

**PERTUMBUHAN, PRODUKSI BIOMASSA DAN KLOROFIL-a *Dunaliella* sp.
PADA SALINITAS YANG BERBEDA**

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

**Oleh :
LAKSMANA WISNUWARDHANA
NIM.125080500111058**



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

**PERTUMBUHAN, PRODUKSI BIOMASSA DAN KLOORIFIL-a *Dunaliella* sp.
PADA SALINITAS YANG BERBEDA**

**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 :
LAKSMANA WISNUWARDHANA
NIM.125080500111058**



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

PERTUMBUHAN, PRODUKSI BIOMASSA DAN KLOROFIL-a *Dunaliella* sp.
PADA SALINITAS YANG BERBEDA

Oleh:

LAKSMANA WISNUWARDHANA

NIM. 125080501111058

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 26 Juli 2016

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Tanggal: _____

Menyetujui,
Dosen Penguji I



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

TANGGAL :

11 AUG 2016

Dosen Pembimbing I

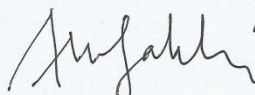


Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001

TANGGAL :

11 AUG 2016

Dosen Pembimbing II



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

TANGGAL :

11 AUG 2016



Mengetahui,
Ketua Jurusan

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

TANGGAL :

11 AUG 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini penulis menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini hasil karya saya sendiri di bawah payung penelitian M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc. yang berjudul “Pertumbuhan, Produksi Biomassa dan Pigmen Mikroalga Hijau pada Kondisi Lingkungan yang Berbeda”. 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

Laksmiana Wisnu



KATA PENGANTAR

Skripsi dengan judul “Pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp. pada salinitas yang berbeda” ini tersajikan untuk menjelaskan pengaruh perbedaan salinitas terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a yang dihasilkan oleh mikroalga yang diteliti. Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi pendahuluan, tinjauan pustaka, dan metode penelitian serta analisis data.

Penulis menyadari bahwa banyak kekurangan pada skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun. Kritik yang konstruktif dari pembaca sangat penulis harapkan. Penulis berharap tulisan ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan bagi pembaca. Demikian penulis mengucapkan terima kasih.

Malang, Agustus 2016

Laksmiana Wisnu

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa penyusunan skirpsi ini tidak lepas dari dukungan moril dan materi dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati perkenankan penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan berkah, karunia serta ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skirpsi ini dengan baik.
2. Ibu Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS selaku dosen pembimbing I serta Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skirpsi ini dengan baik.
3. Bapak M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc selaku dosen pembimbing Ilyang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skirpsi ini dengan baik.
4. Bapak Bowo dan Ibu Dian sebagai orang tua tercinta yang telah memberikan do'a, motivasi dan dukungan terhadap penulis.
5. Laboran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang yang telah banyak membantu dan mendukung dalam penelitian
6. Teman-teman satu tim penelitian (Sri Utami, Dpta, Endar Riyani, Sanudi, dan Dico O.Prahasta) yang telah banyak membantu dan mendukung dalam penelitian.
7. Teman-teman Budidaya Perairan 2012 "Aquasean".

Malang, Agustus 2016

Penulis

RINGKASAN

Laksmana Wisnu. Pertumbuhan, Produksi Biomassa dan Klorofil a *Dunaliella* Sp. Pada Salinitas yang Berbeda (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS dan M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc).**

Mikroalga dalam akuakultur memegang peran penting dalam rantai makanan karena menjadi produsen utama dalam perairan, salah satu mikroalga yang sering digunakan adalah dari jenis *Dunaliella* sp. yang bersifat *euryhaline*. Namun pertumbuhannya dipengaruhi oleh beberapa hal, salah satunya yang paling dominan adalah salinitas. Salinitas ini berpengaruh besar terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *Dunaliella* sp.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menjelaskan pengaruh salinitas yang berbeda dan menentukan nilai salinitas yang optimal untuk pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *Dunaliella* sp, sehingga didapatkan informasi mengenai pengaturan dan optimalisasi salinitas untuk pertumbuhan maksimum, dan produksi optimum biomassa serta klorofil-a *Dunaliella* sp.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Workshop, Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Laboratorium Hidrobiologi, dan Laboratorium Parasit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yakni metode eksperimen yaitu dengan menggunakan sistem yang digunakan dalam pengujian skala tertutup pada kondisi terkontrol dengan perlakuan perbedaan salinitas (A) 5 ppt, (B) 15 ppt, (C) 25 ppt, (D) 35 ppt. Rancangan penelitian ini berguna untuk mendapatkan informasi yang relevan. Parameter utama yang diamati pada penelitian ini adalah laju pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *Dunaliella* sp, serta parameter penunjang seperti suhu, salinitas, pH, oksigen terlarut dan pengaruh nitrat dan fosfat.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan salinitas yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *Dunaliella* sp. Salinitas optimal untuk pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *Dunaliella* sp. yakni pada salinitas 15 ppt yang menghasilkan konsentrasi sel maksimum sebesar 20×10^7 sel mL^{-1} , biomassa $0,52 \text{ g L}^{-1}$ dan klorofil-a $11,26 \text{ mg L}^{-1}$. Berdasarkan analisis statistik yang dilakukan menunjukan bahwa pada salinitas optimum yakni 15 ppt cenderung memiliki laju pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a yang tinggi.

Disimpulkan bahwa penelitian mengenai perbedaan salinitas memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *Dunaliella* sp. Disarankan menggunakan salinitas 15 ppt untuk mendapatkan pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a optimum.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Kegunaan Penelitian	3
1.6 Tempat Dan Waktu Penelitian	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Biologi <i>Dunaliella</i> sp.	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	4
2.1.2 Reproduksi	5
2.1.3 Kandungan Nutrisi <i>Dunaliella</i>	5
2.2 Fase Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp.....	6
2.2.1. Fase Adaptasi	7
2.2.2. Fase Eksponensial (Logaritmik).....	7
2.2.3. Fase Stasioner	7
2.2.4. Fase Kematian	8
2.3 Sistem Kultur Mikroalga.....	8
2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga	9
2.4.1 Lingkungan.....	9
2.4.2 Nutrisi	11
2.5 Pigmen.....	12
2.6 Mekanisme Pengaruh Salinitas terhadap Pertumbuhan Mikroalga.....	13
3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Alat dan Bahan Penelitian	15
3.1.1 Alat Penelitian	15
3.1.2 Bahan Penelitian	15
3.2 Media Penelitian.....	15
3.3 Metode Penelitian.....	16
3.4 Rancangan Percobaan Penelitian	16
3.5 Prosedur Penelitian	17
3.5.1 Persiapan Penelitian.....	17
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian	19
3.6 Parameter yang Diukur	19

3.6.1 Parameter Utama	19
3.6.2 Parameter Penunjang.....	21
3.7 Analisis Data	22
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp.	24
4.2 Pengaruh Salinitas yang Berbeda Terhadap Produksi Biomassa <i>Dunaliella</i> sp.	30
4.3 Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Produksi Klorofil a <i>Dunaliella</i> sp.	32
4.4 Kualitas Air	34
4.4.1 Suhu.....	34
4.4.2 Oksigen Terlarut (DO)	34
4.4.3 pH	34
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	46

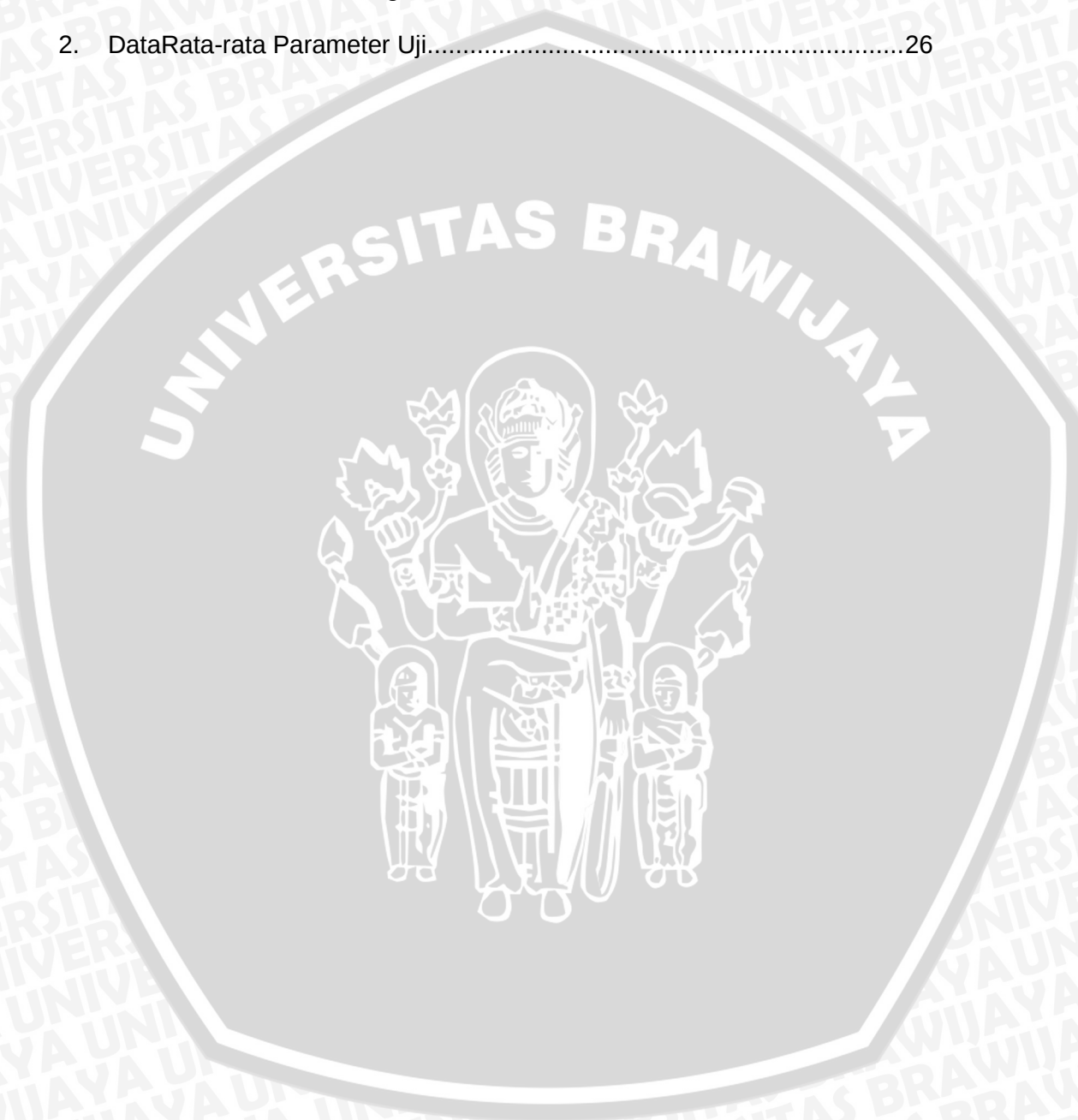


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi <i>Dunaliella</i> sp.	4
2. Fase pertumbuhan mikroalga.....	6
3. Denah percobaan	15
4. Rata - Rata Pertumbuhan Harian <i>Dunaliella</i> sp. (10^5) (sel/mL) Pada Masing-Masing Perlakuan Selama Penelitian	29
5. Hubungan Perlakuan Salinitas yang Berbeda Terhadap Laju Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp.	32
6. Persentase Serapan Nitrat pada Medium Kultur	33
7. Persentase Serapan Fosfat pada Medium kultur	34
8. Hubungan Perlakuan Salinitas yang Berbeda Terhadap Produksi Biomassa <i>Dunaliella</i> sp.....	37
9. Hubungan Perlakuan Salinitas yang Berbeda Terhadap Total produksi Klorofil a <i>Dunaliella</i> sp	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Parameter Kultur Mikroalga	11
2. Data Rata-rata Parameter Uji	26



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi Pupuk Walne	46
2. Proses Sterilisasi.....	47
3. Data Pertumbuhan <i>Dunaliella</i> sp	48
4. Data Laju Pertumbuhan Spesifik <i>Dunaliella</i> sp.....	49
5. Data Waktu Penggandaan <i>Dunaliella</i> sp	49
6. Sidik Ragam Pengaruh Salinitas yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Maksimum <i>Dunaliella</i> sp.	50
7. Data Pengamatan Nitrat dan Persen Serapannya.....	55
8. Data Pengamatan Fosfat dan Persen Serapannya	56
9. Data Biomassa <i>Dunaliella</i> sp.(g/L)	57
10. Sidik Ragam Pengaruh Salinitas yang Berbeda Terhadap Produksi Biomassa <i>Dunaliella</i> sp.	58
11. Data Total Klorofil a <i>Dunaliella</i> sp.(mg/mL)	64
12. Sidik Ragam Pengaruh Salinitas yang Berbeda Terhadap Total Klorofil a <i>Dunaliella</i> sp.	65

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroalga merupakan sumberdaya yang memiliki peranan penting dalam bioteknologi budidaya perikanan (Spolaire *et al.*, 2006). Janssen (2002) menjelaskan bahwa mikroalga adalah mikroorganisme autotrof, yang memanfaatkan energi cahaya dan nutrisi anorganik (karbondioksida, nitrogen, fosfor). Mikroalga memegang peran penting dalam rantai makanan karena menjadi produsen utama dalam perairan (Longhurts *et al.*, 1995).

Dalam akuakultur, mikroalga dimanfaatkan sebagai pakan alami untuk larva ikan dan crustacea karena mengandung asam lemak tak jenuh misalnya, asam *eicosapentaenoic* (EPA), asam arakhidonat dan asam *docosahexaenoic* (DHA) (Reitan, 1997). *Dunaliellasp.* merupakan mikroalga hijau-oranye (Chlorophyta) uniseluler (Richmond, 2003) dan memiliki kandungan protein 57%, lemak 6%, karbohidrat 32% (Becker, 1994) dan total karoten 0,19 ppm (Darsi *et al.*, 2012). Selain itu, Dufosse *et al.* (2005), menjelaskan bahwa *Dunaliella* merupakan tiga sumber produk penting yaitu gliserol, β -karoten dan protein.

