**DIPA BLU**

**OPTIMASI SALINITAS DAN PEMANENAN MIKROLAGA *SPIRULINA* Sp. YANG DIKULTIVASI DALAM LIMBAH CAIR KARET**

**(laporan Penelitian)**

**Oleh**

# Otik Nawansih (0003056501)

**Tanto Pratondo Utomo (0007086801)**

**Sri Hidayati (0030097102)**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**UNIVERSITAS LAMPUNG**

**2018**

**HALAMAN PENGESAHAN**

1. Judul Penelitian : Optimasi Salinitas dan Pemanenan Mikroalga

Spirulina sp. yang Dikultivasi dalam Limbah Cair Karet

1. Bidang Penelitian : Teknologi Hasil Pertanian
2. Ketua Peneliti :
3. Nama Lengkap : Ir. Otik Nawansih, M.P.
4. Jenis Kelamin : Perempuan
5. NIP : 196505031990102001
6. Disiplin Ilmu : Teknologi Hasil Pertanian
7. Pangkat/Golongan : Penata Tk.I/IVb
8. Jabatan : -
9. Fakultas/Jurusan : Pertanian/Teknologi Hasil Pertanian
10. Alamat : Jl. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung
11. Telpon/Faks/E-mail : 0721-781823
12. Alamat Rumah : Jl. Sukardi Hamdani Va No.28 Bandar Lampung
13. Telpon/Faks/E-mail : 08154065368/otiknawansih@yahoo.co.id
14. Jumlah Anggota Peneliti : 2 orang

Nama Anggota : 1. Dr.Ir. Tanto Pratondo Utomo, M.Si.

 2. Dr. Sri Hidayati, STP., M.P.

5. Lokasi Penelitian : Bandar Lampung

6. Jumlah biaya disetujui : Rp. 7.500.000; (Tujuh juta lima ratus ribu rupiah)

 Bandar Lampung, 6 November 2018

Mengetahui,

a.n. Dekan Fakultas Pertanian Ketua Peneliti,

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerjasama

Prof.Dr.Dermiati, M.Agr.Sc. Ir. Otik Nawansih, M.P.

NIP. 196308041987032002 NIP. 196505031990102001

Menyetujui,

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat

Ir. Warsono, M.S., Ph.D.

NIP. 196302161987031003

**DAFTAR ISI**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Nomor** |  |  | **Hal** |
|  |  | Halaman Pengesahan | i |
|  |  | Daftar Isi | ii |
| **I** | **PENDAHULUAN** | 1 |
|  | 1.1 | Latar Belakang | 1 |
|  | 1.2 | Tujuan Penelitian | 3 |
| **II** | **TINJAUAN PUSTAKA** |  |
|  | 2.1 | Limbah Cair Industri Karet Remah | 5 |
|  | 2.2 | Mikroalga | 7 |
|  | 2.3 | Potensi Mikroalga | 10 |
|  | 2.4 | Faktor-Faktor Pertumbuhan Mikroalga | 15 |
|  | 2.5 | Jenis-jenis Mikroalga | 21 |
|  | 2.6 | Pemanenan Mikroalga | 27 |
| **III** | METODE PENELITIAN | 33 |
|  | 3.1 | Tempat dan Waktu Penelitian | 33 |
|  | 3.2 | Alat dan Bahan | 33 |
|  | 3.3 | Metode Penelitian | 34 |
|  | 3.4 | Pelaksanaan Penelitian | 35 |
|  | 3.5 | Pengamatan | 39 |
| **IV** | HASIL DAN PEMBAHASAN | 45 |
|  | 4.1 | Tahap I | 45 |
|  |  | Kepadatan Sel | 45 |
|  |  | Biomasa | 46 |
|  |  | Derajat Keasaman | 47 |
|  |  | Nitrogen Total | 48 |
|  |  | Orthopospat | 49 |
|  |  | DO | 50 |
|  |  | COD | 51 |
|  | 4.2 | Tahap II |  |
|  |  | Biomasa | 52 |
|  |  | COD | 55 |
|  |  | Derajat Keasaman | 56 |
|  |  | Salinitas | 57 |
|  |  | Nitrogen Total | 58 |

1. **PENDAHULUAN**
	1. **Latar Belakang**

Industri karet dalam aktivitas proses produksi termasuk karet remah akan menimbulkan limbah cair. Limbah cair muncul pada tahap koagulasi, penggilingan dan pencucian. Limbah tersebut mengandung bahan organik yang berasal dari serum dan partikel karet yang belum terkoagulasi ( Utomo *et al.*, 2012). Limbah cair karet mengandung N dan P yang cukup tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrien untuk pertumbuhan mikroalga (Hadiyanto *et al.*, 2012).

Mikroalga merupakan salah satu agen biologi akuatik yang dapat tumbuh dalam

kondisi pertumbuhan alternatif dengan kondisi daya adaptasi yang kuat. Beberapa

penelitian sebelumnya menyatakan bahwa mikroalga mampu dikultivasikan pada limbah cair karet tanpa menambahkan nutrient tambahan (Sriharti, 2014; Zulfarina et.al., 2013; Nawansih, *et.al.,* 2015). Mikroalga yang dikultivasi pada limbah cair karet selain menghasilkan biomassa juga memiliki peran yang penting dalam proses dekomposisi limbah cair karet sehingga dapat menurunkan beban cemaran (Munawaroh, 2016). Mikroalga menggunakan cahaya matahari, karbon dioksida (CO2), dan bahan organik seperti nitrogen dan phospat untuk fotosintesis. Oksigen yang dihasilkan dari proses fotosintesis mikroalga dimanfaatkan oleh bakteri aerob untuk mengoksidasi senyawa organik pada limbah cair karet (Wulan, 2015). Mikroalga yang tumbuh didalam limbah cair karet ini akan memanfaatkan nutrien limbah cair yaitu berupa unsur N dan P untuk pertumbuhan mikrolaga dan menyebabkan beban cemaran dalam limbah cair karet semakin berkurang.

Biomassa mikroalga terkandung bahan-bahan penting yang sangat bermanfaat, misalnya protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat. *Sprulina* sp. merupakan salah satu mikroalga yang mengandung protein tinggi yaitu 60–70% protein (Koru, 2012). Kandungan protein yang tinggi pada *Spirulina* sp. ini berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber pakan ternak alami. Pakan ternak sapi yang disubtitusi dengan *Spirulina platensis* berpengaruh terhadap peningakatan produktivitas dan kandungan susu sapi (Kulpys *et al.*, 2009). Selain kandungan protein yang cukup tinggi, *Spirulina* memiliki beberapa keunggulan dibanding mikroalga jenis lain yaitu relatif cepat berproduksi serta biomassa yang dihasilkan mudah dalam pemanenan

(Desmorieux *et al.*, 2006).

Salinitas limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif II 0 ppt sedangkan syarat salinitas untuk *Spirulina Platensis* 20-25 ppt (Christi, 2007). Salinitas merupakan salah satu faktor penting dalam pertumbuhan mikroalga terutama mikroalga laut. Dengan demikian perlu dilakukan pengaturan salinitas pada limbah cair industri karet remah untuk mengetahui titik optimum salinitas dari *Spirulina sp* dan dapat mengoptimalkan pertumbuhan dan produksi biomassa *Spirulina sp* . Pada penelitian Harimurti *et al*. (2013), pengkondisian salinitas limbah PT. SIER sebagai media kultivasi *Chlorella vulgaris* dan *Botryococcus braunii* dilakukan dengan penambahan garam NaCl.

Pemanenan sel mikroalga dengan flokulasi dianggap lebih baik daripada metode konvensional seperti sentrifugasi atau filtrasi karena dapat menghasilkan biomassa yang lebih baik secara kuantitas (Qasim *et al.*, 2000). Pemanenan *Nannochloropsis* sp. yang dikultivasikan pada limbah cair industri karet remah memperoleh efisiensi flokulasi sebesar 94,55% dicapai dengan flokulan aluminium sulfat (Al2SO4)3 dengan dosis 150 mg/L sampel (Hidayati, 2015). Flokulan kitosan yang digunakan pada pemanenan *Nannochloropsis sp.* menghasilkan biomassa optimal pada dosis 80 mg/L dengan 68% perolehan biomassa. Kitosan digunakan sebagai flokulan dalam pemanenan mikrolaga dikarenakan bersifat *biodegradable* dan terbuat dari kulit udang yang diasetilasi serta *non toxic* ( Sari *et al.*, 2016). Penggunaan flokulan ion magnesium dengan konsentrasi 4 mM dengan konsentrasi biomassa 0,2 g/L pada pemanenan mikroalga strain LIPI-LBB13-AL045 menghasilkan efisiensi 89,75% ( Praharyawan *et al*., 2017). Namun penggunaan jenis flokulan yang dapat menghasilkan biomassa yang optimal untuk pemanenan *Spirulina* sp. serta aman sebagai bahan suplemen pakan belum diketahui.

Berdasarkan latar belakang tersebut, dilakukan penelitian untuk mengetahui jenis flokulan yang terbaik bagi pemanenan *Spirulina* sp. sehingga dapat menghasilkan biomassa kering *Sprulina* sp yang optimal dan aman sebagai bahan suplemen pakan.

* 1. **Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui salinitas optimal media limbah cair industri karet remah sebagai media pertumbuhan dan produksi biomassa *Spirulina sp.*
2. Mendapatkan jenis flokulan yang terbaik pada pemanenan mikroalga *Sprulina* sp. dengan metode flokulasi dan aman sebagai bahan suplemen pakan.

**II. TINJAUAN PUSTAKA**

**2.1. Limbah Cair Industri Karet Remah**

Industri karet merupakan salah satu agroindustri dengan dampak positif sebagai penghasil devisa negara. Namun dampak negative timbul limbah cair yang bersumber dari tahap koagulasi, penggilingan dan pencucian. Limbah tersebut mengandung bahan organik yang berasal dari serum dan partikel karet yang belum terkoagulasi (Utomo *et al.*, 2012 ). Agroindustri karet remah (*crumb rubber*) menggunakan air dalam jumlah yang cukup banyak yaitu 25-40 m3/ton karet kering ( Maspanger *et al.*, 2004) sehingga volume limbah cair yang dihasilkan cukup tinggi yaitu 25 m3/ton karet kering, dengan kandungan bahan organik yang cukup tinggi terutama karbon, nitrogen, dan fosfor. Limbah cair industri karet remah mempunyai karakteristik: warna putih keruh, mengandung padatan tersuspensi, terlarut maupun mengendap. Limbah cair ini bersifat asam dengan nilai pH berkisar 4,2-6,3 dikarenakan penggunaan asam formiat pada proses koagulasi lateks (Wulan, 2015).

Limbah cair pabrik karet berbahan baku lateks kebun mengandung senyawa nitrogen sebesar 100-300 mg/L N-NH3 dan fosfor sebesar 20 mg/L P-PO4 (Utomo *et al.*, 2012). Kandungan bahan organik dalam limbah cair masih tinggi dengan nilai BOD 215 mg/l, COD 648 mg/l, Amonia 33 mg/l dan TSS 630 mg/l. Tingginya kandungan bahan organik dalam limbah cair karet menyebabkan diperlukannya penanganan maupun pengolahan yang tepat agar tidak menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan (Anggraini, 2016).

Limbah cair karet dengan kandungan nitrogen lebih dari 4.000 ppm dan unsur lainnya merupakan modal dasar yang dapat dijadikan sebagai media kultur dan budidaya mikroalga (Dedi *et al.,* 2010; Darussamin *et al.*,1989 dalam Panji dan Siswanto, 2007). Beberapa jenis mikroalga yang sudah berhasil dikultivasi pada limbah cair industri karet remah adalah *Chlorella* ( Sriharti, 2014 ), *Chlorella pyrenoidosa* ( Zulfarina et.al., 2013), *Botryococcus braunii*, *Spirulina* sp., *Tetraselmis* sp. Dan *Nannochloropsis* sp. ( Nawansih, *et.al.,* 2015 ). Menurut Hasil penelitian Zulfarina et al. (2013) dan Sriharti (2004) menunjukkan bahwa jenis mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dan *Chlorella* sp. dapat menurunkan kadar pencemar (COD) 52,6 dan 96,7 % pada limbah cair karet setelah dikultivasi selama 15 hari. *Chlorella vulgaris* yang dikultivasi pada media limbah cair karet selama 7 hari pada bioreaktor *closed pond* dengan penambahan pupuk NPK dapat menurunkan beban. Berdasarkan penelitian Nawansih et.al., 2015 jenis mikroalga yang paling berpotensi dalam menghasilkan biomassa sebagai sumber protein pada media limbah cair karet remah serta dapat menurunkan cemaran adalah *Spirulina* sp. Kepadatan sel setelah 7 hari kultivasi mencapai 3878 x 104 sel/mL, menghasilkan biomassa sebesar 1,7282 g/L bk dengan kadar protein 12,13 %, serta mampu menurunkan beban cemaran N-NH3 sebesar 94% dan P-PO4 sebesar 71%.

**2.2. Mikroalga**

Mikroalga adalah kelompok tumbuhan berukuran renik yang termasuk dalam kelas alga, diameternya antara 3-30 μm, baik sel tunggal maupun koloni yang hidup di seluruh wilayah perairan tawar maupun laut, yang lazim disebut fitoplankton. Morfologi mikroalga berbentuk uniseluler atau multiseluler tetapi belum ada pembagian tugas yang jelas pada sel-sel komponennya. Hal itulah yang membedakan mikroalga dari tumbuhan tingkat tinggi (Romimohtarto, 2004). Budidaya mikroalga sangat menarik karena tingkat pertumbuhannya yang tinggi, mampu menyesuaikan pada kondisi lingkungan yang bervariasi. Mikroalga merupakan tumbuhan *thalus* yang berklorofil dan mempunyai pigmen tumbuhan yang dapat menyerap cahaya matahari melalui proses fotosintesis. Kandungan alami mikroalga terdiri dari zat gizi dan beberapa senyawa aktif seperti β-karoten, provitamin, mineral, pigmen dan asam lemak. Mikroalga memiliki kandungan protein yang sangat tinggi, sehingga mikroalga juga dikenal sebagai *single cell protein.* Jenis mikroalga yang berpotensi untuk pangan terdapat pada Tabel 1.

