

Flokulasi Mikroalga *Nannochloropsis oculata* dengan Kitosan

Emia Sayniri Sembiring, Widianingsih*, Endang Supriyantini

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto S.H, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

*Corresponding author: widia2506@gmail.com

ABSTRAK: *N. oculata* adalah salah satu jenis mikroalga yang memiliki kandungan nutrisi yang tinggi seperti karbohidrat, protein, dan lipid, sehingga banyak dimanfaatkan sebagai pakan alami pada budidaya udang ikan, dan ternak *N. oculata* memiliki ukuran sel yang sangat kecil berkisar 2-8 μm dan sulit untuk dipanen. Salah satu cara yang efisien untuk pemanenan mikroalga adalah metode flokulasi dengan mengoptimalkan nilai pH. Bahan flokulan yang digunakan adalah kitosan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efektivitas konsentrasi kitosan untuk flokulasi *N. oculata*. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dan perlakuan yang digunakan adalah konsentrasi Kitosan dengan 3 kali ulangan. Tahapan pelaksanaan penelitian dimulai dari kultur *N. oculata* selama 6 hari. Selanjutnya proses pemanenan dilakukan menggunakan flokulasi dengan konsentrasi kitosan yang berbeda-beda (15, 20, dan 25 ppm). Nilai pH akhir yang digunakan adalah 10. Ketika proses flokulasi berlangsung sampel diambil pada menit ke 0, 20, dan 40 untuk mengukur efisiensi flokulasinya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa flokulasi *N. oculata* menggunakan kitosan dan optimalisasi pH merupakan metode yang efektif dan mudah diterapkan, Hasil penelitian menunjukkan bahwa efisiensi flokulasi yang diperoleh telah mendekati 100% dan berarti flokulasi berhasil dilakukan. Flokulasi *N. oculata* dengan menggunakan konsentrasi kitosan 15 ppm menunjukkan nilai efisiensi flokulasi sebesar 85,27%. Selanjutnya flokulasi dengan menggunakan konsentrasi kitosan 20 maka akan menghasilkan rata-rata tingkat efisiensi flokulasi sebesar 99,17%, dan konsentrasi kitosan 25 ppm menghasilkan rata-rata tingkat efisiensi flokulasi sebesar 99,99%.

Kata kunci : Flokulasi; Kitosan; Mikroalga; *Nannochloropsis oculata*

Microalgae Nannochloropsis oculata Flocculation with Chitosan

ABSTRACT: *N. oculata* is one type of microalgae that has high nutrients, involved carbohydrates, protein, and lipids. so it is widely used as natural feed for culture shrimps, fishes, and livestock. *N. oculata* has a very small cell size ranging from 2-8 μm and is difficult to harvest, These factors make it difficult for *N. oculata* to be harvested. One of the efficient for harvesting microalgae is the flocculation method by optimizing the pH value. The Flocculant material is chitosan. The research purpose is to study the effectiveness of the concentration of chitosan for flocculation of *N. oculata*. The design used was a completely randomized design. This research has treatment chitosan concentration with 3 replicates. The research was started by culturing microalgae *N. oculata* for 6 days. Furthermore, the harvesting process was carried out using flocculation with different concentrations of chitosan (15, 20, and 25 ppm). The final pH value used was 10. During the flocculation process, samples were taken at 0, 20, and 40 minutes to measure the flocculation efficiency. The results showed that flocculation of *N. oculata* using chitosan and pH optimization was an effective and easy method to apply. The result showed that the flocculation efficiency obtained was close to 100%, and it means that the flocculation was successful. Furthermore, flocculation using a chitosan concentration 20 ppm will produce an average level of flocculation efficiency of 99.17%, and a concentration of 25 ppm chitosan will produce an average level of flocculation efficiency of 99.99%.

