

I. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

Mikroalga merupakan sejenis makhluk hidup bersel satu (uniseluler) yang tinggal di air, mulai air tawar sampai air laut. Mikroalga tidak mempunyai akar, batang dan daun. Namun mempunyai pigmen klorofil (hijau), fikosantin (coklat), fikoeritrin (merah), fikosianin (biru) dan karotenoid (oranye). Mikroalga dikenal juga dengan istilah fitoplankton karena mempunyai kemiripan dengan tumbuhan tingkat tinggi. Kemiripan tersebut adalah kemampuan mikroalga untuk berfotosintesis (autotrof), sehingga mikroalga berperan sebagai produsen dalam jaring-jaring makanan di lingkungan perairan. Karena kemampuannya tersebut, mikroalga banyak dimanfaatkan sebagai biofuel, pangan dan biomaterial (Christi, 2007 dalam Hadiyanto and Azim, 2012).

Mikroalga mampu mengubah energi cahaya dan karbon dioksida (CO_2) menjadi oksigen dan biomassa seperti karbohidrat dan lipid. Mikroalga mempunyai kemampuan mengubah energi matahari dan karbon dioksida (CO_2) menjadi biomassa secara lebih efisien dibandingkan tumbuhan tingkat tinggi karena memiliki struktur seluler yang lebih sederhana. Salah satu sumber karbon bisa diperoleh dari styrofoam. Kemampuan mikroalga untuk mengurangi karbondioksida, menjadikannya sebagai solusi pencegahan pemanasan global (Harun *et al.*, 2010)

Mikroalga membutuhkan nutrisi untuk mendukung pertumbuhannya. Nutrisi ini terdiri dari komponen makronutrien dan mikronutrien. Komponen makronutrien adalah nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah besar, contohnya yaitu karbon (C), Nitrogen (N), dan Fosfor (P). Selain itu, Hidrogen (H) dan Oksigen (O) juga penting untuk pertumbuhan mikroalga. Sedangkan komponen mikronutrien adalah nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit namun berkelanjutan, contohnya yaitu Kalsium (Ca), Magnesium (Mg), Sodium (Na), Kalium (K), Besi (Fe), Mangan (Mn), Belerang (S), Seng (Zn), Tembaga (Cu) dan Kobalt (Co). Selain itu, faktor lingkungan seperti pH,

salinitas, temperatur dan intensitas cahaya juga turut mendukung pertumbuhan mikroalga (Raja *et al.*, 2014).

Mikroalga memiliki jenis yang beragam. Menurut Hadiyanto and Azim (2012), jumlah mikroalga di alam diperkirakan mencapai 800.000 jenis. Namun jumlah yang teridentifikasi baru sekitar 35.000 dan baru beberapa jenis yang dikultivasi dalam skala besar. Salah satu jenis mikroalga yang banyak dikultivasi adalah *Spirulina*

2.2 *Spirulina*

Menurut Gomon (1892) dalam Guiry (2016), klasifikasi dari *Spirulina* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Cyanobacteria
Kelas	: Cyanophyceae
Ordo	: Oscillatoriales
Famili	: Microcoleaceae
Genus	: <i>Arthrospira</i>
Spesies	: <i>Arthrospira platensis</i>



Gambar 2 *Arthrospira platensis* (Hadiyanto dan Azim, 2012)

Spirulina berwarna hijau kebiruan, mempunyai bentuk tubuh benang (*filament*) berpilin menyerupai spiral (*helix*), tidak bercabang, berukuran 1-12 mikrometer, biasanya hidup berkoloni. Aktif bergerak (*motil*) dengan merotasikan tubuhnya. Habitatnya di air tawar, biasanya di perairan yang belum tercemar (Hariyati, 2008). Beberapa spesies menyukai mata air panas, sulfur, perairan payau dan pesisir laut. *Spirulina* berkembang biak secara vegetatif yaitu dengan cara fragmentasi atau membelah diri secara bersilangan, tegak lurus terhadap sumbu trikoma (Guiry, 2016).

Spirulina sudah banyak digunakan sebagai pakan alami / protein sel tunggal karena mengandung nutrisi yang tinggi. Kandungan protein pada *Spirulina* adalah 60-70%. Kandungan proteinnya bahkan lebih tinggi dari daging, ikan, telur dan kedelai (Hadiyanto dan Azim, 2012), sedangkan kandungan lemaknya cukup rendah 1,5-12%. Selain digunakan sebagai pakan alami, *Spirulina* juga banyak digunakan sebagai bahan kosmetik, obat-obatan dan pewarna alami (Buwono and Nurhasanah, 2018b).

Manfaat *Spirulina* yang sangat beragam menjadikannya sangat berpotensi untuk dikembangkan. Menurut Hutabarat dan Herawati (2014), tujuan kultur mikroalga adalah untuk mendapatkan stok yang melimpah dengan kandungan nutrisi yang optimal. Kultur mikroalga dapat dilakukan dalam tahap skala laboratorium, semi massal dan skala komersial. Kultur skala laboratorium dilakukan untuk pembibitan, sehingga harus steril. Selain itu faktor lingkungan seperti pH, temperatur, intensitas cahaya dan nutrisi dijaga tetap stabil. Skala semi massal dilakukan untuk mempersiapkan kultur mikroalga secara komersial. Kultur komersial dilakukan untuk meningkatkan biomassa. sehingga diharapkan mendapatkan panen *Spirulina* lebih besar. Waktu pemanenan juga harus menunggu puncak pertumbuhan populasi, sehingga biomassa yang dipanen bisa optimal (Hadiyanto dan Azim, 2012).

2.3 Faktor Pembatas Tumbuh Mikroalga

Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh banyak faktor. Menurut (Hadiyanto dan Azim, 2012), faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga meliputi intensitas cahaya, temperatur, nutrisi, aerasi dan oksigen terlarut, pH,

salinitas dan pengadukan. Faktor-faktor tersebut berpengaruh terhadap jumlah biomassa dan produk yang dihasilkan.

