



KANDUNGAN TOTAL LIPID *Chlorella vulgaris* YANG DIKULTUR DALAM MEDIA YANG DIINJEKSI CO₂

Ivend Umbu Jawa^{*)}, Ali Ridlo, Ali Djunaedi

*Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas
Diponegoro Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698*

Email : Journalmarineresearch@gmail.com

Abstrak

Chlorella vulgaris biasa digunakan sebagai pakan alami dalam bidang budidaya. *C. vulgaris* sebagai produsen primer memerlukan CO₂ dalam jumlah besar untuk proses fotosintesisnya, sehingga berpotensi besar mampu menyerap dan mensintesis unsur karbon tersebut. CO₂ merupakan variabel penting yang perlu diperhatikan dalam budidaya *C. vulgaris*. Permasalahan yang timbul adalah CO₂ tidak cukup disuplai melalui difusi sederhana dari udara karena konsentrasinya sangat rendah yaitu 0,03%. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan total lipid *C. vulgaris* yang dikultur dalam media yang diinjeksi CO₂. Perlakuan yang digunakan adalah injeksi CO₂ selama 2 menit, 4 menit, 6 menit, 8 menit dan tanpa injeksi CO₂ (kontrol). Kultur *C. vulgaris* menggunakan wadah erlenmeyer sebanyak 15 buah dengan volume 1 L yang diperkaya dengan pupuk Walne. Biota uji yang digunakan adalah *C. vulgaris* yang diperoleh dari koleksi kultur murni laboratorium mikroalga BBPBAP Jepara. Pengamatan yang diukur meliputi kandungan total lipid *C. vulgaris*, pH, CO₂, suhu, salinitas, alkalinitas dan DO. *C. vulgaris* dipanen hari ke - 9 pada fase eksponensial akhir, selanjutnya dilakukan penimbangan biomassa dan dianalisis total lipidnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa injeksi CO₂ berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar total lipid *C. vulgaris*. Kadar total lipid tertinggi dihasilkan perlakuan 6 menit sebesar 63,47 %.

Kata kunci : *C. vulgaris*, total lipid, injeksi CO₂.

Abstrack

Chlorella vulgaris is commonly used as a natural food in the field of aquaculture. *C. vulgaris* as primary producers require large amounts of CO₂ for photosynthesis process, thus potentially able to absorb and synthesize large carbon element. CO₂ is an important variable to consider in the cultivation of *C. vulgaris*. The problems that arise are not enough CO₂ is supplied via simple diffusion from the air because its concentration is very low at 0.03%. The purpose of this study was to determine the total lipid content of *C. vulgaris* were cultured in medium in the CO₂ injection. The treatments used are the injection of CO₂ for 2 minutes, 4 minutes, 6 minutes, 8 minutes and without CO₂ injection (control). Culture of *C. vulgaris* using as many as 15 pieces erlenmeyer container with a volume of 1 L were enriched with Walne fertilizer. Samples used were obtained from *C. vulgaris* pure laboratory culture collection of microalgae BBPBAP Jepara. Observations were measured include total lipid content of *C. vulgaris*, pH, CO₂, temperature, salinity, alkalinity and DO. *C. vulgaris* harvested day - 9 at the end of the exponential phase, further weighing of biomass and total lipid analyzed. The results showed that the CO₂ injection significantly ($p < 0.05$) of the total lipid content of *C. vulgaris*. Produced the highest levels of total lipid treatment 6 minutes by 63.47%.

Keywords: *C. vulgaris*, total lipids, CO₂ injection.

^{*)} Penulis penanggung jawab



Pendahuluan

Sumber daya laut yang ada di Indonesia sangat kaya dan beragam. Mikroalga merupakan salah satu sumber daya laut yang dimiliki Indonesia. Kondisi iklim di Indonesia sangat mendukung, dimana hampir sepanjang tahun matahari menyinari Indonesia. Energi matahari sangat dibutuhkan oleh mikroalga dalam proses fotosintesis. Hal ini juga yang memungkinkan untuk dikembangkannya industri pemanfaatan mikroalga di Indonesia.

