

## Peningkatan Pertumbuhan dan Pengumpulan Lipid dalam Biojisim *Coelastrella* sp. (UKM4) semasa Fikoremediasi Air Larut Lesap

(Enhanced Growth and Lipid Accumulation in *Coelastrella* sp. (UKM4) Biomass during Phycoremediation of Leachate)

MOHAMAD FAISAL NI AZNAN, NAZLINA HAIZA MOHD YASIN\* & VIKESH VARMA ANATHAN

*Department of Biological Sciences and Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia*

*Diserahkan: 2 Mei 2024/Diterima: 9 Julai 2024*

### ABSTRAK

Mikroalga berpotensi dalam merawat air larut lesap dan biojisimnya mampu menghasilkan kandungan lipid yang boleh digunakan untuk menghasilkan biodiesel. Namun, pertumbuhan mikroalga dalam media kompleks seperti air larut lesap adalah aspek yang penting untuk dikaji supaya proses ini dapat dikomersialkan. Justeru, kajian ini merangkumi dua objektif iaitu untuk mengkaji model matematik yang sesuai bagi kinetik pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam air larut lesap dan meneroka potensi mikroalga dalam penyingkiran nutrien serta penghasilan lipid sewaktu fikoremediasi air larut lesap. Dalam kajian ini, air larut lesap yang tinggi dengan kandungan nitrogen dan fosforus digunakan untuk pertumbuhan mikroalga *Coelastrella* sp. (UKM4). Penilaian model matematik yang terbaik terhadap pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) yang dikultur dalam air larut lesap dianalisis dengan menggunakan tiga model (Logistik, Logistik terubah suai dan Gompertz terubah suai). Hasil menunjukkan model yang terbaik bagi pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) adalah model Gompertz terubah suai berdasarkan lengkung suaian yang menghampiri model dengan sisihan piawai yang kecil. Dalam tempoh 15 hari, *Coelastrella* sp. (UKM4) mampu menurunkan 100% nutrien dalam air larut lesap serta mengumpul kandungan jasad lipid yang tinggi dalam biojisim mikroalga. Kesimpulannya, air larut lesap yang kaya dengan kandungan nutrien merupakan media pengkulturan yang sesuai untuk pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4). Selain itu, penghasilan lipid yang tinggi juga berupaya menjadikan proses fikoremediasi ini lebih mampan.

Kata kunci: Air larut lesap; *Coelastrella* sp. (UKM4); fikoremediasi; lipid; model matematik

### ABSTRACT

Microalgae have potential in treating leachate and its biomass is capable of producing lipids which then can be used to produce biodiesel. However, the study about microalgae growth in the complex media such as leachate is crucial for commercialization purposes. Thus, this study includes two objectives which are to study a suitable mathematical model for the growth kinetics of *Coelastrella* sp. (UKM4) in leachate and to explore the potential of microalgae in removing nutrient as well as lipid accumulation during phycoremediation of leachate. In this study, leachate with high nitrogen and phosphorus content was used to culture microalgae *Coelastrella* sp. (UKM4). The evaluation of the best mathematical model of *Coelastrella* sp. (UKM4) grown in leachate was analyzed using three mathematical models (Logistic, modified Logistic and modified Gompertz). The results indicated the best model for the growth of *Coelastrella* sp. (UKM4) was the modified Gompertz model due to fitted curve to the model with low standard error. *Coelastrella* sp. (UKM4) was able to reduce 100% nutrient in leachate in just 15 days as well as accumulated a high amount of lipid bodies in their biomass. In conclusion, leachate with high amounts of nutrients is feasible as cultivation media to support the growth of *Coelastrella* sp. (UKM4). In addition, high lipid production can also be an added value for sustainable phycoremediation processes.

Keywords: *Coelastrella* sp. (UKM4); lipid; leachate; mathematical model; phycoremediation

### PENGENALAN

Air larut lesap adalah air yang terhasil daripada sisa termampat di tapak pelupusan sampah. Ia terhasil daripada cecair yang terdapat dalam sisa pepejal dan persekitaran,

termasuk air hujan (Taib et al. 2021). Justeru, kuantiti air larut lesap di tapak pelupusan sampah juga dipengaruhi oleh taburan hujan. Dianggarkan jumlah isi padu air larut lesap yang dijana daripada tapak pelupusan sampah di

Malaysia adalah kira-kira tiga juta liter setiap hari dan kuantiti air larut lesap selalunya lebih banyak di sesetengah negara disebabkan oleh hujan lebat seperti di Malaysia (Banch et al. 2019). Pencemaran daripada air larut lesap adalah merbahaya kepada ekosistem semula jadi dan boleh menimbulkan isu kesihatan yang serius kepada masyarakat dan alam sekitar sekiranya tidak terkawal (Teng et al. 2021). Justeru, rawatan air larut lesap dengan kos yang berkesan adalah perlu bagi memastikan keberkesanan dalam pengurusan sisa pepejal. Antara alternatif rawatan air larut lesap yang sesuai adalah dengan menggunakan air sisa ini untuk pengkulturan mikroalga kerana kandungan nutriennya yang tinggi (Fuad, Khalid & Kamarudin 2021). Lazimnya, air larut lesap mengandungi nutrien seperti karbon, fosforus dan nitrogen yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroalga.

Fikoremediasi air sisa menggunakan mikroalga adalah satu proses yang mampan untuk meningkatkan kualiti rawatan air serta potensi penghasilan biojisim mikroalga sebagai bahan mentah bagi produk bioteknologi (Talib et al. 2023). Fikoremediasi air sisa oleh mikroalga berupaya menurunkan impak eutrofikasi kerana jumlah nitrogen dan fosforus yang rendah sebelum air dilepaskan ke jasad air. Kajian lepas telah menggunakan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam fikoremediasi effluen kilang kelapa sawit (POME) dan pensukuesteran karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) (Ding et al. 2020; Minhat et al. 2016). *Coelastrella* sp. adalah salah satu spesies mikroalga yang juga mampu mengumpul hampir 50% (i/i) lipid dalam biojisimnya (Maltsev et al. 2021). Namun, keberkesanan *Coelastrella* sp. (UKM4) sebagai agen fikoremediasi air larut lesap dan kesan ke atas pengumpulan lipid dalam sel mikroalga yang terhasil masih belum diketahui.