Keywords: Flocculation; Chitosan; Microalgae; *Nannochloropsis oculata*

PENDAHULUAN

Mikroalga adalah tumbuhan bersel tunggal (uniseluler) yang berukuran kecil (Darsi *et al.*, 2012). Mikroalga banyak dikultur dan dimanfaatkan karena memiliki kandungan nilai nutrisi yang tinggi seperti karbohidrat, protein, lipid, dan sebagainya (Susilaningih *et al.*, 2014). Mikroalga memiliki manfaat yang sangat luas dalam berbagai bidang seperti sumber bahan baku untuk produksi biodiesel, pakan fungsional obat-obatan, kosmetik, maupun bioremediasi pada limbah cair (Jay *et al.*, 2018). Selain itu, kemampuan tumbuhnya cepat dan tidak membutuhkan area yang terlalu luas untuk memproduksinya, sehingga banyak dibudidayakan oleh masyarakat. Namun demikian, terdapat kelemahan dalam pemanenan mikroalga, khususnya spesies *N. oculata*. Kesulitan dalam proses pemanenan *N. oculata* karena ukuran sel yang sangat kecil dan sulit mengendap di dasar media kultur, sehingga ketika dipanen banyak yang lolos terbawa air. Banyak metode pemanenan mikroalga yang telah dilakukan oleh pembudidaya, seperti sentrifugasi, koagulasi, flokulasi, filtrasi, flotasi, dan sedimentasi (Barros *et al.*, 2015). Namun tidak semua metode dapat diaplikasikan terutama dalam kultur skala besar. Metode yang dianggap paling efisien adalah dengan flokulasi (pembentukan flok) yaitu salah satu metode pemanenan dengan biaya yang paling hemat (Chua *et al.*, 2018). Flokulasi adalah kombinasi antara pencampuran bahan flokulan dan pengadukan, sehingga akan menghasilkan agregasi yang mengendap (Aji *et al.*, 2012). Terdapat banyak jenis flokulan seperti $Al_2(SO_4)_3$, $FeCl_3$, $NaOH$, dan sebagainya. Namun flokulan bahan dasar kimia tidak disarankan untuk diaplikasikan pada industri pangan, karena dikhawatirkan mempengaruhi mutu pada makanan. Oleh karena itu dibutuhkan flokulan alami yang bersifat ramah lingkungan, tidak beracun, memiliki kemampuan mengadsorpsi yang tinggi (Kusumaningsih *et al.*, 2004; Prasetyo *et al.*, 2016; Hambali *et al.*, 2017). Flokulan yang dianggap paling sesuai adalah kitosan karena telah memenuhi seluruh persyaratan tersebut. Meski demikian penggunaan kitosan tunggal sebagai flokulan kurang efektif karena tidak dapat larut dalam air, dan pelarutannya membutuhkan asam asetat. Pelarutan dengan asam asetat akan membuat pH pada media kultur menjadi turun. Disinilah pentingnya perlakuan pengoptimalan pH terhadap media. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi kitosan terhadap *efficiensi flocculation* dalam proses pemanenan mikroalga *N. oculata*.

MATERI DAN METODE

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel *N. oculata* dan pupuk walne yang diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, kitosan, $NaOH$, asam asetat, dan aquades. Sedangkan peralatan yang dibutuhkan diantaranya adalah toples kaca 3000 ml, aerator, lampu neon, termometer, refraktometer, pH meter, neraca digital, dan lain-lain. Metode yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dan rancangan yang digunakan adalah rancangan faktorial dua faktor. Langkah awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah kultur mikroalga *N. oculata* dalam wadah toples kaca 3000 ml. Media kultur diamati setiap hari dengan pengukuran parameter kualitas air media secara berkala. Pengamatan dilakukan terhadap suhu, salinitas, dan pH setiap pukul 10.00-11.00 WIB. Selanjutnya pada fase eksponensial *N. oculata* dipersiapkan untuk proses flokulasi. Lama kultur dan pengamatan pertumbuhan *N. oculata* pada penelitian ini dilakukan pada hari ke-0 (H-0) hingga hari ke-6 (H-6). Lama masa kultur pengamatan *N. oculata* berpatokan pada penelitian Meria *et al.* (2015), yang menjelaskan fase eksponensial dimulai dari hari ke-4 hingga hari ke-6, sehingga pemanenan dilakukan pada hari ke-6.