Faktor lingkungan seperti efek cahaya, nutrisi, suhu, pH dan salinitas mempengaruhi pertumbuhan dan komposisi kimia mikroalga (Henley *et al.*, 2002). Salinitas merupakan salah satu faktor paling penting yang mempengaruhi pertumbuhan, produktivitas mikroalga (Parida dan Das, 2005), mekanisme fisiologis dan bio-kimia (Kalita *et al.*, 2011) dan kandungan pigmen mikroalga (Cowan dan Rose, 1998). Talebi *et al.* (2013), menjelaskan bahwa ketika sel-sel yang terkena salinitas maka beberapa proses tertentu seperti, pemulihan tekanan turgor, regulasi penyerapan dan eksporion melalui membran sel, dan akumulasi osmo yang melindungi zat terlarut dan kandungan protein akan aktif yang akan menyebabkan pertumbuhan baru yang stabil.

Adaptasi dari setiap mikroalga terhadap salinitas adalah spesies-spesifik dan tergantung pada karakteristik fisiologis spesies (Richmond, 1986) dan asal spesies (Banerjee *et al.*, 2011). Loeblich (1982) melaporkan bahwa salinitas berpengaruh terhadap pertumbuhan dan pigmen *Dunaliella* sp. Adenan *et al.* (2013) melaporkan bahwa *Chlorella* sp. menunjukkan pertumbuhan optimum ketika dikulturkan pada salinitas rendah. Akan tetapi, Ak *et al.* (2011) melaporkan bahwa pertumbuhan *Dunaliella viridis* meningkat dengan meningkatnya salinitas. Herianti dan Pralampita (1987) melaporkan dari tiga salinitas 40 ppt, 30 ppt dan 20 ppt didapatkan pertumbuhan terbaik *Dunaliella* sp. pada salinitas 30 ppt yang mencapai puncaknya setelah enam hari.

Dunaliella merupakan organisme fotosintesis dominan di banyak lingkungan garam dan dapat beradaptasi dengan hampir seluruh rentang salinitas (Pick, 2002). Namun, kisaran salinitas yang optimum menjadi faktor penting dalam pertumbuhan dan perkembangan *Dunaliella* sp. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk menentukan salinitas optimum untuk menghasilkan produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp. yang optimal.

1.2 Rumusan Masalah

Mikroalga merupakan mikroorganisme yang memiliki kontribusi penting dalam sistem perairan, khususnya di dalam sistem budidaya perikanan. Mikroalga merupakan makanan alami yang dibutuhkan oleh organisme budidaya terutama pada tingkat larva. Salah satu mikroalga yang digunakan sebagai pakan alami yaitu *Dunaliella* sp. Spesies ini termasuk dalam *euryhaline* mikroalga, dimana salinitas merupakan faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a mikroalga ini. Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp. ?

- Berapa salinitas yang optimal untuk pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp.?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Menjelaskan pengaruh pemberian salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp.
- Menentukan salinitas optimal untuk pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a *Dunaliella* sp.

1.4 Hipotesis

H₀: Pemberian salinitas yang berbeda tidak mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp.

H₁: Pemberian salinitas yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp.

1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai informasi tentang pengaruh salinitas yang berbeda terhadap produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp. dan sebagai informasi konsentrasisalinitas optimal untuk produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp.

1.6 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Workshop, Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Laboratorium Hidrobiologi, dan Laboratorium Parasit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada Bulan Januari 2016-April 2016.

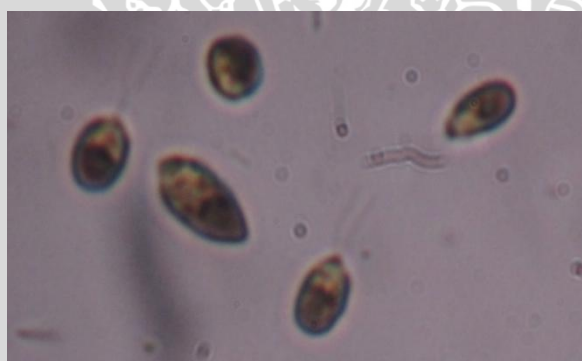
2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *Dunaliella* sp.

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *Dunaliella* sp. menurut Teodoresco (1905), adalah sebagai berikut ini:

Phylum : Chlorophyta
Kelas : Chlorophyceae
Ordo : Volvocales
Famili : Polyblepharidaceae
Genus : *Dunaliella*
Spesies : *Dunaliella* sp.



Gambar 1. *Dunaliella* sp. (Perbesaran 40x)

Secara morfologi, *Dunaliella* sp. merupakan mikroalga yang bersifat uniseluler, mempunyai sepasang flagel yang sama panjangnya, mempunyai kloroplas berbentuk cangkir, dan tidak memiliki dinding sel serta ukuran sel kurang dari 7 mikron. *Dunaliella* sp. sering disebut flagellata uniseluler hijau (*green unicellular flagellata*). Alga ini termasuk dalam kelompok Chlorophyceae yang mengandung klorofil a dan b serta karotenoid yang umumnya berupa beta karoten (Borowitzka dan Borowitzka, 1988). Bentuk selnya yang tidak stabil dan beragam, dapat berbentuk lonjong, bulat silindris, elip, dan lain-lain. Hal ini dapat

terjadi karena dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, pertumbuhan dan intensitas sinar matahari (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

2.1.2 Reproduksi

Reproduksi dilakukan secara aseksual dan seksual. Reproduksi secara aseksual dapat terjadi dengan pembelahan secara memanjang. Saat proses pembelahan inti, maka 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 seksual terjadi dengan cara melakukan isogami melalui konjugasi. Zigot berwarna merah atau hijau dikelilingi oleh dinding sporollenin yang halus dan sangat tipis. Nukleus zigot akan membelah secara meiosis. Pembelahan ini akan terjadi setelah tahap istirahat dan akan terbentuk lebih dari 32 sel yang akan dibebaskan melalui retakan atau celah pada dinding sel induk (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

2.1.3 Kandungan Nutrisi *Dunaliella* sp.

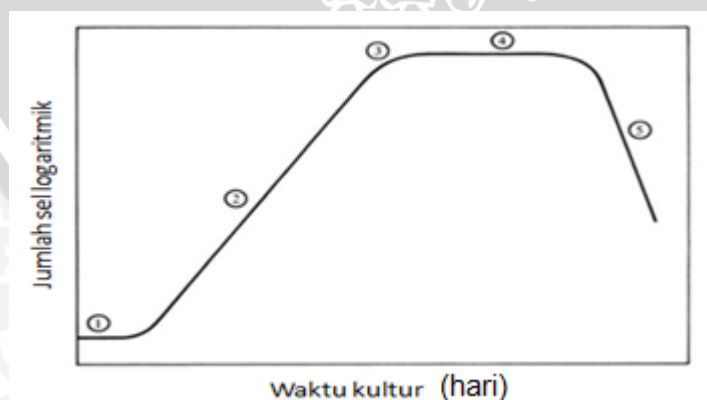
Chlorella sp., *Botryococcus braunii*, dan *Dunaliella salina*, yang diklasifikasikan sebagai Chlorophyceae, Volvocales, menunjukkan komposisi biokimia yang khas: 30-50% protein, 20-40% karbohidrat, dan 8-15% dari lipid dalam kondisi lingkungan yang menguntungkan. Spesies ini dapat mengakumulasi hingga 80% dari lipid, 80% dari hidrokarbon, dan 40% dari gliserol, masing-masing, atas dasar berat kering dalam kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan (Du *et al.*, 2013). *D. bardawil* mempunyai kandungan karoten setidaknya 10% dari berat kering ketika tumbuh di bawah kondisi pertumbuhan intensitas cahaya tinggi (Ben-Amotz *et al.*, 1982), konsentrasi

garam yang tinggi, suhu ekstrim atau kekurangan nitrat memiliki hasil lipid 36-42% (Tsukahara dan Sawayama, 2005).

Karbohidrat dalam mikroalga dapat ditemukan dalam bentuk pati, glukosa, gula dan polisakarida lainnya. Kandungan lemak rata-rata sel alga bervariasi antara 1% sampai 70% bahkan mencapai 90% dari berat kering dalam kondisi tertentu (Metting, 1996). Lipid alga terdiri dari gliserol, gula atau basa diesterifikasi untuk asam lemak jenuh dan tidak jenuh. Mikroalga memiliki asam lemak yaitu omega 3 dan omega 6. Mikroalga juga merupakan sumber vitamin (A, B1, B2, B6, B12, C, E, nicotinate, biotin, asam folat dan asam pantotenat) (Kabinawa, 2006). Becker (2004), menyatakan mikroalga juga kaya pigmen seperti klorofil (0,5% sampai 1% dari berat kering), karotenoid (0,1% sampai 0,2% dari rata-rata berat kering dan sampai 14% dari berat kering untuk *b-karoten* pada *Dunaliella*) dan phycobiliprotein.

2.2 Fase Pertumbuhan *Dunaliella* sp.

Pertumbuhan mikroalga menurut Fogg dan Thake (1987), dibagi menjadi 5 fase (Gambar 2) yaitu fase lag, fase eksponensial, fase penurunan laju pertumbuhan, fase stasioner, dan fase kematian. Cepat atau lambat fase pertumbuhan mikroalga ini dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya adalah kandungan nutrisi dan parameter lingkungan.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan mikroalga

2.2.1. Fase Adaptasi

Fase adaptasi merupakan tahapan awal mikroalga untuk tumbuh. Menurut Ru'yatin (2015), beberapa faktor yang mempengaruhi waktu fase adaptasi adalah jenis dan umur sel mikroorganisme, ukuran inokulum dan kondisi lingkungan. Pelczar *et al.* (1986), menyatakan lamanya fase lag tergantung pada inokulan yang dimasukkan. Sel-sel yang diinokulasikan pada awal fase logaritmik akan mengalami fase lag yang amat singkat. Inokulan yang berasal dari kultur yang sudah tua akan mengalami fase lag yang lama.

Fase adaptasi pada mikroalga biasanya terjadi pada hari pertama kultur. Pada fase ini sangat menentukan pertumbuhan mikroalga, apabila kondisi lingkungan bagus dan banyak terdapat nutrisi maka mikroalga ini dapat beradaptasi dengan baik. Namun setiap spesies mikroalga memiliki pola adaptasi yang berbeda terhadap lingkungannya (Mata *et al.*, 2010).

2.2.2. Fase Eksponensial (Logaritmik)

Suantika dan Hendrawandi (2009), berpendapat bahwa pada fase ini pertumbuhan dan aktivitas sel berada dalam keadaan maksimum, sehingga pada umur tersebut sel berada dalam keadaan aktif dan memiliki waktu adaptasi yang pendek selama proses kultur. Pada fase eksponensial sel inokulum mengalami pembelahan maksimal yaitu menjadi dua kali lipat dari sebelumnya. Faktor yang mempengaruhi hal tersebut adalah kondisi lingkungan dan media (Kabinawa, 2006). Parameter lingkungan mempengaruhi tingkat pertumbuhan sel mikroalga diantaranya intensitas cahaya, penyinaran, suhu, dan komposisi nutrisi dalam sistem budidaya (Kitaya *et al.*, 2008).

2.2.3. Fase Stasioner

Fase stasioner merupakan fase dimana laju kematian sama dengan laju pertumbuhan, sehingga populasi menjadi tetap untuk sementara waktu (Purwitasari *et al.*, 2012). Pada fase ini mikroalga dapat mempertahankan sel

dengan memanfaatkan nutrisi yang ada di lingkungan, agar jumlah sel yang mati dengan jumlah sel yang masih berkembang memiliki laju yang sama, dengan kata lain pada fase ini mikroalga tumbuh dalam kondisi konstan.

Pertumbuhan mikroalga pada fase-fase tertentu sangat bergantung dari berbagai hal seperti keberadaan nutrisi dan kondisi lingkungan. Pada fase stasioner, komposisi proksimat dari mikroalga dapat berubah secara signifikan; misalnya, ketika nitrat terbatas, kadar karbohidrat dapat melipat gandakan dengan mereduksi protein (Liang *et al.*, 2009).

2.2.4. Fase Kematian

Fase kematian merupakan tingkat kematian mikroalga lebih tinggi dibandingkan sel yang membelah (Krishnan *et al.*, 2015). Fase ini ditandai dengan kepadatan populasi yang terus berkurang, hal ini dikarenakan laju kematian yang lebih tinggi dari pada laju pertumbuhan (Pelczar *et al.*, 1986). Penurunan jumlah sel dikarenakan laju kematian sel lebih tinggi daripada laju pertumbuhan sel sehingga kepadatan populasi semakin menurun. Berge *et al.* (2012), menyampaikan waktu yang dibutuhkan untuk mendekati fase kematian tergantung pada tingkat pertumbuhan dan batas toleransi pH terhadap pertumbuhan.

2.3 Sistem Kultur Mikroalga

Alga dapat diproduksi dengan menggunakan berbagai metode, mulai dari metode laboratorium yang terkontrol sampai dengan metode yang kurang dapat dikontrol dalam tangki di luar ruangan. Jenis kultur alga meliputi kultur *batch*, berkelanjutan dan semikontinu. FAO (1991), menyatakan kultur *batch* terdiri dari sel inokulan tunggal yang dikultur di media yang kaya akan nutrisi. Dikultur beberapa hari dan akhirnya dipanen ketika populasi alga mencapai maksimum atau kepadatan mendekati maksimum kemudian alga dipindahkan ke volume kultur yang lebih besar saat kepadatan maksimum dan alga dipanen.

Dalam sistem kultur *batch* sederhana, inokulum alga ditempatkan di bak kultur dan diinkubasi di lingkungan yang menguntungkan bagi pertumbuhan. Kultur *batch* banyak digunakan untuk budidaya komersial. Untuk produksi kultur alga massal, sebagian dari kultur akan disimpan sebagai inokulum untuk kultur *batch* berikutnya (Richmond, 2004).

2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga

Faktor lingkungan, khususnya cahaya, suhu, nutrisi, dan salinitas, tidak hanya mempengaruhi fotosintesis dan produktivitas biomassa sel, tetapi juga mempengaruhi pola, jalur, dan aktivitas metabolisme serta komposisi sel (Richmond, 2004). *Dunaliella* sp. bersifat halopilik, yaitu menyukai kondisi lingkungan yang mempunyai salinitas tinggi. Alga ini merupakan organisme eukariotik yang dapat bertahan hidup pada kisaran salinitas yang luas (Becker, 1994).