Mikroalga bisa termasuk mikroorganisme prokariot atau eukariot. Mikroalga prokariot terdiri dari sianobakter atau alga biru-hijau dan mirip dengan bakteri. Sel prokariot mikroalga tidak mempunyai organel terikat membran seperti plastid, nukleus atau mitokondria jadi melakukan fotosintesa di dalam sitoplasma bukan dalam organel-organel. Sel eukariot memiliki organel-organel untuk proses fotosintesa.

Tabel 1. Jenis mikroalga yang berpotensi untuk pangan.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Mikroalga | Protein | karbohidrat | Lipid |
| *Anabaena cylindria* *Aphanizomenon**flos-aquae**Chlamydomonas**rheinhardii**Chlorella**pyrenoidosa**Chlorella vulgaris* *Dunaliella salina*  *Euglena gracilis* *Spirulina platensis* *Spirulina maxima* *Nannochloropsis sp.**Synechococcus sp.*  | 43-5662485751-585739- 6146-6360-715263 | 25-3023172612-173214-188- 1413-162715 | 4-7321214-22614-204-96-731-6811 |

Sumber (Becker, 2007).

Sebagian besar mikroalga memiliki inti yang membantu fungsi sel untuk melakukan metabolisme, bertahan dan reproduksi (Adetola 2011). Mikroalga dapat bersifat autotrof, heterotrof atau miksotrof. Mikroalga utotrof menggunakan cahaya dalam proses fotosintesa sebagai sumber energi. Mikroalga heterotrof menggunakan karbon organik dari luar sebagai sumber energi seperti glukosa, asetat dan tidak memerlukan cahaya matahari untuk pertumbuhannya. Beberapa spesies mikroalga merupakan miksotrof yang mampu berfotosintesa dan menggunakan nutrisi dari luar untuk energi. Autotrof atau heterotrof tergantung pada sumber apa yang tersedia.

Pertumbuhan mikroalga terdiri dari empat fase yaitu antara lain :

1) Fase lag

Fase lag adalah fase adaptasi terhadap kondisi lingkungan (media tumbuh). Pada fase ini sel tetap hidup tetapi tidak berkembang biak. Lamanya fase tergantung pada inokulan yang dimasukkan. Kultur yang diinokulasikan pada fase logaritmik akan mengalami fase lag yang singkat. Sebaliknya kultur yang diinokulasikan berasal dari fase tua akan mengalami fase lag yang lebih lama karena membutuhkan waktu untuk menyusun enzim-enzim yang tidak aktif lagi.

2) Fase logaritmik/eksponensial

Ditandai dengan naiknya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat beberapa kali lipat. Pada fase ini, sel yang sedang aktif berkembang biak.

3) Fase stasioner

Ditandai dengan seimbangnya laju pertumbuhan dengan laju kematian. Jumlah sel cenderung tetap diakibatkan sel telah mencapai titik jenuh. Pertumbuhan sel baru dihambat oleh keberadaan sel yang telah mati dan faktor pembatas lainnya.

4) Fase kematian

Ditandai dengan berkurangnya kepadatan sel karena laju kematian lebih

tinggi dari laju pertumbuhan.

Dalam siklus makanan diperairan, mikroalga berperan sebagai produsen utama. Diperkirakan bahwa 40% fotosintesis secara global dilakukan oleh mikroalga (Aung *et al.,* 2013). Mikroalga dapat menjadi alternatif sumber produk alami yang kontinyu dan terpercaya, karena mikroalga dapat dikultivasi dalam bioreaktor dalam skala besar (Chen, 1996). Selain itu kondisi sel mikroalga dapat dikontrol, dengan menggunakan media yang bersih dalam pertumbuhannya, sehingga mereka tidak terkontaminasi herbisida, pestisida dan substansi toksik lainnya (Lubian *et al.,* 2000). Mikroalga telah dikenal sebagai sumber berbagai pigmen berharga yaitu *chlorophyl a, zeaxanthin, canthaxanthin dan astaxanthin* (Rocha *et al.,* 2003).

Menurut Hanif, M., *et.al*,( 2014) mikroalga dapat diproses menjadi produk yang lebih bernilai dengan kombinasi teknik yang ramah lingkungan. Produk yang bernilai tersebut adalah sebagai berikut :

1. Sebagai suatu tumbuhan untuk mengatasi emisi CO2 dalam asap buangan pabrik yang bersuhu tinggi
2. Untuk menurunkan kadar pencemar dalam perairan seperti nitrogen, fosfor, logam berat, maupun limbah radioaktif.
3. Mikroalga sebagai sumber kimia dan bioaktif mikroalga dapat diekstraksi dan diambil zat–zat nya
4. Mikroalga sebagai pakan hewan dan budidaya perairan
5. Mikroalga dapat dijadikan sumber energi baru terbarukan pengganti bahan bakar minyak.

**2.3. Potensi Mikroalga**

Harun *et.al*, (2010) memaparkan beberapa produk yang dapat dihasilkan dari

mikroalga, diantaranya:

1. **Produk Energi**

Mikroalga berpotensi sebagai sumber energi terbarukan karena memiliki

kandungan yang dapat diolah menjadi beberapa jenis senyawa seperti biodiesel,

bioethanol, dan methana.

a. Biodiesel

Biodiesel Mikroalga, dalam hal ini adalah tumbuhan yang memiliki kandungan

lemak nabati, berpotensi untuk dijadikan sumber biodiesel. Salah satu sumber yang dapat diperbaharui, memiliki pertumbuhan lebih cepat dari tanaman lain,

membutuhkan lahan dan air yang sedikit, adalah mikroalga. Salah satu alternatifnya yakni dengan membudidayakan mikroalga pada limbah cair industri yang masih memiliki kandungan nutrisi sehingga dapat dimanfaatkan oleh mikroalga sebagai media pertumbuhannya.

Tabel 2. Jenis mikroalga untuk biodiesel

|  |  |
| --- | --- |
| Mikroalga | Kandungan lemak (lipid)berat kering |
| Chlorella sp. Schizochytrium sp. Nannochloropsis sp. Botrycoccus braunii  | 28-32%50-77%31-68%25-75% |

 Sumber : Chisti, 2007.

b. Bioethanol

Bioethanol dapat diproduksi dengan cara fermentasi maupun gasifikasi. Mikroalga yang mengandung karbohidrat dan protein yang tinggi dapat dimanfaatkan sebagai produk bioethanol dengan metode fermentasi. Beberapa contoh mikroalga yang mengandung karbohidrat & protein tinggi terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3 Kandungan Karbohidrat dan Protein dari Mikroalga

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Mikroalga | Karbohidrat (%) | Protein (%) |
| *Porphyridium cruentum* *Prymnesium parvum* *Spirogyra sp.* *Dunaliella salina*   | 40-57 25-3333-6432 | 28-3928-454957 |

 Sumber : Becker, 1994.

1. **Produk Pangan dan Organik**

Mikroalga dapat digunakan dalam aplikasi yang lebih luas. Selain sebagai produk

pangan, mikroalga juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan, biopolimer

penghasil plastik, sebagai suplement, obat-obatan, dan keperluan medis lainnya.

1. Omega 3

Mikroalga secara alami memiliki kandungan asam lemak omega-3 sehingga

dapat dimanfaatkan untuk suplement bernilai tinggi (Handayani, et al 2011). Sumber omega-3 dapat ditemui dalam bentuk *eicosapentanoic acid* (EPA) dan

*decosahexaenoic acid* (DHA). EPA secara umum digunakan untuk farmasi seperti obat migrain, jantung, asma, dan beberapa penyakit berbahaya lainnya. Jenis mikroalga penghasil EPA sebagai contoh adalah *Pavlova vidiris*, *Nannochloropsis* sp. Sama halnya dengan EPA, DHA juga berperan penting dalam bidang medis. Berdasarkan laporan paramedis, DHA dapat digunakan untuk melawan kangker, AIDS, serangan jantung, menurunkan kolesterol, meningkatkan sistim imun, dan detoksifikasi (mengeluarkan racun) dari tubuh. Mikroalga yang tumbuh di air lautlebih dominan menghasilkan DHA. *Schizochytrium mangrove*, mikroalga air laut, dapat menghasilkan DHA 33-39% dari total asam lemak.

1. Klorofil

Klorofil secara medis berfungsi sebagai penawar pada organ hati, memperbaiki sel, dan meningkatkan haemoglobin dalam darah. Chlorofil juga dapat digunakan sebagai sumber pigmen pada kosmetik dan pangan. Salah satu mikroalga penghasil chlorofil tertinggi adalah *Chlorella* sp. Mirkoalga jenis Spirulina platensis dikenal luas sebagai suplement yang mengandung kadar protein tinggi hingga mencapai 68% dan kandungan vitamin lain. Kandungan protein ini lebih tinggi dari daging, kedelai, ikan, dan telur. Beberapa mikroalga lain yang mengandung protein tinggi seperti Chlorella sp juga dapat digunakan sebagai pakan alami untuk beberapa jenis udang tertentu. Selain itu mikroalga penghasil protein dapat digunakan untuk suplement pakan ternak yang berfungsi menurunkan lemak dan menambah kadar protein pada daging.

1. Karotenoid

Karotenoid dihasilkan dari beberapa jenis mikroalga seperti algae hijau biru seperti pada Tabel 3.

.

**3. Mikroalga sebagai sumber Pakan Alami**

Mikroalga merupakan sumber pakan alami yang populer bagi peternak unggas,

pembudidaya ikan, dan sapi. Beberapa jenis mikroalga dapat dimanfaatkan sebagai suplemen yang dicampurkan pada pelet atau makanan ternak lainnya. Kulpys, *et.al*. (2009) melakukan penelitian tentang pengaruh penambahan *Spirulina platensis* terhadap produktivitas dan kandungan susu sapi. Selama 90 hari dilakukan uji coba penambahan *Spirulina* dengan dosis 200 gram diperoleh hasil sapi menjadi lebih gemuk 8.5-11%, dengan produktivitas susu 29 kg/ hari tanpa penambahan alga, menjadi 36 lt/hari. Selain itu mikroalga juga dapat digunakan sebagai suplemen bagi hewan pelihataan. Seperti yang diinformasikan dalam situs *Spirulina*source.com, *Spirulina platensis* dapat digunakan untuk beberapa hewan peliharaan seperti pada Tabel 4.

Tabel. 3 Beberapa contoh mikroalga yang menghasilkan senyawa karotenoid

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Karotenoid** | **Fungsi** | **Species mikroalga** |
| Beta karotein Lutein Zeaxanthin  | -Nutrisi esensial yang diubah tubuhmenjadi vitamin A-Antioksidan lemah, tapi efektif dalammenghambat oksigen tunggal.-Menstimulasi enzim-enzim untukmemperbaiki DNA yang rusak-Meningkatkan aktivitas sel-sel imun-Melindungi kornea mata dari sinar UV-Pigmentasi warna kuning dan hijaupada berbagai jenis makanan-Bersama dengan zeaxantin merupakanpenyusun setengah karotenoid dalamretina mata-Melindungi mata dari degenerasi dankatarak-Dapat berperan dalam melawan kankerKolonBersama dengan lutein merupakan jeniskarotenoid satu-satunya dalam makulamata-Menyerap sinar biru yangmembahayakan tubuh-Melindungi mata dari degenerasi dankatarak | *Dunaliella salina,**Scenedesmus almeriensis,**Soelastrella striolata**Hematococcus pluvialis*,*Chlorella sorokiniana**Scenedesmus almerientis* |

Sumber : Guedes, *et al.*, (2011) dan Best, (2012).

Tabel 4. Manfaat Spirulina untuk beberapa jenis hewan peliharaan

|  |  |
| --- | --- |
| Hewan Peliharaan | Manfaat |
| Burung Kucing Anjing Unggas  | Meningkatkan kualitas bulu, warna bulu,fertilitas, meningkatkan sistem imunitasMenyehatkan kulit, mencegah penyakitkanker dan infeksi viralMenyehatkan kulit, mencegah penyakitdermatitis, meningkatkan daya tubuhMenurunkan risiko kematian |

**4. Mikroalga untuk Pengolahan Limbah**

Mikroalga dapat digunakan untuk pengolahan limbah organik. Secara teknis,

mikroalga menyerap kandungan senyawa organik dan nutrien yang masih tersisa

dalam limbah, dan menghasilkan oksigen yang dapat menurunkan kadar COD dan

BOD dalam limbah lewat bantuan bakteri pengurai zat organik (Hadiyanto et al,

2012). Selain itu mikroalga dapat menyerapa beberapa senyawa berbahaya yang

terdapat dalam limbah.

* 1. **Faktor-Faktor Pertumbuhan Mikroalga**

Secara umum pertumbuhan fitoplankton dipengaruhi oleh kondisi perairan yang meliputi:

1. Salinitas

Kisaran salinitas yang berubah-ubah dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Beberapa mikroalga dapat tumbuh dalam kisaran salinitas yang tinggi tetapi ada juga yang dapat tumbuh dalam kisaran salinitas yang rendah. Namun, hampir semua jenis mikroalga dapat tumbuh optimal pada salinitas sedikit dibawah habitat asal. Pengaturan salinitas pada media yang diperkaya dapat dilakukan dengan pengenceran menggunakan air tawar. Kisaran salinitas yang paling optimum untuk pertumbuhan mikroalga adalah 25-35 ppt (Sylvester et.al, 2002).

1. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Perubahan suhu berpengaruh terhadap proses kimia, biologi dan fisika, peningkatan suhu dapat menurunkan kelarutan bahan dan dapat menyebabkan peningkatan kecepatan metabolisme dan respirasi mikroalga di perairan. Secara umum suhu optimal dalam kultur mikroalga berkisar antara 20-24 oC. Suhu dalam kultur diatur sedemikian rupa bergantung pada media yang digunakan. Suhu di bawah 16 oC dapat menyebabkan kecepatan pertumbuhan turun, sedangkan suhu diatas 36 oC dapat menyebabkan kematian. Beberapa fitoplankton tidak tahan terhadap suhu yang tinggi. Pengaturan suhu dalam kultur fitoplankton dapat dilakukan dengan mengalirkan air dingin ke botol kultur atau dengan menggunakan alat pengatur suhu udara (Taw, 1990).

1. Derajat Keasaman (pH)

Variasi pH dalam media kultur dapat mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan kultur mikroalga antara lain mengubah keseimbangan karbon anorganik, mengubah ketersediaan nutrien dan mempengaruhi fisiologi sel. Kisaran pH untuk kultur alga antara 7-9, kisaran optimum untuk alga laut berkisar antara 7,8-8,5. Secara umum kisaran pH yang optimum untuk kultur mikroalga adalah antara 7–9, kisaran optimum untuk alga laut berkisar antara 7,8-8,5. Semakin tinggi kerapatan sel pada medium kultur menyebabkan kondisi medium kultur meningkat tingkat kebasaannya (pH semakin tinggi) dan hal itu menyebabkan peningkatan CO2 terlarut dalam medium kultur (Wijanarko et.al, 2007). Aktifitas fotosintesis akan turun maksimum 33% ketika ph turun pada 5,0 (Colman dan Gehl, 1983).

1. Karbondioksida

Karbondioksida (CO2) merupakan faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroalga (Hoshida et.al, 2005). Karbondioksida diperlukan oleh mikroalga untuk membantu proses fotosintesis. Karbondioksida dengan kadar 1-2% biasanya sudah cukup digunakan dalam kultur mikroalga dengan intensitas cahaya yang rendah. Kadar karbondioksida yang berlebih dapat menyebabkan pH kurang dari batas optimum sehingga akan berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga (Taw, 1990).

Mikroalga dapat menyerap CO2 pada kisaran pH dan konsentrasi gas CO2 yang berbeda. Efisiensi dari penyerapan CO2 oleh mikroalga tergantung dari pH kultivasi dan dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi gas CO2. Semakin tinggi konsentrasi gas CO2 maka semakin besar pula pembentukan biomassa yang terjadi. Gas CO2 diserap oleh mikroalga dan digunakan untuk proses biofiksasi menghasilkan biomassa (Olaizola, *et al.,* 2004). Penggunaan karbondioksida pada kultivasi  mikroalga memiliki beberapa keuntungan, seperti mikroalga tumbuh di air, lebih  mudah diamati pertumbuhannya daripada tumbuhan tingkat tinggi, mikroalga dapat tumbuh sangat cepat dan mikroalga tidak membutuhkan tempat atau lahan  yang sangat luas untuk tumbuh (Benemann, 1997).

1. Nutrien

Mikroalga memperoleh nutrien dari air laut yang sudah mengandung nutrien yang cukup lengkap. Namun pertumbuhan mikroalga dalam kultur dapat mencapai optimum dengan menambahkan nutrien yang tidak terkandung dalam air laut tersebut. Nutrisi yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga terdiri dari makro dan mikro nutrient. Untuk makro nutrient terdiri dari C, H, N, P, K, S, Mg dan Ca, sedangkan untuk mikro nutrient antara lain Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn dan Si. Faktor pembatas untuk mikroalga adalah N dan P (Dallaire et.al, 2007). Nutrien di dalam media kultur merupakan faktor yang tidak kalah penting dalam mempengaruhi pertumbuhan dan kandungan nutrisi mikroalga. Beberapa komponen yang memiliki peranan penting diantaranya: Mangan (Mn) sebagai komponen struktural membran kloroplas (Laura dan Paolo, 2006) dan merupakan aktivator enzim pada reaksi terang fotosintesis (Prihatini, 2007). Magnesium (Mg) berperan sebagai kofaktor dalam pembentukan asam amino dan klorofil, Besi (Fe) berperan dalam sintesis klorofil dan sintesis protein-protein penyusun kloroplas, Seng (Zn) diperlukan dalam proses pembentukan klorofil dan mencegah kerusakan molekul klorofil (Bidwell, 1979). Secara umum defisiensi nutrien pada mikroalga mengakibatkan penurunan protein, pigmen fotosintesis, serta kandungan produk karbohidrat dan lemak (Healey, 1973).

1. Aerasi

Aerasi dalam kultivasi mikroalga digunakan dalam proses pengadukan media kultur. Pengadukan sangat penting dilakukan bertujuan untuk mencegah terjadinya pengendapan sel, nutrien tersebar dengan baik sehingga mikroalga dalam kultur mendapatkan nutrien yang sama, mencegah sratifikasi suhu, dan meningkatkan pertukaran gas dari udara ke media (Taw, 1990). Komposisi udara normal terdiri atas gas nitrogen 78,09 %, oksigen 20,95 %, dan karbondioksida 0,93%, sementara selebihnya berupa gas argon, neon, kripton, xenon dan helium sekitar 0,03% (BLH Prop.Sumut, 2010).

1. Cahaya

Cahaya merupakan sumber energi dalam proses fotosintesis yang berguna untuk pembentukan senyawa karbon organik. Intensitas cahaya sangat menentukan pertumbuhan mikroalga yaitu dilihat dari lama penyinaran dan panjang gelombang yang digunakan untuk fotosintesis. Cahaya berperan penting dalam pertumbuhan mikroalga, tetapi kebutuhannya bervariasi yang disesuaikan dengan kedalaman kultur dan kepadatannya. Kedalaman dan kepadatan kultur yang lebih tinggi menyebabkan intensitas cahaya yang dibutuhkan tinggi. Intensitas cahaya yang terlalu tinggi dapat menyebabkan fotoinhibisi dan pemanasan. Penggunaan lampu dalam kultur mikroalga minimal dinyalakan 18 jam per hari, hal tersebut dilakukan sampai mikroalga dapat tumbuh dengan konstan dan normal

(Coutteau, 1996).

Pada kondisi gelap, mikroalga tidak melakukan proses sintesa biomassa melainkan mempertahankan hidupnya dengan cara melakukan respirasi sel sehingga medium kultur menjadi jenuh oleh senyawa karbonat yang tidak dimanfaatkan mikroalga. Hal ini menyebabkan pengurangan proses transfer gas CO2 ke dalam medium kultur (Wijanarko et.al, 2007). Namun pada akhirnya antara kondisi terang maupun gelap menghasilkan produksi biomassa yang konstan karena CTR (*Carbon Transfer Rate*) pada umumnya memiliki nilai yang tinggi pada awal masa pertumbuhan dimana konsentrasi gas CO2 di dalam medium kultur masih di bawah ambang kejenuhan, sehingga gas CO2 lebih mudah larut dalam medium kultur. Selain itu, kenaikan jumlah sel yang sangat besar mempertinggi penyerapan gas yang terlarut dalam bentuk HCO3- oleh mikroalga. CTR kemudian akan cenderung menurun seiring dengan waktu karena terjadinya ketidaksetimbangan antara peningkatan jumlah sel dengan besarnya biofiksasi CO2 yang mengakibatkan produksi biomassa menjadi konstan kemudian menurun.

Adanya pertumbuhan dalam kultur mikroalga ditandai dengan bertambahnya jumlah sel mikroalga dan bertambah besarnya ukuran sel (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Faktor pertumbuhan mikroalga mempengaruhi hasil biomassa, maupun jenis produk yang diinginkan. Terkadang biomassa yang sedikit menghasilkan produk yang diinginkan dalam jumlah banyak, untuk itu diperukan optimasi komposisi yang seimbang antara banyaknya biomassa dan banyaknya produk dalam biomassa mikroalga. Beberapa faktor penting bagi produksi mikroalga skala massal di antaranya (1) intensitas cahaya, (2) suhu, (3) media pertumbuhan (4) pH, dan (5) salinitasi (Hadiyanto & Azim, 2012).

Kandungan nutrien dalam setiap jenis mikrolaga berbeda-beda. Biomassa mikroalga kaya nutrien antara lain asam lemak omega 3 dan 6, asam amino esensial (leusin, isoleusin, valin, dan lain-lain), dan karoten. Beberapa jenis mikroalga juga memiliki kandungan protein yang tinggi. Asam amino pada mikroalga lebih baik jika dibandingkan dengan sumber protein makanan yang lain (Hasanah, 2011). Selain itu jika dibandingkan dengan sumber lain seperti yeast maupun fungi, mikroalga memiliki keunggulan di aspek keamanannya. Jika di bandingkan dengan protein bersel tunggal yang bersumber dari mamalia, mikroalga lebih unggul di bidang efisiensi dan kemudahan dalam produksinya (Nur, 2014).

**2.5. Jenis-Jenis Mikroalga**

**2.5.1. *Spirulina sp.***

Salah satu jenis mikroalga yang memiliki rentang hidup yang luas di media tumbuhnya adalah Spirulina platensis (Khoirunisa et.al.,2012). *Spirulina* sp. merupakan mikroalga bersifat multiseluler yang termasuk dalam golongan *cyanobacterium* mikroskopik berfilamen, memiliki lebar spiral antara 26-36 μm dan panjang spiralnya antara 43-57 μm (Yudiati *et al.,* 2011).  *Spirulina* sp. adalah makhluk hidup autotroph berwarna kehijauan, kebiruan, dengan sel berkolom membentuk filament terpilin menyerupai spiral (helix) sehingga disebut juga dengan alga biru hijau berfilamen (cyanobacteria) (Riche Hariyati, 2008).

*Spirulina* (Gambar 1) memiliki dinding sel yang tipis dengan garis tengah sel berkisar 1-12 mikron. *Spirulina* bergerak dengan cara menggelinding sepanjang garis tengah selnya.  *Spirulina* merupakan mikroorganisme yang berkembang biak dengan cara membelah diri. *Spirulina* merupakan salah satu jenis mikroalga yang sangat berpotensi sebagai sumber pangan karena 1 are (0,4646 hektar) *Spirulina* dapat menghasilkan protein 20 kali lebih baik dari 1 are kedelai atau jagung dan 200 kali lebih baik daripada daging sapi (Kozlenko dan Henson, 1998; Tietze, 2004; Spolaore et.al., 2006). *Spirulina* dapat tumbuh dengan baik di danau, air tawar, air laut, dan media tanah. Mikroalga jenis ini termasuk mikroalga yang mudah untuk dibudidayakan, karena budidayanya dapat dilakukan di dalam maupun di luar ruangan.

Klasifikasi *Spirulina sp* menurut Bold dan Wynne (1985) adalah sebagai berikut:

Divisi : *Cyanophyta*

Kelas : *Cyanophyceae*

Famili : *Oscillatoriaceae*

Genus : *Spirulina*

Spesies : *Spirulina sp.*



Gambar 1. *Spirulina sp.* (Sciento, 2008)

Keunggulan dari *Spirulina sp* adalah kandungan nutrisi yang baik antara lain 60–70% protein, 13,5% karbohidrat, 4-7% lemak dan asam lemak (linolenic acid dan γ-linolenic acid), asam amino esensial (leusin, isoleusin, valine), pigmen (klorofil, fikosianin dan karotenoid) dan juga mengandung vitamin seperti provitamin A, vitamin B12 serta β-caroten (Koru, 2012). *Spirulina* memiliki banyak manfaat dan juga keistimewaan. Keistimewaan yang dimiliki *Spirulina* diantaranya adalah sebagai sumber protein nabati 100% bersifat alkali, dengan dinding sel yang lunak sehingga sangat mudah dicerna dan diserap oleh tubuh. Protein *Spirulina* 90% dapat dicerna karena mengandung enzim yang membantu dalam proses pencernaan (Riyono,2008).

Selain kandungan protein yang cukup tinggi, *Spirulina* memiliki beberapa keunggulan dibanding mikroalga jenis lain yaitu relatif cepat berproduksi serta biomassa yang dihasilkan mudah dalam pemanenan. Hal ini disebabkan karena ukuran biomassa *Spirulina* lebih besar sehingga dapat dipisahkan dari media melalui filtrasi menggunakan filter berukuran 20 μm. *Spirulina* mudah dicerna karena lapisannya berupa membran tipis bukan seperti selulosa yang sulit dicerna. Membran tersebut merupakan gugus gula yang mudah dicerna dan diserap (Desmorieux dkk, 1988).

Secara umum, *Spirulina* dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH 8-11, dengan intensitas cahaya 2000-3500 lux. Periode penyinaran yang umum digunakan adalah 12 jam, walau beberapa peneliti menyatakan bahwa pertumbuhan terbaik diperoleh pada periode penyinaran 16 jam dengan waktu gelap 8 jam pada intensitas cahaya 2000 ± 200 lux, temperatur 30 ± 1°C dan pH 9.1 (Santosa dan Limantara, 2007). Suhu terendah untuk Spirulina platensis untuk hidup adalah 15°C pertumbuhan yang optimal adalah 35- 40°C (Chritwardana, et.al 2013). *S. Platensis* dapat tumbuh baik pada salinitas 20-25 ppt, sedangkan untuk kandungan total lipid maksimum dibutuhkan salinitas 10-15 ppt (Christi, 2007). Salinitas akan mempengaruhi tekanan osmosis antara sel dan medium serta laju disosiasi senyawa organik nutrien alga. Bila salinitas terlalu tinggi akan mengakibatkan media pemeliharaan bersifat hipertonis terhadap sel dan mengakibatkan kurang baiknya penyerapan nutrien oleh sel. Ketersediaan nutrisi yang memadai dan sinar matahari yang cukup juga merupakan faktor penting yang mendukung pertumbuhan mikroalga ini.

