

**PENGARUH FERMENTASI ALAMI AIR CUCIAN BERAS YANG
DITAMBAHKAN UREA TERHADAP PERTUMBUHAN DAN BIOMASSA
*Chlorella vulgaris***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh:
**RAFIDHA FIRI LADIDA
NIM. 125080500111017**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**PENGARUH FERMENTASI ALAMI AIR CUCIAN BERAS YANG
DITAMBAHKAN UREA TERHADAP PERTUMBUHAN DAN BIOMASSA
*Chlorella vulgaris***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

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

Oleh:
**RAFIDHA FIRA LADIDA
NIM. 125080500111017**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

SKRIPSI

PENGARUH FERMENTASI ALAMI AIR CUCIAN BERAS YANG
DITAMBAHKAN UREA TERHADAP PERTUMBUHAN DAN BIOMASSA
Chlorella vulgaris

Oleh:
RAFIDHA FIRA LADIDA
NIM. 125080500111017

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 22 Juli 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. : _____

Tanggal: _____

Dosen Penguji I

Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D
NIP. 19460320 197303 1 001

Tanggal: _____

Dosen Penguji II

Dr. Ating Yuniarti, S.Pi, M. Ag
NIP. 19750604 199903 2 002

Tanggal: _____

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal: _____

Dosen Pembimbing II

M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc
NIP. 19860717 201504 1 001

Tanggal: _____

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal: _____

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan 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 kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, Juli 2016

Rafidha Fira Ladida

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah melimpahkan karunia-Nya kepada penulis.
2. Ibu Dr. Arning Wilujeng Ekawati, MS dan Bapak M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc selaku dosen pembimbing yang selalu sabar membimbing penulis selama ini.
3. Bapak Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D dan Ibu Dr. Ating Yuniarti, S.Pi, M. Aqua selaku penguji penulis.
4. Bapak Rafidhatul Irfan dan Ibu Musrifah selaku orang tua yang selalu menyemangati penulis, serta Neng Rafidha Linggar Irmalia beserta suaminya Mas M. Ainul Zackaria yang selalu memberikan nasihat dan dukungan.
5. Teman-teman Aquasean 2012
6. Teman-teman kos Puri Dewi yang selalu memberikan dukungan kepada penulis.

Malang, Juli 2016

Penulis

RINGKASAN

RAFIDHA FIRA LADIDA. Pengaruh Fermentasi Alami Air Cucian Beras yang Ditambahkan Urea terhadap Pertumbuhan dan Biomassa *Chlorella vulgaris* (Pembimbing: **Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS** dan **M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc**).

Mikroalga merupakan organisme yang banyak dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi, pupuk, cadangan biodiesel dan pakan alami pada pembenihan ikan atau udang. *Chlorella vulgaris* merupakan salah satu contoh mikroalga yang dimanfaatkan sebagai pakan alami di bidang pembenihan. Mahalnya pupuk Pro Analisis (PA) menjadi kendala tersedianya *C. vulgaris* secara berkelanjutan. Salah satu cara untuk mengatasinya yaitu memanfaatkan fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea sebagai pengganti pupuk PA. Tujuan dari penelitian ini adalah menjelaskan pengaruh fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea terhadap pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*, serta menentukan dosis terbaik fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea terhadap pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*.

Metode yang digunakan yaitu metode eksperimen dengan menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 4 perlakuan dan 3 ulangan. 4 perlakuan tersebut yaitu terdiri dari kontrol menggunakan pupuk walne 1 ml/l (A), 35 (B), 45 (C), 55 ml/l (D) fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea. Parameter utama yang diukur pada penelitian ini adalah pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*, sedangkan parameter penunjang yaitu data kualitas air seperti penyerapan nitrat dan fosfat, pH, DO, dan suhu. Analisis data yang digunakan yaitu ANOVA (*Analysis of Variance*) dengan analisis keragaman (taraf kepercayaan 95% dan 99%) dan kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Puncak pertumbuhan pada penelitian ini terjadi pada hari kelima. Perlakuan D menunjukkan rerata kepadatan sel tertinggi ($335,42 \times 10^4$ sel/ml) dan perlakuan B menunjukkan rerata kepadatan sel terendah ($237,25 \times 10^4$ sel/ml). Hasil analisis keragaman pada laju pertumbuhan spesifik *C. vulgaris* yaitu berbeda nyata ($F_{tabel 5\%} > F_{hitung} > F_{tabel 1\%}$), rata-rata laju pertumbuhan spesifik pada masing-masing perlakuan A, B, C, D secara berurutan yaitu 0,309, 0,264, 0,296, 0,380/hari dan untuk *doubling time* yaitu selama 54,49, 63, 57,48, dan 43,88 jam. Hasil analisis biomassa *C. vulgaris* pada penelitian ini juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Biomassa *C. vulgaris* yang dihasilkan pada penelitian ini dari perlakuan A, B, C, D secara berurutan adalah 0,032, 0,039, 0,044, 0,051 g/l. Penyerapan nitrat pada perlakuan A, B, C, D adalah 30,36; 34,09; 25,22; 39,89%, sedangkan penyerapan fosfat masing-masing pada perlakuan A, B, C, D yaitu 36,94; 55,22, 58,42, dan 27,3%. Adapun untuk kualitas air selama penelitian masih dalam rentang kualitas air yang sesuai dengan syarat hidup mikroalga. Masing-masing kualitas air untuk suhu, pH, DO yaitu 25,2-28,9°C; 8,34-8,89; 5,26-5,98 mg/l.

KATA PENGANTAR

Skripsi dengan judul “**Pengaruh Fermentasi Alami Air Cucian Beras yang Ditambahkan Urea terhadap Pertumbuhan dan Biomassa *Chlorella vulgaris***” ini tersajikan untuk menjelaskan pengaruh fermentasi alami air cucian beras dengan dosis berbeda terhadap pertumbuhan dan biomassa yang dihasilkan dari *C. vulgaris*. Skripsi ini terdiri dari pokok-pokok bahasan yang meliputi pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, hasil dan pembahasan, serta kesimpulan dan saran.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

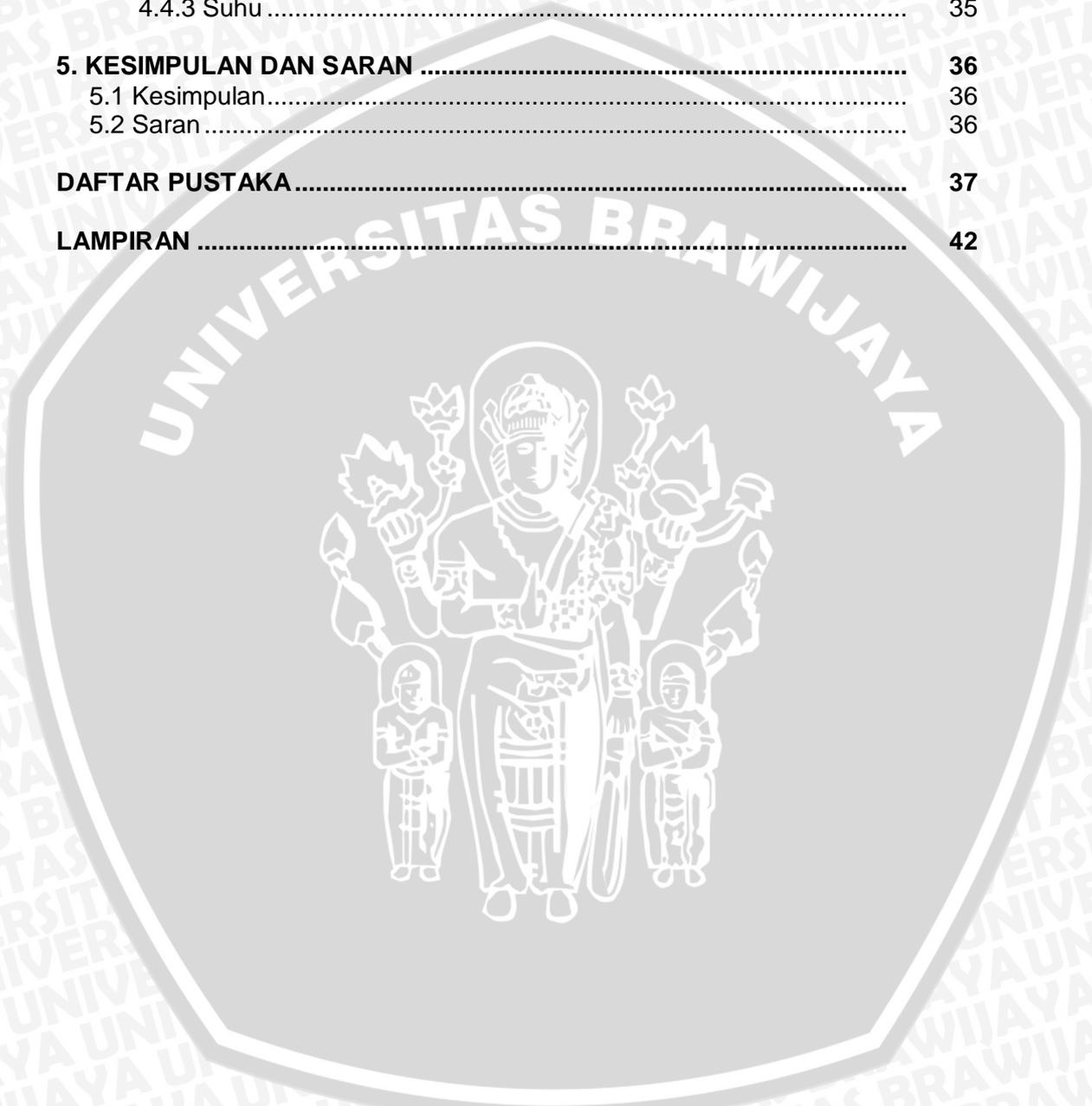
Malang, Juli 2016

Penulis

DAFTAR ISI

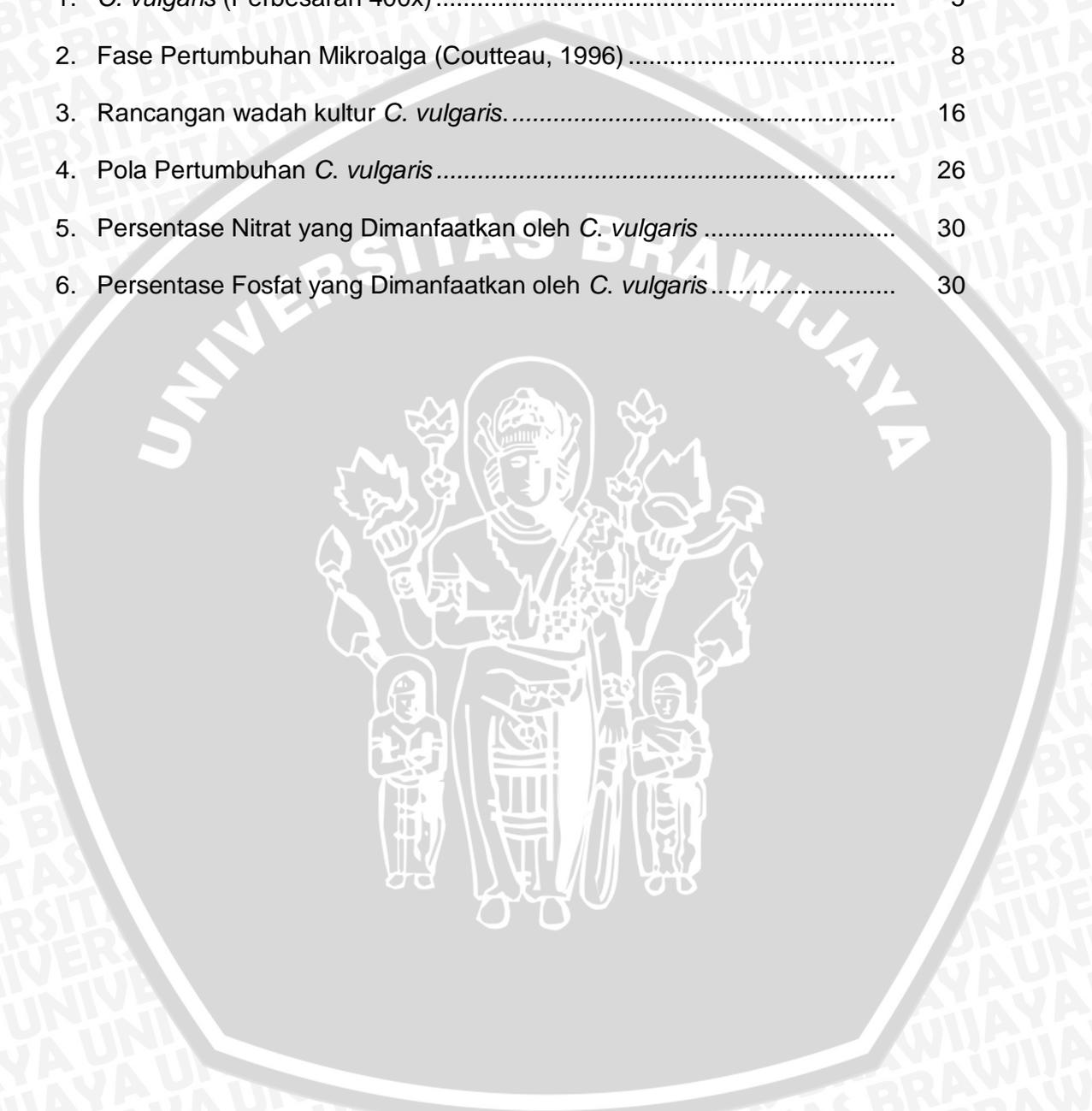
	Halaman
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Hipotesis	4
1.5 Kegunaan	4
1.6 Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi <i>C. vulgaris</i>	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Reproduksi.....	6
2.1.3 Habitat	6
2.1.4 Kandungan Nutrisi	7
2.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga	7
2.3 Sistem Kultur Mikroalga	9
2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga	9
2.5 Fermentasi.....	12
2.6 Kandungan Air Cucian Beras.....	13
2.7 Urea	13
3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Alat dan Bahan Penelitian.....	15
3.1.1 Alat	15
3.1.2 Bahan	15
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian.....	15
3.2.1 Metode Penelitian	15
3.2.2 Rancangan Percobaan	16
3.3 Prosedur Penelitian	17
3.3.1 Persiapan Penelitian	17
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	20
3.4 Parameter Uji	21
3.4.1 Parameter Utama.....	21
3.4.2 Parameter Penunjang	22
3.5 Analisis Data	24

4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Pertumbuhan <i>C. vulgaris</i> pada fermentasi air cucian beras yang ditambahkan urea dengan dosis berbeda	26
4.2 Biomassa.....	32
4.4 Kualitas Air	34
4.4.1 pH.....	34
4.4.2 DO	34
4.4.3 Suhu	35
5. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN	42



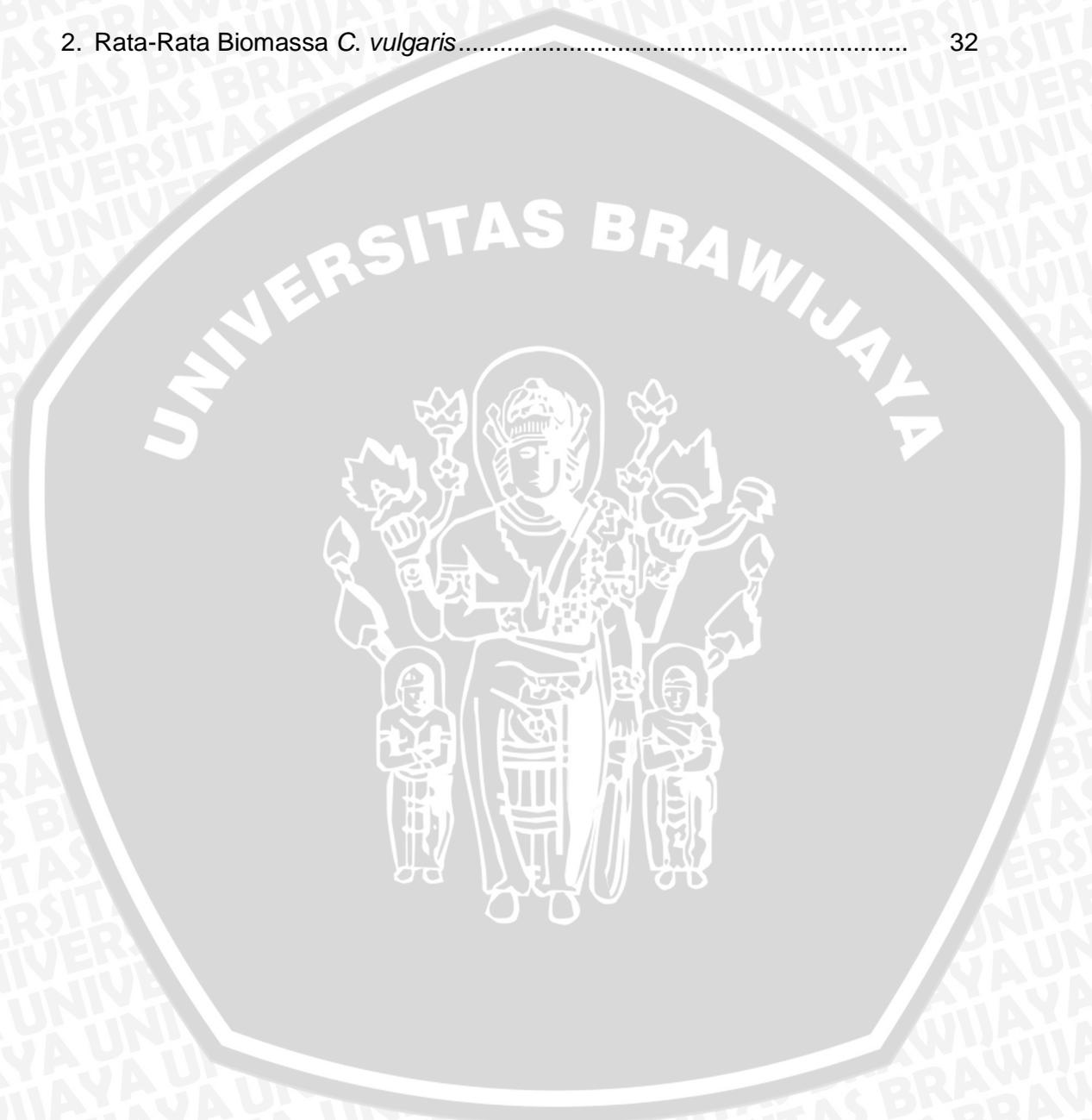
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>C. vulgaris</i> (Perbesaran 400x)	5
2. Fase Pertumbuhan Mikroalga (Coutteau, 1996)	8
3. Rancangan wadah kultur <i>C. vulgaris</i>	16
4. Pola Pertumbuhan <i>C. vulgaris</i>	26
5. Persentase Nitrat yang Dimanfaatkan oleh <i>C. vulgaris</i>	30
6. Persentase Fosfat yang Dimanfaatkan oleh <i>C. vulgaris</i>	30



