

**KAJIAN PRODUKSI BIOMASSA *TETRASELMIS* SP. PADA  
MEDIA LIMBAH CAIR INDUSTRI KARET REMAH YANG  
DIPERKAYA NITROGEN DAN DIATUR SALINITASNYA**

(Skripsi)

Oleh

**ADRIYANUS IVAN PRATAMA**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2016**

## ABSTRAK

### **KAJIAN PRODUKSI BIOMASSA *TETRASELMIS* SP. PADA MEDIA LIMBAH CAIR INDUSTRI KARET REMAH YANG DIPERKAYA NITROGEN DAN DIATUR SALINITASNYA**

Oleh

**ADRIYANUS IVAN PRATAMA**

*Tetraselmis* sp. merupakan salah satu mikroalga yang berpotensi sebagai sumber minyak untuk bahan biodiesel karena dapat menghasilkan biomassa dalam jumlah besar. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efektifitas penambahan nitrogen dan pengaturan salinitas pada media limbah cair industri karet remah dalam meningkatkan produksi biomassa *Tetraselmis* sp.

Penelitian ini dilakukan dengan menyiapkan 4 macam media pertumbuhan *Tetraselmis* sp. yaitu limbah cair industri karet remah *outlet* kolam Fakultatif I, Fakultatif II, Fakultatif II yang diperkaya nitrogen dengan dosis 1 g  $\text{NH}_4\text{HCO}_3/5$  L volume kerja dan Fakultatif II yang ditingkatkan salinitasnya sampai 30 ppt. Bibit *Tetraselmis* sp. sebanyak 25% v/v dikultivasi pada bioreaktor sistem terbuka dengan volume kerja 5 L selama 7 hari. Pengamatan yang dilakukan adalah kepadatan sel setiap hari, biomassa, N-total, P- $\text{PO}_4$ , *Dissolve Oxygen* (DO), pH, dan salinitas.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengaturan salinitas media limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif II sampai 30 ppt paling efektif untuk meningkatkan produksi biomassa *Tetraselmis* sp. yaitu sebesar 105% dengan kepadatan sel sebesar  $120 \times 10^4$  sel/mL dan perolehan biomassa kering sebesar 0.6250 g/L serta mampu menurunkan kandungan N-total sebesar 72,2% dan P-PO<sub>4</sub> sebesar 87,6%.

Kata kunci : nitrogen, salinitas, limbah cair, *Tetraselmis* sp.

## ABSTRACT

### STUDY OF *TETRASELMIS* SP. BIOMASS PRODUCTION ON CRUMB RUBBER INDUSTRIAL WASTEWATER MEDIA WITH NITROGEN ENRICHMENT AND SALINITY SETTING

Oleh

ADRIYANUS IVAN PRATAMA

*Tetraselmis* sp. is one of the potential microalgae as a source of oil for biodiesel ingredient due to it produces large amount of biomass. The purpose of this research was to determine the effectiveness of the nitrogen addition and salinity setting towards crumb rubber industrial wastewater in increasing the production of *Tetraselmis* sp. biomass.

This research was conducted by preparing four type of *Tetraselmis* sp. growth media that were crumb rubber industrial wastewater media of pond outlet Facultative I, Facultative II, Facultative II which was enriched by nitrogen at 1 g  $\text{NH}_4\text{HCO}_3/5$  L of volume dose, and Facultative II whose salinity was enhanced up to 30 ppt. The seed of *Tetraselmis* sp. as much as 25% v/v was cultivated in open pond bioreactor with 5 L of volume for 7 days. The parameters in this research were daily cell density, biomass, N-total, P- $\text{PO}_4$ , *Dissolve Oxygen* (DO), pH, and salinity.

The results showed that the enhance of salinity in crumb rubber industrial wastewater media from an outlet Facultative II pond up to 30 ppt was the most effective to increase production of *Tetraselmis* sp. biomass as much as 105% with  $120 \times 10^4$  cell/mL of cell density and 0.6250 g/L of dry yield and also it was able to reduce 72,2% of N-total and 87,6% of P-PO<sub>4</sub> content.

Key words: nitrogen, salinity, wastewater, *Tetraselmis* sp.

**KAJIAN PRODUKSI BIOMASSA *TETRASELMIS* SP. PADA  
MEDIA LIMBAH CAIR INDUSTRI KARET REMAH YANG  
DIPERKAYA NITROGEN DAN DIATUR SALINITASNYA**

**Oleh**

**Adriyanus Ivan Pratama**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
**SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**

Pada

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2016**

Judul Skripsi : **KAJIAN PRODUKSI BIOMASSA  
TETRASELMIS SP. PADA MEDIA  
LIMBAH CAIR INDUSTRI KARET  
REMAH YANG DIPERKAYA NITROGEN  
DAN DIATUR SALINITASNYA**

Nama Mahasiswa : **Adriyanus Ivan Pratama**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1214051004

Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian



**Ir. Otik Nawansih, M.P.**  
NIP 19650503 199010 2 001

**Dr. Ir. Tanto Pratondo Utomo, M.Si.**  
NIP 19680807 199303 1 002

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

**Ir. Susilawati, M.Si.**  
NIP 19610806 198702 2 001

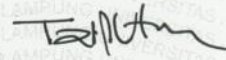
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

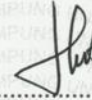
**Ketua : Ir. Otik Nawansih, M.P.** .....



**Sekretaris : Dr. Ir. Tanto Pratondo Utomo, M.Si.** .....



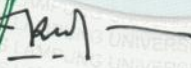
**Penguji  
Bukan Pembimbing : Dr. Sri Hidayati, S.T.P., M.P.** .....



**2. Dekan Fakultas Pertanian**



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.**  
NIP 19611020 198603 1 002



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 17 Maret 2016**



## **PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA**

Saya adalah Adriyanus Ivan Pratama NPM 1214051004

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang pernah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil dari plagiat karya orang lain.

Dengan demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 17 Maret 2016  
Yang membuat pernyataan



Adriyanus Ivan Pratama  
NPM. 1214051004

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Desa Nambah Dadi, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah pada tanggal 8 Juli 1994, sebagai anak pertama dari dua bersaudara, buah hati dari pasangan Bapak Markus Suisman dan Ibu Anastasia Krismiati.

Penulis memulai pendidikan di Taman Kanak-Kanak Fransiskus Xaverius Fajar Mataram pada tahun 1998-2000; Sekolah Dasar Negeri 2 Onoharjo pada tahun 2000-2006; Sekolah Menengah Pertama Negeri 6 Terbanggi Besar pada tahun 2006-2009; Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Seputih Mataram pada tahun 2009-2012. Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada tahun 2012 melalui jalur Tes Tertulis Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pekon Way Rilau Kecamatan Cukuh Balak Kabupaten Tanggamus pada bulan Januari sampai Maret 2015 dan melaksanakan kegiatan Praktik Umum (PU) pada bulan Juli sampai Agustus 2015 di PT. Bromelain Enzyme Kecamatan Terbanggi Besar Kabupaten Lampung Tengah dengan judul “Monitoring Kadar Air Ampas Bonggol Nanas dan Kualifikasi Mesin *Moisture Analysis* di PT. Bromelain Enzyme”.

Penulis bergabung dalam Unit Kegiatan Mahasiswa Fakultas (UKMF) Klub  
Selam Anemon Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam pada tanggal 3  
November tahun 2013 dan menjabat sebagai Kepala Bidang Penelitian dan  
Pengembangan pada periode kepengurusan tahun 2014/2015. Pada tahun 2013  
penulis lolos seleksi usulan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) bidang  
penelitian dengan judul “Pemanfaatan Ekstrak Ikan Rucuh sebagai Pengganti  
Monosodium Glutamat (MSG)”. Penulis pernah menjadi Mentor Forum Ilmiah  
Mahasiswa (FILMA) mata kuliah Matematika pada periode tahun ajaran  
2013/2014 serta Asisten Dosen mata kuliah Teknologi Bahan Penyegar pada  
periode tahun ajaran 2014/2015, Asisten Dosen mata kuliah Pengemasan dan  
Penggudangan, Pengelolaan Hasil Perkebunan, Pengelolaan Hasil Hutan Non  
Kayu, dan Evaluasi Gizi Pangan pada periode tahun ajaran 2015/2016.

***Kupersembahkan karya sederhana yang penuh akan perjuangan dan pengharapan ini sebagai bentuk baktiku kepada:***

***Ibu dan Bapak ku yang sangat aku sayangi dan aku hormati, yang selalu mendukungku, memperhatikanku, dan selalu menjadi sumber semangat juangku untuk mencapai hidup yang lebih baik.***

***Almamater tercinta, Universitas Lampung.***

## SANWACANA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Kajian Produksi Biomassa *Tetraselmis* sp. pada Media Limbah Cair Industri Karet Remah yang Diperkaya Nitrogen dan Diatur Salinitasnya”. Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari keterlibatan berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Ibu Ir. Susilawati, M.Si. selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
3. Ibu Ir. Otik Nawansih, M.P. selaku Pembimbing Utama atas segala pengarahan, nasihat, saran, dan motivasi selama penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Dr. Ir. Tanto Pratondo Utomo, M.Si. selaku Pembimbing Kedua dan Dosen Pembimbing Akademik atas segala bantuan, pengarahan, nasihat, dan saran selama penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Sri Hidayati, S.T.P., M.P. selaku Penguji Utama atas segala masukan dan saran selama penyusunan skripsi ini.
6. Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung yang telah memberikan tempat penelitian dan bibit mikroalga.

7. PTPN VII Way Berulu yang telah memberikan limbah cair karet remah.
8. Ibu Valen dan Ibu Anis yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi selama penelitian di BBPBL.
9. Kedua orang tuaku Bapak Markus Suisman dan Ibu Anastasia Krismiati yang selalu mendukung, menyayangi, dan selalu memberikan yang terbaik untuk keberhasilanku.
10. Sahabatku Florentina, Eliyana, Heni, Ista, Astri, Al, Jessica, Meilan, Citra, Widia, Prima, Aroh, Kiki, Lucky, Pras, Bagus, dan Roberto atas segala bantuan fisik dan dukungan mental selama penyusunan skripsi ini.
11. Senioraku mbak Reni, mbak Fia, mbak Anggun, mbak Anisa, mbak Widia, mbak Uul, mbak Artha, kak Wulan, dan kak Satria atas segala bantuan dan arahan selama penyusunan skripsi ini.
12. Klub Selam Anemon FMIPA Unila atas segala ilmu, kebersamaan, dan pengalaman yang luar biasa.
13. Keluarga besar THP FP Unila atas suka duka dan kebersamaannya

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk kita semua.

Bandar Lampung, 17 Maret 2016

Penulis

**Adriyanus Ivan Pratama**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	iv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan .....	4
1.3. Kerangka Pemikiran.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1. Mikroalga .....	7
2.2. <i>Tetraselmis</i> sp .....	12
2.3. Limbah Cair Industri Karet Remah.....	16
2.4. Limbah Cair Industri Karet Remah sebagai Media Kultivasi Mikroalga. ....	20
2.5. Makronutrien.....	23
2.6. Salinitas.....	27
<b>III. BAHAN DAN METODE</b> .....	29
3.1. Waktu dan Tempat .....	29
3.2. Alat dan Bahan .....	29
3.3. Metode Penelitian .....	30
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	31
3.4.1. Pengkondisian Media .....	32
3.4.2. Pembiakan Kultur Murni .....	33
3.4.3. Kultivasi .....	34
3.4.4. Pemanenan .....	34
3.5. Pengamatan .....	35
3.5.1. Kepadatan Sel .....	35
3.5.2. Laju Pertumbuhan .....	35
3.5.3. Biomassa .....	36

3.5.4. Analisis Nitrogen Total.....	37
3.5.5. Analisis P-PO <sub>4</sub> .....	38
3.5.6. Analisis pH.....	38
3.5.7. <i>Dissolved Oxygen</i> (DO) .....	38
3.5.8. Salinitas.....	39
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>40</b>
4.1. Kepadatan sel <i>Tetraselmis</i> sp.....	40
4.2. Biomassa .....	45
4.3. Nitrogen Total .....	48
4.4. Ortofosfat (P-PO <sub>4</sub> ) .....	51
4.5. Derajat Keasaman (pH) .....	53
4.6. <i>Dissolved Oxygen</i> (DO) .....	56
4.7. Salinitas.....	59
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>62</b>
5.1. Kesimpulan. ....	62
5.2. Saran .....	62
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>63</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>70</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan minyak dari beberapa jenis mikroalga.....	11
2. Data sarana pengolahan limbah .....	19
3. Parameter dan baku mutu efluen air limbah di PTPN VII Unit Usaha Way Berulu .....	19
4. Karakteristik limbah cair industri karet remah PTPN VII Unit Usaha Way Berulu .....	20
5. Kandungan garam-garaman dalam air laut .....	27
6. Komposisi pupuk <i>Conwy</i> .....	33
7. Kepadatan sel <i>Tetraselmis</i> sp.....	71
8. Laju pertumbuhan <i>Tetraselmis</i> sp.....	71
9. Biomassa <i>Tetraselmis</i> sp.....	72
10. Perhitungan perolehan berat <i>yield</i> kering pada kain satin.....	72
11. Perhitungan perolehan berat <i>yield</i> kering pada kertas saring.....	73
12. Kandungan N-total limbah cair karet.....	73
13. Kandungan P-PO <sub>4</sub> limbah cair karet.....	73
14. pH limbah cair karet.....	74
15. Dosis flokulan (Al <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> .....	74
16. DO limbah cair karet.....	75
17. Salinitas limbah cair karet.....	75

