

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

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA 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
KLOORFIL *a Dunaliella* sp.

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:
EVA RIANA DEWI
NIM. 125080501111031



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016

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

Oleh:
EVA RIANA DEWI
NIM. 125080501111031

Dosen Penguji I



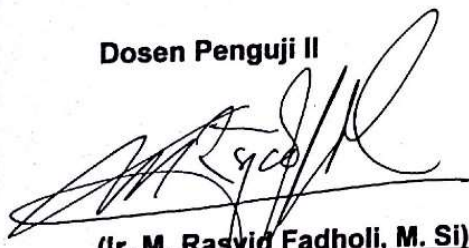
(Dr. Ating Yuniarti, S.Pi., M. Aqua)
NIP. 19750604 199903 2 002
Tanggal : 15 AUG 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I



(Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS.)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal : 15 AUG 2016

Dosen Penguji II



(Ir. M. Rasyid Fadholi, M. Si)
NIP. 19520713 198003 1 001
Tanggal : 15 AUG 2016

Dosen Pembimbing II



(M. Fakhri, S.Pi, MP., MSc.)
NIP. 19860717 201504 1 001
Tanggal : 15 AUG 2016



Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP
(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal : 15 AUG 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar - benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga 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, Agustus 2016

Mahasiswa

Eva Riana Dewi



UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa pelaksanaan penelitian skripsi ini tidak terlepas dari dukungan moril dan materi dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati perkenankan penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar - besarnya kepada:

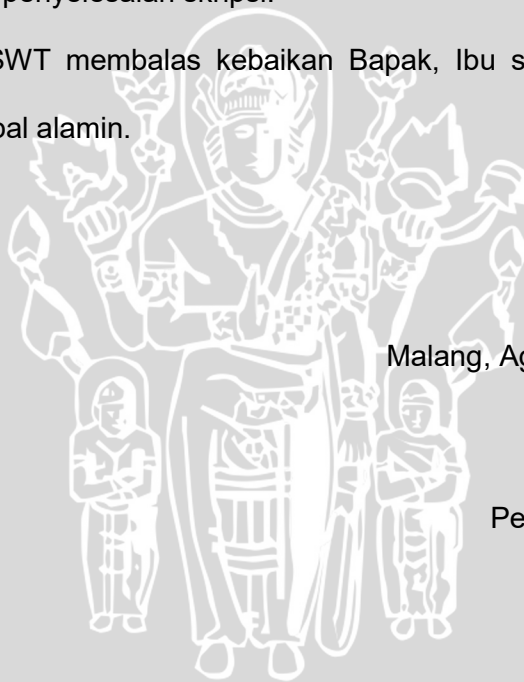
1. Allah SWT karena atas limpahan rahmat, karunia, serta ridho - Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
2. Ibu Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS. selaku dosen pembimbing 1 yang tidak lelah memberikan bimbingan, saran dan nasihat kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Bapak M. Fakhri, S.Pi., MP., M.Sc. selaku dosen pembimbing 2 yang tidak lelah memberikan bimbingan, saran dan nasihat kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Ibu Dr. Ating Yuniarti, S.Pi., M. Aqua selaku dosen penguji 1 yang telah memberikan saran kepada penulis demi kesempurnaan penulisan.
5. Bapak Ir. Rasyid Fadholi, M.Si selaku dosen penguji 2 yang telah memberikan saran demi kesempurnaan penulisan.
6. Bapak Damiri, ibu Jaitun, dan adek Tiara Dwi Prastiwi yang telah memberikan doa restu, motivasi, dukungan dan segala yang dikerahkan sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
7. Pak Udin, pak Yit, mbak Hawa, mbak Titin, mbak Mega selaku laboran yang banyak membantu dan memberikan saran saat penelitian.
8. Tim limbah cair tahu (Novy, Retno, Nika dan Riza) yang telah banyak membantu dan mendukung dalam penelitian.
9. Teman - teman tim pakan (Sanudi, Dicoo, Mbak Endar, Wisnu, dan Gogo) yang telah banyak membantu dan mendukung penyelesaian skripsi ini.

10. Teman - teman spesial (Wahyu, Januar, Aul, Viki, Deeda, Merry, Sira) yang telah banyak membantu dan selalu bersedia menemani ketika menginap di laboratorium selama penelitian.
11. Eko Yusroni yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan motivasi kepada penulis dari awal kuliah hingga penyelesaian skripsi.
12. Teman-Teman kos Juwari (Rina, Vina, Risky, Mbak Irul) yang telah banyak memberikan motivasi, saran serta dukungan terhadap penulis selama penelitian hingga penyelesaian skripsi ini.
13. Teman - teman *Aquasean* yang telah banyak membantu dan memberi semangat sampai penyelesaian skripsi.

Semoga Allah SWT membalas kebaikan Bapak, Ibu serta teman-teman semua. Aamiin ya rabbal alamin.

Malang, Agustus 2016

Penulis



RINGKASAN

Eva Riana Dewi. Pengaruh Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda dengan Penambahan Urea terhadap Pertumbuhan, Biomassa, dan Klorofil a *Dunaliella* sp. Di bawah bimbingan **Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.** dan **M. Fakhri, S.Pi., MP., M.Sc.**

Mikroalga merupakan mikroorganisme autotrof yang memiliki peranan penting sebagai pakan alami. Salah satu pakan alami yang sering digunakan adalah *Dunaliella* sp. karena mempunyai kandungan gizi tinggi dan pertumbuhan yang cepat. Namun permasalahan yang muncul pada saat kultur adalah mahalanya pupuk Pro Analisis (PA). Oleh karena itu diperlukan pupuk alternatif yaitu pupuk organik yang berasal dari limbah cair tahu. Limbah cair tahu mengandung bahan anorganik berupa nitrat - nitrogen 3,5 - 4,0 mg/L dan fosfat 1,06 mg/L yang dapat dimanfaatkan dengan baik oleh mikroalga *Chlorella vulgaris*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap mikroalga lain yaitu tentang pengaruh pemberian pupuk limbah cair tahu yang berbeda terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. yang difermentasi menggunakan *Bacillus subtilis*.

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah menjelaskan pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. dan menentukan dosis terbaik pemberian pupuk limbah cair tahu terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei - Juni 2016 yang bertempat 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. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 perlakuan dan 1 kontrol dengan 3 kali ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah A (pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L), B (pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L), dan C (pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L) serta kontrol (pupuk walne 1 mL/L). Parameter utama dalam penelitian ini adalah pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. Parameter penunjang yang diamati adalah suhu, pH, oksigen terlarut (DO), salinitas, nitrat, dan fosfat. Analisis data dilakukan menggunakan *Analysis of Variance*.

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. Perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu yang terbaik untuk pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. yaitu antara 106 – 108 mL/L dengan penambahan urea 200 mg/L menghasilkan konsentrasi sel maksimum $62,78 \times 10^5$ sel/mL, laju pertumbuhan spesifik 0,778/hari, biomassa 0,385 g/L, dan klorofil a 3,481 µg/mL.

KATA PENGANTAR

Skripsi yang berjudul “Pengaruh Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda dengan Penambahan Urea terhadap Pertumbuhan, Biomassa, dan Klorofil a *Dunaliella* sp.” ini tersajikan untuk menjelaskan pengaruh pemberian pupuk limbah cair tahu dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a yang dihasilkan oleh mikroalga yang diteliti. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dan keterbatasan dalam penyajian materi dan penulisannya. Oleh karena itu, penulis menerima segala kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca.

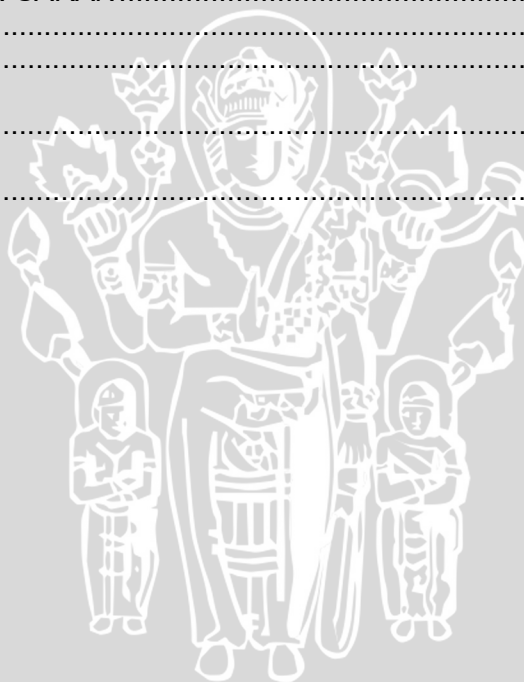
Malang, Agustus 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Kegunaan Penelitian	4
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi <i>Dunaliella</i> sp.	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Reproduksi	6
2.1.3 Kandungan Gizi	7
2.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga	7
2.2.1 Fase Adaptasi	8
2.2.2 Fase Eksponensial	8
2.2.3 Fase Stasioner	8
2.2.4 Fase Kematian	8
2.3 Sistem Kultur Mikroalga	9
2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga	10
2.4.1 Kondisi Lingkungan	10
2.4.2 Nutrisi	12
2.5 Klorofil a <i>Dunaliella</i> sp.	13
2.6 Limbah Cair Tahu	14
2.7 Fermentasi Limbah Cair Tahu	15
2.8 Pengaruh Limbah Cair Tahu terhadap Mikroalga	16
2.9 Pengaruh Nitrat dan Fosfat terhadap Mikroalga	17
3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Alat dan Bahan Penelitian	19
3.1.1 Alat Penelitian	19
3.1.2 Bahan Penelitian	19
3.2 Media Penelitian	19
3.3 Metode Penelitian	20
3.4 Rancangan Penelitian	20

3.5 Prosedur Penelitian	23
3.5.1 Persiapan Penelitian	23
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian	26
3.6 Parameter Uji	26
3.6.1 Parameter Utama	26
3.6.2 Parameter Penunjang	29
3.7 Analisis Data	30
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp.	31
4.2 Biomassa <i>Dunaliella</i> sp.	39
4.4 Klorofil a <i>Dunaliella</i> sp.	40
4.5 Kualitas Air	41
4.5.1 pH	41
4.5.2 Suhu	42
4.5.3 Salinitas	42
4.5.4 Oksigen Terlarut	43
5. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	52

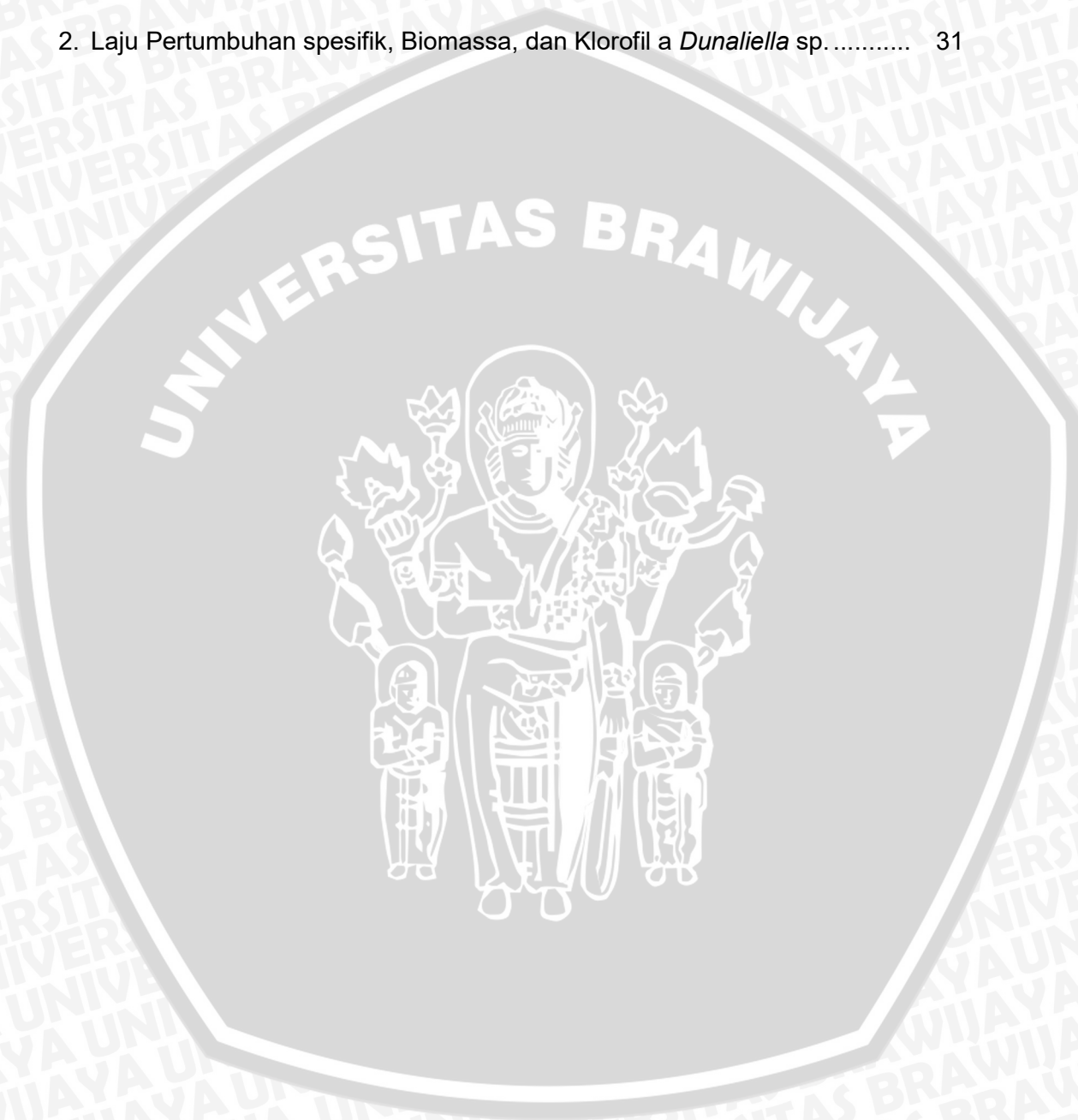


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Dunaliella</i> sp.	5
2. Daur Hidup <i>Dunaliella</i> sp..	6
3. Fase Pertumbuhan Mikroalga	9
4. Struktur Klorofil a.	14
5. Denah Percobaan	21
6. Pengenceran Metode Bujur Sangkar	24
7. Rata - rata Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp.	31
8. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik <i>Dunaliella</i> sp.	34
9. Serapan Nitrat pada Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda	36
10. Serapan Fosfat pada Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda.....	38
11. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda terhadap Biomassa <i>Dunaliella</i> sp.	39
12. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda terhadap Klorofil a <i>Dunaliella</i> sp.	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Limbah Cair Tahu.....	15
2. Laju Pertumbuhan spesifik, Biomassa, dan Klorofil a <i>Dunaliella</i> sp.....	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur Fermentasi Limbah Cair Tahu.....	52
2. Kandungan Pupuk Walne	53
3. Kandungan Pupuk Limbah Cair Tahu	54
4. Perhitungan Kebutuhan Urea.....	55
5. Sterilisasi Alat dan Media Kultur.....	57
6. Data Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp. (sel/mL).....	59
7. Data Biomassa <i>Dunaliella</i> sp. (g/L)	66
8. Data Klorofil a <i>Dunaliella</i> sp. ($\mu\text{g/mL}$).....	72
9. Serapan Nitrat <i>Dunaliella</i> sp.....	78
10. Serapan Fosfat <i>Dunaliella</i> sp.	79
11. Data pH pada Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp.	80
12. Data Suhu pada Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp.....	81
13. Data Salinitas pada Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp.....	82
14. Data Oksigen Terlarut pada Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp.....	83

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

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).

Pakan alami ini sangat penting untuk larva ikan karena belum bisa digantikan oleh pakan buatan. 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 klorofi hingga 102,29 mg/L (Agustini, 2010). Selain itu *Dunaliella* sp. mempunyai perkembangbiakan yang sangat cepat. Mikroalga biasanya menggandakan dirinya sekitar 24 jam sekali, namun pada fase ekponensial biasanya lebih singkat hingga 3,5 jam sekali (Darsi *et al.*, 2012). Oleh karena itu *Dunaliella* sp. ini perlu dikultur dan dikembangkan lebih lanjut karena mempunyai potensi yang besar untuk dimanfaatkan sebagai pakan alami.

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

Setiap harinya industri tahu di Indonesia membutuhkan bahan baku berupa kedelai sebesar 1.250 ton. Menurut data tersebut, limbah cair tahu yang dihasilkan per kilogram kedelai adalah 43,5 L sehingga limbah cair yang dihasilkan dari seluruh industri tahu di Indonesia mencapai 54.375.000 L setiap harinya (Arinto *et al.*, 2013). 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.*

1.2 Rumusan Masalah

Ketersediaan pakan alami sangat penting sebagai pakan larva dan belum bisa digantikan dengan pakan buatan. *Dunaliella* sp. dalam pertumbuhannya membutuhkan media dengan nutrisi yang cukup. Namun saat ini kebanyakan masyarakat menggunakan pupuk PA dengan harga yang mahal sehingga dibutuhkan pupuk alternatif dengan harga ekonomis. Pupuk yang digunakan dapat berupa limbah cair tahu yang difermentasi menggunakan bakteri *B. subtilis*. Dalam penelitian ini terdapat rumusan masalah sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.?
- Berapakah dosis pupuk limbah cair tahu yang terbaik untuk pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- Untuk menjelaskan pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.
- Untuk menentukan dosis pupuk limbah cair tahu yang terbaik untuk pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.

1.4 Hipotesis

H_0 : Pupuk limbah cair tahu dengan dosis yang berbeda tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.

H_1 : Pupuk limbah cair tahu dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.

1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini yaitu sebagai informasi tentang pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. Selain itu sebagai informasi tentang penggunaan dosis pupuk limbah cair tahu yang terbaik untuk pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. Bagi masyarakat dapat menjadi informasi tentang pupuk limbah cair tahu menjadi solusi dari harga pupuk PA yang mahal sehingga dapat menekan biaya pembelian pupuk.

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

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. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *Dunaliella* sp.

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Teodoresco (1905), klasifikasi *Dunaliella* sp. adalah sebagai berikut:

Phylum : Chlorophyta

Subphylum : Chlorophytina

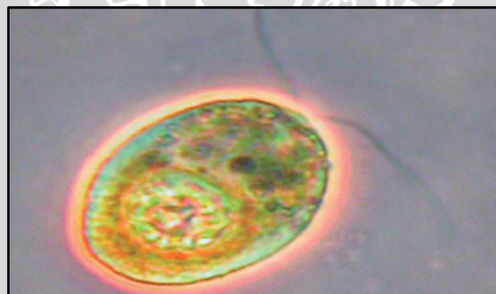
Class : Chlorophyceae

Ordo : Chlamydomonadales

Family : Dunaliellaceae

Genus : *Dunaliella*

Spesies : *Dunaliella* sp.



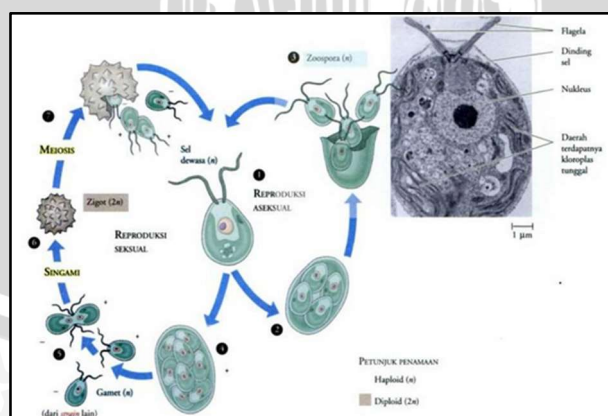
Gambar 1. *Dunaliella* sp. (Ramos *et al.*, 2015).

Dunaliella sp. (Gambar 1) merupakan fitoplankton yang mempunyai sepasang flagellata yang sama panjang, kloroplasnya berbentuk cangkir. Bentuk selnya tidak stabil dan sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, dapat berbentuk lonjong, bulat, silindris, dan oval. Ukuran fitoplankton tergantung kondisi lingkungan, pertumbuhan, dan intensitas cahaya (Ekawati, 2005). Tran *et al.* (2013), menyatakan bahwa umumnya sel berbentuk bulat telur dengan lebar 4 - 5 μm dan panjang 6 - 25 μm , tetapi juga tergantung pertumbuhannya.