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-Rata Laju Pertumbuhan Spesifik	28
2. Rata-Rata Biomassa <i>C. vulgaris</i>	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Penelitian Pendahuluan (Kepadatan <i>C. vulgaris</i> x 10 ⁴ sel/ml)	42
2. Foto Alat dan Bahan.....	43
3. Komposisi Pupuk Walne	47
4. Perhitungan Kebutuhan Urea.....	48
5. Cara Kerja Oven.....	51
6. Cara Kerja Autoklaf	52
7. Cara Kerja Timbangan Analitik	53
8. Data Kepadatan <i>C. vulgaris</i> Selama Kultur (x10 ⁴ sel/ml).....	54
9. Perhitungan Statistik Laju Pertumbuhan Spesifik <i>C. vulgaris</i>	55
10. Data Biomassa Kering (g/l).....	57
11. Perhitungan Statistik Biomassa <i>C. vulgaris</i>	58
12. Data Nitrat (mg/l) Selama Penelitian	60
13. Data Fosfat (mg/l) Selama Penelitian.....	61
14. Data pH Selama Penelitian.....	62
15. Data <i>Dissolved Oxygen</i> (mg/l) Selama Penelitian	63
16. Data Suhu (°C) Selama Penelitian	64

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroalga merupakan organisme eukariotik yang mampu melakukan proses fotosintesis, serta memiliki rentang ukuran dari 1-100 μm . Mikroalga mampu mengubah energi matahari menjadi energi kimia dengan efisiensi 10-50 kali lebih besar dibandingkan dengan tanaman darat (Sarkar dan Shimizu, 2015). Pemanfaatan mikroalga selama ini antara lain digunakan sebagai agen penting dalam bioremediasi. Selain itu juga menghasilkan biomassa yang dimanfaatkan untuk tambahan pada pakan hewan, pupuk dan cadangan biodiesel (Razzak *et al.*, 2013).

Chlorella vulgaris merupakan salah satu mikroalga yang paling banyak dimanfaatkan. Salah satu sektor yang memanfaatkan *C. vulgaris* adalah sektor perikanan yaitu pada kegiatan pembenihan sebagai pakan alami bagi benih ikan dan udang (Shah *et al.*, 2003). Berdasarkan Andreas *et al.* (2014), pembenihan menjadi sebuah titik awal pada usaha budidaya ikan. Ketersediaan pakan alami sebagai penunjang panti pembenihan haruslah secara berkelanjutan dan kualitasnya baik.

Adanya tuntutan ketersediaan pakan alami yang berkelanjutan pada akhirnya menimbulkan sebuah masalah baru. Salah satu permasalahannya yaitu mahalnya harga pupuk PA (Pro Analisis) yang sudah terstandarkan (Amanatin, dan Nurhidayati, 2013). Harga pupuk PA yang mahal tidak menjadi masalah apabila diterapkan pada skala produksi kecil seperti di laboratorium, tetapi akan menjadi masalah apabila diterapkan pada skala massal. Berdasarkan Mulyanto (2010), beberapa hal yang dapat digunakan untuk menghemat biaya untuk memproduksi mikroalga adalah dengan mengganti bahan yang mahal dengan

bahan yang lebih murah. Selain itu, beberapa mikroalga dapat hidup dan tumbuh dengan baik pada media limbah industri tertentu.

Salah satu limbah yang berpotensi menjadi pupuk dan banyak terbuang adalah limbah air cucian beras. Menurut Rejekiningrum (2013), pada tahun 2012 konsumsi beras penduduk Indonesia hampir dua kali lipat dari konsumsi beras dunia, selain itu konsumsi beras di Indonesia tertinggi di Asia. Berdasarkan data tersebut dapat dipastikan bahwa ketersediaan limbah air cucian beras sangatlah melimpah.

Limbah air cucian beras yang digunakan adalah yang telah difermentasi secara alami terlebih dahulu. Tujuan dari fermentasi adalah untuk merombak bahan organik menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga mampu diserap oleh mikroalga. Menurut Elfarisna *et al.* (2014), limbah air cucian beras yang difermentasi secara alami sebelumnya telah diaplikasikan pada tanaman anggrek, kedelai, dan sayuran.

Selain mudah didapat, keunggulan lainnya dari limbah air cucian beras yaitu kandungan unsur haranya yang lengkap. Berdasarkan Puspitasari (2003), kandungan limbah air cucian beras yang telah difermentasi secara alami selama 2 minggu mengandung beberapa unsur hara yaitu nitrat sebesar 194,18 ppm, fosfat 114,6 ppm, dan kalium sebesar 60 ppm. Menurut Becker (1994), kebutuhan unsur nitrogen mikroalga hijau adalah sekitar 5-10% dari berat kering, sedangkan toleransi kebanyakan mikroalga terhadap fosfor adalah 50 µg/liter hingga 20 mg/liter. Redfield *et al.* (1963) menjelaskan bahwa rasio C:N:P yang sesuai untuk pertumbuhan mikroalga adalah 106:16:1.

Apabila dilihat dari kandungan air cucian beras yang difermentasi secara alami dan nutrisi yang dibutuhkan mikroalga, air cucian beras dapat memenuhi kebutuhan unsur N dan P pada *C. vulgaris*, akan tetapi rasio N:P dari fermentasi air cucian beras tidak optimum. Selain itu berdasarkan data hasil penelitian

pendahuluan (Lampiran 1), fermentasi air cucian beras tidak menunjukkan hasil pertumbuhan yang optimal bagi *C. vulgaris*. Berdasarkan hal tersebut, maka diperlukan suplementasi unsur N dari luar, salah satu bahan yang dapat digunakan untuk suplementasi N adalah urea.

Alasan pemilihan urea sebagai bahan untuk suplementasi unsur N adalah mudah didapat dan kandungan nitrogennya cukup besar yaitu 46 % (Sirait, 2008). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh dari fermentasi air cucian beras yang ditambahkan urea bagi pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang dapat dirumuskan berdasarkan latar belakang adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea terhadap pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*?
2. Berapa dosis terbaik fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea terhadap pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menjelaskan pengaruh fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea terhadap pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*.
2. Menentukan dosis terbaik fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea terhadap pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*.

1.4 Hipotesis

H₀: Pemberian fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*.

H₁: Pemberian fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*.

1.5 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis yang tepat dari pupuk cair yang terbuat dari fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea terhadap pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris*, sehingga diharapkan pupuk cair yang terbuat dari fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea dapat menggantikan pupuk PA yang harganya mahal.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Laboratorium Workshop, dan Laboratorium Hidrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya pada Februari-April 2016.

2. TINJAUAN PUSTAKA

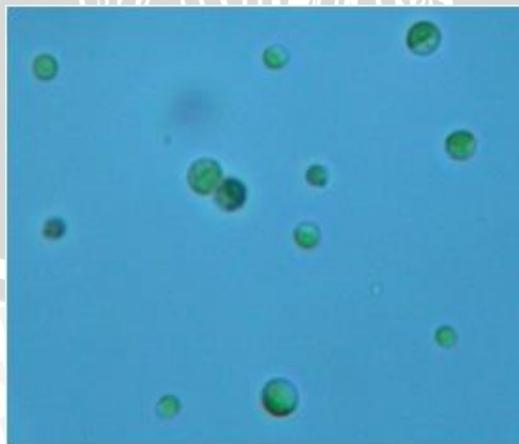
2.1 Biologi *C. vulgaris*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Reynolds (2006), klasifikasi *C. vulgaris* (Gambar 1) adalah sebagai berikut:

- Divisi : Chlorophyta
- Kelas : Chlorophyceae
- Ordo : Chlorococcales
- Genus : Chlorella
- Spesies : *Chlorella vulgaris*

Bentuk sel dari *C. vulgaris* adalah bulat seperti telur ataupun bola, bersifat soliter atau berkelompok, tidak bersifat motil, berukuran antara 2-3 mikrometer, dan ukuran terbesar yaitu 10-12 mikrometer (Wahyudi, 1999). Berdasarkan Sopiah *et al.* (2013), *C. vulgaris* adalah mikroalga yang termasuk dalam kelompok protista autotrof. Protista autotrof adalah protista yang mampu memproduksi makanannya sendiri. Hal tersebut disebabkan adanya pigmen klorofil pada mikroalga, sehingga *C. vulgaris* mampu berfotosintesis.



Gambar 1. *C. vulgaris* (Perbesaran 400x)

2.1.2 Reproduksi

Mikroalga ini berkembang biak secara aseksual atau tak kawin, yaitu dengan melakukan pembelahan diri serta pembentukan autospora. Setiap sel yang telah masak akan membelah menjadi 2, 4, 8 hingga kadangkala mampu membelah menjadi 16 autospora. Autospora akan dilepas dari sel induk dengan melakukan pemecahan dinding sel oleh sel induk, sehingga autospora bisa bebas dan akan tumbuh menjadi individu baru (Wahyudi, 1999). Menurut Ley (2003), *C. vulgaris* bereproduksi secara aseksual. Apabila ukurannya telah mencapai 8-10 mikron maka terjadi pembelahan inti sel sebanyak dua kali, sehingga satu sel induk dapat membelah menjadi 4 sel dalam waktu 20 hingga 24 jam.

2.1.3 Habitat

C. vulgaris dapat hidup secara baik apabila kondisi lingkungannya mendukung. Lingkungan yang baik untuk pertumbuhannya yaitu pada lingkungan dengan pH antara 6-9. Alga ini juga mampu hidup pada lingkungan asam atau basa, akan tetapi pertumbuhannya tidak sebaik pada keadaan pH netral. Keadaan lingkungan yang semakin buruk akan menghambat pertumbuhannya, dan apabila keadaan lingkungan hidupnya semakin baik maka pertumbuhannya akan semakin cepat. Proses pertumbuhan mikroalga ini sangat erat hubungannya dengan penyerapan nutrien (Ali, 2013).

C. vulgaris termasuk dalam genus ganggang hijau bersel tunggal yang dapat hidup di perairan tawar, laut, dan tempat basah. Keberadaan *C. vulgaris* sangatlah penting dalam suatu perairan. Hal ini disebabkan *C. vulgaris* adalah alga yang mampu melakukan proses fotosintesis sehingga menghasilkan oksigen yang bermanfaat bagi organisme. Selain itu, *C. vulgaris* juga dimanfaatkan sebagai pakan alami pada kegiatan budidaya perikanan (Lestari *et al.*, 2014).

2.1.4 Kandungan Nutrisi

C. vulgaris mengandung 60 % protein dalam bentuk asam amino. Mikroalga ini mengandung 19 asam amino dari 22 asam amino yang ada, dan 8 di antaranya adalah asam amino esensial. Selain protein dan asam amino, mikroalga ini juga mengandung karbohidrat sebesar 20,1 %, serat 0,2 %, lemak 11 %, asam lemak tak jenuh 9,02 %, asam lemak jenuh 1,98 %, serta beberapa vitamin seperti vitamin B, C, dan E, juga beberapa kandungan lainnya (Ley, 2003). *C. vulgaris* mengandung vitamin C sebesar 0,3-0,6 mg. Akan tetapi, sebagian besar kandungan vitamin C ini akan hilang karena proses pengeringan. Selain vitamin C, *C. vulgaris* juga mengandung 20-25 % lemak dan ± 20 % karbohidrat. Beberapa mineral penting seperti P, Mg, S, Fe, Ca, Mn, Zn, Cu, serta Co juga terkandung di dalam sel *C. vulgaris* (Kuncoro, 2004).

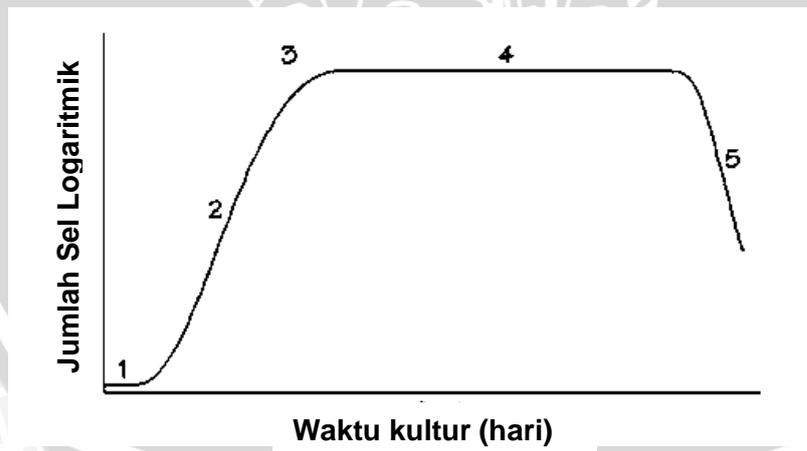
2.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga

Pertumbuhan dari mikroalga ditandai dengan adanya fase pertumbuhan (Gambar 2) dengan parameter-parameter seperti waktu dari fase lag, konstanta pertumbuhan spesifik, kelimpahan pada puncak populasi serta kepadatan akhir pengamatan. Waktu fase lag menunjukkan lamanya adaptasi mikroalga terhadap media barunya. Apabila masa adaptasi selesai maka pertumbuhannya akan semakin cepat dan hal ini dapat diketahui dari nilai konstanta pertumbuhan spesifik (k). Berikutnya yaitu kelimpahan sel mikroalga mencapai puncak populasi. Fase yang terakhir yaitu fase kematian, hal ini disebabkan jumlah nutrien yang semakin berkurang dan mengakibatkan mikroalga tidak mampu untuk mempertahankan kepadatan selnya lagi (Chilmawati dan Suminto, 2008).

Menurut Hariyati (2008), fase pertumbuhan mikroalga terdiri dari beberapa fase yaitu fase kelambanan (lag fase), pada fase ini sel-sel mikroalga menyesuaikan diri dengan lingkungan barunya. Kedua adalah fase percepatan

(eksponensial), pada fase ini mikroalga mengalami pembelahan. Ketiga adalah fase perlambatan, di fase ini mikroalga mengalami perlambatan pertumbuhan disebabkan jumlah nutrisi yang berkurang. Keempat adalah fase stasioner, pada fase ini pertumbuhan mikroalga mulai menurun secara bertahap.

Berdasarkan Kawaroe *et al.* (2010), mikroalga mengalami lima fase pertumbuhan. Pertama adalah fase lag, pada fase ini mikroalga mengalami proses penyesuaian dengan media baru sebelum mengalami pertumbuhan, kemudian memasuki fase kedua yaitu eksponensial dan pada fase ini mikroalga yang dikultivasi mengalami penambahan jumlah sel yang sangat cepat. Ketiga adalah fase penurunan pertumbuhan, di fase ini pertumbuhan mikroalga mengalami pengurangan kecepatan pertumbuhan. Penambahan jumlah sel juga terjadi pada fase ini, tetapi kualitas sel kurang baik akibat berkurangnya nutrisi dalam media. Keempat adalah fase stasioner, pada fase ini pertumbuhan mikroalga terjadi secara konstan. Kelima adalah fase kematian, di fase ini terjadi penurunan jumlah sel yang sangat cepat dan terjadi indikasi kematian sel.



