umumnya berasal dari minyak bumi. Walaupun kebijakan tersebut menekankan penggunaan batubara dan gas sebagai pengganti BBM, tetapi juga menetapkan sumber daya yang dapat diperbaharui seperti bahan bakar nabati sebagai alternatif pengganti BBM. Selain itu, pemerintah juga telah memberikan perhatian serius untuk pengembangan bahan bakar nabati (*biofuel*) ini dengan menerbitkan intruksi Presiden No.1 Tahun 2006 tanggal 25 Januari 2006 tentang Penyediaan dan Pemanfaatan Bahan Bakar Nabati (*biofuel*) sebagai bahan bakar lain. Oleh karena itu, eksplorasi dan eksploitasi terhadap sumber-sumber alternative saat ini menjadi sebuah kebutuhan. Saat ini melalui Kementrian Negara Riset dan Teknologi telah menargetkan pembuatan minimal satu pabrik biodiesel dan gasohol (campuran gasoline dan *alcohol*) pada tahun 2005 – 2006. Selain itu, ditargetkan juga bahwa penggunaan *bioenergy* tersebut akan mencapai 30% dari pasokan energi nasional pada 2025. (Kompas, 26 Mei 2005)

Salah satu sumber energi alternatif yang dihasilkan dari pembuatan minyak nabati kita kenal adalah biofuel yaitu biodiesel sebagai pengganti solar. Dengan sumber daya alam nabati yang sangat melimpah dan dengan kemajuan IPTEK maka dapat dimanfaatkan untuk pembuatan energy alternatif. Pembuatan biodiesel sebagai energy alternative untuk menjawab permasalahan dibidang energy dimana kebutuhan silar yang

meningkat sehingga mendesak untuk segera diproduksi biodiesel dalam skala besar.

Indonesia telah dikenal luas sebagai Negara kepulauan yang 2/3 wilayahnya adalah lautan dan mempunyai garis pantai terpanjang di dunia yaitu ±80.791,42 Km. Didalam lautan terdapat bermacam-macam makhluk hidup baik berupa tumbuhan air maupun hewan air. Salah satu makhluk hidup yang tumbuh dan berkembang di laut adalah Alga. Ditinjau secara biologi, alga merupakan kelompok tumbuhan yang berklorofil yang terdiri dari satu atau banyak sel dan berbentuk koloni. Didalam alga terkandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, hormone, vitamin, mineral dan senyawa bioaktif. Sejauh ini, pemanfaatan alga sebagai komoditi perdagangan atau bahan baku industry masih relative kecil jika dibandingkan dengan keanekaragaman jenis alga yang ada di Indonesia. Padahal komponen kimiawi yang terdapat dalam alga sangat bermanfaat bagi bahan baku industry makanan, kosmetik, farmasi dan lain-lain. (www.energi.lipi.go.id)

Secara teoritis, produksi biodiesel dari alga dapat menjadi solusi yang realistic untuk mengganti solar. Hal ini dikarenakan tidak ada feedstock lain yang cukup memiliki banyak minyak sehingga mampu digunakan untuk memproduksi minyak dalam volume yang besar. Tumbuhan seperti kelapa sawit dan kacang-kacangan membutuhkan lahan yang sangat luas untuk dapat menghasilkan minyak agar dapat mengganti kebutuhan solar dalam suatu negara. Dalam pemanfaatannya alga membutuhkan suhu, cahaya, pH kadar CO₂ dan salinitas yang sesuai dengan habitatnya. Hal tersebut kemudian menjadi latar belakang penelitian kami yang berjudul :

Pengaruh pH Terhadap Pertumbuhan Mikroalga *Botryococcus braunii* Alami dan Mutannya

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Melakukan pengembangbiakkan mikroalga *Botryococcus braunii* dalam media walne.
2. Melakukan mutagen mikroalga *Botryococcus braunii* dengan sinar UV dan HNO₂.
3. Mengetahui pengaruh pH terhadap pertumbuhan microalgae *Botryococcus braunii* alami dan mutannya.

I.3 Batasan Masalah

Dalam penelitian ini ruang lingkup permasalahan dibatasi sebagai berikut :

1. Strain yang digunakan adalah *Botryococcus braunii* dari BBPBAP Jepara
2. Air laut yang digunakan memiliki salinitas 24,8 ppt.
3. Jenis nutrisi yang digunakan adalah nutrisi Walne
4. Intensitas cahaya yang digunakan adalah 21 Watt (6 buah) dan lampu UV-B yang digunakan adalah 20 Watt (1 buah)

I.4 Rumusan Masalah

Permasalahan yang timbul dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana cara membuat mutan microalgae *Botryococcus braunii* dengan mutagen sinar UV dan HNO₂?
2. Bagaimana pengaruh pH terhadap pertumbuhan mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan mutannya ?

I.5 Manfaat Penelitian

1. Mengetahui cara membuat mutan mikroalga *Botryococcus braunii* dengan mutagen sinar UV dan HNO₂.
2. Mengetahui pengaruh pH terhadap pertumbuhan mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan mutannya

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Potensi Mikroalga Sebagai Bahan Baku Biodiesel

Chlorophyta adalah salah satu kelas dari ganggang berdasarkan zat warna atau pigmennya. Chloropyta atau bisa disebut ganggang hijau ada yang bersel tunggal dan ada juga yang bersel banyak berupa batang, lembaran, ada pula yang berbentuk koloni. Ganggang hijau diketahui mengandung lipid yang merupakan bahan baku dalam proses pembuatan metil ester atau yang biasa disebut biodiesel. *Botryococcus braunii* merupakan salah satu spesies dari ganggang hijau yang mengandung lipid yang cukup tinggi (30 – 60 %) (Becker, 1994).

Mikroalga bersel silindris dengan dinding selnya yang tipis ini memiliki potensi pengembangan yang lebih besar dibandingkan dengan tumbuhan tingkat tinggi. Mikroalga *Spirulina* dapat mudah dikembangkan dengan lebih cepat dan praktis. Pengembangan dilakukan menurut dimensi volume, berbeda dengan tumbuhan tingkat tinggi yang saat ini masih dikembangkan dalam dimensi luas. Pemanfaatan luas lahan yang sama, dapat memberikan efisiensi yang lebih besar bagi pembudidayaan mikroalga. Selain itu dengan daur hidupnya yang pendek mikroalga *botryococcus* mampu berkembang biak dalam waktu yang singkat, dapat dipanen sekitar 3-7 hari setelah inokulasi. Sedangkan tumbuhan tingkat tinggi, misalnya padi paling cepat membutuhkan waktu sekitar 100 hari untuk dapat dipanen. (<http://budidaya-alga.html>)

Mikroalga membutuhkan kondisi lingkungan yang kondusif dan sesuai. Untuk mengoptimalkan perkembangbiakkan mikroalga maka diperlukan media biakan yang sesuai. Untuk

mengoptimalkan perkembangbiakkan mikroalga maka diperlukan media biakan yang sesuai. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga yakni :

1.Suhu

Suhu sangat mempengaruhi kondisi tumbuh mikroalga. Mikroalga tumbuh pada kondisi suhu antara 16°C pertumbuhan mikroalga akan menjadi lambat sedangkan pada kondisi suhu diatas 35°C akan mematikan sel – sel dari mikroalga.(Mayo dan Noike, 1996)

2. Cahaya

Cahaya sangat diperlukan untuk tumbuh, energi dari cahaya tersebut dibutuhkan untuk metabolisme dan fotosintesis. Faktor lingkungan seperti suhu, cahaya, nutrisi, mempengaruhi komposisi lipid dari mikroalga. Intensitas cahaya akan meningkatkan laju fotosintesis samapai nilai tertentu (pada nilai tersebut makan laju fotosintesis akan stabil, tidak akan meningkat lagi).

3.pH

pH yang sesuai juga diperlukan mikroalga untuk tumbuh. Mikroalga tumbuh pada kisaran pH netral / sedikit asam, untuk menghindari pengendapan elemen utama pada alga. Mikroalga dengan masing – masing spesies memiliki kebutuhan kondisi lingkungan tanam yang berbeda-beda begitu pula dengan pH, masing-masing spesies alga membutuhkan kondisi pH yang berbeda-beda. Kondisi tumbuh mikroalga dipengaruhi oleh komposisi media, jumlah CO₂, suhu dan aktivitas metabolisme dari sel-sel mikroalga. pH naik bila anion (NO₃⁻ berkurang dan CO₂ banyak serta eksresi ion OH⁻).

4. Nitrogen

Sumber karbon dan nitrogen adalah unsur nutrisi yang penting bagi organisme. Mikroalga dapat memanfaatkan sumber nitrat, ammonia atau nitrogen organik seperti urea. Pasokan nitrogen dalam bentuk ammonia dan urea lebih sering digunakan daripada nitrat/nitrit karena lebih ekonomis. Urea berfungsi sebagai sumber nitrogen tunggal untuk anggota uniseluler seperti *chloropyta* – *nanochloropsys*. Secara garis besar nitrogen mempengaruhi pertumbuhan dari sel mikroalga seperti kandungan lipid dan protein. (Becker, 2003)

Pada kondisi dimana kadar nitrogen kecil, maka produksi lipid pada sel akan bertambah banyak, keadaan ini biasa disebut *Nitrogen Starvation* (Eugenia J. Olguin et al, 2000)

5. CO₂

CO₂ sebagai sumber karbon bagi mikroalga untuk melakukan fotosintesis. Sekitar 50% berat dari biomass mikroalga terdiri dari karbon. Konsentrasi CO₂ di udara biasanya ±0,03% (sangat kecil) tidak cukup bagi pertumbuhan mikroalga olehnya diperlukan asupan CO₂ melalui penambahan CO₂ atau melalui penambahan udara dengan CO₂ berlebih. (yaming et al, 2010)

6. Salinitas

Kadar garam sangat berpengaruh pada pertumbuhan mikroalga khususnya pada tekanan osmotik sel. Salinitas yang diperlukan tergantung pada ekosistem tempat tumbuh alga, laut, air payau, tambak, hutan, dll. Jika kadar garam dari media tumbuh tidak sesuai dengan kondisi tumbuh yang mampu ditoleransi oleh mikroalga, maka dimungkinkan terjadinya pelepasan substansi dalam sel karena konsentrasi garam yang terlalu rendah /masuknya medium ke dalam sel karena terlalu tingginya konsentrasi garam pada media tumbuh.

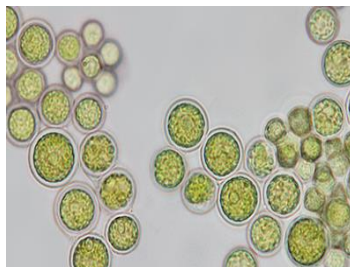
II.2 Botryococcus braunii

Botryococcus braunii adalah mikroalga autotroph berwarna hijau yang hidup di perairan terutama di air payau. Mikroalga ini ditemukan hidup berkoloni pada tempat hidupnya (Kutzing, 1849)

Botryococcus braunii termasuk dalam kingdom *Plantae*, divisi *Chlorophyta*, kelas *Trebouxiophyceae*, ordo *incertae sedis* family Botryococcaceae, genus *Botrococcus* dan spesies *Botryococcus braunii*, berikut adalah gambar dari *Botryococcus braunii*:



Gambar II.1 *Botryococcus braunii* koloni



Gambar II.2 *Botryococcus braunii* individu

Plantae adalah salah satu kingdom pada tingkatan klasifikasi makhluk hidup. Plantae merujuk pada semua organisme yang sangat biasa dikenal orang seperti pepohonan, semak, terna, rerumputan, paku-pakuan, lumut, serta sejumlah alga hijau. Tercatat sekitar 350.000 spesies organisme termasuk didalamnya, tidak termasuk alga hijau. Dari sejumlah itu, 258.650 jenis merupakan tumbuhan berbunga dan 18.000 jenis tumbuhan lumut. Hampir semua anggota tumbuhan bersifat autotroph dan mendapatkan energi langsung dari cahaya matahari melalui proses fotosintesis. Ciri yang sangat mudah dikenali pada tumbuhan adalah warna hijau yang dominan akibat kandungan pigmen klorofil yang berperan vital dalam proses penangkapan energy melalui fotosintesis. Dengan demikian, tumbuhan secara umum bersifat autotrof. Beberapa perkecualian, seperti pada sejumlah tumbuhan parasit, merupakan akibat adaptasi terhadap cara hidup dan lingkungan yang unik. Karena sifatnya yang autotrof, tumbuhan selalu menempati posisi pertama dalam rantai aliran energi melalui organisme hidup (rantai makanan).

Botryococcaceae adalah tingkatan family dari klasifikasi makhluk hidup. Genus dari family ini adalah *Botryococcus*. Genus *Botryococcus* memiliki ciri-ciri yaitu sel-sel membentuk agrgat yang tidak beraturan dan memiliki filament tipis yang menghubungkan sel-sel. Bentuk sel yaitu bulat telur dengan ukuran panjang antara 6 -10 μm dan lebar antara 3 sampai 6 μm .

Botroyococcus braunii memiliki kemampuan luar biasa untuk mensintesis dan mengumpulkan berbagai macam lipid dan hidrokarbon. Alga ini mampu menghasilkan lipid sampai dengan 60% berat keringnya. Jika dibandingkan dengan jenis mikroalga lainnya jumlah lipid *Botroyococcus braunii* relative lebih banyak. Berikut adalah komposisi kimiawi berbagai jenis mikroalga, yaitu :

Tabel II.1 Komposisi kimiawi berbagai jenis mikroalga

Mikroalga	Protein(%)	Karbohidrat (%)	Lipid (%)
<i>Scenedesmus Oblivus</i>	50 – 56	10 - 17	12 - 14
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8 – 18	21 - 52	16 – 40
<i>Botryococcus braunii</i>	17 – 20	20 - 40	30 – 60
<i>Chlamydomonas reinhardii</i>	48	17	21
<i>Chorella vulgaris</i>	51 – 58	12 - 17	14 - 22
<i>Spirogyra sp.</i>	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>Tetrasemis maculate</i>	52	15	3
<i>Spirulina plantesis</i>	46 – 63	8 - 14	4 – 9
<i>Spirulina maxima</i>	60 – 71	13 – 16	6 – 7
<i>Synechooccus sp.</i>	63	15	11

(Becker,1994)

Dinding sel *Botryococcus braunii* relative lebih tebal dari spesies mikroalga hijau lainnya dikarenakan akumulasi penumpukan dari pembelahan sel sebelumnya. *Botryococcus braunii* mulai mengalami fase log untuk pertumbuhannya pada saat 72 jam waktu kultur di kolam terbuka dan bisa mencapai 2 hari pada kondisi laboratorium. *Botryococcus braunii* tumbuh pada daerah subtropis dan tropis dengan suhu tumbuh antara 23 – 27 °C. Diketahui kadar garam optimum untuk tumbuh sekitar 0,2 M (Qin, 2005)

II.3 Mutasi Genetika

Organisme industrial terakhir ini secara genetika sudah diprogramkan untuk melakukan suatu fungsi metabolisme dalam kadar dan perlakuan yang berbeda dengan organisme semula. Pengembangan organisme yang layak bagi industri dari jenis alami, akan membutuhkan perubahan dalam informasi genetiknya yang dapat menghilangkan berbagai sifat yang tidak dikehendaki atau bahkan mengenalkan sifat yang baru sama sekali. Perbaikan produktivitas melalui mutagenesis dengan cara induksi mutagen atau titer sudah sejak lama digunakan (Smith, 1990).

Prosedur penyeleksian mutant harus disesuaikan dengan karakteristik mutant yang diinginkan (Standbury, 1984). Untuk mendapatkan mutant yang tahan terhadap asam maka seleksi mutant dilakuakn dengan menumbuhkannya pada media asam yaitu 4,5.

Mutasi dapat terbentuk dari pengaruh fisik dan kimia, tetapi juga oleh kesalahan yang kebetulan terjadi pada replikasi atau rekombinasi DNA. Diantara mutagen fisik yang perlu disebutkan adalah penyinaran ionisasi. Penyinaran ionisasi dapat menghasilkan radikal bebas (molekul – molekul yang tidak berpasangan) di dalam sel. Molekul – molekul tersebut mampu bereaksi secara ekstrim dan dapat merusak DNA. Juga sinar UV, gelombang pendek punya pengaruh mutagenik yang menyerang

sel kulit. Perubahan kimia yang paling sering akibat UV adalah pembentukan dimer timin. Dua basa timin yang berdampingan saling berikatan secara kovalen membentuk anyaman seperti jala. Hal ini menyebabkan kesalahan dalam pembacaan DNA pada replikasi dan transkripsi.

