

**OPTIMASI KULTIVASI MIKROALGA LAUT
Nannochloropsis oculata DENGAN PERLAKUAN
PUPUK UREA UNTUK PRODUKSI LEMAK NABATI**

**LAPORAN SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN DAN
LINGKUNGAN**

**OLEH :
RIZKY NI'MAL MAULA
NIM. 0510810059**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2010**

OPTIMASI KULTIVASI MIKROALGA LAUT *Nannochloropsis oculata* DENGAN PERLAKUAN PUPUK UREA UNTUK PRODUKSI LEMAK NABATI

Laporan Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

**OLEH :
RIZKY NI'MAL MAULA
NIM. 0510810059**

Dosen Penguji I

**(Dr. Ir. Endang Yuli H., MS)
NIP. 19570704 198403 2 001
Tanggal : _____**

Dosen penguji II

**(Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si)
NIP. 19730702 200501 2 001
Tanggal : _____**

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

**(Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MSi)
NIP. 19730404 200212 2 001
Tanggal : _____**

Dosen Pembimbing II

**(Ir. Mulyanto, MS)
NIP. 19600317 198602 1 001
Tanggal : _____**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**

**(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS)
NIP. 19600322 198601 1 001
Tanggal : _____**

Ketika ku mohon pada Allah kekuatan

Allah memberiku kesulitan agar aku menjadi kuat

Ketika ku mohon pada Allah kebijaksanaan

Allah memberiku masalah untuk ku pecahkan

Ketika ku mohon pada Allah kesejahteraan

Allah memberiku akal untuk berpikir

Ketika ku mohon pada Allah keberanian

Allah memberiku kondisi bahaya untuk ku atasi

Ketika ku mohon pada Allah sebuah cinta

Allah memberiku orang-orang bermasalah untuk ku tolong

Ketika ku mohon pada Allah bantuan

Allah memberiku kesempatan

Aku tak pernah menerima apa yang ku minta

Tapi aku menerima segala yang ku butuhkan

Do'a ku terjawab sudah

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Raihlah ilmu, dan untuk meraih ilmu belajarlilah untuk tenang dan sabar (Khalifah Umar)

Ilmu pengetahuan tanpa agama adalah pincang. ~

Einstein

**Istilah tidak ada waktu, bukan suatu alasan karena pada dasarnya kita semuanya memiliki waktu 24 jam yang sama setiap harinya. Yang perlu ditingkatkan ialah membagi waktu dengan lebih cermat. -
George Downing**

**DIATAS SEGALANYA, INGATLAH ALLAH
SWT MENURUNKAN PERTOLONGAN
KEPADA MEREKA YANG MAU MEMBANTU
DIRI SENDIRI.**

RINGKASAN

RIZKY NI'MAL MAULA. Skripsi tentang Optimasi Kultivasi Mikroalga Laut *Nannochloropsis oculata* Dengan Perlakuan Pupuk Urea Untuk Produksi Lemak Nabati (dibawah bimbingan **Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MSi dan Ir. Mulyanto, MS**).

Nannochloropsis (Eustigmatophyceae) mempunyai ukuran 2-5 μ m (Hu and Gao, 2003). Merupakan sel berwarna kehijauan dan tidak berflagel. Selnya berbentuk bola. Organisme ini merupakan divisi yang terpisah dari *Nannochloris* karena tidak adanya chlorophyl *b* dan satu-satunya mengandung klorofil *a*. Merupakan pakan yang populer untuk rotifer dan *artemia* (Chilmawati, 2007). *Nannochloropsis sp* diketahui memiliki kandungan energi yang tinggi diatas 20kJ/g berat kering dan kandungan total lemak dari berat kering 10,3 % - 16,1 % (Mourente *et al.*, 1990). Kandungan nutrisi yang tinggi yaitu protein 52,11 %, karbohidrat 12,32 %, vitamin C 0,85 %, klorofil *a* 0,89 %, kalori 48,4 % dan ARA 5,26 % (www.reefcentral.com).

Kebutuhan nutrisi pada setiap alga tidaklah sama tergantung pada komposisi kimia yang diperlukan oleh jenis alga yang dikultur. Berkaitan dengan hal itu, banyak ahli sepakat bahwa unsur N dan P merupakan dua unsur yang mutlak harus tersedia dalam media kultur alga (Wahyudi, 1999). Nitrogen merupakan salah satu makronutrien yang sangat mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas biomassa alga karena dibutuhkan untuk pembentukan protein, lemak dan klorofil (Richmond, 1998 dalam Klau, 2003). Sumber N pada penelitian ini diperoleh dari urea. Urea ini mudah larut dalam air, mudah terbakar oleh sinar matahari dan mudah di serap oleh tumbuhan dan algae. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi urea yang terbaik yang dapat memberikan kepadatan sel dan kandungan lemak tertinggi dari *N. oculata*

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian pupuk urea dengan konsentrasi yang berbeda terhadap kadar lemak yang dihasilkan pada *N. oculata*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hidrobiologi dan Workshop Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Agustus sampai Oktober 2009.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pupuk Urea dengan 4 perlakuan yaitu A (0 ppm), B(20 ppm), C(40 ppm) dan D (60 ppm). Parameter pendukung meliputi suhu, salinitas, pH, DO dan nitrat.

Hasil analisa menunjukkan bahwa pupuk urea memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap kelimpahan *N. oculata* dengan nilai F hitung > F tabel 1 % yaitu 44,09>7,59. Perlakuan D menghasilkan kelimpahan *N. oculata* tertinggi bila dibandingkan dengan perlakuan yang lain yaitu sebesar 2544,33 $\times$ 10⁴sel/ml. Kandungan lemak *N. oculata* menunjukkan hasil berbeda nyata dengan nilai F tabel 5 %< F hitung < F tabel 1% yaitu 4,07<6,52<7,59. Perlakuan A menghasilkan lemak *N. oculata* tertinggi dari pada perlakuan yang lain sebesar 4,29%. Menurut Takagi *et al.*, (2000), Konsentrasi nitrogen yang rendah dapat mempertinggi kandungan lemak mikroalga, tetapi konsentrasi sel umumnya rendah pada kondisi nitrogen yang sedikit.

Selama penelitian kualitas air relatif stabil antara lain suhu (berkisar antara 25–27,6°C), salinitas (kisaran 30-33 ‰), pH (berkisar antara 7,34-9,29), oksigen terlarut (berkisar antara 4,50 -8,08 mg/l), dan nitrat (berkisar antara 1,15-1,45 mg/l). Saran dari penelitian ini yaitu perlu penelitian lanjutan dengan menggunakan pupuk lainnya untuk mendapatkan kandungan lemak *N. oculata* yang tinggi.



KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmanirrohim

Assalaamu' alaikum wr. Wb.

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT. Atas rahmat dan hidayah-Nya, Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada Rasulullah SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi ini. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Dengan terselesainya laporan skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

- Ibu **Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MSi** dan Bapak **Ir. Mulyanto, MS** selaku dosen pembimbing atas saran dan masukan-masukannya.
- Ibu **Dr. Ir. Endang Yuli H., MS** dan Ibu **Yuni Kilawati, S.Pi, MSi** selaku dosen penguji atas saran dan masukannya.
- Kedua orang tua tercinta yang telah membiayai hingga akhir kuliah serta do'a & dorongannya yang tak pernah putus untuk ku. Kedua adek ku (beni&koko) yang selalu buat ku ingin bangkit. "Seseorang" yang selalu di hati&tak hentinya memberikan semangat biar cepat lulus. Thank you very much.....
- Teman setim dan seperjuangan Skripsi **Eko dan Rima...** Makasih atas bantuannya dan masukannya selama ini... You are is the best..
- Temen-temen **MSP 2005**. Makasih tas semua support dan dukungannya selama ini. Terimah kasih atas kenangan indahnyanya selama ini. Temen-temen kost semua "Kertosentono 88" yang telah berikan keceriaan selama ku di malang. Kalian semua adalah keluarga kedua ku selama di malang. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan semuanya yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung hingga selesainya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih terdapat banyak kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun akan diterima dengan senang hati. Semoga laporan ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi semua pihak yang membutuhkan.

Malang, Februari 2010

Penulis

DAFTAR ISI

JUDUL	Halaman
RINGKASAN.....	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Kegunaan Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis Penelitian.....	4
1.6 Tempat dan Waktu.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>N. oculata</i>	5
2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi.....	5
2.1.2 Sifat dan Ekologi.....	6
2.1.3 Kandungan Nutrisi <i>N. oculata</i>	6
2.1.4 Pertumbuhan Fitoplankton.....	8
2.2 Pemupukan.....	9
2.2.1 Pupuk Urea.....	10
2.2.2 Peranan Unsur Hara bagi Fitoplankton.....	10
2.3 Lemak.....	11
2.3.1 Penggolongan Lemak.....	12
2.3.2 Proses Pembentukan Lemak dalam Tanaman.....	12
2.4 Teknik Kultur.....	14
2.5 Faktor Pendukung.....	16
2.5.1 Cahaya.....	16
2.5.2 Salinitas.....	17
2.5.3 Suhu.....	18
2.5.4 pH.....	18
2.5.5 DO (Oksigen Terlarut).....	18
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Materi Penelitian.....	20
3.2 Metode Penelitian.....	20
1. Rancangan Penelitian.....	20
2. Persiapan.....	22
3. Pelaksanaan Penelitian.....	23
4. Pengukuran Variabel Respon.....	24
5. Pengukuran Kualitas Air.....	26
6. Analisis Data.....	27
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Kultivasi Mikroalga <i>N. oculata</i>	29
4.1.1 Persiapan Bibit.....	29
4.1.2 Sterilisasi.....	29

4.1.3 Penumbuhan dan Pemupukan.....	31
4.2 Kultur Murni.....	32
4.2.1 Kultur Murni Tahap 1.....	32
4.2.2 Kultur Murni Tahap 2.....	33
4.2.3 Kultur Murni Tahap 3.....	34
4.3 Kelimpahan <i>N. oculata</i>	37
4.4 Kadar Lemak <i>N. oculata</i>	39
4.5 Parameter Pendukung Pada Media Kultur <i>N. oculata</i>	44
4.5.1 Suhu.....	44
4.5.2 Salinitas.....	46
4.5.3 pH.....	47
4.5.4 DO (Oksigen Terlarut).....	49
4.5.5 Nitrat.....	50
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
5.1 Kesimpulan.....	52
5.2 Saran.....	52

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Asam Lemak dari Beberapa Spesies Fitoplankton	7
2. Kandungan Minyak dari Beberapa Mikroalga.....	7
3. Perlakuan Pupuk Urea.....	22
4. Larutan Standart Pembanding Nitrat.....	27
5. Suhu Media Kultur <i>N. oculata</i>	45
6. Salinitas Media Kultur <i>N. oculata</i>	47
7. pH Media Kultur <i>N. oculata</i>	48
8. DO Media Kultur <i>N. oculata</i>	49
9. Nitrat Media Kultur <i>N. oculata</i>	50

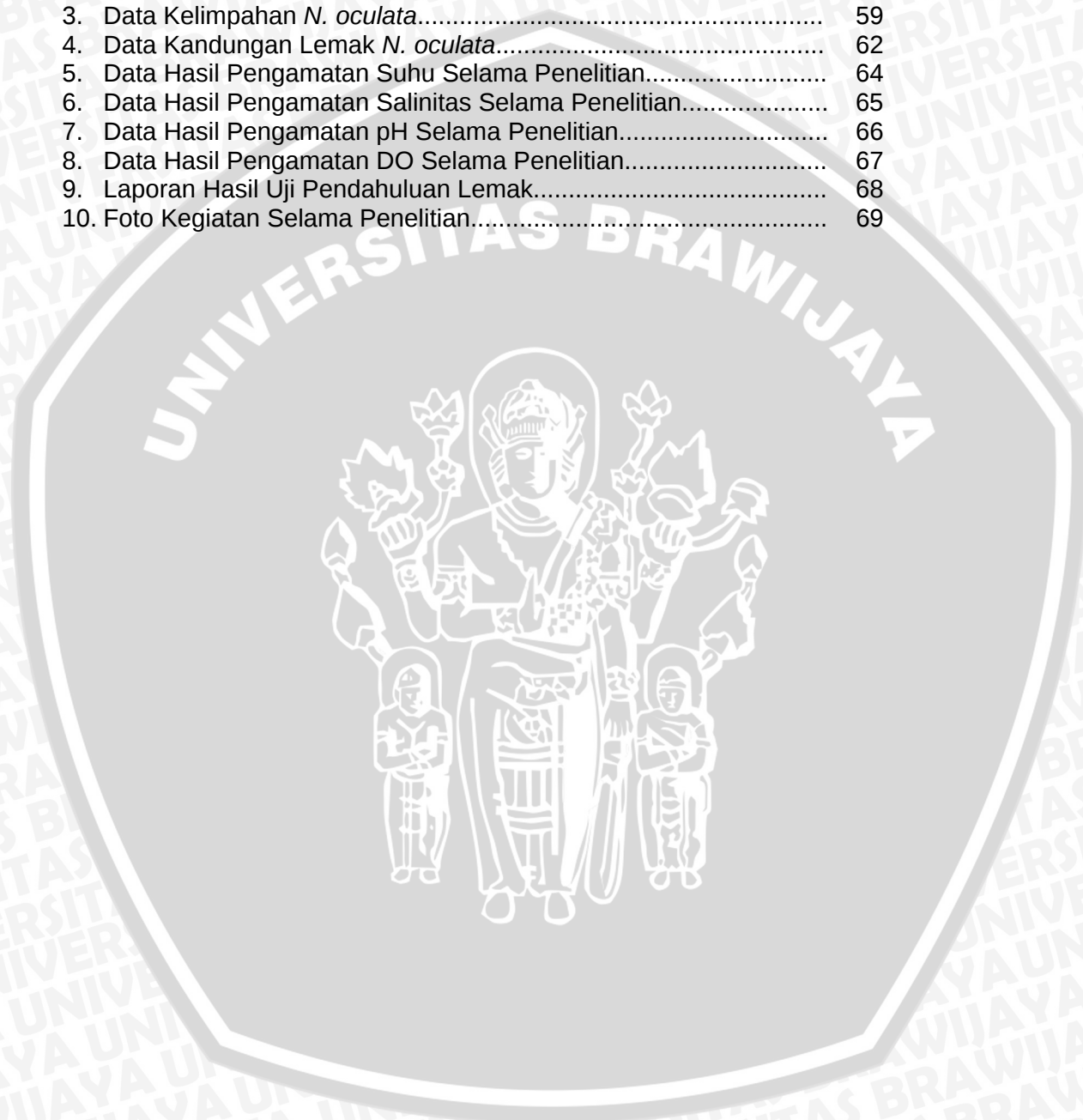


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Sel <i>N. oculata</i>	5
2. Pola pertumbuhan Mikroalga.....	9
3. Proses Sintesis Gliserol pada Tanaman.....	13
4. Teknik Isolasi Pengenceran Bertingkat.....	15
5. Metode Gesek Agar.....	16
6. Denah Penelitian di Laboratorium.....	21
7. Stater <i>N. oculata</i>	29
8. Autoclave.....	30
9. Pupuk Cair Walne, Urea, TSP dan Za.....	31
10. Kultur <i>N. oculata</i> Volume Tabung Reaksi dan Erlenmeyer.....	33
11. Kultur <i>N. oculata</i> Volume Stoples 3 liter.....	34
12. Kultur <i>N. oculata</i> Volume 30 liter.....	35
13. Diagram Alir Kultivasi Mikroalga <i>N. oculata</i>	36
14. Haemocytometer.....	37
15. Grafik Hubungan antara Konsentrasi Pupuk Urea dengan Kelimpahan <i>N. oculata</i>	39
16. Soxhlet.....	40
17. Grafik Hubungan antara Konsentrasi Pupuk Urea dengan Kandungan Lemak <i>N. oculata</i>	41
18. Mekanisme masuknya pupuk ke dalam sel.....	42
19. Metabolisme lemak.....	43
20. Jalur sintesis asam lemak dalam kloroplas.....	44
21. Grafik Suhu pada Media Kultur <i>N. oculata</i>	46
22. Grafik Salinitas pada Media Kultur <i>N. oculata</i>	47
23. Grafik pH pada Media Kultur <i>N. oculata</i>	48
24. Grafik DO pada Media Kultur <i>N. oculata</i>	50
25. Grafik Nitrat pada Media Kultur <i>N. oculata</i>	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian.....	57
2. Formulasi Pupuk Walne.....	58
3. Data Kelimpahan <i>N. oculata</i>	59
4. Data Kandungan Lemak <i>N. oculata</i>	62
5. Data Hasil Pengamatan Suhu Selama Penelitian.....	64
6. Data Hasil Pengamatan Salinitas Selama Penelitian.....	65
7. Data Hasil Pengamatan pH Selama Penelitian.....	66
8. Data Hasil Pengamatan DO Selama Penelitian.....	67
9. Laporan Hasil Uji Pendahuluan Lemak.....	68
10. Foto Kegiatan Selama Penelitian.....	69



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara tropis yang memiliki wilayah perairan terluas di bumi dan berpotensi menjadi penghasil bahan bakar nabati terbesar di dunia. Dengan kelimpahan sinar matahari sebagai faktor utama penyebab terjadinya fotosintesis tumbuhan laut sehingga perkembangbiakan biota lautnya jauh lebih tinggi dibanding di daerah subtropis. Dari beragam sumber daya hayati perairan Nusantara, jenis mikroalga (ganggang mikro) kini mulai jadi fokus penelitian karena potensinya sebagai bahan baku penghasil bahan bakar nabati karena selama ini sejumlah mikroalga terbatas dikembangkan untuk bahan baku kosmetik dan farmasi (Ikawati, 2008).