Gambar 2. Fase Pertumbuhan Mikroalga (Coutteau, 1996)

Keterangan:

1. Fase lag
2. Fase eksponensial
3. Fase penurunan pertumbuhan
4. Fase stasioner
5. Fase kematian

2.3 Sistem Kultur Mikroalga

Sistem kultur mikroalga terdiri dari *batch culture*, *semi continues*, dan *continues*. Sistem *batch culture* adalah sistem dengan panen yang dilakukan apabila populasi mikroalga mencapai maksimum. Sistem kultur ini mudah diterapkan karena sederhana dan fleksibel. Berikutnya adalah *semi continues*, panen pada sistem ini dilakukan secara periodik parsial. Mikroalga tidak dipanen secara menyeluruh, akibatnya metode ini menghasilkan mikroalga yang lebih banyak dibandingkan dengan *batch culture* untuk ukuran tangki yang diberikan. Metode terakhir adalah *continues*, pada metode ini nutrisi terus diberikan secara terus menerus dan akibatnya pertumbuhan mikroalga sangat dekat dengan tingkat pertumbuhan maksimum. Kekurangan dari sistem ini adalah biaya yang dikeluarkan lebih tinggi dibanding sistem lain (Coutteau, 1996).

Berdasarkan Creswell (2010), sistem budidaya *batch culture* secara umum digunakan pada spesies yang berukuran kecil atau untuk menumbuhkan mikroalga secara pesat. Meskipun *batch culture* dianggap metode produksi yang kurang efisien, tetapi pada metode ini kontaminasi sangat kurang apabila dibandingkan dengan *semi continues*.

Sananurak *et al.* (2009) melaporkan bahwa seringkali sulit untuk mengadakan atau mengoperasikan sistem *batch culture* untuk spesies mikroalga laut di daerah pedalaman atau lokasi yang tidak memiliki sumber air laut terpercaya dan berkualitas.

2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga

2.4.1 Cahaya

Cahaya merupakan sumber energi dalam proses fotosintesis, sebab pada proses fotosintesis terdiri dari reaksi gelap dan terang (fotoperiod). Saat fotoperiod, hal yang terpenting adalah lamanya penyinaran (tidak hanya sinar

matahari) (Utami *et al.*, 2012). Menurut penelitian yang dilakukan Blair *et al.* (2013), tingkat penyerapan cahaya yang lebih banyak berdampak pada kemungkinan kloroplas menghasilkan peningkatan jumlah energi kimia yang digunakan untuk meningkatkan biomassa. Selain itu pada penelitiannya, cahaya biru memberikan waktu yang lebih cepat untuk mencapai pertumbuhan eksponensial dibandingkan dengan cahaya putih.

Berdasarkan Coutteau (1996), intensitas cahaya berperan penting dalam kultur mikroalga, tetapi kedalaman media kultur dan kepadatan kultur alga menjadi salah satu persyaratan penting untuk menentukan intensitas cahaya yang diperlukan. Sreesai dan Pakpain (2007) melaporkan bahwa produksi *C. vulgaris* yang dikultur pada air limbah tinja sebanyak 3 liter pada intensitas cahaya 3.000 dan 5.000 lux tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

2.4.2 Suhu

Suhu adalah salah satu faktor pembatas yang penting untuk organisme. Suatu organisme akan tumbuh serta berkembang secara baik apabila kondisi suhu dalam keadaan optimal. Apabila suhu tidak optimal, maka pertumbuhan dan perkembangan organisme menjadi terhambat (Wahyudi, 1999).

Berdasarkan Utami *et al.* (2012), dalam penelitiannya suhu sebesar 24-26°C adalah termasuk kisaran suhu optimum bagi pertumbuhan *C. vulgaris*, sebab pada suhu tersebut metabolisme dari mikroalga ini dapat berlangsung dengan baik.

2.4.3 pH

pH yang optimal untuk kultur *C. vulgaris* adalah pada kisaran 6,8-9,4. Penambahan EDTA (*Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*) dalam kultur berfungsi sebagai *buffer* atau penyangga yang berfungsi untuk mencegah fluktuasi pH yang terlalu tinggi (Wahyudi, 1999). pH yang rendah pada dasarnya akan mengganggu metabolisme sel. Salah satu proses yang terganggu adalah proses

fotosintesis. Penurunan pH biasanya diakibatkan oleh tingginya kandungan CO₂ yang berasal dari proses respirasi oleh sel dan sisa perombakan sel-sel yang telah mati (Hafizhah *et al.*, 2012).

2.4.5 Salinitas

Salinitas adalah tingkatan kadar garam dalam suatu perairan. *C. vulgaris* merupakan salah satu spesies mikrolaga yang cukup toleran terhadap kadar garam. Mikroalga ini mampu hidup pada kadar garam 0-70 ppt (Chalid *et al.*, 2010).

Menurut Makarevičienė *et al.* (2011), salinitas merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi akumulasi lipid dalam sel alga. Selain itu, salinitas juga berpengaruh terhadap biomassa. Biomassa *C. vulgaris* akan menurun seiring dengan peningkatan salinitas.

2.4.6 DO (*Dissolved Oxygen*)

DO atau oksigen terlarut adalah salah satu unsur yang sangat penting bagi semua kehidupan di bumi. Bagi *C. vulgaris* oksigen terlarut bertindak dalam kegiatan respirasi sel. *C. vulgaris* membutuhkan oksigen dalam proses respirasi sel untuk membentuk energi bagi pertumbuhan dan perkembangan sel-selnya (Wahyudi, 1999).

Berdasarkan penelitian Widyaningrum *et al.* (2013), ketika siang hari kadar oksigen pada kultur mikroalga dalam keadaan yang baik. Namun hal tersebut tidak terjadi pada malam hari, sebab fotosintesis tidak dapat berlangsung. Keadaan tersebut menyebabkan kekurangan oksigen, karena oksigen digunakan dalam proses respirasi. Akibatnya, laju pertumbuhan dari mikroalga akan semakin berkurang.

2.4.7 Unsur Hara

Menurut Wahyudi (1999), unsur N dan P adalah dua unsur yang harus ada atau tersedia dalam media kultur mikroalga. Kedua unsur ini biasanya hadir

dalam bentuk nitrat dan fosfat. Unsur nitrogen adalah komponen atau bahan utama dalam pembentukan asam amino. Adapun unsur fosfor berfungsi dalam penyusunan materi genetik (DNA dan RNA), sehingga sangat diperlukan oleh mikrolaga untuk kelangsungan dan perkembangbiakan. Ashraf *et al.* (2011) menjelaskan bahwa kandungan fosfat tinggi yaitu sebesar 50 % dari N mendukung pertumbuhan mikroalga, tetapi apabila konsentrasi meningkat melampaui 50 % dari N atau setara dengan N, maka pertumbuhan mikroalga akan mengalami penurunan.

Ketersediaan unsur hara akan menjadi suatu faktor pembatas apabila jumlahnya dalam media kultur mengalami penurunan. Keadaan tersebut mengakibatkan pertumbuhan mikrolaga akan berhenti, tetapi tidak mengalami kematian. Mikroalga tersebut akan aktif kembali ketika unsur hara dihadirkan lagi pada media kultur (Telelepta, 2011).

2.5 Fermentasi

Berdasarkan Potter dan Hotchkiss (1995), fermentasi terjadi apabila mikroorganisme memanfaatkan substrat organik sebagai suatu proses metabolisme mikroorganisme tersebut. Interaksi tersebut menjadi suatu dasar proses dekomposisi bahan-bahan alami, dan kembalinya unsur kimia ke dalam tanah dan udara.

Fermentasi adalah proses perombakan bahan organik menjadi bahan anorganik dalam kondisi tertentu oleh mikroorganisme fermentatif (Santi, 2008). Berdasarkan Burdass (2011), selama ribuan tahun manusia mendapatkan keuntungan dari proses fermentasi alami, dan dengan fermentasi alami manusia membuat produk seperti roti, yoghurt, keju serta minuman beralkohol. Fermentasi alami mengandalkan mikroba masuk ke dalam makanan secara alami. Misalnya,

ragi di udara dan kemudian masuk ke dalam jus buah serta memfermentasi gula alami yang berada di dalamnya hingga dihasilkan wine.

2.6 Kandungan Air Cucian Beras

Air cucian beras putih mengandung unsur hara seperti nitrogen, fosfor, magnesium serta sulfur yang kadarnya lebih tinggi apabila dibandingkan dengan air cucian dari beras merah. Akan tetapi, unsur yang paling mendominasi adalah unsur fosfor yang berfungsi sebagai penyusun asam amino serta aktif dalam pembelahan sel, dan magnesium yang merupakan unsur esensial untuk penyusun klorofil (Wulandari *et al.*, 2011).

Berdasarkan Puspitasari *et al.* (2015), beberapa mikroba yang ditemukan pada air cucian beras antara lain: *Pichia kudriavzevii*, *Trichosporan asahii* (Kingdom Basidiomycota), *Burkholderia metallica*. Selain itu, analisis yang dilakukan pada air cucian beras yang difermentasi menggunakan bioaktivator komersial selama 4 hari mengandung beberapa unsur hara yaitu N total sebesar 0,12 %, 0,03 % P_2O_5 , 0,01 % K_2O , dan memiliki kadar pH yang cenderung asam yaitu 3,4.

2.6 Urea

Urea adalah pupuk buatan yang termasuk pupuk tunggal, mengandung unsur hara utama berupa nitrogen. Pupuk ini berbentuk butiran (prill) ataupun granular dan memiliki rumus kimia $CO(NH_2)_2$. Syarat dari pupuk urea yaitu mengandung kadar nitrogen minimal 46 % baik untuk pupuk urea yang berbentuk butiran ataupun granular (Standar Nasional Indonesia, 2010).

Brigden dan Stringer (2000) menjelaskan bahwa urea (NH_2CONH_2) diproduksi dari amonia (NH_3) dan karbondioksida (CO_2) pada tekanan dan suhu yang tinggi. Selanjutnya dihasilkan NH_2COONH_4 (amonium karbamat). Amonium

karbamat kemudian mengalami dehidrasi dan menjadi urea. Reaksi pembentukan urea adalah sebagai berikut:



3. METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

3.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: gelas ukur dan erlenmeyer (Iwaki), mikroskop (Olympus), *haemocytometer* (Assistent), *handtally counter*, spektrofotometer (Spectroquant Pharo 300), *hot plate* (Nouva), pipet tetes, bola hisap, pipet volume, toples, aerator set, botol film, pH meter (Eutech), lampu TL 36 watt (Philips), oven (Redline), autoklaf (Dea), kulkas (Sharp), lux meter (Sunchn), ember, timbangan analitik (Denyer), *vacum pump* (Value), desikator, cuvet, *washing bottle*. Adapun foto alat yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: inokulan *C. vulgaris*, air tawar, kaporit, Na thiosulfat, kresek hitam, beras putih varietas IR 64, alumunium foil, alkohol 70 %, akuades, asam fenoldisulfonik, NH_4OH , ammonium molybdate, SnCl_2 dan kertas saring Whatman GF/C (*Glass Microfiber Filters Grade C*), urea, pupuk walne, vitamin, tisu, kapas, karet gelang, kertas label, plastik bening. Adapun foto bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen. Berdasarkan Suhaemi (2011), metode eksperimen adalah penelitian yang sengaja memberikan suatu perlakuan tertentu terhadap objek penelitian

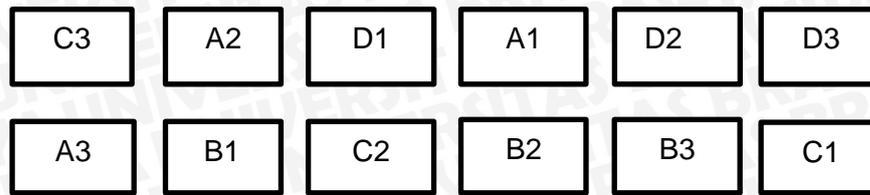
yang dilakukan, dan kemudian diteliti atau dianalisis akibat dari perlakuan yang diberikan sebelumnya.

3.2.2 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan pertama yaitu perlakuan kontrol dengan penambahan pupuk walne 1 ml/l (A). Adapun kandungan dari pupuk walne dapat dilihat pada Lampiran 3. Perlakuan kedua yaitu dengan dosis air cucian beras yang difermentasi secara alami selama 2 minggu+urea dengan dosis 35 ml/l (B), perlakuan ketiga dengan dosis 45 ml/l (C), dan dosis keempat yaitu 55 ml/l (D).

Dosis tersebut mengacu pada kebutuhan unsur N dan P dari *C. vulgaris*. Kebutuhan N dan P dari *C. vulgaris* berdasarkan Eyster (1978) adalah minimal 14 mg/l untuk unsur N, sedangkan untuk P yaitu minimal 0,31 mg/l. Berdasarkan hasil perhitungan N dan P dalam 35 ml/l air cucian beras yang difermentasi alami+urea mengandung 14,06 mg/l N dan 0,88 mg/l P. Dosis 45 ml/l mengandung 18,07 mg/l N dan 1,13 mg/l P, sedangkan pada dosis 55 ml/l mengandung 22,09 mg/l N dan 1,38 mg/l P.

Dasar perhitungan N dan P pada dosis yang digunakan tersebut berdasarkan jumlah kandungan N pada fermentasi alami air cucian beras yang ditambah urea, dalam hal ini dapat dilihat pada Lampiran 4. Denah letak wadah untuk kultur *C. vulgaris* yang dilakukan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3. Denah letak wadah tersebut didapatkan berdasarkan perhitungan dengan menggunakan bilangan acak, sehingga semua wadah mendapatkan peluang yang sama. Lebih lanjut Hariati *et al.* (2012) menjelaskan bahwa secara statistik pengacakan dimaksudkan untuk validitas dari pengambilan suatu kesimpulan, sehingga kesimpulan tersebut bersifat obyektif.



Gambar 3. Rancangan Wadah Kultur *C. vulgaris*

Keterangan:

1. A-D = Perlakuan
2. 1-3 = Ulangan

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan kegiatan menghilangkan seluruh organisme termasuk spora pada suatu peralatan atau bahan dengan tujuan agar tidak mengkontaminasi alat dan bahan tersebut, sterilisasi dapat dilakukan dengan cara bermacam-macam, antara lain: sterilisasi kimia, fisik, dengan penyaringan dan lain sebagainya.

Sterilisasi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan sterilisasi fisik yaitu dengan menggunakan oven (Lampiran 5) dengan suhu 105°C selama 5 jam untuk alat-alat yang berukuran kecil. Selain oven, sterilisasi juga dilakukan dengan menggunakan autoklaf (Lampiran 6) untuk mensterilisasi erlenmeyer dan media air tawar yang digunakan untuk kultur stok *C. vulgaris*.

Adapun untuk peralatan yang berukuran besar menggunakan sterilisasi secara kimia dengan menggunakan kaporit. Dosis kaporit mengacu pada dosis yang disarankan oleh Muhaemin *et al.* (2014), yaitu untuk peralatan dapat direndam dengan kaporit dengan dosis 100 mg/l selama 24 jam. Tahap berikutnya yaitu peralatan dibilas air tawar hingga bau kaporit hilang.

Selain peralatan, bahan yang digunakan seperti air tawar untuk media kultur *C. vulgaris* juga disterilisasi dengan menggunakan sterilisasi kimia. Sterilisasi kimia air tawar pada penelitian ini juga menggunakan kaporit dan ditambahkan Na thiosulfat sebagai penetralisir, dan dosis yang digunakan mengacu dari penelitian Khairuddin dan Sahabuddin (2013) yang menggunakan kaporit sebanyak 30 mg/l dan kemudian dinetralisir menggunakan Na thiosulfat sebanyak 15 mg/l.

b. Pembuatan Fermentasi Alami Air Cucian Beras

Fermentasi alami air cucian beras merupakan fermentasi tanpa adanya penambahan bakteri ataupun organisme fermenter dari luar. Beras yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis beras putih varietas IR 64. Tahapan dalam pembuatan fermentasi air cucian beras yang dilakukan secara alami yaitu beras ditimbang sesuai kebutuhan, kemudian beras dicuci menggunakan air bersih. Perbandingan beras dan air yaitu 1:3, air cucian beras yang digunakan dalam fermentasi adalah air cucian beras yang pertama.

Tujuan penggunaan air cucian beras pertama disebabkan airnya lebih keruh apabila dibandingkan dengan air cucian yang kedua dan seterusnya. Air yang keruh ini disebabkan oleh protein dan vitamin yang terkikis oleh air yang digunakan untuk mencuci beras tersebut (Wulandari *et al.*, 2011).

Fermentasi air cucian beras dilakukan di botol air mineral, kemudian ditutup rapat agar tidak terdapat serangga yang bertelur pada air cucian beras, selain itu pada bagian luar diberi kresek hitam dengan tujuan untuk menghindari cahaya matahari secara langsung. Waktu fermentasi alami yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2 minggu.