Kajian terhadap pertumbuhan mikroalga semasa proses fikoremediasi adalah penting dalam menilai prestasi pertumbuhan mikroalga dalam media air larut lesap yang berwarna gelap dengan beban nutrien yang tinggi. Air larut lesap yang gelap boleh menjejaskan kadar pencahayaan dan membantutkan metabolisme fotosintesis untuk pertumbuhan mikroalga (Fuad, Khalid & Kamarudin 2021). Justeru, dalam kajian ini, kinetik pertumbuhan serta kesesuaian model matematik bagi lengkung pertumbuhan mikroalga *Coelastrella* sp. (UKM4) yang dikultur dalam air larut lesap ditentukan. Penggunaan model matematik serta penentuan pekali kinetik yang tepat mewujudkan data dan justifikasi yang tepat dalam proses hiliran (Mohd Sadiq, Yow & Jamaian 2018). Model matematik seperti model logistik, logistik terubah suai dan Gompertz terubah suai adalah antara model matematik yang tepat bagi mengkaji pertumbuhan mikroalga (Ni Aznan et al. 2022). Selain itu, kesan asimilasi nutrien dan pengumpulan lipid dalam biojisim *Coelastrella* sp. (UKM4) juga dikaji.

## BAHAN DAN KAEDAH

### PERSAMPELAN DAN PENCIRIAN AIR LARUT LESAP

Air larut lesap diambil dari kolam air larut lesap mentah di tanah isian sanitari, Tanjung Duabelas Sanitary Landfill, Selangor, Malaysia. Sampel disimpan di dalam botol Duran bersaiz 2 L dan diletakkan di dalam peti sejuk bersuhu 4 °C bagi mengurangkan aktiviti mikrob. Sebelum proses uji kaji dijalankan, pencirian air larut lesap termasuk penentuan nilai COD, jumlah nitrogen dan jumlah fosforus dilakukan bagi melaraskan kualiti air sebelum digunakan untuk pengkulturan mikroalga.

### PENGKULTURAN MIKROALGA

Stok *Coelastrella* sp. (UKM4) (NCBI: KP691597) diambil dari Makmal Pemerangkapan Karbon, Fakulti Kejuruteraan dan Alam Bina, Universiti Kebangsaan Malaysia. Sebanyak 30% (i/i) *Coelastrella* sp. (UKM4) dikultur masing-masing di dalam media Bold's Basal (BBM) dan air larut lesap pada peringkat awal untuk aklimitasi dan penyediaan inokulum. Penyediaan BBM adalah seperti yang telah dilaporkan oleh Ding et al. (2016).

### FIKOREMEDIASI AIR LARUT LESAP OLEH MIKROALGA

Fikoremediasi dimulakan dengan mengkultur 10% (i/i) inokulum masing-masing ke dalam air larut lesap di dalam botol Duran berisi padu kerja 1000 mL. Pengkulturan dijalankan pada suhu 25 °C di bawah pencahayaan yang berterusan bersama aliran udara 0.5 vvm (Ding et al. 2016). BBM digunakan bagi menggantikan air larut lesap yang berfungsi sebagai kawalan. Pertumbuhan mikroalga dinilai berdasarkan biojisim selama 15 hari sehingga mencapai fasa pegun. Penentuan jumlah biojisim diukur menggunakan kaedah berat sel kering seperti yang dijelaskan oleh Hariz et al. (2018).

### MODEL MATEMATIK DAN PENILAIAN PERTUMBUHAN KINETIK

Tiga model matematik digunakan untuk membandingkan model pertumbuhan penyesuaian terbaik bagi pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam air larut lesap. Model yang digunakan adalah model Logistik, Logistik terubah suai dan Gompertz terubah suai (Mohd, Mohd Yasin & Takriff 2021). Setiap persamaan model matematik tersebut disuaikan dalam perisian MATLAB R2020a untuk perbandingan analisis statistik dan penyesuaian kadar pertumbuhan.

Bagi mencari model terbaik antara tiga jenis model matematik berkenaan, beberapa parameter statistik digunakan iaitu pekali regresi (R<sup>2</sup>), pekali regresi terubah

suai ( $\text{adj } R^2$ ), faktor bias (BF), punca ralat purata kuasa dua (RMSE), ralat jumlah kuasa dua (SSE), peratus ramalan ralat piawai (%SEP) dan faktor kejituan (AF) mengikut persamaan matematik dan statistik. Data ini dijana menggunakan perisian *Microsoft Excel Analysis Toolpak*.

#### ANALISIS JUMLAH NITROGEN (TN) DAN JUMLAH FOSFORUS (TP)

Kedua-dua asai TN dan TP adalah berdasarkan kaedah yang telah dicadangkan oleh pembekal (HACH, USA). Reagen HACH TN berjulat tinggi (HR) digunakan untuk menganalisis jumlah nitrogen (TN) berdasarkan kaedah 10072, kaedah penguraian persulfat. Kemudian, bacaan TN diambil dengan menggunakan spektrofotometer HACH DR1900 dengan program 394 N. Manakala bagi analisis TP, kaedah 10127, kaedah molybdovanadate dengan penguraian asid persulfat digunakan. Kepekatan fosforus diukur menggunakan spektrofotometer HACH DR1900 dengan program 540 P.