Semua jenis mikroalga memiliki komposisi kimia sel yang terdiri dari protein, karbohidrat, lipid, dan asam nukleat. Mikroalga juga mengandung bahan – bahan organik seperti hormon, vitamin, mineral dan juga senyawa metabolit sekunder (Richmond, 2003). Mikroalga sudah lama dimanfaatkan sebagai sumber protein dalam budidaya larva udang ataupun ikan (Ikhsan *et al.*, 2006) dan sebagai suplemen makanan bagi manusia (Andersen, 1995). Mikroalga dalam bidang farmakologi dimanfaatkan sebagai antibakteri, antioksidan, dan antivirus (Chang *et al.*, 1993). Salah satu mikroalga yang banyak diteliti dan dikembangkan saat ini adalah *Chlorella vulgaris*.

C. vulgaris mempunyai kandungan esensial yang bermanfaat bagi manusia. Menurut Becker (1994), *C. vulgaris* mengandung 51-58 % protein, 12-26 % karbohidrat, 2-22 % lemak, dan 4-6 % asam nukleat. Selain itu *C. vulgaris* mempunyai efisiensi fotosintesis mencapai 8% dan kandungan klorofilnya mencapai 28,9 g/kg berat biomassa. Hal ini yang membuat *C. vulgaris* dapat memfiksasi CO₂ dalam jumlah yang sangat besar.

Banyaknya potensi yang dimiliki, perlu dilakukan studi lebih lanjut tentang pembudidayaan *C. vulgaris* agar didapatkan hasil yang lebih optimal. Variabel penting yang perlu diperhatikan dalam pembudidayaan *C. vulgaris* adalah kecukupan asupan CO₂. Permasalahan yang timbul adalah CO₂ tidak cukup disuplai melalui difusi sederhana dari udara karena konsentrasinya sangat rendah yaitu 0,03%, sehingga tidak dapat mendukung pertumbuhan yang optimal

dan produktifitas yang tinggi (Becker, 1994). Didalam proses fotosintesis, CO₂ diperlukan untuk pembentukan senyawa metabolit dan biomassa termasuk lipid. Ketersedian CO₂ dapat dilakukan dengan menggoyangkan media atau injeksi. Berdasarkan permasalahan yang ada, maka perlu adanya pengkajian kemampuan produksi total lipid *C. vulgaris* dengan injeksi CO₂. Penambahan CO₂ dalam media kultur diharapkan mampu meningkatkan produksi total lipid pada *C. vulgaris*.

Materi dan Metode

Materi Penelitian

Biota yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroalga jenis *C. vulgaris* yang diperoleh dari stok murni Laboratorium Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara sebanyak 1 L.

Metode Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan dan 3 kali pengulangan yaitu masing-masing dengan injeksi CO₂ selama 2 menit, 4 menit, 6 menit, dan 8 menit, dan kontrol (tidak diinjeksi CO₂). Penentuan lama injeksi berdasarkan hasil penelitian pendahuluan.

Pembuatan Stok Kultur Murni dan Media Kultur

Disiapkan media air laut dengan salinitas 33 ppt sebanyak 16 liter. Taw (1990) menyatakan salinitas yang optimum untuk pertumbuhan *C. vulgaris* yaitu 30 – 40 ppt. Pembuatan air laut salinitas 33 ppt dilakukan dengan cara mengencerkan air laut salinitas 36 ppt dengan air tawar salinitas 0 ppt, sehingga diperoleh volume air tawar pengencer yaitu 1,33 L.

Bibit *C. vulgaris* diperbanyak dengan cara kultur bertingkat. Kultur bertingkat ini dilakukan dengan menambahkan 0,5 L stok murni ke dalam 2,5 L media air laut dengan salinitas 33 ppt yang sebelumnya telah ditambahkan pupuk walne masing – masing sebanyak 3 mL (dengan perbandingan 1 mL/L). Kultur bertingkat ini bertujuan untuk memperoleh stok



murni sebanyak 3 L dengan kepadatan $\pm 200 \times 10^4$ sel/mL. Berdasarkan perhitungan penentuan volume inokulan yang diinginkan, diperoleh volume inokulan yang harus ditambahkan sebanyak 0,85 L. Selanjutnya dibagi pada erlenmeyer sebanyak 15 buah dengan volume masing – masing 1 L dan inkubasi pada suhu 18-19 °C dengan pencahayaan (2750 lux selama 24 jam/hari) selama 9 hari.