2.4.1 Lingkungan

Alga merupakan organisme autotrof yang mampu membentuk senyawa organik dari senyawa anorganik (Hejazi *et al.*, 2002). Ada beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan alga seperti faktor abiotik cahaya (kualitas dan kuantitas), suhu, konsentrasi nutrisi, O₂, CO₂, pH, salinitas, dan bahan kimia beracun (Mata *et al.*, 2010).

Kim (2015), menyatakan sejumlah parameter seperti intensitas cahaya, lama penyinaran, suhu, salinitas, pH, pencampuran, dan lain-lain (Tabel 1) mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Suhu optimum untuk kultur mikroalga *Dunaliella* skala laboratorium antara 25-32°C. *Dunaliella tertiolecta*, peningkatan lipid intraseluler (60% sampai 67%) dan konsentrasi trigliserida (40% sampai 56%) dengan peningkatan konsentrasi NaCl (Takagi and Yoshida, 2006). Kenaikan suhu akan meningkatkan kecepatan reaksi. Pada umumnya kenaikan 10°C dapat mempercepat reaksi 2-3 kali lipat (Fogg, 1975).

Tabel 1. Parameter kultur mikroalga

Parameter	Kisaran	Optimal
Temperature (°C)	16-27	18-24
Salinitas (ppt)	12-40	20-24
Intensitas cahaya (lux)	1.000-10.000	2.500-5.000
Fotoperiod (Terang: gelap)	-	24:0 (maximum) 16:8 (minimum)
pH	7-9	8,2-8,7

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan paling penting yang mempengaruhi tingkat pertumbuhan alga, ukuran sel, komposisi biokimia dan nutrisi (Renaud *et al.*, 2002). *D. salina* menunjukkan peningkatan kandungan asam lemak tidak jenuh dalam merespon penurunan suhu dari 30° sampai 12°C (Lynch dan Thompson, 1982). Suhu memiliki pengaruh yang signifikan pada pembentukan karotenoid, karenakarotenoid menyerap energi cahaya untuk digunakan dalam fotosintesis (Amstrong dan Hearst, 1996).

Cahaya adalah sumber energi fotoautotropik selama fase pertumbuhan dan organisme menggunakan energi cahaya untuk mengubah karbondioksida ke senyawa organik khususnya glukosa. Intensitas cahaya memberikan efek terhadap pertumbuhan mikroalga dan berdampak pada fotosintesis (Stockenreiter, 2012). Intensitas cahaya juga mempengaruhi komposisi sel alga. *D. tertiolecta* menunjukkan penurunan kadar protein dan peningkatan lipid dengan meningkatkan intensitas cahaya (Cuhel *et al.*, 1984).

Salah satu faktor yang paling penting dalam kultur alga adalah pH karena menentukan kelarutan, ketersediaan CO₂ dan nutrisi, serta memiliki dampak yang signifikan pada metabolisme alga (Goldman dan Letter, 1973). pH dapat

meningkatkan penyerapan karbon anorganik secara signifikan dalam kultur alga (Hansen, 2002). Pertumbuhan alga maksimum terjadi pada pH netral, meskipun pH optimum adalah pH kultur awal, dimana alga beradaptasi untuk tumbuh. Jika mengubah pH media dapat membatasi pertumbuhan alga melalui penghambatan metabolisme (Goldman *et al.*, 1982).

2.4.2 Nutrisi

Unsur hara yang dibutuhkan mikroalga terdiri atas unsur hara makro seperti N, P, K, S, Fe, Mg, Si dan Ca serta unsur hara mikro seperti Mn, Zn, Co, Bo, Mo, B, dan Cu. Unsur N berfungsi dalam pembentukan protein, unsur P merupakan bahan dasar pembentuk asam nukleat, enzim dan vitamin, sedangkan unsur K berfungsi dalam metabolisme karbohidrat dan sebagai kofaktor untuk beberapa koenzim, fungsi unsur Si dan Ca untuk pembentukan dinding sel atau cangkang. Unsur hara mikro dibutuhkan untuk menjalankan berbagai fungsi dalam pertumbuhan alga, seperti Mn, Zn yang diperlukan untuk proses fotosintesis. Unsur Mo, Bo, dan Co juga diperlukan untuk metabolisme nitrogen, serta unsur B dan Cu digunakan untuk fungsi metabolik lainnya. Unsur hara mikro dibutuhkan dalam jumlah kecil tetapi harus tersedia dan berguna untuk menstabilkan fungsi hara mikro serta biasanya ditambahkan senyawa sitrat atau EDTA (Kabinawa, 2006).

Kebutuhan nutrisi ideal agar mikroalga dapat tumbuh dengan optimal berdasarkan rasio berat untuk masing – masing nutrien C : N : P adalah 56% : 8,6 % : 1,2%. N dibutuhkan dalam jumlah yang besar yang digunakan untuk pembentukan asam amino, asam nukleat serta P digunakan untuk pembentukan ATP, asam nukleat, dan koenzim (Krismawati dan Rizky, 2013).

Akumulasi karotenoid sekunder adalah karakteristik utama yang lain dari banyak alga ketika tumbuh di bawah kondisi nitrogen yang terbatas, produksi β -karoten terjadi pada sel-sel *Dunaliella* yang kekurangan nitrogen (Ben-Amotz *et*

al.,1982). Konsentrasi nitrogen yang rendah merupakan faktor utama dalam mempengaruhi sintesis dan akumulasi astaxanthin (Borowitzka *et al.*, 1991). Pada komposisi kimia dari *Dunaliella* dalam medium yang rendah akan kandungan fosfat, kandungan karbohidrat dan β -karoten akan meningkat melebihi gliserol dan protein sedangkan kandungan klorofilnya menurun (Ben-Amotz, 1987). Fosfor diserap 84% selama kultur, setelah fosfor berubah dalam bentuk fosfat, fosfat akan digunakan dalam banyak proses metabolisme dan diperlukan dalam jumlah yang relatif tinggi oleh semua organisme dan merupakan salah satu nutrisi penting untuk produksi biomassa (Chen, 2010).

2.5 Pigmen

Pigmen adalah senyawa kimia berwarna-warni yang menyerap dan memantulkan panjang gelombang tertentu dari cahaya yang tampak. Pigmen mempunyai peran sebagai penyerap energi cahaya dalam sistem fotosintesis alga. Pigmen utama dikelompokkan dalam klorofil, karotenoid dan phycobilins. Klorofil dapat ditemukan di semua tumbuhan tingkat tinggi dan ganggang yang berfotosintesis. Karotenoid hanya terdapat pada sebagian besar alga dan phycobilins hanya dimiliki kelompok cyanobacteria dan beberapa alga merah (Spolaore *et al.*, 2006). Dalam kondisi stress, lebih dari 10% dalam berat kering terdapat β -karoten (Ben-Amotz *et al.*, 1982).

Klorofil dibagi menjadi dua macam yaitu klorofil-a dan klorofil-b. Klorofil-a dan klorofil-b mempunyai komposisi yang sama. Komposisi klorofil-a adalah $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$, sedangkan klorofil-b adalah $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$, masing-masing dengan atom Mg sebagai pusat. Perbedaan keduanya adalah terletak pada gugus CH_3 pada klorofil-a yang disubstitusikan dengan $HC-O$ pada klorofil-b. Klorofil-a mempunyai berat molekul 893 dan klorofil-b 907 (Riyono, 2007). Dalam *D. bardawii*, meningkatkan intensitas cahaya dan periode terang atau menghambat pertumbuhan dengan berbagai kondisi stres seperti kekurangan

nutrisi atau konsentrasi garam yang tinggi menyebabkan penurunan kadar klorofil per sel dan peningkatan jumlah β -karoten per sel (Ben-amotz *et al.*, 1982).

Karotenoid merupakan pigmen paling umum di alam dan disintesis oleh semua organisme fotosintetik dan fungi. Karotenoid berasal dari kelas terpenoid, berupa rantai poliena dengan 40 karbon yang dibentuk dari delapan unit isoprena C_5 yang memberikan struktur molekul karotenoid yang khas. Karotenoid dikelompokkan menjadi 2 kelompok. Karoten merupakan kelompok hidrokarbon dan xantofil merupakan turunan karoten teroksidasi. Semua xantofil disintesis oleh tanaman tinggi, sementara violaxantin, antheraxantin, neoxantin dan lutein dapat disintesis oleh mikroalga (de Campo *et al.*, 2007). Dari hasil penelitian yang telah dilakukan oleh de Fretes *et al.*, (2012), bahwa *Dunaliella* sp. mengakumulasi jumlah karotenoid yang tinggi (12,6% berat kering), termasuk beta karoten (60,4% dari karotenoid total), astaxantin (17,7%), zeaxantin (13,4%), lutein (4,6%) dan kriptoxantin (3,9%).

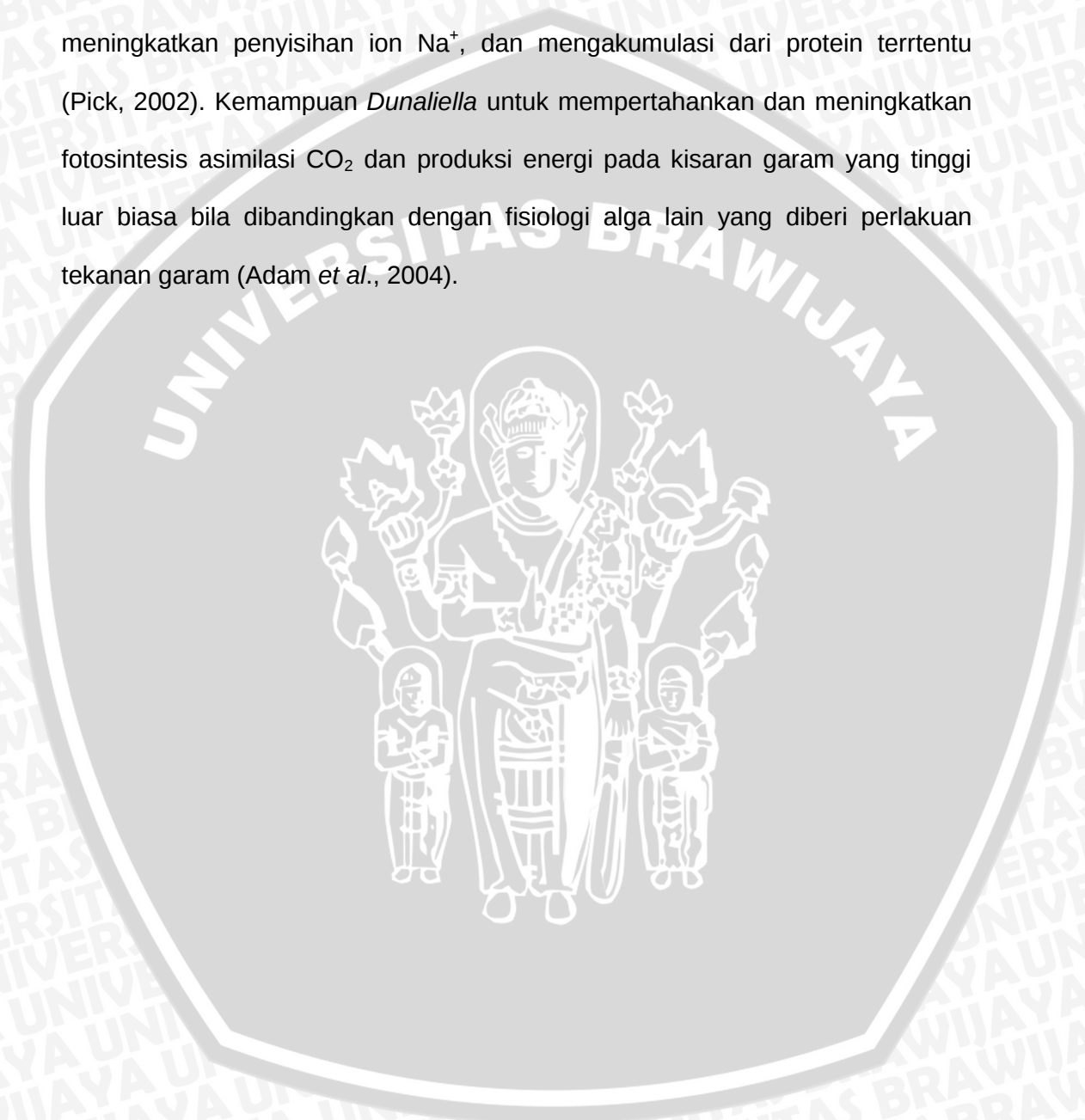
2.6 Mekanisme Pengaruh Salinitas terhadap Pertumbuhan Mikroalga

Salinitas merupakan salah satu faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan komposisi biomassa dari alga. Setiap jenis alga mempunyai karakteristik tersendiri dalam mentolerir salinitas (Rao *et al.*, 2006). Perubahan salinitas mempengaruhi organisme dalam tiga cara: (a) stres osmotik dengan dampak langsung pada potensi sel air, (b) ion (garam) stres yang disebabkan oleh penyerapan atau kehilangan ion, yang sekaligus merupakan bagian dari aklimatisasi, dan (c) perubahan rasio ionik seluler karena permeabilitas ion selektif membran.

Respon alga terhadap perubahan salinitas diatur dalam dua tahap. Tahap pertama ditandai dengan perubahan yang cepat dalam tekanan turgor atau perubahan volume yang disebabkan oleh fluktuasi air yang masuk atau keluar dari organisme mengikuti gradien osmotik. Tahap kedua merupakan

penyesuaian konsentrasi sel sampai mencapai keadaan stabil. Kedua fase tersebut merupakan bagian dari aklimatisasi osmotik (Kirst, 1989).