#### PENCERAPAN JASAD LIPID

Molekul lipid di dalam mikroalga selepas rawatan air sisa dicerap di bawah mikroskop pendafLOUR menggunakan kaedah nila merah (Nordin, Yusof & Samsudin 2017). Sebanyak 1 mL sampel diempas selama 1 minit dengan kelajuan 9200 g. Hanya pelet diambil dan diampai ke dalam 1 mL cecair penimbal fosfat (pH 7.4). Sampel tersebut kemudiannya ditambah dengan 1  $\mu\text{L}$  pewarna Nila merah (1 mg dalam 1 mL aseton) sebelum divorteks. Sampel kemudian dieram dalam keadaan gelap selama 30 minit pada suhu bilik sebelum dicerap di bawah mikroskop pendafLOUR (Olympus BX49).

#### HASIL DAN PERBINCANGAN

##### PERTUMBUHAN *Coelastrella* sp. (UKM4) DALAM BBM DAN AIR LARUT LESAP

Rajah 1 menunjukkan lengkung pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) yang dikultur dalam BBM dan air larut resap selama 15 hari. Tempoh pengkulturan selama 15 hari adalah tempoh umum pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) untuk mencapai fasa pegun (Badar, Yaakob & Timmiati 2017). Aliran biojisim mikroalga yang terhasil mengikut bentuk sigmoid. Kepekatan biojisim maksimum yang terhasil oleh *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam BBM dan air larut resap masing-masing adalah sebanyak 0.29 g/L  $\pm 0.0566$  dan 0.37 g/L  $\pm 0.0141$ . Ini menunjukkan bahawa *Coelastrella* sp. (UKM4) berupaya hidup dalam air larut resap dan menghasilkan biojisim yang lebih tinggi berbanding media komersial, BBM bersama nilai sisihan piawai yang signifikan. Media BBM merupakan

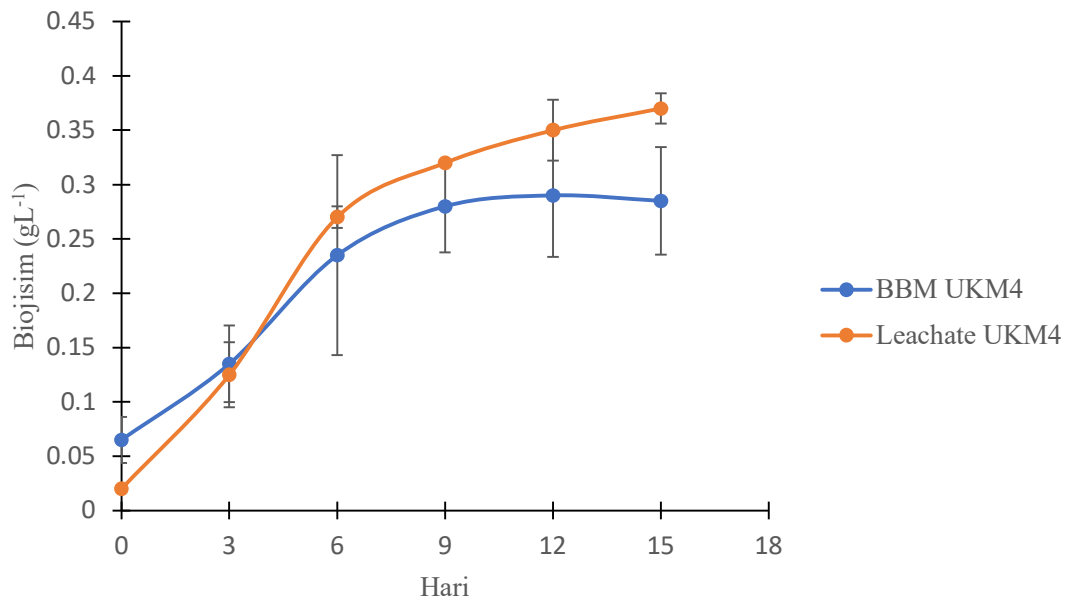
media lengkap untuk menyokong pertumbuhan mikroalga (Mohd et al. 2024). Penggunaan air larut lesap juga didapati bersesuaian sebagai media alternatif untuk pengkulturan mikroalga kerana kandungan nutrien awal yang mencukupi untuk pertumbuhan mikroalga.

Data bagi pertumbuhan mikroalga seperti dalam Rajah 1 (pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam air larut lesap) digunakan untuk penyesuaian kepada tiga model matematik iaitu model Logistik, Logistik terubah suai dan Gompertz terubah suai. Lengkuk penyesuaian tiga model matematik yang dijana daripada perisian MATLAB R2020a adalah seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 2. Ketiga-tiga model ini dipilih kerana ia merupakan model yang bersesuaian bagi penentuan kinetik pertumbuhan mikroalga (Mohd, Mohd Yasin & Takriff 2021).

