

## Efek Bikarbonat, Besi, dan Garam terhadap Produktivitas Lipid *Chlorella sp.* yang Diekstrak dengan Metode *Osmotic Shock*

### Effect of Bicarbonate, Iron, and Salt, on Lipid Productivity of *Chlorella sp.* Extracted by Osmotic Shock Method

M. M. Azimatun Nur \*

Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Yogyakarta,  
Jl. SWK 104 Condongcatur Sleman Yogyakarta, 55283, Indonesia.

#### Artikel histori :

Diterima 11 Desember 2014  
Diterima dalam revisi 12 Desember 2014  
Diterima 20 Desember 2014  
Online 29 Desember 2014

**ABSTRAK:** Semakin menipisnya ketersediaan energi fosil di Indonesia tidak bisa dihindari lagi. Diperlukan suatu sumber energi alternatif yang ramah lingkungan namun dapat diperbaharui dengan jumlah yang besar. Salah satu sumber biofuel yang cukup berkembang di Indonesia adalah biodiesel. Namun permasalahan bahan baku menjadi kendala seiring kebutuhan pasar yang semakin tinggi. *Chlorella sp.* merupakan jenis mikroalga yang berpotensi sebagai sumber biodiesel. Penelitian ini bertujuan mengoptimasi pengaruh bikarbonat, besi, dan garam dapur terhadap pertumbuhan, biomassa, lipid, dan produktivitas lipid yang dihasilkan. Penelitian dilakukan menggunakan rancangan faktorial  $2^3$  selama 6 hari. Kultivasi dijaga pada pH 6,2-7,4 dengan intensitas cahaya 6000 lux. Ekstraksi lipid menggunakan metode osmotik shock biomassa basah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan bikarbonat dan besi berpengaruh positif terhadap produktivitas lipid. Sementara penambahan garam dapur berpengaruh positif terhadap pembentukan biomassa dan laju pertumbuhan.

**Kata Kunci:** *Chlorella sp.*; Ekstraksi Osmotic Shock; bikarbonat; besi; garam.

**ABSTRACT:** Fossil energy depletion in Indonesia can not be neglected. It is needed renewable energy that environmental friendly and meets demand consumption. One of promising biofuel in Indonesia is biodiesel. However lack of feedstock is main problem due to increasing of customer needs. *Chlorella sp.* is kind of microalgae that potential for biodiesel source. This research is purposed to optimize influence of bicarbonate, iron, and salt in growth, biomass, and lipid productivity of *Chlorella sp.* The research was done in  $2^3$  factorial design in 6 days. Cultivation was maintained in pH 6,2-7,4 and 6000 lux light intensity. Extraction was done by osmotic shock method using wet biomass. Result indicates that addition of bicarbonate and iron give positive effect on lipid productivity. Addition of salt give positive effect on biomass and growth rate.

**Keywords:** *Chlorella sp.*; Osmotic Shock Extraction; bicarbonate; iron; salt.

#### 1. Pendahuluan

Semakin menipisnya ketersediaan energi fosil di Indonesia tidak bisa dihindari lagi. Sehingga diperlukan suatu sumber energi alternatif yang ramah lingkungan namun dapat diperbaharui dengan jumlah yang besar. Pemerintah mendorong diberlakukannya peningkatan pencampuran biofuel dari 2% pada tahun 2010, meningkat 3% tahun 2015, dan diharapkan menjadi 5% di tahun 2025.

Salah satu sumber biofuel yang cukup berkembang di Indonesia adalah biodiesel. Pada tahun 2010, kapasitas produksi diharapkan mencapai 5,57 juta KL/tahun. Namun permasalahan bahan baku menjadi kendala seiring kebutuhan pasar yang semakin tinggi. Chisti (2007) dalam

paparannya menyatakan bahwa biomassa dari mikroalga dijadikan biodiesel. Dalam laporannya, Chisti (2007) memprediksi bahwa mikroalga yang memiliki kandungan lipid 30%, dapat memproduksi minyak sebanyak 58.700 L/ha, lebih besar di banding jagung 172 L/ha, maupun minyak kelapa sawit 5950 L/ha.