2.1.2 Reproduksi

Dunaliella sp. bereproduksi secara asexual dan seksual. Reproduksi secara asexual dapat terjadi dengan pembelahan secara memanjang. Saat proses pembelahan inti pirenoid akan melebar melintang dan menyebabkan dua flagella saling berjauhan. Pada pirenoid dan kloroplas akan terbentuk suatu lekukan yang kemudian akan membelah menjadi individu baru yang masing-masing mempunyai satu flagella dan satu anak sel yang belum mempunyai stigma. Stigma yang berbentuk ini merupakan hasil proses metamorfosis dari kromatofora (Oren, 2005).

Reproduksi secara seksual pada kondisi kultur jarang dijumpai. Reproduksi seksual ini umumnya dijumpai pada kondisi alamiah. Reproduksi seksual terjadi dengan cara melakukan isogami melalui konjugasi. Zigot berwarna hijau dan merah yang dikelilingi oleh dinding sporollenin yang halus dan sangat tipis. Nukleus zygote akan membelah secara meiosis. Pembelahan ini terjadi setelah tahap istirahat. Dari pembelahan ini terbentuk lebih dari 32 sel yang dibebaskan melalui retakan atau celah pada dinding sel induk (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Daur hidup *Dunaliella* sp. dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Daur Hidup *Dunaliella* sp. (Campbell et al., 2003).

2.1.3 Kandungan Gizi

Kandungan gizi setiap mikroalga berbeda - beda karena dipengaruhi oleh zat hara dan kondisi lingkungan. Kandungan gizi suatu mikroalga dapat dilihat dari kandungan protein, lemak, dan karbohidrat. Biomassa kering *Dunaliella* sp. 100 g mengandung karbohidrat 40,21 g, lemak 18,02 g, serat 2,10 g, protein 25,67 g, nitrat 15,34 g, dan karotenoid 42 g (Muhaemin dan Kaswadji, 2010).

Berdasarkan penelitian Darsi *et al.* (2012), *Dunaliella* sp. pada bobot biomassa kering 3,29 g/L mengandung beberapa kandungan gizi diantaranya kadar abu sebesar 58,29%, kadar air 15,58%, kadar protein 17,08%, kadar lemak 0,003%, dan kadar karbohidrat total 15,07%, sedangkan total karoten 0,19 mg/l. Tingginya kadar abu yang diperoleh pada penelitian ini dimanfaatkan sebagai sumber mineral (makro nutrien). Menurut Metting (1996), karbohidrat dalam mikroalga dapat ditemukan dalam bentuk pati, glukosa, dan gula. Kandungan lemak rata-rata sel alga bervariasi antara 1% dan 70% bahkan mencapai 90% dari berat kering dalam kondisi tertentu.

2.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga

Menurut Prabowo (2009), pertumbuhan mikroalga dalam media kultur dapat diamati dengan melihat pertambahan besar ukuran sel mikroalga atau dengan mengamati pertambahan jumlah sel dalam satuan tertentu. Selain itu dengan cara menghitung kelimpahan atau kepadatan sel mikroalga dari waktu ke waktu. Menurut Fogg dan Thake (1987), tahap pertumbuhan mikroalga secara umum dapat dibedakan menjadi beberapa fase pertumbuhan (Gambar 3) yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase penurunan laju pertumbuhan, fase stasioner, dan fase kematian.

2.2.1 Fase Adaptasi

Menurut Armanda (2013), fase ini disebut juga fase istirahat. Pada fase ini, sel beradaptasi dengan medium dan lingkungan kulturnya (suhu, salinitas, pH) selama 24 jam. Dalam adaptasi ini biasanya mulai memanfaatkan nutrisi yang ada meskipun belum optimal, sehingga beberapa enzim yang terkait pembelahan selnya juga belum tersintesis dengan optimal. Pelczar *et al.* (1986), menyatakan lamanya fase adaptasi tergantung pada inokulan yang dimasukkan. Sel - sel yang diinokulasikan pada awal fase logaritmik akan mengalami fase adaptasi yang singkat. Inokulan yang berasal dari kultur yang sudah tua akan mengalami fase adaptasi yang lama.

2.2.2 Fase Eksponensial

Pada fase ini sel inokulum mengalami pembelahan maksimum yaitu menjadi 2 kali lipat dari sebelumnya atau terjadi proses *doubling time*. Kondisi lingkungan dan unsur hara adalah faktor yang berpengaruh pada fase eksponensial (Kabinawa, 2006). Suantika dan Hendrawandi (2009), menjelaskan bahwa pertumbuhan dan aktivitas sel mencapai tingkat maksimum karena terjadi pembelahan sel sebanyak dua kali lipat dari awal tebar.

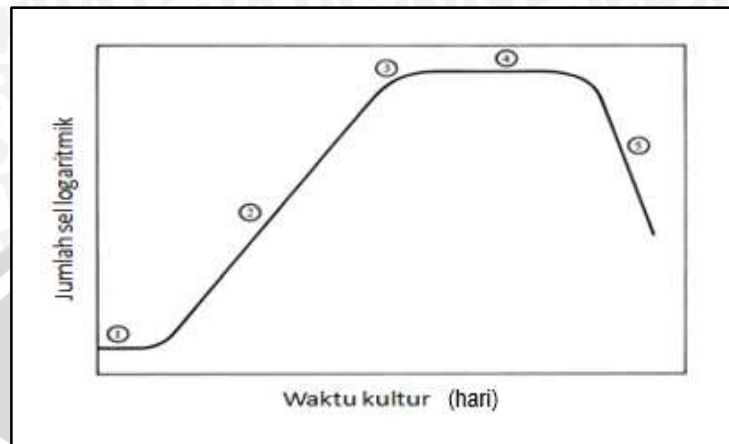
2.2.3 Fase Stasioner

Pada fase ini pertumbuhan populasi cenderung stasioner, artinya pembelahan sel dan kematian sel seimbang (Armanda, 2013). Dengan demikian penambahan dan pengurangan jumlah sel relatif sama sehingga kepadatan sel tetap. Menurut Rahmawati *et al.* (2013), fase stasioner pada *Dunaliella* sp. dimulai pada hari ke 6 atau 2 - 3 hari setelah fase eksponensial.

2.2.4 Fase Kematian

Pada fase ini terjadi penurunan sel inokulum secara drastis. Setelah diamati dibawah mikroskop sel tampak pecah dan mati (Kabinawa, 2006). Hal ini

didukung oleh pernyataan Armanda (2013), bahwa salah satu faktor yang mempercepat kematian ini adalah berkurangnya jumlah nutrisi serta kualitas air yang menurun.



Gambar 3. Fase Pertumbuhan Mikroalga (Fogg dan Thake, 1987).

Keterangan: (1) fase adaptasi; (2) fase eksponensial; (3) fase penurunan laju pertumbuhan; (4) fase stasioner; (5) fase kematian.

2.3 Sistem Kultur Mikroalga

Sistem kultur mikroalga ada tiga yaitu *batch*, semi kontinyu, dan kontinyu. *Batch* kultur merupakan kegiatan kultur terdiri dari inokulasi sel tunggal ke media kultur yang kaya nutrisi dan dipelihara beberapa hari kemudian dipanen ketika populasi alga mencapai kepadatan sel mendekati maksimum. Selanjutnya hasil panen tersebut dipindahkan kedalam media yang lebih besar untuk dipelihara hingga fase pertumbuhan yang maksimum. Sistem kultur *batch* secara luas banyak diterapkan karena sederhana dan fleksibel. Namun harus dipertimbangkan kerugiannya yaitu terjadinya kontaminasi, harus steril, dan memerlukan banyak tenaga kerja pada saat panen. Kultur secara kontinyu merupakan kegiatan kultur tertutup yang dilakukan secara terus menerus dengan cara media disuplai nutrisi secara terus menerus hingga mencapai fase pertumbuhan maksimum. Keuntungan dari sistem kultur ini yaitu mikroalga yang

dihasilkan dapat diprediksi memiliki kualitas yang lebih bagus. Namun kelemahannya biaya yang sangat tinggi. Sistem kultur semi kontinyu merupakan sistem kultur yang dilakukan pada skala besar dan sebagian mikroalga dipanen lalu volume media kultur ditambah nutrisi lagi sampai volume semula kemudian tumbuh lagi, dipanen, dan ditambah media hingga semula. Sistem ini dilakukan secara terbuka sehingga sangat sulit untuk dikontrol (FAO,1991).

Sistem kultur pada *Dunaliella* sp. ini dilakukan dengan sistem kultur *batch*. Menurut Richmond (2004), sistem kultur ini merupakan sistem kultur yang umum digunakan untuk kultivasi sel mikroalga karena sederhana, membutuhkan media yang tidak banyak, ditempatkan pada bak kultur, dan diinkubasi pada lingkungan yang baik untuk pertumbuhannya. Sistem ini secara umum digunakan untuk komersial. Pada kultur alga massal, sebagian dari inokulum hasil kultur akan disimpan untuk *batch* kultur berikutnya.

2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga

2.4.1 Kondisi Lingkungan

a. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang penting untuk mempengaruhi tingkat pertumbuhan dan metabolisme mikroalga. Suhu juga mempengaruhi daya larut gas - gas yang diperlukan untuk fotosintesis seperti karbon dioksida dan oksigen. Gas - gas ini mudah terlarut pada suhu rendah daripada suhu tinggi, akibatnya laju fotosintesis meningkat pada suhu rendah (Endrawati dan Rianiatsih, 2013). Suhu air ini dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang berasal dari lampu dan juga radiasi sinar matahari (Masithah *et al.*, 2011). Kisaran suhu yang optimal bagi pertumbuhan *Dunaliella* sp. berada pada rentang suhu 25° - 30°C (Sachlan,1982).

b. Cahaya

Keberhasilan dalam kultur *Dunaliella* sp. selain dipengaruhi oleh nutrisi juga dipengaruhi oleh faktor cahaya karena cahaya memegang peranan yang sangat penting dalam proses fotosintesis. Proses fotosintesis membutuhkan cahaya sebagai sumber energi dalam pemanfaatan karbon dioksida dan oksigen untuk membentuk karbohidrat. Semakin besar jumlah energi yang tersedia akan menghasilkan produk fotosintesis yang optimal (Nopriani *et al.*, 2014). Cahaya yang digunakan untuk kultur *Dunaliella* sp. yaitu menggunakan lampu neon TL 40 watt (Agustini, 2010), dengan intensitas cahaya yang optimal sebesar 2500 - 5000 lux (FAO, 1991). Berdasarkan penelitian Kwaroe *et al.* (2009), lama penyinaran yang baik untuk pertumbuhan *Dunaliella* sp. yaitu 24 jam terang.

c. pH

pH juga merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan alga. pH berperan dalam menyerap nutrisi termasuk nitrat dan fosfat (Singh *et al.*, 2015). Peningkatan nilai pH pada media kultur menunjukkan adanya peningkatan jumlah kepadatan sel mikroalga (Nurhayati *et al.*, 2013). Menurut Kusdarwati *et al.* (2011), pH optimal untuk *Dunaliella* sp. berkisar antara 8 - 9.

d. Oksigen terlarut (DO)

Faktor lain yang tidak kalah penting adalah dengan memberi gelembung udara (aerasi) sebagai sistem pemberian oksigen (Mulyanto, 2010). Aerasi dalam kultur fitoplankton digunakan dalam proses pengadukan media kultur. Pengadukan sangat penting dilakukan bertujuan untuk mencegah terjadinya pengendapan sel, nutrisi tersebar dengan baik sehingga mikroalga dalam kultur mendapatkan nutrisi yang sama dan meningkatkan pertukaran gas dari udara ke media (Taw, 1990). Menurut Shintawati (2011), bahwa kisaran kadar oksigen terlarut pada skala laboratorium yang optimal berkisar antara 5 - 7 mg/L.

e. Salinitas

Naik atau turunnya salinitas sangat berpengaruh terhadap tekanan osmose dan mekanisme osmoregulasi yang dapat mempengaruhi proses metabolisme dan mengakibatkan penurunan terhadap pertumbuhan populasi. Fluktuasi salinitas ini juga akan menghambat proses respirasi sehingga proses fotosintesis akan terganggu yang mengakibatkan pembentukan sel baru terhambat (Kusdarwati *et al.*, 2011). Mikroalga salah satunya *Dunaliella* sp. mempunyai toleransi salinitas antara 12 - 40 ppt (FAO, 1991).

2.4.2 Nutrisi

Nutrien adalah substansi yang dibutuhkan untuk bertahan hidup dan pertumbuhan (Rahmad *et al.*, 2013). Menurut Armanda (2013), secara umum pada saat kultur mikroalga membutuhkan berbagai macam senyawa anorganik baik hara makro (N, P, K, S, Na, dan Ca) maupun hara mikro (Fe, Zn, Cu, Mg, Mo, Co, B).

a. Unsur Makro

Unsur hara makronutrisi didefinisikan sebagai unsur hara yang digunakan untuk pertumbuhan dan perbanyakan sel. Unsur hara tersebut terdiri atas kalsium (C), hidrogen (H), oksigen (O), nitrogen (N), sulfur (S), fosfor (P), kalium (K), dan Magnesium (Mg) (Kabinawa, 2006). Menurut Komarawidjaja (2011), fitoplankton memerlukan nutrisi makro (C, H, O, N, S, K, P) dalam perbandingan tertentu, sehingga kekurangan salah satu dari unsur tersebut akan menghambat pertumbuhannya. Pertumbuhan fitoplankton di perairan sangat dipengaruhi oleh nitrogen dan fosfor. Nitrogen salah satunya nitrat merupakan salah satu makronutrien yang sangat mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas biomassa alga karena dibutuhkan untuk pembentuk protein, lemak dan klorofil

(Hu dan Gao, 2006). Berdasarkan penelitian Kim *et al.* (2012), kebutuhan nitrat yang optimal untuk pertumbuhan *Dunaliella* yaitu 22 mg/L dan fosfat 1,6 mg/L.

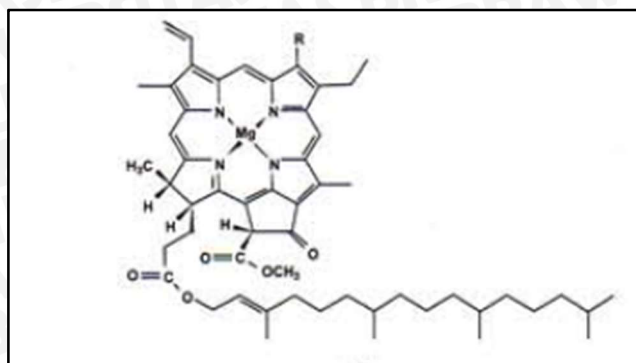
b. Unsur Mikro

Menurut Kwaroe *et al.* (2009), mikronutrien yang dibutuhkan mikroalga adalah Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn, dan Si. Unsur N dan P biasanya sering dijadikan faktor pembatas pertumbuhan mikroalga. Khusus bagi mikroalga yang memiliki kerangka dinding sel yang mengandung silikat, unsur Si juga turut berperan sebagai faktor pembatas. Menurut Komarawidjaja (2011), secara alamiah meskipun unsur mikro sebagian besar hanya dibutuhkan dalam jumlah sedikit, namun mikroalga tetap membutuhkan. Hal ini apabila kekurangan dari unsur tersebut akan menghambat pertumbuhannya.

2.5 Klorofil a *Dunaliella* sp.

Pigmen adalah substansi yang mempunyai warna dan terakumulasi di dalam sel, termasuk mikroalga (Tambayong, 2000). Secara umum pigmen yang terdapat dalam mikroalga *Dunaliella* sp. adalah klorofil dan karotenoid. Klorofil adalah kelompok pigmen fotosintesis yang mampu menyerap cahaya merah, biru dan ungu serta merefleksikan cahaya hijau yang menyebabkan mikroalga memperoleh ciri warnanya. *Dunaliella* sp. merupakan mikroalga autotrof dan jenis klorofil yang dimilikinya adalah klorofil a dan c. Peningkatan kandungan klorofil sejalan dengan kenaikan kepadatan sel *Dunaliella* sp. Kandungan klorofil *Dunaliella* sp. mencapai 102,29 mg/L (Agustini, 2010).

Menurut Nur (2014), klorofil dapat dijumpai di hampir semua mikroalga dan tersusun atas lebih dari satu jenis klorofil, seperti klorofil a (Gambar 4), klorofil b, dan klorofil c. Klorofil a adalah klorofil primer yang hampir dijumpai di sebagian besar mikroalga. Selain dapat digunakan sebagai pewarna pada bidang farmasi juga dapat digunakan sebagai produk kesehatan.



Gambar 4. Struktur Klorofil a (Pirenantyo dan Limantara, 2008).

2.6 Limbah Cair Tahu

Limbah cair adalah sisa dari suatu hasil usaha berwujud cair yang dibuang ke lingkungan dan dapat menurunkan kualitas lingkungan. Salah satunya yaitu limbah cair dari industri tahu (Junaidi dan Hatmanto, 2006). Menurut Ratnani (2011), limbah cair tahu ini biasanya didapatkan dari proses pembuatan seperti pada saat proses penyaringan, proses penekanan, pencucian kedelai dan air bekas rendaman kedelai. Limbah cair tahu mengandung zat padat tersuspensi misalnya potongan tahu yang hancur pada saat pemrosesan karena kurang sempurna pada saat penggumpalan.

Menurut Irmanto dan Suyata (2009), limbah cair industri tahu mengandung sejumlah besar karbohidrat, lemak dan protein. Molekul organik yang terdapat dalam limbah cair industri tahu secara garis besar mengalami perombakan oleh mikroorganisme pengurai terutama karbohidrat, lemak, dan protein yang terkandung di dalamnya. Bahan organik kompleks berupa karbohidrat, lemak, dan protein mula - mula diubah menjadi bentuk senyawa yang lebih sederhana seperti glukosa, gliserol, asam lemak, dan asam amino. Asam amino yang merupakan hasil dari perombakan protein akan dioksidasi menjadi nitrogen amonia (NH_3). Senyawa (NH_3) akan dioksidasi lagi menjadi nitrit (NO_2^-). Apabila

oksigen tersedia akan dioksidasi lagi menjadi nitrat (NO_3^-). Adapun kandungan limbah cair tahu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Limbah Cair Tahu (Irmanto dan Suyata, 2009).

Karakteristik Fisik dan Kimia	Nilai
Padatan Terendap (mg/L)	170 - 190
Padatan Tersuspensi (mg/L)	638 - 660
Padatan total (mg/L)	668 - 703
Warna (pt Co)	2225 - 250
Kekeruhan (FTU)	524 - 585
Amonia - Nitrogen (mg/L)	23,3 - 23,5
Nitrit - Nitrogen (mg/L)	0,1 - 0,5
Nitrat - Nitrogen (mg/L)	3,5 - 4,0
pH	4 - 6
BOD (mg/L)	6.000 - 8.000
COD (mg/L)	7.500 - 14.000
Abu (%)	0,19
Protein (%)	0,08
Karbohidrat (%)	0,51
Pati (%)	0,46

2.7 Fermentasi Limbah Cair Tahu

Fermentasi adalah suatu aktivitas mikroorganisme baik aerob maupun anaerob untuk mendapatkan energi diikuti terjadinya perubahan kimiawi substrat organik. Proses fermentasi dapat menggunakan perlakuan penambahan inokulum dan ada yang secara alami (Suprihatin dan Perwitasari, 2010). Menurut Santi (2008), peran mikroorganisme dalam proses fermentasi sangat besar dan biasanya mikroorganisme yang digunakan untuk fermentasi mempunyai beberapa syarat diantaranya mempunyai kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat yang cocok secara cepat, mempunyai genetik yang stabil (tidak mudah mengalami mutasi), dan mempunyai sifat regenerasi yang cepat.

Pemanfaatan limbah cair tahu dapat diaplikasikan menjadi pupuk organik yaitu melalui proses fermentasi biologi dengan menggunakan mikroba proteolitik.