Penggunaan waktu fermentasi tersebut mengacu pada penelitian Puspitasari (2003), yang melakukan fermentasi alami air cucian beras selama 1, 2, serta 4 minggu dan hasil terbaik terhadap tanaman anggrek *Dendrobium sp.*

pada fase vegetatif adalah fermentasi alami air cucian beras yang dilakukan selama 2 dan 4 minggu. Air cucian beras yang difermentasi selama 2 dan 4 minggu tersebut dapat menggantikan pupuk kimia komersial, dan hasil yang terbaik ditunjukkan pada fermentasi 2 minggu.

Selain itu berdasarkan hasil analisis kandungan nutrisi dari fermentasi air cucian beras selama 2 minggu yang dilakukan di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya didapatkan kandungan nitrat (NO_3) sebesar 24,96 mg/l, fosfat (PO_4) sebesar 76,92 mg/l, dan TAN (Total Amonia Nitrogen) sebesar 25,66 mg/l.

c. Pembuatan Pupuk Cair Fermentasi Air Cucian Beras dengan Penambahan Urea

Tahapan pertama dalam pembuatan pupuk cair adalah menimbang urea sebanyak 0,82 gr dengan menggunakan timbangan analitik. Selanjutnya, urea tersebut dilarutkan pada 1 liter fermentasi air cucian beras yang difermentasi selama 2 minggu. Adapun dasar penambahan jumlah urea tersebut dapat dilihat pada perhitungan di Lampiran 4.

d. Penyiapan Media Kultur

Media kultur yang digunakan dalam penelitian adalah berupa air tawar, sebab mikroalga *C. vulgaris* yang digunakan merupakan mikroalga air tawar. Sehingga tidak diperlukan proses pengenceran dalam penyiapan media kultur.

e. Kultur Stok *C. vulgaris*

Bibit *C. vulgaris* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari kultur murni Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Bibit tersebut kemudian diperbanyak dengan mengkulturnya pada 300 ml air tawar pada erlenmeyer dengan ukuran 500 ml sebanyak 3 buah.

Kultur untuk memperbanyak inokulan tersebut dilakukan selama 4 hari untuk mencapai fase stasioner dan kemudian dipanen, selama waktu kultur suhu ruang

kultur dikontrol pada suhu 28 °C dan intensitas cahaya sebesar 3.750 lux dengan periode penyinaran 24 jam. Tahap terakhir yaitu dilakukan perhitungan kepadatan yang digunakan sebagai data kepadatan awal untuk kultur selanjutnya.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian yang dilakukan adalah menambahkan air tawar pada toples yang akan digunakan sebagai media kultur. Tahap selanjutnya yaitu menambahkan fermentasi alami air cucian beras yang difermentasi selama 2 minggu+urea dengan dosis 35 ml/l, 45 ml/l, dan 55 ml/l serta pupuk walne dengan dosis 1 ml/l sebagai kontrol.

Agar pupuk tercampur secara merata pada media kultur, maka dilakukan aerasi. Aerasi kemudian dimatikan sebentar, dan dimasukkan inokulan *C. vulgaris* dengan kepadatan awal 5×10^5 sel/ml (Lau *et al.*, 1994). Volume inokulan *C. vulgaris* yang dimasukkan ke dalam media kultur diketahui dengan menggunakan rumus pengenceran (Ekawati, 2005) sebagai berikut:

$$V1 = \frac{N2 \times V2}{N1}$$

Keterangan:

V1= Volume bibit untuk penebaran awal (ml)

N1= Jumlah bibit yang akan ditebarkan (sel/ml)

V2= Volume media budidaya yang dikehendaki

N2= Jumlah bibit yang dikehendaki (sel/ml)

Apabila pertumbuhan *C. vulgaris* sudah mencapai fase stasioner, maka selanjutnya dilakukan pengukuran biomassa. Selain itu, selama masa kultur berlangsung dilakukan pengukuran kualitas air meliputi pH, DO, suhu, kadar nitrat serta fosfat yang digunakan sebagai parameter penunjang pada penelitian ini.

3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

a. Pertumbuhan *C. vulgaris*

Pertumbuhan *C. vulgaris* terdiri beberapa fase, antara lain fase adaptasi, eksponensial, stasioner dan kematian. Data pertumbuhan diperoleh dengan cara melakukan perhitungan kepadatan setiap harinya. Perhitungan kepadatan *C. vulgaris* dilakukan satu kali dalam sehari selama waktu kultur berlangsung sesuai dengan waktu kultur pertama kali.

Alat yang digunakan dalam membantu perhitungan kepadatan yaitu *haemocytometer*, *cover glass*, mikroskop dan *handtally counter*. Rumus perhitungan dengan menggunakan *haemocytometer* (Creswell, 2010) adalah sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sel/ml} = \frac{n}{\text{Jumlah bidang pandang}} \times 25 \times 10^4$$

b. Laju Pertumbuhan Spesifik *C. vulgaris*

Laju pertumbuhan spesifik (μ) dihitung dari data kepadatan *C. vulgaris* pada hari ke 0 yaitu hari pertama kultur sampai pada fase puncak populasi. Adapun rumus yang digunakan untuk menghitung laju pertumbuhan spesifik (μ) dari *C. vulgaris* pada penelitian ini mengacu pada rumus yang disarankan Abreu *et al.* (2012) seperti sebagai berikut:

$$\mu \text{ (/hari)} = \frac{(\ln N_2 - \ln N_1)}{(t_2 - t_1)}$$

Keterangan:

- μ = Laju pertumbuhan spesifik
- N_1 = kepadatan mikroalga pada waktu t_1
- N_2 = kepadatan mikroalga pada waktu t_2

c. Doubling Time

Doubling time pada kultur *C. vulgaris* dapat dihitung menggunakan rumus yang dijelaskan oleh Kuo *et al.* (2015) seperti sebagai berikut:

$$td \text{ (jam)} = 24 \times \frac{\ln 2}{\mu}$$

Keterangan:

td = *doubling time* (hari)
 μ = laju pertumbuhan spesifik

d. Biomassa *C. vulgaris*

Pengukuran biomassa *C. vulgaris* dilakukan apabila pertumbuhannya telah mencapai fase stasioner. Tahapan dalam pengukuran biomassa menurut Janssen *et al.* (1999) yaitu pertama kertas saring Whatman GF/C dioven pada suhu 105°C selama 2 jam hingga konstan dan kemudian ditimbang dengan timbangan analitik (A). Cara kerja timbangan analitik dapat dilihat pada Lampiran 7. Selanjutnya, sampel mikroalga sebanyak 25 ml difilter menggunakan kertas saring yang sebelumnya telah dioven. Kemudian, kertas saring+mikroalga dioven pada suhu 105°C selama 2 jam. Setelah dingin, kertas saring+mikroalga diletakkan di desikator selama 30-60 menit dengan tujuan untuk menyerap kelembaban dan kemudian ditimbang (B). Tahap terakhir yaitu memasukkannya ke dalam rumus berikut:

$$\text{Biomassa (g/l)} = \frac{(|B|-|A|) \times 1000}{\text{volume sampel}}$$

3.4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diukur dalam penelitian ini adalah pH, DO, suhu, kadar nitrat serta fosfat. Pengukuran suhu dan pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, DO menggunakan DO meter, sedangkan kadar nitrat dan fosfat diukur dengan spektrofotometer. Pengukuran data kualitas air seperti

pH dan DO dilakukan satu kali sehari bersamaan dengan perhitungan kepadatan *C. vulgaris*, sedangkan pengukuran suhu dilakukan dua kali sehari yaitu pada pukul 07.00 dan 14.00 WIB, kecuali pengukuran nitrat dan fosfat yang diukur pada saat awal kultur, fase eksponensial dan stasioner.

Berikut ini adalah metode pengukuran kualitas air menggunakan beberapa alat yang telah disebutkan sebelumnya:

a. Pengukuran pH

Adapun tahapan pengukuran pH berdasarkan Standar Nasional Indonesia (2004), yaitu pertama elektroda dari pH meter dibilas dengan air suling/akuades. Kemudian elektroda pH meter dibilas dengan contoh uji, dan selanjutnya elektroda dicelupkan ke dalam contoh uji hingga pH meter menunjukkan hasil pembacaan yang tetap. Terakhir, hasil pembacaan angka yang muncul pada tampilan pH meter dicatat sebagai data.

b. Pengukuran DO

Tahapan pengukuran kadar DO dengan menggunakan DO meter hampir sama dengan pengukuran pH menggunakan pH meter. Tahapan pertama yaitu menyalakan DO meter dengan menekan tombol *on/off* dan ditunggu hingga *ready*. Selanjutnya, elektroda dari DO meter dikalibrasi menggunakan akuades. Setelah itu, elektroda dicelupkan pada air yang diuji kadar DO-nya dan ditunggu hingga *ready* dan hasil data yang diperoleh kemudian dicatat.

c. Pengukuran Suhu

Pengukuran suhu yang dilakukan pada penelitian ini adalah menggunakan pH meter. Cara penggunaan pH meter untuk pengukuran suhu sama dengan cara pengukuran pH. Perbedaannya, data yang dicatat merupakan data suhu yang tampil pada tampilan layar pH meter.

d. Pengukuran Nitrat

Prosedur pengukuran nitrat berdasarkan Boyd (1988), yaitu pertama menyaring air sampel sebanyak 12,5 ml dan dituangkan ke dalam cawan porselen, kemudian dipanaskan di *hot plate* hingga kering serta terbentuk kerak. Setelah itu didinginkan dan ditambahkan 0,2 ml asam fenoldisulfonik serta selanjutnya diaduk dengan spatula hingga kerak larut. Berikutnya, ditambahkan dengan NH_4OH hingga berubah warna, dan kemudian diencerkan dengan akuades sebanyak 5 ml. Selanjutnya dimasukkan ke dalam cuvet dan dianalisis menggunakan spektrofotometer menggunakan panjang gelombang 410 nm. Hasil yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam rumus regresi sebagai nilai y dengan rumus $y=a+bx$, kemudian hasil perhitungan yang didapat dicatat dalam satuan mg/l.

e. Pengukuran Fosfat

Prosedur pengukuran fosfat yang digunakan yaitu berdasarkan Boyd (1988), pertama yaitu menyaring air sampel sebanyak 25 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya, ditambahkan 1 ml ammonium molybdate dan dihomogenkan. Tahap berikutnya ditambahkan 3 tetes SnCl_2 dan dihomogenkan. Setelah homogen, kemudian dimasukkan ke dalam cuvet dan dianalisis kadar orthofosfatnya menggunakan spektrofotometer menggunakan panjang gelombang 690 nm. Hasil yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam rumus regresi sebagai nilai y dengan rumus $y=a+bx$.

3.5 Analisis Data

Data yang didapatkan dari penelitian tentang pengaruh pemberian fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea terhadap pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris* dianalisis dengan uji statistik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Adapun untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap

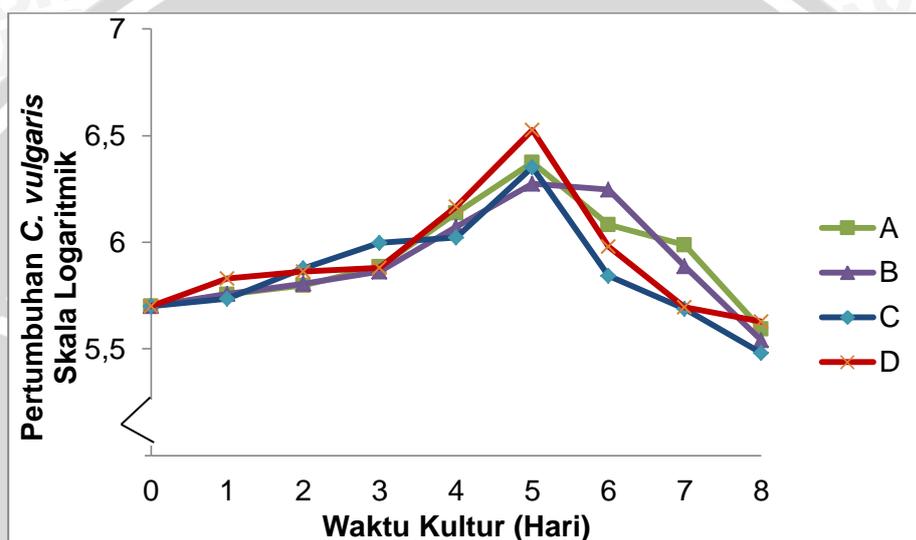
pertumbuhan dan biomassa *C. vulgaris* dilakukan analisis keragaman satu arah dengan melakukan uji F dengan selang kepercayaan 95 % dan 99 %. Apabila hasil yang didapatkan berbeda nyata atau sangat berbeda nyata maka dilakukan uji lanjutan yaitu dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pertumbuhan *C. vulgaris* pada Fermentasi Air Cucian Beras yang Ditambahkan Urea dengan Dosis yang Berbeda

Hasil pertumbuhan *C. vulgaris* pada penelitian ini didapatkan pola pertumbuhan yang disajikan pada grafik yang terdapat di Gambar 4, dan untuk data pertumbuhan selama waktu kultur dapat dilihat pada Lampiran 8.



Gambar 4. Pola Pertumbuhan *C. vulgaris*

Keterangan:

- Kontrol (walne) dengan dosis 1 ml/l
- 35 ml/l fermentasi air cucian beras+urea
- 45 ml/l fermentasi air cucian beras+urea
- 55 ml/l fermentasi air cucian beras+urea

Berdasarkan grafik pola pertumbuhan pada Gambar 4 dapat diketahui apabila pada awal kultur hingga hari ketiga *C. vulgaris* masuk dalam fase lag atau fase adaptasi, sebab pertumbuhannya terbilang sangat lambat. Lamanya fase lag bisa disebabkan beberapa faktor seperti yang dijelaskan oleh Ru'yatin *et al.* (2015), faktor yang mempengaruhi waktu adaptasi adalah jenis dan umur sel mikroalga, ukuran dari inokulum serta kondisi media untuk pertumbuhan mikroalga.

Pertumbuhan *C. vulgaris* mulai memasuki fase eksponensial pada hari ketiga hingga keempat, hal tersebut terlihat dari adanya peningkatan pertumbuhan. Fase eksponensial akan bertahan apabila beberapa faktor seperti nutrisi, pH, intensitas cahaya pada media kultur masih mampu menunjang kebutuhan fisiologis dari mikroalga, sehingga pada fase ini sel dari mikroalga masih mampu bereproduksi (Suantika dan Hendrawandi, 2009).

Hari kelima pertumbuhan *C. vulgaris* pada seluruh perlakuan mengalami puncak pertumbuhan atau memasuki fase stasioner dan perlakuan D menunjukkan nilai rata-rata kepadatan tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain yaitu sebesar $335,42 \times 10^4$ sel/ml, sedangkan kepadatan terendah terdapat pada perlakuan B yaitu sebesar $187,75 \times 10^4$ sel/ml dan untuk perlakuan yang menggunakan walne memiliki nilai kepadatan sebesar $237,25 \times 10^4$ sel/ml. Hari keenam, ketujuh dan kedelapan pertumbuhan *C. vulgaris* pada seluruh perlakuan mulai mengalami penurunan pertumbuhan disebabkan kematian sel lebih besar dibandingkan dengan pertumbuhan sel.

Penurunan pertumbuhan pada *C. vulgaris* diakibatkan unsur hara yang semakin berkurang akibat sebelumnya telah dimanfaatkan oleh *C. vulgaris* pada awal kultur hingga mencapai puncak pertumbuhan. Chilmawati dan Suminto (2008) menjelaskan bahwa fase kematian pada *C. vulgaris* terjadi setelah mencapai fase puncak eksponensial. Salah satu faktor yang menyebabkan kematian adalah volume kultur yang terbatas, sedangkan kepadatan sel semakin bertambah. Selain itu jumlah nutrisi semakin berkurang, dan dengan demikian *C. vulgaris* tidak dapat mempertahankan kepadatan selnya lagi.

Rata-rata laju pertumbuhan spesifik *C. vulgaris* setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1, untuk perhitungan statistik seperti analisis keragaman dan uji BNT dilampirkan pada Lampiran 9.