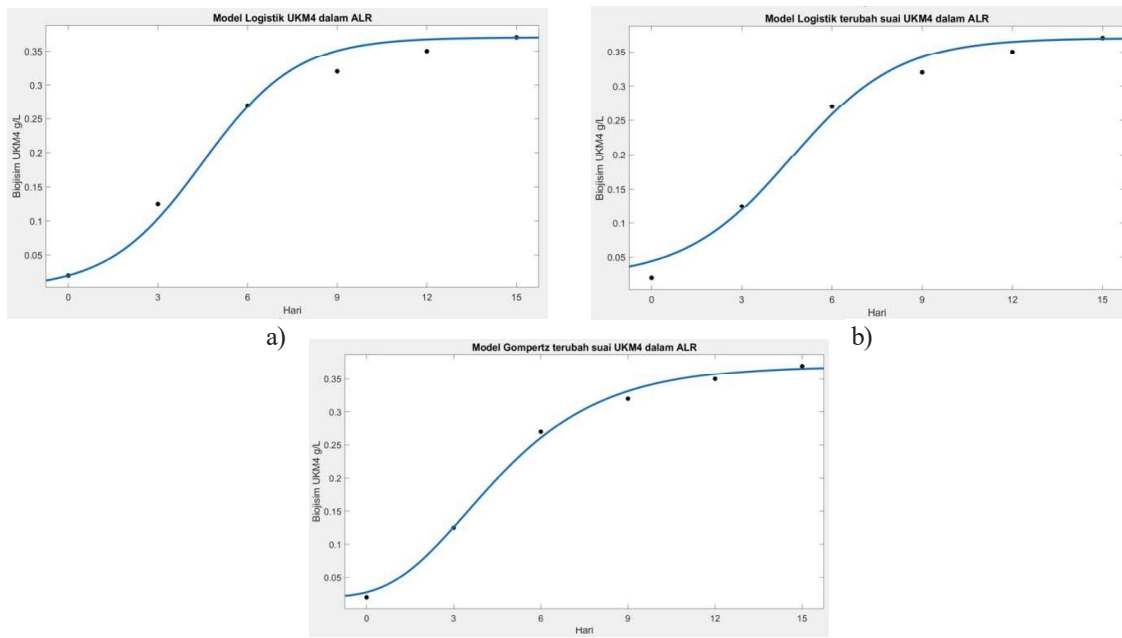
Model matematik telah digunakan secara meluas untuk meramal aliran pertumbuhan sel dengan menganggar kadar maksimum pertumbuhan khusus ( $\mu_{\text{max}}$ ), fasa lag ( $\lambda$ ) dan kepekatan sel maksimum ( $X_{\text{max}}$ ) (Lam et al. 2017). Model matematik yang bersesuaian dan baik adalah apabila nilai pertumbuhan mikroalga mengikut aliran model matematik tersebut dan menghasilkan nilai residual yang rendah. Residual yang rendah adalah apabila perbezaan antara nilai uji kaji dan nilai ramalan rendah. Rajah 2 menunjukkan model Logistik, Logistik terubah suai dan Gompertz terubah suai mengikut bentuk sigmoid dan aliran bentuk pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam air larut resap. Melalui ketiga-tiga lengkung penyesuaian, data titik taburan bagi model Gompertz terubah suai adalah mengikut bentuk model (mendekati garis sigmoidal pada Rajah) seperti yang ditunjukkan pada Rajah 2(c). Perbezaan ketara boleh dilihat dengan jelas pada data taburan hari ke 9 dan 12 yang ditunjukkan dalam Rajah 2(a) dan 2(b) yang menjauhi model. Kedua-dua data pada hari ke 9 dan 12 adalah di bawah pintasan garis sigmoidal (tidak menyentuh garisan) yang diperolehi melalui model logistik (Rajah 2(a)) dan logistik terubah suai (Rajah 2(b)). Selain itu, masa eksponen pada Rajah 2(c) adalah dilihat lebih panjang yang menentukan peningkatan kecekapan serta penghasilan biojisim mikroalga. Oleh itu, analisis statistik seterusnya dijalankan bagi menentukan model matematik yang terbaik bagi menilai pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam air larut lesap.

#### ANALISIS STATISTIK

Analisis statistik dijalankan bagi meramal model yang terbaik bagi setiap model matematik yang digunakan. Beberapa faktor dipertimbangkan seperti pekali regresi ( $R^2$ ), pekali regresi terubah suai ( $\text{adj } R^2$ ), purata ralat kuasa dua (RMSE), ralat hasil tambah kuasa dua (SSE), faktor bias (BF), faktor kejituan (AF) dan peratus ramalan ralat piawai (%SEP).



RAJAH 1. Lengkuk pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) yang dikultur dalam BBM dan air larut lesap. Data menunjukkan min ± sisihan piawai dengan n=2



RAJAH 2. Penyesuaian model matematik terhadap pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam air larut lesap. a) Model Logistik, b) Model Logistik terubah suai dan c) Model Gompertz terubah suai

JADUAL 1. Analisis statistik bagi model matematik terhadap pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam air larut lesap

Model matematik	$\lambda$	R <sup>2</sup>	adj R <sup>2</sup>	SSE	RMSE	BF	AF	%SEP
Logistik		0.9828	0.9828	0.0017	0.0183	0.990125	1.009973	6.9041
Logistik terubah suai	1.0717	0.9853	0.9817	0.0014	0.0189	1.145131	1.145131	6.3789
Gompertz terubah suai	0.8802	0.9965	0.9956	0.0003	0.0093	1.058787	1.058787	3.1232



Menurut Lam et al. (2017), bagi setiap model, ketepatan dalam penyesuaian lengkung bagi data uji kaji dinilai oleh pekali regresi,  $R^2$ . Kejituan bagi setiap model yang sesuai dengan data uji kaji adalah apabila  $R^2$  melebihi 0.95. Walau bagaimanapun, nilai  $R^2$  kebiasaannya digunakan untuk regresi linear sahaja. Bagi regresi bukan linear, bilangan parameter yang dinyatakan dalam model adalah berbeza dan analisis  $R^2$  tidak memberikan analisis yang jitu. Menurut Johari (2014), nilai  $R^2$  terubah suai (adj  $R^2$ ) adalah lebih sesuai digunakan bagi penilaian kualiti terhadap model bukan linear. Analisis adj  $R^2$  menunjukkan model Gompertz terubah suai memberi nilai kejituan yang tertinggi dalam ramalan pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) dengan nilai 0.9956 (Jadual 1).

Seterusnya, nilai yang paling rendah terhasil melalui RMSE dan SSE menunjukkan penyesuaian yang terbaik terhadap model tersebut kerana nilai ralat yang rendah (Abbaszadeh et al. 2011). Jadual 1 menunjukkan model Gompertz terubah suai menghasilkan nilai RMSE dan SSE yang terendah berbanding model lain.