Mikroba proteolitik dapat menghasilkan enzim protease yang mampu mengubah protein menjadi asam amino salah satunya yaitu *B. subtilis*. Proses fermentasi ini bertujuan untuk menghidrolisis limbah cair tahu menjadi rantai nitrogen yang paling pendek, sehingga dapat dimanfaatkan mikroalga untuk memenuhi nutriennya (Alamsjah *et al.*, 2011).

2.8 Pengaruh Limbah Cair Tahu terhadap Mikroalga

Berdasarkan penelitian Fadilla (2010), media limbah cair tahu berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga karena limbah cair tahu memiliki unsur - unsur penting yang dapat digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya. Pertumbuhan sel tertinggi berada pada konsentrasi limbah cair tahu 30%. Hal ini karena pada konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi yang tepat untuk pertumbuhan mikroalga. Pada konsentrasi 10% dan 20% pertumbuhan sel rendah akibat rendahnya konsentrasi nutrisi sedangkan pada konsentrasi 40% kepadatan jumlah selnya juga rendah karena konsentrasi nutrisi yang terlalu tinggi tersebut justru akan meracuni sel - sel mikroalga, sehingga nutrisi menjadi faktor pembatas bagi pertumbuhan yang akan berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan dan ketersediaan nutrisi yang cukup akan menyebabkan terjadinya pembelahan sel dengan cepat.

Menurut penelitian Rahmad *et al.* (2013), air dadih (*whey*) tahu juga berpengaruh terhadap pertumbuhan *Botryococcus braunii*. Pada konsentrasi 5% laju pertumbuhannya rendah, hal ini dikarenakan kurangnya air dadih (*whey*) tahu dalam media kultivasi yang dibutuhkan oleh *B. braunii* sehingga mempengaruhi kemampuan pembelahan sel yang menyebabkan menurunnya laju pertumbuhan. Berbeda halnya dengan konsentrasi 15% laju pertumbuhan *B. braunii* lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan unsur hara yang terdapat di dalam air dadih (*whey*) tahu dapat dimanfaatkan dengan baik oleh *B.*

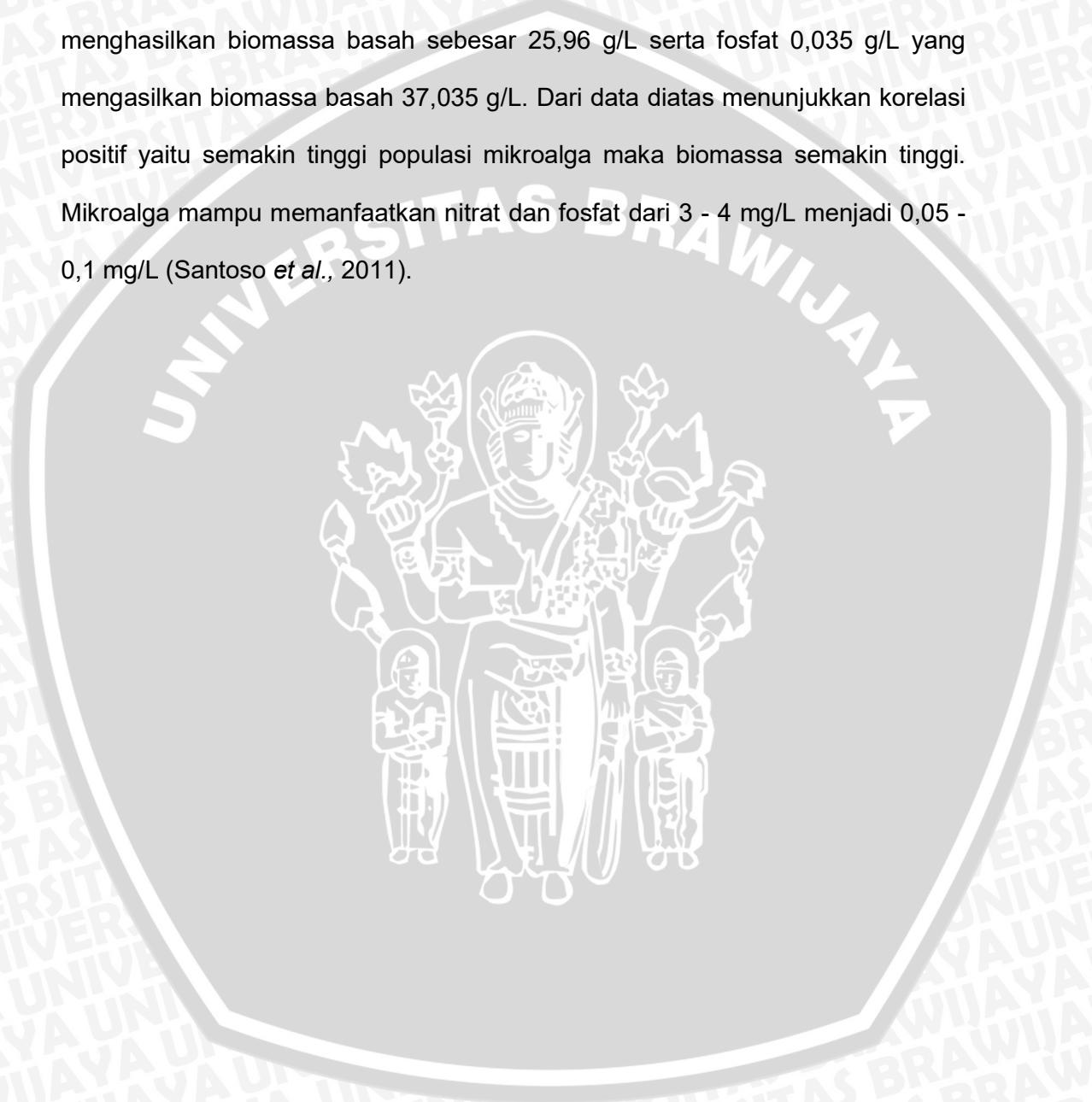
braunii sehingga tercapai laju pertumbuhan yang baik. Pada konsentrasi 20% dan 25% laju pertumbuhan *B. braunii* justru menjadi lebih rendah. Hal ini disebabkan unsur hara yang terkandung di dalamnya terlalu tinggi. Jika unsur hara terlalu tinggi akan menyebabkan pertumbuhan mikroalga terhambat karena mikroalga tersebut tidak dapat memanfaatkan nutrisi secara efektif sehingga akan menghasilkan tumpukan bahan organik yang bersifat racun bagi mikroalga.

2.9 Pengaruh Nitrat dan Fosfat terhadap Mikroalga

Dalam kegiatan sehari-hari peran nitrat berhubungan dengan aktivitas fotosintesis, sehingga secara langsung atau tidak nitrat sangat penting dalam proses metabolisme dan respirasi. Phosphor merupakan penyusun Adenosin Triphosphat (ATP) yang secara langsung berperan dalam proses penyimpanan dan transfer energi yang terkait dalam proses metabolisme (Agustini, 2014). Menurut Oktafiani dan Hermana (2013), nitrat merupakan hasil akhir dari proses nitrifikasi. Nitrifikasi ialah proses dimana dengan bantuan bakteri yang mereduksi komponen nitrogen - ammonia menjadi nitrit dan nitrit menjadi nitrat. Kemudian nitrat inilah yang akan dimanfaatkan untuk pertumbuhan mikroalga, sedangkan untuk fosfat yang banyak dimanfaatkan oleh mikroalga dalam bentuk ortofosfat (HPO_4^-).

Nitrat dan fosfat sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa maupun kandungan pigmen mikroalga. Berdasarkan hasil penelitian Muhaemin *et al.* (2014), bahwa pengurangan konsentrasi nitrat anorganik (NaNO_3) pada media kultur cenderung memberikan penurunan terhadap kepadatan sel mikroalga sehingga akan menyebabkan produksi biomassa menurun. Konsentrasi nitrat dan fosfat memiliki pengaruh sebesar 91,07% terhadap produksi biomassa mikroalga dan sisanya dipengaruhi oleh faktor lain seperti suhu, pH dan salinitas (Brahmantara *et al.*, 2016). Menurut Agustini (2014),

penambahan nitrat dan fosfat selain berpengaruh terhadap biomassa juga berpengaruh terhadap kandungan klorofil. Penambahan biomassa sejalan dengan peningkatan kandungan karotenoid. Peningkatan kandungan biomassa tertinggi dicapai pada media dengan penambahan nitrat 1,5 g/L yang menghasilkan biomassa basah sebesar 25,96 g/L serta fosfat 0,035 g/L yang menghasilkan biomassa basah 37,035 g/L. Dari data diatas menunjukkan korelasi positif yaitu semakin tinggi populasi mikroalga maka biomassa semakin tinggi. Mikroalga mampu memanfaatkan nitrat dan fosfat dari 3 - 4 mg/L menjadi 0,05 - 0,1 mg/L (Santoso *et al.*, 2011).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan antara lain 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 *D&N*, pipet volume *Pyrex Iwaki*, selang aerasi, *cover glass*, erlenmeyer 500 mL *Pyrex Iwaki*, gelas ukur 100 mL dan 1 L *Pyrex Iwaki*, *beaker glass* 1 L *Pyrex Iwaki*, 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 μ l *Eppendorf Research Plus*, *blue tip*, *vacum pump* VE115 *value*, dan kalkulator.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan - bahan yang digunakan antara lain *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 ((NH_2)₂CO), NaOH, lugol, asam fenol disulfonik, NH_4OH , ammonium molybdate, SnCl_2 , aluminium foil, tisu, kapas, kertas label, kertas koran, kain kasa, dan benang kasur.

3.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah campuran air laut dan air tawar. Air laut yang digunakan diperoleh dengan cara membeli di Toko Tirta Malang kemudian ditampung dalam bak besar sedangkan air tawar diperoleh

dari sumur yang berada di Laboratorium Reproduksi Ikan. Air media yang digunakan tersebut harus disterilkan terlebih dahulu untuk menghindari kontaminasi dari mikroorganisme yang tidak diinginkan. 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 (Lampiran 1) selama 48 jam. Hal ini untuk mengubah bahan organik menjadi anorganik supaya dapat dimanfaatkan oleh mikroalga.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah 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. Tujuan dari penelitian eksperimen yaitu untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan - perlakuan pada beberapa kelompok eksperimental dan penyelidikan kontrol untuk perbandingan. Penelitian eksperimen dapat mengubah teori - teori yang lama, percobaan dilakukan untuk menguji hipotesis serta untuk menemukan hubungan sebab akibat yang baru.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan ini banyak digunakan untuk percobaan laboratorium dan rumah kaca karena satuan - satuan percobaan selain perlakuan dapat diatur sehingga memenuhi homogenitas (Tapehe, 2015). Beberapa keuntungan dari penggunaan RAL antara lain denah perancangan percobaan lebih mudah, analisis statistika

terhadap subyek percobaan sangat sederhana, fleksibel dalam penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan. Penggunaan RAL akan tepat jika bahan percobaan homogen dan jumlah perlakuan terbatas (Gaspersz, 1991).

Menurut Sastrosupadi (2002), model untuk RAL yaitu sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

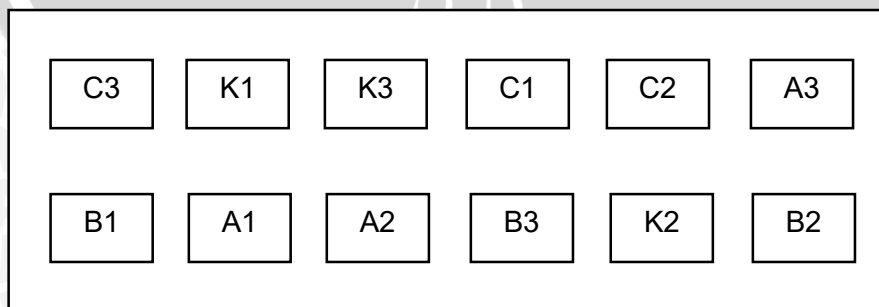
Keterangan:

- Y_{ij} = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke - i dan ulangan ke - j
 μ = Nilai rata - rata
 α_i = Pengaruh perlakuan ke - i
 ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke - i dan ulangan ke - j

Penelitian ini dilakukan dengan perlakuan pemberian pupuk limbah cair tahu sebagai media kultur dan untuk kontrol menggunakan pupuk walne yang kandungannya dapat dilihat pada Lampiran 2. Perlakuan yang digunakan adalah sebagai berikut:

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

Pada perlakuan tersebut diberi ulangan sebanyak 3 kali yang ditempatkan secara acak. Berikut denah percobaan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Denah Percobaan

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

Dosis yang digunakan untuk penelitian tersebut didasarkan atas penelitian pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya. Dosis untuk penelitian pendahuluan yaitu 60 mL/L, 120 mL/L, dan 180 mL/L. Dosis terbaik didapatkan pada dosis 120 mL/L dengan kepadatan sel $6,83 \times 10^5$ sel/mL yang terjadi pada hari ke 5, tetapi perlakuan kontrol menggunakan pupuk walne 1 mL/L menunjukkan hasil yang lebih tinggi yaitu $45,00 \times 10^5$ dengan padat tebar 1×10^5 sel/mL. Hal ini dikarenakan nutrisi yang ada di dalam pupuk walne lebih banyak dibandingkan dengan pupuk limbah cair tahu yang hanya mengandung N total 21,03 mg/L dan P 1,85 mg/L (Lampiran 3). Hasil tersebut diperoleh dari uji nitrat dan fosfat yang dilakukan di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Penggunaan pupuk limbah cair tahu tersebut masih kurang optimal untuk meningkatkan pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. sehingga perlu penambahan pupuk lain seperti urea yang mengandung N 46% untuk meningkatkan pertumbuhan *Dunaliella* sp. Berdasarkan kebutuhan nutrisi *Dunaliella* sp. diperlukan N:P sebesar 16:1 (Donghui *et al*, 2016), sehingga dilakukan penambahan urea sebanyak 17,93 mg/L (Lampiran 4). Penambahan urea dengan dosis tersebut masih belum menghasilkan pertumbuhan yang optimal karena kepadatan sel yang didapatkan pada hari ke 5 kultur sebesar $8,08 \times 10^5$ sel/mL, selanjutnya dilakukan penambahan urea hingga 200 mg/L yang menghasilkan kepadatan sel $69,30 \times 10^5$ sel/mL. Oleh karena itu perlu dilakukan penambahan urea untuk meningkatkan pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. hingga melebihi kontrol.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi yaitu suatu proses membunuh segala bentuk kehidupan mikroorganisme yang ada dalam sampel dan alat - alat atau lingkungan tertentu. Kegiatan kultur diawali dengan proses sterilisasi alat dan bahan (Lampiran 5). Sterilisasi yang digunakan adalah sterilisasi menggunakan autoklaf dan sterilisasi kimia. Sterilisasi autoklaf digunakan pada alat yang terbuat dari kaca dan sterilisasi kimia menggunakan klorin.

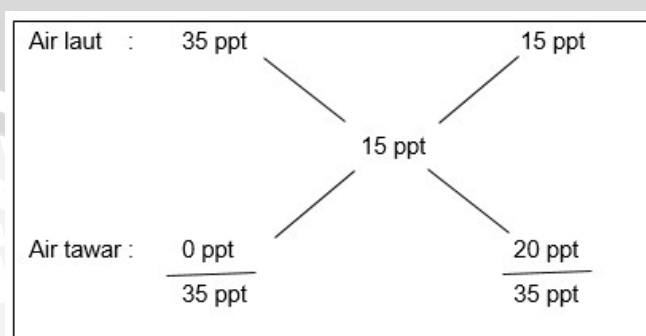
Peralatan yang disterilisasi menggunakan autoklaf seperti pipet tetes dan pipet volume terlebih dahulu dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air tawar kemudian ditunggu hingga kering. Selanjutnya untuk pipet ditutup kapas dan dibungkus dengan kertas koran lalu diikat menggunakan benang kasur. Setelah itu, diatur ke dalam autoklaf dan ditutup rapat. Prinsip kerja autoklaf yaitu bekerja pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm yang dioperasikan selama 15 menit (Wulandari *et al.*, 2004). Peralatan lain seperti toples kaca, erlenmeyer, *beaker glass*, dan gelas ukur disterilisasi dengan cara sebelumnya dicuci dengan sabun kemudian dibilas bersih dan direndam dengan air tawar yang diberi klorin 30 mg/L selama 24 jam, lalu diberi Na thiosulfat 15 mg/L hingga bau klorin hilang. Setelah itu, toples dibilas dengan air tawar (Suminto, 2009).

Media kultur berupa air tawar dan air laut disterilisasi dengan menggunakan klorin sebanyak 30 mg/L selama 24 jam, kemudian dinetralkan menggunakan Na thiosulfat sebanyak 15 mg/L dan diaerasi (Suminto, 2009). Media yang digunakan ditampung terlebih dahulu pada bak besar kemudian disterilisasi.

Limbah cair tahu sebelum digunakan disaring menggunakan *vacum pump* untuk menghilangkan partikel - partikel yang tidak terlarut (Widanti dan Susilawati, 2011). Limbah cair tahu kemudian dipasteurisasi pada suhu 65°C selama 30 menit, didinginkan dalam lemari es selama 30 menit lalu dibiarkan pada suhu ruangan selama 24 jam. Proses ini diulang sebanyak tiga kali (Somaye *et al.*, 2008). Kemudian Bakteri *B. subtilis* dimasukkan pada limbah cair tahu dengan kepadatan sel 1×10^8 sel/mL dan difermentasi selama 48 jam. Menurut Somaye *et al.* (2008), pupuk limbah cair tahu kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Sebelum diautoklaf limbah cair tahu diberi NaOH sampai pH menjadi netral pada angka 8 (Setioningsih *et al.*, 2014).

b. Penyiapan Media Kultur

Media kultur yang digunakan adalah campuran air laut dan air tawar. Salinitas yang diinginkan adalah 15 ppt. Media kultur yang digunakan ditampung di dalam bak besar. Sebelum digunakan dalam penelitian, media kultur dimasukkan ke dalam toples kaca sebanyak yang dibutuhkan dan dicampur dengan pupuk limbah cair tahu sesuai perlakuan penelitian. Kemudian untuk mendapatkan media kultur bersalinitas 15 ppt dilakukan pengenceran menggunakan air tawar. Pengenceran tersebut dihitung menggunakan rumus bujur sangkar dengan perhitungan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Pengenceran Metode Bujur Sangkar

c. Penyiapan Inokulan *Dunaliella* sp.

Inokulan *Dunaliella* sp. diperoleh dari kultur murni Balai Besar Riset Perikanan Budidaya dan Pengembangan Budidaya Laut (BBRPBL) Gondol, Bali. Inokulan yang didapat dari balai kemudian dikultur untuk diperbanyak. Hasil dari kultur tersebut kemudian dijadikan inokulan kembali. Kultur perbanyakan dilakukan menggunakan erlenmeyer 500 mL yang kemudian diisi media air laut bersalinitas 15 ppt sebanyak 300 mL dan ditambah pupuk walne 1 mL/L. Erlenmeyer yang berisi media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit untuk menghilangkan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Setelah media dingin ditambah vitamin 1 mL/L. Walne dan vitamin didapat dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo. Kemudian inokulan *Dunaliella* sp. dimasukkan. Selanjutnya diaerasi dan ditutup plastik lalu diikat dengan karet gelang. Kultur untuk inokulan menggunakan suhu 28°C, intensitas cahaya 3.000 lux, dan fotoperiode 24 jam terang. *Dunaliella* sp. dikultur hingga fase logaritmik. Selanjutnya dipanen dan dihitung kepadatan sel awal untuk mengetahui seberapa banyak inokulan *Dunaliella* sp. yang dibutuhkan untuk ditebar dalam media kultur. Setelah diketahui kepadatan sel awal maka dilakukan pengenceran. Menurut Ekawati (2011), pengenceran digunakan untuk menghitung jumlah inokulan plankton yang dikehendaki untuk kultur maupun diberikan sebagai pakan larva. Untuk menghitung jumlah inokulan yang dikehendaki dapat dihitung menggunakan rumus:

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Keterangan:

- V1 : Volume inokulan untuk penebaran awal (mL)
- N1 : Jumlah inokulan yang akan ditebar (sel/mL)
- V2 : Volume media kultur yang dikehendaki (mL)
- N2 : Jumlah inokulan yang dikehendaki (sel/mL)

3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

Toples yang telah disterilisasi diletakkan di atas rak yang telah dipasang lampu dengan intensitas cahaya 3.000 lux, salinitas yang digunakan untuk kultur yaitu 15 ppt dengan suhu 28°C dan fotoperiode 24 jam terang. Toples ditata sesuai dengan denah percobaan kemudian dimasukkan air laut sesuai dosis yang telah ditentukan dan pupuk limbah cair tahu sesuai perlakuan yaitu K (1 mL/L pupuk walne), A (60 mL/L pupuk limbah cair tahu + urea 200 mg/L), B (120 mL/L pupuk limbah cair tahu + urea 200 mg/L), dan C (180 mL/L pupuk limbah cair tahu + urea 200 mg/L). Volume media kultur yang digunakan adalah 1,7 liter. Setelah itu media diaerasi beberapa saat sampai tercampur merata, kemudian inokulan *Dunaliella* sp. dengan kepadatan sel awal 1×10^5 sel/mL dimasukkan ke dalam media menggunakan pengenceran (Zhang *et al.*, 2015). Pengamatan pertumbuhan dilakukan setiap hari selama masa kultur. Pengukuran biomassa dan kandungan klorofil a *Dunaliella* sp. dilakukan pada puncak populasi sel tertinggi. Parameter penunjang yang diukur pada media pemeliharaan meliputi suhu, pH, salinitas, oksigen terlarut, nitrat, dan fosfat.