Mikroalga merupakan tumbuhan bersel satu yang dapat hidup berfotosintesis menghasilkan biomassa dan produk sekunder lain seperti protein, karbohidrat, dan lemak dengan memanfaatkan nutrisi dalam kondisi lingkungan tertentu. Salah satu jenis mikroalga yang menjanjikan untuk dijadikan sumber biodiesel adalah *Chlorella sp.*

Berdasarkan laporan Rasoul-Amini *et al.* (2011), jenis *Chlorella sp.* mampu menghasilkan asam lemak jenuh

\*Corresponding Author:(0274) 486733  
Email: lanaazim@upnyk.ac.id

yang tinggi. Beberapa penelitian sebelumnya mengenai optimasi faktor-faktor yang berpengaruh telah banyak dilakukan (Yeesang & Cheirsilp, 2011; Liu *et al.*, 2008; Perez-Pazor *et al.*, 2011).

Namun beberapa faktor lain masih perlu dicari dan dioptimasi untuk mengetahui model produktifitas lipid tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui faktor penambahan bikarbonat, besi, dan garam dapur terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, lipid, dan produktifitas lipid. Penelitian ini juga menggunakan ekstraksi biomassa basah yang bertujuan untuk menurunkan biaya pengeringan mikroalga.

## 2. Metode Penelitian

### 2.1. Bahan Penelitian

Bibit *Chlorella sp* diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Selanjutnya *Chlorella sp* dikultivasi sebagai kontrol dan stok dengan media modifikasi Gusrina (Hadiyanto *et al.*, 2012) yang terdiri dari 45 ppm urea sebagai sumber nitrogen, 30 ppm TSP (triple super phosphate) sebagai sumber phosphate, 1ppm FeCl<sub>3</sub> dan 25 µg/l vitamin B12 sebagai sumber mikronutrien. Bahan kimia lain seperti HCl, NaCl teknis, dan n-hexana diperoleh dari toko kimia CV Indrasari Semarang.

### 2.2. Optimasi Kultivasi *Chlorella sp*

Kultivasi *Chlorella sp* dilakukan pada botol erlenmeyer 2 liter dengan mengubah komposisi media sebagai variabel berubah dengan menggunakan desain penelitian faktorial 2<sup>3</sup>.

**Tabel 1.** Rancangan Percobaan Factorial Design 2<sup>3</sup>

Run	NaHCO <sub>3</sub>	FeCl <sub>3</sub>	NaCl
1	20	1	10
2	75	1	10
3	20	5	10
4	75	5	10
5	20	1	30
6	75	1	30
7	20	5	30
8	75	5	30
kontrol	875	1	10

Kondisi operasi selama kultivasi dengan variabel tetap adalah pH 6,2-7,4 dengan pengaturan penambahan HCl maupun NaOH masing-masing 0,1 N. Intensitas cahaya diatur pada 6000 lux. Pompa mini aerator digunakan untuk mengaduk media.

Media lain yang digunakan adalah urea 40ppm, TSP 20 ppm, dan ZA 10 ppm. Rancangan percobaan desain faktorial 2<sup>3</sup> dapat dilihat pada Tabel 1 yang mengacu pada Perez-Pazos & Fernandez-Izquierdo (2011). Pertumbuhan *Chlorella sp* diukur menggunakan spektrofotometer SP 300 dengan panjang gelombang 680 nm. Pengukuran dilakukan pada hari ke-0 sampai hari ke-6. Selanjutnya data pertumbuhan digunakan untuk mengetahui laju pertumbuhan sesuai Persamaan 1.

$$\mu = \ln OD_1 - \ln OD_2 / t_x - t_0 \quad (1)$$

OD<sub>1</sub> adalah optical density pada hari ke-x, OD<sub>0</sub> adalah optical density pada hari ke-0, t<sub>1</sub> dan t<sub>0</sub> adalah waktu kultivasi pada hari ke-x dan hari ke-0.

