

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

*Tetraselmis chunii*

**ARTIKEL SKRIPSI  
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH :  
NOVY PURWITA ARDHYANI  
NIM. 125080501111035**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2016**

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

*Tetraselmis chuii*

**ARTIKEL SKRIPSI  
BUDIDAYA PERAIRAN**

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

OLEH :  
NOVY PURWITA ARDHYANI  
NIM. 125080501111035



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2016**

ARTIKEL SKRIPSI  
PENGARUH DOSIS PUPUK LIMBAH CAIR TAHU YANG BERBEDA DENGAN  
PENAMBAHAN UREA TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA, DAN KLOOROFIL *a*  
*Tetraselmis chuii*

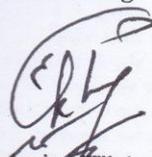
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya

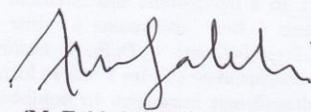
OLEH :  
NOVY PURWITA ARDHYANI  
NIM. 125080501111035

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

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

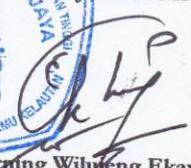
  
(M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc)  
NIP. 19860717 201504 1 001

Tanggal: 12 AUG 2016

Tanggal: 12 AUG 2016



Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP

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

Tanggal: 12 AUG 2016



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

**Novy Purwita Ardhyani<sup>1</sup>, Arning Wilujeng Ekawati<sup>2</sup>, Muhammad Fakhri<sup>2</sup>**

**Abstrak**

Tujuan penelitian ini adalah untuk menjelaskan pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii* dan untuk menentukan dosis pupuk limbah cair tahu yang terbaik dengan penambahan urea untuk pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 1 kontrol masing-masing 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L, 120 mL/L + urea 200 mg/L, 180 mL/L + urea 200 mg/L, dan kontrol (walne 1 mL/L) terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*. Dosis terbaik yaitu 120 mL/L + urea 200 mg/L dengan laju pertumbuhan spesifik 0,46/hari, biomassa sebesar 0,42 g/L, dan klorofil a sebesar 2,48 µg/mL. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pupuk limbah cair tahu meningkatkan pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*.

Kata kunci: *Tetraselmis chuii*, pupuk limbah cair tahu, pertumbuhan, biomassa, klorofil a

---

<sup>1</sup> Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

<sup>2</sup> Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

**EFFECT OF DIFFERENT TOFU WASTEWATER FERTILIZERS WITH ADDITION  
OF UREA ON GROWTH, BIOMASS, AND CHLOROPHYLL a OF *Tetraselmis chuii***

**Novy Purwita Ardhyani<sup>1</sup>, Arning Wilujeng Ekawati<sup>2</sup>, Muhammad Fakhri<sup>2</sup>**

**Abstract**

The purpose of this study was to explain the effect of different tofu wastewater fertilizers with addition of urea on growth, biomass, and chlorophyll a of *T. chuii* and to determine the best tofu wastewater fertilizer with addition of urea on growth, biomass, and chlorophyll a of *T. chuii*. This research used completely randomized design (CRD) with 3 treatments and 1 control each 3 replications. In this study were used tofu wastewater fertilizer 60 mL/L + urea 200 mg/L, 120 mL/L + urea 200 mg/L, 180 mL/L + urea 200 mg/L, and control (walne 1 mL/L) were applied. The results showed that different tofu wastewater fertilizers with addition of urea were significantly affect the growth, biomass and chlorophyll a of *T. chuii*. In this research, the best tofu wastewater fertilizer was in dose tofu waste water fertilizer 120 mL/L + urea 200 mg/L with specific growth rate of 0.46/day, the biomass of 0.42 g/L and chlorophyll a of 2.48 µg/L. The authors concluded that tofu waste water fertilizer with addition of urea resulted in increasing growth, biomass and chlorophyll a *T. chuii*.

Key word : *Tetraselmis chuii*, tofu waste water fertilizer, growth, biomass, chlorophyll a

---

<sup>1</sup> Student of Fisheries and Marine Science Faculty, Univercity of Brawijaya

<sup>2</sup> Lecturer of Fisheries and Marine Science Faculty, Univercity of Brawijaya

## 1. PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan mikroorganisme yang dapat melakukan fotosintesis. Mikroalga mempunyai klorofil yang berperan dalam proses fotosintesis untuk menghasilkan energi. Energi ini digunakan untuk biosintesis sel, pertumbuhan sel, bergerak, dan reproduksi (Chalid *et al.*, 2010). Mikroalga merupakan produsen alami dari ekosistem perairan yang selain menghasilkan energi juga dapat menghasilkan metabolit yang bermanfaat, sehingga keberadaannya sebagai organisme hidup yang berukuran mikroskopis sudah mulai dikaji. Mikroalga dapat digunakan sebagai pakan alami budidaya ikan (Setyaningsih *et al.*, 2005).

