

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Mikroalga merupakan mikroorganisme fotosintetik dengan keragaman spesies yang sangat luas serta memiliki kemampuan untuk hidup di hampir semua jenis habitat. Diperkirakan terdapat 50.000 spesies mikroalga di alam, dan baru sekitar 30.000 spesies yang teridentifikasi (Richmond, 2004). Pada umumnya mikroalga hidup di segala jenis habitat perairan yang meliputi air tawar, air laut, air payau, bahkan dapat hidup subur diberbagai jenis air limbah. Dilaporkan ada juga beberapa spesies mikroalga yang mampu hidup dalam lingkungan ekstrim seperti di perairan Antartika. Mikroalga merupakan mikroorganisme eukariotik maupun prokariotik yang dapat menghasilkan biomassa dengan komponen utama meliputi karbohidrat, protein dan lipid sebagai hasil proses fotosintesis. Beberapa contoh mikroalga eukariotik adalah alga hijau (*chlorophyta*) dan diatom (*bacillariophyta*), sedangkan mikroalga prokariotik adalah *cyanobacteria* (*Cyanophyceae*) yang lebih dikenal sebagai alga hijau biru. Selain komponen utama tersebut mikroalga juga menghasilkan senyawa bioaktif seperti pigmen, vitamin dan enzim yang sangat bermanfaat terutama dalam bidang kesehatan.

Berbagai penelitian terus diintensifkan dalam rangka menggali potensi mikroalga sebagai sumber berbagai senyawa bermanfaat yang dapat dikonversi menjadi produk bernilai tinggi baik di bidang kesehatan, pangan maupun energi. Salah satu fokus penelitian mikroalga adalah eksplorasi lipid sebagai sumber biodiesel. Penelitian intensif terhadap potensi mikroalga sebagai sumber biodiesel telah dilakukan menyikapi berkurangnya persediaan bahan bakar minyak bumi. Dalam beberapa tahun terakhir cadangan sumber energi menunjukkan kecenderungan penurunan dan telah berdampak terhadap kelangsungan pemenuhan kebutuhan bahan bakar minyak. Kondisi ini mengakibatkan meningkatnya harga bahan bakar, diikuti oleh kelangkaan ketersediaan bahan bakar tersebut di pasaran yang telah terjadi berulang-ulang. Ketika eksplorasi sumber energi alternatif non minyak bumi seperti energi surya, energi geotermal,

energi angin, biodiesel dan sumber energi lain mulai digalakkan, biodiesel memberikan harapan baru akan terpenuhinya bahan bakar yang ramah lingkungan. Sehingga tidak saja menjanjikan tersedianya sumber bahan bakar alternative yang berkesinambungan namun juga berpotensi menjadi solusi menurunkan kadar gas CO₂ di udara yang saat ini sudah melebihi ambang batas (Patil *et al.*, 2008).

Berdasarkan senyawa pembentuknya, biodiesel didefinisikan sebagai bahan bakar yang mengandung metil ester asam lemak (*Fatty Acid Methyl Esther*, FAME) dengan karakteristik yang menyerupai minyak solar (Hambali *et al.*, 2008). Biodiesel dihasilkan melalui reaksi transesterifikasi triasilgliserida (TAG) dan alkohol dengan adanya suatu katalis (Musharraf *et al.*, 2012). Saat ini hanya biodiesel yang berasal dari tanaman pangan yang sudah dihasilkan dalam skala industri. Sumber-sumber biodiesel tersebut antara lain adalah gula bit, maizena (jagung), sorghum dan gandum (Patil *et al.*, 2008).

Ketersediaan biodiesel di pasaran saat ini masih jauh dari cukup. Tantangan yang harus dihadapi adalah tidak hanya terkait tingginya biaya produksi untuk eksploitasi biodiesel berbasis tanaman pangan dalam skala besar akibat tingginya harga bahan mentah namun isu kompetisi terhadap kebutuhan bahan pangan juga timbul karena pada saat yang bersamaan kedua sektor tersebut yaitu pangan dan energi membutuhkan bahan baku yang sama, sehingga tidak ada jaminan kesinambungan penyediaan bahan baku biodiesel berbasis tanaman pangan (Widjaya *et al.*, 2009). Oleh sebab itu dalam beberapa tahun terakhir perhatian tertuju pada mikroalga sebagai sumber biodiesel yang memiliki beberapa kelebihan dibanding sumber biodiesel lain. Berbagai penelitian semakin giat dilakukan untuk menggali potensi mikroalga sebagai sumber biodiesel. Mikroalga berpotensi menghasilkan biomassa yang mengandung lipid dalam jumlah yang signifikan untuk dikonversi menjadi biodiesel (Pittman *et al.*, 2010). Keunggulan mikroalga dibanding sumber biodiesel lain adalah mikroalga memiliki efisiensi fotosintesis tinggi serta produksi biomassa dan tingkat pertumbuhan yang cepat (Widjaya *et al.*, 2009). Selain itu mikroalga tidak

berkompetisi dengan kebutuhan pangan dan dapat tumbuh dalam lahan terbatas (Musharraf *et al.*, 2012).