Injeksi CO₂

Injeksi CO₂ dilakukan 24 jam sekali, setiap pukul 09.00 pagi. Setiap perlakuan di injeksi CO₂ dengan waktu yang berbeda masing – masing 2 menit, 4 menit, 6 menit, 8 menit dan tanpa injeksi CO₂ sebagai kontrol. Kecepatan injeksi CO₂ dihitung dengan menggunakan bubble counter dan diatur dengan kecepatan 3 gelembung/detik. Selanjutnya dilakukan pengukuran CO₂ terlarut. Pengukuran CO₂ terlarut dilakukan dengan metode titrasi menggunakan larutan Na₂CO₃ 0,0454 N sebagai titran. Pembuatan larutan titran dilakukan dengan melarutkan Na₂CO₃ sebanyak 2,407 gr, setelah itu dilarutkan lagi dalam 1 L aquades. Proses titrasi dilakukan dengan mengambil sampel kultur sebanyak 1 ml setiap perlakuan. Setelah itu sampel ditetesi dengan larutan titran sampai warna sampel berubah menjadi merah jambu (warna merah jambu menjadi indikator CO₂ terlarut). Konsentrasi CO₂ terlarut dihitung menggunakan rumus (APHA, 1978) :

$$\text{Konsentrasi CO}_2 \text{ terlarut} = \frac{(V \text{ Na}_2\text{CO}_3 \times N \text{ Na}_2\text{CO}_3 \times 22000)}{\text{volume sampel}}$$

Keterangan :

V Na₂CO₃ = Volume Na₂CO₃ yang dibutuhkan dalam titrasi
N Na₂CO₃ = Normalitas Na₂CO₃ (0,0454)
Vsampel = Volume media kultur yang digunakan untuk titrasi (20 mL)

Perhitungan Kepadatan

Pengamatan kepadatan *C. vulgaris* dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x. Perhitungan sel mikroalga menggunakan *haemocytometer*

dan alat bantu *handcounter* untuk mencatat jumlah perhitungan. Rumus perhitungan kepadatan *C. vulgaris* sebagai berikut (Isnansetyo dan kurniastuty, 1995):

$$\text{Kepadatan} = \frac{N \text{ dalam } 5 \text{ blok} \times \text{Jumlah blok} (5) \times 10^4 \text{ (sel/ml)}}{}$$

Keterangan :

N = jumlah sel mikroalga yang diamati

Panen Mikroalga *Chlorella vulgaris*

Pemanenan *C. vulgaris* dilakukan pada saat pertumbuhan memasuki fase stasioner. Pemanenan dilakukan dengan cara sentrifugasi kultur sebanyak 500 ml selama 15 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Setelah dilakukan sentrifuge akan diperoleh endapan *C. vulgaris* yang selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring whatman GF/F (φ 47mm) untuk mendapatkan biomassa. Sebelum digunakan untuk penyaringan, kertas saring whatman GF/F (φ 47mm) di timbang terlebih dahulu. Setelah selesai dilakukan penyaringan, kertas saring yang terdapat biomassa *C. vulgaris* di timbang kembali. Hasil timbangan dikurangi berat kertas saring adalah berat basah *C. vulgaris*. Selanjutnya setelah selesai dilakukan penimbangan, dilakukan pengeringan dengan oven selama 1 jam dengan suhu 100 °C. Berat kering *C. vulgaris* diperoleh dari hasil penimbangan setelah proses pengovenan dikurangi dengan berat kertas saring.