Teknik mutasi tidak begitu sulit. Sel-sel yang akan dimutasi dilarutkan pada larutan yang mengandung mutagen atau dipaparkan pada radiasi selama beberapa menit, kemudian dibersihkan. Hasil – hasil mutasi dapat dideteksi dengan cara mengamati berbagai sifat morfologi, sifat fisiologis seperti ketahanan terhadap perubahan lingkungan, kemampuan mengolah substrat atau kemampuan menghasilkan metabolit tertentu (Smit,J.E,1990)

Proses mutasi yang dilakukan dalam percobaan ini menggunakan 2 macam mutagen, yakni dengan menggunakan sinar UV dan asam nitrit (HNO_2).

II.4 Ultraviolet

II.4.1 Jenis – jenis gelombang Ultraviolet

Panjang gelombang (λ) Ultraviolet (UV) berkisar antara 100-400 nm pada deretan spectrum cahaya. Radiasi ultraviolet (UVR) merupakan gelombang elektromagnetik yang terdapat diantara sinar-X dan cahaya tampak pada spektrum elektromagnetik. Gelombang ini dipancarkan oleh matahari dan alat buatan, misalnya *microlight lamp*.

Ultraviolet Radiation (UVR) dapat dibagi dalam 3 bagian, yaitu Ultraviolet-A (UV-A), Ultraviolet-B (UV-B), dan Ultraviolet-C (UV-C), yaitu :

- UV-A

Panjang gelombang dari Ultraviolet ini 315 – 400 nm. Namun pada kisaran 380-400 nm, sinar ini tampak oleh mata, sebab pada kisaran tersebut, masih disebut cahaya ungu (violet) seperti yang terlihat pada gambar 2.1 dari semua jenis Ultraviolet, UV-A memiliki energi paling kecil namun memiliki panjang gelombang terpanjang.

- UV-B

Panjang gelombang dari gelombang ini antara 280-315 nm. Kemampuan membunuh mikroorganisme sudah dapat dilakukan pada UV jenis ini. Namun tidak sempurna, artinya mikroorganisme masih dapat berkembang biak walaupun terjadi cacat pada bagian tubuhnya. Kemampuan UV-B ini hanya sampai merusak dinding sel mikroorganisme.

- UV-C

Memiliki panjang gelombang antara 100-280 nm. Bersifat *germidical*. Namun, atmosfer bumi tidak dapat ditembus oleh UV jenis ini. Hal ini dikarenakan foton pada UV-C akan berinteraksi dengan Oksigen (O₂).

II.4.2 Sumber Sinar Ultraviolet

Radiasi gelombang UV dapat dihasilkan dari lampu merkuri, baik yang bertekanan sedang ataupun yang bertekanan rendah. Perbedaan anatar lampu merkuri bertekanan rendah dan lampu merkuri bertekanan sedang terletak pada panjang gelombang dari energi yang dihasilkan oleh lampu tersebut. Lampu merkuri bertekanan rendah menghasilkan energi maksimum pada panjang gelombang 180 – 1370 nm. Selain itu, lampu merkuri bertekanan sedang menghasilkan intensitas yang lebih besar dibandingkan dengan lampu merkuri bertekanan rendah. Suatu perkembangan teknik penerangan yang sangat

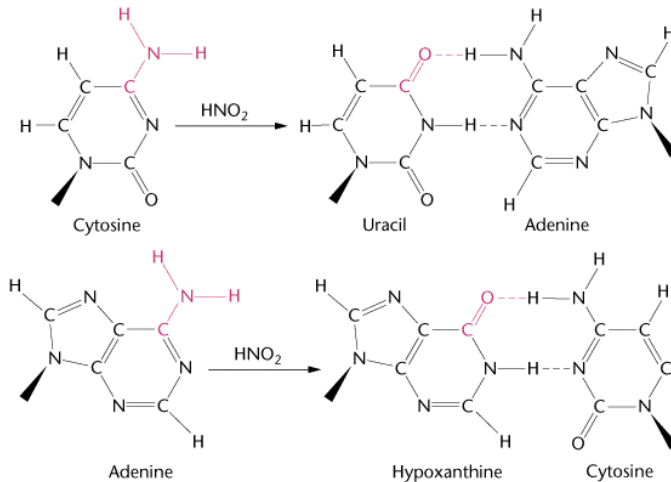
penting ialah penggunaan lampu fluoresen. Lampu ini berupa tabung gelas yang berisi argon dan setetes kecil raksa. Elektrodanya terbuat dari filamen wolfram. Bila terjadi penggosongan listrik dalam campuran raksa-argon ini, hanya sedikit cahaya yang tampak mata yang dipancarkan atom-atom raksa dan argon. Yang banyak ialah apa yang disebut cahaya ultraviolet. Cahaya ultraviolet ini diserap oleh selaput tipis suatu bahan yang disebut fosfor, yang melapisi dinding dalam tabung gas tadi. Fosfor ini bersifat fluoresen, yang berarti bahwa fosfor mengemisikan cahaya tampak mata bila kena cahaya yang panjang gelombangnya lebih pendek. Hal ini berarti bahwa lampu fluoresen sebenarnya berawal dari cahaya ultraviolet juga.

Namun ada beberapa macam gas yang biasanya digunakan pada sumber radiasi ultraviolet. Misalnya gas merkuri, pada lampu merkuri tekanan tinggi dapat dihasilkan ultraviolet-A dan B. Selain gas merkuri, xenon salah satu gas mulia dapat menghasilkan spektrum radiasi yang hampir kontinyu.

Sinar UV dapat mempengaruhi basa-basa timin yang mampu mengalami perubahan energi hingga menjadi basa timin yang aktif. Dua timin yang berdekatan, akibatnya akan menghasilkan dimer timin berdampingan pada daerah DNA yang berperan dalam inisiasi ekspresi gen, radiasi UV dapat menghilangkan yang kontrol ekspresi gen, seperti sel kanker atau menghentikan ekspresi gen sama sekali. Epoksida dan radiasi radioaktif akan menghasilkan alkil radikal yang bereaksi dengan elektron-elektron ikatan rangkap pada basa-basa nitrogen DNA. Reaksi ini menyebabkan perubahan struktur kimia DNA yang drastis dan menghentikan sebagian ekspresi genetik dari DNA. (Smit, 1990)

II.5 Asam Nitrit (HNO_2)

Asam nitrit merupakan mutagen kimia. Cara kerja asam nitrit mendeaminasi basa merubah Cytosine menjadi urasil dan adenine menjadi hipoksanthine. (Gambar I)



Gambar II.5 Mutagenesis dengan HNO_2

Agen mutagen HNO_2 penyebab mutasi melalui perubahan kimia dari basa yang terkandung dalam DNA dan secara sekunder mengakibatkan kesalahan replikasi. Asam nitrit mendeaminasi adenine (A), guanine (G), atau cytosine (C), tanpa mengakibatkan perubahan-perubahan lain pada polinukleotida. Substitusi gugus amino menjadi gugus keto melalui reaksi deaminasi oksidatif, maka adenine diubah menjadi hipoksanthine (H) yang akan berpasangan dengan C. Karena H mempunyai ikatan hidrogen mirip dengan G maka H akan digantikan oleh G sehingga terjadi pasangan baru A dengan G yang menyebabkan mutasi.

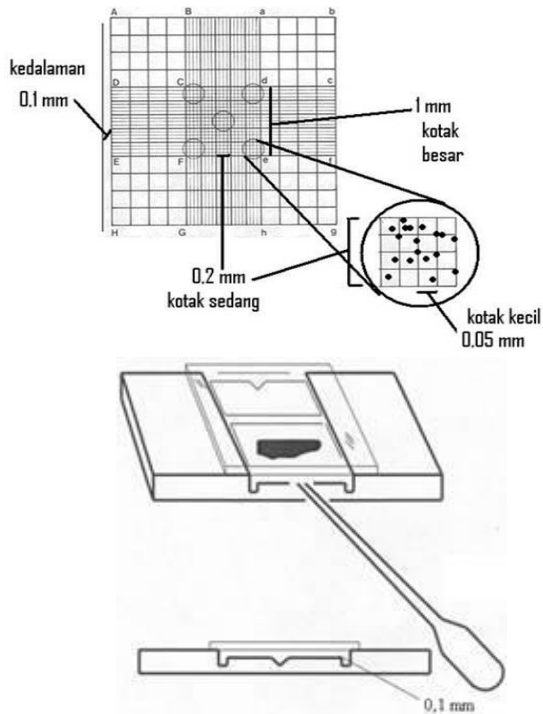
Mekanisme perubahan nukleotida C kedalam DNA mengakibatkan mRNA terbentuk diinterpretasikan berlainan sehingga dihasilkan suatu urutan protein yang baru (Gambar II.6).

Jika C dideaminasi menjadi U, maka U akan berpasangan dengan A sebagai pengganti G dan menyebabkan transisi guanin berpasangan dengan cytosine menjadi adenin berpasangan dengan timin. Guanine yang berubah menjadi xantin seterusnya berpasangan dengan C, deaminasi dari G tidak menyebabkan mutasi.

II.6 Cara Mengukur Pertumbuhan Mikroalga

Pengukuran kuantitatif populasi mikroba sangat diperlukan dalam berbagai macam penelaahan mikrobiologi. Salah satu metode untuk menentukan konsentrasi sel adalah metode *hemacytometer* (Gambar 2.3). Dalam fermentasi perlu dilakukan pengukuran jumlah bakteri untuk mengetahui kecepatan pertumbuhan populasi. Pengukuran kuantitatif populasi mikroba dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu cara langsung atau tidak langsung. (Fardiaz, 1987)

Prosedur ini didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel yang akan hidup akan berkembang menjadi satu koloni. Jadi jumlah koloni yang muncul pada cawan merupakan suatu indeks bagi jumlah organisme dalam sampel yang dapat hidup. Teknik cawan tuang dilakukan dengan membuat seri pengenceran sampel dan masing-masing hasil pengenceran diinkubasi pada cawan petri. Setelah inkubasi, jumlah koloni pada setiap cawan diamati. Cawan yang dipilih untuk perhitungan koloni adalah yang mengandung 30-300 koloni. Jumlah mikroorganisme dalam sampel ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni yang teramati dengan faktor pengenceran. (Fardiaz, 1987)



Gambar II.6 Perhitungan Jumlah Bakteri dengan Metode *Hemasirometer*

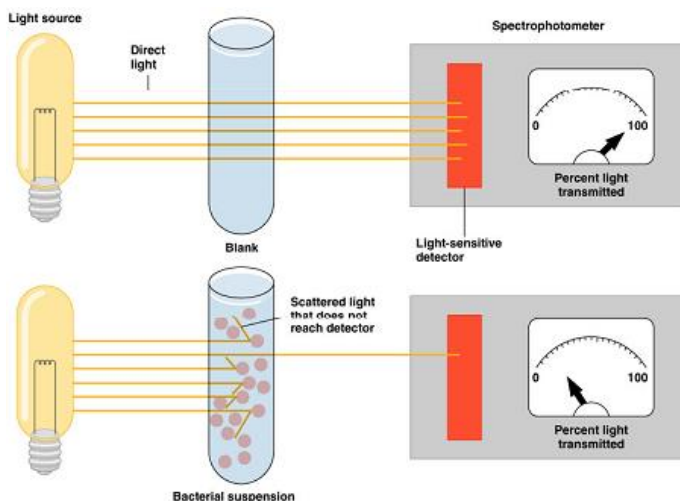
Bila akan diperiksa konsentrasi sel sejumlah besar biakan, maka metode hitungan cawan menjadi kurang efektif karena memakan waktu lama serta membutuhkan media dan peralatan yang cukup banyak. Pengukuran kekeruhan biakan menjadi lebih cepat dan praktis dengan metode turbidimetri. Dalam metode ini perlu dibuat kurva standar yang menyatakan korelasi antara kekeruhan biakan dengan jumlah organisme permili biakan, agar data yang diperoleh dari pengukuran dapat dinyatakan sebagai konsentrasi organisme. Kurva semacam ini dapat diperoleh dengan menggunakan metode hitungan cawan untuk menentukan jumlah organisme dalam biakan yang

turbiditasnya diketahui. Dengan diperoleh kurva standar, maka sejumlah besar biakan organisme sejenis dapat dengan cepat diukur turbiditas dan diketahui nilai konsentrasinya. (Fardiaz,1987)

II.7 Turbidimetri

Seringkali digunakan variasi dari beberapa metode untuk menentukan jumlah sel pada waktu tertentu dari siklus pertumbuhan, karena setiap metode mempunyai gambaran tersendiri mengenai jumlah sel bakteri. Penghitungan jumlah sel hidup merupakan metode yang secara langsung mengikuti pertumbuhan sel.

Berat kering kandungan nitrogen atau protein tidaklah terlalu sukar penghitungan, namun kadang – kadang diperlukan metode lebih cepat dan tepat dalam memberikan hasil. Salah satu karakteristik dari biakan bakteri yang tumbuh adalah peningkatan kekeruhan.



Gambar II.7 Pengukuran Pertumbuhan dengan Cara Kekeruhan

Pengukuran kekeruhan dapat dilakukan dengan metode kolorimeter, spektrofotometer, dan nefelometer. Pada kolorimeter dan spektrofotometer, jumlah cahaya terabsorpsi atau *scattering* melalui sampel diukur (Gambar II.7). Perbandingan intensitas cahaya melalui media biakan yang berisi bakteri dibandingkan dengan intensitas cahaya melalui media biakan yang berisi bakteri dibandingkan dengan intensitas cahaya melalui media biakan yang berisi bakteri dibandingkan intensitas cahaya melalui media biakan tanpa bakteri disebut optical density (OD). Metode ini tidak bisa digunakan jika bakteri tumbuh tidak menimbulkan kekeruhan. (Gary, 1994)

Metode pengukuran turbiditas dapat dikelompokkan dengan tiga cara, yaitu pengukuran perbandingan intensitas cahaya dihamburkan terhadap intensitas cahaya datang, pengukuran efek ekstingsi. Turbidimeter meliputi pengukuran cahaya yang diteruskan. Turbiditas berbanding lurus terhadap konsentrasi dan ketebalan, juga turbiditas tergantung pada warna. Turbiditas merupakan sifat optik akibat dispersi sinar dan dapat dinyatakan sebagai perbandingan cahaya dipantulkan terhadap cahaya tiba. Intensitas cahaya dipantulkan oleh suatu suspensi adalah fungsi konsentrasi jika kondisi – kondisi lain konstan.