2.3.1 Intensitas cahaya

Cahaya merupakan salah satu faktor penting dalam pertumbuhan mikroalga karena berperan dalam fotosintesis. Intensitas cahaya sangat menentukan pertumbuhan mikroalga jika dilihat dari durasi penyinaran dan panjang gelombang yang digunakan. Menurut Belay (2013), aktivitas fotosintesis akan meningkat seiring meningkatnya intensitas cahaya yang digunakan. Kebutuhan cahaya juga sangat tergantung pada kedalaman dan kepadatannya. Sumber energi yang didapat dari cahaya akan digunakan mikroalga untuk menghasilkan karbon organik sehingga menentukan kadar biomassa. Intensitas cahaya 1000 lux merupakan intensitas cahaya optimum untuk pertumbuhan mikroalga di dalam Erlenmeyer, sedangkan intensitas cahaya 5000-10000 lux optimum untuk volume kultur yang lebih besar. Selain itu, pencahayaan yang cukup juga berperan menjaga temperatur media supaya tetap berada pada kisaran optimum pertumbuhan mikroalga, terutama pada malam hari

2.3.2 Temperatur

Temperatur merupakan salah satu faktor penting dalam pertumbuhan mikroalga. Perubahan temperatur berpengaruh terhadap proses fisika, kimia dan biologi. Perubahan temperatur juga berpengaruh pada tingkat kelarutan suatu bahan, mempengaruhi kecepatan metabolisme dan respirasi mikroalga. Temperatur yang dibutuhkan oleh sebagian besar mikroalga adalah pada kisaran 15-40 °C. Sedangkan temperatur optimum untuk pertumbuhannya yaitu pada 24-26 °C. Temperatur optimum mampu meningkatkan *growth rate* mikroalga. Temperatur di bawah 16 °C menyebabkan pertumbuhan mikroalga turun, sedangkan temperatur di atas 35°C menyebabkan kematian atau lisis (pecah) pada jenis tertentu.

2.3.3 Nutrien

Nutrien dibutuhkan oleh mikroalga untuk mendukung pertumbuhannya. Kebutuhan nutrien juga ditentukan oleh habitat mikroalga

: air tawar, payau, air laut. Nutrien yang dibutuhkan terdiri dari makronutrien dan mikronutrien. Unsur makronutrien antara lain C, H, N, P, K, S, Mg, dan Ca. Makronutrien digunakan untuk pertumbuhan sel dan metabolisme. Mikronutrien yang dibutuhkan antara lain Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn, dan Si. Mikronutrien dibutuhkan dalam jumlah sedikit, namun fungsinya tidak bisa digantikan oleh unsur lain

Unsur nitrogen (N) dan fosfor (P) merupakan nutrient penting yang dibutuhkan mikroalga untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Unsur-unsur tersebut ada dalam bentuk nitrat (NO_3^-) dan fosfat (PO_4^{3-}). Nitrat adalah bentuk utama nitrogen di perairan alami. Senyawa ini dihasilkan dari proses oksidasi sempurna senyawa nitrogen di dalam perairan. Nitrat sangat mudah larut dalam air dan bersifat stabil. Fosfat seringkali dijumpai dalam bentuk terikat dengan unsur lain, terdapat pada batu karang atau endapan di dasar lautan.

2.3.4 Aerasi dan Oksigen Terlarut

Aerasi pada saat kultivasi bertujuan agar tidak terjadi pengendapan sehingga semua sel mikroalga memperoleh cahaya, udara dan nutrisi yang sama. Aerasi mengandung karbon dalam bentuk karbon dioksida (CO_2) yang digunakan untuk berfotosintesis. CO_2 yang masuk ke media kultur akan berubah bentuk menjadi asam karbonat (HCO_3^-). Gas CO_2 dalam air dipengaruhi oleh derajat keasaman (pH) air. Derajat keasaman (pH) yang optimum untuk melarutkan CO_2 adalah pada kisaran 6,5 – 9,5. Kisaran pH di bawahnya akan menyebabkan CO_2 mudah lepas ke atmosfer sehingga tidak dapat diserap oleh mikroalga. Sebaliknya pH yang berada di atas kisaran tersebut akan menyebabkan CO_2 menjadi bikarbonat (HCO_3^-) sehingga tidak dapat diserap oleh mikroalga.

Oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen-DO*) dibutuhkan oleh semua jasad hidup untuk bernafas. Proses metabolisme tersebut menghasilkan energi untuk pertumbuhan dan pembiakan. Selain itu, oksigen juga dibutuhkan untuk mengoksidasi bahan organik dan anorganik dalam proses aerobik. Oksigen pada perairan berasal dari proses difusi udara bebas dan hasil fotosintesis dari organisme yang hidup di dalam perairan tersebut.

Namun, kadar oksigen yang terlalu tinggi justru menghambat konstanta kecepatan fotosintesis (Christenson and Sims, 2011).

2.3.5 Derajat Keasaman (pH)

Tingkat derajat keasaman (pH) akan mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan kultur mikroalga yaitu : mengubah keseimbangan karbon anorganik, mengubah ketersediaan nutrisi dan mempengaruhi fisiologi sel. Proses fotosintesis akan menyebabkan penurunan CO₂ terlarut dalam air. Penurunan ini akan diikuti dengan peningkatan pH, sehingga menyebabkan konstanta kecepatan fotosintesis menjadi terbatas.

Belay (2013) menyatakan bahwa mikroalga *Spirulina* mampu tumbuh pada pH 9-10. Pertumbuhan di bawah pH menyebabkan mikroalga membutuhkan lebih banyak energi cahaya tiap sel. Cahaya tersebut tidak seluruhnya digunakan oleh mikroalga sehingga menyebabkan inefisiensi. pH mempengaruhi toksisitas semua senyawa kimia. Variasi pH dapat mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan mikroalga dalam beberapa hal, antara lain : mengubah keseimbangan dari karbon organik, mengubah ketersediaan nutrisi, dan dapat mempengaruhi fisiologi sel.

