

KULTIVASI *Botryococcus Braunii* MEMANFAATKAN AIR DADIH (WHEY) TAHU SEBAGAI POTENSI BIODIESEL

Tirna Adhika Rahmat, Rosa Delima Dias W.S., Danny Soetrisnanto*)
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang, 50239, Telp/Fax: (024)7460058

Abstrak

Produksi biodiesel berasal dari reaksi trans-esterifikasi asam lemak yang menghasilkan metil ester. Asam lemak dapat diperoleh dari lemak nabati, hewani dan mikroalga. Namun mikroalga memiliki prospek yang lebih menguntungkan dibandingkan dengan lemak nabati dan hewani. Mikroalga mempunyai laju pertumbuhan yang cepat, produktivitas minyak tinggi, biaya produksi yang rendah dan tidak bersaing dengan kebutuhan pangan. Di antara semua spesies mikroalga, *Botryococcus braunii* mengandung kadar lipid yang terbilang tinggi pada setiap selnya (25 – 75 %). Limbah cair industri tahu merupakan cairan sisa dari pengolahan kacang kedelai menjadi tahu yang memberikan gangguan pada lingkungan. Limbah cair ini, yang biasa disebut air dadih (whey), masih mengandung unsur-unsur organik seperti air (99,34 %), protein (1,73 %), lemak (0,63 %), nitrogen (0,05 %) dan abu (0,11 %) serta COD. Unsur-unsur organik dapat digunakan untuk memacu pertumbuhan mikroalga. Pada penelitian ini, variabel yang dipelajari adalah pengaruh penambahan air dadih (whey) tahu dengan konsentrasi yang berbeda terhadap jumlah biomassa dan kadar lipid yang dihasilkan. Pada penelitian ini diperoleh hasil bahwa kultivasi *Botryococcus braunii* menggunakan air dadih (whey) tahu mencapai hasil optimum pada konsentrasi 10% volume dengan optical density (OD) optimum pada hari ke-9 sebesar 0,802 dengan jumlah biomassa sebesar 2,4101 gram/liter dan kandungan lipid sebesar 0,8716 gram/liter, lebih baik dibandingkan dengan kultivasi *Botryococcus braunii* menggunakan nutrisi sintesis. Didapatkan penurunan COD maksimum pada konsentrasi penambahan air dadih (whey) tahu sebesar 15% dengan efisiensi penurunan 88,51%, sedangkan pada konsentrasi penambahan air dadih (whey) tahu optimum (10% volume) efisiensi penurunan sebesar 83,33%.

Kata kunci: Biodiesel; *Botryococcus braunii*; air dadih (whey); biomassa; densitas optik

Abstract

Production of biodiesel comes from trans-esterification reaction of fatty acid which produces methyl ester. Vegetables, animals and microalgae can be used for fatty acid sources by their oil, but microalgae have a more beneficial prospect compared to vegetables and animals. Microalgae have fast grow-rate, high oil productivity, low production cost and not having a competition with food industries. Among microalgae, *Botryococcus braunii* is the one with high oil quantity inside their cells (25 – 75 %). The wastewater of tofu industries is liquid residual from soybean processing becomes tofu which having a nuisance for the environment. This wastewater, usually called whey, is still containing organic materials such as water (99,34 %), protein (1,73 %), fat (0,63 %), nitrogen content (0,05%) and ash (0,11 %) and COD. Organic materials have effect to stimulate microalgae's growing. Objectives of this experiment are the influence of tofu whey addition at different concentrations toward biomass and lipid produced. This experiment provided the result which optimal cultivation of *Botryococcus braunii* reaches when using 10% concentration tofu whey with optimal optical density (OD) at day 9 (0,802), 2,4101 gram/litre of gained biomass and 0,8716 gram/litre of lipid production., better than cultivation of *Botryococcus braunii* using syntetic nutrient. Maximum COD reduction was gained at 15% tofu whey addition with 88,51% efficiency. COD reduction at optimal tofu whey addition (10%) is 83,33%.

Keywords: Biodiesel; *Botryococcus braunii*; whey; biomass; optical density

*) Penulis Penanggung Jawab (danny@undip.ac.id)



1. Pendahuluan

Kelangkaan energi merupakan masalah serius yang banyak diperbincangkan dunia sejak awal millenium kedua. Penggunaan sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui secara berlebihan menjadi penyebab utama langkanya sumber energi di bumi. Diperkirakan pada tahun 2030 dunia akan membutuhkan energi lebih dari 60 % dari persediaan energi saat ini (Patil *et al.*, 2008). British Petroleum (BP), pada tahun 2005, juga menyatakan bahwa 47,5 % kebutuhan energi di Indonesia dipenuhi oleh bahan bakar minyak. Saat ini saja, cadangan minyak bumi Indonesia tinggal 1 persen dari total cadangan minyak bumi dunia (Cadangan Sumber Daya Alam, 2005). Sedangkan menurut BP Migas, Indonesia telah menjadi pengimpor penuh minyak bumi (net oil importer) sejak Juli 2004. Oleh karena itu, dibutuhkan sumber energi baru yang bernilai ekonomis tinggi dari bahan yang terbaharukan atau yang biasa disebut biofuel.

Biodiesel (metil ester) merupakan salah satu jenis biofuel yang menjanjikan yang dapat diperoleh dari minyak nabati, lemak hewani atau minyak bekas melalui proses trans-esterifikasi (Özgül dan Türkay 1993; Pamuji dkk. 2004; Gerpen 2004). Trans-esterifikasi adalah penggantian gugus alkohol dari ester dengan alkohol lain dalam suatu proses yang menyerupai hidrolisis. Namun berbeda dengan hidrolisis, pada proses trans-esterifikasi bahan yang digunakan bukan air melainkan alkohol.

Mikroalga merupakan salah satu sumber energi baru yang menjanjikan. Mikroalga merupakan mikroorganisme fotosintetik yang memiliki kemampuan untuk menggunakan sinar matahari dan karbon dioksida untuk menghasilkan biomasa. Biomasa ini mengandung kadar lemak yang cukup tinggi untuk digunakan sebagai biofuel. Mikroalga memiliki pertumbuhan yang cepat, produktivitas tinggi, dapat menggunakan air tawar maupun air laut, konsumsi air yang sedikit, biaya produksi yang relatif rendah serta tidak berkompetisi dengan bahan pangan (Guerrero, 2010).

Botryococcus braunii adalah mikroalga uniseluler yang masuk dalam golongan alga hijau. Alga jenis ini memiliki kemampuan untuk berfotosintesis. *Botryococcus braunii* tersusun dari protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat. Mikroalga ini memiliki kandungan lemak sebesar 25 – 75 % (Chisti, 2007). Komponen lemak inilah yang akan diekstraksi dan diubah menjadi biofuel.

