

KOMBINASI PEMBERIAN DOSIS PUPUK UREA DAN SP 36 TERHADAP  
KANDUNGAN PROTEIN DAN KEPADATAN SEL *Nannochloropsis oculata*

SKRIPSI

PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

Oleh :

MUHAMMAD AINUL YAQIN

NIM. 115080101111079



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015



KOMBINASI PEMBERIAN DOSIS PUPUK UREA DAN SP 36 TERHADAP  
KANDUNGAN PROTEIN DAN KEPADATAN SEL *Nannochloropsis oculata*

SKRIPSI  
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya

Oleh :

MUHAMMAD AINUL YAQIN  
NIM. 115080101111079



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2015

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

KOMBINASI PEMBERIAN DOSIS PUPUK UREA DAN SP 36 TERHADAP  
KANDUNGAN PROTEIN DAN KEPADATAN SEL *Nannochloropsis oculata*

Oleh:

MUHAMMAD AINUL YAQIN  
NIM. 115080101111079

telah diperhankan didepan penguji  
pada tanggal 13 Juli 2015  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. : \_\_\_\_\_

Tanggal : \_\_\_\_\_

Dosen Penguji I

Ir. Sri Sudaryanti, MS.  
NIP. 19601009 198602 2 001  
Tanggal: \_\_\_\_\_

Dosen Penguji II

Ir. Supriatna, M.Si  
NIP. 19640515 199003 1 003  
Tanggal: \_\_\_\_\_

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I

Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si.  
NIP. 19730404 200212 2 001  
Tanggal: \_\_\_\_\_

Dosen Pembimbing II

Ir. Kusriani, MP.  
NIP. 19560417 198403 2 001  
Tanggal: \_\_\_\_\_

Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.)  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal: \_\_\_\_\_

### **PERNYATAAN ORISINALITAS**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Ainul Yaqin

NIM : 115080101111079

Prodi : Manajemen sumber daya perairan

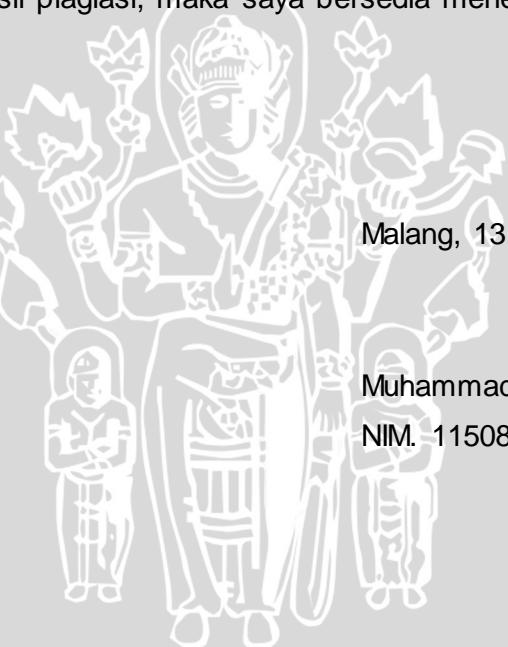
Dengan ini saya menyatakan bahwa pembuatan Laporan Penelitian Skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya sendiri dan sepanjang sepengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan Laporan Penelitian Skripsi ini hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 13 Juli 2015

Muhammad Ainul Yaqin

NIM. 115080101111079



## RINGKASAN

**MUHAMMAD AINUL YAQIN.** Kombinasi Pemberian Dosis Pupuk Urea dan SP 36 terhadap Kandungan Protein dan Kepadatan Sel *Nannochloropsis oculata* (di bawah bimbingan **Dr. Uun Yanuhar, S.Pi. M.Si** dan **Ir. Kusriani, MP**).

Ketersediaan fitoplankton penting dalam kontrol kualitas air dan berperan sebagai produsen primer karena dijadikan pakan pada budidaya zooplankton, yang kemudian zooplankton akan dimakan larva ikan (Yuliastuti, 2007). Jenis fitoplankton yang memenuhi syarat dalam pemeliharaan larva ikan salah satunya adalah *Nannochloropsis oculata*. Dianursanti dan Wijanarko (2007) menjelaskan kelebihan dari *Nannochloropsis oculata* yaitu mudah untuk dikultur secara semi ataupun massal, tidak menimbulkan racun atau kerusakan di bak pemeliharaan larva dan pertumbuhannya relatif cepat. Widyaningrum *et al.*, (2013), menyatakan bahwa siklus hidup *N. oculata* selama 10 hari sampai fase kematian. Penggunaan pupuk dalam media kultur *N. oculata* sangat penting untuk meningkatkan nilai produktivitas kultur serta kualitas biomassa yang baik. Pupuk urea merupakan pupuk kimia yang mengandung Nitrogen (N) berkadar tinggi. Pupuk SP 36 menurut Balai Penelitian Tanah (2005) adalah pupuk fosfat buatan berbentuk granular (butiran), berwarna abu-abu dan mudah larut dalam air.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh kombinasi pemberian dosis pupuk urea dan SP 36 terhadap kepadatan sel dan kandungan protein *N. oculata*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – April 2015 yang bertempat di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan serta Laboratorium Reproduksi Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap Tersarang dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan pada penelitian ini yaitu pemberian kombinasi pupuk urea dan SP 36 dengan dosis pupuk: A (40 ppm urea dan 5 ppm SP 36), B (70 ppm urea dan 10 ppm SP 36), C (100 ppm urea dan 15 ppm SP 36), dan Kontrol (pupuk walne 1ml/L).

Hasil pengamatan kepadatan sel menunjukkan bahwa perlakuan pupuk dengan dosis A merupakan perlakuan paling baik dengan rata-rata kepadatan 19.506 sel/ml, di ikuti perlakuan B sebesar 17.250 sel/ml, lalu perlakuan C sebesar 15.375 sel/ml, dan kontrol sebesar 12.333 sel/ml. Hasil rata-rata pertumbuhan harian selama 6 hari pada masing-masing perlakuan yaitu: A= 6.403 sel/ml, B= 5.938 sel/ml, C= 5.569 sel/ml dan kontrol sebesar 4.528 sel/ml. Hasil perhitungan kadar protein menunjukkan hasil yang berbanding lurus dengan kepadatan sel, adapun nilai protein masing-masing perlakuan sebagai berikut: perlakuan A= 0,23%, perlakuan B= 0,22%, perlakuan C= 0,2% dan kontrol 0,08%. Parameter kualitas air pada saat kultivasi yang meliputi suhu berkisar 23° - 27°C, oksigen terlarut berkisar 7,06 - 8,07 mg/l, salinitas berkisar 30 - 32 ppt, CO<sub>2</sub> berkisar 7,8 - 71,9 mg/l, nitrat berkisar 0,35 - 1,05 mg/l, orthofosfat berkisar 0,04 - 0,20 mg/l, dan pH berkisar 7,0 - 7,3. Secara keseluruhan, kualitas air pada media kultivasi dapat ditolerir oleh mikroalga *N. oculata*.

Kesimpulan pada penelitian ini yaitu, perlakuan pemberian dosis pupuk kombinasi urea dan SP 36 yang berbeda akan memberikan pengaruh terhadap kepadatan sel dan kandungan protein *N. oculata*. Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan menggunakan pupuk dengan konsentrasi urea 40 ppm dan SP 36 5 ppm karena menghasilkan kepadatan sel maupun kandungan protein tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya.

## KATA PENGANTAR

Puja serta puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat, taufik dan hidayah Nya lah saya dapat menyelesaikan penelitian skripsi yang berjudul “KOMBINASI PEMBERIAN DOSIS PUPUK UREA DAN SP 36 TERHADAP KANDUNGAN PROTEIN DAN KEPADATAN SEL *Nannochloropsis oculata*”. Kurun waktu penyusunan laporan penelitian skripsi ini tentunya tidak sedikit hambatan yang saya hadapi. Namun penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan penelitian skripsi ini berjalan dengan baik atas bantuan, dorongan dan bimbingan dari orang tua maupun dosen-dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Uun Yanuhar, S.Pi. M.Si selaku dosen pembimbing 1 yang selalu telah membimbing serta memberikan nasehat yang membangun.
2. Ir. Kusriani, MP selaku dosen pembimbing 2 atas bimbingan serta nasehat yang telah diberikan.
3. Orang tua tercinta, yang senantiasa memberi dukungan baik moril maupun materil.
4. Rekan-rekan seperjuangan “Tim Alga” maupun teman-teman MSP 2011 yang telah membantu selama proses penelitian skripsi ini.

Semoga Penelitian Skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua kalangan, baik bagi mahasiswa lain maupun bagi masyarakat sehingga tujuan yang diharapkan dapat tercapai, Amin Ya Rabbal Alamiin.

Malang, 13 Juli 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

RINGKASAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	3
1.3 Tujuan penelitian .....	3
1.4 Manfaat .....	3
1.5 Hipotesa .....	4
1.6 Waktu dan tempat .....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 <i>Nannochloropsis oculata</i> .....	5
2.1.1 Klasifikasi dan morfologi .....	5
2.1.2 Sifat ekologis dan reproduksi .....	6
2.1.3 Manfaat <i>N. oculata</i> .....	6
2.1.4 Fase pertumbuhan <i>N. oculata</i> .....	7
2.2 Faktor-faktor pertumbuhan <i>N. oculata</i> .....	9
2.2.1 Cahaya .....	9
2.2.2 Aerasi .....	10
2.2.3 Parameter kualitas air .....	10
2.3 Media pertumbuhan .....	13
2.3.1 Pupuk urea .....	13
2.3.2 Pupuk SP 36 .....	14
3. METODE PENELITIAN .....	15
3.1 Materi penelitian .....	15
3.2 Alat dan bahan .....	15
3.3 Metode penelitian .....	15
3.4 Rancangan penelitian .....	15
3.5 Prosedur penelitian.....	17
3.5.1 Sterilisasi alat dan media .....	17
3.5.2 Pelaksanaan penelitian .....	17
3.6 Parameter uji .....	18
3.6.1 Kepadatan sel .....	18
3.6.2 Analisis protein .....	19
3.7 Parameter kualitas air .....	20
3.7.1 Parameter fisika air .....	20
3.7.2 Parameter kimia air .....	20
3.8 Analisis data .....	23
4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	26
4.1 Morfologi dan kepadatan sel <i>Nannochloropsis oculata</i> .....	26



4.2 Pertumbuhan harian <i>N. oculata</i> .....	32
4.3 Analisis protein <i>N. oculata</i> .....	33
4.3.1 Kandungan protein tiap sel .....	35
4.4 Mekanisme transport nutrien pada sel mikroalga .....	38
4.5 Parameter kualitas air kultur <i>N. oculata</i> .....	40
4.5.1 Suhu .....	41
4.5.2 Derajat keasaman .....	42
4.5.3 Oksigen terlarut .....	44
4.5.4 Salinitas .....	45
4.5.5 Karbondioksida ( $\text{CO}_2$ ) .....	46
4.5.6 Nitrat .....	47
4.5.7 Orthofosfat .....	49
5. KESIMPULAN DAN SARAN .....	50
5.1 Kesimpulan .....	50
5.2 Saran .....	50
DAFTAR PUSTAKA .....	51
LAMPIRAN .....	57



**DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
1. Rancangan penelitian .....	16
2. Analisis sidik ragam.....	24
3. Analysis of varian (ANOVA) .....	25
4. Rata-rata kepadatan sel (sel/ml) <i>N. oculata</i> .....	27
5. Analisis sidik ragam kepadatan sel <i>N. oculata</i> .....	30
6. Hasil uji BNT perlakuan dosis pupuk terhadap kepadatan <i>N. oculata</i> .....	31
7. Rata-rata pertumbuhan harian (sel/hari) <i>N. oculata</i> selama penelitian.....	32
8. Hasil uji BNT perlakuan pupuk terhadap protein <i>N. oculata</i> .....	35
9. Kandungan protein tiap sel <i>N. oculata</i> (mg/sel) .....	36
10. Standar syarat mutu pupuk urea dan SP 36 .....	38
11. Kisaran suhu rata - rata ( $^{\circ}$ C) kultivasi pada tiap perlakuan .....	41
12. Kisaran pH selama penelitian .....	42
13. Rata-rata oxygen demand (mg/l) selama penelitian .....	44
14. Rata-rata nilai salinitas (ppt) selama penelitian.....	46
15. Rata-rata kandungan $\text{CO}_2$ (mg/l) .....	47
16. Kandungan rata-rata nitrat (mg/l) selama penelitian .....	48
17. Kandungan orthofosfat (mg/l) selama penelitian .....	49



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Halaman
1. Pola pertumbuhan fitoplankton .....	9
2. Tata letak penelitian.....	16
3. Morfologi <i>N. oculata</i> .....	27
4. Rata-rata kepadatan <i>N. oculata</i> selama penelitian .....	29
5. Rata-rata pertumbuhan harian <i>N. oculata</i> .....	32
6. Kandungan protein (%) <i>N. oculata</i> .....	32
7. Kandungan protein tiap sel <i>N. oculata</i> .....	34
8. <i>Flow chart</i> perombakan unsur nitrogen menjadi protein .....	39
9. Proses penyerapan nitrat menjadi protein .....	40
10. Grafik rata-rata suhu kultivasi selama penelitian.....	41
11. Grafik rata-rata pH selama penelitian. ....	40
12. Grafik rata-rata oksigen terlarut selama penelitian.....	43
13. Grafik rata-rata salinitas selama penelitian.....	43



**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan dosis pupuk.....	58
2. Alat dan bahan penelitian.....	60
3. Kepadatan sel <i>N. oculata</i> (sel/ml) .....	61
4. Perhitungan analisis sidik ragam dan uji BNT kepadatan sel <i>N. oculata</i> ....	64
5. Pertumbuhan harian <i>N. oculata</i> (sel/ml) .....	65
6. Kandungan protein (%) <i>N. oculata</i> setelah perlakuan .....	67
7. Perhitungan analisis sidik ragam dan Uji BNT Protein <i>N. oculata</i> .....	68
8. Perhitungan kandungan protein tiap sel <i>N. oculata</i> (mg/sel) .....	69
9. Pengamatan suhu air (°C) kultur <i>N. oculata</i> .....	70
10. Pengamatan pH kultur <i>N. oculata</i> .....	71
11. Pengamatan oksigen terlarut (mg/l) kultur <i>N. oculata</i> .....	72
12. Pengamatan salinitas (mg/l) kultur <i>N. oculata</i> .....	73
13. Pengamatan CO <sub>2</sub> (mg/l) kultur <i>N. oculata</i> .....	74
14. Pengamatan nitrat (mg/l) kultur <i>N. oculata</i> .....	75
15. Pengamatan orthofosfat (mg/l) kultur <i>N. oculata</i> .....	76

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Fitoplankton sangat penting dalam dunia perikanan karena merupakan mata rantai siklus makanan pada lingkungan akuatik (Mamduh *et al.*, 2013). Selain sebagai sumber protein, karbohidrat dan lemak, manfaat pakan alami terutama mikroalga digunakan sebagai sumber utama asam lemak esensial (Renaud *et al.*, 1999). Selain itu ketersediaan fitoplankton penting dalam kontrol kualitas air dan juga sebagai produsen primer karena menjadi pakan alami pada budidaya zooplankton rotifera, yang kemudian zooplankton akan dimakan larva ikan (Yuliastuti, 2007).

Jenis fitoplankton yang memenuhi syarat dalam pemeliharaan larva ikan salah satunya adalah *Nannochloropsis oculata* yang dibudidayakan karena memiliki kandungan nutrisi yang tinggi. Riedl (2009) menyatakan bahwa, kandungan nutrisi *Nannochloropsis oculata* meliputi; protein 52,11 persen, karbohidrat 16,00 persen, lemak 27,65 persen, EPA 30,50 persen, total ω3-HUFA 42,70 persen, vitamin C 0,85 persen, dan klorofil α 0,89 persen. Dianursanti dan Wijanarko (2007) menjelaskan kelebihan dari *Nannochloropsis oculata* yaitu mudah untuk dikultur secara semi ataupun massal, tidak menimbulkan racun atau kerusakan di bak pemeliharaan larva, pertumbuhannya relatif cepat, memiliki kandungan antibiotik dan memiliki kemampuan adsorbsi.

Penggunaan pupuk dalam media kultur *Nannochloropsis oculata* sangat penting untuk meningkatkan nilai produktivitas kultur serta kualitas biomassa yang baik. Naughton (1998) menyatakan bahwa penambahan pupuk dalam medium dapat meningkatkan pertumbuhan mikroalga 10 kali lebih cepat dibandingkan dengan kultur mikroalga tanpa penambahan pupuk. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa mikroalga mengalami perubahan



komposisi biokimia ketika kondisi-kondisi kultur bervariasi. Perubahan-perubahan biokimia terbesar dihubungkan dengan rendahnya kandungan nitrogen di dalam media biakan yang menyebabkan penurunan protein mikroalga dan peningkatan kandungan lipid dan karbohidrat yang cukup besar (Renaud *et al.*, 1991).

Pupuk anorganik merupakan unsur-unsur essensial bagi pertumbuhan tanaman baik tanaman tingkat tinggi maupun rendah. Berdasarkan asalnya, pupuk dibedakan menjadi dua yaitu pupuk organik dan pupuk anorganik. Pupuk organik atau pupuk alami seperti pupuk kandang dan pupuk hijau. Pupuk anorganik atau pupuk buatan merupakan semua jenis pupuk yang berasal dari bahan kimia anorganik dibuat oleh pabrik (Amidi dan Syamididi, 2006).

Salah satu pupuk anorganik adalah urea. Urea merupakan pupuk tunggal yang hanya mengandung satu unsur saja yaitu nitrogen. Sintesa urea dalam jumlah besar dilakukan langsung dari amoniak dan karbondioksida ( $2\text{NH}_3 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}_2 + \text{H}_2\text{O}$ ) (Amidi dan Syamididi, 2006).

Pupuk SP 36 merupakan pupuk fosfat buatan berbentuk granular (butiran) yang dibuat dari batuan fosfat dengan campuran asam fosfat asam fosfat dengan asam sulfat. Komponen utamanya mengandung unsur hara fosfor dalam bentuk mono kalsium fosfat, Ca ( $\text{H}_2\text{PO}_4$ ). Syarat mutu pupuk SP 36 antara lain mengandung kadar unsur hara fosfor sebagai  $\text{P}_2\text{O}_5$  total minimal 36 %,  $\text{P}_2\text{O}_5$  larut dalam asam sitrat 2 % minimal 34 %,  $\text{P}_2\text{O}_5$  larut dalam air minimal 30 %, kadar belerang (sebagai S) Minimal 5, kadar asam bebas (sebagai  $\text{H}_2\text{PO}_4$ ) maksimal 6 %, kadar air maksimal 5 (Balai Penelitian Tanah, 2005).

Aplikasi pemberian pupuk urea dengan konsentrasi yang berbeda pada penelitian Goswami (2011), menunjukkan hasil bahwa konsentrasi urea 100 ppm mampu menghasilkan kelimpahan lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 200 ppm. Sementara itu, hasil

penelitian Wijaya (2006), menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi pupuk urea 40 ppm mampu menghasilkan kepadatan sel maupun *N. oculata* tertinggi yaitu  $16,27 \times 10^6$  sel/ml pada hari keenam setelah inokulasi. Oleh karena itu, pemanenan mikroalga *N. oculata* pada penelitian ini pada fase eksponensial yaitu hari keenam. Ketika fase eksponensial, jumlah pertumbuhan dalam kondisi tinggi dan jumlah pertumbuhan tersebut yang dibutuhkan untuk uji kandungan protein *N. oculata*.

Keberadaan pupuk yang mengandung unsur hara nitrat dan fosfat merupakan nutrisi yang penting dalam menunjang keberhasilan kultur mikroalga *N. oculata*, baik kelimpahannya maupun kandungan nutrisi yang ada pada mikroalga tersebut. Penambahan nitrat dan fosfat dalam bentuk pupuk kombinasi urea dan SP 36 perlu diketahui dosis yang optimal untuk pertumbuhan sel maupun kandungan proteinnya, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh dosis pupuk kombinasi urea dan SP 36 terhadap kepadatan sel dan kandungan protein *N. oculata*.

