



LAJU PERTUMBUHAN SPESIFIK DAN TOTAL LIPID *CHAETOCEROS CALCITRANS* YANG DI INJEKSI DENGAN KONSENTRASI CO₂ YANG BERBEDA

Gilbert Turnip, Aryok Nomleni, Lutfi Adin

**Program Studi Pengolahan Hasil Laut/Perikanan Fakultas Vokasi Universitas
Pertahanan RI**

(Naskah diterima: 1 September 2021, disetujui: 29 Oktober 2021)

Abstract

The microalgae Chaetoceros calcitrans can photosynthesize and grow rapidly. Carbon dioxide (CO₂) is very important role in the process of photosynthesis. CO₂ injection is required for use in photosynthesis, so it is expected to increase the specific growth rate and reduce greenhouse gases. This research was conducted using experimental laboratory methods, using 4 treatments, namely CO₂ injection with concentrations of 10%, 20%, 30%, 40% and without CO₂ injection (control) with 4 times variations. The highest specific growth rate occurred on the second day, namely the 10%, 20%, 30%, 40% and control treatments, respectively 0.90, 0.81, 0.78, 0.86 and 0.81 with a doubling time of 0, 77, 0.86, 0.89, 0.81 and 0.85. The highest total lipid obtained with the addition of 10% CO₂ was 52.69 (dry weight) while the lowest was the control treatment (ambient air) which was 23.37 (% dry weight), although the lipid results obtained were not directly proportional to the CO₂ concentration and based on the ANOVA test followed by the 5% BNT test did not show a significant difference ($p < 0.05$).

Keywords: Growth rate, Chaetoceros Calcitrans, CO₂. concentration

Abstrak

Mikroalga *Chaetoceros calcitrans* dapat berfotosintesis dan mampu tumbuh dengan cepat. Karbon dioksida (CO₂) sangat penting peranannya dalam proses fotosintesis. Injeksi CO₂ diperlukan untuk digunakan dalam fotosintesis, sehingga diharapkan dapat meningkatkan laju pertumbuhan spesifik dan mengurangi Gas Rumah Kaca. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental laboratoris, menggunakan 4 perlakuan yaitu injeksi CO₂ dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan tanpa injeksi CO₂ (kontrol) dengan 4 kali pengulangan. Laju pertumbuhan spesifik tertinggi terjadi pada hari kedua yaitu pada perlakuan 10%, 20%, 30%, 40% dan kontrol berturut-turut yaitu 0.90, 0.81, 0.78, 0.86 dan 0.81 dengan doubling time 0.77, 0.86, 0.89, 0.81 dan 0.85. Total *lipid* tertinggi didapatkan dengan penambahan CO₂ 10% yaitu 52,69 (berat kering) sedangkan yang terendah adalah pada perlakuan kontrol (udara ambient) yaitu 23,37 (%berat kering), meskipun hasil *lipid* yang didapat tidak berbanding lurus dengan konsentrasi CO₂ dan berdasarkan uji anova yang dilanjutkan dengan uji BNT 5% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Kata Kunci: Laju Pertumbuhan, Chaetoceros Calcitrans, Konsentrasu CO₂

I. PENDAHULUAN

Mikroalga tergolong dalam organisme yang bersifat autotrof dan memiliki kemampuan melakukan konversi karbondioksida yang berpotensi menjadi biofuel, makanan, serta bioaktif yang bernilai tinggi dengan bantuan sinar matahari (Lorenz and Cysewski, 2003; Metzger and Largeteau, 2005; Walter *et al.*, 2005; Spolaore *et al.*, 2016). Alga secara luas diklasifikasikan sebagai mikroalga atau makroalga (Davis *et al.*, 2011; Mohsenpour *et al.*, 2021). Alga dapat tumbuh di air tawar, air laut dan air payau dan dapat berupa autotrofik atau heterotrofik atau mixotrofik (Choudhary *et al.*, 2020). Mikroalga mengandung protein, lemak, asam lemak, pigmen dan vitamin. Kandungan lemak (lipid) dan asam lemak (fatty acid) yang ada dalam mikroalga merupakan sumber energi. Kandungan ini dihasilkan dari proses fotosintesis berupa hidrokarbon (Prince dan Haroon, 2005). Hal ini juga dapat membantu pengendalian masalah Gas Rumah Kaca yang semakin meningkat di atmosfer, yang menjadi tantangan besar bagi dunia yang pro lingkungan dan berkelanjutan (Zeng *et al.*, 2011).