Ketersediaan makanan alami merupakan faktor penting dalam budidaya ikan terutama pada fase benih (Rukka, 2011). *Tetraselmis chuii* merupakan pakan alami yang potensial bagi artemia, rotifera, dan ikan (Putri *et al.*, 2013). *T. chuii* mengandung protein sebesar 48,42%, karbohidrat 12,10%, lemak 9,70%, dan kandungan klorofil a  $3,21 \pm 0,60\%$  berat kering. (Sani *et al.*, 2014 dan Tsai *et al.*, 2016). *T. chuii* merupakan fitoplankton yang umum dikembangkan sebagai pakan alami. Ketersediaan pakan alami harus dalam jumlah yang cukup, berkesinambungan dan tepat waktu. Agar target produksi pada budidaya terpenuhi maka dilakukan kultur mikroalga (Ru'yatin *et al.*, 2015). Permasalahan dalam kultur mikroalga adalah pupuk PA (pro analisis) yang mahal, oleh karena itu diperlukan pupuk alternatif yang harganya relatif murah dan sesuai untuk pertumbuhan mikroalga (Utomo *et al.*, 2005). Salah satu pupuk alternatif yang dapat digunakan untuk kultur mikroalga adalah pupuk limbah cair tahu.

Industri tahu dalam proses pengolahannya menghasilkan limbah, baik limbah padat maupun limbah cair. Limbah cair tahu dihasilkan dari proses pencucian, perebusan, pengepresan, dan pencetakan tahu. Oleh karena itu, limbah cair yang dihasilkan sangat tinggi (Kaswinarni, 2007). Industri tahu membutuhkan bahan baku berupa kedelai dalam sehari sebanyak 1.250 ton. Menurut data tersebut, limbah cair tahu yang dihasilkan per kilogram kedelai adalah 43,5 L, sehingga limbah cair tahu yang dihasilkan dari seluruh industri tahu di Indonesia mencapai

54.375.000 L setiap harinya (Arinto *et al.*, 2013). Limbah cair industri tahu mengandung amonia-nitrogen sebesar 23,3-23,5 mg/l, nitrit-nitrogen 0,1-0,5 mg/l, nitrat-nitrogen 3,5-4,0 mg/l, dan pH 4-6 (Irmanto dan Suyata, 2009). Menurut Dianursanti *et al.* (2014), limbah cair tahu mengandung fosfat 1,06 mg/l dan N-total 8,74 mg/l. Namun kandungan nitrat dalam limbah cair tahu belum mencukupi untuk pertumbuhan optimal mikroalga. Oleh karena itu, perlu ditambahkan urea untuk memenuhi kebutuhan nitrat (Lutama *et al.*, 2015).

Pemanfaatan limbah cair tahu yang digunakan untuk pupuk pada kultur mikroalga telah dilakukan oleh Dianursanti *et al.* (2014), dengan hasil terbaik pertumbuhan *Chlorella vulgaris* yaitu perlakuan limbah cair tahu 30%, hal ini menunjukkan limbah cair tahu mengandung unsur-unsur yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroalga. Terjadi kematian *C. vulgaris* pada perlakuan diatas 30% karena tingginya *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan kekeruhan. Menurut Sutanto (2011), bakteri *Bacillus subtilis* memiliki kemampuan merombak bahan organik yang terdapat dalam limbah yang ditunjukkan dengan penurunan BOD. Menurut Pitrianingsih *et al.* (2014), *B. subtilis* menghasilkan enzim-enzim ekstraseluler yang memecah polisakarida dan lemak serta menggunakannya sebagai sumber karbon dan energi. Oleh karena itu, pada penelitian ini perlu dilakukan fermentasi pada limbah cair tahu menggunakan *B. subtilis* sebelum digunakan sebagai pupuk pada media kultur mikroalga untuk menurunkan kadar BOD limbah cair tahu.

