

Optimizing Growth and Lipid Productivity of *Navicula* sp. for Sustainable Biodiesel Development

Ivonne Telussa^{1*}, I Wayan Sutapa²⁾, Wenand Godlief Labobar³⁾

¹⁾ Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Pattimura University, Ambon, Indonesia

²⁾ Department of Chemistry, University Halu Oleo, Kendari, Southeast Sulawesi, Indonesia

³⁾ Laboratory Biochemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Pattimura University, Ambon, Indonesia

*Corresponding author: ivonnetelussa@gmail.com

ABSTRACT

Navicula sp. galur TAD is a diatom that has the potential to produce lipids as raw material for biodiesel production. Biodiesel derived from lipids of *Navicula* sp. galur TAD is produced through esterification and transesterification processes to convert fatty acids into methyl esters. The purpose of this study was to produce high lipid content from cells by growing them in media with varied nutrient compositions (nitrogen and silicon) and subsequently converting the cells into biodiesel. This research was conducted in three main stages. First, *Navicula* sp. galur TAD cells were grown in media with varying nitrogen and silicon compositions (Mn, M1, M2, and M3) to obtain biomass with high lipid content. Next, the lipid content of the harvested biomass was determined. Finally, biodiesel was produced from the isolated lipids. The results showed that the biomass of Mn, M1, M2, and M3 medium, respectively, was $2,734 \pm 0,0001$, $2,3453 \pm 0,000007$, $2,0581 \pm 0.00014$, and $1,8354 \pm 0,00021$ g dry biomass, with biomass productivity of $0,1625 \pm 0,0003$, $0,1456 \pm 0,000005$, $0,1363 \pm 0,01203$, and $0,1070 \pm 0,00055$ gL⁻¹day⁻¹. Meanwhile, the lipid content in *Navicula* grown in M1 medium (31.6659%) was higher than in the other media, indicating that decreasing nitrogen concentration increases lipid accumulation in cells. Furthermore, the produced biodiesel was analyzed by GC-MS, showing a composition of 51.72% methyl hexadecanoate (methyl palmitate) and 48.28% methyl octadecanoate (methyl oleate). These results indicate that *Navicula* sp. galur TAD has the potential to produce biodiesel.

Keywords : Biodiesel; esterification; lipid; *Navicula* sp. galur TAD; nitrogen

Optimalisasi Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid *Navicula* sp. Galur TAD untuk Pengembangan Biodiesel Berkelanjutan

ABSTRAK

Navicula sp. galur TAD merupakan diatom yang memiliki potensi untuk menghasilkan lipid sebagai bahan baku pembuatan biodiesel. Biodiesel yang berasal dari bahan baku lipid *Navicula* sp. galur TAD telah dilakukan melalui proses esterifikasi dan transesterifikasi untuk mengkonversi asam lemak menjadi metil ester. Tujuan penelitian ini yaitu SE Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tiga tahap. Tahap pertama, sel *Navicula* sp. galur TAD ditumbuhkan dalam medium yang divarisikan komposisi nitrogen dan silikon (Mn, M1, M2, dan M3) untuk memperoleh biomassa yang memiliki kandungan lipid tinggi. Tahap kedua, menentukan kandungan lipid dalam biomassa *Navicula* sp. galur TAD yang diperoleh. Tahap terakhir, membuat biodiesel dari lipid *Navicula* sp. galur TAD. Hasil menunjukkan bahwa biomassa dari Medium Mn, M1, M2, dan M3 berturut-turut sebesar $2,734 \pm 0,0001$, $2,3453 \pm 0,00007$, $2,0581 \pm 0.00014$, dan $1,8354 \pm 0,00021$ g biomassa kering dengan produktivitas biomassa yang diperoleh sebesar $0,1625 \pm 0,0003$, $0,1456 \pm 0,00005$,

0,1363±0,01203, dan 0,1070±0,00005 gL⁻¹hari⁻¹. Sedangkan, kandungan lipid dalam *Navicula* sp. galur TAD yang ditumbuhkan dalam medium M1 (31,6659%) lebih tinggi dibandingkan dengan medium lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa penurunan konsentrasi nitrogen dapat meningkatkan akumulasi lipid dalam sel. Selanjutnya, produksi biodiesel dilakukan dan dianalisa dengan GC-MS. Kandungan biodiesel yang diperoleh yaitu metil heksadekanoat (metil palmitat) sebesar 51,72% dan metil 9-oktadekanoat (asam oleat) sebesar 48,28%. Ini menunjukkan bahwa *Navicula* sp. galur TAD berpotensi menghasilkan biodiesel.

Kata kunci : Biodiesel; esterifikasi; lipid; *Navicula* sp. galur TAD; nitrogen

(Article History: Received May 17, 2026; Revised Sept 30, 2026; Accepted Oct 04, 2026;
Available online Oct 07, 2026)

PENDAHULUAN

Indonesia menjadi salah satu dari negara darurat energi akibat produksi bahan bakar minyak. Indonesia saat ini menghadapi kondisi defisit energi, ditandai oleh kebutuhan konsumsi bahan bakar yang terus meningkat dari tahun ke tahun. Situasi ini terjadi karena produksi minyak bumi mengalami penurunan, sementara permintaan bahan bakar minyak (BBM) terus bertambah seiring dengan pertumbuhan jumlah penduduk serta peningkatan populasi kendaraan bermotor, baik roda dua maupun roda empat. Pilihan yang dapat diambil dalam menghadapi defisit ini adalah penggunaan energi baru terbarukan sebagai alternatif pengganti energi fosil. Pengembangan energi baru terbarukan yaitu biodiesel. Biodiesel yang digunakan sebagian besar berasal dari minyak kelapa sawit, namun penggunaan kelapa sawit sangat berpengaruh pada ketahanan pangan. Sehingga perlu dikembangkan penggunaan sumber bahan baku biodiesel lain, salah satunya yaitu mikroorganisme fotosintetik. (Hidayatno *et al.*, 2025; Mayandi & Suharjito, 2024; Mayandi & Suharjito, 2024; Praveenkumar *et al.*, 2014)

Mikroalga merupakan organisme mikroskopis yang melakukan fotosintesis dan mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan biofuel, seperti biodiesel maupun bioetanol. Berbeda dengan tumbuhan tingkat tinggi, mikroalga berukuran sangat kecil dan tidak memiliki struktur morfologis kompleks seperti akar, batang, maupun daun. Mikroalga mengubah karbon dioksida menjadi biomassa melalui proses fotosintesis. Kemampuan mikroalga menyerap CO₂ sebanyak 233 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan kemampuan tanaman darat. Oleh karena mikroalga berukuran sangat kecil dan terdistribusi dalam air, kemampuan mikroalga tumbuh cepat dan mengakumulasi sejumlah lipid sangat besar. Dengan demikian mikroalga menjadi kandidat yang berpotensi untuk digunakan sebagai sumber biodiesel (Mondal *et al.*, 2017; Telussa *et al.*, 2024; Kumar *et al.*, 2025; Alsallal *et al.*, 2025)