Analisis Kadar Total Lipid

Ekstraksi lipid dilakukan menurut metode Bligh and Dyer (1965) dengan memodifikasi pelarut. Langkah awal yang dilakukan adalah waterbath dipanaskan sampai 40 °C. Biomassa kering *C. vulgaris* yang telah disiapkan sebanyak 1000 mg dan metanol sebanyak 60 ml dimasukkan dalam erlenmeyer yang telah disiapkan, kemudian dilakukan inkubasi dalam waterbath dengan suhu 40 °C selama 2 jam. Perlakuan secara mekanik ditambahkan dengan melakukan *stirring* selama 5 menit menggunakan magnetik stirrer. Tahap selanjutnya yang dilakukan adalah partisi antara fraksi metanol dan

n-hexan menggunakan corong pemisah dengan cara menambahkan 60 ml n-hexan dalam sampel. Kemudian dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu 68 °C hingga semua pelarut menguap. Erlenmeyer yang berisi lipid selanjutnya ditimbang. Setelah itu dilakukan perhitungan % berat Total Lipid dilakukan dengan rumus (Widianingsih *et al.*, 2011) :

$$\% \text{ Lipid} = \frac{(A - B)}{C} \times 100 \%$$

Keterangan :

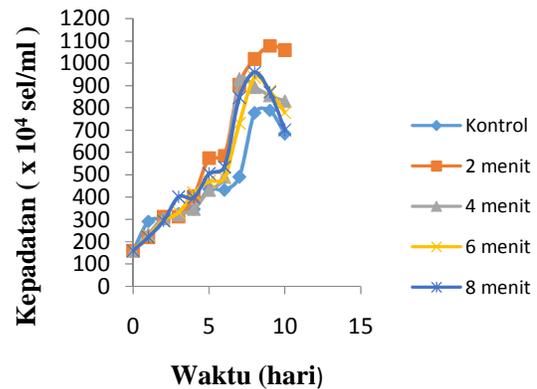
- A = berat labu + berat lipid setelah dilakukan ekstraksi (mg)
- B = berat labu sebelum dilakukan ekstraksi (mg)
- C = berat biomassa sampel/berat kering (mg)

Pengambilan Parameter Kualitas Air Media Kultur

Pengukuran kualitas air media kultur meliputi pengukuran salinitas, pH, DO dan suhu. Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan alat hand refraktometer. Pengukuran pH media dilakukan menggunakan alat pH meter. Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer air raksa. Pengukuran oksigen terlarut dilakukan dengan DO meter. Pengukuran kualitas air dilakukan (4 menit setelah injeksi CO₂ dilakukan) setiap 24 jam sekali selama 9 hari kultur.

Hasil dan Pembahasan Kepadatan *C. vulgaris*.

Lama injeksi CO₂ dalam media kultur memberikan respon pertumbuhan *C. vulgaris* yang berbeda. Pertumbuhan *C. vulgaris* mengalami peningkatan seiring dengan penambahan CO₂ selama 2 menit, 4 menit, 6 menit, dan 8 menit. Injeksi CO₂ selama 2 menit mempunyai kepadatan tertinggi yaitu 1.078 x 10⁴ sel/mL. Sedangkan kontrol mempunyai kepadatan paling rendah dibandingkan dengan perlakuan 2 menit, 4 menit, 6 menit, dan 8 menit yaitu 788 x 10⁴ sel/mL.



Gambar 1. Kepadatan *C. vulgaris* dengan perlakuan lama injeksi CO₂ yang berbeda.

Keterangan :

- Kontrol : Tanpa injeksi CO₂
- 2 menit : Injeksi CO₂ dalam media kultur selama 2 menit
- 4 menit : Injeksi CO₂ dalam media kultur selama 4 menit
- 6 menit : Injeksi CO₂ dalam media kultur selama 6 menit
- 8 menit : Injeksi CO₂ dalam media kultur selama 8 menit

Kadar Total Lipid *C. vulgaris*.