Dunaliella dapat diadaptasikan dengan berbagai macam kisaran salinitas. Respon *Dunaliella* pada tekanan salinitas diakumulasi oleh gliserol, mampu meningkatkan penyisihan ion Na^+ , dan mengakumulasi dari protein tertentu (Pick, 2002). Kemampuan *Dunaliella* untuk mempertahankan dan meningkatkan fotosintesis asimilasi CO_2 dan produksi energi pada kisaran garam yang tinggi luar biasa bila dibandingkan dengan fisiologi alga lain yang diberi perlakuan tekanan garam (Adam et al., 2004).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain wadah kultur (toples kaca 2,5 l), aerator, selang, lampu TL, botol sprayer, pH meter, DO meter, termometer, haemocytometer 0,1 mm *Neubauer Assistend*, nampan, mikroskop *Olympus CX21*, bola hisap *D&N*, pipet volume 10 ml dan 1 ml *pyrex lwaki*, pipet tetes, elenmeyer 500 ml *pyrex lwaki*, autoklaf *GEA*, mikropipet 1-1000 μ L *eppendorf Reseach Plus*, gelas ukur 100 ml, beaker glass *pyrex* 250 ml, handtally counter, gayung, washing bottle, cover glass, cuvet, sentrifuge, oven, timbangan analitik *Radwag AS2201X*, bak besar, refraktometer *Agata*, kalkulator, spektrofotometer *Spectroquant pharo 300*, bunsen, sprayer, botol film, petridish dan vacuum pump *VE115value*.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *Dunaliella* sp., air tawar, air laut, klorin, Na-Thiosulfat, alkohol 70%, tissue, kapas, kain saring, kertas saring vitamin, pupuk walne, akuades, metanol *absolute*, benang kasur, kertas koran, kertas label, dan aluminium foil.

3.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian ini yaitu air dengan salinitas 5, 15, 25 dan 35 ppt. Air tawar yang digunakan diperoleh dari sumur kemudian didistribusikan melalui pipa menuju bak penampungan air dan air laut yang digunakan diperoleh dari pasar Bunul, Malang. Air yang ditampung kemudian disterilisasi untuk selanjutnya digunakan sebagai media kultur pada toples kaca 2,5 L sebanyak 12 buah dan diaerasi untuk mensuplai kandungan oksigen terlarut. Nutrient yang ditambahkan dalam media kultur yaitu pupuk walne dan

vitamin 1 ml/L yang berasal dari Balai Perikanan Budidaya Air Payau, Situbondo (kandungan pupuk walne tersaji dalam Lampiran 1)

3.3 Metode Penelitian

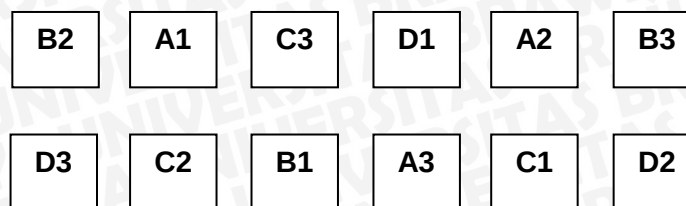
Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen yaitu suatu metode yang digunakan untuk melihat pengaruh dari suatu perlakuan. Metode Sukmadinata (2012), metode eksperimen yakni metode penelitian yang dapat dilakukan di laboratorium maupun diluar laboratorium. Metode ini terdiri dari satu atau lebih variabel terhadap variabel lain. Karena penelitian ini bersifat menguji maka semua variabel yang diuji harus diukur dengan menggunakan instrumen yang sudah distandardisasikan.

3.4 Rancangan Percobaan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Desain rancangan acak lengkap ini digunakan karena percobaan dilakukan di laboratorium dengan kondisi lingkungan yang dapat dikontrol (Nazir, 2003). RAL merupakan rancangan penelitian yang paling sederhana dengan bahan yang homogen dan perlakuan terbatas. Keuntungan menggunakan RAL yaitu desain perancangan lebih mudah, analisis statistik terhadap subjek percobaan sangat sederhana, fleksibel dalam penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan, kehilangan informasi relatif sedikit dalam hal data hilang dibandingkan dengan rancangan lain (Novianti *et al.*, 2014)

Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan salinitas dengan interval 10 ppt terdiri dari empat perlakuan dengan tiga kali ulangan (Gambar 3):

- A: Perlakuan salinitas dengan 5 ppt
- B: Perlakuan salinitas dengan 15 ppt
- C: Perlakuan salinitas dengan 25 ppt
- D: Perlakuan salinitas dengan 35 ppt



Gambar 3 . Denah Percobaan

Keterangan:

A-D : Perlakuan

1-3 : Ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sterilisasi panas basah dan sterilisasi kimia. Sterilisasi panas basah menggunakan autoklaf, sedangkan sterilisasi kimia menggunakan bahan meliputi klorin 30 ppm dan diberi Na Thiosulfat 15 ppm (Suminto, 2009). Cara sterilisasi menggunakan autoklaf dan sterilisasi kimia tersaji dalam Lampiran 2.

Peralatan yang terbuat dari kaca meliputi pipet volume dan pipet tetes disterilisasi dengan menggunakan autoklaf. Peralatan yang akan disterilkan dicuci menggunakan sabun, kemudian dibilas dengan air tawar, dan ditunggu sampai kering. Selanjutnya peralatan tersebut dibungkus dengan menggunakan kertas koran. Namun sebelum dibungkus, pipet volume dan pipet tetes harus diberi kapas dan diikat menggunakan benang kasur. Setelah itu, ditata peralatan yang akan disterilkan di dalam autoklaf, kemudian ditutup. Prinsip kerja autoklaf adalah sterilisasi panas basah dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C selama 30 menit. Peralatan lainnya yaitu toples kaca, erlenmeyer, *beaker glass*, dan gelas ukur yang digunakan untuk kultur disterilisasi cara direndam air tawar dan ditambahkan klorin 30 ppm, didiamkan selama 24 jam kemudian dinetralkan

dengan larutan Na Thiosulfat 15 ppm. Media kultur berupa air tawar dan air laut disterilisasi kimia dengan cara ditampung dalam bak penampungan dengan kapasitas 60 liter.

b. Penyiapan Media Kultur

Media kultur yang digunakan yaitu air dengan salinitas 36-37 ppt yang telah disterilkan. Media kultur yang digunakan pada percobaan ditampung pada bak penampungan kapasitas 60 liter. Media kultur yang dituang ke dalam toples dilakukan penyaringan terlebih dulu.

c. Penyiapan Inokulan

Bibit *Dunaliella* sp. diperoleh dari kultur murni Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut (BBRPBL) Gondol, Bali. Selanjutnya dikultur pada erlenmeyer 500 ml dengan media 300 ml air salinitas 15 ppt sebanyak 3 buah. Penyediaan inokulan *Dunaliella* sp. dilakukan selama 4 hari pada fase logaritmik. Inokulan *Dunaliella* sp. dipanen. Selama penyiapan inokulan tersebut suhu ruang dijaga pada 28° C dengan intensitas cahaya 4.500 lux.

Stok *Dunaliella* sp. yang ditebar untuk percobaan, sebelumnya dihitung kepadatan awalnya untuk mengetahui seberapa banyak bibit *Dunaliella* sp. yang dibutuhkan untuk ditebar pada media. Selanjutnya apabila telah diketahui kepadatannya, ditentukan bibit *Dunaliella* sp. yang dibutuhkan dengan metode pengenceran.

d. Pengaturan Salinitas

Perlakuan salinitas yang digunakan dalam percobaan yaitu sebanyak 4 terdiri dari 5, 15, 25 dan 35 ppt. Untuk memperoleh salinitas yang diinginkan perlu dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus sebagai berikut

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan : V_1 : Volume air tawar dan air laut yang diketahui
 N_1 : Salinitas air laut dan air tawar yang diketahui

V_2 : Volume air media yang diinginkan
 N_2 : Salinitas air media yang diinginkan

3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

Pupuk walne dan vitamin diberikan dengan dosis masing-masing yaitu 1 mL/L. Wadah yang telah diisi media sebanyak 1,7 liter diletakkan di atas rak kultur sesuai dengan denah rancangan percobaan yang telah dibuat dengan intensitas cahaya 4.500 lux, selanjutnya diaerasi secara terus-menerus. Setelah itu dimasukkan bibit *Dunaliella* sp. dengan kepadatan awal 1×10^5 sel/ml dengan pengenceran (Zhanget *al.*, 2015). Pengamatan pertumbuhan *Dunaliella* sp. dilakukan setiap hari selama masa kultur. Selanjutnya dilakukan pengukuran biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp. pada saat fase pertumbuhan stasioner.

Parameter penunjang yang diukur pada media pemeliharaan meliputi suhu, pH, DO dilakukan sekali sehari, untuk pengukuran nitrat dan fosfat dilakukan pada saat awal tebar, logaritmik dan stasioner.

3.6 Parameter yang Diukur

3.6.1 Parameter Utama

a. Pertumbuhan *Dunaliella* sp.

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

$$\text{Jumlah (sel/ml)} = \frac{n}{\text{jumlahbidangpandang}} \times 25 \times 10^4$$

Apabila kepadatannya tinggi maka menggunakan perhitungan yaitu sebagai berikut:

$$\text{Jumlah } \left(\frac{\text{sel}}{\text{ml}} \right) = \frac{n}{\text{jumlahbidangpandang}} \times 25 \times 10^4 \times \text{faktorpengenceran}$$

Laju Pertumbuhan Spesifik

Perhitungan laju spesifik dari pertumbuhan saat awal kultur hingga puncak konsentrasi sel maksimum. Laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan menggunakan rumus Aket *al.* (2011) yaitu:

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

dimana μ merupakan laju pertumbuhan spesifik (hari^{-1}) kultur, 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 (t_d) ialah waktu pengandaan dari sel *Dunaliella* sp. Waktu penggandaan sel (t_d) merupakan rata-rata waktu generasi konsenrasi sel *Doubling Time* (hari) dihitung dari laju pertumbuhan dengan menggunakan rumus menurut Aket *al.* (2011), sebagai berikut:

$$t_d = \frac{t_2 - t_1}{\log_2 \left(\frac{x_2}{x_1} \right)}$$

b. Biomassa

Janssen *et al.* (1999), menjelaskan bahwa sampel mikroalga yang digunakan untuk analisis biomassa dianalisis pada saat akhir fase stasioner. 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 *distilled water* atau 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).

Berat kertas saring = A

Berat kertas saring + alga = B

Berat kering/biomassa (g/L) = $(B - A) \times 1,000 / \text{Volume sampel}$

c. Klorofil a

Analisis klorofil a (modifikasi Bennet dan Bogarad, 1973; dan Lichtenhater, 1987) Diambil 5 mL sampel tabung/falcon yang steril dan dibungkus alumunium foil tertutup rapat. Disentrifugasi 5 mL kultur mikroalga pada 6.000 rpm selama 10 menit dan dibuang supernatan dilakukan proses freezing-thawing masing-masing 15 menit (hingga membeku dan mencair) selama 3 siklus dan ditambahkan 5 mL methanol absolut pada pellet, dipanaskan pada suhu 70° C selama 15 menit, divortex sampai homogen. Diinkubasi pada suhu 4°C dalam keadaan gelap selama 24 jam. Sampel divortex dan dilakukan sentrifugasi 6.000 rpm selama 10 menit. kemudian diambil supernatan jernihnya untuk diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 665 nm dan 652 perhitungan klorofil a menurut Ritchie (2006):

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

3.6.2 Parameter Penunjang

a. Suhu

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer yang dicelupkan ke dalam media kultur *Dunaliella* sp. kemudian dicatat hasilnya. Pengukuran dilakukan satu kali sehari setiap 24 jam.

b. pH

Kandungan pH (derajat keasaman) pada percobaan diukur menggunakan pH meter yang dicelupkan ke dalam media kultur *Dunaliella* sp. dan dicatat hasilnya. Pengamatan pH dilakukan satu kali sehari setiap 24 jam.

c. DO

Pengukuran oksigen terlarut (DO) pada media kultur dilakukan sebanyak satu kali sehari setiap 24 jam. Pengukuran DO dilakukan dengan menggunakan DO meter yang dicelupkan ke dalam media kultur *Dunaliella* sp. dan dicatat hasilnya.

d. Pengukuran Kadar Nitrat

Pengukuran kadar nitrat dilakukan pada awal tebar, fase eksponensial, dan fase stasioner. Air sampel disentrifuge sebanyak 80 ml dengan kecepatan 5.000 rpm selama 20 menit. Setelah itu, dituang air sampel sebanyak 12,5 ml ke dalam cawan porselen dan dipanaskan sampai membentuk kerak dan didinginkan. Kemudian ditambahkan 0,25 ml asam venol disulfonik (6-7 tetes). Selanjutnya ditambahkan sedikit H_2O dan dikerik sampai keraknya larut semua. Sampel ditambahkan NH_4OH 1:1 sampai berwarna kuning dan jika sudah 6 ml tapi tidak berwarna kuning maka dihentikan, lalu ditambahkan H_2O sampai seperti volume semua (12,5 ml). Sampel dimasukkan ke dalam cuvet untuk diukur dengan spektrofotometer panjang gelombang 410 nm (Boyd, 1979).

e. Pengukuran Kadar Fosfat

Pengukuran kadar fosfat dilakukan pada awal tebar, fase eksponensial, dan fase stasioner. Air sampel disentrifuge sebanyak 80 ml dengan kecepatan 5.000 rpm selama 20 menit. Setelah itu, dituang air sampel sebanyak 25 ml. Selanjutnya ditambahkan 1 ml ammonium molybdate. Lalu ditetesi dengan 5 tetes $SnCl_2$ dan dihomogenkan, ditunggu sampai 10 menit hingga warna biru terbentuk. Kemudian dimasukkan ke dalam cuvet. Kadar fosfat diukur dengan spektrofotometer panjang gelombang 690 nm (Boyd, 1979).

3.7 Analisis Data

Semua analisis dihitung dari masing-masing perlakuan dan diuji secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) sesuai dengan 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 nyata atau berbeda sangat nyata (F hitung > F tabel maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan

dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT), dari uji ini dilanjutkan dengan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui perbedaan antar empat perlakuan.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Salinitas merupakan faktor control dalam lingkungan hidup *marine* mikroalga yang mempengaruhi proses metabolisme sel mikroalga. Berdasarkan penelitian pertumbuhan *Dunaliella* sp. diperoleh data laju pertumbuhan spesifik, biomassa, dan kandungan klorofil a *Dunaliella* sp. seperti pada Tabel 2. Adapun perhitungan lengkapnya terdapat pada Lampiran 4, Lampiran 6, dan Lampiran 8.