Limbah cair tahu merupakan limbah organik yang berasal dari industri tahu yang belum layak dibuang ke lingkungan. Jika limbah cair industri tahu tersebut dibuang langsung ke lingkungan tanpa proses pengolahan, akan terjadi pengendapan zat-zat organik pada badan perairan, proses pembusukan dan berkembangnya mikroorganisme patogen (Sudaryati dkk., 2007). Limbah cair ini berupa cairan kental yang terpisah dari gumpalan tahu yang biasa disebut air dadih (*whey*). Air dadih masih mengandung unsur organik yang dapat mencemari lingkungan. Menurut data dari Kementerian Pertanian, Mahfudin, kebutuhan kedelai per tahun untuk industri tahu di seluruh Indonesia adalah 450 ribu ton, sehingga dapat dihasilkan air dadih (*whey*) tahu sebanyak 19.575.000 ton per tahun atau 54.375 ton per hari. Air dadih (*whey*) tahu memiliki kandungan air (99,34 %), protein (1,73 %), lemak (0,63 %), abu (0,11 %) dan nitrogen (0,05 %) (Hartati, 2010; Nuraida *et al.*, 1996).

Dalam penelitian ini, potensi kandungan nutrisi tersebut akan digunakan sebagai media perkembangbiakan *Botryococcus braunii*. Penelitian ini bertujuan untuk Mengetahui perbedaan pengaruh penambahan nutrisi sintetis dengan penambahan air dadih (*whey*) tahu terhadap laju pertumbuhan *Botryococcus braunii*, mengetahui perbedaan pengaruh penambahan nutrisi sintetis dengan penambahan air dadih (*whey*) tahu terhadap konsentrasi *Botryococcus braunii* dan kadar lipid pada biomassa, mengetahui karakteristik air dadih (*whey*) tahu setelah digunakan sebagai media pertumbuhan *Botryococcus braunii* dan mengetahui efisiensi penggunaan air dadih (*whey*) tahu sebagai media kultivasi *Botryococcus braunii*

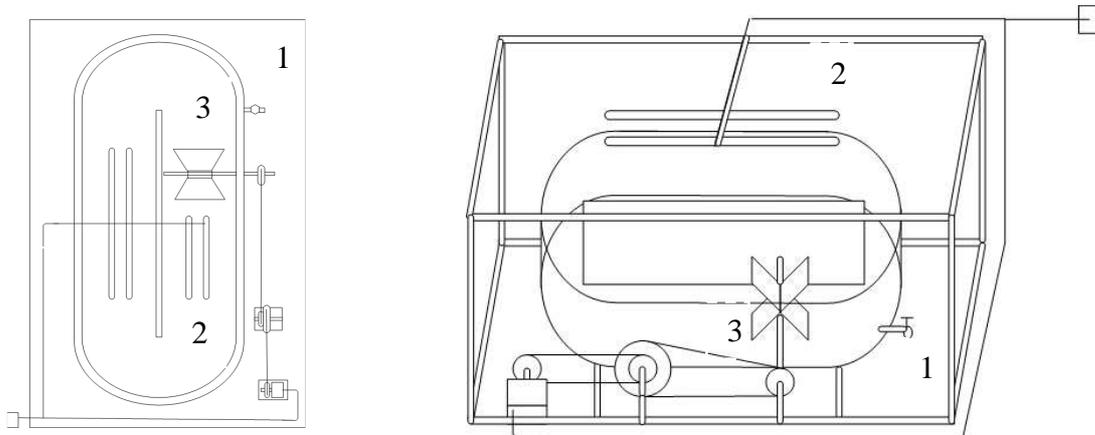
2. Metode Penelitian

Bahan

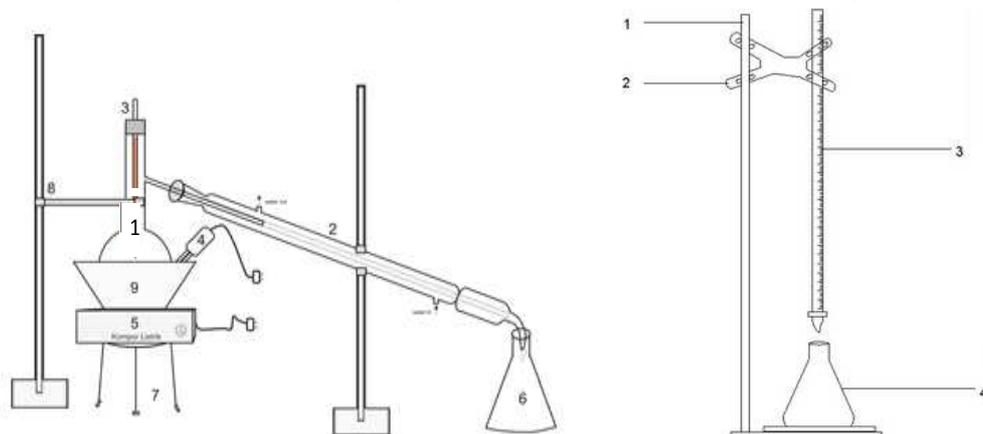
Bahan yang digunakan antara lain *Botryococcus braunii* dari stock kultur bibit BBPBAP, air dadih (*whey*) tahu, nutrisi KNO_3 , TSP, ZA, NaHCO_3 , FeCl_3 , air keran, kertas saring, NaOH dan Solvent n-heksana.

Alat

Alat yang digunakan antara lain Bak kultivasi, pompa vakum, lampu TL, spektrofotometer, cuvet, pipet, oven, gelas ukur, labu Erlenmeyer, beaker glass, timbangan digital, ultrasound, kertas saring, buret, statif dan klem, kompor listrik dan alat distilasi.



Gambar 1. Rangkaian alat kultivasi *Botryococcus braunii*: bak kultivasi *Botryococcus braunii* (dimensi: 80 cm x 20 cm x 25 cm, bahan: Acrylic); (2) lampu TL (12 Watt ; 220 Volt ; 2 unit); (3) impeller.



