

**KADAR LIPID MIKROALGA *Tetraselmis* sp. TERHADAP PEMBERIAN  
STRESS OSMOTIK BERUPA pH DAN SALINITAS YANG BERBEDA**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**INAS FADHILAH**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

## **ABSTRACT**

### **LIPID CONTENT MICROALGAE OF *Tetraselmis* sp. ON THE ADMINISTRATION OF OSMOTIC STRESS IN DIFFERENT pH AND SALINITY**

**By**

**Inas Fadhilah**

Microalgae *Tetraselmis* sp. has a high lipid content, so it can be used as a biodegradable alternative energy source. It is possible for lipid levels to increase if given osmotic stress. This study aims to determine population density, growth rate, and total lipid levels of microalgae *Tetraselmis* sp. Osmotic stress is given in the form of different pH and salinity in each culture medium. This research was conducted in December 2018 until January 2019 in the Molecular Biology Aquatic Laboratory, Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung. This study uses a completely randomized design (CRD) with a factorial pattern. The use of factorial CRD with 2 factors consisting of 9 treatments and 3 replications. The first factor (F1) is the difference in pH levels (5, 8, and 9,5) and the second factor (F2) is the difference in salinity (10 ppt, 15 ppt, and 20 ppt).

The parameters that will be observed in this study are cell density, growth rate, and total lipid levels of microalgae *Tetraselmis* sp. Data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and tested further with the LSD Test at the level of 5%. The results showed that the population density of *Tetraselmis* sp. the highest was found in the salinity treatment of 20 ppt with a pH of 9.5. The highest growth rate in the salinity treatment was 10 ppt, namely with pH 9.5 of 10% / day, in the salinity treatment of 15 ppt with a pH of 5 at 21% / day, and a salinity of 20 ppt with a pH of 9.5 at 43% / day. The highest total lipid level is *Tetraselmis* sp. in the salinity treatment of 10 ppt with a pH of 9.5 of 14.29%.

Keywords: total lipid level, pH, salinity, *Tetraselmis* sp.

## **ABSTRAK**

### **KADAR LIPID MIKROALGA *Tetraselmis* sp. TERHADAP PEMBERIAN STRESS OSMOTIK BERUPA pH DAN SALINITAS YANG BERBEDA**

**Oleh**

**Inas Fadhilah**

Mikroalga *Tetraselmis* sp. memiliki kandungan lipid cukup tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai sumber energi alternatif yang biodegradabel. Dimungkinkan kadar lipid dapat meningkat jika diberikan stress osmotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kepadatan populasi, laju pertumbuhan, dan kadar total lipid mikroalga *Tetraselmis* sp. yang diberikan stress osmotik berupa kadar pH dan salinitas yang berbeda pada tiap media kultur. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Desember 2018 sampai bulan Januari 2019 di Laboratorium Perairan Biologi Molekuler Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola Faktorial. Penggunaan RAL faktorial dengan 2 faktor yang terdiri atas 9 perlakuan dan 3 kali ulangan. Faktor pertama (F1) adalah perbedaan kadar pH (5, 8, dan 9,5) dan Faktor kedua (F2) adalah perbedaan salinitas (10 ppt, 15 ppt, dan 20 ppt).

Parameter yang akan diamati dalam penelitian ini adalah kepadatan sel, laju pertumbuhan, dan kadar total lipid dari mikroalga *Tetraselmis* sp. Data dianalisis menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) dan diuji lanjut dengan Uji BNT pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kepadatan populasi *Tetraselmis* sp. tertinggi terdapat pada perlakuan salinitas 20 ppt dengan pH 9,5. Laju pertumbuhan tertinggi pada perlakuan salinitas 10 ppt yaitu dengan pH 9,5 sebesar 10%/hari, pada perlakuan salinitas 15 ppt dengan pH 5 sebesar 21%/hari, dan pada salinitas 20 ppt dengan pH 9,5 sebesar 43%/hari. Kadar total lipid tertinggi *Tetraselmis* sp. pada perlakuan salinitas 10 ppt dengan pH 9,5 sebesar 14,29%.

Kata kunci: kadar total lipid, pH, salinitas, *Tetraselmis* sp.

**KADAR LIPID MIKROALGA *Tetraselmis* sp. TERHADAP PEMBERIAN  
STRESS OSMOTIK BERUPA pH DAN SALINITAS YANG BERBEDA**

**Oleh**

**INAS FADHILAH**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Biologi**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

Judul Skripsi : **KADAR LIPID MIKROALGA *Tetraselmis* sp.  
TERHADAP PEMBERIAN STRESS  
OSMOTIK BERUPA pH DAN SALINITAS  
YANG BERBEDA**

Nama Mahasiswa : Inas Fadhillah

Nomor Pokok Mahasiswa : 1517021098

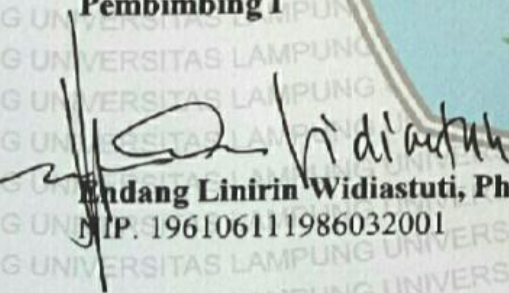
Jurusan : Biologi

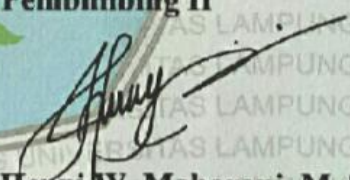
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

  
**Endang Linirin Widiastuti, Ph. D**  
NIP. 196106111986032001

  
**Henni W. Maharani, M. Si**  
NIP. 198101012008012004

**2. Ketua Jurusan Biologi**

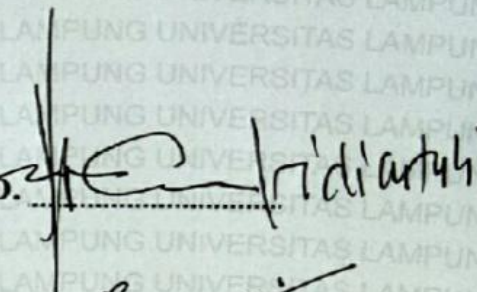
  
**Drs. M. Kanedi, M. Si**  
NIP. 196101121991031002



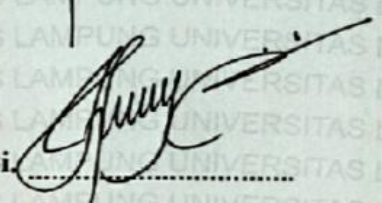
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

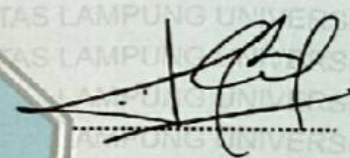
**Ketua : Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.**



**Sekretaris : Henni W. Maharani, S.Pi., M.Si.**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : Tugiyono, Ph.D.**



**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Drs. Suratman, M.Sc.**  
NIP. 1964060419990031002

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 22 Juli 2019**



## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Inas Fadhilah

NPM : 1517021098

menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul


**“Kadar Lipid Mikroalga *Tetraselmis* sp. terhadap Pemberian Stress Osmotik berupa pH dan Salinitas yang Berbeda”**

adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, metode, hasil, dan analisisnya.

Selanjutnya, saya juga tidak berkeberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen dan atau program studi untuk kepentingan publikasi. Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 26 Juli 2019  
Yang menyatakan,



  
Inas Fadhilah  
NPM. 1517021098

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Batangharjo, pada tanggal 11 Februari 1998. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara oleh pasangan Bapak Istanto Sigit Triono dan Ibu Siti Munayah.

Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak PGRI I Batangharjo pada tahun 2002. Pada tahun 2003, penulis melanjutkan pendidikan di SD Negeri 1 Batangharjo. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Batanghari pada tahun 2009. Pada tahun 2012, penulis melanjutkan pendidikannya di SMA Negeri 4 Metro.

Pada tahun 2015, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Bioteknologi Tumbuhan dan Pencemaran Lingkungan. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai Anggota Biro Kesekretariatan dan Logistik pada tahun 2016-2017.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pekon Sinar Jawa, Kecamatan Air Nanningan, Kabupaten Tanggamus pada Januari-Maret 2018 dan melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di Pusat Penelitian Biomaterial LIPI Cibinong pada Juli-Agustus 2018 dengan judul **“Penapisan Aktinobakteria Pendegradasi Lignin dan Selulosa di Pusat Penelitian Biomaterial Lipi”**.

## *PERSEMBAHAN*

*Bismillahirrahmanirrahim*

*Dengan mengucapkan rasa syukur Kepada Allah SWT atas segala limpahan Rahmat, Ridho, dan karunia-Nya yang tak henti-hentinya Dia berikan, Kupersembahkan karyaku ini untuk:*

*Bapak dan Ibuku tercinta yang senantiasa memberikan kasih sayangnya, atas doa yang dipanjatkan pada sang khalik, yang selalu menyemangati, memberikan motivasi dan mendukung setiap jalan hidupku*

*Kakakku yang memberikan dukungan, semangat dan juga menjadi penghibur diwaktu yang berat*

*Serta Almamaterku tercinta.*



## **MOTTO**

*Jika hidupmu hanya sibuk dengan penilaian makhluk,  
bersiaplah hidupmu sengsara, karena tiap orang punya sudut  
pandang berbeda. Jika hidupmu ingin bahagia, cukuplah  
Allah menjadi saksi*

***(Au' Gym)***

*Remind yourself, this life is a test*

***(Anonim)***

*If you trust Allah, have a strong faith and believe, everything  
will be fine, everything will be easy*

***(Anonim)***

*Berhati-hatilah dalam berkata. Bisa jadi bagimu kecil, tapi  
amat menyakitkannya*

***(Teladan Rasul)***

## SANWACANA

*Alhamdulillahirobbil'alamin*

Puji syukur penulis haturkan kepada Allah SWT yang selalu memberikan segala bentuk nikmat hidup serta rahmat dan hidayah, sholawat beriring salam semoga senantiasa tercurah kepada pemimpin, murrobbi serta guru kita sepanjang zaman Nabi besar Muhammad SAW.

Penulis telah menyelesaikan skripsi dengan judul “**Kadar Lipid Mikroalga *Tetraselmis* sp. terhadap Pemberian Stress Osmotik berupa pH dan Salinitas yang Berbeda**” yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung. Penelitian ini merupakan sebagian dari penelitian Puslitbang Pesisir dan Kelautan LPPM Universitas Lampung yang didanai oleh Hibah Institusi tahun 2018.