Prinsip Spektroskopi absorpsi dapat digunakan pada turbidimeter dan nefelometer. Untuk turbidimeter, absorpsi akibat partikel yang tersuspensi diukur sedangkan pada nefelometer, hamburan cahaya yang diukur. Meskipun presisi metode ini tidak tertinggi tetapi mempunyai kegunaan praktis, sedang akurasi pengukuran tergantung pada ukuran dan bentuk partikel. Setiap instrumen spektroskopi absorpsi dapat digunakan untuk turbidimeter, sedang nefelometer memerlukan reseptor pada sudut 90° terhadap lintasan cahaya. Metode nefelometer sering tidak digunakan pada analisa anorganik. (Khopkar, 1990)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

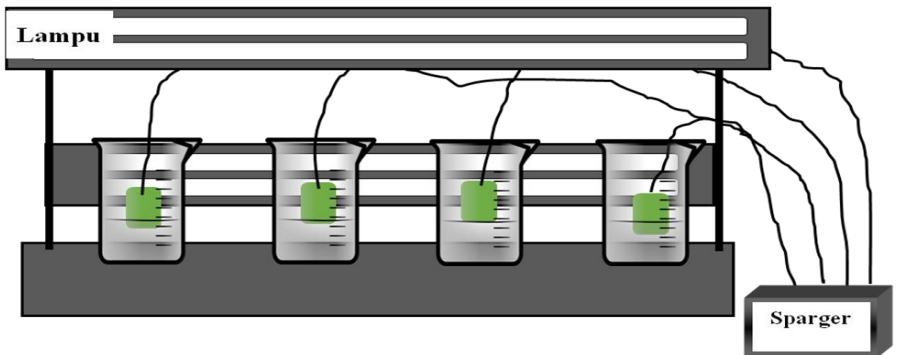
Tahapan – tahapan penelitian yang dibuat dalam menyelesaikan topik yang ada diawali dengan penyediaan bahan dan peralatan, menetapkan variable. Setelah itu melakukan penelitian sesuai dengan prosedur penelitian yang telah dibuat sebagai berikut :

III.1 Bahan dan Peralatan yang Digunakan

- a. Bahan yang digunakan :
 1. Mikroalga *Botryococcus braunii* (dari BAAP Situbondo, Jawa Timur)
 2. Aquadest
 3. Media Walne
 4. Asam Sitrat 1 M
 5. HNO₂ 1 M
 6. Lampu UV B
 7. Kertas pH (MERCK – Jerman)
 8. Air Laut
- b. Peralatan yang digunakan :
 1. Spektrofotometri UV/VIS (Cecil CE 1000 series – Inggris)
Kondisi Operasi : 682 nm (Arief Widjaja, 2009)
 2. Mikroskop Listrik (Carl Zeiss 92073 series – Jerman)
 3. *Autoclave* (Astell Scientific – Inggris)
Kondisi Operasi : 121 °C, 210 kPa (Salwan Sami Abdulwahhab, 2013)
 4. Erlenmeyer (Schott Duran – Jerman)
 5. *Beaker Glass* (Schott Duran – Jerman)
 6. Gelas Arloji

7. Termometer (M&S – Irlandia)
8. Pipet Volume (Assistant)
9. Pipet Mata
10. Tabung Reaksi (Pyrex - Jerman)
11. Hemasitometer (Brand – Jerman)
12. Neraca Analitik (AP 20 – Prancis)
13. *Magnetic Stirrer*
14. *Hot Plate* (Cimarec – USA)
15. Gelas Ukur (Pyrex - Jerman)
16. Kuvet (Einmal – Jerman)
17. Sparger (Recent RC 350 – China)
18. Corong (Herma - Inggris)
19. Lampu 21 W (Glorious TS – China)
20. Lampu UV B 20 W (Evaco F 20T0 GL – Prancis)

III. 2 Gambar Alat



III.3 Variable Penelitian

Variable yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Kondisi Operasi :
 1. Mikroalga *Botryococcus braunii* (dari BAAP Situbondo, Jawa Timur)

2. Media Tumbuh *Botryococcus braunii*

Jenis kultur phototroph :

Suhu : 27 – 30 °C

Lampu : 21 Watt (4 buah)

Nutrien Walne yang digunakan sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Isnansetyo dan Kusniastuty, 1995 dengan komposisi sebagai berikut :

- NaNO₃ : 100 mg/L
- Na₂EDTA : 45 mg/L
- H₃BO₃ : 33,6 mg/L
- NaH₂PO₄.2H₂O : 20 mg/L
- FeCl₃.6H₂O : 1,3 mg/L
- MnCl₂.4H₂O : 0,36 mg/L
- Vitamin B1 : 0,1 mg/L
- Vitamin B12 : 0,005 mg/L

b. Variable Bebas :

1. Mutagen yang digunakan untuk proses mutasi *Botryococcus braunii* adalah sinar UV B dan HNO₂
2. pH kultur tumbuh : pada pH 3 - 8

c. Variable Respon :

Konsentrasi mikroalga (sel/mm²)

III.4 Prosedur Penelitian

1. Budidaya Mikroalga

- Menanam 100 ml strain *Botryococcus braunii* pada 400 mL media tumbuh, sebelumnya air laut dipanaskan sampai suhu 30°C
- Mengatur pencahayaan dengan menggunakan lampu fluorensis (21 Watt), posisi lampu di bagian depan, belakang, dan atas gelas beaker dengan jarak 3 cm

dengan waktu pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. (Zhang and Kojima, 1999)

- Mengambil sampel dan menganalisa pertumbuhan mikroalga dengan metode turbidimetri dan counting chamber setiap 12 jam.
- Membuat kurva Absorbansi vs waktu dan kurva jumlah sel vs waktu.
- Melakukan mutasi hasil budidaya setelah 14 hari dengan sinar UV dan HNO_2

2. Proses Mutasi mikroalga dengan sinar UV B

- Letakkan 500 mL strain botryococcus yang telah dibiakkan selama 14 hari pada petridish. Sinari dengan sinar UV B selama 90 detik
- Pindahkan 250 mL mikroalga yang telah di mutasi pada beaker gelas dengan media tumbuh pH 3 – 8 (Untuk membuat media tumbuh pH asam, campurkan air laut dengan asam sitrat, cek pH media dengan kertas pH)
- Mengatur pencahayaan dengan menggunakan lampu fluoresis (21 Watt), posisi lampu di bagian depan, belakang, dan atas gelas beaker dengan jarak 3 cm dengan waktu pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. (Zhang and Kojima, 1999)
- Mengambil sampel dan menganalisa pertumbuhan mikroalga dengan metode turbidimetri dan counting chamber setiap 12 jam.
- Membuat kurva Absorbansi vs waktu dan kurva jumlah sel vs waktu.

3. Proses Mutasi mikroalga dengan HNO_2

- Campurkan 5 mL HNO_2 dengan 5 mL strain mikroalga, aduk beberapa saat. Kemudian biakkan 5 mL strain mikroalga yang telah dicampurkan dengan 5 mL HNO_2 pada 100 mL media tumbuh dengan pH

3 – 8 (Untuk membuat media tumbuh pH asam, campurkan air laut dengan asam sitrat, cek pH media dengan kertas pH)

Mengatur pencahayaan dengan menggunakan lampu fluoresis (21 Watt), posisi lampu di bagian depan, belakang, dan atas gelas beaker dengan jarak 3 cm dengan waktu pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. (Zhang and Kojima, 1999)

- Mengambil sampel dan menganalisa pertumbuhan mikroalga dengan metode turbidimetri dan counting chamber setiap 12 jam.
- Membuat kurva Absorbansi vs waktu dan kurva jumlah sel vs waktu

4. Analisa mikroalga dengan metode turbidimetri

- Menyalakan spektrofotometri dan atur panjang gelombangnya = 682 nm. (Arief Widjaja, 2009)
- Isi kuvet dengan aquadest
- Melakukan kalibrasi alat spektrofotometri sampai nilai Absorbansi = 0
- Mengganti kuvet berisi aquadest dengan kuvet berisi mikroalga yang akan di analisa. Tunggu sampai sekala absorbansi menunjukkan angka yang konstan
- Catat Absorbansi yang terbaca pada alat spektrofotometri, ulangi sampai 3 kali

5. Analisa pertumbuhan sel dengan metode counting chamber

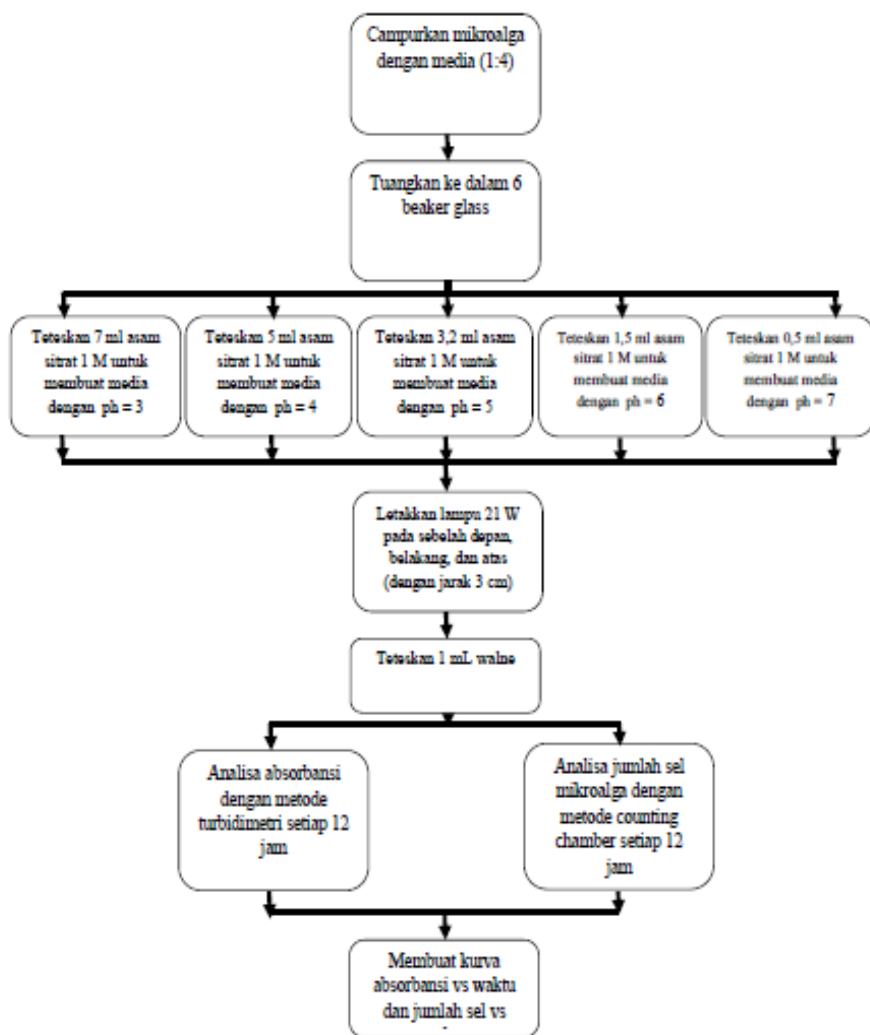
- Ambil 1 mL sampel mikroalga yang akan dianalisa, encerkan dengan aquadest hingga 10 mL
- Ambil 1 mL sampel mikroalga yang telah diencerkan, encerkan lagi dengan aquadest hingga 10 mL. Hasil pengenceran merupakan pengenceran 100 kali yang nantinya akan dianalisa

- Ambil hasil pengenceran mikroalga 100 kali dengan pipet mata, teteskan pada hemasitometer yang tersedia. Letakkan hemasitometer pada meja objek mikroskop. Tetapkan 5 titik pada hemasitometer untuk menghitung jumlah sel
- Hitung Jumlah sel pada 5 titik yang telah ditentukan, ulangi selama 3 kali. Hasil perhitungan jumlah sel setiap titiknya di rata – rata
- Hitung Jumlah sel dengan persamaan :

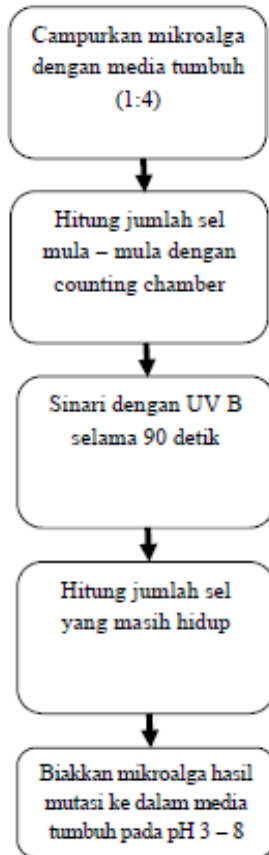
$$\text{Jumlah sel/mm}^2 = \frac{\text{Jumlah sel pada 5 kotak} \times \text{pengenceran}}{0,04 \times \text{tebal hemasitometer}}$$

III. 5 Diagram Alir Penelitian

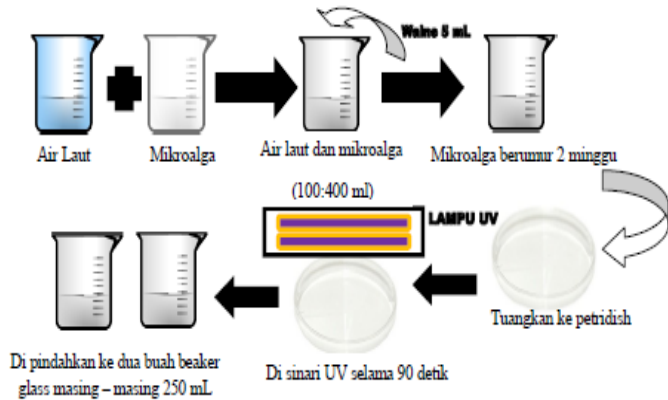
a. Diagram alir budidaya mikroalga pada pH 3 – 8



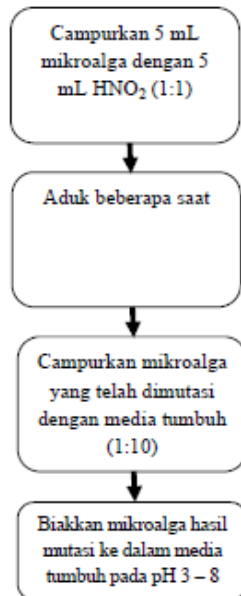
b. Diagram alir mutasi mikroalga dengan sinar UV-B



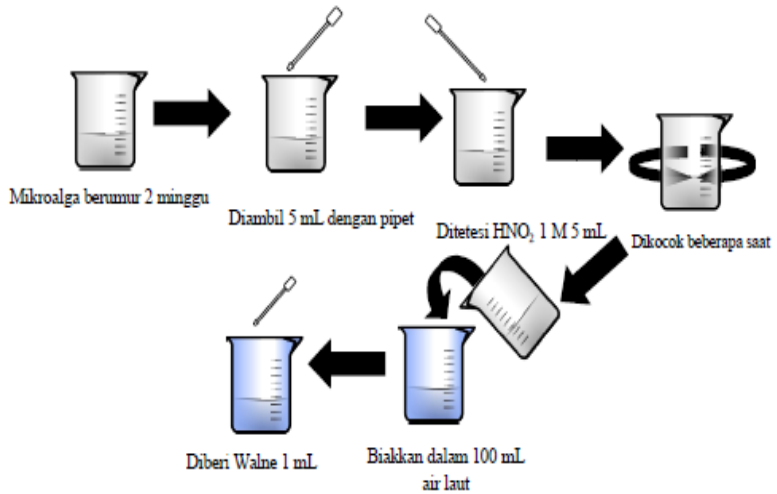
- **Gambar Mutasi mikroalga dengan sinar UV B**



- c. **Diagram alir mutasi mikroalga dengan HNO₂**



• **Gambar Mutasi mikroalga dengan HNO_2**



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Review Penelitian Terdahulu

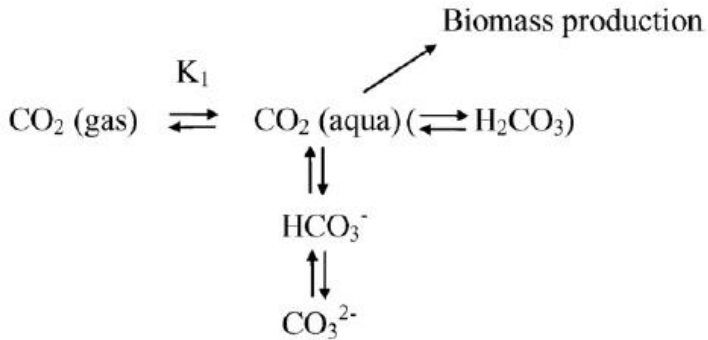
Botryococcus braunii adalah mikroalga autotrof berwarna hijau (ganggang hijau) yang hidup di laut. Mikroalga ini hidup berkoloni dan memiliki kemampuan luar biasa untuk mensintesis dan mengumpulkan berbagai macam lipid dan hidrokarbon. Jika dibandingkan dengan jenis mikroalga lainnya jumlah lipid *Botryococcus braunii* relatif lebih banyak. Jenis lipid bervariasi tergantung dari jenis strainnya, mulai dari C 12 hingga C 37. Dinding sel *Botryococcus braunii* relatif lebih tebal bila dibandingkan dengan spesies mikroalga hijau lainnya dikarenakan akumulasi penumpukan dinding sel dari pembelahan sel sebelumnya. Sebagian besar lipid dari spesies ini terletak di bagian permukaan selnya oleh karena itu ekstraksi lipid dari mikroalga jenis ini relatif lebih efisien dibandingkan dengan spesies mikroalga lainnya. Namun demikian mikroalga jenis ini dapat tumbuh maksimal pada suhu 23° – 30°C (daerah tropis) pada media dengan pH berkisar antara 6 – 8 (Qin, 2012) .

Melihat potensi *Botryococcus braunii* yang sangat besar maka dilakukan penelitian yang dimaksudkan untuk membuat mutan mikroalga *Botryococcus braunii* yang tahan terhadap media asam. Mikroalga membutuhkan kondisi lingkungan yang sesuai agar dapat tumbuh optimal. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga yakni: suhu, cahaya, pH, nitrogen, karbondioksida, dan salinitas. Suhu sangat mempengaruhi kondisi tumbuh mikroalga. Suhu yang terlalu rendah akan memperlambat pertumbuhan mikroalga sedangkan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan sel – sel dari mikroalga mati. Cahaya sangat diperlukan mikroalga untuk berfotosintesis. Intensitas cahaya yang cukup akan meningkatkan laju fotosintesis sampai nilai tertentu (pada nilai tersebut maka

fotosintesis akan stabil, tidak akan meningkat lagi) (Yan,dkk,1997) .

pH berpengaruh pada pertumbuhan mikroalga. Tiap – tiap spesies mikroalga memiliki nilai toleran atau nilai minimum pH yang memungkinkan untuk kelangsungan hidupnya. Pada percobaan yang dilakukan Czeslawa menyimpulkan mikroalga tidak dapat tumbuh optimal pada pH di bawah 4,8 sebab, dinding sel mikroalga sudah tidak mampu lagi mempertahankan dirinya untuk bertahan hidup. Dinding sel mikroalga berfungsi sebagai lapisan buffer atau lapisan untuk menjaga pH dalam tubuh mikroalga. Pada pH asam ($\text{pH} < 7$), mikroalga akan mengkonsumsi karbon dari HCO_3^- (CO_2 yang terlarut di dalam air) untuk membentuk lapisan buffer yang berfungsi melindungi dirinya dari kondisi lingkungannya sehingga mengakibatkan menurunnya kadar CO_2 terlarut dalam air sehingga pH media berangsur – angsur naik. Pada pH yang terlampaui tinggi, mikroalga akan mengkonsumsi CO_2 langsung dari udara. Dalam hal ini CO_2 sangat mudah larut dalam air, akibatnya kadar CO_2 terlarut meningkat dan membentuk H_2CO_3 yang bersifat asam sehingga pH media berangsur – angsur turun (Nalewajko,dkk, 1997).