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diukur dalam penelitian ini meliputi Pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a.

a. Pertumbuhan

Pertumbuhan dihitung berdasarkan kepadatan sel *Dunaliella* sp. yang dilakukan setiap hari dari awal kultur hingga akhir percobaan. Perhitungan kepadatan sel *Dunaliella* sp. dilakukan menggunakan metode penghitungan konsentrasi sel 0,1 mm deep *Neubauer haemocytometer* dan alat bantu mikroskop. Rumus perhitungan yang digunakan 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 sebagai berikut:

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

- Laju Pertumbuhan Spesifik

Perhitungan laju pertumbuhan spesifik dihitung dari pertumbuhan saat awal kultur hingga puncak kelimpahan maksimum. Laju pertumbuhan spesifik menurut Mayers *et al.* (2014), dihitung dengan menggunakan rumus:

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

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 (dt) ialah waktu pengandaan sel biomassa *Dunaliella* sp. Waktu penggandaan sel (dt) merupakan rata - rata waktu generasi konsentrasi sel yang dihitung dari laju pertumbuhan berdasarkan rumus menurut Ak *et al.* (2008), sebagai berikut:

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

b. Biomassa Kering

Biomassa *Dunaliella* sp. dianalisis berdasarkan Janssen *et al.* (1999), bahwa sampel mikroalga yang digunakan untuk analisis biomassa dianalisis pada saat puncak populasi sel tertinggi. Kertas saring GF/C (diameter 90 mm)

dioven pada suhu 105°C selama 2 jam hingga beratnya konstan [A]. Sampel suspensi mikroalga 25 mL di *filter* melalui kertas saring GF/C dan dicuci dengan 25 mL akuades untuk menghindari kontaminasi garam. 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]. Setelah dingin, kertas saring diletakkan didesikator selama 30 - 60 menit, kemudian beratnya ditimbang kembali [B]. Rumus:

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

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. Cara pengukuran kandungan pigmen modifikasi Bennet dan Bogarad (1973) dan Lichtenthaler (1987), yaitu diambil 5 mL sampel lalu dimasukkan dalam falcon dan dibungkus aluminium foil tertutup rapat. Setelah itu disentrifugasi pada 5.000 rpm selama 20 menit dan dibuang supernatannya. Dilakukan proses *freezing - thawing* masing - masing 15 menit (hingga membeku dan mencair) sebanyak 3 kali ulangan. Ditambahkan *methanol absolute* 5 mL dan divortex sampai homogen. Kemudian direbus pada suhu 70°C selama 30 menit. Diinkubasi pada suhu 4°C selama 24 jam. Kemudian sampel disentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit. Lalu diambil supernatan jernihnya untuk diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 665 nm dan 652 nm. Perhitungan klorofil a dihitung berdasarkan rumus Ritchie (2006) yaitu sebagai berikut:

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

3.6.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diukur dalam penelitian ini adalah kualitas air yang meliputi suhu, pH, DO dan salinitas, nitrat, dan fosfat.

a. Suhu

Pengukuran suhu dilakukan menggunakan termometer yang dicelupkan pada media kultur lalu dicatat hasilnya. Pengukuran dilakukan dua 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.

d. 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.

e. 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).

f. 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 SnCl₂ 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).

3.7 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 ($F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$) maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Kemudian dilanjutkan dengan uji polinomial orthogonal untuk menentukan dan mengetahui respon perlakuan dengan parameter yang diukur.

4. 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 a *Dunaliella* sp. seperti pada Tabel 2. Adapun perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6, Lampiran 7, dan Lampiran 8.

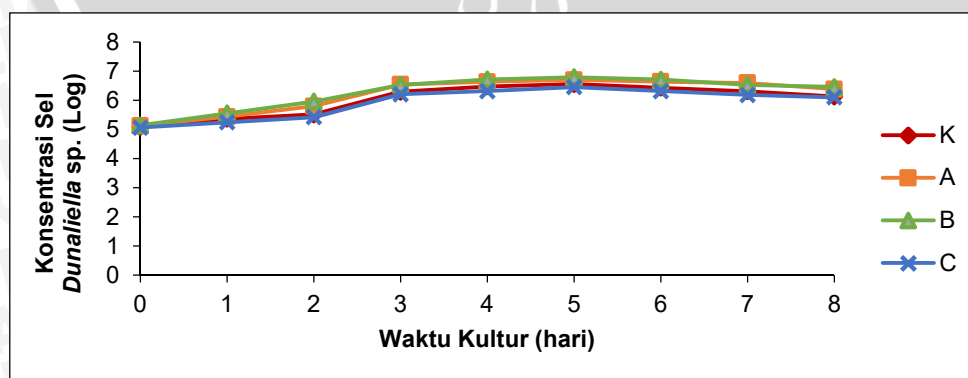
Tabel 2. Laju Pertumbuhan Spesifik, Biomassa, dan Klorofil a *Dunaliella* sp.

Parameter	Perlakuan Pupuk mL/L			
	K (walne 1)	A (60)	B (120)	C (180)
Laju Pertumbuhan Spesifik (/hari)	0,679±0,020 ^b	0,723±0,032 ^b	0,778±0,008 ^c	0,639±0,007 ^a
Biomassa (g/L)	0,191±0,026 ^a	0,253±0,026 ^b	0,385±0,014 ^c	0,181±0,037 ^a
Klorofil a (µg/mL)	2,594±0,153 ^b	2,765±0,098 ^b	3,481±0,170 ^c	2,131±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 2. menunjukkan bahwa pupuk limbah cair tahu yang berbeda berpengaruh terhadap laju pertumbuhan, biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp.

4.1 Pertumbuhan *Dunaliella* sp.



Gambar 7. Rata - rata Pertumbuhan *Dunaliella* sp.

Keterangan:

- K : Pemberian pupuk walne 1 mL/L
- A : Pemberian pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L
- B : Pemberian pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L
- C : Pemberian pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L

Hasil penelitian (Gambar 7) 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. Data hasil pengamatan lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6. Fase adaptasi terjadi pada perlakuan C mulai hari 0 (saat pemasukan inokulan) sampai hari ke-1. Menurut Armanda (2013), pada fase ini mikroalga belum menunjukkan pertumbuhan populasi (kenaikan jumlah sel) yang nyata karena sel masih beradaptasi dengan media (nutrien) dan lingkungan kulturnya, namun sebenarnya sel tersebut sudah memanfaatkan nutrien yang sudah ada meskipun belum optimal untuk proses metabolisme sehingga pembelahan selnya belum optimal. Selain itu karena ketidaksesuaian nutrien yang ada di dalamnya dengan yang dibutuhkan sehingga pembelahan sel lambat. 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. Hal ini dapat terjadi karena fase adaptasi ini berlangsung singkat kurang dari 24 jam sehingga tidak dapat diamati (Prihantini *et al.*, 2005). 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. Hal ini juga didukung oleh pernyataan Prihantini *et al.* (2005), bahwa salah satu faktor yang menentukan lamanya fase adaptasi adalah umur kultur yang digunakan sebagai inokulan. Selain itu disebabkan sel - sel yang diinokulasikan cepat beradaptasi terhadap media kultur dan media kultur yang digunakan sesuai dengan media pertumbuhan yang dibutuhkan mikroalga untuk tumbuh.

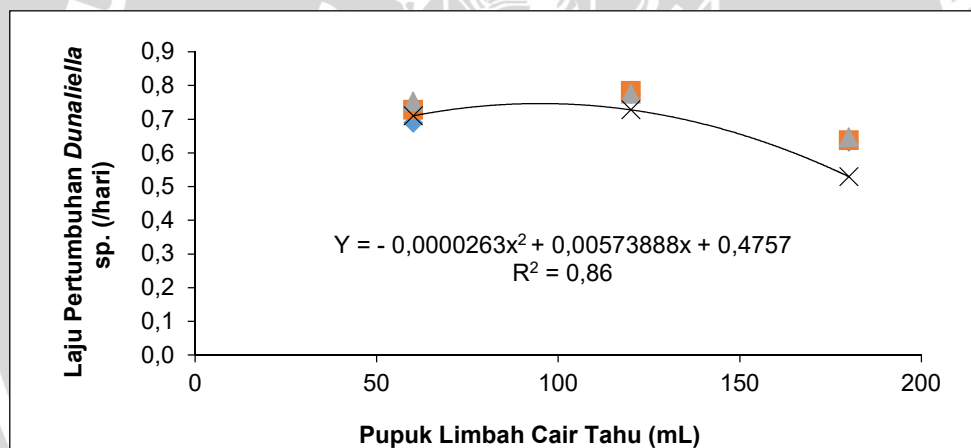
Fase eksponensial pada penelitian ini terjadi pada hari ke-1 sampai hari ke-5 untuk perlakuan C, sedangkan untuk perlakuan K, A, dan B mengalami fase eksponensial mulai hari ke-0 sampai hari ke-5 karena pada perlakuan ini tidak mengalami fase adaptasi. Menurut Prihantini *et al.* (2007), inokulasi mikroalga 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. Selain itu, ketersediaan nutrisi dalam media sesuai dengan yang dibutuhkan sehingga metabolisme sel cepat yang menyebabkan pertumbuhan tinggi (Weeks, 2011).

Setelah fase eksponensial terjadi fase kematian. Pada penelitian ini tidak terjadi fase stasioner. Hal ini sesuai dengan penelitian Budiardi *et al.* (2010), bahwa fase stasioner tidak terlihat jelas karena fase stasioner berlangsung dengan cepat sehingga tidak teramati dalam selang waktu 24 jam. 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). Selain itu ketersediaan nutrisi yang berkurang, hal ini juga

disebabkan karena parameter kualitas air yang menurun sehingga sel tidak mampu tumbuh dan berkembang yang menyebabkan sel akan berkurang setiap harinya (Suantika dan Hendrawandi, 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).

Hasil perhitungan polynomial orthogonal Laju pertumbuhan spesifik *Dunaliella* sp. didapatkan kurva respons dengan pola kuadratik seperti pada Gambar 8.



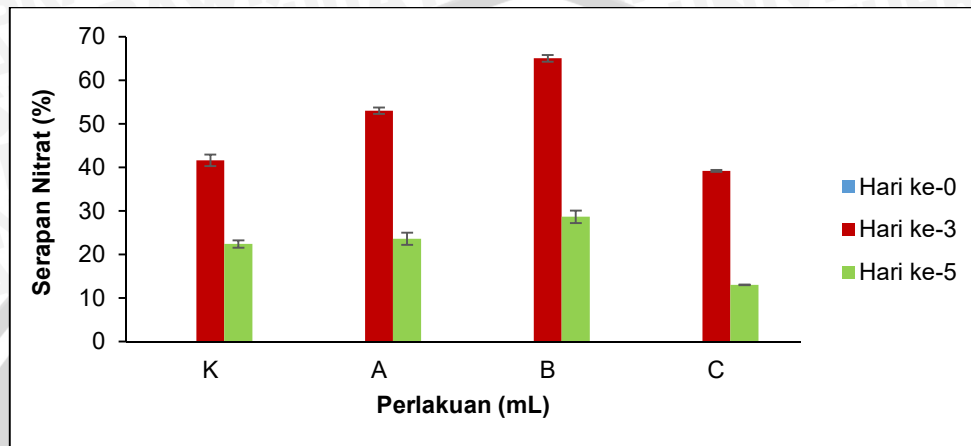
Gambar 8. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik *Dunaliella* sp.

Hubungan antara perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda terhadap laju pertumbuhan spesifik *Dunaliella* sp. menunjukkan persamaan kuadratik $Y = -0,0000263x^2 + 0,00573888x + 0,4757$ dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) yaitu 0,86, artinya pupuk limbah cair tahu berpengaruh 86% terhadap laju pertumbuhan spesifik. Dari persamaan tersebut 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 Handajani (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. Kandungan C organik pada penelitian ini yaitu 0,60 % (Lampiran 3).

Perubahan pertumbuhan dan laju pertumbuhan spesifik mikroalga juga berbanding lurus dengan serapan nutrisi yang dibutuhkan meliputi nitrat dan

fosfat. Pada hasil pertumbuhan yang tinggi serapan nitrat dan fosfat juga lebih tinggi. Laju pertumbuhan spesifik akan meningkat hingga mencapai laju pertumbuhan maksimum kemudian akan menurun dengan adanya penurunan kualitas dan kuantitas nutrisi dalam media kultur.



Gambar 9. Serapan Nitrat pada Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda

Keterangan:

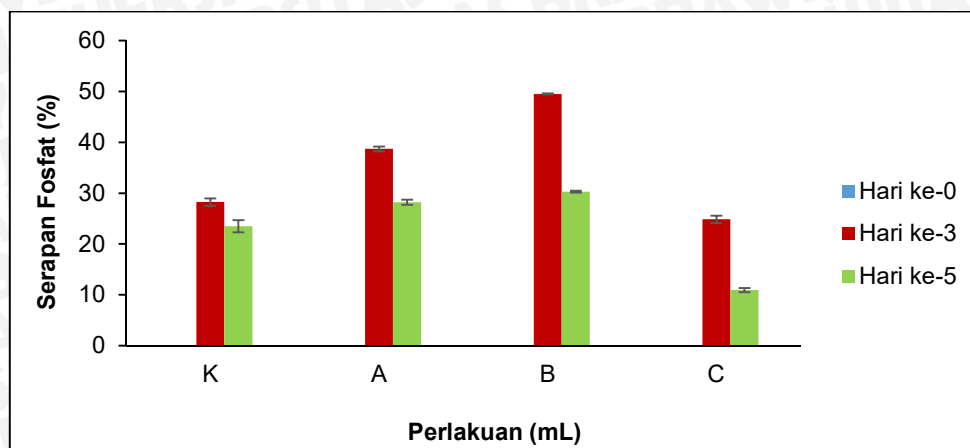
- K = Perlakuan Kontrol (pupuk walne 1 mL/L)
- A = Pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L
- B = Pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L
- C = Pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L
- 1,2, dan 3 = Ulangan

Berdasarkan Gambar 9 serapan nitrat *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%. Untuk lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 9. Dilihat dari hasil tersebut menunjukkan pola bahwa pada perlakuan B merupakan perlakuan terbaik dengan penyerapan mencapai titik maksimum dan akan terjadi penurunan pada perlakuan C. 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).

Konsentrasi sel yang tinggi akan menyerap nitrat dalam jumlah besar karena semakin banyaknya unsur nitrat yang dimanfaatkan untuk pertumbuhan dan reproduksi. 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. Menurut Faradilla dan Juwita (2011), semakin lama waktu kultur maka konsentrasi nitrat semakin berkurang, hal ini membuktikan bahwa mikroalga memanfaatkan nitrat untuk pertumbuhannya.

Selain nitrat, unsur lain yang dibutuhkan dalam pertumbuhan adalah fosfat. Pada hasil pertumbuhan yang tinggi serapan fosfat juga lebih tinggi. Serapan fosfat pada media kultur semakin menurun sejalan dengan lamanya hari kultur, hal ini menunjukkan bahwa *Dunaliella* sp. memanfaatkan fosfat untuk pertumbuhannya.



Gambar 10. Serapan Fosfat pada Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda

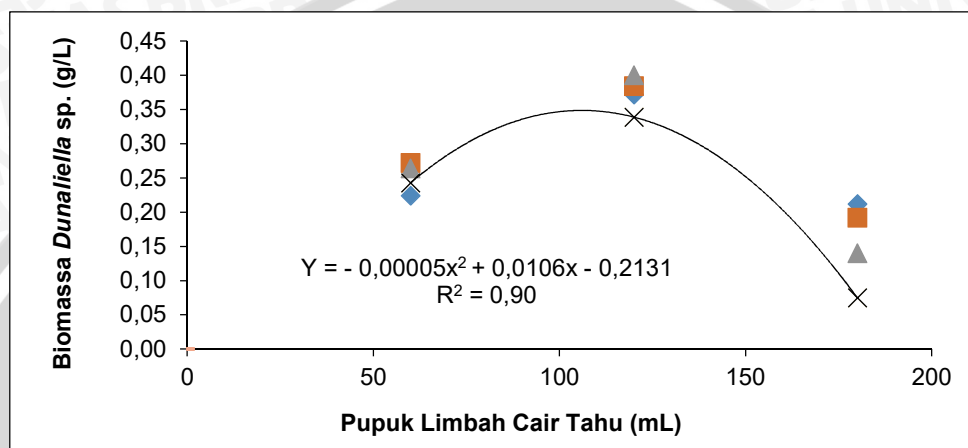
Keterangan:

- K = Pupuk 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, dan 3 = Ulangan

Berdasarkan Gambar 10 serapan fosfat 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% (Lampiran 10). Hasil tersebut menunjukkan pola bahwa pada perlakuan B merupakan hasil terbaik dengan total penyerapan fosfat mencapai titik yang maksimum dan akan terjadi penurunan pada perlakuan C. 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 tranfer energi dalam proses fotosintesis maupun pembentukan klorofil. Kandungan P pada media akan menurun seiring dengan meningkatnya pertumbuhan.

4.2 Biomassa *Dunaliella* sp.

Berdasarkan Tabel 2 pupuk limbah cair tahu berpengaruh terhadap biomassa *Dunaliella* sp. dan untuk lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 7. Berdasarkan perhitungan uji polinomial didapatkan kurva respons dengan pola kuadratik seperti pada Gambar 11.



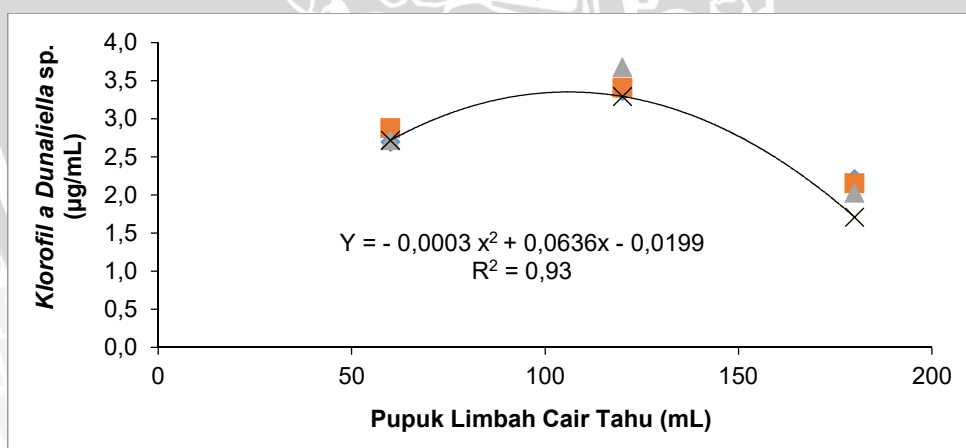
Gambar 11. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda terhadap Biomassa *Dunaliella* sp.