## 2. MATERI DAN METODE

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

### 2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan 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, botol hisap *DeN*, pipet volume *Pyrex Ivaki*, selang aerasi, *cover glass*, Erlenmeyer 500 ml *Pyrex Ivaki*, gelas ukur 100 ml dan 1 L *Pyrex Ivaki*, *beaker glass* 1 L *Pyrex Ivaki*, oven, spektrofotometer *Spectroquant pharo 300*, *centrifuge*, *blower*, lampu TL 36 watt, kamera digital, botol *sprayer*, *washing bottle*, nampan, bak besar, *water bath*, timbangan analitik *Radwag AS2201X*, cuvet, botol film, autoklaf *GEA*, vortex, botol falcon, *micro pipette* 1-1.000  $\mu$ L *Eppendorf Research Plus, blue tip*, *vacum pump VE115 value*, dan kalkulator.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain *T. chunii*, air laut, air tawar, klorin, Na Thiosulfat, akuades, alkohol 96%, tisu, kapas, kertas label, kertas koran, pupuk limbah cair tahu, kertas saring GF/C, metanol *absolute*, pupuk walne, lugol, asam fenol disulfonik,  $\text{NH}_4\text{OH}$ ,  $\text{NaOH}$ , pupuk urea 46%, ammonium *molybdate*,  $\text{SnCl}_2$ , aluminium foil, dan benang kasur.

### 1.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian adalah campuran air laut dan air tawar. Air laut yang akan digunakan diperoleh dari Toko Tirta, sedangkan air tawar diperoleh dari sumur yang berada di Laboratorium Reproduksi Ikan. Air media yang akan digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan untuk menghindari kontaminasi dari mikroorganisme yang tidak diinginkan. Limbah cair tahu yang didapat berasal dari industri pembuatan tahu di Jalan Bunga Akordion No. 154 Malang. Limbah cair tahu sebelum digunakan diberi bakteri *Bacillus subtilis* difermentasi selama 48 jam untuk menurunkan kadar BOD.

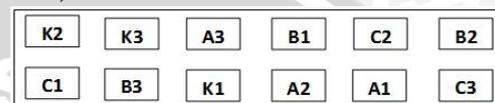
### 1.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Menurut Subiyanto (1999), metode eksperimen banyak digunakan dalam penelitian yang bersifat laboratoris, misalnya: penelitian teknik pemuliaan tanaman (rekayasa). Eksperimen merupakan bentuk penelitian khusus yang digunakan untuk menentukan variabel-variabel apa saja serta bagaimana bentuk hubungan antara satu dengan lainnya. Mungkin pula penelitian ini dilakukan dengan cara membuat suatu kondisi tertentu yang akan diuji seberapa

pengaruhnya terhadap variabel lain sebagai pengontrolnya.

### 1.4 Rancangan Percobaan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan acak lengkap (RAL) banyak digunakan untuk percobaan laboratorium dan rumah kaca karena satuan-satuan percobaan selain perlakuan dapat diatur sehingga memenuhi homogenitas (Tapehe, 2015).



Gambar 1. Denah Percobaan Penelitian

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

Perlakuan yang diberikan adalah pemberian pupuk limbah cair tahu dengan dosis yang berbeda dengan penambahan urea yaitu terdiri dari tiga perlakuan dan satu kontrol dengan tiga kali ulangan, untuk kontrolnya menggunakan pupuk walne:

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

### 2.5 Parameter Uji

#### 2.5.1 Parameter Utama

a. Pertumbuhan *Tetraselmis chunii*

Perhitungan konsentrasi sel *T. chunii* dilakukan setiap hari dari awal kultur hingga akhir percobaan. Perhitungan konsentrasi sel *T. chunii* dilakukan menggunakan 0,1 mm *deep Neubauer haemocytometer* dan alat bantu mikroskop dengan menggunakan rumus perhitungan menurut Creswell (2010), yaitu:

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

Apabila konsentrasi sel tinggi maka menggunakan perhitungan yaitu sebagai berikut:

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

- Laju Pertumbuhan Spesifik

Perhitungan laju pertumbuhan spesifik yaitu dari pertumbuhan saat awal kultur hingga konsentrasi sel maksimum. Laju pertumbuhan

spesifik menurut Ak *et al.* (2008), dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\mu \text{ (hari}^{-1}\text{)} = \frac{\ln(x_2) - \ln(x_1)}{t_2 - t_1}$$