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bentuk sel dari berbagai jenis mikroalga.....	7
2. Reaksi fotosintesis alga dan respirasi bakteri .....	9
3. Produktivitas mikroalga dibandingkan dengan minyak nabati lainnya .....	10
4. Flagella <i>Tetraselmis</i> sp. ....	12
5. <i>Tetraselmis</i> sp. ....	13
6. Daur hidup dan cara reproduksi <i>Tetraselmis</i> sp.....	14
7. Pola Pertumbuhan <i>T. chuii</i> .....	14
8. Ilustrasi IPAL PTPN VII Unit Usaha Way Berulu.....	18
9. Bentuk reaktor <i>open pond</i> .....	22
10. Diagram alir perolehan biomassa <i>Tetraselmis</i> sp. ....	31
11. Ilustrasi reaktor .....	32
12. Kepadatan sel <i>Tetraselmis</i> sp. selama 7 hari kultivasi pada berbagai kondisi media limbah cair industri karet remah.....	40
13. Perubahan warna media limbah cair karet <i>outlet</i> Fakultatif I, Fakultatif II, Fakultatif II + $\text{NH}_4\text{NCO}_3$ , dan Fakultatif II + NaCl selama 7 hari kultivasi.....	44
14. Perolehan biomassa <i>Tetraselmis</i> sp. yang tumbuh pada berbagai kondisi media limbah cair industri karet remah.....	46
15. Kandungan N-total pada berbagai kondisi media limbah cair industri karet remah .....	49

16. Kandungan P-PO <sub>4</sub> pada berbagai kondisi media limbah cair industri karet remah .....	52
17. pH pada berbagai kondisi media limbah cair industri karet remah sebelum kultivasi dan setelah pemanenan.....	54
18. DO pada berbagai kondisi media limbah cair industri karet remah.....	57
19. Mekanisme simbiosis alga dan bakteri. ....	58
20. Salinitas pada berbagai kondisi media limbah cair industri karet remah.....	59
21. Pembiakan kultur murni <i>Tetraselmis</i> sp. <i>indoor</i> .....	76
22. Pembiakan kultur murni <i>Tetraselmis</i> sp. <i>outdoor</i> .....	76
23. Pengambilan limbah cair karet dari kolam IPAL fakultatif I dan II.....	76
24. Kultivasi bibit <i>Tetraselmis</i> sp. ke media limbah cair industri karet remah..	77
25. Pengendapan biomassa <i>Tetraselmis</i> sp. dengan aluminium sulfat .....	77
26. Penyaringan biomassa <i>Tetraselmis</i> sp. ....	77
27. Yeild basah <i>Tetraselmis</i> sp. pada kain satin dan kertas saring .....	78
28. Pengukuran salinitas dan <i>dissolved oxygen</i> limbah cair industri karet remah .....	78
29. Pengukuran pH limbah cair industri karet remah .....	78
30. Pengukuran kadar N-total dan P-PO <sub>4</sub> limbah cair industri karet remah .....	79
31. Pengukuran kepadatan sel dan <i>yield</i> kering <i>Tetraselmis</i> sp.....	79
32. Perolehan <i>yield</i> kering <i>Tetraselmis</i> sp .....	79

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Karet merupakan komoditi ekspor yang mampu memberikan kontribusi dalam upaya peningkatan devisa Indonesia. Ekspor karet alam di Indonesia mencapai 2,6 juta ton pada tahun 2014 dan pendapatan devisa dari komoditas tersebut mencapai US \$ 4.741,49 juta. Luas areal perkebunan karet di Indonesia pada tahun 2013 seluas 3,556 juta hektar dengan total produksi mencapai 3,237 juta ton (Badan Pusat Statistik, 2014). Menurut Utomo dan Suroso (2008), Industri pengolahan karet alam didominasi oleh jenis karet remah yakni 90% dari total produksi karet di Indonesia.

Provinsi Lampung memiliki areal tanaman karet seluas 127.198 Ha dengan produksi yang cenderung meningkat setiap tahunnya yaitu 44.535 ton (2011), 50.378 ton (2012) dan 51.561 ton (2013) (Badan Pusat Statistik Provinsi Lampung, 2015). Salah satu industri karet remah di Lampung yang dikelola oleh PT. Perkebunan Nusantara VII (Persero) adalah Unit Pabrik Karet Way Berulu. Pabrik Pengolahan Karet Remah Unit Usaha Way Berulu merupakan pabrik yang mengolah komoditi karet menjadi karet remah dengan jenis mutu SIR (*Standard Indonesian Rubber*) 3L dan SIR 3 WF (Kartika, 2010).

Usaha industri karet remah adalah suatu usaha industri pengolahan karet yang melakukan kegiatan mengubah bahan baku karet menjadi karet remah. Pada pengolahan lateks menjadi produk karet umumnya menghasilkan limbah. Limbah industri karet yang berpotensi untuk mencemari lingkungan lebih besar adalah limbah cair. Limbah cair pengolahan karet ini berasal dari proses pengenceran lateks, koagulasi, penggilingan, dan pencucian. Pabrik pengolahan karet remah unit usaha Way Berulu memiliki kapasitas produksi sebanyak 30 ton kk/hari dan limbah cair yang dikeluarkan antara 240-312 m<sup>3</sup>/hari. Oleh karena itu, penanganan dan pengolahan limbah yang baik sangat diperlukan suatu industri khususnya industri karet (Kartika, 2010).

Pengolahan limbah cair industri karet remah yang umum dilakukan adalah menggunakan pengolahan secara biologi yaitu dengan sistem kolam anaerob dan aerob dan secara fisika yaitu dengan penyaringan dan pengendapan (Wulan, 2015). Limbah cair industri karet remah dialirkan melalui parit yang akan diarahkan ke Instalasi Pengolahan Air Limbah atau IPAL. Sistem kolam ini memerlukan lahan yang luas sehingga memerlukan biaya investasi yang relatif mahal. Selain itu, pengolahan limbah ini hanya digunakan untuk memenuhi baku mutu dan tidak memberikan manfaat apapun selain menurunkan tingkat cemaran limbah cair.

Limbah cair industri karet remah mengandung bahan cemaran yang cukup tinggi. Hal ini dikarenakan limbah cair industri karet remah mengandung serum yang merupakan sisa dari proses penggumpalan lateks kebun. Serum lateks terdiri atas air, karbohidrat dan inositol, protein dan senyawa nitrogen, asam nukleat dan

nukleosida, ion anorganik, dan ion logam. Menurut Yulita (2014), di dalam limbah cair karet banyak terdapat senyawa organik yang menyebabkan nilai BOD, COD, dan  $\text{NH}_3$  masih relatif tinggi. Limbah cair industri karet remah mengandung senyawa nitrogen sebesar 100-300 mg/L  $\text{N-NH}_3$  dan senyawa fosfor sebesar 20-40 mg/L  $\text{P-PO}_4$  (Utomo dkk., 2012). Senyawa-senyawa organik berupa nitrogen dan fosfor dalam limbah cair industri karet remah dapat digunakan mikroalga sebagai sumber hara.

Mikroalga merupakan salah satu agen biologi akuatik yang berperan dalam mendegradasi polutan dalam limbah cair karet. Hal ini karena mikroalga dapat tumbuh dalam kondisi pertumbuhan alternatif dengan kondisi daya adaptasi kuat. Selain itu mikroalga memiliki kandungan minyak yang cukup tinggi serta mempunyai produktivitas 200 kali lebih banyak dibandingkan sumber nabati lainnya (Chisti, 2007). Dengan demikian mikroalga memiliki potensi yang cukup besar untuk digunakan sebagai sumber energi alternatif terbarukan yakni sebagai bahan baku biodiesel.

*Tetraselmis* sp. merupakan salah satu jenis mikroalga yang berpotensi sebagai alternatif sumber bahan baku pembuatan biodiesel karena memiliki kandungan minyak sekitar 15–23% (Chisti, 2007). *Tetraselmis* sp. memiliki ukuran sel cukup besar (7-12  $\mu\text{m}$ ) dibandingkan jenis mikroalga lain seperti *Botryococcus braunii* (5  $\mu\text{m}$ ) dan *Nannochloropsis* sp. (2-3  $\mu\text{m}$ ) sehingga berpotensi menghasilkan biomassa yang lebih besar. Berdasarkan penelitian Wulan (2015), *Tetraselmis* sp. yang dikultivasi pada limbah cair industri karet remah mampu menurunkan kadar  $\text{NH}_3$  dan  $\text{PO}_4$  masing-masing sebesar 99,4% dan 86%, namun puncak

kepadatan sel hanya sebesar  $538 \times 10^4$  sel/mL. Menurut Balai Besar Pengambangan Budidaya Laut (2007), kepadatan sel optimum *Tetraselmis* sp. dapat mencapai  $1000 \times 10^4$  sel/mL, dengan demikian pertumbuhan *Tetraselmis* sp. masih belum optimal. Hal ini diduga disebabkan oleh kondisi salinitas media yang kurang sesuai serta keterbatasan nutrisi pada limbah cair industri karet remah. Pertumbuhan yang rendah dapat mempengaruhi perolehan biomassa serta rendemen minyak yang dihasilkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai penambahan nutrisi dan pengaturan salinitas pada media limbah cair industri karet remah untuk mendapatkan biomassa *Tetraselmis* sp. yang paling besar.

## **1.2. Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efektifitas penambahan nitrogen dan pengaturan salinitas pada media limbah cair industri karet remah dalam produksi biomassa *Tetraselmis* sp..

## **1.3. Kerangka Pemikiran**

*Tetraselmis* sp. merupakan salah satu mikroalga yang berpotensi sebagai sumber minyak serta memiliki ukuran sel yang cukup besar sehingga berpotensi menghasilkan biomassa yang besar. Pertumbuhan *Tetraselmis* sp. yang dikultivasi pada media limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif II belum optimal. Berdasarkan penelitian Wulan (2015), kultivasi *Tetraselmis* sp. pada limbah cair industri karet remah *outlet* kolam Fakultatif II

memiliki puncak kepadatan sel hanya  $538 \times 10^4$  sel/mL sedangkan kepadatan optimum *Tetraselmis* sp. dapat mencapai  $1000 \times 10^4$  sel/mL. Hal ini diduga limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif II memiliki kandungan nutrisi yang terbatas serta salinitas yang rendah sehingga pertumbuhan *Tetraselmis* sp. tidak optimal.

Unsur nutrisi yang diperlukan oleh mikroalga dalam jumlah terbanyak adalah makronutrien berupa nitrogen (N) dan fosfor (P). Kandungan fosfor pada limbah cair industri karet remah sudah cukup tinggi sehingga dapat memenuhi kebutuhan pertumbuhan mikroalga. Menurut Wardhana (1994), kadar fosfor optimal untuk pertumbuhan fitoplankton berkisar antara 0,27-5,51 mg/L. Berdasarkan penelitian Wulan (2015), kandungan fosfor pada limbah cair industri karet remah *outlet* kolam Fakultatif II sudah mencukupi untuk pertumbuhan optimum mikroalga yaitu sebesar 4,855 mg/L P-PO<sub>4</sub>. Kandungan fosfor pada limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif I diduga lebih besar dari Fakultatif II karena semakin sedikit jumlah *treatment* kolam pada instalasi pengolahan air limbah maka semakin besar kandungan fosfornya. Berdasarkan penelitian Komalasari (2015), kandungan fosfor pada limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif II lebih banyak dibandingkan *outlet* kolam Aerobik I dan *outlet* kolam Aerobik I lebih banyak dibandingkan Aerobik II. Dengan demikian kebutuhan fosfor mikroalga pada limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif I dan II sudah dapat dipenuhi.



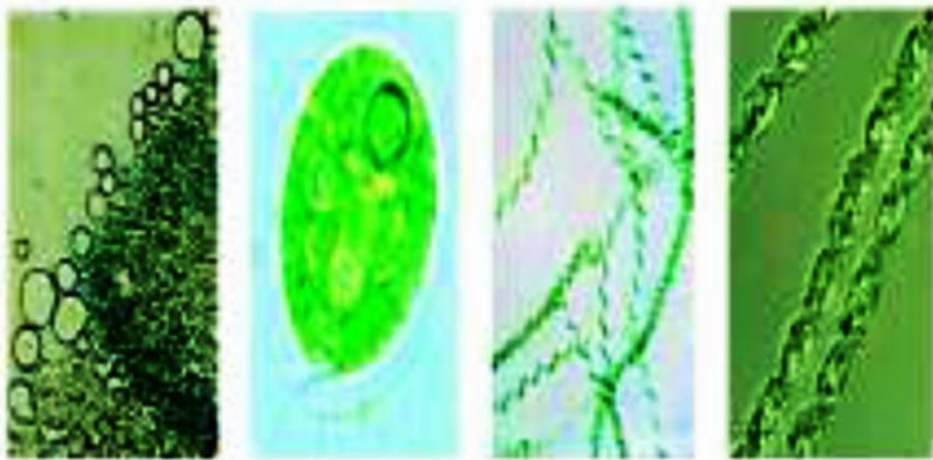
Nitrogen (N) merupakan unsur penting untuk pertumbuhan dan pembentukan biomassa mikroalga karena merupakan bahan penting yang esensial untuk pembelahan sel mikroalga. Pada penelitian Ernest (2012), pengkondisian ion nitrat sebagai sumber nitrogen sebesar 0,1 g/L (100 mg/L) pada medium Walne memiliki laju pertumbuhan tertinggi dan merupakan kondisi yang paling optimal untuk pembentukan biomassa *Nannochloropsis* sp. Kandungan nitrogen pada limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif I sudah cukup tinggi yaitu 169 mg/L N-NH<sub>3</sub> (Utomo dan Suroso, 2008) sedangkan pada *outlet* kolam Fakultatif II memiliki kandungan nitrogen yang sangat rendah yaitu N-total sebesar 5,078 mg/L (Komalasari, 2015) sehingga diperlukan penambahan nitrogen untuk mengoptimalkan pertumbuhan mikroalga. Berdasarkan penelitian Ayustama dan Sari (2010), kultivasi *Chlorophyta* pada media air suling dengan penambahan nitrogen berupa NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> pada dosis 10 g NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>/50 L volume kerja memiliki nilai OD dan pertumbuhan biomassa tertinggi.