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 artinya pupuk limbah cair tahu berpengaruh 90% terhadap biomassa *Dunaliella* sp. Berdasarkan persamaan tersebut didapatkan perlakuan terbaik pada dosis 106 mL/L yang mencapai titik puncak produksi biomassa sebesar 0,385 g/L dengan kepadatan $62,78 \times 10^5$ sel/mL. Selanjutnya terjadi penurunan produksi 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. Berdasarkan penelitian Rahmat *et al.* (2013), 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.

4.4 Klorofil a *Dunaliella* sp.

Data klorofil a *Dunaliella* sp. selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2 dan untuk lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 8. Berdasarkan perhitungan 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 $Y = -0,0003x^2 + 0,0636x - 0,0199$ yang memiliki nilai R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,93 artinya pupuk limbah cair tahu berpengaruh 93% terhadap klorofil a (Gambar 12).



Gambar 12. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda terhadap Klorofil a *Dunaliella* sp.

Berdasarkan persamaan tersebut didapatkan hasil terbaik pada dosis 106 mL/L yang mencapai titik puncak sebesar 3,481 µg/mL dan terjadi penurunan pada dosis yang lebih tinggi yaitu 180 mL/L dengan nilai sebesar 2,131 µg/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 Ochtreeani *et al.* (2014), nilai rata - rata kandungan klorofil berkisar antara 0,91 - 5,82 µg/mL. Jumlah klorofil yang tinggi ditandai warna hijau yang sangat pekat disertai kepadatan sel yang tinggi, karena jumlah klorofil berbanding lurus dengan kepadatan sel. Tinggi rendahnya kandungan klorofil fitoplankton ditentukan oleh banyak sedikitnya sel fitoplankton yang mempunyai bagian - bagian dinding sel yang berklorofil. Kandungan klorofil yang terdapat di dalam suatu perairan akan meningkat atau berkurang seiring dengan meningkatnya dan berkurangnya kelimpahan fitoplankton dalam perairan tersebut. 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

4.5 Kualitas Air

4.5.1 pH

Hasil pengamatan nilai pH selama penelitian yaitu berkisar antara 8,11 - 9,54 (Lampiran 11). Kisaran kandungan pH tersebut masih dapat ditoleransi oleh *Dunaliella* sp. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Kusdarwati *et al.* (2011), bahwa pH optimal untuk *Dunaliella* sp. berkisar antara 8 - 9.

Perubahan pH pada badan air terjadi akibat proses biologis yang terjadi. Dalam penelitian ini konsentrasi pH mengalami peningkatan selama masa pemeliharaan. Peningkatan pH media menunjukkan adanya peningkatan proses metabolisme mikroalga karena kepadatan sel yang semakin tinggi. Menurut Widiyanto *et al.* (2014), peningkatan pH terjadi karena adanya proses fotosintesis

4.5.2 Suhu

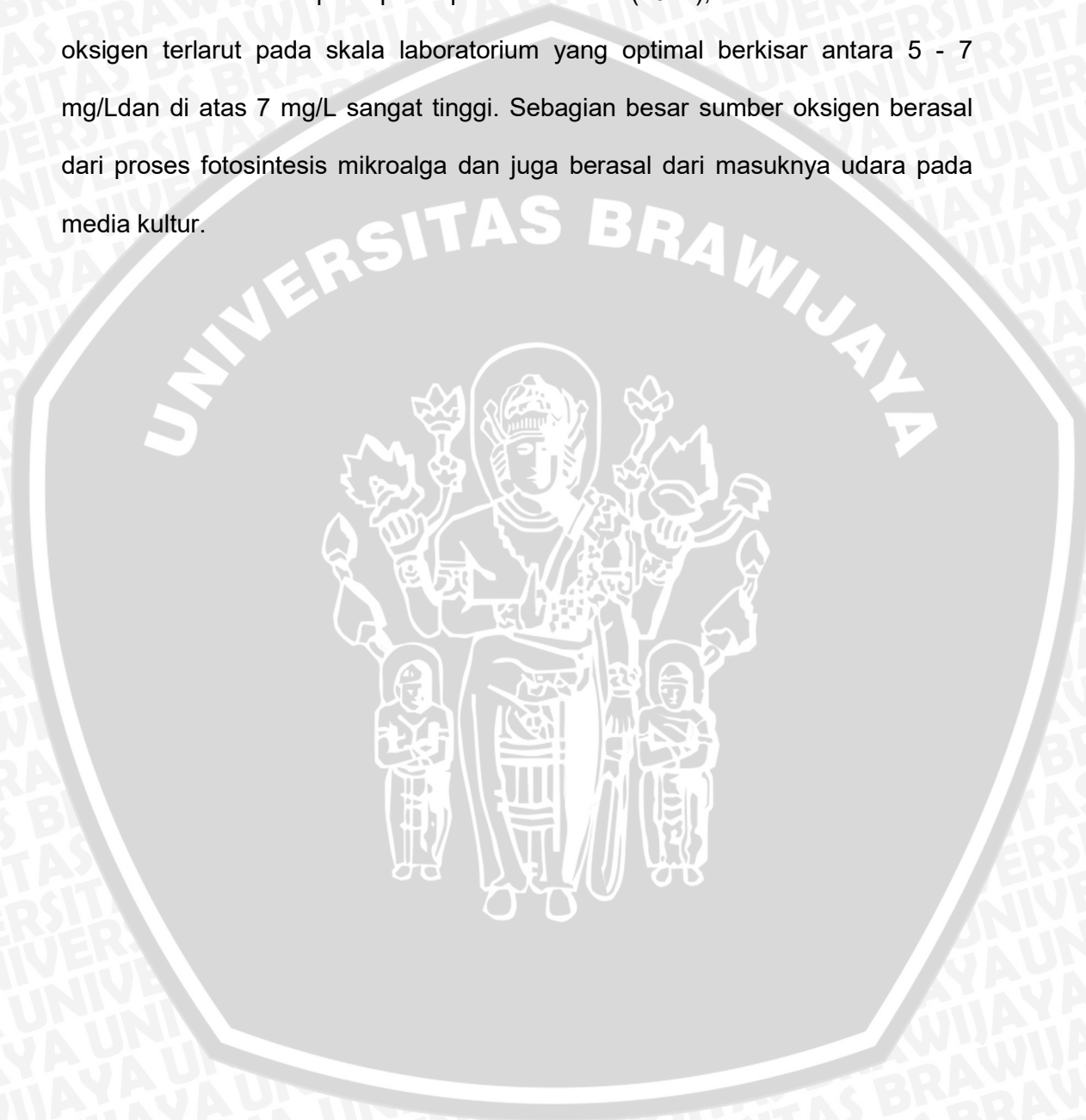
Hasil pengukuran suhu selama penelitian pada pagi hari berkisar antara 26 - 28°C, sementara suhu siang hari berkisar antara 28 - 29°C (Lampiran 12). Kisaran suhu ini masih terbilang baik untuk kultur mikroalga, seperti yang diungkapkan oleh Sachlan (1982), bahwa kisaran suhu yang optimal bagi pertumbuhan *Dunaliella* sp. berada pada rentang suhu 25 - 30°C. Menurut Endrawati dan Rianiatsih (2013), suhu air sangat berperan dalam kultur mikroalga di laboratorium, karena sangat mempengaruhi metabolisme sel. Suhu air ini dipengaruhi dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang berasal dari lampu (Masithah *et al.*, 2011).

4.5.3 Salinitas

Hasil pengukuran salinitas pada semua perlakuan diperoleh kisaran antara 15 - 20 ppt (Lampiran 13). 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). Menurut Kusdarwati *et al.* (2011), Naik turunnya salinitas dibawah kisaran sangat berpengaruh terhadap terhadap tekanan osmose dan mekanisme osmoregulasi yang mempengaruhi proses metabolisme dan mengakibatkan penurunan terhadap pertumbuhan populasi. Fluktuasi salinitas ini juga menghambat proses respirasi sehingga proses fotosintesis akan terganggu yang mengakibatkan pembentukan sel baru akan terhambat.

4.5.4 Oksigen Terlarut

Hasil pengukuran oksigen terlarut selama penelitian yaitu 6,12 - 7,79 mg/L (Lampiran 14). 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. Sebagian besar sumber oksigen berasal dari proses fotosintesis mikroalga dan juga berasal dari masuknya udara pada media kultur.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp. dapat disimpulkan sebagai berikut:

- 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.

5.2 Saran

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.
- Alamsjah, M.A., R.F. Christiana, dan S. Subekti. 2011. Pengaruh fermentasi limbah rumput laut *Gracilaria* sp. dengan *Bacillus subtilis* terhadap populasi plankton chlorophyceae. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **3** (2): 203 - 213.
- Arinto, D.J., H.P. Paramastri, dan D. Soetrisnanto. 2013. Potensi air dadih (*whey*) tahu sebagai nutrisi dalam kultivasi *Chlorella* sp. untuk bahan baku pembuatan biodisel. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. **2** (4): 233 - 242.
- Armanda, D.T. 2013. Pertumbuhan kultur mikroalga diatom *Skeletonema costatum* (greville) cleve isolat Jepara pada medium f/2 dan medium conway. *Bioma*. **2** (1): 49 - 63.
- 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.
- Brahmantara, G.I.B., A.A.M.D. Anggreni, dan I.B.W. Gunam. 2016. Pengaruh konsentrasi penambahan sodium nitrat dan sodium fosfat pada media guillard terhadap konsentrasi biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **3** (4): 1 - 10.

- Budiardi, T., N.B.P. Utomo, dan A. Santosa. 2010. Pertumbuhan dan Kandungan Nutrisi *Spirulina* sp. pada Fotoperiode yang Berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **9** (2): 146-156
- Campbell. N.A., J.B. Reece, and L.G. Mitchell. 1999. Biology. Terjemahan oleh Wasmen Manalu. 2003. Erlangga. Jakarta. 472 hlm.
- 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. *Fisheries 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.
- Donghui, S., X. Bo, S. Jing. 2016. Characterization of the Growth, Chlorophyll Content and Lipid Accumulation in a Marine Microalgae *Dunaliella tertiolecta* under Different Nitrogen to Phosphorus Ratios. *Journal Ocean*. **15** (1):124-130.
- Ekawati, A.W. 2005. Budidaya Makanan Alami. Diklat Kuliah. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 101 hlm.
- _____. 2011. Penuntun Praktikum Budidaya Makanan Alami. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 45 hlm.
- Endrawati, H. dan I. Rianiatsih. 2013. Kadar total lipid mikroalga *Nannochloropsis oculata* yang dikultur dengan suhu yang berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*. **1**: 25 - 33.
- 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. *Fisheries and Aquaculture Department*. USA. 361 pp.
- Faradilla, A. dan A.R. Juwita. 2011. Pemanfaatan air limbah pabrik pupuk kadar amonia tinggi sebagai media kultur mikroalga untuk perolehan sumber minyak nabati sebagai bahan bakar biodiesel. *Journal of Biotechnology*. **1** (1):1 - 6.
- Fogg, G. E dan B. Thake. 1987. Algal Cultures and Phytoplankton Ecology. The University of Wisconsin Press. pp. 219.

- Gaspersz, V. 1991. Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan. Tarsito. Bandung. 623 hlm.
- 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.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton. Kanisius. Yogyakarta. 116 hlm.
- 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.
- Junaidi dan B.P.D. Hatmanto. 2006. Analisis teknologi pengolahan limbah cair pada industri tekstil (studi kasus Pt. Iskandar indah printing textile Surakarta). *Jurnal presipitasi*. **1** (1): 1 - 6.
- Kabinawa, I.N.K. 2006. *Spirulina Ganggang Penggempur Aneka Penyakit*. AgroMedia Pustaka. Jakarta. 92 hlm.
- Kawaroe, M., T. Prartono, A. Sanuddin, D.W. Sari, dan D. Augustine. 2009. Laju pertumbuhan spesifik *Chlorella* sp. dan *Dunaliella* sp. berdasarkan perbedaan nutrisi dan fotoperiode. *Jurnal Ilmu - ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*. **16** (1): 73 - 77.
- Kendirlioglu, A., N. Agirman, and A. K. Cetin. 2015. The effects of photoperiod on the growth, protein amount and pigment content of *Chlorella vulgaris*. *Turkish Journal of Science and Technology*. **10**(2): 7 - 10.
- 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.
- Komarawidjaja, W. 2011. Kajian pemanfaatan limbah padat industri pengolahan rumput laut sebagai media kultur mikroalga *Chlorella* sp. *Jurnal Teknik Lingkungan*. **12** (3): 241 - 250.
- 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.
- Metting, F. B. 1996. Biodiversity and application of microalgae. *Journal Industrial Microbiology* **17**: 477- 489.
- Muhaemin, M. dan R.F. Kaswadji. 2010. Biomass nutrient profiles of marine microalgae *Dunaliella salina*. *Jurnal Penelitian Sains*. **13** (3): 64 - 67.
- _____, F. Practica, S.D. Rosi, dan T. Agustina. 2014. Starvasi nitrogen dan pengaruhnya terhadap biomassa dan protein total *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Maspari*. **6** (2): 98 - 103.
- Mulyadi, A. 1999. Pertumbuhan dan daya serap nutrien dari mikroalgae *Dunaliella tertiolecta* yang dipelihara pada limbah domestik. *Jurnal Natur Indonesia*. **11**(1): 65 - 68.
- Mulyanto, A. 2010. Mikroalga (*Chlorella* sp.) sebagai agensia penambat gas karbon dioksida. *Jurnal Hidrosfir Indonesia*. **5** (2): 13 - 23.
- Nopriani U., P.D.M.H. Karti, dan I. Prihantoro. 2014. Produktivitas duckweed (*Lemna minor*) sebagai hijauan pakan alternatif ternak pada intensitas cahaya yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. **19** (4): 272 - 286.
- Nur, M.M.A. 2014. Potensi mikroalga sebagai sumber pangan fungsional di Indonesia (overview). *Eksergi*. **11** (2): 1 - 6.
- 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.
- Oktafiani, M. dan J. Hermana. 2013. Pengaruh konsentrasi nutrien dan konsentrasi bakteri pada produksi alga dalam sistem bioreaktor proses batch. *Jurnal Teknik Pomits*. **2** (2): 57 - 62.

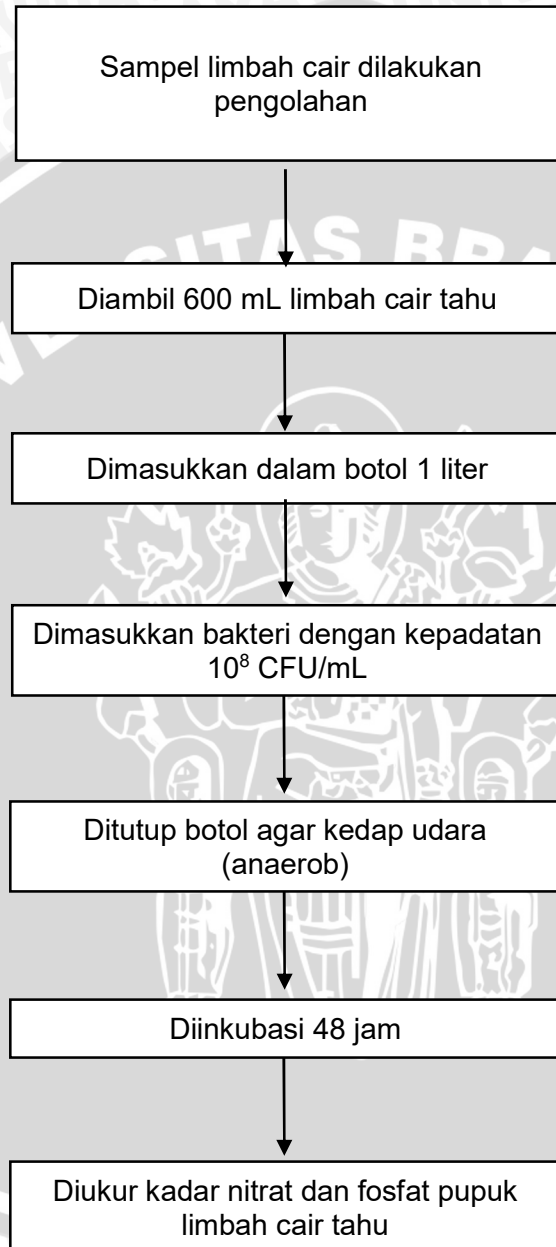
- Oren, A. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905 - 2005. *Saline System*. **1** (2): 1 - 14.
- Pelczar M.J.J.R., E.C.S. Chan, and N.R. Krieg. 1986. Microbiology, Fifth Edition. Tata Mc. Graw - Hill. New York. 900 pp.
- Pirenantyo, P. dan L. Limantara. 2008. Pigmen *Spirulina* sebagai senyawa antikanker. *Indonesian Journal of Cancer*. **4**: 155 - 163.
- Prabowo, D.A. 2009. *Optimalisasi pengembangan media untuk pertumbuhan Chlorella sp. pada skala laboratorium*. Skripsi. Program Studi Ilmu dan Teknologi Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. 108 hlm.
- Prihantini, B. N., P. Berta, dan Y. Ratna. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam medium ekstrak taug (met) dengan variasi pH awal. *Makara Sains*. **9** (1): 1 - 6.
- _____, D. Damayanti, dan R. Yuniati. 2007. Pengaruh konsentrasi medium ekstrak taug (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 (whey) tahu sebagai potensi biodisel. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. **2** (4): 72 - 83.
- Rahmawati, N., M. Zainuri, dan H.P. Kusumaningrum. 2013. Aplikasi pakan kaya karotenoid hasil fusi protoplasmintergenera *Dunaliella salina* dan *Chlorella vulgaris* pada udang windu (*Penaeus monodon* F.) stadia pl - 20 di Desa Asempapan, Pati, Jawa Tengah. *Bioma*. **15** (2): 46 - 52.
- Ramos, A.A., J. Polle, D. Tran, J.C. Cushman, E.S. Jin, and J.C. Varela. 2011. The unicellular green alga *Dunaliella salina* Teod. as a model for abiotic stress tolerance: genetic advances and future perspectives. *Algae*. **26** (1): 3-20.
- Ratnani, R.D. 2011. Kecepatan penyerapan zat organik pada limbah cair industri tahu dengan lumpur aktif. *Momentum*. **7** (2): 18 - 24.
- Richmond, A. 2004. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell. Australia. 719 pp.
- 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.
- Santi, S.S. 2008. Pembuatan alkohol dengan proses fermentasi buah jambu mete oleh khamir *Saccharomyces cerevesiae*. *Jurnal Penelitian Ilmu Teknik*. **8** (2): 104 - 111.

- Santoso, A.D., R.A. Darmawan, dan J.P. Susanto. 2011. Mikroalga untuk penyerapan emisi CO₂ dan pengolahan limbah cair di lokasi industri. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **3** (2): 62 - 70.
- 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.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 244 hlm.
- Setioningsih, E., Suranto, dan A. Pangastuti. 2014. Analisis T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) komunitas metanogen selama fermentasi anaerobik limbah cair tahu. *ISSN: 2339-1901*. **2** (1): 37-48.
- Shintawati, D.P. 2011. Produksi biodiesel dari mikroalga *Chlorella* sp. dengan metode esterifikasi *in - situ*. *Tesis*. Program Pasca Sarjana. Universitas Diponegoro. Semarang. 70 hlm.
- Singh, P., S.K. Gupta, A. Guldhe, I. Rawat, and F. Bux. 2015. Handbook of Marine Microalgae Biotechnology Advance *In Kim, S. (Ed)*. Elsevier. Oxford, UK. 586 pp.
- Somaye, F., M.N. Marzich, and N. Lale. 2008. Single Cell Protein (SCP) production from UF cheese whey by *Kluyveromyces marxianus*. *18th National Congress on Food Technology Iran*. **1** : 1 - 6.
- 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.
- Suminto. 2009. Penggunaan jenis media kultur teknis terhadap produksi dan kandungan nutrisi sel *Spirulina platensis*. *Jurnal Saintek Perikanan*. **4** (2): 53 - 61.
- Suprihatin dan D.S. Perwitasari. 2010. Pembuatan asam laktat dari limbah kubis. *Makalah Seminar Nasional Teknik Kimia Soebardjo Brotohardjono*. 1 - 8.
- Sutanto, A. 2011. Degradasi bahan organik limbah cair nanas oleh bakteri indigen. *El - Hayah*. **1** (4): 151 - 156.
- Tambayong, J. 2000. Patofisiologi untuk Keperawatan. EGC. Jakarta. 211 hlm.
- Tapehe, Y. 2015. Statistika dan Rancangan Percobaan. EGC. Jakarta. 144 hlm.
- Taw Nyan, D. R. 1990. Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murni dan Massal Mikroalga. Proyek pengembangan Budidaya Udang. Budiono M. dan Indah W. (Ed). United Nations Development Programe Food and Agriculture Organization of the United Nations. US. 34 hlm.