* 1. **Teknik Kultivasi Mikroalga**

Kultivasi merupakan suatu teknik untuk menumbuhkan mikroalga dalam lingkungan tertentu yang terkontrol. Kultivasi bertujuan untuk menyediakan spesies tunggal pada kultur masal mikroalga untuk tahap pemanenan. Mikroalga dapat tumbuhdengan sangat cepat pada kondisi iklim yang tepat. Sebagian besar mikroalga menggunakan cahayadan karbondioksida (CO2) sebagai sumber energi dan sumber karbon (*organisme photoautotrophic*). Pertumbuhan optimum mikroalga membutuhkan temperatur air berkisar 15 - 30˚C. Media pertumbuhan juga harus mengandung elemen inorganik yang berfungsi dalam pembentukansel, seperti nitrogen, phospor, dan besi. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga, diantaranya faktorabiotik (cahaya matahari, temperatur, nutrisi, O2, CO2, pH, salinitas), faktorbiotik (bakteri, jamur, virus, dankompetisi dengan mikroalga lain), serta faktor teknik (cara pemanenan, dan lain - lain) (Harun et al,2010).

Terdapat dua proses yang paling menentukandalam proses bioteknologi mikroalga yaitu kultivasi serta pemanenan mikroalga. Mikroalga biasanya dikultivasi di sistem terbuka (*open pond system*) dan tertutup (*closed photobioreactors*) dengan diiluminasi baik dengan cahaya buatan ataupun cahaya matahari dengan tempartur 27- 30oC dan pH 6,5 - 8. *Open pond* merupakan sistem kultivasi mikroalga yang paling lama digunakan. *Open pond* dapat dikategorikan kedalam kolam yang menggunakan air alam seperti air danau, air tambak atau air kolam. Keuntungan dari *open pond* ini adalah mudah untuk dibuat, dan lebih murah dikarenakan hanya menggunakan sinar matahari untuk sistem fotosintesisnya dan tidak memerlukan banyak alat. Sebaliknya, kelemahan dari sistem *Open pond* ini merupakan sistemkolam terbuka dimana media dapat mengalami evaporasi akut, penggunaan karbondioksida (CO2) menjadi tidak efisien, mudah terkena kontaminan dan untuk sistem *open ponds* dengan volume kultur yang besar, sinar matahari tidak dapat sepenuhnya diserap oleh mikroalga di dasar kolam (Ugwu et al,2007).

Sistem *Open pond s*ini sering dioperasikan secara kontinyu dimana umpan segar (mengandung nutrisi termasuk nitrogen, phosphor, dan garam *inorganic*) ditambahkan di depan *paddlew heel* dan setelah bereda rmelalui loop-loop mikroalga tersebut dapat dipanen di bagian belakang dari *paddlewheel*. *Paddlewheel* digunakan untuk proses sirkulasi dan proses pencampuran mikroalgadengan nutrisi.



Gambar 2. Teknik budidaya mikroalgaopen raceway ponds (Chisti, 2007).

Sistem *photobioreactor* dikembangkan untuk mengatasi permasalahan kontaminasi dan evaporasi yang sering terjadi dalam sistem *open pond.* *Photobioreactor* memiliki rasio luas permukaan dan volume yang besar. Produktivitas mikroalga menggunakan *photobioreactor* dapat mencapai 13 kali lipat total produksi dengan menggunakan sistem *openraceway pond* (Chisti, 2007). Dalam sistem *photobioreactor* kontaminan dan parameter pertumbuhan seperti pH, temperatur dan karbondioksida dapat dikontrol dengan baik. Walaupun demikian, *sistem photobioreactor* memerlukan biaya tinggi sehingga pengetahuan dalam pemilihan sistem kultivasi mikroalga sangat diperlukan.



Gambar 3. Teknik budidaya mikroalga photobioreactor (Chisti, 2007).

* 1. **Pemanenan Mikroalga**

Dalam proses kultivasi mikroalga, sebelum diperoleh biomassa terdapat satu proses yang harus dilakukan terlebih dahulu, yaitu proses pemanenan atau *harvesting* atau *dewatering.* Pemanenan adalah proses pemisahan antara medium dan mikroalga secara separasi padat-cair. Proses ini berfungsi untuk memisahkan biomassa mikroalga yang terdapat di dalam reaktor dengan mediumnya, sehingga diperoleh biomassa dengan sedikit kandungan air. Beberapa metode pemanenan mikroalga diantaranya adalah sentrifugasi, filtrasi, sedimentasi dan flokulasi (Brennan, 2009).

**2.6.1. Sedimentasi**

Sedimentasi merupakan salah satu metode pemisahan material secara fisik dengan memanfaatkan gaya gravitasi bumi. Cara kerjanya adalah dengan memisahkan biomassa dari medianya air berdasarkan perbedaan berat jenis atau ukuran antara biomassa dan air. Sehingga kecepatan pengendapan biomassa ditentukan oleh selisih perbedaan antara berat jenis dan ukuran partikel dengan medianya. Semakin besar perbedaan berat jenis dan ukuran partikel atau materi maka akan menyebabkan proses laju sedimentasi semakin cepat, demikian sebaliknya bila perbedaan densitas atau ukuran material kecil, maka proses sedimentasi juga akan berjalan lambat ( Milledgedan Heaven S., 2013).

Sedimentasi merupakan metode pemisahan padat-cair berdasarkan gravitasi. Hasil yang diperoleh dari metode ini adalah *slurry* terkonsentrasi dan cairan bening. Metode ini hanya dapat dilakukan terhadap partikel yang memiliki ukuran cukup besar, sehingga lebih banyak digunakan untuk separasi mikroorganisme yang lebih besar dengan yang lebih kecil. Efisiensi yang rendah dan waktu separasi yang lama menjadi kendala dalam metode ini ketika akan digunakan terhadap *C.vulgaris*, walaupun hanya menggunakan sedikit biaya operasi (Andersen, 2005).

**2.6.2. Sentifugasi**

Sentrifugasi merupakan proses pemisahan yang menggunakan gaya sentrifugal sebagai *driving force* untuk memisahkan padatan dan cairan. Proses pemisahan ini didasarkan pada ukuran partikel dan perbedaan densitas dari komponen yang akan dipisahkan. Mikroalga yang memiliki densitas lebih besar akan tertahan di bagian dasart abung. Metode kedua yaitu filtrasi, dimana metode ini bekerjadengan cara menahan atau memfilter padatan (mikroalga) yang terdapat pada medium yang dialirkan. Proses filtrasi yang paling efektif diaplikasika nuntuk proses pemanena nmikroalga dengan ukuran sel yang besar adalah filtrasi bertekanan atau filtrasi vakum. Namun proses filtrasi tidak cocok untuk operasi pemanenan mikroalga yang memiliki ukuran sel yang kecil seperti spesies Dunaliella (Pratama, 2011).

Metode ini menggunakan akselerasi sentripetal untuk memisahkan alga dengan mediumnya berdasar densitas. Sentrifugasi pada dasarnya adalah sedimentasi gravitasi yang ditingkatkan kemampuannya dengan mengubah akselerasi gravitasi (*g*) menjadi akselerasi sentrifugal (*rω*). Hampir semua tipe mikroalga dapat diseparasi dari media kulturnya dengan sentrifugasi. Namun, Brennan (2009) mengatakan metode ini hanya cocok untuk mikroalga dengan ukuran lebih besar dari 70 μm. Metode ini banyak dilakukan karena waktu separasi berlangsung secara cepat. Heasman (2000) mempelajari pengaruh kecepatan rotasi terhadap efisiensi panen, dengan kecepatan rotasi antara 1300 sampai 13000 *g*. Hasil yang diperoleh adalah efisiensi lebih dari 95% ketika kecepatan sentrifugasi maksimum (13000 *g*), yang kemudian menurun menjadi 60% pada 6000 *g* dan 40% pada 1300 *g*. Namun, waktu separasi yang singkat tersebut didapat dengan energi yang cukup besar. Uduman (2010) mengatakan bahwa energi yang diperlukan sebesar 8 kWh/m3 kultur mikroalga.

**2.6.3. Flokulasi**

Flokulasi adalah proses dimana partikel zat terlarut dalam larutan membentuk agregat yang disebut flok. Sel mikroalga umumnya berukuran 5-50μm. Sel mikroalga dapat membentuk suspensi cukup stabil dengan bahan kimia yang memiliki muatan negatif pada permukaannya. Bahan kimia yang biasadisebut

f lokulan ditambah ke dalam sistem untuk membantu proses flokulasi (Handayani et al, 2012). Terdapat dua tipe flokulan yang digunakan yaitu flokulan inorganik dan flokulan polimer organik/ polielektrolit (Uduman, N., et.al, 2010). Pemanenan sel mikroalga dengan flokulasi dianggap lebih baik daripada metode konvensional seperti sentrifugasi atau filtrasi karena dapat menghasilkan biomassa yang lebih baik secara kuantitas (Febiana, 2015).

Pemanenan sel mikroalga dengan flokulasi dianggap lebih baik daripada metode konvensional seperti sentrifugasi atau filtrasi, karena dapat menghasilkan biomassa yang lebih besar secara kuantitas. Metode ini juga mudah untuk dilakukan dan dengan sedikit menggunakan energi. Walaupun demikian, metode ini memiliki beberapa kekurangan secara teknis dan ekonomi, seperti biaya flokulan yang mahal, tingkat racun flokulan, dan sulitnya untuk diperbesar (Pratama, 2011). Pada sistem pemanenan filtrasi diperoleh berat kering biomassa terendah yaitu 3,899 ± 0,073 gr, pemanenan centrifuge sebesar 4,242 ± 0,129 gr dan pemanenan flokulasi yang tertinggi sebesar 5,65 ± 0,026 gr (Djunaedi, 2015). Flokulan yang umum digunakan dalam pemanenan mikroalga adalah NaOH. Berdasarkan penelitian Pratama (2011), pemanenan *Chlorella vulgaris* dengan NaOH memiliki efisiensi flokulasi terbaik sebesar 94,49% yang dicapai pada dosis 4 mL NaOH /100 mL sampel. Pada penelitian Febiana (2015), pemanenan *Nannochloropsis* sp. yang dikultivasikan pada limbah cair industri karet remah dengan NaOH dengan dosis 200 mg/L sampel memiliki efisiensi flokulasi sebesar 72,91% dan efisiensi flokulsi terbaik sebesar 94,55% dicapai dengan flokulan aluminium sulfat (Al2SO4)3 dengan dosis 150 mg/L sampel.

Beberapa jenis flokulan dengan dosis dan pH optimum yang dibutuhkan untuk proses flokulasi mikroalga (Uduman, N., et.al, 2010). Semakin tinggi dosis flokulan maka semakin tinggi persen perolehan biomassa. Flokulan nanomagnetik kitosan lebih banyak menghasilkan biomassa dibandingkan dengan flokulan kitosan. Dosis kitosan terbaik adalah 80 mg dan nanomagnetik kitosan 120 mg/L (Alvika et.al, 2016).

Tabel 5. Jenis flokulan dengan dosis dan pH optimum.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Flokulan | Dosis optimal (mg/L) | pH optimal |
| Inorganik Alum Feri sulfat KapurPolimerik Purifloc Zetag 51 Dow 21M Dow C-31 Khitosan | 80-250 70-90 500-70035 10 10 1-5 100 | 5,3-5,6 3,0-9,0 10,5-11,53,5 >9 4,0-7,0 2,0-4,0 8,4 |

 Sumber; Uduman, N., et.al, 2010

**2.6.4. Filtrasi**

Filtrasi merupakan suatu metode pemanenan, dimana medium dan mikroalga dialirkan melalui filter yang kemudian mikroalga akan tersaring/terfilter, sedangkan medium akan tetap mengalir melewati filter. Alga yang tersaring dalam filter akan menghasilkan pasta alga (Danquah, 2009). Filter yang telah terisi mikroalga inilah yang kemudian dipisahkan untuk diambil biomassanya. Filter dapat dibuat dari bahan *sponge*, kanvas, keramik, nilon, dakron, logam atau *fiberglass*. Metode filtrasi banyak digunakan dalam pemanenan karena memiliki kelebihan energi yang digunakan kecil. Dalam artikelnya, Uduman (2010), mengatakan bahwa energi yang dibutuhkan untuk filtrasi alami sebesar 0,4 kWh/m3 dan filtrasi bertekanan sebesar 0,88 kWh/m3. Selain itu, metode ini mudah untuk dilakukan dan biaya operasional yang relatif kecil. Ada dua bentuk dasar filtrasi yang digunakan, yaitu filtrasi permukaan dan filtrasi kedalaman. Filtrasi permukaan (*surface filtration*) menghasilkan *cake* pada permukaan media filter, sedangkan pada filtrasi kedalaman (*deep bed filtration*) mikroalga yang tersaring berada di dalam media filter. Berdasarkan alirannya, filtrasi dapat dibagi menjadi dua macam, yaitu filtrasi kontinu dan filtrasi semikontinu. Filtrasi kontinu berlangsung secara terus menerus dimana filter digunakan terus menerus, dan ketika telah penuh oleh padatan filter diambil dan langsung diganti dengan filter yang berbeda, sedangkan filtrasi semi-kontinu berlangsung dalam beberapa saat. Berdasarkan jenisnya, filtrasi dapat dibedakan menjadi beberapa macam, yaitu *dead end filtration,* mikrofiltrasi, ultrafiltrasi, filtrasi bertekanan, filtrasi vakum, and *tangential flow filtration* (TFF) (Harun,2009). Filtrasi konvensional hanya mampu menangkap mikroalga dengan ukuran>70 μm (Brennan, 2009), sedangkan untuk mikroalga yang berukuran <30 μm harus digunakan filtrasi membran atau ultrafiltrasi (Petrusevski, 1995).