### 2.3. Pemanenan Biomassa

Biomassa hasil kultivasi dipanen menggunakan metode flokulasi yang telah dimodifikasi dari Vandamme *et al.* (2014). Media kultivasi ditambahkan dengan NaOH 0,5 M secara kontinyu untuk meningkatkan pH sampai 10,5. Suspensi mikroalga kemudian diaduk dengan kecepatan 1000 rpm menggunakan magnetic stirrer selama 10 menit. Kemudian kecepatan diturunkan mencapai 250 rpm selama 20 menit. Setelah itu suspensi didiamkan selama 30 menit agar hasil biomassa mengendap dan terpisah dari media cairnya.

Biomassa dan media cair dipisahkan menggunakan dekanter. Biomassa dipekatkan menggunakan kertas saring whatman No. 041 dan pompa vakum. Biomassa dikeringkan pada suhu 70<sup>0</sup> C selama 5 jam. Berat biomassa kering dicatat sebagai W<sub>1</sub> (mg/l).

### 2.4. Ekstraksi Lipid *Chlorella sp* dengan Osmotic Shock

Pada penelitian ini lipid dari biomassa basah (dengan kandungan air 70%w) akan diekstrak menggunakan metode osmotic shock yang telah dimodifikasi dari Rachmaniah *et al.* (2010), Putri *et al.* (2014) dan J.-Y. Lee *et al.* (2010). Broth sebanyak 1gr dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50ml kemudian ditambah HCl 5M sebanyak 5 ml. Selanjutnya broth tersebut ditempatkan pada ultrasound bath Branson 5510 untuk menghancurkan lapisan selulosa pada *Chlorella sp.* selama 20 menit dengan suhu 35<sup>0</sup>C.

Broth tersebut ditambah dengan solven n-hexane dengan perbandingan 1:1 dan diaduk selama 2 jam agar tercampur rata. Campuran disonikasi lagi selama 20 menit. Campuran residu dan supernatant dipisahkan dengan kertas saring. Bagian supernatant yang mengandung lipid diambil. N hexane dipisahkan dari lipid dengan metode evaporasi pada suhu 60<sup>0</sup>C sampai diperoleh kandungan lipid yang murni. Lipid ditimbang sebagai W<sub>2</sub> (mg/l). Lipid total dihitung menggunakan persamaan 2.

$$L = (W_2/W_1) \times 100\% \quad (2)$$

Produktivitas lipid dihitung dengan persamaan 3

$$Y = (L \times W_2) / t \quad (3)$$

di mana Y adalah produktivitas lipid (mg/l/hari), dan t adalah durasi kultivasi.

### 2.4. Pengolahan Data Statistik

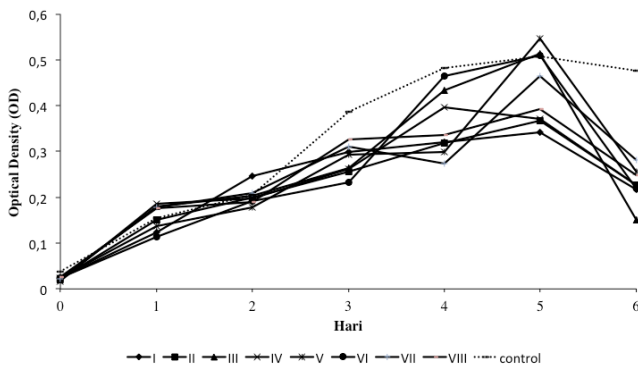
Selanjutnya data yang diperoleh akan diolah menggunakan software statistik Minitab 16 untuk mengetahui efek-efek yang berpengaruh, interaksi, model, dan kemungkinan prediksi optimasi yang diperoleh dengan metode ANOVA

signifikansi  $p < 0,05$ .