Kemudian, BF dihitung untuk menilai perbezaan relatif antara nilai ramalan dan uji kaji. Padanan yang ideal antara data ramalan model matematik dan data uji kaji dapat dilihat apabila nilai BF adalah 1 yang menunjukkan padanan yang terbaik antara data model dan uji kaji (Lopez et al. 2004). Selain itu, nilai AF yang bersamaan dengan 1 juga menggambarkan kejituan sesuatu model (Halimi, Shukor & Shukor 2014). Kajian ini mendapati bahawa ketiga-tiga model nilai BF dan AF adalah menghampiri 1.

Walaupun bagaimanapun, ralat paling rendah antara nilai ramalan dan uji kaji akan ditentukan dengan rendahnya nilai %SEP. Kajian ini mendapati nilai %SEP model Gompertz terubah suai menghasilkan nilai peratus ramalan ralat piawai paling rendah sebanyak 3.12%. Semakin rendah nilai %SEP menunjukkan rendahnya ralat yang terhasil dalam model daripada semua parameter analisis statistik. Ini ditambah dengan nilai analisis  $R^2$ , adj  $R^2$ , SSE, RMSE, BF dan AF yang menyokong model Gompertz terubah suai (Jadual 1). Hasil analisis statistik (Jadual 1) dan lengkung penyesuaian (Rajah 2) mendapati bahawa model Gompertz terubah suai adalah model matematik yang ideal bagi *Coelastrella* sp. (UKM4) yang dikultur di dalam air larut lesap. Hasil nilai  $\mu_{max}$ ,  $\lambda$  dan  $X_{max}$  bagi *Coelastrella* sp. (UKM4) yang disesuaikan dengan model Gompertz terubah suai adalah 0.0488 hari<sup>-1</sup>, 0.8802 dan 0.3660 gL<sup>-1</sup> masing-masing.

#### KECEKAPAN PENYINGKIRAN NUTRIEN OLEH *Coelastrella* sp. (UKM4) DALAM AIR LARUT LESAP

Parameter fikoremediasi dalam kajian ini adalah jumlah nitrogen (TN) dan jumlah fosforus (TP) yang terdapat di dalam air larut lesap. Kedua-dua nutrien ini merupakan makronutrien penting yang diperlukan oleh mikroalga. Oleh itu, pengambilan nitrogen serta fosforus

menjelaskan mekanisme kecekapan pengambilan nutrien bagi menyokong pertumbuhan dan pengawalan aktiviti metabolisme mikroalga (Yaakob et al. 2021). Fikoremediasi kedua-dua nutrien ini dalam air yang tercemar adalah penting kerana pelepasan nitrogen dan fosforus yang tinggi ke dalam jasad air akan mengakibatkan kesan eutrofikasi (Talib et al. 2023). Walau bagaimanapun, jumlah penyingkiran nutrien bergantung kepada asimilasi mikroalga terhadap medium dan seterusnya menukarkannya kepada penghasilan biojisim (Hariz et al. 2019). Rajah 3 menunjukkan profil penyingkiran nutrien dalam air larut lesap yang dikultur dengan *Coelastrella* sp. (UKM4). Kecekapan penyingkiran TN dan TP adalah 100% berdasarkan kepekatan awal TN dan TP masing-masing sebanyak 116.0 ± 4.2 mg/L dan 10.7 ± 0.2 mg/L. Kedua-dua nutrien ini telah diasimilasi sepenuhnya oleh mikroalga apabila tempoh pengkulturan mencapai 15 hari untuk menyokong pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) seperti yang telah ditunjukkan dalam Rajah 1.

Kajian lepas oleh Nordin, Yusof dan Samsudin (2017) menunjukkan bahawa spesies mikroalga *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp. dan *Oscillatoria* sp. yang dikultur di dalam air larut lesap yang dicairkan mampu menyingkirkan TN dalam julat 66-84%, manakala penyingkiran TP adalah sebanyak 100% dalam tempoh 14 hari. Selain itu, penemuan daripada Shaari et al. (2021) juga menunjukkan penyingkiran maksimum ammonia nitrogen (NH<sub>3</sub>-N) dan fosfat (PO<sub>3</sub>) masing-masing sebanyak 83% dan 95% dalam tempoh 12 hari pengkulturan *Chlorella* sp. dalam air larut lesap yang dicairkan. Penemuan tersebut membuktikan bahawa *Coelastrella* sp. (UKM4) berjaya menyingkirkan nutrien daripada air larut lesap dengan lebih cekap. Kajian terdahulu menggunakan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam merawat POME menunjukkan kecekapan penyingkiran ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) sebanyak 100%, manakala TN dan TP masing-masing sebanyak 63% dan 56% (Ding et al. 2020). Selain itu, Udaiyappan et al. (2020) juga menjelaskan penyingkiran ammonium (80-90%), fosfat (10-35%) dan permintaan oksigen kimia (COD) (20-35%) seiring dengan pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam POME. Kajian ini menjelaskan bahawa *Coelastrella* sp. (UKM4) juga berupaya menggunakan sampel air larut lesap sebagai media pengkulturan, seterusnya menyingkirkan nutrien yang kompleks.

Nitrogen dan fosforus adalah unsur yang mendominasi sel mikroalga. Oleh itu, bekalan nitrogen dan fosforus menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan fotoautotrofik mikroalga. Nitrogen penting untuk mensintesis asid amino, purina, pirimidina, gula amino, amina dan klorofil kerana kepentingannya dalam metabolisme dan belahan dedua mikroalga (Sun et al. 2018a). Fosforus wujud dalam protoplasma dan nukleus sel mikroalga unisel dan bertindak sebagai substrat atau pengawalan yang terlibat secara langsung dalam semua aspek fotosintesis, termasuk penyerapan tenaga,

pembentukan daya asimilasi, kitaran Calvin-Benson, pengangkutan produk asimilasi dan pengawalan beberapa enzim penting seperti enzim Ribulosa-bisfosfat (RuBP) karboksilase/oksigenase (RuBisCO) yang berperanan dalam pengikatan karbon ketika fotosintesis (Wei et al. 2017). Dengan cara ini, fosforus secara langsung mempengaruhi metabolisme karbohidrat, protein, lemak dan proses tapak metabolisme polifosfat serta sintesis fosfolipid, asid nukleik dan beberapa koenzim dalam sel mikroalga (Sun et al. 2018b). Mikroalga juga berpotensi untuk mengambil lebih banyak P daripada yang diperlukan melalui mekanisme pengambilan mewah dan disimpan sebagai granul polifosfat dalam biojisim mikroalga (Mohd et al. 2024).