Selain kandungan nutrisi, faktor yang diduga mempengaruhi pertumbuhan *Tetraselmis* sp. adalah salinitas. Salinitas limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif I dan Fakultatif II sangatlah rendah yaitu 0 ppt sedangkan syarat salinitas untuk *Tetraselmis chuii* agar dapat tumbuh optimal adalah 30 sampai dengan 32 ppt (Fogg and Thake, 1987). Dengan demikian perlu dilakukan pengaturan salinitas pada limbah cair industri karet remah untuk mengoptimalkan pertumbuhan *Tetraselmis* sp. Pada penelitian Harimurti dkk. (2013), pengkondisian salinitas limbah PT. SIER sebagai media kultivasi *Chlorella vulgaris* dan *Botryococcus braunii* dilakukan dengan penambahan garam NaCl.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Mikroalga

Mikroalga merupakan mikroorganisme berukuran 1-50  $\mu\text{m}$  yang sering dikenal sebagai fitoplankton. Organisme ini merupakan produsen primer perairan yang mampu berfotosintesis seperti tumbuhan tingkat tinggi. Mikroalga memiliki zat hijau daun (klorofil) yang berperan dalam fotosintesis untuk menghasilkan bahan organik dan oksigen di dalam air (Ayustama dan Sari, 2010). Habitat hidup mikroalga adalah wilayah perairan di seluruh dunia. Mikroalga berperan sebagai dasar mata rantai pada siklus makanan di laut. Mikroalga umumnya bersel satu dan berbentuk benang (Sheehan *et al.*, 1998). Bentuk sel dari berbagai jenis mikroalga dapat dilihat pada Gambar 1.



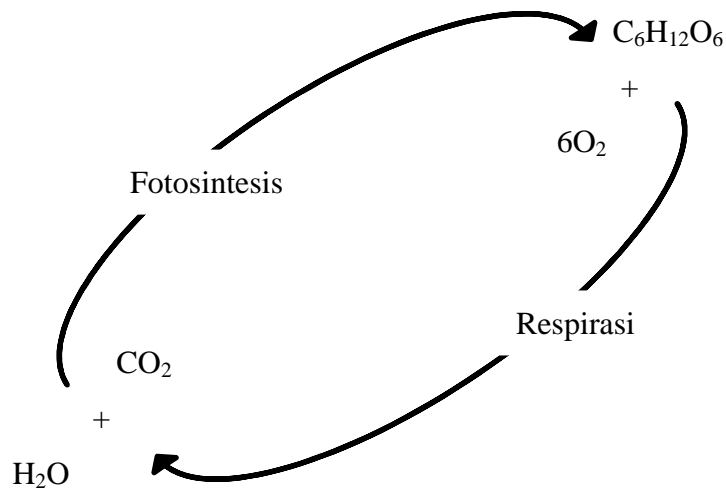
Gambar 1. Bentuk sel dari berbagai jenis mikroalga (Hadiyanto dkk., 2010).

Mikroalga adalah organisme tumbuhan paling primitif yang berukuran seluler (Schulz, 2006). Meskipun mikroalga adalah tumbuhan yang memiliki tingkatan paling primitif, mekanisme fotosintesisnya sama dengan tumbuhan tingkat tinggi, bahkan kemampuannya untuk mengkonversi energi matahari lebih efisien karena struktur selulernya yang lebih sederhana. Mikroalga menggunakan cahaya untuk memetabolisme CO<sub>2</sub> menjadi biomassa CH<sub>2</sub>O dengan bantuan sinar dan air sesuai dengan reaksi berikut:



Reaksi tersebut disebut proses fotosintetik dimana oksigen juga di hasilkan sebagai hasil samping. Cahaya yang digunakan untuk proses fotosintetik dapat berupa cahaya sintetik ataupun cahaya matahari yang sampai ke permukaan bumi sekitar 1500-2500 W/m<sup>2</sup> (Hadiyanto dkk., 2010).

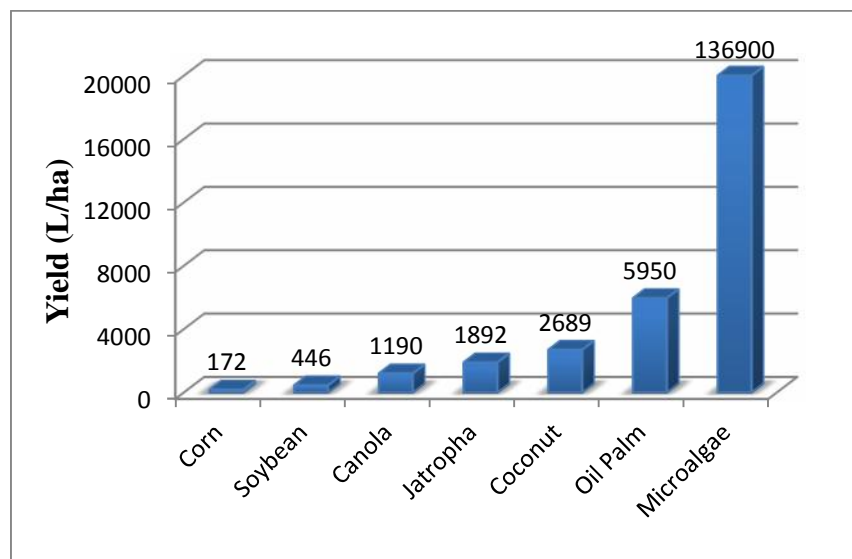
Alga merupakan organisme autotrof yang dapat mensintesis makanannya sendiri dengan melakukan proses fotosintesis pada siang hari, saat terdapat cahaya matahari. Karbondioksida digunakan sebagai sumber karbon untuk mensintesis sel-sel baru dan oksigen. Pertumbuhan alga pada saat siang dan malam distimulasi oleh garam-garam, fosfor, dan nitrat. Jadi kuantitas nutrisi dan pencahayaan fotosintesis merupakan faktor penting bagi pertumbuhan alga dalam kolam oksidasi. Karbondioksida merupakan salah satu dari produk yang dihasilkan oleh metabolisme bakteri. Karbondioksida ini digunakan oleh alga selama proses fotosintesis, dan sebaliknya bakteri memanfaatkan oksigen yang dihasilkan oleh alga untuk mengoksidasi bahan organik dalam limbah (Siregar dan Hermana, 2012). Hubungan antara fotosintesis alga dan respirasi bakteri disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi fotosintesis alga dan respirasi bakteri (Siregar dan Hermana, 2012).

Pada Gambar 2 dijelaskan mengenai simbiosis antara alga dan bakteri pada siang hari saat ada cahaya matahari. Bakteri membutuhkan O<sub>2</sub> untuk melakukan respirasi aerobik sehingga dapat mendegradasi limbah. O<sub>2</sub> yang dibutuhkan bakteri aerobik dihasilkan dari proses fotosintesis oleh alga. Selain itu CO<sub>2</sub> sebagai sumber karbon bagi alga disediakan dari proses metabolisme bakteri (Siregar dan Hermana, 2012). Menurut Sriharti (2004), beberapa senyawa kompleks pada limbah cair karet harus dioksidasi terlebih dahulu menjadi bentuk yang sederhana dan dapat diserap oleh mikroalga. Oksidasi ini dilakukan oleh aktifitas simbiosis alga dan bakteri. Oksigen yang dihasilkan oleh *Chlorella pyrenoidosa* dari proses fotosintesisnya digunakan untuk mengoksidasi senyawa kompleks pada limbah cair karet. Hasil penelitian Zulfarina dkk. (2013), menunjukkan *Chlorella pyrenoidosa* dengan konsentrasi 25% dapat menurunkan kadar pencemar (COD) pada media limbah cair karet sebesar 94,44% setelah dikultivasi selama 7 hari.

Mikroalga mengandung protein, lemak, asam lemak tak jenuh, pigmen, dan vitamin. Kandungan lemak (*lipid*) dan asam lemak (*fatty acid*) yang ada di dalam mikroalga merupakan sumber energi. Kandungan ini dihasilkan dari proses fotosintesis yang merupakan hidrokarbon (Prince and Haroon, 2005). Menurut Chisti (2007), mikroalga memiliki kandungan minyak lebih dari 30% sehingga sangat berpotensi untuk digunakan sebagai sumber energi alternatif biodiesel. Selain itu, mikroalga mempunyai produktivitas 200 kali lebih banyak dibandingkan sumber nabati lainnya seperti ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Produktivitas mikroalga dibandingkan dengan minyak nabati lainnya (Chisti, 2007).

Mikroalga akhir-akhir ini dieksplorasi untuk penggunaannya dalam bidang bioenergi dikarenakan mikroalga mempunyai kandungan karbon dan lipid yang tinggi. Komposisi kandungan lemak dalam mikroalga dipengaruhi oleh perbedaan nutrisi, lingkungan, dan fase pertumbuhan (Mata *et al.*, 2010).

Beberapa jenis mikroalga berpotensi sebagai sumber minyak dengan kadar yang bervariasi tergantung jenis mikroalganya disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan minyak dari beberapa jenis mikroalga

<b>Mikroalga</b>	<b>Kandungan minyak (%)</b>
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chlorella</i> sp.	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16-37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25-33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris</i> sp.	20-35
<i>Nannochloropsis</i> sp.	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia</i> sp.	45-47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Schizochytrium</i> sp.	50-77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23

Sumber: Chisti (2007).

Mikroalga memiliki potensi sebagai bahan baku penghasil bahan bakar nabati.

Bahan bakar nabati (BBN) berupa biodiesel dan bioetanol, merupakan alternatif untuk menyelesaikan masalah ketersediaan bahan bakar yang saat ini masih tergantung pada bahan bakar minyak (BBM). Pengembangan biofuel (biodiesel dan bioetanol) sebagai pengganti BBM memiliki beberapa keuntungan yaitu menghasilkan emisi gas buang yang lebih ramah lingkungan karena kandungan oksigennya dapat meningkatkan efisiensi pembakaran. Biofuel juga mampu meningkatkan bilangan oktan dan mengurangi penggunaan aditif bertimbel yang berbahaya terhadap lingkungan (Kawaroe dkk., 2012). Keuntungan yang didapat dari biodiesel mikroalga yaitu sumbernya yang terbaharukan. Selain itu dengan lokasi berada di katulistiwa, Indonesia mempunyai sumber sinar matahari yang sangat cukup sebagai sumber energi untuk fotosintetik mikroalga (Vonshak and Torzillo, 2004).

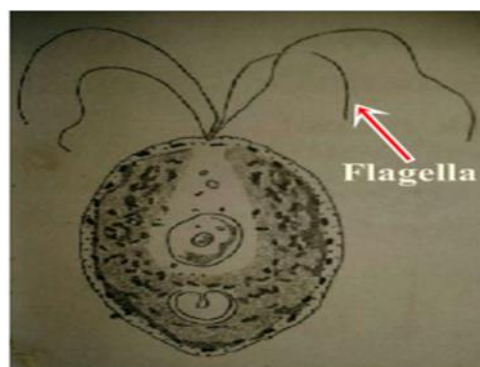
## 2.2. *Tetraselmis* sp.

Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), *Tetraselmis chuii* merupakan mikroalga yang dikenal dengan istilah flagellata berklorofil. Klasifikasi

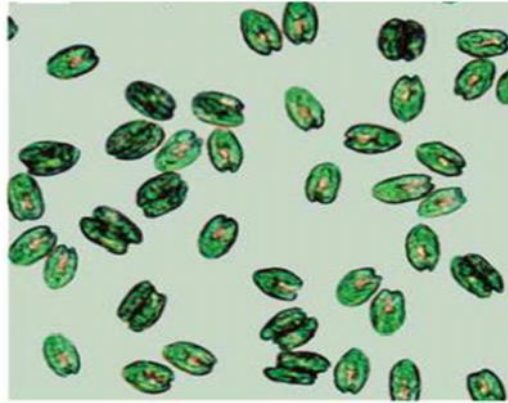
*Tetraselmis* sp. menurut Butcher (1959), adalah sebagai berikut:

- Filum : Chlorophyta
- Kelas : Chlorophyceae
- Ordo : Volvocales
- Sub ordo : Chlamidomonacea
- Genus : *Tetraselmis*
- Spesies : *Tetraselmis* sp.

*Tetraselmis* sp. merupakan alga bersel tunggal, berbentuk oval elips, dan ukurannya berkisar antara 7-12 mikron. *Tetraselmis* sp. mempunyai empat buah flagella berukuran 0,75–1,2 kali panjang tubuhnya, yang bergerak aktif seperti hewan (Gambar 4). Flagella *Tetraselmis* sp. dapat bergerak secara lincah dan cepat seperti hewan bersel tunggal (Inansetyo dan Kurniastuty, 1995). Inti sel *Tetraselmis* sp. jelas dan kecil serta dinding sel mengandung bahan selulosa dan pektosa (Butcher, 1959), serta memiliki klorofil sehingga berwarna hijau cerah yang terdapat pada kloroplas (Gambar 5).