Tabel 2. Rata-rata Parameter Uji

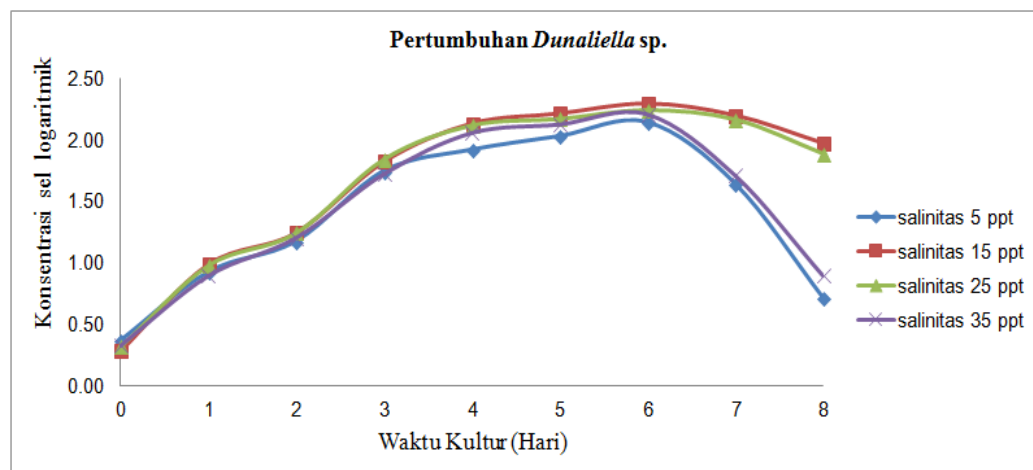
Parameter	Perlakuan Salinitas (ppt)			
	5	35	25	15
Laju pertumbuhan spesifik (hari ⁻¹)	0,68±0,012 ^a	0,72±0,007 ^b	0,75±0,003 ^b	0,77±0,017 ^c
Biomassa (g/L)	0,36±0,431 ^a	0,41±0,008 ^b	0,47±0,019 ^c	0,53±0,008 ^d
Klorofil-a (µg/mL)	6,66±0,422 ^a	7,59±0,432 ^b	9,47±0,565 ^c	11,27±0,404 ^d

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

Berdasarkan Data hasil pengamatan pada Tabel 2. salinitas yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp.

4.1. Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *Dunaliella* sp.

Data hasil penelitian pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp. pada salinitas 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt, dan 35 ppt dapat dilihat pada Lampiran 6 dan Gambar 4. Perbedaan laju pertumbuhan *Dunaliella* sp. yang ditunjukkan pada Gambar 6. dapat diketahui dari konsentrasi selnya pada setiap fase pertumbuhan. Pertumbuhan *Dunaliella* sp. meningkat sesuai dengan pertambahan hari. Laju pertumbuhan sel *Dunaliella* sp. pada perbedaan salinitas menunjukkan pola pertumbuhan yang berbeda pada setiap perlakuan. Salinitas yang diberikan pada kultur *Dunaliella* sp. didapatkan konsentrasi sel tertinggi pada hari ke 6.



Gambar 4. Grafik Rata-rata Pertumbuhan Harian *Dunaliella sp.* (sel/mL) pada Masing-Masing Perlakuan Selama Penelitian.

Pada penelitian ini tidak mengalami fase adaptasi, tetapi langsung memasuki fase eksponensial, karena pada hari ke-0 sampai hari ke-2 pertumbuhan sel meningkat lebih dari 3 kali lipat. Spencer (1954), melaporkan bahwa sel yang dikultur dengan inokulum dari fase eksponensial maka tidak akan mengalami fase adaptasi. Inokulum yang diambil dari kultur pada fase eksponensial tidak mungkin memiliki fase lag ketika dipindahkan ke media yang baru dalam kondisi pertumbuhan yang sama (Barsanti dan Gualtieri 2006). Lamanya fase adaptasi ditentukan dari inokulan yang digunakan, pada sel yang diinokulasikan pada awal fase logaritmik akan mengalami fase adaptasi yang sangat singkat Pelczar *et al.* (1986). Tidak adanya fase adaptasi pada penelitian ini diduga media kultur yang digunakan sesuai dengan media pertumbuhan yang dibutuhkan mikroalga untuk tumbuh (Prihantini *et al.*, 2005).

Berdasarkan penelitian ini fase eksponensial terjadi pada hari ke-0 sampai hari ke-6 dan konsentrasi sel terus meningkat, faktor yang mempengaruhi fase eksponensial ini yaitu inokulum, lingkungan, intensitas cahaya, penyinaran, suhu, dan komposisi nutrisi (Kabinawa 2006; Kitaya *et al.*, 2008). Suantika dan Hendrawandi (2009), menjelaskan pada fase ini pertumbuhan dan aktivitas sel

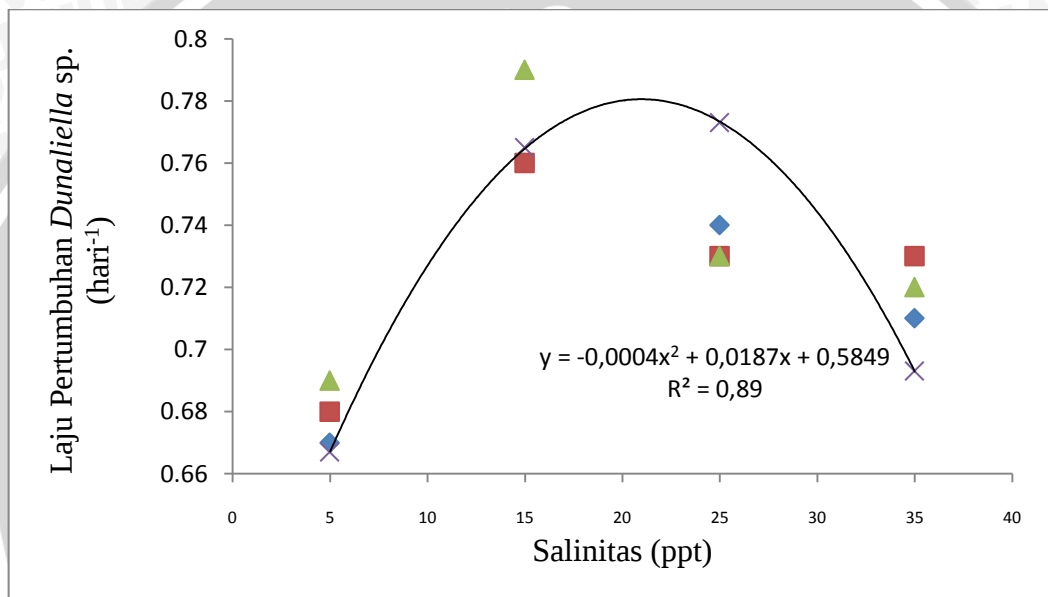
berada dalam keadaan maksimum, sehingga pada umur tersebut sel berada dalam keadaan aktif dan memiliki waktu adaptasi yang pendek selama proses kultur. Fase stasioner yang terjadi pada hari ke-6, pada fase ini jumlah sel yang mati dengan jumlah sel yang masih berkembang memiliki laju yang sama (Purwitasari *et al.*, 2012). Pada fase stasioner, pertumbuhan kemungkinan dibatasi oleh sumber daya seperti cahaya atau nutrisi (Barsanti dan Gualtieri 2006). Pada fase kematian dalam penelitian ini terjadi pada hari ke-7 sampai hari ke-9 dan konsentrasi sel mulai menurun. Pada fase kematian jumlah sel yang mati mikroalga dibandingkan sel yang membelah (Krishnan *et al.*, 2015).

Salinitas juga mempengaruhi laju pertumbuhan *Dunaliella* sp. dapat dilihat pada Lampiran 4. Laju pertumbuhan spesifik *Dunaliella* sp. pada perlakuan salinitas 15 ppt sebesar $0,77 \text{ hari}^{-1}$ dan waktu *doubling time* 0,896 hari, kemudian dilanjutkan perlakuan 25 ppt sebesar $0,73 \text{ hari}^{-1}$ dan waktu *doubling time* 0,939 hari, diikuti perlakuan 35 ppt sebesar $0,72 \text{ hari}^{-1}$ dan waktu *doubling time* 0,965 hari, terendah pada perlakuan 5 ppt dengan nilai sebesar $0,68 \text{ hari}^{-1}$ dan waktu *doubling time* ,027 hari. Perbedaan laju pertumbuhan spesifik tersebut juga memberikan pengaruh pada waktu penggandaan sel *Dunaliella* sp. hasil perhitungan laju pertumbuhan spesifik *Dunaliella* sp. didapatkan rerata pada Tabel 2. adapun perhitungan lengkapnya terdapat pada Lampiran 5.

Berdasarkan penelitian ini konsentrasi sel maksimum tertinggi terdapat pada perlakuan salinitas 15 ppt yaitu sebesar $20 \times 10^7 \text{ sel/ml}$, kemudian diikuti oleh perlakuan salinitas 25 ppt sebesar $18,7 \times 10^7 \text{ sel/ml}$, selanjutnya perlakuan salinitas 35 ppt sebesar $16,7 \times 10^7 \text{ sel/ml}$, dan terendah pada perlakuan salinitas 5 ppt dengan konsentrasi selnya sebesar $14,1 \times 10^7 \text{ sel/ml}$, Perlakuan salinitas 15 ppt mempunyai kepadatan sel yang lebih tinggi daripada perlakuan 25 ppt, 35 ppt, dan 5 ppt. hasil data peningkatan konsentrasi sel menunjukkan 15 ppt merupakan salinitas yang optimum untuk pertumbuhan *Dunaliella* sp. Data hasil

penelitian mengenai rata-rata pertumbuhan *Dunaliella* sp. yang dikultur pada salinitas yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2. dan lebih jelasnya dapat dilihat pada Lampiran 3. sehingga didapatkan data rata-rata pertumbuhan pada Lampiran 4.

Hasil perhitungan polynomial orthogonal didapatkan kurva respons dengan pola kuadratik dari laju pertumbuhan spesifik *Dunaliella* sp. dengan perlakuan salinitas yang berbeda seperti tersaji pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan Pengaruh Salinitas terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik *Dunaliella* sp.

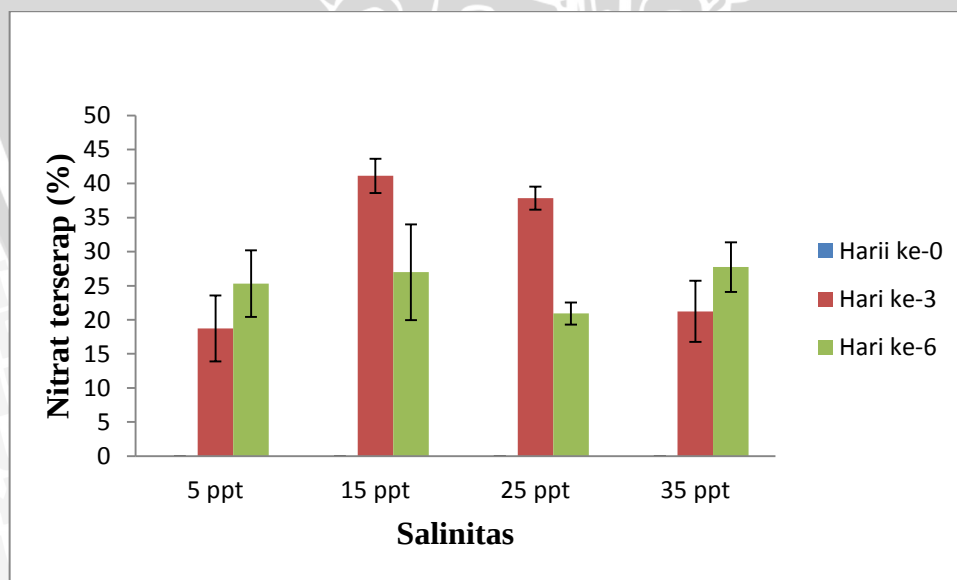
Berdasarkan Gambar 5. Hubungan pengaruh perlakuan salinitas terhadap laju pertumbuhan *Dunaliella* sp. menunjukkan persamaan $Y = -0,0004x^2 + 0,0187x + 0,5849$ dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) yaitu 0,89 hasil dari perlakuan salinitas yang optimal untuk laju pertumbuhan *Dunaliella* sp. yaitu dengan salinitas 21 ppt selama masa pemeliharaan.

Pertumbuhan *Dunaliella* sp. pada salinitas yang berbeda tersaji dalam Gambar 6. Sel *Dunaliella* sp. mencapai fase stasioner setelah hari ke 6 salinitas 15 ppt laju pertumbuhan spesifik sebesar 0,774 hari⁻¹. Hal ini sesuai berdasarkan penelitian Carballo-Cárdenas (2003), bahwa laju pertumbuhan spesifik pada

fase eksponensial adalah $0,8 \text{ h}^{-1}$ pada *Dunaliella tertiolecta* sedangkan Pancasakti *et al.* (2004), melaporkan rata-rata pertumbuhan *Dunaliella* sp. tertinggi pada salinitas 5 ppt dengan jumlah sel sebesar $1,03 \times 10^4$ sel/ml, *Dunaliella* sp. tumbuh dengan baik pada salinitas 5 – 10 ppt dalam media air jepra dan berdasarkan hasil penelitian ini konsentrasi sel sebesar $14,1 \times 10^7$ sel/ml diperoleh pada perlakuan salinitas 5 ppt. sedangkan pertumbuhan *Monochrysis* di 2,5 ppt tidak sepadat pada salinitas yang lebih tinggi dan *Syracosphaera* tidak dapat tumbuh pada 2,5 ppt (McLachlan, 1961). Adaptasi dari setiap mikroalga terhadap salinitas adalah spesies-spesifik dan tergantung pada karakteristik fisiologis spesies (Richmond 1986) dan asal spesies (Banerjee *et al.*, 2011). Pada penelitian ini semakin tingginya salinitas menyebabkan pertumbuhan akan terhambat hal ini sesuai dengan pernyataan Frank & Wegmann (1974), bahwa dengan meningkatnya konsentrasi garam dalam medium, kerja sel *Dunaliella* menjadi lebih terhambat sehingga hampir tidak ada reaksi berlangsung dalam sitoplasma pada salinitas tinggi, hanya proses pembentukan gliserol yang tetap aktif dalam sel. *Dunaliella* menyesuaikan tekanan osmotik melalui metabolisme gliserol intraseluler (Kessley dan Brown. 1981). Respon mikroalga terhadap perubahan salinitas diatur dalam dua tahap. Tahap pertama ditandai dengan perubahan yang cepat dalam tekanan turgor atau perubahan volume yang disebabkan oleh fluktuasi air yang masuk atau keluar dari organisme mengikuti gradien osmotik. Tahap kedua merupakan penyesuaian konsentrasi sel sampai mencapai keadaan stabil. Kedua fase tersebut merupakan bagian dari aklimatisasi osmotik (Kirst, 1989).