#### PENCERAPAN JASAD LIPID DALAM BIOJISIM *Coelastrella* sp. (UKM4)

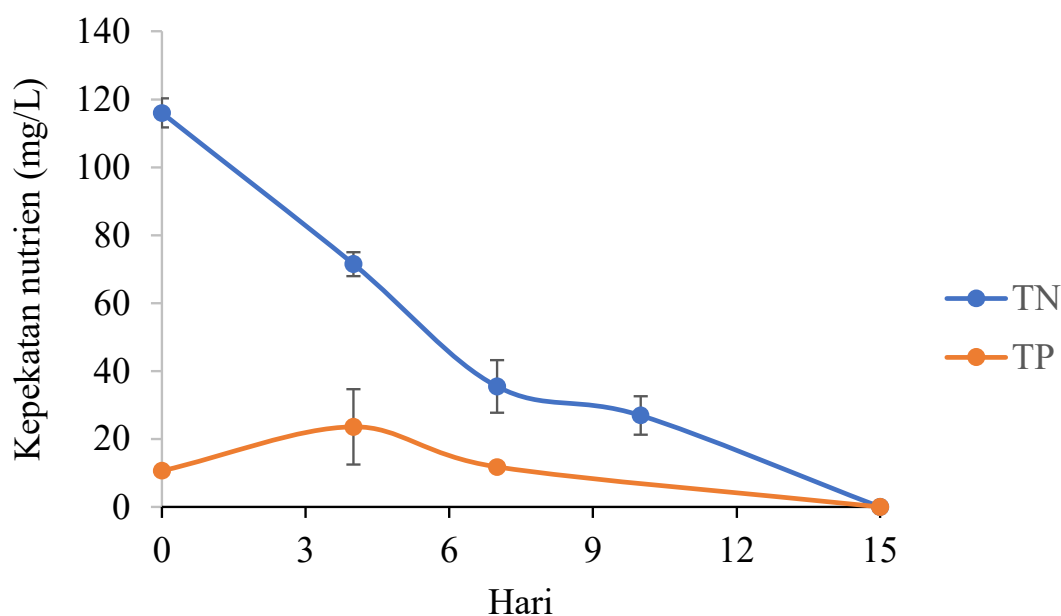
Penghasilan lipid dicerap menggunakan mikroskop pendaflour. Langkah ini adalah untuk melihat kesan rawatan air sisa terhadap jasad lipid yang terkumpul di dalam mikroalga (Zhu et al. 2014). Rajah 4 menunjukkan pemerhatian di bawah mikroskop pendaflour dengan pewarnaan Nila merah yang mewarnakan jasad lipid dalam sel mikroalga. Kaedah pewarnaan Nila merah telah kerap digunakan untuk penentuan lipid mikroalga kerana ia cepat, ringkas dan keperluan biojisim yang rendah (Halim

& Webley 2015). Rattanapoltee dan Kaewkannetra (2013) melaporkan bahawa ciri mikroalga apabila diperhatikan di bawah mikroskop pendaflour menunjukkan lipid yang berwarna kuning dalam sel mikroalga apabila diwarnakan dengan pewarna Nila merah, manakala ia berwarna merah kerana pendaflour semula jadi oleh klorofil mikroalga.

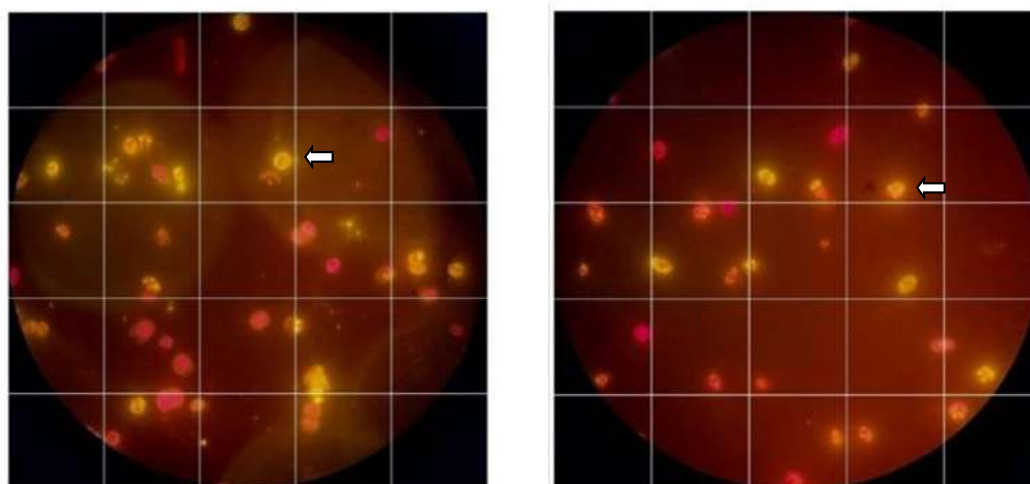
Rajah 4 menunjukkan perbandingan penghasilan lipid antara pengkulturan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam BBM dan air larut lesap. Hasil cerapan menunjukkan bahawa kandungan lipid dalam sampel air larut lesap (Rajah 4(a)) adalah lebih tinggi daripada dalam sampel BBM (Rajah 4(b)).