### 1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat disusun rumusan masalah, bagaimana kombinasi pemberian dosis pupuk urea dan pupuk SP 36 terhadap kandungan protein dan kepadatan sel *N. oculata*?

### 1.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh kombinasi pemberian dosis pupuk urea dan SP 36 terhadap kepadatan sel dan kandungan protein *N. oculata*.

### 1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan manfaat mengenai kombinasi penggunaan pupuk urea dan SP 36 terhadap kepadatan sel dan kandungan

protein *N. oculata*, sehingga dapat diaplikasikan kepada para pelaku budidaya mikroalga.

### 1.5 Hipotesa

$H_0$  : Diduga dengan menggunakan dosis pupuk kombinasi SP 36 dan urea tidak berpengaruh terhadap kandungan protein dan kepadatan sel *N. oculata*.

$H_1$  : Diduga dengan menggunakan dosis pupuk kombinasi SP 36 dan urea yang berbeda dapat berpengaruh terhadap kandungan protein dan kepadatan sel *N. oculata*.

### 1.6 Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – April 2015 yang bertempat di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan serta Laboratorium Reproduksi Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Nannochloropsis oculata*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan morfologi

Taksonomi mikroalga laut *Nannochloropsis oculata* menurut Garofalo (2009)

sebagai berikut:

Kingdom : Protista

Super Divisi : Eukaryotes

Divisi : Chromophyta

Kelas : Eustigmatophyceae

Ordo : Eustigmatales

Famili : Monodopsidaceae

Genus : *Nannochloropsis*

Spesies : *Nannochloropsis oculata*

*N. oculata* merupakan alga yang memiliki sel berwarna kehijauan. Selnya berbentuk bola berukuran kecil dengan diameter 2 – 4  $\mu\text{m}$ , dengan kloroplas berbentuk cangkir. *N. oculata* melimpah di sepanjang pantai dan estuari di atas zona fotik dengan konsentrasi 102 – 104 sel/cm<sup>3</sup> (Hu and Gao, 2003).

Sel *N. oculata* memiliki kloroplas yang mengandung klorofil a dan c serta pigmen fucoxanthin (Riedl, 2009). Dinding sel *Nannochloropsis oculata* terbuat dari komponen selulosa yang kuat dan merupakan karbohidrat kompleks yang bermanfaat untuk mengikat zat-zat toksik sehingga dapat dikeluarkan dari dalam tubuh serta mempunyai kemampuan mengikat aktivitas sistem kekebalan tubuh. Selain itu juga memiliki kloroplas dan nukleus yang dilapisi oleh membran. Kloroplas ini memiliki stigma (bintik mata) di sitoplasma yang sensitif terhadap cahaya (Waggoner dan Speer, 1999).

### 2.1.2 Sifat ekologis dan reproduksi

*N. oculata* dapat tumbuh baik pada kisaran pH 7 – 9 tetapi tumbuh rendah pada pH 10 (Elzenga *et al.*, 2000). Suhu optimum hidup *Nannochloropsis oculata* antara 25 – 30°C, sedangkan salinitas antara 25 – 35 ppm (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Intensitas cahaya sangat diperlukan oleh mikroalga untuk melakukan fotosintesis (Taw, 1990). Intensitas cahaya yang dibutuhkan mikroalga berkisar 500 hingga 5.000 lux ketika di dalam ruang kultur, sedangkan untuk kultur mikroalga semi masal maupun masal dengan ruang terbuka lebih baik diberikan intensitas cahaya dibawah 10.000 lux (Cahyaningsih, 2009).

Pertumbuhan suatu organisme dapat ditinjau dari dua segi, yaitu pola pertumbuhan dari segi sel sebagai individu dan pola pertumbuhan dari segi kelompok sebagai satu populasi. Pertumbuhan sel merupakan adanya penambahan volume sel serta bagian-bagian sel lainnya, yang bisa diartikan juga penambahan kuantitas kandungan di dalam selnya. Pertumbuhan populasi merupakan adanya pertumbuhan individu, misalnya satu sel menjadi dua sel, dari dua sel menjadi empat sel dan seterusnya (Lakitan, 2007). Organisme satu sel seperti *Nannochloropsis* sp. pola pertumbuhan berupa pertambahan jumlah sel (Dwijoseputro, 1994).

### 2.1.3 Manfaat *N. oculata*

Salah satu manfaat *N. oculata* adalah sebagai penunjang budidaya perikanan. Fitoplankton merupakan mata rantai dasar dalam ekosistem perairan laut, dapat dimanfaatkan langsung untuk pakan organisme budidaya *non fin fish* dan sebagai pakan zooplankton (Coutteau, 1996). Saat ini, lebih dari 40 spesies fitoplankton yang telah berhasil dibudidayakan, guna menunjang kegiatan pembenihan ikan. Pemilihan jenis pakan hidup untuk organisme budidaya merupakan prakultur yang harus dicermati dengan baik (Villegas, 1995)

Fungsi pakan hidup pada tingkatan tertentu masih belum dapat digantikan oleh pakan buatan, karena kemampuan larva mencerna pakan buatan masih sangat terbatas (Rusyani *et al.*, 2007). Disamping itu, fitoplankton ditambahkan ke dalam media pemeliharaan untuk mengurangi intensitas cahaya yang masuk dan dapat mengurangi gas beracun yang ada dalam media pemeliharaan, merupakan penstabil kualitas air dalam media pemeliharaan larva (Coutteau, 1996). Fitoplankton yang sudah dikembangkan untuk menunjang kegiatan pemberian ikan laut salah satunya adalah *Nannochloropsis oculata*.

#### 2.1.4 Fase pertumbuhan *N. oculata*

Pertumbuhan *N. oculata* dalam kultur dengan media umumnya sangat dipengaruhi oleh suhu, salinitas, cahaya, pH, aerasi dan nutrisi. Pertambahan sel dalam kultur tersebut akan mengikuti pola tertentu, yaitu kurva S atau sigmoid. Pelczar *et al.*, (1986) membagi pola pertumbuhan atau kurva pertumbuhan tersebut menjadi lima fase pertumbuhan, antara lain:

##### 1. Fase Lag

Fase ini disebut sebagai fase adaptasi terhadap kondisi lingkungan, karena sel alga sedang beradaptasi terhadap media tumbuhnya. Fase ini ditandai dengan peningkatan populasi yang tidak nyata. Pada fase ini sel alga tersebut tetap hidup, namun tidak berkembang biak. Lamanya fase lag tergantung pada inokulan yang dimasukkan. Sel-sel yang diinokulasikan pada awal fase logaritmik akan mengalami fase lag yang amat singkat. Inokulan yang berasal dari kultur yang sudah tua akan mengalami fase lag yang lama, karena membutuhkan waktu untuk menyusun enzim–enzim yang tidak aktif lagi (Pelzar *et al.*, 1986).



## 2. Fase Logaritmik / eksponensial

Fase ini ditandai dengan naiknya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat beberapa kali lipat. Fase eksponensial karena pesatnya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat melalui pembelahan sel dan apabila dihitung secara matematis membentuk fungsi logaritma. Pada fase ini sel alga sedang aktif berkembang biak. Ciri metabolisme selama fase eksponensial ini adalah tingginya aktivitas yang berguna untuk pembentukan protein dan komponen penyusun plasma sel yang dibutuhkan dalam pertumbuhan (Laven and Sorgeloos, 1996).

## 3. Fase penurunan laju pertumbuhan

Fase ini ditandai dengan terjadinya penurunan laju pertumbuhan jika dibandingkan dengan fase eksponensial. Fase penurunan karena terjadi penurunan pertambahan populasi persatuan waktu bila dibandingkan dengan fase eksponensial (Pelczar *et al.*, 1986).

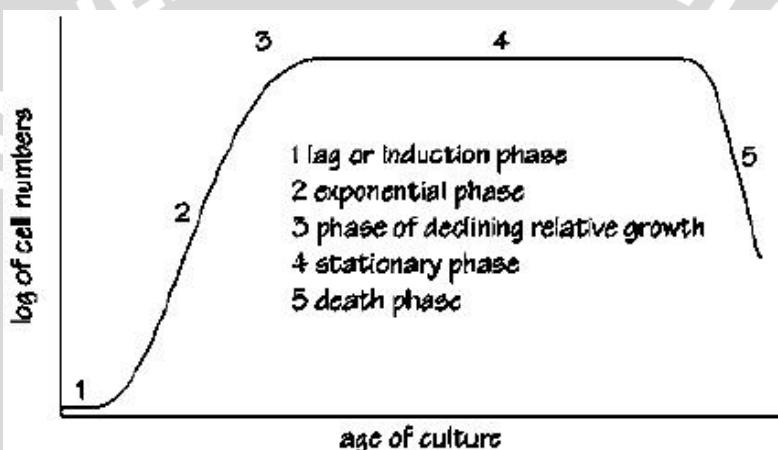
## 4. Fase Stasioner

Fase stationer ditandai dengan seimbangnya laju pertumbuhan dengan laju kematian. Fase statis karena pertambahan kepadatan populasi seimbang dengan laju kematian sehingga sepertinya tidak ada lagi adanya pertumbuhan populasi. Jumlah sel cenderung tetap diakibatkan sel telah mencapai titik jenuh. Pertumbuhan sel yang baru dihambat oleh keberadaan sel yang telah mati dan faktor pembatas lainnya. Faktor lain yang dapat menghambat pertumbuhan kultur yang terlalu padat sehingga terbentuk bayangan oleh mikroalga itu sendiri, sehingga terjadi pembatasan dalam bentuk penggunaan cahaya (laven and Sorgeloos, 1996).

## 5. Fase Kematian

Pada fase kematian ditandai dengan kepadatan populasi yang terus berkurang, hal ini dikarenakan laju kematian yang lebih tinggi dari pada laju pertumbuhan (Pelczar *et al.*, 1986).

5 tahapan pada fase hidup fitoplankton *N. oculata* terjadi selama 10 hari dan fase eksponensial terjadi pada hari ke lima (Widyaningrum *et al.*, 2013). Adapun fase hidup fitoplankton menurut Laven dan Sorgeloos (1996) dapat dijelaskan pada Gambar 1 sebagai berikut:

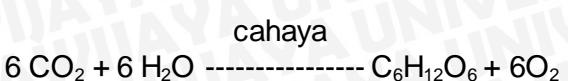


Gambar 1. Pola pertumbuhan fitoplankton.

## 2.2 Faktor-faktor pertumbuhan *N. oculata*

### 2.2.1 Cahaya

Fitoplankton merupakan organisme autotrof yang mampu membentuk senyawa organik dari senyawa-senyawa anorganik melalui proses fotosintesis. Dengan demikian cahaya mutlak diperlukan sebagai sumber energi. Proses fotosintesis pada fitoplankton dapat dituliskan dalam persamaan reaksi sebagai berikut :



Pada reaksi tersebut,  $H_2O$  bertindak sebagai donor hidrogen, sedangkan  $C_6H_{12}O_6$  adalah glukosa. Proses ini memerlukan energi yang diperoleh dari penyerapan cahaya oleh pigmen-pigmen fotosintetik. Pada alga hijau pigmen yang menyerap cahaya adalah klorofil-a, disamping pigmen lain seperti karatinoid, xantofil pada jenis fitoplankton lainnya. Pada budidaya fitoplankton di dalam laboratorium, cahaya matahari dapat digantikan dengan sinar lampu TL (*tube luminescent*) dengan intesitas cahaya antara 5.000 – 10.000 lux. Intesitas cahaya adalah jumlah cahaya yang mengenai satu satuan permukaan, satunya adalah lux. Kisaran optimum intesitas cahaya bagi pertumbuhan fitoplankton adalah 2.000 – 8.000 lux (Laven dan Sorgeloos, 1996).

### 2.2.2 Aerasi

Aerasi atau pengadukan diperlukan agar tidak terjadi pengendapan alga dan meratakan nutrien ke seluruh bagian kultur sehingga alga mendapat nutrien yang sama. Aerasi juga dibutuhkan untuk mensuplai oksigen dan menjaga kestabilan pH (Ekawati, 2005). Sari dan Manan (2012) mengungkapkan fungsi penggunaan aerasi yaitu untuk meningkatkan kelarutan aerasi pada media kultur.

### 2.2.3 Parameter kualitas air

Kualitas air merupakan parameter yang harus dipantau karena berhubungan langsung dengan kehidupan *Nannochloropsis oculata*. Parameter kualitas air antara lain : suhu, pH, nitrat, orthofosfat, oksigen terlarut,  $CO_2$  dan salinitas.

#### a. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor penting yang sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan laju pertumbuhan fitoplankton. Suhu secara langsung mempengaruhi efisiensi fotosintesis dan merupakan faktor yang menentukan dalam pertumbuhan fitoplankton. Kondisi laboratorium, perubahan suhu air dipengaruhi oleh suhu ruangan dan intesitas cahaya, sedangkan kondisi di luar

ruangan dalam kultur skala masal, suhu dipengaruhi oleh keadaan cuaca (Coutteau, 1996).

Kenaikan suhu akan menaikkan kecepatan reaksi. Setiap kenaikan  $10^{\circ}\text{C}$  dapat mempercepat reaksi 2 – 3 kali lipat. Di dalam proses metabolisme terjadi suatu rangkaian reaksi kimia maka kenaikan suhu sampai pada batas nilai tertentu, dapat mempercepat proses metabolisme, tetapi pada suhu tinggi yang melebihi suhu maksimum akan menyebabkan denaturasi protein dan enzim. Hal ini akan menyebabkan terhentinya proses metabolisme dalam sel (Lakitan, 2007). Temperatur tinggi  $40^{\circ}\text{C}$  dapat menon-aktifkan atau mematikan enzim di dalam tubuh organisme. Suhu optimum bagi pertumbuhan fitoplankton umumnya adalah  $25^{\circ}\text{C} – 32^{\circ}\text{C}$  (Dwijoseputro, 1994).

#### b. Derajat Keasaman (pH)

Kebanyakan sel, termasuk fitoplankton sangat peka terhadap derajat keasaman cairan yang mengelilinginya. Derajat keasaman diukur pada skala satuan pH (Kimball, 1999). Batas pH untuk pertumbuhan jasad merupakan suatu gambaran dari batas pH bagi kegiatan enzim (Van Den Hoek *et al.*, 1995). Ion  $\text{H}^+$  sangat berpengaruh terhadap kegiatan enzim. Jika suatu enzim menunjukkan kegiatannya pada pH tertentu, kenaikan atau penurunan pH dapat menyebabkan kegiatan enzim itu berubah. Pada pH tertentu suatu enzim mengubah substrat menjadi hasil akhir, maka perubahan pH dapat membalik aktifitas enzim dengan merubah hasil akhir kembali menjadi substrat. Umumnya fitoplankton dapat tumbuh baik pada kisaran pH  $8,0 – 8,5$  (Dwijoseputro, 1994).

#### c. Oksigen Terlarut (Dissolved Oxygen)

Oksigen terlarut di perairan berasal dari difusi dan hasil fotosintesis fitoplankton maupun tumbuhan air. Kondisi oksigen yang berubah-rubah terutama pada saat anaerob dapat mengakibatkan perubahan sifat kelarutan

beberapa unsur kimia air (Effendi, 2003). Keberadaan fitoplankton dalam perairan mempengaruhi kandungan oksigen terlarut dalam suatu perairan tinggi pada siang hari dan rendah pada malam hari. Faktor yang mempengaruhi DO pada suatu perairan adalah suhu dan salinitas (Subarjanti, 2005).

d. Nitrat dan fosfat

Kandungan nutrien pada media kultur akan mempengaruhi pertumbuhan dan biomassa mikroalga. Nitrat dan fosfat merupakan nutrien yang memiliki peranan besar terhadap kandungan nutrisi *Nannochloropsis oculata*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan pengurangan persentase nutrien fosfat dan nitrat berpengaruh terhadap proses fisiologi mikroalga dan berdampak pada pertumbuhan *N. oculata*. (Widianingsih *et al.*, 2011). Berdasarkan keputusan MENLH No.51 Tahun 2004, diputuskan bahwa baku mutu konsentrasi maksimum fosfat yang layak untuk kehidupan biota laut adalah 0,015 mg/l. Sementara untuk kandungan nitrat air laut yang layak untuk kehidupan biota laut adalah 0,008 mg/l.

e. CO<sub>2</sub>

Karbondioksida (CO<sub>2</sub>) diperlukan oleh fitoplankton termasuk *Nannochloropsis oculata* untuk membantu proses fotosintesis. Taw (1990) menyatakan bahwa pada umumnya, kebutuhan karbondioksida pada kultur fitoplankton dengan intensitas cahaya yang rendah adalah 1 – 2 persen. Kadar karbondioksida berlebih dapat menyebabkan pH kurang dari optimum sehingga mempengaruhi pertumbuhan fitoplankton tersebut. Effendi (2003) menambahkan bahwa batasan CO<sub>2</sub> yang baik pada suatu perairan untuk mendukung kehidupan organisme air didalamnya yaitu tidak lebih dari 25 mg/l.

f. Salinitas

Sebagai salah satu organisme yang hidup di dalam air, salinitas merupakan

salah satu faktor pembatas bagi pertumbuhan dan perkembangan fitoplankton.

Fluktuasi salinitas secara langsung menyebabkan perubahan tekanan osmosis di dalam sel fitoplankton. Salinitas yang terlalu tinggi atau terlalu rendah, menyebabkan tekanan osmosis di dalam sel menjadi lebih rendah atau lebih tinggi, sehingga aktifitas sel menjadi terganggu. Hal ini dapat mempengaruhi pH sitoplasma sel dan menurunkan kegiatan enzim di dalam sel. Umumnya fitoplankton air laut hidup normal pada salinitas optimum 25 – 35 ‰ (Rusyani *et al.*, 2007)

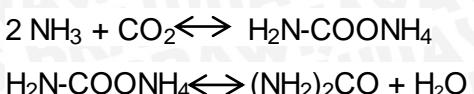
### 2.3 Media pertumbuhan

Media kultur dalam budidaya fitoplankton digunakan sebagai tempat untuk tumbuh dan berkembang biak. Media yang digunakan untuk budidaya fitoplankton di dalamnya terkandung beberapa senyawa kimia (pupuk) yang merupakan sumber nutrien untuk keperluan hidupnya.

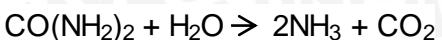
#### 2.3.1 Pupuk urea

Pupuk urea adalah pupuk kimia yang mengandung Nitrogen (N) berkadar tinggi. Pupuk Urea berbentuk butir-butir kristal berwarna putih, dengan rumus kimia  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ . Merupakan pupuk yang mudah larut dalam air dan sifatnya sangat mudah menghisap air (higroskopis), karena itu sebaiknya disimpan di tempat kering dan tertutup rapat. Pupuk urea mengandung unsur hara N sebesar 46 persen, kadar air maksimal 0,5 persen, kadar biuret minimal 1 persen (Standar Nasional Indonesia, 1998).

Pembentukan urea berhasil ditemukan oleh Bosh dan Meiser dengan bahan dasar ammonia dan karbondioksida (Overdahl *et al.*, 1991). Reaksi pembentukan urea berdasarkan Bosh-Meiser adalah sebagai berikut:



Sifat urea yang mudah menyerap uap air di udara dan memiliki kelarutan yang tinggi di dalam air. Sehingga urea akan terurai kembali menjadi komponen dasar pembentunya melalui reaksi berikut ini :



Unsur N merupakan komponen utama dari protein sel yang merupakan bagian dasar kehidupan organisme. Unsur hara Nitrogen yang dikandung dalam pupuk urea sangat besar kegunaannya bagi pertumbuhan dan perkembangan fitoplankton.

### 2.3.2 Pupuk SP 36

Pupuk SP 36 merupakan pupuk fosfat buatan berbentuk butiran atau granular, berwarna abu-abu dan mudah larut dalam air. Pembuatannya berasal dari batuan fosfat dengan campuran asam fosfat dengan asam sulfat yang komponen utamanya mengandung unsur hara fosfor berupa mono kalsium fosfat,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)$ . Spesifikasi pupuk SP 36 antara lain memiliki kadar  $\text{P}_2\text{O}_5$  total minimal 36 %, kadar  $\text{P}_2\text{O}_5$  larut Asam Sitrat minimal 34 %, kadar  $\text{P}_2\text{O}_5$  larut dalam air minimal 30 %, kadar air maksimal 5 %, kadar Asam Bebas sebagai  $\text{H}_3\text{PO}_4$  maksimal 6 % (Standar Nasional Indonesia, 2005).

