

**PENGARUH DOSIS PUPUK LIMBAH CAIR TAHU YANG BERBEDA DENGAN
PENAMBAHAN UREA TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA, DAN KLOOROFIL**

a Dunaliella sp.

**ARTIKEL SKRIPSI
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH :
EVA RIANA DEWI
NIM. 125080501111031**



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

**PENGARUH DOSIS PUPUK LIMBAH CAIR TAHU YANG BERBEDA DENGAN
PENAMBAHAN UREA TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA, DAN KLOOROFIL
a *Dunaliella* sp.**

**ARTIKEL SKRIPSI
BUDIDAYA PERAIRAN**

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

OLEH :
EVA RIANA DEWI
NIM. 125080501111031



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

ARTIKEL SKRIPSI
PENGARUH DOSIS PUPUK LIMBAH CAIR TAHU YANG BERBEDA DENGAN
PENAMBAHAN UREA TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA DAN KLOROFIL a
Dunaliella sp.

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan
 di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
 Universitas Brawijaya

OLEH :
EVA RIANA DEWI
NIM. 125080501111031

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I



(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19622825 198603 2 001

Tanggal: 1 1 AUG 2016

Dosen Pembimbing II



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

Tanggal: 1 1 AUG 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19622825 198603 2 001

Tanggal: 1 1 AUG 2016

**PENGARUH DOSIS PUPUK LIMBAH CAIR TAHU YANG BERBEDA DENGAN
PENAMBAHAN UREA TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA, DAN KLOROFIL a
Dunaliella sp.**

Eva Riana Dewi¹, Arning Wilujeng Ekawati², Muhammad Fakhri²

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk menjelaskan pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. dan untuk menentukan dosis pupuk limbah cair tahu yang terbaik untuk pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 perlakuan dan 1 kontrol dengan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L, 120 mL/L + 200 mg/L, 180 mL/L + 200 mg/L dan kontrol (walne 1 mL/L). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea berpengaruh terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. Dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea yang terbaik yaitu pada dosis pupuk limbah cair tahu antara 106-108 mL/L + urea 200 mg/L dengan laju pertumbuhan spesifik 0,778/hari, total biomassa 0,385 g/L dan klorofil a 3,481 µg/mL. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pupuk limbah cair tahu dengan penambahan urea meningkatkan pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.

Kata kunci: *Dunaliella* sp., pupuk limbah cair tahu, pertumbuhan, biomassa, klorofil a

¹) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

²) Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

**EFFECT OF DIFFERENT TOFU WASTEWATER FERTILIZERS WITH UREA
ENRICHMENT ON GROWTH, BIOMASS, AND CHLOROPHYLL a OF *Dunaliella* sp.**

Eva Riana Dewi¹, Arning Wilujeng Ekawati², Muhammad Fakhri²

Abstract

The purpose of this study was to explain the effect of different tofu wastewater with urea enrichment and to determine the best tofu wastewater treatment on growth, biomass, and chlorophyll a *Dunaliella* sp. This study used completely randomized design (CRD) by 3 treatments and 1 control with 3 replications. This study was uses tofu wastewater fertilizer 60 mL/L + urea 200 mg/L, 120 mL/L + urea 200 mg/L, 180 mL/L + urea 200 mg/L and control (walne 1 mL/L). The results showed that different tofu wastewater fertilizers were significantly effected growth, biomass, and chlorophyll a of *Dunaliella* sp. This study showed that the best treatment was in between 106 – 108 mL/L + urea 200 mg/L with specific growth rate yield 0.778/day, total biomass production 0.385 g/L and chlorophyll a 3.481 µg/mL. This study concluded that tofu wastewater fertilizer with urea enrichment can potentially increase growth rate, biomass and chlorophyll a yield of *Dunaliella* sp.

Key word : *Dunaliella* sp., tofu wastewater fertilizers, growth, biomass, chlorophyll a

¹) Student of Fisheries and Marine Science Faculty, Univercity of Brawijaya

²) Lecturer of Fisheries and Marine Science Faculty, Univercity of Brawijaya

1. PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan mikroorganisme autotrof yang memanfaatkan energi, cahaya, dan nutrisi anorganik (Janssen, 2002). Mikroalga memiliki beberapa peranan penting salah satunya sebagai bahan baku biofuel (Li *et al.*, 2008). Selain itu pemanfaatan mikroalga banyak diaplikasikan pada berbagai bidang antara lain dalam bidang akuakultur, bioteknologi farmasi, agrikultur, dan lingkungan. Pada bidang akuakultur, mikroalga digunakan sebagai pakan alami dalam tahapan awal kehidupan larva ikan atau udang (Sasmita *et al.*, 2004).

Jenis pakan alami yang sering digunakan adalah *Dunaliella* sp. karena memiliki kandungan nutrisi yang tinggi (Masithah *et al.*, 2011). Kandungan nutrisi tersebut diantaranya kadar protein 17,08%, lemak 0,003%, karbohidrat total 15,07% (Darsi *et al.*, 2012), serta *Dunaliella* sp. ini mampu menghasilkan klorofil hingga 102,29 mg/L (Agustini, 2010). Selain itu perkebangbiakan yang sangat cepat (Darsi *et al.*, 2012).

Permasalahan yang muncul dalam kultur *Dunaliella* sp. saat ini adalah mahalnya pupuk Pro Analisis (PA), sehingga diperlukan pupuk alternatif yang harganya cukup ekonomis dan sesuai dengan kebutuhan *Dunaliella* sp. (Utomo *et al.*, 2005). Salah satu pupuk alternatif yang dapat digunakan yaitu pupuk organik yang berasal dari limbah cair tahu.