Gambar 2. Rangkaian alat distilasi: (1) Labu distilasi; (2) pendingin leibig; (3) thermometer; (4) pemanas listrik; (5) kompor listrik; (6) labu erlemeyer; (7) kaki tiga; (8) statif dan klem

Gambar 3. Rangkaian alat titrasi: (1) statif; (2) klem; (3) buret; (4) labu Erlenmeyer

Prosedur Penelitian

Kultivasi *Botryococcus braunii*:

Rangkaian alat kultivasi dirangkai sesuai susunan. Bak kultivasi diisi dengan medium air dadih (*whey*) tahu dengan variabel penambahan air dadih (*whey*) tahu sebesar 0 % (medium control), 5 %, 10 %, 15 %, 20 % dan 25 % volume kultivasi. dilakukan kultivasi *Botryococcus braunii* tanpa air dadih (*whey*) tahu. Media control ini menggunakan nutrisi sintetis berupa 400 ppm KNO_3 , 20 ppm TSP, 10 ppm ZA, 75 ppm NaHCO_3 dan 1,3 gram FeCl_3 (Chu-13). Bak kultivasi diisi dengan 10 % volume kultivasi kultur *Botryococcus braunii*. Operasi kultur *Botryococcus braunii* dilakukan dengan volume kultivasi 16 liter pada suhu 30°C dan pH 6-7. Diambil sampel dari bak kultivasi *Botryococcus braunii* untuk dianalisis optical density (OD), laju pertumbuhan biomassa dan kadar lipid pada hari ke-3, ke-5, ke-7, ke-9 dan ke-11.

Analisa Hasil:

Analisis yang dilakukan ada tiga yaitu optical density (OD), laju pertumbuhan *Botryococcus braunii* dan kadar minyak:



1. Uji Densitas Optik:

Kalibrasi Spektrofotometer

Analisis densitas optik (DO) menggunakan alat Spektrofotometer. Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Pada penelitian ini akan digunakan $\lambda = 680$ nm. Prosedur yang dilakukan yaitu menghubungkan Spektrofotometer sp-300 dengan sumber listrik, menyalakan Spektrofotometer sp-300 dan menunggu tunggu selama 5 – 10 menit, menekan tombol %T, atur skala sampai pembacaan absorban tak terhingga (transmittan = 0), memasukkan pelarut murni aquadest dalam cuvet dan menempatkan ke dalam tempat cuvet. Dan menekan tombol 100%T sampai skala menunjukkan absorpsi = 0 (transmittan = 100 %).

Pengukuran Optical Density

10 ml sampel kultivasi diambil dengan pipet, kemudian sampel dipindahkan dalam cuvet. Cuvet yang berisi sampel dimasukkan ke dalam tempat cuvet. Absorbans diukur pada $\lambda = 680$ nm. %T yang muncul pada layar %T kemudian dicatat.

2. Analisa Laju Pertumbuhan Biomassa

Pertumbuhan *Botryococcus braunii* ditentukan dengan optical density (OD) pada panjang gelombang (λ) 680 nm (Sim, 2001). Terdapat hubungan langsung antara optical density (OD) dengan biomassa kering. Hubungan ini didapat dengan penelitian yang dilakukan pada media kontrol. Hubungan optical density dan biomassa kering yang dihasilkan pada media kontrol dihubungkan pada grafik. Dengan linierisasi dapat diperoleh kurva standar untuk variabel-variabel selanjutnya.

3. Analisa Kadar Lipid

Biomassa kering ditumbuk menggunakan mortar dan dicampur dengan larutan n-heksana untuk mengambil kandungan lipidnya. Proses selanjutnya, lipid diekstrak dari campuran biomassa halus menuju solvent larutan n-heksana dengan menggunakan alat ultrasound dalam waktu 3 x 60 menit. Untuk memisahkan lipid dari n-heksana dapat dilakukan dengan cara distilasi.

4. Analisa Kandungan COD pada Air Dadih (Whey) Tahu

Bahan yang digunakan per sampel adalah 10 ml larutan $H_2C_2O_4$ 0,01 N, 5 ml larutan H_2SO_4 4 N dan larutan $KMnO_4$. Pertama-tama lakukan standarisasi larutan $KMnO_4$ dengan cara memasukkan 10 ml larutan $H_2C_2O_4$ 0,01 N dan 5 ml H_2SO_4 4 N ke dalam labu erlenmeyer. Campuran kemudian dipanaskan sampai suhu 70-80 °C. Campuran dititrasi dengan larutan $KMnO_4$ sedikit demi sedikit sampai warna merah anggur yang tidak hilang dengan penggojogan. Catat kebutuhan titran (b ml). Hitung normalitas $KMnO_4$ dengan rumus:

$$N_{KMnO_4} = \frac{(V \times N)_{H_2C_2O_4}}{V_{KMnO_4}}$$

Analisa COD dilakukan dengan cara mengambil limbah sebanyak 10 ml, kemudian dimasukkan ke labu erlenmeyer. Tambahkan 5 ml H_2SO_4 4 N ke dalam erlenmeyer dan larutan $KMnO_4$ hasil standarisasi (b ml) dipanaskan sampai mendidih selama 10 menit. Tambahkan 10 ml $H_2C_2O_4$ 0,01 N dan pertahankan suhu 70-80 °C. Titrasi dengan larutan $KMnO_4$ standar sampai tercapai TAT (a ml). Hitung COD dengan rumus:

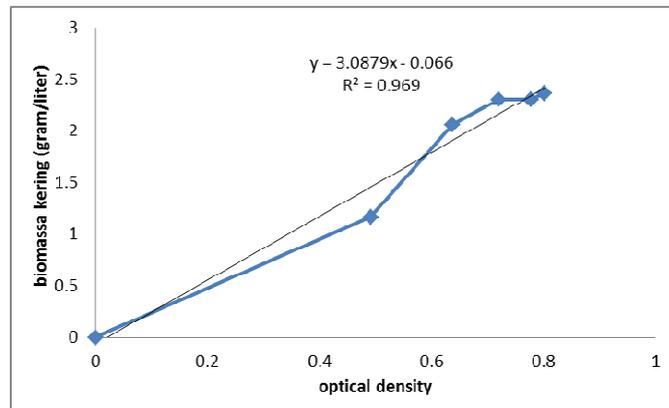
$$COD = [(a+b) \times N_{KMnO_4} \text{ standarisasi} - (V \times N)_{H_2C_2O_4}] \times 8000$$

3. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini akan dipelajari perbandingan antara medium kontrol (variabel 0 % penambahan air dadih tahu) yang menggunakan nutrisi sintetis sebagai sumber nutrisi dan media dengan penambahan air dadih (whey) tahu mengenai densitas optik, biomassa dan kadar lipid yang dihasilkan. Selain itu akan dipelajari efisiensi pemanfaatan air dadih (whey) tahu dengan menganalisa penurunan kandungan COD.