Biodiesel merupakan campuran dari alkali eter dan asam lemak yang diperoleh dari proses transesterifikasi minyak nabati atau minyak hewani. Bahan bakar diesel umumnya tersusun atas hidrokarbon dengan panjang rantai sekitar 8–10 atom karbon per molekul. Sebaliknya, minyak nabati memiliki kandungan hidrokarbon yang lebih panjang, rata-rata 16–20 atom karbon per molekul. Perbedaan ini menyebabkan minyak nabati memiliki viskositas lebih tinggi (lebih kental) serta karakter pembakaran yang kurang optimal bila langsung digunakan sebagai bahan bakar. Oleh karena itu, agar minyak mikroalga dapat dimanfaatkan sebagai biodiesel, diperlukan proses transesterifikasi untuk menurunkan viskositas dan meningkatkan kualitas pembakarannya. (Acakpo *et al.*, 2025; Atashkar & Saidi, 2024; Musavi *et al.*, 2025; Tian *et al.*, 2026)

Biodiesel dapat diperoleh melalui proses ekstraksi minyak dari tumbuhan maupun hewan. Setiap jenis tumbuhan memiliki kandungan minyak yang berbeda, sehingga potensi

produksinya pun bervariasi. Beberapa tumbuhan yang dikenal memiliki produktivitas minyak tinggi antara lain kelapa sawit, jarak pagar, mikroalga, dan karet. Di antara sumber tersebut, Mikroalga memiliki keunggulan tersendiri sebagai bahan baku biodiesel. Hal ini disebabkan oleh habitat alga yang berada di perairan, sehingga pemanfaatannya tidak menimbulkan kompetisi dengan tanaman darat yang berperan penting dalam ketahanan pangan. Dengan demikian, mikroalga menawarkan peluang budidaya yang lebih luas dan berkelanjutan. Secara khusus, mikroalga diatom (*Navicula* sp.) dari Teluk Ambon bagian Dalam menjadi organisme model yang potensial untuk dieksplorasi sebagai sumber biodiesel. Hingga saat ini, penelitian mengenai produksi biodiesel berbasis mikroalga lokal tersebut belum banyak dilakukan. Tujuan utama eksplorasi ini adalah memperoleh kandungan lipid yang tinggi dengan cara menumbuhkan sel dalam medium kultur yang divariasikan komposisi nutrisinya, khususnya nitrogen dan silikon. Lipid yang dihasilkan kemudian dapat dikonversi melalui proses transesterifikasi menjadi biodiesel, sehingga memberikan kontribusi nyata terhadap pengembangan energi terbarukan yang ramah lingkungan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini merupakan grade pro analisis (Merck, Jerman): metanol, asam sulfat, kalium hidroksida, dan n-heksana. Peralatan yang digunakan meliputi gelas ukur, neraca analitik (Ohaus Adventurer™ Pro), hot plate (Cimarec 2), autoklaf (TOMY ES-215), refraktometer, tabung falcon, mikropipet Eppendorf ukuran 10–100 dan 100–1000 μL , hemocytometer, centrifuge Thermo Scientific S16, water bath, mikroskop cahaya (Nikon YS-100), Scanning Electron Microscopy (SEM), Rotary Vacuum Evaporator, serta spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-2450).

Kultivasi *Navicula* sp. galur TAD

Sebelum proses kultivasi dilakukan, seluruh peralatan terlebih dahulu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Sel *Navicula* sp. galur TAD kemudian ditanam pada medium modifikasi dengan variasi konsentrasi nitrat dan silikat sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2. Kultivasi dimulai dengan kerapatan awal 5×10^5 sel mL^{-1} , menggunakan fotoperiode 12:12 jam (gelap: terang), salinitas 28 ppt, pH berkisar 8,2–8,5, serta diaerasi dengan gelembung udara bebas.

Fotobioreaktor sederhana yang digunakan berupa botol kaca transparan berukuran tinggi 25 cm, diameter luar 9 cm, dengan volume kerja 900 mL. Proses kultivasi dilakukan pada suhu ruang dengan intensitas cahaya sebesar 16.000 lux. Pertumbuhan sel dipantau melalui perhitungan jumlah sel (sel mL^{-1}) menggunakan Neubauer Haemocytometer di bawah mikroskop cahaya, serta dengan menentukan laju pertumbuhan spesifik (μ). Nilai μ dihitung menggunakan persamaan matematis yang telah ditetapkan berikut :

$$\mu = \frac{\ln(W_t/W_0)}{t_t - t_0} \quad (1)$$

dengan :

- μ : kecepatan pertumbuhan spesifik; W_t : kerapatan sel pada hari ke- t ;
- W_0 : kerapatan sel awal (hari ke-0); t_t : hari ke- t ; t_0 : hari ke-0

Tabel 1. Medium modifikasi pertumbuhan

Nutrien	Jumlah (mg/L)			
	Mn	M1	M2	M3
KNO ₃	300	15	300	15
NaH ₂ PO ₄ .2 H ₂ O	7,5	7,5	7,5	7,5
FeCl ₃	5	5	5	5
Na ₂ EDTA	50	50	50	50
Na ₂ SiO ₃ . 5 H ₂ O	450	450	2,25	2,25

(sumber: Telussa et al., 2019)

Pemanenan biomassa *Navicula* sp. galur TAD

Sel *Navicula* sp. galur TAD yang telah melalui proses kultivasi dipanen menggunakan metode sedimentasi, kemudian disaring dengan bantuan kain kanebo. Biomassa basah yang diperoleh ditimbang menggunakan neraca analitik untuk menentukan berat awalnya. Setelah itu, biomassa dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 24 jam hingga mencapai kondisi kering, lalu ditimbang kembali untuk mendapatkan bobot biomassa kering.

Pengamatan perubahan morfologi sel

Perubahan morfologi sel diamati menggunakan dua jenis instrumen, yaitu mikroskop cahaya dan mikroskop elektron pemindai (*Scanning Electron Microscope*, SEM). Pengamatan bentuk serta ukuran sel *Navicula* sp. galur TAD dengan mikroskop cahaya dilakukan melalui pengambilan sampel kultur, kemudian diamati pada perbesaran 400 kali. Sementara itu, untuk analisis menggunakan SEM, kultur sel terlebih dahulu disentrifugasi, lalu pelet sel difiksasi dengan larutan glutaraldehid 2,5% selama 2,5 jam pada suhu 4°C. Setelah proses fiksasi, sampel dicuci dengan HNO₃ pekat pada suhu 4°C, kemudian melalui tahap dehidrasi bertingkat menggunakan etanol 20%, 60%, dan 90%. Sampel yang telah dikeringkan selanjutnya diamati dengan SEM untuk memperoleh gambaran detail morfologi sel.