Mikroalga merupakan kelompok tumbuhan berukuran renik, baik sel tunggal maupun koloni yang hidup di seluruh wilayah perairan baik air tawar maupun air laut. Mikroalga lazim disebut fitoplankton. Mikroalga saat ini menjadi salah satu alternative sumber energi baru yang sangat potensial. Gas utama yang dibutuhkan oleh fotosintesis dari mikroalga adalah karbondioksida. Mikroalga dikembangkan (kultivasi), yang hanya memerlukan waktu 7 sampai 10 hari. Setelah itu mikroalga ini biasa dipanen. Kegiatan kultivasi tumbuhan produsen primer ini menghemat ruang (*save space*), memiliki efisiensi dan efektivitas tinggi. Sehingga kultivasi mikroalga ini tergolong ekonomis dan layak untuk lebih dikembangkan. Hal ini telah dipraktekkan di BBAP Situbondo dan Gondol-Bali. Panen mikroalga minimal 30 kali lebih banyak dibandingkan tumbuhan darat. Ini artinya kultivasi mikroalga berpeluang mengatasi masalah lingkungan global, karena selama ini CO₂ jadi gas pencemar dominan yang menyebabkan efek rumah kaca penyebab pemanasan global (Purnama, 2008).

Di dunia ini ada empat kelompok mikroalga antara lain: diatom (*Bacillariophyceae*), ganggang hijau (*Chlorophyceae*), ganggang emas (*Chrysophyceae*), dan ganggang biru (*Cyanophyceae*). SBRC (Surfactant and Bioenergi Research Center) Institut Pertanian Bogor telah melakukan penelitian dari ratusan jenis mikroalga yang ideal sebagai bahan baku biofuel. Beberapa diantaranya *Chlorella* dan *Dunaliella*. *Chlorella* ini memiliki kandungan lemak dan karbohidrat masing-masing adalah 14-22 % dan 17 %. Sementara *Dunaliella* masing-masing 6 % dan 32 %. SBRC IPB juga meneliti kandungan minyak mentah mikroalga (*crude alga oil*) *Chlorella* (17 %), *Dunaliella salina* (23 %), *Isochrysis galbana* (20-35 %), dan *N. oculata* (31-68 %) (Imam, 2008).

Nannochloropsis sp dapat berfotosintesis karena memiliki klorofil. *Nannochloropsis* sp dapat tumbuh pada salinitas 0-35 ‰. Suhu 25-30°C kisaran suhu yang optimal, salinitas optimum untuk pertumbuhannya adalah 25-35 ‰ (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995). *Nannochloropsis* sp lebih dikenal dengan nama *Chlorella* laut dikultur untuk pakan *Brachionus plicatilis* atau Rotifer karena mengandung Vitamin B12 dan Eicosapentaenoic acid (EPA) sebesar 30,5 % dan total kandungan omega 3 HUFAs sebesar 42,7%, serta mengandung protein 57,02 % (Muslimin, 2009).

Kebutuhan nutrisi pada setiap alga tidaklah sama tergantung pada komposisi kimia yang diperlukan oleh jenis alga yang dikultur. Berkaitan dengan hal itu, banyak ahli sepakat bahwa unsur N dan P merupakan dua unsur yang mutlak harus tersedia dalam media kultur alga (Wahyudi, 1999 dalam Maf'ulah, 2008). Nitrogen merupakan salah satu makronutrien yang sangat mempengaruhi pertumbuhan dan produktifitas biomassa alga karena dibutuhkan untuk pembentukan protein, lemak dan klorofil (Richmond, 1998 dalam Klau, 2003).

Nitrogen merupakan nutrisi yang sangat penting bagi pertumbuhan *N. oculata* dan juga untuk pembentukan protein, namun jika konsentrasi N terlalu tinggi maka akan menyebabkan pertumbuhan yang sangat cepat atau blooming plankton. Sumber N pada penelitian ini diperoleh dari urea. Urea ini mudah larut dalam air, mudah terbakar oleh sinar matahari dan mudah diserap oleh tumbuhan dan algae. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi urea yang terbaik yang dapat memberikan kepadatan sel dan kandungan lemak tertinggi dari *N. oculata*

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana variasi konsentrasi dari pupuk urea mempengaruhi kadar lemak *N. oculata* ?
2. Berapa konsentrasi pupuk urea yang dibutuhkan dapat menghasilkan kadar lemak optimal ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui variasi konsentrasi pupuk urea
2. Mengetahui konsentrasi pupuk urea yang dapat menghasilkan kadar lemak optimal pada *N. oculata*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai tambahan informasi tentang manfaat pupuk urea sampai seberapa jauh dapat meningkatkan kandungan lemak *N. oculata*.

1.5 Hipotesis Penelitian

H0 : diduga bahwa pemberian pupuk urea dengan konsentrasi berbeda memberi pengaruh yang sama terhadap kadar lemak *N. oculata*

H1 : diduga bahwa pemberian pupuk urea dengan konsentrasi berbeda memberi pengaruh tidak sama terhadap kadar lemak *N. oculata*

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hidrobiologi dan Workshop Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Agustus sampai Oktober 2009.

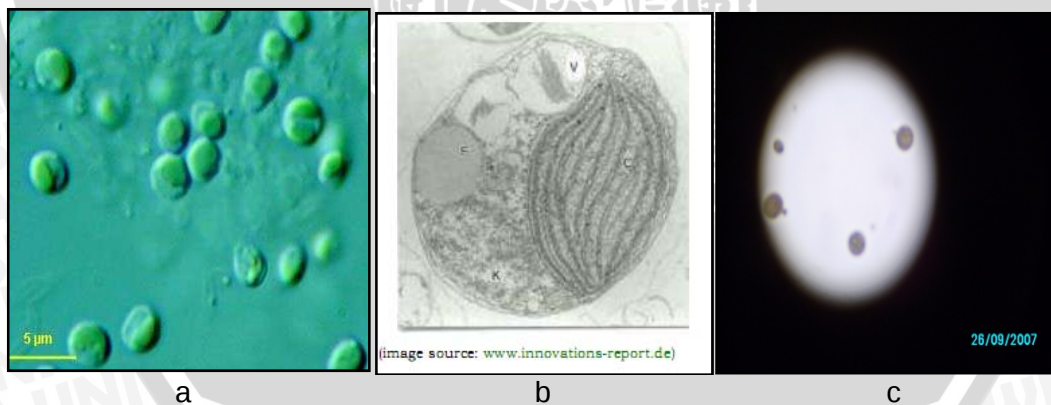
2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *N. oculata*

2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi

Nannochloropsis (Eustigmatophyceae) mempunyai ukuran 2-5 μ m (Hu and Gao, 2003). Merupakan sel berwarna kehijauan, tidak motil, dan tidak berflagel. Selnya berbentuk bola. Organisme ini merupakan divisi yang terpisah dari *Nannochloris* karena tidak adanya chlorophyll *b* dan satu-satunya mengandung klorofil *a*. Merupakan pakan yang populer untuk rotifer, *artemia*, dan pada umumnya merupakan organisme *filter feeder* (penyaring) (Chilmawati, 2007).

Nannochloropsis sp memiliki kloroplas dan nucleus yang dilapisi membran. Kloroplas memiliki stigma (bintik mata). *Nannochloropsis* sp dapat berfotosintesis karena memiliki klorofil. Ciri khasnya adalah memiliki dinding sel yang terbuat dari komponen selulosa (Sleigh, 1989; Williams, 1991 dalam Muslimin, 2009). Seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Sel *N. oculata*

Keterangan : a. *N. oculata* dari Internet
b. *N. oculata* dari Internet
c. *N. oculata* pengamatan dengan perbesaran 400x

Kingdom	: Chromista
Phylum	: Heterokonta
Class	: Eustigmatophyceae
Subclass	: Bacillariophycidae
Genus	: Nannochloropsis
Species	: Nannochloropsis oculata (www.sbae-industries.com)

2.1.2 Sifat dan Ekologi

Nannochloropsis sp melimpah di sepanjang pantai dan estuari diatas zona fotik dengan konsentrasi 10^2 - 10^4 sel/cm³ (Hu and Gao, 2003). Mempunyai sifat kosmopolit, dapat tumbuh pada salinitas 0-35 ppt. Salinitas optimum untuk pertumbuhannya adalah 25-35 ppt, suhu optimal 25-30°C dan intensitas cahaya 100-10000 lux (Kurniastuti dan Isnansetyo, 1995). Fitoplankton ini dapat tumbuh baik pada kisaran pH 7-9 tetapi tumbuh rendah pada pH 10,08 (Elzenga *et al.*, 2000).

Nannochloropsis sp lebih dikenal dengan nama *Chlorella* laut mudah dikultur secara massal, tidak menimbulkan racun, pertumbuhannya relatif cepat dan memiliki kandungan antibiotik. Kepadatan optimum yang dapat dicapai untuk skala laboratorium 50-60 juta sel/ml, skala semi massal 20-25 juta sel/ml dan massal 15-20 juta sel/ml dengan masa kultur 4-7 hari (Muslimin, 2009).

2.1.3 Kandungan Nutrisi *N. oculata*

Nannochloropsis sp diketahui memiliki kandungan energi yang tinggi diatas 20kJ/g berat kering dan kandungan total lemak dari berat kering 10,3 % - 16,1 % (Mourente *et al.*, 1990). Kandungan nutrisi yang tinggi yaitu protein 52,11 %, karbohidrat 12,32 %, vitamin C 0,85 %, klorofil a 0,89 %, kalori 48,4 % dan

ARA 5,26 % (www.reefcentral.com). Mikroalga ini mengandung nutrisi yang tinggi seperti sterol dan asam lemak. Mempunyai pigmen seperti zeaxanthin, canthaxanthin dan astaxanthin dalam jumlah tinggi (Hibberd, 1988).

Menurut Okauchi (1991) dalam Chilmawati (2007), komposisi asam lemak dari beberapa spesies fitoplankton yang digunakan untuk pakan di Jepang dapat dilihat pada Tabel 1. Menurut Chisti (2007), kandungan minyak dari beberapa mikroalga disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 1. Komposisi asam lemak dari beberapa spesies fitoplankton

Spesies alga	EPA	DHA	Total ω 3 HUFA
<i>Nannochloropsis oculata</i>	30,5%	12,2%	42,7%
<i>Skeletonema costratum</i>	13,8%	1,7%	15,5%
<i>Tetraselmis tetrathele</i>	6,4%	1,7%	8,1%
<i>Isochysis galbana</i>	3,5%	19%	22,5%

Tabel 2. Kandungan minyak dari beberapa mikroalga

Mikroalga	Kandungan minyak (%)
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chlorella</i> sp.	28–32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16–37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25–33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris</i> sp.	20–35
<i>Nannochloropsis</i> sp.	31–68 (perlu perlakuan khusus)
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35–54
<i>Nitzschia</i> sp.	45–47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20–30
<i>Schizochytrium</i> sp.	50–77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15–23

(Chisti, 2007)

2.1.4 Pertumbuhan Fitoplankton

Menurut Kurniastuti dan Isnansetyo (1995), pertumbuhan fitoplankton ditandai dengan bertambah besarnya ukuran sel atau bertambah banyaknya jumlah sel. Ada 5 fase pertumbuhan yaitu :

1. Fase istirahat

Terjadi setelah penambahan inokulum ke dalam media kultur, dimana fase ini berhubungan dengan beberapa faktor antara lain penurunan aktivitas enzim, penurunan tingkat metabolisme, peningkatan ukuran sel tetapi tak berkembang biak.

2. Fase logaritma/eksponensial

Fase ini ditandai dengan pembelahan sel dengan laju pertumbuhan sel secara cepat. Laju pertumbuhan biasanya relatif konstan dan nilainya tergantung pada ukuran sel, intensitas cahaya dan suhu. Cepat lambat pertumbuhan eksponensial pada kultur volume terbatas akhirnya akan berhenti.

Faktor-faktor yang menyebabkan hal ini adalah : habisnya nutrient, laju penyediaan karbondioksida, perubahan pH media sebagai hasil dari preferensi penyerapan unsur-unsur tertentu, penurunan intensitas cahaya dan Autoinhibition.

3. Fase berkurangnya pertumbuhan relatif

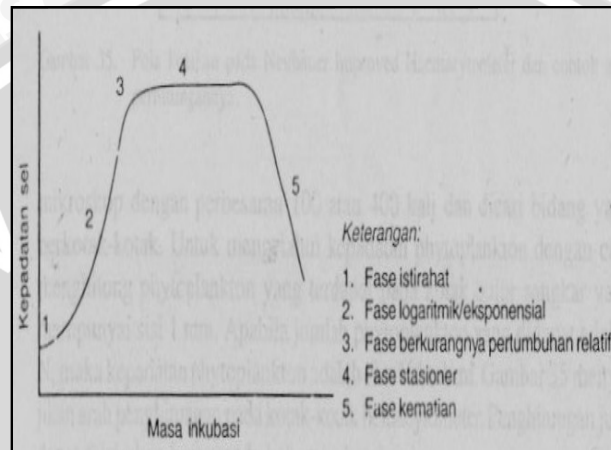
Fase ini ditandai dengan berkurangnya nutrisi, kecepatan suplai CO_2 dan O_2 , berubahnya pH, terbatasnya cahaya yang masuk dalam media serta adanya bahan yang beracun.

4. Fase stasioner

Pada fase ini laju reproduksi sama dengan laju kematian. Dengan demikian penambahan dan pengurangan jumlah fitoplankton relatif sama atau seimbang sehingga kepadatan fitoplankton tetap. Produksi pada fase stasioner juga tergantung pada kondisi alami dari faktor-faktor yang membatasi pertumbuhan.

5. Fase kematian

Fase kematian merupakan penurunan jumlah organisme kultur setelah melewati fase stasioner. Pada fase ini ditandai dengan laju kematian yang lebih tinggi daripada laju reproduksi. Secara skematik pola pertumbuhan fitoplankton dapat digambarkan seperti Gambar 2.



Gambar 2. Pola pertumbuhan mikroalga
(Kurniastuti dan Isnansetyo, 1995)

2.2 Pemupukan

Pemupukan adalah menambahkan unsur-unsur hara organik atau anorganik ke dalam kolam atau tambak dengan maksud untuk meningkatkan produksi ikan melalui penumbuhan plankton sebagai makanan alami. Tujuan pemupukan adalah untuk memperbaiki kesuburan tanah dan air dengan memberikan unsur atau zat hara ke dalam tanah yang secara langsung atau tidak langsung dapat menyumbangkan bahan makanan pada algae (Subarijanti, 2005).

Pupuk adalah suatu bahan yang mengandung unsur hara yang organik atau anorganik yang ditambahkan ke dalam perairan untuk meningkatkan pertumbuhan plankton sebagai makanan ikan atau udang yang secara tidak

langsung akan meningkatkan ketersediaan unsur hara sehingga perairan menjadi subur (Purwohadiyanto, dkk, 2006).

2.2.1 Pupuk Urea

Urea mengandung ureum yaitu senyawa diamida dan karbondioksida. Senyawa ini tak berasosiasi, tidak berwarna, tidak berbau dan sangat rendah larut dalam air, tetapi tidak diadsorpsi oleh koloid tanah. Meskipun demikian, jasad dalam tanah dapat memecahkan ureum tersebut dan menghasilkan ion NH_4 dan ion ini dapat diadsorpsi oleh koloid tanah (Subarijanti, 2005).

Pupuk urea mengandung 45% N dan bersifat higroskopis, tidak mengasamkan tanah, mudah larut dalam air, mudah terbakar oleh sinar matahari dan mudah diserap oleh tumbuhan dan algae (Subarijanti, 2005).

2.2.2 Peranan Unsur Hara bagi Fitoplankton

Nutrien (unsur hara) adalah setiap zat yang diperlukan oleh organisme fitoplankton untuk mendukung kelangsungan hidupnya (Suryanto, 2006).

Untuk pertumbuhannya alga memerlukan unsur hara makro maupun mikro. Jaringan sel alga terdiri dari protein, lemak, karbohidrat dan nucleoprotein yang dapat berfungsi dengan bantuan enzim. Untuk pembentukan jaringan diperlukan unsur hara makro seperti C, H, O, N, P, S, K. Untuk pembentukan enzim-enzim diperlukan unsur hara mikro seperti Mn, Cu, Bo, Mo, Zn, dan Fe (Sarief (1986) dalam Subarijanti (2005)).

2.3 Lemak

Lipid atau lemak didefinisikan sebagai senyawa organik yang terdapat di alam serta tak larut dalam air dan terdiri atas unsur-unsur Carbon (C), Hidrogen (H) serta Oksigen (O) (Fessenden, 1982). Istilah "lipid" mengacu pada golongan senyawa hidrokarbon alifatik nonpolar dan hidrofob yang esensial dalam menyusun struktur dan menjalankan fungsi sel hidup. Karena nonpolar, lipida tidak larut dalam pelarut polar, seperti air atau alkohol, tetapi larut dalam pelarut nonpolar, seperti eter atau kloroform (www.wikipedia.org).