Kadar CO_2 sangat berpengaruh pada proses fotosintesis karena CO_2 merupakan sumber karbon dalam proses fotosintesis. Pada konsentrasi CO_2 tinggi, maka tidak semua CO_2 akan digunakan oleh mikroalga dalam proses fotosintesis, akibatnya banyak CO_2 yang terlarut dalam air membentuk H_2CO_3 yang bersifat asam sehingga hal ini akan menyebabkan pH media turun. Sedangkan pada konsentrasi CO_2 yang rendah, mikroalga akan mengkonsumsi karbon dari CO_2 terlarut atau dari H_2CO_3 yang akan menyebabkan kadar CO_2 terlarut dalam air menurun sehingga pH media naik (Widjaja, 2009). Hal ini tergambar dalam bagan berikut ini :



Gambar IV.1 Mekanisme CO₂ oleh mikroalga

Sumber karbon dan Nitrogen adalah unsur nutrisi yang penting bagi mikroalga. Mikroalga dapat memanfaatkan nitrat, amonia, dan sumber nitrogen lainnya untuk proses pembentukan sel. Pada kondisi dimana kadar nitrogen kecil, maka produksi lipid pada sel akan bertambah banyak, keadaan ini biasa disebut *nitrogen starvation* (Tornabene,dkk, 1983).

Kadar garam sangat berpengaruh pada pertumbuhan mikroalga khususnya *Botryococcus brauni* yang tumbuh pada air laut. Jika kadar garam dari media tumbuh tidak sesuai dengan kondisi tumbuh yang mampu ditoleransi mikroalga, maka dimungkinkan terjadinya pelepasan substansi dalam sel karena konsentrasi garam yang terlalu rendah / masuknya medium ke dalam sel karena terlalu tingginya konsentrasi garam pada media tumbuh. Diketahui kadar garam optimum untuk tumbuh sekitar 0,2 M (Ruangsomboon, 2012) .

Mikroalga yang digunakan adalah *Botryococcus braunii* (dari BAAP Situbondo, Jawa Timur) dan media tumbuh yang digunakan adalah media walne dengan komposisi yang tercantumkan pada bab III. Reaktor yang digunakan untuk menanam mikroalga adalah *beaker glass* berukuran 400 mL dengan rangkaian alat seperti pada bab III. *Beaker glass* telah

disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C. Step pertama adalah mengocok secara perlahan bibit *Botryococcus braunii* yang terdapat dalam botol sampai homogen (tidak ada mikroalga yang menempel pada dinding botol). Kemudian menuangkan 100 mL bibit mikroalga kedalam beaker glass secara perlahan. Kemudian memanaskan air laut sebanyak 400 mL sampai suhu ruangan (27°C), kemudian mencampurkan air laut hangat dengan bibit mikroalga. Proses pemanasan air laut ini bertujuan untuk mengkondisikan suhu optimal media tumbuh mikroalga, dimana mikroalga akan tumbuh optimal pada suhu 23° – 30°C. Setelah itu menambahkan 5 tetes walne dengan pipet mata ke dalam campuran bibit mikroalga dan air laut. Setelah itu memasukkan *sparger* ke dalam *beaker glass* yang berfungsi untuk sirkulasi udara sehingga sirkulasi CO₂ terjadi secara kontinu. Setelah itu memasang lampu 21 watt sebanyak 2 buah pada sisi depan, belakang, dan atas *beaker glass* dengan jarak 3 cm hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Arief widjaja (2009). Lampu di atur dengan keadaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. (Zhang and Kojima, 1998). Lampu dinyalakan mulai pukul 06.00 WIB sampai 18.00 WIB. Dengan intensitas cahaya > 6000 lux (Zhang and Kojima, 1998).

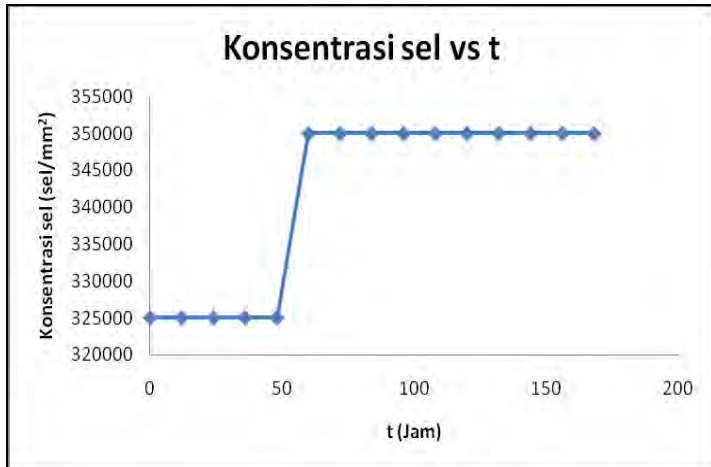
Kemudian bagian atas *beaker glass* dilapisi plastik agar *beaker glass* tetap steril. Kemudian melakukan analisa turbidimetri dan *counting chamber* setiap 12 jam sekali untuk mengetahui pertumbuhan dan jumlah sel mikroalga. Mikroalga yang telah berumur 2 minggu akan digunakan untuk proses mutasi karena pada umur 2 minggu mikroalga berada pada fase akhir log sesuai dengan percobaan (Baba,dkk, 2012). Kemudian mikroalga yang telah berumur 2 minggu akan di mutasi dengan sinar UV. Mikroalga yang berumur 2 minggu akan di tuang ke dalam cawan petridish untuk di sinar-i UV B selama 90 detik. Kemudian, 250 mL mikroalga akan dibiakkan pada 6 *beaker glass* dengan pH yang berbeda. Di ikuti dengan membiakkan mikroalga alami pada 6 *beaker glass* yang berbeda pula. Untuk membuat media berada dalam kondisi asam, digunakan asam

sitrat 1 M. Dasar penggunaan asam sitrat karena asam sitrat merupakan asam lemah. Untuk membuat media dengan pH =7, media diberi asam sitrat 0,5 mL. Kemudian meneteskan 1,5 mL asam sitrat 1 M pada *beaker glass* kedua untuk membuat media dengan pH = 6. Selanjutnya meneteskan 3,2 mL asam sitrat 1 M pada *beaker glass* ketiga untuk membuat media dengan pH = 5. Setelah itu meneteskan 5 mL asam sitrat 1 M pada *beaker glass* keempat untuk membuat media dengan pH = 4. Dan yang terakhir meneteskan 7 mL asam sitrat 1 M pada *beaker glass* kelima untuk membuat media dengan pH = 3. Sedangkan *beaker glass* keenam dibiarkan saja karena media walne memiliki pH = 8. Masing – masing beaker glass diberi *sparger* dan ditutup dengan plastik agar tetap steril. Mengatur pencahayaan dengan menggunakan lampu fluoresis (21 Watt), posisi lampu di bagian depan, belakang, dan atas gelas beaker dengan jarak 3 cm dengan waktu pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Selanjutnya melakukan analisa turbidimetri dan *counting chamber* untuk mengetahui pertumbuhan sel mikroalga alami dan hasil mutasi dengan sinar UV. Selanjutnya melakukan mutasi mikroalga dengan HNO₂. Mula – mula mencampurkan 5 mL HNO₂ dengan 5 mL mikroalga berumur 2 minggu, aduk beberapa saat. Kemudian membiakkan mikroalga yang telah dicampur HNO₂ dalam air laut sampai volumenya 100 mL. Lalu tuangkan ke dalam *beaker glass*. Ulangi percobaan mutasi sampai terdapat 6 *beaker glass* berisi mikroalga hasil mutasi dengan HNO₂. Untuk membuat media dengan pH =7, media diberi asam sitrat 0,1 mL. Kemudian meneteskan 0,2 mL asam sitrat 1 M pada *beaker glass* kedua untuk membuat media dengan pH = 6. Selanjutnya meneteskan 0,5 mL asam sitrat 1 M pada *beaker glass* ketiga untuk membuat media dengan pH = 5. Setelah itu meneteskan 0,7 mL asam sitrat 1 M pada *beaker glass* keempat untuk membuat media dengan pH = 4. Dan yang terakhir meneteskan 0,9 mL asam sitrat 1 M pada *beaker glass* kelima untuk membuat media dengan pH = 3. Masing – masing beaker glass diberi *sparger* dan ditutup dengan plastik agar tetap steril. Mengatur pencahayaan

dengan menggunakan lampu fluoresensi (21 Watt), posisi lampu di bagian depan, belakang, dan atas gelas beaker dengan jarak 3 cm dengan waktu pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Selanjutnya melakukan analisa turbidimetri dan *counting chamber* untuk mengetahui pertumbuhan sel mikroalga alami dan hasil mutasi dengan HNO₂. Pada perhitungan jumlah sel dengan metode counting chamber, hanya sel yang masih hidup yang di hitung jumlahnya. Hal ini dapat diketahui pada warna mikroalga. Pada kondisi pertumbuhan optimal, mikroalga akan berwarna hijau tua pekat sedangkan mikroalga akan berwarna hijau kekuningan bila kondisi pertumbuhannya tidak optimal dan bahkan cenderung berwarna kuning bila mati. Sehingga dari perhitungan jumlah sel yang di hitung dapat di simpulkan bahwa sel mikroalga yang terhitung adalah sel mikroalga yang hidup dikarenakan warna mikroalga hijau tua pekat.

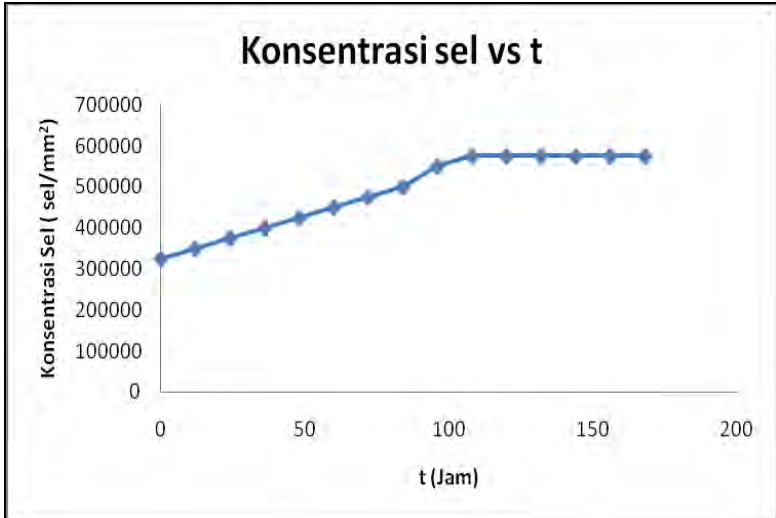
IV.2 Pertumbuhan Mikroalga *Botryococcus braunii* alami pada pH 3, 4, 5, 6, 7, dan 8

Untuk mengetahui pertumbuhan *Botryococcus braunii* alami pada pH 3 – 8, maka dilakukan percobaan membiakkan *Botryococcus braunii* alami pada media dengan pH 3 – 8. Untuk membuat kondisi asam dengan menambahkan asam sitrat 1 M pada media. Berikut ini adalah grafik yang dihasilkan dari percobaan :



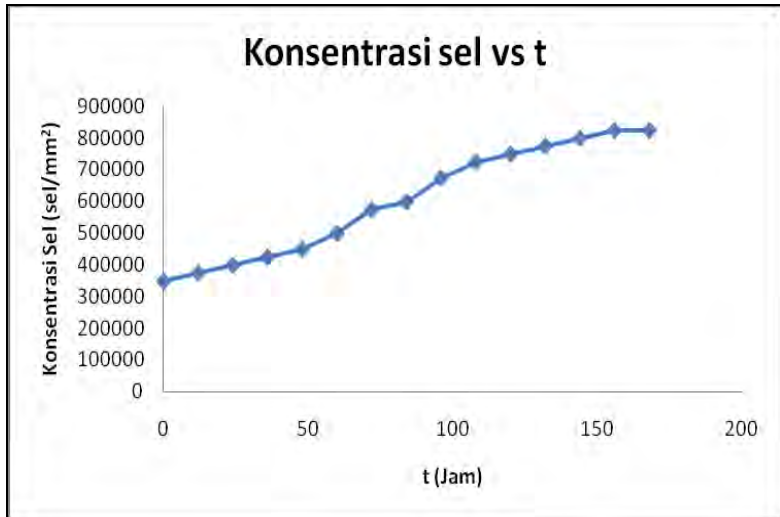
Gambar IV.2 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* alami pada pH = 3

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* sangat sulit tumbuh pada pH = 3. Terlihat pada 0 – 50 jam tidak terjadi pertumbuhan pada sel mikroalga dan pada 50 – 60 jam sel tumbuh itupun sangat lambat kemudian sel berhenti bertumbuh pada 60 – 168 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.2 Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



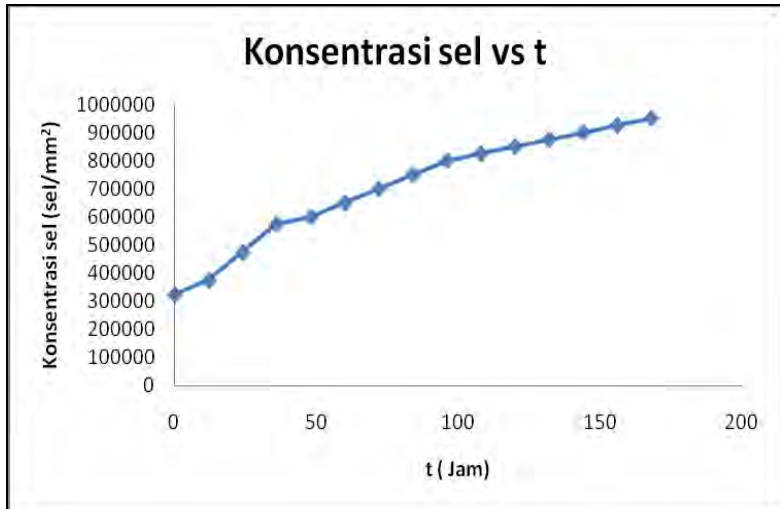
Gambar IV.3 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* alami pada pH = 4

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* tumbuh sangat lambat pada 0 – 110 jam kemudian mencapai fase stationer pada titik 110 – 168 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.3. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



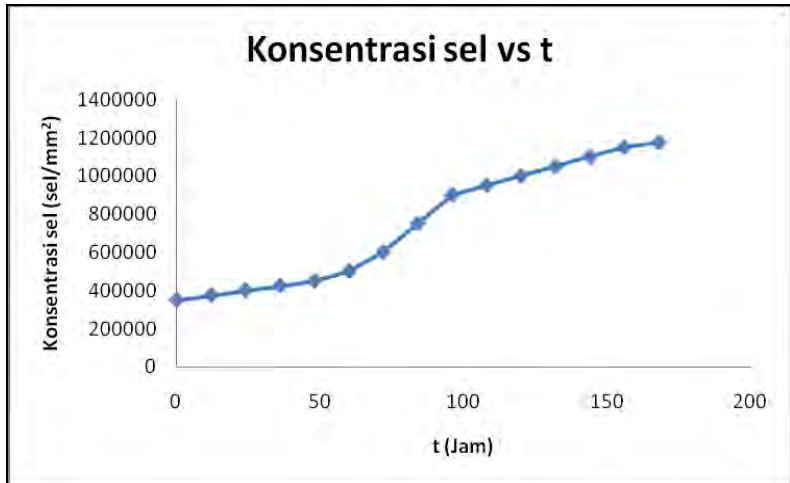
Gambar IV.4 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* alami pada pH = 5

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* tumbuh perlahan dari 0 – 75 jam kemudian sesaat terhenti pada 75 – 100 jam dan kembali tumbuh secara perlahan dari 100 – 168 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.4. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



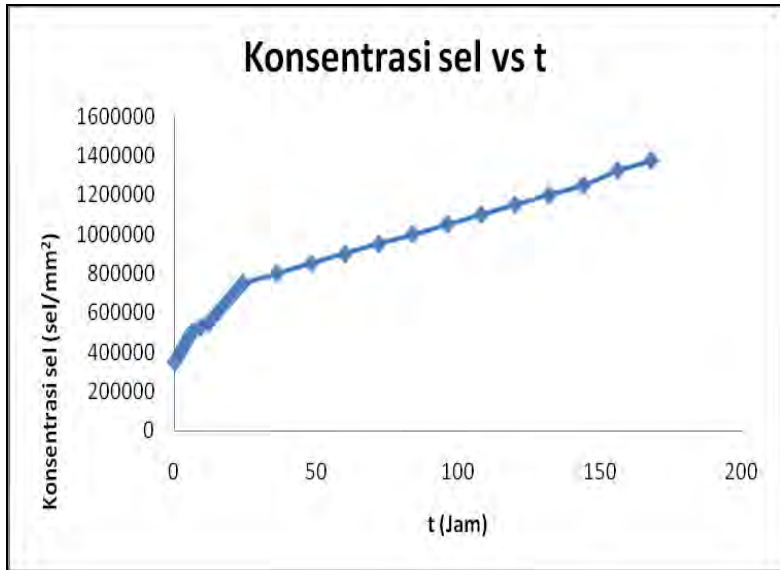
Gambar IV.5 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* alami pada pH = 6

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* tumbuh perlahan dari 0 – 200 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.5. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



Gambar IV.6 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* alami pada pH = 7

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* pada 0 jam – 50 jam lambat kemudian meningkat pada jam 50 – 100 dan melambat lagi pada jam 100 - 200 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.6. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



Gambar IV.7 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* alami pada pH = 8

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* terus meningkat mulai dari awal sampai 200 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.7. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.