Penghargaan dan ucapan terima kasih penulis haturkan kepada semua pihak yang telah berperan atas dorongan, bantuan, saran, kritik, dan bimbingannya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, antara lain kepada :

1. Ibu Endang Linirin Widiastuti, Ph. D. selaku dosen pembimbing utama atas semua ilmu, bantuan bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, baik selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi

2. Ibu Henni Wijayanti Maharani, M. Si. selaku dosen pembimbing II atas semua ilmu, bantuan bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, dalam penyusunan skripsi
3. Bapak Tugiyono, Ph. D. selaku dosen pembahas atas semua ilmu, bantuan bimbingan, nasihat, saran, dan pengarahan, baik selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi
4. Ibu Dra. Sri Murwani M. Sc. dan Ibu Dr. Sri Wahyuningsih, M. Si. selaku Pembimbing Akademik yang telah berikan arahan dan motivasi selama perkuliahan maupun dalam penyusunan skripsi
5. Prof. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung
6. Bapak Drs. Suratman Umar, M. Sc. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
7. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
8. Ibu Dr. Emantis Rosa, M. Biomed. selaku Kepala Laboratorium Biomolekuler dan Mbak Nunung Cahyawati, A. Md. selaku Laboran yang telah mengizinkan dan membantu penulis melaksanakan penelitian di Laboratorium tersebut
9. Seluruh Dosen dan Staff Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, terima kasih telah banyak memberikan ilmu pengetahuan selama perkuliahan
10. Rekan seperjuangan dalam Laboratorium Biomolekuler selama penelitian, yaitu Tia Annisa, Sri Rahmaning Tiyas, Winda Yulianingtyas, Noufallia Fikri Arra, Lily Utami, Yonathan Christianto, Mba Iffa, Mba Rizka, Mba Wulan,

dan Kak Yogi, terimakasih atas bantuan, dukungan, semangat, kebersamaan yang telah diberikan dan kerjasamanya selama penelitian berlangsung

11. Sahabat-sahabatku tercinta Siti Mardiana, Sundari Ayu Oktalia, Yunita, Dewi Larasati, dan Nada Risa Zain terimakasih atas doa, dukungan, bantuan, semangat, tempat berbagi cerita, canda tawa dan pengalaman serta telah menjadi sahabat terbaik penulis
12. Teman-temanku tersayang, yaitu Dhanisa, Dilla, Annisa, Laila, Iqbal, Bima, Andre, Eriola, Isni, Glori atas kebersamaan, canda tawa, dan dukungan yang telah kalian berikan
13. Teman-teman Biologi Angkatan 2015 atau Neofelis atas keakraban, canda tawa, dukungan, dan kebersamaannya selama ini yang telah kalian berikan
14. Seluruh kakak dan adik tingkat Jurusan Biologi FMIPA Unila yang tidak dapat disebutkan satu-persatu atas kebersamaannya di FMIPA, Universitas Lampung
15. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan penulis dukungan, berbagai kritik dan saran

Semoga kebaikan dan dukungan yang telah diberikan mendapat balasan kebaikan pula dari Allah SWT.

Demikianlah, semoga kripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan baru kepada setiap orang yang membacanya. Aamiin.

Bandar Lampung, 26 Juli 2019

***Inas Fadhilah***



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>SAMPUL DEPAN .....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>ii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN JUDUL DALAM .....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>viii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....</b>	<b>ix</b>
<b>RIWAYAT HIDUP.....</b>	<b>x</b>
<b>PERSEMBAHAN.....</b>	<b>xii</b>
<b>MOTTO.....</b>	<b>xiii</b>
<b>SANWACANA.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xx</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	4
C. Manfaat Penelitian .....	4
D. Kerangka Pemikiran .....	4
E. Hipotesis .....	5

<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
A. Mikroalga .....	6
B. <i>Tetraselmis</i> sp. ....	7
1. Morfologi <i>Tetraselmis</i> sp. ....	7
2. Klasifikasi <i>Tetraselmis</i> sp. ....	9
C. Faktor Pembatas yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga .....	9
D. Fase Pertumbuhan Mikroalga .....	14
E. Potensi Mikroalga sebagai Bioenergi .....	16
F. Lipid Mikroalga .....	18
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	22
B. Alat dan Bahan .....	22
C. Rancangan Penelitian .....	23
D. Parameter .....	24
E. Pelaksanaan .....	24
1. Persiapan Media dan Wadah Kultur .....	25
2. Nutrisi Mikroalga .....	26
3. Kultur Mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp.....	26
4. Menghitung Kepadatan Populasi <i>Tetraselmis</i> sp.....	27
5. Menghitung Laju Pertumbuhan <i>Tetraselmis</i> sp.....	28
6. Pengukuran Kadar Total Lipid <i>Tetraselmis</i> sp.....	28
F. Analisis Data Penelitian .....	30
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
A. Hasil .....	31
1. Kepadatan Mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. ....	31
2. Laju Pertumbuhan Populasi Spesifik Mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. ....	34
3. Kadar Lipid Mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. ....	37
B. Pembahasan .....	38
1. Kepadatan Populasi Mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. ....	38
2. Laju Pertumbuhan Populasi Spesifik Mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. ....	42
3. Kadar Lipid Mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. ....	46
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>55</b>
A. Kesimpulan .....	55
B. Saran .....	55
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>56</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>66</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbandingan lahan dengan produksi lipid .....	17
Tabel 2. Kandungan lipid berbagai jenis mikroalga .....	19
Tabel 3. Kombinasi perlakuan dengan pengulangan.....	23
Tabel 4. Persentase penambahan dan penurunan populasi <i>Tetraselmis</i> sp. pada salinitas dan pH yang berbeda.....	32
Tabel 5. Analisis mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. hari ketujuh dari masing- masing perlakuan.....	33
Tabel 6. Berat kering dan persentase lipid mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp.....	37
Tabel 7. Transformasi kepadatan populasi mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. selama 7 hari pengamatan .....	67
Tabel 8. Laju pertumbuhan populasi mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. salinitas 10 ppt dengan pH 5, 8, dan 9,5 .....	69
Tabel 9. Laju pertumbuhan populasi mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. salinitas 15 ppt dengan pH 5, 8, dan 9,5 .....	70
Tabel 10. Laju pertumbuhan populasi mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. salinitas 20 ppt dengan pH 5, 8, dan 9,5 .....	71
Tabel 11. Hasil analisis statistik pertumbuhan populasi mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. ....	72
Tabel 12. Data kualitas air kultur mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. selama 7 hari pengamatan .....	79

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi <i>Tetraselmis</i> sp. ....	8
Gambar 2. Grafik fase pertumbuhan mikroalga .....	16
Gambar 3. Produk turunan mikroalga .....	18
Gambar 4. Biosintesis lipid .....	20
Gambar 5. Sketsa rancangan penelitian .....	24
Gambar 6. <i>Haemocytometer</i> .....	27
Gambar 7. Kepadatan sel <i>Tetraselmis</i> sp. pada salinitas dan pH berbeda ...	34
Gambar 8. Laju pertumbuhan populasi spesifik <i>Tetraselmis</i> sp. salinitas 10 ppt (pH 5;8; dan 9,5).....	34
Gambar 9. Laju pertumbuhan populasi spesifik <i>Tetraselmis</i> sp. salinitas 15 ppt (pH 5;8; dan 9,5).....	35
Gambar 10. Laju pertumbuhan populasi spesifik <i>Tetraselmis</i> sp. salinitas 20 ppt (pH 5;8; dan 9,5).....	35
Gambar 11. Hasil sentrifugasi mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. (a) fase lipid, (b) fase natan, dan (c) fase supernatan .....	38
Gambar 12. Bentuk sel <i>Tetraselmis</i> sp. (a) bentuk bulat, dan (b) bentuk oval .....	50
Gambar 13. Ukuran sel <i>Tetraselmis</i> sp. (a) 0 ppm (b) 0,08 ppm, dan (c) 0,8 ppm .....	51
Gambar 14. Grafik kepadatan populasi mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. selama 7 hari pengamatan.....	68
Gambar 15. Proses penyaringan indukan mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp.....	85



Gambar 16. Pengambilan sampel mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. per hari (selama 7 hari) .....	85
Gambar 17. Sampel mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp.....	86
Gambar 18. Pemanenan mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. yang diendapkan dengan NaOH .....	86
Gambar 19. Penyaringan mikroalga <i>Tetraselmis</i> sp. setelah diendapkan .....	87
Gambar 20. Proses ekstraksi lipid (a) pemberian methanol-kloroform (b) sentrifugasi .....	87
Gambar 21. Uji kandungan lipid dengan spektrofotometer .....	87

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Sumber daya laut yang terdapat di perairan Indonesia sangat melimpah dan beragam. Mikroalga termasuk salah satu sumber daya laut yang dimiliki Indonesia yang dimungkinkan dapat dijadikan untuk perkembangan industri pemanfaatan mikroalga di Indonesia (Jawa dkk., 2014). Menurut Widjaja dkk. (2009) mikroalga termasuk spesies uniseluler berukuran mikro yang hidup di air tawar maupun air laut secara soliter ataupun berkoloni, tidak memiliki akar, batang, dan daun. Mikroalga memiliki peran penting sebagai produsen primer yang pada suatu rantai makanan dijadikan sebagai tingkat pertama, karena memiliki kemampuan untuk berfotosintesis layaknya tumbuhan tingkat tinggi dengan cara menyerap sinar matahari, air, serta karbon dioksida yang diubah menjadi energi (Kawaroe dkk., 2010).

Pada umumnya mikroalga digunakan sebagai pakan alami bagi ikan, kerang, teripang maupun budidaya laut lainnya. Kemampuan fotosintesis dari mikroalga dapat dijadikan sebagai sumber protein, karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral bagi organisme air (Utami dkk., 2012). Menurut (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995) salah satu mikroalga yang sering digunakan sebagai pakan alami yaitu *Tetraselmis* sp. yang dikonsumsi oleh

larva udang, ikan hias, dan larva teripang. Mikroalga ini merupakan pakan alami yang memiliki kandungan gizi cukup baik karena mengandung protein, lemak, dan total omega-3 HUFA (*Highly Unsaturated Fatty Acid*) yang tinggi (Widianingsih dkk., 2010).

Potensi mikroalga *Tetraselmis* sp. selain sebagai pakan alami yaitu dapat dikembangkan sebagai alternatif sumber bahan baku *biofuel* untuk menggantikan energi dari bahan bakar fosil dengan cara membuat suatu alternatif dari sumber-sumber energi yang terbarukan (*renewable*), karena memiliki kandungan lipid sekitar 15-23% (Chisti, 2007). Terdapat beberapa keunggulan dari penggunaan mikroalga sebagai bahan baku alternatif, seperti pertumbuhan yang cepat, produktivitas tinggi, tidak berkompetisi dengan bahan pangan, dan menggunakan biaya produksi relatif rendah (Guerrero, 2010).

Lipid adalah senyawa organik yang terdapat di alam dan bersifat heterogen. Lipid dapat larut dalam pelarut-pelarut organik non polar, namun sukar larut dalam air. Pelarut organik tersebut antara lain pentana, benzen, dietil eter, alkohol, dan kloroform. Lipid dapat diekstrak dari sel dan jaringan tumbuhan dengan pelarut-pelarut yang telah disebutkan (Page dan Soendoro, 1989).

Lipid yang terkandung dalam mikroalga termasuk molekul intraseluler karena terdapat di dalam sel, lebih tepatnya yaitu dalam kloroplas (Gunawan, 2010).

Maraknya penelitian untuk mencari sumber energi alternatif terbarukan, mikroalga seperti *Tetraselmis* sp. diyakini dapat digunakan untuk salah satu bioenergi sebagai bahan baku *biofuel* karena kandungan lipid yang dimiliki

cukup besar. Mikroalga dipilih sebagai sumber energi alternatif karena secara ekonomi tergolong memiliki biaya produksi yang cukup rendah (Hossain dkk., 2008).