Gambar 4. Flagella *Tetraselmis* sp. (Inansetyo dan Kurniastuty, 1995).

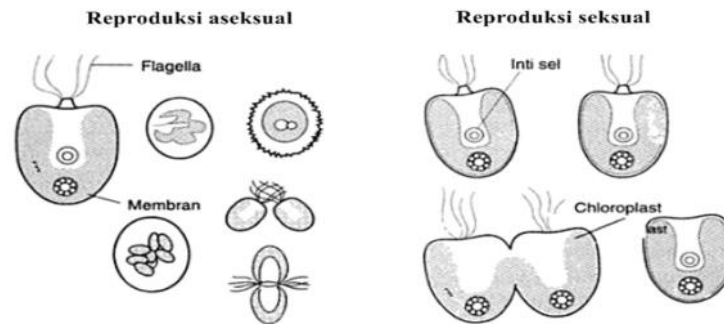


Gambar 5. *Tetraselmis* sp. (Biondi and Tredici, 2011).

*Tetraselmis chuii* tumbuh pada salinitas 0-35 ppt dengan kondisi salinitas optimal antara 30 sampai dengan 32 ppt. Kisaran pH yang optimal bagi pertumbuhan *Tetraselmis chuii* adalah 8-9,5 (Fogg and Thake, 1987). *Tetraselmis chuii* masih dapat bertahan hidup pada suhu 40°C, tetapi tidak tumbuh. Kisaran suhu 25°C–30°C merupakan kisaran suhu yang optimum untuk pertumbuhan *Tetraselmis chuii* (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Kepadatan optimum sel *Tetraselmis* sp. berkisar 500-1000 x 10<sup>4</sup> sel/mL (Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut, 2007).

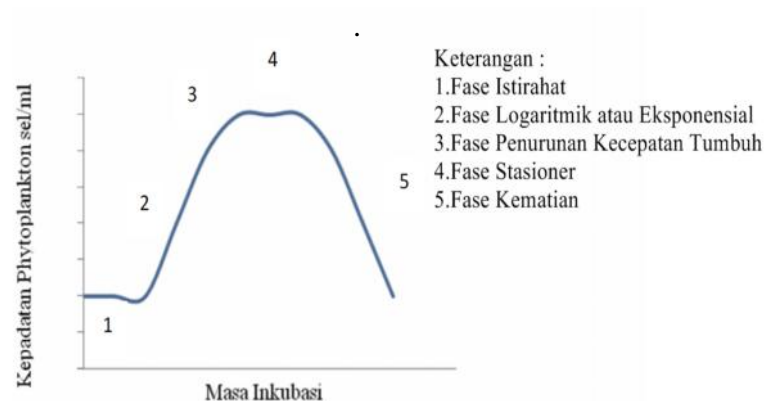
*Tetraselmis* sp. berkembang biak secara aseksual dan seksual. Reproduksi *Tetraselmis* sp. secara aseksual dimulai dari sel vegetatif, kemudian membentuk 4 buah zoospore yang kemudian dilengkapi dengan 4 flagella pada masing-masing sel. Ketika keempat zoospora telah terbentuk maka akan berlanjut pada penentuan letak gamet. Setelah letak gamet ditentukan maka unit-unit gamet mengalami pembelahan dan berkembang menjadi zygospora. Reproduksi *Tetraselmis* sp secara seksual atau isogami diawali dari terjadinya fusi antara gamet jantan dan gamet betina, kemudian kloroplas bersatu. Setelah kloroplas bersatu maka akan terbentuk zygot baru (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).





Gambar 6. Daur hidup dan cara reproduksi *Tetraselmis* sp. (Rostini, 2007).

Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) memaparkan bahwa laju pertumbuhan adalah pertambahan jumlah sel dalam periode tertentu. Pertumbuhan ditandai dengan bertambah besarnya ukuran sel atau bertambah banyaknya jumlah sel. Hingga saat ini kepadatan sel digunakan secara luas untuk mengetahui pertumbuhan *Tetraselmis chuii* dalam kultur pakan alami. Pola pertumbuhan *Tetraselmis chuii* yang secara skematik dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Pola pertumbuhan *T. chuii* (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Menurut Pujiono (2013), pola pertumbuhan atau kurva pertumbuhan *Tetraselmis chuii* dibagi menjadi 5 fase sebagai berikut:

#### 1. Fase Istirahat

Sesaat setelah penambahan inokulum ke dalam media kultur, populasi tidak mengalami perubahan. Ukuran sel pada fase ini pada umumnya meningkat.

Secara fisiologis *Tetraselmis chuii* sangat aktif dan terjadi proses sintesis protein baru. Organisme mengalami metabolisme, tetapi belum terjadi pembelahan sel sehingga kepadatan sel belum meningkat. Umumnya terjadi pada hari pertama dan kedua kultur.

## 2. Fase Logaritmik atau Eksponensial

Fase ini diawali dari pembelahan sel dengan laju pertumbuhan tetap. Pada kondisi kultur yang optimum, laju pertumbuhan pada fase ini mencapai maksimal. Umumnya terjadi pada hari ketiga hingga hari ketujuh.

## 3. Fase Penurunan kecepatan tumbuh

Fase ini merupakan fase pada hari ketujuh yang menunjukkan kecepatan pertumbuhan sel yang mulai lambat karena kondisi fisik dan kimia kultur mulai membatasi pertumbuhan.

## 4. Fase Stasioner

Pada fase ini, pertumbuhan mulai mengalami penurunan dibandingkan fase logaritmik. Pada fase ini laju reproduksi sama dengan laju kematian, dengan demikian penambahan dan pengurangan jumlah sel relatif sama atau seimbang sehingga kepadatan sel tetap. Fase ini terjadi pada hari ketujuh hingga hari kesepuluh.

## 5. Fase Kematian

Pada fase ini laju kematian lebih cepat dari pada laju reproduksi. Jumlah menurun secara geometrik. Penurunan kepadatan sel ditandai dengan perubahan kondisi optimum yang dipengaruhi oleh temperatur, cahaya, pH air, jumlah hara yang ada, dan beberapa kondisi lingkungan yang lain yang dimulai pada hari kesepuluh (Pujiono, 2013).

*Tetraselmis chuii* memiliki laju pertumbuhan dan adaptasi terhadap lingkungan yang relatif cepat. Pola pertumbuhannya juga memiliki dua puncak populasi yaitu pada hari ke enam dan pada hari ke sepuluh. *Tetraselmis chuii* juga sensitif terhadap kepadatan sel yang tinggi, sehingga ketika dalam satu populasi sudah mencapai optimum maka penurunan jumlah kepadatan sel pada populasi tersebut akan cepat mengalami penurunan yang diakibatkan oleh beberapa hal yakni *Tetraselmis chuii* cukup sensitif dengan bioproduknya sendiri atau kandungan nutriennya habis terserap. Sebab lain dari kematian *Tetraselmis chuii* kemungkinan karena kultur *Tetraselmis chuii* mudah terkontaminasi oleh alga lain (Sutomo, 2005).

Penelitian Ru'yatin dkk. (2015), *Tetraselmis* sp. yang dikultivasi pada media air laut dengan penambahan media siap pakai KW 21 mengalami fase lag atau adaptasi pada hari ke-1 sampai ke-3 setelah kultivasi dan fase eksponensial pada hari ke 4 sampai hari ke 8 dengan kepadatan *Tetraselmis* sp. mencapai  $160 \times 10^4$  sel/mL. Pada penelitian Wulan (2015), menunjukkan bahwa *Tetraselmis* sp. dapat hidup pada media limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif II dengan kepadatan sel awal  $39 \times 10^4$  sel/mL dan puncak pertumbuhan *Tetraselmis* sp. terjadi pada hari ke-6 yaitu sebesar  $583 \times 10^4$  sel/mL.

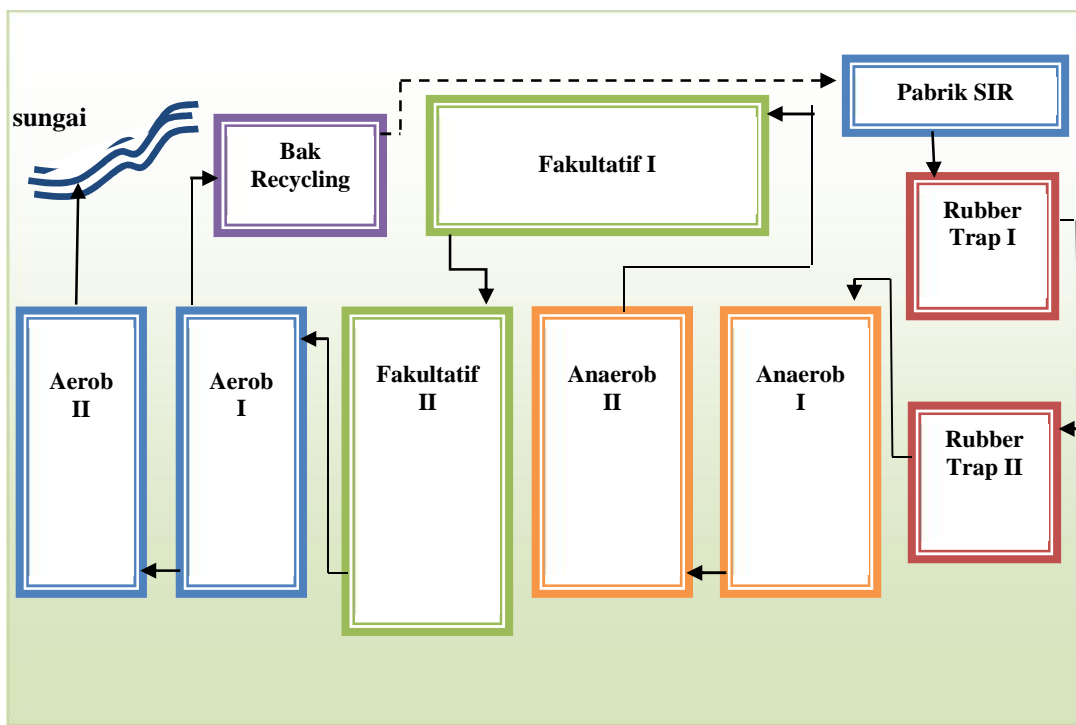
### **2.3. Limbah Cair Industri Karet Remah**

Pabrik pengolahan karet remah PTPN VII Unit Usaha Way Berulu memiliki kapasitas produksi sebanyak 30 ton karet kering/hari. Limbah cair yang dikeluarkan antara  $240 \text{ m}^3$ /hari sampai dengan  $312 \text{ m}^3$ /hari. Limbah cair pengolahan karet merupakan limbah yang berasal dari proses pengenceran lateks,

koagulasi, penggilingan, dan pencucian. Limbah cair dialirkan melalui parit yang akan diarahkan ke Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) (Kartika, 2010).

Limbah cair industri karet remah berwarna putih keruh, mengandung padatan tersuspensi, terlarut maupun mengendap. Limbah cair ini bersifat asam dengan nilai pH berkisar 4,2-6,3 dikarenakan penggunaan asam formiat pada proses koagulasi lateks (Wulan, 2015). Air limbah industri karet mengandung bahan organik yang cukup tinggi seperti senyawa nitrogen ( $N-NH_3$ ) berkisar 100-300 mg/L dan fosfor ( $P-PO_4$ ) berkisar 20-40 mg/L serta memiliki nilai kebutuhan oksigen kimia (COD) sebesar 3000-5000 mg/L yang dapat berpotensi mencemari lingkungan. Rasio COD:BOD dalam limbah cair industri karet remah berbahan baku lateks kebun sekitar 1,5 sehingga tergolong limbah yang mudah terurai secara biologis (Utomo dkk., 2012).

Pengolahan air limbah bertujuan untuk mengurangi BOD, partikel tercampur, serta membunuh organisme patogen, menghilangkan bahan nutrisi, komponen beracun, serta bahan yang tidak dapat didegradasikan agar konsentrasi yang menjadi lebih rendah, sehingga diperlukan pengolahan secara bertahap agar bahan-bahan di atas dapat dikurangi (Sugiharto, 1987). Pengolahan limbah cair industri karet remah dapat dilakukan dengan serangkaian kolam pangolahan yang dilakukan secara simultan yaitu dengan Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Kolam-kolam IPAL yang digunakan oleh PTPN VII Unit Usaha Way Berulu, yaitu Rubber trap I, Rubber trap II, Anaerobik I, Anaerobik II, Fakultatif I, Fakultatif II, Aerobik I, dan Aerobik II. Ilustrasi IPAL PTPN VII Unit Usaha Way Berulu dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Ilustrasi IPAL PTPN VII Unit Usaha Way Berulu (Kartika, 2010).

Pengolahan limbah cair di Pabrik Pengolahan Karet Remah Unit Usaha Way Berulu menggunakan sistem IPAL yang baik. Pengolahan limbah cair yang dilakukan yaitu dengan *primary treatment* dan *secondary treatment*. Pemisahan di *rubber trap* merupakan penanganan limbah cair awal atau *primary treatment* karena kegiatan ini merupakan kegiatan untuk menghilangkan zat padat pada limbah cair dengan cara pengapungan. *Secondary treatment* terdapat pada kolam Anaerobik I hingga kolam Aerobik II dengan sistem pendekatan *lagoon system*, karena kolam-kolam tersebut sebagai tempat degradasi bahan-bahan organik dalam air limbah dengan menggunakan bantuan mikroorganisme. Adapun data sarana pengolahan air limbah *Standard Indonesian Rubber (SIR)* di PTPN VII Unit Usaha Way Berulu disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Data sarana pengolahan limbah

<b>Nama Kolam</b>	<b>Dimensi (m)</b>	<b>Volume (m<sup>3</sup>)</b>	<b>Retensi (hari)</b>
Rubber Trap I	16 x 12 x 2,5	415	0,55
Rubber Trap II	24 x 12 x 2	526	0,70
Anaerobik I	30 x 70 x 5,5	11.550	15,4
Anaerobik II	30 x 70 x 5,5	11.550	15,4
Fakultatif I	40 x 75 x 3	9.000	12
Fakultatif II	40 x 75 x 3	9.000	12
Aerobik I	30 x 70 x 1,5	3.150	4,2
Aerobik II	50 x 100 x 1,5	7.500	10
Bak Recycle	5 x 10 x 2	100	0,13

Keterangan: m<sup>3</sup> air dari pengolahan SIR per ton KK adalah 25 m<sup>3</sup> dengan kapasitas pabrik sebesar 30 ton KK/hari (Kartika, 2010).