Keuntungan utama alga adalah tingkat pertumbuhan yang lebih tinggi dengan konsumsi air yang lebih sedikit, mitigasi CO₂

dengan efisiensi tinggi, dan hemat biaya budi daya. Selain itu, menghasilkan lebih banyak minyak dengan pemanfaatan lebih sedikit lahan untuk budidaya dan panen. Semua manfaat yang disebutkan ini membuktikan bahwa ganggang adalah bahan baku biofuel generasi ketiga yang terlihat menjanjikan sumber daya untuk produksi biofuel. Adapun tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi karbondioksida (CO₂) yang berbeda terhadap Laju pertumbuhan spesifik dan total lipid mikroalga *Chaetoceros calcitrans*.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan biota uji Mikroalga *Chaetoceros calcitrans* yang diperoleh dari Balai Produksi Induk Udang Unggul dan Kekerangan Karangasem, Bali. Dipelihara dalam ruang kultur, dengan kepadatan sel awal 1x10⁶ sel/mL, kemudian diinkubasi pada suhu berkisar 18-20°C dan pencahayaan 4500 lux selama 24 jam/hari. Wadah kultur pertama berisi air laut, bibit *Chaetoceros calcitrans* media walne dan tidak diberikan karbondioksida dinamakan kontrol. Wadah kultur lainnya berisi air laut, bibit *Chaetoceros calcitrans* media walne dan diberikan aerasi karbondioksida masing-masing 0,03% (udara), 10%,20%,30% dan 40%. Pemberian CO₂ yang

dengan konsentrasi yang berbeda bertujuan untuk memastikan bahwa sumber CO₂ hanya berasal dari yang diberikan. Percobaan ini dilakukan sebanyak 4 kali ulangan kemudian dilakukan analisa data menggunakan ANOVA menggunakan SPSS 16.0 dan dilanjutkan dengan Uji BNT.

Analisa Data

Laju Pertumbuhan Spesifik

Konsentrasi biomassa digunakan untuk menentukan laju pertumbuhan spesifik (μ, d^{-1}) dan produktivitas rata-rata biomassa ($P, g\ dw\ L^{-1}\ d^{-1}$). Tingkat pertumbuhan spesifik ditentukan menurut (Feng *et al.*, 2012).

$$\pi = \frac{\ln x_f - \ln x_i}{t_f - t_i}$$

Dimana X_f dan X_i sesuai dengan konsentrasi biomassa (dalam $g\ dw\ L^{-1}\ d^{-1}$) dikali t_f dan t_i (dalam hari), akhir dan awal fase pertumbuhan eksponensial masing-masing. Rata-rata produktivitas biomassa dihitung terkait dengan variasi konsentrasi biomassa dalam waktu kultur, seperti yang ditunjukkan pada persamaan berikut: (Jacob-lopes *et al.*, 2009).

$$\mu = \frac{x_f - x_i}{t_f - t_i}$$

di mana x_f dan x_i sesuai dengan konsentrasi biomassa (dalam $g\ dw\ L^{-1}$) di kali

t_f dan t_i (dalam hari), akhir dan awal waktu kultivasi, masing-masing.