Pertumbuhan mikroalga *Tetraselmis* sp. secara umum dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti salinitas dan pH. Kandungan kimia sel mikroalga dapat dipengaruhi beberapa faktor, seperti kondisi kultivasi dan jenis spesies, sehingga faktor lingkungan dapat dimanipulasi untuk mendapatkan mikroalga dengan kandungan kimia sel tertentu, seperti kadar derajat keasaman (pH) dan salinitas (Anon, 2010). Derajat keasaman (pH) akan mempengaruhi tekanan osmotik sel mikroalga, yang mengakibatkan sel menjadi lisis (mengkerut) karena air dalam sel berpindah ke pelarut, sehingga sel akan mengekstrak minyak lebih banyak (Rachmaniah dkk., 2010).

Mikroalga akan menghasilkan lipid lebih besar saat kondisi lingkungan tempat hidupnya dalam keadaan stres seperti perubahan salinitas, namun pertumbuhan mikroalga dapat terhambat (Margaret dkk., 1984). Di suatu perairan, tingkat salinitas dapat mengalami fluktuasi karena pengaruh penguapan dan hujan (Odum, 1993). Menurut Kawaroe (2007), akumulasi lipid yang terjadi di dalam sel mikroalga cenderung lebih mengalami peningkatan saat mikroalga berada pada keadaan lingkungan yang mengalami tekanan (stres lingkungan).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan total lipid dari mikroalga jenis *Tetraselmis* sp. yang



diberikan stress osmotik berupa kadar keasaman (pH) dan salinitas yang berbeda.

### **B. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian stress osmotik berupa perbedaan kadar keasaman (pH) dan salinitas terhadap kepadatan populasi, laju pertumbuhan, dan kandungan total lipid pada mikroalga *Tetraselmis* sp.

### **C. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang gambaran pH dan salinitas yang tepat dalam pengoptimuman kadar total lipid pada mikroalga *Tetraselmis* sp.

### **D. Kerangka Pemikiran**

Bahan bakar fosil sebagai energi yang jumlahnya terbatas dapat merusak lingkungan, dimana hasil dari proses pembakarannya terhadap lingkungan dan kesehatan memberikan efek kurang baik sehingga diperlukan bahan dasar produk minyak sebagai sumber bahan bakar yang bersifat biodegradabel dan tersedia sepanjang tahun. Salah satu bahan baku alternatif yang dapat digunakan yaitu berasal dari tumbuhan, baik tumbuhan darat ataupun tumbuhan perairan yang disebut sebagai bahan bakar nabati (biofuel). Mikroalga sebagai biota perairan mampu memproduksi lipid lebih banyak jika dibandingkan dengan tanaman darat. Kandungan lipid yang tinggi serta

mempunyai rentang siklus hidup yang pendek ini dapat digunakan sebagai energi alternatif biofuel. *Tetraselmis* sp. merupakan mikroalga yang mampu menyimpan lipid dalam sel tubuhnya. Pertumbuhan serta kondisi fisik, molekul, seluler *Tetraselmis* sp. dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan di sekitarnya, seperti suhu, cahaya, ketersediaan nutrisi, pH, salinitas, serta karbon dioksida.

Pada kondisi lingkungan yang ekstrim, mikroalga memiliki kemampuan bertahan hidup terhadap perubahan lingkungannya dengan cara mengakumulasi cadangan makanan dalam bentuk lipid pada dinding selnya. Contoh stress osmotik di perairan laut yaitu kondisi tingkat derajat keasaman (pH) dan perubahan salinitas. Kadar pH dan salinitas yang terlalu rendah atau terlalu tinggi sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga terhadap perubahan tingkat metabolismenya. Jika pH terlalu rendah menyebabkan kematian pada sel mikroalga, sedangkan pada pH yang stabil, kepadatan sel mikroalga dan kadar total lipid lebih tinggi. Mikroalga mampu menghasilkan lipid dan kepadatan sel yang tinggi pada kondisi salinitas yang stabil (tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu rendah). Oleh sebab itu, pemberian cekaman berupa kadar pH dan salinitas yang berbeda ini diharapkan dapat memberikan pengaruh terhadap kadar total lipid mikroalga jenis *Tetraselmis* sp.

#### **E. Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian stress osmotik berupa perbedaan kadar pH dan salinitas dapat mempengaruhi kadar total lipid mikroalga *Tetraselmis* sp.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Mikroalga

Mikroalga merupakan salah satu mikroorganisme fotosintetik dengan struktur uniselular atau multiselular dimana tiap sel-sel komponennya belum ada pembagian tugas yang jelas sehingga menjadi pembeda antara mikroalga dengan tumbuhan tingkat tinggi. Namun mikroalga dapat tumbuh dengan cepat dan tergolong dalam prokariot atau eukariot (Quinn, 2011; Romimohtarto dan Juwana, 2004). Mikroalga lazim disebut sebagai fitoplankton yang memiliki diameter antara 3-30  $\mu\text{m}$ , dan hidup sebagai sel tunggal maupun koloni. Pigmen fotosintetik yang dimiliki oleh mikroalga yaitu pigmen hijau (klorofil), coklat (fikosantin), merah (fikoeritrin), dan biru kehijauan (fikobilin) (Romimohtarto dan Juwana, 2004).

Habitat mikroalga berada di perairan, baik perairan tawar, laut, ataupun payau. Terdapat kesamaan antara mikroalga dengan tumbuhan tingkat tinggi (tumbuhan darat) dalam hal mekanisme fotosintesis, yaitu terlihat pada struktur selulosa yang dimilikinya. Dalam menyerap dan memanfaatkan energi matahari dan  $\text{CO}_2$  untuk fotosintesis, mikroalga lebih efisien dibandingkan organisme fotosintetik lainnya, karena mikroalga memiliki klorofil serta pigmen-pigmen lain yang dapat mengonversi hasil fotosintesis

menjadi biomassa (Rodjaroen dkk., 2007 dan Gouveia, 2011). Kandungan lipid yang berasal dari biomassa tersebut dimiliki oleh mikroalga spesies tertentu dengan kadar yang sangat tinggi. Hal tersebut menjadikan mikroalga sebagai salah satu organisme yang berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan baku alternatif biofuel, dan secara matematis produktivitas lipid yang terkandung dalam membran sel mikroalga mencapai lebih dari 80 kali produktivitas minyak jarak dan 20 kali produktivitas minyak sawit (Kasrina dkk., 2012).

## **B. *Tetraselmis* sp.**

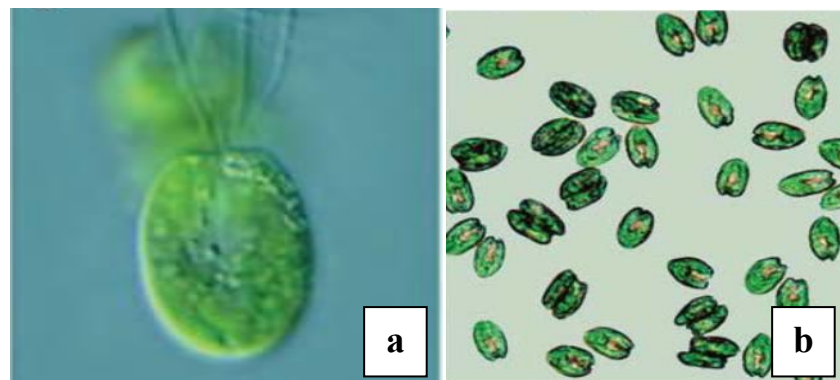
### **1. Morfologi *Tetraselmis* sp.**

*Tetraselmis* merupakan genera mikroalga yang termasuk ke dalam kelas kecil ganggang hijau (*Chlorodendrophyceae*) (Arora dkk., 2013).

Mikroalga *Tetraselmis* sp. dikenal sebagai flagellata berklorofil, bersel tunggal, serta mempunyai empat buah flagel yang berwarna hijau (*green flagella*) (Gambar 1) dan tumbuh di bagian anterior sel. Seperti hewan bersel tunggal lainnya, flagella pada *Tetraselmis* sp. digunakan untuk bergerak dengan cepat dan lincah. Adapun ukuran tubuh *Tetraselmis* sp. sekitar 7-12  $\mu\text{m}$ . Pigmen yang paling dominan dari mikroalga ini yaitu klorofil sehingga penuh dengan komponen plastida kloroplas yang menyebabkan *Tetraselmis* sp. berwarna hijau, dimana pigmen klorofil tersebut terdiri dari xantofil dan karotin. Mikroalga *Tetraselmis* sp. memiliki inti sel berukuran kecil dan jelas, selain itu juga memiliki dinding sel dengan kandungan pektosa dan selulosa (Arif, 2014).

Kandungan biomassa yang dimiliki oleh mikroalga ini antara lain karbohidrat (12,10%), protein (48,42%), lemak (9,70%), dan total klorofil (3,65-19,20 mg/g) (Sani dkk., 2014).

Habitat *Tetraselmis* sp. berada pada zona eufotik yaitu zona dengan keadaan lingkungan dimana masih mendapatkan sinar matahari untuk berlangsungnya fotosintesis. Namun, terdapat banyak faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga yang menyebabkan adanya kemelimpahan mikroalga di setiap perairan berbeda-beda, seperti salinitas dan pH lingkungan (Kawaroe dkk., 2010). Terhadap adanya perubahan lingkungan tersebut, *Tetraselmis* sp. termasuk mikroalga yang sangat peka meskipun perubahan yang terjadi sangat kecil sekalipun akan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan aktivitasnya. *Tetraselmis* sp. dapat tumbuh dengan kondisi salinitas 15-36 ppt (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Sedangkan kadar pH yang pada umumnya dapat digunakan untuk pertumbuhan *Tetraselmis* sp. yaitu berkisar antara pH 7-8 (Balai Budidaya Laut, 2002) dan pH optimum berkisar antara 8-8,5 (Armini dan Sugiyono, 2011).



Gambar 1. Morfologi *Tetraselmis* sp. (a. Leliaert dkk., 2012 dan b. Creswell, 2010)

## 2. Klasifikasi *Tetraselmis* sp.

Menurut Bougis (1979), klasifikasi dari *Tetraselmis* sp. adalah sebagai berikut :

Regnum : Protista  
Divisio : Chlorophyta  
Class : Chlorophyceae  
Ordo : Volvocales  
Family : Chlamydomonadaceae  
Genus : *Tetraselmis*  
Species : *Tetraselmis* sp.

### C. Faktor Pembatas yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga

Dalam melakukan kultivasi mikroalga skala laboratorium membutuhkan kondisi lingkungan yang terkendali untuk mendapatkan hasil yang optimal. Terdapat faktor pembatas yang mempengaruhi produk biomassa ataupun jenis produk yang di inginkan dari mikroalga. Sering kali jumlah biomassa sedikit menghasilkan produk dalam jumlah banyak, maka dari itu antara jumlah biomassa dan jumlah produk dalam biomassa mikroalga harus membutuhkan optimasi komposisi yang seimbang (Hadiyanto dan Azim, 2012). Berikut merupakan faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan mikroalga.

#### 1. Suhu

Bertindak sebagai mikroorganisme yang memiliki siklus hidup pendek, mikroalga dapat hidup dengan baik pada batas suhu tertentu. Sebagian

besar mikroalga dapat hidup pada suhu optimal yang berkisar antara 15-25°C, yaitu suhu yang baik untuk berfotosintesis. Suhu yang tidak stabil (naik/turun) akan berpengaruh terhadap kehidupan mikroalga, salah satunya proses fotosintesis akan menurun pada saat suhu hampir mencapai optimum, selain itu proses respirasi dan fotorespirasi akan mengalami peningkatan pada saat suhu melebihi batas optimum (Sutherland dkk., 2015). Menurut Hadiyanto dan Azim (2012), mikroalga dalam keadaan lingkungan dengan suhu di bawah 16°C masih dapat melakukan pertumbuhan namun dalam kondisi lambat, sedangkan beberapa mikroalga dapat mengalami kematian atau pecah (lisis) pada suhu di atas 35°C.