Kurva Kalibrasi *Botryococcus Braunii*

Untuk mendapatkan hubungan antara biomassa kering (*dry weight*) yang dihasilkan untuk setiap densitas optiknya diperlukan suatu kurva kalibrasi. Dari analisa laju pertumbuhan *Botryococcus braunii* pada medium kontrol, kurva kalibrasi untuk *Botryococcus braunii* dapat ditunjukkan pada grafik 1 berikut:

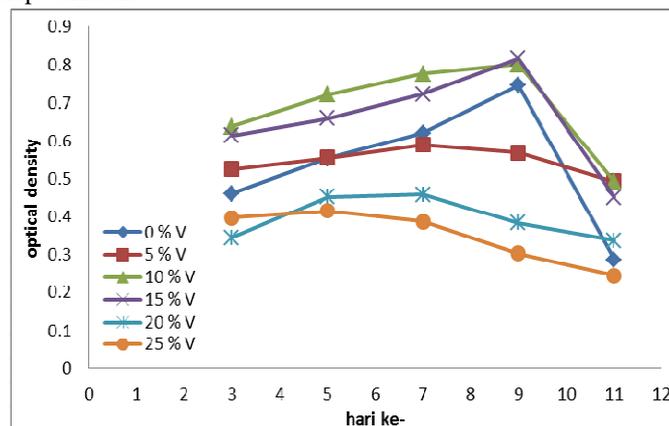


Grafik 1. Hubungan antara *optical density* dengan biomassa kering

Dari grafik di atas menunjukkan hubungan antara *optical density* pada panjang gelombang 680 nm dengan biomassa kering yang dikultivasi menggunakan nutrisi sintetis. Hasil penelitian di atas digambarkan dalam persamaan linier $y=3.087x-0.0066$ ($R^2=0,969$) dengan menggunakan metode autoflokulasi dari Vandamme et al. (2012). Hal ini menunjukkan bahwa *optical density* (OD) berbanding lurus dengan biomassa keringnya. Dari persamaan linier tersebut didapatkan kurva kalibrasi yang akan digunakan untuk menentukan jumlah biomassa kering pada kultivasi *Botryococcus braunii* menggunakan air dadih (*whey*) tahu.

Pengaruh Penambahan Air Dadih (*Whey*) Tahu Terhadap Laju Pertumbuhan *Botryococcus braunii*

Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap kelima variabel penambahan air dadih (*whey*) tahu, dapat dilihat pengaruh penambahan air dadih (*whey*) tahu terhadap laju pertumbuhan *Botryococcus braunii* dalam 11 hari masa kultivasi. Berikut adalah grafik yang menunjukkan hubungan antara *optical density* dengan waktu kultivasi pada setiap variabel.



Grafik 2. Hubungan antara *optical density* dengan waktu kultivasi pada setiap variabel.

Dari grafik 2. dapat dilihat untuk variabel 1, dengan penambahan air dadih (*whey*) tahu 5% volume kultivasi, laju pertumbuhan *Botryococcus braunii* lebih rendah dari laju pertumbuhan dengan penambahan nutrisi sintetis. Hal ini dikarenakan kurangnya air dadih (*whey*) tahu dalam media kultivasi yang dibutuhkan oleh *Botryococcus braunii* sehingga mempengaruhi kemampuan pembelahan sel yang menyebabkan menurunnya laju pertumbuhan. Salah satu indikasi yang dapat ditemukan yaitu menurunnya *optical density* pada hari ke-9. Sedangkan pada laju pertumbuhan dengan penambahan nutrisi sintetis *optical density* menurun pada hari ke-11.

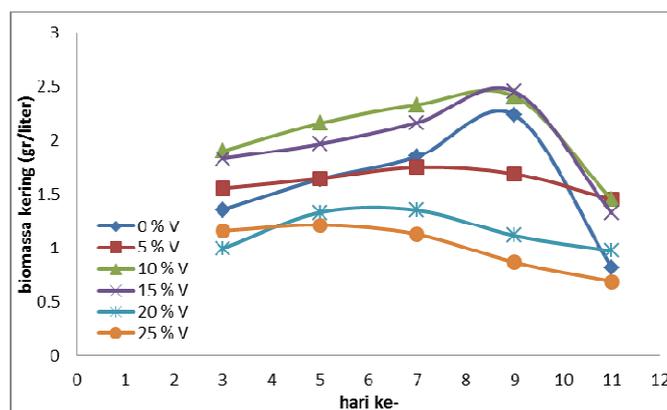
Sedangkan pada variabel 2, penambahan air dadih (*whey*) tahu 10% volume kultivasi, dan variabel 3, dengan penambahan air dadih (*whey*) tahu 15% volume kultivasi, laju pertumbuhan *Botryococcus braunii* lebih tinggi dari laju pertumbuhan dengan penambahan nutrisi sintetis. Pada variabel 2 peningkatan nilai *optical density* dari hari pertama kultivasi sampai hari ke-7 lebih tinggi dibandingkan dengan variabel 3. Hal ini menunjukkan bahwa pada variabel 2, kandungan unsur hara yang terdapat di dalam air dadih (*whey*) tahu dapat dimanfaatkan dengan baik oleh *Botryococcus braunii* sehingga tercapai laju pertumbuhan yang lebih baik dari variabel 3. Meskipun pada hari ke-9 nilai *optical density* pada variabel 3 yaitu 0,817 lebih besar dibandingkan variabel 2 yaitu 0,802.

Pada variabel 4 dan 5, penambahan air dadih (*whey*) tahu 20% dan 25% volume kultivasi, dapat dilihat bahwa laju pertumbuhan *Botryococcus braunii* menjadi lebih rendah dari laju pertumbuhan dengan penambahan nutrisi sintetis. Seperti pada variabel 1, indikasi tidak optimalnya laju pertumbuhan *Botryococcus braunii* ditandai dengan menurunnya *optical density* sebelum hari ke-9, yaitu pada hari ke-7 untuk variabel 4 dan pada hari ke-5 untuk variabel 5.

Hal ini disebabkan unsur hara yang terkandung di dalam air dadih (*whey*) tahu pada variabel 4 dan 5 lebih tinggi dibanding variabel lainnya. Pada penelitian Suminto dan Hirayama (1996) juga disebutkan bahwa pada media yang memiliki unsur hara yang terlalu tinggi akan menyebabkan pertumbuhan mikroalga terhambat karena mikroalga tersebut memerlukan waktu yang lebih lama untuk beradaptasi. Yang dimaksud dengan beradaptasi adalah fase untuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya setelah media kultivasi tersebut diberi air dadih (*whey*) tahu. Selain itu, air dadih (*whey*) tahu yang berlebih tidak dimanfaatkan secara efektif sehingga akan menghasilkan tumpukan bahan organik yang bersifat racun bagi mikroalga dan pada akhirnya dapat menghambat pertumbuhan. Hal ini diperkuat dengan penelitian Hastuti & Handajani (2011) yang menyatakan jika air dadih (*whey*) tahu di berikan pada media kultivasi dalam jumlah berlebih maka akan bersifat racun yang dapat menghambat pertumbuhan, karena dengan adanya sifat racun maka efektivitas metabolisme sel secara langsung akan terganggu.