Jumlah sel *Botryococcus braunii* alami pada setiap pH dapat dilihat pada tabel jumlah sel di bawah ini :

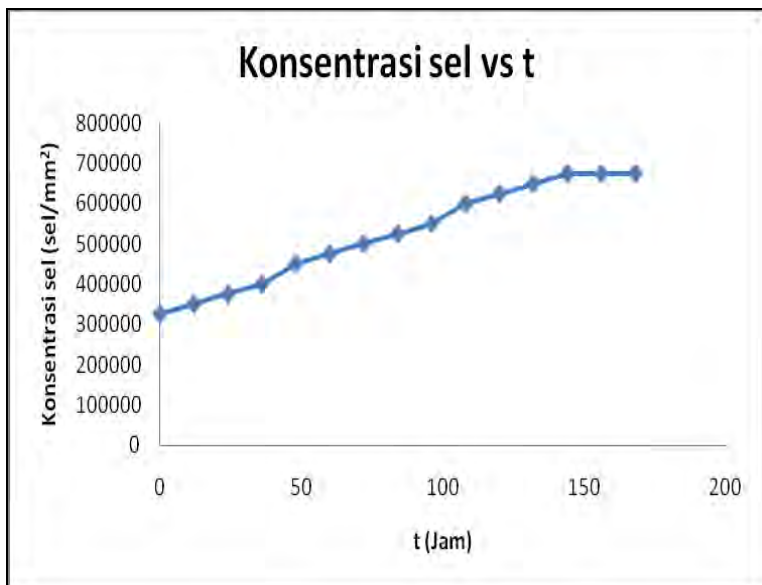
Tabel IV.1 Jumlah sel *Botryococcus braunii* alami pada pH 3 – 8

pH media	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
t (Jam)	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel
0	325000	325000	350000	325000	350000	350000
12	325000	350000	375000	375000	375000	550000
24	325000	375000	400000	475000	400000	750000
36	325000	400000	425000	575000	425000	800000
48	325000	425000	450000	600000	450000	850000
60	350000	450000	500000	650000	500000	900000
72	350000	475000	575000	700000	600000	950000
84	350000	500000	600000	750000	750000	1000000
96	350000	550000	675000	800000	900000	1050000
108	350000	575000	725000	825000	950000	1100000
120	350000	575000	750000	850000	1000000	1150000
132	350000	575000	775000	875000	1050000	1200000
144	350000	575000	800000	900000	1100000	1250000
156	350000	575000	825000	925000	1150000	1325000
168	350000	575000	825000	950000	1175000	1375000

Dari tabel jumlah sel berikut dapat diketahui jumlah sel *mikroalgae Botryococcus braunii* alami setelah dikembangkan selama 1 minggu pada pH 8 = 1375000 sel, pada pH 7 = 1175000 sel, pada pH 6 = 950000 sel, pada pH 5 = 825000 sel, pada pH 4 = 575000 sel, dan pada pH 3 = 350000 sel.

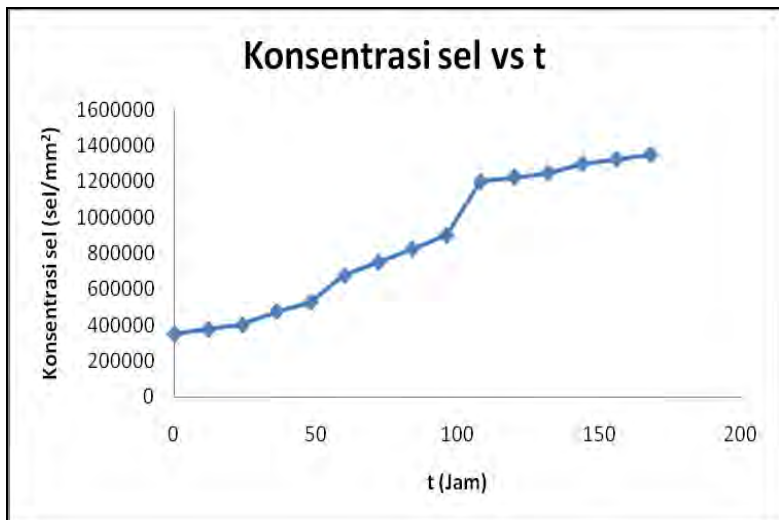
IV.3 Pertumbuhan Mikroalga *Botryococcus braunii* mutan dengan sinar UV pada pH 3, 4, 5, 6, 7, dan 8

Untuk menciptakan *Botryococcus braunii* yang tahan terhadap kondisi asam, dilakukan mutasi dengan menggunakan sinar UV B. *Botryococcus braunii* alami di sinari UV B selama 90 detik dan dikembangkan pada pH 3 – 8. Untuk membuat kondisi asam dengan menambahkan asam sitrat 1 M pada media. Berikut ini adalah grafik yang dihasilkan dari percobaan :



Gambar IV.8 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 3

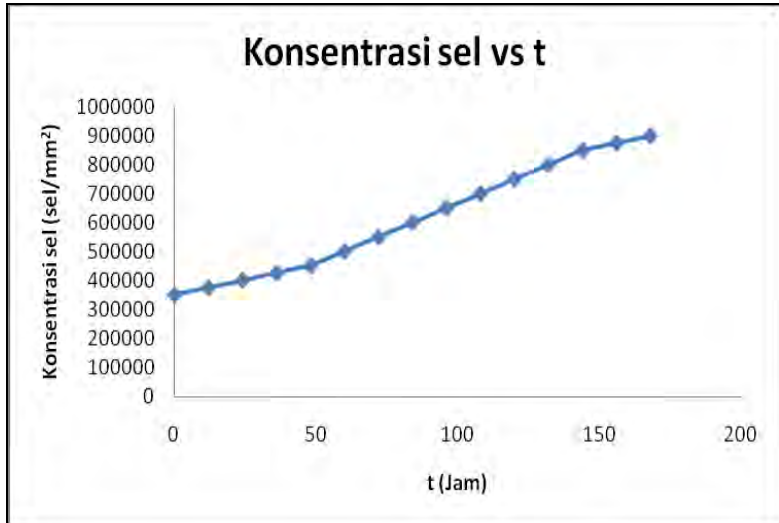
Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh sangat lambat pada 0 – 150 jam kemudian mencapai titik stationer pada 150 – 168 jam (sel tidak bertumbuh lagi). Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.8. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



Gambar IV.9 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 4

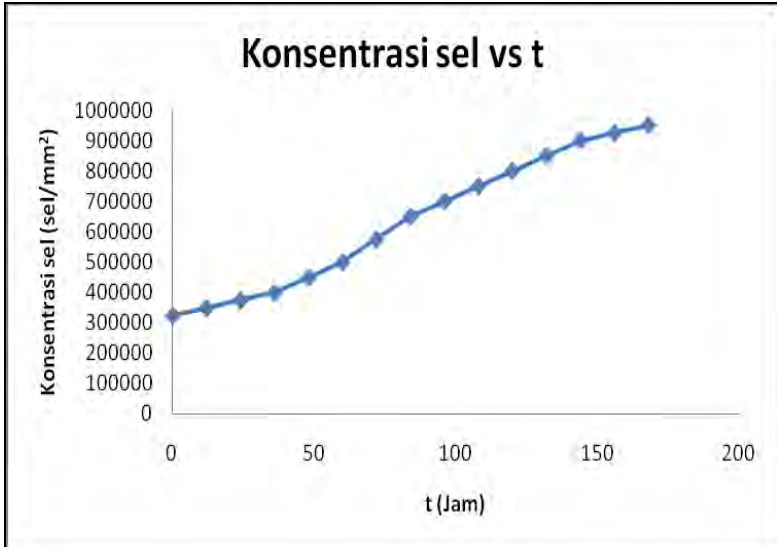
Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh dengan lambat 0 – 50 jam kemudian pertumbuhannya lebih cepat pada 50 – 100 jam dan sangat cepat pada 100 – 120 jam lalu kembali melambat pada 120 – 168 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva

pertumbuhan seperti pada grafik IV.9. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



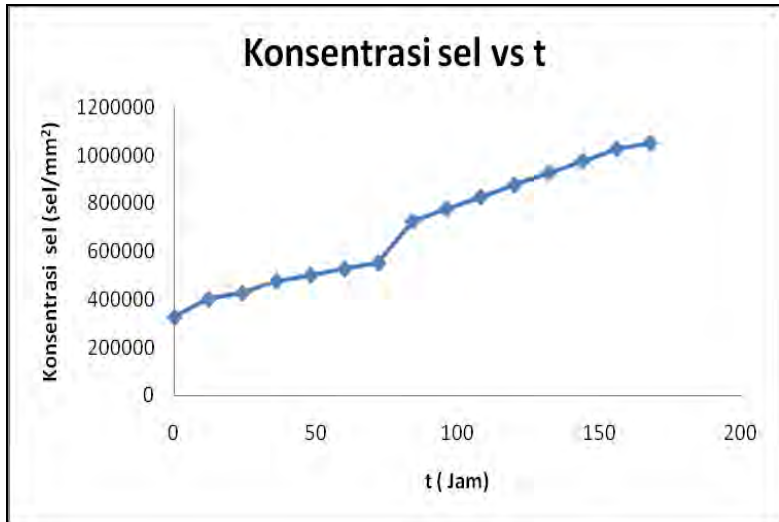
Gambar IV.10 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 5

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh dengan lambat 0 – 50 jam kemudian pertumbuhannya lebih cepat pada 50 – 150 jam dan kembali melambat pada 150 – 168 jam, namun pertumbuhannya terjadi secara terus menerus (tidak ada titik dimana selnya tetap atau tidak bertumbuh). Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.10. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



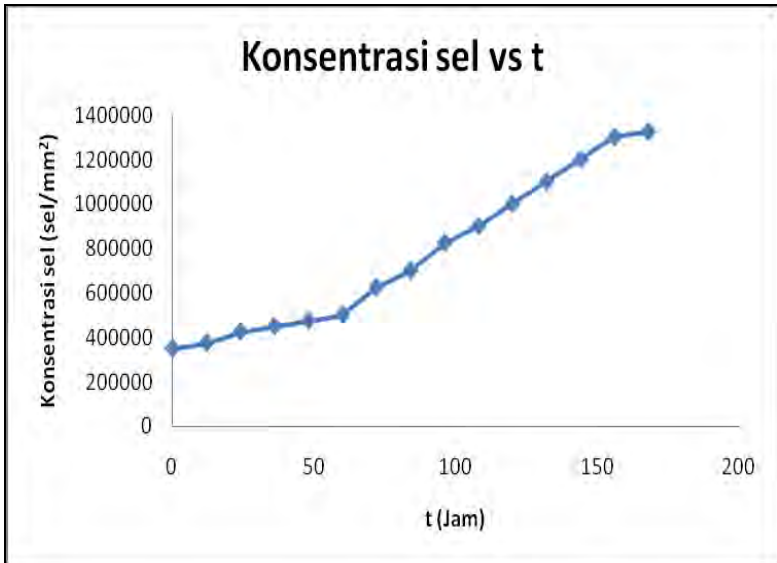
Gambar IV.11 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 6

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh dengan kecepatan mendekati konstan (grafik hampir linier) pada 0 – 168 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.11. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



Gambar IV.12 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 7

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh lambat pada 0 – 60 jam kemudian pertumbuhannya meningkat pada 60 – 90 jam dan melambat lagi pertumbuhannya pada 90 – 168 jam walaupun tidak selambat pada saat tahap 0 – 60 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode counting chamber. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.12. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



Gambar IV.13 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 8

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh lambat pada 0 – 60 jam kemudian pertumbuhannya meningkat pesat pada 60 – 168 jam. Hal ini dikarenakan pada proses mutasi dengan sinar UV, banyak sel mikroalga yang mati sehingga membutuhkan waktu yang lama pada jam 0 – 50 untuk tumbuh. Setelah jumlah sel mikroalga berjumlah 600.000 proses pembentukan sel baru menjadi lebih cepat dari sebelumnya. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.13. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.

Jumlah sel *Botryococcus braunii* hasil mutasi dengan UV pada setiap pH dapat dilihat pada tabel jumlah sel di bawah ini :

Tabel IV.2 Jumlah sel *Botryococcus braunii* hasil mutasi dengan UV pada pH 3 – 8

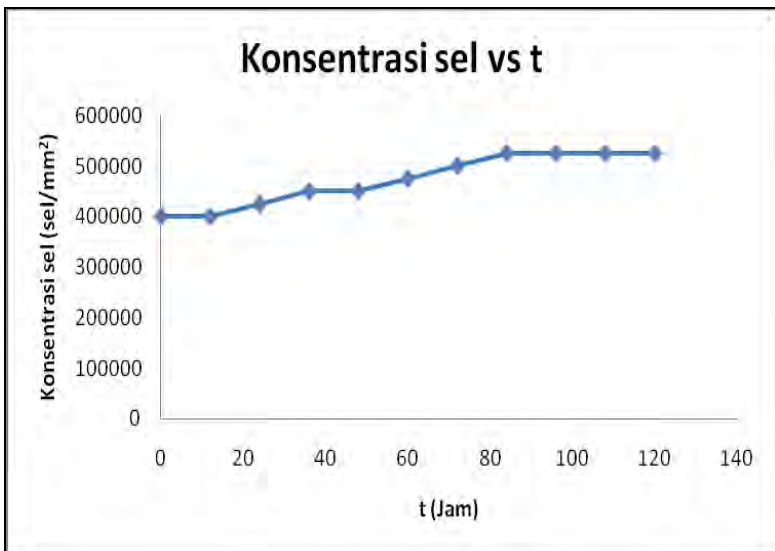
pH media	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
t (Jam)	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel
0	325000	350000	350000	325000	325000	350000
12	350000	375000	375000	350000	400000	375000
24	375000	400000	400000	375000	425000	425000
36	400000	475000	425000	400000	475000	450000
48	450000	525000	450000	450000	500000	475000
60	475000	675000	500000	500000	525000	500000
72	500000	750000	550000	575000	550000	625000
84	525000	825000	600000	650000	725000	700000
96	550000	900000	650000	700000	775000	825000
108	600000	1200000	700000	750000	825000	900000
120	625000	1225000	750000	800000	875000	1000000
132	650000	1250000	800000	850000	925000	1100000
144	675000	1300000	850000	900000	975000	1200000
156	675000	1325000	875000	925000	1025000	1300000
168	675000	1350000	900000	950000	1050000	1325000

Dari tabel jumlah sel berikut dapat diketahui jumlah sel *Botryococcus braunii* mutan dengan UV-B setelah dikembangkan selama 1 minggu pada pH 8 = 1325000 sel, pada pH 7 = 1050000 sel, pada pH 6 = 950000 sel, pada pH 5 =

900000 sel, pada pH 4 = 1350000 sel, dan pada pH 3 = 675000 sel.