Tabel 1. Rata-Rata Laju Pertumbuhan Spesifik

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata(/hari)
	1	2	3	
A	0,329	0,335	0,264	0,309±0,039 ^a
B	0,28	0,249	0,264	0,264±0,015 ^a
C	0,291	0,245	0,352	0,296±0,054 ^a
D	0,398	0,385	0,357	0,380±0,021 ^b

Keterangan:

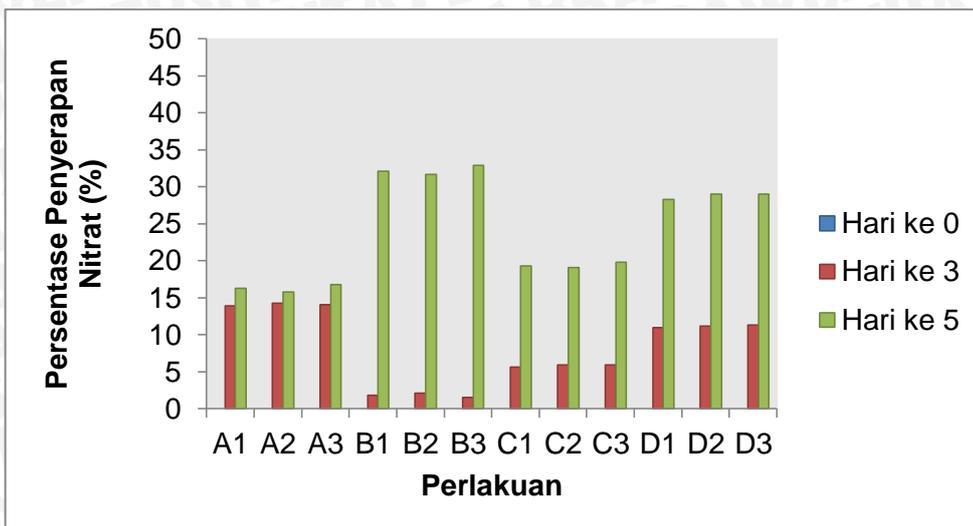
- A. Kontrol (walne) dengan dosis 1 ml/l
- B. 35 ml/l fermentasi air cucian beras+urea
- C. 45 ml/l fermentasi air cucian beras+urea
- D. 55 ml/l fermentasi air cucian beras+urea

Berdasarkan hasil analisis keragaman laju pertumbuhan spesifik *C. vulgaris* didapatkan hasil berbeda nyata sebab $F \text{ tabel } 5\% < F \text{ hitung } > F \text{ tabel } 1\%$, sehingga dalam hal ini berhasil menolak H_0 dan menerima H_1 . Hasil dari uji BNT didapatkan hasil perlakuan D menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap perlakuan A dan C, serta sangat berbeda nyata apabila dibandingkan dengan perlakuan B. Adapun perlakuan A, B, dan C tidak berbeda nyata satu sama lain. Jadi dalam hal ini, perlakuan D merupakan dosis efektif bagi pertumbuhan *C. vulgaris*. Laju pertumbuhan spesifik tercepat pada penelitian ini terdapat pada perlakuan D yaitu sebesar 0,380/hari, sedangkan laju pertumbuhan spesifik yang terendah terdapat pada perlakuan B yaitu sebesar 0,264/hari.

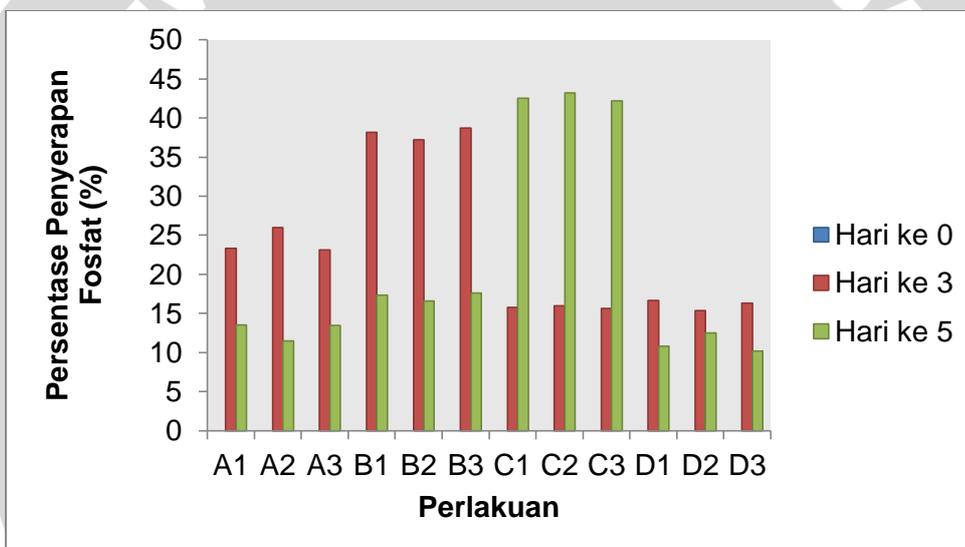
Doubling time pada penelitian ini secara berurutan yaitu 54,49; 63; 57,48; dan 43,88 jam. Hubungan antara laju pertumbuhan spesifik dengan *doubling time* memiliki hubungan terbalik. Semakin tinggi nilai laju pertumbuhan spesifik maka nilai *doubling time* akan semakin kecil. Selain itu nilai *doubling time* terkecil pada penelitian ini didapatkan pada perlakuan D (55 ml), dosis pada perlakuan D merupakan dosis tertinggi. Jadi, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi dosis fermentasi air cucian beras+urea maka didapatkan hasil laju pertumbuhan

spesifik yang tinggi dan nilai *doubling time* yang kecil. Hal tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan Kuo *et al.* (2015), air limbah peternakan babi dengan dosis tertinggi berkorelasi dengan *doubling time* yang lebih pendek dan konsentrasi biomassa tertinggi. Adapun hasil dari penelitiannya yaitu limbah dengan konsentrasi 0 %, 25 %, 50 %, 75 % dan 100 % didapatkan hasil laju pertumbuhan spesifik masing-masing 0,467, 0,733, 0,766, 0,797 dan 0,839/hari.

Pengukuran nitrat dan fosfat pada penelitian ini juga menunjukkan adanya penurunan kandungan nitrat dan fosfat dari awal kultur hingga pada fase puncak pertumbuhan. Hal tersebut menunjukkan apabila *C. vulgaris* memanfaatkan nitrat dan fosfat yang terdapat pada media kultur. Data kandungan nitrat dan fosfat pada media kultur selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 12 dan 13. Penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan D menyerap nitrat lebih banyak dibandingkan perlakuan lain, yaitu menyerap nitrat rata-rata sebanyak 39,89 % dari awal kultur hingga fase stasioner, adapun rinciannya yaitu menyerap nitrat sebesar 11,12 % pada saat fase eksponensial dan 28,77 % pada saat fase stasioner (Gambar 5). Selanjutnya, diikuti oleh perlakuan B sebesar 34,09 % yang menyerap nitrat sebesar 1,85 % pada saat fase eksponensial dan menyerap 32,24 % ketika fase stasioner, perlakuan A sebesar 30,36 % yang menyerap nitrat sebesar 14,09 % ketika fase eksponensial dan 16,27 % pada saat fase stasioner, dan yang terakhir perlakuan C sebesar 25,22 % yang menyerap nitrat sebesar 5,84 % pada saat fase eksponensial dan menyerap sebesar 19,38 % ketika fase stasioner. Adapun untuk penyerapan fosfat (Gambar 6) menunjukkan perlakuan A, B, C, D masing-masing menyerap fosfat rata-rata sebesar 36,94 %, 55,22 %, 58,42 %, dan 27,30 %.



Gambar 5. Persentase Nitrat yang Dimanfaatkan oleh *C. vulgaris*



Gambar 6. Persentase Fosfat yang Dimanfaatkan oleh *C. vulgaris*

Keterangan: a. A-D = Perlakuan
b. 1-3 = Ulangan

Nitrogen dalam bentuk nitrat dalam hal ini mempengaruhi pertumbuhan dari *C. vulgaris*. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Komarawidjaja (2012), bahwa perbedaan kepadatan dari *Chlorella* sp. pada media LRP (Limbah Rumpuk Laut yang Dipupuk) dipengaruhi oleh penambahan NaNO_3 yang mengandung nitrogen siap diasimilasi. Nitrogen tersebut tidak hanya meningkatkan daya dukung, akan tetapi juga meningkatkan laju pertumbuhan.

Apabila jumlah kandungan nitrat pada media kultur mulai menipis, maka hal tersebut akan mempengaruhi pertumbuhan mikroalga yang sedang dikultur. Muhaemin *et al.* (2014) menjelaskan bahwa pengurangan nitrat pada media kultur berakibat memberikan tekanan pada pertumbuhan mikroalga yang ditunjukkan dengan semakin melandainya kurva pertumbuhan.

Selain nitrat sumber nitrogen lain yaitu amonia, amonia pada penelitian ini diyakini juga dimanfaatkan oleh *C. vulgaris* untuk pertumbuhannya. Mikroalga mampu memanfaatkan amonia dan nitrat sebagai sumber nitrogen untuk melakukan proses fotosintesis (Ebeling *et al.*, 2006).

Fosfat juga merupakan salah satu nutrien yang dibutuhkan oleh mikroalga untuk menunjang kehidupannya. Menurut Yulita (2014), pengurangan fosfat dalam media kultur disebabkan pemanfaatan fosfat oleh mikroalga untuk stabilator membran sel, metabolisme energi, pengaturan metabolisme seperti sintesa protein, karbohidrat dan untuk membentuk struktur sel. Zhao dan Su (2014) menambahkan apabila konsentrasi dari N dan P haruslah tepat, sehingga mampu menunjang pertumbuhan dari mikroalga. Konsentrasi N dan P yang terlalu rendah akan menghambat pertumbuhan dari mikroalga. Konsentrasi yang terlalu tinggi juga memberikan efek toksik pada mikroalga, serta berkurangnya laju pertumbuhan dan menyebabkan kematian.

Selain kandungan nutrien yang terdapat dalam media kultur, ada satu faktor yang menyebabkan perbedaan pertumbuhan mikroalga, yaitu adanya perbedaan kemampuan sel dalam menyerap nutrien. Hal tersebut seperti yang dijelaskan oleh Afriza *et al.* (2015), bahwa laju pertumbuhan yang berbeda pada setiap perlakuan juga bisa disebabkan oleh kemampuan sel dalam hal menyerap unsur hara yang ada pada media. Ru'yatin *et al.* (2015) menjelaskan bahwa permukaan sel yang luas akan berpotensi menyerap nutrien dari media kultur yang lebih besar dibanding dengan luas permukaan sel yang kecil

4.2 Biomassa

Data rata-rata biomassa *C. vulgaris* yang didapatkan dari setiap perlakuan selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2, dan data perhitungan untuk mendapatkan biomassa kering *C. vulgaris* dapat dilihat pada Lampiran 10. Adapun untuk perhitungan statistik dari biomassa *C. vulgaris* seperti analisis keragaman dan uji BNT dilampirkan pada Lampiran 11.

Tabel 2. Rata-Rata Biomassa *C. vulgaris*

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata (g/l)
	1	2	3	
A	0,032	0,028	0,036	0,032±0,004 ^a
B	0,04	0,036	0,04	0,039±0,002 ^a
C	0,036	0,044	0,052	0,044±0,008 ^{ab}
D	0,056	0,052	0,044	0,051±0,006 ^b

Keterangan:

- A. Kontrol (walne) dengan dosis 1 ml/l
- B. 35 ml/l fermentasi air cucian beras+urea
- C. 45 ml/l fermentasi air cucian beras+urea
- D. 55 ml/l fermentasi air cucian beras+urea

Hasil dari analisis keragaman biomassa *C. vulgaris* didapatkan hasil yang berbeda nyata, hal ini berarti fermentasi alami air cucian beras yang ditambahkan urea berpengaruh terhadap biomassa *C. vulgaris*. Berdasarkan hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan B dan sangat berbeda nyata dengan perlakuan A. Adapun untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A dan tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B, sedangkan perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan A. Jadi dari hasil uji BNT tersebut dapat diketahui perlakuan D merupakan dosis terbaik untuk mendapatkan biomassa *C. vulgaris* dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Amanatin dan Nurhidayati (2013) menjelaskan bahwa komposisi nutrisi yang lengkap serta konsentrasi yang tepat akan menentukan produksi biomassa, dan begitu pula terhadap kandungan gizi dari mikroalga. Astuti dan Sriwuryandari (2010) menerangkan apabila karbon (C)

menyumbang komposisi biomassa terbesar dalam sel mikroalga, yakni sebesar 51,59 %, sedangkan untuk nitrogen dan fosfor masing-masing menyumbang 6,62 dan 1,33 %.

C. vulgaris merupakan salah satu mikroalga yang mampu memanfaatkan dua sumber karbon secara bersamaan yaitu karbon organik dan anorganik seperti CO₂, hal ini dikenal dengan kondisi miksotrofik (Abreu *et al.*, 2012). Kemampuan dalam memanfaatkan karbon organik inilah yang diyakini menjadi salah satu sebab biomassa *C. vulgaris* pada kultur dengan fermentasi air cucian beras yang ditambahkan urea memiliki biomassa yang lebih besar dibandingkan dengan *C. vulgaris* yang ditumbuhkan pada media yang diperkaya walne. Selanjutnya, Salim (2015) menjelaskan bahwa pada kondisi miksotrofik maka cahaya tidak perlu menembus mikroalga.

Biomassa yang dihasilkan pada penelitian ini tergolong kecil apabila dibandingkan dengan *Chlorella* sp. yang dikultur pada air limbah pengolahan daging (Lu *et al.*, 2015). *Chlorella* sp. yang dikultur pada air limbah pengolahan daging menghasilkan biomassa berkisar antara 0,68-1,54 g/l. Kondisi lingkungan *Chlorella* sp. yang dikultur pada air limbah pengolahan daging dalam kondisi terkontrol. Suhu kultur selalu dijaga pada 25 °C dengan menggunakan *Air Conditioner* dan pencahayaan yang terus menerus (120 μmol photons m⁻² s⁻¹ atau setara dengan 8.800 lux), sedangkan kondisi lingkungan seperti suhu pada kultur *C. vulgaris* dalam penelitian ini tidak terkontrol.

Meskipun suhu tidak terkontrol, akan tetapi masih dalam rentang suhu yang ditoleransi oleh *C. vulgaris* yaitu 5-35 °C (Wahyudi, 1999). Selain itu, intensitas cahaya yang digunakan lebih kecil dibandingkan dengan *Chlorella* sp. yang dikultur pada air limbah pengolahan daging yaitu sebesar 3.750 lux. Intensitas cahaya yang digunakan meskipun lebih kecil, akan tetapi masih termasuk intensitas cahaya yang sesuai untuk pertumbuhan *C. vulgaris*. Bahkan

Ashraf *et al.* (2011) melakukan kultur *Chlorella* sp. dengan intensitas cahaya 2.000-2.500 lux pada skala kultur intermediet.

Jadi dapat disimpulkan bahwa selain nutrisi terdapat faktor lain yang mempengaruhi produksi biomassa, seperti faktor lingkungan. Berdasarkan Munir *et al.* (2015), suhu dan cahaya adalah dua faktor paling penting yang mempengaruhi produksi biomassa dari mikroalga. Lebih lanjut Latala (1991) menerangkan bahwa perubahan intensitas cahaya tidak berpengaruh terhadap morfologi sel mikroalga, akan tetapi berpengaruh pada perubahan ukuran sel apabila intensitas cahaya ditingkatkan.

4.4 Kualitas Air

4.4.1 pH

pH media kultur selama penelitian mengalami fluktuasi, akan tetapi pH masih dalam kondisi umum untuk pertumbuhan *C. vulgaris*. pH selama penelitian memiliki rentang antara 8,34-8,89. Data pH selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 14. Berdasarkan Blinova *et al.* (2015), kondisi umum untuk kultur fitoplankton adalah pada pH 7-9, dan rentang pH optimum untuk kultur adalah 8,2-8,7. Hal tersebut menunjukkan pH masih dalam kondisi basa dari awal kultur hingga akhir kultur. Hal ini menandakan bahwa karbondioksida (CO_2) dimanfaatkan oleh *C. vulgaris* pada proses fotosintesis. Lebih lanjut Kawaroe *et al.* (2010) menjelaskan bahwa CO_2 dalam media kultur berkurang akibat adanya proses fotosintesis yang dilakukan oleh mikroalga. Penurunan dari karbondioksida tersebut berakibat pada peningkatan pH pada media kultur.

4.4.2 DO

Hasil kualitas air terutama oksigen terlarut atau DO selama penelitian mengalami fluktuasi, hal tersebut dapat dilihat pada grafik di Lampiran 15. DO atau oksigen terlarut pada media kultur menunjukkan bahwa *C. vulgaris*

melakukan fotosintesis sehingga dihasilkan oksigen sebagai salah satu produk dari proses fotosintesis yang terjadi. Adapun rentang DO selama penelitian berkisar antara 5,26-5,98 mg/l.

Menurut Ali (2013), alga dapat mengabsorpsi nutrisi yang ada pada lingkungan hidupnya dan melakukan fotosintesis dengan bantuan sinar matahari sehingga dihasilkan oksigen. Oleh karena itu, alga dimasukkan dalam golongan organisme fotoautotrof. Sopiah *et al.* (2012), menambahkan bahwa *Chlorella* sp. bersifat autotrof dan mampu mensintesis senyawa anorganik, serta memanfaatkan karbondioksida dan air untuk menghasilkan oksigen dan glukosa.

4.4.3 Suhu

Data hasil suhu selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 16. Rata-rata suhu selama penelitian mengalami fluktuasi dari hari pertama hingga ke delapan. Suhu terendah selama waktu penelitian terjadi pada hari keempat. Adapun kisaran suhu selama penelitian adalah 25,2-28,9°C.