Total Lipid

Analisis lipid pada *Chaetoceros cal-citrans* menggunakan modifikasi metode ekstraksi lipid Woertz (2007) sebagai berikut:

- Biomassa kering sebanyak 0,16gr dilarutkan dalam pelarut CHCl₃ dan CH₃COH sebanyak 8 ml dengan perbandingan pelarut (1:3).
- Sampel dipanaskan dalam beaker glass dan distirer agar larut pada suhu 30⁰C selama 30 menit.
- Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit.
- Hasil setrifugasi berupa cairan bening ke-cokelatan dituang ke dalam Erlenmeyer, sedangkan endapannya ditambah pelarut CHCl₃ dan CH₃COH dengan perbandingan (1:2) sebanyak 8 ml.
- Hasil sentrifugasi berupa cairan coklat die-vaporasi hingga mendapatkan ekstrak lipid-nya.
- Hasil ekstrak ditimbang dengan cara dimasukkan ke dalam botol vial yang telah ditimbang sebelumnya.
- Hasil ekstrak pertama dilarutkan kembali dengan pelarut CHCl₃ dan CH₃COH seba-

nyak 0,5 ml dengan perbandingan (1:2) dari 1 ml.

- Ekstrak disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12000 rpm selama 10 menit dan hasil supernatant beningnya diambil untuk dievaporasi kembali.
- Hasil evaporasi berupa ekstrak akhir lipid kemudian ditimbang. Nilai lipid dari hasil pengurangan berat akhir ekstrak dikurangi berat awal botol vial.

Selesai melakukan ekstraksi dilakukan perhitungan rendeman kadar minyak dengan rumus (Lee, 2009) sebagai berikut:

$$\% \text{Kadar Lemak} = \frac{a - b}{c} \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

Keterangan:

a = berat botol + minyak (g)

b = berat botol kosong (g)

c = berat sampel (g) (AOAC, 1999)

III. HASIL PENELITIAN

Laju Pertumbuhan Spesifik

Perhitungan laju pertumbuhan spesifik dilakukan pada saat fase eksponensial, karena

merupakan fase pertumbuhan mikroalga (Moheimani *et al.* 2013). Menurut Yang *et al.* (2016), serta Morais dan Costa (2007), variasi waktu penggandaan disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya perbedaan kondisi saat kultivasi, pH, faktor fisik, maupun kandungan CO₂ yang terdapat pada media.

Berdasarkan hasil perhitungan laju pertumbuhan spesifik pada (Tabel 1) pada penelitian ini fase adaptasi terjadi secara singkat. Hal ini ditunjukkan dengan laju pertumbuhan yang cukup tinggi sejak hari pertama. Laju pertumbuhan spesifik tertinggi terjadi pada hari kedua yaitu pada perlakuan 10%, 20%, 30%, 40% dan kontrol berturut-turut yaitu 0.90, 0,81, 0,78, 0,86 dan 0,81 dengan doubling time 0.77, 0,86, 0,89, 0,81 dan 0,85. Fase adaptasi menjadi fase yang penting karena pada fase ini mikroalga menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru (Chiu *et al.*, 2008)

Tabel 1. Laju Pertumbuhan Spesifik (μ) dan Doubling Time (DT)

	10%		20%		30%		40%		Kontrol	
	SGR	DT	SGR	DT	SGR	DT	SGR	DT	SGR	DT
μ_1	0.64	1.08	0.64	4.67	0.73	0.95	0.60	1.15	0.66	1.06
μ_2	0.90	0.77	0.81	0.86	0.78	0.89	0.86	0.81	0.81	0.85
μ_3	0.40	1.71	0.31	2.22	0.28	2.49	0.12	5.57	0.48	1.46
μ_4	0.18	3.82	0.19	3.58	0.17	4.12	0.18	3.85	0.10	6.63
μ_5	0.20	3.41	0.22	3.13	0.04	19.15	0.14	4.96	0.16	4.20
μ_6	0.09	8.09	0.09	7.50	0.13	5.33	0.13	5.26	0.08	8.29
μ_7	0.07	10.20	0.10	7.13	0.07	10.42	0.03	24.03	0.11	6.18
μ_8	-0.08	-8.80	-0.10	-7.16	-0.05	-15.31	-0.22	-3.09	-0.08	-8.35

Laju pertumbuhan yang cukup tinggi pada awal kultur dimungkinkan pada fase eksponensial mikroalga lebih banyak mensintesis protein yang digunakan untuk pembelahan sel. Bellou dan Aggelis (2013) menjelaskan bahwa saat kualitas air menunjang untuk pertumbuhan mikroalga serta masih tersedia nitrogen dalam media, mikroalga akan mensintesis protein yang digunakan untuk proses pembelahan sel. Namun saat nitrogen dalam media kultur sudah habis mikroalga lebih banyak mengakumulasi hasil fotosintesis dalam bentuk lipid.