Limbah cair tahu tersebut mengandung amonia - nitrogen sebesar 23,3 - 23,5 mg/L dan nitrat - nitrogen 3,5 - 4,0 mg/L (Irmanto dan Suyata, 2009) serta mengandung fosfat 1,06 mg/L dan N - total 8,74 mg/L (Dianursanti *et al.*, 2014). Limbah cair tahu ini apabila dibuang akan mencemari lingkungan, sehingga perlu dimanfaatkan salah satunya sebagai media pertumbuhan mikroalga. Namun kandungan nitrat dalam limbah cair tahu tersebut belum mencukupi untuk pertumbuhan optimal *Dunaliella* sp. yang mencapai 22 mg/L (Kim *et al.*, 2012). Oleh karena itu perlu ditambahkan N dari urea ((NH₂)₂CO) untuk memenuhi kebutuhan nitrat.

Penelitian yang dilakukan oleh Dianursanti *et al.* (2014), menunjukkan limbah cair tahu

memberikan hasil yang baik untuk pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dengan perlakuan terbaik yaitu 30%, namun pada konsentrasi tinggi terjadi kematian karena tingginya *Biochemical Oxygen Demand* (BOD). Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menurunkan tingginya BOD adalah dengan cara fermentasi menggunakan bakteri *Bacillus subtilis*. Sutanto (2011), melaporkan bahwa bakteri *B. subtilis* mampu merombak bahan organik menjadi anorganik yang ditandai dengan menurunnya kadar BOD sehingga dapat dimanfaatkan oleh mikroalga.

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap mikroalga lain salah satunya *Dunaliella* sp. yaitu tentang pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp.

Penelitian ini bertujuan untuk (1) Untuk menjelaskan pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. dan (2) Untuk menentukan dosis pupuk limbah cair tahu yang terbaik untuk pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.

2. MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ikan, Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, serta Laboratorium Hidrologi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Mei - Juni 2016.

2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu meliputi wadah kultur (toples kaca 2,5 L), refraktometer *Agata*, termometer, pH meter, DO meter, *haemocytometer* 0,1 mm *Neubauer Assistend*, *handtally counter*, mikroskop *Olympus CX21*, pipet tetes, bola hisap *DeN*, pipet volume *Pyrex Ivaki*, selang aerasi, *cover glass*, erlenmeyer 500 mL *Pyrex Ivaki*, gelas ukur 100 mL dan 1 L *Pyrex Ivaki*, *beaker glass* 1 L *Pyrex Ivaki*, oven *red line* RE53, spektrofotometer *Spectroquant pharo 300*, *centrifuge*, *blower* resun LP-

60, lampu TL 36 watt philips, kamera digital, botol *sprayer*, *washing bottle*, nampan, bak besar, timbangan analitik *Radwag AS2201X*, cuvet, botol film, autoklaf *GEA*, vortex thermolyne maxi mix II, botol falcon, *micro pipette 1 - 1.000 µl Eppendorf Research Plus, blue tip*, *vacum pump VE115 value*, dan kalkulator.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu inokulum *Dunaliella* sp., air laut, air tawar, klorin, Na thiosulfat, akuades, alkohol 96%, pupuk limbah cair tahu, kertas saring GF/C (*mesh size* 90 mm), metanol *absolute*, pupuk walne, vitamin, urea ((NH₂)₂CO), NaOH, lugol, asam fenol disulfonik, NH₄OH, ammonium molybdate, SnCl₂, aluminium foil, tisu, kapas, kertas label, kertas koran, kain kasa, dan benang kasar.

2.2 Media Penelitian

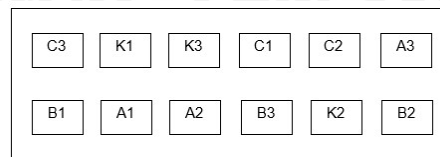
Media yang digunakan dalam penelitian ini yaitu campuran air laut dan air tawar. Air laut yang digunakan diperoleh dengan cara membeli di Toko Tirta Malang, sedangkan air tawar diperoleh dari sumur yang berada di Laboratorium Reproduksi Ikan. Air ditampung kemudian disterilisasi. Limbah Cair tahu yang digunakan berasal dari industri pembuatan tahu di Jalan Bunga Akordion No. 154 Malang. Limbah cair tahu sebelum digunakan diberi bakteri *B. Subtilis* untuk proses fermentasi selama 24 jam. Hal ini untuk mengubah bahan organik menjadi anorganik supaya dapat dimanfaatkan oleh mikroalga.

2.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen. Menurut Masyhuri dan Zainuddin (2008), metode eksperimen yaitu penelitian yang bermaksud mencari kemungkinan hubungan sebab akibat dengan memberikan perlakuan khusus terhadap kelompok percobaan dan membandingkannya dengan kelompok banding.

2.4 Rancangan Percobaan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Desain rancangan acak lengkap (Gambar 1) ini digunakan karena percobaan dilakukan di laboratorium dan homogen (Tapehe, 2015).