Unsur Fosfor sangat dibutuhkan dalam proses protoplasma dan inti sel. Fosfor juga merupakan bahan dasar pembentuk asam nukleat, fosfolifida, enzim dan vitamin. Fosfor sangat berperan nyata dalam semua aktifitas kehidupan fitoplankton. Fosfor yang dibutuhkan untuk kultur fitoplankton dapat diperoleh dari :  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Ca}_3\text{PO}_4$  (TSP) dan lain-lain. Dwijoseputro (1994) menyatakan bahwa, unsur P dibutuhkan untuk pembentukan pospolipida dan nukleoprotein. Posporilasi dalam fotosintesis juga banyak melibatkan P untuk membentuk senyawa berenergi tinggi.

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah penggunaan kombinasi pupuk SP 36 dan pupuk urea dengan dosis yang berbeda untuk meningkatkan kandungan protein dan pertumbuhan *N. oculata*. Perhitungan dosis pupuk dapat dilihat pada Lampiran 1. Analisis pada penelitian ini terdiri dari analisis protein *N. oculata*, kepadatan sel serta parameter kualitas air yang meliputi : suhu, pH, dan salinitas, CO<sub>2</sub>, nitrat, fosfat, dan DO.

#### 3.2 Alat dan bahan

Alat dan Bahan yang digunakan pada penelitian ini tersaji pada Lampiran 2.

#### 3.3 Metode penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen atau percobaan. Arikunto (2002) menyatakan bahwa, metode eksperimen merupakan metode yang dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya akibat dari suatu yang dikenakan pada objek yang diselidiki, atau dengan kata lain meneliti ada tidaknya hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan sebab akibat tersebut.

#### 3.4 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Tersarang. Sudjana (2002) menjelaskan bahwa rancangan bersarang merupakan rancangan dengan tipe dimana level faktor yang satu tersarang dalam level dari faktor lain. Rancangan penelitian ini menggunakan 3 perlakuan dan 1 kontrol serta tiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Kombinasi pupuk urea dan SP 36 di uji cobakan pada tiap perlakuan dan masing-masing perlakuan menggunakan konsentrasi pupuk urea dan SP 36 yang berbeda yaitu

pupuk urea 40 ppm, 70 ppm dan 100 ppm dengan pupuk SP 36 sebanyak 5 ppm, 10 ppm dan 15 ppm, dimana masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Penelitian ini dilakukan selama 6 hari dengan pengamatan kepadatan sel serta parameter kualitas air yang meliputi suhu, pH, dan salinitas, CO<sub>2</sub>, Nitrat, Fosfat, dan DO.

Rancangan penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1 sebagai berikut :

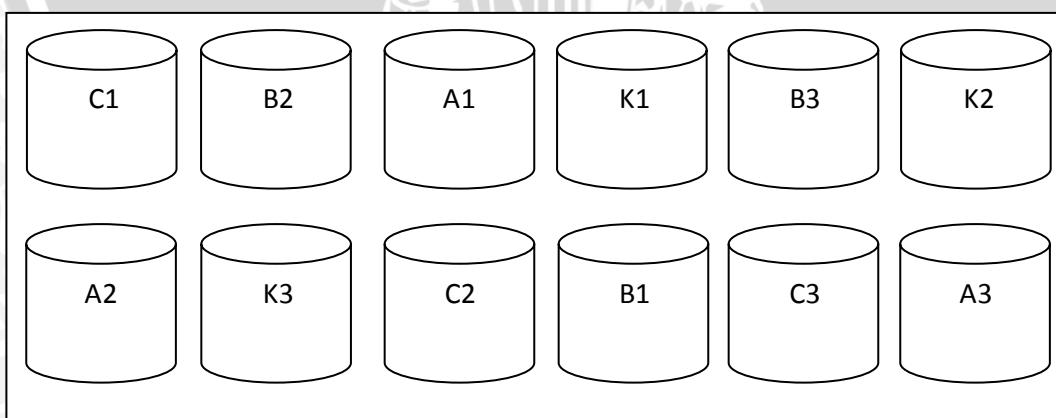
**Tabel 1.** Rancangan penelitian

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
Kontrol	K1	K2	K3
Dosis A	A1	A2	A3
Dosis B	B1	B2	B3
Dosis C	C1	C2	C3

Keterangan :

- Perlakuan A : 40 ppm pupuk urea dan 5 ppm pupuk SP 36
- Perlakuan B : 70 ppm pupuk urea dan 10 ppm pupuk SP 36
- Perlakuan C : 100 ppm pupuk urea dan 15 ppm pupuk SP 36
- Kontrol : Pupuk Walne 1 ml tiap 1 L media kultur

Adapun tata letak penelitian dapat di lihat pada Gambar 2 berikut ini:



**Gambar 2.** Tata letak penelitian

### **3.5 Prosedur penelitian**

#### **3.5.1 Sterilisasi alat dan media**

Kegiatan penelitian di awali dengan sterilisasi alat dan media kultur karena kultur skala laboratorium merupakan kultur monospesies dan dengan harapan tidak terdapat kontaminasi oleh mikroorganisme lain. Peralatan yang akan digunakan dicuci sampai bersih. Adapun sterilisasi peralatan berukuran besar direndam menggunakan klorin 150 ppm selama 24 jam lalu dijemur dibawah sinar matahari sampai kering. Sedangkan peralatan yang tidak tahan panas disimpan di tempat yang kering dan steril. Peralatan kecil dan terbuat dari kaca disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 30 menit (Sari dan Manan,2012).

Media yang digunakan berupa air laut dengan salinitas 30 ppm. Air laut disaring terlebih dahulu. Setelah itu, air laut disterilkan dengan memberi klorin sebanyak 60 ppm dan diaerasi selama 24 jam kemudian dinetralkan dengan Na Thiosulfat 20 ppm. Selanjutnya di lihat air laut dengan klorin tes untuk mengetahui masih ada atau tidaknya kandungan klorin (Kusdarwati *et al.*, 2011).

#### **3.5.2 Pelaksanaan penelitian**

Langkah-langkah penelitian setelah alat dan media kultur telah steril sebagai berikut:

1. Menyiapkan toples berukuran 10 l sebanyak 12 toples.
2. Mengisi toples dengan air laut steril sebanyak 5 l.
3. Memasang aerasi dan cahaya lampu.
4. Menambahkan pupuk sesuai dosis yang telah ditentukan.



5. Melakukan penebaran bibit *nannochloropsis oculata* dengan padat tebar  $2 \times 10^4$  sel/ml, menggunakan rumus menurut Edhy dan Kurniawan (2003) yaitu :

$$\begin{aligned}N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\V_1 &= \frac{1 \times 10^3 \times 5000 \text{ ml}}{1 \times 10^4} \\&= 500 \text{ ml}\end{aligned}$$

Dimana :  $N_1$  = Jumlah *Nannochloropsis oculata* yang ditemukan dalam 1ml

$V_1$  = Volume stok *Nannochloropsis oculata* yang akan ditebar

$N_2$  = Jumlah *Nannochloropsis oculata* yang ada dalam toples

$V_2$  = Volume kultur *Nannochloropsis oculata* yang dikehendaki

6. Mengamati kepadatan dan kualitas air setiap hari selama 6 hari.
7. Melakukan uji kandungan protein pada alga *Nannochloropsis oculata*.

### 3.6 Parameter uji

#### 3.6.1 Kepadatan sel

Parameter yang dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis oculata* yaitu dengan mengamati kepadatan sel *Nannochloropsis oculata* setiap hari. Adapun cara menghitung kepadatan sel *Nannochloropsis oculata* menggunakan *haemocytometer* yaitu:

1. Mengambil sampel air kultur pada setiap perlakuan lalu dimasukkan ke dalam botol film dan diberi label agar tidak tertukar.
2. Menetes *haemocytometer* yang telah ditutup *cover glass* dengan air sampel.
3. Mengamati kepadatan *Nannochloropsis oculata* dalam kotak besar yang terdiri dari 16 kotak kecil dan hitung menggunakan bantuan *handcounter*.
4. Menghitung kepadatan *Nannochloropsis oculata* menggunakan rumus kepadatan menurut Fogg (1975) sebagai berikut :

$$\text{Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{\text{jumlah totalsel}}{\text{jumlah kotak yang dihitung}} \times 10^4$$

5. Mencatat hasil yang diperoleh dan ditabulasi dalam bentuk tabel.  
Pengamatan dilakukan setiap hari.

### 3.6.2 Analisis protein

Analisis protein dilakukan setelah pemanenan *Nannochloropsis oculata* pada hari ke 6. Adapun langkah-langkah Uji kadar protein menurut Association of Official Analytical Chemists (2005) sebagai berikut:

1. Mengambil sebanyak 1 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 40 ml HgO dan 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat ditambahkan ke dalam 0,5 – 1 g sampel.
2. Mendidihkan sampel selama kurang lebih 2 jam sampai cairan menjadi jernih kehijau-hijauan.
3. Memindahkan sampel ke dalam alat destilasi dan labu kjeldahl dibilas dengan 1 – 2 ml air destilata selama beberapa kali.
4. Mengambil sebanyak 8 – 10 ml larutan NaOH 60 % dan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 5 % lalu menambahkan ke dalam sampel.
5. Erlenmeyer berisi 5 ml larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> dan indikator BCG-MR (campuran bromcresol green dan methyl red) diletakan di bawah ujung kondensor.
6. Mendestilasi sampel hingga diperoleh 10 – 15 ml destilat.
7. Mengencerkan destilat sampel hingga 50 ml.
8. Mentiriasi larutan sampel dengan larutan HCl 0,02 N hingga berwarna merah muda.
9. Melakukan penetapan blanko.
10. Penetapan kadar N dan kadar protein dilakukan dengan persamaan berikut:

$$\text{Kadar N (\%)} = \frac{\text{ml HCl} - \text{ml Blanko} \times N \times 14,007 \times 100}{\text{mg sampel}}$$

$$\text{Kadar protein} = \% \text{ N} \times \text{faktor konversi.}$$

### 3.7 Parameter kualitas air

#### 3.7.1 Parameter fisika air

Pengukuran parameter fisika dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

##### a. Suhu

Pengukuran suhu diukur menggunakan termometer Hg. SNI (2006) menjelaskan, prosedur pengukuran suhu pada perairan adalah sebagai berikut:

- Menyiapkan termometer Hg
- Memasukkan termometer ke dalam perairan selama 3 menit dan ditunggu sampai beberapa saat sampai air raksa berhenti pada skala tertentu
- Membaca skala termometer pada saat termometer masih dalam air
- Mencatat hasil pengukuran dalam skala  $^{\circ}\text{C}$

##### b. Salinitas

Pengukuran salinitas dengan menggunakan refraktometer menurut Effendi (2003) :

- Mengkalibrasi terlebih dahulu Refraktometer.
- Mengambil air sampel dengan pipet tetes
- Meneteskan pada optik refraktometer sebanyak 1 tetes
- Melihat nilai salinitasnya yang tertera pada skala refraktometer dengan menghadap cahaya.
- Mencatat hasil salinitasnya.

### 3.7.2 Parameter kimia air

Pengukuran parameter kimia dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

#### a. Derajat keasaman (pH)

Pada penelitian ini, pengujian kadar pH dilakukan dengan menggunakan pH pen. Cara penggunaan pH pen menurut Standar Nasional Indonesia (2004) yaitu:

- Mengkalibrasi pH pen sebelum digunakan dengan aquades.
- Masukkan pH pen ke dalam air sampel.
- Membaca nilai pH pada layar pH pen.
- Mencatat nilai pH .

#### b. Oksigen terlarut (DO)

Pengukuran kandungan oksigen terlarut (DO) dengan menggunakan DO meter. Menurut Suprapto (2011), adalah sebagai berikut :

- Mengkalibrasi DO Meter terlebih dahulu dengan aquades
- Mengambil contoh air menggunakan wadah lalu masukkan DO meter sampai batas yang telah ditentukan.
- Membiarkan beberapa saat kemudian angkat dan baca angka yang tertera pada alat tersebut
- Mencatat nilai DO.

#### c. Karbondioksida ( $\text{CO}_2$ )

Pengukuran kadar karbondioksida ( $\text{CO}_2$ ) menurut Haryadi *et al.*, (1992) adalah sebagai berikut :

- Memasukkan 25 ml air sampel ke dalam Erlenmeyer, sebisa mungkin kurangi pengaruh aerasi.
- Menambahkan 3 – 4 tetes indikator PP

- Bila air berwarna merah berarti air tersebut tidak mengandung CO<sub>2</sub> bebas
- Bila air sampel tetep tidak berwarna, dititrasi dengan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,0454 N sampai warna menjadi merah pertama kali
- Menghitung kadar CO<sub>2</sub> dengan rumus :

$$\text{CO}_2 \text{ bebas (mg/l)} = \frac{ml (\text{titran})x N (\text{titran})x 44:2 x 1000}{ml \text{ air sampel}}$$

#### d. Nitrat

Pengukuran kandungan nitrat menurut Boyd (1990) adalah sebagai berikut :

- Menyaring sampel sebanyak 12,5 ml dan tuangkan ke dalam cawan porcelin
- Menguapkan di atas pemanas hingga air kering
- Membandingkan dan menambahkan 2 ml asam fenol disulfonik dan diaduk dengan spatula
- Mengencerkan dengan 10 ml aquades
- Menambahkan NH<sub>4</sub>OH sampai 100 ml kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi
- Menghitung kandungan nitrat dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 410 nm.

#### e. Orthofosfat

Pengukuran kandungan orthofosfat menurut Haryadi *et al.*, (1992) adalah sebagai berikut ;

- Menuangkan sampel air sebanyak 25 ml ke dalam erlenmeyer
- Menambahkan 1 tetes indikator PP, bila berubah warna merah, tambahkan satu atau beberapa tetes asam asam sulfat sampai warnanya hilang.

- Menambahkan 4 ml  $K_2S_2O_8$  5 % dan 0,5 ml  $H_2SO_4$  30 %
- Menutup Erlenmeyer dengan aluminium foil dan di masukkan ke dalam autoclave selama 30 menit.
- Setelah sampel dingin, menambahkan 1 tetes PP dan titrasi dengan NaOH (8 gram per 100 ml aquades) sampai tidak berwarna
- Selanjutnya lakukan seperti pada prosedur penentuan orthofosfat pada 25 ml sampel tersebut.
- Menghitung konsentrasi total phosphorus (Total-P) dengan persamaan berikut :

$$\text{Total P} = P \times \frac{A}{25}$$

Ket : P = adalah konsentrasi P dari persamaan regresi atau grafik.

- Mencatat hasil orthofosfat.

### 3.8 Analisis data

Penelitian yang berjudul komposisi pemberian dosis pupuk urea dan SP 36 terhadap kandungan protein dan kepadatan sel *Nannochloropsis oculata* ini menggunakan rancangan acak lengkap tersarang dengan 3 kali pengulangan pada setiap perlakuan. Langkah awal adalah menghitung kepadatan sel selama penelitian yaitu 6 hari. Selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan cara statistik yaitu analisis keragaman (ANOVA), dengan tujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pemberian perlakuan serta untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan dari waktu selama penelitian. Apabila dari analisis keragaman (sidik ragam) diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau sangat berbeda nyata, maka untuk membandingkan nilai dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), untuk mengetahui

perlakuan yang mana yang berbeda. Model linier rancangan bersarang adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{j(i)} + \epsilon_{(ij)k}$$

Keterangan :  $Y_{ijk}$  = nilai pengamatan level ke-j yang bersarang dalam level ke-i pada ulangan ke-k

$\mu$  = nilai rata-rata

$\alpha_i$  = pengaruh faktor A pada level ke-i

$\beta_{j(i)}$  = pengaruh faktor B pada level ke-j yang bersarang pada faktor A ke level-i

$\epsilon_{(ij)k}$  = galat atau kesalahan percobaan untuk ulangan ke-k pada faktor B level ke-j yang bersarang pada faktor A level ke-i

Langkah selanjutnya, data yang diperoleh dari penelitian diuji menggunakan analisis sidik ragam. Tabel analisis sidik ragam untuk desain eksperimen tersarang disajikan pada Tabel 2 sebagai berikut :

**Tabel 2. Analisis sidik ragam**

Perlakuan	Ulangan			total	Rata-rata
	1	2	3		
Pupuk dosis A	A1	A2	A3	TA	TA/3
Pupuk dosis B	B1	B2	B3	TB	TB/3
Pupuk dosis C	C1	C2	C3	TC	TC/3
kontrol	K1	K2	K3	TK	TK/3
Total				T	

Keterangan = 1,2,dan 3 adalah ulangan (r)

K, A, B, dan C adalah perlakuan (t)

Dari data diatas maka dapat dihitung nilai dari :

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{\gamma^2}{abn}$$

$$Jk \text{ Total} = (Aa1)^2 + (Aa2)^2 + \dots + (Ak3)^2 - FK$$

$$JK A (\text{perlakuan}) = \frac{(\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum K^2)}{4x7} - FK$$

$$JK B \text{ dalam } A = \frac{(\sum A1^2 + \sum A2^2 + \dots + \sum K5^2 + \sum K6^2)}{4} - \frac{(\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum K^2)}{4x7}$$



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

Berdasarkan perhitungan diatas, selanjutnya dapat dilakukan analisis keragaman untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Adapun uraian analisis keragaman dapat dilihat pada Tabel 3 sebagai berikut:

**Tabel 3. Analysis of varian (ANOVA)**

SK	DB	JK	KT	Fhit	F tabel
					5 %
Perlakuan (A)	a-1	JKP	JKP/DBP	KTP/KTG	tabel
B dalam A	a(b-1)	JKWP	JKWP/DBWP	KTWP/KTG	tabel
Galat	(rxa-1)-(a-1)-(a(b-1))	JKG	JKG/DBG		
Total	(rxa)-1	JKT			

- Jika  $F_{\text{hit}} > F_{\text{tabel}} 5\%$  maka perlakuan berbeda nyata
- Jika  $F_{\text{hit}} < F_{\text{tabel}} 5\%$  maka tidak berbeda nyata

Apabila sidik ragam diperoleh hasil berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka harus dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dari masing-masing perlakuan. Rumus perhitungan uji BNT sebagai berikut :

$$SED = \sqrt{\frac{2KTG}{r}}$$

$$BNT 5\% = t_{\text{tabel}} 5\% \times DBG \times SED$$

#### Kesimpulan

- Jika selisih  $\leq BNT 5\%$  maka non signifikan atau tidak berbeda nyata
- Jika  $BNT 5\% < \text{selisih}$  maka berbeda nyata

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Morfologi dan kepadatan sel *Nannochloropsis oculata*

Morfologi sel *N. oculata* terdiri atas beberapa bagian. Ernest (2012) menerangkan bahwa bagian-bagian dari sel *N. oculata* terbagi menjadi 4 bagian yaitu:

#### 1. Dinding Sel

Susunan dinding sel mikroalga yaitu lapisan *microfibrilar celulosa* yang dikelilingi oleh lapisan amorf. Fungsi dari dinding sel adalah melindungi bagian dalam sel dari pengaruh luar.

#### 2. Inti Sel

Struktur dari nukleus atau inti sel yaitu berbentuk bulat dan dikelilingi sitoplasma. Inti sel berukuran relatif besar dan bagian ini berfungsi dalam mengatur seluruh aktivitas sel seperti melakukan berkembang biak dan fotosintesis.

#### 3. Mitokondria

Mitokondria berfungsi sebagai pusat pembangkit tenaga sel dengan cara menghasilkan ATP sebagai sumber energi. Mitokondria tersusun dari struktur-struktur kecil yang berbentuk seperti cerutu. Struktur tersebut tersusun dari protein dan lipid yang membentuk susunan yang stabil dan keras.