Flokulasi *N. oculata* dilakukan pada wadah gelas beaker ukuran 500 ml, dan sampel *N. oculata* yang digunakan sebanyak 300 ml. Perlakuan flokulasi adalah dengan membagi sampel menjadi 3 kelompok konsentrasi flokulan kitosan, yaitu adalah 15, 20, dan 25 ppm. Ketiga konsentrasi kitosan tersebut memperoleh pengulangan masing-masing sebanyak tiga (3) kali. Langkah awal yang dilakukan yakni dengan menempatkan kitosan yang telah dipersiapkan ke wadah yang kecil. Kitosan tersebut dilarutkan dengan meneteskan asam asetat sebanyak 1-3 tetes, kemudian ditambahkan ± 10 ml aquades dan diaduk hingga larut. Larutan kitosan tersebut dimasukkan ke dalam gelas beaker yang telah diisi dengan *N. oculata* dan diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 3-5

menit dengan kecepatan 100 rpm. Apabila larutan kitosan telah larut, dilakukan pengukuran pH untuk mengetahui pH awal media. Selanjutnya sampel tersebut diberikan NaOH sedikit-demi sedikit hingga pH-nya mencapai 10 (Morales *et al.*, 1985). Setelah itu, sampel diamati hingga mengendap dengan sempurna dan sampel diambil pada menit ke-0, 20, dan 40. Pengambilan sampel dilakukan untuk mengetahui nilai *optical density* (OD) dan efisiensi flokulasi.

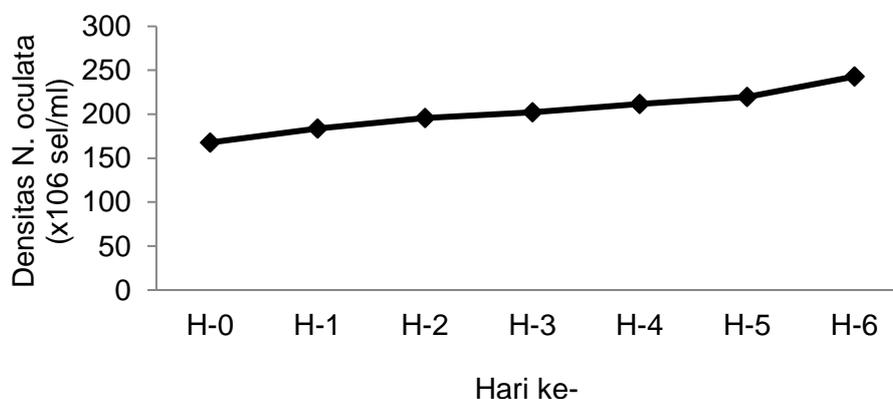
Efisiensi flokulasi (*flocculation efficiency*) merupakan pengukuran yang dilakukan untuk mengetahui seberapa besar jumlah sel *N. oculata* yang dapat dipindahkan dari media kultur (Garcia-Perez *et al.*, 2014). Nilai FE dihitung dalam satuan persen (%), dimana semakin tinggi nilai FE, maka akan semakin banyak sel *N. oculata* yang mengalami flokulasi (Praharyawan dan Putri, 2017). Rumus yang digunakan untuk perhitungan efisiensi flokulasi sampel diadopsi dari penelitian Chua *et al.* (2018) :

$$\text{Flocculation efficiency (FE, in\%)} = \left(1 - \frac{\text{OD Sampel}}{\text{OD kontrol}}\right) \times 100$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa pola pertumbuhan *N. oculata* (Gambar 1) sesuai dengan pola pertumbuhan mikroalga pada umumnya. Pertumbuhan mikroalga *N. oculata* terdiri dari empat fase, yaitu fase lag, eksponensial, stasioner, dan kematian. Fase lag atau adaptasi biasanya terjadi selama 1-3 hari pertama kultivasi, fase eksponensial dimulai dari hari ke-4 hingga hari ke-6, selanjutnya fase stasioner dimulai pada hari 7-9, dan fase kematian di hari 10-11 (Meria *et al.*, 2015). Berdasarkan hasil pengamatan *N. oculata* pada penelitian ini, fase pertumbuhannya telah sesuai dengan fase pertumbuhan mikroalga pada umumnya, dimana pada fase lag *N. oculata* melakukan penyesuaian dengan lingkungan barunya, jadi pertumbuhannya masih belum signifikan (Maulana *et al.*, 2017). Bahkan pada fase tersebut, *N. oculata* masih belum stabil dan pertumbuhan selnya masih naik-turun, seperti halnya pada hari ke-2 menuju hari ke-3 di media kultur 2 dan 3 (Gambar 1). Sedangkan pada fase eksponensial (hari ke-4 sampai hari ke-6), *N. oculata* menunjukkan pertambahan jumlah sel yang drastis (Meria *et al.*, 2015).