2.3.6 Salinitas

Salinitas atau kadar garam merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap tekanan osmotik organisme air yaitu antara protoplasma dengan air. Variasi tekanan osmotik menyebabkan respon adaptasi *Spirulina* yang berbeda-beda dalam mempertahankan hidupnya. Pada penelitian mikroalga, salinitas tinggi yang diberikan pada media bertujuan untuk meningkatkan produksi biomassa dari mikroalga tersebut. Pengenceran dengan menggunakan air tawar merupakan salah satu metode dalam pengaturan salinitas pada medium yang diperkaya nutrisi. Umumnya *Spirulina* mampu tumbuh pada kadar salinitas 2,5-30 g/L (Belay, 2013).

2.4 Fase Pertumbuhan Mikroalga

Menurut Hadiyanto dan Azim (2016), pertumbuhan mikroalga dibagi menjadi beberapa fase yaitu :

2.4.1 Fase Adaptasi (*Lag phase*)

Fase adaptasi merupakan fase awal pertumbuhan dimana mikroalga baru melakukan penyesuaian terhadap lingkungan baru. Fase ini dimulai setelah penambahan inokulum ke dalam media kultur hingga beberapa saat sesudahnya. Pada fase ini biasanya mikroalga mengalami tekanan (*stress*) fisiologis karena terjadi perubahan kondisi lingkungan yang cenderung berbeda dari lingkungan sebelumnya. Pada media baru, perlu dilakukan penambahan nutrient untuk mendukung pertumbuhan mikroalga. Hal ini akan memicu metabolisme mikroalga. Pada fase ini, pembelahan sel belum terjadi sehingga kepadatan sel belum meningkat karena mikroalga masih beradaptasi dengan lingkungan barunya.

2.4.2 Fase eksponensial (*Log phase*)

Fase eksponensial merupakan tahap pertumbuhan mikroalga pasca fase adaptasi. Fase ini dimulai dengan pembelahan sel yang meningkat secara intensif, konstanta kecepatan pertumbuhan konstan dan metabolismenya stabil. Jika digambarkan dalam kurva, pertumbuhan mikroalga akan berbentuk eksponensial. Pada fase ini mikroalga akan mengalami penambahan biomassa secara cepat karena didukung oleh ketersediaan nutrient dalam media. Pemanenan mikroalga pada umumnya dilakukan pada akhir fase ini karena struktur sel masih dalam kondisi normal. Nutrien dalam media dan kandungan nutrisi dalam sel mengalami keseimbangan. Kandungan protein dalam sel juga sangat tinggi sehingga sangat optimal untuk dimanfaatkan baik untuk bibit maupun untuk konsumsi.

2.4.3 Fase penurunan pertumbuhan (*Declining growth phase*)

Fase penurunan pertumbuhan ditandai dengan berkurangnya kecepatan pertumbuhan mikroalga. Hal ini disebabkan oleh biomassa

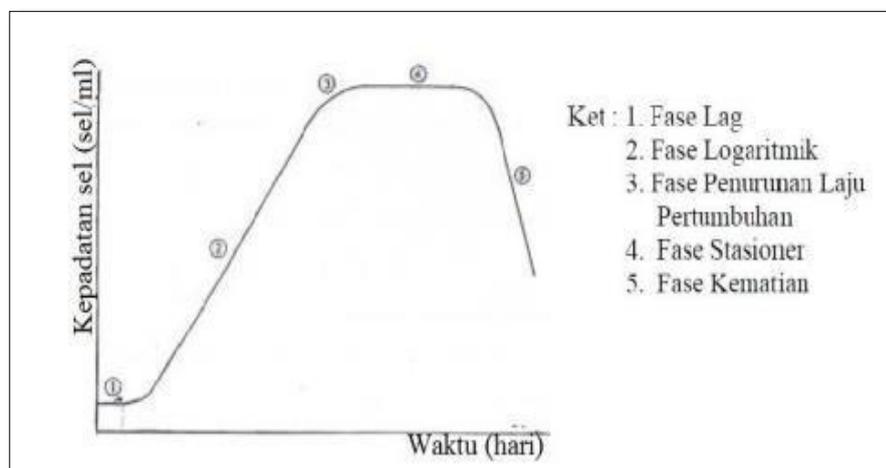
mikroalga yang telah mencapai tahap maksimum, sehingga kebutuhan nutrisi menjadi berkurang. Selain itu, jumlah sel mikroalga yang banyak juga menghalangi masuknya cahaya ke media, sehingga akan berpengaruh pada aktivitas fotosintesis. Pada fase ini, pembelahan sel masih terjadi namun tidak seintensif fase eksponensial, sehingga konstanta kecepatan pertumbuhan juga menurun. Faktor lingkungan yang lain seperti cahaya, pH, CO dan O₂ juga mulai membatasi pertumbuhan mikroalga.

2.4.4 Fase stasioner (*Stationary phase*)

Fase stasioner merupakan fase dimana tidak ada lagi pertumbuhan mikroalga. Konstanta kecepatan pertumbuhan menjadi nol. Aktivitas metabolisme menurun dan terjadi akumulasi racun. Kondisi lingkungan mulai terasa jenuh sehingga jumlah sel yang hidup sama dengan sel yang mati

2.4.5 Fase kematian (*Death phase*)

Fase kematian merupakan fase akhir dari pertumbuhan mikroalga. Pada fase ini kemampuan metabolisme semakin turun sehingga cadangan makanan menjadi berkurang. Akumulasi racun juga semakin banyak, sehingga jumlah sel mikroalga yang mati semakin meningkat. Kepadatan sel menurun dengan cepat karena konstanta kecepatan kematian mikroalga jauh lebih tinggi daripada konstanta kecepatan pertumbuhannya. Sel yang mati bahkan bisa pecah (*lisis*) dan larut ke dalam media. Kondisi lingkungan berubah yang ditandai dengan warna air media kultur yang menjadi semakin pekat, terbentuk buih di permukaan dan terbentuk gumpalan mikroalga yang mengendap di dasar wadah kultur.