Gambar 1. Denah Percobaan

Keterangan: K = Kontrol; A - C = Perlakuan; 1-3 = Ulangan

Perlakuan yang digunakan terdiri dari satu kontrol dan tiga perlakuan dengan tiga kali ulangan sebagai berikut:

- K : Kontrol (Walne 1 mL/L)
- A : Pupuk limbah cair tahu 60 mL/L+urea 200 mg/L
- B : Pupuk limbah cair tahu 120 mL/L+urea 200 mg/L
- C : Pupuk limbah cair tahu 180 mL/L+urea 200 mg/L

2.5 Parameter Uji

2.5.1 Parameter Utama

a. Pertumbuhan *Dunaliella* sp.

Perhitungan kepadatan *Dunaliella* sp. dilakukan setiap hari dari awal kultur hingga akhir percobaan dengan menggunakan metode penghitungan konsentrasi sel menggunakan *haemocytometer* 0,1 mm dan alat bantu mikroskop dengan menggunakan rumus perhitungan menurut Cresswel (2010), yaitu:

$$\text{Jumlah (sel/mL)} = \frac{n}{\text{jumlah bidang pandang}} \times 25 \times 10^4$$

Apabila kepadatannya tinggi maka menggunakan perhitungan yaitu sebagai berikut:

$$\text{Jumlah (sel/mL)} = \frac{n}{\text{jumlah bidang pandang}} \times 25 \times 10^4 \times \text{faktor pengenceran}$$

- Laju Pertumbuhan Spesifik

Laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan menggunakan rumus Mayers *et al.* (2014), yaitu:

$$\mu = \frac{\ln(x_2) - \ln(x_1)}{t_2 - t_1}$$

keterangan:

- μ : laju pertumbuhan per unit konsentrasi sel (/hari)
- x_1 dan x_2 : konsentrasi sel pada waktu ke-1 (t_1) dan waktu ke-2(t_2) berturut-turut.

- Doubling Time

Doubling time ialah waktu pengandaan dari sel *Dunaliella* sp. *Doubling Time* (hari) dihitung dari laju pertumbuhan dengan menggunakan rumus menurut Ak *et al.* (2008), sebagai berikut:

$$dt \text{ (hari)} = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,693}{\mu}$$

b. Biomassa Kering

Janssen *et al.* (1999), menjelaskan bahwa sampel mikroalga yang digunakan untuk analisa biomassa dianalisa pada saat puncak populasi sel tertinggi. Kertas saring GF/C (diameter 90 mm) dioven pada suhu 105°C selama 2 jam (A). Sampel suspensi mikroalga 25 mL difilter melalui kertas saring GF/C dan dicuci dengan 25 mL akuades untuk menghindari kontaminasi garam yang tidak larut pada media. Kemudian kertas saring dioven pada suhu 105°C selama 2 jam. Setelah dingin, kertas saring diletakkan di desikator selama 30-60 menit, kemudian beratnya ditimbang kembali (B).

$$\text{Berat kering atau biomassa} \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{B - A}{\text{Volume sampel}} \times 1000$$

Keterangan:

- A : berat kertas saring (g)
B : kertas saring dan alga (g)
c. Klorofil-a

Analisis klorofil a *Dunaliella* sp. dilakukan pada saat puncak populasi sel tertinggi menggunakan metode modifikasi dari Bennet dan Bogarad, (1973) dan Lichtenthaler (1987). Sampel diambil 5 mL dan dituang ke dalam tabung/falcon dan dibungkus aluminium foil tertutup rapat, disentrifugasi pada 5.000 rpm selama 20 menit dan dibuang supernatannya. Kemudian dilakukan proses *freezing-thawing* masing-masing 15 menit (hingga membeku dan mencair) diulang sebanyak 3 kali. Sampel lalu ditambahkan 5 mL *methanol absolute* dan divortex sampai homogen. Campuran (endapan dan pelarut) direbus pada suhu 70°C selama 30 menit. Sampel diinkubasi pada suhu 4°C selama 24 jam. Kemudian disentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit. Sampel kemudian diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang

gelombang 665 nm dan 652 nm. Perhitungan klorofil-a menurut Ritchie (2006), yakni:

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/mL}) = -8,0962 \times \text{OD}_{652} + 16,5169 \times \text{OD}_{665}$$

1.5.2 Parameter Penunjang

a. Suhu

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer yang dicelupkan ke dalam media kultur *Dunaliella* sp., kemudian dicatat hasilnya. Pengukuran dilakukan satu kali sehari setiap 24 jam yaitu pada pagi dan siang hari.

b. pH

Pengukuran pH pada saat penelitian menggunakan pH meter yang dicelupkan pada media kultur lalu dicatat hasilnya. Pengamatan pH dilakukan satu kali sehari setiap 24 jam.

c. Salinitas

Pengukuran salinitas dilakukan satu kali sehari setiap 24 jam menggunakan refraktometer.

c. DO

Pengukuran oksigen terlarut menggunakan DO meter dengan cara mencelupkan DO meter ke dalam toples dan ditunggu 1 menit lalu dicatat hasilnya. Pengamatan dilakukan satu kali sehari setiap 24 jam.

d. Nitrat

Pengukuran kadar nitrat dilakukan pada hari ke-0, hari ke-3, dan hari ke-5. Air sampel dituang sebanyak 12,5 mL ke dalam cawan porselen dan dipanaskan sampai membentuk kerak dan didinginkan. Kemudian ditambahkan 0,25 mL asam fenol disulfonik (6 - 7 tetes). Selanjutnya ditambahkan sedikit H₂O dan dikerik sampai keraknya larut semua. Sampel ditambahkan NH₄OH 1:1 sampai berwarna kuning dan jika sudah 6 mL tapi tidak berwarna kuning maka dihentikan, lalu ditambahkan H₂O sampai seperti volume semua (12,5 mL). Sampel dimasukkan ke dalam cuvet untuk diukur dengan spektrofotometer panjang gelombang 410 nm (Boyd, 1979).

e. Fosfat

Pengukuran kadar fosfat dilakukan pada hari ke-0, hari ke-3, dan hari ke-5. Air sampel

yang diambil yaitu 25 ml. Selanjutnya ditambahkan 1 ml ammonium molybdate. Lalu ditetesi dengan 5 tetes SnCl_2 dan dihomogenkan, ditunggu sampai 10 menit hingga warna biru terbentuk. Kemudian, dimasukkan ke dalam cuvet. Kadar fosfat diukur dengan spektrofotometer panjang gelombang 690 nm (Boyd, 1979).