Kadar total lipid paling tinggi terjadi pada perlakuan dengan injeksi CO₂ selama 6 menit. Pada injeksi CO₂ selama 6 menit, kadar lipid yang dihasilkan *C. vulgaris* sebesar 63,46 %, sedangkan injeksi CO₂ selama 2 menit, 8 menit dan kontrol masing – masing sebesar (22,09 % ; 51,03 % ; 11,41 %). Kadar lipid terendah terjadi pada injeksi CO₂ selama 4 menit sebesar 3,05 %. Kadar total lipid *C. vulgaris* ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Total Lipid *C. vulgaris* (% berat kering) dengan perlakuan lama injeksi CO₂ yang berbeda

Lama Injeksi CO ₂	Total Lipid (± Standar Deviasi)	Berat kering (gr)
Kontrol	11,41 ± 2,96	152,3
2 menit	22,09 ± 3,37	298,7
4 menit	3,05 ± 1,32	243,7
6 menit	63,47 ± 5,49	219,3
8 menit	51,03 ± 8,43	224,7

Produksi lipid pada injeksi CO₂ selama 2 menit dan 4 menit berbanding terbalik dengan jumlah kepadatan dan berat kering yang dihasilkan. Injeksi CO₂ selama 2 menit mempunyai jumlah kepadatan tertinggi yaitu 10.780.000 sel/ml dengan berat kering sebanyak 298,7 mg. Kondisi yang hampir sama juga terjadi pada injeksi CO₂ selama 4 menit, jumlah kepadatannya mencapai 8.550.000 sel/ml dengan berat kering sebanyak 243,7 mg. Pada dua perlakuan ini produksi total lipid yang dihasilkan cukup rendah, bahkan terendah untuk perlakuan dengan injeksi CO₂ selama 4 menit. Hal ini dimungkinkan pada perlakuan 2 menit dan 4 menit *C. vulgaris* lebih banyak mensintesis protein untuk pertumbuhan dan perbanyak jumlah sel. Bellou dan Aggelis (2013), menyatakan saat nutrisi masih tersedia dalam media kultur, *C. vulgaris* akan mensintesis protein yang digunakan untuk pembelahan sel dan pertumbuhan. Ehrenfeld dan Cousin (1982), juga menyatakan bahwa dalam kondisi optimum mikroalga lebih banyak melakukan sintesa protein yang digunakan untuk sintesis DNA yang selanjutnya digunakan sebagai bahan dalam proses pembelahan sel.

Produksi total lipid pada injeksi CO₂ selama 6 menit mencapai 63,43 %, merupakan yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada perlakuan 6 menit nilai pH cukup rendah yaitu 5,2. Boyd (1982), menjelaskan pada pH 4,5 – 6,5 reaksi antara CO₂ dan air akan menghasilkan senyawa asam karbonat (H₂CO₃) dan CO₂ bebas. Kondisi pH yang asam mengakibatkan tertanggunya proses fotosintesis dan pertumbuhan karena kurangnya asupan nutrisi dan CO₂ dalam media kultur (Prihantini *et al.*, 2005). Pada saat nutrisi dalam media kultur sudah mulai habis sehingga mikroalga akan lebih banyak mengakumulasi hasil fotosintesis dalam bentuk lipid (Widianingsih *et al.*, 2011). Hampir sama, Li *et al.* (2008) juga menyatakan pada media yang konsentrasi nitrogennya rendah, kandungan lipidnya akan lebih tinggi.

Mikroalga dapat menyerap CO₂ pada kisaran pH 4,5 – 10,4 (Olaizola *et*

al., 2004). Boyd (1982), juga menjelaskan pada pH 4,5 – 6,5 reaksi antara CO₂ dan air akan menghasilkan senyawa asam karbonat (H₂CO₃) dan CO₂ bebas. Sedangkan pada pH 6,5 – 10,4 reaksi antara CO₂ dengan air akan menghasilkan senyawa bikarbonat (HCO₃⁻). pH lebih besar dari 10,4 reaksi antara CO₂ dengan air menghasilkan senyawa karbonat (CO₃²⁻). Pembentukan senyawa yang berbeda inilah yang dimungkinkan berpengaruh terhadap penyerapan CO₂ pada *C. vulgaris*. Asam karbonat yang berlebihan akan menyebabkan air bersifat asam. Kondisi air yang bersifat asam, membuat CO₂ tidak dapat lagi berikatan dengan air sehingga terbentuk CO₂ bebas.