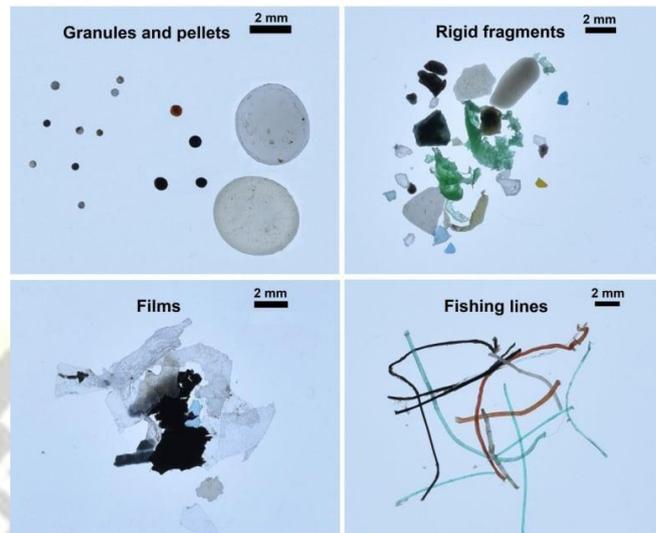
Gambar 3 Kurva pertumbuhan mikroalga

2.4 Plastik Polistirena (PS)

Mikroplastik merupakan plastik yang berukuran kurang 5 mm (Y. Li *et al.*, 2020). Mikroplastik terbentuk dari proses degradasi plastik oleh faktor lingkungan yang meliputi faktor fisika, kimia dan biologi. Faktor fisika berasal dari gejala-gejala non biotik yang terjadi di alam, seperti sinar matahari, temperatur, cuaca, angin dan air. Faktor kimia berasal dari berbagai bahan kimia dan sifat-sifat yang menyertainya seperti pH. Faktor biologi berasal dari aktivitas makhluk hidup seperti mikroba, jamur, hewan dan lain-lain. Melalui proses degradasi, rantai polimer pada plastik akan berubah menjadi monomer, tidak jarang juga akan terbentuk ikatan kimia baru sebagai hasil samping dari proses tersebut (Fachrul and Rinanti, 2018).

Faktor penyebab dan durasi degradasi plastik yang berbeda menyebabkan bentuk (morfologi) mikroplastik pun berbeda-beda. Morfologi mikroplastik dibedakan menjadi empat jenis, yaitu pelet, fiber, film dan fragmen. Mikroplastik juga ditemukan mengendap di dasar perairan (Fahrenfeld *et al.*, 2019). Karena ukurannya yang sangat kecil, mikroplastik bisa tertelan oleh biota air. Biota air yang diketahui memakan mikroplastik meliputi jenis alga (termasuk mikroalga), bakteri, ikan, burung, reptil dan mamalia. Biota-biota tersebut dapat memakan mikroplastik secara langsung maupun melalui rantai makanan. Persebaran mikroplastik melalui rantai makanan terjadi karena biota yang dimakan sebelumnya sudah mengandung

mikroplastik (Harding, 2016). Selain itu, mikroplastik juga berpotensi menjadi tempat melekatnya mikroalga sehingga menimbulkan efek bayangan yang mengurangi intensitas cahaya (Khoironi, Anggoro, Sudarno, 2019).



Gambar 4 Jenis Morfologi Mikroplastik (Fahrenfeld et al., 2019)

Keberadaan mikroplastik sangat tergantung pada jenis plastiknya. Berdasarkan Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia nomor 24/M-IND/PER/2010 tentang Pencantuman Logo Tara Pangan dan Kode Daur Ulang pada Kemasan Pangan dari Plastik, kode kemasannya jenis plastik dibedakan menjadi tujuh, yaitu 1) Polietilena Tereftalat (PET), 2) High Density Polyethylene (HDPE), 3) Polivinil klorida (PVC), 4) Low Density Polyethylene (LDPE), 5) Polipropilen (PP), 6) Polistirena (PS) 7) Lain-lain (O). Salah satu jenis plastik yang sering digunakan sebagai wadah makanan adalah styrofoam yang merupakan anggota plastik dengan kode 6 atau PS.

KODE DAUR ULANG

SIMBOL	JENIS POLIMER
	Polietilena tereftalat (PET)
	HDPE
	Polivinil klorida (PVC)
	LDPE
	Polipropilen (PP)
	Polistiren (PS)
	Lain-lain

Gambar 5 Kode Daur Ulang Kemasan Plastik

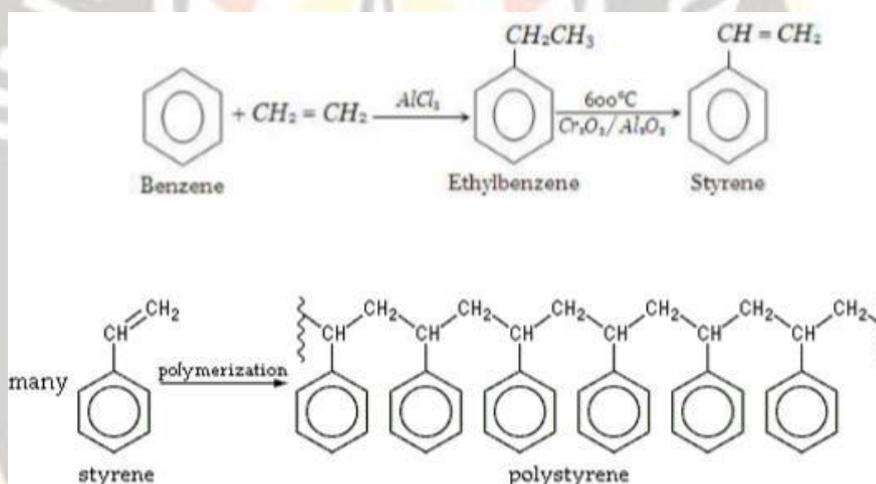
2.5.1 Definisi Styrofoam

Styrofoam merupakan salah satu produk plastik yang berkode 6 atau Polistirena (PS). Produk polistirena yang lain contohnya tempat CD, peralatan medis dan penahan guncangan pada kemasan alat elektronik seperti televisi, kulkas dan mesin cuci. Styrofoam sendiri merupakan merk dagang dari suatu produk berbahan dasar minyak bumi yang diproduksi oleh Dow Chemical Company. Styrofoam biasa digunakan sebagai kemasan makanan dan minuman karena sifatnya yang ringan dan mudah dibawa. Bersifat ringan karena 95% nya berupa udara, sehingga membuatnya tidak bisa tenggelam. Biaya produksi styrofoam juga relatif murah sehingga upaya *reduce*, *reuse* dan *recycle* tidak menghasilkan keuntungan yang berarti (Chandra *et al.*, 2016).