Suhu pada penelitian ini masih dapat ditolerir oleh *C. vulgaris*, berdasarkan Wahyudi (1999), *Chlorella* sp. dapat tumbuh pada rentang suhu 5-35°C, akan tetapi suhu optimumnya berkisar antara 20-25°C. Lebih lanjut Blinova *et al.* (2015), menjelaskan bahwa suhu optimum kultur fitoplankton pada umumnya antara 20-24°C. Suhu yang tidak optimum pada dasarnya akan mempengaruhi pertumbuhan dari *C. vulgaris*.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Fermentasi air cucian beras yang ditambahkan urea dengan menggunakan walne sebagai kontrol perlakuan berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik dan biomassa *C. vulgaris*.
- Dosis terbaik pada penelitian ini adalah 55 ml/l dengan laju pertumbuhan spesifik sebesar 0,380/hari, *doubling time* sebesar 43,88 jam dan biomassa sebesar 0,051 g/l.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, untuk mengkultur *C. vulgaris* dengan menggunakan fermentasi air cucian beras yang ditambahkan urea agar mendapatkan pertumbuhan tercepat disarankan menggunakan dosis 55 ml/l. Selain itu, untuk penelitian selanjutnya sebaiknya melakukan pengukuran TAN sehingga diketahui data penyerapan amonium. Sebab mikroalga selain memanfaatkan nitrat, juga memanfaatkan amonia dalam bentuk *ionized ammonia* yaitu amonium.

DAFTAR PUSTAKA

- Abreu, A.P., B. Fernandes, A. A. Vicente, J. Teixeira, and G. Dragone. 2012. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. *Bioresource Technology*. **118**: 61-66.
- Afriza, Z., G. Diansyah dan A. I. S. Purwiyanto. 2015. Pengaruh pemberian pupuk urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) dengan dosis berbeda terhadap kepadatan sel dan laju pertumbuhan *Porphyridium* sp. pada kultur fitoplankton skala laboratorium. *Maspari Journal*. **7(2)**: 33-40.
- Ali, M. 2013. Degradasi Nitrat Limbah Domestik dengan Alga Hijau (*Chlorella* sp). UPN Veteran Jatim. Surabaya. 49 hlm.
- Amanatin, D. R dan T. Nurhidayati. 2013. Pengaruh kombinasi konsentrasi media ekstrak taugé (MET) dengan pupuk urea terhadap kadar protein *Spirulina* sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **2(2)**: 182-185.
- Andreas, S. Q., Suminto dan D. Chilmawati. 2014. Studi pola pertumbuhan dan kualitas sel *Chlorella* sp. yang dihasilkan melalui teknologi pencucian benih sel. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3(4)**: 273-280.
- Ashraf, M., M. Javaid, T. Rashid, M. Ayub, A. Zafar, S. Ali, and M. Naeem. 2011. Replacement of expensive pure nutritive media with low cost commercial fertilizers for mass culture of freshwater algae, *Chlorella vulgaris*. *International Journal Agriculture & Biology*. **13**: 484-490.
- Astuti, J. T dan L. Sriwuryandari. 2010. Biodiesel dari mikroalga: perbanyak biomassa melalui penambahan nutrisi secara bertahap. *Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. **12(3)**:160-168.
- Becker, E. W. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press. New York. 291 pp.
- Blair, M. F., B. Kokabian, and V. G. Gude. 2013. Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. **2**: 665-674.
- Blinova, L., A. Bartosova, and K. Gerulova. 2015. Cultivation of microalgae (*Chlorella vulgaris*) for biodiesel production. Research Papers. Faculty of Materials Science and Technology in Trnava Slovak University of Technology in Bratislava. **23(36)**: 87-95.
- Brigden, K and R. Stringer. 2000. Ammonia and urea production: Incidents of ammonia release from the profertil urea and ammonia facility, Bahia Blanca, Argentina. Greenpeace Research Laboratories. UK. 13 pp.
- Boyd, C. E. 1988. *Water Quality Warmwater Fish Pond*. Fourth Printing. Auburn University. Alabama. 359 pp.
- Burdass, D. 2011. *Microbes on the Menu*. Aston University. Birmingham. 31 pp.

- Chalid, S. Y., S. Amini, dan S. D Lestari. 2010. Kultivasi *Chlorella* sp. pada media tumbuh yang diperkaya dengan pupuk anorganik dan *soil extract*. *Jurnal Valensi*. **1**(6): 298-304.
- Chilmawati, D dan Suminto. 2008. Penggunaan media kultur yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. *Jurnal Saintek Perikanan*. **4**(1): 42-49.
- Coutteau, P. 1996. Microalgae, In P. Lavens and P. Sorgeloos (Eds.), Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical paper. Roma. p 7-47.
- Creswell, L. 2010. Phytoplankton Culture for Aquaculture Feed. SRAC Publication. United States. 13 pp.
- Ebeling, J. M., M. B. Timmons, and J.J. Bisogni. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia–nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*. **257**: 346-358.
- Ekawati, A. W. 2005. Budidaya Makanan Alami. Diktat Kuliah. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 98 hlm.
- Elfarisna, R. T. Puspitasari, Y. Suryati, dan N. T. Pradana. 2014. Isolasi mikroba yang dapat menghilangkan bau pada pupuk organik air limbah cucian beras. Abstrak. *Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi*. **15**(2): 91-96.
- Endar, V., Sarjito, J. Hutabarat, dan B. Prayitno. 2012. Effect of using guillard and walne technical culture media on growth and fatty acid profiles of microalgae *Skeletonema* sp. in mass culture. *Journal of Coastal Development*. **16**(1): 50-56.
- Eyster, H. C. 1978. Brief note nutrient concentration requirements for *Chlorella sorokiniana*. *The Ohio Journal of Science*. **78**(2): 79-81.
- Hafizhah, R., R. Hariyati, dan Murningsih. 2012. Pengaruh pemberian kompos sampah rumah tangga terhadap pertumbuhan *Chlorella vulgaris* pada skala laboratorium. *Bioma*. **14**(2): 73-77.
- Hariati, A. M., Maftuch, Soelistyowati, dan A. W. Ekawati. 2012. Rancangan Percobaan Penelitian Perikanan. Modul Pembelajaran. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. 76 hlm.
- Hariyati, R. 2008. Pertumbuhan dan biomassa *Spirulina* sp. dalam skala laboratoris. *Bioma*. **10**(1): 19-22.
- Janssen, M., T. C Kujipers, B. Veldhoen, M. B Ternbach, J. Tramper, L. R. Mur, and R. H. Wijffels. 1999. Specific growth rate of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* under medium duration light/dark cycles. 13-87s. *Journal Biotechnol*. **70**: 323-333.
- Kawaroe, M., T. Prartono, A. Sunuddin, D. W. Sari, dan D. Augustine. 2010. Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar. IPB Press. Bogor. 148 hlm.

- Khairuddin dan Sahabuddin. 2013. Komposisi nutrisi dan pertumbuhan mikroalga *Chaetoceros gracilis* yang dikultur pada berbagai konsentrasi karbondioksida. *Jurnal Galung Tropika*. **2**(2): 106-115.
- Komarawidjaja, W. 2012. Kajian pemanfaatan limbah padat industri pengolahan rumput laut sebagai media kultur mikroalga *Chlorella* sp. *Jurnal Teknik Lingkungan*. **12**(3): 241-250.
- Kuncoro, E. B. 2004. *Akuarium Laut*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 217 hlm.
- Kuo, C. M., T. Y. Chen, T. H. Lin, C. Y. Kao, J. T. Lai, J. S. Chang, and C. S. Lin. 2015. Cultivation of *Chlorella* sp. GD using piggery wastewater for biomass and lipid production. *Bioresource Technology*. **194**: 326-333.
- Latala, A. 1991. Effects of salinity, temperature and light on the growth and morphology of green planktonic algae. *Oceanologia*. **31**: 119-138.
- Lau, P. S., N. F. Y. Tam and Y. S. Wong. 1994. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. Abstrak. *Environmental Pollution*. **89**(1): 59-66.
- Lestari, A. P., Haeruddin, dan C. Ain. 2014. Karakteristik dan toksisitas limbah cair dari kegiatan perikanan di Pasar Kobong, Semarang terhadap *Chlorella* sp. *Diponegoro Journal of Maquares*. **3**(4): 201-207.
- Ley, B. M. 2003. *Chlorella the Ultimate Green Food*. BL Publication. USA. 56 pp.
- Lu, Q., W. Zhou, M. Min, X. Ma, C. Chandra, Y. T. T. Doan, Y. Ma, H. Zheng, S. Cheng, R. Griffith, P. Chen, C. Chen, P. E. Urriola, G. C. Shurson, H. R. Gislerød, and R. Ruan. 2015. Growing *Chlorella* sp. on meat processing wastewater for nutrient removal and biomass production. *Bioresource Technology*. **198**: 189-197.
- Makarevičienė, V., V. Andrulevičiūtė, V. Skorupskaitė and J. Kasperovičienė. 2011. Cultivation of microalgae *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. as a potential biofuel feedstock. *Environmental Research, Engineering and Management*. **3**(57): 21-27.
- Muhaemin, M., F. Practica, S. D. Rosi, dan T. Agustina. 2014. Starvasi nitrogen dan pengaruhnya terhadap biomassa dan protein total *Nannochloropsis* sp. *Maspari Journal*. **6**(2): 98-103.
- Mulyanto, A. 2010. Mikroalga (*Chlorella* sp.) sebagai agensia penambat gas karbondioksida. *Jurnal Hidrosfir Indonesia*. **5**(2): 13-23.
- Munir, N., A. Imtiaz, N. Sharif, and S. Nz. 2015. Optimization of growth conditions of different algal strains and determination of their lipid contents. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. **25**(2): 546-553.
- Potter, N. N and J. H. Hotchkiss. 1995. *Fermentation and Other Uses of Microorganisms*. Springer. US. 14 pp.
- Puspitasari, R. T. 2003. Fermentasi alami limbah cucian air beras sebagai pupuk hayati anggrek *Dendrobium* sp. pada fase vegetatif. Prosiding Simposium Nasional dan Kongres PERAGI VIII. Bandar Lampung. 30 hlm.

- Puspitasari, R. T., Elfarisna, Y. Suryati, and N. T. Pradana. 2015. Liquid organic fertilizer used microbial from local inoculant. International Conference and Workshop on Basic Applied Sciences. Surabaya. 19 pp.
- Razzak, S. A., M. M. Hossain, R. A. Lucky, and A. S. Bassi. 2013. Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing- a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **27**: 622-553.
- Redfield, A. C, B. H. Ketchum and F. A. Richards. 1963. The Influence of Organism on the Composition of Sea Water, *In* M.N. Hill (Ed), Global Coastal Ocean. Harvard University Press. p 26-77.
- Rejekiningrum, P. 2013. Model optimasi surplus beras untuk menentukan tingkat ketahanan pangan nasional. Prosiding Seminar Nasional Matematika, Sains, dan Teknologi. **4**: 62-75.
- Reynolds, C. S. 2006. The Ecology of Phytoplankton. Cambridge University Press. Newyork. 152 pp.
- Ru'yatin, I. S. Rohyani, dan L. Ali. 2015. Pertumbuhan *Tetraselmis* dan *Nannochloropsis* pada skala laboratorium. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. **1**(2): 296-299.
- Salim, M. A. 2015. Kadar lipida *Scenedesmus* sp. pada kondisi mikсотrof dan penambahan sumber karbon dari hidrolisat pati singkong. *Jurnal UIN Sunan Gunung Djati*. **9**(2): 222-243.
- Sananurak, C., T. Lirdwitayaprasit, and P. Menasveta. 2009. Development of a closed-recirculating, continuous culture system for microalgae (*Tetraselmis suecica*) and rotifer (*Brachionus plicatilis*) production. *ScienceAsia*. **35**: 118-124.
- Santi, S. S. 2008. Kajian pemanfaatan limbah nilam untuk pupuk cair organik dengan proses fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*. **2**(2): 170-174.
- Sarkar, D. and K. Shimizu. 2015. An overview on biofuel and biochemical production by photosynthetic microorganisms with understanding of the metabolism and by metabolic engineering together with efficient cultivation and downstream processing. *Bioresources and Bioprocessing a Springer Open Journal*. **2**: 17.
- Shah, M. M. R., M. J. Alam and M. Y. Mia. 2003. *Chlorella* sp.: isolation, pure culture and small scale culture in brackish water. *Journal Science Industrial Resource*. **38**(4): 165-174.
- Sirait, J. 2008. Luas daun, kandungan klorofil dan laju pertumbuhan rumput pada naungan dan pemupukan yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. **13**(2): 109-116.
- Standar Nasional Indonesia. 2004. Air dan Air Limbah Bagian 11: Cara Uji Derajat Keasaman (pH) dengan Menggunakan pH Meter. Badan Standarisasi Nasional. 7 hlm.
- _____. 2010. Pupuk Urea. Badan Standarisasi Nasional. 15 hlm.

- Sopiah, N., A. Mulyanto, dan S. Sehabudin. 2012. Pengaruh kelimpahan sel mikroalgae air tawar (*Chlorella* sp.) terhadap penambatan karbondioksida. *Jurnal Teknik Lingkungan*. **14**(1): 1-6.
- Sreesai, S and P. Pakpain. 2007. Nutrient recycling by *Chlorella vulgaris* from septage effluent on the Bangkok City, Thailand. *ScienceAsia*. **33**: 293-299.
- Suantika, G dan D. Hendrawandi. 2009. Efektivitas teknik kultur menggunakan sistem kultur statis, semi-kontinyu, dan kontinyu terhadap produktivitas dan kualitas kultur *Spirulina* sp. *Jurnal Matematika dan Sains*. **14**(2): 41-50.
- Suhaemi, Z. 2011. Metode Penelitian dan Rancangan Percobaan. Diklat. Fakultas Pertanian. Universitas Tamansiswa. Padang. 65 hlm.
- Telelepta, L. D. 2011. Pertumbuhan kultur *Chlorella* spp skala laboratorium pada beberapa tingkat kepadatan inokulum. Prosiding Seminar Nasional: Pengembangan Pulau-Pulau Kecil. Universitas Pattimura. Ambon. Hlm. 198-202.
- Utami, N. F., M. S. Yuniarti, dan K. Haetami. 2012. Pertumbuhan *Chlorella* sp. yang dikultur pada perioditas cahaya yang berbeda. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3): 237-244.
- Utomo, N. B. P., Winarti, dan A. Erlina. 2005. Pertumbuhan *Spirulina platensis* yang dikultur dengan pupuk inorganik (Urea, TSP dan ZA) dan kotoran ayam. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **4**(1): 41-48.
- Wahyudi, P. 1999. Chlorella: Mikroalgae sumber protein sel tunggal. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. **1**(5): 35-41.
- Widyaningrum, N. F., B. Susilo, dan M. B. Hermanto. 2013. Studi eksperimental fotobioreaktor photovoltaic untuk produksi mikroalga (*Nannochloropsis oculata*). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. **1**(2): 30-38.
- Wulandari, C. G. M, S. Muhartini dan S. Trisnowati. 2012. Pengaruh air cucian beras merah dan beras putih terhadap pertumbuhan dan hasil selada (*Lactuca sativa* L.). *Vegetalika*. **1**(2): 24-35.
- Yulita, E. 2014. Pemanfaatan limbah cair industri karet remah sebagai media pertumbuhan *Chlorella vulgaris* untuk pakan alami ikan. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. **25**(1): 1-11.
- Zhao, B. and Y. Su. 2014. Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **31**: 121-132.