### 3. Hasil Percobaan dan Pembahasan

#### 3.1. Pertumbuhan *Chlorella sp*

Pertumbuhan *Chlorella sp* pada berbagai komposisi NaCl, FeCl<sub>3</sub>, dan NaHCO<sub>3</sub> dapat dilihat pada Gambar 1 di mana pertumbuhan tertinggi diperoleh pada run ke 5. Sedangkan puncak pertumbuhan ke dua dapat dilihat pada kontrol, run ke 6 dan ke 3. Hampir semua puncak pertumbuhan berada pada hari ke 5. Hanya run ke 4 yang terlihat memiliki pertumbuhan puncak pada hari ke 4.



**Gambar 1.** Profil pertumbuhan *Chlorella sp* pada berbagai run percobaan

Pada run ke 5, medium dipengaruhi oleh NaCl yang disetting dengan 30 ppt, sementara variabel lain disetting pada level rendah. Pada Tabel 2, laju pertumbuhan  $\mu$  diperoleh sebesar 0,28. Sedangkan pada run percobaan ke 1, di mana salinitas disetting pada level rendah, diperoleh  $\mu$  sebesar 0,08.

Percobaan ini menunjukkan bahwa laju pertumbuhan dipengaruhi oleh salinitas yang tinggi. Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Shah *et al.* (2003), di mana pada hari ke 6 hingga 9, salinitas 15 ppt memberikan pertumbuhan lebih tinggi dari 10 dan 5 ppt.

Ini dimungkinkan karena *Chlorella sp* yang diperoleh berasal dari daerah pesisir laut Jawa di mana salinitas mendekati air laut sebesar 30 ppt. Kandungan mineral yang ada di NaCl teknis juga memungkinkan memberikan pengaruh pada pertumbuhan *Chlorella sp*.

#### 3.2. Produktifitas Lipid

Pada Tabel 2, lipid tertinggi diperoleh pada run ke 4, di mana penambahan FeCl<sub>3</sub> dan NaHCO<sub>3</sub> pada level tinggi memberikan pengaruh pada kandungan lipid L sebesar 26%. Selanjutnya diikuti oleh run ke 8. Sepertinya pengaruh penambahan sumber karbon, besi dan garam yang tinggi mampu meningkatkan kondisi stress dari mikroalga.

Hal ini juga dapat dilihat pada run percobaan kontrol, yang memiliki kadar lipid paling rendah sedangkan kandungan biomasanya paling tinggi. Pada run kontrol, kondisi medium dalam keadaan ideal. Proses fotosintesis berjalan dengan baik sehingga mampu mengakumulasi

biomasa lebih banyak. Yeesang dan Cheirsilp (2011) menyatakan bahwa penambahan Fe<sup>3+</sup> memungkinkan mikroalga mengakumulasi lipid lebih tinggi namun dalam keadaan kekurangan nitrogen. Hasil ini juga diperkuat oleh pernyataan Liu *et al.* (2008) yang menemukan bahwa penambahan 1,2 x 10<sup>-5</sup> mol/L FeCl<sub>3</sub> memberikan kenaikan lipid sebesar 56,6%. Duan *et al.* (2012) juga memaparkan semakin kecil penambahan NaCl pada *Chlorella vulgaris*, maka kandungan lipid yang diperoleh semakin besar namun mengurangi laju pertumbuhan.

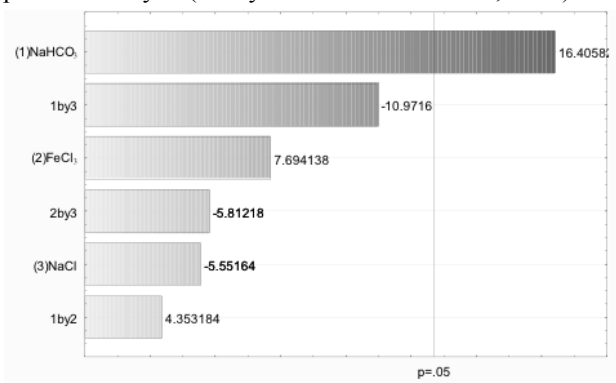
**Tabel 2.** Hasil Percobaan Factorial Design 2<sup>3</sup>