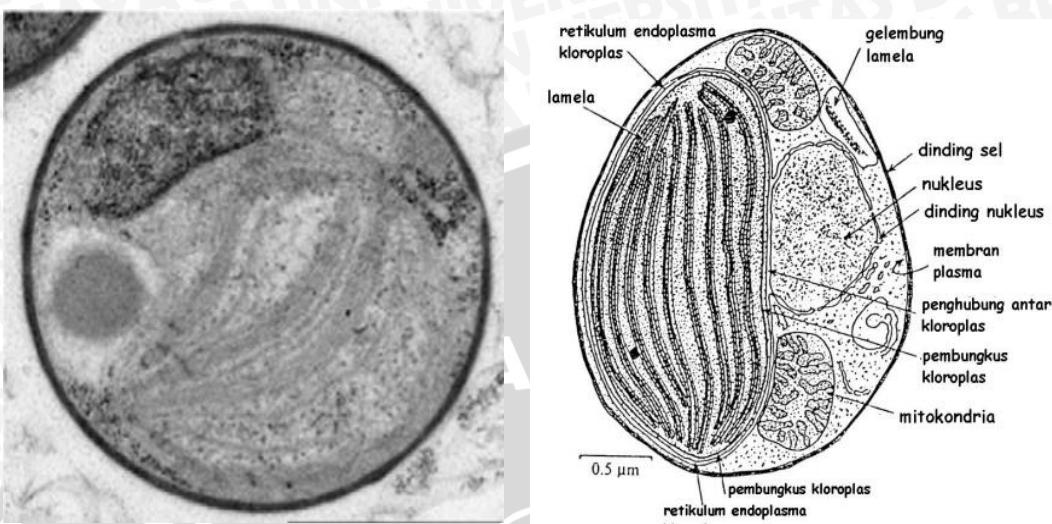
#### 4. Kloroplas

Kloroplas pada *N. oculata* memiliki warna hijau kekuningan yang mengandung klorofil badan pigmen aksesoris violaxanthin dan  $\beta$ -karoten. Kloroplas mampu menyerap energi dari cahaya yang digunakan untuk melakukan proses fotosintesis.



Morfologi *Nannochloropsis oculata* menurut Beacham et al., (2014) dan

Hoek et al.,(1998) dapat dilihat pada Gambar 3 sebagai berikut :



**Gambar 3.** Morfologi *N. oculata*

Kepadatan sel merupakan jumlah sel plankton pada suatu perairan yang dinyatakan dengan satuan (sel/ml) (Ekawati, 2005). Data hasil perhitungan rata-rata kepadatan *Nannochloropsis oculata* dapat dilihat pada Tabel 4, sedangkan data hasil perhitungan kepadatan *Nannochloropsis oculata* selama pengamatan disajikan pada Lampiran 3. Adapun grafik rata-rata kepadatan *Nannochloropsis oculata* yang diberi pupuk sesuai perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.

Berikut disajikan tabel data rata-rata kepadatan *N. oculata* selama penelitian pada Tabel 4 sebagai berikut:

**Tabel 4.** Rata-rata kepadatan sel (sel/ml) *N. oculata*

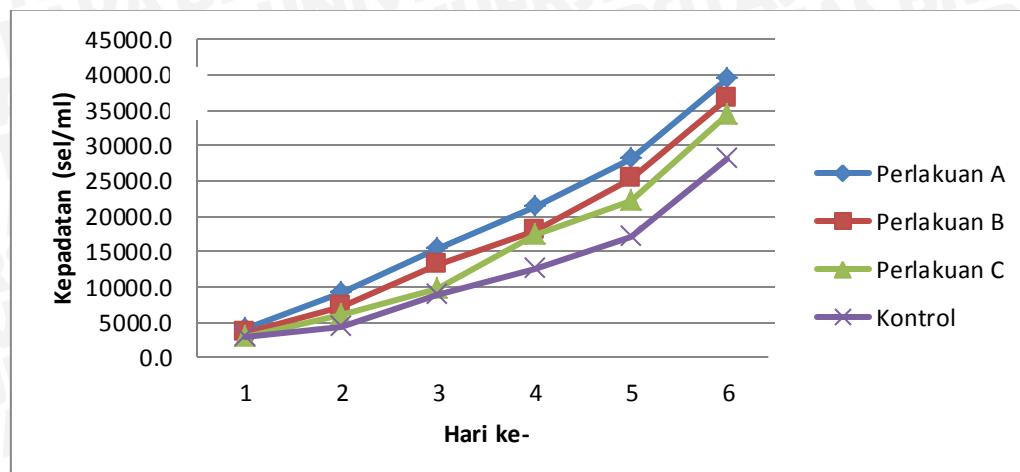
Pupuk	Hari Ke							Total	Rata-rata
	0	1	2	3	4	5	6		
A	1000	4041,7	9125,0	15250,0	21208,3	28000,0	39416,7	117041,7	19506,9
B	1000	3541,7	7250,0	13000,0	17875,0	25208,3	36625,0	103500,0	17250,0
C	1000	2916,7	5958,3	9625,0	17250,0	22083,3	34416,7	92250,0	15375,0
K	1000	2958,3	4416,7	8750,0	12583,3	17125,0	28166,7	74000,0	12333,3

Berdasarkan Tabel 4, dapat dilihat pada hari ke-1 mulai terjadi peningkatan pada masing-masing perlakuan, itu artinya mikroalga mampu beradaptasi pada media perlakuan. Yekti (2006) menyatakan bahwa, bertambahnya populasi pada kultur karena adanya kemampuan adaptasi dari individu terhadap lingkungan media kultur yang baru. Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) menyatakan selama fase adaptasi, alga yang dikultur akan menyesuaikan diri terhadap kondisi media kultur, laju pertumbuhan rendah dan kelimpahan akan meningkat dengan waktu kultivasi.

Berdasarkan kelimpahan fitoplankton, Landner (1976) membagi menjadi 3 kelompok yaitu perairan oligotrofik yaitu perairan yang tingkat kesuburan rendah dengan kelimpahan fitoplankton berkisar antara 0 – 2.000 ind/ml, lalu perairan mesotrofik merupakan perairan yang tingkat kesuburan sedang dengan kelimpahan fitoplankton berkisar antara 2.000 – 15.000 ind/ml dan perairan eutrofik yaitu perairan yang tingkat kesuburan tinggi dengan kelimpahan fitoplankton berkisar antara > 15.000 ind/ml. Atas dasar penggolongan tersebut, maka perlakuan dosis pupuk A dengan rata-rata kepadatan 19506,9 ind/ml, dosis pupuk B dengan rata-rata kepadatan 17.250 ind/ml dan dosis pupuk C dengan rata-rata kepadatan 15.375 ind/ml termasuk ke dalam kesuburan tinggi. Sementara perlakuan kontrol dengan rata-rata kepadatan 15375,3 ind/ml termasuk kedalam kesuburan sedang.

Berikut ini disajikan fase pertumbuhan *N. oculata* pada masing-masing

perlakuan yang dapat dilihat pada Gambar 4 :



Gambar 4. Rata-rata kepadatan *N. oculata* selama penelitian.

Keterangan : Perlakuan A = Pupuk Urea 40 ppm; Pupuk SP 36 5 ppm

Perlakuan B = Pupuk Urea 70 ppm; Pupuk SP 36 10 ppm

Perlakuan C = Pupuk Urea 100 ppm; Pupuk SP 36 15 ppm

Kontrol = Pupuk walne 1ml/l

Berdasarkan grafik pada Gambar 4, dapat dilihat bahwa fase adaptasi terjadi pada hari ke-1. Kepadatan pada hari ke-2 dan seterusnya mengalami peningkatan sampai fase puncak kepadatan sel *N. oculata* terjadi pada hari ke 6. Subekti *et al.*, (2014) menyatakan bahwa, pertumbuhan sel *Nannochloropsis sp.* mengalami fase puncak pada hari ke 6. Hal ini dikarenakan nutrisi yang terdapat pada media kultur masih tersedia sehingga peningkatan jumlah sel tetap terjadi. Apabila nutrisi tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan fitoplankton maka pertumbuhan tidak akan mencapai fase puncak. Chisti (2007) berpendapat bahwa, dalam kurun waktu 24 jam mikroalga mampu menggandakan biomassanya.

Analisis Sidik Ragam perlu dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya pengaruh perbedaan perlakuan dosis pupuk yang berbeda terhadap kepadatan sel *Nannochloropsis oculata* serta untuk melihat ada atau tidaknya pengaruh perbedaan waktu pengamatan terhadap kepadatan sel *Nannochloropsis oculata*

yang tersaji pada Tabel 5. Sedangkan perhitungan analisis sidik ragam kepadatan dapat dilihat pada Lampiran 4. Hasil perhitungan menggunakan analisis sidik ragam sebagai berikut :

**Tabel 5.** Analisis sidik ragam kepadatan sel *N. oculata*

SK	DB	JK	KT	FHIT	F tabel 5 %
A	3	426478237	142159412	35,36**	2,76
B	24	10541714286	439238095	109,27**	1,71
Galat	56	225104167	4019717,262		
Total	83	11193296689			

Ket : A = perlakuan  
B = waktu pengamatan  
\* = berbeda nyata  
\*\*= berbeda sangat nyata

Berdasarkan analisis sidik ragam kepadatan sel *N. oculata*, diperoleh pada perlakuan  $F_{\text{hitung}}$  (A) >  $F_{\text{tabel}}$ . Hal itu menandakan adanya pengaruh perlakuan dengan dosis pupuk yang berbeda terhadap kepadatan sel *N. oculata* pada taraf taraf uji 5 %. Hal ini dikarenakan dosis pupuk yang diberikan berbeda sehingga nutrisi sebagai makanan mikroalga juga berbeda jumlahnya. Yanuaris *et al.* (2012), menyatakan bahwa pemenuhan sumber hara (N, P dan K) yang mencukupi dan sesuai kebutuhan dapat mempengaruhi kepadatan *Nannochloropsis sp.* Adhikari (2004) menambahkan, unsur-unsur esensial bagi pertumbuhan ada 16 unsur, akan tetapi unsur harus ada yaitu nitrogen, fosfor dan kaliun.

Selanjutnya untuk perbedaan waktu pengamatan  $F_{\text{hitung}}$  B(A) >  $F_{\text{tabel}}$  yang menandakan pengaruh dari perbedaan waktu pengamatan terhadap kepadatan sel *N. oculata* juga berbeda nyata pada uji taraf 5 %. Hal ini disebabkan *N. oculata* memerlukan waktu untuk memanfaatkan nutrisi setiap harinya, dimana nutrisi tersebut berasal dari unsur hara yang ada di dalam pupuk. Octhareani *et al.* (2014) menyatakan bahwa ciri khas dari mikroalga adalah memiliki kemampuan

berkembangbiak secara berlipat ganda dalam waktu relatif singkat. Penambahan kepadatan sel sudah terjadi dalam waktu 24 jam.

Uji BNT (beda nyata terkecil) perlu dilakukan untuk mengetahui bagaimana pengaruh dari perlakuan dosis pupuk yang berbeda terhadap kepadatan sel *N. oculata* dan untuk mengetahui pengaruh waktu pengamatan terhadap kepadatan sel *N. oculata*. Hasil perhitungan Uji BNT Perlakuan Dosis Pupuk Terhadap Kepadatan *N. oculata* ditampilkan pada Tabel 6 sebagai berikut:

**Tabel 6.** Hasil uji BNT perlakuan dosis pupuk terhadap kepadatan *N. oculata*

Rata-rata Kepadatan tiap perlakuan		K	C	B	A	notasi	BNT 5 %
		32142.9	39964.3	44785.7	50589.3		
K	32142.9	-	-	-	-	a	1419.99
C	39964.3	7821.4*	-	-	-	b	
B	44785.7	12642.9*	4821.4*	-	-	c	
A	50589.3	18446.4*	10625*	5803.6*	-	d	

Ket:  
 K = Kontrol  
 C = Perlakuan Dosis Pupuk C  
 B = Perlakuan Dosis Pupuk B  
 A = Perlakuan Dosis Pupuk A  
 $T_n$  = Tidak Nyata  
 \* = Berbeda Nyata

Berdasarkan Hasil Uji BNT diperoleh bahwa perlakuan pemberian dosis pupuk kombinasi urea dan SP 36 berbeda nyata terhadap kepadatan sel *N. oculata*. Perlakuan dosis pupuk A (Urea 40 ppm dan SP 36 5 ppm) merupakan perlakuan yang paling baik diantara perlakuan dosis pupuk yang lainnya karena memiliki nilai rata-rata tertinggi.



#### 4.2 Pertumbuhan harian *N. oculata*

Pertumbuhan harian merupakan bertambahnya kepadatan sel *N. oculata* yang di hitung tiap satu hari. Yekti (2006) menyatakan bahwa, pertumbuhan merupakan pertambahan jumlah individu dalam suatu populasi. Pada penelitian ini, pertumbuhan harian dilihat mulai hari pertama sampai hari keenam.

Data pertumbuhan harian *N. oculata* selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 5. Grafik pertumbuhan harian *N. oculata* setelah pemberian dosis pupuk kombinasi urea dan SP 36 dapat dilihat pada Gambar 5. Tabel hasil perhitungan rata-rata pertumbuhan harian *N. oculata* selama penelitian tersaji pada Tabel 7 berikut ini :

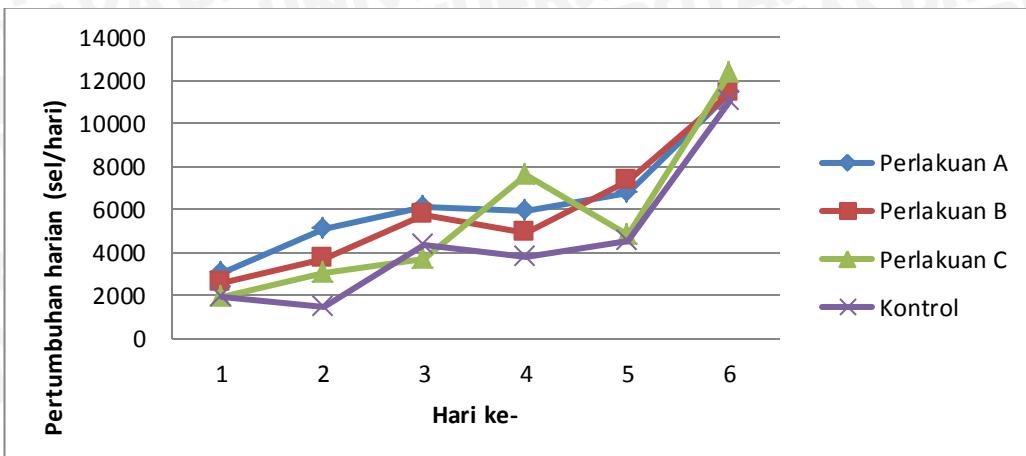
**Tabel 7.** Rata-rata pertumbuhan harian (sel/hari) *N. oculata* selama penelitian.

Perlakuan	Hari Ke						Rata-Rata
	1	2	3	4	5	6	
A	3042	5083	6125	5958	6792	11417	6403
B	2542	3708	5750	4875	7333	11417	5938
C	1917	3042	3667	7625	4833	12333	5569
K	1958	1458	4333	3833	4542	11042	4528

Berdasarkan tabel rata-rata pertumbuhan harian *N. oculata* selama penelitian dapat dilihat bahwa terjadi perbedaan pertumbuhan harian pada masing-masing perlakuan. Hal ini dikarenakan nutrien yang terkandung pada pupuk berbeda-beda, dalam hal ini nutrien merupakan makanan yang mendukung perkembangan mikroalga. Utomo *et al.*, (2007) menyatakan bahwa, nutrien atau unsur hara merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Nutrien akan mempengaruhi komposisi biokimia alga.



Agar lebih jelasnya, pada Gambar 5 disajikan grafik rata-rata pertumbuhan harian *N. oculata* setelah diberi perlakuan:



**Gambar 5.** Rata-rata pertumbuhan harian *N. oculata*

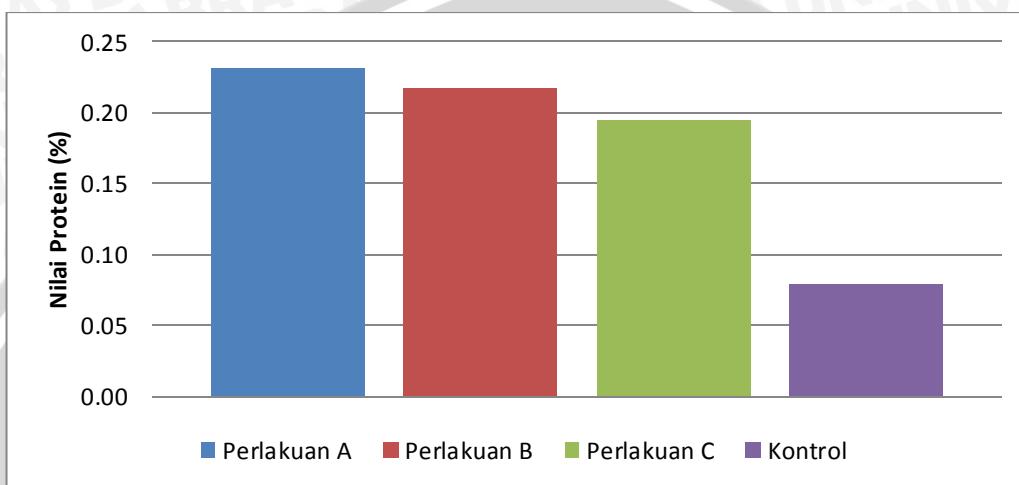
Ket :  
Perlakuan A = Pupuk Urea 40 ppm; Pupuk SP 36 5 ppm  
Perlakuan B = Pupuk Urea 70 ppm; Pupuk SP 36 10 ppm  
Perlakuan C = Pupuk Urea 100 ppm; Pupuk SP 36 15 ppm  
Kontrol = Pupuk walne 1ml/l

Dapat dilihat pada gambar 5 bahwa pertumbuhan harian berbeda pada semua perlakuan. Secara umum, pertumbuhan harian mengalami fluktuasi pada hari pertama sampai hari ke lima dan laju pertumbuhan meningkat semua pada hari ke lima hingga hari ke enam. Adanya perbedaan pertumbuhan harian selama kultivasi dikarenakan dosis pupuk yang berbeda. Hadi *et al.*, (2015) menyatakan bahwa, konsentrasi media kultur *N. oculata* pada limbah cair karet menghasilkan data yang tidak seragam antar laju pertumbuhan dan biomassa protein.

#### 4.3 Analisis protein *N. oculata*

Perlakuan pemberian pupuk pada kultur fitoplankton akan mempengaruhi kandungan biokimia fitoplankton tersebut, terutama penambahan nitrogen akan meningkatkan kandungan protein. Mayes *et al.*, (1987) menjelaskan proses perombakan nitrogen menjadi protein dimulai dari nitrogen dan glukosa hasil fotosintesis mengalami transaminase kemudian terbentuk asam amino.