Total Lipid

Salah satu penyebab tingginya *lipid* adalah jumlah biomassa yang rendah, sehingga mikroalga menyerap cahaya lebih banyak dan mengakumulasi *lipid* (Zhu *et al.* 2016). Namun hal ini berbeda dengan pernyataan Kawaroe *et al.* (2015b) yang menyatakan bahwa kandungan biomassa yang tinggi, tidak selalu menghasilkan kandungan *lipid* yang tinggi.

Mikroalga tidak memproduksi *lipid* dalam jumlah besar pada fase lag, karena pada 3-4 hari pertama mikroalga masih aktif membelah diri, sehingga energi dan karbon disimpan dalam bentuk protein (Jiang *et al.* 2012). Semakin menurunnya nutrisi pada fase stationer menyebabkan pembelahan sel berkurang secara bertahap dan sel mulai menyimpan pro-

duknya dalam bentuk *lipid* (Widianingsih *et al.* 2011). Menurut Kawaroe *et al.* (2010) kandungan *lipid* mikroalga biasanya terdapat dalam bentuk gliserol dan asam lemak (Tabel 2).

Tabel 2. Analisis ANOVA Total Lipid

Chaetoceros calcitrans

Perlakuan	Rerata	Std	Notasi
10%	52,69	0,57	e
20%	43,11	0,74	d
30%	36,73	0,69	c
40%	25,88	0,67	b
Kontrol	23,37	0,70	a

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan total lipid *Chaetoceros calcitrans* (Tabel 2) yaitu 52,69 (10% CO₂), 43,11 (20% CO₂), 36,73 (30% CO₂), 25,88 (40% CO₂), dan 23,37 (Kontrol). Total *lipid* tertinggi didapatkan dengan penambahan CO₂ 10% yaitu 52,69 (berat kering) sedangkan yang terendah adalah pada perlakuan kontrol (udara ambient) yaitu 23,37 (%berat kering), meskipun hasil *lipid* yang didapat tidak berbanding lurus dengan konsentrasi CO₂ dan berdasarkan uji anova yang dilanjutkan dengan uji BNT 5% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Pernet *et al.* (2003) melaporkan bahwa peningkatan total *lipid* diatom *C. muelleri* terkait dengan penipisan silikon. Sedangkan, akumulasi lemak dari *Chaetoceros* li. *Wighamii* diatom biasanya dipicu oleh kekurangan nutrisi (Araújo *et al.* 2005). Hal ini, diduga

menjadi penyebab hasil pebelitian pada perlakuan 30% dan 40% konsentrasi CO₂ menghasilkan kandungan lipid yang lebih sedikit karena nutrisi yang masih tersedia sehingga lebih banyak mengakumulasi karbohidrat dan protein. Schenk *et al.*, (2008) juga menyatakan bahwa mikroalga di alam mengakumulasi *lipid* saat terjadi tekanan pada lingkungan. Dalam kondisi tidak optimal tersebut mikroalga tetap melakukan proses fotosintesis dengan bantuan CO₂ dan mengakumulasi energi dalam bentuk karbohidrat dan *lipid*. Penggunaan karbondioksida pada kultur mikroalga juga dilakukan oleh Olaizola *et al.*, (2004) dijelaskan bahwa bahwa mikroalga dapat menyerap karbondioksida pada kisaran pH 4,5–10,5 dengan konsentrasi karbondioksida yang berbeda.