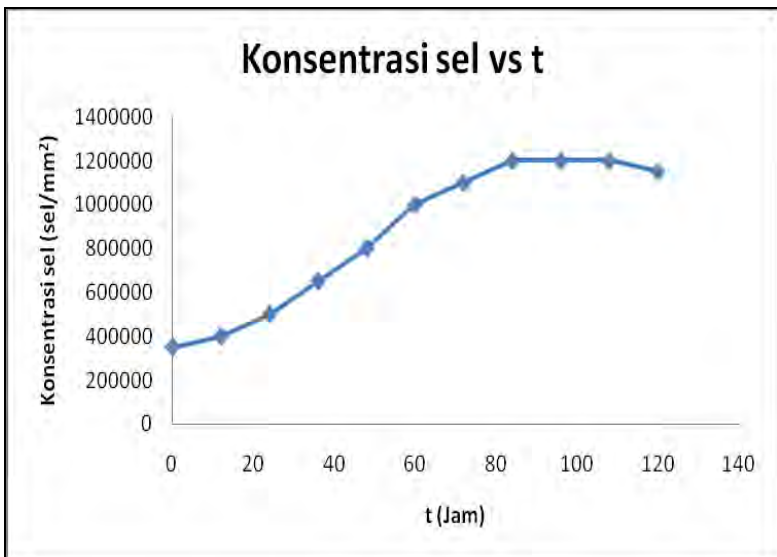
IV.4 Pertumbuhan Mikroalga *Botryococcus braunii* mutan dengan HNO₂ pada pH 3, 4, 5, 6, 7, dan 8

Untuk menciptakan *Botryococcus braunii* yang tahan terhadap kondisi asam, dilakukan mutasi dengan menggunakan HNO₂. 5 mL *Botryococcus braunii* alami dicampurkan dengan 5 mL HNO₂ diaduk hingga merata kemudian dicampurkan dengan air laut hingga volumenya 100 mL dan dikembangkan pada pH 3 – 8. Untuk membuat kondisi asam dengan menambahkan asam sitrat 1 M pada media. Berikut ini adalah grafik yang dihasilkan dari percobaan :



Gambar IV.14 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 3

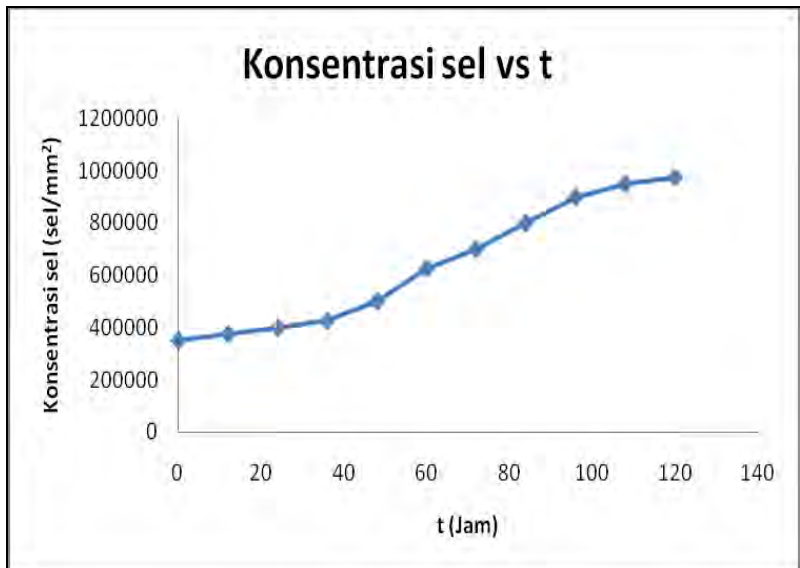
Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh lambat pada 0 – 80 jam kemudian mencapai fase stationer pada 110 – 120 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.14. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



Gambar IV.15 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 4

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh sangat cepat pada 0 – 80 jam kemudian pertumbuhannya semakin lambat pada 80 – 100 jam dan pada 100 – 120 jam jumlahnya menurun. Hipotesis awal hal ini disebabkan karena kurangnya nutrisi pada media, hal ini disebabkan karena proses fotosintesis mikroalga mutan lebih cepat sehingga nutrisi cepat habis olehnya pada mikroalga hasil

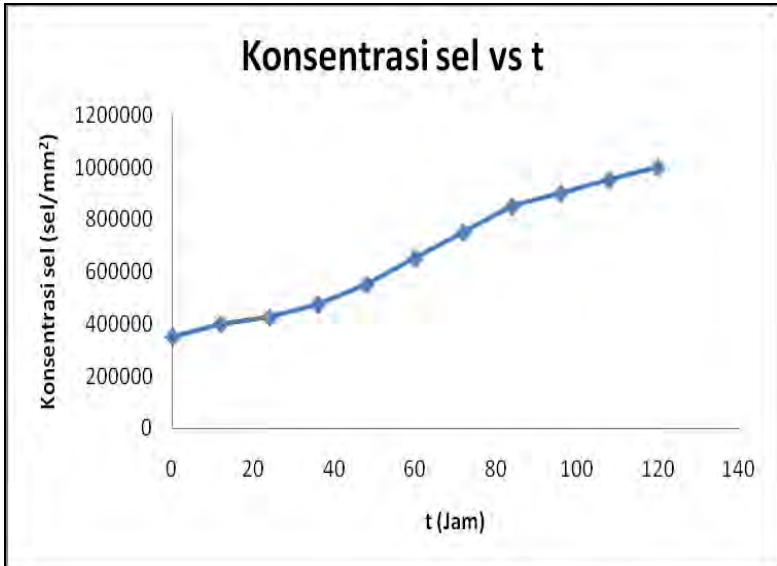
mutasi dengan media pH 4. Setelah dilakukan percobaan ulang dengan jumlah nutrisi 2 kali lipat tidak ada perbedaan yang signifikan olehnya ini akan dilakukan penelitian lebih lanjut. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik 4.15. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



Gambar IV.16 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 5

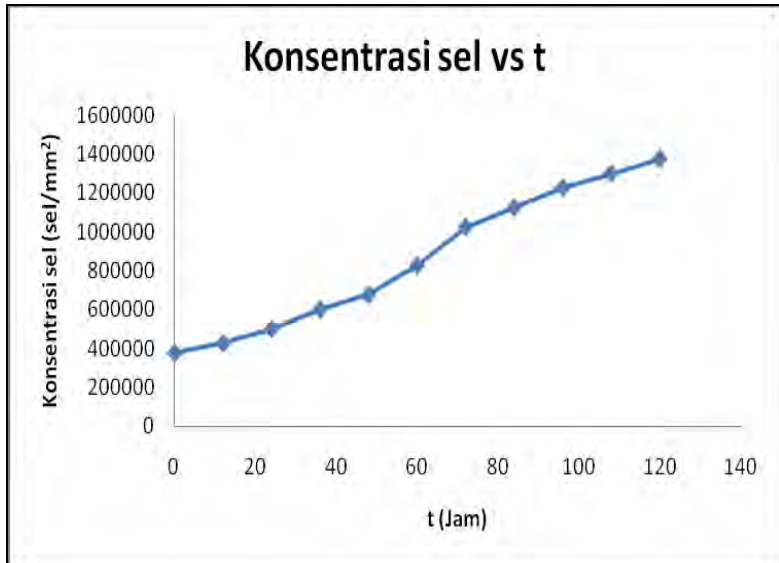
Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh lambat pada 0 – 40 jam kemudian pertumbuhannya bertambah cepat pada 40 – 80 jam dan pertumbuhannya kembali melambat pada 80 – 120 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati

dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.16. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



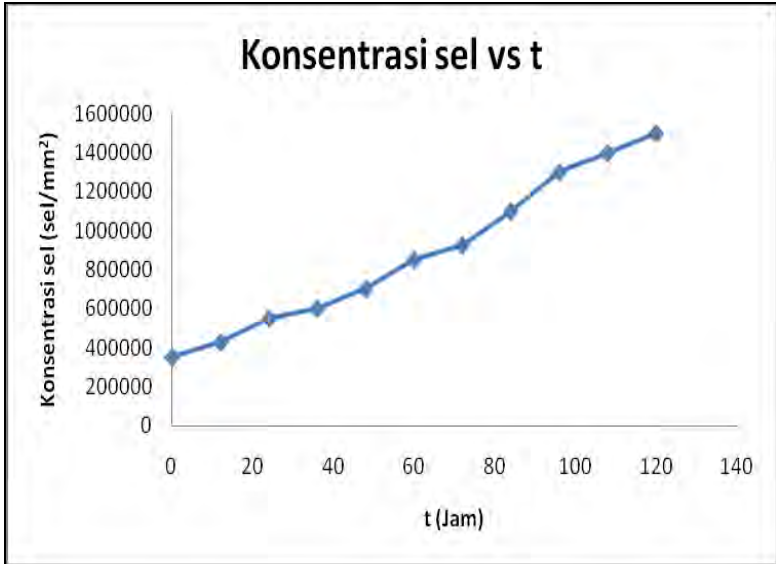
Gambar IV.17 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 6

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh lambat pada 0 – 40 jam kemudian pertumbuhannya bertambah cepat pada 40 – 120 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.17. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



Gambar IV.18 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 7

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh cepat secara konstan pada 0 – 60 jam dan semakin cepat pertumbuhannya pada 60 – 80 jam. Kemudian kecepatan tumbuhnya kembali seperti semula pada 80 -120 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.18. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



Gambar IV.19 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan pada pH = 8

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa *Botryococcus braunii* tumbuh cepat secara konstan pada 0 – 120 jam. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.19. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari. Jumlah sel *Botryococcus braunii* hasil mutasi dengan HNO₂ pada setiap pH dapat dilihat pada tabel jumlah sel di bawah ini :

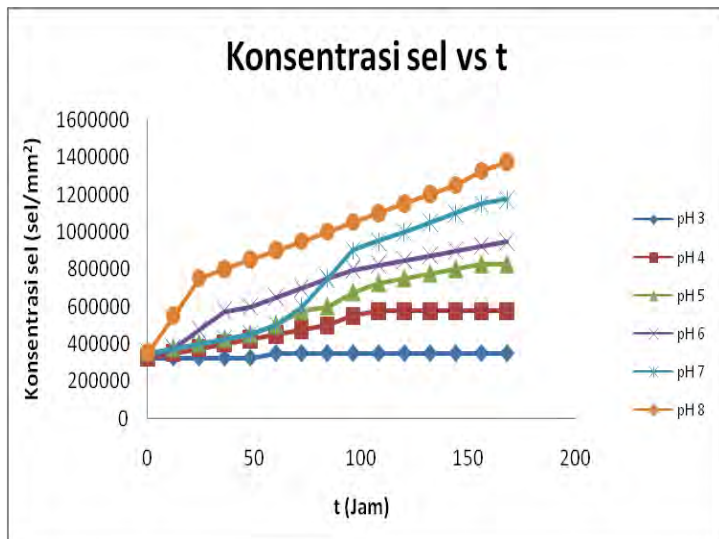
Tabel IV.3 Jumlah sel *Botryococcus braunii* hasil mutasi dengan HNO₂ pada pH 3 – 8

pH media	pH 3	pH4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
t (Jam)	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel
0	400000	350000	350000	350000	375000	350000
12	400000	400000	375000	400000	425000	425000
24	425000	500000	400000	425000	500000	550000
36	450000	650000	425000	475000	600000	600000
48	450000	800000	500000	550000	675000	700000
60	475000	1000000	625000	650000	825000	850000
72	500000	1100000	700000	750000	1025000	925000
84	525000	1200000	800000	850000	1125000	1100000
96	525000	1200000	900000	900000	1225000	1300000
108	525000	1200000	950000	950000	1300000	1400000
120	525000	1150000	975000	1000000	1375000	1500000

Dari tabel jumlah sel berikut dapat diketahui jumlah sel mikroalga *Botryococcus braunii* hasil mutasi HNO₂ setelah dikembangkan selama 5 hari pada pH 8 = 1500000 sel, pada pH 7 = 1375000 sel, pada pH 6 = 1000000 sel, pada pH 5 = 975000 sel, pada pH 4 = 1150000 sel, dan pada pH 3 = 525000 sel.

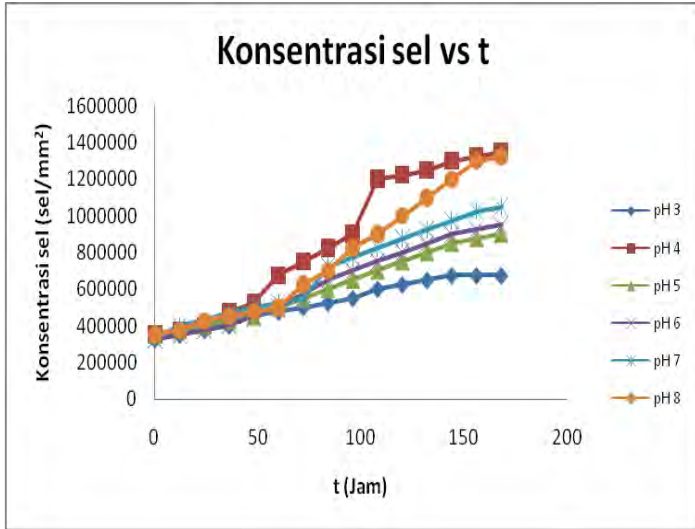
IV.5 Perbandingan Pertumbuhan *Botryococcus braunii* alami dan hasil mutasi dengan sinar UV B pada media dengan ph 3, 4, 5, 6, 7, dan 8

Untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan hasil mutasi dengan sinar UV maka, di buatlah plot untuk membandingkan pertumbuhan sel mikroalga alami dan mutan. Dibuat plot pertumbuhan mikroalga alami pada berbagai pH dan juga mikroalga mutan pada berbagai pH. Pengamatan dilakukan dengan metode *counting chamber*. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.20. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



Gambar IV.20 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* alami pada pH = 3 - 8

Dari grafik dapat kita lihat bahwa semakin asam media tumbuh mikroalga, maka pertumbuhan sel mikroalga *Botryococcus braunii* alami semakin lambat (tidak optimal). Terlihat pada pH 3 dan 4 mikroalga sangat sulit tumbuh. Hal ini sesuai dengan percobaan yang dilakukan oleh (Nalewajko,dkk,1997). Dari hasil percobannya (Nalewajko,dkk,1997) menyimpulkan bahwa mikroalga alami tidak dapat tumbuh optimal pada pH di bawah 4,8 sebab, dinding sel mikroalga sudah tidak mampu lagi mempertahankan bentuknya untuk bertahan hidup. Pada pH asam ($\text{pH} < 7$), mikroalga akan mengkonsumsi karbon dari HCO_3^- (CO_2 yang terlarut di dalam air) untuk membentuk lapisan buffer yang berfungsi melindungi dirinya dari kondisi lingkungannya sehingga mengakibatkan menurunnya kadar CO_2 terlarut dalam air sehingga pH media berangsur – angsur naik. Namun keadaan ini hanya bisa berlangsung pada batas toleransi pH tertentu, dari percobaan Czeslawa angka toleransi yang dimungkinkan untuk tumbuh adalah pada $\text{pH} < 7 - \text{pH} > 4.8$



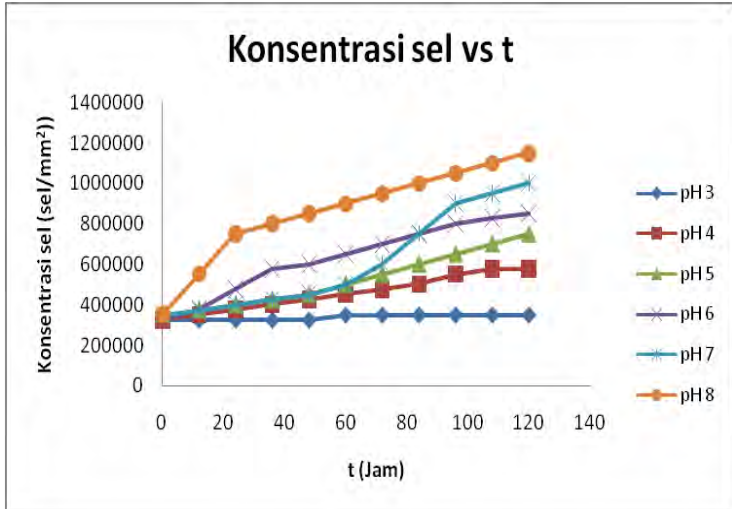
Gambar IV.21 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcusbraunii* hasil mutasi UV pada pH = 3 - 8

Sedangkan pada gambar IV.21 terlihat bahwa mikroalga pada pH 3 dapat bertumbuh dan menghasilkan sel yang lebih banyak dari *Botryococcus braunii* alami yang diperlihatkan pada grafik IV.20. Selain itu mikroalga pada pH 4 memiliki kemampuan berkembang biak yang sangat cepat hal itu menunjukkan kemampuan *Botryococcus braunii* hasil mutasi UV yang mampu beradaptasi dengan lingkungan dengan pH asam untuk tumbuh optimal. Sedangkan pada pH basa 7 dan 8 tidak berbeda jauh pertumbuhannya dengan *Botryococcus braunii* alami. Pada 0 – 50 jam rata – rata pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* hasil mutasi UV kecepatan tumbuhnya hampir sama, hal ini disebabkan karena jumlah sel mikroalga yang sangat kecil. Pada saat berumur 2 minggu jumlah sel sebelum disinari UV B = 7500000 sel dan setelah di sinari UV B hanya 2750 sel yang bertahan hidup. Olehnya pada keadaan awal pertumbuhan mikroalga lambat karena jumlah sel yang bertahan hidup sangat

kecil. Hal ini sesuai dengan percobaan yang dilakukan oleh (Nuanualsuwan, 2008) yang menyatakan bahwa setelah di sinar-i UV B <0,1% sel yang akan bertahan hidup. Pada percobaanya, Supachai meradiasikan sinar UV B terhadap virus.