2.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil *Dunaliella* sp. Data yang diperoleh dari hasil penelitian diuji normalitas untuk mengetahui kenormalan dari sebuah data kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan 99% ($\alpha = 0,01$). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata (F hitung $>$ F tabel) maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Kemudian dilanjutkan dengan uji polynomial orthogonal untuk menentukan dan mengetahui respon perlakuan dengan parameter yang diukur.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea didapatkan hasil pertumbuhan, biomassa, dan klorofil *Dunaliella* sp. seperti pada Tabel 1.

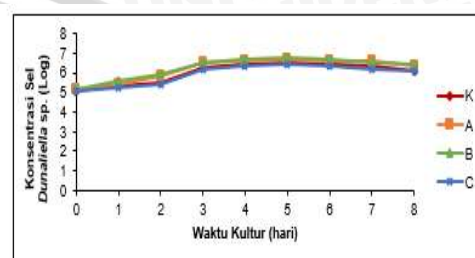
Tabel 1. Laju Pertumbuhan Spesifik, Biomassa, dan Klorofil *Dunaliella* sp.

Parameter	Perlakuan Pupuk mL/L			
	K (walne 1)	A (60)	B (120)	C (180)
Laju Pertumbuhan Spesifik (/hari)	0,679 $\pm$ 0,020 ^a	0,723 $\pm$ 0,032 ^a	0,778 $\pm$ 0,008 ^a	0,639 $\pm$ 0,007 ^a
Biomassa (g/L)	0,191 $\pm$ 0,026 ^a	0,253 $\pm$ 0,026 ^a	0,385 $\pm$ 0,014 ^a	0,181 $\pm$ 0,037 ^a
Klorofil a ($\mu\text{g/mL}$)	2,594 $\pm$ 0,153 ^a	2,765 $\pm$ 0,098 ^a	3,481 $\pm$ 0,170 ^a	2,131 $\pm$ 0,093 ^a

Keterangan: notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata; notasi yang berbeda menunjukkan berbeda atau berbeda sangat nyata; taraf tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$) dan 99% ($\alpha = 0,01$).

Data hasil pengamatan pada Tabel 1. menunjukkan bahwa pupuk limbah cair tahu yang berbeda berpengaruh terhadap laju pertumbuhan, biomassa dan klorofil *Dunaliella* sp.

3.1 Pertumbuhan *Dunaliella* sp.



Gambar 2. Rata-rata Pertumbuhan *Dunaliella* sp. Keterangan:

- K : Kontrol (walne 1 mL/L)
- A : Pupuk limbah cair tahu 60 mL/L+urea 200 mg/L
- B : Pupuk limbah cair tahu 120 mL/L+urea 200 mg/L
- C : Pupuk limbah cair tahu 180 mL/L+urea 200 mg/L

Hasil penelitian (Gambar 2) pertumbuhan *Dunaliella* sp. pada perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda menunjukkan hasil konsentrasi sel yang berbeda setiap fase selama pemeliharaan. Pada penelitian ini mengalami 3 fase pertumbuhan yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, dan fase kematian. Fase adaptasi terjadi pada perlakuan C mulai hari 0 (saat pemasukan inokulan) sampai hari ke-1. Berdasarkan penelitian Widayat dan Hadiyanto (2015), dosis yang terlalu tinggi pada media kultur akan menyebabkan lamanya fase adaptasi. Pada perlakuan K, A, dan B tidak mengalami fase adaptasi karena sel sudah membelah dua kali lipat dari awal tebar. Menurut Pelczar *et al.* (1986), inokulum yang ditebar memberikan pengaruh pada lamanya fase adaptasi. Sel - sel yang diinokulasikan pada awal fase logaritmik akan menghasilkan fase adaptasi yang singkat dan bahkan tidak mengalami fase adaptasi, sedangkan kultur dengan inokulum yang sudah tua akan mengalami fase adaptasi yang lama karena sel - sel tersebut membutuhkan waktu untuk aktif kembali.

Fase eksponensial pada penelitian ini terjadi pada hari ke-1 sampai hari ke-5 untuk perlakuan C, sedangkan untuk perlakuan K, A, dan B mengalami fase eksponensial mulai hari ke-0 sampai hari ke-5 karena pada perlakuan ini tidak mengalami fase adaptasi. Menurut Prihantini *et al.* (2007), inokulasi mikroalga pada media dengan nutrisi yang optimal akan memasuki fase eksponensial lebih cepat dan fase adaptasinya tidak terlihat. Pada fase eksponensial ini sel memiliki kemampuan membelah dengan kecepatan maksimum sehingga kepadatan sel menjadi tinggi.