Sementara itu pemanfaatan bikarbonat pada proses fotosintesis akan menghasilkan ion OH⁻ yang menyebabkan air media bersifat basa. Wijanarko (2004), menyebutkan CO₂ yang dibutuhkan sebagai karbon *source*-nya didapatkan dalam bentuk senyawa bikarbonat yang terbentuk dari reaksi air dengan CO₂ terlarut dalam media.

Senyawa bikarbonat ini yang kemudian diserap oleh sel *C. vulgaris*. Proses metabolisme yang terjadi dalam sel selanjutnya adalah reaksi antara bikarbonat dengan air yang terdapat dalam sel (siklus Calvin) membentuk senyawa organik seperti glukosa dan ion OH⁻ menggunakan energi ATP dan NaDPH dari konversi cahaya pada reaksi terang.

Boyd (1982), menjelaskan bahwa saat CO₂ di dalam air habis, maka mikroalga akan memanfaatkan karbon pada bikarbonat sebagai bahan dalam proses fotosintesis, dan pada kondisi ini pH akan meningkat.

Laju fotosintesis pada *C. vulgaris* yang di injeksi dengan CO₂ akan memacu sintesis karbohidrat. Karbohidrat yang berlebihan dalam sel kemudian akan dikonversi dalam bentuk lipid (Cristi, 2007). Bellou dan Aggelis (2013) juga menyatakan bahwa sintesa lipid diawali dengan sintesa karbohidrat. Dalam proses fotosintesis CO₂ akan dikonversi menjadi gliceryde - 3 - phosphate (G3P) yang digunakan sebagai prekursor dalam pembentukan karbohidrat dan lipid. Selanjutnya gliceryde - 3 - phosphat diubah menjadi piruvat. Piruvat kemudian



dikonversi menjadi asetil – koA dengan reaksi menggunakan enzim pyruvate dehydrogenase complex (PDC). Asetil – koA merupakan prekursor untuk sintesis asam lemak. Reaksi pembentukan asam lemak akan terjadi dalam plastida. Selanjutnya asam lemak yang terbentuk di plastida akan dibawa menuju retikulum endoplasma. Di retikulum endoplasma asam lemak diubah menjadi lipid struktural dan non struktural. Lipid struktural adalah lipid yang digunakan untuk pertumbuhan dan pembentukan sel. Sedangkan lipid non struktural adalah lipid yang digunakan sebagai bentuk cadangan energi.

Kandungan total lipid *C. vulgaris* yang diperoleh cukup besar yaitu 63 % dari berat kering. Becker (1992), menyatakan lipid pada mikroalga mengandung asam – asam lemak essensial seperti C18 linoleat (18:2 ω 6), Y linolenat (18:3 ω 3), derivat dari C20, asam eicosapenlanoat (EPA : 20 : 5 ω 3) dan asam arachidonat (AA : 20 : 4 ω 6). Asam – asam lemak tersebut tidak dapat disintesa oleh tubuh manusia dan merupakan komponen penting. Bila Keseimbangan ω 3 dan ω 6 dalam tubuh terganggu, maka akan menimbulkan penyakit – penyakit seperti schizophrania sampai ke thrombosis (Becker, 1992). Asam-asam lemak essensial berhubungan dengan pembentukan senyawa prostaglandin dalam tubuh. Asam eicosapentaenoat (EPA:20:5ω3) dan asam arachidonat (AA: 20:4ω6) berperan sebagai precursor prostaglandin prostacyclin, thromboxan dan leucotrien. Prostaglandin juga dapat diturunkan dari senyawa di homo-γ linoleat. Dengan bantuan enzim dalam tubuh, asam linoleat dari makanan diubah menjadi di homo-γ- linoleat. Metabolik yang dihasilkan adalah AA yang kemudian diubah menjadi prostaglandin E-2. Golongan eicosanoid tersebut berperan sangat penting, dalam mengatur keseimbangan metabolik dalam tubuh dan fungsi fisiologis (Becker, 1992). Aktivitas biologis dari prostaglandin sebagai hormon lokal dan pengatur fisiologis tubuh seperti pengatur tekanan darah, sodium padaginjal, pelepasan insulin, sekresi asam lambung, dan lain-lain. Banyaknya manfaat yang diperoleh dari

asam lemak tidak jenuh *C. vulgaris* dapat dimanfaatkan sebagai suplemen makanan bagi manusia dan hewan. Mayasari (2012) menyatakan *C. vulgaris* telah diproduksi dan dipasarkan sebagai seplemen makanan pada beberapa negara seperti cina, jepang, amerika, dan eropa.