## 2. Kadar pH

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor lingkungan sebagai penentu kehidupan mikroalga. Kadar pH mampu mempengaruhi penyerapan nutrisi mikroalga, sehingga nilai pH maksimal yang biasa digunakan untuk tempat hidup mikroalga tidak boleh melebihi 9,5. Maka dari itu, setiap hari harus dilakukan kontrol untuk mengendalikan nilai pH air yang ada pada reaktor (Sutherland dkk., 2015). Kebanyakan jenis mikroalga dapat tumbuh dalam keadaan pH normal, yaitu antara 6-8. Namun, terdapat beberapa jenis mikroalga yang hanya akan tumbuh pada kondisi pH basa (alkali), salah satunya mikroalga *cyanobacteria* jenis *Spirulina platensis* (Hadiyanto dan Azim, 2012). Menurut Khatoon dkk. (2014) mikroalga *Tetraselmis* sp. mampu menghasilkan lipid, protein, karbohidrat, serta kepadatan sel yang paling tinggi yaitu pada pH 8,5.

### 3. Intensitas Cahaya

Mikroalga sebagai organisme autotrof mampu merubah senyawa anorganik menjadi senyawa organik melalui fotosintesis. Faktor penting yang dibutuhkan selama fotosintesis berlangsung dalam menentukan laju pertumbuhan mikroalga yaitu keberadaan cahaya. Pigmen yang dapat menyerap cahaya yaitu klorofil a, pada sebagian mikroalga hijau. Jika akan melakukan kultivasi skala laboratorium, maka sumber cahaya dari matahari bisa digantikan dengan sinar lampu TL. Intensitas cahaya yang optimum untuk mikroalga berkisar antara 2000-8000 lux (Tjahjo dkk., 2002). Menurut Taw (1990) pertumbuhan optimum *Tetraselmis* sp. pada intensitas cahaya antara 2000 sampai 10.000 lux.

Aktivitas fotosintesis akan tinggi seiring dengan intensitas cahaya mengalami kenaikan, dan menjadi hal penting karena saat melakukan pembiakan mikroalga dengan kedalaman yang telah ditentukan, semakin dalam medium maka membutuhkan intensitas cahaya yang semakin tinggi juga (Jeon dkk., 2005). Menurut Hadiyanto dan Azim (2012), jika dalam kondisi intensitas cahaya yang konstan dapat menyebabkan sebagian besar mikroalga tidak akan melakukan pertumbuhan dengan baik, sehingga pencahayaan tersebut dapat dimanipulasi durasinya dengan menggunakan cara light dark (L/D) dengan perbandingan antara 16:8, 14:10, atau 12:12.

### 4. Salinitas

Mikroalga hidup di berbagai macam perairan, sebagian besar mikroalga air laut dapat bertahan hidup terhadap perubahan salinitas pada suatu



medium, dan terdapat beberapa jenis mikroalga yang pada salinitas tinggi mampu bertahan hidup bahkan dapat tumbuh subur (Graneli dan Salomon, 2010). Akibat dari fluktuasi salinitas secara langsung yaitu tekanan osmosis dalam sel mikroalga akan mengalami perubahan, karena tekanan osmosis dalam sel akan menjadi lebih rendah bahkan lebih tinggi saat kondisi salinitas tinggi ataupun rendah, sehingga akan mengganggu aktivitas sel mikroalga, dimana salinitas optimum sekitar 25-35‰ untuk pertumbuhan mikroalga (Tjahjo dkk., 2002). Menurut Ningsih dkk. (2016) mikroalga *Tetraselmis* sp. mengalami penambahan jumlah populasi tertinggi dan persentase jumlah lipid tertinggi pada salinitas 20 ppt, sedangkan pertumbuhan terendah dan kadar total lipid terendah pada salinitas 40 ppt.

#### 5. Oksigen

Oksigen merupakan salah satu faktor pembatas pertumbuhan mikroalga, yang diperoleh dari hasil reaksi fotosintesis, dimana tingkat oksigen terlarut yang semakin tinggi di dalam suatu medium menyebabkan proses fotosintesis terganggu (Lannan, 2011).

#### 6. Karbon dioksida

Mikroalga menggunakan karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) seperti tumbuhan berklorofil lainnya untuk melakukan proses fotosintesis. Mikroalga dapat tumbuh dan berkembang biak dengan cepat sehingga membutuhkan karbon dioksida cukup tinggi. Namun kondisi udara hanya mengandung 0,033% CO<sub>2</sub> pada saat pengkulturan menggunakan media pemeliharaan (Panggabean, 2011). Hal tersebut membutuhkan adanya injeksi CO<sub>2</sub> yang

ditujukan untuk dapat digunakan langsung saat berfotosintesis, sehingga kebutuhan karbon (C) akan tercukupi serta hasil dari fotosintesis yang didapatkan digunakan oleh mikroalga untuk membentuk karbohidrat dan akan di ikuti proses akumulasi lipid (Baba dan Shiraiwa, 2012). Menurut (Nurmalitasari dkk., 2014) *Tetraselmis chuii* mengalami pertumbuhan dan biomassa optimum dicapai pada injeksi CO<sub>2</sub> selama 3 menit, berbanding terbalik dengan kadar total lipid, dimana semakin menurun sebanding dengan lama injeksi hingga pada menit ke 4,5 dan mengalami kenaikan kadar lipid pada injeksi selama 8 menit .

#### 7. Nutrien

Produksi dari biomassa mikroalga ditentukan oleh nutrisi atau unsur hara, sehingga untuk melakukan kultivasi mikroalga membutuhkan konsentrasi nutrien yang lebih tinggi dari nutrien yang ada di habitatnya. Unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroalga yaitu makronutrien dan mikronutrien. Makronutrien yang dibutuhkan oleh sebagian mikroalga antara lain nitrogen (N), karbon (C), hidrogen (H), fosfor (P), kalium (K), sulfur (S), dan magnesium (Mg). Sedangkan unsur mikronutrien yang diperlukan seperti mangan (Mn), zat besi (Fe), boron (B), silikon (Si), vanadium (Va), nikel (Ni), selenium (Se), molybdenum (Mo), dan cuprum (Cu). Mikronutrien dibutuhkan supaya pertumbuhan sel dan metabolisme mengalami peningkatan, dan adanya mikronutrien tersebut tidak dapat digantikan dengan zat lainnya. Selain itu juga kebutuhan mikronutrien berdasarkan habitat dari mikroalga seperti air laut, air payau, dan air tawar memiliki perbedaan (Hadiyanto dan Azim, 2012).

#### 8. Pengadukan

Proses pengadukan pada medium mikroalga dalam skala laboratorium dilakukan supaya tidak terjadi pengendapan sel, untuk mencampurkan nutrisi supaya nutrisi menyebar keseluruh medium, serta untuk meningkatkan laju difusi gas karbon dioksida. Namun, terdapat beberapa mikroalga yang tanpa pengadukan bisa tumbuh dengan baik asalkan tingkat kepekatan konsentrasinya rendah. Pada umumnya metode pengadukan yang digunakan yaitu menggunakan udara (*bubling*) dan menggunakan pengaduk otomatis (*paddle*) (Hadiyanto dan Azim, 2012).

#### 9. Kontaminasi

Untuk melakukan proses kultivasi, semua rangkaian kegiatan harus dilakukan dalam keadaan steril, termasuk semua peralatan yang akan digunakan harus melalui tahap sterilisasi terlebih dahulu supaya tidak terjadi kontaminasi. Pertumbuhan mikroalga akan terhambat dengan adanya organisme kontaminan, dimana kontaminan tersebut akan menjadi predator atau akan merebut sumber makanan mikroalga (Inthe, 2012).

### **D. Fase Pertumbuhan Mikroalga**

Parameter yang digunakan untuk mengetahui fase pertumbuhan mikroalga adalah dengan melakukan pengamatan seperti melihat bentuk ukuran sel, penghitungan kepadatan sel, dan biomassa sel (Kawaroe dkk., 2010).

Menurut Hadi (2012) pertumbuhan mikroalga dibagi menjadi 4 fase (Gambar 2) sebagai berikut :

### 1. Fase Lag

Fase lag merupakan fase awal dari pertumbuhan dan laju pertumbuhan spesifik dari mikroalga. Pada fase ini mikroalga melakukan adaptasi terhadap lingkungannya, karena konsentrasi nutrisi atau unsur hara dalam lingkungan bibit (inokulum) mikroalga mengalami perubahan. Jika tidak mampu beradaptasi dengan baik, maka suatu saat pertumbuhan sel dari mikroalga semakin menurun bahkan menyebabkan sel mengalami kematian.

### 2. Fase Logaritmik (eksponensial)

Pada fase ini, sel mikroalga telah mampu melakukan adaptasi dengan lingkungan. Kemampuan ini menjadikan mikroalga mulai melakukan pertumbuhan dan perkembangan mengikuti deret logaritmik atau eksponensial, selama faktor-faktor lingkungan yang menunjang pertumbuhan sel mikroalga masih mencukupi seperti nutrisi, temperatur, kadar pH, salinitas, dan karbon dioksida. Menurut Madigan dkk. (2011) pertumbuhan yang sangat cepat terjadi pada fase ini (eksponensial) sehingga memperoleh biomassa yang tinggi karena adanya peningkatan aktivitas fotosintetik.

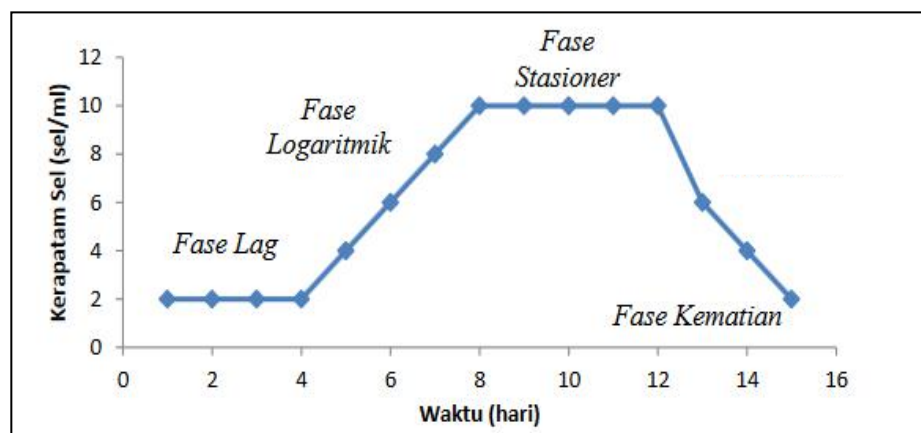
### 3. Fase Stasioner

Fase stasioner adalah fase ketika pasokan nutrisi mengalami penurunan dan menyebabkan berkurangnya pembelahan sel, serta keadaan lingkungan tidak lagi optimal. Pada fase ini mengalami proses akumulasi senyawa metabolit sekunder seperti polisakarida, lipid, dan zat bioaktif lainnya. Kepadatan sel berada pada keadaan konstan dan maksimum,

selain itu kepadatan biomassa lebih tinggi daripada fase logaritmik (eksponensial), dikarenakan kandungan nutrisi yang mengalami penurunan sehingga terjadi kesetaraan antara laju pertumbuhan dengan laju kematian.