Gambar 6 Produk kemasan berbahan stirofoam

Stirofoam disusun dari monomer-monomer stirena (C_8H_8). Stirena merupakan hasil reaksi etilen (C_2H_4) dan benzena (C_6H_6). Polimerisasi stirena menggunakan panas atau benzoil peroksida sehingga terbentuk polistirena ($(C_8H_8)_n$). Monomer stirena berbentuk cairan sedangkan polistirena berbentuk padat dan berbusa (Ho, Roberts and Lucas, 2018).



Gambar 7 Proses Terbentuknya polistirena (Ho, Roberts and Lucas, 2018)

2.5.2 Dampak Stirofoam bagi Lingkungan

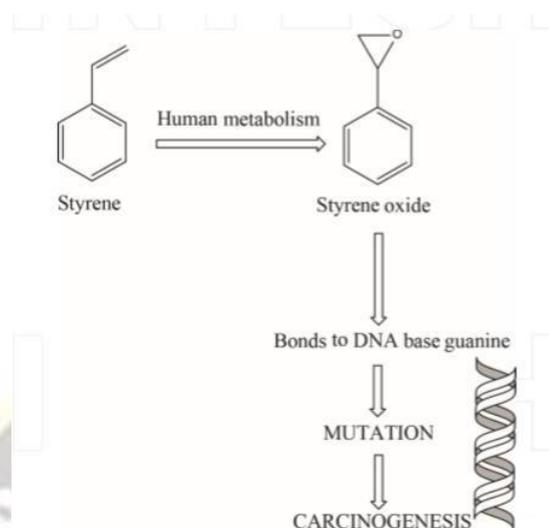
Keberadaan stirofoam merupakan masalah bagi lingkungan bahkan sejak awal proses produksi. Bahan produksi stirofoam berasal dari minyak bumi, sehingga saat proses produksi berlangsung dihasilkan gas-gas rumah kaca yang terlepas ke atmosfer. Franklin Associates menyatakan bahwa untuk setiap cup stirofoam, dihasilkan 0,033 kg gas CO_2 . Produksi stirofoam di Amerika serikat mencapai 3 juta ton/tahun, sehingga dihasilkan gas CO_2 sekitar 21 juta ton/tahun. Pada tahun 1986, Badan Perlindungan Lingkungan

Amerika Serikat (US EPA-*United States Environmental Protection Agency*) melaporkan bahwa proses pembuatan styrofoam menghasilkan limbah berbahaya terbesar ke lima (Chandra *et al.*, 2016).

Styrofoam sampai saat ini banyak digunakan sebagai wadah makanan dan minuman. Namun, banyak masyarakat yang tidak mengetahui jika styrofoam dapat memicu resiko terkena penyakit kanker (karsinogenik). Pasca penggunaan, styrofoam akan dibuang meskipun kondisinya masih bagus. Styrofoam yang dibuang akan menjadi sampah yang berkumpul di selokan, sungai dan pantai bahkan seringkali dijumpai tersangkut di pintu air. Meskipun mudah menyala, styrofoam tidak direkomendasikan untuk dibakar karena akan menimbulkan gas berbahaya yang bersifat karsinogen. Jika dibuang ke Tempat Pembuangan Akhir (TPA) yang dilakukan secara open dumping, styrofoam akan mudah pecah karena perubahan cuaca. Serpihan styrofoam ini bisa menjadi mikroplastik yang berbahaya jika masuk ke lingkungan perairan (Farrelly and Shaw, 2017).

2.5.3 Dampak Styrofoam bagi Kesehatan Manusia

Styrofoam masih sering dijumpai menyertai aktivitas manusia, sehingga menimbulkan berbagai resiko kesehatan. Salah satunya adalah leukimia. Penelitian di Amerika menunjukkan bahwa resiko terkena leukimia sebesar 0,5% bagi karyawan yang pabrik styrofoam yang bekerja selama 40 tahun. Selain itu, pada tahun 2014 Badan Penelitian Internasional untuk Kanker (IARC-*International Agency Research on Cancer*) yang berada di bawah WHO menetapkan bahwa stirena dapat memicu timbulnya kanker. Hal ini didasari temuan kanker pada hewan uji yang terpapar metabolit stirena (stirene oxide) yang mampu berikatan dengan DNA dan memulai karsinogenesis (Farrelly and Shaw, 2017).



Gambar 8 Resiko kanker dari polistirena (Farrelly and Shaw, 2017)