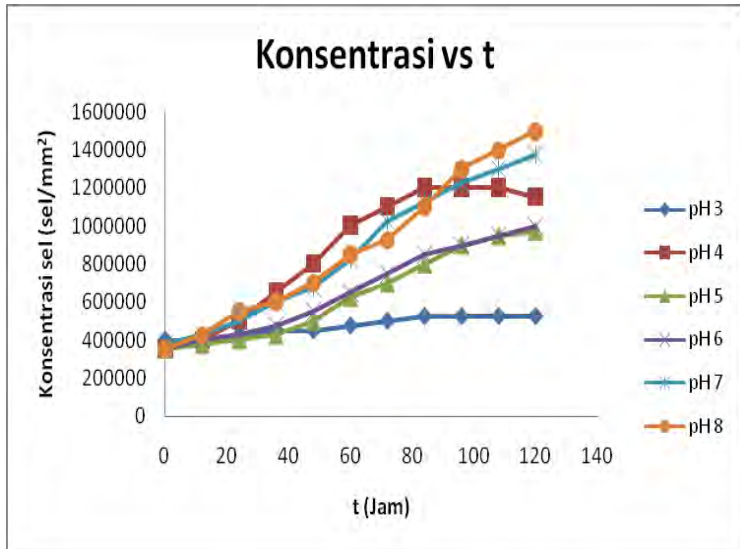
IV.6 Perbandingan Pertumbuhan *Botryococcus braunii* alami dan hasil mutasi dengan HNO₂ pada media dengan ph 3, 4, 5, 6, 7, dan 8

Untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan hasil mutasi dengan HNO₂ maka, di buatlah plot untuk membandingkan pertumbuhan sel mikroalga alami dan mutan. Dibuat plot pertumbuhan mikroalga alami pada berbagai pH dan juga mikroalga mutan pada berbagai pH. Pengamatan dilakukan dengan metode counting chamber. Larutan diencerkan dengan faktor pengenceran 100 kali dan diamati dengan mikroskop. Dari pengamatan kemudian dibuat kurva pertumbuhan seperti pada grafik IV.22. Pengamatan ini dilakukan setiap 12 jam selama 7 hari.



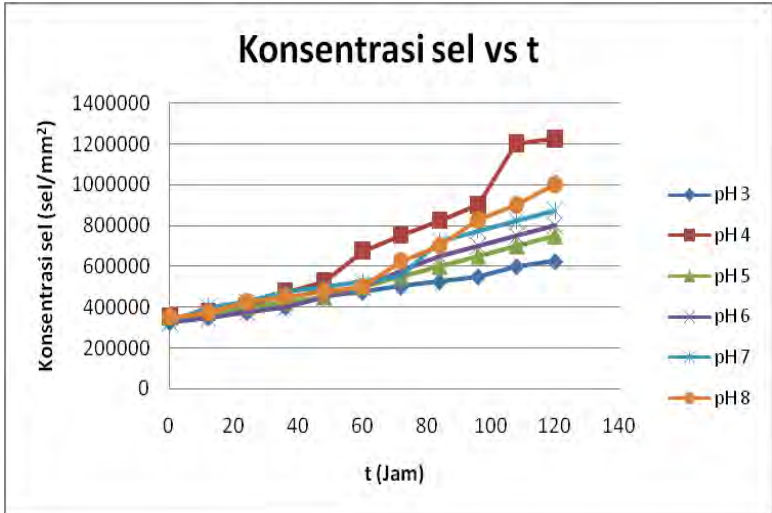
Gambar IV.22 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* alami pada pH = 3 – 8

Pada percobaan ini dilakukan pembiakkan mikroalga selama 120 jam. Pada grafik ini terlihat bahwa semakin asam medianya maka pertumbuhan mikroalga semakin lambat. Dari grafik kita dapat mengetahui bahwa mikroalga yang pertumbuhan selnya paling baik adalah pada pH = 8 hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Qin ,dkk, 2012) yang menyatakan bahwa mikroalga *Botryococcus braunii* alami tumbuh optimum pada pH = 8 dengan menggunakan media walne. Sedangkan mikroalga sangat sulit tumbuh pada pH = 3 sesuai dengan percobaan yang dilakukan (Nalewajko, 1997) yang menyatakan bahwa mikroalga tidak dapat tumbuh optimal pada pH <4.8.

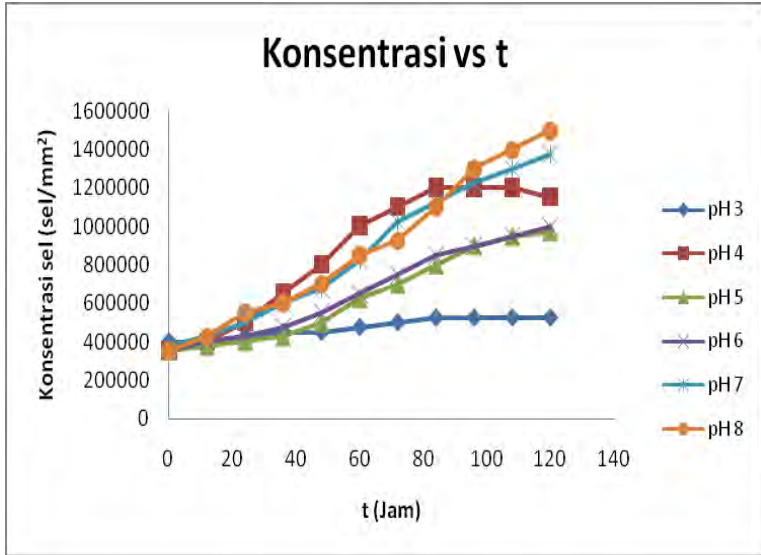


Gambar IV.23 Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan dengan HNO₂ pada pH = 3 – 8

Pada grafik terlihat bahwa sama halnya dengan mutasi menggunakan UV, mikroalga hasil mutasi dengan HNO₂ yang dibiakkan pada pH 4 dapat bertumbuh dengan cepat namun pada jam ke – 100 – 120 terjadi penurunan sel. Hipotesis sementara hal ini dikarenakan mikroalga kekurangan asupan nutrisi. Nutrisi lebih cepat habis karena kemampuan fotosintesis mikroalga mutan lebih cepat daripada mikroalga alami. Untuk membuktikan hal tersebut akan dilakukan penelitian lebih lanjut. Untuk membandingkan Grafik pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan dengan UV B dan HNO₂ dibuat plot sebagai berikut :



Gambar IV.24 Grafik pertumbuhan sel Mikroalga *Botryococcus braunii* mutan dengan UV pada pH = 3 – 8



Gambar IV.25 Grafik pertumbuhan sel Mikroalga *Botryococcus braunii* mutan dengan HNO_2 pada pH = 3 – 8

Terlihat pada gambar IV.24 *Botryococcus braunii* mutan dengan UV mencapai 1250000 sel pada jam ke 120 sedangkan *Botryococcus braunii* mutan dengan HNO_2 mencapai 1250000 sel pada jam ke 84 hal ini menunjukkan bahwa kecepatan tumbuh *Botryococcus braunii* mutan dengan HNO_2 lebih cepat bila dibandingkan dengan *Botryococcus braunii* mutan dengan UV. Begitupula untuk variasi pH yang lain bila kita membandingkan grafik IV.25 dan IV.24 tampak pertumbuhan sel *Botryococcus braunii* mutan dengan HNO_2 lebih cepat bila dibandingkan dengan *Botryococcus braunii* mutan. Namun pertumbuhan *Botryococcus braunii* mutan dengan HNO_2 pH 4 pada jam ke 100 – 120 mengalami penurunan. Sehingga dapat disimpulkan *Botryococcus braunii* mutan dengan UV lebih tahan lama bila dibandingkan dengan *Botryococcus braunii* mutan dengan HNO_2 .

IV.7 Perbandingan Pertumbuhan *Botryococcus braunii* alami dan hasil mutasi dengan HNO₂ dan UV B pada media dengan pH 3, 4, 5, 6, 7, dan 8

1. Perbandingan jumlah sel

Perbandingan jumlah sel mikroalga alami dan hasil mutasi dapat di lihat pada tabel berikut :

Tabel IV.4 Kenaikan jumlah sel *Botryococcus braunii* mutan dibandingkan dengan jumlah sel *Botryococcus braunii* alami

	Kenaikan Jumlah Sel (kali)					
pH	3	4	5	6	7	8
Mutan UV	1,93	2,35	1,1	tetap	0,89	0,96
Mutan HNO ₂	1,5	2	1,3	1,18	1,375	1,3

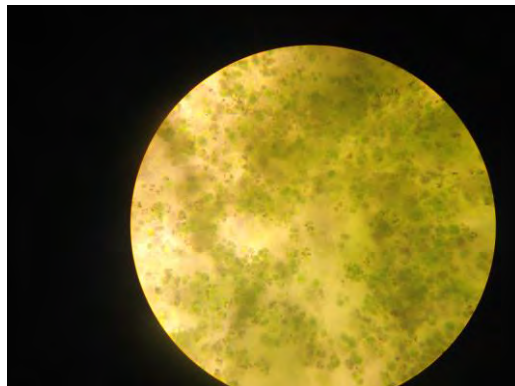
Dari tabel dapat kita simpulkan bahwa mikroalga *Botryococcus braunii* hasil mutasi lebih tahan terhadap asam bila dibandingkan *Botryococcus braunii* alami hal itu diperlihatkan dengan jumlah sel mikroalga *Botryococcus braunii* hasil mutasi yang mengalami kenaikan jumlah sel di bandingkan dengan mikroalga alami. Pada pH 3 mikroalga hasil mutasi dengan UV pertumbuhan selnya naik 1,93 kali dibandingkan dengan mikroalga alami, pada pH 4 naik 2,35 kali, pada pH 5 naik 1,1 kali, pada pH 6 tetap, pada pH 7 turun 0,89 kali, dan pada pH 8 turun 0,96 kali. Sedangkan mikroalga hasil mutasi dengan HNO₂ mengalami kenaikan jumlah sel 1,5 kali dibandingkan dengan mikroalga alami, pada pH 4 naik 2 kali lipat, pada pH 5 naik 1,3 kali pada pH 6 naik 1,18 kali, pada pH 7 naik 1,375 kali, pada pH 8 naik 1,3 kali.

2. Perbandingan Fisik

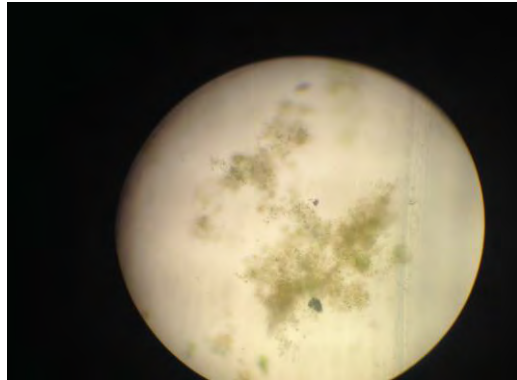
Secara fisik, mikroalga hasil mutasi memiliki bentuk fisik yang lebih besar dibandingkan dengan mikroalga alami. Perhatikan gambar di bawah ini :



Gambar IV. 26 Mikroalga Alami dengan perbesaran mikroskop 10x



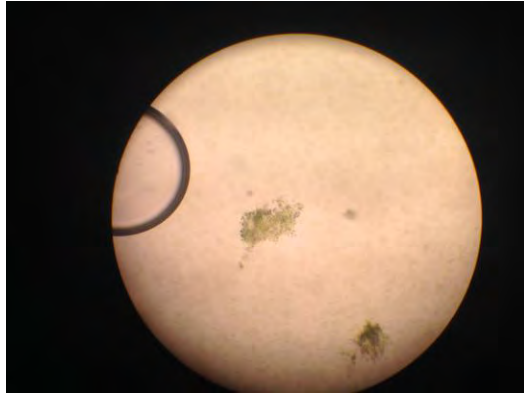
Gambar IV. 27 Mikroalga Alami dengan perbesaran mikroskop 40x



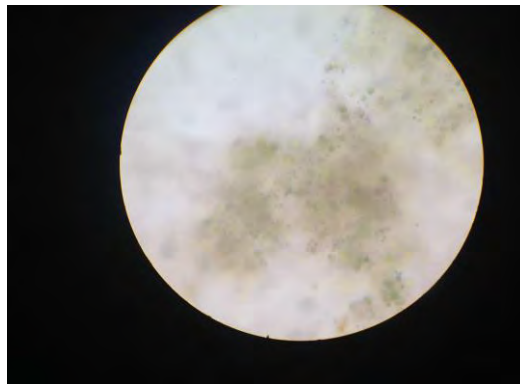
Gambar IV. 28 Mikroalga Mutasi UV dengan perbesaran mikroskop 10x



Gambar IV.29 Mikroalga Mutasi UV dengan perbesaran mikroskop 40x



Gambar IV.30 Mikroalga Mutasi HNO_2 dengan perbesaran mikroskop 10x



Gambar IV.31 Mikroalga Mutasi HNO_2 dengan perbesaran mikroskop 40x

Dari gambar jelas terlihat bahwa bentuk fisik mikroalga hasil mutasi lebih besar bila dibandingkan dengan mikroalga alami.