Pengendalian limbah cair yang dilakukan PTPN VII Unit Usaha Way Berulu adalah pengendalian pemakaian air di pabrik (*in plant control*) dan *in house keeping* yang baik. Upaya yang telah dilakukan untuk memenuhi baku mutu limbah cair karet adalah pemasangan *turbo jet aerator*, *sprayer*, dan sekat penangkap butiran karet di saluran air limbah sebelum masuk ke kolam *rubber trap* serta pengutipan karet di trap secara berkelanjutan (Kartika, 2010). Efluen limbah cair industri karet remah di PTPN VII Unit Usaha Way Berulu sudah memenuhi baku mutu limbah cair yang ditetapkan Kep-51/MENLH/10/1995. Parameter dan baku mutu efluen air limbah di PTPN VII Unit Usaha Way Berulu dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Parameter dan baku mutu efluen air limbah di PTPN VII Unit Usaha Way Berulu

<b>Parameter</b>	<b>Satuan</b>	<b>Baku Mutu</b>	<b>Hasil Analisis Rata-rata Efluen</b>				
			<b>2010</b>	<b>2011</b>	<b>2012</b>	<b>2013</b>	<b>2014 s.d Juni</b>
pH	-	6.0-9.0	7.67	7.79	7.73	7.51	7.58
BOD	mg/L	Maks. 60	14,92	13.52	17.59	9.29	10.40
COD	mg/L	Maks. 200	32.21	32.79	86.92	64.84	67.62
NH <sub>3</sub>	mg/L	10	4.62	5.52	1.85	0.37	0.27
Ntotal	mg/L	Maks. 5	4.81	8.30	5.00	4.38	5.65

Sumber: PTPN VII Unit Usaha Way Berulu (2014).

## 2.4. Limbah Cair Industri Karet Remah sebagai Media Kultivasi Mikroalga

Pemanfaatan limbah cair merupakan salah satu upaya untuk menghasilkan suatu produk industri melalui sistem produksi bersih (*zero waste*). Limbah cair industri karet sangat potensial digunakan sebagai media kultivasi mikroalga untuk pengembangan biodiesel yaitu bahan bakar berbasis nabati (Wulan, 2015). Pada limbah cair karet banyak terdapat senyawa organik hal ini yang menyebabkan nilai BOD, COD, dan  $\text{NH}_3$  masih relatif tinggi tetapi senyawa organik ini dapat digunakan oleh mikroalga sebagai sumber hara makro dan mikro (Yulita, 2014). Kandungan bahan organik pada kolam IPAL industri pengolahan karet remah PTPN VII Unit Usaha Way Berulu disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik limbah cair industri karet remah PTPN VII Unit Usaha Way Berulu

Parameter	Satuan	Hasil Analisis						
		Limbah segar <sup>1)</sup>	Anaerobik		Fakultatif		Aerobik	
			I <sup>1)</sup>	II <sup>1)</sup>	I <sup>1)</sup>	II <sup>2)</sup>	I <sup>2)</sup>	II <sup>2)</sup>
COD	mg/L	2780	640	300	160	612	300	693
pH	-	5,72	6,82	7,16	7,60	8,29	8,43	8,38
N-NH <sub>3</sub>	mg/L	266	244	284	169	3,896	4,125	4,545
N-NO <sub>3</sub>	mg/L	0.15	0,059	0,463	0,039	-	-	-
Ntotal	mg/L	-	-	-	-	5,078	4,343	5,336

Sumber: <sup>1)</sup>Utomo dan Suroso (2008); <sup>2)</sup>Komalasari (2015)

Penggunaan limbah cair sebagai media kultur mikroalga telah banyak dilakukan. Adanya kandungan unsur nitrogen (N), fosfor (P), besi (Fe), dan magnesium (Mg) yang terdapat dalam limbah cair karet, dapat menjadi sumber nutrisi bagi pertumbuhan *Chlorella* sp. sehingga dapat memenuhi syarat sebagai media kultur mikroalga (Dedi dkk., 2010). Limbah cair karet dengan kandungan nitrogen lebih dari 4.000 ppm dan unsur lainnya merupakan modal dasar yang dapat dijadikan sebagai media kultur dan budidaya mikroalga. Nitrogen dalam bentuk  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$

ataupun amoniak ( $\text{NH}_3$ ) pada limbah dimanfaatkan oleh *Nannochloropsis oculata* untuk keperluan metabolisme sel seperti katabolisme maupun asimilasi khususnya biosintesis protein (Borowitzka and Borowitzka, 1988). Pada penelitian Komalasari, (2015) kultivasi *Nannochloropsis* sp. pada limbah cair industri karet remah *outlet* kolam Fakultatif II mampu menghasilkan kepadatan sel sebesar  $3,3 \times 10^7$  sel/mL. Selain itu, pada penelitian Wulan (2015), limbah cair industri karet remah *outlet* kolam Fakultatif II juga dapat dijadikan media kultivasi mikroalga *Botryococcus braunii* dan *Tetraselmis* sp. dengan puncak kepadatan sel masing-masing mencapai  $2668 \times 10^4$  sel/mL dan  $538 \times 10^4$  sel/mL.

Pemanfaatan limbah cair karet sebagai media kultivasi mikroalga dapat dilakukan di sistem terbuka (*open photobioreactors*) atau tertutup (*closed photobioreactors*) dengan diiluminasi baik dengan cahaya buatan ataupun cahaya matahari dengan temperature  $27-30^\circ\text{C}$  dan pH 6.5-8. Kultivasi mikroalga dalam *open pond* sudah dilakukan beberapa tahun terakhir karena merupakan salah satu jenis bioreaktor yang termasuk paling murah. Hal ini dikarenakan jenis bioreaktor *open pond* hanya menggunakan sinar matahari sebagai sumber cahaya yang digunakan oleh mikroalga untuk fotosintesis (Chisti, 2007) disamping mudah untuk dikonstruksi. Sistem *open pond* memiliki beberapa kelemahan diantaranya evaporasi akut dan penggunaan karbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ) menjadi tidak efisien. Produktivitas mikroalga juga dibatasi oleh kontaminasi dari alga atau mikroorganisme yang tidak diinginkan. Selain itu, sistem *open pond* dengan volume kultur yang besar mengakibatkan sinar matahari tidak sepenuhnya diserap oleh mikroalga di dasar kolam (Ugwu *et al.*, 2007) dan mixing atau pengadukan tidak maksimal sehingga mengakibatkan sedimentasi sel di dasar kolam reaktor.





Gambar 9. Bentuk reaktor *open pond* (Komalasari, 2015).

Dalam proses kultivasi mikroalga, sebelum diperoleh biomassa terdapat satu proses yang harus dilakukan terlebih dahulu, yaitu proses pemanenan atau *harvesting* atau *dewatering*. Pemanenan adalah proses pemisahan antara medium dan mikroalga secara separasi padat-cair. Proses ini berfungsi untuk memisahkan biomassa mikroalga yang terdapat di dalam reaktor dengan mediumnya, sehingga diperoleh biomassa dengan sedikit kandungan air. Pemanenan mikroalga dapat dilakukan dengan beberapa metode separasi yaitu filtrasi, sedimentasi gravitasi, sentrifugasi, flotasi, dan flokulasi (Pratama, 2011).

Flokulasi adalah proses dimana partikel zat terlarut dalam larutan membentuk agregat yang disebut flok. Proses flokulasi terjadi saat partikel zat terlarut saling bertumbukan dan menempel satu sama lain. Bahan kimia yang biasa disebut flokulan ditambah kedalam sistem untuk membantu proses flokulasi. Pemanenan sel mikroalga dengan flokulasi dianggap lebih baik daripada metode konvensional seperti sentrifugasi atau filtrasi karena dapat menghasilkan biomassa yang lebih baik secara kuantitas (Febiana, 2015).

Flokulan yang umum digunakan dalam pemanenan mikroalga adalah NaOH. Berdasarkan penelitian Pratama (2011), pemanenan *Chlorella vulgaris* dengan NaOH memiliki efisiensi flokulasi terbaik sebesar 94,49% yang dicapai pada dosis 4 mL NaOH /100 mL sampel. Pada penelitian Febiana (2015), pemanenan *Nannochloropsis* sp. yang dikultivasi pada limbah cair industri karet remah dengan NaOH dengan dosis 200 mg/L sampel memiliki efisiensi flokulasi sebesar 72,91% dan efisiensi flokulasi terbaik sebesar 94,55% dicapai dengan flokulan aluminium sulfat ( $\text{Al}_2\text{SO}_4$ )<sub>3</sub> dengan dosis 150 mg/L sampel.

## 2.5. Makronutrien

Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga adalah ketersediaan nutrien. Nutrien yang dibutuhkan mikroalga terdiri dari makronutrien dan mikronutrien. Makronutrien yang diperlukan antara lain N (termasuk nitrat), P, Fe, Mg, S, dan K. Sedangkan mikronutrien yang diperlukan adalah Mn, Zn, Cu, Mo, dan Co dalam jumlah yang relatif sedikit. Unsur nutrisi yang diperlukan oleh mikroalga dalam jumlah terbanyak adalah karbon (C), nitrogen (N), dan phosphor (P) (Astuti, dan Sriwuryandari, 2010).

Kadar C biomassa mikroalga bervariasi tergantung kepada strain, nutrisi, dan kondisi kultivasi. Secara teoritis jumlah molekul CO<sub>2</sub> minimum yang harus difiksasi oleh sel mikroalga dan kebutuhan N dan P dapat dihitung berdasarkan rumus empiris molekul sel mikroalga ( $\text{C}_1\text{H}_{1.83}\text{O}_{0.48}\text{N}_{0.11}\text{P}_{0.01}$ ) dan target produksi yang diinginkan. Mengacu pada rumus empiris tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa C merupakan unsur dominan di dalam sel mikroalga yaitu mencapai 51,59% sedangkan N dan P hanya sekitar 6,62% dan 1,33% (Chisti, 2007).

Tingkat fiksasi C oleh sel mikroalga sangat berpengaruh terhadap produksi biomassa. Penyerapan C inorganik oleh mikroalga dipengaruhi oleh konsentrasi N (Giordano *et al.*, 2005). Penelitian lain menunjukkan pertumbuhan alga di dalam medium tanpa N menjadi lambat (Xu *et al.*, 2001) sehingga diperlukan tambahan N untuk meningkatkan laju pembentukan sel.

Menurut Becker (1994), selain nitrogen senyawa fosfor juga merupakan senyawa esensial bagi pertumbuhan mikroalga, serta merupakan bahan dasar pembentukan asam nukleat dan vitamin. Selain itu, fosfor juga berperan dalam transfer energi pada proses fotosintesis dan pembentukan klorofil pada proses selular. Fosfor merupakan unsur penyusun Adenosin Triphosphat (ATP) yang secara langsung berperan dalam proses penyimpanan dan transfer energi yang terkait dalam proses metabolisme oleh karena itu fosfor sangat penting dalam pertumbuhan mikroalga. Total fosfor dalam perairan terdapat sebagai senyawa ortofosfat, polifosfat, dan fosfat organik. Menurut Efendi (2003), ortofosfat merupakan bentuk fosfor yang dapat dimanfaatkan secara langsung oleh mikroalga.

Ketersediaan P yang rendah akan menyebabkan pengaruh pada efek biokimia dan fisiologi mikroalga. Keterbatasan P yang tinggi menyebabkan mikroalga tidak mampu untuk memproduksi asam nukleat dan akhirnya berakibat pada penurunan pembentukan protein, sehingga terganggunya pembentukan atau pembelahan sel. Selain itu keterbatasan P juga menyebabkan penurunan pemanfaatan sinar matahari dan fiksasi karbondioksida (CO<sub>2</sub>) (Falkowski and Raven, 1997).

Menurut Wardhana (1994), kadar fosfor optimal untuk pertumbuhan fitoplankton berkisar antara 0,27-5,51 mg/L.

Nitrogen merupakan makronutrisi yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga dalam kegiatan metabolisme sel yaitu transportasi, katabolisme, asimilasi, dan khususnya biosintesis protein. Nitrogen juga berperan dalam sintesis klorofil dan enzim yang mengontrol seluruh metabolisme. Nitrogen merupakan bahan penting penyusun asam amino, nukleotida, dan nukleo protein, serta esensial untuk pembelahan sel sehingga nitrogen penting untuk pertumbuhan (Borowitzka and Borowitzka, 1988). Dengan demikian pada saat konsentrasi nitrogen pada media kultur optimal maka kegiatan metabolisme sel akan berjalan dengan baik, termasuk sintesis klorofil. Dengan adanya kandungan klorofil yang meningkat maka proses fotosintesis akan berjalan dengan baik sehingga pertumbuhan mikroalga akan optimal (Ernest, 2012).