Selanjutnya Boyd (1982) juga mengatakan pada pH 4,5- 6,5 reaksi yang terbentuk antara karbondioksida dan air akan menghasilkan asam karbonat. Sedangkan pada pH 6,5-10,5 reaksi karbondioksida dan air akan menghasilkan bikarbonat. Pembentukan senyawa yang berbeda inilah yang dimungkinkan berpengaruh terhadap penyerapan karbondioksida pada *N. oculata*. Asam karbonat dan bikarbonat selanjutnya akan digunakan sebagai sumber karbon anorganik dalam proses fotosinte-

sis mikroalga. Pada proses fotosintesis mikroalga, sumber karbon anorganik yang berasal dari senyawa asam karbonat dan bikarbonat dapat dikonversi menjadi energi. Namun jumlah asam karbonat yang berlebihan menyebabkan air bersifat asam. Kondisi pH selama kultur mempengaruhi penyerapan karbondioksida pada *N. oculata* karena pada kondisi tidak optimal mikroalga lebih banyak menggunakan energi sebagai upaya mempertahankan diri dan mengakumulasinya dalam bentuk lipid. Mikroalga dapat memanfaatkan karbon sebagai proses fotosintesis dalam bentuk asam karbonat, bikarbonat, karbonat atau CO₂ bebas.

IV. KESIMPULAN

Konsentrasi CO₂ yang berbeda mempengaruhi laju pertumbuhan spesifik mikroalga *Chaetoceros calcitrans* dan melakukan fase adaptasi yang sangat singkat dilihat dari laju pertumbuhan pada hari pertama yang cukup tinggi. Laju biofiksasi/penyerapan oleh mikroalga tertinggi pada injeksi CO₂ dengan konsentrasi 30%.

DAFTAR PUSTAKA

Bellou, S. and G. Aggelis. 2013. *Biochemical activities in Chlorella sp. and Nannochloropsis salina during lipid and sugar synthesis in a lab-scale open*

- pond simulating reactor.* J. Biotechnol. 1:1-12
- Boyd, C. E. 1982. **Water Quality Management for Pond Fish Culture Development in Aquaculture and Fish Science.** Vol. 9 Elsevier Scientific Pub. Comp.
- Christi, Yusuf. 2007. **Biodiesel from Microalgae.** iBiotechnology Advances. Vol. 25, P. 294 – 306.
- Chiu, S.-Y., Kao, C.-Y., Chen, C.-H., Kuan, T.-C., Ong, S.-C., Lin, C.-S., 2008. **Reduction of CO₂ by a high-density culture of Chlorella sp. in a semicontinuous photobioreactor.** Bioresour. Technol. 99 (9), 3389–3396.
- Choudhary, P., Assemany, P.P., Naaz, F., Bhattacharya, A., Castro, J. de S., Couto, E. de A. do C., Calijuri, M.L., Pant, K.K., Malik, A., 2020. A review of biochemical and thermochemical energy conversion routes of wastewater grown algal biomass. Sci. Total Environ. 726, 137961. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137961>.
- Davis, R., Aden, A., Pienkos, P.T., 2011. Techno-economic analysis of autotrophic microalgae for fuel production. Appl. Energy 88, 3524–3531. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.04.018>
- de Morais, M.G., Costa, J.A.V., 2007. **Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide.** Energy Convers. Manage. 48 (7), 2169–2173.
- Feng, X., Yang, R., Zheng, X., & Zhang, F. (2012). *Identification of a novel nuclear-localized adenylate kinase 6 from Arabidopsis thaliana as an essential stem growth factor.* Plant Physiology and Biochemistry, 61, 180–186. doi:10.1016/j.plaphy.2012.10.002
- Hirata, S., Hayashitani, M., Taya, M., Tone, S. 1996. **Carbon dioxide fixation in batch culture of Chlorella sp. using a photobioreactor with a sunlight-collection device.** Journal of fermentation and bioengineering. 81(5), 470-472.
- Jacob-Lopes, E., Scoparo, C.H.G., Lacerda, L.M.C.F., Franco, T.T., 2009. Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. Chem. Eng. Process. 48, 306-310.
- Jiang Y, Yoshida T, Quigg A. 2012. **Photosynthetic performance, lipid production and biomass composition in response to nitrogen limitation in marine microalgae.** Plant Physiol Biochem. 54:70-77. doi.org/10.1016/j.plaphy. 2012.02.012.
- Kawaroe M., Prartono T., Sunuddin A., Wulan Sari D., dan Augustine D. 2010. **Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar.** Bogor: IPB Press.
- Kawaroe M, Hwangbo J, Augustine D, Putra HA. 2015a. **Comparison of density specific growth rate, biomass weight,**