2.5 Interaksi Mikroalga dengan Styrofoam

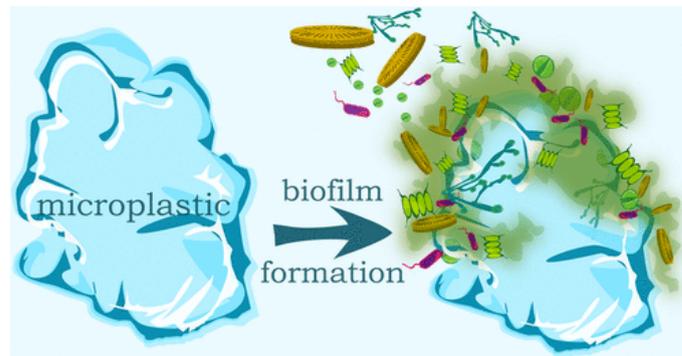
Styrofoam bersifat stabil dan sulit untuk didegradasi. Meski demikian, struktur kimianya yang berupa rantai hidrokarbon (atom C dan H) memberi peluang untuk bisa diuraikan. Styrofoam bisa menjadi sumber karbon dan hidrogen yang dibutuhkan oleh mikroalga. Namun, struktur kimia yang sangat kompleks membuat mikroalga membutuhkan waktu yang cukup lama untuk memutus ikatan rantai stirena. Styrofoam juga membawa masalah lain. Bentuk styrofoam yang tidak transparan efektif mengurangi cahaya yang masuk. Padahal cahaya tersebut dibutuhkan oleh mikroalga untuk melakukan fotosintesis (Ho, Roberts and Lucas, 2018). Lebih lanjut, adanya zat aditif pada plastik seperti BPA, phthalate, logam berat dan zat tahan api; membuat plastik awet sekaligus berbahaya khususnya bagi mikroalga. Salah satunya adalah *Spirulina* yang sering digunakan dalam industry makanan, kosmetik dan obat. Zat-zat tersebut mampu merusak sel, akibatnya aktivitas fotosintesis menurun dan pertumbuhan sel terhambat (Campanale *et al.*, 2020).

Penelitian degradasi styrofoam oleh mikroalga pernah dilakukan oleh beberapa peneliti. Salah satunya adalah sekelompok peneliti dari Wuhan, China. Penelitian menggunakan polistirena untuk mengamati pertumbuhan dan

efisiensi fotosintesis yang terjadi pada mikroalga *Chlamydomonas reinhardtii* dan interaksi yang terjadi diantara keduanya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa polistirena mampu menghambat pada pertumbuhan dan aktivitas fotosintesis mikroalga. Membran sel mikroalga juga rusak karena terbungkus oleh polistirena. Meski demikian, tetap dihasilkan glukosa, protein dan malondialdehyde (MDA). Bahkan kandungan proteinnya meningkat seiring dengan peningkatan kadar mikroplastik dan lamanya kultur (S. Li *et al.*, 2020).

Interaksi antara stirofoam dan mikroalga menyebabkan terbentuknya agregasi (biofilm). Heteroagregasi terbentuk antara polistirena dan mikroalga sedangkan homoagregasi terbentuk antar sesama mikroalga. Heteroagregasi dapat merusak dinding sel dan membran sel mikroalga. Namun, heteroagregasi mampu mengurangi konsentrasi stirofoam di permukaan air karena mikroplastik yang terbentuk cenderung mengendap di dasar. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas fotosintesis mulai hari ke enam kultur, sehingga menjadi bukti terjadinya pemulihan kondisi mikroalga dari toksisitas stirofoam (S. Li *et al.*, 2020).

Mikroalga membutuhkan nutrisi, oksigen dan substrat untuk tumbuh dan menghasilkan EPS (*Extracellular Polymeric Substances*). Terbentuknya EPS memacu pembentukan biofilm pada stirofoam, yang merupakan indikator utama terjadinya kerusakan material plastik stirofoam. Hal ini karena biofilm yang dihasilkan mikroalga mengandung nutrisi sehingga menjadi lingkungan hidup yang cocok untuk mikroorganisme lain, seperti bakteri, jamur dan protozoa. Adanya mikroorganisme ini akan membentuk struktur protein berupa enzim yang berperan sebagai katalis metabolisme dan mengubah (breakdown) unsur-unsur kimia dalam polimer menjadi unsur lain. Unsur kimia dari polimer bisa menjadi nutrisi bagi mikroorganisme, sehingga mikroorganisme mendapat dua sumber nutrisi sekaligus yaitu dari biofilm dan senyawa kimia plastik stirofoam. Kemampuan mikroorganisme memanfaatkan unsur kimia dari polimer sebagai nutrisi disebut biodegradasi, karena akan berdampak pada perubahan senyawa kimia pada polimer (Ho, Roberts and Lucas, 2018).



Gambar 9 Serangan mikroorganisme pada permukaan plastik untuk membentuk biofilm

EPS akan dihasilkan oleh mikroalga dalam kondisi normal, dan produksinya akan meningkat pada kondisi stasioner dan stress. Kondisi yang memicu stress pada mikroalga yaitu ketersediaan nutrisi dan cahaya yang berlebihan, sehingga dihasilkan senyawa EPS berlebih. Padahal senyawa EPS itu sendiri bersifat racun bagi *Spirulina*. Meski demikian, EPS merupakan suatu enzim yang memiliki sisi hidrofilik dan hidrofobik. Sisi hidrofolik dari EPS berperan menyerang sisi hidrofobik pada permukaan plastik dan menyerap senyawa organik seperti senyawa aromatik dan alifatik dalam protein dan karbohidrat. Akibatnya sifat hidrofilik dari suatu plastik meningkat sehingga mikroorganisme lain bisa menyerap karbon sebagai sumber nutrisi (Nur *et al.*, 2019).