**III. METODE PENELITIAN**

**3.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Mei - Agustus 2018 di Laboratorium Fitoplankton dan Laboratorium Kualitas Air Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung dan Laboratorium Pengelolaan Limbah Agroindustri Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

**3.2. Alat dan Bahan**

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

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah cair industry karet remah *outlet* kolam Fakultatif II yang berasal dari Instalasi Pengolahan Air Limbah PTPN VII Unit Usaha Way Berulu, kultur murni *Spirulina* sp. yang diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung, air laut, aluminium sulfat (Al2(SO4)3), *chitosan*, magnesium sulfat (MgSO4), natrium klorida (NaCl), aquades, reagen cair PO4-1, kertas *whatman,* Natrium Sulfat (Na2SO4), asam klorida (HCl), natrium hidroksida (NaOH), kalium sulfida (K2S), kalium dikromat (K2Cr2O7), HgSO4, pupuk conwy, SnCl2, asam sulfat (H2SO4) pekatdan indikator phenolphthalein.

**3.3. Metode Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap : Tahap I adalah optimasi salinitas media limbah cair karet dengan perlakuan: 0 (control), 10, 20, 30 dan 40 ppt. Salinitas terbaik digunakan pada Tahap II yaitu pemilihan flokulan terbaik untuk pemanenan dengan menggunakan 3 jenis flokulan yaitu aluminium sulfat (Al2(SO4)3), *chitosan* danmagnesium sulfat (MgSO4). Media pertumbuhan yang digunakan adalah *outlet* limbah cair industri karet remah (LCKR) dari kolam Fakultatif II yang diatur salinitas dengan volume kerja masing-masing 5 L. Tahap kultivasi dilakukan dengan mempersiapkan bibit *Spirulina* sp. sebanyak 25% v/v kerja pada media yang dibiakkan selama 7 hari. Setiap perlakuan pada Tahap I dan Tahap II diulang sebanyak tiga kali sehingga menghasilkan 3x3=9 satuan percobaan. Pengamatan kepadatan sel dilakukan setiap hari sedangkan pengamatan DO, pH, COD, salinitas, P-PO4, dan N-total dilakukan diawal dan diakhir kultivasi serta pengamatan biomassa kering dilakukan diakhir kultivasi. Biomassa diuji kadar protein. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik serta dianalisis secara deskriptif.

**3.4. Pelaksanaan Penelitian**

Prosedur pada penelitian Tahap I ebagai berikut:

Bibit *Spirulina* sp.

Persiapan media limbah cair karet remah yang diatur salinitasnya

(0,10,20,30, 40 ppt)

Kultivasi 1/3 bibit mikroalga di media air

laut volume 1000 mL

Analisis:

Kesadahan

DO

pH

P-PO4

N-total

Salinitas

COD

Penambahan limbah cair karet hingga volume 5 L (saat media menguap)

Kultivasi 1/3 bibit mikroalga di media air laut dan LCKR 25% volume 2000 mL

Kultivasi 1/3 bibit mikroalga di media air

Laut dan LCKR 50% volume 6000 mL

Kultivasi pada limbah cair karet fakultatif II 3750 mL dengan penambahan 1250 mL (25%) alga v/v selama 7 hari

Pengamatan:

Kepadatan sel

Pemanenan mikroalga *Spirulina* sp. dengan NaOH

Pengadukan cepat selama 1 menit dilanjutkan

pengadukan lambat selama 15 menit

Pengendapan selama 1 jam

Analisis:

DO

pH

P-PO4

N-total

Salinitas

Kesadahan

COD

Penyaringan dengan kertas saring dan kain satin

Pengamatan:

Berat kering

Protein/ proksimat

Gambar 4. Diagram alir penelitian Tahap I (Wulan, 2015) dimodifikasi

Persiapan media limbah cair karet remah yang diatur salinitasnya

Kultivasi 1/3 bibit mikroalga di media air

laut volume 1000 mL

Analisis:

DO

pH

P-PO4

N-total

Salinitas

COD

Kultivasi 1/3 bibit mikroalga di media air lautdan LCKR 25% volume 2000 mL

Penambahan limbah cair karet hingga volume 5 L (saat media menguap)

Kultivasi 1/3 bibit mikroalga di media air

Laut dan LCKR 50% volume 6000 mL

Pengamatan:

Kepadatan sel

Kultivasi pada limbah cair karet fakultatif II 3750 mL dengan penambahan 1250 mL (25%) alga v/v selama 7 hari

Pemanenan mikroalga *Spirulina* sp. dengan (Al2SO4)3 150 mg/L ,

Pemanenan *Spirulina* sp. dengan ion magnesium

Pemanenan *Spirulina* sp. dengan chitosan 80 mg/L

Pengadukan cepat selama 1 menit dilanjutkan

pengadukan lambat selama 15 menit

Analisis:

DO

pH

P-PO4

N-total

Salinitas

COD

Pengendapan selama 1 jam

Pengamatan:

Berat kering

Protein

Penyaringan dengan kertas saring dan kain satin

Gambar 5. Diagram alir penelitian Tahap II (Wulan, 2015) dimodifikasi

**3.4.1. Persiapan Inokulum**

Pembiakan kultur dilakukan secara bertahap dari volume kecil ke volume yang lebih besar (Amini dan Susilowati, 2010). Kultur awal dikultivasikan secara *Indoor* pada media kultur dengan penambahan pupuk *Conwy* sebanyak 1 mL/1 L air laut steril. Pembiakan *indoor* dilakukan dengan memasukkan 1/3 bagian bibit mikroalga kedalam Erlenmeyer dengan volume media kultur 100–300 mL. Selanjutnya apabila kepadatan mikroalga telah mencapai maksimal, kultur dapat dipindahkan dalam media dengan volume lebih besar (500–1000 mL). Setelah satu minggu kultur dapat dipindahkan ke volume yang lebih besar lagi (6000 mL).

**3.4.2. Pengkondisian Media**

Media yang digunakan untuk kultivasi *Spirulina* sp. adalah limbah cair industri karet remah dari *outlet* kolam Fakultatif II yang berasal dari PTPN VII Unit Usaha Way Berulu. Sebelum digunakan sebagai media kultivasi, limbah cair karet dari *outlet* kolam Fakultatif II diatur salinitasnya dengan penambahan NaCl sampai 30 ppt. Setelah itu media kultivasi dianalisis untuk mengetahui nilai awal dari *Dissolved Oxygen* (DO), pH, P-PO4, COD dan N-total.

**3.4.2. Kultivasi**

Kultivasi *Spirulina* sp. dilakukan pada sistem kolam terbuka (*open pond*) dengan dimasukkan kedalam reaktor berkapasitas 5 Liter. Reaktor dilengkapi dengan aerasi untuk memenuhi kebutuhan CO2 *Spirulina* sp. dan sekaligus berfungsi sebagai sirkulasi air media pertumbuhan. Sebelum dikultivasi, dilakukan pengukuran kepadatan sel untuk mengetahui kepadatan awal bibit Mikroalga. Konsentrasi kultur mikroalga yang dibiakkan sebanyak 25% v/v (1250 mL) pada 3750 mL limbah cair industri karet remah dari *outlet* Fakultatif II + NaClsampai 30 ppt. Kultivasi berlangsung selama 7 hari. Setiap hari, kepadatan sel mikroalga selalu diukur untuk memantau laju perkembangan selnya (Kawaroe dkk, 2012). Selama proses kultivasi, volume media akan selalu diukur dan dijaga volumenya agar selalu tetap 5000 mL.

**3.4.3. Pemanenan**

Pemanenan *Spirulina* sp.dilakukan dengan cara menambahkan flokulan

aluminium sulfat (Al2SO4)3 sebanyak 150 mg/L, chitosan adalah 80 mg/L, nanochitosan 120 mg/L. Pemanenan *Nannochloropsis* sp. dengan flokulan (Al2SO4)3 pada dosis 150 mg/L volume akhir memiliki efisiensi flokulasi terbaik yaitu sebesar 94,55%. Semakin tinggi dosis flokulan maka semakin tinggi persen perolehan biomassa. Flokulan nanomagnetik kitosan lebih banyak menghasilkan biomassa dibandingkan dengan flokulan kitosan. Dosis kitosan terbaik adalah 80 mg dan nanomagnetik kitosan 120 mg/L. Setelah ditambahkan masing-masing flokulan, dilakukan pengadukan cepat selama 1 menit, dilanjutkan pengadukan lambat selama 15 menit secara manual menggunakan pengaduk kaca. Proses pengendapan dilakukan selama 1 jam setelah pengadukan selesai agar biomassa *Spirulina* sp. terendapkan secara optimal. Setelah itu, dilakukan penyaringan menggunakan 2 lapis kain satin kemudian filtratnya disaring lagi dengan kertas saring. Setelah semua *yield* tertampung pada kain satin dan kertas saring, *yield* dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105oC hingga berat konstan, selanjutnya akan dianalisis lebih lanjut meliputi penimbangan biomassa kering.

**3.5. Pengamatan**

Pengamatan yang dilakukan terbagi menjadi beberapa waktu. Pengamatan yang dilakukan pada media kultur sebelum dilakukan kultivasi adalah *Dissolved Oxygen* (DO), salinitas, pH, P-PO4, CODdanN-total. Pengamatan yang dilakukan setiap harinya adalah kepadatan sel, dan rendemen yang dihasilkan. Pengamatan yang dilakukan setelah kultivasi adalah analisa adalah *Dissolved Oxygen* (DO), salinitas,COD, pH, P-PO4, N-total dan perolehan biomassa kering.

**3.5.1.*Dissolved Oxygen* (DO) ( SNI 06-6989.14-2004)**

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

**3.5.2. Salinitas**

Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan alat *hand refractometer.* Sebelum digunakan *hand refractometer* dikalibrasi terlebih dahulu pada salinitas 0 ppt menggunakan aquades. Selanjutnya dilakukan pengukuran salinitas sampel dengan meneteskan sampel pada bagian kaca prisma *hand refractometer* kemudian dilihat ditempat yang bercahaya. Nilai salinitas sampel dapat dilihat pada garis batas antara bidang berwarna biru dan putih.

**3.5.3. Derajat Keasaman (pH) (SNI 06-6989.11-2004)**

Analisis pH dilakukan di tahap awal sebelum kultivasi dan di tahap akhir setelah kultivasi. Alat yang digunakan adalah pH meter. pH meter dikalibrasi terlebih dahulu sebelum digunakan, setelah itu elektroda dimasukkan kedalam limbah cair untuk diukur. Setelah angka pada pH meter tersebut stabil, catat hasil pengukuran pH.

### 3.5.4. Analisis P-PO4 (SNI 06-6989. 31-2005)

Analisis P-PO4 dilakukan di tahap awal sebelum kultivasi dan di tahap akhir

setelah kultivasi. menggunakan metode Pereaksi P pekat (larutan ammonium

molibdat). Sampel limbah cair karet sebanyak 25 mL yang telah disaring dengan

kertas *Whatman* no 42 dimasukkan ke dalam beakerglass 50 mL. Kemudian

ditambahkan 1 mL larutan ammonium molibdat dan 5 tetes larutan SnCl2.

Dikocok dan didiamkan selama 10 menit. Kemudian diukur dengan alat

*spektrophotometer* pada panjang gelombang 690 nm.

**3.5.5. Analisis COD (APHA 5220 D-1989)**

Larutan 10,216 g K2Cr2O7 dikeringkan pada suhu 150oC selama 2 jam, dilarutkan dengan 500 ml aquades, ditambahkan 169 ml asam sulfat pekat dan 33,3 HgSO4, didinginkan pada suhu kamar dan ditambahkan aquades sampai 1000 ml, dibuat larutan Kalium dikromat dengan konsentrasi rendah, dibuat menggunakan 1,022 g K2Cr2O7.  Kemudian dibuat reagen asam sulfamat dan dibuat reagen PHP (*Potassium Hydrogen Phthalate).* Masukan 2,5 ml sampel bila menggunakan ampul 10 ml. Tambahkan kalium dikromat 0,01667 M sebanyak 1,5 ml, lalu ditambahkan reagen asam sulfat pekat kemudian ditutup, dan dikocok beberapa kali sampai tercampur rata. Masukan ampul ke dalam *digester block* suhu 150oC dan reflux selama 2 jam, dinginkan pada suhu ruang dan jika setelah dipanaskan warna kuning berubah menjadi hijau, maka perlu dilakukan pengenceran. Demikian juga dengan blanko dilakukan hal serupa dengan sampel.