Pengaruh Penambahan Air Dadih (*Whey*) Tahu Terhadap Konsentrasi Biomassa

Kandungan nutrisi yang terdapat di dalam air dadih (*whey*) tahu berperan penting dalam pertumbuhan mikroalga. Nutrisi adalah substansi yang dibutuhkan untuk bertahan hidup atau dibutuhkan untuk sintesis komponen organik sel (pertumbuhan sel). Menurut Ambar (2009), penambahan nutrisi ke dalam media kultivasi mikroalga merupakan aspek yang paling berpengaruh terhadap kuantitas biomassa hasil kultivasi mikroalga.



Grafik 3. Hubungan antara biomassa kering dengan waktu kultivasi pada setiap variabel.

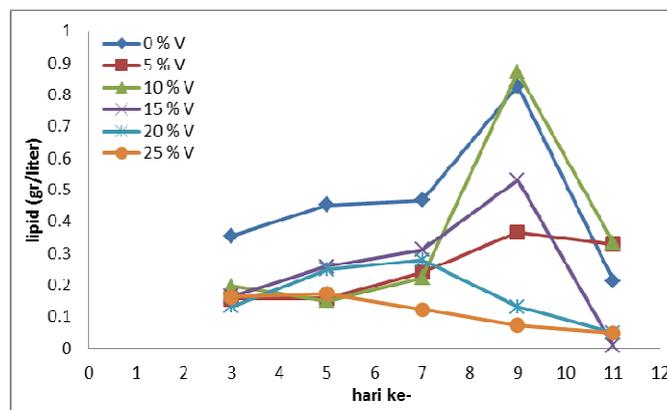
Berdasarkan data yang didapatkan dari hasil penelitian, keseluruhan suspensi mikroalga dalam kadar air dadih (*whey*) tahu yang berbeda menunjukkan tren pertumbuhan yang sama sesuai dengan fase pertumbuhan kultur mikroalga namun dengan jumlah biomassa kering yang berbeda untuk setiap kadar air dadih (*whey*) tahu. Hal ini mengacu pada jumlah biomassa kering berbanding lurus dengan densitas optiknya sesuai dengan kurva kalibrasi pada grafik 1.

Dari grafik 3, penambahan air dadih (*whey*) tahu dari kadar 5, 10, 15 % volume tidak memberikan efek merusak pada biomassa *Botryococcus braunii* sehingga dapat dimanfaatkan oleh mikroalga tersebut sebagai

nutrisi untuk menambah jumlah biomasanya sampai pada batas waktu tertentu. Dari penelitian yang dilakukan, rata-rata suspensi mikroalga pada kadar air dadih (*whey*) tahu yang berbeda mencapai pertumbuhan yang optimal pada hari ke-9.

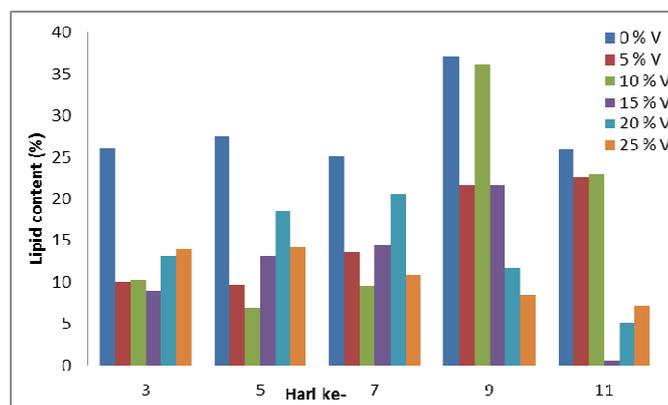
Penambahan air dadih (*whey*) tahu dari kadar 20% volume dan 25% volume memberikan efek merusak pada biomassa mikroalga. Hal ini dikarenakan mikroalga tidak mampu mencerna unsur hara dalam air dadih (*whey*) tahu yang berlebih sehingga menurunkan daya cerna dan kemungkinan produksi dari metabolit yang toksik (Faradilla, 2011). Produksi dari metabolit yang toksik ini menyebabkan laju pertumbuhan mikroalga rendah (kemungkinan mati) sehingga biomassa kering yang dihasilkan semakin rendah. Dari penelitian yang dilakukan, rata-rata suspensi mikroalga pada kadar air dadih (*whey*) tahu ini mencapai pertumbuhan yang optimal pada hari ke-7. Biomassa mikroalga terbanyak didapatkan pada suspensi mikroalga yang dikultivasi pada kadar air dadih (*whey*) tahu sebesar 10% volume.

Pengaruh Penambahan Air Dadih (*Whey*) Tahu Terhadap Kadar Lipid Pada Biomassa



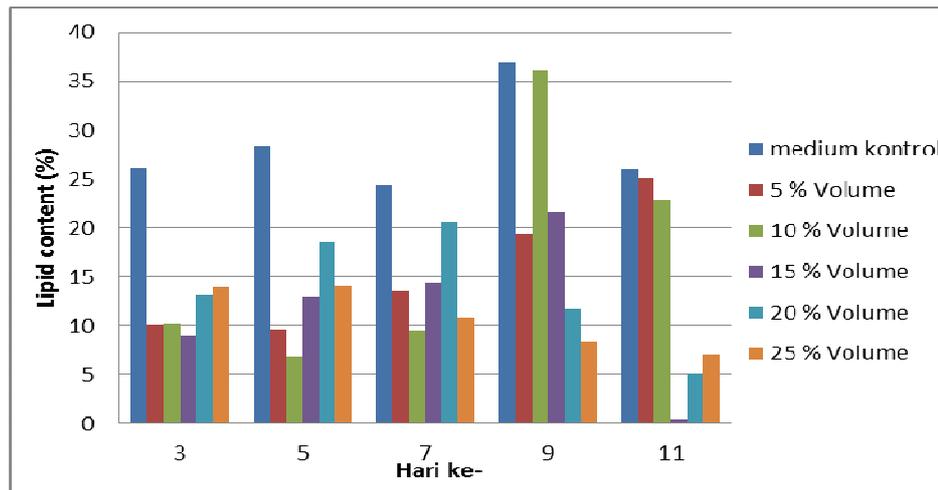
Grafik 4. Hubungan antara jumlah lipid dengan waktu kultivasi pada setiap variabel.