Lemak hewan pada umumnya berupa zat padat pada suhu ruangan, sedangkan lemak yang berasal dari tumbuhan berupa zat cair. Lemak yang mempunyai titik lebur tinggi mengandung asam lemak jenuh, sedangkan lemak cair atau yang biasa disebut minyak mengandung asam lemak tidak jenuh. Asam lemak jenuh mengandung ikatan rangkap dua atau tiga bahkan lebih, sedangkan asam lemak tidak jenuh mengandung satu ikatan rangkap (Poedjiadi, 1994).

Menurut Vonshak (1988) dalam Agustini dan Kabinawa (2009), Asam lemak merupakan metabolit primer komponen lemak yang mempunyai peranan langsung dalam kehidupan mikroorganisme atau yang berfungsi untuk pertumbuhan sel-sel mikroorganisme, komponen membran sel, produk cadangan, serta sumber energi. Asam lemak dipecah dari lemak dengan adanya reaksi enzimatik melalui proses asimilasi. Kandungan asam lemak pada mikroalga sangat tergantung pada kondisi lingkungan dan media kultur yang dapat mempengaruhi pertumbuhan. Perbedaan komposisi protein dan lemak pada mikroalga disebabkan perbedaan komposisi biokimia pada tubuhnya, dimana unsur yang penting berupa C dan N.

2.3.1 Penggolongan Lemak

Menurut Poedjiadi (1994), senyawa-senyawa yang termasuk lipid dapat dibagi dalam beberapa golongan. Ada beberapa cara penggolongan yang dikenal. Bloor membagi lipid dalam tiga golongan besar yakni :

1. Lipid sederhana, yaitu ester asam lemak dengan berbagai alkohol. Contohnya lemak atau gliserida dan lilin (*waxes*).
2. Lipid gabungan yaitu ester asam lemak yang mempunyai gugus tambahan. Contohnya fosfolipid dan serebrosida.
3. Derivat lipid yaitu senyawa yang dihasilkan oleh proses hidrolisis lipid. Contohnya asam lemak, gliserol, dan sterol.

2.3.2 Proses Pembentukan Lemak

Kimball (1991) dalam Agustini dan Kabinawa (2009) berpendapat bahwa ada hubungan metabolisme antara karbohidrat, protein dan lemak yakni kompetisi asetil ko-A, yang merupakan prekursor pada beragam jalur biosintesis seperti lemak, protein, dan karbohidrat. Jalur biosintesis lemak mikroalga pada prinsipnya sama dengan jalur biosintesis yang terjadi pada tanaman tingkat tinggi. Menurut Ketaren (2008), Lemak dalam tanaman dibentuk dalam sel hidup, yang merupakan hasil dari serangkaian reaksi yang kompleks dalam proses metabolisme. Lemak dapat disintesis dari karbohidrat dan protein, karena dalam metabolisme, ketiga zat tersebut bertemu di dalam daur krebs. Sebagian besar pertemuannya berlangsung melalui pintu gerbang utama siklus (daur) Krebs, yaitu Asetil Ko-enzim A. Akibatnya ketiga macam senyawa tadi dapat saling mengisi sebagai bahan pembentuk semua zat tersebut. Lemak dapat dibentuk dari protein dan karbohidrat, karbohidrat dapat dibentuk dari lemak dan protein dan seterusnya.

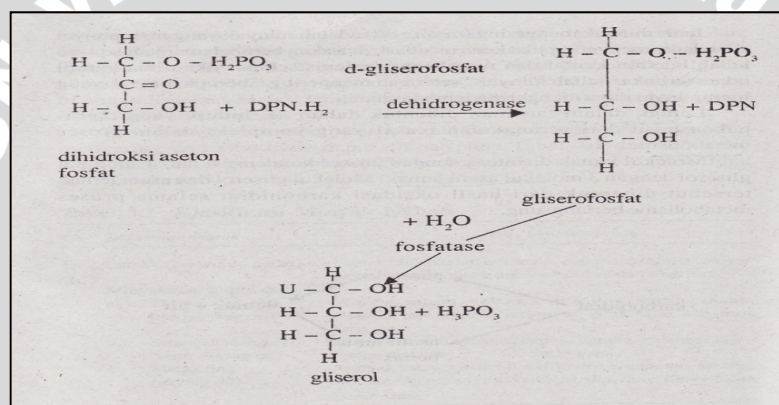
1) Sintesis lemak dari karbohidrat

Glukosa diurai menjadi piruvat → gliserol

Glukosa diubah → gula fosfat → asetil Ko-A → asam lemak

Gliserol + asam lemak → lemak

Gliserol disintesis dari hidroksi aseton fosfat, yang merupakan salah satu hasil penguraian fruktosa difosfat oleh enzim aldose dalam tanaman. Dihidroksi aseton fosfat direduksi menjadi gliserofosfat dan akhirnya diubah menjadi gliserol dengan proses de-phosphorilase. Proses sintesis gliserol ini dapat dijelaskan seperti Gambar 3.



Gambar 3. Proses sintesis gliserol pada tanaman

(Ketaren, 2008)

2) Sintesis lemak dari protein

Protein → asam amino

Sebelum terbentuk lemak asam amino mengalami deaminasi lebih dahulu, setelah itu memasuki daur krebs. Deaminasi adalah proses mengkatalisasi pemindahan gugus amino (NH₂) dari asam amino dan molekul lainnya yang mengandung -NH₂. Selain itu proses deaminasi menetralkan amin yang menghambat pertumbuhan.

Asam amino dapat terurai menjadi asam piruvat→gliserol→fosfogliseraldehid.

Fosfogliseraldehid dengan asam lemak akan mengalami esterifikasi membentuk lemak. Proses esterifikasi bertujuan untuk mengubah asam-asam lemak dalam bentuk ester.

2.4 Teknik Kultur

Menurut Masyamsir (2001), Teknik isolasi mikroalga terdiri dari beberapa metode, antara lain :

a) Metode spraying

Aliran udara tekanan tinggi digunakan untuk memisahkan kultur alga campuran pada cawan petri dengan medium agar yang mengandung nutrisi untuk pertumbuhan alga.

b) Metode pipa kapiler

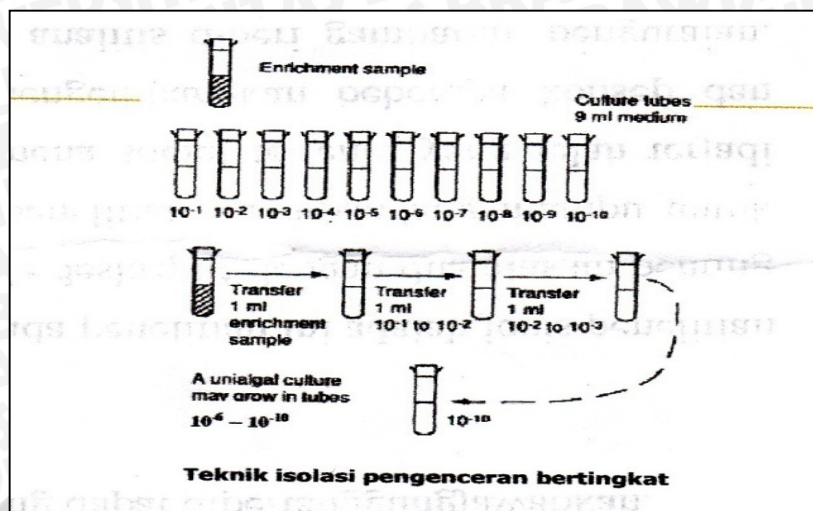
Menggunakan pipet kapiler steril untuk mentransfer tiap sel alga hasil koleksi alami dengan bantuan mikroskop dan medium kultur cair.

c) Isolasi sel / koloni / filament

Menggunakan mikropipet (pipet skala mikrometer) dengan tip yang berukuran sesuai ukuran sel alga, dengan bantuan mikroskop.

d) Pengenceran bertingkat

Menggunakan teknik pengenceran secara aseptik atau steril, penambahan 9 mL medium kultur dan 1 mL sampel (10^{-1}) dan seterusnya, lalu diinkubasi pada suhu, fotoperiode dan intensitas cahaya terkontrol. Teknik kultur ini dapat dilihat pada Gambar 4.



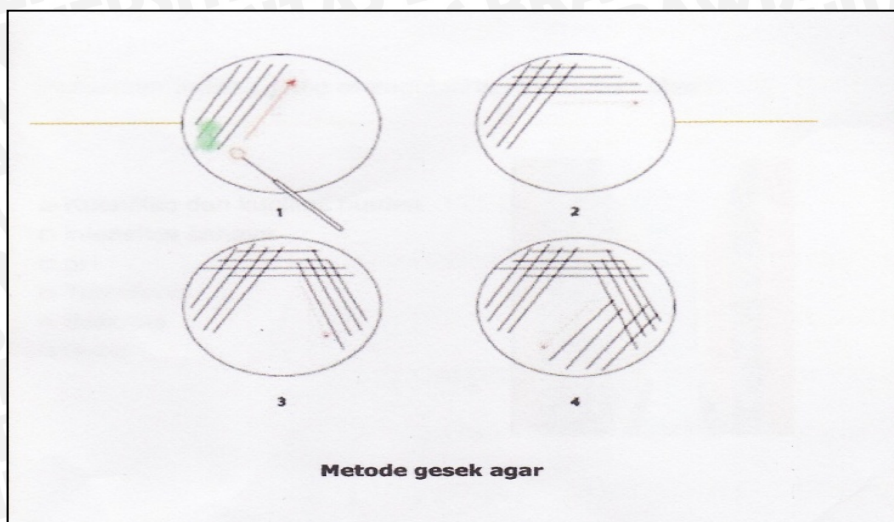
Gambar 4. Teknik isolasi pengenceran bertingkat

(Masyamsir, 2001)

e) Gesek agar (*streak plate*)

Metode gesek agar ada beberapa tahapan, yaitu :

- a. Menggunakan medium agar (kedalaman agar $\frac{1}{2}$ - $\frac{2}{3}$ dari cawan petri), batang (*loop*) steril untuk peletakan sampel alga dan penggesekan pada permukaan medium agar.
- b. Cawan petri disegel dengan parafilm dan diinkubasi pada suhu dan pencahayaan konstan
- c. Hasil isolasi dicek menggunakan mikroskop dan diuji kembali dengan mengulang prosedur gesek untuk mengurangi resiko kontaminasi dan mendapatkan unisel alga. Teknik ini dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Metode gesek agar

(Masyamsir, 2001)

2.5 Faktor Pendukung

2.5.1 Cahaya

Di dalam kultur alga dengan intensitas cahaya yang berbeda-beda akan merubah komposisi kimia, kandungan pigmen dan aktivitas fotosintesis (Falkowski and Owens, 1980). Pigmen klorofil menyerap cahaya biru dan merah (Effendi, 2003).

Dalam sel mikroalga intensitas cahaya sangat penting. Kandungan HUFA (Highly Unsaturated Fatty Acid) menurun dengan meningkatnya intensitas cahaya. Cahaya yang melebihi tingkat jenuh ($>220\mu\text{mol/s/m}^2$) akan menurunkan kandungan HUFA (Fabregas *et al.*, 2003). Menurut Bezerra *et al.*, (2007) dalam Widianingsih dkk, (2008) berpendapat bahwa kandungan lipid akan menurun bila intensitas cahaya cukup besar.

N. oculata lebih sensitif terhadap cahaya gelap. Tingkat intensitas cahaya dapat merubah kandungan asam lemak. Total asam lemak *Nannochloropsis* 35 % dibawah kondisi cahaya yang terbatas (Qiang Hu *et al.*, 2008).

2.5.2 Salinitas

Menurut Dahuri *et al* (1996), salinitas secara umum dapat disebut sebagai jumlah kandungan garam dari suatu perairan. Untuk mengukur asinnya air laut maka digunakan istilah salinitas. Salinitas merupakan takaran bagi keasinan air laut. Satuannya promil (‰). Salinitas didefinisikan sebagai berat garam dalam gram per kilogram air laut (Romimohtarto dan Juwana, 2007).

Menurut Richmond 2004 dalam Mafulah (2008), salinitas air sangat berpengaruh terhadap tekanan osmotik sel yang terkait langsung dengan penyerapan nutrisi untuk metabolisme. Salinitas akan mempengaruhi sistem transport nutrisi.

Spesies nanoplankton, sebagai wakil spesies estuari bahkan mampu bertahan pada salinitas yang sangat rendah. Spesies ini melakukan perubahan volume selnya sesuai dengan salinitas rendah tanpa merusak fungsi sel, sedang spesies diatom dan dinoflagellata tidak bisa beradaptasi melawan "osmotic stress". Jika spesies dari air laut masuk ke air tawar maka sel fitoplankton segera akan pecah atau rusak akibat terjadinya distorsi sel. Sebaliknya jika spesies fitoplankton air tawar masuk ke air laut segera akan terjadi plasmolisis sel (Herawati dan Kusriani, 2005).

2.5.3 Suhu

Menurut Haslam dalam Effendie (2003), suhu sangat berpengaruh terhadap proses fisika, kimia dan biologi dalam air. Kondisi suhu perairan akan mempengaruhi kelarutan oksigen dalam air, mempengaruhi bentuk-bentuk senyawa yang larut di dalamnya dan juga aktivitas dekomposisi bahan organik. Peningkatan suhu akan menyebabkan penurunan kelarutan gas dalam air misalnya gas O₂, CO₂, NO₂, CH₄ dan sebagainya.

Suhu mempengaruhi sintesis asam lemak dari *N. oculata*. Dengan meningkatnya suhu diatas 25°C akan meningkatkan kandungan HUFA (Highly Unsaturated Fatty Acid). Suhu optimum untuk *Nannochloropsis* antara 25-30°C (James *et al.*, 1989).

2.5.4 Derajat Keasaman (pH)

pH mempengaruhi pertumbuhan fitoplankton di dalam kultur. Standar medium pertumbuhan fitoplankton dalam kultur fitoplankton air laut adalah terbatas pada pH tinggi. Pada pH tinggi kemungkinan besar menyebabkan perubahan pendistribusian proses transport membran dan merubah kandungan asam amino didalam sel serta komposisi yang lain sehingga mempengaruhi pertumbuhan sel fitoplankton (Hansen, 2002). Rata-rata pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. > 20 % maksimum pada pH antara 7-9 dan terbatas pada pH 10,08 (Elzenga *et al.*, 2000).

2.5.5 Oksigen Terlarut (DO)

Kadar oksigen terlarut berfluktuasi secara harian dan musiman, tergantung pada pencampuran dan pergerakan massa air, aktivitas fotosintesis, dan respirasi. Sumber oksigen terlarut dapat berasal dari difusi oksigen yang terdapat

di atmosfer (sekitar 35%) dan aktivitas fotosintesis oleh tumbuhan air dan fitoplankton (Effendi, 2003).

Oksigen merupakan salah satu unsur penting bagi semua bentuk kehidupan karena berfungsi sebagai pengatur proses-proses metabolisme dan reaksi-reaksi biokimia lainnya. Kelarutan oksigen didalam air dipengaruhi oleh suhu, tekanan partikel gas, kadar garam serta senyawa yang mudah teroksidasi. Semakin kecil temperatur, kadar garam dan partikel gas maka kelarutan oksigen didalam air semakin berkurang (Richmond, 2004 *dalam* Maf'ulah, 2008).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah kultur *N. oculata* dari volume tabung reaksi 6ml, Erlenmeyer 144 ml, dan stoples 648 ml, stoples 3 l dan aquarium 30 l dengan perbandingan air laut : bibit *N. oculata* = 1:5 ; dan perlakuan pupuk urea dengan dosis 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, dan 60 ppm. Parameter yang diukur meliputi kepadatan *N. oculata* dan uji lemak hasil kultur *N. oculata* serta mengukur parameter pendukung seperti suhu, salinitas, pH, nitrat, dan DO. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 1.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah eksperimen yaitu suatu metode dengan cara melakukan percobaan yang bertujuan melihat hubungan sebab-akibat antara variabel-variabel yang diselidiki (Sudrajat dan Subana, 2005). Teknik pengambilan data dengan cara observasi langsung, yaitu penghitungan kelimpahan *N. oculata* setiap hari selama 7 hari dan penghitungan kadar lemak yang dihasilkan dari kultur *N. oculata* serta mengukur beberapa parameter pendukung yaitu nitrat, suhu, pH, salinitas dan DO.

1. Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena dalam penelitian ini semua kondisi baik media maupun lingkungannya dibuat sehomogen mungkin (Hanafiah, 2008).

Menurut Asep_thea (2009), formula pupuk urea pada kultur massal adalah 20 ppm dengan kepadatan *Nannochloropsis sp.* sebanyak 12×10^6 sel/ml. Hasil penelitian Wijaya (2006), konsentrasi urea yang digunakan pada kultur *N. oculata* yaitu 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm dari variasi konsentrasi urea tersebut menunjukkan bahwa pada perlakuan konsentrasi urea 40 ppm mampu menghasilkan kepadatan sel tertinggi yaitu $16,27 \times 10^6$ sel/ml. Hasil penelitian tersebut, dijadikan dasar penentuan konsentrasi dalam penelitian ini.