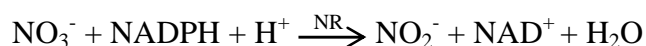
Nitrogen memiliki peranan penting dalam siklus organik sebagai penghasil asam amino penyusun protein. Di perairan, nitrogen berupa nitrogen organik dan nitrogen anorganik. Nitrogen organik berupa protein, asam amino, dan urea sedangkan nitrogen anorganik terdiri atas ammonia ( $\text{NH}_3$ ), ammonium ( $\text{NH}_4$ ), Nitrit ( $\text{NO}_2$ ), Nitrat ( $\text{NO}_3$ ), dan molekul nitrogen dalam bentuk gas ( $\text{N}$ ) (Kusuma, 2014). Meskipun ditemukan dalam jumlah yang cukup banyak di atmosfer, nitrogen tidak dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup secara langsung (Dugan, 1972). Nitrogen harus mengalami fiksasi terlebih dahulu menjadi ammonia ( $\text{NH}_3$ ), ammonium ( $\text{NH}_4$ ), Nitrit ( $\text{NO}_2$ ), dan Nitrat ( $\text{NO}_3$ ) agar dapat diserap.

Senyawa nitrogen selain yang sudah menjadi ion  $\text{NO}_3^-$  dan  $\text{NH}_4^+$  harus dirubah terlebih dahulu menjadi ion tersebut agar mudah diserap. Ion yang biasanya paling mudah diserap adalah ion  $\text{NH}_4^+$  karena ion tersebut dapat berada pada

situasi lingkungan yang asam atau kekurangan oksigen (hipoksia) sedangkan ion  $\text{NO}_3^-$  tidak terserap. Oleh karena itu, ion  $\text{NO}_3^-$  biasanya dirubah terlebih dahulu menjadi  $\text{NH}_4^+$  melalui proses reduksi nitrat dengan reaksi sebagai berikut:



Pada reaksi tersebut, kondisi yang dibutuhkan adalah kondisi yang sangat asam. Kenaikan pH tersebut akan mengganggu pertumbuhan sehingga perlu dilakukan cara lain. Cara yang baik adalah dengan mengubah nitrat menjadi nitrit terlebih dahulu dan selanjutnya dirubah menjadi ion ammonium. Reaksi perubahan nitrat menjadi nitrit sebagai berikut:



Reaksi tersebut untuk mengubah nitrat menjadi nitrit. Padahal NADH sangat dibutuhkan untuk membentuk lipid, protein, dan klorofil pada proses respirasi sehingga semakin banyak yang dibutuhkan untuk proses reduksi nitrat menjadi nitrit maka semakin sedikit lipid, klorofil, dan protein yang terbentuk.

Selanjutnya nitrit akan dirubah menjadi ion ammonium dengan reaksi sebagai berikut:



Berdasarkan reaksi tersebut, derajat keasaman yang dibutuhkan tidak seasam reaksi reduksi nitrat menjadi ion ammonium. Selanjutnya  $\text{NH}_4^+$  akan bereaksi dengan asam glutamat dan akan menghasilkan senyawa organik utama seperti asam amino, protein, dan klorofil. Namun  $\text{NH}_4^+$  yang berlebihan akan membuat pertumbuhan dari tumbuhan dan alga menurun karena gugus tersebut sangat beracun yang dapat menghambat pembentukan ATP di kloroplas maupun di mitokondria (Ernest, 2012).

## 2.6. Salinitas

Salinitas merupakan konsentrasi total dari semua ion yang larut dalam air, dan dinyatakan dalam bagian perseribu (ppt) yang setara dengan gram per liter (Boyd, 1990). Salinitas ditentukan berdasarkan banyaknya garam-garaman yang larut dalam air. Air laut mengandung berbagai senyawa garam dan masing-masing mengendap berdasarkan tingkat kelarutannya, mulai senyawa besi (ferri oksida), kalsium (gips), sodium (garam dapur), dan magesium (magnesium klorida dan sulfat). Diantara senyawa-senyawa garam yang terkandung di dalam air laut NaCl merupakan senyawa yang paling besar porsinya (Santosa, 2014). Kandungan garam-garaman dalam air laut disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Kandungan garam-garaman dalam air laut

Jenis garam	Kandungan garam (%)
NaCl	68,1
MgCl	14,4
CaCl	3,2
KCl	1,9
NaCO <sub>4</sub>	11,4
NaHCO <sub>4</sub>	0,6
KBr	0,3

Sumber: Lyman and Fleming (1940).

Menurut Hutabarat dan Evans (1985), salinitas penting artinya bagi kelangsungan hidup organisme, hampir semua organisme laut hanya dapat hidup pada daerah yang mempunyai perubahan salinitas yang kecil. *Tetraselmis chuii* tumbuh pada salinitas 0-35 ppt dengan kondisi salinitas optimal antara 30 sampai dengan 32 ppt (Fogg and Thake, 1987). Menurut Inansetyo dan Kurniastuty (1995) *Tetraselmis chuii* memiliki toleransi salinitas 15 ppt. Berdasarkan penelitian Wulan (2015), *Tetraselmis* sp. dapat tumbuh pada media limbah cair industri karet remah outlet

kolam Fakultatif II yang memiliki salinitas 0 ppt dengan kepadatan sel optimumnya mencapai  $538 \times 10^4$  sel/mL.

Salinitas media pertumbuhan perlu diatur untuk mengoptimalkan pertumbuhan *Tetraselmis* sp.. Pujiono (2013) menggunakan media kultur berupa air laut pantai utara dengan salinitas 35 ppt yang kemudian diatur salinitasnya menjadi 30 ppt dengan cara mencampur 200 mL air laut dengan aquades 200 mL. Cahyaningsih dkk. (2010) menggunakan media dengan salinitas 30 ppt dalam kultur *Tetraselmis chunii* di Laboratorium Pakan Alami Balai Budidaya Air Payau Situbondo. Pada penelitian Harimurti dkk. (2013), pengkondisian salinitas media kultivasi *Chlorella vulgaris* dan *Botryococcus braunii* dilakukan dengan penambahan garam NaCl.

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2015 - Januari 2016 di Laboratorium Fitoplankton dan Laboratorium Kualitas Air Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung, Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Program Studi Teknologi Pangan Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Lampung, dan Laboratorium Pengelolaan Limbah Agroindustri dan Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

#### **3.2. Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu reaktor terbuka yang terbuat dari *fiberglass* ukuran (35x14x19) cm dengan volume kerja 5 L yang dilengkapi dengan selang aerasi dan lampu TL 40 Watt, gelas ukur, labu Erlenmeyer, haemocytometer, *cover glass*, *hand counter*, pipet tetes, mikroskop, pengaduk, derigen, refraktometer, spektrophotometer Nova 60, corong, pipet volum, rubber bulb, DO meter, labu Kjeldahl, buret pyrex, statif, klem, spatula, pH meter, desikator, cawan porselin, penjepit, neraca analitik, oven, aluminium foil, kain satin, dan kertas saring.



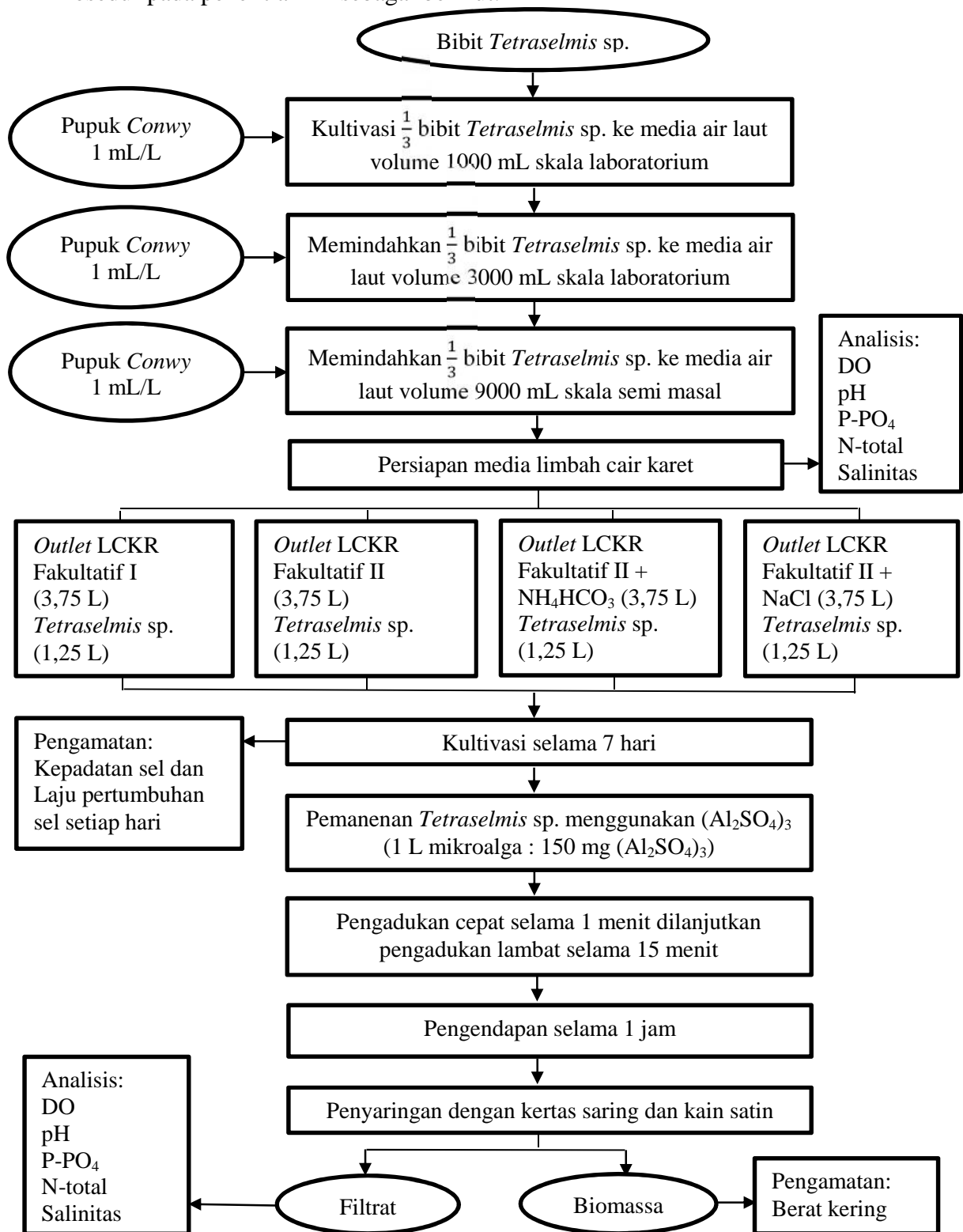
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah cair industri karet remah *outlet* kolam Fakultatif I dan Fakultatif II yang berasal dari Instalasi Pengolahan Air Limbah PTPN VII Unit Usaha Way Berulu, kultur murni *Tetraselmis* sp. yang diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung, air laut, pupuk Conwy, ammonium bikarbonat ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), aluminium sulfat ( $\text{Al}_2\text{SO}_4$ )<sub>3</sub>, natrium klorida (NaCl), alkohol, formalin, aquades, reagen cair  $\text{PO}_4$ -1, natrium sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), kalium sulfida ( $\text{K}_2\text{S}$ ), asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), natrium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl), dan indikator phenolphthalein.

### 3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan 4 perlakuan media pertumbuhan *Tetraselmis* sp. dengan kondisi nitrogen dan salinitas yang berbeda. Media pertumbuhan yang digunakan adalah *outlet* limbah cair industri karet remah (LCKR) dari kolam Fakultatif I (F1), Fakultatif II (F2), Fakultatif II yang diperkaya dengan  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (F2N), dan Fakultatif II yang ditingkatkan salinitasnya dengan penambahan NaCl (F2S) dengan volume kerja masing-masing 5 L. Tahap kultivasi dilakukan dengan mempersiapkan bibit *Tetraselmis* sp. sebanyak 25% v/v kerja pada masing-masing media yang dibiakkan selama 7 hari (Kawaroe dkk, 2012). Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga menghasilkan  $4 \times 3 = 12$  satuan percobaan. Pengamatan kepadatan sel dan laju pertumbuhan sel dilakukan setiap hari sedangkan pengamatan DO, pH, salinitas, P- $\text{PO}_4$ , dan N-total dilakukan diawal dan diakhir kultivasi serta pengamatan biomassa kering dilakukan diakhir kultivasi. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik serta dianalisis secara deskriptif.

### 3.4. Pelaksanaan Penelitian

Prosedur pada penelitian ini sebagai berikut.

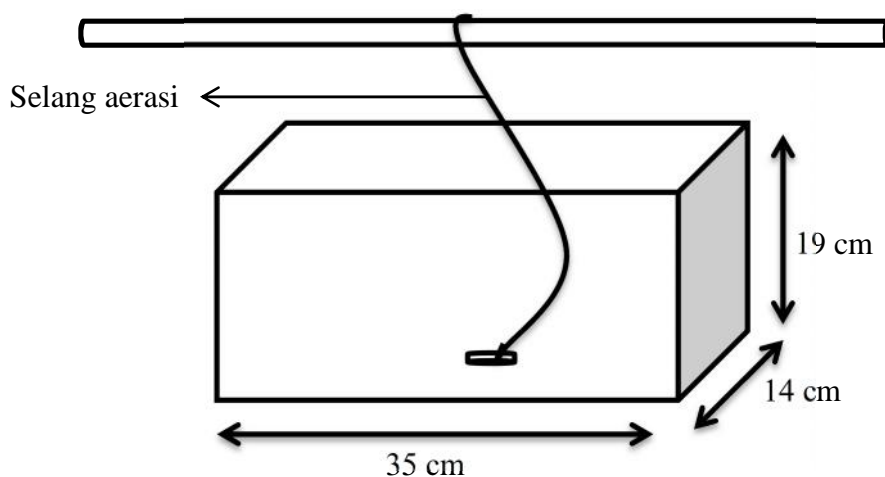


Gambar 10. Diagram alir perolehan biomassa *Tetraselmis sp.* (Wulan, 2015) dimodifikasi.