Pada grafik 4 dapat dilihat fenomena kenaikan jumlah lipid yang dihasilkan setiap harinya sesuai dengan fase pertumbuhan *Botryococcus braunii*. Pada fase awal kultivasi lipid yang dihasilkan pada semua variabel cenderung lebih rendah dibandingkan lipid yang dihasilkan ketika fase pertumbuhan *Botryococcus braunii* memasuki fase ketiga, yaitu penurunan laju pertumbuhan (*declining relative growth phase*). Kemudian jumlah lipid yang dihasilkan menurun ketika fase pertumbuhan *Botryococcus braunii* memasuki fase stasioner dan fase kematian (*death phase*). Casadevall et al. (1985) menyatakan bahwa pembentukan lipid mulai terjadi pada awal fase eksponensial pertumbuhan *Botryococcus braunii* dan berhenti ketika memasuki akhir fase stasioner dengan pembentukan lipid paling banyak selama fase eksponensial. Sedangkan Widjaja et al. pada tahun 2009 menyatakan bahwa pengurangan kadar nitrogen dalam medium pertumbuhan mikroalga dapat meningkatkan kadar lipid, akan tetapi hal ini juga dapat menurunkan laju pertumbuhannya. Ini menunjukkan bahwa pembentukan lipid optimum ketika kandungan nitrogen pada medium kultivasi telah mengalami penurunan, yaitu pada fase penurunan laju pertumbuhan (*declining relative growth phase*).



Grafik 5. Hubungan antara lipid content dengan waktu kultivasi pada setiap variabel.

Grafik 5 menunjukkan hubungan antara kadar lipid pada *Botryococcus braunii* setiap harinya pada semua variabel. Dari grafik di atas kadar lipid tertinggi dihasilkan oleh variabel 2 dengan 10 % volume penambahan air dadih (*whey*) tahu. Wang et al. (2010) mengemukakan bahwa medium dengan perbandingan C/N lebih tinggi menghasilkan kadar lipid yang lebih tinggi pula. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan karbon dalam medium semakin tinggi pula kadar lipid yang dihasilkan. Sebaliknya semakin tinggi kandungan nitrogen maka semakin rendah kadar lipid yang dihasilkan.



Secara keseluruhan, laju pertumbuhan, jumlah biomassa dan kadar lipid *Botryococcus braunii* paling baik terjadi pada variabel 2 yaitu dengan penambahan air dadih (*whey*) tahu 10% volume kultivasi. Hal ini dikarenakan mikroalga akan mengalami pertumbuhan yang baik jika kebutuhan nutriennya terpenuhi.

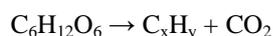
Pengaruh Penambahan Air Dadih (*Whey*) Tahu Terhadap Konsentrasi Biomassa

Perez dan Garcia pada tahun 2011 mengemukakan bahwa ada tiga cara pemanfaatan energi menjadi lemak yang dapat dilakukan oleh mikroalga yaitu autotrof, heterotrof dan mixotrof. Pada penelitian ini pengembangbiakan *Botryococcus braunii* dilakukan secara mixotrof, yang merupakan penggabungan dari autotrof dan heterotrof. Hal ini memungkinkan *Botryococcus braunii* untuk berfotosintesis dengan bantuan energi cahaya dan senyawa mikronutrien serta memanfaatkan energi dari senyawa kimia organik untuk disintesis menjadi lipid sehingga media air dadih (*whey*) tahu dapat diolah secara biologis oleh mikroalga sekaligus memberikan asupan nutrisi untuk pertumbuhannya.

Pada proses fotosintesis, *Botryococcus braunii* menggunakan klorofil untuk mengubah sumber karbon yang berupa karbon dioksida (CO_2) menjadi biomassa dengan bantuan energi cahaya dan senyawa mikronutrien. Senyawa mikronutrien seperti Fe^{3+} dan Cl^- dibutuhkan oleh *Botryococcus braunii* untuk pembentukan klorofil dan aktivitas kloroplas (Oh-hama dan Miyachi, 1988). Berikut adalah mekanisme pembentukan biomassa secara autotrof:



Proses sintesis senyawa organik pada air dadih (*whey*) tahu tidak membutuhkan energi cahaya. *Botryococcus braunii* memanfaatkan kandungan COD dari air dadih (*whey*) tahu. Sebagai sumber energi eksternal untuk kemudian disimpan dalam bentuk lipid. Berikut ini adalah mekanisme pembentukan lipid dari glukosa secara heterotrof sesuai yang dipaparkan oleh Singh dan Gu (2010):



Melalui mekanisme reaksi di atas COD dari air dadih (*whey*) tahu dapat terkonversi menjadi lipid. Kemudian kadar COD dari air dadih (*whey*) tahu mengalami penurunan setelah digunakan menjadi media kultivasi *Botryococcus braunii*.

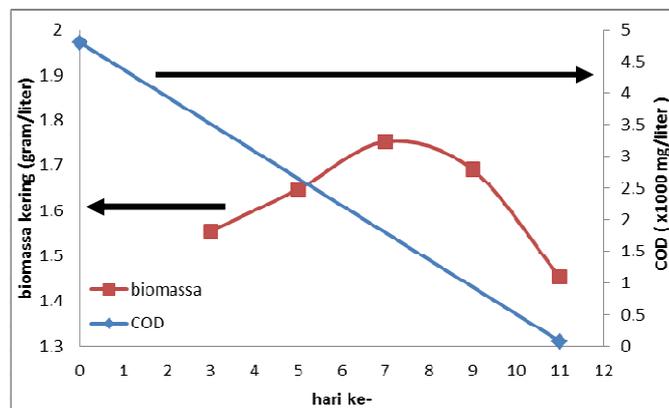
Tabel 1. Penurunan kadar COD air dadih (*whey*) tahu

Variabel	Kadar COD air dadih (<i>whey</i>) awal (mg/l)	Kadar COD media kultivasi (mg/l)	Masa kultivasi (hari)	Kadar COD akhir (mg/l)	Persen penurunan kadar COD (%)
1	4560	228	11	80	64,91
2	4800	480	11	80	83,33
3	4640	696	11	80	88,51
4	4400	880	11	240	72,73
5	4480	1120	11	320	71,43

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar COD air dadih (*whey*) tahu menurun selama 11 hari kultivasi.

Penurunan ini membuktikan kandungan yang dimiliki oleh air dadih (*whey*) tahu khususnya senyawa organik dapat dimanfaatkan sebagai nutrisi dalam pertumbuhan *Botryococcus braunii*. Pada hasil percobaan, diketahui air dadih (*whey*) tahu ini dapat digunakan sebagai pengganti nutrisi sintesis karena masih mengandung unsur hara yang dibutuhkan mikroalga yang terdiri dari COD, nitrogen dan fosfor. Yang et al. (2000) menyatakan senyawa organik juga bisa dimanfaatkan oleh mikroalga sebagai sumber energi dan sumber karbon sekaligus mengurangi kebutuhan nutrisi tambahan bagi mikroalga tersebut. Nutrisi berperan penting dalam pertumbuhan mikroalga sebagai sumber energi untuk menghasilkan biomassa.