Analisis kandungan lipid dan asam lemak**Ekstraksi lipid**

Ekstraksi lipid dari biomassa mikroalga dilakukan dengan metode *Bligh and Dyer* (1959) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 1 g biomassa kering terlebih dahulu disuspensi dalam 8 mL metanol, kemudian dimaserasi selama 15 menit. Setelah itu ditambahkan 8 mL kloroform sehingga tercapai rasio pelarut kloroform : metanol 1:1. Proses maserasi dilanjutkan selama 24 jam pada suhu ruang, lalu campuran didiamkan selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk dikumpulkan, sedangkan pelet diekstraksi kembali beberapa kali menggunakan 8 mL campuran kloroform : metanol (1:1) hingga supernatan tidak lagi berwarna. Seluruh ekstrak lipid yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator. Hasil akhir berupa total lipid ditimbang untuk menentukan massa lipid (mg) per gram biomassa kering.

Perhitungan persentase dan produktivitas lipid mikroalga didasarkan pada persamaan (2) dan (3).

$$\% \text{ lipid} = \frac{\text{Berat Lipid sampel (gram)}}{\text{Berat Biomassa Sampel (gram)}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Produktivitas Lipid (g/L/Hari)} = \frac{\text{Berat lipid (gram)}/\text{Volume kultur (L)}}{\text{Durasi Kultivasi (Hari)}} \quad (3)$$

Esterifikasi lipid

Proses esterifikasi dilakukan dengan mereaksikan 5 mL lipid mikroalga bersama 7 mL metanol dan 0,25 mL H₂SO₄ (1%) di dalam labu didih. Campuran tersebut diaduk secara merata, kemudian dipanaskan pada suhu reaksi 55–60°C. Selama proses berlangsung, suhu dijaga tetap stabil dan pemanasan dilakukan selama 60 menit sambil terus diaduk agar reaksi berjalan optimal.

Transesterifikasi lipid

Reaksi transesterifikasi dilakukan dengan mereaksikan hasil esterifikasi lipid mikroalga ke dalam campuran KOH 0,01 gr dan methanol 7 mL. Campuran reaksi kemudian direfluks selama 1 jam pada temperatur 80°C. Selanjutnya, campuran hasil reaksi dipisahkan antara metil ester asam lemak (biodiesel) yang terbentuk dan gliserolnya, serta dilakukan juga perhitungan persentase rendamen yang dihasilkan.

Penentuan kandungan asam lemak

Produk hasil transesterifikasi berupa metil ester asam lemak dianalisis menggunakan instrumen *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS). Sebanyak 1 µL sampel metil ester diinjeksikan ke dalam kolom GC-MS dengan kondisi operasi yang telah ditetapkan, yaitu suhu kolom dipertahankan pada 70°C selama 1 menit, kemudian dinaikkan secara bertahap hingga mencapai 240°C dengan laju pemanasan 3°C per menit. Sementara itu, suhu injektor diatur pada 260°C untuk memastikan proses injeksi berlangsung optimal.

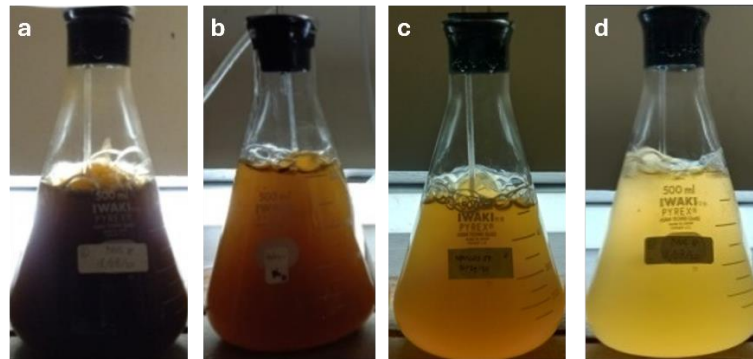
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Nutrisi Terhadap Pertumbuhan *Navicula* sp. galur TAD

Sel *Navicula* sp. galur TAD ditumbuhkan pada beberapa kondisi pertumbuhan melalui optimasi medium pertumbuhan untuk mendapatkan akumulasi lipid yang tinggi di dalam sel. Dalam mempelajari pengaruh nutrisi terhadap akumulasi lipid dalam sel *Navicula* sp. galur TAD, medium pertumbuhan yang digunakan adalah medium modifikasi sebagai medium normal (Mn, (kontrol), dan 3 medium lainnya yang divariasikan konsentrasi nitrogen (KNO₃) dan silikon (Na₂SiO₃ · 5H₂O), dimana konsentrasi diturunkan 20 kali lebih rendah dari medium normal. Tiga medium tersebut yaitu medium 1 dengan konsentrasi KNO₃ diturunkan (M1), medium 2 dengan konsentrasi Na₂SiO₃ · 5H₂O, diturunkan (M2) dan medium 3 dengan konsentrasi KNO₃ dan Na₂SiO₃ · 5H₂O, diturunkan (M3) (Tabel 1).

Sel *Navicula* sp. galur TAD ditumbuhkan dalam medium pertumbuhan (Mn, M1, M2, M3) dengan kondisi yang sama yaitu pada intensitas cahaya 5000 LUX, fotoperiode 12:12 dengan jumlah inokulum awal adalah 500.000 sel/mL. Pertumbuhan sel selama 12 hari menunjukkan adanya perubahan warna kultur pada setiap perlakuan dalam medium. Semakin gelap warna kultur mengindikasikan bahwa semakin tinggi kerapatan sel. Hasil pertumbuhan sel pada 4 medium tersebut menunjukkan bahwa sel *Navicula* sp. galur TAD tumbuh sangat baik pada medium Mn (Gambar 1a). Sementara itu, sel *Navicula* sp. galur TAD yang ditumbuhkan pada medium dengan konsentrasi KNO₃ rendah (M1) diperoleh warna kultur lebih terang dibanding Mn (Gambar 1b), sedangkan pada medium dengan konsentrasi Na₂SiO₃ · 5H₂O, rendah (M2) diperoleh warna kultur lebih terang dibanding M1

(Gambar 1c), dan pada medium dengan konsentrasi KNO_3 dan $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ rendah (M3) diperoleh warna kultur lebih terang dibanding M2 (Gambar 1d). Hal ini menunjukkan kekuarangan nitrogen dan silikon dalam medium dapat berpengaruh pada proses perbanyak sel selama pertumbuhan.