#### 4. Fase Kematian

Fase ketika sumber nutrisi mengalami penghabisan, menyebabkan jumlah sel mikroalga menjadi rendah (turun drastis). Pada fase ini kontaminan mulai muncul dan mempengaruhi kondisi lingkungan yang sudah tidak mendukung untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroalga. Menurut Madigan dkk. (2011) fase ini merupakan fase akhir pertumbuhan mikroalga, dimana oksigen tidak tersuplai dengan baik dan berkurangnya jumlah karbon dioksida, serta semakin meningkatnya kepadatan sel.



Gambar 2. Grafik fase pertumbuhan mikroalga (Silvia, 2016)

#### E. Potensi Mikroalga sebagai Bioenergi

Mikroalga diketahui berpotensi sebagai penghasil bahan baku energi alternatif (biofuel), karena pertumbuhannya yang relatif cepat dibandingkan tumbuhan terestrial yang mampu menghasilkan minyak. Untuk pertumbuhan

dan perkembangan, mikroalga tidak membutuhkan lahan yang luas, serta tidak menghasilkan limbah yang berdampak negatif terhadap lingkungan (Hadiyanto dan Azim, 2012). Biofuel merupakan cairan yang bersumber dari biomassa tumbuhan (bahan nabati), dan bentuk dari biofuel yang sangat terkenal saat ini yaitu bioetanol dan biodiesel, dimana biodiesel adalah jenis biofuel yang diperoleh dari mikroalga (Amy dan Sachari, 2014). Menurut Hadiyanto dan Azim (2012) potensi mikroalga sebagai penghasil biofuel merupakan biofuel generasi ketiga, dan mikroalga mampu menghasilkan produk berupa energi berkisar 20-100 kali lipat daripada tumbuhan terestrial lainnya.

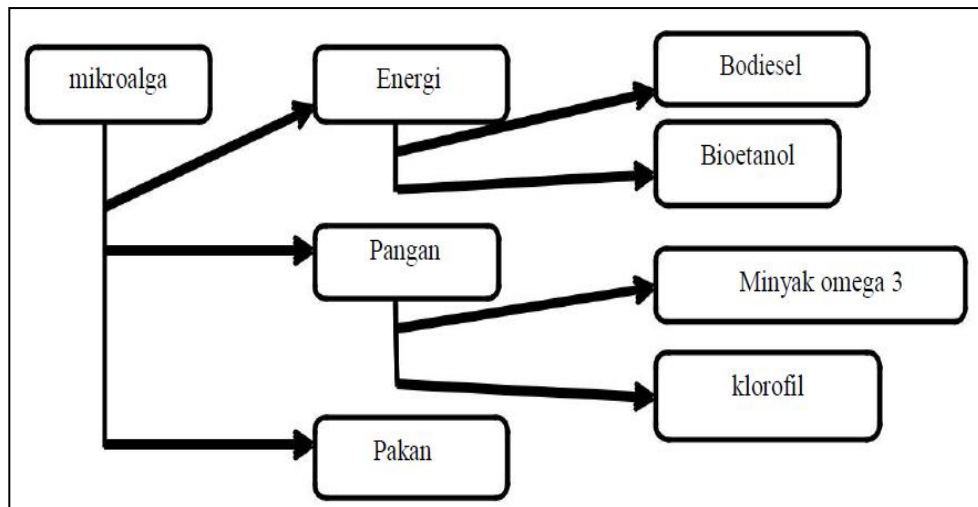
Tabel 1. Perbandingan lahan dengan produksi lipid

<b>Komoditas</b>	<b>Yield minyak (liter)</b>	<b>Area Lahan (ha)</b>
Jagung	172	1540
Kedelai	446	594
Kanola	1190	223
Jarak	1892	140
Kelapa	2689	99
Kelapa sawit	5950	45
Mikroalga	136900	2

Sumber : Chisti (2007)

Berdasarkan Tabel 1, antara tumbuhan terestrial dengan mikroalga yang lebih potensial sebagai sumber biodiesel yaitu mikroalga, karena secara umum

mikroalga selama 24 jam mampu memproduksi biomassa dua kali lipat (Hadiyanto dan Azim, 2012).



Gambar 3. Produk turunan mikroalga (Arianty, 2012)

Berdasarkan Gambar 3, mikroalga menghasilkan produk yang beragam dari produksi biomassa nya, diantaranya yaitu produk pangan, pakan, bahkan energi yang berupa biodiesel. Proses produksi yang berasal dari konversi biomassa tersebut menjadi produk-produk yang secara ekonomi masih dapat dijangkau (Arianty, 2012).

#### F. Lipid Mikroalga

Kandungan lipid dalam mikroalga antara lain gliserol, asam lemak jenuh, dan asam lemak tak jenuh. Masing-masing mikroalga memiliki kandungan lipid yang berbeda-beda, karena adanya pengaruh dari faktor lingkungan (Arianty, 2012). Faktor yang mempengaruhi lipid mikroalga adalah komposisi nutrisi, pH, salinitas, intensitas cahaya, dan temperatur. Pada saat kondisi lingkungan pertumbuhan mikroalga mengalami perubahan (keadaan limit/stress), maka

kadar lipid dalam mikroalga mengalami peningkatan menjadi dua sampai tiga kali lipat (Geouveia, 2011). Menurut Baharuddin (2011) persentase total lipid mikroalga *Tetraselmis chuii* lebih tinggi pada media air payau dengan kondisi salinitas dan pH yang stabil, diperoleh persentase sebesar 15,9 % dibandingkan pada media air laut diperoleh 14,8 %.

Kadar total lipid mikroalga mampu mencapai 80% berat kering, tetapi pada umumnya, rentang kandungan lipid yang dihasilkan oleh mikroalga antara 20-50%, dan beberapa mikroalga memiliki pertumbuhan yang lambat namun kandungan lipid yang dihasilkan tinggi (Hadiyanto dan Azim, 2012). Menurut Rachmaniah dkk. (2010), lipid yang dimiliki oleh mikroalga berpotensi sebagai bahan dasar biofuel yang dapat dijadikan sebagai biodiesel.

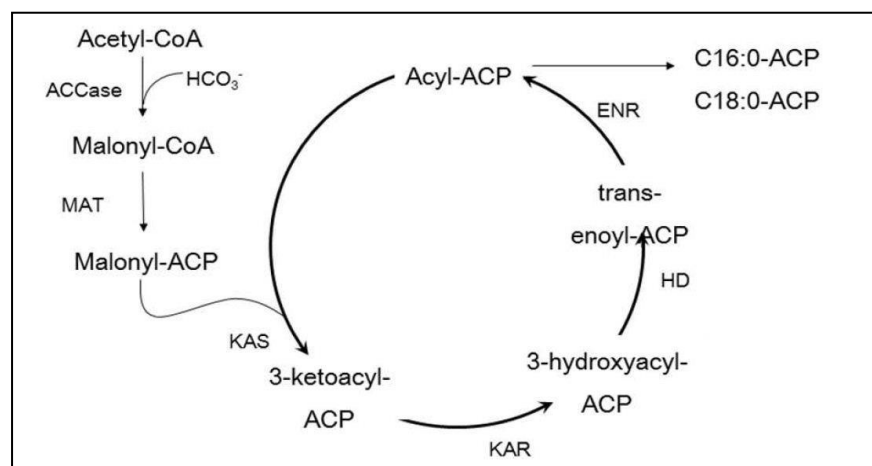
Tabel 2. Kandungan lipid berbagai jenis mikroalga

Mikroalga	Persentase (%) Berat Kering Kandungan Lipid
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chlorella</i> sp.	28-32
<i>Chrythecodinium cohni</i>	20
<i>Cylindrotecha</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 akan menghasilkan lipid lebih banyak saat kondisi lingkungan sel mengalami stres atau tercekam, yaitu dengan cara mengakumulasi karbohidrat hasil fotosintesis menjadi lemak. Konversi karbohidrat menjadi lemak membutuhkan produksi asam lemak dan gliserol sebagai rangka sehingga asam akan teresterifikasi. Secara singkat proses terjadinya reaksi transesterifikasi atau alkoholisis yaitu trigliserida akan diubah menjadi digliserida, kemudian digliserida diubah menjadi monogliserida dan akhirnya akan terbentuk gliserol (Chisti, 2007). Pembentukan asam lemak oleh kondensasi berganda unit asetat dari asetil Ko-A. Reaksi sintesis asam lemak sebagian besar terjadi di dalam kloroplas. Asetil Ko-A yang dipakai untuk mensintesis lemak dalam kloroplas, biasanya diperoleh dari piruvat dehidrogenase yang dibentuk pada glikolisis di sitosol. Selain itu asetat bebas dari mitokondria juga merupakan sumber lain asetil Ko-A. Asetat tersebut akan diserap oleh plastid dan dikonversi menjadi asetil Ko-A untuk digunakan dalam pembentukan asam lemak dan lipid lainnya (Salisbury dan Ross, 1995).



Gambar 4. Biosintesis lipid (Liu dkk., 2011)

Proses biosintesis lipid pada Gambar 4 dimulai dari asetil Ko-A yaitu rantai dasar asil sebagai substrat untuk karboksilasi asetil Ko-A. Reaksi pertama biosintesis asam lemak adalah konversi malonil Ko-A dari asetil Ko-A dengan penambahan CO<sub>2</sub> yang dikatalis oleh ACCase (*acetyl CoA carboxylase*) yang merupakan kelompok malonil. Kemudian pemindahan gugus malonil dan gugus asetil dari Ko-A menuju ACP (*acyl carrier protein*). Selanjutnya yaitu pengkondensasian gugus malonil membentuk asetoasetil-ACP dengan melepaskan CO<sub>2</sub>. Setelah itu reaksi reduksi dengan katalis 3-ketoasil ACP reduktase, reaksi dehidrasi dengan katalis 3-hidroksi ACP dehidrase, dan reaksi reduksi dengan katalis enoil ACP reduktase. Urutan reaksi-reaksi tersebut merupakan siklus pembentukan dan penambahan panjang rantai asam lemak. Perolehan sintesis dari urutan reaksi tersebut yaitu molekul asam lemak yang terikat dengan ACP (Salisbury dan Ross, 1995).

Hasil sintesis awal didapatkan jumlah atom karbon asam lemak sebanyak 4 sehingga disebut sebagai asam lemak rendah. Selanjutnya, untuk menambah panjang rantai asam lemak yaitu hasil dari sintesis tersebut akan kembali memasuki siklus 'kondensasi-reduksi-dehidrase-reduksi' dengan 2 atom karbon. Jika panjang rantai molekul asam lemak hasil sintesis belum mencukupi, maka sintesis akan berlanjut dengan melakukan kembali siklus yang sama (Rosita, 2003).

### III. METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2018 – Januari 2019 di Laboratorium Perairan Biologi Molekuler Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

#### B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah botol kultur (kapasitas 3 liter), aerator, selang dan batu aerasi, *beaker glass*, corong, lampu TL *fluorescent* (8400 lux), pipet tetes, cawan petri, mikroskop, *cover glass*, *haemocytometer* untuk menghitung kepadatan sel mikroalga, *hand counter* untuk mencatat jumlah sel mikroalga, kertas saring, pH meter, *refractometer* untuk mengukur salinitas, *spectrofotometer*, *cuvette*, *sentrifuge*, desikator, neraca analitik, alat tulis, dan kamera untuk dokumentasi.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bibit mikroalga *Tetraselmis* sp. yang diperoleh dari Laboratorium Plankton Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung, air laut steril, pupuk conwy, kaporit, alkohol 70%, formalin, NaOH, untuk proses ekstraksi pengukuran kadar total lipid mikroalga menggunakan kloroform, metanol, dan akuades.