Keterangan:  $\mu$  : laju pertumbuhan per unit konsentrasi sel (hari<sup>-1</sup>);  $x_1$  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 penggandaan dari sel *T. chuii*. Waktu penggandaan sel (dt) merupakan rata-rata waktu generasi konsentrasi sel yang dihitung dari laju pertumbuhan menurut Ak *et al.* (2008) dengan rumus sebagai berikut:

$$dt = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,693}{\mu}$$

b. Biomassa *Tetraselmis chuii*

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

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

Keterangan:

- Berat kertas saring = A (g)
- Berat kertas saring dan mikroalga = B (g)

c. Klorofil a

Kandungan klorofil a *T. chuii* dilakukan pada akhir fase eksponensial. 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 tercampur. Kemudian diletakkan pada *hot plate* dengan suhu

70°C-80°C selama 30 menit. Lalu diinkubasi pada suhu 4°C dan keadaan gelap selama 24 jam. Kemudian sampel disentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit. Perhitungan klorofil a menurut Ritchie (2006), yaitu:

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

1.5 Parameter Penunjang

a. pH

Pengukuran pH dilakukan satu kali sehari menggunakan pH meter dengan cara pH meter dicelupkan ke dalam media kultur.

b. Suhu

Pengukuran suhu menggunakan termometer yang dicelupkan di dalam media kultur. Pengukuran suhu dilakukan 2 kali sehari yaitu pada pagi hari pukul 07.00 WIB dan siang hari pukul 14.00 WIB.

c. Oksigen Terlarut

Pengukuran kadar oksigen terlarut dalam media pemeliharaan digunakan DO meter dengan cara mencelupkan DO meter ke dalam media kultur lalu dicatat hasilnya. Pengukuran dilakukan setiap 24 jam sekali.

d. Salinitas

Pengukuran salinitas dilakukan sekali dalam 24 jam menggunakan refraktometer.

e. Nitrat

Pengukuran kadar nitrat dilakukan pada awal tebar, pertengahan fase eksponensial, dan akhir fase eksponensial. 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 H<sub>2</sub>O dan dikerik sampai keraknya larut semua. Sampel ditambahkan NH<sub>4</sub>OH 1:1 sampai berwarna kuning dan jika sudah 6 mL tapi tidak berwarna kuning maka dihentikan, lalu ditambahkan H<sub>2</sub>O sampai seperti volume semua (12,5 mL). Sampel dimasukkan ke dalam cuvet untuk diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 410 nm (Boyd, 1979).

f. Fosfat

Pengukuran kadar nitrat dilakukan pada awal tebar, pertengahan fase eksponensial, dan akhir fase eksponensial. Air sampel yang diambil yaitu 25 mL. Selanjutnya ditambahkan 1 mL ammonium molybdate. Lalu ditetesi dengan 5



tetes SnCl<sub>2</sub> dan dihomogenkan, ditunggu sampai 10 menit hingga warna biru terbentuk. Kemudian dimasukkan ke dalam cuvet. Kadar fosfat diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 690 nm (Boyd, 1979).

**1.6 Analisis Data**

Analisis data dilakukan untuk mengetahui pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*, maka data yang diperoleh dari masing-masing perlakuan akan dihitung dan diuji secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman (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 yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata ( $F$  hitung >  $F$  tabel) maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil), dari uji ini dilanjutkan dengan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui respon antara perlakuan.

**2. HASIL DAN PEMBAHASAN**

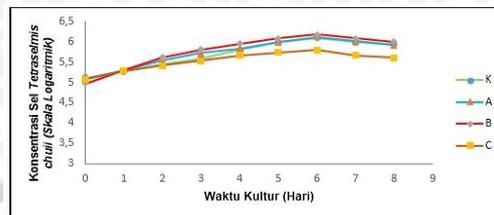
Berdasarkan hasil penelitian pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea didapat hasil laju pertumbuhan spesifik, biomassa, dan klorofil a *T. chuii* dapat dilihat pada Tabel 1.

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

Parameter	Perlakuan			
	K (Walne 1 mL/L)	A (60 mL/L)	B (120 mL/L)	C (180 mL/L)
Laju Pertumbuhan Spesifik (hari <sup>-1</sup> )	0,38 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,46 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,27 ± 0,03 <sup>a</sup>
Biomassa (g/L)	0,28 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,33 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,42 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,02 <sup>a</sup>
Klorofil a (µg/mL)	1,59 ± 0,12 <sup>b</sup>	1,75 ± 0,10 <sup>b</sup>	2,48 ± 0,12 <sup>c</sup>	1,14 ± 0,08 <sup>a</sup>

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

**3.1 Pertumbuhan *Tetraselmis chuii***



Gambar 2. Rata-rata Pertumbuhan Harian *T. chuii*

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 2000 mg/L)

Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa *T. chuii* menunjukkan peningkatan pertumbuhan sel yang berbeda tiap perlakuan. *T. chuii* mengalami 2 fase pada penelitian ini yaitu fase eksponensial dan fase kematian.