Persyaratan utama yang harus dipenuhi bagi spesies mikroalga agar dapat menjadi sumber biodiesel adalah tingkat kandungan lipid yang memadai yang diiringi dengan produktifitas lipid yang tinggi pula. Selain kedua parameter tersebut, profil asam lemak dalam lipid mikroalga juga menentukan kualitas biodiesel yang dihasilkan. Komposisi asam lemak dalam lipid mempengaruhi kualitas biodiesel yang dicirikan oleh jumlah signifikan dari asam lemak jenuh dan asam lemak mono tak jenuh [Sanjay *et al.*, 2013; Singh dan Mallick, 2014]. Asam palmitat (C16:0) dan asam oleat (C18:1) berturut-turut merupakan asam lemak jenuh dan asam lemak mono tak jenuh yang berperan menentukan kualitas biodiesel. Keberadaan kedua asam lemak tersebut berfungsi menciptakan kestabilan oksidatif serta meningkatkan bilangan setana biodiesel yang merupakan bagian dari persyaratan biodiesel berkualitas (Kumar *et al.*, 2003).

Setiap mikroalga pada kondisi pertumbuhan optimal memiliki kandungan lipid dengan kadar tertentu. Kadar lipid mikroalga dapat ditingkatkan melalui berbagai pendekatan yang dikenal sebagai induksi lipid. Sintesa lipid netral pada mikroalga dalam bentuk triasilgliserida sebagai bahan baku biodiesel dapat diinduksi dengan memberikan stres selama kultivasi kultur mikroalga berlangsung. Beberapa teknik induksi mikroalga yang dapat diterapkan adalah defisiensi nitrogen/phosphor, pengaturan intensitas cahaya, pH, temperatur, logam berat dan bahan kimia. Salah satu teknik induksi yang paling efisien dan efektif meningkatkan kadar lipid adalah stres nitrogen yang dapat meningkatkan kandungan lipid dari 20-30% sampai 60-70% (Liang *et al.*, 2009).

Analisis lipid sebagai sumber biodiesel dapat disejalankan dengan analisa karotenoid. Dalam sel mikroalga terdapat keterkaitan antara lipid dan karotenoid. Karotenoid merupakan pigmen yang larut dalam lipid, sehingga untuk akumulasi karotenoid dibutuhkan lipid. Demikian pula sebaliknya, karotenoid bertindak sebagai pelindung lipid dari radikal peroksida melalui dua mekanisme reaksi yaitu

(1) karotenoid bertindak sebagai *photoprotectant* yang menghadang foton mencapai perangkat fotosintesis sehingga mengurangi produksi radikal peroksida dalam rantai transport elektron, dan (2) karotenoid bertindak sebagai antioksidan yang mencegah lipid mengalami peroksidasi (Grama *et al.*, 2014). Berkaitan dengan hal itu beberapa penelitian telah dilakukan dengan menganalisa kandungan lipid maupun asam lemak mikroalga yang dipadukan dengan identifikasi karotenoid tertentu (Cardoso *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2013; Grama *et al.*, 2014).

Diantara pigmen yang terkandung dalam mikroalga, karotenoid merupakan salah satu tipe pigmen yang banyak menarik perhatian dan memiliki aplikasi yang luas. Secara umum pigmen yang terdapat pada organisme fotosintetik termasuk mikroalga diklasifikasikan menjadi tiga tipe, yaitu klorofil, karotenoid dan *phycobilliprotein* (Richmond and Hu, 2013). Klorofil merupakan pigmen fotosintetik berwarna kehijauan yang larut dalam lipid yang terdiri dari cincin tetrapireol serta mengandung atom magnesium sebagai pusat dengan rantai panjang alkohol terpenoid (Richmond and Hu, 2013). Sedangkan karotenoid merupakan senyawa isoprenoid yang larut dalam lemak dan memberikan berbagai warna cerah baik pada buah-buahan, sayur-sayuran dan sebagian hewan laut. Karotenoid dibedakan menjadi karoten dan *xanthophyll*. Karoten adalah suatu karotenoid yang tersusun atas hidrokarbon tak jenuh yang tidak mengandung oksigen, sedangkan *xanthophylls* adalah karotenoid yang memiliki gugus fungsi yang mengandung oksigen. Karotenoid yang termasuk golongan karoten adalah β -karoten, α -karoten dan likopen. Sementara karotenoid yang termasuk golongan *xanthophyll* adalah *astaxanthin*, *lutein*, *canthaxanthin*, *zeaxanthin* dan *violaxanthin*. Kelompok pigmen lain pada mikroalga adalah *phycobilliprotein*, yaitu suatu jenis pigmen yang merupakan senyawa *chromoprotein* yang larut dalam air. *Phycobilliprotein* meliputi *phycoerythrins* (pigmen merah), *phycocyanins* (pigmen biru), and *allophycocyanins* (pigmen biru muda) (Lemasson *et al.*, 1973).