- and doubling time of microalgae Nannochloropsis sp. cultivated in open raceway pond and photobioreactor.* AACCL Bioflux. 8(5) :740-750.
- Lee, J. Y. 2009. *Comparison of Several Methods for Effective Lipid Extraction from Microalgae.* Bioresource Technology 101: S75-S77.
- Lorenz, R.T and G.R. Cysewski. 2003. *Commercial Potential for Haematococcus Microalga as A Natural of Astaxanthin.* Trends Biotechnol: 18:160 – 167
- Metzger, P and C. Largeau. 2005. *Botryococcus Braunii: A Rich Source for Hydrocarbons and Related Ether Lipids.* Appl Microbiol Biotechnol. 66: 486 – 496
- Moheimani NR, Borowitzka MA, Andreas I, Sing SF. 2013. *Growth of algae and their composition.* J Appl Phycol. 5: 265-284. doi: 10.1007/978-94-007-5479-9_16.
- Moheimani N.R, Cord-Ruwisch R, Raes E, Borowitzka M.A. 2013. *Non-destructive oil extraction from Botryococcus braunii (Chlorophyta).* J Appl Phycol 2013;25:1653–61. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0012-9>.
- Mohsenpour, S.F., Hennige, S., Willoughby, N., Adeyoye, A., Gutierrez, T., 2021. Integrating micro-algae into wastewater treatment: a review. Sci. Total Environ. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142168>.
- Olaizola, M., T. Bridges, S. Flores, L. Griswold, J. Morency, T. Nakamura. 2004. *Mikroalgae Removal of CO2 from Flue Gas: CO Capture from a Coal Combuster.* Biotech. Bioproc. Eng 8: 360-367.s
- Pernet F, Tremblay R, Demers D, Roussy M. 2003. *Variation of lipid class and fatty acid composition of Chaetoceros muelleri and Isochrysis sp. Grown in a semicontinuous system.* Aquaculture 221:393-406.
- Prince, R. C dan S. K Haroon. 2005. *The Photobiological Production of Hydrogen Potential Efficiency and Effectiveness as A Renewable Fuel.* Crit. Rev. Microbiol 31: 1931
- Schenk, P.M, R. Skye., R.T. Hall, E. Stephens, U.C. Max, J.H. Mussgnug, C. Posten, O. Kruse, and B. Hankamer. 2008. *Second Generation Biofuel: High Efficiency Microalgae for Biodiesel Production.* J. Bioenergi, 1: 20- 43.
- Spolaore, P., C. Joannis Cassan., E. Duran dan A. Isambert. 2006. *Commercial Applications of Microalgae.* J. Biosci Bioeng. 101: 87-96
- Walter, TL., S. Purto., D. K. Becker., dan C. Collet. 2005. *Microalgae as Bioreactor.* Plant Cell Rep.,24:629–641.
- Widianingsih, Hartati R, Hendrawati A, Yudirti E, Iriani VR. 2011. *Pengaruh pengurangan konsentrasi nutrisi fosfat dan nitrat terhadap kandungan lipid total Nannochloropsis oculata.* IJMS. 16(1):24-29.doi.org/10.14710/ik.ijms.16.1.24-29

- Zeng, X., Danquah, M. K., Chen, X. D., Lu, Y., 2011. *Microalgae bioengineering: from CO₂ fixation to biofuel production*. Renewable Sustainable Energy Rev. 15 (6),3252–3260.
- Zhu LD, Li ZH, Guo DB, Huang F, Nugroho Y, Xia K. 2016. *Cultivation of Chlorella vulgaris with livestock waste compost for lipid production*. Bioresource Technol. 223:296-300. doi.org/10.1016/j.biortech.v2016.09.094.