Run	NaHCO <sub>3</sub>	FeCl <sub>3</sub>	NaCl	W <sub>1</sub>	L	$\mu$	Y
1	20	1	10	0,22	0,07	0,08	2,64
2	75	1	10	0,30	0,17	0,15	9,00
3	20	5	10	0,22	0,13	0,23	5,00
4	75	5	10	0,32	0,26	0,16	14,44
5	20	1	30	0,34	0,09	0,28	5,60
6	75	1	30	0,28	0,13	0,25	6,20
7	20	5	30	0,28	0,11	0,20	5,17
8	75	5	30	0,28	0,16	0,18	7,71
kontrol	0	0	0	0,20	0,06	0,23	2,38

#### 3.3. Faktor Berpengaruh

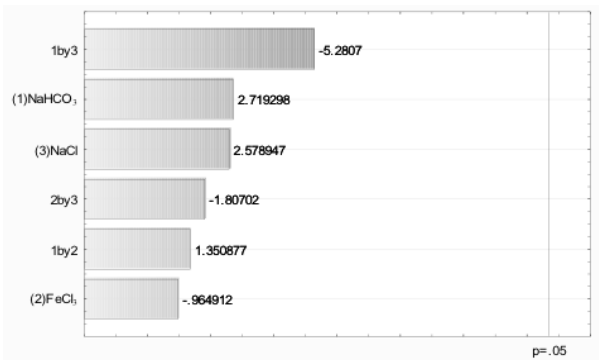
Untuk mengetahui efek lebih lanjut, dilakukan pengolahan data statistik. Hasil perhitungan Minitab 17 (Gambar 2) menunjukkan bahwa produktifitas lipid paling dipengaruhi oleh NaHCO<sub>3</sub> ( $p < 0,05$ ), diikuti dengan FeCl<sub>3</sub> dan kombinasi antara FeCl<sub>3</sub> dan NaCl. Hasil perhitungan ini menunjukkan bahwa semakin tinggi efek NaHCO<sub>3</sub> dan FeCl<sub>3</sub> yang ditambahkan akan meningkatkan produktifitas lipid. Sedangkan pada efek 2 dan 3 yang bernilai negatif menunjukkan gabungan tersebut jika dikurangi akan meningkatkan produktifitas lipid. Produktifitas lipid sendiri sebenarnya tidak hanya dipengaruhi oleh kandungan lipid, tetapi juga kandungan biomassa, dan laju pertumbuhan.

Gambar 2 juga menunjukkan bahwa penambahan NaCl teknis memiliki pengaruh negatif terhadap produktifitas lipid. Artinya jika NaCl yang ditambahkan semakin sedikit, maka akumulasi akan semakin tinggi. Hal ini dimungkinkan karena medium dalam kondisi stress (tidak ideal) sehingga *Chlorella sp* akan mengakumulasi energi dalam bentuk lipid. Kondisi stress lain adalah dengan menurunkan kadar nitrogen dalam medium seperti penelitian Widjaja *et al.* (2009). Pada kondisi ini, rasio antara C/N tidak ideal, sehingga *Chlorella* mengakumulasi lipid lebih banyak (Hadiyanto & Azimatun Nur, 2014).



**Gambar 2.** Efek estimasi produktifitas lipid (nilai absolut)

Pada Gambar 3, diperoleh nilai yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Produktifitas biomassa dipengaruhi oleh nilai positif penambahan NaCl, diikuti nilai negatif dari gabungan  $\text{NaHCO}_3$  dan NaCl. Penambahan  $\text{NaHCO}_3$  maupun  $\text{FeCl}_3$  secara sendiri-sendiri memberikan nilai positif. Estimasi ini memungkinkan bahwa laju pertumbuhan mikroalga seiring dengan pembentukan biomassa mikroalga tersebut. Sultana dan Hussain (1989) memperkuat hasil penelitian tersebut, di mana biomassa tertinggi diperoleh pada penambahan NaCl 30 dan 35 ppt, di mana waktu optimum diperoleh pada masing-masing 9 dan 10 hari.