Dinginkan sampel setelah direflux dan biarkan partikel tersuspensi mengendap, lalu diukur absorbansi dengan panjang gelombang 420 nm atau 600 nm. Dalam pembuatan kurva standar yaitu dengan menyiapkan minimal 5 macam larutan standar *potassium hydrogen phthalate* (KHP). Nilai COD dihitung dengan rumus sebagai berikut:

**3.5.6. Biomassa**

Analisis biomassa diukur dengan menghitung berat basah dan berat kering mikroalga. Berat basah mikroalga diukur dengan menimbang biomassa basah yang diperoleh dari penyaringan dengan kain satin dan kertas saring. Untuk memperoleh berat kering mikroalga, maka dilakukan pengukuran kadar air pada biomassa basah mikroalga. Penentuan kadar air dilakukan dengan mengeringkan bahan dalam oven pada suhu 105-110ºC selama 4 jam atau sampai didapat berat yang konstan. Selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air yang Diuapkan. Kadar air dalam mikroalga dihitung menggunakan persamaan (AOAC, 1995):

Keterangan:

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

Perhitungan perolehan biomassa kering sampel dapat dilakukan dengan rumus:

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

**3.5.7. Kadar Protein (AOAC 960.52-1995)**

Sampel ditimbang 1 g, dimasukkan dalam labu Kjeldahl. Kemudian ditambahkan 7,5 g kalium sulfat dan 0,35 g raksa (II) oksida dan 15 ml asam sulfat pekat. Dipanaskan semua bahan dalam labu Kjeldahl dalam lemari asam sampai berhenti berasap dan pemanasan dilanjutkan sampai mendidih dan cairan sudah menjadi jernih. Dilakukan pemanasan kurang lebih 30 menit, pemanas dimatikan dan dibiarkan sampai dingin. Selanjutnya ditambahkan 100 ml aquadest dalam labu Kjeldahl yang didinginkan dalam air es dan beberapa lempeng Zn, ditambahkan 15 ml larutan kalium sulfat 4% (dalam air) dan ditambahkan perlahan-lahan

larutan natrium hidroksida 50% sebanyak 50 ml yang telah didinginkan dalam lemari es. Labu Kjeldahl dipasang dengan segera pada alat destilasi. Labu Kjeldahl dipanaskan perlahan-lahan sampai dua lapis cairan tercampur, kemudian dipanaskan dengan cepat sampai mendidih. Destilat ditampung dalam Erlenmeyer yang telah diisi dengan larutan baku asam klorida 0,1N sebanyak 50 ml dan indikator merah metil 0,1% b/v (dalam etanol 95%) sebanyak 5 tetes, ujung pipa kaca destilator dipastikan masuk ke dalam larutan asam klorida 0,1N. Proses destilasi selesai jika destilat yang ditampung lebih kurang 75 ml. Sisa larutan

asam klorida 0,1N yang tidak bereaksi dengan destilat dititrasi dengan larutan baku natrium hidroksida 0,1 N. Titik akhir titrasi tercapai jika terjadi perubahan warna larutan dari merah menjadi kuning. Kemudian dilakukan titrasi blanko.

Kadar protein dihitung dengan persamaan berikut :

Keterangan :

Fk : faktor koreksi

Fk N : 16

**3.5.8. Kepadatan Sel Mikroalga (Amini dan Susilowati, 2010)**

Pengamatan kepadatan sel mikroalga dilakukan setiap hari pada saat kultivasi dengan metode numerik untuk menghitung jumlah sel mikroalga. Alat yang digunakan untuk menghitung kepadatan sel adalah Mikroskop, *sedgwick rafter* dan *hand counter.* Kepadatan sel *Spirulina* sp. dihitung menggunakan *sedgwick rafter* dengan cara mengambil 1 mLsampel, kemudian ditutup dengan gelas penutup. Penghitungan dilakukan denganmenghitung jumlah unit yang terdapat dalam *sedgwick rafter* dibawah mikroskopdengan bantuan *hand counter*. Pada setiap penghitungan dilakukan dua kalipenghitungan dan jumlah tertinggi yang dijadikan data jumlah sel terhitung.Kepadatan *Spirulina* sp. dihitung dengan rumus: Jumlah sel× 103 unit/mL.

**3.5.9. N-Total ( SNI 19-7030-2004)**

Analisis N-total limbah cair industri karet remah dilakukan dengan menggunakan metode Gunning yaitu dengan cara memasukan 0,5 – 1 g sampel ke dalam labu Kjeldahl kemudian ditambahkan Na2SO4 dan K2S dengan perbandingan (7:1) sebanyak 1 g. Setelah itu ditambahkan H2SO4 pekat sebanyak 10 mL dan didestruksi pada suhu 100oC sampai larutan berwarna bening kemudian didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan aquades sebanyak 100 mL dan NaOH 40% sebanyak 30-40 mL. Destilat ditampung dengan HCl 0,1 N sebanyak 25 mL, proses destilasi dihentikan apabila volume destilat sudah mencapai 150 mL. Setelah itu ditambahkan indikator phenolphthalein sebanyak 3 tetes dan dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda. Selanjutnya dibuat larutan blanko dengan mengganti sampel dengan aquades. Kandungan N-total dihitung dalam % N kemudian % N dikonversi dalam satuan ppm. Perhitungan % N menggunakan rumus berikut:

**IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Tahap I. Optimasi Salinitas**

**Kepadatan Sel *Spirulina sp*.**

Kepadatan sel merupakan indikator untuk mengetahui pertumbuhan mikroalga di dalam media kultur. Hasil pengamatan kepadatan sel *Spirulina sp.*. dalam media limbah cair industri karet remah dengan salinitas yang sudah diatur disajikan pada Gambar 6.

Gambar 6. Kepadatan Sel *Spirulina sp*. selama 7 hari kultivasi pada media limbahcair karet remah dengan salinitas 0, 10, 20, 30, dan 40 ppt.

Pada media perlakuan salinitas 20 ppt memiliki kepadatan sel tertinggi dibanding perlakuan salinitas media lainnya dengan kepadatan optimum mencapai 11.330 sel/ml pada hari ke-7 kultivasi. Hal ini diduga karena salinitas media 20 ppt memenuhi syarat pertumbuhan optimum *Spirulina sp*. Syarat salinitas untuk mikroalga jenis *Spirulina sp.* untuk tumbuh dengan baik yaitu 20-25 ppt (Christi, 2007). Sedangkan pada salinitas media yang ekstrim (0 ppt dan 40 ppt) pertumbuhan nyaris tidak terjadi. Menurut Ru’yatin et al.(2015), salinitas berpengaruh terhadap organisme dalam mempertahankan tekanan osmotik dengan lingkungannya. Apabila salinitas sudah sesuai maka akan terjadi keseimbangan tekanan osmosis antara sel *Spirulina sp* dengan media limbah cair industri karet remah sehingga pertumbuhan dan perkembangan *Spirulina sp.* tidak terganggu.

Kepadatan sel optimum *Spirulina sp.*. dari semua perlakuan kultivasi berkisar antara 3000 sel/mL sampai 11500 sel/mL. Kepadatan sel yang diperoleh lebih rendah dibandingkan kepadatan sel *Spirulina sp* pada penelitian yang dilakukan oleh Budiardi *et al* (2010) yang mencapai 24000 sel/ml pada hari akhir kultivasi di dalam media air laut dengan perlakuan pencahayaan selama 18 jam. Kepadatan sel *Spirulina sp* dari penelitian ini masih belum optimal, diduga karena adanya kontaminan protozoa yang memakan sel *Spirulina sp* (berdasarkan pengamatan dengan mikroskop).

**Biomassa**

Perolehan biomassa pada media dengan salinitas 20 ppt paling besar yaitu 0,579 g/L dibandingkan perlakuan media lainnya (0,261-0,488 g/L). Hasil perolehan bobot kering biomassa pada penelitian ini lebih besar dari hasil penelitian Suharyanto *et al* (2014) untuk jenis mikroalga *Spirulina sp* biomassa kering yang dihasilkan 0,25 g/L dengan media limbah cair kelapa sawit kultivasi sistem fotobioreaktor kontinyu.

Hasil uji proksimat biomassa terbaik mengandung air 11%, kadar protein 42,74%, kadar lemak 5,05%, kadar abu 36,79% dan karbohidrat 4,42%. Pada penelitian yang dilakukan Rafiqul et al. (2005), kandungan protein *Spirulina* sp. fusiformis yang dikultur dalam medium Zarouk mencapai 61,8%. Menurut Cohen (1997), *Spirulina* sp. termasuk golongan cyanobacteria yang memiliki kandungan lemak yang rendah, *Spirulina* sp. hanya mengandung 6-10% lemak yang setengahnya merupakan asam lemak.

Kadar abu yang diperoleh pada penelitian ini sangat tinggi, yaitu 36,79%. Hal ini disebabkan karena tingginya kandungan garam pada media. Hal ini sejalan dengan pernyataan Sudarmadji.(2007) yang menyatakan bahwa kadar abu ada hubungannya dengan dengan mineral suatu bahan.

**Derajat Keasaman (pH)**

Pada penelitian ini terjadi peningkatan pH pada semua perlakuan media limbah cair industri karet remah menjadi 7,8-10,5 setelah pemanenan. Kenaikan nilai pH dapat disebabkan oleh bertambahnya ion hidroksil dalam kultur akibat asimilasi CO2 dan HCO3- oleh *Spirulina* sp. Ketika CO2 berdifusi ke dalam air, maka akan terbentuk asam karbonat (H2CO3), Asam karbonat berdosiasi secara spontan menjadi ion karbonat (CO32-) dan ion bikarbonat (HCO3-). Bertambahnya periode kultur mengakibatkan penurunan jumlah bikarbonat dan terjadi akumulasi karbonat dalam kultur. Akumulasi karbonat akan meningkatkan nilai pH pada kultur karena karbonat merupakan senyawa paling basa diantara senyawa C lainnya (HCO3- dan CO2)(Suantika dan Hendrawandi, 2009).

**Nitrogen Total**

Hasil pengukuran N-total sebelum kultivasi dan setelah pemanenan disajikan pada Gambar 7. Berdasarkan hasil pengukuran N-total awal pada media limbah cair industri karet remah sebelum kultivasi yaitu 4,59 mg/L, setelah dilakukan pemanenan menunjukkan penurunan kandungan N-total pada setiap perlakuan media salinitas media limbah cair industri karet remah sebesar 64-69%. Berdasarkan penelitian Komalasari (2015), ammonia (NH3) merupakan bentuk nitrogen utama yang terdapat dalam limbah cair industri karet remah. Amonia bersifat toksik dann tidak dimanfaatkan oleh alga tetapi ammonia dapat dimanfatkan oleh alga apabila mengalami perubahan bentuk transisi dari ammonia menjadi ion ammonium.

Menurut Goldman dan Horne (1983), reaksi pembentukan ammonium terjadi sebagai berikut :

NH3 + H2O ↔NH4OH↔ NH4 + OH-

Penurunan kandungan N-total pada semua perlakuan media kultivasi menunjukkan bahwa *Spirulina* sp. menggunakan nitrogen sebagai nutrient pertumbuhannya yaitu untuk proses sintesis protein dan pembentukan biomassa. Namun kandungan N-total setelah kultivasi masih terbilang cukup besar yaitu berkisar1,40-1,64 mg/L.

Gambar 7. Kandungan N-total pada berbagai kondisi salinitas media limbah cair industri karet remah.

**Ortophospat (P-PO4)**

Hasil pengukuran ortofosfat sebelum kultivasi dan setelah pemanenan disajikan pada Gambar 8. Terjadi penurunan kandungan P-PO4 pada semua perlakuan salinitas media limbah cair industri karet remah setelah dilakukan kultivasi *Spirulina* sp. Fosfor di dalam sistem perairan dapat dimanfaatkan oleh alga dan tumbuhan air berupa senyawa ortofosfat (Jones-Lee dan Lee, 2005). Penurunan P-PO4 pada semua perlakuan media limbah cair industri karet remah yaitu sebesar 50-58%. Penelitian ini menunjukkan bahwa limbah cair industri karet remah dapat dimanfaatkan sebagai media tumbuh mikroalga dan juga dapat menurunkan kadar batas fosfat dalam air limbah dimana batasan fosfat untuk kesuburan perairan tidak melebihi 40 mg/L (Lapu, 1994).

Gambar 8. Kandungan P-PO4 pada berbagai kondisi media limbah cair industri karet remah sebelum dan setelah kultivasi.

**Dissolved Oxygen (DO)**

DO limbah cair karet remah pada analisis awal penelitian atau sebelum kultivasi untuk semua perlakuan di media limbah cair industri karet remah 1,3 mg/L. Setelah dilakukan kultivasi selama 7 hari pada masing-masing perlakuan mengalami peningkatan yang cukup signifikan sebesar 74-80% atau 5,29-6,00 mg/L. Hasil DO yang diperoleh pada penelitian ini sesuai dengan Standar baku mutu KEPMEN LH No. 51 tahun 2004 kisaran DO untuk kegiatan fitoplankton yaitu berkisar antara 5,47-7,00 mg/L. *Spirulina* sp. adalah mikroba fotosintetik yang menghasilkan oksigen selama proses fotosintesis. Menurut Hadiyanto et al., (2010), mikroalga menggunakan cahaya untuk bermetabolisme CO2 menjadi biomassa CH2O dengan bantuan sinar dan air sesuai dengan reaksi tersebut :

CO2 + H2O + cahaya → CH2O + O2

Reaksi tersebut disebut proses fotosintesis dimana oksigen juga dihasilkan sebagai hasil samping. Hal inilah yang membuat nilai DO pada semua perlakuan media limbah cair industri karet remah meningkat. Namun kenaikan DO akibat hasil fotosintesis mikroalga sebagian akan dikonsumsi oleh bakteri aerobik pendegradasi bahan organik yang terdapat pada limbah cair karet. Selama kultivasi berlangsung diduga terjadi simbiosis mutualisme antara mikroalga dan bakteri aerob dalam media limbah cair industri karet remah. Karbondioksida merupakan salah satu dari produk yang dihasilkan oleh metabolisme bakteri. Karbondioksida ini digunakan oleh alga selama proses fotosintesis, dan sebaliknya bakteri memanfaatkan oksigen yang dihasilkan oleh mikroalga untuk mengoksidasi bahan organik dalam limbah (Siregar dan Hermana, 2012).

**Chemical Oxygen Demand (COD)**

Kadar COD pada saat setelah dilakukan kultivasi mengalami peningkatan dari 390 mg/L menjadi 480 mg/L. Hal ini diduga karena masih banyaknya senyawa organik di dalam filtrat serta kurang optimalnya pertumbuhan bakteri aerobic pendegradasi bahan organic karena pH tinggi (8-9,8). Proses pemanenan *Spirulina sp*. pada penelitian ini menggunakan kain plankton net, sehingga diduga masih ada *Spirulina sp*. yang berukuran lebih kecil yang tidak ikut tersaring dan masih berada di dalam filtrat. Selain *Spirulina sp*. terdapat protozoa ataupun alga parasit yang berbentuk seperti benang di media limbah cair industri karet remah pada hari ke-7 kultivasi yang tidak ikut tersaring di kain plankton net. Sel *Spirulina sp*. dan alga parasit yang berbentuk benang dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Gambar filtrat setelah pemanenan dengan menggunakan mikroskop.