Kualitas Air Media Kultur

Secara umum kualitas air media masih dalam batas aman untuk kultur *C.vulgaris*. Pengukuran parameter kualitas air media dilakukan setiap hari setelah injeksi CO₂. Injeksi CO₂ dilakukan setiap hari, pukul 09.00 pagi dengan tujuan untuk memenuhi asupan CO₂ dalam proses fotosintesis. Fotosintesis pada tumbuhan dapat berlangsung saat ketersediaan air, CO₂, klorofil, dan cahaya. Stomata membuka secara optimal saat pagi hari dan menyerap CO₂ untuk pembentukan karbohidrat dan lipid (Yudoyono *et al.*, 2013).

Salinitas dan suhu masih dalam kisaran optimal yaitu 30 – 36 ppt dan 18 – 19 °C . Kondisi pH dan konsentrasi CO₂ yang terlarut dalam air menjadi faktor penting untuk keberhasilan kultur *C.vulgaris*. Nilai pH ada dikisaran 5,1 – 9,3 dan CO₂ terlarut ada dikisaran 4,99 – 240 ppm.

Tabel 2. Kisaran Parameter Kualitas Air Media dengan Perlakuan Lama Injeksi CO₂ yang Berbeda

Parameter kualitas air media	Injeksi CO ₂ (menit)				
	Kontrol	2	4	6	8
pH	7,2-	5,8- 8,1	5,4- 8,3	5,2- 8,2	5,1- 7,7
Suhu (°C)	18-19	18- 19	18- 19	18- 19	18- 19
DO (ppm)	9-10,4	9- 10,3	8,7- 10	8,6- 9,6	8,8- 9,6
Salinitas (ppt)	30-36	30- 35	30- 35	30- 35	30- 35

Boyd (1982) menjelaskan bahwa sebagian besar organisme laut hidup optimal dengan kondisi CO₂ terlarut diperairan sebesar (<60 mg/L). Chiu *et al.*, (2008) juga menjelaskan *C.vulgaris* punya daya adaptasi yang baik apabila ditambahkan CO₂ . Penambahan CO₂ menyebabkan penurunan pH pada media



kultur. Nilai pH terendah selama kultur terjadi pada perlakuan 8 menit tepatnya hari ke - 7 yaitu 5,1. Boyd (1982), menyatakan pada kisaran pH 4,5 - 6,5 CO₂ yang bereaksi dengan air akan membentuk asam karbonat dan CO₂ bebas. CO₂ bebas terbentuk karena air yang sudah jenuh tidak dapat lagi mengikat CO₂. Hari berikutnya pH kembali naik. Naiknya nilai pH terjadi pada semua perlakuan yaitu dengan kisaran 5,3 - 7,7. Reaksi yang terbentuk antara CO₂ dan air pada kisaran pH 6,5 - 10,5 adalah bikarbonat (Boyd, 1982).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian injeksi CO₂ berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap kadar total lipid *C.vulgaris*. Tingginya kepadatan sel dan berat kering *C.vulgaris* tidak selamanya berbanding lurus dengan kadar total lipid yang dihasilkan. Injeksi CO₂ selama 6 menit menghasilkan kadar total lipid tertinggi yaitu sebesar 63,46 %.

Ucapan terimakasih

Penulis menyampaikan terimakasih kepada semua pihak yang telah memberikan pengarahan dan petunjuk dalam menyelesaikan jurnal ilmiah ini.

Daftar pustaka

- Andersen, S. 1995. Mikroencapsulated marine omega-3 fatty acids for use in the food industry. *Food Tech Euro* 1 : 104 - 105.
- [APHA] American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. 1975. *Standart Metode for the Examination of Water and Wastewater*. 14 thed, APHA, Washington, DC 20036. 1193 pp.
- Becker, W. 1994. *Mikroalgae* : Biotechnology and Microbiology. New York ; Cambridge University Press : 112-146.
- Becker, E.W. 1992. Microalga fo human and animal consumption. In : *Microalga Biotechnology* (Borowitzka, M.A. & L. Borowitzka

Eds). Cambride Univ.Press : 222-256.