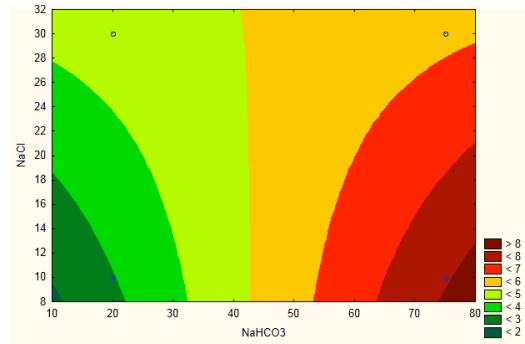
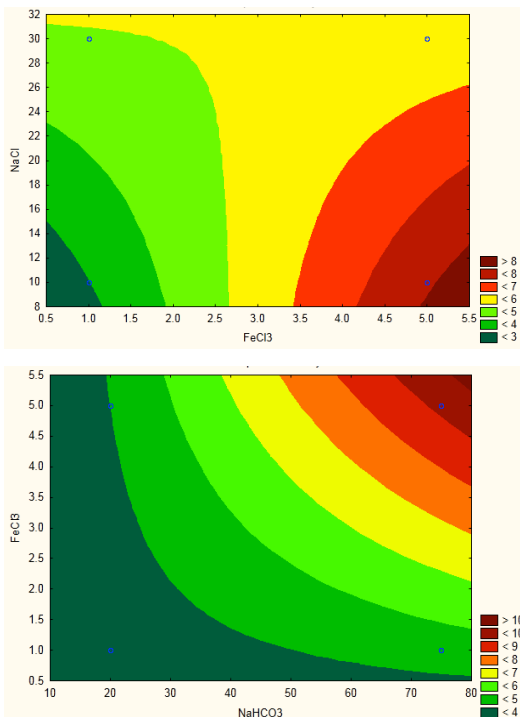


**Gambar 3.** Efek estimasi produktifitas biomassa (nilai absolut)

**3.4. Optimasi Produktifitas Lipid**

Berdasarkan perhitungan software statistik Minitab 16, diperoleh hasil optimasi yang menyatakan bahwa kondisi optimum untuk produktifitas lipid adalah sesuai persamaan 4 dengan perhitungan regresi untuk *response surface method* (RSM) orde satu dengan  $R^2$  sebesar 94%.

$$Y = 4,7x_1 + 2,2x_2 - 0,16x_3 + 1,25x_1x_2 - 3,16x_1x_3 - 1,67x_2x_3 + 6,96 \quad (4)$$



**Gambar 4.** Optimasi produktifitas lipid

Sesuai pada Gambar 4, letak kondisi optimum untuk produktifitas lipid ( $Y$ ) agar lebih dari 8 mg/l/hari adalah pada  $\text{FeCl}_3$  ( $x_2$ ) lebih besar 5,5 ppm, NaCl ( $x_3$ ) lebih kecil dari 8 ppt, sedangkan  $\text{NaHCO}_3$  ( $x_1$ ) berada pada konsentrasi lebih besar dari 80 ppm.

**4. Kesimpulan**

Penelitian telah dilakukan untuk mengetahui efek yang berpengaruh terhadap *Chlorella sp.* Penambahan  $\text{NaHCO}_3$  dan  $\text{FeCl}_3$  memberikan pengaruh positif terhadap produktifitas lipid, sedangkan penambahan NaCl teknis memberikan pengaruh positif terhadap biomassa dan laju pertumbuhan *Chlorella sp.* Hasil pemodelan regresi RSM yang didapatkan adalah  $Y = 1,87x_1 + 1,6x_2 - 0,169x_3 + 1,26x_1x_2 - 1,09x_1x_3 - 1,329x_2x_3 - 6,34$ . Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui variabel lain yang berpengaruh signifikan terhadap produktifitas biomassa *Chlorella sp.*

**Ucapan Terima kasih**

Ucapan terima kasih kepada segenap tim Center of Biomass and Renewable Energy (C-BIORE) Laboratorium Bioproses Teknik Kimia UNDIP.