Pertumbuhan pada *Dunaliella* sp. juga dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi yang juga merupakan menjadi faktor pembatas. Hasil serapan nitrat dan fosfat sangat erat hubungannya terhadap pertumbuhan mikroalga serapan nitrat dan fosfat tertinggi terjadi pada fase eksponensial. berdasarkan hasil pengamatan

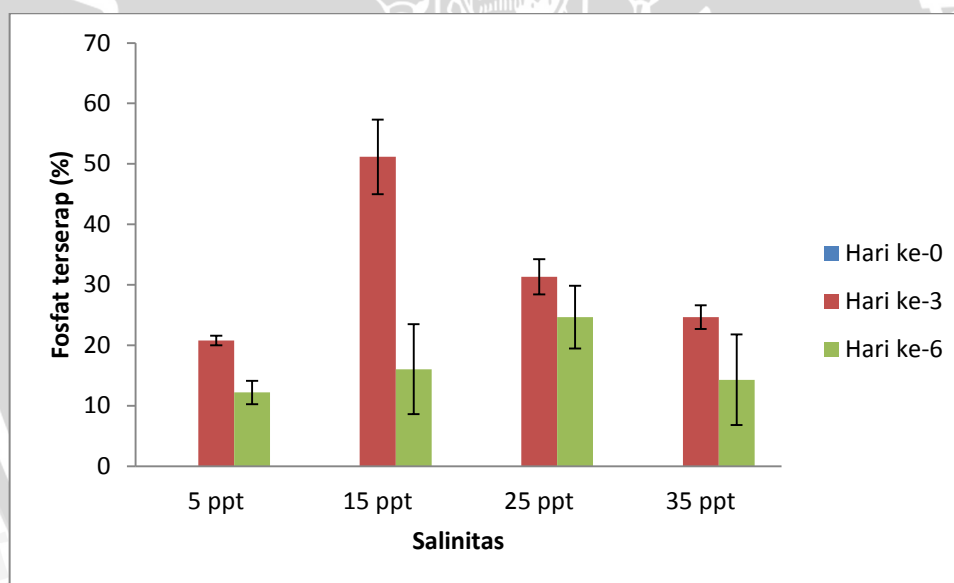
kualitas air, salinitas memberikan perbedaan variasi serapan nitrat pada masing-masing perlakuan. Pada setiap perlakuan hampir sama pada hari ke-0 dan mengalami perbedaan pada fase logaritmik dan stasioner. Berdasarkan Gambar 6 serapan nitrat pada salinitas 5 ppt sebesar 13,39-30,40 %, pada salinitas 15 ppt serapan nitrat sebesar 20,04-43,57 %, pada salinitas 25 ppt serapan nitrat sebesar 19,58-39,68 % dan 17,68-28,17 % pada salinitas 35 ppt. Perbedaan nilai nitrat media kultur sesuai dengan konsentrasi sel maksimum pada setiap perlakuan. Perlakuan dengan salinitas 15 ppt lebih baik dalam menyerap nitrat bila dibandingkan dengan yang lainnya. Semakin tinggi konsentrasi selnya maka semakin rendah nilai nitratnya dan semakin rendah konsentrasi selnya maka semakin tinggi pula kandungan nitratnya. Senyawa nitrogen utama yaitu nitrat diserap oleh mikroalga untuk mendukung pertumbuhannya (Suantika dan Hendrawandi, 2009). Pada saat terjadi penurunan konsentrasi nitrogen, maka pertumbuhan, produksi biomassa, kandungan protein dan klorofil juga akan menurun (Xin *et al.*, 2010, Becker, 1994; Chrimadha *et al.*, 2006).



Gambar 6. Persentase Serapan Nitrat pada Medium Kultur

Fosfat pada media kultur mikroalga berfungsi sebagai nutrisi pembatas pertumbuhan mikroalga. Nilai fosfat yang didapatkan dari hasil pengamatan

menunjukkan penurunan selama masa kultur. Konsentrasi fosfat berbanding terbalik dengan perlakuan salinitasnya. Berdasarkan Gambar 7 serapan nitrat pada salinitas 5 ppt sebesar 10,13-21,70 %, pada salinitas 15 ppt serapan nitrat sebesar 17,80-58,26 %, pada salinitas 25 ppt serapan nitrat sebesar 19,30-34,24% dan 5,64-26,24 % pada salinitas 35 ppt. Kemudian penelitian Mulyadi (1999), yang menyebutkan 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. Encarnacao (2012), menyatakan kandungan fosfat yang lebih rendah dan kandungan nitrit yang lebih tinggi bisa menaikkan nilai produksi klorofil mikroalga



Gambar 7. Persentase Serapan Fosfat pada Medium Kultur

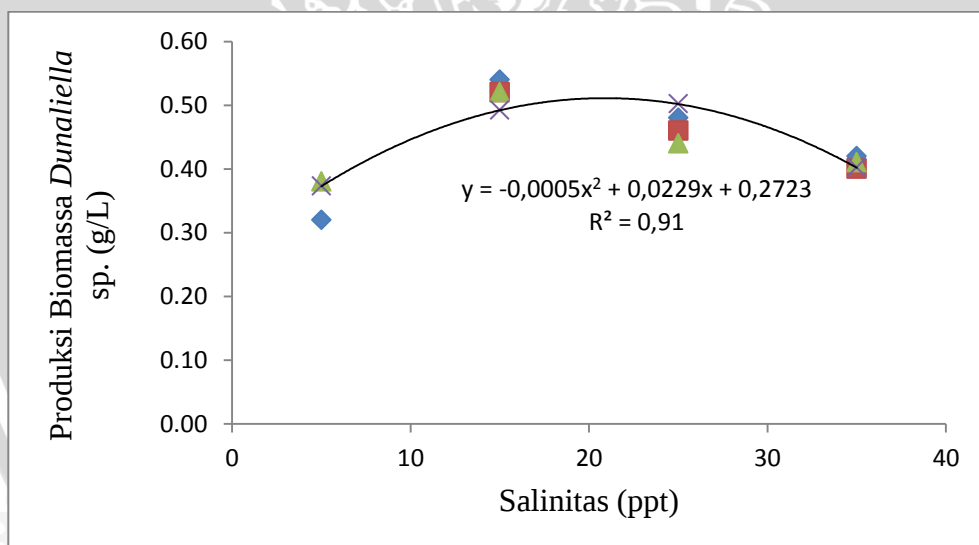
4.2 Pengaruh Salinitas yang Berbeda Terhadap Produksi Biomassa *Dunaliella* sp.

Dunaliella sp. memiliki berat biomassa yang berbeda pada setiap perlakuan kultur. Salinitas yang digunakan pada kultur *Dunaliella* sp. akan menentukan produksi biomassa. Perlakuan yang digunakan yaitu 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt dan 35

ppt yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan menentukan salinitas yang optimal untuk produksi biomassa *Dunaliella* sp. dapat dilihat Tabel 2.

Produksi biomassa *Dunaliella* sp. pada perlakuan 15 ppt diperoleh biomassa sebesar 0,52 g/L selanjutnya perlakuan salinitas 25 ppt diperoleh biomassa sebesar 0,466 g/L, kemudian perlakuan salinitas 35 ppt diperoleh biomassa sebesar 0,41 g/L dan yang terakhir perlakuan salinitas 5 ppt diperoleh biomassa sebesar 0,36 g/L *Dunaliella* sp. dengan perlakuan salinitas 15 ppt menjadi perlakuan terbaik dengan nilai biomassa sebesar 0,52 g/L dan pengukuran biomassa dilakukan pada hari ke 6 pada fase stasioner.

Hasil perhitungan polynomial orthogonal didapatkan kurva respons dengan pola kuadratik dari laju biomassa *Dunaliella* sp. dengan perlakuan salinitas yang berbeda seperti tersaji pada Gambar 8.



Gambar 8. Hubungan Salinitas yang Berbeda terhadap Konsentrasi Produksi Biomassa *Dunaliella* sp.

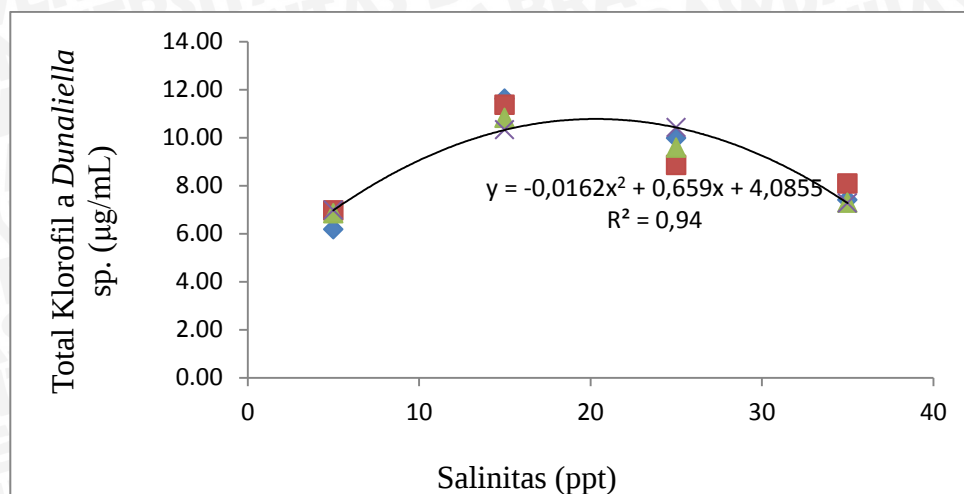
Berdasarkan Gambar 8, perlakuan salinitas (ppt) terhadap biomassa *Dunaliella* sp. menunjukkan pola kuadratik dengan persamaan $Y = -0,0005x^2 + 0,0229x + 0,2723$ dan koefisien determinasi $R^2 = 0,91$. Sehingga dapat disimpulkan perlakuan dengan salinitas 20,8 ppt merupakan salinitas yang optimum. Berdasarkan penelitian ini, mikroalga dapat tumbuh dengan baik pada

salinitas rendah dan memiliki pertumbuhan yang lambat selama peningkatan salinitas, mikroalga akan mengeluarkan energi lebih banyak ketika mencoba untuk mempertahankan tekanan turgor, dan ini mengakibatkan penurunan produktivitas atau penurunan pertumbuhan (Kirst, 1989). Berat kering sampel alga laut dipengaruhi oleh jumlah garam yang diserap pada permukaan sel dan saat di dalam bagian sel (Zhu dan Lee, 1997). Pada salinitas lebih dari 15 ppt akan terjadi penurunan produksi biomassa, penurunan biomassa kering ditemukan ketika diberikan salinitas yang tinggi, hal ini mirip dengan respon dari *Trichodesmium* sp., *Cyanobacterium Synechococcus* sp., *Dunaliella salina*, dan *Arthrospira (Spirulina) platensis* terhadap salinitas tinggi (Fu dan Bell 2003; Rosales *et al.*, 2005; Takagi dan Yoshida, 2006).

4.3 Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Produksi Klorofil a *Dunaliella* sp.

Berdasarkan penelitian ini salinitas berpengaruh terhadap total klorofil a *Dunaliella* sp. dan memiliki jumlah total klorofil a yang berbeda pada setiap perlakuan kultur. Salinitas yang digunakan pada kultur *Dunaliella* sp. akan menentukan total klorofil a. Perlakuan yang digunakan yaitu 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt dan 35 ppt yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan menentukan salinitas yang optimal untuk klorofil a. Berdasarkan penelitian ini Klorofil a *Dunaliella* sp. pada perlakuan salinitas 15 ppt sebesar 11,26 µg/mL, kemudian perlakuan salinitas 25 ppt sebesar 9,47 µg/mL, selanjutnya perlakuan salinitas 35 ppt sebesar 7,59 µg/mL dan yang terakhir perlakuan salinitas 5 ppt sebesar 6,65 µg/mL. Puncak konsentrasi sel tertinggi *Dunaliella* sp. berada pada hari ke-6 sehingga klorofil a diambil pada hari ke-6 dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil perhitungan polynomial orthogonal didapatkan kurva respons dengan pola kuadratik dari laju pertumbuhan spesifik *Dunaliella* sp. dengan perlakuan salinitas yang berbeda seperti tersaji pada Gambar 9.



Gambar 9. Hubungan Perlakuan Salinitas yang Berbeda terhadap Klorofil a *Dunaliella* sp.

Berdasarkan Gambar 9, pengaruh salinitas (ppt) terhadap total klorofil a *Dunaliella* sp. menunjukkan pola kuadratik dengan persamaan $y = -0,0162x^2 + 0,6588x - 4,0859$ dan koefisien determinasi $R^2 = 0,94$. Dapat disimpulkan konsentrasi klorofil *Dunaliella* sp. yang optimum pada salinitas 20,3 ppt mengandung total klorofil a sebesar 10,78 µg/mL yang diperoleh pada hari ke-6. sesuai dengan laporan bahwa salinitas rendah dapat meningkatkan baik klorofil-a dan produksi karotenoid dalam *Dunaliella tertiolecta* (Cifuentes *et al.*, 2001; Fazeli *et al.*, 2006). Sel *Dunaliella* halotoleran dalam lingkungannya, pada salinitas yang tinggi akan menyebabkan fotosintesis dan proses metabolisme melambat (Krinsky, 1978). McLachlan (1961), menyatakan *Plaiyrmonas* sp. memiliki konsentrasi klorofil maksimum pada kisaran salinitas 35 ppt dan konsentrasi klorofil minimum pada salinitas 15 ppt dan pada *Olisthodiscus* sp. konsentrasi klorofil maksimum pada salinitas 15 ppt. Ketika kandungan pigmen klorofil-a, minim dalam salinitas tinggi, efisiensi fotosintesis yang rendah dapat mengakibatkan produksi biomassa secara signifikan rendah dalam beberapa mikroalga (Warr *et al.*, 1985).