Fase eksponensial pada tiap perlakuan terjadi dari hari ke-0 sampai hari ke-6, dimana fase eksponensial ditandai dengan jumlah sel *T. chuii* yang terus meningkat (Fasya *et al.*, 2013). Pada fase ini, *T. chuii* sudah dapat beradaptasi dengan media pertumbuhan, sehingga sel dapat melakukan pembelahan sel secara maksimal. Menurut Prihantini *et al.* (2007), inokulasi mikroalga pada media yang kaya akan nutrisi dapat menyebabkan fase adaptasinya tidak terlihat, sehingga akan memasuki fase eksponensial lebih cepat. Fase adaptasinya terjadi kurang dari 24 jam, sehingga tidak teramati pada penelitian ini. Selain itu menurut Prihantini *et al.* (2005), fase adaptasi akan menjadi lebih singkat atau bahkan tidak terlihat apabila sel-sel yang diinokulasikan berasal dari kultur yang berada dalam fase eksponensial.

Fase kematian terjadi dari hari ke-7 sampai hari ke-8 yang ditandai dengan penurunan jumlah sel. Kematian sel disebabkan oleh nutrisi pada media telah habis (Putra *et al.*, 2014). Fase kematian terjadi karena nutrisi untuk pertumbuhannya sudah sangat sedikit ditambah dengan konsentrasi sel yang tinggi memungkinkan terjadinya kompetisi (Ru'yatin *et al.*, 2015).

Hubungan antara pengaruh pemberian pupuk limbah cair tahu terhadap laju pertumbuhan spesifik *T. chuii* didapatkan

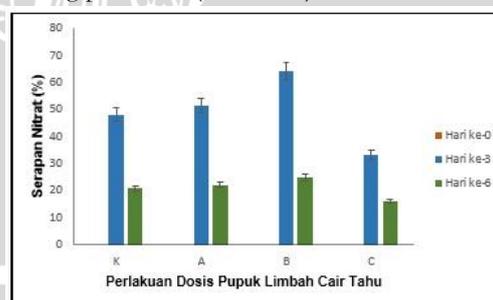


persamaan  $Y = -0,00003x^2 + 0,0064x + 0,127$  dengan koefisien determinasi sebesar  $R^2 = 0,84$ . Dosis terbaik untuk laju pertumbuhan spesifik *T. chunii* pada perlakuan pupuk limbah cair tahu 106,67 mL/L + urea 200 mg/L yaitu 0,47 hari<sup>-1</sup>.

Berdasarkan Tabel 1 didapatkan laju pertumbuhan spesifik tertinggi pada dosis 120 mL/L + urea 200 mg/L dengan konsentrasi sel  $15,00 \times 10^5$  sel/mL, nilai laju pertumbuhan spesifiknya 0,46 hari<sup>-1</sup> dengan waktu penggandaan 1,57 hari. Diikuti oleh perlakuan dosis 60 mL/L + urea 200 mg/L dengan konsentrasi sel  $13,17 \times 10^5$  sel/mL, nilai laju pertumbuhan spesifiknya 0,39 hari<sup>-1</sup> dengan waktu penggandaan 1,75 hari. Walne 1 mL/L menghasilkan konsentrasi sel  $12,42 \times 10^5$  sel/mL, nilai laju pertumbuhan spesifiknya 0,37 hari<sup>-1</sup> dan waktu penggandaannya 1,85 hari. Perlakuan dosis 180 mL/L + urea 200 mg/L menghasilkan konsentrasi sel terendah diantara perlakuan lain yaitu  $6,14 \times 10^5$  sel/mL dengan nilai laju pertumbuhan spesifik 0,27 hari<sup>-1</sup> dan waktu penggandaannya 2,55 hari. Pupuk limbah cair tahu mengandung senyawa organik, anorganik, dan mineral. Hal ini menjadi pengaruh pada perlakuan dosis 60 mL/L + urea 200 mg/L dan 120 mL/L + urea 200 mg/L laju pertumbuhan spesifiknya lebih tinggi dibanding dengan kontrol (walne 1 mL/L), karena pada walne tidak terdapat senyawa organik dan mineral, hanya mengandung unsur anorganik. Hal ini didukung pernyataan Prihantini *et al.* (2007), konsentrasi sel pada penelitiannya dengan perlakuan 2%, 3%, dan 4% Medium Ekstrak Tauge (MET) lebih tinggi dibanding dengan Medium Basal Bold (MBB). Hal tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut kelengkapan nutrisi di dalam MET mendukung pertumbuhan mikroalga sehingga menghasilkan konsentrasi sel yang tinggi. MBB hanya mengandung senyawa anorganik, sedangkan MET mengandung senyawa anorganik, organik, dan beberapa mineral. Selain itu limbah cair tahu juga mengandung C organik 0,60%, dimana C organik ini tidak terkandung pada pupuk walne. Hal ini sesuai pendapat Widayat dan Hadiyanto (2015), limbah cair tahu dosis 20% menghasilkan konsentrasi sel tertinggi karena tingginya kandungan C organik sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan mikroalga. Namun

