

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

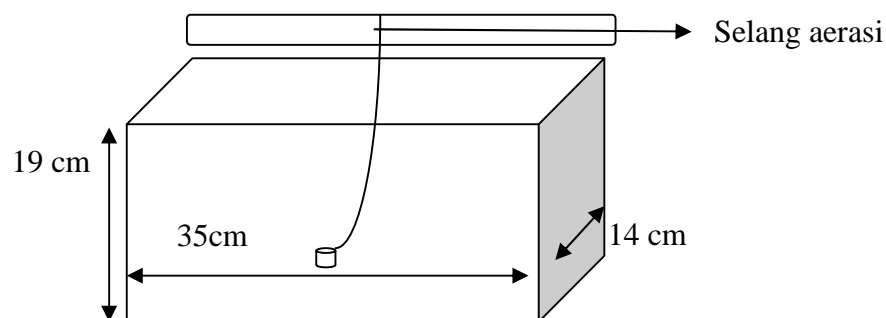
Proses Kultivasi mikroalga *Nannochloropsis sp.* dilaksanakan di Laboratorium Fitoplankton Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung (BBPBL Lampung) sedangkan analisis dilaksanakan di Laboratorium Kualitas Air Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung (BBPBL Lampung) dan Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada bulan Maret- Mei 2015.

3.2. Bahan dan Alat

Media kultivasi yang digunakan untuk proses kultivasi mikroalga *Nannochloropsis sp.* dalam penelitian ini adalah limbah cair karet remah PTPN VII Way Berulu yang berasal dari outlet Fakultatif II IPAL pengolahan air limbah. Mikroalga yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroalga *Nannochloropsis sp.* yang diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung (BBPBL Lampung).

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam proses pemanenan serta analisis sampel adalah air laut steril, pupuk *conwy*, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ teknis atau tawas (kadar Al_2O_3 17%), NaOH p.a (BDH/ Merck 6498), dan kloroform.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah reaktor terbuka yang terbuat dari kaca berukuran (35x14x19) cm dengan volume kerja 5 L, yang dilengkapi dengan aerator. Alat yang digunakan untuk analisis sampel adalah mikroskop, *haemocytometer*, *handcounter*, aluminium foil, oven, neraca analitik, pH meter, kain satin, seperangkat alat sokhlet, dan peralatan penunjang lainnya.



Gambar 5. Desain reaktor

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dimulai dengan melakukan kultivasi Mikroalga *Nannochloropsis sp.* selama 8 hari dalam media limbah cair karet remah yang berasal dari Kolam Fakultatif II IPAL PTPN VII Way Berulu. Selanjutnya, setelah proses kultivasi, dilakukan pemanenan mikroalga dengan metode flokulasi menggunakan aluminium sulfat (Al_2SO_4)₃ dengan dosis 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 mg/L. Pengamatan yang dilakukan meliputi kepadatan sel mikroalga harian, pH pada akhir kultivasi dan setelah pemberian flokulan, perolehan biomassa kering, efisiensi flokulasi, dan ekstraksi minyak mikroalga pada perolehan biomassa tertinggi. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga menghasilkan

6x 3= 18 satuan percobaan. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik yang dianalisis secara deskriptif.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Persiapan Bibit Mikroalga

Bibit mikroalga diperoleh dari proses kultivasi *outdoor* dalam reaktor terbuka dengan mengkultur sebanyak 1000 mL bibit murni *Nannochloropsis sp.* ke dalam 4000 mL media air laut yang telah disterilisasi dalam satu reaktor terbuka.

Setelah itu ditambahkan pupuk *Conwy* sebanyak 1mL/ L. Pupuk *Conwy* yang digunakan berbentuk cair atau larutan yang tersusun dari senyawa kimia yang merupakan sumber nutrisi utama. Komposisi pupuk *Conwy* disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Pupuk *Conwy* skala laboratorium

No	Bahan Kimia	Takaran per liter
1.	EDTA	45 gram
2.	NaH ₂ PO ₄ . 2H ₂ O	20 gram
3.	FeCl ₃ . 6H ₂ O	1,5 gram
4.	H ₃ BO ₃	33,6 gram
5.	MnCl ₃	0,30 gram
6.	NaNO ₃	100 gram
7.	Na ₂ SO ₃ . 9H ₂ O	-
8.	Trace Metal Solution	1 mL
9.	Vitamin	1 mL
10.	Aquades	Hingga 1000 mL

Sumber : BBPBL, 2007

Proses pembuatan bibit dilakukan dalam dua reaktor terbuka sehingga menghasilkan 10 L bibit *Nannochloropsis sp.* untuk satu kali ulangan. Hasil dari proses kultivasi ini yang kemudian digunakan sebagai bibit untuk di kultivasi dalam media limbah cair karet remah.