Dapat dilihat pula pada tabel 1 bahwa penurunan kandungan COD maksimal terjadi pada variabel 3 dengan penambahan air dadih (*whey*) tahu sebesar 15 % volume yaitu sebesar 88,51 %. Penurunan COD pada variabel 2 dengan penambahan air dadih (*whey*) tahu sebesar 10% volume sebesar 83,33 %. Pada variabel 2 didapatkan jumlah biomassa dan lipid yang optimal meskipun penurunan COD tidak maksimal. Hal ini disebabkan semakin besar air dadih (*whey*) tahu yang ditambahkan, semakin besar pula protein yang terkandung. Tingginya kadar protein memungkinkan terbentuknya senyawa ammonia (NH_3) yang bila terlarut dalam air akan membentuk ion NH_4^+ . Ion NH_4^+ dapat mengakibatkan menurunnya pembentukan lipid pada strain *Botryococcus braunii* yang ditandai dengan menurunnya aktifitas respirasi dan fotosintesis (Ohmori et al., 1984). Berikut ini akan disajikan hubungan antara penurunan kandungan COD dengan jumlah biomassa yang dihasilkan.



Grafik 6. Hubungan antara kenaikan jumlah biomassa dengan penurunan kadar COD seiring waktu pada variabel optimum.

Grafik 6 menunjukkan bahwa Pemanfaatan nutrisi secara optimal terjadi pada fase eksponensial yang ditunjukkan dengan peningkatan jumlah biomassa yang dihasilkan, kemudian pada saat memasuki fase ketiga, yaitu penurunan laju pertumbuhan (*declining relative growth phase*) jumlah penambahan biomassa menurun. Pada fase keempat, yaitu fase stasioner tidak terjadi penambahan jumlah biomassa dan memasuki fase kelima, yaitu *death phase* jumlah biomassa terus menurun. Hal ini dikarenakan pada penelitian ini digunakan media kultivasi dengan sistem batch dimana kandungan nutrisi menurun setiap harinya. Kemudian pada suatu saat nutrisi tidak mencukupi sehingga alga mati karena kekurangan nutrisi. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna air media kultivasi dari hijau menjadi keruh (pudar), adanya gumpalan mikroalga yang mengendap di dasar wadah kultivasi dan menurunnya nilai *optical density* (Kawaroe dkk., 2010).

Potensi Penggunaan Air Dadih (*Whey*) Tahu sebagai Media Kultivasi *Botryococcus braunii*

Dengan dilakukannya penelitian ini maka dapat diketahui bahwa air dadih (*whey*) tahu dapat dimanfaatkan sebagai media kultivasi mikroalga khususnya *Botryococcus braunii*. Selain berguna dalam penyediaan nutrisi bagi *Botryococcus braunii*, pemanfaatan air dadih (*whey*) tahu ini dapat dilakukan sebagai upaya pengolahan limbah produksi tahu sehingga aman untuk dibuang ke lingkungan. Berikut adalah baku mutu air limbah tahu mengacu pada Peraturan Daerah Provinsi Jawa Tengah Nomer 10 Tahun 2004:

Tabel 2. Parameter baku mutu air limbah tahu

No	PARAMETER	INDUSTRI TAHU	
		KADAR MAKSIMUM (Mg/L)	BEBAN PENCEMARAN MAKSIMUM (kg/ton)
1.	Temperatur	38°C	-
2.	BOD ₅	150	3
3.	COD	275	5,5
4.	TSS	100	2
5.	PH	6,0 – 9,0	
6.	Debit maksimum	20 m ³ / ton kedelai	

(Peraturan Daerah Propinsi Jateng No.10, Th 2004)

Pada hasil akhir air media kultivasi pada variabel optimum menunjukkan kandungan COD sebesar 80 ppm. Hal ini berarti air sisa kultivasi telah aman untuk langsung dibuang ke lingkungan karena batas COD maksimal yang diizinkan sebesar 275 ppm.

Dengan peninjauan lebih lanjut, dapat dihitung efisiensi pengolahan air limbah tahu terhadap jumlah lipid yang dihasilkan pada kultivasi *Botryococcus braunii*. Dengan memperhitungkan jumlah air dadih (*whey*) tahu yang dihasilkan setiap harinya maka dapat dihitung produksi biomassa dan lipid dari kultivasi *Botryococcus braunii*. Data produksi air dadih (*whey*) tahu pada proses pembuatan tahu yaitu sebesar 2610,012 kg (Sriharti, Tahiyah dan Sukirno, 2004). Secara singkat, dalam pengolahan 60 kg kedelai akan dihasilkan 2610 liter air dadih (*whey*) atau 43,5 liter setiap kilogram kedelai yang diolah (Elly, 2006).

Dalam penelitian ini didapatkan penambahan air dadih (*whey*) tahu optimal sebesar 10 % volume dengan volume kultivasi 16 liter sebagai media kultivasi. Sehingga kebutuhan air dadih (*whey*) tahu adalah 1,6 liter. Dari 1,6 liter air dadih (*whey*) tahu dapat dihasilkan biomassa sebesar 2,4101 gram/liter atau 38,56 gram/total volume kultivasi, dan dari biomassa 2,4101 gram/liter dapat dihasilkan lipid sebesar 0,8716 gram/liter atau 13,95 gram/total volume kultivasi (16 liter). Sehingga dengan 1,6 liter air dadih (*whey*) tahu didapatkan lipid sebanyak 13,95 gram atau 8,716 gram dengan penggunaan 1 liter air dadih (*whey*) tahu.

Menurut Direktur Pemasaran Domestik, Ditjen Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian Kementerian Pertanian (Kementan) Mahfudin memaparkan industri tahu membutuhkan bahan baku berupa kedelai sekitar 450 ribu ton per tahun. Dengan estimasi 360 hari dalam satu tahun, maka kebutuhan kedelai dalam sehari adalah 1.250 ton. Menurut neraca massa di atas, air dadih (*whey*) tahu yang dihasilkan per kilogram kedelai adalah 43,5 liter. Sehingga air dadih (*whey*) tahu yang dihasilkan dari seluruh industri tahu di Indonesia mencapai 54.375.000 liter setiap harinya. Dengan potensi tersebut maka potensi lipid yang dapat dihasilkan dari kultivasi *Botryococcus braunii* di Indonesia mencapai 473.932.500 gram. Jika 473.932.500 gram lipid dapat dihasilkan setiap pengolahan 1.250 ton kedelai, secara sederhana dapat disimpulkan bahwa setiap ton kedelai yang diolah maka didapatkan produksi lipid sebesar 379.146 gram atau mencapai 379 kg per harinya.