### C. Rancangan Penelitian

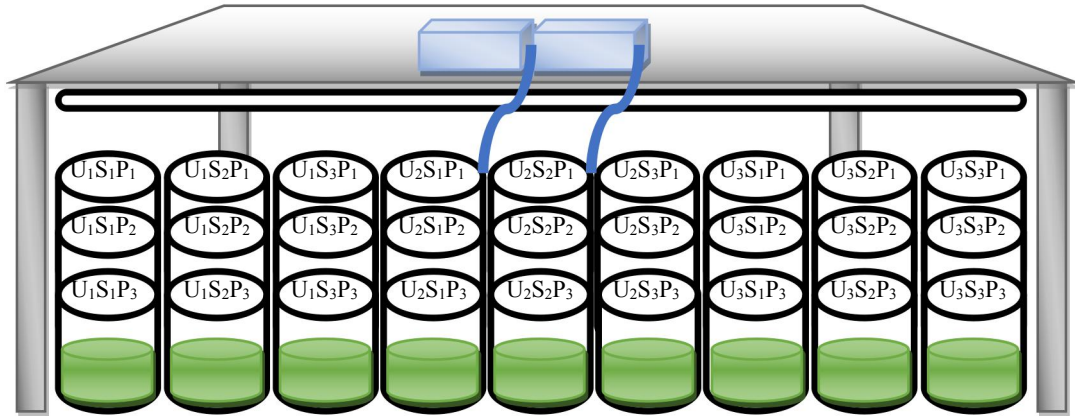
Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen.

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola Faktorial. Penggunaan RAL faktorial dengan 2 faktor yang terdiri atas 9 perlakuan dan 3 kali ulangan. Faktor pertama (F1) adalah perbedaan kadar pH dan Faktor kedua (F2) adalah perbedaan salinitas sebagai berikut :

- Faktor pertama (F1) = kadar pH; P<sub>1</sub> = pH 5, P<sub>2</sub> = pH 8, P<sub>3</sub> = pH 9,5
- Faktor kedua (F2) = salinitas ; S<sub>1</sub> = 10 ppt, S<sub>2</sub> = 15 ppt, S<sub>3</sub> = 20 ppt
  - a. Perlakuan *Tetraselmis* sp. pada pH 5; Salinitas 10 ppt
  - b. Perlakuan *Tetraselmis* sp. pada pH 8; Salinitas 10 ppt
  - c. Perlakuan *Tetraselmis* sp. pada pH 9,5; Salinitas 10 ppt
  - d. Perlakuan *Tetraselmis* sp. pada pH 5; Salinitas 15 ppt
  - e. Perlakuan *Tetraselmis* sp. pada pH 8; Salinitas 15 ppt
  - f. Perlakuan *Tetraselmis* sp. pada pH 9,5; Salinitas 15 ppt
  - g. Perlakuan *Tetraselmis* sp. pada pH 5; Salinitas 20 ppt
  - h. Perlakuan *Tetraselmis* sp. pada pH 8; Salinitas 20 ppt
  - i. Perlakuan *Tetraselmis* sp. pada pH 9,5; Salinitas 20 ppt

Tabel 3. Kombinasi perlakuan dengan pengulangan

	U <sub>1</sub>			U <sub>2</sub>			U <sub>3</sub>		
	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>
P <sub>1</sub>	U <sub>1</sub> S <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	U <sub>1</sub> S <sub>2</sub> P <sub>1</sub>	U <sub>1</sub> S <sub>3</sub> P <sub>1</sub>	U <sub>2</sub> S <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	U <sub>2</sub> S <sub>2</sub> P <sub>1</sub>	U <sub>2</sub> S <sub>3</sub> P <sub>1</sub>	U <sub>3</sub> S <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	U <sub>3</sub> S <sub>2</sub> P <sub>1</sub>	U <sub>3</sub> S <sub>3</sub> P <sub>1</sub>
P <sub>2</sub>	U <sub>1</sub> S <sub>1</sub> P <sub>2</sub>	U <sub>1</sub> S <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	U <sub>1</sub> S <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	U <sub>2</sub> S <sub>1</sub> P <sub>2</sub>	U <sub>2</sub> S <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	U <sub>2</sub> S <sub>3</sub> P <sub>2</sub>	U <sub>3</sub> S <sub>1</sub> P <sub>2</sub>	U <sub>3</sub> S <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	U <sub>3</sub> S <sub>3</sub> P <sub>2</sub>
P <sub>3</sub>	U <sub>1</sub> S <sub>1</sub> P <sub>3</sub>	U <sub>1</sub> S <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	U <sub>1</sub> S <sub>3</sub> P <sub>3</sub>	U <sub>2</sub> S <sub>1</sub> P <sub>3</sub>	U <sub>2</sub> S <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	U <sub>2</sub> S <sub>3</sub> P <sub>3</sub>	U <sub>3</sub> S <sub>1</sub> P <sub>3</sub>	U <sub>3</sub> S <sub>2</sub> P <sub>3</sub>	U <sub>3</sub> S <sub>3</sub> P <sub>3</sub>



Gambar 5. Sketsa rancangan penelitian

Mikroalga *Tetraselmis* sp. dikultur dalam botol kultur dengan kapasitas 3 liter seperti yang terlihat pada Gambar 5. Berdasarkan sketsa rancangan penelitian pada Gambar 5 terdapat aerator serta selang aerator untuk membantu pertumbuhan sel mikroalga. Proses kultur juga dilengkapi dengan lampu *fluorescent* kapasitas 28 watt atau setara dengan 8400 lux (5 buah).

#### D. Parameter

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kepadatan sel, laju pertumbuhan, dan kadar total lipid dari mikroalga *Tetraselmis* sp.

#### E. Pelaksanaan

Penelitian yang dilaksanakan di Laboratorium Perairan Biologi Molekuler Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung mengenai pengaruh pemberian stress osmotik berupa perbedaan kadar pH (5, 8, dan 9,5) serta salinitas (10 ppt, 15 ppt, dan 20 ppt) terhadap kadar total lipid mikroalga *Tetraselmis* sp. dengan tahapan cara kerja sebagai berikut :

## 1. Persiapan Media dan Wadah Kultur

Air laut yang digunakan sebagai media disterilisasi dengan UV Sterilizer, kemudian dilakukan proses ozonisasi selama 15 menit, dan direbus sampai mendidih, didinginkan, lalu direbus kembali (untuk mematikan protozoa). Setelah perebusan, air laut tersebut dimasukkan di dalam *erlenmeyer* atau botol tertutup untuk dilakukan pengukusan supaya air dalam kondisi benar-benar steril (selama 30 menit) (Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut, 2001). Untuk menurunkan salinitas air laut menjadi 10 ppt, 15 ppt, dan 20 ppt dengan cara ditambahkan air tawar dan diukur dengan menggunakan *refractometer*. *Refractometer* harus dikalibrasi terlebih dahulu sebelum digunakan, yaitu pada salinitas 0 ppt menggunakan aquades, kemudian dilakukan pengukuran salinitas dengan cara diteteskan pada bagian kaca prisma *refractometer* dan dilihat pada tempat yang terang, sehingga nilai salinitas akan terlihat pada garis horizontal yaitu batas antara bidang berwarna biru dan putih (Pratama, 2016).

Pengaturan derajat keasaman (pH) dilakukan dengan cara penambahan NaOH 0,1 N (Nur, 2014). Pengaturan kadar pH menjadi 5, 8, dan 9,5 dilakukan dengan menggunakan pH meter. Setelah itu, air laut tersebut direbus sampai mendidih supaya kondisi air steril kembali. Kemudian saat air laut sudah dingin, dimasukkan ke dalam botol kultur dan diletakkan pada rak kultur yang berada di dalam laboratorium.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian seperti botol kultur, pipet tetes, gelas ukur, gelas *beaker*, dan cawan petri dibersihkan dengan dicuci menggunakan air tawar, kemudian disemprot dengan alkohol 70%, dan dikeringkan. Untuk selang aerasi, batu aerasi, corong, dan tutup toples cukup dicuci sampai bersih menggunakan air tawar, lalu dikeringkan.

## 2. Nutrisi Mikroalga

Pupuk conwy pro analis (PA) sebagai pakan yang diberikan pada saat pemeliharaan mikroalga *Tetraselmis* sp. Pupuk Conwy PA diberikan pada awal kultur sebanyak 1 ml/L. Kandungan dari pupuk ini yaitu unsur makro yang terdiri dari Na<sub>2</sub> EDTA (45 g), FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (1,50 g), H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (33,6 g), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O (20 g), MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (0,50 g), NaNO<sub>3</sub> / KNO<sub>3</sub> (84,148 g / 100 g) dengan aquabidest / aquades 100 ml yang ditambahkan larutan *Trace Metal Solution*, sedangkan unsur mikro terdiri dari ZnCl<sub>2</sub> (2,10 g), CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (2,00 g), CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (2,00 g), (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O (0,90 g) (BBPBL, 2001).

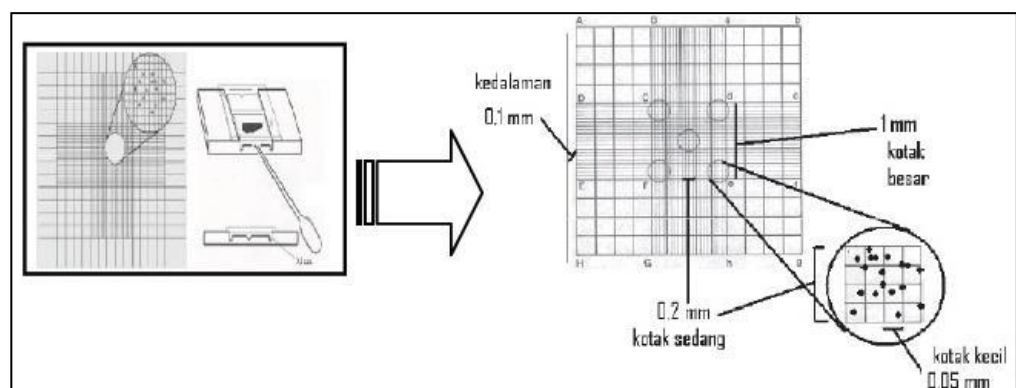
## 3. Kultur Mikroalga *Tetraselmis* sp.

Mikroalga *Tetraselmis* sp. dikultur dalam toples ukuran 2 liter yang diisi sebanyak 500 ml air laut steril dengan kadar pH dan salinitas yang berbeda. Bibit mikroalga *Tetraselmis* sp. yang digunakan untuk memulai kultur baru berasal dari koleksi mikroalga yang sudah dikultur oleh BBPBL. Kemudian mikroalga disaring menggunakan kertas saring dan dituang dalam wadah kultur yang didalamnya terdapat air laut steril. Untuk skala laboratorium, waktu yang diperlukan dalam pemeliharaan

mikroalga biasanya dilakukan selama 7 sampai 10 hari (Kawaroe, 2007). Kandungan total lipid dapat diukur saat sel mikroalga mencapai puncak kepadatan.