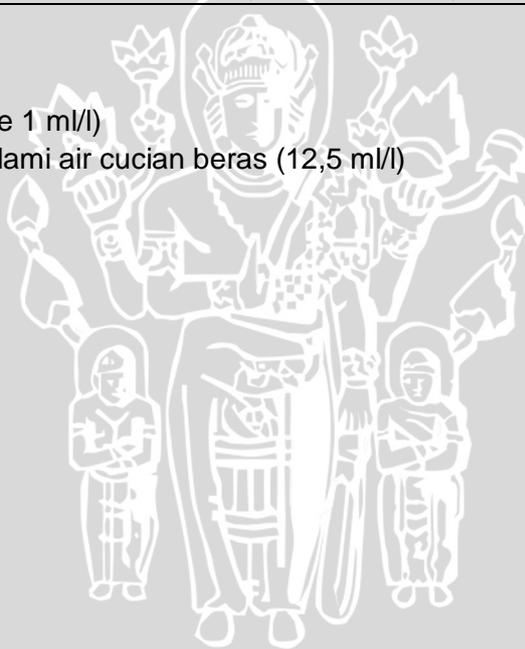
LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Penelitian Pendahuluan Kepadatan (*C. vulgaris* x 10⁴ sel/ml)

Perlakuan	Waktu Kultur (hari)			
	0	1	2	3
K1	50	133,3	166,7	237,5
K2	50	116,7	128,3	295,8
A1	50	141,7	95	70,83
A2	50	125	70,83	62,50
B1	50	115	41,67	25,70
B2	50	123	83,30	54,17
C1	50	179,2	70,83	66,70
C2	50	169,2	41,67	33,30

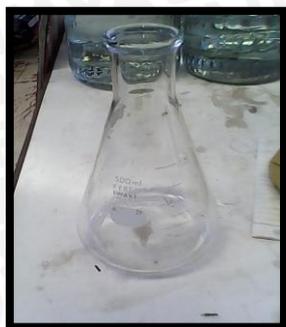
Keterangan:

- a. K = Kontrol (walne 1 ml/l)
- b. A = Fermentasi alami air cucian beras (12,5 ml/l)
- c. B = 25 ml/l
- d. C = 37,5 ml/l
- e. 1-2 = Ulangan



Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian

A. Alat



Erlenmeyer



Gelas Ukur



Mikroskop



Haemocytometer



Handtally Counter



Spektrofotometer



Hot Plate



Pipet Tetes



Toples



Bola Hisap



Pipet Volume



Aerator

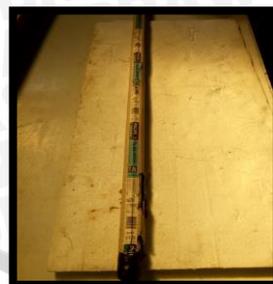
Lampiran 2. Lanjutan



pH Meter



DO Meter



Lampu TL



Oven



Autoklaf



Kulkas



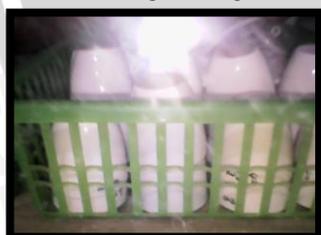
Timbangan Digital



Vacuum pump



Desikator



Cawan Porselen



Washing Bottle



Botol Film

Lampiran 2. Lanjutan

B. Bahan



Inokulan *C. vulgaris*



Kaporit



Na Thiosulfat



Beras Putih (IR 64)



Alumunium Foil



Alkohol 70 %



Akuades



Asam Fenol Disulfonik



NH₄OH



SnCl₂



Kertas Saring GF/C



Urea

Lampiran 2. Lanjutan



Pupuk Walne



Vitamin



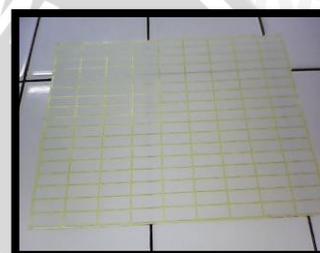
Tisu



Kapas



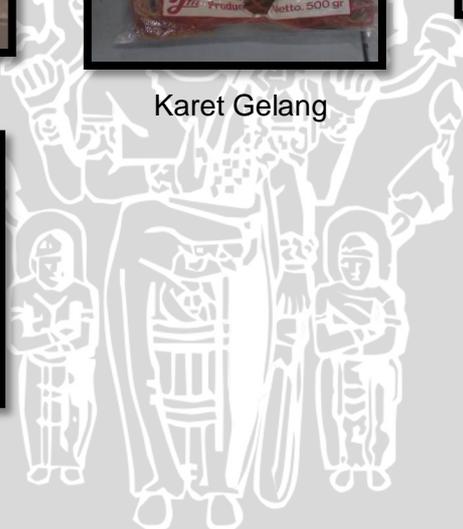
Karet Gelang



Kertas Label



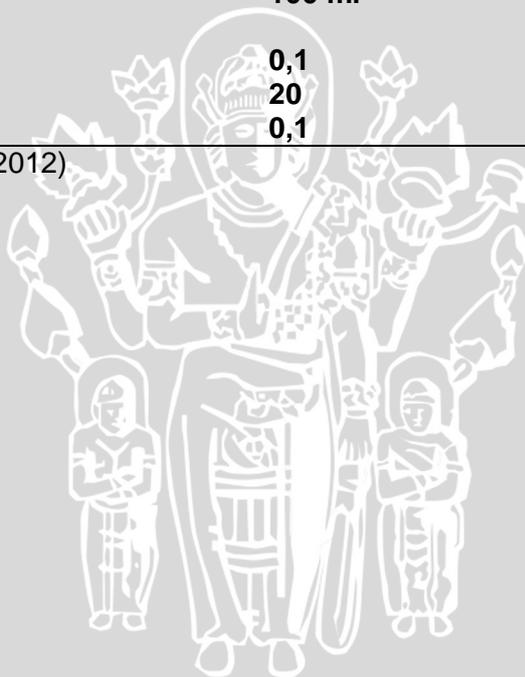
Plastik Bening



Lampiran 3. Komposisi Pupuk Walne

Kompisisi	Jumlah (gr)
Nutrient component	
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	20
NaNO_3	100
Na_2EDTA	5
Na_2SiO_3	40
$\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,36
FeCl_3	1,3
H_3BO_3	10
Akuades	1000 ml
Trace metal element	
ZnCl_2	21
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2
$(\text{NH}_4)_8\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,9
$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	20
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3,15
Akuades	100 ml
Vitamin	
Vitamin B12	0,1
Thiamin	20
Biotin	0,1

Sumber: Endar *et al.* (2012)



Lampiran 4. Perhitungan Kebutuhan Urea

Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya bahwa kandungan air cucian beras yang difermentasi selama 2 minggu yaitu:

-TAN ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) = 25,66 mg/l

-Nitrat (NO_3) = 24,96 mg/l

-Fosfat (PO_4) = 76,92 mg/l

Berikut ini adalah perhitungan kadar N dan P pada air cucian beras yang difermentasi:

➤ Kadar nitrogen dalam air cucian beras yang difermentasi selama 2 minggu adalah sebagai berikut:

- N dalam NH_3 (Ar N= 14, Ar H=1)

$$\begin{aligned} N &= \frac{\text{Ar N}}{\text{Mr NH}_3} \times \text{Jumlah NH}_3 \\ &= \frac{14}{17} \times 25,66 = 21,13 \text{ mg/l} \end{aligned}$$

- N dalam NO_3 (Ar N= 14, Ar O= 16)

$$\begin{aligned} N &= \frac{\text{Ar N}}{\text{Mr NO}_3} \times \text{Jumlah NO}_3 \\ &= \frac{14}{62} \times 24,96 = 5,64 \text{ mg/l} \end{aligned}$$

Jadi total nitrogen dalam air cucian beras yang difermentasi selama 2 minggu yaitu $21,13 + 5,64 = 26,77$ mg/l

➤ Kadar P (Phosporus) dalam air cucian beras yang difermentasi selama 2 minggu adalah sebagai berikut:

- P dalam PO_4 (Ar P= 31, Ar O= 16)

$$\begin{aligned} P &= \frac{\text{Ar P}}{\text{Mr PO}_4} \times \text{Jumlah PO}_4 \\ &= \frac{31}{95} \times 76,92 = 25,1 \text{ mg/l} \end{aligned}$$

Lampiran 4. Lanjutan

Berdasarkan hasil perhitungan yang dilakukan sebelumnya didapatkan hasil jika N= 26,77 mg/l dan P= 25,1 mg/l (N:P= 1,07:1). Adapun N:P rasio optimum untuk mikroalga adalah 16:1 (Redfield *et al.*, 1963). Oleh karena itu diperlukan penambahan unsur N dari luar, dalam hal ini ditambahkan dengan urea (kadar nitrogen 46 %). Adapun perhitungannya adalah sebagai berikut:

- N dalam air cucian beras yang difermentasi yaitu 26,77 mg/l, P sebesar 25,1 mg/l. Agar unsur N 16 kali dari P, maka $P(25,1 \text{ mg/l}) \times 16 = 401,6 \text{ mg/l}$. Hal ini berarti N yang diinginkan dalam larutan fermentasi air cucian beras yang ditambahkan urea adalah 401,6 mg/l, sedangkan P yaitu 25,1 mg/l dengan N:P rasio sebesar 16:1.

- Adapun kebutuhan N yang harus ditambahkan adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} N &= 401,6 \text{ mg/l} - 26,77 \text{ mg/l} \\ &= 374,83 \text{ mg/l N} \end{aligned}$$

- Adapun kebutuhan urea (kadar N 46 %) adalah sebagai berikut:

$$46 \% \times b = 374,83 \text{ mg/l}$$

$$\frac{46}{100} \times b = 374,83 \text{ mg/l}$$

$$46 b = 374,83 \times 100$$

$$b = \frac{37483}{46}$$

$$= 814,85 \text{ mg/l atau } 0,82 \text{ gr/l}$$

Jadi dalam 1 liter larutan fermentasi air cucian beras yang difermentasi selama 2 minggu harus ditambahkan 0,82 gr/l urea.

Lampiran 4. Lanjutan

- Perhitungan N dan P dalam 35, 45, 55 ml/l fermentasi air cucian beras+urea

a. 35 ml/l

$$N = \frac{35}{1000} \times 401,6 = 14,06 \text{ mg/l N}$$

$$P = \frac{35}{1000} \times 25,1 = 0,88 \text{ mg/l P}$$

b. 45 ml/l

$$N = \frac{45}{1000} \times 401,6 = 18,07 \text{ mg/l N}$$

$$P = \frac{45}{1000} \times 25,1 = 1,13 \text{ mg/l P}$$

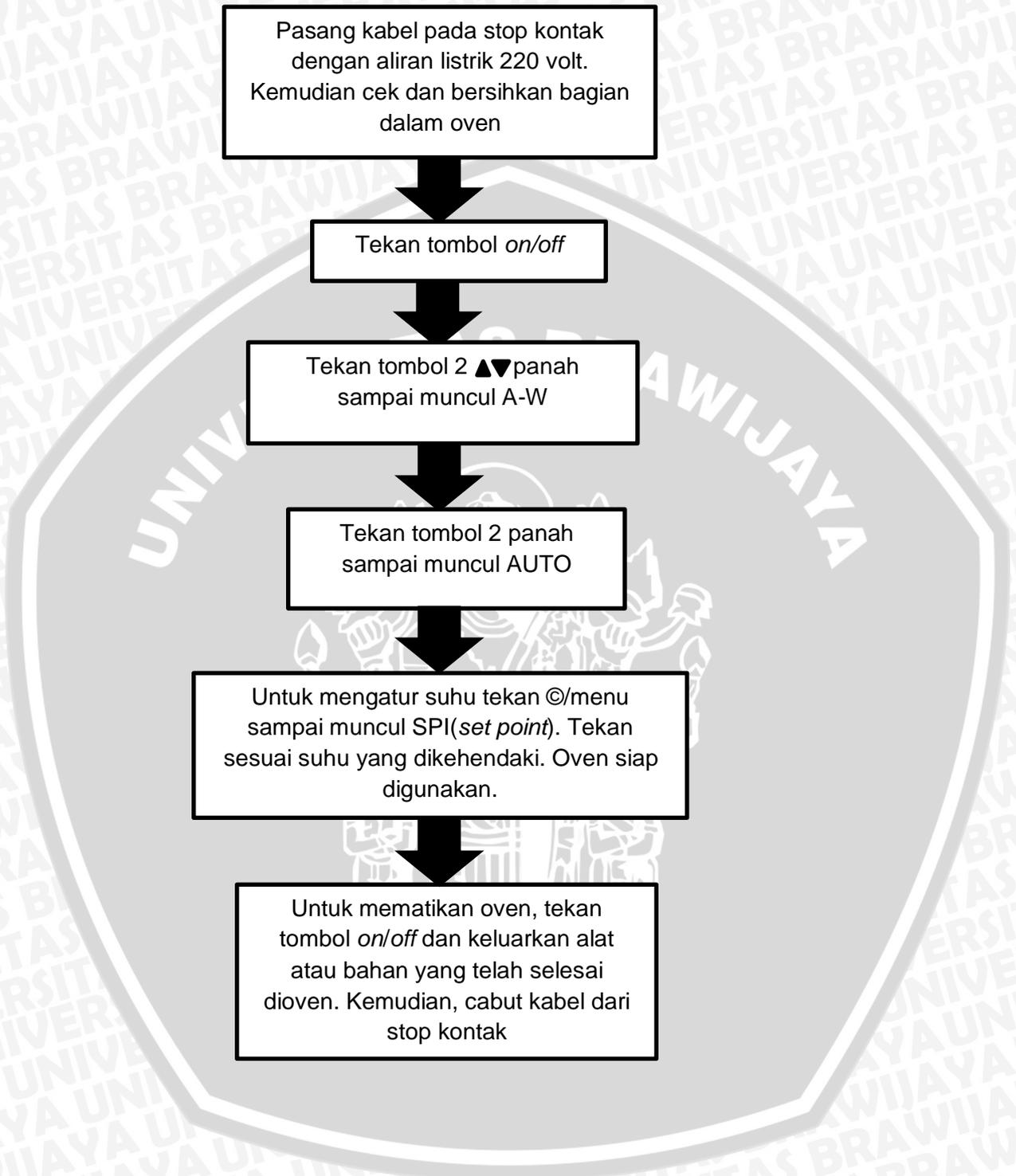
c. 55 ml/l

$$N = \frac{55}{1000} \times 401,6 = 22,09 \text{ mg/l N}$$

$$P = \frac{55}{1000} \times 25,1 = 1,38 \text{ mg/l P}$$



Lampiran 5. Cara Kerja Oven



Lampiran 6. Cara Kerja Autoklaf

Periksa banyaknya akuades dalam autoklaf. Akuades harus berada pada batas yang ditentukan. Apabila jumlah akuades kurang dari batas, maka tambahkan akuades hingga elemen pemanas terendam

Masukkan peralatan atau bahan yang akan disterilisasi ke dalam keranjang dan masukkan ke dalam autoklaf

Tutup autoklaf dengan rapat dan kencangkan baut secara diagonal dan bersamaan serta memposisikan klep dalam posisi tegak

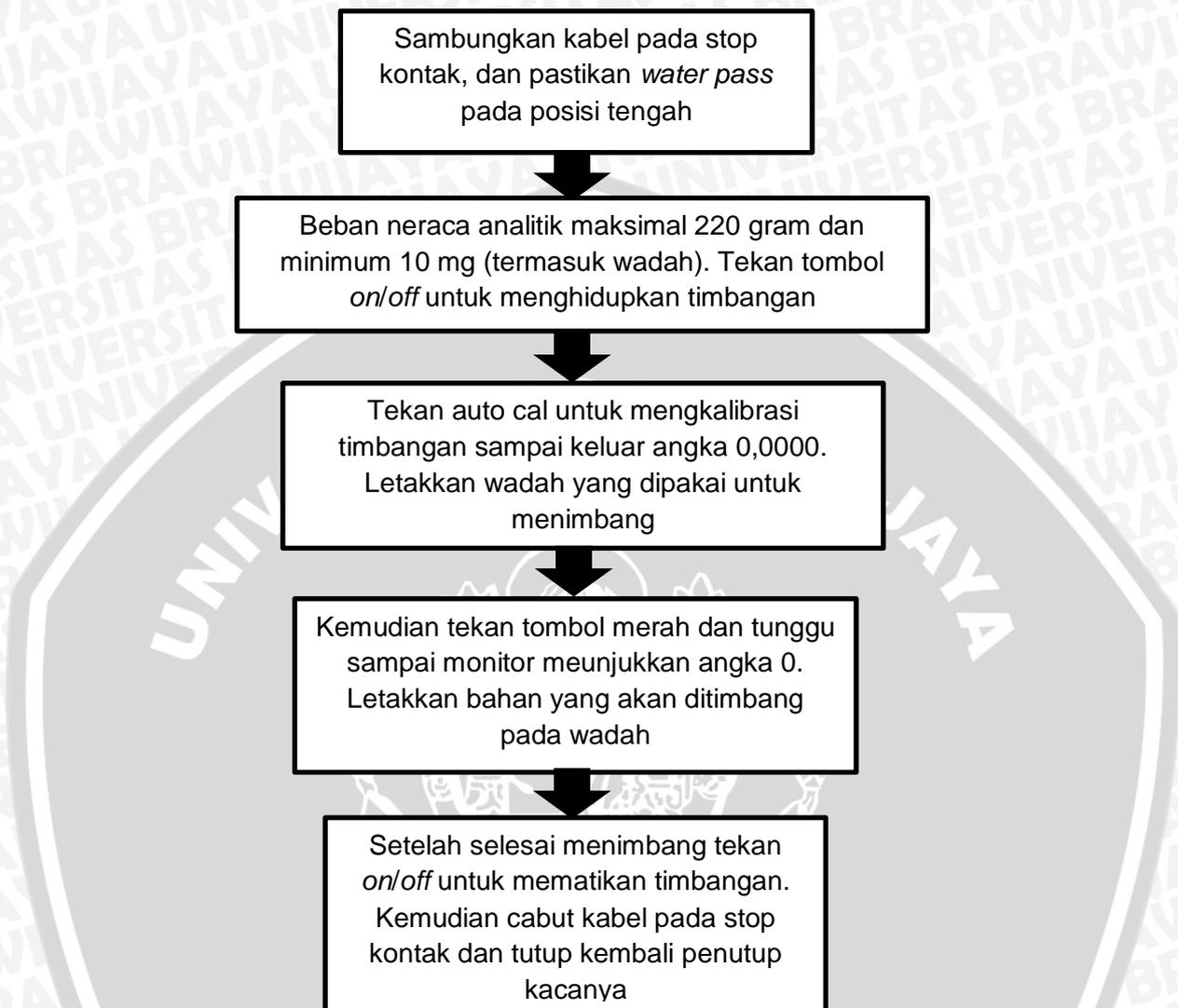
Tancapkan kabel ke stop kontak, dan kemudian tekan *on* untuk menyalakan autoklaf dan putar panel temperatur pada posisi maksimal