3.4.2. Kultivasi

Kultivasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah kultivasi dalam sistem kolam terbuka dengan memasukkan bibit mikroalga *Nannochloropsis sp* sebanyak 25% (1250 mL) pada 75% (3750mL) media limbah cair industri karet remah Kolam Fakultatif II IPAL PTPN VII Way Berulu ke dalam 1 reaktor. Pada penelitian ini dilakukan kultivasi sebanyak 6 reaktor untuk satu kali ulangan, dimana 1 reaktor akan digunakan untuk satu dosis flokulan pada proses pemanenan. Kultivasi berlangsung selama 8 hari dengan dilakukan pencahayaan secara alami dengan sinar matahari serta penggunaan aerator untuk suplay udara dan sebagai pengaduk. Dilakukan pengamatan kepadatan sel harian untuk mengetahui peningkatan kepadatan mikroalga dari hari ke hari sampai hari ke- 8. Setelah 8 hari kultivasi, mikroalga dipanen menggunakan berbagai dosis aluminium sulfat.

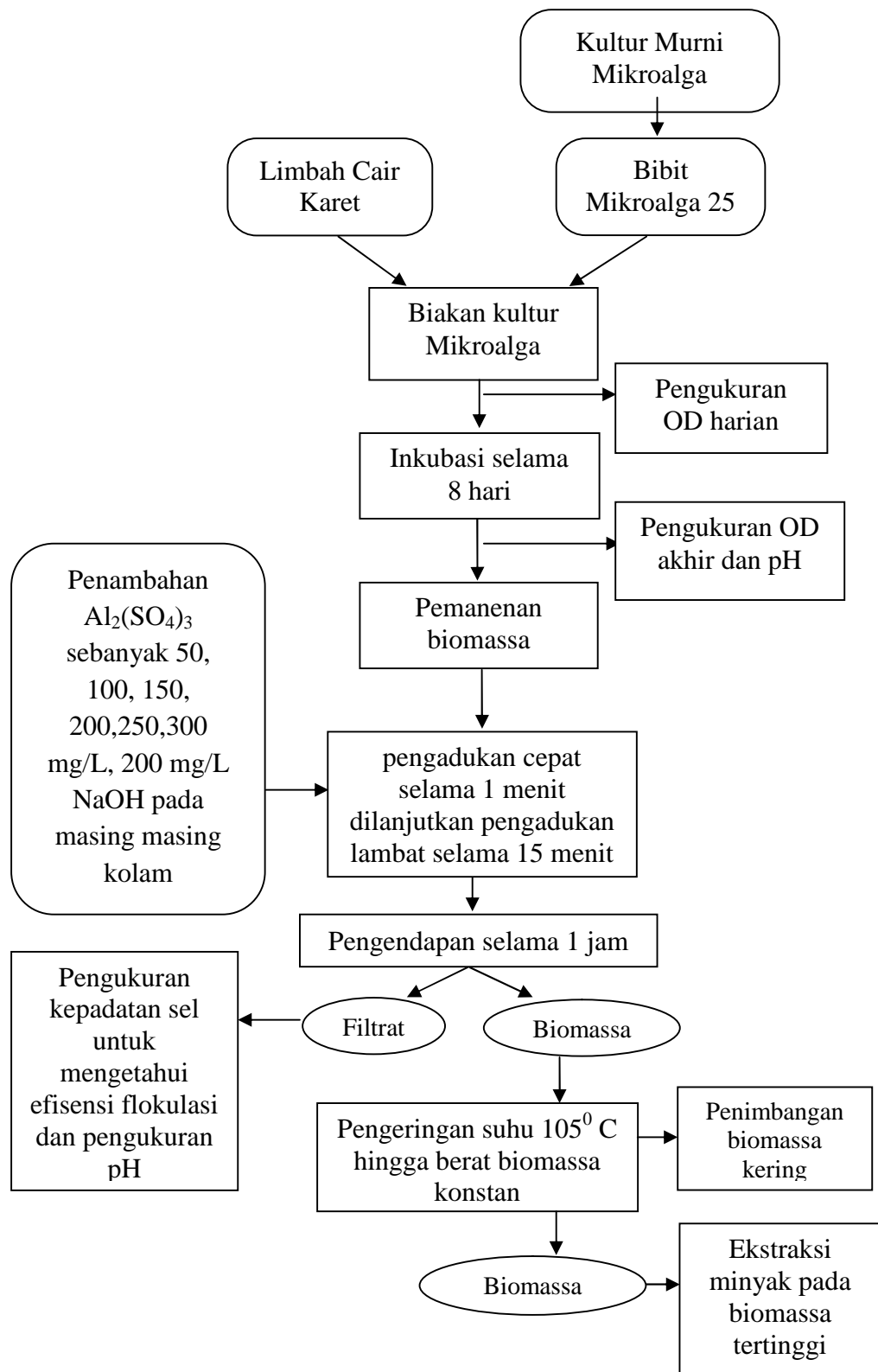
3.4.3. Pemanenan Biomassa Mikroalga

Hasil kultivasi mikroalga selanjutnya dipanen dengan metode flokulasi menggunakan dosis aluminium sulfat atau $Al_2(SO_4)_3$ masing-masing sebanyak 50, 100, 150, 200, 250, 300 mg/L. Selain itu dilakukan proses pemanenan menggunakan NaOH 200 mg/L sebagai pembanding (kontrol). Proses pemanenan diawali dengan mengukur volume akhir hasil kultivasi untuk menentukan

banyaknya flokulan yang ditambahkan pada masing- masing perlakuan. Sebelum dilakukan penambahan flokulan, dilakukan pengambilan sampel untuk diukur kepadatan sel dan pH. Selanjutnya, masing-masing kolam ditambahkan $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ sebanyak 50 mg/L (N1), 100 mg/L (N2), 150 mg/L (N3), 200 mg/L (N4), 250 mg/L (N5), 300 mg/L (N6) dan 200 mg/L NaOH sebagai kontrol (K).