Pertumbuhan sel *N. oculata* menunjukkan bahwa kepadatan tertinggi terdapat pada media kultur pertama. Jumlah sel di H-0 kultur pertama yaitu 216×10^6 sel/ml dan jumlah selnya di puncak kultur adalah 324×10^6 sel/ml. Pertumbuhan yang signifikan terlihat jelas khususnya di hari ke-3 dan hari ke-6. Sedangkan kepadatan terendah terdapat pada kultur kedua, dimana jumlah kepadatan sel H-0 hanya 133×10^6 sel/ml dan jumlah selnya di puncak kultur yakni 186×10^6 sel/ml. Selain itu, pada kultur kedua sempat terjadi penurunan jumlah sel di hari ke-2 menuju hari ke-3. Namun pertumbuhannya kembali naik hingga hari ke-6. Hal tersebut juga terjadi pada kultur ketiga, dimana terjadi penurunan jumlah sel pada hari ke-2 menuju hari ke-3, dan kembali naik hingga hari terakhir. Pertambahan sel kultur kedua dan ketiga terbilang standar, tidak ada pertambahan drastis, melainkan sedikit demi sedikit.



Gambar 1. Kepadatan sel *N. Oculata*

Hasil FE yang diperoleh cukup baik dan hampir semua perlakuan konsentrasi mendekati angka 100%. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1 berikut. Proses flokulasi tergolong sangat cepat, karena sampel telah memperoleh nilai FE yang mendekati 100% dalam waktu yang cukup singkat, yakni 20 menit. Menit terakhir, yakni menit ke-40, terdapat sampel yang sudah mencapai 100%, yaitu sampel dengan pemberian kitosan konsentrasi 25 ppm, pengulangan 1 dan 2. Hal ini menandakan bahwa proses flokulasi telah berhasil dan sampel telah mengendap di dasar media. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Chua *et al.* (2018), dimana *Nannochloropsis* sp. telah berhasil diflokulasi hanya dengan waktu selama 20 menit menggunakan kitosan konsentrasi 22 ppm dan pengoptimalan pH hingga 10.

Adapun nilai rata-rata efisiensi flokulasi *N. oculata* pada menit ke-40 terendah terdapat pada sampel kitosan konsentasi 15 ppm sebesar 85,273%, selanjutny adalah sampel kitosan konsentrasi 20 ppm sebesar 99,173%, serta yang tertinggi adalah sampel kitosan konsentrasi 25 ppm yakni sebesar 99,99%. Penggunaan kitosan dan pengoptimalan pH menghasilkan nilai efisiensi flokulasi yang lebih tinggi dan waktu flokulasi yang lebih singkat daripada menggunakan flokulan lain. Hidayati *et al.* (2015) melakukan penelitian mengenai perbedaan konsentrasi $Al(SO_4)_3$ untuk flokulasi *Nannochloropsis* sp.. Konsentrasi yang digunakan diantaranya 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm, serta kontrol yang digunakan adalah NaOH 200 ppm. Hasil yang diperoleh setelah 60 menit adalah nilai efisiensi flokulasi tertinggi diperoleh pada konsentrasi 150 ppm yakni 94,55%. Adapun nilai efisiensi flokulasi kontrol NaOH adalah 72,91%. Dari segi jumlah flokulan, konsentasi yang digunakan dalam penelitian Hidayati *et al.* (2015) jauh lebih tinggi daripada jumlah konsentrasi flokulan kitosan yang dilakukan pada penelitian ini. Begitu juga dari segi waktu, waktu flokulasi yang dibutuhkan dalam penelitian ini jauh lebih singkat.