Empat konsentrasi kadar urea yang digunakan dalam penelitian yaitu perlakuan A (0 ppm), perlakuan B (20 ppm), perlakuan C (40 ppm), dan perlakuan D (60 ppm) serta masing-masing diulang 3 kali.

Denah penelitian yang dilakukan di Laboratorium Workshop Budidaya Perairan dapat dilihat pada Gambar 6. Denah ini diacak dengan cara diundi. Menurut Gaspersz (1991), pengacakan adalah suatu proses yang membuat hukum-hukum peluang dapat diterapkan sehingga analisis data menjadi sah. Melalui pengacakan setiap satuan percobaan mempunyai peluang yang sama untuk menerima suatu perlakuan. Pengacakan dapat dikerjakan dengan cara undian (lotere) atau menggunakan tabel angka acak.



Gambar 6. Denah Penelitian di Laboratorium

Keterangan:

- A, B, C dan D adalah perlakuan
- 1, 2 dan 3 adalah ulangan
-  adalah aquarium

2. Persiapan

a. Persiapan alat-alat dan penunjang lainnya

1. Tabung reaksi, erlenmeyer dan peralatan-peralatan penunjang lain yang akan dipakai dicuci dengan detergen
2. Tabung reaksi dan erlenmeyer di sterilisasi dengan autoclave dengan suhu 120°C tekanan 1 atm selama 15 menit untuk membunuh kuman, sedangkan stoples dan aquarium dibilas dengan kaporit 150 ppm.
3. Setelah itu stoples dinetralsir dengan larutan Natrium thiosulfat 40 ppm antara 1-2 jam dan dikeringkan selama 1 hari.

b. Persiapan media air laut

1. Media air laut dibeli dari toko ikan laut dengan kisaran salinitas 32-35 ‰.
2. Disterilkan dengan menggunakan chlorin 60 mg/l selama minimal 1 jam.
3. Dinetralsir dengan larutan Na-Thiosulfat 20 mg/l.

c. Persiapan bibit dan media *N. oculata*

Bibit diambil dari kultur murni budidaya pakan alami *N. oculata* di BBAP Situbondo. Setiap liter media pada pemeliharaan *N. oculata* skala laboratorium dipupuk dengan 1 ml formulasi pupuk walne (Lampiran 1.) yang dibeli dari BBAP Situbondo. Kemudian ditambahkan urea pada skala massal menurut perlakuan (Tabel 3).

Tabel 3. Perlakuan Pupuk Urea

Perlakuan			Dosis Urea (mg/l)
A1	A2	A3	0
B1	B2	B3	20
C1	C2	C3	40
D1	D2	D3	60

3. Pelaksanaan penelitian (kultivasi mikroalga *N. oculata*)

Kultur *N. oculata* meliputi beberapa tahap :

1) Tahap 1

- a. Tabung reaksi sebanyak 12 buah yang sudah disterilisasi diisi dengan air laut, kemudian beri pupuk walne 1 ml untuk 1 l media. Setelah pupuk masuk ke dalam media kemudian dibiarkan selama 5 menit sampai teraduk merata dengan air media, setelah 5 menit bibit *Nannochloropsis* dimasukkan. Bibit ditebar 1-2 tetes atau 1:5 (perbandingan bibit dan air laut). Kultur ini diinkubasi selama 7 hari dengan TL=40 watt, salinitas antara 30-32 ‰ dan suhu 23°C.
- b. Setelah 7 hari dilakukan pemindahan ke erlenmeyer 250 ml (isi sampel 144 ml) dengan tata cara kultur sama dengan di tabung reaksi dan suplai CO₂ dengan aerasi menggunakan aerator.
- c. Kultur ini dilakukan di laboratorium Hidrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

2) Tahap 2

- a. Setelah 7 hari dari erlenmeyer kemudian dipindah ke stoples 3 l (isi sampel 648 ml) dan ditambah air laut ke dalam stoples dengan perbandingan bibit : air laut = 1 : 5. Kemudian di kultur selama 7 hari
- b. Setelah itu dipindah ke stoples 16 l (isi sampel 3888 ml atau ± 3 liter) dengan tata cara kultur yang sama dengan di atas dan dikultur selama 7 hari.
- c. Kultur ini dilakukan di laboratorium Hidrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

3) Tahap 3

- a. Setelah dari stoples 16 l kemudian dipindah ke aquarium ± 30 liter sebanyak 12 buah.
- b. Aquarium diletakkan secara acak (sesuai denah penelitian)

- c. Aquarium yang telah steril diisi dengan air laut salinitas 32 ‰, dipasang aerasi yang cukup besar untuk membantu menambah kandungan oksigen dalam air yang diperlukan oleh plankton untuk proses metabolisme dan mencegah pengendapan plankton.
- d. Masing-masing komposisi nutrisi seperti TSP 30 ppm, ZA 80 ppm, dan vitamin B₁₂ dengan dosis 0,5 ml/l ditambahkan dalam media.
- e. Perlakuan konsentrasi kadar urea ditambahkan dalam media dan ditunggu beberapa saat sampai medium tercampur dengan baik.
- f. Dilakukan penebaran *N. oculata*
- g. Pengamatan kelimpahan *N. oculata* dilakukan setiap hari yang dimulai hari pertama penebaran.
- h. Pengamatan terhadap parameter pendukung dimulai pada hari pertama penebaran yaitu nitrat diukur pada awal dan akhir kultur, sedangkan suhu, pH, salinitas dan DO setiap hari. Dengan lama kultur 7 hari.
- i. Kultur ini dilakukan di ruang semi-outdoor (beratap transparan) Workshop Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

4. Pengukuran variabel respon

a) Kandungan lemak dalam berat kering sel

Menurut Woodman (1941) dalam Sudarmadji (1997), penentuan kadar lemak dan minyak dengan Soxhlet yaitu :

- a. Timbang dengan teliti 2 g bahan yang telah dihaluskan (sebaiknya yang kering dan lewat 40 mesh).
- b. Campur dengan pasir yang telah dipijarkan sebanyak 8 g dan masukkan ke dalam tabung ekstraksi Soxhlet dalam Thimble.

- c. Alirkan air pendingin melalui kondensor
- d. Pasang tabung ekstraksi pada alat distilasi soxhlet dengan pelarut petroleum ether secukupnya selama 4 jam. Setelah residu dalam tabung ekstraksi diaduk, ekstraksi dilanjutkan lagi selama 2 jam dengan pelarut yang sama.
- e. Petroleum ether yang telah mengandung ekstrak lemak dan minyak dipindahkan ke dalam botol timbang yang bersih dan diketahui beratnya kemudian uapkan dengan penangas air sampai agak pekat. Teruskan pengeringan dalam oven 100°C sampai berat konstan.
- f. Berat residu dalam botol timbang dinyatakan sebagai berat lemak.

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \frac{(B - A) \times 100}{\text{sampel (g)}}$$

Dimana :

A : bobot labu kosong dan batu didih (g)

B : bobot labu dan ekstrak lemak (g)

b) Kelimpahan *N. oculata*

Menurut Asep_thea (2009), Perhitungan kelimpahan *N. oculata* dilakukan dibawah mikroskop dengan menggunakan Haemocytometer, dengan metode sebagai berikut :

1. Ambil sampel air media sebanyak 1 ml dengan pipet
2. Teteskan sampel air pada haemocytometer, amati dibawah mikroskop
3. Hitung dengan cara mengambil 5 titik, rata-ratakan kemudian kalikan dengan 16 kotak dikalikan 10⁴.

$$\text{Jumlah sel/ml} = \frac{\text{jumlah total sel}}{5} \times 16 \times 10^4$$

5. Pengukuran kualitas air

a. Salinitas (Arfiati, 2004)

1. Membersihkan refraktometer dengan aquades agar angka yang tertera pada refraktometer menunjukkan angka nol
2. Meneteskan satu tetes air sampel pada prisma refraktometer
3. Mengarahkan refraktometer ke sumber cahaya dan melihat angka yang tertera pada bagian skala sebelah kanan dan akan tertera nilai salinitasnya
4. Mencatat nilai hasil pengamatan

b. pH Diukur dengan pH Meter

- a) pH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan pH buffer netral yaitu aquades.
- b) pH meter dicelupkan kedalam air media beberapa saat.
- c) Dibaca angka yang tertera pada alat tersebut.

c. DO Diukur dengan DO Meter (spesifikasi : WTW Oxi Digi 315i)

1. DO meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan aquades
2. DO meter dicelupkan ke dalam air media beberapa saat dan baca angka yang tertera.

d. Suhu (Arfiati, 2004)

- a. Memasukkan termometer air raksa kedalam perairan selama beberapa menit
- b. Membaca skala yang ditunjukkan oleh termometer (masih dalam air) dan catat hasilnya.

c. Nitrat

1. Menyaring 50 ml air contoh dan menuangkan dalam cawan porselin.
2. Menguapkan diatas pemanas (hot plate) sampai kering.
3. Mendinginkan dan menambah 2 ml asam fenoldisulfonik dan mengaduk dengan pengaduk gelas.
4. Mengencerkan dengan aquadest 10 ml.
5. Menambahkan NH_4OH sampai terbentuk warna, memindahkan ke tabung nessler dan mengencerkan dengan aquadest sampai 100 ml.
6. Membandingkan dengan larutan standart secara visual maupun dengan spektrofotometer (panjang gelombang 400-450 μm). Seperti terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Larutan standart pembanding nitrat-nitrogen

Larutan standart nitrat (ppm)	Nitrat-N yang dikandung
0,1	0,01
0,5	0,05
1,0	0,10
2,0	0,20
5,0	0,50
10	1,00

6. Analisis data

Menurut Hanafiah (2008), model analisis keragaman rancangan acak lengkap, yaitu :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Dimana :

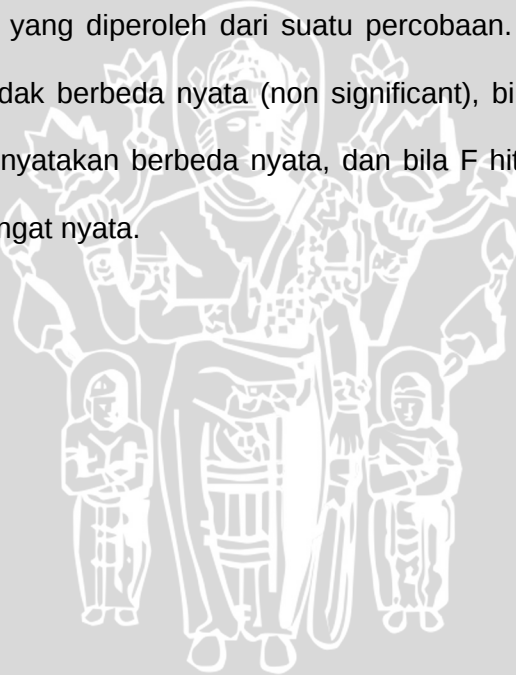
Y_{ij} = pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = rata-rata

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = kasalahan (galat) percobaan pada perlakuan ke-i dan untuk ulangan ke-j.

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap nilai-nilai pengamatan (data) hasil percobaan dilakukan uji beda rerata karena perlakuan optimum tidak dapat ditentukan menurut uji F. Hasil uji ini yang nantinya menentukan saran atau rekomendasi apa yang diperoleh dari suatu percobaan. Bila $F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$ dinyatakan tidak berbeda nyata (non significant), bila $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$ dinyatakan berbeda nyata, dan bila $F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$ dinyatakan berbeda sangat nyata.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kultivasi Mikroalga *N. oculata*

4.1.1 Persiapan Bibit

Bibit *N. oculata* diambil dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo dimana bibit berasal dari kultur murni dan dalam keadaan tidak terkontaminasi oleh zooplankton atau organisme lain. Bibit yang baru datang sebaiknya segera dikultur tetapi apabila melakukan kultur keesokan harinya sebaiknya dimasukkan ke dalam kulkas supaya dapat bertahan dan tidak mati. Berikut stater *N. oculata* sebelum dipecah ke volume yang lebih besar dapat dilihat pada Gambar 7. Bibit *N. oculata* yang diketahui populasinya sangat padat memiliki warna kehijauan.



Gambar 7. Stater *N. oculata*

4.1.2 Sterilisasi

Sterilisasi dilakukan tidak hanya pada alat (tabung reaksi dan Erlenmeyer) tetapi dilakukan juga pada air laut sebagai media kultur. Sterilisasi menggunakan autoclave, dengan tekanan 1 atm suhu 120 °C selama 30 menit. Tabung reaksi dan Erlenmeyer yang akan disterilisasi ujungnya ditutup dengan kapas supaya tidak terkontaminasi kemudian dibungkus aluminium foil. Air laut

hanya ditutup dengan aluminium foil tanpa diberi kapas, sebelumnya alat-alat yang akan disterilisasi harus dicuci terlebih dahulu dengan sabun sampai bersih lalu dibilas dengan air setelah itu bagian luar alat disemprot dengan alkohol supaya lebih steril.

Autoclave diisi dengan air secukupnya, lalu alat dan bahan yang hendak disterilisasi dimasukkan ke dalam autoclave, selanjutnya autoclave ditutup rapat. Autoclave dinyalakan dibiarkan selama 15 menit hingga menunjukkan tekanan hampir 1 atm, setelah 1 atm autoclave dibiarkan terlebih dahulu selama 15 menit sampai tekanan turun lalu setelah itu lubang udara dibuka perlahan-lahan. Selanjutnya dibuka tutup autoclave, alat dan bahan yang disterilisasi dibiarkan dingin dulu kemudian diambil dari autoclave.

Bentuk autoclave yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 8. Berdasarkan Gambar dibawah ini autoclave mempunyai kunci penjepit berjumlah lima buah untuk mengunci supaya uap air tidak keluar, selain itu autoclave juga mempunyai pengukur tekanan 1 atm dan penutup uap.



Gambar 8. Autoclave

Keterangan : a. Autoclave untuk tabung reaksi dan Erlenmeyer

b. Autoclave untuk air laut

4.1.3 Penumbuhan dan Pemupukan

Dalam penumbuhan *N. oculata* pada kultur murni ini adalah dengan cara pemecahan dari *N. oculata* yang sudah dikultur sebelumnya. Pada penumbuhan ini digunakan pupuk cair yaitu pupuk walne, selain itu juga pupuk TSP, Urea, dan ZA. Komposisi pupuk walne dapat dilihat pada Lampiran 1. Menurut Rostini (2007), pupuk merupakan bahan yang mengandung unsur-unsur hara yang dibutuhkan oleh jasad hidup. Faktor yang menentukan untuk mendapatkan efisiensi dan efektivitas pemupukan setinggi-tingginya adalah dengan memberikan dosis pemupukan yang tepat dan cara pemupukan yang baik. Pupuk walne yang dipakai sebanyak 1ml/l, sedangkan untuk TSP 30 mg/l, ZA 80 mg/l dan Urea (0,20,40 dan 60) mg/l. Jenis-jenis pupuk yang digunakan untuk kultur *N. oculata* seperti Gambar 9.



Gambar 9. Pupuk cair walne dan UREA, TSP, dan ZA

Keterangan : a. pupuk cair walne b. pupuk urea c. pupuk TSP d. pupuk ZA

Pada penelitian skripsi ini kultur murni yang dilakukan meliputi beberapa tahap yaitu kultur murni tahap I pada tabung reaksi yang berisi media 6 ml dan pada Erlenmeyer yang berisi media 144 ml, kultur murni tahap II pada wadah stoples 3 liter yang berisi media 648 ml dan pada wadah stoples 15 liter yang berisi media 3 liter, kultur murni tahap III pada aquarium yang berisi media 30 liter. Dimana dalam perbandingan antara bibit *N. oculata* dengan air laut adalah 1 : 5.

4.2 Kultur Murni

4.2.1 Kultur Murni Tahap I

Pada kultur tahap 1 ini kultur murni dilakukan pada wadah tabung reaksi dan Erlenmeyer. Tabung reaksi berisikan media 6 ml dimana perbandingan 1 ml bibit *N. oculata* dengan 5 ml air laut. Tabung yang digunakan 12 tabung reaksi dimana masing tabung reaksi diisi dengan volume 6 ml. Kemudian dipecah ke volume 144 ml dimana ditempatkan pada wadah Erlenmeyer. Pada tahap ini Erlenmeyer yang digunakan berjumlah 3 buah yang masing-masing Erlenmeyer berisikan 144 ml, dimana perbandingan antara hasil kultur dari tabung reaksi 24 ml dengan 120 ml air laut. Kemudian diberi pupuk walne 1 ml/l dan dihomogenkan dengan aerasi dimana fungsi aerasi untuk mensuplai oksigen dan membantu sirkulasi media kultur. Kemudian diamati selama tujuh hari. Setelah itu dipindah ke volume yang lebih besar untuk dipecah lagi. *N. oculata* volume tabung reaksi dan Erlenmeyer dapat dilihat pada Gambar 10.



a

b

Gambar 10. Kultur *N. oculata*

Keterangan : a. *N. oculata* pada tabung reaksi (6 ml)

b. *N. oculata* pada Erlenmeyer (144 ml)

4.2.2 Kultur Murni Tahap II

Setelah dilakukan pada volume 144 ml maka harus dipecah lagi untuk mendapatkan kepadatan yang lebih banyak. Pada kultur tahap II ini dipecah ke volume 648 ml dimana ditempatkan pada wadah stoples 3 liter. Pada tahap ini stoples yang digunakan berjumlah 4 buah yang masing-masing diisi dengan volume 648 ml. Perbandingan antara hasil kultur dari Erlenmeyer 108 ml bibit *N. oculata* dengan 540 ml air laut. Volume 648 ml dalam stoples 3 liter dipecah lagi ke volume yang lebih besar yaitu 3888 ml (± 3 liter) dimana ditempatkan dalam wadah stoples 15 liter. Pada tahap ini stoples yang digunakan 5 buah yang masing-masing diisi 3888 ml (± 3 liter). Perbandingan antara hasil kultur dari stoples 3 liter 648 ml bibit *N. oculata* dengan 3240 ml air laut.