Fase kematian pada penelitian ini terjadi mulai hari ke-6 sampai hari ke-8 yang ditandai dengan kepadatan sel yang mulai terus berkurang. Hal ini karena berkurangnya nutrisi dalam media ditambah dengan kepadatan sel yang tinggi memungkinkan terjadi kompetisi sehingga mempengaruhi kemampuan pembelahan sel yang menyebabkan produksi sel semakin berkurang (Abidin dan Trihandaru, 2009).

Pertumbuhan *Dunaliella* sp. sejalan dengan meningkatnya laju pertumbuhan spesifik. Dalam menentukan pertumbuhan terbaik, diperlukan perbandingan antara laju pertumbuhan spesifik dan *doubling time* selnya. Laju pertumbuhan spesifik menggambarkan banyaknya individu persatuan waktu (Suantika dan Hendrawandi, 2009).

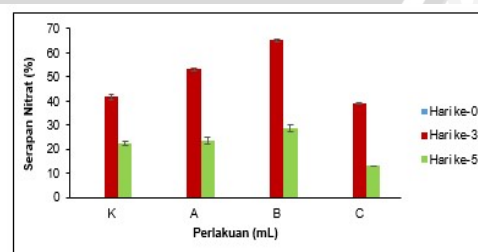
Hubungan antara perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda terhadap laju pertumbuhan spesifik *Dunaliella* sp. berdasarkan uji polinomial orthogonal didapatkan persamaan kuadrat $Y = -0,0000263x^2 + 0,00573888x + 0,4757$ dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) yaitu 0,86. Laju pertumbuhan spesifik *Dunaliella* sp. terbaik diperoleh pada dosis 108 mL/L yang mencapai titik puncak 0,778/hari dengan *doubling time* 0,89 hari. Setelah itu terjadi penurunan pada dosis 180 mL/L dengan nilai laju pertumbuhan spesifiknya 0,639/hari dan *doubling time* 1,09 hari.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Handayani (2006), bahwa dengan penggunaan dosis yang lebih tinggi justru menghasilkan laju pertumbuhan spesifik yang lebih rendah yaitu pada dosis

limbah cair tahu 31 mL/L dihasilkan laju pertumbuhan spesifik sebesar 0,3669/hari dan pada dosis 93 mL/L dihasilkan laju pertumbuhan spesifik 0,2711/hari. Hal ini pada dosis yang lebih tinggi menyebabkan nutrisi di dalam media berlebihan sehingga mikroalga tidak dapat memanfaatkan dengan optimal, selain itu juga karena kekeruhan dan BOD yang terlalu tinggi. Menurut Dianursanti *et al.* (2014), mikroalga tidak dapat tumbuh secara optimal pada kekeruhan yang tinggi karena menghalangi cahaya yang masuk pada media, sehingga proses fotosintesis tidak optimal. Selain itu apabila BOD terlalu tinggi akan menyebabkan penumpukan bahan organik yang pada akhirnya akan menjadi racun (Fadilla, 2010).

Pada penelitian ini perlakuan pupuk limbah cair tahu memberikan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan pupuk walne yang hanya menghasilkan laju pertumbuhan spesifik 0,679/hari dan *doubling time* 1,02 hari. Berdasarkan penelitian Widayat dan Hadiyanto (2015), limbah cair tahu dengan dosis 20% dapat menghasilkan konsentrasi sel tertinggi karena tingginya C organik sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan mikroalga. Karbon berpengaruh pada proses fotosintesis. Menurut Wang *et al.* (2014), *Dunaliella* sp. selain mampu memanfaatkan karbon anorganik juga mampu memanfaatkan karbon organik dari limbah yang disebut sebagai mixotrof. Karbon anorganik didapatkan dari hasil fotosintesis senyawa karbon.

Perubahan pertumbuhan dan laju pertumbuhan spesifik mikroalga tersebut juga berbanding lurus dengan serapan nutrisi penting yang dibutuhkan meliputi unsur nitrat dan fosfat.



Gambar 3. Serapan Nitrat pada Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda

Keterangan

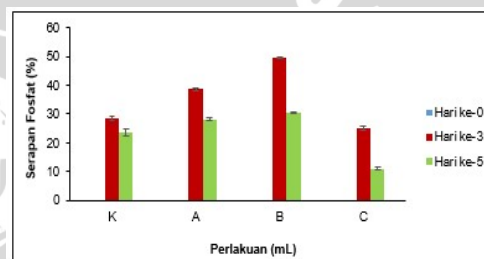
- K : Kontrol (walne 1 mL/L)
- A : Pupuk limbah cair tahu 60 mL/L+urea 200 mg/L
- B : Pupuk limbah cair tahu 120 mL/L+urea 200 mg/L
- C : Pupuk limbah cair tahu 180 mL/L+urea 200 mg/L
- 1,2,3 : Ulangan

Serapan nitrat (Gambar 3) *Dunaliella* sp. selama penelitian menunjukkan hasil tertinggi pada perlakuan B yaitu pada hari ke-3 sebesar 65,01% dan hari ke-5 28,65%, sedangkan terendah pada perlakuan C yang menyerap pada hari ke-3 sebesar 38,15% dan hari ke-5 13,05%. Hal ini disebabkan pada dosis perlakuan B nutrisi sesuai yang dibutuhkan *Dunaliella* sp. untuk metabolisme sel sehingga serapannya tinggi, sedangkan pada perlakuan C serapan nitrat lebih rendah karena dosis terlalu tinggi yang menyebabkan terjadinya penumpukan bahan organik dan pada akhirnya akan menjadi racun sehingga proses metabolisme sel mikroalga kurang maksimum dan serapannya juga kurang maksimum (rendah) (Fadilla, 2010).