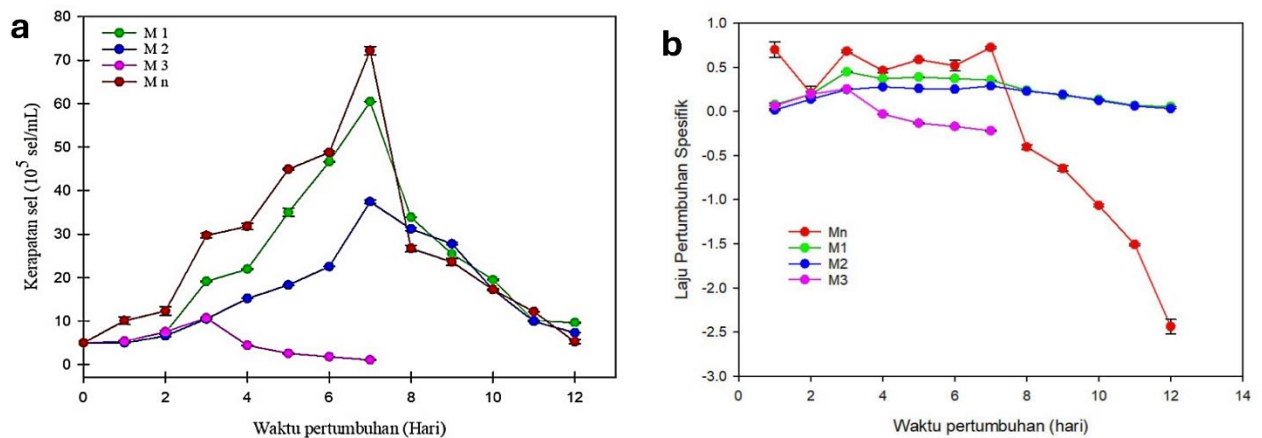


Gambar 1. Kultivasi *Navicula* sp. galur TAD pada hari ke-7: (a) Medium modifikasi normal Mn, (b) Medium modifikasi perlakuan pertama M1, (c) Medium modifikasi Perlakuan kedua M2, (d) Medium modifikasi Perlakuan ketiga M3

Perubahan warna pada medium Mn, M1, M2 dan M3 dikonfirmasi dengan jumlah kerapatan sel yang diamati selama pertumbuhan sel (Gambar 2). Jumlah kerapatan sel pada Mn meningkat sampai hari ke-7 sebesar $72,1167 \pm 0,946 \times 10^5 \text{ Sel mL}^{-1}$, sedangkan M1, M2 dan M3 berturut-turut sebesar $60,433 \pm 0,029 \times 10^5$; $37,417 \pm 0,382 \times 10^5$; $1,083 \pm 0,029 \times 10^5 \text{ Sel mL}^{-1}$. Gambar 2 (a) menunjukkan bahwa pertumbuhan *Navicula* sp. galur TAD pada medium yang rendah konsentrasi nitrogen maupun silikon (M1, M2, dan M3) memberikan kerapatan sel yang lebih rendah dibandingkan dengan medium normal (Mn). Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan *Navicula* sp. galur TAD dalam medium yang mengandung konsentrasi nitrogen maupun silikon rendah, tidak efisien dalam menyuplai kebutuhan nitrogen dan silikon dalam sel sehingga pembelahan sel jadi terhambat. Qiao *et al.* (2021) melaporkan bahwa adanya peningkatan aktivitas protease dalam sel diatom *Thalassiosira weissflogii* yang dikultur pada kondisi kekurangan nitrogen. Meningkatnya aktivitas protease dalam sel yang dikultur dalam medium dengan konsentrasi nitrogen rendah dapat menurunkan aktivitas fotosintesis dalam sel, sehingga *Navicula* sp. galur NLA yang dikultur pada kondisi ini memiliki kerapatan sel yang rendah dibandingkan dengan kondisi medium dengan konsentrasi nitrogen yang tersedia (Mn). Selain itu, kekurangan nitrogen dan silikat menyebabkan Rendahnya akumulasi klorofil *a* dan karotenoid mengindikasikan bahwa aktivitas fotosintesis berkurang dalam sel (Encinas-Arzate *et al.*, 2020; González-Vega *et al.*, 2021)

Goessling *et al.* (2018) melaporkan bahwa frustula diatom memiliki peranan dalam penyerapan cahaya. Pada kondisi kekurangan silikon, sel *Navicula* sp. galur TAD memiliki frustula lebih tipis, sehingga proses penyerapan cahaya terganggu yang mengakibatkan energi yang dihasilkan rendah untuk pembelahan sel dan aktivitas metabolisme sel lainnya. Hal yang sama ditunjukkan pada laju pertumbuhan *Navicula* sp. galur TAD yang meningkat pada fasa eksponensial (hari ke 1-7 untuk Mn, M1, M2; Hari ke 1-3 untuk M3) karena adanya peningkatan pembelahan sel yang lebih cepat. Hal ini menunjukkan adanya ketersediaan nutrisi dalam medium lebih cepat diserap untuk proses pembelahan sel. Sementara itu, laju

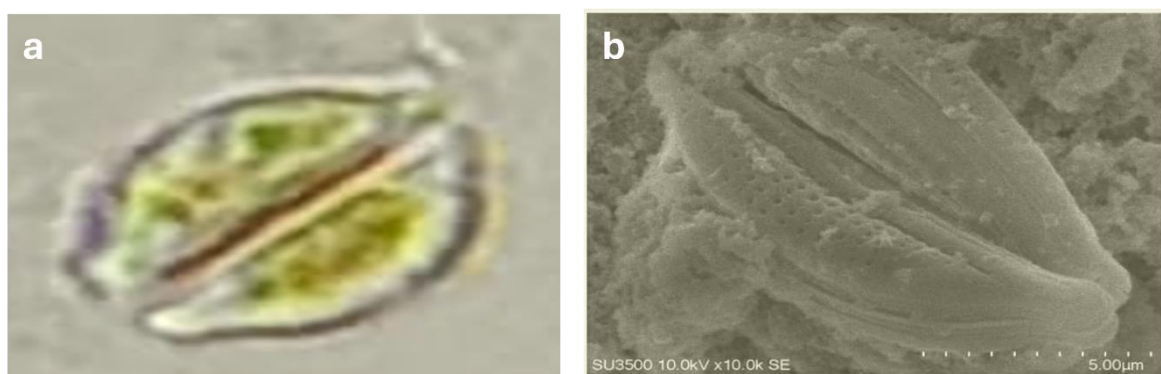
pertumbuhan spesifik mengalami penurunan akibat kondisi lingkungan media kultur yang kandungan nutrisi mulai berkurang sementara sel *Navicula* sp. galur TAD semakin banyak sehingga mengurangi kecepatan sel dalam membelah diri (Gambar 2(b)).