Pada tahap II ini digunakan aerasi untuk suplai oksigen dan supaya *N. oculata* tidak mengendap di bawah yang dapat menyebabkan kematian pada *N. oculata*. Pada hari ke 7 kultur mengalami perubahan warna dari hijau bening menjadi agak hijau pekat. Setelah sampai 7 hari dipecah lagi ke volume yang lebih besar. Kultur *N. oculata* pada tahap ini masih belum diukur kualitas air dan penghitungan kepadatan sel dikarenakan rentan terhadap kontaminasi. *N. oculata* volume 648 ml pada wadah stoples 3 liter dapat dilihat pada Gambar 11.



a

b

Gambar 11. Kultur *N. oculata*

Keterangan : a. *N. oculata* pada stoples 3 liter (648 ml)

b. *N. oculata* pada stoples 15 liter (3888ml)

4.2.3 Kultur Murni Tahap III

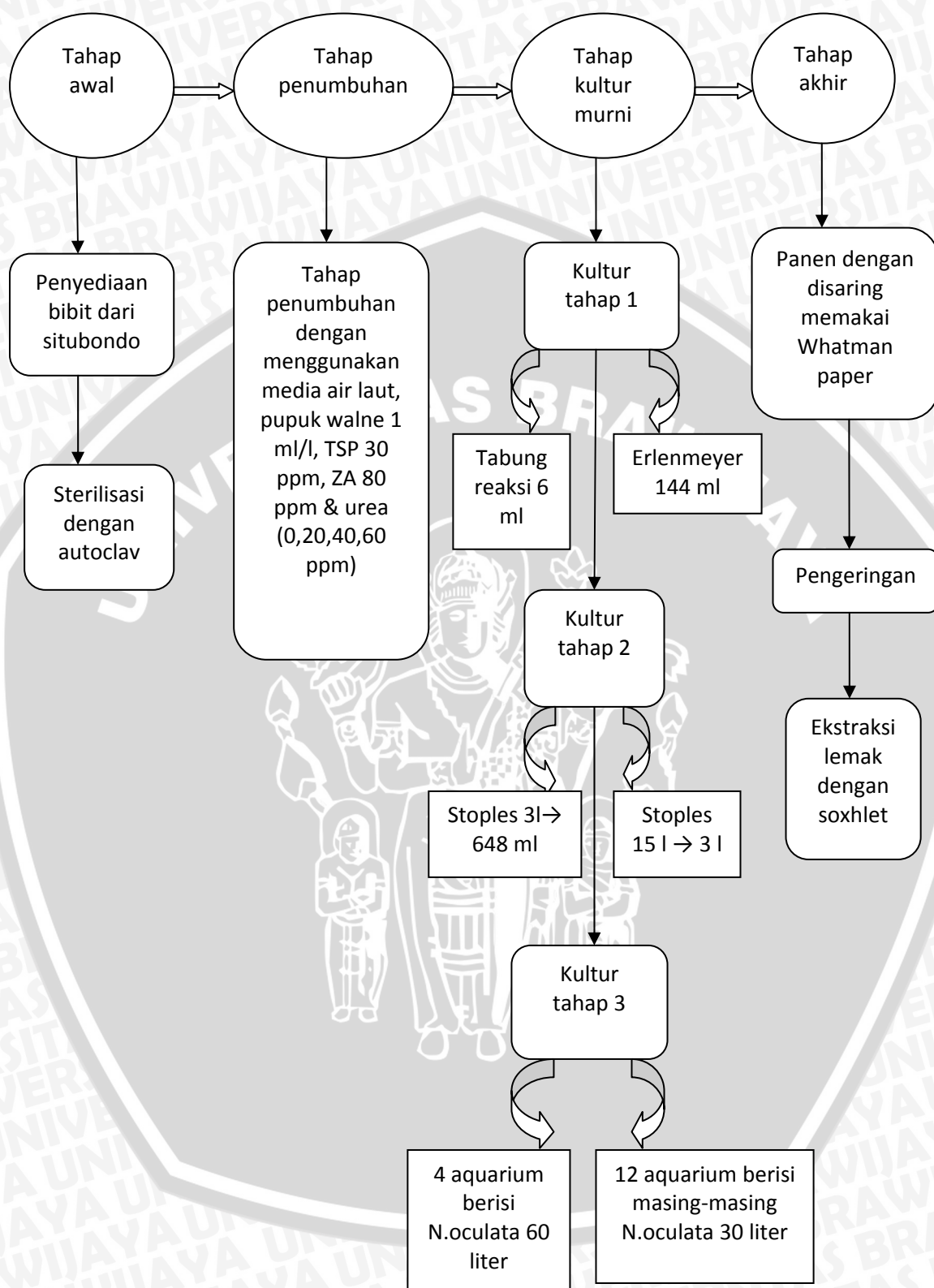
Pada tahap ke tiga ini merupakan tahap terakhir yaitu volume yang 3888 ml (± 3 liter) dipecah lagi ke volume yang lebih besar lagi yaitu 30 liter yang ditempatkan dalam wadah aquarium, dimana perbandingannya adalah 5 liter bibit *N.*

oculata dari stoples besar (15 liter) dengan 25 liter air laut. Pada tahap ini aquarium yang digunakan 12 buah yang masing-masing diisi $\pm$ 30 liter.

Pada tahap ini dilakukan pengamatan sampai pada hari ke 7. Pupuk yang diberikan yaitu walne karena diasumsikan khawatir terjadi kematian pada *N. oculata* dan tidak bisa beradaptasi dengan lingkungan hidup yang baru. Dosis pemberian pupuk walne 0,5 ml/l, TSP 30 ppm, ZA 80 ppm dan diberi pupuk urea yang berbeda-beda sesuai perlakuan. Pada tahap ini juga dilakukan penghitungan kepadatan *N. oculata* dengan menggunakan Haemocytometer selama 7 hari dan kualitas air yang diukur meliputi suhu, salinitas, pH, DO serta nitrat. Pada tahap ini intensitas cahaya menggunakan lampu sebesar 40 watt sebagai fotosintesis *N. oculata*. *N. oculata* volume aquarium dapat dilihat pada Gambar 12. Diagram alir pada penelitian skripsi ini dapat dilihat pada Gambar 13.



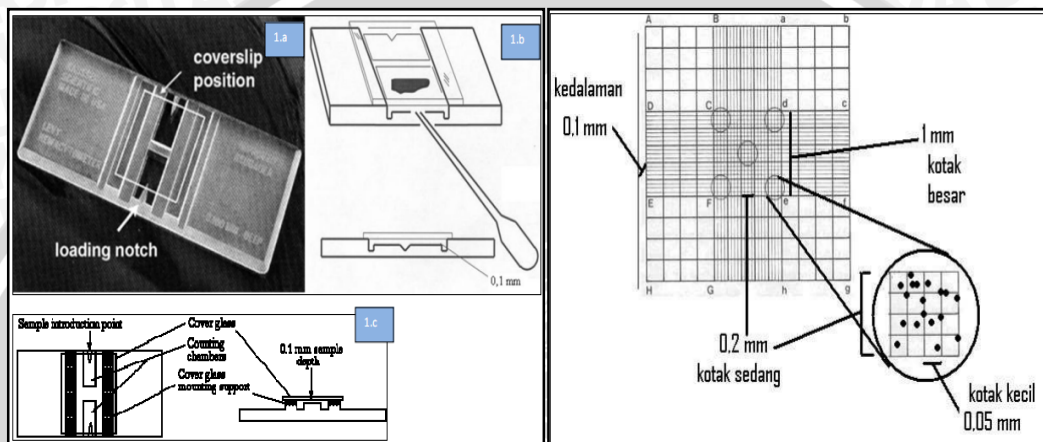
Gambar 12. Kultur *N. oculata* volume 30 liter



Gambar 13. Diagram alir kultivasi mikroalga *N. oculata*

4.3 Kelimpahan *N. oculata*

Pada penelitian ini, kepadatan sel diamati dengan menghitung jumlah sel *N. oculata* setiap hari selama 7 hari menggunakan haemocytometer (Gambar 14) yang diamati dibawah mikroskop. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan terhadap kepadatan kultur *N. oculata* selama penelitian pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa penambahan sel terus meningkat (Lampiran 3).



Gambar 14. Haemocytometer

(<http://blog.unila.ac.id/wasetiawan>)

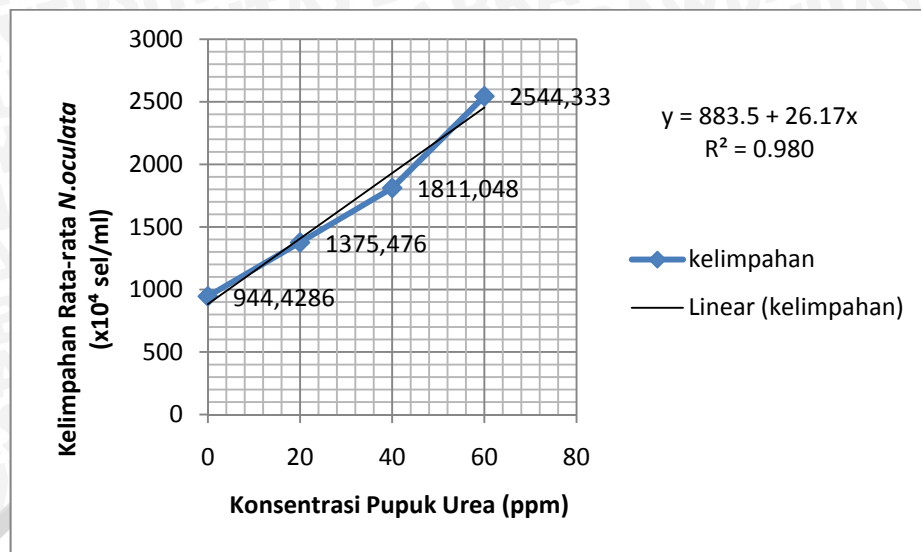
Pada pengamatan hari ke-5 jumlah sel mengalami kelimpahan maksimal. Nilai ini karena adanya perbedaan keberadaan kandungan nutrisi pada media kultur sehingga mempengaruhi kualitas dan densitas sel. Hal ini diperkuat oleh Becker (1995) dalam Widianingsih dkk, (2008) yang mengatakan bahwa pertumbuhan sel akan dipengaruhi oleh ketersediaan unsur utama dalam lingkungan kultur yaitu berupa C,H,O,N,P,K,S,Ca,Fe,Mg dan keberadaan unsur mikro nutrisi. Komponen vitamin yang tersedia dalam media dapat mempercepat pertumbuhan terutama vitamin B₁₂. Kondisi lingkungan juga dapat berpengaruh antara lain intensitas cahaya, suhu, tekanan osmose, pH dan konsentrasi nutrisi dalam media.

Pada hari ke-6 kecepatan pertumbuhan terjadi penurunan. Hal ini disebabkan semakin menipisnya ketersediaan nutrisi dalam media kultur. Ketersediaan nutrisi yang terlalu sedikit akan mengakibatkan pertumbuhan lambat dan melemahkan kondisi sel sehingga jumlah kepadatan sel menurun. Menurut Michael (1980) dalam Agustini dan Kabinawa (2009) berpendapat bahwa kadar nutrisi yang rendah dalam media akan menurunkan produktivitas sel alga.

Kelimpahan *N. oculata* berkisar antara $944,42 \times 10^4$ – $2544,33 \times 10^4$ sel/ml, dengan rata-rata terendah pada perlakuan A (urea 0 ppm) $944,42 \times 10^4$ sel/ml dan tertinggi pada perlakuan D (urea 60 ppm) sebesar $2544,33 \times 10^4$ sel/ml. Hal ini menunjukkan bahwa kepadatan sel yang tinggi berhubungan dengan konsentrasi pupuk urea. Menurut Hung Hsieh *et al.*, 2001, kultur dengan pemberian urea pada setiap fase pertumbuhan akan meningkatkan kepadatan sel *N. oculata*.

Hasil analisa keragaman pada (Lampiran 3) didapat nilai F hitung perlakuan (44,09) lebih besar dari F tabel 1 % (7,59). Hal ini menunjukkan bahwa selama penelitian konsentrasi pupuk urea memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap kelimpahan *N. oculata*.

Untuk mengetahui hubungan respon dari perlakuan yang berbeda dilakukan uji lanjutan yaitu dengan menggunakan uji BNT. Hasil uji BNT dengan taraf nyata 0,05 % dan 0,01 % dengan selang kepercayaan 95 % dapat dilihat pada Lampiran 3. Masing-masing perlakuan dengan konsentrasi pupuk urea mempunyai pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap kelimpahan *N. oculata*. Grafik hubungan antara konsentrasi pupuk urea dengan kelimpahan *N. oculata* terlihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Grafik hubungan antara konsentrasi pupuk urea dengan kelimpahan *N. oculata*

Grafik diatas menjelaskan hubungan antara konsentrasi pupuk urea dengan kelimpahan *N. oculata* menunjukkan hubungan yang linier. Diketahui bahwa jumlah kelimpahan *N. oculata* meningkat sesuai dengan peningkatan konsentrasi pupuk urea dengan masa kultur 7 hari. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi pupuk urea mempengaruhi kelimpahan *N. oculata*. Menurut Lourenco *et al.*, 2002, *Nannochloropsis* sp. memerlukan nitrat dan urea untuk pertumbuhannya. Ketersediaan urea efektif mempertinggi produksi biomassa dari mikroalga.

4.4 Kadar Lemak *N. oculata*

Pada penelitian ini, kandungan lemak diamati dengan metode soxhlet (Gambar 16) dalam berat kering sel. *N. oculata* yang sudah di kultur selama 7 hari kemudian di saring dengan kertas saring Whatman42 dan dikeringkan di oven dengan suhu 80°C. Setelah dapat 2 g bahan, di analisa kandungan lemaknya menurut metode soxhlet Woodman (1941) dalam Sudarmadji (1997).



Gambar 16. Soxhlet

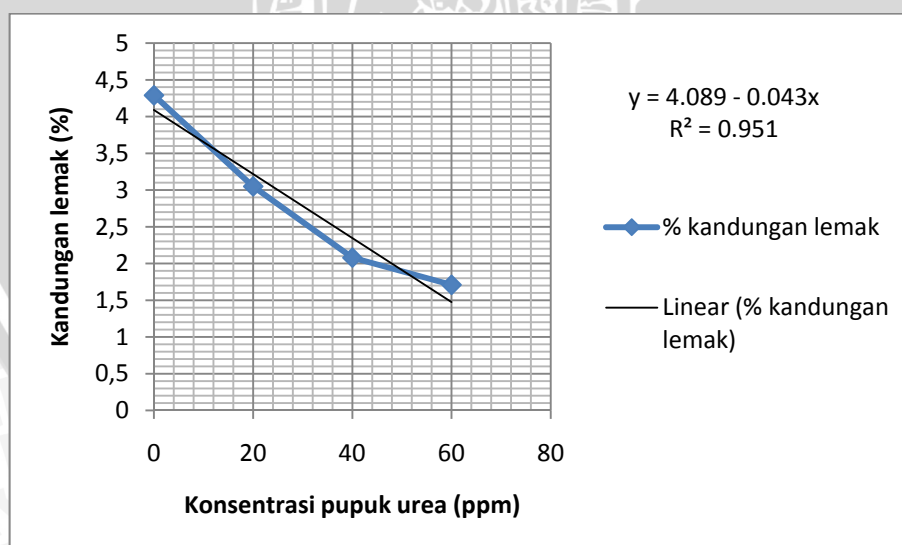
Kadar lemak pada biomassa *N. oculata* dengan perlakuan A (urea 0 ppm) sebesar 4,29%, perlakuan B (urea 20 ppm) sebesar 3,05%, perlakuan C (urea 40 ppm) sebesar 2,08%, dan perlakuan D (urea 60 ppm) sebesar 1,71%. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kadar lemak tertinggi yaitu pada perlakuan A sebesar 4,29% dan terendah pada perlakuan D sebesar 1,71%.

Peningkatan kadar lemak pada perlakuan A disebabkan karena kandungan lemak dari mikroalga meningkat di bawah kondisi konsentrasi nitrogen yang rendah. Dalam penelitian sumber nitrogen didapat dari urea karena urea merupakan sumber nitrogen anorganik. Nitrogen yang merupakan unsur makronutrien dapat mempengaruhi kegiatan metabolisme sel yaitu proses transportasi, katabolisme, asimilasi, dan khususnya biosintesis protein karena dengan adanya reaksi enzimatik yang dihasilkan oleh protein maka dapat mengkonversi lemak menjadi asam lemak sehingga secara tidak langsung nitrogen mempengaruhi kandungan lemak. Menurut Takagi *et al.*, (2000), Konsentrasi nitrogen yang rendah dapat mempertinggi kandungan lemak mikroalga, tetapi konsentrasi sel umumnya rendah pada kondisi nitrogen yang sedikit.