Dari berbagai jenis karotenoid, β -karoten merupakan salah satu karotenoid yang terpenting dan digunakan dalam industri makanan sebagai pewarna, antioksidan dan sumber pro-vitamin A, serta memiliki bioaktivitas sebagai anti kanker (Pisal and Lele, 2005). Kebutuhan terhadap β -karoten saat ini dapat terpenuhi oleh industri terutama masih dalam bentuk produk sintetis. Semakin meningkatnya tuntutan terhadap karotenoid alami telah mendorong upaya untuk menghasilkan β -karoten yang berasal dari berbagai sumber alami. Spesies mikroalga yang dikenal luas sebagai penghasil β -karoten dengan produk yang sudah beredar di pasaran adalah *Dunaliella salina*. Melalui optimasi pertumbuhan kultur, *Dunaliella salina* mampu menghasilkan β -karoten sampai 14% dari berat kering biomasnya (Emeish, 2012).

Keluasan manfaat mikroalga ditunjang oleh sifat mikroalga yang dapat hidup dan tumbuh hampir disetiap jenis perairan baik air tawar, air laut, air payau maupun air limbah. Beberapa penelitian telah melaporkan potensi mikroalga sebagai penghasil biodiesel yang telah diisolasi dari berbagai lingkungan perairan termasuk air limbah. Mikroalga yang berhasil diisolasi dari perairan lokal pada penelitian sebelumnya adalah *Micractinium reiseri* (Susanty *et al.*, 2013) dan *Chlamidomonas snowii* (Varitha *et al.*, 2013). Mikroalga hasil isolasi dari air limbah juga telah banyak dipublikasikan, namun hasil isolasi mikroalga dari limbah CPO (*crude palm oil*) belum dilaporkan. Sejauh ini hanya publikasi tentang pemanfaatan limbah CPO sebagai media kultur mikroalga yang telah dikerjakan. Oleh karena itu penelitian ini diarahkan pada eksplorasi mikroalga dari perairan limbah lokal (limbah CPO) dengan potensinya sebagai bahan baku biodiesel. Guna meningkatkan kadar lipid dan produktifitas lipid, mikroalga dikultur dalam media defisiensi nitrogen dengan penambahan ekstrak sekam. Penambahan ekstrak sekam dalam media kultur mikroalga sebelumnya belum pernah dilaporkan. Sebuah penelitian membuktikan ekstrak sekam dapat menyerap unsur-unsur logam tertentu (Munaf E. dan R. Zein, 1997). Adanya unsur-unsur tersebut, baik yang terkandung maupun yang terserap dalam sekam dapat dimanfaatkan bagi pertumbuhan mikrolaga. Pada penelitian ini kandungan β -karoten sebagai *co-product* juga dianalisa.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, perumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah dari limbah cair CPO dapat diisolasi mikroalga jenis baru?
2. Apakah spesies mikroalga hasil isolasi mengandung lipid dengan kadar yang memenuhi syarat untuk sumber biodiesel?
3. Apakah induksi lipid berupa defisiensi nitrogen yang dipadukan dengan penambahan ekstrak sekam dapat meningkatkan kadar lipid?
4. Apakah setelah analisa kandungan asam lemak, lipid mikroalga hasil isolasi mengandung asam lemak dengan jenis dan komposisi asam lemak yang memenuhi syarat sebagai sumber biodiesel yang berkualitas?
5. Apakah mikroalga hasil isolasi juga berpotensi menghasilkan β -karoten?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengisolasi mikroalga dari limbah cair CPO dan menentukan spesiesnya.
2. Mengidentifikasi kandungan lipid dari spesies mikroalga hasil isolasi.
3. Meningkatkan kadar lipid melalui induksi lipid berupa defisiensi nitrogen yang dipadukan dengan penambahan ekstrak sekam.
4. Menentukan jenis dan komposisi asam lemak dari lipid mikroalga
5. Menganalisis kandungan β -karoten dari isolat yang didapatkan.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah :

1. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi tentang potensi mikroalga lokal sebagai sumber biodiesel
2. Hasil analisis kandungan β -karoten dapat memberikan informasi tentang potensi mikroalga hasil isolasi sebagai sumber β -karoten dan membuka peluang untuk diterapkannya berbagai pendekatan guna mencari pendekatan yang tepat untuk meningkatkan kadar β -karoten isolat.

3. Spesies mikroalga hasil isolasi diharapkan dapat menambah perbendaharaan spesies mikroalga untuk dikembangkan terhadap eksplorasi senyawa-senyawa bioaktif lain.