- Teodoresco, E.C. 1905. Organisation et développement du *Dunaliella*, nouveau genre de Volvocacée - Polyblepharidée. *Beihefte zum Botanischen Centralblatt*. **18** (1): 215 - 232.
- Tran, D., C. Louime, T. Vo, M. Giordano, S. Portilla, N. Doan, D. Tran, T. Mai, and L. Bui. 2013. Identification of *Dunaliella viridis* using its markers. *International Journal of Applied Science and Technology*. **3** (4): 118 - 126.
- 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.
- Weeks, B. S. 2011. *Alcamo's Microbes and Society*. Jones & Bartlett Learning, LLC. USA.
- Widanti, A. dan L. Susilawati. 2011. Optimasi waktu pertumbuhan yeast *Saccharomyces cerevisiae* 3005 pada substrat limbah cair tahu. *Prosiding Seminar Biologi*. 78 - 80.
- 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.
- Widiyanto, A., B. Susilo, dan R. Yulianingsih. 2014. Studi kultur semi-massal mikroalga *Chlorella* sp pada area tambak dengan media air payau (di Desa Rayunggumuk, Kecamatan Glagah, Kabupaten Lamongan). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. **2**(1): 1-7.
- Wulandari, S., W. Syafii, dan Yossilia. 2004. Respon eksplan daun tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) secara *in vitro* akibat pemberian NA dan BA. *Jurnal Biogenesis*. **1** (1): 21-25.
- Zhang, X., X. Tang, B. Zhou, S. Hu, and Y. Wang. 2015. Effect of enhanced uv - b radiation on photosynthetic characteristics of marine microalgae *Dunaliella salina* (Chlorophyta, Chlorophyceae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **469**: 27-35.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Fermentasi Limbah Cair Tahu

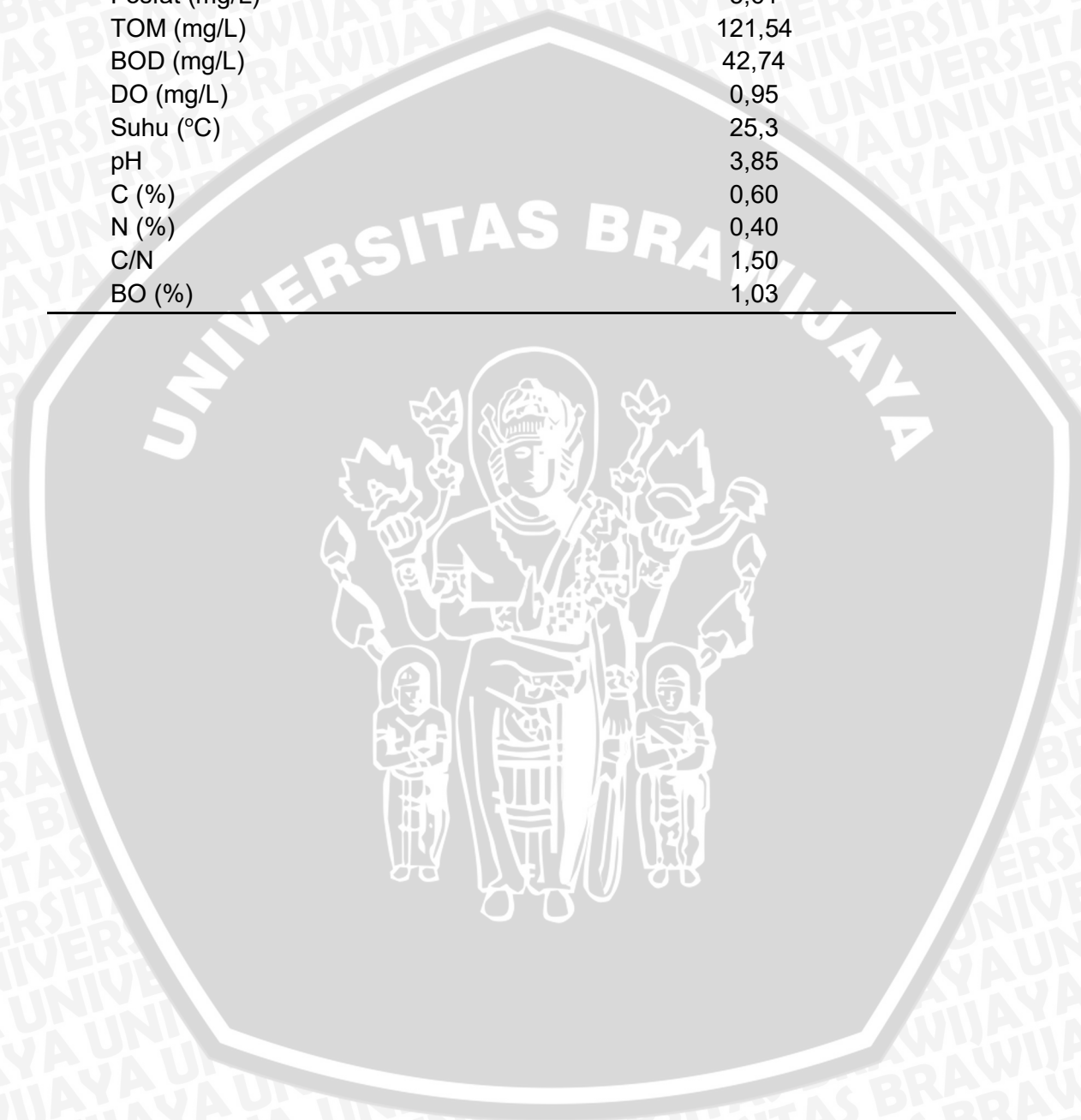


Lampiran 2. Kandungan Pupuk Walne

Bahan	Jumlah	Satuan
Larutan A (1 mL/L untuk kultur)		g
FeCl ₃	0,8	g
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,4	g
H ₃ BO ₃	33,6	g
Na ₂ EDTA	45,0	g
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	20,0	g
NaNO ₃	100,0	g
Solution B	1,0	mL
Akuades hingga	1	L
Larutan B		
ZnCl ₂	2,1	g
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,0	g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,9	g
CuSO ₄ .5H ₂ O	2,0	g
Concentrated HCl	10,0	mL
Akuades hingga	100	mL
Larutan C (0,1 mL/L untuk kultur)		
Vitamin B ₁	0,2	g
Solution E	25,0	mL
Akuades hingga	200	mL
Larutan D (kultur diatom ditambahkan larutan A and C, 2 mL/L untuk kultur)		
Na ₂ SiO ₃ .5H ₂ O	40,0	g
Akuades hingga	1	L
Larutan E		
Vitamin B ₁₂	0,1	g
Akuades hingga	250	mL
Sumber: FAO (1991)		

Lampiran 3. Kandungan Pupuk Limbah Cair Tahu

Kandungan Pupuk Limbah Cair Tahu	Nilai
Amonia (mg/L)	21,03
Nitrat (mg/L)	17,90
Fosfat (mg/L)	5,61
TOM (mg/L)	121,54
BOD (mg/L)	42,74
DO (mg/L)	0,95
Suhu (°C)	25,3
pH	3,85
C (%)	0,60
N (%)	0,40
C/N	1,50
BO (%)	1,03



Lampiran 4. Perhitungan Kebutuhan Urea

Diketahui kandungan pupuk limbah cair tahu:

- Jumlah Nitrat = 17,90 mg/L
- Jumlah Amonia = 21,03 mg/L
- Jumlah Fosfat = 5,61 mg/L

Jika diketahui kadar nitrogen dalam pupuk limbah cair tahu

- N dalam NH_3 diketahui Ar N = 14, Ar H = 1

$$\begin{aligned} N &= \frac{\text{Ar N}}{\text{Mr NH}_3} \times \text{jumlah NH}_3 \\ &= \frac{14}{17} \times 21,03 \\ &= 17,31 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

- N dalam NO_3 diketahui Ar N = 14, Ar O = 16

$$\begin{aligned} N &= \frac{\text{Ar N}}{\text{Mr NH}_3} \times \text{jumlah NH}_3 \\ &= \frac{14}{62} \times 17,90 \\ &= 4,04 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Sehingga total nitrogen dalam pupuk limbah cair tahu adalah $\text{N (NH}_3) + \text{N (NO}_3) = 17,31 + 4,04 = 21,35 \text{ mg/L}$

Diketahui kadar P dalam pupuk limbah cair tahu

- P dalam PO_4 diketahui Ar P = 31, Ar O = 16

$$\begin{aligned} P &= \frac{\text{Ar P}}{\text{Mr PO}_4} \times \text{Jumlah PO}_4 \\ &= \frac{31}{95} \times 5,61 \\ &= 1,85 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Jika diketahui hasil perhitungan $\text{N} = 21,35 \text{ mg/L}$ dan $\text{P} = 1,85 \text{ mg/L}$, maka perbandingan N:P adalah 12:1. Akan tetapi rasio untuk *Dunaliella* sp. adalah 16:1 (Donghui *et al.*, 2016).

Lampiran 4. (Lanjutan)

Oleh karena itu diperlukan penambahan unsur N dari luar, dalam hal ini ditambahkan dengan urea (kadar nitrogen 46%). Adapun perhitungannya sebagai berikut:

- N dalam pupuk limbah cair tahu yaitu 21,35 mg/L, P sebesar 1,85 mg/L. Agar unsur N 16 kali dari P, maka $P (1,85 \text{ mg/L}) \times 16 = 29,60 \text{ mg/L}$. Hal ini berarti N yang diinginkan dalam pupuk limbah cair tahu yang ditambahkan urea adalah 29,60 mg/L dan P yaitu 1,85 mg/L dengan N:P rasio sebesar 16:1.

- Adapun kebutuhan N yang harus ditambahkan adalah sebagai berikut:

$$N = 29,60 - 21,35$$

$$= 8,25 \text{ mg/L}$$

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

$$46\% \times b = 8,25 \text{ mg/L}$$

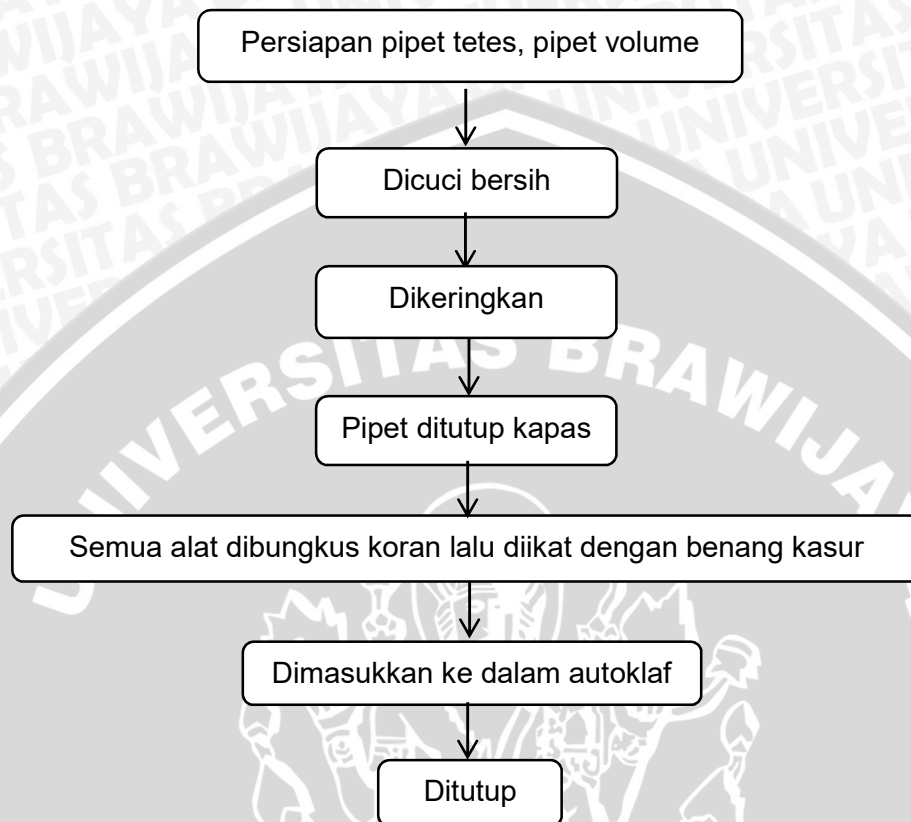
$$b = \frac{8,25 \times 100}{46}$$

$$b = 17,93 \text{ mg/L}$$

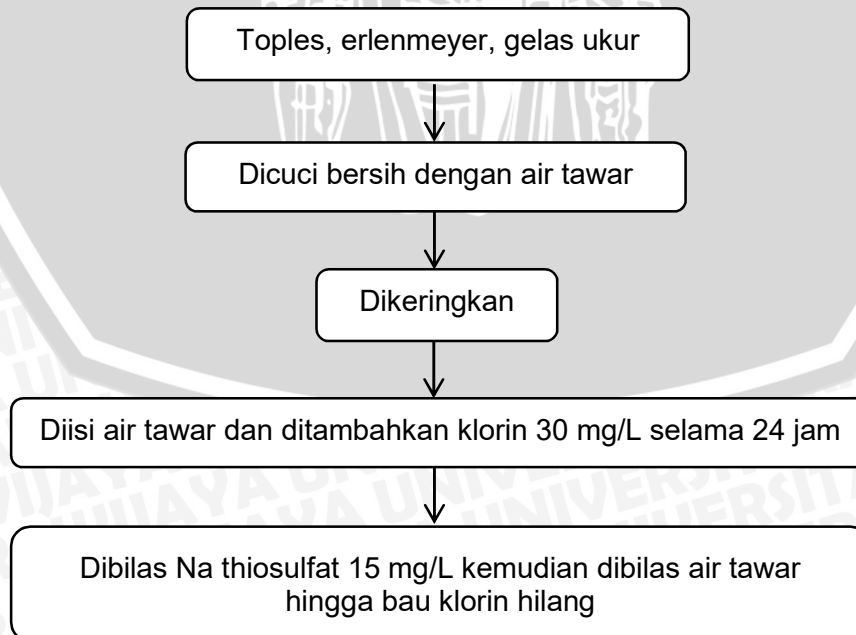
Jadi dalam 1 L pupuk limbah cair tahu harus ditambahkan 17,93 mg/L urea.

Lampiran 5. Sterilisasi Alat dan Media Kultur

a. Sterilisasi Menggunakan Autoklaf

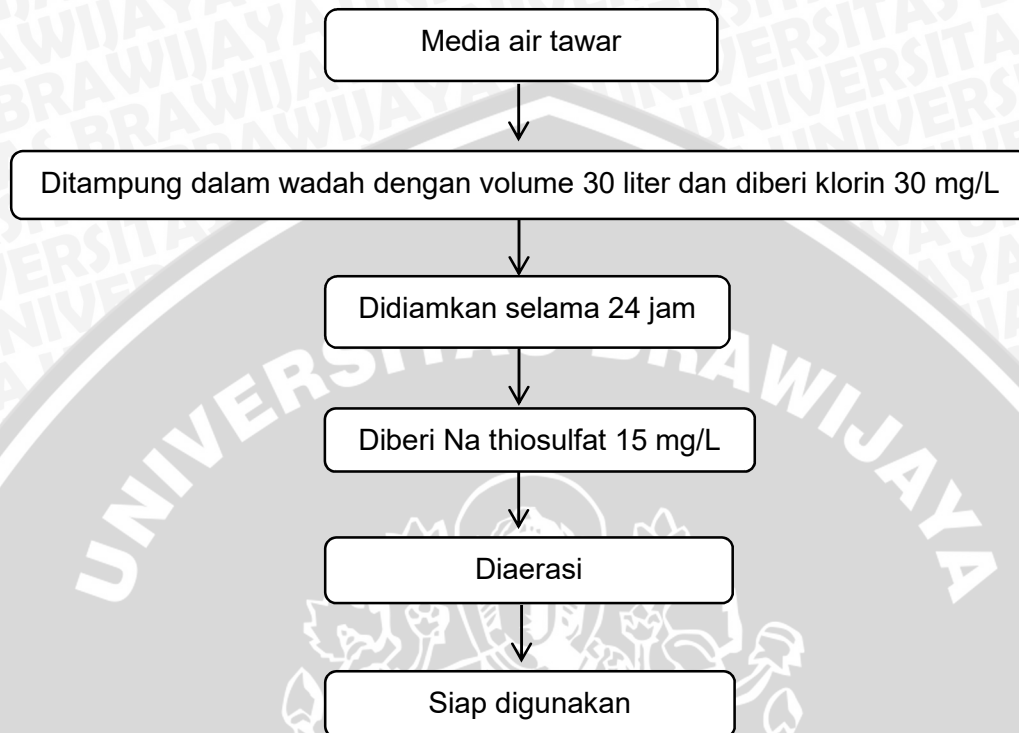


b. Sterilisasi alat

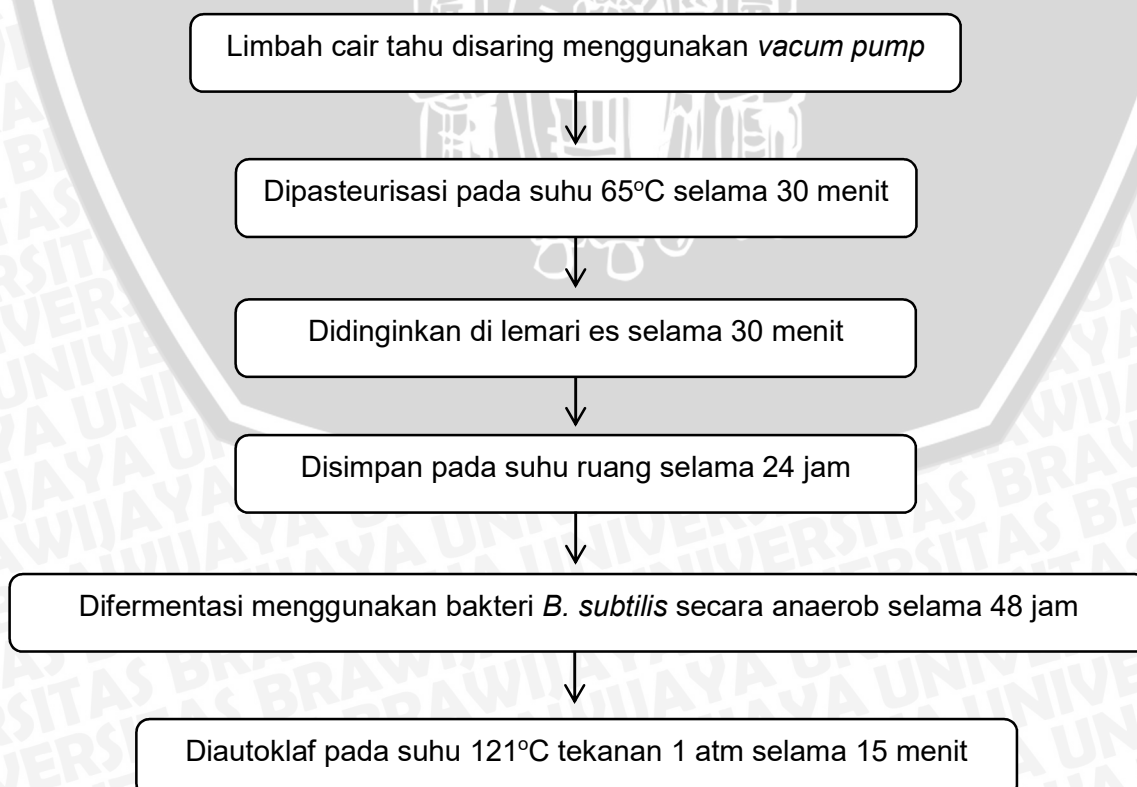


Lampiran 5. (Lanjutan)

c. Sterilisasi media



d. Sterilisasi Limbah Cair Tahu



Lampiran 6. Data Pertumbuhan *Dunaliella* sp. (sel/mL) pada Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda dengan Penambahan Urea (200 mg/L)

Hari	Perlakuan x 10 ⁵ (sel/mL)									
	K (Walne 1 mL/L)					A (60 mL/L)				
	K1	K2	K3	Rerata	STDV	A1	A2	A3	Rerata	STDV
0	1,33	1,25	1,08	1,22	0,13	1,58	1,33	1,17	1,36	0,21
1	2,27	2,50	2,25	2,34	0,13	2,58	2,92	2,75	2,75	0,17
2	3,25	3,17	3,42	3,28	0,13	6,08	6,58	6,33	6,33	0,25
3	20,00	18,33	20,83	19,72	1,27	36,67	30,75	37,92	35,11	3,83
4	30,00	28,75	31,25	30,00	1,25	42,50	45,00	43,33	43,61	1,27
5	36,25	35,42	37,08	36,25	0,83	49,58	50,83	50,42	50,28	0,64
6	25,42	26,25	30,00	27,22	2,44	42,50	45,42	44,58	44,17	1,50
7	20,00	20,83	21,25	20,69	0,64	39,58	40,00	39,17	39,58	0,42
8	14,58	12,92	13,33	13,61	0,87	22,92	25,83	23,75	24,17	1,50

Hari	B (120 mL/L)					C (180 mL/L)				
	B1	B2	B3	Rerata	STDV	C1	C2	C3	Rerata	STDV
0	1,42	1,25	1,50	1,39	0,13	1,25	1,17	1,08	1,17	0,08
1	3,58	3,67	3,58	3,61	0,04	1,83	1,75	1,75	1,78	0,04
2	9,00	9,25	9,42	9,22	0,21	2,75	2,58	2,58	2,64	0,09
3	34,17	33,75	34,58	34,17	0,42	16,25	16,67	15,83	16,25	0,42
4	52,08	52,08	52,92	52,36	0,48	21,67	20,83	20,00	20,83	0,83
5	61,67	62,92	63,75	62,78	1,05	29,58	28,33	27,50	28,47	1,05
6	52,08	52,08	51,67	51,94	0,24	22,50	20,83	19,58	20,97	1,46
7	33,33	34,58	34,58	34,17	0,72	15,83	15,42	15,00	15,42	0,42
8	27,92	29,58	29,58	29,03	0,96	11,67	12,92	13,75	12,78	1,05

Data Hasil Perhitungan Laju Pertumbuhan dan *Doubling time* *Dunaliella* sp.