Besarnya kandungan unsur N pada media pemeliharaan mengakibatkan rendahnya kandungan lemak dan sebaliknya apabila ada pembatasan unsur N pada media pemeliharaan dalam kondisi terkontrol dapat meningkatkan kandungan lemak (Qin, 2005).

Hasil analisa keragaman pada (Lampiran 4) didapat nilai F hitung perlakuan (6,52) lebih kecil dari F tabel 1% (7,59) dan lebih besar dari F tabel 5% (4,07). Hal ini menunjukkan bahwa selama penelitian konsentrasi pupuk urea memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap kandungan lemak *N. oculata*.

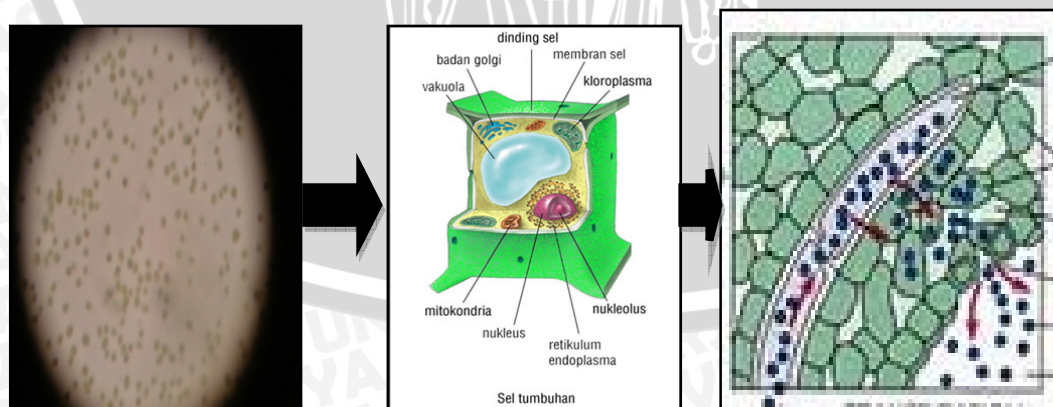
Untuk mengetahui hubungan respon dari perlakuan yang berbeda dilakukan uji lanjutan yaitu dengan menggunakan uji BNT. Hasil uji BNT dengan taraf nyata 0,05 % dan 0,01 % dengan selang kepercayaan 95 % dapat dilihat pada Lampiran 4. Masing-masing perlakuan dengan konsentrasi pupuk urea mempunyai pengaruh yang berbeda nyata terhadap kandungan lemak *N. oculata*. Grafik hubungan antara konsentrasi pupuk urea dengan kandungan lemak *N. oculata* terlihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Grafik hubungan antara konsentrasi pupuk urea dengan kandungan lemak *N. oculata*

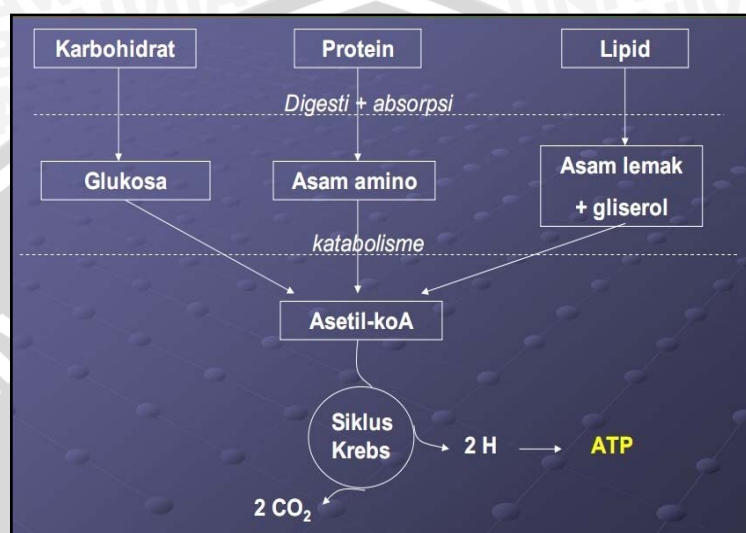
Grafik diatas menjelaskan hubungan antara konsentrasi pupuk urea dengan kandungan lemak menunjukkan hubungan linier dengan korelasi yang negatif. Diketahui bahwa jumlah kandungan lemak *N. oculata* menurun sesuai dengan meningkatnya konsentrasi pupuk urea. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi pupuk urea mempengaruhi kandungan lemak *N. oculata*. Menurut Hung Hsieh *et al.*, (2001), kandungan lemak intraseluler dalam mikroalga meningkat dengan menurunnya konsentrasi pemberian urea. Dikatakan intraseluler karena terdapat di dalam sel yaitu kloroplas. Beberapa faktor yang mempengaruhi kandungan lemak intraselular seperti konsentrasi nitrogen, intensitas cahaya, suhu, salinitas, dan konsentrasi logam berat (Renaud *et al.*, (1991)).

Mekanisme pembentukan lemak dalam sel adalah dimulai dari masuknya pupuk urea ke dalam sel. Pupuk urea merupakan pupuk yang mudah diabsorpsi oleh mikroalga dan mudah larut dalam air. Air akan membawa pupuk menembus membran sel dengan lebih cepat karena pergerakan air menembus membran sel disebabkan oleh difusi. Sehingga menyebabkan tarikan bagi molekul-molekul air yang berada dalam pori membran mengalir menuju organ sel yang lain (Lakitan, 1995). Hal ini dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Mekanisme masuknya pupuk ke dalam sel
(www.science-project.com)

Senyawa utama penyusun membran sel adalah protein dan lipida. Lemak merupakan bagian dari lipida. Lemak disintesis dari gliserol dan asam lemak. Di dalam sel, gliserol disintesis dari glukosa (Lakitan, 1995). Proses pembentukan lemak dapat dilihat pada Gambar 19.

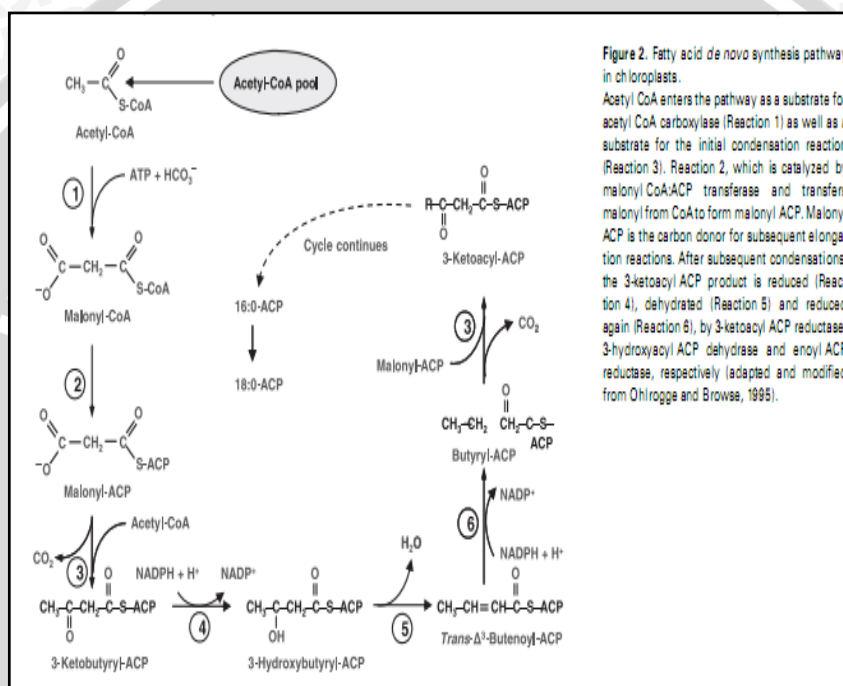


Gambar 19. Metabolisme lemak
(www.elmhurst.edu/fattyacid.html)

Asetil-KoA yang diperlukan untuk biosintesis asam lemak dalam sitoplasma barangkali berasal dari sitrat yang di lepaskan dari mitokondria dan lalu di penggal oleh ATP-sitratliase. Dalam tumbuhan yang memfotosintesis, sebagian besar asam lemak dibuat dalam kloroplas (Robinson, 1991).

Menurut Ohlrogge and Browse, 1995 dalam Qiang Hu *et al.*, 2008, jalur sintesis asam lemak dalam kloroplas yaitu di mulai dari asetil KoA sebagai substrat dari jalur asam lemak (reaksi 1). Sedangkan (reaksi 3) merupakan substrat awal dari reaksi kondensasi. Reaksi 2, mengkatalisasi malonyl-KoA membentuk malonyl ACP. Malonyl ACP adalah karbon donor sebagai akibat reaksi pemanjangan pada reaksi karboksilasi. Setelah itu di kondensasi membentuk 3 ketoacyl ACP. Reaksi 4, direduksi dengan enzim 3-ketoacyl-ACP

reduktase membentuk 3-hydroxybutyryl-ACP. Reaksi 5, di dehidrasi dengan enzim 3-hydroxyacyl-ACP dehidrase sehingga menghasilkan H₂O. Reaksi 6, direduksi dengan enzim enoyl ACP reduktase menjadi 3-ketoacyl-ACP dan menghasilkan produk asam lemak jenuh yaitu 16:0 (palmitat) dan 18:0 (stearat). Selanjutnya reaksi berulang lagi ke reaksi 4 dan seterusnya. Proses ini ditunjukkan pada Gambar 20.



Gambar 20. Jalur sintesis asam lemak dalam kloroplas (Qiang Hu *et al.*, 2008)

4.5 Parameter Pendukung Pada Media Kultur *N. oculata*

4.5.1 Suhu

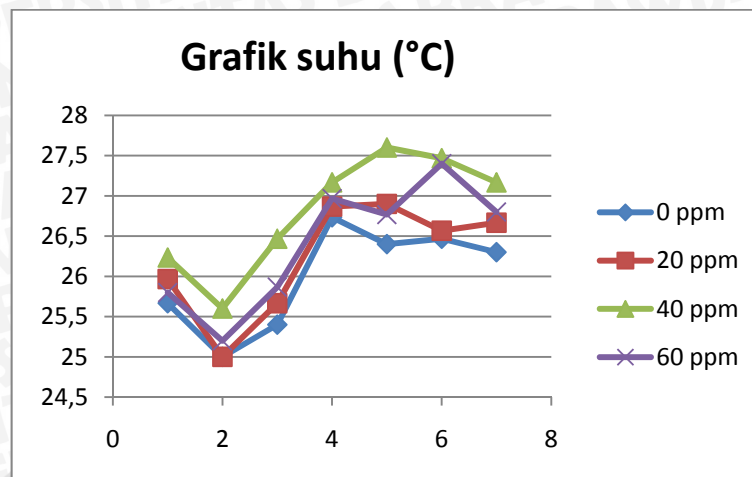
Suhu mempengaruhi aktivitas metabolisme organisme, selain itu suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan biota air. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu, dapat menyebabkan kematian bila peningkatan suhu sampai ekstrim (Kordi & Tancung, 2007).

Besarnya suhu selama penelitian menunjukkan hasil yang hampir sama dan tidak terjadi fluktuasi suhu yang tajam. Selama penelitian berlangsung sumber cahaya berasal dari lampu TL 40 watt yang diberikan secara kontinyu, sehingga panas yang dihasilkan tak banyak mengalami perubahan. Kisaran suhu selama penelitian (Tabel 5) berada pada kisaran 25–27,6°C. Suhu tersebut masih dalam kisaran optimal pertumbuhan *N. oculata*. Menurut James *et al.*, 1989, suhu optimum untuk *Nannochloropsis* antara 25-30°C.

Tabel 5. Suhu Media Kultur *N. oculata*

Hari ke-	Nilai suhu (°C)			
	0 ppm	20 ppm	40 ppm	60 ppm
1	25.6	25.9	26.2	25.8
2	25	25	25.6	25.2
3	25.4	25.6	26.4	25.8
4	26.7	26.8	27.1	26.9
5	26.4	26.9	27.6	26.7
6	26.4	26.5	27.4	27.4
7	26.3	26.6	27.1	26.8
Rata-rata	25.9	26.2	26.8	26.3

Berdasarkan Tabel 5 diatas dapat dibuat grafik antara dosis pupuk dengan nilai suhu (°C) yang diukur selama 7 hari. Grafik tersebut di tunjukkan pada Gambar 21. Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa fluktuasi suhu tidak banyak mengalami perubahan.



Gambar 21. Grafik suhu (°C) pada media kultur *N. oculata*

Menurut Lynch and Thompson (1982) dalam Qiang Hu et al., (2008), Suhu mempunyai peranan penting dalam mempengaruhi komposisi asam lemak dari algae. Dari beberapa algae dan cyanobacteria umumnya memiliki komposisi asam lemak tidak jenuh meningkat dengan menurunnya suhu dan asam lemak jenuh meningkat dengan bertambahnya suhu. Kandungan lemak pada *Nannochloropsis sp* akan meningkat dengan meningkatnya suhu.

4.5.2 Salinitas

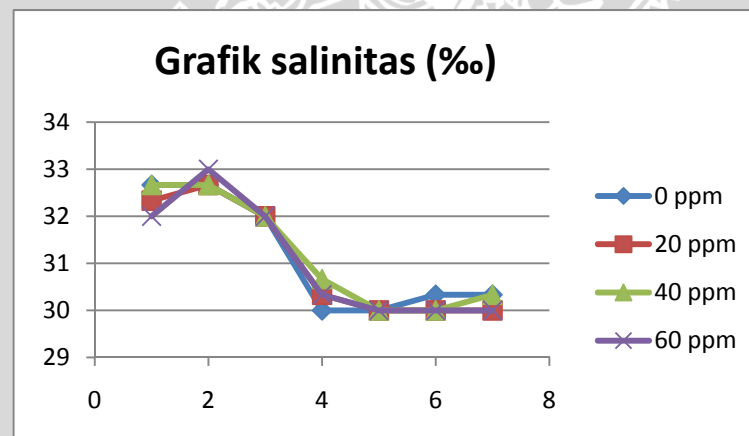
Salinitas merupakan salah satu sifat kimia air yang secara langsung maupun tidak langsung dapat mempengaruhi pertumbuhan dan kehidupan organisme air (Rostini, 2007). Salinitas juga mempengaruhi kandungan HUFA (Highly Unsaturated Fatty Acid) pada mikroalga (Renaud and Parry, 1994).

Hasil pengamatan salinitas selama penelitian (Tabel 6) berada pada kisaran 30-33 ‰. Kisaran ini termasuk dalam kisaran untuk pertumbuhan normal *N. oculata*. Menurut Kurniastuti dan Isnansetyo, 1995, Salinitas optimum untuk *N. oculata* 25-35 ppt.

Tabel 6. Salinitas Media Kultur *N. oculata*

Hari ke-	Nilai salinitas (‰)			
	0 ppm	20 ppm	40 ppm	60 ppm
1	32.6	32.3	32.6	32
2	32.6	32.6	32.6	33
3	32	32	32	32
4	30	30.3	30.6	30.3
5	30	30	30	30
6	30.3	30	30	30
7	30.3	30	30.3	30
Rata-rata	31.5	31.0	31.1	31.0

Berdasarkan Tabel 6 diatas dapat dibuat grafik antara dosis pupuk dengan nilai salinitas (‰) yang diukur selama 7 hari. Grafik tersebut di tunjukkan pada Gambar 22. Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa fluktuasi salinitas tidak mengalami perubahan.



Gambar 22. Grafik salinitas (‰) pada media kultur *N. oculata*

4.5.3 pH (Derajat Keasaman)

pH mempengaruhi pertumbuhan fitoplankton di dalam kultur. Standar medium pertumbuhan fitoplankton dalam kultur fitoplankton air laut adalah terbatas pada pH tinggi (Hansen, 2002).

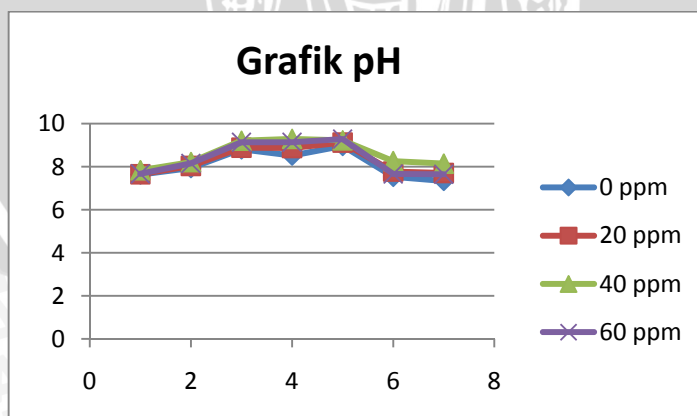
Menurut Wigajatri dkk, (2003), pH mempengaruhi kepadatan sel mikroalga. Jika nilai pH rendah maka kepadatan sel juga akan rendah dan sebaliknya jika nilai pH tinggi maka kepadatan sel juga akan tinggi.