3. Ketahanan pada media asam

Mikroalga hasil mutasi memiliki kemampuan untuk beradaptasi dengan media asam dengan mereduksi asam pada media sehingga pH media berangsur – angsur naik, sedangkan pada mikroalga alami pH media semakin menurun hal ini disebabkan karena mikroalga alami tidak memiliki kemampuan untuk beradaptasi dengan lingkungan. pH media semakin asam karena media yang asam menurun dikarenakan adanya CO₂ yang terlarut di dalam air membentuk H₂CO₃

Tabel IV.5 Tabel Perubahan pH media mikroalga dari hari 1 – 5

	pH 3				
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5
Alami	3	3	3	2	2
Mutan UV	3	3	4	5	6
Mutan HNO ₂	3	4	4	5	6

	pH 6				
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5
Alami	6	6	6	7	7
Mutan UV	6	6	6	6	7
Mutan HNO ₂	6	6	6	6	7

	pH 4				
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5
Alami	4	4	4	3	3
Mutan UV	4	4	4	4	5
Mutan HNO ₂	4	4	4	4	5

	pH 7				
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5
Alami	7	7	7	7	7
Mutan UV	7	7	7	7	8
Mutan HNO ₂	7	7	7	7	8

	pH 5				
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5
Alami	5	5	5	4	4
Mutan UV	5	5	5	5	6
Mutan HNO ₂	5	5	5	5	6

	pH 8				
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5
Alami	8	8	8	8	8
Mutan UV	8	8	8	8	8
Mutan HNO ₂	8	8	8	8	8

Terlihat pada tabel bahwa pH media mikroalga alami semakin menurun sedangkan pH media mikroalga mutan berangsur – angsur naik, walaupun kenaikan pHnya tidak terlalu signifikan. Namun hal ini membuktikan bahwa mikroalga hasil mutasi lebih bisa beradaptasi dibandingkan dengan mikroalga alami.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan analisa yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan :

1. Mikroalga *Botryococcus braunii* hasil mutasi lebih tahan terhadap asam bila dibandingkan *Botryococcus braunii* alami hal itu diperlihatkan dengan jumlah sel mikroalga *Botryococcus braunii* hasil mutasi yang mengalami kenaikan jumlah sel di bandingkan dengan mikroalga alami. Pada pH 3 mikroalga hasil mutasi dengan UV pertumbuhan selnya naik 1,93 kali dibandingkan dengan mikroalga alami, pada pH 4 naik 2,35 kali, pada pH 5 naik 1,1 kali, pada pH 6 tetap, pada pH 7 turun 0,89 kali, dan pada pH 8 turun 0,96 kali. Sedangkan mikroalga hasil mutasi dengan HNO₂ mengalami kenaikan jumlah sel 1,5 kali dibandingkan dengan mikroalga alami, pada pH 4 naik 2 kali lipat, pada pH 5 naik 1,3 kali pada pH 6 naik 1,18 kali, pada pH 7 naik 1,375 kali, pada pH 8 naik 1,3 kali.
2. Mikroalga hasil mutasi memiliki kemampuan untuk beradaptasi dengan media asam dengan mereduksi asam pada media sehingga pH media berangsur – angsur naik, sedangkan pada mikroalga alami pH media semakin menurun hal ini disebabkan karena mikroalga alami tidak memiliki kemampuan untuk beradaptasi dengan lingkungan. pH media semakin asam karena media yang asam menurun dikarenakan adanya CO₂ yang terlarut di dalam air membentuk H₂CO₃
3. Secara fisik, mikroalga hasil mutasi memiliki bentuk fisik yang lebih besar dibandingkan dengan mikroalga alami

4. Mikroalga *Botryococcus braunii* alami dapat tumbuh maksimal pada pH 8 dengan jumlah sel 1375000 sel setelah dibiakkan selama 1 minggu. Mikroalga *Botryococcus braunii* alami tumbuh lambat pada pH < 7 terbukti dengan jumlah sel yang sedikit dibandingkan dengan pada pH 7 dan 8 (jumlahnya < 1000000 sel).
5. Mikroalga *Botryococcus braunii* hasil mutasi UV-B dapat tumbuh maksimal pada pH 4 dengan jumlah sel 1350000 sel dan tumbuh lambat pada pH 3 dengan jumlah sel 675000 sel tetapi Mikroalga *Botryococcus braunii* hasil mutasi UV-B pada pH 3 dapat bertumbuh lebih baik daripada *Botryococcus braunii* alami.
6. Mikroalga *Botryococcus braunii* mutan dengan HNO₂ dapat tumbuh maksimal pada pH 8 dengan jumlah sel = 1500000 sel dan tumbuh lambat pada pH 3 dengan jumlah sel = 525000 sel.
7. Mikroalga *Botryococcus braunii* hasil mutasi HNO₂ lebih cepat pertumbuhannya dibandingkan mikroalga *Botryococcus braunii* hasil mutasi UV- B.
8. Pada perhitungan jumlah sel dengan metode counting chamber, hanya sel yang masih hidup yang di hitung jumlahnya. Hal ini dapat diketahui pada warna mikroalga. Pada kondisi pertumbuhan optimal, mikroalga akan berwarna hijau tua pekat sedangkan mikroalga akan berwarna hijau kekuningan bila kondisi pertumbuhannya tidak optimal dan bahkan cenderung berwarna kuning bila mati. Sehingga dari perhitungan jumlah sel yang di hitung dapat di simpulkan bahwa sel mikroalga yang terhitung adalah sel mikroalga yang hidup dikarenakan warna mikroalga hijau tua pekat.

V.2 Saran

1. Sebaiknya sebelum percobaan di mulai dilakukan penyediaan bahan untuk mutasi yakni HNO₂ karena pemesanan bahan lama (sulit diperoleh) agar percobaan tidak tertunda.
2. Pemberian Walne diberikan rutin setiap hari agar mikroalga tidak kekurangan nutrisi. Sebab mikroalga yang kekurangan nutrisi akan mati karena tidak mampu melakukan fotosintesis.
3. Pemiakkan mikroalga sebaiknya dilakukan di dalam aquarium atau botol yang memiliki tutup sebab bila tutup reaktor tidak rapat akan menyebabkan media tumbuh mikroalga tidak steril.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengembangbiakkan mikroalga *Botryococcus braunii* mutan dengan HNO₂ pada konsentrasi yang lebih tinggi untuk mengetahui apakah penyebab mikroalga mengalami penurunan sel pada jam ke 100 – 120.
5. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk melakukan mutasi mikroalga *Botryococcus braunii* dengan berbagai bahan mutasi yang lain agar diketahui mutagen yang terbaik untuk melakukan mutasi mikroalga *Botryococcus braunii*.
6. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan mutasi mikroalga dengan spesies mikroalga yang berbeda dan dibandingkan hasilnya dengan mutan mikroalga *Botryococcus braunii*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulwahhab, Salwan Sami, "High-impact strength acrylic denture base material processed by autoclave," *Journal of Prosthodontic Research*, 288 – 293(2013).
- Arbianti, Rita, Sri Amini, Tania Surya Utami, Heri Hermansyah, dan Khairul Hadi, "Produksi Pelengkap Nutrisi Dari Mikroalga Laut *Spirulina plantesis* dan *Botryococcus braunii*," *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 243 – 249 (2013).
- Baba, Masato, Fumie Kikuta, Iwane Suzuki, Makoto M. Watanabe, dan Yoshihiro Shiraiwa, "Wavelength specificity of growth, photosynthesis, and hydrocarbon production in the oil-producing green alga *Botryococcus braunii*," *Bioresource Technology*, 266 – 270 (2012).
- Defloske, John van, "Illumination Fundamentals Rensselaer Polytecnic Institute United State of America, 2000.
- Garry, C.D, "Analytical Chemistry," Edisi ke -5, John Wiley and Son Inc : New York, 1994.
- Hadi Oetomo, R.S, "Mikrobiologi dalam Praktek; Teknik Prosedir Dasar Labolatorium", Bagian Mikrobiologi, FMIPA IPB : Bandung, 1983.
- Khopkar, S.M, "Dasar – Dasar Kimia Analitik," Universtas Indonesia Press : Jakarta, 1990.
- Nalewajko, Czeslawa, Brian Colman , dan Mary Olaveson, "Effects of pH on growth, photosynthesis, respiration, and copper tolerance of three *Scenedesmus* strains," *Environmental and Experimental Botany*, 153 – 160 (1997).
- Newton, J.W, D. D. Tyler, dan M. E. Sloski, "Effect of Ultraviolet-B (280 to 320 nm) Radiation on Blue- Green Algae (Cyanobacteria), Possible Biological Indicators of Stratospheric Ozone Depletion," *APPLIED AND*

ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, 1137 – 1141 (1979).

- Nuanualsuwan, Suphachai, Panithan Thongtha , Somjai Kamolsiripichaiporn , dan Supatsak Subharat, “UV inactivation and model of UV inactivation of foot-and-mouth disease viruses in suspension,” *International Journal of Food Microbiology*, 84 – 90 (2008).
- Qin, Song, Hanzhi Lin, dan Peng Jiang, “Advances in genetic engineering of marine algae,” *Biotechnology Advances* 1602 – 1613 (2012).
- Rahmat, Tirna Adhika, Rosa Delima Dias W.S, dan Danny Soetrinanto, “Kultivasi *Botryococcus braunii* Memanfaatkan Air Dadih (Whey) Tahu Sebagai Potensi Biodiesel,” *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 72 – 83 (2013).
- Ruangsomboon, Suneerat, “Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2,” *Bioresource Technology*, 261 – 265 (2012).
- Ryer, Alex, “Light Measurement Handbook,” *International Light Inc 17 : USA*, 1998.
- Tornabene, T.G, G. Holzer, S. Lien, dan N. Burris, “Lipid composition of the nitrogen starved green alga *Neochloris oleoabundans*,” *Enzyme Microbiology - Technology* vol.5, 435 – 439 (1983).
- Widjaja, Arief, Chao-Chang Chien , dan Yi-Hsu Ju, “Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*,” *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 13 – 20 (2009).
- Xiong, Fusheng, Ladislav Nedbal, dan Amir Neori, “Assessment of UV-B Sensitivity of Photosynthetic Apparatus among Microalgae: Short-term Laboratory Screening versus Long-term Outdoor Exposure,” *Journal of Plant Physiology*, 54 – 62 (1999).
- Yan, Guoan A, Xue Yan, dan Wei Wu, “Effects of the

Herbicide Molinate on Mixotrophic Growth, Photosynthetic Pigments, and Protein Content of *Anabaena sphaerica* under Different Light Conditions,” *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144 – 149 (1997).

Zhang, Kai, dan Eiichi Kojima, “Growth and Hydrocarbon Production of Microalga *Botryococcus braunii* in Bubble Column Photobioreactors,” *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 811 – 815 (1999).

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Erica Yunita Hutapea, anak kedua dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Jonni Hutapea dan Ibu Susana Waskitawati lahir di kota Surabaya, pada tanggal 10 Juni 1992. Penulis mulai mengenyam pendidikan di SDK Santo Joseph Waru, SMP Negeri 1 Waru, dan SMA Trimurti Surabaya. Pada jenjang perkuliahan penulis melanjutkan pendidikan S1 di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut

Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya. Dalam bidang organisasi, penulis pernah menjabat sebagai Staff Public Relationship and Communication HIMATEKK di Jurusan Teknik Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember periode 2011-2012. Penulis memilih Laboratorium Teknologi Biokimia dan selanjutnya melakukan penelitian dengan judul :

”PENGARUH PH TERHADAP PERKEMBANGBIAKKAN MIKROALGA *BOTRYOCOCCUS BRAUNII* ALAMI DAN MUTANNYA”

Email Penulis :

canthique.92@gmail.com

canthique92@ymail.com

Motto Hidup :

“Sciemce without religion is lame, religion without science is blind”

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Yohanes Andi Kurniawan, anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Hendro Santoso dan Ibu Erlin. Penulis dilahirkan di kota Bondowoso, pada tanggal 1 September 1991. Penulis mulai mengenyam pendidikan di SD Katolik Indra Siswa Bondowoso, SMP Katolik Indra Prastha Bondowoso, dan SMA Negeri 2 Bondowoso. Kemudian pada jenjang perkuliahan penulis melanjutkan pendidikan S1 di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Dalam bidang organisasi, penulis pernah menjabat sebagai Wakil Ketua Persekutuan Doa Teknik Kimia ITS periode 2011 – 2012 dan Wakil Ketua Persekutuan Mahasiswa Kristen ITS periode 2013 – 2014. Penulis memilih Labolatorium Teknologi Biokimia dan melakukan penelitian dengan judul : **”PENGARUH PH TERHADAP PERKEMBANGBIAKKAN MIKROALGA BOTRYOCOCCUS BRAUNII ALAMI DAN MUTANNYA”**

Email Penulis :

yohanesandik@yahoo.com

Motto :

“God always takes the simplest way”

APPENDIKS

A.1 Pembuatan Asam Sitrat 1 M

Bahan :

- Asam Sitrat Padat
- Aquades
- Gelas ukur 100 mL
- Erlenmeyer 250 mL

Perhitungan :

$$\text{Mr Asam Sitrat (C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 192$$

Asam Sitrat yang di inginkan : 1 M sebanyak 250 mL

$$M = n/v$$

$$1 = n/(0,25)$$

$$n = 0,25 \text{ mol (mol asam sitrat)}$$

$$\text{massa} = \text{mol} \times \text{Mr asam sitrat}$$

$$= 0,25 \times 192$$

$$= 48 \text{ gram}$$

Jadi, massa Asam sitrat yang diperlukan untuk membuat Asam sitrat 1 M sebanyak 250 mL = 48 gram.

Selanjutnya menimbang Asam Sitrat sebanyak 48 gram dan di encerkan dengan aquades hingga volumenya 250 mL.

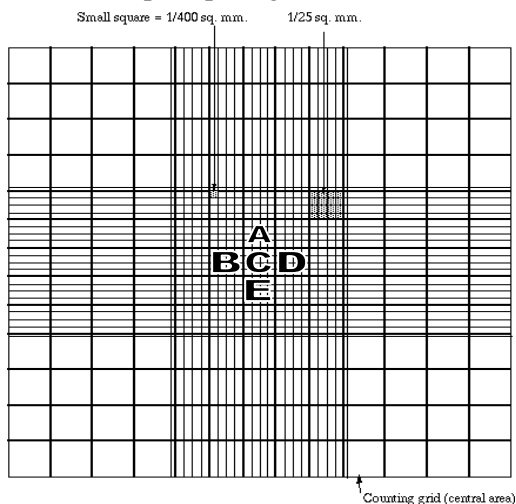
A.2 Analisa Counting Chamber

Bahan :

- Hemasitometer
- Mikroskop Listrik
- Gelas ukur 10 mL
- Tabung Reaksi

Langkah - langkah :

- Encerkan sample mikroalga yang akan di analisa dengan gelas ukur
- Ambil 1 mL sample dan encerkan dengan aquades hingga volumenya 10 mL
- Ambil 1 mL sample yang sudah diencerkan dan encerkan lagi dengan aquades hingga volumenya 10 mL
- Jadi pengenceran yang digunakan pengenceran 100 kali
- Tuangkan Larutan yang diencerkan ke dalam tabung reaksi
- Tetapkan 5 titik di kotak yang tersedia pada hemasitometer seperti pada gambar



<http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/microscopy/cellcounting.html> (10Juni2014-13.19WIB)

- Hitung jumlah sel pada kotak yang sudah ditentukan (A,B,C,D,E)
- Jumlahkan seluruh jumlah sel pada kotak A, B, C, D, dan E

Perhitungan :

$$\text{Jumlah sel/mm}^2 = \frac{\text{Jumlah sel pada 5 kotak} \times \text{pengenceran yang digunakan}}{0,04 \times \text{tebal hemasitometer}}$$

Contoh Perhitungan :

Misal jumlah sel pada 5 kotak = 14 dan pengenceran yang dilakukan 100 kali

$$\text{Jumlah sel/mm}^2 = \frac{14 \times 100}{0,04 \text{ mm} \times 0,1 \text{ mm}}$$

$$\text{Jumlah sel/ mm}^2 = 350.000 \text{ sel/mm}^2$$

Tabel A.1 Jumlah sel *Botryococcus braunii* alami pada pH 3 – 8

pH media	pH 3	pH 4	ph 5	pH 6	pH 7	pH 8
T (Jam)	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel
0	325000	325000	350000	325000	350000	350000
12	325000	350000	375000	375000	375000	550000
24	325000	375000	400000	475000	400000	750000
36	325000	400000	425000	575000	425000	800000
48	325000	425000	450000	600000	450000	850000
60	350000	450000	500000	650000	500000	900000
72	350000	475000	575000	700000	600000	950000
84	350000	500000	600000	750000	750000	1000000
96	350000	550000	675000	800000	900000	1050000
108	350000	575000	725000	825000	950000	1100000
120	350000	575000	750000	850000	1000000	1150000
132	350000	575000	775000	875000	1050000	1200000
144	350000	575000	800000	900000	1100000	1250000
156	350000	575000	825000	925000	1150000	1325000
168	350000	575000	825000	950000	1175000	1375000

Tabel A.2 Jumlah sel *Botryococcus braunii* hasil mutasi dengan UV pada pH 3 – 8

pH media	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
t(Jam)	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel
0	325000	350000	350000	325000	325000	350000
12	350000	375000	375000	350000	400000	375000
24	375000	400000	400000	375000	425000	425000
36	400000	475000	425000	400000	475000	450000
48	450000	525000	450000	450000	500000	475000
60	475000	675000	500000	500000	525000	500000
72	500000	750000	550000	575000	550000	625000
84	525000	825000	600000	650000	725000	700000
96	550000	900000	650000	700000	775000	825000
108	600000	1200000	700000	750000	825000	900000
120	625000	1225000	750000	800000	875000	1000000
132	650000	1250000	800000	850000	925000	1100000
144	675000	1300000	850000	900000	975000	1200000
156	675000	1325000	875000	925000	1025000	1300000
168	675000	1350000	900000	950000	1050000	1325000

Tabel A.3 Jumlah sel *Botryococcus braunii* hasil mutasi dengan HNO₂ pada pH 3 – 8

pH media	pH 3	pH4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
t (Jam)	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel	Jumlah sel
0	400000	350000	350000	350000	375000	350000
12	400000	400000	375000	400000	425000	425000
24	425000	500000	400000	425000	500000	550000
36	450000	650000	425000	475000	600000	600000
48	450000	800000	500000	550000	675000	700000
60	475000	1000000	625000	650000	825000	850000
72	500000	1100000	700000	750000	1025000	925000
84	525000	1200000	800000	850000	1125000	1100000
96	525000	1200000	900000	900000	1225000	1300000
108	525000	1200000	950000	950000	1300000	1400000
120	525000	1150000	975000	1000000	1375000	1500000