Perlakuan	Ulangan	10 ⁵ (sel/mL)		waktu (t)	μ (/hari)	<i>Doubling time</i> (Hari)
		Co	Ct			
K	1	1,08	36,25	5	0,70	0,99
	2	1,25	35,42	5	0,67	1,04
	3	1,33	37,08	5	0,67	1,04
A	1	1,58	49,58	5	0,69	1,01
	2	1,33	50,83	5	0,73	0,95
	3	1,17	50,42	5	0,75	0,92
B	1	1,42	61,67	5	0,77	0,90
	2	1,25	62,92	5	0,78	0,88
	3	1,50	51,67	5	0,78	0,88
C	1	1,25	29,58	5	0,63	1,10
	2	1,17	28,33	5	0,64	1,09
	3	1,08	27,50	5	0,65	1,07

Lampiran 6. (Lanjutan)

Sidik Ragam Laju Pertumbuhan *Dunaliella* sp.

Perlakuan	Ulangan (/hari)			Rerata(/hari)	Doubling Time (hari)
	1	2	3		
K	0,70	0,67	0,67	0,679±0,020	1,02
A	0,69	0,73	0,75	0,723±0,032	0,96
B	0,77	0,78	0,78	0,778±0,005	0,89
C	0,63	0,64	0,65	0,639±0,007	1,09

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{8,46^2}{3 \times 4} = 5,961$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (K_1)^2 + (K_2)^2 + (K_3)^2 + (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK \\ &= (0,70)^2 + (0,67)^2 + (0,67)^2 + (0,69)^2 + \dots + (0,65)^2 - 5,961 \\ &= 0,035 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum K)^2 + (\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2}{3} - FK \\ &= \frac{(2,04)^2 + (2,17)^2 + (2,33)^2 + (1,92)^2}{3} - 5,961 \\ &= 0,032 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 0,035 - 0,032 \\ &= 0,0031 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F1%
Perlakuan	3	0,0320319	0,0106773	27,64556**	4,07	7,59
Acak	8	0,0031	0,0003862			
Total	11	0,035				

Uji BNT

$$\begin{aligned} SED &= \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}} \\ &= \sqrt{\frac{2 (0,0003862)}{3}} = 0,01604621 \end{aligned}$$

Lampiran 6. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,01604621 \\ &= 0,03700255 \\ \text{BNT } 1\% &= t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\ &= 3,355 \times 0,01604621 \\ &= 0,05383502 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Perlakuan	Rerata	C	K	A	B	Notasi
		0,64	0,68	0,72	0,76	
C	0,64	-	-	-	-	a
K	0,68	0,0395*	-	-	-	b
A	0,72	0,0842**	0,0447*	-	-	b
B	0,76	0,1387**	0,0992**	0,05450**	-	c

Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Linier	Kuadratik
A	2,170	-1	1
B	2,334	0	-2
C	1,918	1	1
Q = $\sum C_i T_i$		-0,253	-0,57961322
K μ = $(\sum C_i^2) \cdot \mu$		6	18
JK regresi = Q ² /K μ		0,010635548	0,018663972

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\ &= (0,010635548) + (0,018663972) \\ &= 0,029300 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,029300	0,014650	4,74	5,14	10,92
*Linier	1	0,010636	0,010636	20,65**		
*Kuadratik	1	0,018664	0,018664	36,24**		
Acak	6	0,003709	0,000515			
Total	8	0,061689	-			

Lampiran 6. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,010636}{0,010636 + 0,003709} \\
 &= 0,77488543
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadrat}}{\text{JK Regresi Kuadrat} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,018664}{0,018664 + 0,003709} \\
 &= 0,85796609
 \end{aligned}$$

Karena R^2 kuadrat $>$ R^2 Linier maka menggunakan kuadrat

Mencari persamaan regresi kuadrat :

$$\bar{x} = \frac{60 + 120 + 180}{3}$$

$$= 120$$

$$d = \frac{120}{2}$$

$$= 60$$

$$u_j = \frac{x - 120}{60}$$



$$\text{untuk } x = 60; \text{ maka } u_j = \frac{60-120}{60} = -1$$

$$\text{untuk } x = 120; \text{ maka } u_j = \frac{120-120}{60} = 0$$

$$\text{untuk } x = 180; \text{ maka } u_j = \frac{180-120}{60} = 1$$

x_j	60	120	180	$\sum x_j = 360$
u_j	-1	0	1	$\sum u_j = 0$
U_j^2	1	0	1	$\sum u_j^2 = 2$
U_j^4	1	0	1	$\sum u_j^4 = 2$
y_{ij}	2,17	2,33	1,92	$\sum y_{ij} = 6,4216$
$u_j y_{ij}$	-2,17	0	1,92	$\sum u_j y_{ij} = -0,252613$
$U_j^2 y_{ij}$	2,17	0	1,92	$\sum u_j^2 y_{ij} = 4,08785$

Lampiran 6. (Lanjutan)

Persamaan 1

$$\sum u_j y_j = b_1 \times r \times \sum u_j^2$$

$$-0,252613 = b_1 \times 3 \times 2$$

$$-0,252613 = 6b_1$$

$$b_1 = 0,0421$$

Persamaan 2

$$\sum y_j = b_0 \times n + b_2 \times r \times \sum u_j^2$$

$$6,4216 = b_0 \times 9 + b_2 \times 3 \times 2$$

$$6,4216 = 9b_0 + 6b_2$$

Persamaan 3

$$\sum u_j^2 y_j = b_0 \times r \times \sum u_j^2 + b_2 \times r \times \sum u_j^4$$

$$4,08785 = b_0 \times 3 \times 2 + b_2 \times 3 \times 2$$

$$4,08785 = 6b_0 + 6b_2$$

$$6,4216 = 9b_0 + 6b_2$$

$$4,08785 = 6b_0 + 6b_2$$

$$2,33375 = 3b_0$$

$$b_0 = 0,777917$$

Substitusikan b_0 pada salah satu persamaan :

$$6,4216 = 9b_0 + 6b_2$$

$$6,4216 = 9(0,777917) + 6b_2$$

$$6,4216 = 7,001250 + 6b_2$$

$$6b_2 = -0,579650$$

$$b_2 = -0,0966083$$

Sehingga didapatkan persamaan u_j sebagai berikut :

$$Y = 0,777917 - 0,0421 u_j - 0,0966083 u_j^2$$

Lampiran 6. (Lanjutan)

Kembalikan transformasi $uj = \frac{x-120}{60}$ pada persamaan tersebut :

$$Y = 0,777917 - 0,0421 uj - 0,0966083 uj^2$$

$$Y = 0,777917 - 0,0421 \left(\frac{x-120}{60}\right) - 0,0966083 \left(\frac{x-120}{60}\right)^2$$

$$Y = 0,777917 - 0,0421 \left(\frac{x-120}{60}\right) - 0,0966083 \left(\frac{x^2-240x+14.400}{3600}\right)$$

$$Y = 0,777917 + \left(\frac{-0,0421x+5,052}{60}\right) + \left(\frac{-0,0966083 x^2+23,186 x -139,16}{3600}\right)$$

$$Y = 0,777917 - 0,00070167x + 0,0842 - 0,00002684x^2 + 0,006440556x - 0,386433$$

$$Y = (0,777917 + 0,0842 - 0,386433) + (0,006440556x - 0,00070167x) - 0,0000263x^2$$

$$Y = 0,4757 + 0,00573888x - 0,0000263x^2$$

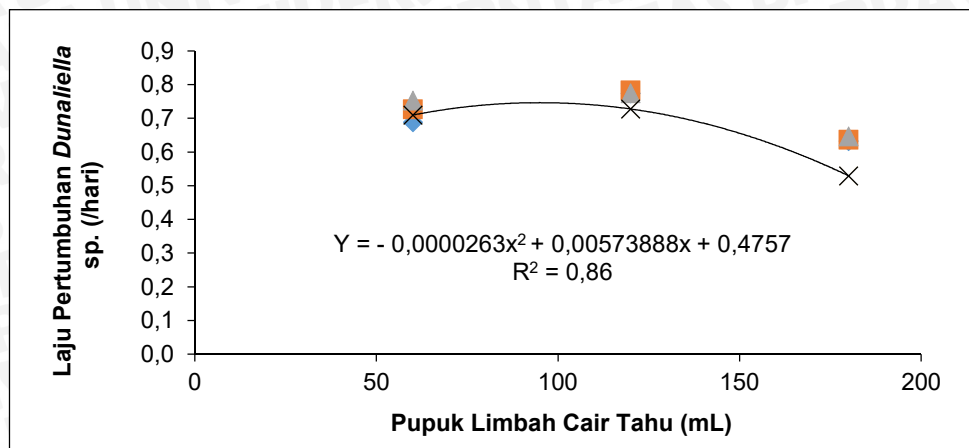
Dari persamaan tersebut diperoleh:

X	Y
60	0,710
120	0,728
180	0,530

Untuk membuat grafik berdasarkan seri 4 dari Y

Perlakuan	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4
60	0,689	0,728	0,753	0,710
120	0,774	0,784	0,776	0,728
180	0,633	0,638	0,647	0,530

Lampiran 6. (Lanjutan)



Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah turunan pertama (Y = 0) dari persamaan tersebut.

$$Y = - 0,0000263x^2 + 0,00573888x + 0,4757$$

$$Y' = - 2(0,0000263)x + 0,00573888$$

$$0 = - 0,0000526x + 0,00573888$$

$$0,0000526x = 0,0056862$$

$$X = 108$$

untuk x = 108 maka Y = 0,7887

Lampiran 7. Data Biomassa *Dunaliella* sp. (g/L)

Perlakuan	Ulangan	Berat (g/L)		Biomassa (g/L)	Rerata (g/L)
		Wt (B)	W0 (A)		
K	1	0,3386	0,3341	0,180	0,191
	2	0,3308	0,3265	0,172	
	3	0,3338	0,3283	0,220	
A	1	0,3386	0,3330	0,224	0,253
	2	0,3397	0,3329	0,272	
	3	0,3314	0,3248	0,264	
B	1	0,3404	0,3311	0,372	0,385
	2	0,3365	0,3269	0,384	
	3	0,3396	0,3296	0,400	
C	1	0,3306	0,3253	0,212	0,181
	2	0,3365	0,3317	0,192	
	3	0,3304	0,3269	0,140	

Sidik Ragam Biomassa *Dunaliella* sp.

Perlakuan	Ulangan (g/L)			Rerata (g/L)
	1	2	3	
K	0,180	0,172	0,220	0,191±0,026
A	0,224	0,272	0,264	0,253±0,026
B	0,372	0,384	0,400	0,385±0,014
C	0,212	0,192	0,140	0,181±0,037

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{3,032^2}{3 \times 4} = 0,7660853$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (K_1)^2 + (K_2)^2 + (K_3)^2 + (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK \\ &= (0,180)^2 + (0,172)^2 + (0,220)^2 + (0,224)^2 + \dots + (0,140)^2 - \\ &0,76608533 \\ &= 0,0854 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum K)^2 + (\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2}{3} - FK \\ &= \frac{(0,572)^2 + (0,760)^2 + (1,156)^2 + (0,544)^2}{3} - 0,76608533 \\ &= 0,0796 \end{aligned}$$

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}\text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 0,5988 - 0,5930 = 0,0058\end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F1%
Perlakuan	3	0,0796	0,026533	36,58088**	4,07	7,59
Acak	8	0,0058	0,000725			
Total	11	0,0854				

Uji BNT

$$\begin{aligned}\text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}} \\ &= \sqrt{\frac{2 (0,026533)}{3}} \\ &= 0,0219899\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,0219899 = 0,0507087\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,355 \times 0,0219899 = 0,07378\end{aligned}$$

Tabel BNT

Perlakuan	Rerata	C	K	A	B	Notasi
		0,181	0,191	0,253	0,385	
C	0,181	-				a
K	0,191	0,0093 ^{ns}	-			a
A	0,253	0,0720*	0,0627*	-		b
B	0,385	0,2040**	0,1947**	0,1320**	-	c

Lampiran 7. (Lanjutan)

Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Hasil (Ti)	
		Linier	Kuadratik
A	0,760	-1	1
B	1,156	0	-2
C	0,544	1	1
$Q = \sum C_i T_i$		-0,216	-1,008
$K_{\mu} = (\sum C_i^2) \cdot \mu$		6	18
JK regresi = Q^2 / K_{μ}		0,007776	0,056448

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\
 &= (0,007776) + (0,056448) \\
 &= 0,064224
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,064224	0,032112	5,53	5,14	10,92
Linier	1	0,007776	0,007776	8,04		
*Kuadratik	1	0,056448	0,056448	58,37**		
Acak	6	0,005803	0,000967			
Total	8	0,134251	-			

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,007776}{0,007776 + 0,005803} \\
 &= 0,572663
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,056448}{0,056448 + 0,005803} \\
 &= 0,90678547
 \end{aligned}$$

Karena R^2 kuadratik > R^2 Linier maka menggunakan kuadratik

Mencari persamaan regresi kuadratik :

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$\bar{x} = \frac{60 + 120 + 180}{3}$$

$$= 120$$

$$d = \frac{120}{2}$$

$$= 60$$

$$u_j = \frac{x-120}{60}$$

$$\text{untuk } x = 60; \text{ maka } u_j = \frac{60-120}{60} = -1$$

$$\text{untuk } x = 120; \text{ maka } u_j = \frac{120-120}{60} = 0$$

$$\text{untuk } x = 180; \text{ maka } u_j = \frac{180-120}{60} = 1$$

x_j	60	120	180	$\sum x_j = 360$
u_j	-1	0	1	$\sum u_j = 0$
U_j^2	1	0	1	$\sum u_j^2 = 2$
U_j^4	1	0	1	$\sum u_j^4 = 2$
y_{ij}	0,76	1,16	0,54	$\sum y_{ij} = 2,46$
$u_j y_{ij}$	-0,76	0	0,54	$\sum u_j y_{ij} = -0,22$
$U_j^2 y_{ij}$	0,76	0	0,54	$\sum u_j^2 y_{ij} = 1,30$

Persamaan 1

$$\sum u_j y_{ij} = b_1 \times r \times \sum u_j^2$$

$$-0,22 = b_1 \times 3 \times 2$$

$$-0,22 = 6 b_1$$

$$b_1 = -0,0367$$

Persamaan 2

$$\sum y_{ij} = b_0 \times n + b_2 \times r \times \sum u_j^2$$

$$2,46 = b_0 \times 9 + b_2 \times 3 \times 2$$

$$2,46 = 9 b_0 + 6 b_2$$

Persamaan 3

$$\sum u_j^2 y_{ij} = b_0 \times r \times \sum u_j^2 + b_2 \times r \times \sum u_j^4$$

$$1,30 = b_0 \times 3 \times 2 + b_2 \times 3 \times 2$$

$$1,30 = 6 b_0 + 6 b_2$$

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$2,46 = 9 b_0 + 6 b_2$$

$$1,30 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$1,16 = 3 b_0$$

$$b_0 = 0,3867$$

Substitusikan b_0 pada salah satu persamaan :

$$2,46 = 9 b_0 + 6 b_2$$

$$2,46 = 9 (0,3867) + 6 b_2$$

$$2,46 = 3,4803 + 6 b_2$$

$$6 b_2 = -1,0203$$

$$b_2 = -0,17005$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

$$Y = 0,3867 - 0,0367 u_j - 0,17005 u_j^2$$

Kembalikan transformasi $u_j = \frac{x-120}{60}$ pada persamaan tersebut :

$$Y = 0,3867 - 0,0367 u_j - 0,17005 u_j^2$$

$$Y = 0,3867 - 0,0367 \left(\frac{x-120}{60} \right) - 0,17005 \left(\frac{x-120}{60} \right)^2$$

$$Y = 0,3867 - 0,0367 \left(\frac{x-120}{60} \right) - 0,17005 \left(\frac{x^2 - 240x + 14400}{3600} \right)$$

$$Y = 0,3867 + \left(\frac{-0,0367x + 4,404}{60} \right) + \left(\frac{-0,17005x^2 + 4,08x - 24,48}{3600} \right)$$

$$Y = 0,3867 - 0,00061167x + 0,0734 - 0,00004675x^2 + 0,01122x - 0,6732$$

$$Y = (0,3867 + 0,0734 - 0,6732) + (0,00061167x - 0,01122x) - 0,00004675x^2$$

$$Y = -0,2131 + 0,0106x - 0,00004675x^2$$

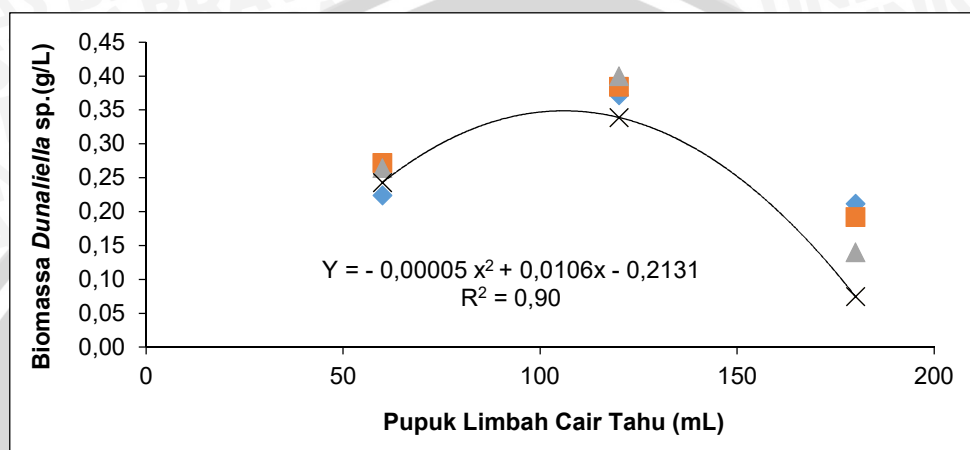
Dari persamaan tersebut diperoleh:

X	Y
60	0,243
120	0,339
180	0,075

Lampiran 7. (Lanjutan)

Untuk membuat grafik berdasarkan seri 4 dari Y

Perlakuan	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4
60	0,224	0,272	0,264	0,243
120	0,372	0,384	0,400	0,339
180	0,212	0,192	0,140	0,075



Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah turunan pertama ($Y' = 0$) dari persamaan tersebut.

$$Y = -0,00005x^2 + 0,0106x - 0,2131$$

$$Y' = -2(0,00005)x + 0,0106$$

$$0 = -0,0001x + 0,0106$$

$$0,0001x = 0,0106$$

$$X = 106$$

untuk $x = 106$ maka $Y = 0,35$

Lampiran 8. Data Klorofil a *Dunaliella* sp. (µg/mL)

Perlakuan	Ulangan	Panjang Gelombang (µg/mL)			Nilai (µg/mL)	Rerata (µg/mL)
		470	652	665		
K	1	0,112	0,362	0,338	2,577	2,594
	2	0,115	0,355	0,327	2,450	
	3	0,105	0,357	0,347	2,755	
A	1	0,259	0,453	0,391	2,698	2,765
	2	0,281	0,483	0,417	2,878	
	3	0,238	0,466	0,399	2,719	
B	1	0,293	0,499	0,455	3,363	3,481
	2	0,299	0,507	0,461	3,405	
	3	0,329	0,551	0,500	3,676	
C	1	0,107	0,289	0,279	2,210	2,131
	2	0,090	0,264	0,263	2,155	
	3	0,094	0,253	0,250	2,029	

Sidik Ragam Klorofil a *Dunaliella* sp.