Menurut Mulyadi (1999), bahwa penyerapan nitrat dan fosfat oleh *Dunaliella* sp. berbeda - beda tergantung pada media dan kondisi lingkungan. Penyerapan konsentrasi nitrat dan fosfat akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sel mikroalga. Berdasarkan pernyataan Ernest (2012), Nitrogen merupakan makronutrisi yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga dalam kegiatan metabolisme sel yaitu kegiatan transportasi, katabolisme, asimilasi dan khususnya biosintesis protein. Nitrogen juga berperan dalam sintesis klorofil dan proses metabolisme. Dengan demikian pada saat konsentrasi nitrogen dalam media kultur optimal maka kegiatan metabolisme sel akan berjalan dengan baik, termasuk sintesis klorofil. Dengan adanya kandungan klorofil yang meningkat maka proses fotosintesis akan berjalan dengan baik sehingga pertumbuhan mikroalga akan optimal.

Selain nitrat, unsur lain yang dibutuhkan dalam pertumbuhan adalah fosfat. Serapan fosfat (Gambar 4) selama penelitian menunjukkan hasil tertinggi pada perlakuan B

yaitu pada hari ke-3 menyerap sebesar 49,52% dan hari ke-5 30,28%, sedangkan terendah pada perlakuan C dengan penyerapan pada hari ke-3 24,85% dan hari ke-5 10,93%. Fosfat merupakan faktor pembatas untuk pertumbuhan karena dibutuhkan dalam transformasi energi pada proses fotosintesis (Beardall *et al.*, 1998). Hal sama yang diungkapkan oleh Agustini (2014), bahwa selain nitrogen senyawa fosfat juga merupakan senyawa esensial bagi pertumbuhan mikroalga digunakan sebagai transfer energi dalam proses fotosintesis maupun pembentukan klorofil. Kandungan P pada media akan menurun seiring dengan meningkatnya pertumbuhan.



Gambar 4. Serapan Fosfat pada Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda

Keterangan :

- K : Kontrol (walne 1 mL/L)
- A : Pupuk limbah cair tahu 60 mL/L+urea 200 mg/L
- B : Pupuk limbah cair tahu 120 mL/L+urea 200 mg/L
- C : Pupuk limbah cair tahu 180 mL/L+urea 200 mg/L
- 1,2,3 : Ulangan

3.2 Biomassa *Dunaliella* sp.

Hasil analisis uji polinomial biomassa didapatkan kurva respons dengan pola kuadratik. Hubungan antara perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda terhadap biomassa *Dunaliella* sp. didapatkan persamaan $Y = -0,00005x^2 + 0,0106x - 0,2131$ yang memiliki nilai R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,90. Berdasarkan persamaan tersebut didapatkan perlakuan terbaik pada dosis 106 mL/L yang mencapai titik puncak biomassa sebesar 0,385 g/L dengan kepadatan $62,78 \times 10^5$ sel/mL. Selanjutnya terjadi penurunan biomassa pada dosis yang lebih tinggi yaitu 180 mL/L dengan

nilai biomassa 0,181 g/L pada kepadatan $28,47 \times 10^5$ sel/mL.

Penelitian Rahmat *et al.* (2013), menunjukkan bahwa penambahan limbah cair tahu dengan dosis 20% dan 25% memberikan hasil yang lebih rendah dibandingkan pada dosis 10% yang menghasilkan biomassa mencapai 2,41 g/L. Hal ini dikarenakan mikroalga tidak mampu mencerna unsur hara dalam limbah cair tahu yang berlebihan sehingga menurunkan daya cerna dan produksi dari metabolit toksik yang akan menyebabkan laju pertumbuhan rendah sehingga biomassa kering yang dihasilkan juga semakin rendah karena biomassa berbanding lurus dengan laju pertumbuhan. Menurut Lutama *et al.* (2015), produksi biomassa sangat dipengaruhi oleh kandungan nutrisi dalam media kultur.

3.3 Klorofil-a *Dunaliella* sp.

Hasil analisis uji polinomial orthogonal klorofil a *Dunaliella* sp. didapatkan kurva respons dengan pola kuadratik. Hubungan antara perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda terhadap klorofil a didapatkan persamaan $Y = -0,0003x^2 + 0,0636x - 0,0199$ yang memiliki nilai R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,93. Berdasarkan persamaan tersebut didapatkan hasil terbaik pada dosis 106 mL/L yang mencapai titik puncak sebesar 3,481 $\mu\text{g/mL}$ dan terjadi penurunan pada dosis yang lebih tinggi yaitu 180 mL/L dengan nilai sebesar 2,131 $\mu\text{g/mL}$.

Hal ini pada dosis yang terlalu tinggi menyebabkan kekeruhan yang tinggi sehingga cahaya tidak dapat masuk. Menurut Masithah *et al.* (2011), bahwa faktor utama yang dibutuhkan untuk pembentukan klorofil a adalah nutrisi dan cahaya. Sesuai dengan pernyataan Kendirlioglu *et al.* (2015), dengan lebih lamanya dan banyaknya cahaya yang masuk dalam media kultur menyebabkan klorofil menyerap cahaya lebih banyak untuk fotosintesis dan meningkatkan pertumbuhan sel, sehingga pada konsentrasi sel maksimum kandungan klorofil a mikroalga semakin tinggi.