4.4 Kualitas Air

4.4.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor penting yang menunjang keberhasilan kegiatan kultur mikroalga. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini nilai suhu pada perlakuan 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt dan 35 ppt sebesar $27,5^{\circ}\text{C}$, dimana suhu pada penelitian ini terkontrol.

Berdasarkan hasil penelitian suhu tersebut baik digunakan untuk kegiatan kultur hal ini sesuai pendapat Sachlan (1982), yang menyatakan bahwa kisaran suhu yang optimal bagi pertumbuhan *Dunaliella* sp. berada pada rentang suhu $25^{\circ} - 30^{\circ}\text{C}$. Morris dan Kromkamp (2003), menyatakan suhu mempengaruhi laju pertumbuhan mikroalga. Pada suhu 30° laju pertumbuhan akan menurun

4.4.2 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut merupakan salah satu faktor penting yang menunjang keberhasilan kegiatan kultur mikroalga. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini nilai oksigen terlarut pada perlakuan 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt dan 35 ppt berada pada range 7,84-8,06 ppm, dimana pada penelitian ini dilakukan aerasi selama 24 jam.

Berdasarkan penelitian ini nilai oksigen terlarut tergolong baik karena sesuai pendapat Fox (1987), yang menyatakan kadar oksigen terlarut 3 – 5 ppm kurang produktif, 5 – 7 ppm produktifitasnya tinggi dan diatas 7 ppm sangat tinggi.

4.4.3 pH

pH merupakan salah satu faktor penting yang menunjang keberhasilan kegiatan kultur mikroalga. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini nilai oksigen terlarut pada perlakuan 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt dan 35 ppt berada pada range 7,35-8,41 ppm, dimana pada penelitian ini dilakukan dalam keadaan terkontrol.

Berdasarkan penelitian ini pH baik digunakan untuk melakukan kegiatan kultur *Dunaliella* sp. karena sesuai dengan pernyataan Kim (2015), suhu optimum untuk kultur mikroalga *Dunaliella* skala laboratorium antara 25-32°C, Kisaran pH yang sesuai untuk mikroalga berkisar diantara 7 – 9 dengan kisaran pH yang optimum 8,2 – 8,7



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian tentang pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp. pada salinitas yang berbeda maka diperoleh beberapa kesimpulan yaitu;

- Pada penelitian ini salinitas yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp.
- Salinitas yang optimal untuk pertumbuhan, produksi biomassa dan total klorofil a *Dunaliella* sp. berada pada salinitas 20-21 ppt dengan laju pertumbuhan sebesar $0,78 \text{ hari}^{-1}$ total produksi biomassa sebesar $0,51 \text{ g/L}$ dan total klorofil a sebesar $10,78 \text{ }\mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *Dunaliella* sp. pada salinitas yang berbeda maka didapatkan saran untuk menggunakan perlakuan salinitas 20-21 ppt dan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk dilakukan diluar ruangan agar mendapatkan hasil yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, J., L.A. Shevchenko, U. Pick and A. Katz. 2004. Enhanced photosynthesis and redox energy production contribute to salinity tolerance in *Dunaliella* as revealed by homology-based proteomics. *Plant Physiology*. **136**:2806–2817.
- Adenan, N.S., F.M. Yusoff, and M. Shariff. 2013. Effect of salinity and temperature on the growth of diatoms and green algae. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. **8**(2): 397-404.
- Ak, I., S. Cirik, and T. Goksan. 2011. Effect of light intensity, salinity and temperature on growth in Camalt1 strain of *Dunaliella viridis* Teodoresco from Turkey. *Journal of Biological Sciences*. **8**(8): 1356-1359.
- Armstrong, G.A., and J.E. Hearst. 1996. Carotenoids 2: Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. *Journal Federation of American Societies for Experimental Biology*. **10**:228–237.
- Banerjee, S., W.E. Hew, H. Khatoon, M. Shariff, and F.M. Yusoff. 2011. Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory conditions. *African Journal of Biotechnology*. **10**(8): 1375-1383.
- Barsanti, L. and P. Gualtieri. 2006. Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. Taylor & Francis, Boca Raton. 301 pp
- Becker, E.W. 1994. Microalgae Biotechnology and Microbiology. Cambridge University Press. Cambridge. p 177-180.
- _____, E.W. 2004. Microalgae in Human and Animal Nutrition. In A. Richmond. (Ed.). Handbook of Microalgal Culture. Blackwell, Oxford. p 312-351.
- Ben-amotz, A., A. Katz, and M. Avron. 1982. Accumulation of β -carotene in halotolerant algae: purification and characterization of β -caroten-rich globules from *Dunaliella bardawil* (chlorophyceae). *Journal of Phycology*. **18**: 529-37.
- _____, A. and M. Avron. 1983. On the Factors Which Determine Massive β -Carotene Accumulation in the Halotolerant Alga *Dunaliella bardawil*. **72**: 593-597.
- _____, A. 1987. Effect of irradiance and nutrient deficiency on the chemical composition of *Dunaliella bardawil* Ben-Amotz and Avron (Volvocales, Chlorophyta). *Journal of Plant Physiology*. **131**: 479-487.
- Bennett, A., and L. Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *Journal of Cell Biology*. **58**: 419-435.

- Berge, T., N. Daugbjerg and P.J. Hansen. 2012. Isolation and cultivation of microalgae select for low growth rate and tolerance to high pH. *Harmful algae*.**20**: 101-110.
- Borowitzka, M.A., and L.J. Borowitzka. 1988. Microalgal Biotechnology. Cambridge University Press. Australia. p 305-328.
- Borowitzka, M.A., J.M Huisman and A. Osborn. 1991. Cultures of the astaxanthin producing green algae *Haematococcus pluvialis*. I. Effect of nutrient on growth and cell type. *Journal of Applied Phycology*. **3**: 295-304.
- Boyd, C.E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish Pond. Agricultural experiment station. USA. 359 pp.
- Carballo-Cárdenas E. C., P. T. Minh, M. Janssen and R. H. Wijffels. 2003. Vitamin E (a tocopherol) production by the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica* in batch cultivation. *Biomolecular Engineering*.**20**:139-147
- Chen, M., H. Tang, H. Maa, T.C. Holland, K.Y. Simon Ng, and S.O. Salley. 2010. Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*. *Bioresource Technology*.**102**:1649–1655
- Chrismadha, T., Y. Mardiaty, and D. Hadiansyah. 2006. Phytoplankton response to increasing of air CO₂ concentration. *Limnotek*. **13**(1): 26-32
- Cifuentes, A. S., M. A. González, I. Inostroza, and A. Aguilera. 2001. Reappraisal of physiological attributes of nine stress of *Dunaliella* (Chlorophyceae): growth and pigment content across a salinity gradient. *Journal of Phycology*.**37**:334–344.
- Cowan, A.K. and P.D Rose. 1998. Absciscic acid metabolism in salt-stressed cells of *Dunaliella salina*, possible interrelationship with beta-carotene accumulation. *Plant Physiology*. **97**:798-803.
- Cresswell, L. 2010. Phytoplankton Culture for Aquaculture Feed. Southern Regional Aquaculture Center. University of Florida Sea Grant. 16 pp.
- Cuhel, R.L., P.B. Ortner, and D.R.S. Lean. 1984. Night synthesis of protein by algae. *Limnology Oceanography*.**29**: 731–744.
- Darsi, R., S. Agus dan D.S. Ade. 2012. Karakteristik kimiawi dan potensi pemanfaatan *Dunaliella* sp. dan *Nannochloropsis* sp. *Fisheries technology*.**1**(1) : 14-25.
- de Campo, A.J., M. Garcia-Gonzales, and M.G. Guerrero. 2007. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **74**: 1163-1174.

- de Fretes, H., A.B. Susanto, P. Budhi, dan L. Leenawaty. 2012. Karotenoid dari makroalgae dan mikroalgae potensi kesehatan aplikasi dan bioteknologi. *Journal Teknologi dan Industri Pangan*. **23**(2): 221-228.
- Du Z., B. Hu, X. Ma, Y. Cheng, Y. Liu, X. Lin, Y. Wan, H. Lei, P. Chen, and R. Ruan. 2013. Catalytic pyrolysis of microalgae and their three major components: Carbohydrates, proteins, and lipids. *Bioresource Technology*. **130**: 777-782.
- Dufosse, L., P. Galaupa, A. Yaron, S.M Ara, P. Blanc, K.N.C Murthy and G.A. Ravishankar . 2005. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality. *Trends in Food Science and Technology*. **16**:389-406.
- Encarnacao, T., H. D. Burrows, A. C. Pais, M. G. Campos, and A. Kremer. 2012. Effect of N and P on the uptake of magnesium and iron and on the production of carotenoids and chlorophyll by the microalgae *Nannochloropsis* sp. *Journal of Agricultural Science and Technology*. **2**: 824-832.
- FAO, 1991. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. *Fisheries and Aquaculture Department*. USA. 361 pp.
- Fazeli, M. R., H. Tofighi, N. Samadi, and H. Jamalifar. 2006. Effects of salinity on β -carotene production by *Dunaliella tertiolecta* DCCBC26 isolated from the Urmia salt lake, north of Iran. *Bioresource Technology*. **97**:2453-2456.
- Fogg, G. E. 1975. *Algae Culture and Phytoplankton Ecology*. 2nd Ed. University of Wisconsin Press, Madison. p 19.
- Fogg, G.E. and B. Thake. 1987. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. The University of Wisconsin press. 219 pp.
- Fox, J.M. 1987. *Intensive Algae Culture Techniques*. CRC Hand Book of Mariculture. CRC Press. Inc. Boca Raton. Florida. 497 pp.
- Frank, G. dan Wegmann, K., 1974. Physiology and biochemistry of glycerol biosynthesis in *Dunaliella*. *Biologisches Zentralblatt*, **93**:707-723.
- Fu, F. dan P. R. F. Bell. 2003. Effect of salinity on growth, pigmentation, N₂ fixation and alkaline phosphatase activity of cultured *Trichodesmium* sp. *Marine Ecology Progress Series*. **257**:69-76.
- Goldman, J.C. and Letter. 1973. Carbon dioxide and pH: Effect on species succession of algae. *Science*. **182**: 306-307.
- _____, J.C., Y. Azov, C.B. Riley, and M.R. Dennett. 1982. The effect of pH in intensive microalgal cultures. I. biomass regulation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **57**:1-13.
- Gouveia, L., A.E. Marques, T.L. Da Silva, and A. Reis. 2009. *Neochloris oleabundans* UTEX #1185: a suitable renewable lipid source for biofuel

- production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. **36**: 821-826.
- Goyal, A. 2007. Osmoregulation in *Dunaliella*, Part II: Photosynthesis and starch contribute carbon for gliserol synthesis during a salt stress in *Dunaliella tertiolecta*. *Plant Physiology and Biochemistry*. **45**: 705-710.
- Hansen, P.J. 2002. Effect of high pH on the growth and survival of marine phytoplankton: Implications for species succession. *Journal of Aquatic Microbiology and Ecology*. **28**: 279-288.
- Hejazi, M.A. and R.H. Wiffels. 2003. Effect of light intensity on β -carotene production and extraction by *Dunaliella* sp. in two-phase bioreactors. *Biomolecular Engineering*. **20**: 171-175.
- Henley, J.W., M.K. Major and L.J. Hironaka. 2002. Response to salinity and heat stress in two halotolerant Chlorophyte algae. *Journal of Phycology*. **38**: 757- 766.
- Herianti, I. dan W.A Pralampita. 1987. Pengaruh salinitas dan media kultur pada pertumbuhan populasi *Dunaliella* sp. Food and agriculture organization. **25**: 25-31
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. 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.
- Janssen, M. 2002. *Cultivation of microalgae: effect of light/dark cycles on biomass yield*. Thesis. Wageningen University. Wageningen. The Netherlands. 184 pp.
- Jimenez, C. and F.X. Niell. 1991. Growth of *Dunaliella viridis* Teodoresco: effect of salinity, temperature and nitrogen concentration. *Journal of Applied Phycology*. **3**: 319-327.
- Kabinawa, I N.K. 2006. Ganggang Penggempur Aneka Penyakit. Agromedia Pustaka. Depok. 92 hlm
- Kalita, N., G. Baruah, R.C.D. Goswami, J. Talukdar, and M.C. Kalita. 2011. *Ankistrodesmus falcatus*: a promising candidate for lipid production, its biochemical analysis and strategies to enhance lipid productivity. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. **1**(4): 148-157.
- Kim, S. 2015. Hand Book of Marine Microalgae. Biotechnology advances. Pukyong National University, Busan, South Korea. 67pp.

- Kessley D.S. and A.D. Brown. 1981. Salt relations of *Dunaliella*: transitional changes in glycerol content and oxygen exchange reactions on water stress. *Microbiol.* **129**:154-159.
- Kirst, C.O. 1989. Salinity tolerance of eukaryotic marine algae. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* **40**:21-53.
- Kitaya, Y., L. Xiao, A. Masuda, T. Ozawa, M. Tsuda and K. Omasa. 2008. Effects of temperature, photosynthesis photon flux density, photoperiod and O₂ and CO₂ concentrations on growth rates of the symbiotic dinoflagellate, *Amphidinium* sp. *Journal of Applied Phycology.* **20**(5): 287-292.
- Krinsky, N. I., 1978. Non-photosynthetic functions of carotenoids. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, **284**:581-590.
- Krismawati, R. dan A. Rizky. 2013. Pengolahan efluen pond fakultatif anaerobik ipal industri kelapa sawit secara fakultatif anaerobik fitoremediasi sebagai pre treatment media tumbuh algae. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri.* **2**(2): 286 – 294.
- Krishnan, V., Y. Uemura, N.T. Thanh, N.A. Khalid, N. Osman and N. Mansor. 2015. Three types of marine microalgae and *Nannochloropsis oculata* cultivation for potential source of biomass production. *Journal of physic.* **622**(1): 1-6.
- Liang, H., W.J. Gong, Z.L. Chen, J.Y. Tian, L. Qi, and G.B. Li. 2009. Effect of chemical preoxidation coupled with inline coagulation as a pretreatment to ultrafiltration for algae fouling control. *Desalin. Water Treat.* **9**: 241-245.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Journal of Methods Enzymology.* **148**: 350-382.
- Liu, J., J. Huang, Z. Sun, Y. Zhong, Y. Jiang, and F. Chen. 2011. Differential lipid and fatty acid profiles of photoautotrophic and heterotrophic *Chlorella zofingiensis*: Assessment of algal oils for biodiesel production. *Bioresource Technology.* **102**: 106-110.
- Loeblich, L.A. 1982. Photosynthesis and pigments influenced by light intensity and salinity in the halophile *Dunaliella salina* (Chlorophyta). *Research article.* **62**: 493-508.
- Longhurst, A., S. Sathyendranah, T. Platt and C. Caverhill. 1995. An estimate of global primary production in the ocean from satellite radiometer data. *Journal of Plankton Research.* **17**:1245-1271.
- Lynch, D.V., and G.A. Jr Thompson. 1982. Low temperature-induced alterations in the chloroplast and microsomal membranes of *Dunaliella salina*. *Journal of Plant Physiology.* **69**: 1369–1375.
- Mata, T.M., A.A. Martins and N.S. Caetano. 2010. Microalgae for biodiesel production and other application: a review. *Renewable and sustainable energy.* **14**: 217-232.