- Bellou S. and G. Aggelis. 2013. Biocemical Activities in *Chlorella sp* and *Nannochloropsis salina* During Lipid and Sugar Synthesis in a Lab Scale Open Pound Simulating Reactor. *J. Biotechnology* 1 : 1 - 12.
- Bligh, E.G. and W.J. Dryer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Pysiol.* 37:911-917.
- Boyd, C.E. 1982. Lipid From microalgae. *Technol.* 56, 867- 873
- Chang T, S. Ohta, N. Ikegami, H. Miyata, Y. Kashimoto, M. Kondo. 1993. Antibiotic substances produced by a marine green algae, *Dunaliella primolecta*. *Bioresource Technology.* 44: 149 - 153.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from Microalgae. *Biotechnol. Adv.* 25,294-306.
- Chiu, S. Y, Y. K. Chien, T.T. Ming, C.O. Seow, H.C. Chiun, dan S.L. Chih. 2008. Lipid Accumulation and CO₂ Utilization of *Nannochloropsis oculata* in Response to CO₂ Aeration, *Bioresource Tech.* 100: 833-838.
- Ehrenfield J and J.L. Causin. 1982. Ionic Regulation of the Unicellular Green Algae *Dunaliella tertiolecta*. *Biol* 70:47 - 58.
- Ikhsan, D., M.E. Yulianto, dan D. Ariwibowo. 2006. *Studi Awal Pembuatan Biodisel Secara Kontinyu dalam Bioreaktor Packed Coloum dari Minyak Jarak Pagar*. Laporan Penelitian Undip.
- Isnansetyo dan Kurniastuty . 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton Zooplankton. Pakan Alamuntuk pembenihan organism laut*, Kanisius, Yogyakarta.
- Kawaroe dan Soejaja. 2010. *Potensi Mikroalga dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. IPB Press : Bogor.
- Mayasari, E. 2012. *Efek Penambahan Fe²⁺ dan Mn²⁺ Terhadap Produktifitas β-Karoten oleh Fitoplanton Dunaliella salina, Isocrysis galbana, dan Chlorella vulgaris*. Thesis. Program Magister Ilmu Kimia, fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makasar.



- Olaizola, M., T. Bridges, S. Flores, L. Griswold, J. Morency, T. Nakamura. 2004. Mikroalgae Removal of CO₂ from Flue Gas : CO₂ Capture from a Coal Combuster. *Biotech. Bioproc. Eng* 8 : 360 – 367.
- Prihantini, B.N., B. Putri, dan R. Yiniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. Dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan Variasi pH Awal. *Makara, Sains*, Vol. 9, No.1, Hal: 1-6.
- Richmond, A. 2003. *Handbook of Microalgae Cultur Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing. 545 hlm.
- Taw. 1990. *Petunjuk Kultur Murni dan Massal Mikroalga*. UNDP. FAO.
- Widianingsih, R. Hartati, H. Endrawati, E. Yudiati, V.R. Iriani. 2011. Pengaruh Pengurangan Konsentrasi Nutrien Fosfat dan Nitrat Terhadap Kandungan Total Lipid *Nannochloropsis oculata*. *Journal of Marine Research*. FPIK Universitas Diponegoro. Semarang.
- Wijanarko, A. 2004. *Jurnal Teknologi "Enhancement of Carbon Dioxide Fixation by Alternation of Illumination during Chlorella vulgaris Buitenzorg Growth"*. Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Wilde and Benemann. 1993. Bioremoval of Heavy Metals by the use of Microalgae. *Biotech. Adv.*, 11: 781 – 812.
- Yudoyono G dan C.A. Arifin. 2013. Fiksasi CO₂ oleh *C.vulgaris* sebagai Medium Pengkonversi dalam Buble Column Reactors. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* Vol. 2, No. 1.