Berdasarkan penelitian Ochtreeni *et al.* (2014), nilai rata - rata kandungan klorofil berkisar antara 0,91 - 5,82 $\mu\text{g/mL}$. Jumlah

klorofil yang tinggi ditandai warna hijau yang sangat pekat disertai kepadatan sel yang tinggi, karena jumlah klorofil berbanding lurus dengan kepadatan sel. Menurut Rahmat *et al.* (2013), klorofil mempunyai peranan yang sangat penting dalam proses fotosintesis untuk mengubah sumber karbon berupa karbon dioksida menjadi biomassa dengan bantuan energi cahaya dan senyawa mikronutrien seperti Fe^{3+} dan Cl^- dibutuhkan mikroalga untuk pembentukan klorofil dan aktivasi kloroplas.

3.4 Kualitas Air

Kualitas air memiliki peran yang penting dalam kegiatan budidaya. Kisaran suhu media kultur harus terkontrol sehingga mikroalga dapat tumbuh dengan baik. Data hasil pengamatan menunjukkan kisaran pH selama pemeliharaan antara 8,11 - 9,54. Kisaran pH optimal untuk *Dunaliella* sp. yaitu antara 8 - 9 (Kusdarwati *et al.*, 2011).

Hasil pengamatan suhu pada penelitian ini yaitu berkisar antara 26 - 28°C pada pagi hari dan 28 - 29°C pada siang hari. Kisaran suhu tersebut masih dapat ditoleransi oleh *Dunaliella* sp. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Sachlan (1982), bahwa kisaran suhu yang optimal bagi pertumbuhan *Dunaliella* sp. berada pada rentang suhu 25 - 30°C.

Salinitas pada semua perlakuan diperoleh kisaran antara 15 - 20 ppt. Dari hasil pengamatan selama pemeliharaan tersebut menunjukkan fluktuasi salinitas yang masih dalam batas toleransi karena *Dunaliella* sp. mempunyai toleransi salinitas antara 12 - 40 ppt (FAO, 1991).

Oksigen terlarut sangat dibutuhkan mikroalga untuk proses pertumbuhannya. Data hasil pengamatan kandungan oksigen terlarut selama pemeliharaan yaitu berkisar antara 6,12 - 7,79 mg/L. Kisaran tersebut masih dapat ditoleransi oleh *Dunaliella* sp. pada skala laboratorium seperti pendapat Shintawati (2011), bahwa kisaran kadar oksigen terlarut pada skala laboratorium yang optimal berkisar antara 5 - 7 mg/L dan di atas 7 mg/L sangat tinggi.

4 Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

- Dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.
- Dosis pupuk limbah cair tahu dengan penambahan urea yang terbaik untuk pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. yaitu pada dosis pupuk limbah cair tahu antara 106-108 mL/L + urea 200 mg/L dengan laju pertumbuhan spesifik 0,778/hari, total biomassa 0,385 g/L dan klorofil a 3,481 µg/mL.

Berdasarkan penelitian ini dapat disarankan menggunakan dosis pupuk limbah cair tahu antara 106-108 mL/L dengan penambahan urea 200 mg/L untuk mendapatkan pertumbuhan, biomassa dan klorofil a yang terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, D dan S. Trihandaru. 2009. Monitoring densitas optik *Dunaliella salina* dengan optical densitometer sederhana serta uji kandungan klorofil. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains IV*. (3): 594 - 606.
- Agustini, N.W.S. 2010. Kandungan pigmen dan asam lemak *Dunaliella salina* pada berbagai penambahan sumber karbon. *Seminar Nasional Biologi*. 1042 - 1050.
- _____. 2014. Kandungan pigmen astaxanthin dari mikroalga *Botryococcus braunii* pada berbagai penambahan nitrogen dan phosphor. *Prosiding Seminar Nasional XI*. 156-164.
- Ak, I., S. Cirik, and T. Goksan. 2008. Effect of light intensity, salinity and temperature on growth in camalt strain of *Dunaliella viridis* teodoresco from Turkey. *Journal of Biological Sciences*. 8(8): 1356-1359.
- Beardall, J., Johnson, A, and Raven, J. A. (1998). Environmental regulation of CO₂ concentrating mechanism in microalgae. *Canadian Journal of Botany*. 76: 1010 – 1017.
- Bennett, A. and L. Bogorad. 1973. Complimentary chromatic adaptation in a filamentous blue - green algae. *The Journal of Cell Biology*. 58 (2): 419 - 435.
- Boyd, C.E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish Pond. Agricultural experiment station. USA. 359 pp.
- Cresswel, L. 2010. Phytoplankton Culture For Aquaculture Feed. Southern Regional Aquaculture Center. University of Florida Sea Grant. pp. 16.
- Darsi, R., A. Supriadi, dan A.D. Sasanti. 2012. Karakteristik kimiawi dan potensi pemanfaatan *Dunaliella salina* dan *Nannochloropsis* sp. *Fiseries Technology*. 1 (1): 14 - 25.
- Dianursanti, B.T. Rizkytata, M.T. Gumelar, and T.H. Abdullah. 2014. Industrial tofu wastewater as a cultivation medium of mikroalgae *Chlorella vulgaris*. *Energy Procedia*. 47: 56 - 61.
- Ernest, P. 2012. *Pengaruh kandungan ion nitrat terhadap pertumbuhan Nannochloropsis sp. Skripsi*. Departemen Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Indonesia. 83 hlm. (Tidak dipublikasikan).
- Fadilla, Z. 2010. *Pengaruh konsentrasi limbah cair tahu terhadap pertumbuhan mikroalga Scenedesmus sp. Skripsi*. Program Studi Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 80 hlm. (tidak dipublikasikan).
- FAO. 1991. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. *Fiseries and Aquaculture Department*. USA. 361 pp.
- Handajani, H. 2006. Pemanfaatan limbah cair tahu sebagai pupuk alternatif pada kultur mikroalga *Spirulina* sp. *Jurnal Protein*. 13 (2): 188 - 193.
- Irmanto dan Suyata. 2009. Penurunan kadar amonia, nitrit, dan nitrat limbah cair industri tahu menggunakan arang aktif dari ampas kopi. *Molekul*. 4 (2): 105-114.

