

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROALGA DARI
LIMBAH *CRUDE PALM OIL* (CPO) UNTUK SUMBER
BIODIESEL DAN β -KAROTEN
SEBAGAI *CO-PRODUCT***

DISERTASI



1. Prof. Dr. Abdi Dharma
2. Prof. Dr. Rahmiana Zein
3. Prof. Dr. Zulkarnain Chaidir

**PROGRAM PASCASARJANA FMIPA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2016**

Isolasi dan Karakterisasi Mikroalga dari Limbah *Crude Palm Oil* (CPO) untuk Sumber Biodiesel dan β -karoten sebagai *Co-Product*.

ABSTRAK

Mikroalga memiliki kemampuan untuk hidup diberbagai lingkungan perairan termasuk air limbah. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi mikroalga dari limbah cair *Crude Palm Oil* (CPO) yang dilanjutkan dengan identifikasi morfologi secara mikroskopis (Mikroskopis Optis, SEM dan TEM) dan identifikasi secara biomolekular dengan primer 18S rDNA untuk mikroalga eukariotik dan primer 16S rDNA untuk mikroalga prokariotik. Pengujian terhadap isolat yang dihasilkan meliputi penentuan biomassa kering secara gravimetri, penentuan kandungan senyawa utama biomassa (karbohidrat, protein dan lipid) dengan spektrofotometer UV-Vis dan secara gravimetri, analisa asam lemak dengan alat GC-MS dilanjutkan dengan optimasi kondisi kultur untuk meningkatkan kadar lemak dengan penambahan ekstrak sekam dan penentuan kandungan β -karoten dengan alat HPLC. Empat spesies yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi adalah *Micractinium ehime IPOME-1*, *Micractinium sp. CCAP IPOME-2*, *Mychonastes rotundus IPOME-3* dan *Uncultured Oscillatoria sp IPOME-4*. Hasil penentuan biomassa kering masing-masing spesies berturut-turut adalah 1,0872 g/L; 1,2082 g/L; 1,0797 g/L dan 0,7211 g/L. Spesies dengan kandungan lipid yang memadai untuk dikembangkan sebagai bahan biodiesel adalah *Micractinium sp. CCAP IPOME-2* dan *Mychonastes rotundus IPOME-3* dengan kadar lipid masing-masing 26,583% dan 27,667%. Asam lemak palmitat dan asam lemak oleat sebagai penentu kualitas biodiesel terdapat dalam jumlah signifikan pada kedua spesies tersebut yaitu berturut-turut 31,07% dan 16,75% untuk *Micractinium sp. CCAP IPOME-2* serta 34,90% dan 25,89% untuk *Mychonastes rotundus IPOME-3* dari total kandungan asam lemak masing-masing. Hasil optimasi untuk meningkatkan kadar lipid pada kedua spesies menunjukkan bahwa perlakuan dengan defisiensi nitrogen yang dikombinasikan dengan penambahan ekstrak sekam 3 g/L dapat meningkatkan kadar lipid sampai 43,42% untuk spesies *Micractinium sp. CCAP IPOME-2* dan 37,92% untuk spesies *Mychonastes rotundus IPOME-3*. Sedangkan hasil analisa dengan HPLC menunjukkan kandungan pigmen β -karoten yang cukup signifikan terdapat pada spesies *Mychonastes rotundus IPOME-3* dan *Uncultured Oscillatoria sp IPOME-4*, dengan kadar berturut-turut sebesar 0,7685% dan 0,6975%. Kultur dengan defisiensi nitrogen hanya berpengaruh positif pada spesies *Uncultured Oscillatoria sp IPOME-4*, yang ditandai dengan berubahnya warna sel mikroalga menjadi kuning terang dengan peningkatan kadar β -karoten menjadi 0,8424%. Kebaruan penelitian ini adalah penggunaan ekstrak sekam dalam kultur mikroalga telah berhasil meningkatkan kadar lipid mikroalga secara signifikan. *Uncultured Oscillatoria sp IPOME-4* diperkirakan merupakan spesies baru dengan karakter unik yang jarang dimiliki oleh kebanyakan spesies mikroalga karena mengandung kadar protein tinggi, β -karoten dalam jumlah signifikan serta adanya pigmen biru *phycocyanin*.

Kata Kunci : Mikroalga, biodiesel, FAME, β -karoten, *phycocyanin*.

Isolation and Characterization of Microalgae isolated from Palm Oil Mill Effluent for the Source of Biodiesel and β -Carotene as Co-Product

ABSTRACT

Microalgae are known with their ability to live in various aquatic environments including wastewater. The aim of this research was to isolate microalgae from Palm Oil Mill Effluents of local industry followed by morphological identification (Optical Microscopy, SEM and TEM) and biomolecular identification using 18S rDNA primers for eukaryotic microalgae and 16S rDNA primers for prokaryotic one. Dry biomass (dry cell weight) of the isolated microalgae was determined gravimetrically. Carbohydrate and protein compounds were analyzed by UV-Vis Spectrophotometer, while lipid content was determined gravimetrically. The composition of FAME was identified using GC-MS apparatus. Optimization of culture condition for enhancement of lipid content was carried out by culturing the isolate under nitrogen depletion medium combined with the addition of rice husk extract. The content of β -carotene was analyzed by HPLC instrument.

Four species of microalgae were successfully isolated and identified namely *Micractinium ehime IPOME-1*, *Micractinium sp. CCAP IPOME-2*, *Mychonastes rotundus IPOME-3* and *Uncultured Oscillatoria sp IPOME-4*. Dry biomass of the isolates were 1.0872 g/L; 1.2082 g/L; 1.0797 g/L and 0.7211 g/L respectively. Of the isolated species, *Micractinium sp. CCAP IPOME-2* dan *Mychonastes rotundus IPOME-3* had the highest content of lipid which accounted for 26.583% and 27.667% respectively. Palmitic acid (C16:0) is the predominant fatty acid for both isolates accounting for 31.07 % and 34.90 % of the total respective fatty acid. Second major fatty acid is oleic acid (C18:1) which accounted for 16.75% and 25.89% for respective species. The result of optimization of culture condition showed that the treatment of nitrogen depletion medium combined with addition of 3 g/L rice husk extract was the most suitable treatment to increase lipid content, yielding up to 43.42% and 37.92% of lipid content for respective species. HPLC analysis showed that *Mychonastes rotundus IPOME-3* and *Uncultured Oscillatoria sp IPOME-4* species had significant content of β -carotene with the percentage of 0.7685% and 0.6975% respectively. Under nitrogen depletion culture condition only *Uncultured Oscillatoria sp IPOME-4* species demonstrated positive impact which resulted in increase of β -carotene content up to 0.8424%. The novel of this research is the use of rice husk extract which succeeded in enhancing lipid content significantly. Furthermore, one of the the isolate namely *Uncultured Oscillatoria sp IPOME-4* is a new species with unique characteristic of high protein content, significant β -carotene content and the existence of blue color *phycocyanin* pigment.

Keywords : Microalgae, biodiesel, FAME, β -Carotene, *phycocyanin*.