Biarkan posisi klep dalam keadaan terbuka sampai mengeluarkan uap air. Setelah uap air keluar tutup klep ke arah samping dan tunggu hingga suhu 121°C

Setelah mencapai suhu 121°C, temperatur diturunkan hingga lampu pada *sterilizing* berwarna kuning, kemudian timer diatur pada posisi 15 menit

Sterilisasi dapat diakhiri setelah alarm berbunyi, kemudian temperatur diturunkan hingga posisi minimal. Kemudian matikan dengan menekan *off*. Klep dibuka perlahan-lahan hingga jarum menunjukkan pada posisi angka 0 dan tutup autoklaf dapat dibuka

Lampiran 7. Cara Kerja Timbangan Analitik



Lampiran 8. Data Kepadatan *C. vulgaris* Selama Kultur ($\times 10^4$ sel/ml)

Perlakuan	Ulangan	Waktu (Hari)									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	
A	1	50	59,125	63,25	84,625	208,25	257,5	160	143,25	48,25	
	2	50	57,5	67,5	73,25	80,875	267,5	73,375	48,375	21,62	
	3	50	54,125	57,5	71,75	121,25	186,75	128,375	99,125	47,5	
B	1	50	52,5	64,25	79,25	117,5	202,375	107,125	90	43,375	
	2	50	51,25	54,25	60,375	123,25	173,375	80	68,375	27,5	
	3	50	67,5	73,375	78,375	114,125	187,5	109,125	73,375	33,125	
C	1	50	51,625	84,125	97,125	93,25	214,25	65	23,25	17,75	
	2	50	59,625	82,125	125	92,5	170	95,875	85,75	49,125	
	3	50	51,625	60	75,75	137,5	290	48,375	37,25	23,75	
D	1	50	73,375	81,625	82,5	216,25	366,25	100,75	53,375	49,25	
	2	50	77,875	80	80,875	106,75	342,5	115	49,125	48,37	
	3	50	51,25	57,5	64,125	116,625	297,5	70,375	46,625	30	

Lampiran 9. Perhitungan Statistik Laju Pertumbuhan Spesifik *C. vulgaris*

Perlakuan(n)	Ulangan(r)			Total($\sum X$)	Rata-rata	Total ² (Y_i^2)
	1	2	3			
A	0,32780	0,33542	0,26355	0,92677	0,30892	0,85890
B	0,27962	0,24869	0,26435	0,79266	0,26422	0,26422
C	0,29102	0,24476	0,35157	0,88735	0,29578	0,78739
D	0,39826	0,38485	0,35668	1,13979	0,37993	1,29911
Total				3,74656		3,57371

Perlakuan	Ulangan ²			Total
	1	2	3	
A	0,10745	0,11251	0,06946	0,28942
B	0,07819	0,06185	0,06988	0,20991
C	0,08470	0,05991	0,12360	0,26820
D	0,15861	0,14811	0,12722	0,43394
Total(Y_{ij}^2)				1,20147

a. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(\sum X)^2}{n \times r} \\
 &= \frac{(3,74656)^2}{(4 \times 3)} \\
 &= 1,16973
 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned}
 JKT &= Y_{ij}^2 - FK \\
 &= 1,20147 - 1,16973 \\
 &= 0,03174
 \end{aligned}$$

c. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$\begin{aligned}
 JKP &= \frac{Y_i^2 - FK}{r} \\
 &= \frac{3,57371 - 1,16973}{3} \\
 &= 0,02151
 \end{aligned}$$

d. Jumlah Kuadrat Acak

$$\begin{aligned}
 JKA &= JKT - JKP \\
 &= 0,03174 - 0,02151 \\
 &= 0,01023
 \end{aligned}$$

e. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$\begin{aligned}
 KTP &= \frac{JKP}{n-1} \\
 &= \frac{0,02151}{4-1} \\
 &= 0,00717
 \end{aligned}$$

f. Kuadrat Tengah Acak (KTA)

$$\begin{aligned}
 KTA &= \frac{JKA}{n(r-1)} \\
 &= \frac{0,01023}{4(3-1)} \\
 &= 0,00128
 \end{aligned}$$

g. F hitung

$$\begin{aligned}
 &= \frac{KTP}{KTA} \\
 &= 5,60408
 \end{aligned}$$

Lampiran 9. Lanjutan

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	DB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	3	0,02151	0,00717	5,6*	4,07	7,59
Acak	8	0,01023	0,00128			
Total	11					

Keterangan: (*) = Berbeda nyata

Uji Beda Nyata Terkecil

$$\begin{aligned}
 \text{a. SED} &= \sqrt{\frac{2 \times K \times T \times A}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,00128}{3}} \\
 &= 0,029
 \end{aligned}$$

$$\text{b. Tabel t 5 \%} = 2,306; \text{ Tabel t 1 \%} = 3,355$$

$$\text{BNT 5 \%} = \text{Tabel t 5 \%} \times \text{SED}$$

$$= 2,306 \times 0,029$$

$$= 0,067$$

$$\text{BNT 1 \%} = \text{Tabel t 1 \%} \times \text{SED}$$

$$= 3,355 \times 0,029$$

$$= 0,098$$

Perlakuan	B	C	A	D	Notasi
B	0,264	0,296	0,309	0,380	a
C	0,264	0	0,309	0,380	a
A	0,264	0,032 ^{ns}	0	0,380	a
D	0,264	0,045 ^{ns}	0,013 ^{ns}	0	b
	0,380	0,116 ^{**}	0,084 [*]	0,071 [*]	b

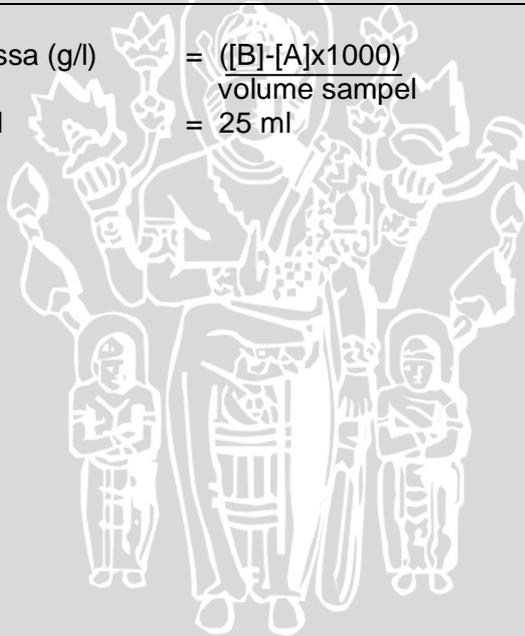
Keterangan: ns = tidak signifikan
 (*) = berbeda nyata
 (**) = sangat berbeda nyata

Lampiran 10. Data Biomassa Kering (g/l)

Perlakuan	Berat Kertas Saring Awal [A]	Berat Kertas Saring+C. vulgaris[B]	Selisih	Biomassa (g/l)
A1	0,33	0,3308	0,0008	0,032
A2	0,3237	0,3244	0,0007	0,028
A3	0,3281	0,329	0,0009	0,036
B1	0,3265	0,3275	0,001	0,04
B2	0,3245	0,3254	0,0009	0,036
B3	0,3263	0,3273	0,001	0,04
C1	0,3214	0,3223	0,0009	0,036
C2	0,327	0,3281	0,0011	0,044
C3	0,322	0,3233	0,0013	0,052
D1	0,3229	0,3243	0,0014	0,056
D2	0,322	0,3233	0,0013	0,052
D3	0,3262	0,3273	0,0011	0,044

Keterangan:

- Rumus: Biomassa (g/l) = $\frac{([B]-[A] \times 1000)}{\text{volume sampel}}$
- Volume sampel = 25 ml



Lampiran 11. Perhitungan Statistik Biomassa *C. vulgaris*

Perlakuan(n)	Ulangan(r)			Total($\sum X$)	Rata-rata	Total ² (Yi ²)
	1	2	3			
A	0,032	0,028	0,036	0,096	0,032	0,009216
B	0,04	0,036	0,04	0,116	0,039	0,013456
C	0,036	0,044	0,052	0,132	0,044	0,017424
D	0,056	0,052	0,044	0,152	0,051	0,023104
Total				0,496		0,0632

Perlakuan	Ulangan ²			Total
	1	2	3	
A	0,001024	0,000784	0,001296	0,003104
B	0,001600	0,001296	0,001600	0,004496
C	0,001296	0,001936	0,002704	0,005936
D	0,003136	0,002704	0,001936	0,007776
Total(Yij ²)				0,021312

a. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{(\sum X)^2}{n \times r} \\ &= \frac{(0,496)^2}{(4 \times 3)} \\ &= 0,0205013 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned} \text{JKT} &= Y_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= 0,021312 - 0,0205013 \\ &= 0,000810667 \end{aligned}$$

c. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$\begin{aligned} \text{JKP} &= Y_i^2 - \text{FK} \\ &= \frac{0,0632 - 0,0205013}{3} \\ &= 0,000565333 \end{aligned}$$

d. Jumlah Kuadrat Acak

$$\begin{aligned} \text{JKA} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 0,000245333 \end{aligned}$$

e. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$\begin{aligned} \text{KTP} &= \frac{\text{JKP}}{n-1} \\ &= \frac{0,000565333}{4-1} \\ &= 0,000188444 \end{aligned}$$

f. Kuadrat Tengah Acak (KTA)

$$\begin{aligned} \text{KTA} &= \frac{\text{JKA}}{n(r-1)} \\ &= \frac{0,000245333}{3,06667E-05} \\ &= 6,144928 \end{aligned}$$

g. F hitung

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} \\ &= 6,144928 \end{aligned}$$

Lampiran 11. Lanjutan

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	DB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	3	0,000565333	0,000188444	6,14*	4,07	7,59
Acak	8	0,000245333	3,06667E-05			
Total	11	0,000810667				

Keterangan: (*) = Berbeda nyata

Uji Beda Nyata Terkecil

$$\begin{aligned}
 \text{a. SED} &= \sqrt{\frac{2 \times K \times T \times A}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 3,06667E - 05}{3}} \\
 &= 0,004522
 \end{aligned}$$

$$\text{b. Tabel t 5 \%} = 2,306; \text{ Tabel t 1 \%} = 3,355$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5 \%} &= \text{Tabel t 5 \%} \times \text{SED} \\
 &= 2,306 \times 0,004522 \\
 &= 0,01
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1 \%} &= \text{Tabel t 1 \%} \times \text{SED} \\
 &= 3,355 \times 0,004522 \\
 &= 0,015
 \end{aligned}$$

Perlakuan					Notasi	
	A	B	C	D		
	0,032	0,039	0,044	0,051		
A	0,032	-			a	
B	0,039	0,007 ^{ns}	-		a	
C	0,044	0,012*	0,005 ^{ns}	-	ab	
D	0,051	0,019**	0,012*	0,007 ^{ns}	-	b

Keterangan: ns = tidak signifikan
 (*) = berbeda nyata
 (**) = sangat berbeda nyata

Lampiran 12. Data Nitrat (mg/l) Selama Penelitian

Perlakuan	Hari Ke 0	Hari Ke 3	Hari Ke 5
A1	3,38	2,91	2,36
A2	3,36	2,88	2,35
A3	3,34	2,87	2,31
B1	3,24	3,18	2,14
B2	3,28	3,21	2,17
B3	3,22	3,17	2,11
C1	3,01	2,84	2,26
C2	3,04	2,86	2,28
C3	3,03	2,85	2,25
D1	3,11	2,77	1,89
D2	3,14	2,79	1,88
D3	3,1	2,75	1,85

Lampiran 13. Data Fosfat (mg/l) Selama Penelitian

Perlakuan	Hari Ke 0	Hari Ke 3	Hari Ke 5
A1	1,33	1,02	0,84
A2	1,31	0,97	0,82
A3	1,34	1,03	0,85
B1	1,44	0,89	0,64
B2	1,45	0,91	0,67
B3	1,42	0,87	0,62
C1	1,27	1,07	0,53
C2	1,25	1,05	0,51
C3	1,28	1,08	0,54
D1	1,02	0,85	0,74
D2	1,04	0,88	0,75
D3	0,98	0,82	0,72

Lampiran 14. Data pH Selama Penelitian

Perlakuan	Waktu (Hari)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A1	8,54	8,74	8,77	8,61	8,72	8,65	8,71	8,82
A2	8,56	8,71	8,79	8,65	8,76	8,66	8,75	8,78
A3	8,48	8,79	8,82	8,71	8,69	8,71	8,76	8,85
B1	8,49	8,72	8,89	8,81	8,75	8,69	8,74	8,79
B2	8,51	8,81	8,85	8,79	8,71	8,72	8,77	8,81
B3	8,55	8,76	8,87	8,75	8,79	8,74	8,72	8,76
C1	8,5	8,67	8,81	8,78	8,71	8,75	8,75	8,77
C2	8,57	8,72	8,83	8,74	8,65	8,77	8,78	8,69
C3	8,55	8,75	8,87	8,82	8,67	8,79	8,81	8,65
D1	8,29	8,71	8,92	8,78	8,73	8,7	8,79	8,75
D2	8,35	8,69	8,88	8,83	8,77	8,68	8,82	8,72
D3	8,37	8,65	8,89	8,85	8,74	8,65	8,84	8,69

Lampiran 15. Data *Dissolved Oxygen* (mg/l) Selama Penelitian

Perlakuan	Waktu (Hari)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A1	5,62	5,72	5,64	6	5,87	5,99	5,77	5,74
A2	5,59	5,66	5,67	5,95	5,85	5,89	5,78	5,75
A3	5,65	5,75	5,69	5,98	5,92	5,92	5,74	5,71
B1	5,46	5,49	5,8	5,96	5,93	5,91	5,81	5,65
B2	5,5	5,55	5,82	5,99	5,88	5,87	5,76	5,67
B3	5,48	5,53	5,77	5,94	5,86	5,88	5,79	5,62
C1	5,2	5,45	5,74	5,81	5,91	5,76	5,75	5,68
C2	5,23	5,48	5,76	5,88	5,87	5,8	5,82	5,69
C3	5,35	5,51	5,72	5,85	5,93	5,83	5,8	5,65
D1	6,09	5,43	5,74	5,77	5,86	5,69	5,82	5,77
D2	5,59	5,45	5,7	5,79	5,81	5,75	5,81	5,82
D3	5,55	5,48	5,66	5,74	5,84	5,71	5,84	5,81

Lampiran 16. Data Suhu (°C) Selama Penelitian

Hari		Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
1	Pagi	25,9	25,8	25,8	25,9	25,9	26	26	25,9	25,9	25,8	25,8	25,9
	Siang	27,5	27,5	27,7	27,8	27,9	27,9	28,1	28,1	28,2	28	27,9	28
2	Pagi	25,4	25,4	25,6	25,8	25,8	25,8	25,9	25,9	25,9	26	26	26
	Siang	27	27	27,2	27,4	27,3	27,3	27,1	27,3	27,3	27,4	27,4	27,5
3	Pagi	25,5	25,5	25,4	25,5	25,5	25,6	25,6	25,5	25,5	25,6	25,6	25,7
	Siang	28,8	28,8	28,9	28,9	28,8	28,8	28,7	28,7	28,8	28,8	28,8	28,9
4	Pagi	25,4	25,4	25,4	25,5	25,5	25,4	25,4	25,3	25,3	25,4	25,5	25,4
	Siang	26,5	26,5	26,6	26,7	26,7	26,8	26,9	26,9	26,9	27	27	27
5	Pagi	25,3	25,3	25,2	25,3	25,3	25,4	25,3	25,5	25,4	25,3	25,6	25,3
	Siang	28,1	28,2	28,1	28,3	28,1	28,1	28,3	28,2	28,1	28,1	28,3	28,3
6	Pagi	25,7	25,5	25,8	25,7	25,7	25,6	25,8	25,7	25,8	25,5	25,5	25,6
	Siang	27,7	27,6	27,7	27,8	27,8	27,5	27,9	27,7	27,8	27,5	27,9	27,7
7	Pagi	25,6	25,4	25,7	25,6	25,6	25,7	25,7	25,4	25,5	25,4	25,6	25,7

Lampiran 16. Lanjutan

7	Siang	27,5	27,5	27,7	27,6	27,5	27,8	27,5	27,9	27,5	27,7	27,5	27,6
	Pagi	25,4	25,3	25,6	25,5	25,4	25,5	25,4	25,6	25,2	25,5	25,4	25,6
8	Siang	27,3	27,5	27,4	27,3	27,6	27,5	27,7	27,6	27,4	27,3	27,5	27,3