Tabel 7. pH Media Kultur *N. oculata*

Hari ke-	Nilai pH			
	0 ppm	20 ppm	40 ppm	60 ppm
1	7.63	7.65	7.83	7.67
2	7.93	8.03	8.21	8.15
3	8.80	8.88	9.20	9.13
4	8.51	8.87	9.29	9.13
5	8.96	9.12	9.22	9.28
6	7.52	7.77	8.26	7.66
7	7.34	7.70	8.14	7.65

Hasil pengukuran pH selama penelitian berkisar antara 7,34-9,29 (Tabel 7). pH ini tergolong sesuai bagi kehidupan *N. oculata*. Hal ini sesuai dengan pendapat Elzenga *et al.*, (2000), Rata-rata pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. maksimum pada pH antara 7-9 dan terbatas pada pH 10,08.

Berdasarkan Tabel 7 diatas dapat dibuat grafik antara dosis pupuk dengan nilai pH yang diukur selama 7 hari. Grafik tersebut di tunjukkan pada Gambar 23. Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa fluktuasi pH tidak mengalami perubahan.



Gambar 23. Grafik pH pada media kultur *N. oculata*

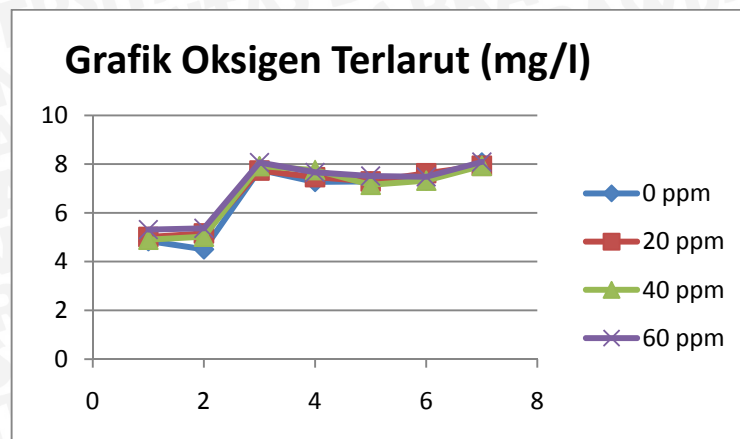
4.5.4 DO (Oksigen Terlarut)

Menurut Wahyudi (1999) dalam Maf'ulah (2008), Dalam suatu perairan, oksigen merupakan kebutuhan pokok bagi organisme akuatik untuk melakukan proses respirasi. Sebagai organisme akuatik fotosintetik, mikroalga membutuhkan oksigen untuk proses respirasi sel, dimana pada peristiwa respirasi ini akan dihasilkan energi untuk pertumbuhan dan perkembangan sel-selnya. Maka ketersediaan oksigen dilingkungan amat menentukan kehidupan mikroalga.

Tabel 8. DO Media Kultur *N. oculata*

Hari ke-	Nilai DO (mg/l)			
	0 ppm	20 ppm	40 ppm	60 ppm
1	4.84	5.01	4.90	5.31
2	4.50	5.15	5.02	5.36
3	7.76	7.73	7.91	8.06
4	7.26	7.46	7.75	7.66
5	7.29	7.29	7.15	7.51
6	7.33	7.62	7.32	7.47
7	8.06	7.93	7.92	8.08
Rata-rata	6.72	6.88	6.85	7.06

Berdasarkan Tabel 8 diatas dapat dibuat grafik antara dosis pupuk dengan nilai DO (mg/l) yang diukur selama 7 hari. Grafik tersebut di tunjukkan pada Gambar 24. Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa fluktuasi DO tidak mengalami perubahan.



Gambar 24. Grafik DO (mg/l) pada media kultur *N. oculata*

Kandungan oksigen terlarut dalam media kultur berfluktuasi seiring dengan meningkatnya jumlah populasi. Kandungan oksigen terlarut pada semua perlakuan (Tabel 8), oksigen terlarut berkisar antara 4,50 -8,08 mg/l. Menurut Subarijanti (2005), kandungan oksigen dalam air yang ideal adalah antara 3-7 ppm.

4.5.5 Nitrat

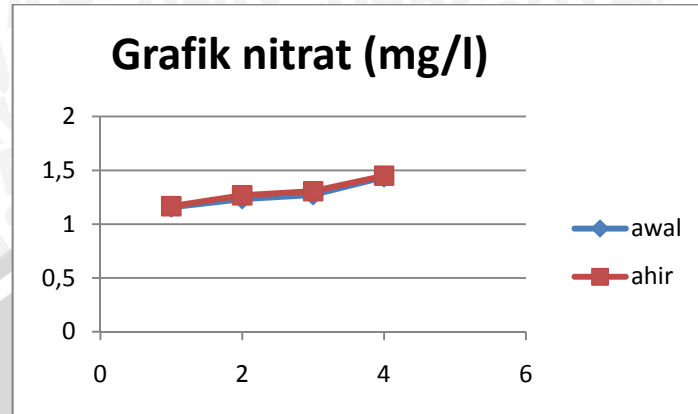
Nitrat merupakan hasil dari reaksi biologi yaitu nitrogen organik. Nitrat merupakan elemen esensial atau sebagai nutrisi dalam proses eutrofikasi. Pada perairan alami mineral nitrat hanya sedikit (Arfiati, 2001).

Tabel 9. Nitrat Media Kultur *N. oculata*

konsentrasi pupuk urea	nilai nitrat awal	nilai nitrat akhir	total	rata-rata
A (0 ppm)	1.156	1.167	2.323	1.1615
B (20 ppm)	1.233	1.268	2.501	1.2505
C (40 ppm)	1.271	1.306	2.577	1.2885
D (60 ppm)	1.436	1.450	2.886	1.443

Kandungan nitrat pada semua perlakuan awal kultur sampai hari terakhir kultur disajikan dalam Tabel 9. Kandungan nitrat dalam media kultur berkisar antara 1,15-1,45 mg/l. Nilai tersebut menunjukkan bahwa kandungan nitrat dalam media kultur optimal untuk pertumbuhan *N. oculata*. Menurut Becker (1995), untuk menunjang kehidupan dan pertumbuhannya, *Nannochloropsis* sp.

memerlukan nitrat optimum sebesar 0,9-3,5 mg/l. Grafik nitrat selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 25.



Gambar 25. Grafik nitrat (mg/l) pada media kultur *N. oculata*



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Konsentrasi pupuk urea dapat mempengaruhi kadar lemak *N. oculata* pada konsentrasi 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm dan 60 ppm.
2. Konsentrasi pupuk urea tidak memberikan penambahan kadar lemak optimal.

5.2 Saran

1. Tidak disarankan untuk menggunakan pupuk urea dalam penambahan kandungan lemak *N. oculata*.
2. Perlu penelitian lanjutan untuk menghasilkan lemak yang tinggi pada *N. oculata*



DAFTAR PUSTAKA

- Agustini dan Kabinawa. 2009. Pengaruh Konsentrasi Nitrat Sebagai Sumber Nitrogen dalam Media Kultur Terhadap Pembentukan Asam Arakidonat dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI. Cibinong.
- Arfiati, D. 2001. Limnologi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang
- Arfiati, D. 2004. Petunjuk Teknis Pengukuran Kualitas Air Laut dan Payau (Fisika, Kimia,Biologi). Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya .Malang
- Asep_thea. 2009. Budidaya Nannochloropsis, Brachionus dan Penetasan Artemia. Asep_thea blogger.com diakses tanggal 20 Desember 2009
- Becker, E.W. 1995. Microalgae Biotechnology and Microbiology. Cambrige University Press. New York.
- Chilmawati, D. 2007. Kultur Mikroalga. http://www.diana_chilmawati_blogger.com diakses tanggal 22 Juli 2009
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from Microalgae. Institute of Technology and Engineering Massey University. New Zealand
- Dahuri, R., Rais, J., Ginting S. P. dan Sitepu, M. J. 1996. Pengelolaan Sumberdaya Pesisir dan Lautan Secara Terpadu. PT. Pradnya Paramita. Jakarta
- Effendi, Hefni. 2003. Telaah Kualitas Air. Kanisius. Yogyakarta
- Elzenga JTM, Prins HBA .2000. The role of extracellular carbonic anhydrase activity in inorganic utilization of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): a comparison with other marine algae using the isotopic disequilibrium technique. Limnol Oceanogr 45:372–380
- Fabregas J., Maseda A., Domínguez A, and Otero A. 2003. The cell composition of *Nannochloropsis* sp. Changes under different irradiances in semicontinuous culture. World Journal of Microbiology and Biotechnology 20: 31-35.
- Falkowski, P.G. and Owens, T.G. 1980. Light–shade adaptation: two strategies in marine phytoplankton. Plant Physiol. 66, 592–595.
- Hanafiah, K.A. 2008. Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi, Edisi Ketiga. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta
- Hansen. 2002. Effect of High pH on The Growth and Survival of Marine Phytoplankton:Implications for Species Succession. University of Copenhagen. Denmark.
- Herawati dan Kusriani. 2005. Planktonologi. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang

- Hibberd D.J. 1988. Eustigmatophyceae. In: Handbook of Protoctista. Margulis L., Corliss J., Melkonian M. and Chapman D. (eds). Jones & Bartlett Publ., Boston, 30-50.
- Hu H. and Gao, K. 2003. Optimization of growth and fatty acid composition Of a unicellular marine picoplankton, *Nannochloropsis* sp., with enriched Carbon sources. Biotechn. Lett., 25(5): 421-425.
- Hung Hsieh, Huang. Y, Fu Chun-Chong, and Wen-Teng Wu. 2001. Effect of Urea Feeding on Growth and Lipid Accumulation of *Nannochloropsis oculata*. Department of Chemical Engineering National Cheng Kung University. Taiwan
- Ikawati, Y. 2008. Energi Terbarukan, di Laut Memanen Bahan Bakar Nabati. <http://www.balai.besar.KSDA.jatim.com> diakses tanggal 11 Mei 2009
- Imam, D. 2008. IPB Kembangkan Bahan Bakar dari Mikroalga. www.suaramerdeka.com diakses tanggal 20 Desember 2009
- James C.M., Al-Hinty S., and Salman A.E. 1989. Growth and ω 3 fatty acid and amino acid composition of microalgae under different temperature regimes. Aquaculture 77:337-351.
- Ketaren, S. 2008. Minyak dan Lemak Pangan. UI-Press. Jakarta
- Klau, J., 2003. Pengaruh N_Urea Terhadap Laju Pertumbuhan Dan Kandungan Protein Spirulina sp. Fakultas Biologi Universitas Atma Jaya. Yogyakarta
- Kordi, Ghufuran. H dan Tancung, A. 2007. Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan. Rineka cipta. Jakarta
- Krisno, A. 2002. Dasar-Dasar Ilmu Gizi. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang
- Kurniastuty dan Isnansetyo. 1995. Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton. Kanisius. Yogyakarta
- Lakitan, B. 1995. Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan. PT. Raja Gratindo Persada. Jakarta
- Lourence S.O., Barbarino E., Lanfer Marquez U.M., and Adaire E. 1998. Distribution of intracellular nitrogen in marine microalgae: basis for the calculation of specific nitrogen to protein conversion factors. Journal of Phycology 34: 798-811.
- Maf'ulah, H. 2008. Pengaruh Kadar Pupuk Nitrogen (N_Urea) Terhadap Kandungan Protein dan Lemak Pada Chlorella sp. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang
- Masyamsir. 2001. Penggunaan dan Teknik Produksi Pakan Alami : Mikroalga Lanjutan. <http://www.sith.itb.ac.id> diakses tanggal 20 Desember 2009
- Mourente G., Lubián L.M., and Odriozola J.M. 1990. Total fatty acid composition as a taxonomic index of some marine microalgae used as food in marine aquaculture. Hydrobiologica 203:147-154.

Muslimin, W. 2009. Produksi Pakan Alami. <http://www.wasis muslimin blogger.com> diakses tanggal 20 Juni 2009

Poedjiadi, A. 1994. Dasar-Dasar Biokimia. UI-Press. Jakarta

Purnama. 2008. Bahan Bakar Bernama Mikroalga. <http://www.tempo interaktif.com> diakses tanggal 20 Juni 2009

Purwohadiyanto. S. Prapti dan Andayani, S. 2006. Pemupukan dan Kesuburan Perairan Budidaya. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang

Qiang Hu, Sommerfeld. M, Jarvis, Ghirardi. M, Matthew, Michael and Al Darzins. 2008. Microalgal Triacylglycerols and Feedstocks for Biofuel Production : Perspective and advances. Arizona State University. USA

Qin, J.G. 2005. Bio_Hydrocarbon from algae: Impacts of temperature. Light and salinity on algae growth. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. Australia. RIRDC Publication No, 05/025.

Reef central.com. **Algae Instant Info**. Diakses tanggal 1 Agustus 2009.

Renaud S.M., D.L. Parry, L. V. Thinh, C. Kuo, A. Padovan, and N. Sammy. 1991. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture, *Journal of Applied Phycology* 3 : 43- 53

Renaud S.M. and Parry D.L. 1994. Microalgae for use in tropical aquaculture II: Effect of salinity on growth, gross chemical composition and fatty acid composition of three species of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology* 6: 347-356.

Robinson, T. 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Penerbit ITB. Bandung.

Romimohtarto, K dan Juwana, S. 2007. Biologi Laut Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut. Djambatan. Jakarta

Rostini. 2007. Kultur Fitoplankton (*Chlorella* sp dan *Tetraselmis chuii*) Pada Skala Laboratorium. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Jatinangor

Sbae-industries.com. Klasifikasi *Nannochloropsis*. Diakses tanggal 20 Juli 2009

Subarijanti, Herwati. U. 2005. Pemupukan dan Kesuburan Perairan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang

Sudarmadji. 1997. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta

Sudrajat dan Subana. 2005. Dasar-Dasar Penelitian Ilmiah. Pustaka Setia. Bandung

Suryanto. A. M., 2006. Diktat Planktonologi (Peranan Unsur Hara Bagi Fitoplankton). Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Departemen Pendidikan Nasional. Malang

Takagi, K. Watanabe, K. Yamaberi, and T. Yoshida. 2000. Limited feeding of potassium nitrate for intracellular lipid and triglyceride accumulation of *Nannochloris* sp. UTEX LB1999, Appl Microbiol Biotechnol 54: 112- 117

Widianingsih, Ridho, Hartati. R, dan Harmoko. 2008. Kandungan Nutrisi *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Media yang Berbeda. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro. Semarang

Wigajatri, Handojo. A, Kurniawan. H, dan Prihantini. 2003. Studi Karakteristik Flouoresensi *Chlorella* sp : Pengaruh pH Terhadap Pengkulturan. Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Jakarta

Wijaya, S. 2006. Pengaruh Pemberian Konsentrasi Urea yang Berbeda Terhadap *Nannochloropsis oculata*. <http://www.adln.lib.unair.ac.id> diakses tanggal 22 Juli 2009

Wikipedia.org. Lipid. Diakses tanggal 20 Juli 2009



Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian

Tabung reaksi	Pipet volume
Erlenmeyer 250 ml	Beaker glass
Stoples 3 l	Corong
Aquarium 30 l	pH meter
Haemocytometer	Hot plate
Selang aerator	Gelas ukur
Batu aerasi	Timbangan analitik
Autoclave	Kertas saring Whatman42
Handtally counter	Pipet tetes
Refraktometer	Thermometer
Lampu TL 40 watt	Spektrofotometer
Mikroskop	

2. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian

Biakan murni <i>N. Oculata</i> 1 liter	FeCl ₃
Air laut	Aluminium foil
Pupuk walne (formulasi dapat dilihat pada lampiran 2)	Kapas
Urea	Kertas Koran
TSP	Alkohol
ZA	Aquadest
EDTA	Kaporit
Natrium thiosulfat	Indikator PP
Petroleum ether	NaOH
Na ₂ CO ₃	Asam fenoldisulfonik
NH ₄ OH	Kertas saring

Lampiran 2. Formulasi Pupuk Walne

Medium Walne

	Konstituen	Jumlah
Larutan A (1 mL per 1 L kultur)	FeCl ₃	0,8 g
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,4 g
	H ₃ BO ₃	33,6 g
	EDTA	45 g
	Na ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	20 g
	NaNO ₃	100 g
	Larutan B	1 mL
	Ditambahkan akuades hingga 1L	Dipanaskan hingga larut
Larutan B	ZnCl ₂	2,1 g
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	2,0 g
	((NH ₄) ₂ MoO ₇ ·4H ₂ O)	0,9 g
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	2,0 g
	HCl	10 mL
	Ditambahkan akuades hingga 0,1 L	Dipanaskan hingga larut
Larutan C (0,1 mL per 1L kultur)	Vitamin B1	0,2 g
	Larutan E	25 mL
	Ditambahkan akuades hingga 0,2 L	
Larutan D (untuk kultur diatom, tambahkan pada larutan A dan C sebanyak 2 mL per 1 L kultur)	Na ₂ SiO ₃ ·5H ₂ O	40 g
	Ditambahkan akuades hingga 1 L	Dikocok hingga larut
Larutan E	Vitamin B12	0,1 g
	Ditambahkan akuades hingga 0,25 L	
Larutan F (untuk kultur <i>Chroomonas salina</i> , tambahkan pada larutan A dan C sebanyak 1 mL per 1 L kultur)	NaNO ₃	200 g
	Ditambahkan akuades hingga 1 L	