Setelah penambahan flokulan sesuai dosis yang ditentukan pada masing- masing kolam, selanjutnya dilakukan pengadukan cepat selama 1 menit dilanjutkan pengadukan lambat selama 15 menit secara manual menggunakan pengaduk kayu. Lalu didiamkan selama 1 jam untuk memisahkan antara mikroalga dengan medianya. Setelah 1 jam, dilakukan pemisahan antara mikroalga dengan medianya dengan penyaringan menggunakan kain satin. Dari proses ini akan diperoleh hasil berupa biomassa basah mikroalga dan filtrat. Filtrat kemudian diambil sebanyak 10 mL dan diukur kepadatan sel untuk mengevaluasi efisiensi flokulasi serta pH nya untuk mengetahui pH akhir setelah penambahan flokulan. Selain pengamatan tersebut, dilakukan pengamatan terhadap persentase biomassa kering dengan cara melakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 105°C hingga berat biomassa konstan. Hasil pengukuran biomassa tertinggi selanjutnya dianalisis lebih lanjut kandungan minyaknya dengan metode ekstraksi sokletasi.

3.5. Diagram alir proses pemanenan mikroalga



Gambar 6. Proses pemanenan mikroalga

3.6. Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap kepadatan sel harian, pH, perolehan biomassa , efisiensi flokulasi dan ekstraksi minyak mikroalga pada perolehan biomassa tertinggi.

3.6.1. Pengukuran kepadatan sel

Sampel diambil sebanyak ± 1 mL pada masing- masing kolam kultivasi untuk diukur kepadatan sel dari hari pertama hingga hari ke- 8. Kepadatan sel dihitung dengan menggunakan *hemacytometer* dan alat bantu *handcounter*.

Hemacytometer merupakan suatu alat yang terbuat dari gelas dibagi menjadi kotak-kotak pada dua tempat bidang pandang. Cara penghitungan kepadatan mikroalga dengan *haemacytometer* adalah dibersihkan dan dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas tissue, gelas penutupnya dipasang. Mikroalga yang akan dihitung kepadatannya diteteskan menggunakan pipet tetes pada bagian parit yang melintang hingga penuh. Penetesan harus hati-hati agar tidak terjadi gelembung udara di bawah gelas penutup. Selanjutnya *haemacytometer* tersebut diamati mikroskop dengan perbesaran 10 kali dan dicari bidang berkotak-kotak yang berjumlah enam belas untuk kemudian dihitung pada lima titik yang berada pada kotak yang berada di keempat sudut dan bagian tengah (Sari, 2012).