Antara faktor *Coelastrella* sp. (UKM4) menghasilkan lipid yang tinggi dalam air larut lesap adalah kerana tekanan persekitaran ekstrim dalam air larut lesap untuk mikroalga, yang boleh mencetuskan penghasilan lipid sebagai mekanisme kelangsungan hidup (Madadi et al 2021; Sun et al. 2018). Hasil kajian Nordin, Yusof dan Samsudin (2017) juga mendapati bahawa pengumpulan lipid semakin meningkat sekiranya media air larut lesap tidak dicairkan berlebihan.

Pengumpulan lipid dalam mikroalga boleh mencecah sehingga 80% daripada berat sel keringnya bergantung kepada spesies (Azima Syafaini, Mohd Sobri & Nazlina Haiza 2021). Sebahagian lipid yang terkumpul dalam biojisim mikroalga daripada proses bioremediasi berpotensi untuk dijadikan biodiesel melalui proses transesterifikasi.



RAJAH 3. Penyingkiran nutrien oleh *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam air larut resap. Data menunjukkan min  $\pm$  sisihan piawai dengan n=2



RAJAH 4. Pencerapan jasad lipid menggunakan kaedah pewarnaan Nila merah di bawah mikroskop pendafLOUR (magnifikasi 10 000 ) terhadap *Coelastrella* sp. (UKM4) yang telah dikultur dalam a) air larut lesap dan b) BBM

#### KESIMPULAN

Pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam BBM dan air larut lesap telah dinilai menggunakan tiga model matematik (model Logistik, Logistik terubah suai dan Gompertz terubah suai). Hasil menunjukkan model Gompertz terubah suai adalah model terbaik untuk penyesuaian pertumbuhan mikroalga *Coelastrella* sp. (UKM4) yang dikulturkan dalam air larut lesap. Pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) juga dapat dilihat melalui hasil asimilasi nitrogen dan fosfor yang menunjukkan 100% penurunan dalam tempoh 15 hari. Sehubungan dengan pertumbuhan *Coelastrella* sp. (UKM4) yang tinggi dalam air larut lesap, hasil pencerapan jasad lipid dalam *Coelastrella* sp. (UKM4) dalam air larut lesap juga lebih tinggi berbanding pengkulturan dalam BBM. Kesimpulannya, *Coelastrella* sp. (UKM4) mampu menjadi agen fikoremediasi dalam air larut lesap dan hasil biojisimnya mampu menjadi bahan mentah yang berasaskan lipid.

#### PENGHARGAAN

Penghargaan diberikan kepada geran GP-K022077 daripada Universiti Kebangsaan Malaysia kerana menyumbang dana sepanjang penyelidikan dijalankan.

#### RUJUKAN

Abbaszadeh, A., Motevali, A., Khoshtaghaza, M.H. & Kazemi, M. 2011. Evaluation of thin-layer drying models and neural network for describing drying kinetics of *Lasagnas angustifolia* L. *International Food Research Journal* 18(4): 1321-1328.

- Azima Syafaini Japar, Mohd Sobri Takriff & Nazlina Haiza Mohd Yasin. 2021. Microalgae acclimatization in industrial wastewater and its effect on growth and primary metabolite composition. *Algal Research* 53: 102163.
- Badar, S.N., Yaakob, Z. & Timmiati, S.N. 2017. Penilaian pertumbuhan mikroalga yang telah dipencil dari effluen kilang minyak sawit dalam media sintetik. *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 21(1): 82-94.
- Banch, T.J.H., Hanafiah, M.M., Alkarkhi, A.F.M. & Amr, S.S.A. 2019. Statistical evaluation of landfill leachate system and its impact on groundwater and surface water in Malaysia. *Sains Malaysiana* 48(11): 2391-2403.
- Ding, G.T., Yaakob, Z., Takriff, M.S., Salihon, J. & Abd Rahaman, M.S. 2016. Biomass production and nutrients removal by a newly-isolated microalgal strain *Chlamydomonas* sp. in palm oil mill effluent (POME). *International Journal of Hydrogen Energy* 41(8): 4888-4895.
- Ding, G.T., Mohd Yasin, N.H., Takriff, M.S., Kamarudin, K.F., Salihon, J., Yaakob, Z. & Mohd Hakimi, N.I.N. 2020. Phycoremediation of palm oil mill effluent (POME) and CO<sub>2</sub> fixation by locally isolated microalgae: *Chlorella sorokiniana* UKM2, *Coelastrella* sp. UKM4 and *Chlorella pyrenoidosa* UKM7. *Journal of Water Process Engineering* 35: 101202.
- Fuad, M.T.K., Khalid, A.A.H. & Kamarudin, K.F. 2021. Sustainable cultivation of *Desmodesmus armatus* SAG276.4d using leachate as a growth supplement for simultaneous biomass production and CO<sub>2</sub> fixation. *International Journal of Renewable Energy Development* 10(4): 865-873.