Sedangkan pada sentra industri tahu di kawasan Jomblang di Kota Semarang setiap harinya diperlukan 7 kwintal (700 kg) kedelai untuk proses produksi. Dengan begitu air dadih (*whey*) yang dihasilkan sebesar 30.500 liter per hari. Dari 30.500 liter air dadih (*whey*) dapat diproduksi 265.402,2 gram (265 kg) lipid hasil kultivasi *Botryococcus braunii*. Jika 265 kg lipid dapat dihasilkan setiap pengolahan 700 kg kedelai, secara sederhana dapat disimpulkan bahwa setiap kilogram kedelai yang diolah maka didapatkan produksi lipid sebesar 379,146 gram atau mencapai 0,379 kg per harinya.



4. Kesimpulan

Kultivasi *Botryococcus braunii* menggunakan air dadih (*whey*) tahu mencapai hasil optimum pada konsentrasi 10% volume dengan *optical density* (OD) optimum pada hari ke-9 sebesar 0,802 dengan jumlah biomassa sebesar 2,4101 gram/liter dan kandungan lipid sebesar 0,8716 gram/liter. Kultivasi *Botryococcus braunii* menggunakan air dadih (*whey*) tahu dengan konsentrasi 10% volume ini lebih baik daripada menggunakan nutrisi sintetis. Penurunan COD pada konsentrasi penambahan air dadih (*whey*) tahu optimum (10% volume) adalah 83,33%, sedangkan penurunan COD maksimum terjadi pada konsentrasi penambahan air dadih (*whey*) tahu sebesar 15% dengan efisiensi penurunan 88,51%. Sebagai potensi biodiesel, pada sentra industri tahu Jomblang dengan kebutuhan bahan baku kedelai sebesar 7 kwintal per hari dapat dihasilkan lipid sebagai bahan baku biodiesel sebesar 0,379 kg per harinya.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ir. Danny Soetrisnanto, M.Eng. selaku dosen pembimbing penelitian serta Laboratorium Pengolahan Limbah dan Bioproses Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro atas kontribusinya sebagai tempat penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Ambar, D. 2009. *Optimasi Pengembangan Media untuk Pertumbuhan Chlorella sp pada Skala Laboratorium*. IPB. Bogor.
- Casadevall, E., Dif, D., Largeau, C., Guidin, C., Chaumont, D. and Desanti, O.. 1985. *Studies on Batch and Continuous Cultures of Botryococcus braunii: Hydrocarbon Production in Relation to Physiological State, Cell Ultrastructure and Phosphate Nutrition*. *Biotechnology and Bioengineering*. 27. 286 – 295.
- Chisti, Y. 2007. *Biodiesel from microalgae*. *J Biotechnology Advances* 25 : 294 – 306.
- Faradilla, A., Rima, A. 2011. Pemanfaatan Air Limbah Pabrik Pupuk Kadar Amonia Tinggi sebagai Media Kultur Mikroalga untuk Perolehan Sumber Minyak Nabati sebagai Bahan Bakar Biodiesel. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Gerpen, J.V.. 2005. *Biodiesel Processing and Production*. *Fuel Processing Technology* 86. 1097 – 1107.
- Gouveia, Luisa. 2011. *Microalgae as a Feedstock for Biofuels*. Springer brief in microbiology.
- Guerrero, M.G. 2010. *Bioethanol from microalgae?*. Instituto Bioquímica Vegetal y Fotosintesis. Sevilla. 26 pp.
- Habib, MAB., Yusoff, FM., Phang, SM., Kamarudin, MS., and Mohamed, S. 2003. Growth and Nutritional Values of *Moina micrura* Fed on *Chlorella vulgaris* Grown in Digested Palm Oil Mill Effluent. *Asi. Fisher. Scie.* 16, 107-119.
- Hartati. 2010. *Tahu Makanan Bergizi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hastuti, D., Handajani, H. 2001. *Budidaya Pakan Alami*. Fakultas Peternakan-Perikanan UMM. Malang.
- Isnansetyo, A., Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton*. Kanisius. Yogyakarta.
- Kawaroe, M., Prartono, T., Sunuddin, A., Augustine, D., Sari, DW. 2010. *Mikroalga : Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. Bogor : IPB Press. Fakultas Teknik Universitas Sumatera Utara.
- Nuraida. 1996. *Analisis Kebutuhan Air pada Industri Pengolahan Tahu dan Kedelai*.
- Ohmori, M., Wolf, F.R. and Bassham, J.A.. 1984. *Botryococcus braunii Carbon/Nitrogen Metabolism as Affected by Ammonia Addition*. *Archives of Microbiology*, 140, 101 – 106.
- Özgül, S., Türkay, S., 1993. *In Situ Esterification of Rice Brand Oil with Methanol and Ethanol*. *Jurnal American Oil and Chemical Society* 70, 145 – 147.
- Pamuji, Lanang, Maulana, Y.H.. 2004. *Pembuatan Bahan Bakar Biodiesel dari Minyak Goreng Kelapa Sawit dengan Proses Catalytic Cracking dan Katalis Zeolit*. Laporan Penelitian Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro Semarang.
- Patil, V., Tran, K.Q., & Giselrod, H.R.. 2008. *Toward Sustainable Production of Biofuels*



- from *Microalgae. Int. J. Mol. Sci.*, 9 : 1158 – 1195.
- Perez-Garcia, O., Ecalante, F., de-Bashan, L., and Bashan, Y. 2011. Heterotrophic culture of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Research*. 45. 11 – 36.
- Sim, S.J., An, J.Y., Kim, B.W.. 2001. *Two-phase Extraction Culture of Botryococcus braunii Producing Long-chain Unsaturated Hydrocarbons*. *Biotechnol Lett*. 23: 201 – 205.
- Sudaryati, N.L.G., I.W. Kasa, I.W.B. Suyasa. 2007. *Pemanfaatan Sedimen Perairan Tercemar sebagai Bahan Lumpur Aktif dalam Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu*. *Ecotrophic* 3 (1): 21 – 29.
- Vandamme, D., Fourbert, I., Fraeye, I., Muylaert, K. 2012. Influence of Organic Matter Generated by *Chlorella Vulgaris* on Five Different Modes of Flocculation. *Bioresour. Technol.* 124, 508-511.
- Wang, L., Li, Y., Chen, P., Min, M., Chen, Y., Zhu, J., Ruan, R. 2010. Anaerobic Digested Dairy Manure as a Nutrient Supplement for Cultivation of Oil-Rich Green Microalgae *Chlorella Sp.* *Bioresour. Technol.* 101, 2623-2628.
- Widjaja, Arief., Chien, Chou-Chang, and Ju, Yi-Hsu. 2009. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae. *J. Taiwan Institute of Chem Eng.* 40, 13-20.
- Singh, J., Gu, S.. 2010. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14. 2596-2610.
- Sriharti, Tahiyah Salim dan Sukirno. 2004. *Teknologi Penanganan Limbah Cair Tahu*. Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses. Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro. Semarang.