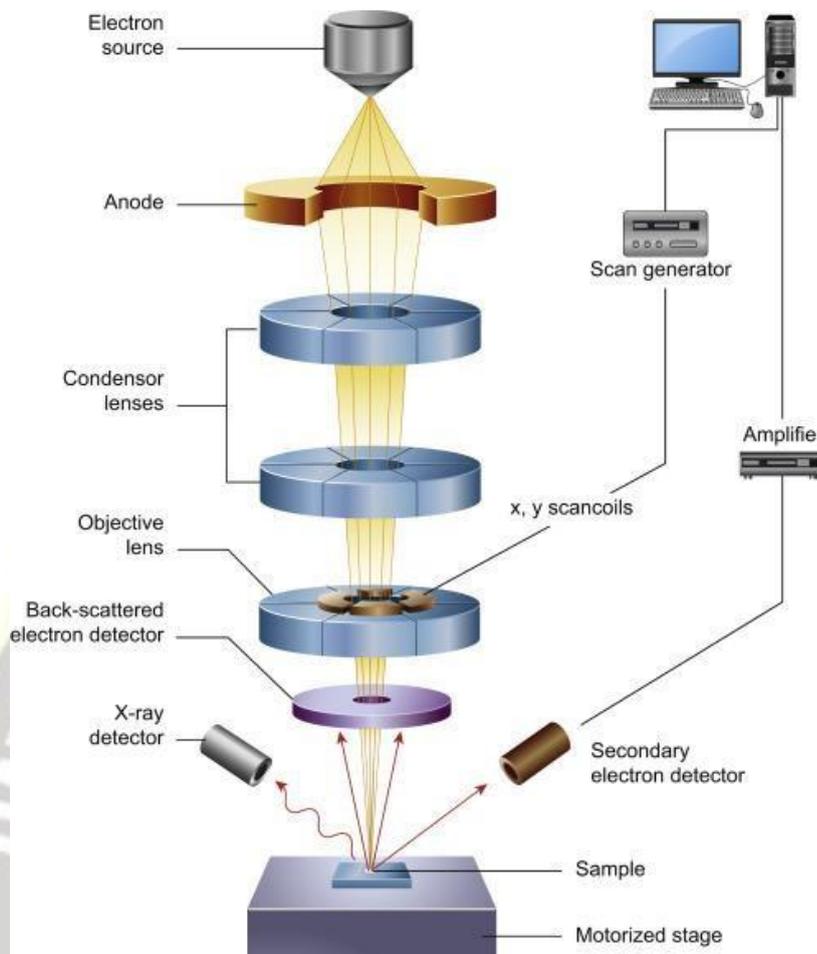
Keberadaan mikroplastik dalam kultur mikroalga memberikan keuntungan dan kerugian bagi kelangsungan hidup mikroalga. Kandungan karbon pada mikroplastik seharusnya bisa memacu pertumbuhan mikroalga. Namun, produksi EPS berlebih akibat melimpahnya nutrisi menyebabkan mikroalga mengalami stress dan berakibat pada menurunnya konstanta kecepatan pertumbuhan. Adanya zat aditif pada plastik bersifat racun bagi mikroalga. Selain itu, plastik khususnya styrofoam mampu memberikan efek bayang-bayang sehingga mengurangi intensitas cahaya yang masuk ke dalam kultur (Sjollema *et al.*, 2016).

2.6 Uji SEM-EDX

SEM (*Scanning Electron Microscopy*) merupakan suatu alat yang berfungsi untuk mengetahui morfologi permukaan suatu sampel. Alat ini

pertama kali ditemukan oleh dua orang peneliti Jerman yaitu Ernst Ruska dan Max Knoll pada tahun 1931 (Sujatno *et al.*, 2015). Prinsip kerja dari alat ini hampir sama dengan mikroskop cahaya. Hal yang membedakan adalah pada SEM menggunakan elektron yang ditembakkan ke sampel untuk menghasilkan gambar topologi. SEM bisa digunakan untuk mengamati permukaan suatu sampel jauh lebih detail karena mempunyai perbesaran yang tinggi (Abd Mutalib *et al.*, 2017). Dalam pengoperasian SEM, perlu diatur parameter elektron seperti *spot size*, tinggi tegangan, kemiringan dan arus cahaya (*beam current*) dan juga parameter optik seperti fokus dan kontras cahaya. Pengaturan ini diperlukan untuk mendapatkan gambar yang optimal dan tidak memberikan interpretasi ganda (Sujatno *et al.*, 2015).

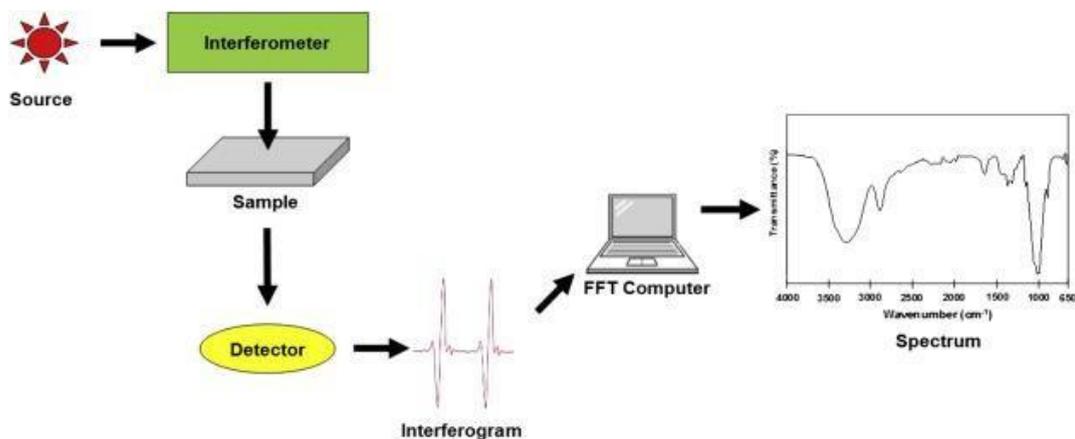
EDX (*Energi Dispersive X-ray spectroscopy*) merupakan suatu alat yang berfungsi menentukan komposisi elemen anorganik pada suatu sampel dengan menggunakan sinar X. EDX dapat mendeteksi unsur-unsur yang mempunyai nomor atom lebih tinggi dari Boron (nomor unsur 5) dengan konsentrasi minimal 0,1 %. EDX dapat diterapkan untuk mengidentifikasi bahan dan identifikasi kontaminan pada suatu sampel dengan diameter maksimal 10 cm . Prinsip kerja EDX merupakan lanjutan dari SEM. Setelah elektron menabrak sampel, akan dihasilkan sinar X yang mempunyai spektrum khusus. Karakteristik sinar X akan direkam oleh spektrometer dispersif energi untuk pengukuran komposisi unsur dalam dalam sampel (Abd Mutalib *et al.*, 2017). Karena sinar X berbahaya bagi kesehatan manusia, ruang sampel dilapisi dengan timah hitam tebal yang berfungsi menyerap sinar X (Inkson, 2016).