Gambar 2. Pertumbuhan *Navicula* sp. galur TAD dalam medium. (a) Kurva pertumbuhan, (b) Laju pertumbuhan spesifik

Pengamatan Perubahan Morfologi Sel *Navicula* sp. galur TAD

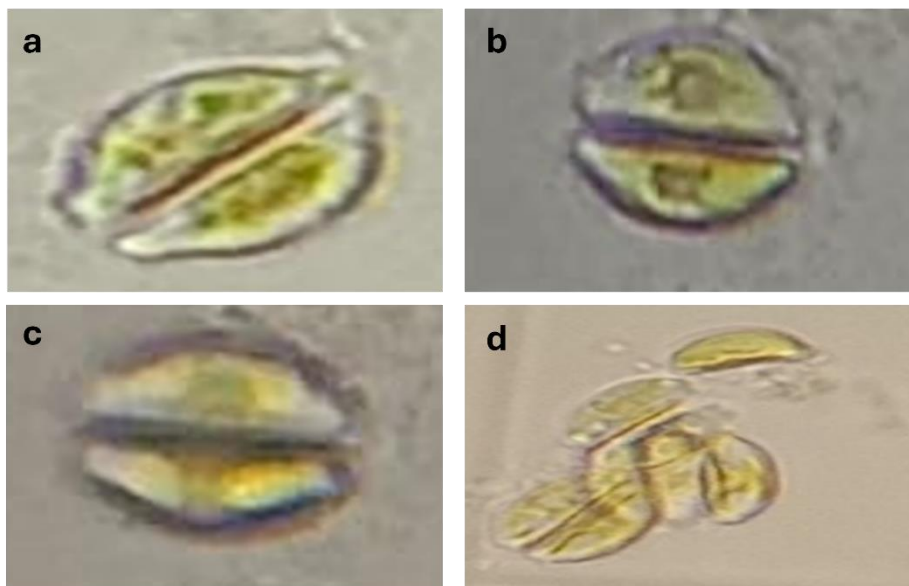
Pada penelitian ini, sel *Navicula* sp. galur TAD yang ditumbuhkan dalam setiap medium diamati bentuk sel dibawah mikroskop cahaya. Sel *Navicula* sp. galur TAD yang ditumbuhkan dalam medium Mn, diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x menunjukkan bentuk sel yang lonjong, memanjang, berbentuk seperti huruf D, dan berwarna coklat keemasan Gambar 3(a). Pengamatan sel dilakukan menggunakan mikroskop elektron (SEM). Citra sel menunjukkan permukaan dinding sel (frustul) tampak adanya nanopori yang menutupi permukaan dan terdapat dua katup (Valve). Katup memiliki dua bagian yang tumpang tindih dan Katup terluar disebut epiteka sedangkan katub sebelah dalam yang lebih kecil disebut hipoteka seperti cawan petri (Gambarn 3b).



Gambar 3. Sel *Navicula* sp. galur TAD yang diamati menggunakan mikroskop cahaya (a) dan SEM (b)

Pengamatan sel dilakukan pada kultur yang ditumbuhkan dalam keempat medium (Mn, M1, M2, dan M3) untuk melihat ada tidaknya perubahan morfologi selama perlakuan (Gambar 4). Perubahan morfologi sel *Navicula* sp. galur TAD diamati menggunakan mikroskop cahaya menunjukan ada perbedaan morfologi yang teramati pada sel di hari ke-

7. Perubahan sel dalam kultur yang ditumbuhkan dalam medium modifikasi dengan konsentrasi Nitrogen (KNO_3) dan Silikat ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) yang rendah memberi perbedaan terlihat dari bentuk, ukuran sel, dan warna sel. Sel *Navicula* sp. galur TAD yang tumbuh dalam medium Mn mempunyai ukuran sel yang ukuran relative besar jika dibandingkan dengan sel yang tumbuh dalam medium lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa kekurangan nitrogen dan silikon memberi pengaruh terhadap perubahan morfologi sel ketika sel mengalami stress nutrisi dalam medium. Kondisi stress nutrisi ini lebih nampak pada sel yang ditumbuhkan dalam medium M3 berukuran sangat kecil dan bentuk sel yang sedikit berbeda dibandingkan dengan sel pada medium Mn.



Gambar 4. Citra sel *Navicula* sp. galur TAD yang diamati menggunakan mikroskop cahaya: (a) kultur pada medium Mn, (b) kultur pada medium M1, (c) kultur pada medium M2, dan (d) kultur pada medium M3.

Biomassa *Navicula* sp. galur TAD

Pemanenan kultur *Navicula* sp. galur TAD dilakukan pada hari ke-7. Proses pemanenan kultur dilakukan menggunakan teknik sedimentasi dan filtrasi. Dimana, teknik sedimentasi dilakukan selama ± 30 menit. Waktu yang diperlukan dalam proses sedimentasi tidak terlalu lama karena sel *Navicula* sp. galur TAD memiliki berat jenis dan ukuran sel yang besar. Hasil pemanenan menunjukkan adanya perbedaan berat dan produktivitas biomassa yang signifikan dari setiap medium (Tabel 2). Berat dan produktivitas biomassa menurun ketika medium pertumbuhan diberi kekurangan nitrogen maupun silikon (M1, M2 dan M3). Biomassa dari kultur yang ditanam dalam medium Mn memiliki berat sebesar $2,7234 \pm 0,00014$ g biomassa kering lebih tinggi dari medium lainnya. Ini menunjukkan bahwa perbedaan kerapatan sel, ukuran sel dan kandungan metabolit didalam sel akibat rendah kandungan nitrogen maupun silikon berdampak pada berat dan produktivitas biomassa yang diperoleh.

Tabel 2. Biomassa *Navicula* sp. galur TAD

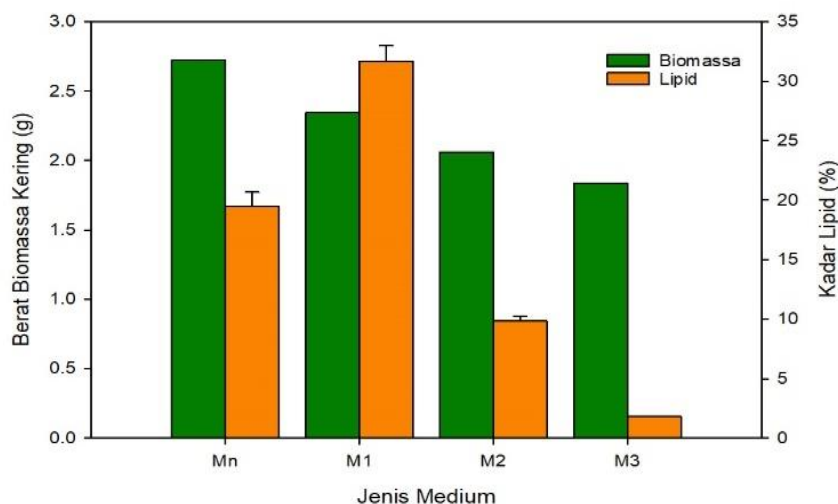
Medium	Berat Biomassa Kering (g)	Standar deviasi	Produktivitas (g L ⁻¹ hari ⁻¹)	Standar deviasi
Mn	2,7234	0,00014	0,1625	0,00034
M1	2,3453	0,00007	0,1456	0,00005
M2	2,0581	0,00014	0,1363	0,01203
M3	1,8354	0,00021	0,1070	0,00005