- Janssen, M., T.C. Kuijpers, B. Veldhoen, M.B. Ternbach, J. Tramper, L.R. Mur, and R.H. Wijffels. 1999. Specific growth rates of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* under medium duration light/dark cycles: 13 - 87s. *Journal of Biotechnology*. **70**: 323 - 333.
- _____. 2002. *Cultivation of microalgae: effect of light/dark cycles on biomass yield*. Thesis. Wageningen University. Wageningen. The Netherlands. 184 pp.
- Kim, W., J.M. Park, G.H. Gim, S. Jeong, C.M. Kang, D. Kim, and S.W. Kim. 2012. Optimization of culture conditions and comparison of biomass productivity of three green algae. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. **35**: 19-27.
- Kusdarwati, R., M. Akhyar, dan B.S. Rahardja. 2011. Pengaruh penambahan vitamin b pada media blotong kering terhadap pertumbuhan populasi *Dunaliella salina*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **3** (1): 73 - 77.
- Li, Y. 2008. Biofuels from microalgae. *Journal of Biotechnology*. **24**: 815 - 820.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. **148**: 350 - 382.
- Lutama, D., S. Winarso, dan T.C. Setiawati. 2015. Uji efektifitas pertumbuhan *Spirulina* sp. pada limbah cair tahu yang diperkaya urea dan super phosphate 36 (SP 36). *Berkala Ilmiah Pertanian*. **10** (10): 1-5.
- Masithah, E.D., N. Ariesma, dan Y. Cahyoko. 2011. Pengaruh pemberian bakteri *Bacillus pumilus* pada rumen sapi sebagai pupuk terhadap pertumbuhan *Dunaliella salina*. *Jurnal Kelautan*. **4** (1): 82 - 89.
- Masyhuri dan Zainuddin. 2008. Metodologi Penelitian - Pendekatan Praktis dan Aplikatif. PT Refika Aditama. Bandung. 234 hlm.
- Mayers, J.J., K.J. Flynn, and R.J. Shields. 2014. Influence of the N:P supply ratio on biomass productivity and time - resolved changes in elemental and bulk biochemical composition of *Nannochloropsis* sp. *Bioresource Technology*. **169**: 588 - 595.
- Mulyadi, A. 1999. Pertumbuhan dan daya serap nutrisi dari mikroalga *Dunaliella tertiolecta* yang dipelihara pada limbah domestik. *Jurnal Natur Indonesia*. **11**(1): 65 - 68.
- Ochtreeani, A.M., Supriharyono, dan P. Soedarsono. 2014. Pengaruh perbedaan jenis pupuk terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dilihat dari kepadatan sel dan klorofil α pada skala semi massal. *Diponegoro Journal of Maquares*. **3** (2): 102 - 108.
- Pelczar M.J.J.R., E.C.S. Chan, and N.R. Krieg. 1986. Microbiology, Fifth Edition. Tata Mc. Graw - Hill. New York. 900 pp.
- Prihantini, B. N., D. Damayanti, dan R. Yuniati. 2007. Pengaruh konsentrasi medium ekstrak tauge (MET) terhadap pertumbuhan *Scenedesmus* isolat subang. *Makara Sains*. **11** (1): 1 - 9.
- Rahmat, T.A., R.D. Dias, dan D. Soetrisnanto. 2013. Kultivasi *Botryococcus braunii* memanfaatkan air dadih (*wbey*) tahu sebagai potensi biodisel. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. **2** (4): 72 - 83.
- Ritchie, R.J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*. **89**: 27 - 41.
- Sachlan, M. 1982. Planktonologi Fakultas Peternakan dan Perikanan. Universitas Diponegoro. Semarang. 177 hlm.
- Sasmita, P.G., I.G. Wenten, dan G. Suantika. 2004. Pengembangan teknologi ultrafiltrasi untuk pemekatan mikroalga. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses*. 1 - 5.
- Shintawati, D.P. 2011. Produksi biodiesel dari mikroalga *Chlorella* sp. dengan metode esterifikasi *in situ*. Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Diponegoro. Semarang. 70 hlm.
- 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): 48-49.

Sutanto, A. 2011. Degradasi bahan organik limbah cair nanas oleh bakteri indigen. *El-Hayah*. **1** (4): 151 - 156.

Tapehe, Y. 2015. Statistika dan Rancangan Percobaan. EGC. Jakarta. 144 hlm.

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.

Wang, J., H. Yang, and F. Wang. 2014. Mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production: status and prospects. *Applied Biochemistry Biotechnology*. **172** (7): 3307-3329.

Widayat dan Hadiyanto. 2015. Pemanfaatan limbah cair industri tahu untuk produksi biomassa mikroalga *nannochloropsis* sp sebagai bahan baku biodiesel. *Jurnal Reaktor*. **15** (2): 253-260.