Tabel 1. Flokulasi efisiensi *N. Oculata*

Konsentrasi Kitosan (ppm)	pH awal	pH akhir	OD (0)	OD (20)	OD (40)	FE (0) (%)	FE (20) (%)	FE (40) (%)
15	7,3	10	2,128	0,797	0,727	-15,520	56,710	60,550
15	7,6	10	1,060	0,060	0,033	42,450	96,770	98,190
15	6,7	10	1,358	0,041	0,054	26,250	97,790	97,080
20	7,0	10	1,922	0,026	0,025	-4,340	98,590	98,650
20	5,8	10	2,102	-0,003	0,001	-14,140	100	99,930
20	7,2	10	2,086	0,014	0,020	-13,240	99,220	98,940
25	6,8	10	1,969	0,455	-0,007	-6,900	75,310	100
25	7,2	10	2,062	0,317	-0,036	-11,960	82,780	100
25	7,3	10	2,242	0,167	0,000	-21,750	90,920	99,980

Keterangan: OD = optical density; FE = Flocculation efficiency



Gambar 4. Proses flokulasi menit ke-0, 20, dan 40

Banyaknya *N. oculata* yang diflokulasi adalah 300 ml per medai perlakuan (gelas beaker). Jika diukur menggunakan penggaris, maka tinggi keseluruhan media adalah 5cm dari dasar media perlakuan. Maka dari itu, posisi pengambilan sampel untuk mengukur *optical density* (OD) adalah pada titik 2,5 cm atau pada tengah-tengah media. Menit ke-0 flokulasi terlihat jelas bahwa *N. oculata* dan air masih bercampur. Menit ke-20 flokulasi *N. oculata* sudah mulai terpisah dari air meskipun belum sepenuhnya. *N. oculata* terlihat membentuk layer berwarna hijau ditengah media, tepatnya pada 3 cm dari permukaan media. Sedangkan pada menit ke-40, *N. oculata* benar-benar sudah mengedap di bagian dasar media, dan terlihat jelas bahwa air yang terdapat di gelas beaker berwarna bening. Menit tersebut juga, *N. oculata* berada 4 cm dari permukaan media tepatnya dibawah garis keterangan 100ml. Hasil flokulasi menunjukkan bahwa warna endapan *N. oculata* mendekati warna asli *N. oculata* sebelum diflokulasi. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada kerusakan pada sel *N. oculata*, khususnya pada bagian dinding selnya, maka penggunaan pengoptimalan pH 10 cocok dilakukan untuk flokulasi *N. oculata*. Penggunaan pH yang terlalu tinggi dikhawatirkan merusak dinding sel *N. oculata*, dimana pH yang tinggi menyebabkan kerusakan sel dalam jumlah besar (Yani *et al.*, 2015). Kadar NaOH yang terlalu tinggi membuat konsentrasi antara sitoplasma sel dan lingkungannya berbeda, sehingga terjadi kerusakan sel dikarenakan dinding sel *N. oculata* telah mengalami lisis dan perubahan bentuk (Wahyuni *et al.*, 2001).