Analisis kandungan lipid dan asam lemak

Ekstraksi lipid

Pada penelitian ini, biomassa yang diperoleh dari setiap medium diekstraksi untuk mendapatkan lipidnya. Sebelum proses ekstraksi, pemecahan sel *Navicula* sp. galur TAD dilakukan dengan metode mekanik yaitu penghancuran sel menggunakan mortal dan alu. Ekstraksi lipid *Navicula* sp. galur TAD dilakukan dengan metode *Bligh Dryer* menggunakan pelarut kloroform : metanol (1:1, v/v). Hasil ekstraksi diuapkan dengan penguap putar (*rotary evaporator*) atau diuapkan sampai dihasilkan lipid. Hasil ekstrak lipid yang diperoleh dari setiap medium memberi perbedaan warna ekstrak. Lipid yang diperoleh berwarna kuning sampai kuning kecoklatan (Praveenkumar *et al.*, 2014). Perbedaan warna ekstrak lipid menunjukkan bahwa adanya kandungan senyawa karotenoid yang larut dalam lipid yang berbeda. Hal ini mengindikasikan kehadiran nitrogen dan silikon berpengaruh terhadap biosintesis pigmen di dalam sel (Telussa *et al.*, 2019), sehingga kekurangan nitrogen dan silikat dalam medium pertumbuhan memiliki pengaruh terhadap lipid yang diperoleh.

Kandungan lipid yang diekstraksi dari 1 g biomassa kering *Navicula* sp. galur TAD dari ke 4 medium pertumbuhan memberikan kandungan lipid yang berbeda signifikan. Gambar 5 dan Tabel 3 menunjukkan kandungan lipid *Navicula* sp. galur TAD dalam konsentrasi nitrogen dan silikat yang berbeda pada medium pertumbuhan. Peningkatan kandungan lipid diperoleh sebesar 31,6658 % dan produktivitas lipid sebesar 18,1829 mg L⁻¹ hari⁻¹ dari kultur yang ditumbuhkan pada medium M1 karena konsentrasi nitrogen menurun. Hal ini mengindikasikan bahwa kekurangan nitrogen mendorong pembentukan lipid di dalam sel, tetapi juga membatasi pertumbuhan dan biomassa. Sementara itu, Ketika konsentrasi nitrogen dan silikat diturunkan kandungan lipid sebesar 1,7930% dibandingkan dengan Medium Mn sebagai kontrol (19,4748%). Gao *et al.* (2019) melaporkan waktu pertumbuhan sel yang panjang dapat menurunkan akumulasi lipid dalam sel yang ditumbuhkan dalam medium pertumbuhan yang kekurangan silikon. Dengan demikian, akumulasi lipid dalam sel *Navicula* sp. galur TAD yang dipanen pada hari ke 7 meningkat ketika kekurangan nitrogen.



Gambar 5. Diagram berat biomassa kering dan kadar lipid dari kultur yang ditanam pada medium pertumbuhan dengan perbedaan komposisi nutrisi (Mn, M1, M2 dan M3)

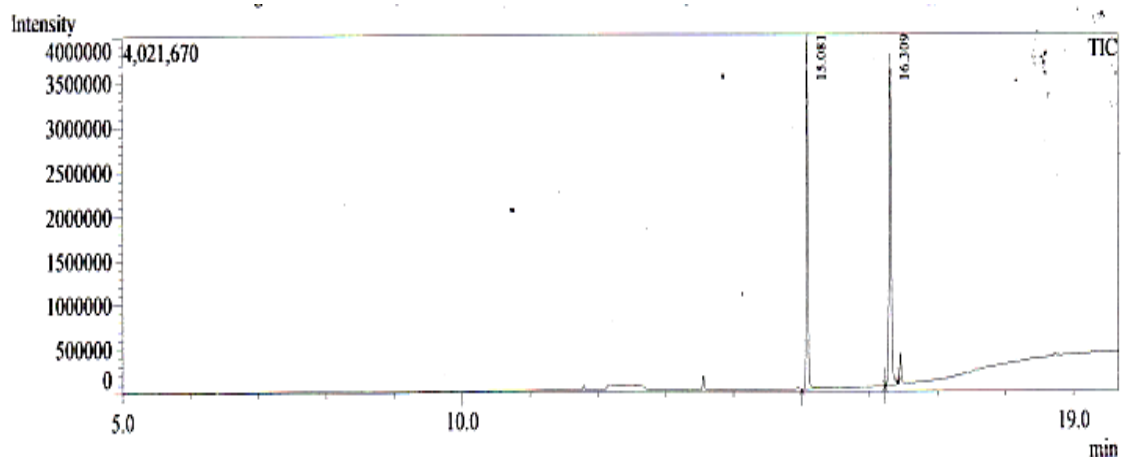
Tabel 3. Kandungan Lipid *Navicula* sp. galur TAD

Medium	% Lipid	Produktivitas (mg L ⁻¹ hari ⁻¹)	Standar devisiasi
Mn	19,4748	11,1600	0,5476
M1	31,6659	18,1829	0,6937
M2	9,8248	5,8629	0,3202
M3	1,7930	1,0248	0,0293

Biodiesel *Navicula* sp. galur TAD

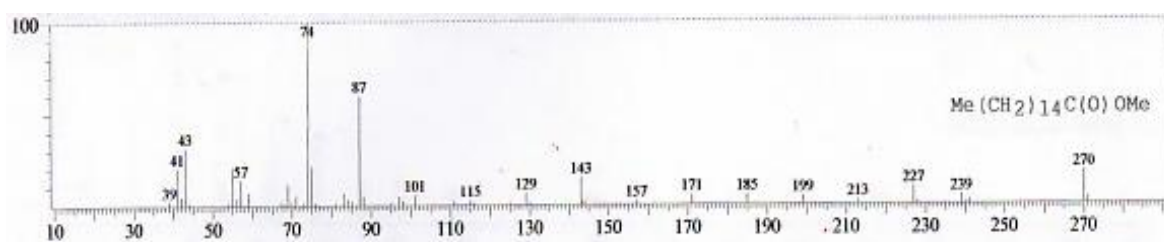
Pada penelitian ini, reaksi transesterifikasi lipid *Navicula* sp. menjadi biodiesel dilakukan dengan menggunakan katalis basa dan metanol. Pemilihan metanol sebagai pelarut dalam reaksi transesterifikasi karena kepolarannya yang cukup tinggi sehingga mudah bereaksi dengan lipid, dapat melarutkan berbagai katalis, dan ekonomis. Reaksi transesterifikasi akan menghasilkan biodiesel berupa metil ester asam lemak. Selain itu, akan dihasilkan juga produk samping berupa gliserol sehingga perlu dilakukan pemisahan antara gliserol dan biodieselnnya. Proses pemisahan ini akan menghasilkan biodiesel pada lapisan atas dan gliserol pada lapisan bawah. Hal tersebut dikarenakan massa jenis gliserol lebih besar dibandingkan dengan biodiesel. Rendamen Biodiesel yang diperoleh dari *Navicula* sp. galur TAD sebesar 33% (Rawat et al., 2013)