Perlakuan	Ulangan (µg/mL)			Rerata (µg/mL)
	1	2	3	
K	2,577	2,450	2,755	2,594±0,153
A	2,698	2,878	2,719	2,765±0,098
B	3,363	3,405	3,676	3,481±0,170
C	2,210	2,155	2,029	2,131±0,093

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{32,915^2}{3 \times 4} = 90,28468$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (K_1)^2 + (K_2)^2 + (K_3)^2 + (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK \\ &= (2,577)^2 + (2,450)^2 + (2,755)^2 + (2,698)^2 + \dots + (2,029)^2 - 90,28468 \\ &= 2,9683 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum K)^2 + (\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2}{3} - FK \\ &= \frac{(7,782)^2 + (8,295)^2 + (10,445)^2 + (6,394)^2}{3} - 90,28468 \\ &= 2,8267 \end{aligned}$$

Lampiran 8. (lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 2,9683 - 2,8267 = 0,1415 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F1%
Perlakuan	3	2,82675	0,94225	53,26314**	4,07	7,59
Acak	8	0,1415	0,01769			
Total	11	2,9683				

Uji BNT

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}} \\ &= \sqrt{\frac{2 (0,01769)}{3}} \\ &= 0,10859847 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) } \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,10859847 \\ &= 0,25042807 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak) } \times \text{SED} \\ &= 3,355 \times 0,10859847 \\ &= 0,36435 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Perlakuan	Rerata	C	K	A	B	Notasi
		2,131	2,594	2,765	3,481	
C	2,131	-				a
K	2,594	0,4627**	-			b
A	2,765	0,6337**	0,1710 ^{ns}	-		b
B	3,481	1,3502**	0,8875**	0,7165**	-	c

Lampiran 8. (Lanjutan)

Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Uji Polinomial Orthogonal	
		Linier	Kuadratik
A	8,295	-1	1
B	10,445	0	-2
C	6,394	1	1
Q= $\sum C_i T_i$		-1,901	-6,20024975
K μ = ($\sum C_i^2$)* μ		6	18
JK regresi= Q ² /K μ		0,602282743	2,135727612

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\
 &= (0,602282743) + (2,135727612) \\
 &= 2,738010355
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	2,738010	1,369005	9,67	5,14	10,92
*Linier	1	0,602283	0,602283	25,53**		
*Kuadratik	1	2,135728	2,135728	90,55**		
Acak	6	0,141524	0,023587			
Total	8	5,617544	-			

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,602283}{0,602283 + 0,141524} \\
 &= 0,809731
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{2,135728}{2,135728 + 0,141524} \\
 &= 0,937853
 \end{aligned}$$

Karena R^2 kuadratik > R^2 Linier maka menggunakan kuadratik

Mencari persamaan regresi kuadratik :

$$\begin{aligned}
 \bar{x} &= \frac{60+120+18}{3} \\
 &= 120
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. (Lanjutan)

$$d = \frac{120}{2} \\ = 60$$

$$u_j = \frac{x-120}{60} \longrightarrow \text{untuk } x = 60; \text{ maka } u_j = \frac{60-120}{60} = -1$$

$$\text{untuk } x = 120; \text{ maka } u_j = \frac{120-120}{60} = 0$$

$$\text{untuk } x = 180; \text{ maka } u_j = \frac{180-120}{60} = 1$$

x_j	60	120	180	$\sum x_j = 360$
u_j	-1	0	1	$\sum u_j = 0$
u_j^2	1	0	1	$\sum u_j^2 = 2$
u_j^4	1	0	1	$\sum u_j^4 = 2$
y_{ij}	8,29	10,44	6,39	$\sum y_{ij} = 25,13329$
$u_j y_{ij}$	-8,29	0	6,39	$\sum u_j y_{ij} = -1,900973$
$u_j^2 y_{ij}$	8,29	0	6,39	$\sum u_j^2 y_{ij} = 14,68878$

Persamaan 1

$$\sum u_j y_{ij} = b_1 \times r \times \sum u_j^2$$

$$-1,900973 = b_1 \times 3 \times 2$$

$$-1,900973 = 6 b_1$$

$$b_1 = -0,31683$$

Persamaan 2

$$\sum y_{ij} = b_0 \times n + b_2 \times r \times \sum u_j^2$$

$$25,13329 = b_0 \times 9 + b_2 \times 3 \times 2$$

$$25,13329 = 9 b_0 + 6 b_2$$

Persamaan 3

$$\sum u_j^2 y_{ij} = b_0 \times r \times \sum u_j^2 + b_2 \times r \times \sum u_j^4$$

$$14,68878 = b_0 \times 3 \times 2 + b_2 \times 3 \times 2$$

$$14,68878 = 6 b_0 + 6 b_2$$

Lampiran 8. (Lanjutan)

$$25,13329 = 9 b_0 + 6b_2$$

$$14,68878 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$10,44451 = 3 b_0$$

$$b_0 = 3,4815$$

Substitusikan b_0 pada salah satu persamaan :

$$14,68878 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$14,68878 = 6 (3,4815) + 6 b_2$$

$$14,68878 = 20,889 + 6 b_2$$

$$6 b_2 = -6,20022$$

$$b_2 = -1,03337$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

$$Y = 3,4815 - 0,31683 \text{ uj} - 1,03337 \text{ uj}^2$$

Kembalikan transformasi $\text{uj} = \frac{x-120}{60}$ pada persamaan tersebut :

$$Y = 3,4815 - 0,31683 \text{ uj} - 1,03337 \text{ uj}^2$$

$$Y = 3,4815 - 0,31683 \left(\frac{x-120}{60}\right) - 1,03337 \left(\frac{x-120}{60}\right)^2$$

$$Y = 3,4815 - 0,31683 \left(\frac{x-120}{60}\right) - 1,03337 \left(\frac{x^2-240x+14.400}{3600}\right)$$

$$Y = 3,4815 + \left(\frac{-0,31683 x + 38,0196}{60}\right) + \left(\frac{-1,03337x^2 + 248,0088x - 14.886,288}{3600}\right)$$

$$Y = 03,4815 - 0,00528x + 0,63366 - 0,000287x^2 + 0,06889x - 4,13508$$

$$Y = (03,4815 + 0,63366 - 4,13508) + (0,06889x - 0,00528x) - 0,000287x^2 +$$

$$Y = -0,0199 + 0,0636x - 0,000287x^2$$

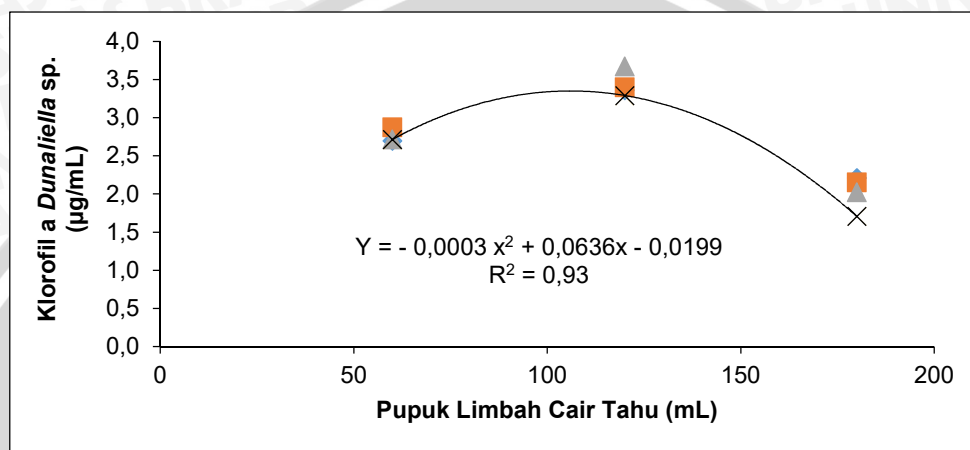
Dari persamaan tersebut diperoleh:

X	Y
60	2,716
120	3,292
180	1,708

Lampiran 8. (Lanjutan)

Untuk membuat grafik berdasarkan seri 4 dari Y

Perlakuan	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4
60	2,698	2,878	2,719	2,716
120	3,363	3,405	3,676	3,292
180	2,210	2,155	2,029	1,708



Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah turunan pertama ($Y' = 0$) dari persamaan tersebut.

$$Y = -0,0003x^2 + 0,0636x - 0,01992$$

$$Y' = -2(0,0003)x + 0,0636$$

$$0 = -0,0006x + 0,0636$$

$$0,0006x = 0,0636$$

$$X = 106$$

untuk $x = 106$ maka $Y = 3,35$

Lampiran 9. Serapan Nitrat *Dunaliella* sp.

- Data serapan nitrat dengan ulangan

Perlakuan	Konsentrasi Nitrat (mg/L)			Penyerapan (%)			Total Persentase (%)	Serapan Nitrat (mg/L)	Sisa di Perairan (%)
	D0	D3	D5	D0	D3	D5			
K1	20,429	11,631	7,232	0	43,07	21,53	64,60	13,20	35,40
K2	20,170	12,019	7,491	0	40,41	22,45	62,86	12,68	37,14
K3	20,041	11,761	7,103	0	41,32	23,24	64,56	12,94	35,44
A1	21,723	10,079	5,292	0	53,60	22,04	75,64	16,43	24,36
A2	21,464	10,040	4,774	0	53,22	24,53	77,76	16,69	22,24
A3	21,335	10,208	5,033	0	52,15	24,26	76,42	16,30	23,59
B1	22,758	8,138	1,410	0	64,24	29,56	93,80	21,35	6,20
B2	22,887	8,009	1,281	0	65,01	29,40	94,40	21,61	5,60
B3	23,017	7,879	1,669	0	65,77	26,98	92,75	21,35	7,25
C1	23,923	14,607	11,502	0	38,94	12,98	51,92	12,42	48,08
C2	23,793	14,478	11,373	0	39,15	13,05	52,20	12,42	47,80
C3	23,664	14,348	11,243	0	39,37	13,12	52,49	12,42	47,51

- Data Rata-rata serapan nitrat

Perlakuan	Konsentrasi Nitrat (mg/L)			Penyerapan (%)			Standar Deviasi			Total Persentase (%)	Serapan Nitrat (mg/L)	Sisa di Perairan (%)
	D0	D3	D5	D0	D3	D5	D0	D3	D5			
K	20,21	11,80	4,63	0	41,60	22,41	0	1,35	0,85	64,01	12,94	35,99
A	21,51	10,11	4,11	0	52,99	23,61	0	0,75	1,37	76,60	16,47	23,40
B	22,89	8,01	4,90	0	65,01	28,65	0	0,76	1,44	93,65	21,43	6,35
C	23,79	14,48	5,43	0	38,15	13,05	0	0,21	0,07	52,20	12,42	47,80

Lampiran 10. Serapan Fosfat *Dunaliella* sp.

- Data serapan fosfat dengan ulangan

Perlakuan	Konsentrasi Fosfat (mg/L)			Penyerapan (%)			Total Persentase (%)	Serapan Fosfat (mg/L)	Sisa di Perairan (%)
	D0	D3	D5	D0	D3	D5			
K1	4,147	2,944	2,017	0	29,03	22,33	51,36	2,13	48,64
K2	4,121	2,983	1,965	0	27,61	24,72	52,33	2,16	47,67
K3	4,134	2,970	2,004	0	28,16	23,36	51,52	2,13	48,48
A1	4,505	2,785	1,488	0	38,18	28,78	66,96	3,02	33,04
A2	4,610	2,811	1,528	0	39,02	27,83	66,86	3,08	33,14
A3	4,584	2,798	1,515	0	38,96	27,99	66,96	3,07	33,04
B1	5,259	2,652	1,052	0	49,56	30,44	80,00	4,21	20,00
B2	5,325	2,692	1,078	0	49,44	30,31	79,75	4,25	20,25
B3	5,364	2,705	1,091	0	49,57	30,09	79,65	4,27	20,35
C1	5,616	4,266	3,658	0	24,03	10,84	34,86	1,96	65,14
C2	5,775	4,306	3,698	0	25,43	10,54	35,97	2,08	64,03
C3	5,801	4,346	3,684	0	25,09	11,40	36,49	2,12	63,51

- Data rata-rata serapan fosfat

Perlakuan	Konsentrasi Fosfat (mg/L)			Penyerapan (%)			Standar Deviasi			Total Persentase (%)	Serapan Fosfat (mg/L)	Sisa di Perairan (%)
	D0	D3	D5	D0	D3	D5	D0	D3	D6			
K	4,13	2,97	2,00	0	28,27	23,47	0	0,72	1,20	51,73	2,14	48,27
A	4,57	2,80	1,51	0	38,72	28,20	0	0,47	0,51	66,92	3,06	33,08
B	5,32	2,68	1,07	0	49,52	30,28	0	0,07	0,18	79,80	4,24	20,20
C	5,73	4,31	3,68	0	24,85	10,93	0	0,73	0,44	35,77	2,05	64,23

Lampiran 11. Data pH pada Pertumbuhan *Dunaliella* sp.

Tanggal	pH											
	K1	K2	K3	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
13 - Juni - 16	8,12	8,25	8,33	8,23	8,11	8,45	8,21	8,45	8,28	8,13	8,34	8,32
14 - Juni - 16	8,16	8,24	8,33	8,11	8,41	8,32	8,21	8,43	8,32	8,67	8,28	8,17
15 - Juni - 16	8,11	8,24	8,41	8,12	8,31	8,14	8,11	8,63	8,29	8,62	8,22	8,46
16 - Juni - 16	8,24	8,36	8,44	8,67	8,18	8,23	8,26	8,46	8,25	8,68	8,73	8,21
17 - Juni - 16	8,32	8,15	8,25	8,45	8,41	8,37	8,27	8,78	8,69	8,67	8,74	8,66
18 - Juni - 16	8,68	8,33	8,61	8,86	8,21	8,43	8,45	8,28	8,94	8,78	8,91	9,11
19 - Juni - 16	8,21	8,82	8,48	9,41	9,12	9,29	8,78	9,19	8,98	9,34	9,11	9,26
20 - Juni - 16	8,34	8,73	8,68	9,42	8,69	8,79	9,34	9,12	9,38	9,43	9,36	9,53
21 - Juni - 16	8,75	8,33	8,72	9,12	9,22	9,54	8,85	9,46	9,53	9,19	9,36	9,15



Lampiran 12. Data Suhu pada Pertumbuhan *Dunaliella* sp.

Tanggal	SUHU (°C)											
	K1		K2		K3		A1		A2		A3	
	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang
13 - Juni - 16	26	28	27	28	27	29	27	29	26	29	27	28
14 - Juni - 16	27	28	27	28	28	29	27	29	27	29	27	28
15 - Juni - 16	27	28	27	28	28	29	27	28	27	28	28	29
16 - Juni - 16	27	29	26	28	26	28	28	29	27	29	28	29
17 - Juni - 16	27	28	27	29	28	29	28	29	28	29	27	28
18 - Juni - 16	27	29	27	29	27	29	27	29	28	29	28	29
19 - Juni - 16	26	28	26	28	27	28	27	28	27	28	27	28
20 - Juni - 16	27	28	28	29	27	28	27	29	26	28	27	28
21 - Juni - 16	27	28	26	29	26	29	26	28	27	29	26	28

Tanggal	SUHU (°C)											
	B1		B2		B3		C1		C2		C3	
	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang
13 - Juni - 16	26	28	27	29	26	28	27	28	28	29	27	29
14 - Juni - 16	27	29	28	29	28	29	28	29	27	28	27	28
15 - Juni - 16	27	29	27	29	27	28	27	28	26	29	26	28
16 - Juni - 16	26	28	27	29	27	29	27	28	26	29	26	28
17 - Juni - 16	26	28	27	28	26	29	28	29	27	29	27	29
18 - Juni - 16	27	28	28	29	28	29	27	28	28	29	28	29
19 - Juni - 16	27	29	27	29	27	29	27	29	27	29	28	29
20 - Juni - 16	27	29	27	29	26	28	27	28	28	29	27	29
21 - Juni - 16	27	28	26	28	27	29	26	28	27	28	26	28

Lampiran 13. Data Salinitas pada Pertumbuhan *Dunaliella* sp.

Tanggal	Salinitas (ppt)											
	K1	K2	K3	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
13 - Juni - 16	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
14 - Juni - 16	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
15 - Juni - 16	15	15	15	15	15	16	16	16	16	15	16	16
16 - Juni - 16	16	15	15	16	17	16	16	15	16	15	16	16
17 - Juni - 16	17	17	17	16	17	17	16	17	16	17	17	17
18 - Juni - 16	18	17	17	18	18	17	17	17	17	18	17	17
19 - Juni - 16	18	19	19	18	18	18	18	18	18	17	18	18
20 - Juni - 16	18	18	20	18	19	19	19	19	20	20	20	20
21 - Juni - 16	19	20	20	20	19	20	20	19	20	20	19	19



Lampiran 14. Data Oksigen Terlarut pada Pertumbuhan *Dunaliella* sp.

Tanggal	Oksigen Terlarut (mg/L)											
	K1	K2	K3	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
13 - Juni - 16	6,45	6,55	6,32	6,32	6,37	6,14	6,23	6,45	6,83	6,43	6,56	6,37
14 - Juni - 16	6,72	6,89	6,43	6,86	6,73	6,89	6,87	6,12	7,08	6,44	6,87	7,13
15 - Juni - 16	6,77	6,53	6,98	6,96	7,11	6,34	7,22	6,32	7,14	6,95	7,18	7,26
16 - Juni - 16	7,12	7,19	6,34	7,23	6,97	6,87	7,24	6,39	7,26	7,33	6,89	7,22
17 - Juni - 16	7,32	7,48	7,53	7,33	7,45	7,35	6,77	7,26	6,88	7,32	7,15	7,36
18 - Juni - 16	7,31	7,56	7,47	7,57	7,68	7,54	7,60	7,44	7,29	7,64	7,51	7,32
19 - Juni - 16	7,65	7,97	7,54	7,43	7,78	7,23	7,29	7,21	7,29	6,98	7,22	7,34
20 - Juni - 16	7,58	7,47	7,79	7,75	7,34	7,64	7,66	7,62	7,54	7,76	7,38	7,22
21 - Juni - 16	7,65	7,55	7,46	7,69	7,63	7,58	7,43	7,56	7,49	7,67	7,62	7,42