### 3.4.1. Pengkondisian Media

Media yang digunakan untuk kultivasi *Tetraselmis* sp. adalah limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif I (F1) dan Fakultatif II (F2) yang berasal dari PTPN VII Unit Usaha Way Berulu. Sebelum digunakan sebagai media kultivasi, limbah cair karet dari *outlet* kolam Fakultatif II (F2) ditambahkan  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  sebanyak 1 gram per volume kerja (F2N) dan diatur salinitasnya dengan penambahan NaCl sampai 30 ppt (F2S). Setelah itu media kultivasi dianalisis untuk mengetahui nilai awal dari *Dissolved Oxygen* (DO), pH, P- $\text{PO}_4$ , N- $\text{NH}_3$ , dan N-total.

Keempat jenis perlakuan media limbah cair karet kemudian dimasukkan dalam reaktor masing-masing 3 ulangan dengan volume kerja 5 L. Reaktor dilengkapi dengan aerasi untuk memenuhi kebutuhan  $\text{CO}_2$  *Tetraselmis* sp. dan sekaligus berfungsi sebagai sirkulasi air media pertumbuhan. Ilustrasi reaktor yang digunakan untuk pembiakan *Tetraselmis* sp. dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Ilustrasi reaktor

### 3.4.2. Pembiakan Kultur Murni

Pembiakan kultur murni *Tetraselmis* sp. dilakukan secara *indoor* dan *outdoor* pada media kultur dengan penambahan pupuk *Conwy* sebanyak 1 mL/1 L air laut steril. Komposisi pupuk *Conwy* dapat dilihat pada Tabel 6. Pembiakan *indoor* dilakukan pada 2 labu erlenmeyer dengan memasukkan 1/3 bagian bibit *Tetraselmis* sp. dalam 1000 mL media kultur dengan salinitas 26 ppt. Pembiakan dilakukan selama dalam 7 hari karena pada hari ketujuh kondisi bibit *Tetraselmis* sp. mencapai pertumbuhan optimum (BBAPS, 2010). Setelah itu, bibit *Tetraselmis* sp. dipindahkan ke volume yang lebih besar yaitu 3000 mL media kultur dengan salinitas 26 ppt. Setelah 7 hari, dilakukan pembiakan *outdoor* dengan memindahkan bibit *Tetraselmis* sp. dalam 9000 mL media kultur dengan salinitas 30 ppt selama 7 hari sehingga didapat keseluruhan volume bibit sebanyak 18000 mL.

Tabel 6. Komposisi pupuk *Conwy*

Bahan Kimia	Takaran per Liter
EDTA	45 gram
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	20 gram
FeCl <sub>3</sub> . 6H <sub>2</sub> O	1,5 gram
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	33,6 gram
MnCl <sub>3</sub>	0,30 gram
NaNO <sub>3</sub>	100 gram
Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> . 9H <sub>2</sub> O	-
Trace Metal Solution	1 mL
Vitamin	1 mL
Aquades	Hingga 1000 mL

Sumber: Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (2007).

### 3.4.3. Kultivasi

Kultivasi *Tetraselmis* sp. dilakukan pada sistem kolam terbuka (*open pond*) dengan kapasitas 5 Liter. Sebelum dikultivasi, dilakukan pengukuran kepadatan sel untuk mengetahui kepadatan awal bibit *Tetraselmis* sp. Konsentrasi kultur *Tetraselmis* sp. yang dibiakkan sebanyak 25% v/v (1250 mL) pada 3750 mL limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif I (F1), Fakultatif II (F2), Fakultatif II +  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (F2N), dan Fakultatif II + NaCl (F2S). Kultivasi berlangsung selama 7 hari. Setiap hari, kepadatan sel mikroalga selalu diukur untuk memantau laju perkembangan selnya (Kawaroe dkk, 2012).

### 3.4.4. Pemanenan

Pemanenan *Tetraselmis* sp. dilakukan dengan cara menambahkan flokulan aluminium sulfat ( $\text{Al}_2\text{SO}_4)_3$ . Berdasarkan penelitian Febiana (2015), pemanenan *Nannochloropsis* sp. dengan flokulan ( $\text{Al}_2\text{SO}_4)_3$  pada dosis 150 mg/L volume akhir memiliki efisiensi flokulasi terbaik yaitu sebesar 94,55%. Setelah ditambahkan flokulan ( $\text{Al}_2\text{SO}_4)_3$ , dilakukan pengadukan cepat selama 1 menit, dilanjutkan pengadukan lambat selama 15 menit secara manual menggunakan pengaduk kaca. Proses pengendapan dilakukan selama 1 jam setelah pengadukan selesai agar biomassa *Tetraselmis* sp. terendapkan secara optimal. Setelah itu, dilakukan penyaringan menggunakan 2 lapis kain satin kemudian filtratnya disaring lagi dengan kertas saring. Setelah semua yeild tertampung pada kain satin dan kertas saring, yeild dikeringkan menggunakan oven pada suhu  $105^\circ\text{C}$  hingga berat konstan, selanjutnya akan dianalisis lebih lanjut meliputi penimbangan biomassa kering (Kawaroe dkk, 2012).

### 3.5. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terbagi menjadi beberapa waktu. Pengamatan yang dilakukan pada media kultur sebelum dilakukan kultivasi adalah *Dissolved Oxygen* (DO), salinitas, pH, P-PO<sub>4</sub>, N-NH<sub>3</sub>, dan N-total. Pengamatan yang dilakukan setiap harinya adalah kepadatan sel dan laju pertumbuhan sel.

Pengamatan yang dilakukan setelah kultivasi adalah analisa adalah *Dissolved Oxygen* (DO), salinitas, pH, P-PO<sub>4</sub>, N-NH<sub>3</sub>, N-total, dan perolehan biomassa kering.

#### 3.5.1. Kepadatan Sel

Penghitungan kepadatan sel *Tetraselmis* sp. dilakukan dengan metode numerik menggunakan alat *hemacytometer*. *Hemacytometer* dipasang pada *cover glass* kemudian sampel diteteskan pada bagian parit yang melintang hingga penuh.

Selanjutnya *hemacytometer* diamati di bawah mikroskop dan dilakukan perhitungan jumlah sel pada setiap bidang kotak dengan bantuan *hand counter*. Pada setiap penghitungan dilakukan dua kali penghitungan dan jumlah tertinggi yang dijadikan data jumlah sel terhitung. Kepadatan *Tetraselmis* sp. dihitung dengan rumus: Jumlah sel x 10<sup>4</sup> sel/mL (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

#### 3.5.2. Laju Pertumbuhan

Laju pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) *Tetraselmis* sp. dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

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

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 (Krichnavaruk *et al.*, 2004).

### 3.5.3. Biomassa

Biomassa diukur dengan menghitung berat basah dan berat kering mikroalga.

Berat basah mikroalga diukur dengan menimbang biomassa basah yang diperoleh dari penyaringan dengan kain satin dan kertas saring. Untuk memperoleh berat kering mikroalga, maka dilakukan pengukuran kadar air pada biomassa basah mikroalga. Penentuan kadar air dilakukan dengan mengeringkan bahan dalam oven pada suhu 105-110°C selama 4 jam atau sampai didapat berat yang konstan. Selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air yang diuapkan (Winarno,1992). Kadar air dalam mikroalga dihitung menggunakan persamaan (AOAC, 1984):

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{b - c}{b - a} \times 100\%$$

Keterangan:

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

Perhitungan perolehan biomassa kering sampel dapat dilakukan dengan rumus:

Biomassa kering = (100 – Kadar Air) % x berat sampel basah (g/L).

### 3.5.4. Analisis Nitrogen Total

Analisis Nitrogen total (N-total) dilakukan dengan menggunakan metode Gunning. Metode Gunning adalah suatu metode penentuan kadar protein berdasarkan nitrogen yang menunjukkan jumlah protein yang juga mengikat senyawa N bukan protein misalnya urea, asam nukleat, amino, nitrat, nitrit, asam amino, amida, purin, dan pirimidin. Hasil analisis yang didapat tersebut dikalikan dengan angka konversi (Susilowati dan Hapsari, 2013).

Analisis N-total limbah cair industri karet remah dilakukan dengan cara memasukan 0,5 – 1 g sampel ke dalam labu Kjeldahl kemudian ditambahkan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  dan  $\text{K}_2\text{S}$  dengan perbandingan (7:1) sebanyak 1 g. Setelah itu ditambahkan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat sebanyak 10 mL dan didestruksi pada suhu  $100^\circ\text{C}$  sampai larutan berwarna bening kemudian didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan aquades sebanyak 100 mL dan NaOH 40% sebanyak 30-40 mL. Destilat ditampung dengan HCl 0,1 N sebanyak 25 mL, proses destilasi dihentikan apabila volume destilat sudah mencapai 150 mL. Setelah itu ditambahkan indikator phenolphthalein sebanyak 3 tetes dan dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda. Selanjutnya dibuat larutan blanko dengan mengganti sampel dengan aquades. Kandungan N-total dihitung dalam % N (Sudarmadji dkk., 1984) kemudian % N dikonversi dalam satuan ppm. Perhitungan % N menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ N} = \frac{(mL \text{ NaOH} - mL \text{ NaOH contoh})}{g \text{ contoh} \times 10} \times N \text{ NaOH} \times 14,008$$



### 3.5.5. Analisis P-PO<sub>4</sub>

Analisis P-PO<sub>4</sub> menggunakan metode *photometric* menggunakan teskit berupa reagen cair PO<sub>4</sub>-1. Sampel yang telah disaring dengan kertas *Whatman* no 42 sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Ditambahkan 1,2 mL reagen cair PO<sub>4</sub>-1, dikocok, dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian absorbansi sampel dapat diukur pada spektrofotometer Nova 60 setelah *barcode* P-PO<sub>4</sub> dimasukan.

### 3.5.6. Analisis pH

Analisis pH mengacu pada AOAC (1990), dengan menggunakan alat pH meter. Pengukuran pH dilakukan sebelum dan setelah penambahan flokulan aluminium sulfat (Al<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>. Sebelum pengukuran dilakukan, pH meter dikalibrasi dahulu dengan menggunakan larutan buffer pH 7,0 atau pH 4,0. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap larutan sampel dengan mencelupkan bagian elektrodanya kedalam larutan sampel dan biarkan beberapa saat sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap.

### 3.5.7. *Dissolved Oxygen (DO)*

Pengukuran oksigen terlarut dengan metoda elektrokimia mengacu pada SNI (2004), yaitu cara langsung untuk menentukan oksigen terlarut dengan alat DO meter. Prinsip kerjanya adalah menggunakan probe oksigen yang terdiri dari katoda dan anoda yang direndam dalam larutan elektrolit. Pengukuran DO dilakukan dengan mencelupkan alat DO meter tersebut ke dalam sampel air yang diukur dan melihat skala yang terlihat.

### 3.5.8. Salinitas

Salinitas merupakan konsentrasi total dari semua ion yang larut dalam air, dan dinyatakan dalam bagian perseribu (ppt) yang setara dengan gram per liter (Boyd, 1990). Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan alat *hand refractometer*. Sebelum digunakan *hand refractometer* dikalibrasi terlebih dahulu pada salinitas 0 ppt menggunakan aquades. Selanjutnya dilakukan pengukuran salinitas sampel meneteskan sampel pada bagian kaca prisma *hand refractometer* kemudian dilihat ditempat yang bercahaya. Nilai salinitas sampel dapat dilihat pada garis batas antara bidang berwarna biru dan putih.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa perlakuan media limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif II + NaCl sampai salinitasnya mencapai 30 ppt paling efektif dalam meningkatkan produksi biomassa *Tetraselmis* sp. yaitu sebesar 105% dengan perolehan biomassa kering *Tetraselmis* sp. sebesar 0.6250 g/L dan tingkat kepadatan sel *Tetraselmis* sp. paling tinggi yaitu mencapai  $120 \times 10^4$  sel/mL serta mampu menurunkan kandungan N-total sebesar 72,2% dan P-PO<sub>4</sub> sebesar 87,6%.

### 5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini disarankan untuk dilakukan pengendalian cahaya selama kultivasi pada media limbah cair industri karet remah agar mikroalga memperoleh intensitas cahaya yang cukup, apabila cuaca mendung disarankan menggunakan cahaya lampu agar kebutuhan cahaya mikroalga dapat tercukupi. Selain itu, pengukuran pH media limbah cair industri karet remah disarankan dilakukan setelah kultivasi atau sebelum pemanenan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amini, S. dan R. Susilowati. 2010. Produksi biodiesel dari mikroalga *Batryococcus braunii*. *Squalen*. 5 (1): 23-30.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Association of Official Agricultural Chemist. Washington D.C. 1047 pp.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Association of Official Agricultural Chemist. Washington D.C. 684 pp.
- Astuti, J. T. dan L. Sriwuryandari. 2010. Biodiesel dari mikroalga: perbanyakan biomassa melalui penambahan nutrisi secara bertahap. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. 12 (3): 160-168.
- Ayustama, A.L.S. dan E.A.W. Sari. 2010. Proses produksi mikroalga dalam photobioreaktor mini pond secara batch untuk bahan bakar biodiesel. *Jurnal Teknik Kimia*. 1: 1-6.
- Badan Pusat Statistik. 2014. *Statistik Karet Indonesia 2014*. Badan Pusat Statistik. Jakarta. 124 hlm.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Lampung. 2015. Potensi Karet di Lampung <http://regionalinvestment.bkpm.go.id/newsipid/commodityarea.php?ia=18&ic=4>. Diakses pada 5 Oktober 2015.
- Badan Standarisasi Nasional. 2004. Cara Uji Oksigen Terlarut secara Yodometri SNI 06-6989.14-2004. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut. 2007. *Budidaya Fitoplankton & Zooplankton*. Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut. Lampung. 42 hlm.
- Balai Budidaya Air Payau Situbondo (BBAPS). 2010. *Jurnal Harian Pertumbuhan SWel Tetraselmis chuii Laboratorium Pakan Alami*. Balai Budidaya Air Payau Situbondo. Situbondo.