Kemudian masuk dalam siklus asam sitrat yang kemudian diubah menjadi  $2\text{CO}_2$  dan asam amino merupakan bahan utama penyusun protein. Data kandungan protein *N. oculata* setelah perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 6. Hasil pengujian kandungan protein pada *N. oculata* dengan perlakuan pupuk yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 6 berikut ini:



**Gambar 6.** Kandungan protein (%) *N. oculata*.

Ket :  
Perlakuan A = Pupuk Urea 40 ppm; Pupuk SP 36 5 ppm  
Perlakuan B = Pupuk Urea 70 ppm; Pupuk SP 36 10 ppm  
Perlakuan C = Pupuk Urea 100 ppm; Pupuk SP 36 15 ppm  
Kontrol = Pupuk walne 1ml/l

Berdasarkan grafik pada Gambar 6 dapat di lihat bahwa, rata-rata kandungan protein berturut-turut dari perlakuan dosis pupuk A sampai perlakuan kontrol adalah 0,23 %; 0,22 %; 0,2 %; 0,08 %. Kandungan protein *N. oculata* pada perlakuan kontrol memiliki kandungan protein lebih rendah jika dibandingkan *N. oculata* setelah perlakuan. Hal ini dikarenakan kandungan dosis pupuk yang berbeda. Suminar (1993) menyatakan bahwa adanya perbedaan kadar protein karena adanya perbedaan penambahan nitrogen (urea) yang merupakan penyusun dari asam amino yang nantinya akan diubah menjadi polipeptida dan akhirnya menjadi protein. Perhitungan analisis sidik ragam dan uji BNT kandungan protein *N. oculata* dapat dilihat pada Lampiran 7, sedangkan

penjelasan hasil uji BNT perlakuan dosis pupuk terhadap kandungan protein *N. oculata* tersaji pada Tabel 8 sebagai berikut:

**Tabel 8.** Hasil uji BNT perlakuan pupuk terhadap protein *N. oculata*

Rata-rata Protein		K	C	B	A	notasi	BNT 5 %
		0.08	0.2	0.22	0.23		
K	0.08	-	-	-	-	a	0.013
C	0.2	0.12*	-	-	-	b	
B	0.22	0.14*	0.02*	-	-	c	
A	0.23	0.15*	0.04*	0.014*	-	d	

Ket: K = Kontrol, A = Perlakuan Dosis Pupuk A; B = Perlakuan Dosis Pupuk B; C = Perlakuan Dosis Pupuk C; <sup>Tn</sup> = Tidak Nyata; \* = Berbeda Nyata

Berdasarkan tabel 8 dapat diketahui bahwa semua perlakuan dosis pupuk berpengaruh berbeda nyata terhadap kandungan protein *N. oculata*. Sedangkan perlakuan A merupakan perlakuan terbaik karena memiliki nilai tertinggi yaitu 0.15. Adanya perbedaan nilai protein pada tiap perlakuan dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi nitrogen yang terkandung pada masing-masing perlakuan. Chrismadha et al., (2006) menyatakan bahwa kandungan protein dan klorofil mikroalga yang dikultur dapat dipengaruhi oleh persentase nitrogen dalam media. Reynolds (2006) menerangkan bahwa mikroalga membentuk protein dalam tubuhnya dengan mengambil nutrien yang dibutuhkan untuk pembentukan protein dari luar tubuhnya seperti NO<sub>3</sub>.

#### 4.3.1 Kandungan protein tiap sel *N. oculata*

Unsur Nitrogen dalam bentuk ammonium dan nitrat dimanfaatkan alga untuk pembentukan protein. Sementara fosfor digunakan alga sebagai sumber energi universal ketika melakukan aktivitas di dalam sel (Ali, 2013). Adapun hasil perhitungan kandungan protein tiap sel dapat dilihat pada Lampiran 8.

Berikut ini nilai kandungan protein tiap sel sel *N. oculata* pada Tabel 9:

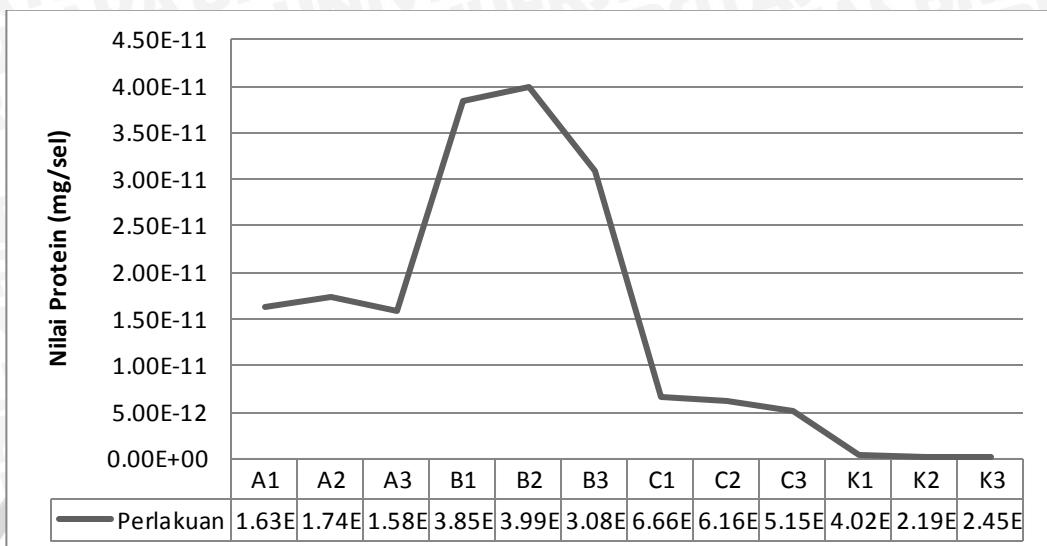
**Tabel 9.** Kandungan protein tiap sel *N. oculata* (mg/sel)

Kode Perlakuan	Protein tiap sel (mg/sel)
A1	$1.63 \times 10^{-11}$
A2	$1.74 \times 10^{-11}$
A3	$1.58 \times 10^{-11}$
B1	$3.85 \times 10^{-11}$
B2	$3.99 \times 10^{-11}$
B3	$3.08 \times 10^{-11}$
C1	$6.66 \times 10^{-12}$
C2	$6.16 \times 10^{-12}$
C3	$5.15 \times 10^{-12}$
K1	$4.02 \times 10^{-13}$
K2	$2.19 \times 10^{-13}$
K3	$2.45 \times 10^{-13}$

Berdasarkan Tabel 9 kandungan protein tiap sel *N. oculata*, diketahui bahwa nilai tertinggi pada kandungan protein tiap sel adalah perlakuan B2 dengan  $3.99 \times 10^{-11}$  mg/sel dan nilai terendah terjadi pada perlakuan K1 dengan kandungan protein  $2.19 \times 10^{-13}$ . Nilai protein dalam satu sel *N. oculata* bervariasi kandungannya, hal ini dipengaruhi pemanfaatan nutrien oleh mikroalga *N. oculata*. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa nilai terbaik pada kandungan protein dalam satu sel *N. oculata* tidak diikuti dengan kepadatan sel tertinggi *N. oculata*. Hal tersebut menandakan adanya penggunaan nutrien yang berbeda antara pemenuhan sintesa protein atau peningkatan kepadatan sel mikroalga tersebut. Ali (2013) menyatakan bahwa alga membutuhkan nutrien untuk memenuhi kebutuhan biosintesa, sebagai sumber energi dan aktivitas sel.

Hasil pengujian kandungan protein pada *N. oculata* dengan perlakuan pupuk

yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 7 berikut ini:



Gambar 9. Kandungan protein tiap sel *N. oculata*

Berdasarkan Gambar 7, dapat dilihat secara keseluruhan bahwa perlakuan B dengan dosis 70 ppm urea dan 10 ppm SP 36 merupakan hasil terbaik untuk kandungan protein tiap sel, bahkan lebih baik dari perlakuan C yang penambahan dosis pupuknya lebih tinggi yaitu 100 ppm urea dan 15 ppm SP 36. Meskipun Nitrogen merupakan unsur penting bagi penyusunan protein dan asam nukleat, akan tetapi terdapat dosis pemanfaatan nutrien yang optimal yaitu perlakuan B (70 ppm urea & 10 ppm SP 36). Hastuti dan Handajani (2001) menyatakan apabila nutrien diberikan pada media kultur dalam jumlah yang terlalu banyak maka akan bersifat racun yang mana akan menghambat pertumbuhan alga itu sendiri.

#### 4.4 Mekanisme transport nutrien pada sel mikroalga

Perlakuan pupuk kombinasi urea dan SP 36 akan menyuplai kebutuhan *N. oculata* akan unsur N dan P. Berikut tabel syarat mutu pupuk urea dan SP 36 yang tersaji pada Tabel 10:

**Tabel 10.** Standar syarat mutu pupuk urea dan SP 36

Jenis Pupuk	Uraian	Persyaratan (%)
Urea	Kadar Nitrogen	Min. 46
	Kadar Air	Maks. 0,5
	Kadar biuret	Maks. 1
SP 36	Kadar Fosfor sebagai $P_2O_5$	
	- $P_2O_5$ total	Min. 36
	- $P_2O_5$ larut dalam asam sitrat 2 %	Min. 34
	- $P_2O_5$ larut dalam air	Min. 30
	Kadar belerang (S)	Min. 5
	Kadar asam bebas ( $H_3PO_4$ )	Maks. 6
	Kadar air	Maks. 5

Sumber: SNI,1998; SNI, 2005

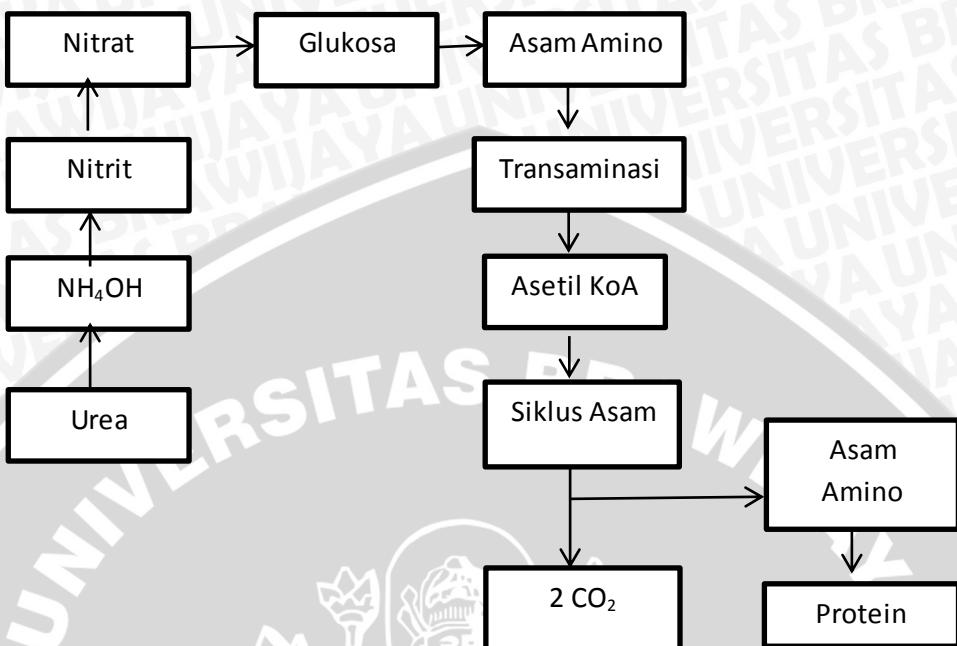
Peran penting dari unsur N yaitu berpengaruh pada proses sintesis protein, klorofil dan enzim (Chrismadha *et al.*, 2006). Selain itu pemberian unsur nitrogen dan fosfat berkaitan dengan kandungan biokimia *N. oculata*. Berdasarkan hasil penelitian Widianingsih *et al.*, (2011) menghasilkan bahwa semakin rendah konsentrasi nitrogen dan fosfat menyebabkan protein terpecah menjadi asam amino yang kemudian membentuk asetil Ko-A sehingga kadar lipid meningkat.

Tumbuhan memanfaatkan nitrogen dalam bentuk ammonium ( $NH_4$ ) dan nitrat ( $NO_3$ ). Effendie (2003), menyatakan bahwa di perairan, nitrogen berupa nitrogen anorganik dan organik. Nitrogen anorganik terdiri atas ammonia ( $NH_3$ ), ammonium ( $NH_4$ ), nitrit ( $NO_2$ ), nitrat ( $NO_3$ ), dan molekul nitrogen dalam bentuk gas nitrogen organik berupa protein, asam amino dan urea.



Berikut ini disajikan alur transformasi nutrien menjadi protein pada mikroalga

yang tersaji pada Gambar 8 :

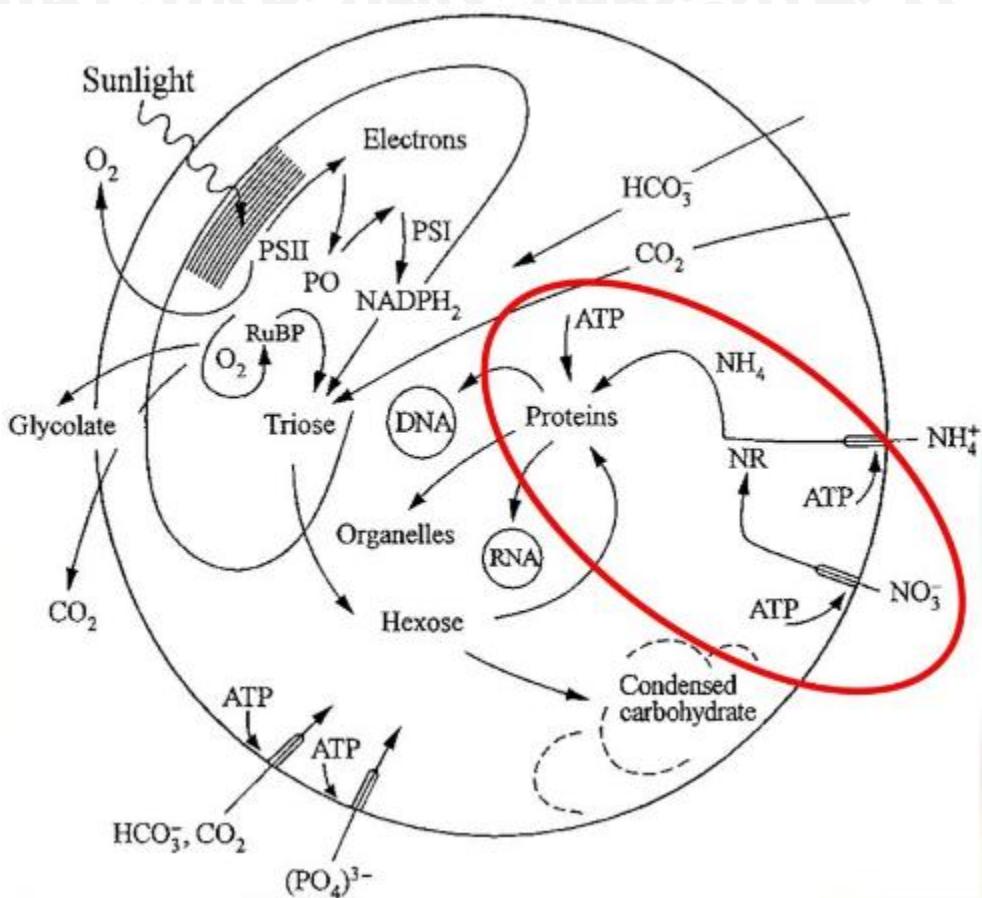


Gambar 8. Flow chart perombakan unsur nitrogen menjadi protein

Alga memanfaatkan nitrogen dalam bentuk nitrat dan ammonium untuk membentuk asam amino, klorofil dan protein. Mekanisme penyerapan nitrat diawali dengan terserapnya nitrat oleh membrane plasma. Selanjutnya nitrat masuk ke dalam sitoplasma, akan tetapi nitrat harus dikonversi terlebih dahulu menjadi ammonium dengan bantuan enzim *nitrate reductase*. Sedangkan penyerapan ammonium langsung di proses untuk membentuk asam amino dan protein (Afandi, 2003).

Perubahan nitrat menjadi protein menurut Reynolds (2006) dapat

dilustrasikan pada Gambar 9 sebagai berikut:



Gambar 9. Proses penyerapan nitrat menjadi protein.

#### 4.5 Parameter kualitas air kultur *N. oculata*

Kualitas Air pada kultur mikroalga *N. oculata* sangat penting mempengaruhi keberhasilan kultur karena air dalam hal ini sebagai media kultur. Aliabbas (2002) mengungkapkan parameter kualitas air dalam proses kultur sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kepadatan sel suatu organisme. Adapun parameter kualitas air yang di uji meliputi parameter fisika dan kimia air. Parameter fisika air yaitu suhu dan salinitas, sedangkan parameter kimia air meliputi pH, oksigen terlarut, karbondioksida bebas, nitrat dan orthofosfat.

#### 4.5.1 Suhu

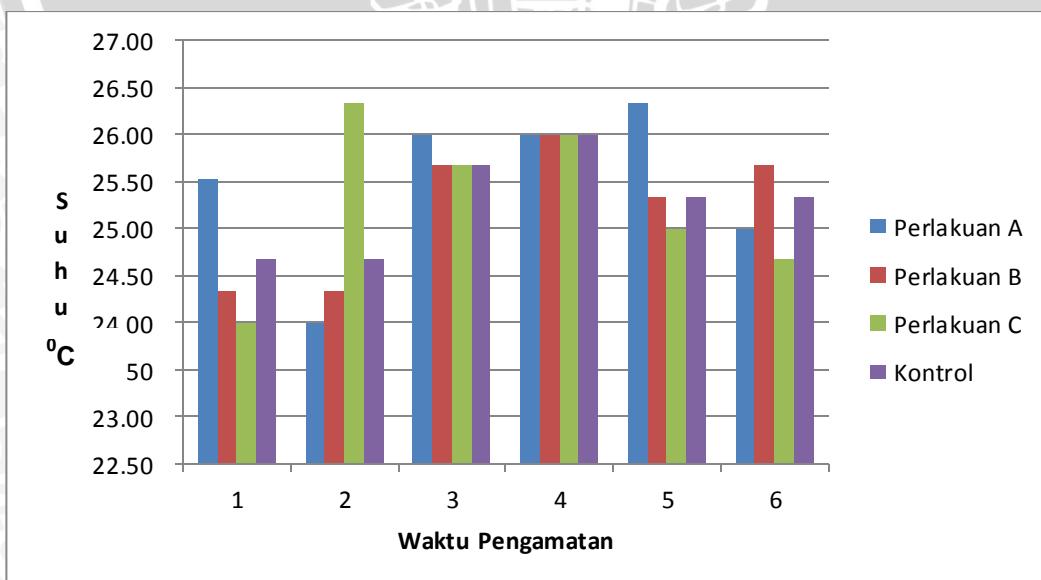
Suhu media kultur akan mempengaruhi pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*. Media kultur yang baik untuk *Nannochloropsis oculata* adalah dengan kisaran suhu 20-30°C (Vazquez-Duhalt dan Arredondo-Vega, 1991). Pengamatan suhu air pada kultur *N. oculata* selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 9.

Hasil pengukuran kisaran suhu air kultur mikroalga *N. oculata* disajikan pada Tabel 11 berikut ini:

**Tabel 11.** Kisaran suhu rata-rata ( $^{\circ}\text{C}$ ) kultivasi pada tiap perlakuan.

Perlakuan pupuk	Kisaran
Dosis A (Urea 40 ppm & SP 36 5 ppm)	24,0 - 26,3
Dosis B (Urea 40 ppm & SP 36 5 ppm)	24,3 - 26,0
Dosis C (Urea 40 ppm & SP 36 5 ppm)	24,0 - 26,3
Kontrol (pupuk walne 1ml/L)	24,6 - 26,0

Hasil pengamatan suhu air selama kultivasi disajikan pada Gambar 10 sebagai berikut :



**Gambar 10.** Grafik rata - rata suhu kultivasi selama penelitian.

Berdasarkan hasil pengamatan suhu selama penelitian diketahui bahwa range suhu berkisar antara  $23^{\circ}\text{C} - 27^{\circ}\text{C}$ . Kisaran suhu rata-rata pada perlakuan A yaitu  $24^{\circ}\text{C} - 26,33^{\circ}\text{C}$ , pada perlakuan B suhu rata-rata berkisar  $24,33^{\circ}\text{C} - 26^{\circ}\text{C}$ , dan pada perlakuan C suhu rata-rata berkisar antara  $24^{\circ}\text{C} - 26,33^{\circ}\text{C}$ , sedangkan pada perlakuan kontrol diperoleh suhu rata-rata berkisar  $24,67^{\circ}\text{C} - 26^{\circ}\text{C}$ . Secara keseluruhan kisaran suhu masih berada pada suhu optimum.

#### 4.5.2 Derajat keasaman

Derajat keasaman (pH) termasuk parameter yang penting untuk diamati karena akan mempengaruhi tingkat kesuburan perairan. Kordi dan Tancung (2007) menyatakan bahwa pH air air akan mempengaruhi kehidupan jasad renik sehingga tingkat kesuburan perairan juga terpengaruh. Perairan yang asam akan membuat pertumbuhan kurang produktif, bahkan dapat membunuh hewan budidaya. Pengamatan pH air pada kultur *N. oculata* selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 10.