Laju pertumbuhan spesifik (μ) mikroalga menurut Krichnavaruk *et al.* (2004) dihitung dengan menggunakan persamaan :

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{T_t - T_0}$$

keterangan :

N_t = Kepadatan populasi pada waktu ke-t,

N_0 = Kepadatan populasi sel pada waktu ke-0;

T_0 = Waktu awal;

T_t = Waktu pengamatan.

3.6.2. Pengukuran pH

Pengamatan pH mengacu pada AOAC (1990), yaitu dengan menggunakan pH meter, pengukuran dilakukan sebelum penambahan flokulan dan setelah penambahan flokulan. Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter harus distandarisasi dahulu dengan menggunakan larutan buffer pH 7,0 atau pH 4,0. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap larutan sampel dengan elektrodanya dicelupkan dalam larutan sampel dan biarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.

3.6.3. Efisiensi flokulasi

Efisiensi flokulasi pada proses pemanenan mikroalga dapat dihitung dengan terlebih dahulu mengukur kepadatan sel filtrat sampel setelah proses flokulasi.

Sampel diambil 10 ml untuk mengukur kepadatan sel menggunakan mikroskop pada perbesaran 10 kali dibantu dengan alat *haemocytometer* untuk mempermudah perhitungan sel (Harith *et al.*, 2009).

Untuk menghitung persen efisiensi flokulasi, digunakan persamaan:

$$\text{Efisiensi flokulasi (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \%$$

A = kepadatan sel pada akhir kultivasi

B = kepadatan sel filtrat

3.6.4. Biomassa

Biomassa sampel hasil panen diukur dengan metode gravimetri yang diukur berat keringnya (g/L) setelah proses pemanenan yaitu dengan menghitung berat basah dan berat kering mikroalga. Berat basah mikroalga ini diukur dengan menimbang masing-masing mikroalga yang telah dikeringkan menggunakan saringan untuk mengurangi kadar airnya. Berat kering dari mikroalga diukur dengan penentuan kadar air mengacu pada AOAC (1990) yaitu mikroalga yang telah ditimbang berat basahnya diletakkan di alumunium foil yang telah diketahui beratnya. Mikroalga yang telah diletakkan di alumunium, kemudian dioven pada suhu 105⁰ C hingga berat biomassa konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg). Setelah diketahui berat basah dan berat keringnya, dapat pula dihitung kadar air dari mikroalga dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat Basah} - \text{Berat Kering}}{\text{Berat Basah}} \times 100 \%$$

3.6.5. Ekstraksi minyak mikroalga pada perolehan biomassa tertinggi

Kandungan minyak pada mikroalga *Nannochloropsis sp.* mengacu pada AOAC (1995), yaitu menggunakan alat sokletasi. Setelah diperoleh biomassa kering mikroalga, biomassa tersebut di haluskan hingga menjadi bubuk kemudian ditimbang (W1). Bahan kemudian dibungkus menggunakan kertas saring lalu dimasukkan ke dalam labu lemak dan disambungkan dengan tabung soxhlet. Labu lemak tersebut diisi dengan pelarut kloroform sebanyak $\frac{3}{4}$ tabung. Tabung ekstraksi dipasang pada alat destilasi soxhlet lalu dipanaskan pada suhu 70°C dengan menggunakan pemanas listrik. Pelarut lemak yang ada dalam labu lemak didestilasi hingga semua pelarut lemak menguap sekitar 6 jam. Saat destilasi pelarut akan tertampung diruang ekstraktor, pelarut dikeluarkan sehingga tidak kembali ke dalam labu lemak, selanjutnya labu lemak dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C, setelah itu labu didinginkan dalam desikator dan dilakukan pengovenan selama 2 jam dan kemudian ditimbang (W2).

Perhitungan kadar minyak:

$$\% \text{ Kadar minyak} = \frac{W_2}{W_1} \times 100 \%$$

Keterangan :

W1= Berat sampel awal (gram)

W2= Berat sampel setelah proses sokhletasi (gram).