- Halim, R. & Webley, P.A. 2015. Nile red staining for oil determination in microalgal cells: A new insight through statistical modelling. *International Journal of Chemical Engineering* <https://doi.org/10.1155/2015/695061>
- Halmi, M.I.E., Shukor, M.S. & Shukor, M.Y.A. 2014. Evaluation of several mathematical models for fitting the growth and kinetics of the Catechol-degrading *Candida parapsilopsis*: Part 1. *Journal of Environmental Bioremediation and Toxicology* 2(2): 48-52.
- Hariz, H.B., Takriff, M.S., Mohd Yasin, N.H., Ba-Abbad, M.M. & Mohd Hakimi, N.I.N. 2019. Potential of the microalgae-based integrated wastewater treatment and CO<sub>2</sub> fixation system to treat Palm Oil Mill Effluent (POME) by indigenous microalgae; *Scenedesmus* sp. and *Chlorella* sp. *Journal of Water Process Engineering* 32: 100907.
- Hariz, H.B., Takriff, M.S., Ba-Abbad, M.M., Mohd Yasin, N.H. & Mohd Hakim, N.I.N. 2018. CO<sub>2</sub> fixation capability of *Chlorella* sp. and its use in treating agricultural wastewater. *Journal of Applied Phycology* 30(6): 3017-3027.
- Johari, M.S. 2014. Evaluation of several mathematical models for fitting the growth of the algae *Dunaliella tertiolecta*. *Asian* 2(1): 1-6.
- Lam, M.K., Yusoff, M.I., Uemura, Y., Lim, J.W., Khoo, C.G., Lee, K.T. & Ong, H.C. 2017. Cultivation of *Chlorella vulgaris* using nutrients source from domestic wastewater for biodiesel production: Growth condition and kinetic studies. *Renewable Energy* 103: 197-207.
- López, S., Prieto, M., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S. & France, J. 2004. Statistical evaluation of mathematical models for microbial growth. *International Journal of Food Microbiology* 96(3): 289-300.
- Madadi, R., Zahed, M.A., Pourbabaee, A.A., Tabatabaei, M. & Naghavi, M.R. 2021. Simultaneous phycoremediation of petrochemical wastewater and lipid production by *Chlorella vulgaris*. *SN Applied Sciences* 3: 505.
- Maltsev, Y., Krivova, Z., Maltseva, S., Maltseva, K., Gorshkova, E. & Kulikovskiy, M. 2021. Lipid accumulation by *Coelastrella multistriata* (Scenedesmaceae, Sphaeropleales) during nitrogen and phosphorus starvation. *Scientific Reports* 11: 19818.
- Minhat, Z.B.T., Ab Rahaman, M.S.B., Takriff, M.S. & Kofli, N.T. 2016. Differentiation of biomass composition between isolated and commercial strains of microalgae. *Journal of Engineering Science and Technology* 11(5): 737-744.
- Mohd, N., Mohd Yasin, N.H. & Takriff, M.S. 2021. Predictive growth model of indigenous green microalgae (*Scenedesmus* sp. UKM9) in Palm Oil Mill Effluent (POME). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 1051(1): 012070.
- Mohd, N., Mohd Yasin, N.H., Wan Osman, W.H & Takriff, M.S. 2024. Unlocking the potential of *Chlamydomonas* sp. for sustainable nutrient removal from POME: A biokinetic investigation. *Journal of Water Process Engineering* 57: 104590.
- Mohd Sadiq, U.A.F., Yow, M.E. & Jamaian, S.S. 2018. The extended monod model for microalgae growth and nutrient uptake in different wastewaters. *International Journal of Engineering & Technology* 7(4.30): 200.
- Ni Aznan, M.F., Mohd Yasin, N.H., Mohd, N. & Takriff, M.S. 2022. Penilaian model matematik bagi pertumbuhan mikroalga *Characium* sp. UKM1, *Chlorella* sp. UKM2 dan *Coelastrella* sp. UKM4 dalam air larut resapan sintetik. *Malaysian Applied Biology* 51(5): 249-260.
- Nordin, N., Yusof, N. & Samsudin, S. 2017. Biomass production of *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., and *Oscillatoria* sp. in nitrified landfill leachate. *Waste and Biomass Valorization* 8(7): 2301-2311.
- Rattanapoltee, P. & Kaewkannetra, P. 2013. Nile red, an alternative fluorescence method for quantification of neutral lipids in microalgae. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering* 7: 889-893.
- Shaari, A.L., Che Sa, S.N., Surif, M., Zolkarnain, N. & Ghazali, R. 2021. Growth of marine microalgae in landfill leachate and their ability as pollutants removal. *Tropical Life Sciences Research* 32(2): 133-146.
- Sun, X.M., Ren, L.J., Zhao, Q.Y., Ji, X.J. & Huang, H. 2018. Microalgae for the production of lipid and carotenoids: A review with focus on stress regulation and adaptation. *Biotechnology for Biofuels* 11: 272.
- Sun, Y., Huang, Y., Martin, G.J.O., Chen, R. & Ding, Y. 2018. Photoautotrophic microalgal cultivation and conversion. In *Bioreactors for Microbial Biomass and Energy Conversion. Green Energy and Technology*, disunting oleh Liao, Q., Chang, J.S., Herrmann, C., Xia, A. Singapore: Springer. hlm. 81-115.
- Taib, M.R., Mook, B.N., Tahir, M.I.H.M. & Aziz, M.A.A. 2021. Electrocoagulation treatment of sanitary landfill leachate in Malaysia. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 1051(1): 012074.
- Talib, S.L.A., Mohd Yasin, N.H., Takriff, M.S. & Japar, M.S. 2023. Comparative studies on phycoremediation efficiency of different water samples by microalgae. *Journal of Water Process Engineering* 52: 103584.
- Teng, C., Zhou, K., Peng, C. & Chen, W. 2021. Characterization and treatment of landfill leachate: A review. *Water Research* 203: 117525.
- Udaiyappan, A.F.M., Hasan, H.A., Takriff, M.S., Abdullah, S.R.S., Maeda, T., Mustapha, N.A., Mohd Yasin, N.H. & Mohd Hakimi, N.I.N. 2020. Microalgae-bacteria interaction in palm oil mill effluent treatment. *Journal of Water Process Engineering* 35: 101203.



- Wei, L., Wang, Q., Xin, Y., Lu, Y. & Xu, J. 2017. Enhancing photosynthetic biomass productivity of industrial oleaginous microalgae by overexpression of RuBisCO activase. *Algal Research* 27: 366-375.
- Yaakob, M.A., Mohamed, R.M.S.R., Al-Gheethi, A., Ravishankar, G.A. & Ambati, R.R. 2021. Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid, and fatty acid production: An overview. *Cells* 10(2): 393.
- Zhu, B.H., Sun, F.Q., Yang, M., Lu, L., Yang, G.P. & Pan, K.H. 2014. Large-scale biodiesel production using flue gas from coal-fired powerplants with *Nannochloropsis* microalgal biomass in open raceway ponds. *Bioresource Technology* 174: 53-59.

\*Pengarang untuk surat-menyurat; email: nazlinayasin@ukm.edu.my