Hasil pengamatan kisaran nilai pH selama penelitian di tampilkan pada Tabel 12 berikut ini :

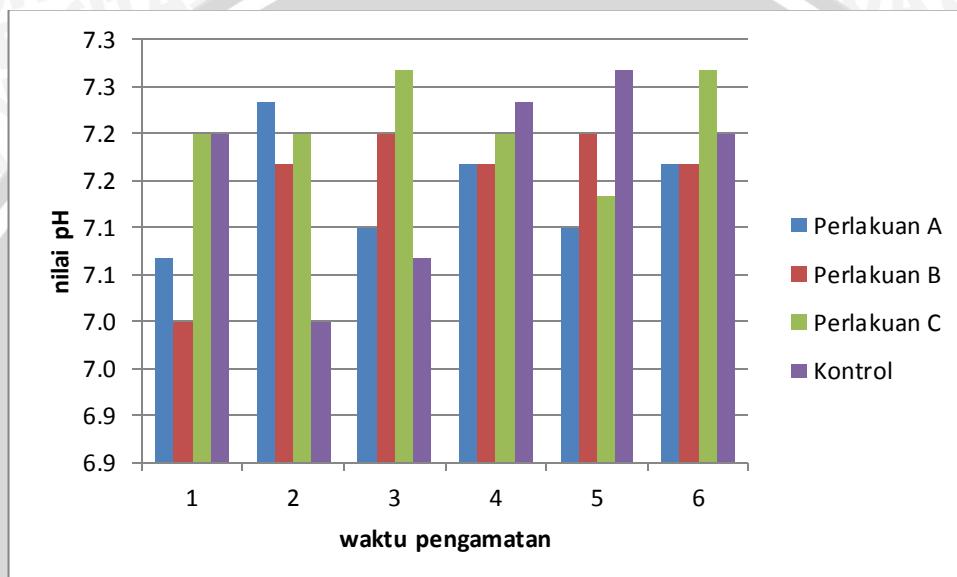
**Tabel 12.** Kisaran pH selama penelitian.

Perlakuan pupuk	Kisaran pH
Dosis A (Urea 40 ppm & SP 36 5 ppm)	7,1 – 7,2
Dosis B (Urea 40 ppm & SP 36 5 ppm)	7,0 – 7,2
Dosis C (Urea 40 ppm & SP 36 5 ppm)	7,1 – 7,3
Kontrol (pupuk walne 1ml/L)	7,0 – 7,3

Dari hasil pengamatan pH pada media kultur diperoleh kisaran pH antara 7,0 – 7,3. Secara keseluruhan nilai pH selama penelitian masih dalam kisaran optimum. Kepmen LH No. 51 (2004) menyebutkan bahwa pH yang aman untuk kehidupan biota laut berkisar antara 7 – 8,5. Perubahan pH selama penelitian

tidak terlalu drastis, hal ini dikarenakan pada media kultur ditambahkan aerasi sehingga terjadi sirkulasi udara. kegagalan budidaya alga dapat disebabkan oleh kegagalan dalam mempertahankan pH media budidaya. Namun dapat diatasi dengan penggunaan aerasi. (Ekawati, 2005).

Hasil pengamatan pH selama kultivasi dapat dilihat pada Gambar 11 sebagai berikut :



Gambar 11. Grafik rata-rata pH selama penelitian.

Berdasarkan Grafik pada Gambar 12, dapat dilihat bahwa nilai pH selama penelitian berkisar antara 7,0 – 7,3. Pada perlakuan A, nilai rata-rata pH antara 7,1 – 7,2 sedangkan pada perlakuan B, berkisar antara 7,0 – 7,2. Kisaran pH pada perlakuan C yaitu 7,1 – 7,3 dan pada perlakuan Kontol adalah 7,0 – 7,3. Secara keseluruhan nilai pH selama penelitian masih dalam kisaran optimum. Widyaningrum *et al.*, (2013) menyebutkan bahwa produksi mikroalga *Nannochloropsis oculata* harus dipertahankan pada media pertumbuhan dengan pH sekitar 7 – 9.



#### 4.5.3 Oksigen terlarut

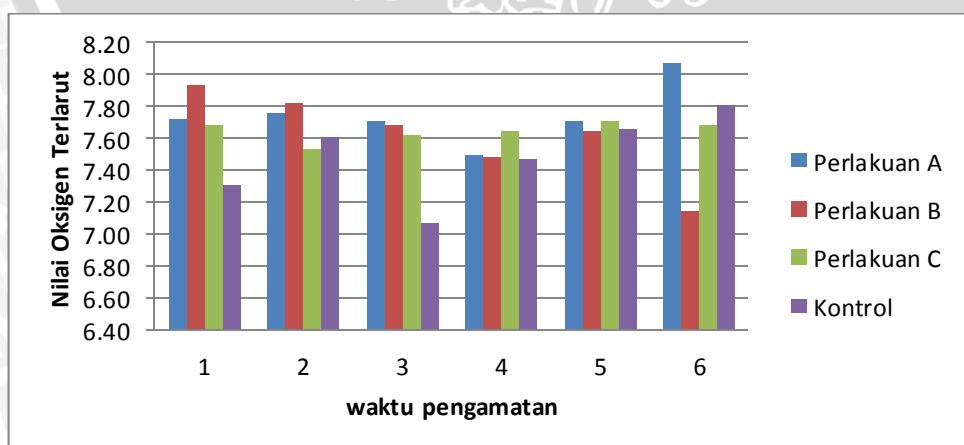
Suplai O<sub>2</sub> terlarut dalam budidaya fitoplankton biasanya ditambahkan dengan cara pemberian aerasi. Apabila kandungan oksigen dalam air kurang maka dapat terjadi penurunan kelimpahan plankton karena sel tidak mampu berkembang bahkan banyak yang mati sebab kekurangan oksigen untuk melakukan fotosintesis. Daulay *et al.*, (2011) mengatakan dalam penelitiannya bahwa kisaran kelarutan oksigen yang baik untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. berkisar 5 – 6,09 mg/l. Pengamatan oksigen terlarut pada kultur *N. oculata* selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 11.

Berikut ini tersaji nilai rata-rata oksigen terlarut yang diperoleh selama penelitian:

**Tabel 13.** Rata-rata oxygen demand (mg/l) selama penelitian.

Perlakuan Pupuk	Rata-rata DO
Dosis A (Urea 40 ppm & SP 36.5 ppm)	7.69
Dosis B (Urea 40 ppm & SP 36.5 ppm)	7.46
Dosis C (Urea 40 ppm & SP 36.5 ppm)	7.82
Kontrol (pupuk walne 1ml/L)	7.47

Hasil pengamatan oksigen terlarut selama kultivasi dapat dilihat pada Gambar 12 sebagai berikut :



**Gambar 12.** Grafik rata-rata oksigen terlarut selama penelitian.

Hasil pengukuran rata-rata oksigen terlarut selama penelitian, diketahui kandungan oksigen berkisar antara 7,06 – 8,07 mg/l. Kisaran DO masih dikatakan baik untuk pertumbuhan fitoplankton. Sastrawijaya (1991) menyatakan bahwa kehidupan organisme aquatik akan berjalan dengan baik jika kandungan oksigen terlarutnya diatas 5 mg/l.

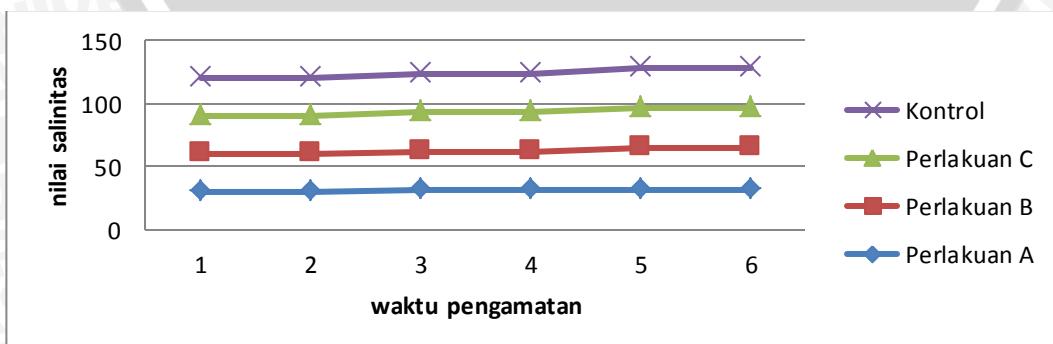
#### 4.5.4 Salinitas

Pertumbuhan plankton juga di pengaruhi salinitas. Yekti (2006) menyatakan bahwa salinitas dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangbiakan plankton, serta pada kisaran salinitas yang sesuai akan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup. Converti *et al.*, (2009) mengatakan nilai salinitas pertumbuhan Mikroalga berkisar antara 30 – 32 ppt. Pengamatan salinitas pada kultur *N. oculata* selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 12. Hasil pengukuran rata-rata salinitas selama penelitian tersaji pada Tabel 14 berikut ini :

**Tabel 14.** Rata-rata nilai salinitas (ppt) selama penelitian.

Perlakuan Pupuk	Rata-rata Salinitas
Dosis A (Urea 40 ppm & SP 36 5 ppm)	32
Dosis B (Urea 40 ppm & SP 36 5 ppm)	32
Dosis C (Urea 40 ppm & SP 36 5 ppm)	32
Kontrol (pupuk walne 1ml/L)	32

Hasil pengamatan salinitas selama kultivasi dapat dilihat pada Gambar 13 sebagai berikut :



**Gambar 13.** Grafik rata-rata salinitas selama penelitian.

Berdasarkan hasil pengukuran nilai rata-rata salinitas berkisar 30 – 32 %.

Kisaran salinitas selama penelitian masih dalam angka optimum. Widyaningrum *et al.*, (2013) mengungkapkan bahwa dalam kultur mikroalga salinitas yang baik berkisar antara 30 – 36 %. Kisaran salinitas tersebut didapatkan dengan cara mengencerkannya dengan aquades.

Penambahan salinitas terjadi diduga karena adanya penguapan. Nurhayati *et al.*, (2013) menyatakan bahwa perubahan salinitas terjadi karena penguapan akibat suhu tinggi, sehingga kadar garam meningkat. Hal senada juga diungkapkan Yekti (2006), salinitas dapat berfluktuasi karena adanya pengaruh penguapan dan penambahan air hujan.

#### 4.5.5 Karbondioksida ( $\text{CO}_2$ )

Karbondioksida digunakan fitoplankton dalam proses fotosintesis. Taw (1990) menyatakan bahwa karbondioksida dengan kadar 1 – 2 persen biasanya sudah cukup digunakan ketika kultur fitoplankton dengan intensitas cahaya yang rendah. Apabila media kultur mengandung karbondioksida berlebih akan mengakibatkan pH tidak optimal sehingga akan mempengaruhi pertumbuhan fitoplankton tersebut. Diharmi (2001) mengungkapkan bahwa *Nannochloropsis oculata* merupakan fitoplankton yang efektif ketika fotosintesis dalam memanfaatkan energi cahaya dan karbondioksida. Pengamatan kandungan  $\text{CO}_2$  pada kultur *N. oculata* selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 13.

Hasil pengukuran kandungan karbondioksida pada kultur mikroalga

*N. oculata* dapat dilihat pada Tabel 15 berikut ini :

**Tabel 15.** Rata-rata kandungan CO<sub>2</sub> (mg/l)

Perlakuan Pupuk	Rata-rata	
	Hari ke-1	Hari ke-6
Dosis A (Urea 40 ppm & 5 ppm SP-36)	31.9	8.0
Dosis B (Urea 70 ppm & 10 ppm SP-36)	46.6	15.9
Dosis C (Urea 100 ppm & 15 ppm SP-36)	43.9	10.6
Kontrol (Pupuk Walne 1ml/L)	59.9	17.2

Mengacu pada Tabel 15, kandungan CO<sub>2</sub> tertinggi pada hari pertama terjadi pada perlakuan Kontrol dan kadar CO<sub>2</sub> terendah pada perlakuan dosis A. Sedangkan pada hari terakhir kultur (hari ke 6), kandungan CO<sub>2</sub> tertinggi pada perlakuan Kontrol dan kadar CO<sub>2</sub> terendah pada perlakuan A. Secara keseluruhan terjadi penurunan karbondioksida pada hari pertama kultur sampai hari terakhir kultur. Hal ini karena karbokdioksida digunakan dalam proses fotosintesis sehingga kelimpahan sel *Nannochloropsis oculata* akan meningkat. Pengaruh CO<sub>2</sub> terhadap kelimpahan sel sesuai dengan penelitian Chiu *et al.*, (2008), bahwa pemberian gas CO<sub>2</sub> dengan konsentrasi 2 % mampu meningkatkan 50 % kelimpahan sel *N. oculata* dibandingkan dengan control. Namun sebaliknya ketika penambahan CO<sub>2</sub> dengan konsentrasi 5 % justru menghambat pertumbuhan kultivasi.

#### 4.5.6 Nitrat

Nitrat mempunyai peranan penting dalam pertumbuhan dan kandungan nutrisi fitoplankton. Unsur hara N akan berpengaruh terhadap kandungan protein dan peningkatan kepadatan sel alga. Hu dan Gao (2003) menyatakan bahwa peningkatan NaNO<sub>3</sub> dan KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pada media kultivasi akan diiringi peningkatan

kandungan protein dan polyunsaturated fatty acids (PUFAs) *Nannochloropsis*, tetapi akan menurunkan kandungan karbohidrat, lipid total dan total fatty acid. Effendi (2003) menambahkan bahwa nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) merupakan salah satu nutrien utama bagi pertumbuhan fitoplankton dan alga. Nitrat sangat mudah larut dalam air dan bersifat stabil. Konsentrasi nitrat pada suatu perairan diatur dalam proses nitrifikasi. Nitrifikasi yang merupakan proses oksidasi ammonia yang berlangsung dalam kondisi aerob menjadi nitrit dan berubah menjadi nitrat. Pengamatan kandungan nitrat pada kultur *N. oculata* selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 14.

Hasil pengukuran kandungan nitrat pada media kultur dapat dilihat pada Tabel 16 berikut ini:

**Tabel 16.** Kandungan rata-rata nitrat (mg/l) selama penelitian

Perlakuan Pupuk	Rata-rata	
	Hari ke-1	Hari ke-6
Dosis A (Urea 40 ppm & 5 ppm SP-36)	0.75	0.38
Dosis B (Urea 70 ppm & 10 ppm SP-36)	0.82	0.40
Dosis C (Urea 100 ppm & 15 ppm SP-36)	0.96	0.44
Kontrol (Pupuk Walne 1ml/L)	0.99	0.58

Berdasarkan tabel 16 tentang kandungan nitrat selama penelitian bahwa, nitrat pada media kultur berkisar antara 0,35 – 1,05 mg/l. Secara keseluruhan nilai nitrat masih tergolong baik untuk pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*. Mikroalga membutuhkan kandungan nitrat optimum 0,9 – 3,5 mg/l untuk pertumbuhannya (Widianingsih *et al.*, 2011). Nybakken (1992) menambahkan, keberadaan nitrat dan fosfat sangat penting karena merupakan faktor pembatas dan berpengaruh terhadap produktivitas fitoplankton.

#### 4.5.7 Orthofosfat

Keberadaan nutrien yang sesuai akan menghasilkan kepadatan yang tinggi.

Nutrien fosfat dibutuhkan untuk membantu laju pertumbuhan dan memberi kandungan nutrisi yang baik pada mikroalga. Widianingsih *et al.*, (2011) mengungkapkan bahwa hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan persentase nutrien fosfat dan nitrat terhadap pertumbuhan *N. oculata* dan proses fisiologinya. Pengamatan kandungan orthofosfat pada kultur *N. oculata* selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 14.

Hasil perhitungan kandungan orthofosfat pada media kultur dapat dilihat pada Tabel 17 berikut ini:

**Tabel 17.** Kandungan orthofosfat (mg/l) selama penelitian

Perlakuan Pupuk	Rata-rata	
	Hari ke-1	Hari ke-6
Dosis A (Urea 40 ppm & 5 ppm SP-36)	0.07	0.04
Dosis B (Urea 70 ppm & 10 ppm SP-36)	0.11	0.06
Dosis C (Urea 100 ppm & 15 ppm SP-36)	0.18	0.15
Kontrol (Pupuk Walne 1ml/L)	0.20	0.18

Berdasarkan Tabel 17, diperoleh kandungan orthofosfat pada media kultur berkisar antara 0.041 – 0.207. Kisaran orthofosfat pada media kultur masih tergolong normal. Subrijanti (2000) mengatakan bahwa pada umumnya fosfat berjumlah kecil dalam perairan, yaitu berkisar 0,05 – 0,20 ppm. Arfiati (2001) menyebutkan bahwa kebutuhan fosfat yang diperlukan untuk pertumbuhan serta perkembangan fitoplankton antara 0,018 – 0,209 ppm.



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pada kultur *N. oculata* dengan menggunakan perlakuan dosis pupuk kombinasi urea dan SP 36 dapat disimpulkan sebagai berikut :

- Perlakuan pemberian dosis pupuk kombinasi urea dan SP 36 yang berbeda memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap kepadatan sel *N. oculata* berdasarkan Uji ANOVA dimana nilai F hitung perlakuan (35.36552522) > F Tabel 5 % ( $P > 2.76$ ) dan juga berbeda nyata terhadap kandungan protein dengan F hitung (48.59) > F Tabel 5 %. Hal ini menyimpulkan bahwa hipotesis pada penelitian ini adalah tolak  $H_0$  terima  $H_1$ .

### 5.2. Saran

Adapun saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian adalah disarankan menggunakan pupuk dengan konsentrasi urea 40 ppm dan SP 36 5 ppm karena menghasilkan kepadatan sel maupun kandungan protein tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adhikari, S. 2004. Fertilization Soil and Water Quality Management in Small Scale Pond: Fertilization Requirements and Soil Properties. <http://www.enach.org/aquaculture/article.fertilization.pdf>. Diakses pada 10 mei 2015
- Afandi, Y. D. 2003. Uji Penurunan Kandungan Nitrat dan Fosfat oleh Algae Hijau (*Chlorella* sp.) secara Kontinyu. Laporan Tugas Akhir. Jurusan Teknik Lingkungan ITS. Surabaya
- Ali, M. 2013. Monograf Degradasi Nitrat Limbah Domistik dengan Alga Hijau Chlorella. UPN Veteran. Surabaya.
- Aliabbas, A. 2002. Kualitas *Nannochloropsis* sp. Akibat Lama Penyinaran Nata de Nanno. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Skripsi. Hal 4.
- Amidi, S. dan Syamididi. 2006. Konsentrasi Unsur Hara Pada Media dan Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dengan Pupuk Anorganik Teknis dan Analisis. *J. Fish. Sci.* 8(2): 201-206
- AOAC, 2005. Official Method of Association of Official Analytical Chemist. 12<sup>th</sup>. Edition. Published by Association of Official Analytical.
- Arfiati, D. 2001. Limnologi Kimia Air. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Universita Brawijaya. Malang
- Arikunto, S. 2002. Prosedur Penelitian: Suatu Pendekatan Praktek. Cetakan XI. Edisi Revisi V. Rineka Cipta. Jakarta
- Balai Penelitian Tanah. 2005. Petunjuk Teknik Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air dan Pupuk. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian. Bogor
- Beacham, T. A., C. Bradley., D. A. White., P. Bond., dan S. T. A. 2014. Lipid Productivity and Wall Ultrastructure of Six Strain of *Nannochloropsis*: Implications For Biofuel Production and Downstream Processing. Plymouth University.
- Boyd, C.E. 1990. Water Quality in Pond for Aquaculture. Research and Development Series No. 43. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama.
- Cahyaningsih, S. 2009. Jurnal Teknis: Produksi Pakan Alami. Departemen Kelautan dan Perikanan Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Balai Budidaya Air Payau Situbondo. Situbondo
- Chisti, Y., 2007. Biodiesel from Microalgae. *Biotechnology Advances*. 25: 294-306.