**Daftar Pustaka**

Chisti, Y., 2007, Biodiesel from microalgae, *Biotechnology Advances*, Vol. 25, 294-306.  
 Duan, Xu., Ren, Guang, Yue., Liu, L.L., Zhu, W.Xue., 2012, Salt-induced osmotic stress for lipid overproduction in batch culture of *Chlorella vulgaris*. *African J. Biotechnol.*, Vol.11 (27): 7072-7078.  
 Hadiyanto, H., Azimatun Nur, M.M. & Hartanto, G.D., 2012, Cultivation of *Chlorella sp.* as biofuel sources in Palm Oil Mill Effluent (POME). *Int. J. Renew Energ Dev.*, Vol.1 (2), May: 45-49.  
 Hadiyanto., Azimatun Nur, M.M., 2014, Lipid extraction of microalgae *Chlorella sp.* Cultivated in Palm Oil Mill Effluent (POME) Medium. *World Appl. Sci. J.*, Vol. 31 (5): 959-967.  
 Lee, Jae-Yon., Yoo, Chan., Jun, So-Young., Ahn, Chi-Yong., Oh, Hee-Mock., 2010. Comparison of several

- methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource Technol.*, Vol. 101: 575-577.
- Liu, Z.-Y., Wang, G.-C., Zhou, B.-C., 2008, Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technol.*, Vol. 99: 4717-4722.
- Perez-Pazos, J.-V., Fernandez-Izquierdo, P., 2011, Synthesis of neutral lipids in *Chlorella* sp. under different light and carbonate conditions. *Cience. Technol. Futuro.*, Vol. 4 (4). Dec: 47-57.
- Putri, S. R., Lutfi, M., Susilo, B., 2014, Ekstraksi minyak dari mikroalga jenis *Chlorella* sp. dengan menggunakan metode osmotik berbantuan ultrasonik. *J. Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem.*, Vol. 2(3), Oktober:198-204.
- Rahmaniah, O., Setyarini, R.D., Maulida, L., 2010. Pemilihan Metode Ekstraksi Minyak alga dari *Chlorella* sp. dan Prediksinya sebagai Biodiesel. *Seminar Teknik Kimia Soehadi Reksowardojo*.
- Rasoul-Amini, Sara., Montazeri-Najafabady, N., Mobasher, M.A., Hoseini-Alhashemi, S., Ghasemi, Y., 2011. *Chlorella* sp.: a new strain with highly saturated fatty acids for biodiesel production in bubble-column photobioreactor. *Applied Energy*. Vol 88. No.10, 3354-3356.
- Shah, M.M.R., Alam, M.J., Mia, M.Y., 2003. *Chlorella* sp.: Isolation, pure culture and small scale culture in brackish water. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* Vol.38. No.3-4, 165-174.
- Sultana, N., Hossain, M.A., 1989. Mass-scale mono-culture of marine unicellular algae *Chlorella minutissima* under different salinities. *Indian J. Fish.*, Vol. 36(4): 307-313.
- Vandamme, D., Fourbert, I., Fraeye, I., Muylaert, K., 2012, Influence of organic matter generated by *Chlorella vulgaris* on five different modes of flocculation. *Bioresource Technology.*, Vol. 124: 508-511.
- Widjaja, A., Chien, C.-C., Ju, Y.-H., 2009, Study of increasing lipid production from freshwater microalgae *Chlorella vulgaris*. *J. Taiwan Inst. Chem. Engineers.*, Vol. 40: 13-20.
- Yeesang, C., Cheirsilp, B., 2011, Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid productivity by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. *Bioresource Technology.*, Vol.102: 3034-3040.