Gambar 10 SEM-EDX (Inkson, 2016)

2.7 Uji FTIR

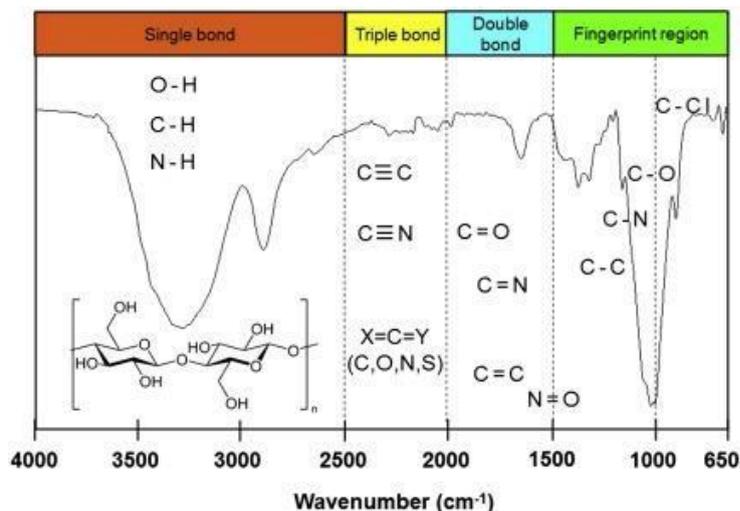
FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*) merupakan suatu alat yang berfungsi untuk menentukan gugus fungsi dan ikatan molekul suatu senyawa kimia pada suatu sampel. Prinsip kerja FTIR adalah adanya interaksi antara energi infra merah yang berasal dari sumber dengan material sampel uji. Sampel akan menghasilkan getaran (vibrasi) yang akan ditangkap oleh detektor dan akhirnya diterjemahkan menjadi kurva. Cara kerja dari FTIR adalah alat akan menghasilkan sinar infra merah yang akan diarahkan ke *beam splitter* (pemecah gelombang), kemudian sinar infra merah akan mengarah ke sampel uji. Sampel akan menyerap gelombang pada frekuensi tertentu. Sinar infra merah yang tidak diserap akan menuju ke detektor dan akan menerjemahkannya menjadi spektrum. Spektrum akan ditampilkan oleh perangkat lunak FTIR dalam bentuk kurva yang memiliki puncak-puncak tertentu (Mohamed *et al.*, 2017).



Gambar 11 Skema kerja FTIR (Mohamed *et al.*, 2017)

Spektrum yang dihasilkan dari FTIR terletak di daerah pertengahan yaitu $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ dimana cm^{-1} disebut sebagai bilangan gelombang (*wavenumber*) yang nilainya adalah $1/\text{panjang gelombang}$ ($1/\text{wavelength}$). Bilangan gelombang adalah suatu ukuran unit untuk frekuensi. Spektrum yang dihasilkan dapat digunakan untuk menentukan gugus fungsi kelompok tertentu. Secara umum, terdapat empat wilayah jenis ikatan yang dapat dianalisis di FTIR. Ikatan tunggal seperti O-H, C-H, N-H dapat dideteksi pada panjang gelombang tinggi ($4000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$). Ikatan rangkap tiga seperti $\text{C}\equiv\text{C}$ dan $\text{C}\equiv\text{N}$ dapat dideteksi pada panjang gelombang $2500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$. Ikatan ganda seperti $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{N}$ dan $\text{C}=\text{C}$ dapat dideteksi pada panjang gelombang $2000\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$. Sedangkan ikatan molekul kompleks akan dideteksi sebagai daerah fingerprint yang terdeteksi pada panjang gelombang rendah ($1500\text{-}650\text{ cm}^{-1}$) (Mohamed *et al.*, 2017). Data spektra dibandingkan dengan referensi untuk mengidentifikasi gugus fungsi dan ikatan kimia yang terdapat pada sampel

(Wibawa *et al.*, 2020).



Gambar 12 Daerah panjang gelombang FTIR (Mohamed *et al.*, 2017)

2.8 Uji Statistika

Penelitian eksperimental di laboratorium yang melibatkan kelompok-kelompok makhluk hidup tertentu pasti menghasilkan data yang bisa diuji statistika. Terdapat banyak pilihan uji statistika yang bisa digunakan sesuai kebutuhan. Uji statistika berguna untuk membuktikan hipotesis penelitian. Pada penelitian kali ini digunakan aplikasi SPSS versi 25 dengan uji *one way* ANOVA. Uji ini digunakan karena melibatkan lebih dari dua kelompok yang independen. Faktor atau variabel yang diamati dalam uji *one way* ANOVA hanya satu jenis (Molugaram and Rao, 2017).

Uji *one way* ANOVA mensyaratkan beberapa asumsi yang harus dipenuhi, yaitu data terdistribusi normal (statistik parametrik). Suatu data disebut terdistribusi normal jika pola distribusi datanya berbentuk lonceng dan simetris kanan-kiri. Pada uji statistika, data terdistribusi normal jika nilai signifikansi $> 0,05$. Jika jumlah data kurang dari 50, maka nilai signifikansi yang digunakan adalah nilai sig. pada kolom Shapiro-Wilk. Namun jika data lebih dari 50, maka yang digunakan adalah nilai sig. pada kolom Kolmogorov-Smirnov. Jika syarat tersebut terpenuhi, maka bisa dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA (Islam, 2020).

Apabila data tidak terdistribusi normal, data tidak bisa diuji *one way* ANOVA. Alternatif yang bisa digunakan yaitu Uji Kruskal Wallis. Uji Kruskal-Wallis merupakan salah satu uji statistik non-parametrik yang

digunakan untuk menguji adanya perbedaan rata-rata sampel independent yang berjumlah lebih dari dua. Pada uji Kruskal-Wallis tidak mensyaratkan asumsi data terdistribusi normal (Weber *et al.*, 2021).



Sekolah Pascasarjana



Sekolah Pascasarjana