**Tahap II Pemilihan Flokulan Terbaik untuk Pemanenan**

 **Biomassa Mikroalga *Spirulina sp.***

Hasil pengukuran biomassa mikroalga *Spirulina sp.* setelah 7 hari kultivasi disajikan pada Gambar 10. Biomassa tertinggi diperoleh pada perlakuan kitosan sebesar 0,6127 g/L. Hal ini diduga penggunaan flokulan kitosan dengan dosis80 mg/L pada pemanenan mikroalga *Spirulina sp.* mempunyai pH yang mendekati optimal untuk efektivitas kerja kitosan pada saat pemanenan yaitu 10,07. pH optimal untuk pemanenan dengan menggunakan kitosan adalah 9,9 (Sirin *et al.*, 2012).

Gambar 10. Perolehan biomassa *Spirulina sp.* pada masing-masing perlakuan.

Flokulasi menggunakan MgSO4 menghasilkan biomassa sebesar 0,5226 g/L dari kepadatan sel 56 ×103 sel/mL. Perolehan biomassa yang lebih kecil dibandingkan dengan penggunaan kitosan diduga karena pH yang belum optimal yaitu 10,30. Presipitasi magnesium hidroksida terjadi pada nilai pH di atas 10,50 dan presipitat yang terbentuk memiliki muatan positif pada nilai pH hingga 11,50. Menurut Praharyawan *et al.* (2017) dan pH optimal untuk kultur dengan penggunaan flokulan ion magnesium adalah 11,75.

Perolehan biomassa pada flokulasi dengan Al2(SO4)3 sebesar 0,4356 g/L dari kepadatan sel 49,7×103 sel/mL. Perolehan biomassa dengan menggunakan Al2(SO4)3 lebih kecil dibandingkan dengan penggunaan flokulan lain diduga karena pH pada saat pemanenan kurang optimal untuk efektifitas kerja Al2(SO4)3 yaitu sebesar 9,83. Berdasarkan peneltian Hidayati *et.al.* (2015), penggunaan Al2(SO3)4 dengan dosis 150 mg/L pada pemanenan *Nannochloropsis sp.* pada pH 5,36. Menurut Morain *et al.*(1980) dan Friedman *et al.*(1977) dalam Shelef *et al* (1984) fungsi alum sebagai flokulan akan bekerja optimum pada pH 5,3-5,6.

Hasil uji proksimat disajikan pada Gambar 11. Kadar air pada masing-masing perlakuan tidak jauh berbeda yaitu berkisar antara 9,42-10,50%. Kadar air tertinggi

pada flokulan kitosan yaitu 10,50%, MgSO4 sebesar 9,88% dan Al2(SO4)3 sebesar 9,42%. kandungan protein tertinggi diperoleh pada pemanenan menggunakan ion magnesium dengan kadar protein sebesar 40,68%, diikuti dengan perlakuan aluminium sulfat sebesar 33,16% dan kadar protein pada perlakuan kitosan sebesar 31,58%. Perbedaan kandungan protein pada masing-masing perlakuan ini diduga karena adanya perbedaan komposisi bahan penyusun lain yang berbeda. Berdasarkan Gambar 11 kadar abu pada perlakuan kitosan lebih besar dibandingkan dengan perlakuan yang lain, hal ini duga menyebabkan kecilnya kadar protein yang terkandung pada perlakuan kitosan dan sama hal nya yang terjadi pada perlakuan Al2(SO4)3. Sedangkan flokulasi dengan MgSO4 mempunyai kadar abu lebih rendah dari yang lain sehingga protein lebih tinggi.

Pada penelitian ini kandungan protein mikroalga *Spirulina sp.* berkisar antara 31,58-40,68%. Menurut Ben-Amotz (2009), suatu bahan dapat memenuhi syarat untuk dijadikan sebagai sumber protein pangan dan pakan apabila memiliki kadar protein sebesar 20-50%. Kadar lemak yang diperoleh pada biomassa kering mikroalga adalah 3,89-5,43%. Kandungan lemak tertinggi pada flokulan aluminium sulfat sebesar 5,43%, flokulan MgSO4 5,12% dan perlakuan kitosan 3,89%. Menurut Koru (2012) kandungan lemak pada *Spirulina* sp.berkisar 4-7%. Kadar abu biomassa kering *Spirulina sp.* berkisar antara 43,23-51,79%. Tingginya kadar abu pada penelitian ini diduga karena adanya penambahan garam pada media kultur sebanyak 1,6 mg/L. Proses evaporasi yang terjadi pada media kultur pun diduga menyebabkan adanya pengendapan garam yang menghasilkan kadar abu yang tinggi pada biomassa. Kandungan karbohidrat pada penelitian ini berkisar antara 1,09-2,24%.

Gambar 11. Kandungan proksimat Mikroalga *Spirulina sp.*

***Chemical Oxygen Demand* (COD)**

Hasil pengukuran COD sebelum kultivasi dan setelah pemanenan dengan berbagai jenis flokulan disajikan pada Gambar 12. Kandungan COD pada media kultur sebelum kultivasi sebesar 390 mg/L. Kandungan COD media kultur mengalami sedikit penurunan pada perlakuan kitosan menjadi 379 mg/L atau sebesar 2,8%. Penurunan COD pada panambahan flokulan kitosan tidak terlalu besar hal ini diduga karena bakteri aerob tidak optimal melakukan degradasi senyawa organik pada media kultur disebabkan pH media kultur yang cukup tinggi terlihat pada hari ke 7 kultivasi sebesar 9,88. Menurut Moertinah (2010) bakteri aerob bertahan pada pH 6,5 – 8,5.

Berbeda halnya dengan perlakuan kitosan, perlakuan aluminium sulfat dan ion Mg mengalami sedikit kenaikan kandungan COD. Kandungan COD pada perlakuan aluminium sulfat naik menjadi 392 mg/L atau sebesar 0,5% dan kenaikan pada perlakuan MgSO4 menjadi 395 mg/L atau sebesar 1,3%. Kenaikan COD dapat disebabkan karena adanya pertambahan senyawa organik pada media kultur. Berdasarkan perolehan biomassa, penambahan flokulan aluminium sulfat dan ion Mg menghasilkan biomassa yang lebih kecil dibandingkan dengan kitosan, hal ini diduga karenanya *loss yield* pada saat penyaringan dan menyebabkan bertambahnya senyawa organik dari sel mikroalga sehingga terjadi kenaikan nilai COD filtrat pada flokulasi menggunakan aluminium sulfat dan MgSO4.

Gambar 12. Kandungan COD limbah cair karet sebelum kultivasi dan setelah pemanenan.

**Derajat Keasaman (pH)**

Hasil pengukuran pH limbah cair karet setelah 7 hari kultivasi dan setelah pemanenan. Penurunan pH tertinggi terjadi pada perlakuan aluminium sulfat 9,79 menjadi 9,50, diikuti dengan penggunaan flokulan MgSO4 juga mengalami sedikit penurunan pH yaitu dari 9,80 menjadi 9,63, hal ini diduga karena terbentuknya asam sulfat pada media kultur akibat penambahan flokulan-flokulan tersebut. Perlakuan kitosan mengalami penurunan pH dari pH awal 9,88 menjadi 9,77. Penurunan pH yang gerjadi pada perlakuan kitosan ini diduga disebabkan oleh adanya asam asetat dengan konsentrasi 1% yang ditambahkan untuk melarutkan kitosan yang digunakan untuk pemanenan.

**Salinitas**

Salinitas awal limbah cair karet adalah 0 ppt, sebelum kultivasi salinitas diatur 20 ppt dengan menambahan garam (NaCl) sebanyak 1,6 mg/L. Pengukuran salinitas setelah pemanenan (Gambar 13). Pada ketiga perlakuan flokulan menunjukan kenaikan salinitas tertinggi yaitu pada flokulasi MgSO4 hingga 23 ppt. Kenaikan salinitas ini terjadi diduga karena adanya penambahan ion magnesium yang merupakan salah jenis senyawa garam. MgSO4 yang tidak berikatan dengan sel mikroalga akan tersaring bersama filtrat dan menyebabkan kenaikan salinitas. Menurut Santosa (2014) salah satu garam yang terdapat didalam air laut adalah magnesium (magnesium klorida dan sulfat) yang berpengaruh terhadap salinitas dan mengendap berdasarkan tingkat kelarutannya.

Pada perlakuan aluminium sulfat dan kitosan salinitas media kultur mengalami kenaikan menjadi 22 ppt. Aluminium sulfat dan kitosan tidak termasuk kedalam senyawa garam, namun kedua jenis perlakuan ini mengalami kenaikan salinitas diduga disebabkan oleh sistem *open pond* menurut Nawansih *et al.* (2016), bioreaktor sistem *open pond* memiliki kelemahan yaitu terjadinya evaporasi akut yang dibuktikan dengan penurunan volume hingga 24,3 %. Hasil metabolisme atau pengendapan garam dan nutrient pada media kultur dapat menyebabkan kenaikan salinitas kultur (Rostini, 2007). Meskipun aluminium sulfat dan kitosan tidak berpengaruh terhadap kenaikan sainitas karena bukan termasuk senyawa garam, namun kenaikan salinitas terjadi dikarenakan adanya proses evaporasi media kultur.

Gambar 13. Salinitas limbah cair karet remah sebelum kultivasi dan setelah pemanenan.

**N-total dan Ortofosfat (P-PO4)**

Hasil pengukuran N-total sebelum kultivasi dan setelah pemanenan dengan flokulan disajikan pada Gambar 14. Kandungan N-total media kultur sebelum kultivasi adalah 4,590 mg/L. Penurunan N-total tertinggi yaitu pada perlakuan kitosan yaitu menjadi 0,219 mg/L atau sebesar 95%, perlakuan MgSO4 turun menjadi 0,219 mg/L atau sebesar 93% dan perlakuan aluminium sulfat turun menjadi 0,584 mg/L atau sebesar 88%. Berkurangnya kadar N-total media kultur disebabkan nitrogen yang terdapat didalam media kultur dikonsumsi oleh mikroalga *Spirulina sp.* Penambahan flokulan kitosan, aluminium sulfat dan MgSO4 pada saat pemanenan diduga tidak mempengaruhi kadar N-total pada filtrat.

Gambar 14. N-total pada media sebelum kultivasi dan setelah pemanenan.

Hasil pengukuran ortrofosfat sebelum dan setelah kultivasi disajikan pada Gambar 15. P-PO4 mengalami penurunan pada semua perlakuan dan hampir sama. Kandungan P-PO4 dalam media kultur sebelum kultivasi adalah 57,00 mg/L. Penurunan kandungan P-PO4 terbesar pada perlakuan kitosan menjadi 25,79 mg/L atau sebesar 55%, selanjutnya perlakuan ion Mg mengalami penurunan menjadi 27,15 mg/L atau 52% dan pada perlakuan aluminium sulfat turun menjadi 28,29 mg/L atau sebesar 50%. Penurunan P-PO4 disebabkan mikroalga *Spirulina sp.* memanfaatkan fosfor tersebut sebagai nutrisi selama pertumbuhannya. Penurunan kandungan ortofosfat dalam media kultur limah cair karet sejalan dengan nilai biomassa mikroalga *Spirulina sp*. biomassa mikroalga pada perlakuan kitosan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya (Gambar 2), semakin tinggi biomassa mikroalga *Spirulina sp.* jumlah P-PO4 yang dimanfaatkan semakin besar dan menyebabkan penurunan kandungan P-PO4  semakin besar.

Gambar 15. Kandungan P-PO4 sebelum kultivasi dan setelah pemanenan.

**V. KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan :

1. Salinitas terbaik limbah cair industri karet sebagai media kultivasi *Spirulina* sp. adalah 20 ppt. Kepadatan sel yang dihasilkan pada 7 hari kultivasi adalah 11.330 sel/ml, biomassa 0,579 g/L.
2. Flokulan terbaik untuk pemanenan *Spirulina* sp. adalah kitosan dengan hasil biomasa 0,6127 g/L. Biomasa tersebut mengandung air 10,50%, protein 31,58%., lemak 3,89%., abu 51,79 % dan karbohidrat 2,24%.

**DAFTAR PUSTAKA**

Alim, I. dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankto*: Yogyakarta. Kanisius.

Amini, S dan R, Susilowati. 2010. *Produksi biodiesel dari mikroalga Botryococcus braunii*. Squalen Vol. 5 (1): 23-30.

Andersen, R.A. 2005. Algal Culturing Technique. Elsevier Academic Press. UK.

Anggriary, R.D. 2012. *Perbandingan Kerapatan Sel dan Kandungan Klor Synechococcus sp. Rdb001 yang ditumbuhkan Pada Suhu 30±5 °c dan 50±5°c*. (Skripsi). Universitas Indonesia. Depok.

AOAC ( Association of Official Analytical Chemist). 1995. Official Methods of Analysis. Arlington, Inc. New York.

APHA (American Public Health Association). 1989. *Standard methods for the examination of water and waste water*. *American Public Health Association* (APHA). *American Water Works Association* (AWWA) *and Water Pollution Control Federation* (WPCF). 20th ed. Washington. 1193 hal.

Babadzhanov,A.S., N.Abdusamatova, F.M. Yusupova, N. Fayzullavea., N.G. Mezhlumyan dan M.K., Mailkova. 2004. *Chemical Composition of S. platensis Cultivated in Uzbekistan*. Chem.of Nat.Comp. 40, 3:276-279.