Lampiran 3. Data Kelimpahan *Nannochloropsis oculata*

Data pengamatan kelimpahan *Nannochloropsis oculata* ($\times 10^4$) pada media kultur

Konsentrasi Urea	Ulangan	Hasil pengamatan <i>N. oculata</i> ($\times 10^4$)							Total	Rata-rata
		1	2	3	4	5	6	7		
a	1	323	675	698	1030	2058	1478	1011	7273	1039
	2	323	627	659	1171	1347	1037	698	5862	837.428
	3	323	576	634	1123	1600	1354	1088	6698	956.857
Total									2833.28	
Rata-rata									944.428	
b	1	323	688	730	1930	2278	1779	1146	8874	1267.714
	2	323	870	995	2013	2787	1891	1421	10300	1471.429
	3	323	848	966	1840	2947	1651	1136	9711	1387.286
Total									4126.429	
Rata-rata									1375.476	
c	1	323	1018	1062	2026	3098	1930	1875	11332	1618.857
	2	323	1318	1398	2701	3254	3053	1181	13228	1889.714
	3	323	1418	1466	3251	3517	2323	1174	13472	1924.571
Total									5433.143	
Rata-rata									1811.048	
d	1	323	1587	1616	3677	3882	3677	1885	16647	2378.143
	2	323	1629	1651	3859	4157	3427	1670	16716	2388
	3	323	1818	2218	4822	6170	3232	1485	20068	2866.857
Total									7633	
Rata-rata									2544.333	

Kelimpahan *Nannochloropsis oculata* ($\times 10^4$)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
a	1039	837.42	956.85	2833.27	944.42
b	1267.7	1471.4	1387.28	4126.41	1375.47
c	1618.9	1889.7	1924.57	5433.13	1811.04
d	2378.1	2388	2866.85	7633	2544.33
Total				20025.81	

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{rxt} = \frac{20025,81^2}{3 \times 4} = 33419422,18$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (1039)^2 + (837,42)^2 + (956,85)^2 + \dots + (2866,85)^2 - FK \\ &= 37865638,07 - 33419422,18 = 4446215,89 \end{aligned}$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(2833,27)^2 + (4126,41)^2 + (5433,13)^2 + (7633)^2}{3} - FK$$

$$= 37612089,67 - 33419422,18$$

$$= 4192667,48$$

$$JK \text{ Galat} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 4446215,89 - 4192667,48$$

$$= 253548,41$$

Tabel ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	Uji F	
					F 5%	F 1%
Perlakuan	3	4192667,48	1397555,82	44,09**	4,07	7,59
Galat	8	253548,41	31693,55			
Total	11	4446215,89				

Karena F hitung > F 1% →** (berbeda sangat nyata/highly significant) maka H_0 ditolak

H_0 : diduga bahwa pemberian konsentrasi pupuk urea yang berbeda tidak berpengaruh terhadap kadar lemak yang dihasilkan pada *N.oculata*

H_1 : diduga bahwa pemberian konsentrasi pupuk urea yang berbeda berpengaruh terhadap kadar lemak yang dihasilkan pada *N.oculata*.

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT_{galat}}{3}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 31693,55}{3}}$$

$$= 145,35$$

$$BNT \ 5\% = t \text{ tabel } 5\% (db \text{ galat}) \times SED$$

$$= 2,306 \times 145,35$$

$$= 335,17$$

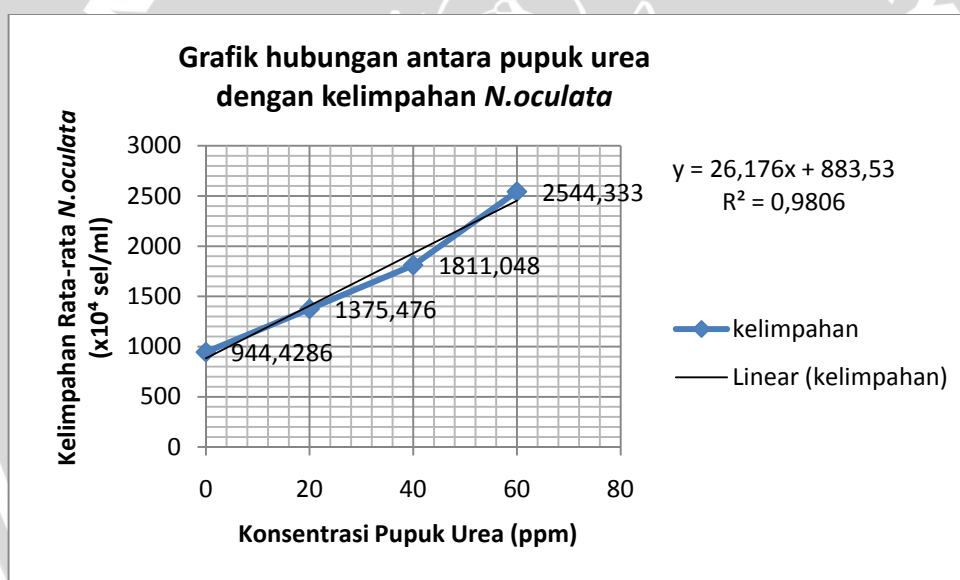
$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t \text{ tabel } 1\% (\text{db galat}) \times \text{SED} \\ &= 3,355 \times 145,35 \\ &= 487,64 \end{aligned}$$

Rata-rata perlakuan	A	B	C	D	Notasi
A(944.42)	-				a
B(1375.47)	431.05*	-			b
C(1811.04)	866.62**	435.57*	-		c
D(2544.33)	1599.91**	1168.86**	733.29**	-	d

Keterangan : Bila selisih < BNT 5% → ns (non significant/tidak berbeda nyata)

Bila BNT 5% < selisih < BNT 1% → * (berbeda nyata)

Bila > BNT 1% → ** (berbeda sangat nyata)



Lampiran 4. Data Kandungan Lemak

Kandungan lemak (%) pada *Nannochloropsis oculata*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
a	4.35	4.02	4.5	12.87	4.29
b	3.73	4.11	1.32	9.16	3.05
c	2.14	1.76	2.35	6.25	2.08
d	1.76	1.52	1.85	5.13	1.71
Total				33.41	11.13

$$FK = \frac{T_{ij}^2}{rxt} = \frac{33,41^2}{3 \times 4} = 93,01$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (4,35)^2 + (4,02)^2 + (4,5)^2 + \dots + (1,85)^2 - FK \\ &= 109,87 - 93,01 \\ &= 16,86 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(12,87)^2 + (9,16)^2 + (6,25)^2 + (5,13)^2}{3} - FK \\ &= 104,96 - 93,01 \\ &= 11,95 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 16,86 - 11,95 \\ &= 4,91 \end{aligned}$$

Tabel ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	Uji F	
					F 5%	F 1%
Perlakuan	3	11.95	3.98	6.52*	4.07	7.59
Galat	8	4.91	0.61			
Total	11	16.86				

Karena $F \text{ tabel } 5\% < F \text{ hitung} < F \text{ tabel } 1\% \rightarrow *$ (berbeda nyata/significant) maka H_0 ditolak

- H_0 : diduga bahwa pemberian konsentrasi pupuk urea yang berbeda tidak berpengaruh terhadap kadar lemak yang dihasilkan pada *N.oculata*
- H_1 : diduga bahwa pemberian konsentrasi pupuk urea yang berbeda berpengaruh terhadap kadar lemak yang dihasilkan pada *N.oculata*.

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \times K T \text{ galat}}{3}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,61}{3}} \\ &= 0,637 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db galat)} \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,637 \\ &= 1,468 \end{aligned}$$

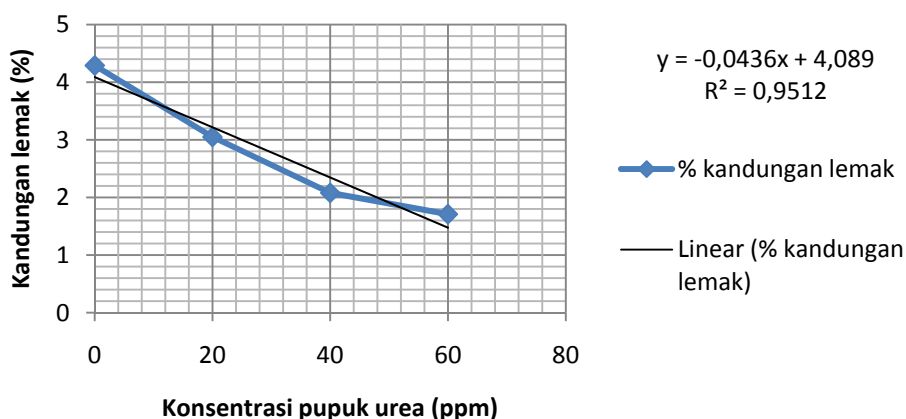
$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db galat)} \times \text{SED} \\ &= 3,355 \times 0,637 \\ &= 2,137 \end{aligned}$$

Rata-rata perlakuan	D	C	B	A	Notasi
D(1.71)	-				a
C(2.08)	0.37*	-			b
B(3.05)	1.34**	0.97**	-		c
A(4.29)	2.58**	2.21**	1.24**	-	d

Keterangan : * = berbeda nyata (significant)

**= berbeda sangat nyata (highly significant)

Grafik hubungan antara pupuk dengan % kandungan lemak



Lampiran 5.

Daftar Hasil Pengamatan Suhu (°C) Selama Penelitian

media	ulangan	hasil pengamatan suhu (°C) selama penelitian						
		1	2	3	4	5	6	7
a	1	25.9	24.9	25.5	26.6	26.4	26.8	26.6
	2	26.3	25.6	26.1	27.4	27	26.9	26.9
	3	24.8	24.1	24.6	26.2	25.8	25.7	25.4
total		77	74.6	76.2	80.2	79.2	79.4	78.9
Rata-rata		25.6	25	25.4	26.7	26.4	26.4	26.3
b	1	25.4	24.3	24.7	26.3	26	26.2	26
	2	25.8	25.1	25.9	27.1	26.8	26.9	26.5
	3	26.7	25.6	26.4	27.2	27.9	26.6	27.5
total		77.9	75	77	80.6	80.7	79.7	80
Rata-rata		25.9	25	25.6	26.8	26.9	26.5	26.6
c	1	25.7	24.9	25.7	26.6	26.7	26.7	26.5
	2	26.5	25.8	26.7	26.8	28.1	27.9	27.5
	3	26.5	26.1	27	28.1	28	27.8	27.5
total		78.7	76.8	79.4	81.5	82.8	82.4	81.5
Rata-rata		26.2	25.6	26.4	27.1	27.6	27.4	27.1
d	1	26.6	26.4	27.3	27.8	27.8	28.3	28.1
	2	25.3	24.5	25.1	26.6	26.1	26.2	25.9
	3	25.5	24.7	25.2	26.5	26.4	27.7	26.4
total		77.4	75.6	77.6	80.9	80.3	82.2	80.4
Rata-rata		25.8	25.2	25.8	26.9	26.7	27.4	26.8

Lampiran 6.

Daftar Hasil Pengamatan Salinitas (ppt) Selama Penelitian

media	ulangan	hasil pengamatan salinitas (‰) selama penelitian						
		1	2	3	4	5	6	7
a	1	33	33	32	30	30	30	30
	2	32	32	32	30	30	30	31
	3	33	33	32	30	30	31	30
total		98	98	96	90	90	91	91
Rata-rata		32.6	32.6	32	30	30	30.3	30.3
b	1	33	33	32	31	30	30	30
	2	32	32	32	30	30	30	30
	3	32	33	32	30	30	30	30
total		97	98	96	91	90	90	90
Rata-rata		32.3	32.6	32	30.3	30	30	30
c	1	33	32	32	30	30	30	31
	2	33	33	32	32	30	30	30
	3	32	33	32	30	30	30	30
total		98	98	96	92	90	90	91
Rata-rata		32.6	32.6	32	30.6	30	30	30.3
d	1	32	33	32	31	30	30	30
	2	32	33	32	30	30	30	30
	3	32	33	32	30	30	30	30
total		96	99	96	91	90	90	90
Rata-rata		32	33	32	30.3	30	30	30

Lampiran 7.

Daftar Hasil Pengamatan pH Selama Penelitian

media	ulangan	hasil pengamatan pH selama penelitian						
		1	2	3	4	5	6	7
a	1	7.57	7.86	8.76	8.67	8.89	7.81	7.43
	2	7.81	8.12	8.98	8.34	9.21	7.5	7.38
	3	7.53	7.83	8.68	8.54	8.8	7.27	7.21
total		22.91	23.81	26.42	25.55	26.9	22.58	22.02
Rata-rata		7.63	7.93	8.80	8.51	8.96	7.52	7.34
b	1	7.51	7.86	8.59	8.51	8.93	7.49	7.61
	2	7.87	8.2	9.3	9.23	9.72	8.2	8.18
	3	7.57	8.05	8.76	8.87	9.01	7.63	7.33
total		22.95	24.11	26.65	26.61	27.66	23.32	23.12
Rata-rata		7.65	8.03	8.88	8.87	9.12	7.77	7.70
c	1	7.83	8.15	9.11	9.14	9.64	8.2	8.12
	2	7.83	8.25	9.29	9.98	9.82	8.35	8.2
	3	7.85	8.25	9.22	9.36	9.86	8.23	8.11
total		23.51	24.65	27.62	28.48	29.32	24.78	24.43
Rata-rata		7.83	8.21	9.20	9.29	9.22	8.26	8.14
d	1	7.71	8.5	9.74	9.76	9.76	7.5	7.61
	2	7.67	7.97	8.82	8.86	9.27	7.79	7.75
	3	7.63	8	8.85	8.79	9.13	7.69	7.59
total		23.01	24.47	27.41	27.41	28.16	22.98	22.95
Rata-rata		7.67	8.15	9.13	9.13	9.28	7.66	7.65

Lampiran 8.

Daftar Hasil Pengamatan DO (mg/liter) Selama Penelitian

media	ulangan	hasil pengamatan DO (mg/l) selama penelitian						
		1	2	3	4	5	6	7
a	1	4.57	4.71	7.68	6.71	7.57	7.21	8.27
	2	4.85	4.09	7.79	7.55	6.96	7.3	7.93
	3	5.11	4.72	7.83	7.54	7.34	7.48	7.99
total		14.53	13.52	23.3	21.8	21.87	21.99	24.19
Rata-rata		4.84	4.50	7.76	7.26	7.29	7.33	8.06
b	1	4.98	6.01	7.89	7.42	7.63	7.77	8.13
	2	5.08	4.58	7.97	7.61	7.24	7.41	7.96
	3	4.97	4.88	7.34	7.36	7	7.7	7.71
total		15.03	15.47	23.2	22.39	21.87	22.88	23.8
Rata-rata		5.01	5.15	7.73	7.46	7.29	7.62	7.93
c	1	5.07	5.69	7.92	7.72	7.29	7.46	7.93
	2	4.87	5.07	7.99	7.72	7.32	7.47	7.96
	3	4.76	4.32	7.84	7.82	6.84	7.03	7.89
total		14.7	15.08	23.75	23.26	21.45	21.96	23.78
Rata-rata		4.9	5.02	7.91	7.75	7.15	7.32	7.92
d	1	5.61	5.48	7.66	7.34	7.39	7.46	7.98
	2	5.22	4.96	7.89	7.63	7.37	7.68	7.75
	3	5.11	5.66	8.64	8.01	7.78	7.29	8.53
total		15.94	16.1	24.19	22.98	22.54	22.43	24.26
Rata-rata		5.31	5.36	8.06	7.66	7.51	7.47	8.08

Lampiran 9. Laporan Hasil Uji Pendahuluan Lemak



LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU DAN KEAMANAN PANGAN
(TESTING LABORATORY OF FOOD QUALITY AND FOOD SAFETY)
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN - UNIVERSITAS BRAWIJAYA
Jl. Veteran, Malang 65145, Telp./Fax. (0341)573358
Email : lpmkp-thpbrawijaya@yahoo.com

KEPADA : Rizky Ni'mal Maula
TO FPI – UB
Malang

LAPORAN HASIL UJI REPORT OF ANALYSIS

Nomor / Number : 2046/THP/LAB/2009
Nomor Analisis / Analysis Number : 2046
Tanggal penerbitan / Date of issue : 15 Desember 2009

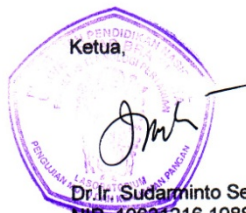
Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian
The undersigned ratifies that examination

Dari contoh / of the sample (s) of : Chlorrella Laut
Untuk analisis / For analysis : Kimia
Keterangan contoh / Description of sample :
Diambil dari / Taken from : -
Oleh / By : -
Tanggal penerimaan contoh / Received : 30 November 2009
Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 1 Desember 2009

Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows :

Parameter	Hasil
Lemak (%)	0,86

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK
CONTOH-CONTOH TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL
CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS KEBENARAN
TANDING BARANG



Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.Sc.
NIP. 19631216 198803 1 002

Lampiran 10. Foto Kegiatan Selama Penelitian