- Chrismadha, T., L. Panggabean, dan Y. Mardiati. 2006. Pengaruh Konsentrasi Nitrogen dan Fosfor terhadap Pertumbuhan, Kandungan Protein, Karbohidrat dan Fikosianin pada Kultur Spirulina fusiformis. Berita Biologi Vol. 8 No. 3.
- Chiu, S.Y., C.Y. Kao, M.T. Tsai, S.C. Ong, C.H. Chen, dan C.S. Lin. 2008. Lipid Accumulation and CO<sub>2</sub> Utilization of *Nannochloropsis oculata* to CO<sub>2</sub> Aeration. *Biosource Technology*. 100: 833-838.
- Converti, A., A.A. Casazza, E.Y. Ortiz, P. Perego, dan M.D. Borghi. 2009. Effect of Temperature and Nitrogen Concentration on The Growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for Biodiesel Production. *Chem. Eng. Process.* 48 : 1146-1151
- Coutteau P., 1996. Micro Algae. *Dalam* Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture, Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference Center University of Gent. Belgium. FAO. pp. 7-30.
- Daulay, R. M., P. Pindi, dan L. Indra. 2011. Pengaruh Pemberian Pupuk Ekskresi Cacing Tanah (Kascing) terhadap Kelimpahan *Nannochloropsis* sp. sebagai Pakan Alami Ikan Budidaya. USU : Sumatera Utara.
- Dianursanti dan A. Wijanarko. 2007. Enhancement of Cyanobacteria Growth in Serial Photobioreactor by Photon Flux Density Alteration. *Jurnal Teknologi*. pp. 299-308.
- Diharmi, A. 2001. Pengaruh Pencahayaan Terhadap Kandungan Pigmen Bioaktif Mikroalga *Spirulina Platensis Strain Local (Ink)*. Tesis Magister. IPB. Bogor.
- Dwijoseputro. 1994. Pengantar Fisiologi Tumbuhan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 205 hal
- Edhy, W.A., dan Kurniawan. 2003. Plankton di Lingkungan PT. Centralpertiwi Bahari. Suatu Pendekatan Biologi dan Manajemen Plankton dalam Budidaya Udang. Mitra Bahari: Lampung. hal. 3-29.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan. Cetakan Kelima. Yogyakarta : Kanisius.
- Ekawati, A.W. 2005. Budidaya Makanan Alami. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.
- Elzenga, J.T.M., H.B.A. Prins, dan J. Stefels. 2000. The Role of Extracellular Carbonic Anhydrase Activity in Inorganic Carbon utilization of *Phaeocystis globosa* (*Prymnesiophyceae*): A Comparison with other Marine Algae Using The Isotopic Disequilibrium Technique. *Journal Limnology and Oceanography*. 45(2): 372-380
- Ernest, P. 2012. Pengaruh Kandungan Ion Nitrat Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. Fakultas Teknik. Universitas Indonesia. Depok
- Fogg, G. E. 1975. Algae Culture and Phytoplankton Ecology. 2<sup>nd</sup> Edition. University of Winconsin Press. Maddison. pp.19

- Garofalo, R. 2009. Alga and Aquatic Sustainable Production of 2<sup>nd</sup> Generation Biofuels. *Aquafuels*. pp.109
- Gwo, J. C., J. Y. Chiu, C. C. Chou, dan H. Y. Cheng. 2005. Cryopreservation of Marine Microalga *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae). *Cryobiology*. 50: 338-343.
- Hadi, R. P., T. R. Setyawati, dan Mukarlina. 2015. Kandungan Protein dan Kepadatan Sel *Nannochloropsis oculata* pada Media Kultur Limbah Cair Karet. *J. Protobiont*. 4(1): 120-127
- Haryadi, S., I. N. N. Suryodiptro, dan B. Widigdo. 1992. Limnologi; Penuntun Praktikum dan Metoda Analisis Air. Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor.
- Hastuti dan Handajani. 2001. Budidaya Pakan Alami. Jurusan Perikanan. Fakultas Peternakan Perikanan Universitas Muhammadiyah Malang. Malang
- Hoek, E., P. Marinos., M. Benissi. 1998. Applicability of The Geological Strength Index (GSI) Classification for Very Weak and Sheared Rock Masses. The Case of The Athens Schist Formation. *Bull. Eng. Env. Geo.* 57: 151- 160.
- Hu, H., and K. Gao 2003. Optimization of Growth and Fatty Acid Composition of A Unicellular Marine Picoplankton, *Nannochloropsis* sp. with Enriched Carbon Sources. *Biotechnology Letters*. 25(5): 421-425
- Keputusan Menteri Negara dan Lingkungan Hidup. 2004. Baku Mutu Air Laut untuk Biota Laut. Jakarta.
- Kimball, J. W. 1999. Biologi Jilid 2. Erlangga. Jakarta.
- Kordi, K. G., dan A. B. Tancung. 2007. Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan. Rineka Cipta : Jakarta
- Kusdarwati, R., Akhyar, M., Rahardja, B. S. 2011. Pengaruh Penambahan Vitamin B<sub>12</sub> pada Media Blotong Kering terhadap Pertumbuhan Populasi *Dunaliella salina*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Ilmu Kelautan*. 3(1): 73-77
- Isnansetyo, A., dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton & Zooplankton, Pakan Alami untuk Pemberian Organisme Laut. Kanisius: Yogyakarta.
- Lakitan, B, 2007. Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan. Cetakan I. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta
- Landner, L. 1976. Eutrophication of Lakes. World Health Organization Regional Office for Europe.
- Laven, P, and P. Sorgeloos. 1996. Manual On The Production And Use of Live Food For Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Rome, FAO. pp. 295.

- Mamduh, A., E.D. Masithah, dan M.A. Alamsjah. 2013. Pengaruh Pemberian Pupuk *Azolla piñata* Terhadap Kandungan Klorofil Pada *Dunaliella salina*. Universitas Airlangga: Surabaya.
- Mayes, P. A., V. W. Rodwell, D.K. Granner dan D. W. Martin. 1987. Biokimia Harper. Edisi 20. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Naughton. 1998. Ekologi Umum, edisi kedua. UGM Press : Yogyakarta.
- Nurhayati, T., M. B. Hermanto, dan M. Lutfi. 2013. Penggunaan Fotobioreaktor Sistem Batch Tersirkulasi terhadap Tingkat Pertumbuhan Mikroalga *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sp.* dan *Nannochloropsis oculata*. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. 1(3): 249-257
- Nybakken, J.W. 1992. Biologi Laut, Suatu Pendekatan Ekologis. Cetakan kedua. PT Gramedia Pustaka. Jakarta
- Octreani, A.M., Supriharyono dan Prijadi S. 2014. Pengaruh Perbedaan Jenis Pupuk Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dilihat dari Kepadatan Sel dan Klorofil  $\alpha$  pada Skala Semi Massal. *Journal of Maquares*. 3(2): 102-108
- Overdahl, C.J., G.W. Rehm, and H.L. Meredith. 1991. Fertilizer Urea. College of Agriculture. Food and Environmental Sciences. University of Minnesota Extension.
- Pelczar, C dan Krieg. 1986. Microbiology. McGraw-Hill Book Company. Singapura. pp. 918.
- 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. *J. Appl. Phycol.* 3: 43-53.
- Renaud, S.M., L.V. Thinh dan D.L. Parry. 1999. The Gross Chemical Composition and Fatty Acid Composition of 18 Species of Tropical Australian Microalgae for Possible Use in Mariculture. *J. Aquaculture*. 170: 147-159
- Reynolds, C. S. 2006. Ecology of Phytoplankton. 2<sup>nd</sup> Edition. Cambridge University Press. London. pp. 535
- Riedl, A. 2009. Reed mariculture-istan rotifers. [www.Instan-Algae.com](http://www.Instan-Algae.com). Diakses pada tanggal 20 September 2014
- Rusyani, E., A.I.M. Sapta, dan M. Firdaus. 2007. Budidaya Phytoplankton Dan Zooplankton Skala Laboratorium. *Seri Budidaya laut*. No. 9: 48-59
- Sari dan Manan. 2012. Pola Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* Pada Kultur Skala Laboratorium, Intermediet dan Massal. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 2(2): 123-127
- Sastrawijaya, A. T. 1991. Pencemaran Lingkungan. Rineka Cipta, Jakarta.

- SNI. 1998. Syarat Mutu Pupuk Urea. SNI 02-2801-1998
- SNI 2004. Air dan Limbah-Bagian 11: Cara Uji Derajat Keasaman (pH). SNI 06-6989 11-2004.
- SNI. 2005. Syarat Mutu Pupuk SP 36. SNI 02-3769-2005.
- SNI. 2006. Cara Uji Air Minum Dalam Kemasan. SNI 01- 3554-2006.
- Subarijanti, H. U. 2000. Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Pertumbuhan Alga. IPB, Bogor
- Subarijanti, H. U. 2005. Ekologi Perairan. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang
- Sudjana. 2002. Metode Statistika. Cetakan kedua. Edisi keenam. Bandung: Tarsito.
- Subekti, D. A., Purnama S., Tjahjo W. 2014. Pengaruh Berbagai Komposisi Tingkat Konsentrasi Media Pupuk Urea Terhadap Kandungan Glukosa *Nannochloropsis sp.* Sebagai Alternatif Bahan Baku Bioetanol. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto
- Suminar, A. 1993. Kimia Dasar Prinsip dan Terapan Modern. Jakarta : Erlangga.
- Suprapto, D. 2011. Ekofisiologi Bivalvia dan Konsumsi Oksigen. Semarang : Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Taw. 1990. Petunjuk Kultur Murni dan Massal Mikroalga. UNDP. FAO.
- Utomo, A. D. S. Makmur, N. Muflikhah, S. Nurdawaty. 2007. Ichyofauna Sungai Musi Sumatera Selatan. Pusat Riset Perikanan Tangkap. Jakarta.
- Van Den Hoek , C., D.G. Mann and H.M. Johns. 1995. An Introduction to Phycology. 3<sup>rd</sup> edition. Cambridge at the University Press. London.
- Vazquez-Duhalt, R. and B.Q. Arredondo-Vega. 1991. Oil production from microalgae under saline stress. Biomass for energy and industry 5<sup>th</sup> E.C. conference. Policy, Environment, Production and Harvesting, 1: 547-551.
- Villegas, C. T., 1995. Production Natural Food Organisms. Southeast Asian Fisheries Development Center, Tigbauan, Iloilo, Philippines.
- Waggoner and Speer. 1999. Lipid and Membrane Function in Green Algae, Biochim. Biophys. Acta. 13(2): 17-45.
- Widianingsih, R. Hartati., H. Endrawati., E. Yudiat., V. R. Iriani. 2011. Pengaruh Pengurangan Konsentrasi Nutrien Fosfat dan Nitrat Terhadap Kandungan Lipid Total *Nannochloropsis oculata*. Jurnal Ilmu Kelautan. 16(1): 24-29
- Widyaningrum, N. M., Bambang S., M. Bagus H. 2013 Studi Eksperimental Fotobioreaktor Photovoltaic untuk Produksi Mikroalga (*Nannochloropsis oculata*). Jurnal Bioproses Komoditas Tropis. 1(2): 30-38

Yanuaris, L, M., Rahayu K. dan Kismiyati. 2012. Pengaruh Fermentasi *Actinobacillus* sp. Pada Kotoran Sapi Sebagai Pupuk Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 4: 21-26.

Yuliastuti, N.H. 2007. Pertumbuhan Aalga *Chaetoceros mulleri* pada Media Pupuk Pertanian dengan dan Tanpa Penambahan Probiotik *Bacillus* sp. *IRVE01*. IPB. Bogor. Hal 15-16.

Yekti, E. N. 2006. Analisis Suhu Penyimpanan Rotifera (*Branchionus plicatilis*) Instan Dalam Kemasan dengan Penambahan Pakan Mikroalga Konsentrat dan Bakteri Probiotik. Skripsi. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor: Bogor.



### Lampiran 1. Perhitungan dosis pupuk

Perhitungan dosis kandungan Nitrogen pupuk urea, dalam pupuk urea mengandung 46 % nitrogen maka perhitungan dosis sebagai berikut :

- **40 ppm**

$$100/46 \times 40 \text{ ppm}$$

$$2.17 \times 40 \text{ ppm} = 86.8$$

$$86.8/1000 = 0.0868 \text{ gram/L}$$

$$5 \text{ liter} \times 0.108 = 0.434 \text{ gram}$$

- **70 ppm**

$$100/46 \times 70 \text{ ppm}$$

$$2.17 \times 70 \text{ ppm} = 152.1$$

$$152.1/1000 = 0.1521 \text{ gram/L}$$

$$5 \text{ liter} \times 0.1521 = 0.76 \text{ gram}$$

- **100 ppm**

$$100/46 \times 100 \text{ ppm}$$

$$2.17 \times 100 = 217$$

$$217 / 1000 = 0.217 \text{ gram/L}$$

$$5 \text{ liter} \times 0.217 = 1.085 \text{ gram}$$

Perhitungan dosis kandungan fosfor pupuk SP 36, dalam pupuk SP 36 mengandung 36 % fosfor maka perhitungan dosis sebagai berikut :

- **5 ppm**

$$100/36 \times 5 \text{ ppm}$$

$$2.7 \times 5 \text{ ppm} = 13.8$$

$$13.8/1000 = 0.0138 \text{ gram/L}$$

$$5 \text{ liter} \times 0.0138 = 0.069 \text{ gram}$$

- **10 ppm**

$$100/36 \times 10 \text{ ppm}$$

$$2.7 \times 10 \text{ ppm} = 27$$

$$27/1000 = 0.027 \text{ gram/L}$$

$$5 \text{ liter} \times 0.027 = 0.135 \text{ gram}$$

- **15 ppm**

$$100/36 \times 15 \text{ ppm}$$

$$2.7 \times 15 = 40.5$$

$$40.5 / 1000 = 0.0405 \text{ gram/L}$$

$$5 \text{ liter} \times 0.0405 = 0.2025 \text{ gram}$$

**Lampiran 2.** Alat dan bahan penelitian

Parameter	Alat	Bahan
Analisis protein	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Gelas ukur</li> <li>▪ Hot plate</li> <li>▪ Alat destilasi</li> <li>▪ Labu kjeldahl</li> <li>▪ Pipet volume</li> <li>▪ Erlenmeyer</li> <li>▪ Kondensor</li> <li>▪ Pipet tetes</li> <li>▪ Buret</li> <li>▪ Statif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <math>K_2SO_4</math></li> <li>▪ HgO</li> <li>▪ <math>H_2SO_4</math></li> <li>▪ Sampel</li> <li>▪ Air destilata</li> <li>▪ NaOH</li> <li>▪ <math>Na_2S_2O_3</math></li> <li>▪ <math>H_3BO_3</math></li> <li>▪ indikator BCG-MR</li> <li>▪ Aquades</li> <li>▪ HCl 0,02 N</li> </ul>
Kepadatan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mikroskop</li> <li>• Handcounter</li> <li>• Cover glass</li> <li>• Haemocytometer</li> </ul>	Air sampel
Suhu	Thermometer	Air sampel
Derajat Keasaman (pH)	pH pen	Air sampel
Salinitas	Refraktometer	Air sampel
$CO_2$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Beaker glass</li> <li>▪ Pipet volume</li> <li>▪ Buret</li> <li>▪ Statif</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Air sampel</li> <li>▪ Indicator PP</li> <li>▪ <math>Na_2CO_3</math></li> </ul>
Nitrat	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Erlenmeyer</li> <li>▪ Vacuum pump</li> <li>▪ Cawan petri</li> <li>▪ Hot plate</li> <li>▪ Pipet volume</li> <li>▪ Pipet tetes</li> <li>▪ Cuvet</li> <li>▪ Spatula</li> <li>▪ Spektro UV</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Air sampel</li> <li>▪ Kertas saring</li> <li>▪ Asam fenol disulfonik</li> <li>▪ Aguades</li> <li>▪ <math>NH_4OH</math></li> </ul>

## Lanjutan Tabel

Parameter	Alat	Bahan
Oksigen terlarut (DO)	DO meter	Air sampel
Orthofosfat	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Erlenmeyer</li><li>▪ Gelas ukur</li><li>▪ Pipet tetes</li><li>▪ Cuvet</li><li>▪ Spektro UV</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Air sampel</li><li>▪ Ammonium molybdate</li><li>▪ <math>\text{SnCl}_2</math></li></ul>
Kultur Plankton	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Toples 10 liter</li><li>▪ Aerator</li><li>▪ Selang</li><li>▪ Batu aerasi</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Air laut steril</li><li>▪ Pupuk SP 36</li><li>▪ Pupuk urea</li><li>▪ Aquades</li><li>▪ Bibit <i>Nannochloropsis oculata</i></li></ul>

**Lampiran 3.** Kepadatan sel *N. oculata* (sel/ml).

Perlakuan	Hari Ke							Total	Rata-rata
	0	1	2	3	4	5	6		
A1	1000	3250	8750	14000	18500	28750	37375	111625	15946,4
A2	1000	4500	9250	16125	21875	26250	40250	119250	17035,7
A3	1000	4375	9375	15625	23250	29000	40625	123250	17607,1
<b>Total A</b>	<b>3000</b>	<b>12125</b>	<b>27375</b>	<b>45750</b>	<b>63625</b>	<b>84000</b>	<b>118250</b>	<b>354125</b>	<b>50589,3</b>
Rata-rataA	1000	4041,7	9125	15250	21208,3	28000	39416,7	118041,7	19506,9
B1	1000	3000	7875	13125	15625	23250	34875	98750	14107,1
B2	1000	4125	6375	12250	18250	24750	37500	104250	14892,9
B3	1000	3500	7500	13625	19750	27625	37500	110500	15785,7
<b>Total B</b>	<b>3000</b>	<b>10625</b>	<b>21750</b>	<b>39000</b>	<b>53625</b>	<b>271625</b>	<b>109875</b>	<b>313500</b>	<b>44785,7</b>
Rata-rataB	1000	3541,7	7250	13000	17875	25208,3	36625	104500	14928,6
C1	1000	2375	5750	8250	15500	18000	33625	84500	12071,4
C2	1000	3500	5625	8125	18125	24250	35375	96000	13714,3
C3	1000	2875	6500	12500	18125	24000	34250	99250	14178,6
<b>Total C</b>	<b>3000</b>	<b>8750</b>	<b>17875</b>	<b>226625</b>	<b>325333,3</b>	<b>438708,3</b>	<b>635541,7</b>	<b>279750</b>	<b>39964,3</b>
Rata-rataC	1000	2916,7	5958,3	9625	17250	22083,3	34416,7	93250	13321,4
K1	1000	3125	3500	8750	11375	14875	24750	67375	9625
K2	1000	2875	5500	12000	19000	19750	28250	88375	12625
K3	1000	2875	4250	5500	7375	16750	31500	69250	9892,9
<b>Total K</b>	<b>3000</b>	<b>8875</b>	<b>13250</b>	<b>26250</b>	<b>37750</b>	<b>51375</b>	<b>84500</b>	<b>225000</b>	<b>32142,9</b>
Rata-rataK	1000	2958,3	4416,7	8750	12583,3	17125,0	28166,7	75000	10714,3



**Lampiran 4.** Perhitungan analisis sidik ragam dan uji BNT kepadatan sel *N. oculata*.

- Perhitungan menggunakan rancangan acak lengkap tersarang

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{\gamma^2}{abn} \\
 &= \frac{(\sum A + \sum B + \sum C + \sum K)^2}{4 \times 7 \times 3} \\
 &= \frac{354125 + 313500 + 279750 + 225000)^2}{84} \\
 &= 16.362.656.436
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Total} &= (Aa1)^2 + (Aa2)^2 + \dots + (Ak3)^2 - FK \\
 &= (3250)^2 + (8750)^2 + \dots + (31500)^2 - 16.362.656.436 \\
 &= 11.193.296.689
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum K^2)}{4 \times 7} - FK \\
 &= ((354125^2 + 313500^2 + 279750^2 + 225000^2)/28) - 16.362.656.436 \\
 &= 426.478.237
 \end{aligned}$$

JK Waktu dalam Perlakuan

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(\sum A1^2 + \sum A2^2 + \dots + \sum K5^2 + \sum K6^2)}{4} - \frac{(\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum K^2)}{4 \times 7} \\
 &= \frac{(12125^2 + 27375^2 + \dots + 51375^2 + 84500^2)}{4} - \frac{(354125^2 + 313500^2 + 279750^2 + 225000^2)}{28} \\
 &= 10.541.714.286
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Galat} &= JKT - JKP - JKW(P) \\
 &= 11.193.296.689 - 426.478.237 - 10.541.714.286 \\
 &= 225.104.167
 \end{aligned}$$

Tabel Analisis sidik ragam

SK	DB	JK	KT	FHIT	F tabel 5 %
A	3	426478237	142159412	35.36552522**	2.7694309
B	24	10541714286	439238095	109.2708931**	1.7132949
Galat	56	225104167	4019717.262		
Total	83	11193296689			

Ket : A = perlakuan

B = waktu pengamatan  
\* = berbeda nyata  
\*\*= berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam kepadatan *Nannochloropsis oculata*

diketahui bahwa :

1. F hitung (A) > F tabel, artinya perlakuan pemberian dosis pupuk yang berbeda (urea 40 ppm dan SP 36 5 ppm; urea 70 ppm dan SP 36 10 ppm dan urea 100 ppm dan SP 36 15 ppm) terhadap kepadatan *N. oculata* berbeda nyata pada taraf uji 5 % dan. Hal itu berarti terima  $H_1$  dan tolak  $H_0$
2. F hitung (B dalam A) > F tabel, artinya perbedaan waktu pengamatan terhadap kepadatan *N. oculata* berbeda nyata pada taraf uji 5 %. Hal itu berarti terima  $H_1$  dan tolak  $H_0$ .