Hasil transesterifikasi dianalisis dengan menggunakan GC-MS diperoleh 2 puncak kromatogram. Puncak pertama memiliki waktu retensi 15,083 menit dan puncak kedua memiliki waktu retensi 16,308 menit (Gambar 6). Dua Puncak ini menunjukkan terdapat 2 senyawa dalam minyak *Navicula* sp. galur TAD, yang dapat diidentifikasi sebagai senyawa metil ester, yaitu metil heksadekanoad (asam palmitat) dan metil oktadekanoad (asam oleat). (Popovich et al., 2019)



Gambar 6 Kromatogram GC-MS Biodiesel dari *Navicula* sp. galur TAD

Kromatogram menunjukkan adanya puncak pada waktu retensi 15,083 menit dengan komposisi sebesar 51,72%, yang teridentifikasi sebagai metil heksadekanoat berdasarkan pola spektrum massa. Fragmen ion yang muncul meliputi $m/z = 41, 74, 87, 101, 115, 129, 143, 157, 171, 185, 199, 213, 227, 239$, dan 270 (Gambar 7).



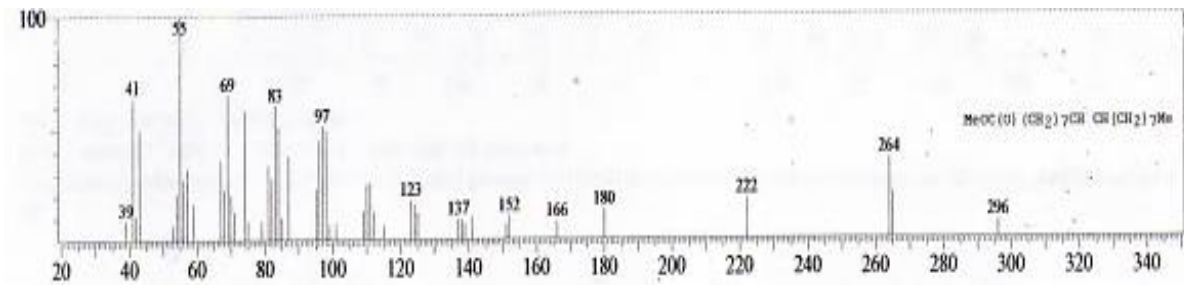
Gambar 7. Spektrum massa metil palmitat

Ion molekul utama dengan $m/z = 270$ sesuai dengan massa molekul metil ester asam palmitat ($C_{17}H_{34}O_2$). Puncak dasar pada $m/z = 74$ dihasilkan melalui pemecahan β yang diikuti dengan penataan ulang Lafferty. Fragmen $m/z = 239$ ($M-31$) terbentuk akibat pelepasan radikal OCH_3 dari ion molekul, sedangkan $m/z = 227$ ($M-43$) berasal dari pelepasan radikal propil. Deret ion $C_nH_{2n-1}O_2^+$ khas ester alifatik juga terdeteksi, dengan intensitas tinggi pada $m/z = 87$ ($n=2$) dan $m/z = 143$ ($n=6$). Berdasarkan pola fragmentasi tersebut, senyawa yang teridentifikasi adalah metil palmitat (Sarpal & Costa, 2016; Kiyani *et al.*, 2023).

Kromatogram menunjukkan puncak pada waktu retensi 16,308 menit dengan komposisi sebesar 48,28%, yang diidentifikasi sebagai metil 9-oktadekanoat (metil oleat) berdasarkan spektrum massa. Fragmen ion yang terdeteksi meliputi $m/z = 41, 55, 69, 74, 87, 98, 123, 137, 180, 222$, dan 264 (Gambar 8).

Ion molekul utama muncul pada $m/z = 296$, sesuai dengan massa molekul metil ester asam oleat ($C_{19}H_{36}O_2$). Fragmen $m/z = 265$ berasal dari $C_{18}H_{33}O^+$ akibat pelepasan gugus metoksi dari ion molekul, sedangkan puncak $m/z = 222$ terbentuk karena hilangnya gugus propil. Keberadaan ikatan rangkap $C=C$ ditunjukkan oleh kelimpahan fragmen dari deret ion $C_nH_{2n-1}^+$ dengan $m/z = 43, 55, 69, 83, 97, 111, 125$, dan 139, serta diikuti oleh fragmen dengan intensitas lebih rendah dari deret ion $C_nH_{2n+1}^+$ pada $m/z = 43, 57, 71$, dan 85. Puncak

dasar muncul pada $m/z = 55$ yang dihasilkan dari pelepasan gugus $-C_3H_7$. Berdasarkan pola fragmentasi tersebut, senyawa yang teridentifikasi adalah metil 9-oktadekanoat (metil oleat) (Sarpal & Costa, 2016; Kiyani *et al.*, 2023).



Gambar 8. Spektrum massa metil oleat

KESIMPULAN

Mikroalga laut *Navicula sp.* galur TAD berpotensi sebagai sumber biodiesel yang efisien dan ramah lingkungan. Pertumbuhan optimal dicapai pada medium modifikasi normal (Mn), sementara kandungan lipid tertinggi (31,67%) diperoleh pada medium dengan konsentrasi nitrogen rendah (M1). Proses transesterifikasi menghasilkan rendemen biodiesel sebesar 33% dengan komposisi utama metil palmitat dan metil oleat, yang keduanya memiliki nilai energi tinggi. Temuan ini menegaskan relevansi praktis mikroalga sebagai alternatif energi terbarukan, sekaligus membuka peluang penelitian lanjutan untuk optimasi produksi dan pemanfaatan skala industri.

Kontribusi Penulis

Seluruh penulis memberikan kontribusi yang signifikan terhadap karya yang dilaporkan dalam manuskrip ini. Ivonne Telussa berperan dalam konseptualisasi dan desain penelitian, sehingga memastikan arah dan kerangka metodologis yang jelas. I Wayan Sutapa bertanggung jawab atas pengumpulan serta analisis data, yang menjadi dasar utama dalam mendukung validitas hasil penelitian. Wenand Godlief Labobar berkontribusi dalam penyusunan dan revisi manuskrip, sehingga naskah dapat disajikan secara sistematis.