#### 4. Menghitung Kepadatan Populasi *Tetraselmis* sp.

Kepadatan populasi *Tetraselmis* sp. dihitung setiap 24 jam sekali selama satu minggu. Pipet tetes dan *haemocytometer* dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70 %. Untuk menghitung kepadatan sampel *Tetraselmis* sp. sebelum diletakkan dalam *haemocytometer* (Gambar 6), diambil dengan pipet tetes kurang lebih 1 ml kemudian dimasukkan dalam *beaker glass* terlebih dahulu untuk mematikan sampel *Tetraselmis* sp. dengan cara ditetesi larutan formalin, supaya saat akan dihitung tidak bergerak. *Tetraselmis* sp. yang akan dihitung kepadatannya ditetaskan pada bagian parit yang melintang sampai penuh, dilakukan secara hati-hati supaya tidak terjadi gelembung udara dibawah *cover glass*. Kemudian, sampel dapat dihitung di bawah mikroskop dengan cara menghitung sel *Tetraselmis* sp. yang terdapat pada kotak persegi dengan sisi 1 mm (Gambar 6) menggunakan alat bantu *handcounter*.



Gambar 6. *Haemocytometer* (Isnansetyo, 1995)



Menurut Isnansetyo (1995) kepadatan sel *Tetraselmis* sp. dapat dihitung menggunakan rumus kepadatan sel sebagai berikut :

Rata-rata jumlah sel (dari 5 kotak) x 25 x 10 <sup>4</sup> /ml = ..... sel
--

### 5. Menghitung Laju Pertumbuhan *Tetraselmis* sp.

Data kepadatan populasi *Tetraselmis* sp. telah didapatkan, sehingga laju pertumbuhannya dapat dihitung. Analisa yang digunakan untuk menghitung laju pertumbuhan *Tetraselmis* sp. menggunakan rumus menurut Krichnavaruk dkk. (2004) sebagai berikut :

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

Keterangan :

$\mu$  = Laju pertumbuhan populasi

$N_t$  = Kepadatan populasi sel pada waktu ke-t

$N_0$  = Kepadatan populasi sel pada waktu ke-0

$T_0$  = Waktu awal

$T_t$  = Waktu pengamatan

### 6. Pengukuran Kadar Total Lipid *Tetraselmis* sp.

Kadar total lipid diuji menggunakan metode *chemical solvent oil extraction* dengan menggunakan metanol-kloroform sebagai pelarut (Bligh dan Dyer, 1959). Mikroalga *Tetraselmis* sp. dipanen saat fase stasioner, dan diendapkan selama satu malam dengan NaOH 1 g/L. Selanjutnya dilakukan tahap ekstraksi, yaitu mikroalga hasil kultur

disentrifuge supaya mikroalga terpisah dengan air pelarutnya. Hasil sentrifugasi didapatkan endapan yang merupakan mikroalga basah bentuk natan, sedangkan air pelarut (supernatan) dapat dibuang. Mikroalga basah berupa natan (pellet) diambil 2 gram kemudian ditambah metanol : kloroform dengan perbandingan 3 ml : 3 ml, setelah itu didiamkan. Kemudian dihomogenkan selama 30 detik, lalu homogenat disimpan dalam lemari es 15 menit. Homogenat ditambah akuades sebanyak 1 ml dan dihomogenkan lagi selama 30 detik, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit. Lipid diambil menggunakan pipet tetes, dimasukkan dalam cawan petri steril dalam keadaan terbuka untuk proses pengeringan. Cawan petri ditimbang lalu dimasukkan kedalam desikator selama 24 jam untuk proses evaporasi. Setelah 24 jam, untuk mengetahui berat lipid maka cawan petri ditimbang kembali.

Setelah diperoleh berat lipid, kemudian lipid dilarutkan dengan akuades untuk dilihat nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 680 nm (Hadiyanto dan Widayat, 2014).

Untuk menentukan kandungan lipid (%) menurut Gunawan (2010) dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ lipid} = \frac{Lw}{Bw} \times 100\%$$

Keterangan :

Lw = berat lipid sampel (gram)

Bw = berat biomassa sampel (gram)

## F. Analisis Data Penelitian

Analisis data untuk kepadatan populasi mikroalga *Tetraselmis* sp. dengan perlakuan kadar pH dan salinitas yang berbeda menggunakan *Anova one-way* pada taraf signifikansi 5% untuk mengetahui perbedaan masing-masing perlakuan, sedangkan analisis untuk data laju pertumbuhan dan kadar total lipid dilakukan secara deskriptif. Hasil analisis varian yang didapatkan dilakukan pengujian lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan mikroalga *Tetraselmis* sp. Namun, data yang dianalisis merupakan data hasil transformasi mikroalga *Tetraselmis* sp. yakni dari penambahan atau penurunan pertumbuhan dari jumlah populasi awal ( $t=0$ ) dengan rumus sebagai berikut:

$$X = \frac{T_n - T_0}{T_0} \times 100\%$$

Keterangan:

$T_0$  : Kepadatan pada saat awal kultur

$T_n$  : Kepadatan pada saat hari ke (n)

X : Penambahan/penurunan populasi mikroalga

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Kepadatan populasi mikrolaga *Tetraselmis* sp. tertinggi terdapat pada perlakuan salinitas 20 ppt dengan pH 9,5 sedangkan yang terendah terdapat pada perlakuan salinitas 10 ppt dengan pH 5.
2. Laju pertumbuhan populasi spesifik tertinggi mikrolaga *Tetraselmis* sp. rata-rata terdapat pada hari kedua dan keempat dikarenakan masih tersedia pasokan nutrisi.
3. Kadar lipid tertinggi mikroalga *Tetraselmis* sp. yaitu pada perlakuan salinitas 10 ppt dengan pH 9,5 sebesar 14,29% sedangkan persentase terendah terdapat pada perlakuan salinitas 10 ppt dengan pH 5 yaitu 2,34%.

### B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan menggunakan mikroalga yang sama atau yang berbeda dengan rentang salinitas dan pH yang berbeda, serta perlu dilakukan uji lipid dengan metode yang lebih baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amy, A., dan Sachari, A. 2014. Perancangan Produk Reaktor Mikroalga Penghasil Biofuel Untuk Kawasan Pesisir. *Jurnal Tingkat Sarjana Senirupa dan Desain*. No.1.
- Anon. 2010. Facts on algae. <http://www.algae.wur.nl/UK/factsonalgae>. Diakses pada tanggal 3 November 2018.
- Arianty, D. 2012. *Potensi Mikroalga sebagai Sumber Biomassa dan Pengembangan Produk Turunannya*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. 33:2.
- Arif, D. 2014. *Diktat Teknologi Pakan Ikan*. Sekolah Usaha Perikanan Menengah Negeri Waheru Ambon. Ambon.
- Amini, S. 2005. Skrining Mikroalga Penghasil Kandungan Asam Lemak Omega 3. *Prosiding Seminar Nasional Perikanan Indonesia 2005*. STP. Jakarta. 269-275.
- Armini, S dan Sugiyono. 2011. Kandungan Minyak Mikroalga Jenis *Tetraselmis* sp. Dan *Chlorella* sp. Berdasarkan Umur Pertumbuhannya. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*.
- Arora, M., Anil, A.C., Leliaert, F., Delany, J., dan Mesbahi, E. 2013. *Tetraselmis indica* (*Chlorodendrophyceae, Chlorophyta*), a New Species Isalated from Salt Pans in Goa, India. *Eur. Journal Phycol.* 48 (1) : 61 – 78.
- Baba, M., dan Shiraiwa, Y. 2012. High-CO<sub>2</sub> Response Mechanisms in Microalgae. In: Dr. M. Najafpour. *Photosynthesis - Fundamental Aspects. InTech*. China. pp. 299-320.

- Baharuddin, M. 2011. Analisis Perbedaan Kandungan Lipida Mikroalga (*Tetraselmis chuii* dan *Nannochloropsis oculata*) Pada Air Laut dan Air Payau. *Jurnal Teknosains*. Vol. 5 No. 1 Hal. 26-32.
- Bai, V. D. M., dan S. Krishnakumar. 2013. Evaluation of Antimicrobial Metabolites from Marine Microalgae *Tetraselmis suecica* Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Analysis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5 (3) : 17-23.
- Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. 2001. *Modul Petunjuk Teknis Kultur Pakan Alami di Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung*. Direktorat Pengembangan Sumber Daya Kelautan dan Perikanan. Lampung.
- Balai Budidaya Laut. 2002. *Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Direktorat Jendral Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan. 9: 7-8.
- Bligh, E.G., dan Dryer, W.J. 1959. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can. J. Biochem. Pysiol.*, 37:911-917.
- Borowitzka, L. J., Borowitzka, M. A. 1989. B-carotene (Provitamin A) production with algae. In Vandamme EJ (ed.). *Biotechnology of Vitamins, Pigments and Growth Factors*. Elsevier Applied Science. London. 15–26.
- Bougis, P. 1979. *Marine Plankton Ecology*. American Elsevier Publishing Company. New York.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel From Microalgae. *Biotechnology Advances*. Vol.25.
- Creswell, L. 2010. Phytoplankton Culture For Aquaculture Feed. *SRAC Publication*. Hal 1-16.
- Fachrullah, M. R. 2011. Laju Pertumbuhan Mikroalga Penghasil Biofuel Jenis *Chlorella* sp. dan *Nannochloropsis* sp. yang Dikultivasi Menggunakan Air Limbah Hasil Penambangan Timah di Pulau Bangka. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Febtisuhasri, A. 2016. Kepadatan Sel dan Kadar Lipid Mikroalga *Chlorella* sp. pada Kultur Media Alternatif Kotoran Ternak. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Ghezlbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R., dan Agh, N. 2008. Effect of Different Salinities and Luminance on Growth Rate of the Green Microalgae *Tetraselmis chuii*. *Research Journal of Biological Sciences*. 3 (3): 311-314.
- Gouveia, L. 2011. *Microalgae as a Feedstock for Biofuels*. Springer brief in microbiology.
- Graneli, E., dan Salomon, P.S. 2010. Factor Influenceing Allelopathy And Toxicity in *Prymnesium parvum*. *Journal of The American Water Resources Association*. 46,1.
- Guerrero, M. G. 2010. *Bioethanol from Microalgae*. Instituto Bioquímica Vegetal Fotosintética. Sevilla. 26 pp.
- Gunawan. 2010. Keragaman Dan Karakterisasi Mikroalga Dari Sumber Air Panas Yang Berpotensi Sebagai Sumber Biodiesel. *Tesis*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. IPB. Bogor.
- Hadi, K.B. 2012. Kandungan DHA, EPA dan AA dalam Mikroalga Laut dari Spesies *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureus* dan *Porphyridium cruentum* yang Dikultivasi Secara Heterotrof. *Skripsi*. Universitas Indonesia.
- Hadiyanto dan Azim, M. 2012. *Mikroalga: Sumber Pangan Dan Energi Masa Depan*. Edisi Pertama. UPT UNDIP Press: Semarang.
- Hadiyanto dan Widayat. 2014. Biofiksasi CO<sub>2</sub> oleh Mikroalga *Chlamydomonas* sp. dalam Photobioreaktor Tubular. *Reaktor*. 15:37-42.
- Hickling, C. F. 1971. *Fish Culture*. Faber and Faber. London.