KESIMPULAN

Penggunaan kitosan untuk flokulasi *N. oculata* dapat dilakukan pada ketiga jenis konsentrasi Yakni 15, 20, dan 25 ppm dengan pengoptimalan pH akhir 10. Hanya dalam waktu 20 menit, hampir semua nilai efisiensi flokulasi (FE) sampel telah mendekati 100%. Sedangkan pada menit ke-40, proses pengendapan (*flokulasi*) kultur *N. oculata* dengan konsentrasi kitosan 25 ppm telah mencapai nilai efisien flokulasi sebesar 100%. Rata-rata nilai efisiensi flokulasi pada proses pengendapan *N. oculata* kitosan 15 ppm adalah 85,27%, konsentrasi kitosan 20 ppm adalah 99,17%, dan konsentrasi kitosan dengan konsentrasi 25 ppm adalah 99,99%. Jadi dapat disimpulkan bahwa konsentrasi kitosan yang paling baik untuk flokulasi pada penelitian ini adalah 25 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Aji, R.W., Gusniawati, W.S. & Rokhati, N. 2012. Pengaruh Konsentrasi Kitosan Terhadap Proses Flokulasi pada Pemanenan Mikroalga. *Jurnal Teknologi Kimia*, 1(1):28-33.
- Barros, A.I., Goncalves, A.L., Simoes, M. & Pires, J.C. 2015. Harvesting Techniques Applied to Microalgae: A Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41(1):1489-1500
- Chua, E.T., Eltanahy, E., Jung, H., Uy, M., Thomas-Hall, S.R. & Schenk, P.M. 2018. Efficient Harvesting of *Nannochloropsis* Microalgae via Optimized Chitosan-Mediated Flocculation. *Global Challenges*, 3(1): p.1800038.
- Darsi, R., Supriadi, A. & Sasanti, A.D. 2012. Karakteristik Kimiawi dan Potensi Pemanfaatan *Dunaliella salina* dan *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Fishtech*, 1(1):14-25.
- Garcia-Perez, J.S., Beuckels, A., Vandamme, D., Depraetere, O., Foubert, I., Parra, R. & Muylaert, K. 2014. Influence of Magnesium Concentration, Biomass Concentration and pH on Flocculation of *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 3:24-29.
- Hambali, M., Wijaya, E. & Reski, A. 2017. Pembuatan Kitosan dan Pemanfaatannya Sebagai Agen Koagulasi-Flokulasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 2(23):28-36
- Hidayati, S., Nawansih, O. & Febiana, V. 2015. Teknik Pemanenan Mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang Dikultivasi Dalam Media Limbah Cair Karet Remah Dengan Flokulan Aluminium Sulfat. *Jurnal Teknologi Industri & Hasil Pertanian*, 20(2):97-108
- Jay, M.I., Kawaroe, M. & Effendi, H. 2018. Lipid and Fatty Acid Composition Microalgae *Chlorella vulgaris* Using Photobioreactor and Open Pond. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 141(2):1-7

- Kusumaningsih, T., Masykur, A. & Arief, U. 2004. Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (*Achatina fulica*). *Biofarmasi*, 2(2):64-68.
- Maulana, P.M., Karina, S. & Mellisa, S. 2017. Pemanfaatan Fermentasi Limbah Cair Tahu Menggunakan EM4 sebagai Alternatif Nutrisi Bagi Mikroalga *Spirulina* sp. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 2(1):104-112
- Praharyawan, S. & Putri, S.A. 2017. Optimasi Efisiensi Flokulasi pada Proses Panen Mikroalga Potensial Penghasil Biodiesel dengan Flokulan Ion Magnesium. *Biopropal Industri*, 8(2):89-98
- Prasetyo, W., Khabibi., D. S. Widodo. 2016. Adsorpsi Ion Logam Mg (II) Menggunakan Kitosan Termodifikasi Asam Askorbat. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17(2):70-74
- Susilaningsih, D., Lestari, S., Kusnadi, K., Hidayat, T. & Susanti, H. 2014. Efikasi Limbah Sagu sebagai Substrat Kaya Nutrisi Untuk Mikroalga Isolat LIP11-2-AL002. *Berita Biologi*, 13(3): 301-307
- Wahyuni, K.A., Anindiasuti., Sapta, L.M. & Agus, H. 2001. Teknik Penyimpanan dan Kegunaan Nata de Nanno. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Laut, Lampung.
- Yani, A., Murwani S. & Rusyani, E. 2015. Kultur *Nannochloropsis* sp. dan Pembuatan Pasta *Nannochloropsis* Sp. dengan Menggunakan Dosis NaOH yang Berbeda di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. *Seminar Nasional Swasembada Pangan Polinela*. p.588-595
- Zulfahmi, I., Meria, R. & Puspitasari, W., 2021. Teknik Kultur *Nannochloropsis* sp. Skala Laboratorium di Balai Perikanan Budidaya Air Payau Ujung Batee, Aceh Besar. *Journal of Biological Sciences and Applied Biology*, 1(1):31-38