Pernyataann Penggunaan AI Generatif dan Teknologi Berbantuan AI

Para penulis menyatakan bahwa tidak ada perangkat kecerdasan buatan (AI) yang digunakan dalam proses pembuatan, analisis, maupun penulisan manuskrip ini. Seluruh aspek penelitian, termasuk pengumpulan data, interpretasi, dan penyusunan manuskrip, dilaksanakan sepenuhnya oleh para penulis tanpa bantuan teknologi berbasis AI.

Konflik Kepentingan

Para penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan terkait dengan publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Acakpo, M., Derkyi, N.S.A., Awudza, J.A.M., Kokloku, B.K., & Diawuo, F.A. (2025). Optimization of biodiesel production using oil extracted from microalgae harvested in Ghana. *South African Journal of Chemical Engineering*, 53(April), 214–224. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2025.04.019>
- Alsallal, A.M., Almomani, F., & Alkanaimsh, S. (2025). Harnessing microalgae for a synergistic approach to CO₂ capture, wastewater treatment, and biodiesel production: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 13(2025), 117465. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.117465>
- Atashkar, H., & Saidi, M. (2024). Green biodiesel production from *Nannochloropsis* microalgae-derived oil using ZnAl-LDH catalyst: Process optimization and kinetic study. *Fuel*, 370(2024), 131804. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2024.131804>
- Encinas-Arzate, J.J., Marquez-Ríos, E., López-Elías, J.A., Torres-Areola, W., Huerta-Ocampo, J. Á., & Ramírez-Suárez, J. C. (2020). Effect of the deficiency of nitrate and silicate on the growth and composition of the benthic diatom *naviculaincerta*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 48(2), 280–286. <https://doi.org/10.3856/vol48-issue2-fulltext-2314>
- Gao, G., Wu, M., Fu, Q., Li, X., & Xu, J. (2019). A two-stage model with nitrogen and silicon limitation enhances lipid productivity and biodiesel features of the marine bloom-forming diatom *Skeletonema costatum*. *Bioresource Technology*, 289(May), 121717. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121717>
- González-Vega, R. I., Cárdenas-López, J. L., López-Elías, J. A., Ruiz-Cruz, S., Reyes-Díaz, A., Perez-Perez, L. M., Cinco-Moroyoqui, F. J., Robles-Zepeda, R. E., Borboa-Flores, J., & Del-Toro-Sánchez, C. L. (2021). Optimization of growing conditions for pigments production from microalga *Navicula incerta* using response surface methodology and its antioxidant capacity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(2), 1401–1416. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.076>
- Hidayatno, A., Setiawan, A. D., Subroto, A., Saheruddin, H., Wardono, S., Romijn, H., Zahari, T. N., Rahman, I., Jafino, B. A., Moeis, A. O., Komarudin, K., Fitriani, A. R., Julio, N., & Zafira, Z. (2025). Exploring the food-versus-fuel debate in Indonesia's palm oil industry toward sustainability: A model-based policymaking approach. *Energy Nexus*, 19(November 2024), 100511. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2025.100511>
- Kiyani, D. A., Maryam, S., Amina, S. J., Ahmad, A., Chattha, M. W. A., & Janjua, H. A. (2023). Lipid extraction and analysis of microalgae strain *pectinodesmus* PHM3 for biodiesel production. *BMC Biotechnology*, 23(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12896-023-00784-8>
- Kumar, M., Ansari, N. A., & Gautam, R. (2025). Algae biodiesel as a alternative green fuel: A futuristic scope. *Cleaner Chemical Engineering*, 11(April), 100178. <https://doi.org/10.1016/j.clce.2025.100178>
- Mayandi, Z., & Suharjito. (2024). Palm oil-based biodiesel industry sustainability model using dynamic systems to balance food, energy, and export allocations. *Smart Agricultural Technology*, 7(2024), 100421. <https://doi.org/10.1016/j.atech.2024.100421>

- Mondal, M., Goswami, S., Ghosh, A., Oinam, G., Tiwari, O.N., Das, P., Gayen, K., Mandal, M.K., & Halder, G.N. (2017). Production of biodiesel from microalgae through biological carbon capture: a review. *3 Biotech*, 7(2). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0727-4>
- Musavi, S. A., Bakhshi, H., & Khoobkar, Z. (2025). Biodiesel production from *Chlorella* sp. microalgae using new derived calcium methoxide-microalgae based catalyst. *Fuel*, 387(2025), 134459. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2025.134459>
- Popovich, C. A., Pistonesi, M., Hegel, P., Constenla, D., Bielsa, G.B., Martín, L. A., Damiani, M. C., & Leonardi, P.I. (2019). Unconventional alternative biofuels: Quality assessment of biodiesel and its blends from marine diatom *Navicula cincta*. *Algal Research*, 39(September 2018), 101438. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101438>
- Praveenkumar, R., Kim, B., Choi, E., Lee, K., Park, J. Y., Lee, J. S., Lee, Y. C., & Oh, Y. K. (2014). Improved biomass and lipid production in a mixotrophic culture of *Chlorella* sp. KR-1 with addition of coal-fired flue-gas. *Bioresource Technology*, 171, 500–505. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.112>
- Qiao, H., Zang, S., Yan, F., Xu, Z., Wang, L., & Wu, H. (2021). Physiological responses of the diatoms *Thalassiosira weissflogii* and *Thalassiosira pseudonana* to nitrogen starvation and high light. *Marine Environmental Research*, 166(November 2020), 105276. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105276>
- Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., & Bux, F. (2013). Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production. *Applied Energy*, 103, 444–467. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.10.004>
- Sarpal AS., & Costa CR.I. (2016). Investigation of Biodiesel Potential of Biomasses of Microalgae *Chlorella*, *Spirulina* and *Tetraselmis* by NMR and GC-MS Techniques. *Journal of Biotechnology & Biomaterials*, 06(01), 1–15. <https://doi.org/10.4172/2155-952x.1000220>
- Telussa, I., Fransina, E. G., & Kalauw, K. (2024). Synthesis of Methyl Ester from Microalgae *Chlorella* sp. TAD Using the In-Situ Transesterification Method. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 8(1), 63–69. <https://doi.org/10.33795/jtkl.v8i1.3197>
- Telussa, I., Rusnadi, & Zeily Nurachman. (2019). Dynamics of β -carotene and fucoxanthin of tropical marine *Navicula* sp. as a response to light stress conditions. *Algal Research*, 41(May), 101530. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101530>
- Tian, J., Lin, J., Zhuang, G., Sun, P., Geng, P., Chen, L., & Chen, X. (2026). Microalgae-derived biodiesel: Review on microalgae species, genetic modification, cultivation strategies, and mutagenesis. *Algal Research*, 93(December 2025), 104490. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2025.104490>