Badan Lingkungan Hidup Provinsi Sumatera Utara. 2015. *Laporan Status Lingkungan Hidup Daerah Provinsi Sumatera Utara tahun 2015*. Pemerintah Provinsi Sumatera Utara. Medan

Badan Pusat Statistik. 2014. *Statistik Karet Indonesia 2014*. Badan Pusat Statistik. Jakarta. 124 hlm.

Badan Pusat Statistik Provinsi Lampung. 2015. Potensi Karet di Lampung <http://regionalinvestment.bkpm.go.id/newsipid/commodityarea.php?ia=1> &ic=4. Diakses pada 5 Oktober 2015.

Badan Standarisasi Nasional. 2004. *Cara Uji Derajat Keasaman SNI 06-6989.11 2004*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.

Badan Standarisasi Nasional. 2004. *Cara Uji Oksigen Terlarut secara Yodometri SNI 06-6989.14-2004.* Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.

Badan Standarisasi Nasional 2004. *Spesifikasi Kompos dari Sampah Organik Domestik. SNI 19-7030-2004.* Badan Standardisasi Nasional Jakarta.

Badan Standarisasi Nasional. 2005. *Cara Uji Kadar Fosfat dengan Spektrofotometer secara Asam Askorbat SNI 06-6989. 31-2005*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.

Becker, E.W. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*.Cambridge University Press. Cambridge.

Benemann, G. 1997. *Characterization of Marine Microalga for Biofuel Production*. Journal of Biotechnology. 31, pp. 1367-1372.

Bidwell, R.G.S. 1979. *Plant Physiology* 2nd Ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New York. pp. 255-263

Bold,H.C, dan Wynne,M.J. 1985. *Introduction To The Algae*, Second Edition, Pretice-Hall Mc. Engelwood Cliffs. New York.

Borowitzka, M.A. 1988. *Algal Growth Media And Sources Of Algal Cultures. In : Borowitzka, M.A & L.J Borowitza (Eds)* Microalga Biotechnology. Cambridge University Press: Cambridge. pp. 456-465.

Brennan L., and Owende P. (2009). *Biofuels from Microalgae—A Review of Technologies for Production, Processing, and Extractions of Biofuels and Coproducts*.Renew Sustain Energy Rev, doi:10.1016/j.rser.2009.10.009.

Butcher, R. W. 1959. *An Introductory Account of the Smaller Algae of British CoastalWaters, Part 1 Introduction and Chlorophyceae*. Fishery Investigation Series IV. HMSO. London..

Colman B, Gehl KA. 1983. *Effect of External pH on The Internal pH of Chlorella saccharophila*. J Plant Phsiol 77 (4) : 917 – 921.

Cotteau P. 1996. *Microalgae. In Manual on Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper SorgeloosEdition. Roma.

Dallaire, B., Bernet, N., dan Bernard, O. 2007. *Anaerobic Digestion of Microalgae as a Necessary Step to Make Microalgae Biodiesel Sustainable*. Journal of Biotechnology Advances, 27, pp. 409-416.

Danquah M, Ang L, Uduman N, Moheimani N, Forde G. (2009). *Dewatering of Microalgal Culture for Biodiesel Production: Exploring Polymer Flocculation and Tangential Flow Filtration*. Journal of Chemical Technology andBiotechnology 2009;84:1078–83.

Desmorieux, H dan N. Decaen. 2006. Convective Drying of Spirulina in Thin Layer. *J Food Eng*.77:64-70.

Eykelenburg, V.C. 1977. *On the morphology and ultrastructure of the cell wall of Spirulina platensis*. Journal Microbiology. Serol. 43:89-99.

Fogg, G. E dan B. Thake. 1987. Algal *Cultures and Phytoplankton Ecology, 3rded.* The University of Wisconsin Press. Wisconsin.

Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2012. *AlgaeBase.* World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. 3 hlm. <http://www.algaebase.org>, 07 Mei 2012, pk. 23.17.

Hadiyanto dan M. Azim. 2012. *Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan,* Edisi Pertama. UPT Undip Press. Semarang.

Healey F. P. (1973), *Inorganic nutrient uptake and deficiency in algae*. CRC Critical Review in Microbiology, 69-113.

# Heasman, M. 2000. *Development of Extended Shelf-Life Microalgae Concentrate Diets Harvested By Centrifugation for Bivalve Mollusks*. Port Stephens Research Centre. Australia.

Hidayati, S., O. Nawansih dan V. Febiana. 2015.*Teknik Pemanenan Mikroalga Nannocloropsis sp* yang Dikultivasi dalam Media Limbah Cair Karet Remah dengan Flokulan Aluminium Sulfat. *Jurnal Teknologi Industri & Hasil Pertanian.* 20(2):97-108

Hoshida, H., Ohira, T., Minematsu, A., Akada, R., dan Nishizawa, Y. 2005. *Accumulation of Eicosapentaenoic Acid in Nannochloropsis sp. In Response to Elevated CO2 Concentrations*. Applied Phycology, 17, pp.29-34.

Isnansetyo, A dan Kurniastuti. 1995. *Tehnik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton. Pakan Alami Untuk Pembenihan Organisme Laut*. Kanisius.Yogyakarta.

John, R.P., Anisha, G.S., Nampoothiri, K.M., dan Pandey, A. 2011. *Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol.* Bioresource Technology, 102, hal. 186–193.

Jongkon P., Siripen T dan Richard D. L. 2008. *Phytoremediation of Kitchen Wastewater by Spirulina platensis (Nordstedt) Geiteler: Pigment content, Production Variable Cost and Nutritonal Value*. Maejo International Journal of Science and Technology. Vol. 2 No. 02 hal. 159 – 171.

Kabinawa, I.N.K. 1989. Cultivationn of Algae Chlorella Phyrenoidosa. *Annual Report of IC Biotech*. Osaka Japan:429-431.

Kartika, I. 2010*. Penanganan dan pengolahan limbah di perusahaan perseroan (persero) PT. Perkebunan Nusantara VII Unit Usaha Way Berulu, Lampung*. (Laporan Praktek Lapangan). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 52 hlm.

Kawaroe. 2010. *Mikroalga Potensi dan pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*: Bandung. ITB.

Kawaroe, M., A. Rachmat, dan A, Haris. 2012. *Optimalisasi Seleksi Spesies Mikroalga Potensial Penghasil Minyak Mikroalga untuk Menunjang Kelayakan Ekonomi Produksi Biodiesel.* *Prosiding InSINas*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 7-11.

Koru, E. 2012. *Food Additive in Earth Food Spirulina (Arthospira).* Productions and Quality Standars. Intech. 191-202.

Kulpys, J., E. Palauskas, Stankevikus dan V. Pilipavicus. 2009. Influence of Cyanobacter Arthospira (Spirulina) Platensis Biomass Additives Toward The Bodyb Condition of Location Cows and Biochemical Milk Indexes*. Agronomy Research*. 7(2):825-835.

Laura, B dan Paolo G. 2006. *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology.* CRC Press, Boca Raton New York.

Maspanger D & S. Honggokusumo. 2004. Dampak Penerapan Produksi Bersih Industri Crumb Rubber pada peningkatan Pasar Global. Disajikan pada Seminar/ temu Usah Sosialisasi Produksi Bersih Industri Crumb Rubber. Pekanbaru: Direktorat Industri Kimia Hasil Pertanian dan Perkebunan, Direktorat Jendral Industri Kimia, Agro, dan hasil Hutan. 56 hlm.

Munawaroh, S. Z. 2016. Potensi Mikroalga yang Dikultivasi Pada Media Limbah Cair Industri Karet Remah Dengan Sistem Open Pond Sebagai Sumber Protein. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Miller, R.S., C.E. Wingard, & R.W. Castenholz. 1998. *Effects of Visible Light and UV Radiation on Photosynthesis in A Population of A Hot Spring Cyanobacterium, A Synechococcus sp., Subjected to High-Temperature Stress*. Applied and Environmental Microbiology 64(10): 3893--3899.

Nur, M.M.A. 2014. *Potensi Mikroalga sebagai Sumber Pangan Fungsional di Indonesia.* Eksergi, 11(2), hlm 01-06.

Mohanty P, Srivastava M., Krishna K.B. 1997. *The Photosynthetic Apparatus of Spirulina: Electron Transport and Energy Transfer*. di dalam Vonshak, A. *(ed.), Spirulina pletensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and* *Biotechnology*. Bristol: Taylor & Francis Ltd. 1-15 hlm.

Olaizola, M, Bridges, T., Flores, S., Griswold, L., Morency, J., and Nakamura, T. 2004. *Microalga Removal of CO2 from Flue Gases : CO2 Capture from a Coal Combuster, Biotech.* Bioproc. Eng*.*, 8, pp. 360- 367.

Praharyawan, S. dan S.A. Putri. 2017. Optimasi Efisiensi Flokulasi Pada Proses Panen Mikroalga Potensial Penghasil Biodiesel Dengan Flokulan Ion Magnesium. *Jurnal Biopropal Industri.* 8(2):89-98

Prihantini, Nining Betawi. 2007. *Pengaruh Konsentrasi Medium Ekstrak Tauge (MET) Terhadap Pertumbuhan Scenedesmus Isolat Subang*. Makara Sains Vol. 11 No. 1. 1hlm.

Qasim, S.R., E.M. Motley dan G. Zhu. 2000. *Water works engineering: planing design and* operation. 1st edition.844 hlm.

Redjeki, S. dan A. Ismail. 1993. *Mikroalga Sebagai Langkah Awal Budidaya Ikan Laut*. Dalam Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Mikroalga. Pusat Penilitia dan Pengembangan Bioteknologi LIPI.

Rostini, Iis. 2007*. Kultur fitoplankton Chlorella sp. dan Tetraselmis chuii Skala Laboratorium*. *Karya Ilmiah*. Universitas Padjajaran. Jatinangor 33 hlm

Santosa, V., dan Limantara, L. 2007. *Kultivasi Spirulina.* BioS. 1: 2, hlm 18.

Sari, A.M., Erdawati dan I. Purnama. 2016. Pemanenan Biomassa Mikroalga Menggunakan Flokulan Kitosan dan Nanomagnetit Kitosan. *Jurnal Seminar Nasional Sains dan Teknologi* 2016. 015:1-4.

Sciento. 2008. *A583 Spirulina plantesis Large Spiral*. [www.sciento.co.uk](http://www.sciento.co.uk). Diakses pada tanggal 20 Maret 2016.

Steenblock, D. 1996. *Chlorella: Makanan Sehat Alami*. Penerbit Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Sylvester B. D., D. Nelvy dan Sudjiharno. 2002. *Seri Budidaya Laut No. 9. Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Balai Budidaya Laut Lampung. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Depertemen Kelautan dan Perikanan 24-36 hlm.

Taw. 1990. *Petunjuk Kultur Murni dan Massal Mikroalga*. UNDP. FAO.

The Regents of the University of California. 2012. *Prochlorococcus* sp. 1 hlm. http://genome.jgi-psf.org/synw8/synw8.home.html, 27 Januari 2011, pk. 09.00.

The Royal Botanic Garden & Domain Trust. 2000. Australian freshwater algae: *Synechococcus* sp. 1 hlm <http://www.rbgsyd.nsw.gov.au/__data/assets/image/0004/48451/synechoc> occus2.gif, 2 Oktober 2011, pk. 16.18.

Tietze, K.J. 2004. *Clinical Skills for Pharmacists A Patient-Focused Approach, 2nd edition*. Mosby, St. Louis.

Tjahjo, L., Erawati dan Hanung. 2002. *Biologi Fitoplankton dalam Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Balai Budidaya Laut Lampung Dirjen Perikanan Budidaya DKP. Lampung.

Uduman, N., Qi, Y., Danquah, K., 2010. *Dewatering of Microalgal Cultures: A Major Bottolneck To Algae-Based Fuels*. Journal of Renewable Energy 2, 012701: 1-15

Utomo, T.P. dan E. Suroso. 2008. *Optimasi produksi gas metana dari limbah cair industri karet alam menggunakan reaktor anaerobuk dua tahap dalam upaya penyediaan energi alternatif*. (Laporan Penelitian). Universitas Lampung.Lampung. 29 hlm.

Utomo, T.P., E. Suroso dan U. Hasanudin. 2012. *Agroindustri Karet Indonesia: Petani Karet dan Kelembagaan, Proses Pengolahan dan Kinerjanya, Selayang Pandang Karet Sintetis*. PT Sarana Tutorial Nurani Sejahtera. Bandung. 228 hlm.

Vijaya, V. & N. Anand. 2009. *Blue green light enhance the pigment synthesis in cyanobacterium Anabaena ambigua Rao (Nostocales).* Journal of Agricultural and Biological Science4(3): 36--43.

Whitton, B.A. 2002. *Phylum Cyanophyta (Cyanobacteria)*. *Dalam*. Jhon, D.M., B.A.Whitton, & A.J. Brook. (eds.). 2002. *The freshwater alga flora of The British Isles: an identification guide to freshwater and terestrial algae.* Cambridge University Press. New York: 105--109.

Wijanarko, A., Hermansyah, H., Gozan, M., dan Witarto, B.A. 2007. *Pengaruh Pencahayaan Siklus Harian Terhadap Produksi Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung*. Jurnal Teknologi, 1, pp. 58-65.

Winarno, F. G. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama Jakarta. 206 hlm.

Wulan, R. R. 2015. Kemampuan Mikroalga yang Dikultivasi Pada Limbah Cair Industri Karet Remah dalam Menghasilkan Biomassa dan Menurunkan Cemaran. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Yudha, A. Parna. 2008. *Senyawa Antibakteri Dari Mikroalga Dunaliella sp. Pada Umur Panen Yang Berbeda*. (Skripsi). Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan IPB. Bogor.

Yudiati, E., S. Sedjati, dan R. Agustian. 2011. *Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Ekstrak Methanol dan Pigmen Kasar Spirulina sp*. Ilmu Kelautan, 16(4):187-192.