- Balai Budidaya Laut Lampung. 2002. *Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut. Lampung.
- Becker, E.W. 1994. *Biotechnology and Microbiology, 1st edition*. Cambridge University Press. New York. 293 pp.
- Biondi and Tredici. 2011. *Algae and Aquatic Biomass for a Sustainable Production of 2nd Generation Biofuels*. UNIFI. 148-150.
- Borowitzka, A.M. and L.J. Borowitzka. 1988. *Microalgae Biotechnology*. Cambridge University Press. Australia. 488 pp.
- Boyd, C.E. 1990. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Birmingham Publishing Company. Alabama. 482 pp.
- Butcher, R. W. 1959. *An Introductory Account of the Smaller Algae of British Coastal Waters, Part 1 Introduction and Chlorophyceae, Fishery Investigation Series IV*. HMSO. London.
- Cahyaningsih, S., A. N. M. Muchtar, S. J. Purnomo, I. Kusumaningrum, Pujiati, A. Haryono, Slamet, dan Asniar. 2010. *Produksi Pakan Alami*. Balai Budidaya Air Payau Situbondo. Situbondo.
- Cahyaningsih, S dan A.N. Mei. 2006. *Petunjuk Teknis Produksi Pakan Alami*. Balai Benih Air Payau (BBAP). Situbondo.
- Campbell, N.A. and J.B. Reece. 2002. *Biologi Jilid 1 Edisi ke-5*. Erlangga. Jakarta. 292 hlm.
- Chisti, J. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25 (3): 294-306.
- Darley, W.M. 1982. *Alga Biology: A Physiological Approach*. Black Well Scientific Publication. London. 168 pp.
- Dedi, F, H. Hendra, Y. Maliana, R.L. Ningsih, dan R.P. Hadi. 2010. Pemanfaatan limbah cair karet sebagai media alternatif budidaya *Chlorella* sp.. *Ilmiah Mahasiswa Universitas Tanjungpura*. 1 (1): 81-90.
- Dugan, P.R. 1972. *Biochemical Ecology of Water Pollution*. Plenum press. New York. 159 pp.
- Efendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Kaniasius. Yogyakarta. 258 hlm.
- Ernest, P. 2012. Pengaruh kandungan ion nitrat terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. (Skripsi). Universitas Indonesia. Depok. 83 hlm.

- Falkowski, P.G. and J. A. Raven. 1997. *Aquatic Photosynthesis*. Blackwell. USA. 488 pp.
- Febiana, V. 2015. Penggunaan aluminium sulfat sebagai flokulan pada pemanenan mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang dikultivasi pada media limbah cair karet remah. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung. 65 hlm.
- Ferriols, V.M.E.N. and R.O. Aguilar. 2012. Efficiency of various flocculants in harvesting the green microalgae *Tetraselmis tetrahele* (*Clorodendrophyceae: Chlorodendraceae*). *International Journal of the Bioflux Society*. 5 (4): 265-273.
- Fogg, G.E. and B. Thake. 1987. *Alga Cultures and Phytoplankton Ecology*. The University of Wisconsin Press. London. 20 pp.
- Giordano, M., J. Beardall, and J.A. Raven. 2005. CO<sub>2</sub> concentrating mechanism in algae: mechanism, environmental modulation, and evaluation. *Annual Review Plant Biology*. 56: 99-131.
- Goldman, C.R and A.J. Horne. 1983. *Limnology*. McGraw-Hill Book Company. Singapore. 464 pp.
- Hadiyanto, I. Samidjan, A. C. Kumoro, dan Silviana. 2010. Produksi mikroalga berbiomasa tinggi dalam bioreaktor open pond. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia*. Universitas Diponegoro. Semarang. ISSN 1693-4393.
- Harimurti, I.P., D.D. Novrian, S.R. Juliastuti, dan N. Hendrianie. 2013. Pengaruh kadar nitrogen, CO<sub>2</sub>, dan salinitas terhadap peningkatan lipid pada *Chlorella vulgaris* dan *Botryococcus braunii* serta peran *Chlorella vulgaris* dan *Botryococcus braunii* dalam penurunan kadar COD pada limbah PT. SIER. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2 (1): 2337-3520.
- Hladka, J.D. 1971. A comparison of growth rate of algae as influenced by variation in nitrogen nutrition in *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obligus*. *Biologia Plantarum*. 13: 1-11.
- Hutabarat dan Evans. 1985. *Pengantar Oseanografi*. Universitas Indonesia. Jakarta. 159 hlm.
- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton Pakan alami untuk Pembenihan Organisme Laut*. Kanisius. Yogyakarta. 116 hlm.
- Kartika, I. 2010. Penanganan dan pengolahan limbah di perusahaan perseroan (persero) PT. Perkebunan Nusantara VII Unit Usaha Way Berulu, Lampung. (Laporan Praktek Lapangan). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 52 hlm.

- Kawaroe, M., A. Rachmat, dan A. Haris. 2012. Optimalisasi seleksi spesies mikroalga potensial penghasil minyak mikroalga untuk menunjang kelayakan ekonomi produksi biodiesel. *Prosiding InSINas*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 7-11.
- Komalasari, A. 2015. Studi penentuan jenis outlet limbah cair karet remah untuk pertumbuhan mikroalga dengan sistem open ponds. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung. 62 hlm.
- Krichnavaruk, S., Worapanne, Sorawit, and Prasert. 2004. Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor. *Chemical Engineering*. 105: 91-98.
- Kusuma, D.A. 2014. Pemanfaatan nitrat anorganik pada fase eksponensial. *Tetraselmis* sp.. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung. 46 hlm.
- Lyman J. and R.H. Fleming. 1940. Composition of sea water. *Journal of Marine Research*. 3: 134-146.
- Mara D.D., S.W. Mills, H.W. Pearson, and G.P. Alabaster. 1992. Waste stabilization ponds: a viable alternative for small community treatment systems. *J. Inst. Wat. Environ. Manag.* 6 (1): 72-78.
- Mata, T. M., A. A. Martins, and N.S. Caetano. 2010. Microalgae for biodiesel production and other application. *A review, Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14: 217-232.
- Nybakken, J. W. 1988. *Biologi Laut, Suatu Pendekatan Ekologi*. Alih bahasa oleh M. Eidman, Koesoebiono, D. G. Bengen, M. Hutomo, dan S. Sukarjo. Gramedia. Jakarta. 459 hlm
- Prabowo, D.A. 2009. Optimasi pengembangan media untuk pertumbuhan *Chlorella* sp. pada skala laboratorium. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 95 hlm.
- Pratama, I. 2011. Pengaruh metode pemanenan mikroalga terhadap biomassa dan kandungan esensial *Chlorella vulgaris*. (Skripsi). Universitas Indonesia. Depok. 63 hlm.
- Prince, R.C. and S.K. Haroon. 2005. The photobiological production of hydrogen: potential efficiency and effectiveness as a renewable fuel. *Critical Review in Microbiology*. 31 (1): 19-31.
- PT Perkebunan Nusantara VII. 2014. *Parameter dan Baku Mutu Air Limbah Outlet Unit Pabrik Karet Way Berulu*. Bandar Lampung.

- Pujiono, A. E. 2013. Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* pada medium air laut dengan intensitas cahaya, lama penyinaran, dan jumlah inokulan yang berbeda pada skala laboratorium. (Skripsi). Universitas Jember. Jember. 41 hlm.
- Pulungan, A.D. 2012. Evaluasi pemberian dosis koagulan aluminium sulfat cair dan bubuk pada sistem dosis koagulan di instalasi pengolahan air minum PT. Krakatau Tirta Industri. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 76 hlm.
- Rachmawati, S.W., B. Iswanto, dan Winarni. 2009. Pengaruh ph pada proses koagulasi dengan koagulan aluminium sulfat dan ferri klorida. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 5 (2): 1829-6572
- Rostini, I. 2007. Kultur fitoplankton (*Chlorella* sp. dan *Tetraselmis chuii*) pada skala laboratorium. (Karya Ilmiah). Universitas Padjajaran. Jatinagor. 33 hlm.
- Ru'yatin, I.S. Rohyani, dan L. Ali. 2015. Pertumbuhan *Tetraselmis* dan *Nannochloropsis* pada skala laboratorium. *Prosiding Seminar Nasional*. 1 (2): 296-299.
- Santosa, I. 2014. Pembuatan garam menggunakan kolam kedap air berukuran sama. *Jurnal Spektrum Industri*. 12 (1): 85-91.
- Sawyer, C.N., P.L. McCarty, and G.F. Parkin. 1994. *Chemistry for Environmental Engineering Fourth Edition*. McGraw-Hill Inc. Singapore. 685 pp.
- Schulz, T. 2006. The economic of microalgae production and processing into biofuel. (Paper). Farming System Department of Agriculture and Food. Government of Western Australia. 7 pp.
- Sheehan, J., T. Dunahay, J. Benemann, and P. Roessler. 1998. *A Look Back at the U.S Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae*. US National Energy Department. USA. 294 pp.
- Siregar, B.I.T dan J. Hermana. 2012. Identifikasi dominasi genus alga pada air Boezem Morokembrangan sebagai sistem *High Rate Algae Pond* (HRAP). (Paper). Jurusan Teknik Lingkungan FTSP ITS. 34 hlm.
- Sriharti. 2004. Pengaruh species *Clorella* dalam menetralsir limbah cair karet. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses*. ISSN : 1411-4216.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1984. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian Edisi Ketiga*. Liberty. Yogyakarta. 138 hlm.
- Sugiharto. 1987. *Dasar-Dasar Pengelolaan Air Limbah*. UI Press. Jakarta. 190 hlm.



- Sutomo. 2005. Kultur tiga jenis mikroalga (*Teraselmis sp.*, *Chlorella sp.*, dan *Chaetoceros gracillis*) dan pengaruh kepadatan awal terhadap pertumbuhan *Chaetoceros gracillis* di laboratorium. *Oseanologi dan limnologi di Indonesia*. (37): 43-58.
- Suriawiria, U. 2003. *Mikrobiologi Air dan Dasar-Dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis*. PT. Alumni. Bandung. 329 hlm.
- Susilowati, D. dan L.Y.E. Hapsari. 2013. Perbandingan kadar protein pada tempe yang dibungkus dengan daun dan yang dibungkus dengan plastik yang beredar di daerah Karanganyar secara Gunning. *Prosiding Seminar*. Fakultas Farmasi USB.
- Ugwu, C.U., H. Aoyagi, and H. Uchiyama. 2007. Photobioreactor for mass cultivation of alga. *Bioresource Technology*. 99: 4021-4028.
- Utomo, T.P. dan E. Suroso. 2008. Optimasi produksi gas metana dari limbah cair industri karet alam menggunakan reaktor anaerobik dua tahap dalam upaya penyediaan energi alternatif. (Laporan Penelitian). Universitas Lampung. Lampung. 29 hlm.
- Utomo, T.P., U. Hasanudin, dan E. Suroso. 2012. *Agroindustri Karet Indonesia*. PT Sarana Tutorial Nurani Sejahtera. Bandung. 92 hlm
- Vonshak, A. and G. Torzillo. 2004. *Environmental Stress Physiology*. In: A. Richmond, Editor, *Handbook of Microalgal Culture*. Blackwell Publishers. Oxford. 57-82 pp.
- Wardhana, W.A. 1994. *Dampak Pencemaran Lingkungan*. Andi Offset. Yogyakarta. 459 hlm.
- Wijanarko, A., K. Asami, and K. Ohtaguchi. The Kinetics of growth and the CO<sub>2</sub> concentrating mechanism of the filamentous cyanobacterium *Anabaena cylindrical* in a bubble column. *Journal of Chemical Engineering of Japan*. 37: 1019-1025.
- Winarno, F. G. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama Jakarta. 206 hlm.
- Wulan, R.R. 2015. Kemampuan mikroalga yang dikultivasi pada limbah cair industri karet remah dalam menghasilkan biomassa dan menurunkan cemaran. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung. 60 hlm.
- Xu, N., X. Zhang, X. Fan, L. Han, and C. Zeng. 2001. Effect of nitrogen source and concentration on growth rate and fatty acid composition of *Ellipsoidion sp.* (Eustigmatophyta). *Journal of Applied Phycology*. 13: 463-469.

- Yulita, E. 2014. Pemanfaatan limbah cair industri karet remah sebagai media pertumbuhan *Chlorella vulgaris* untuk pakan alami ikan. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. 25 (1): 1-11.
- Zulfarina, I., Sayuti, dan H.T. Putri. 2013. Potential utilisation of algae *Chlorella pyrenoidosa* for rubber waste management. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Riau*. Riau. 511-520.