- Hossain, A. B. M., Salleh, A., Boyce, A. N., Chowdhury, P., dan Naquiuddin, M. 2008. Biodiesel Fuel Production from Algae as Renewable Energy. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 4 (3): 250-254.
- Inthe, I. C. E. 2012. Efek Pencahayaan Terhadap Produksi Biomassa *Nannochloropsis* sp. Pada Reaktor Pelat Datar. *Skripsi*. Universitas Indonesia.
- Isnadina, D. R. M., dan Hermana, J. 2013. *Pengaruh Konsentrasi Bahan Organik, Salinitas, dan pH Terhadap Laju Pertumbuhan Alga*. Modul. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton; Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 106 hlm.
- Jawa, I. U., Ridlo, A., dan Djunaedi, A. 2014. Kandungan Total Lipid *Chlorella vulgaris* yang Dikultur dalam Media yang Diinjeksi CO<sub>2</sub>. *Journal of Marine Research*. 3:578-585.
- Jeon, M.W., Ali, M.B., Hahn, E.J., Paek, K.Y. 2005. Effect of photon flux density on the morphology, photosynthesis, and growth of a CAM orchid, *Doritaenopsis* during postmicropropagation acclimatization. *Plant Growth Regul*. 45,139–147.
- Kasrina, Irawati, S., dan Jayanti, W. E. 2012. Ragam Jenis Mikroalga dari Air Rawa Keluraan Bentiring Permai Kota Bengkulu sebagai Alternatif Sumber Belajar Biologi SMA. *Jurnal Exacta*. 10 (1): 36-44.
- Kawaroe, M. 2007. The Prospect of Marine Microalgae as Biofuel (Oilgae) for Future Alternative of Energy Source. *In Proceeding Indonesian Aquaculture*. Bali, Indonesia.
- Kawaroe, M., Partono, T., Sunnudin, A., Sari, D.W., dan Agustine, D. 2010. *Mikroalga : Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar untuk Biofuel*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.



- Khatoon, H., Rahman, N.A., Banerjee, S., Harun, N., Suleiman, S.S., Zakaria, N.H., Lananan, F., Hamid, S.H.A., dan Endut, A. 2014. Effect of Different Salinities and pH on The Growth and Proximate Composition of *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. Isolated From South China Sea Cultured Under Control and Natural Condition. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 95 (A): 11-18.
- Krichnavaruk, S., Worapanne, Sorawit, dan Prasert. 2004. Optimal Growth Conditions and The Cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in Airlift Photobioreactor. *Chemical Engineering*. 105 : 91-98.
- Lannan, E. 2011. Scale-up of Algae Growth System to Cleanse Wastewater and Produce Oils for Biodiesel Production. *Master Thesis*. Rochester Institute of Technology. Rochester, New York.
- Lavens, P., dan Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*. No. 361. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Leliaert, F., Smith, D.R., Moreau, H., Herron, M.D., Verbruggen, H., Delwiche C.F., dan Clerk, O.D. 2012. Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 31: 1-46.
- Liang, Y., Beardall, J., dan Heraud, P. 2006. Changes in Growth, Chlorophyll Fluorescence and Fatty Acid Composition with Culture Age in Batch Cultures of *Phaeodactylum tricomutum* and *Chaetoceros muelleri* (Bacillariophyceae). *Bot Mar*. 49: 165-173.
- Liu, N., Wang, Y., Zhao, Q., Zhang, Q., dan Zhao, M. 2011. Fast Synthesis of 1,3-DAG by Lecitase Ultra Catalyzed Esterification in Solvent-Free System. *European Journal Lipid Science Technology*. 113: 973-979.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., dan Clark, D.P. 2011. *Brock Biology of Microorganisms*. 13th ed. San Francisco (USA): Pearson Education Inc.

- Mahardani, D. 2017. Pengaruh Salinitas Berbeda Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Karotenoid *Dunaliella* sp. Dalam Media Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Manullang, C., Widianingsih, dan Endrawati, H. 2012. Densitas dan Kandungan Total Lipid Mikroalga *Spirulina platensis* Yang Dikultur pada Tingkatan Perbedaan Fotoperoid. *Journal of Marine Research*. 1 (1):24-28.
- Margaret, P., Hinnerk, K., dan Pohl, P. 1984. Biomass Production, Total Protein, Chlorophylls, Lipids and Fatty Acids of Freshwater Green and Blue-Green Algae Under Different Nitrogen Regimes. *Phytochemistry*. 23(2): 207-216.
- Nattasya, G. Y. 2009. Pengaruh Sedimen Berminyak Terhadap Pertumbuhan Mikroalga *Isochrysis* sp. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*. Vol. 2 : 76-83.
- Ningsih, D. R., Widiastuti, E. L., Murwani, S., dan Tugiyono. 2017. Kadar Lipid Tiga Jenis Mikroalga pada Salinitas yang Berbeda. *Jurnal Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*. 4(1): 23-29.
- Nur, M. M. A. 2014. Efek Bikarbonat, Besi, dan Garam terhadap Produktivitas Lipid *Chlorella* sp. yang Diekstrak dengan Metode *Osmotic Shock*. *Eksergi*. 11 (02): 19-24.
- Nurmalitasari, E., Ridio, A., dan Sunaryo. 2014. Injeksi Karbon Dioksida (CO<sub>2</sub>) Pada Media Pemeliharaan Terhadap Biomassa dan Kandungan Total Lipid. *Journal of Marine Research*. Vol. 3, No. 3, Hal. 388-394.
- Odum. 1993. *Fundamental of Ecology*. W. B. Souders Company. Toronto. 577 pp.
- Page, D. S., dan Soendoro, R. 1989. *Prinsip-prinsip Biokimia*. UI Press. Jakarta.

- Panggabean, L.M.G. 2011. Fiksasi Karbondioksida pada Mikroalga *Chlorella* sp., Strain Ancol dan *Nannochloropsis oculata*. *Oceanologi dan Limnologi, Indonesia*. 37(2):309-321. Indonesia.
- Pratama, A. I. 2016. Kajian Produksi Biomassa *Tetraselmis* sp. pada Media Limbah Cair Industri Karet Remah yang Diperkaya Nitrogen dan Diatur Salinitasnya. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Pratoomyot, J., Srivilas, P., dan Noiraksar, T. 2005. Fatty Acids Composition of 10 Microalgal Species. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26 (6): 1179-1187.
- Prihantini, N. B., Putri, B., dan Yuniati, R. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. Dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) Dengan Variasi pH Awal. *Makara Sains*. 9 (1) : 1-6. Fakultas MIPA. Universitas Indonesia. Depok.
- Pujiono, A. E. 2012. Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* pada Medium Air Laut dengan Intensitas Cahaya, Lama Penyinaran dan Jumlah Inokulan yang Berbeda pada Skala Laboratorium. *Skripsi*. Universitas Jember. Jember.
- Putra, H. A. 2013. Laju Pertumbuhan Spesifik, Bobot Biomassa, Dan Doubling Time Mikroalga (*Nannochloropsis* sp.) Pada Fotobioreaktor Dan Open Raceway Pond Skala Pilot Plant. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Quinn, J. 2011. Microalgae To Biofuels Evaluation Through Experimentally Validated Models. Fort Collins, Colorado: Colorado State University. *In Partial Fulfillment Of The Requirements For the Degree of Doctor of Philosophy*.
- Rachmaniah, O., Setyarini, R.D., dan Maulida, L., 2010. Pemilihan Metode Ekstraksi Minyak alga dari *Chlorella* sp. dan Prediksinya sebagai Biodiesel. *Seminar Teknik Kimia Soehadi Reksowardojo*.
- Rodjaroen, S., Juntawong, N., Mahakhant, A., dan Miyamoto, K. 2007. High biomass production and starch accumulation in native green algal strains and cyanobacterial strains of Thailand. *Kasetsart J (Nat Sci)* 41: 570-575.

- Romimohtarto, K., dan Juwana, S. 2004. *Meroplankton Laut : Larva Hewan Laut yang Menjadi Plankton*. Penerbit Djambatan, Jakarta : 215 hal.
- Rosita, S. 2003. Biosintesis Asam Lemak pada Tanaman.  
<http://library.usu.ac.id/download/fp/bdp-rosita.pdf>. Diakses pada tanggal 26 Juli 2019 Pukul 24.03 WIB.
- Rostini, I. 2007. *Kultur Fitoplankton (Chlorella sp. dan Tetraselmis chuii) Pada Skala Laboratorium*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjajaran. Jatinangor.
- Ru'yatin, Rohyani, I. S., dan Ali, L. 2015. Pertumbuhan *Tetraselmis* dan *Nannochloropsis* pada Skala Laboratorium. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1 (2): 296-299.
- Salisbury, F. B., dan Ross, C. W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 1*. ITB. Bandung.
- Sani, R.N., Fithri C.N., Ria D.A., dan Jaya M.M. 2014. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(2):121-126.
- Sari, I. P., dan Manan, A. 2012. Pola Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* pada Skala Laboratorium, Intermediet, dan Masal. *Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4 (2) : 123-127.
- Schenk, P. M., Skye, R., Hall, R. T., Stephens, E., Max, U. C., Mussgnug, J. H., Posten, C., Kruse, O., dan Hankamer, B. 2008. Second Generation Biofuel: High Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. *Journal Bioenergy*. 1: 20-43.
- Sharma, K. K., Schuhmann, H., dan Schenk, P. M. 2012. High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production. *Journal Energies*. 5: 1532-1553.
- Silvia, M. 2016. Studi Kultivasi dan Ekstraksi Lipid dari Mikroalga *Batryococcus braunii* dengan Metode Maserasi, Sokhletasi, Perkolasi, Osmotik dan Autoklaf. *Laporan Akhir*. Politeknik Negeri Sriwijaya.

- Sutherland, D.L., Clive, H.W., Matthew, H.T., Paul, A.B., dan Rupert, J.C. 2015. Enhancing mikroalgal photosynthesis and productivity in wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*. 184, 222–229.
- Taw, N. 1990. *Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murnian Massal Mikroalga*. Proyek Pengembangan Udang. United Nations Development Programme. Food and Agriculture Organization of the United.
- Thenu, N. W. 2018. Penggunaan Morfometrik Fitoplankton (*Tetraselmis* sp.) Sebagai Biomarker Pencemaran Logam Timbel (Pb). *Skripsi*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Tjahjo, L., Erawati dan Hanung. 2002. *Biologi Fitoplankton dalam Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Balai Budidaya Laut Lampung Dirjen Perikanan Budidaya DKP. Lampung.
- Utami, N. M., Yuniarti, M. S., dan Kiki, H. 2012. Pertumbuhan *Chlorella* sp. yang dikultur pada Perioditas Cahaya yang Berbeda. *Perikanan dan Kelautan*. 3 (3) : 237-244.
- Utomo, N. B. P., Winarti, dan Erlina, A. 2005. Pertumbuhan *Spirulina plantensis* yang dikultur dengan Pupuk Inorganik (Urea TSP dan ZA) dan Kotoran Ayam. *Akuakultur Indonesia*. 4 (1): 41-48.
- Wei, Y., Houten, R. T. V., Borger, A. R., Eikelboom, D. H., dan Fana, Y. 2003. Minimization of Excess Sludge Production for Biological Wastewater Treatment. *Water Research*. 37: 4453-4467.
- Widjaja, A., Chien, C.C., dan Ju, Y.H. 2009. Study of increasing lipid production from freshwater microalgae *Chlorella vulgaris*. *J. Taiwan Inst. Chem. Engineers*. Vol. 40: 13-20.

Yuwono, T. 2005. *Biologi Molekuler*. Erlangga. Jakarta.

Zysk, A. M. 2007. Needle Based Reflection Refratometry of Scattering Sample Using Coherence Gate Detection. *Optics Express*. USA: university of Illinois at Urbana Champaign.