- McLachlan, J. 1961. The effect of salinity on growth and chlorophyll content in representative classes of unicellular marine alga. *Microbial*, **7**:1-8.
- Metting, F.B.1996. Biodiversity and application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology*.**17**: 477- 489.
- Miron, A. S., M. C. C. Garcia, F. G. Camacho, E. M. Grima, and Y. Chisti. 2002. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. *Enzyme and Microbial Technology*. **31**: 1015-1023.
- Morris, E. P. and J. C. Kromkamp. 2003. The influence of temperature on the relationship between oxygen and fluorescence-based estimates of photosynthetic parameters in a marine benthic diatom (*Cylindrotheca closterium*). *European Journal of Phycology*. **38**: 133-142.
- Mulyadi, A. 1999. Pertumbuhan dan daya serap nutrisi dari mikroalga *Dunaliella tertiolecta* yang dipelihara pada limbah domestik. *Jurnal Natur Indonesia*. **11**(1): 65-68.
- Nazir. 2003. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 70 hlm.
- Novianti, V. Anisa, dan N. Sirajang. 2014. *Keragaman dalam blok pada rancangan acak kelompok tidak lengkap seimbang dengan intergradien*. Laporan Penelitian. Universitas Hasanuddin. Makassar. 1-10.
- Oren, A. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905–2005. *Saline systems*. **1** (2): 1-15.
- Pancasakti, H. K., E Kusdiyantini, T. Yuwono dan J. Soedarsono. 2004. The effect of various level on the growth and characterization of *Dunaliella* sp. isolated from jepara waters. *Journal of Biological Sciences*. **9**(8): 136-142.
- Parida, A.K. and A. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effect on plants: a review. *Ecotox. Environ. Safe*. **60**:324-349.
- Pelczar, M. J. JR., E. C. S. Chan, and N. R. Krieg. 1986. Microbiology, fifth edition. Tata McGraw-Hill. New York. 900 p.
- Pick, U. 2002. Adaptation of the halotolerant alga *Dunaliella* to high salinity. In A Lauchli, U Luthge, eds, *Salinity: Environment, Plants, Molecules*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. p 97–112.
- Prihantini, B. N., P. Berta dan Y. Ratna. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam medium ekstrak tauge (met) dengan variasi pH awal. *Makara Sains*. **1**(2): 1-6.
- Purwitasari, A. Tri, M.A. Alamsjah and B.S. Rahardja. 2012. Effect of concentration of growth regulators (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) against the growth of *Nannochloropsis oculata*. *Journal of marine and coastal science*. **2**: 61-70.

- Rao, A.R., C.A. Dayananda, R. Sarada, T.R. Shamala, dan G.A. Ravishankar. 2006. Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. *Bioresource Technology*. **98**: 560–564.
- Ravelonandro, P. H., D. H. Ratianarivo, C. Joannis- Cassan, A. Isambert, dan M. Rahehimandimby. 2011. Improvement of the growth of *Arthrospira (Spirulina) platensis* from Toliara (Madagascar): effect of agitation, salinity and CO₂ addition. *Food and Bioprocess Technology*. **89**(3):209–216.
- Renaud, P.E., D.A. Syster, and W.G. Ambrose. 1999. Recruitment patterns of continental shelf benthos off North Carolina, USA: Effects of sediment enrichment and impact on community structure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **237**: 89-106.
- Reitan, K.I., J.R. Rainuzzo, G. Oie, and Y. Olsen. 1997. A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae. *Aquaculture*. **155**:207-221.
- Renaud, S.M., L.V. Thinh, G. Lambrinidis, and D.L. Parry. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture*. **211**: 195–214.
- Richmond, A. 1986. Cell Response to Environmental Factors. In: Richmond, A. (Ed.), *Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC Press. Boca Raton. p 69-99.
- _____, A. 2003. Industrial Production of Microalgal Cell-mass and Secondary Products Major Industrial Species, *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. p 47-48.
- _____, A. 2004. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology And Applied Phycology*. p95-99.
- Ritchie, R.J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*. **89**: 27-41.
- Riyono, S.H. 2007. Beberapa Sifat Umum dari Klorofil Fitoplankton. *Oseana*. **32**(1): 23-31.
- Rohmimohtarto, K. dan S. Juwana. 1999. *Biologi laut Ilmu Pengetahuan tentang Biologi Laut*. LIPI. Jakarta. 286 hlm.
- Rosales, N., J. Ortega, R. Mora, dan E. Morales. 2005. Influence of salinity on the growth and biochemical composition of the *Cyanobacterium synechococcus* sp. *Ciencias Marinas*, **31**:349–355.
- Ru'yatin, I.S. Rohyani and La Ali. 2015. Growth of *Tetraselmis* and *Nannochloropsis* on a laboratory scale. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat biodeversitas indonenisa*. **1**(2): 296-299.

- Sachlan, M. 1982. Planktonologi Fakultas Peternakan dan Perikanan. Universitas Diponegoro. Semarang. 177 hlm.
- Spencer, C. P. 1954. Studies on the culture of marine diatom. *Journal Marine Biology Association*. **33**: 25-90.
- Spolaore, P., C. Joannis-Cassan, E. Duran, and A. Isambert. 2006. Commercial applications of mikroalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **101**: 87-96.
- Stockenreiter, M., A.K. Graber, F. Haupt, and H. Stibor. 2012. The effect of species diversity on lipid production by microalgal communities. *Journal of Applied Phycology*. **24**: 45-54.
- Sylvaster, B., Nelvy, dan Sudjiharno. 2002. Biologi fitoplankton, budidaya fitoplankton dan zooplankton. Balai Budidaya Laut Lampung, *Makara Teknologi*: 3-23.
- Suantika, G. dan D. Hendrawandi. 2009. Efektivitas kultur menggunakan sistem kultur statis, semi kontinyu, dan kontinyu terhadap produktivitas dan kualitas kultur *Spirulina* sp. *Jurnal matematika dan sains*. **2**(4): 41-50.
- Sukmadinata, N.S. 2012. Metode Penelitian Pendidikan. Remaja Rosdakarya. Bandung. 326 hlm.
- Suminto. 2009. Penggunaan jenis media kultur teknis terhadap produksi kandungan nutrisi sel *Spirulina plantesis*. *Jurnal Saintek Perikanan*. **4**(2): 53-61.
- Talebi, A.F., S.K. Mohtashami, M. Tabatabaei, M. Tohidfar, A. Bagheri, M. Zeinalabedini, M.H. Hadavand, M. Mirzajanzadeh, S.S. Malekzadeh, and Bakhtiari S. 2013. Fatty acids profiling: a selective criterion for screening microalgae strains for biodiesel production. *Algal Research*. **2**: 258–267.
- Takagi, M., and T. Yoshida. 2006. Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **101**: 223–226.
- Teodoresco, E.C. (1905). Organisation et développement du *Dunaliella*, nouveau genre de Volvocacée - Polyblepharidée. *Beihefte zum Botanischen Centralblatt* **18**(1): 215-232.
- Trung, V. and D. Tran. 2014. Effects of salinity and light on growth of *Dunaliella* Isolates. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*. **2**: 208-211.
- Tsukahara, K. and S. Sawayama. 2005. Liquid fuel production using microalgae. *Journal of the Japan Petroleum Institute*. **48**: 251–259.
- Warr, S. R. C., R. H. Reed, J. A. Chudek, R. Foster, dan W. D. P. Steward. 1985. Osmotic adjustment in *Spirulina platensis*. *Planta*. **163**: 424–429.
- Wibisono, D. 2013. Panduan Penyusunan Skripsi, Tesis, dan Disertasi. Penerbit ANDI. Yogyakarta. 556 hlm.

Xin, F., A. Geng., M. L. Chen, and M. J. M. Gum. 2010. Enzymatic hydrolysis of sodium dodecyl sulphate (SDS)-pretreated newspaper for cellulosic ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*. *Application Biochemical, Biotechnology*. **162**: 1052-1064.

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.

Zhu C. J. and Y. K. Lee. 1997. Determination of biomass dry weight of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology*. **9**: 189–194.



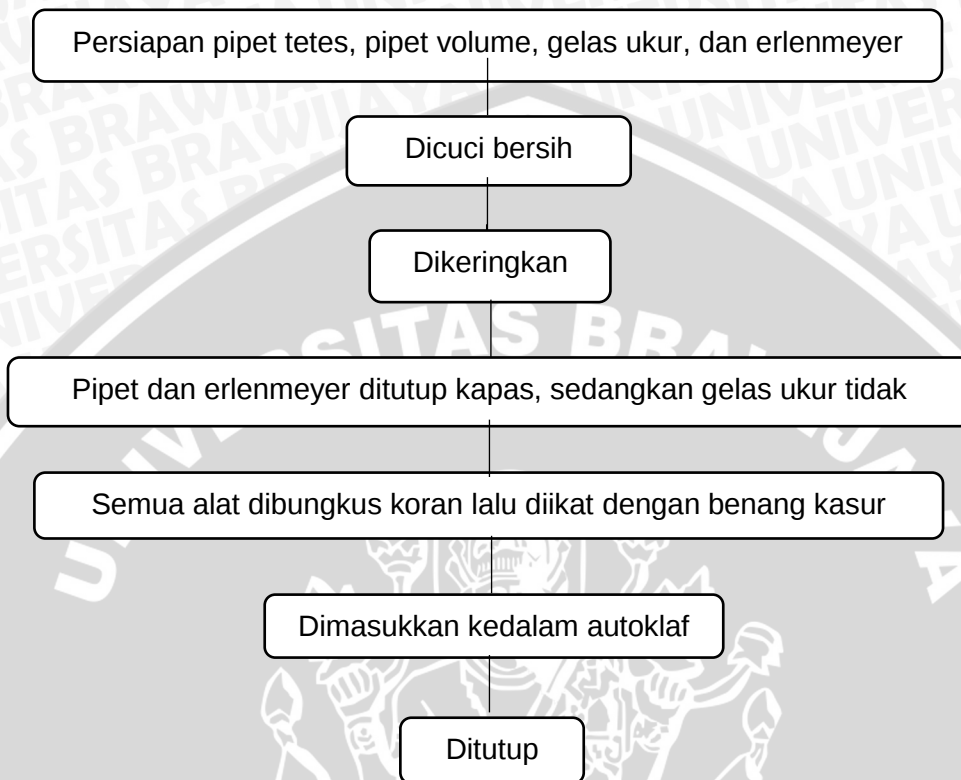
LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi pupuk walne (FAO, 1991).

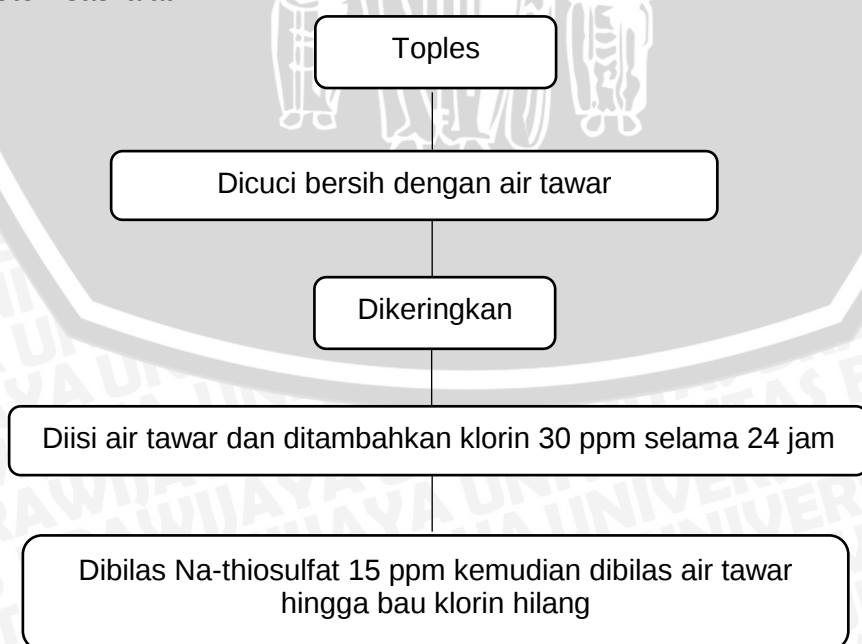
Bahan	Jumlah	Satuan
Larutan A (1 ml/L untuk kultur)		
FeCl ₃	0.8	g ^(a)
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.4	g
H ₃ BO ₃	33.6	g
Na ₂ EDTA ^(b)	45.0	g
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	20.0	g
NaNO ₃	100.0	g
Solution B	1.0	ml
Akuades hingga ^(c)	1	L
Larutan B		
ZnCl ₂	2.1	g
CoCl ₂ .6H ₂ O	2.0	g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.9	g
CuSO ₄ .5H ₂ O	2.0	g
Concentrated HCl	10.0	ml
Akuades hingga ^(c)	100	ml
Larutan C (0.1 ml/L untuk kultur)		
Vitamin B1	0.2	g
Solution E	25.0	ml
Akuades hingga ^(c)	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 ^(c)	1	L
Larutan E		
Vitamin B12	0.1	g
Akuades hingga ^(c)	250	ml

Lampiran 2. Proses Sterilisasi

a. Sterilisasi Menggunakan Autoklaf



b. Sterilisasi alat



c. Sterilisasi media