Perhitungan Nilai BNT Perlakuan :

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \frac{\sqrt{2 \text{ KTG}}}{n (\text{perlakuan})} \\ &= \frac{\sqrt{2 \times 4019717,26}}{4} \\ &= 708,84 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ tabel } 5\% \times \text{SED} \\ &= 2.003241 \times 708,84 \\ &= 1419,99 \end{aligned}$$

Perhitungan Nilai BNT Waktu Dalam Perlakuan

$$\text{SED} = \frac{\sqrt{2 \text{ KTG}}}{n (\text{perlakuan})}$$
$$= \frac{\sqrt{2 \times 4019717,26}}{7}$$
$$= 405.05$$

$$\text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% \times \text{SED}$$
$$= 2.003241 \times 405.05$$
$$= 811.4240029$$

**Lampiran 5.** Pertumbuhan harian *N. oculata* (sel/hari).

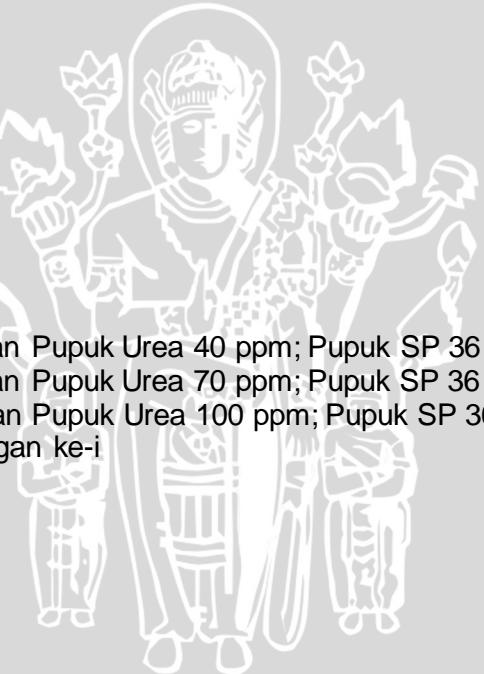
Perlakuan	Hari Ke							Jumlah
	0	1	2	3	4	5	6	
A1	0	2250	5500	5250	4500	10250	8625	36375
A2	0	3500	4750	6875	5750	4375	14000	39250
A3	0	3375	5000	6250	7625	5750	11625	39625
Total A	0	9125	15250	18375	17875	20375	34250	115250
Rata-rata A	0	3042	5083	6125	5958	6792	11417	38417
B1	0	2000	4875	5250	2500	7625	11625	33875
B2	0	3125	2250	5875	6000	6500	12750	36500
B3	0	2500	4000	6125	6125	7875	9875	36500
Total B	0	7625	11125	17250	14625	22000	34250	106875
Rata-rata B	0	2542	3708	5750	4875	7333	11417	35625
C1	0	1375	3375	2500	7250	2500	15625	32625
C2	0	2500	2125	2500	10000	6125	11125	34375
C3	0	1875	3625	6000	5625	5875	10250	33250
Total C	0	5750	9125	11000	22875	14500	37000	100250
Rata-rata C	0	1917	3042	3667	7625	4833	12333	33417
K1	0	2125	375	5250	2625	3500	9875	23750
K2	0	1875	2625	6500	7000	750	8500	27250
K3	0	1875	1375	1250	1875	9375	14750	30500
Total K	0	5875	4375	13000	11500	13625	33125	81500
Rata-rata K	0	1958	1458	4333	3833	4542	11042	27167



**Lampiran 6.** Kandungan protein (%) *N. oculata* setelah perlakuan

Kode	Protein
A1	0.21
A2	0.237
A3	0.246
Jumlah	0.693
Rata-rata	0.231
B1	0.20
B2	0.236
B3	0.216
Jumlah	0.652
Rata-rata	0.217
C1	0.18
C2	0.207
C3	0.198
Jumlah	0.585
Rata-rata	0.195
Kontrol	0.085
Kontrol	0.094
Kontrol	0.060
Jumlah	0.239
Rata-rata	0.079

Keterangan : A= Perlakuan Pupuk Urea 40 ppm; Pupuk SP 36 5 ppm  
B= Perlakuan Pupuk Urea 70 ppm; Pupuk SP 36 10 ppm  
C= Perlakuan Pupuk Urea 100 ppm; Pupuk SP 36 15 ppm  
1,2,3= Ulangan ke-i



**Lampiran 7.** Perhitungan analisis sidik ragam dan uji BNT kandungan protein *N. oculata*.

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{\gamma^2}{an} \\ &= \frac{(\Sigma A + \Sigma B + \Sigma C + \Sigma K)^2}{4 \times 3} \\ &= \frac{(6,93 + 6,52 + 5,85 + 2,39)^2}{12} \\ &= 39,2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= (A_1)^2 + (A_2)^2 + \dots + (K_3)^2 - \text{FK} \\ &= (0,21)^2 + (0,23)^2 + \dots + (0,06)^2 - 39,2 \\ &= 0,045 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{(\Sigma A^2 + \Sigma B^2 + \Sigma C^2 + \Sigma K^2)}{4} - FK \\ &= ((0,693^2 + 0,652^2 + 0,585^2 + 0,239^2)/4) - 39,2 \\ &= 0,042 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 0,045 - 0,042 \\ &= 0,0023 \end{aligned}$$

Tabel Analisis sidik ragam

SK	DB	JK	KT	FHIT	F tabel 5 %
A	3	0.042853	0.014284	48.59985	0.113055
Galat	8	0.002351	0.000294		
Total	11	0.045204			

Ket : A = perlakuan  
 B = waktu pengamatan  
 \* = berbeda nyata  
 \*\* = berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam kepadatan *Nannochloropsis oculata*

diketahui bahwa :

1. F hitung (A) > F tabel, artinya perlakuan pemberian dosis pupuk yang berbeda (urea 40ppm dan SP 36 5ppm; urea 70 ppm dan SP 36 10 ppm dan urea 100 ppm dan SP 36 15 ppm) berbeda nyata pada taraf uji 5 %

terhadap kandungan protein *N. oculata*. Hal itu berarti terima  $H_1$  dan tolak  $H_0$

Perhitungan Nilai BNT Perlakuan :

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \frac{\sqrt{2 \text{ KTG}}}{n \text{ (perlakuan)}} \\ &= \frac{\sqrt{2 \times 0,000294}}{4} \\ &= 0,006061 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ tabel } 5\% \times \text{SED} \\ &= 2,306004 \times 0,006061 \\ &= 0,013977 \end{aligned}$$



**Lampiran 8.** Perhitungan kandungan protein tiap sel *N. oculata* (mg/sel)

$$Pn = \frac{Pt}{W \times K} \times D$$

Keterangan : Pn = Protein tiap sel *N. oculata*

Pt = Protein Total *N. oculata*

W = Berat Total *N. oculata* waktu panen

K = Kelimpahan Total *N. oculata*

D = Dosis pupuk yang diberikan

Perhitungan kandungan protein tiap sel pada masing-masing perlakuan

sebagai berikut:

$$A1 : Pn = \frac{Pt}{W \times K} \times D$$

$$Pn = \frac{0,21/100}{51,83 \times 111.625} \times 45/1000$$

$$Pn = 1,63^{-11}$$

A2 :

$$Pn = \frac{0,237/100}{51,48 \times 119.250} \times 45/1000$$

$$Pn = 1,74^{-11}$$

A3 :

$$Pn = \frac{0,246/100}{56,75 \times 123.250} \times 45/1000$$

$$Pn = 1,58^{-11}$$

B1 :

$$Pn = \frac{0,2/100}{42,07 \times 98.750} \times 80/1000$$

$$Pn = 3,85^{-11}$$

B2 :

$$Pn = \frac{0,236/100}{45,43 \times 104.250} \times 80/1000$$

$$Pn = 3,99^{-11}$$

B3 :

$$Pn = \frac{0,216/100}{50,73 \times 110.500} \times 80/1000$$

$$Pn = 3,08^{-11}$$

C1 :

$$Pn = \frac{0,18/100}{36,77 \times 84.500} \times 115/1000$$

$$Pn = 6,66^{-12}$$

C2 :

$$Pn = \frac{0,207/100}{40,26 \times 96.000} \times 115/1000$$

$$Pn = 6,16^{-12}$$

C3 :

$$Pn = \frac{0,198/100}{44,54 \times 99.250} \times 115/1000$$

$$Pn = 5,15^{-12}$$

K1 :

$$Pn = \frac{0,085/100}{31,41 \times 67.375} \times 1/1000$$

$$Pn = 4,02^{-13}$$

K2 :

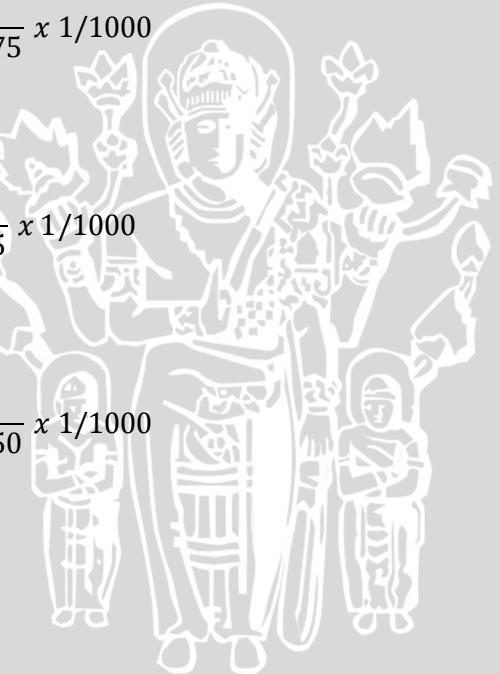
$$Pn = \frac{0,085/100}{48,6 \times 88.375} \times 1/1000$$

$$Pn = 2,19^{-13}$$

K3 :

$$Pn = \frac{0,06/100}{35,43 \times 69.250} \times 1/1000$$

$$Pn = 2,45^{-13}$$



**Lampiran 9.** Pengamatan suhu air ( $^{\circ}\text{C}$ ) kultur *N. oculata*

Perlakuan	Hari Ke						Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	
A1	25.00	23.00	25.00	26.00	27.00	25.00	25.17
A2	26.00	24.00	26.00	27.00	25.00	24.00	25.33
A3	25.60	25.00	27.00	25.00	27.00	26.00	25.93
Rata-rata A	25.53	24.00	26.00	26.00	26.33	25.00	25.48
B1	26.00	24.00	26.00	27.00	25.00	26.00	25.67
B2	24.00	24.00	25.00	25.00	26.00	25.00	24.83
B3	23.00	25.00	26.00	26.00	25.00	26.00	25.17
Rata-rata B	24.33	24.33	25.67	26.00	25.33	25.67	25.22
C1	24.00	27.00	26.00	26.00	25.00	23.00	25.17
C2	25.00	26.00	25.00	27.00	25.00	26.00	25.67
C3	23.00	26.00	26.00	25.00	25.00	25.00	25.00
Rata-rata C	24.00	26.33	25.67	26.00	25.00	24.67	25.28
K1	24.00	26.00	25.00	27.00	25.00	24.00	25.17
K2	25.00	24.00	26.00	26.00	27.00	26.00	25.67
K3	25.00	24.00	26.00	25.00	24.00	26.00	25.00
Rata-rata K	24.67	24.67	25.67	26.00	25.33	25.33	25.28

Keterangan :  
A= Perlakuan pupuk urea 40 ppm dan pupuk SP 36 5 ppm  
B= Perlakuan pupuk urea 70 ppm dan pupuk SP 36 10 ppm  
C= Perlakuan pupuk urea 100 ppm dan pupuk SP 36 15 ppm  
1,2,3= Ulangan ke-i



**Lampiran 10.** Pengamatan pH kultur *N. oculata*

Perlakuan	Hari Ke					
	1	2	3	4	5	6
A1	6.9	7.0	7.2	7.2	7.3	7.0
A2	7.0	7.2	6.8	7.2	7.0	7.3
A3	7.3	7.5	7.3	7.1	7.0	7.2
Rata-rata A	7.1	7.2	7.1	7.2	7.1	7.2
B1	7.1	6.9	7.1	7.1	7.2	7.0
B2	7.0	7.4	7.5	7.2	7.3	7.4
B3	6.9	7.2	7.0	7.2	7.1	7.1
Rata-rata B	7.0	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2
C1	7.0	6.9	7.0	7.1	7.1	7.2
C2	7.2	7.2	7.3	7.1	7.0	7.1
C3	7.4	7.5	7.5	7.4	7.3	7.5
Rata-rata C	7.2	7.2	7.3	7.2	7.1	7.3
K1	7.1	6.9	7.0	7.2	7.3	7.3
K2	7.3	7.1	7.3	7.2	7.2	7.3
K3	7.2	7.0	6.9	7.3	7.3	7.0
Rata-rata K	7.2	7.0	7.1	7.2	7.3	7.2

Keterangan : A= Perlakuan pupuk urea 40 ppm dan pupuk SP 36 5 ppm  
B= Perlakuan pupuk urea 70 ppm dan pupuk SP 36 10 ppm  
C= Perlakuan pupuk urea 100 ppm dan pupuk SP 36 15 ppm  
1,2,3= Ulangan ke-i

**Lampiran 11.** Pengamatan oksigen terlarut (mg/l) kultur *N. oculata*

Perlakuan	Hari Ke					
	1	2	3	4	5	6
A1	8.81	8.56	8.78	8.33	8.43	8.85
A2	6.81	7.07	6.9	6.76	7.2	7.54
A3	7.56	7.66	7.46	7.39	7.51	7.81
rata-rata A	7.73	7.76	7.71	7.49	7.71	8.07
B1	8.06	8.12	7.51	7.82	7.77	6.89
B2	7.89	7.63	7.89	6.71	7.05	6.81
B3	7.84	7.7	7.66	7.9	8.12	7.73
Rata-rata B	7.93	7.82	7.69	7.48	7.65	7.14
C1	7.81	7.87	7.37	7.81	7.41	7.56
C2	7.73	8.13	7.87	7.92	7.86	7.84
C3	7.51	6.59	7.61	7.2	7.87	7.66
Rata-rata C	7.68	7.53	7.62	7.64	7.71	7.69
K1	6.84	7.18	6.73	6.9	7.41	7.82
K2	7.66	7.72	7.67	7.89	7.78	7.9
K3	7.42	7.92	6.79	7.63	7.77	7.69
Rata-rata K	7.31	7.61	7.06	7.47	7.65	7.80

Keterangan :  
A= Perlakuan pupuk urea 40 ppm dan pupuk SP 36 5 ppm  
B= Perlakuan pupuk urea 70 ppm dan pupuk SP 36 10 ppm  
C= Perlakuan pupuk urea 100 ppm dan pupuk SP 36 15 ppm  
1,2,3= Ulangan ke-i



**Lampiran 12.** Pengamatan salinitas (mg/l) kultur *N. oculata*

Perlakuan	Hari Ke					
	1	2	3	4	5	6
A1	30	30	31	31	32	32
A2	30	30	31	31	32	32
A3	30	30	31	31	32	32
Rata-rata A	30	30	31	31	32	32
B1	30	30	31	31	32	32
B2	30	30	31	31	32	32
B3	30	30	31	31	32	32
Rata-rata B	30	30	31	31	32	32
C1	30	30	31	31	32	32
C2	30	30	31	31	32	32
C3	30	30	31	31	32	32
Rata-rata C	30	30	31	31	32	32
K1	30	30	31	31	32	32
K2	30	30	31	31	32	32
K3	30	30	31	31	32	32
Rata-rata K	30	30	31	31	32	32

Keterangan : A= Perlakuan pupuk urea 40 ppm dan pupuk SP 36 5 ppm  
B= Perlakuan pupuk urea 70 ppm dan pupuk SP 36 10 ppm  
C= Perlakuan pupuk urea 100 ppm dan pupuk SP 36 15 ppm  
1,2,3= Ulangan ke-i

**Lampiran 13.** Pengamatan CO<sub>2</sub> (mg/l) kultur *N. oculata*

Perlakuan	Hari Ke		Rata-rata
	1	6	
A1	39,9	7.9	7.9
A2	27,9	8.3	8.3
A3	27,9	7.8	7.8
B1	31,9	19.9	19.9
B2	47,9	15.9	15.9
B3	59,9	11.9	11.9
C1	39,9	7.9	7.9
C2	59,9	11.9	11.9
C3	31,9	11.9	11.9
K1	47,9	23.9	23.9
K2	71,9	15.9	15.9
K3	59,9	11.9	11.9

Keterangan : A= Perlakuan pupuk urea 40 ppm dan pupuk SP 36 5 ppm  
B= Perlakuan pupuk urea 70 ppm dan pupuk SP 36 10 ppm  
C= Perlakuan pupuk urea 100 ppm dan pupuk SP 36 15 ppm  
1,2,3= Ulangan ke-i

**Lampiran 14.** Pengamatan nitrat (mg/l) kultur *N. oculata*

Perlakuan	Hari Ke		Rata-rata
	1	6	
A1	0.73	0.384	0.56
A2	0.78	0.359	0.57
A3	0.74	0.396	0.57
B1	0.82	0.384	0.60
B2	0.84	0.408	0.63
B3	0.79	0.396	0.59
C1	0.98	0.446	0.71
C2	0.94	0.421	0.68
C3	0.95	0.446	0.70
K1	1.00	0.54	0.77
K2	1.05	0.64	0.85
K3	0.90	0.56	0.73

Keterangan : A= Perlakuan pupuk urea 40 ppm dan pupuk SP 36 5 ppm  
B= Perlakuan pupuk urea 70 ppm dan pupuk SP 36 10 ppm  
C= Perlakuan pupuk urea 100 ppm dan pupuk SP 36 15 ppm  
1,2,3= Ulangan ke-i

**Lampiran 15.** Pengamatan fosfat (mg/l) kultur *N. oculata*

Perlakuan	Hari Ke		Rata-rata
	1	6	
A1	0.073	0.041	0.057
A2	0.070	0.044	0.057
A3	0.062	0.049	0.055
B1	0.100	0.057	0.079
B2	0.107	0.065	0.086
B3	0.119	0.070	0.094
C1	0.177	0.159	0.168
C2	0.167	0.153	0.160
C3	0.183	0.144	0.163
K1	0.207	0.191	0.199
K2	0.192	0.176	0.184
K3	0.201	0.181	0.191

Keterangan : A= Perlakuan pupuk urea 40 ppm dan pupuk SP 36 5 ppm  
B= Perlakuan pupuk urea 70 ppm dan pupuk SP 36 10 ppm  
C= Perlakuan pupuk urea 100 ppm dan pupuk SP 36 15 ppm  
1,2,3= Ulangan ke-i