laju pertumbuhan spesifik pada perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L lebih rendah dari pada semua perlakuan, termasuk kontrol. Hal ini karena semakin tinggi dosis pupuk limbah cair tahu semakin membuat keruh media kultur. Hal ini sesuai dengan pernyataan Handajani (2006), dosis pupuk limbah cair tahu 31 mg/L memberikan hasil konsentrasi sel paling tinggi dibanding perlakuan dosis lainnya, dikarenakan tingkat efektivitas pemanfaatan nutrisi yang rendah. Hal disebabkan kondisi media kultur yang semakin keruh akibat penumpukan senyawa organik pupuk limbah cair tahu. Selain itu pada perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L kadar kekeruhan dan BOD terlalu tinggi sehingga penambahan sel *T. chunii* tidak optimal yang akhirnya juga mempengaruhi nilai laju pertumbuhan spesifiknya. Hal ini didukung oleh pernyataan Dianursanti *et al.* (2014), bahwa mikroalga tidak dapat tumbuh secara optimal pada perlakuan limbah cair tahu lebih dari 30% dari volume kultur karena tingginya kadar kekeruhan dan BOD. Kekeruhan yang tinggi menghalangi cahaya yang masuk pada media, sehingga proses fotosintesis tidak optimal.

Pertumbuhan *T. chunii* sejalan dengan serapan nutrisi yang dibutuhkan yaitu nitrat dan fosfat. Serapan nitrat dan fosfat sesuai dengan konsentrasi sel maksimum yang dicapai. Pertumbuhan *T. chunii* pada pengaruh pemberian pupuk limbah cair tahu memberikan perbedaan variasi serapan nitrat yang berbeda pada masing-masing perlakuan (Gambar 3).



Gambar 3. Serapan Nitrat *Tetrasselmis chunii*

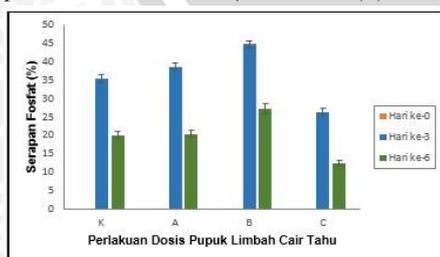
Keterangan: K (pupuk walne 1 mL/L); A (pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L); B (pupuk limbah cair tahu 120 mL/L +

urea 200 mg/L); C (pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L)

Berdasarkan Gambar 3 serapan nitrat tertinggi *T. chunii* pada perlakuan B (pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L) yaitu pada hari ke-3 sebesar 64,32% dan pada hari ke-6 sebesar 24,70%. Serapan nitrat terendah pada perlakuan C (pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L) pada hari ke-3 sebesar 33,29% dan pada hari ke-6 sebesar 15,93%.

Unsur nutrisi yang diperlukan oleh mikroalga dalam jumlah terbanyak adalah makronutrisi berupa N dan P. Unsur N pada pupuk limbah cair tahu masih belum mencukupi untuk pertumbuhan *T. chunii*, oleh karena itu dilakukan penambahan urea untuk meningkatkan laju pertumbuhan sel *T. chunii*. Hal ini seperti yang dilakukan oleh Pratama (2016), dimana pada penelitiannya yang menggunakan pupuk limbah cair karet perlu dilakukan penambahan urea agar *T. chunii* dapat tumbuh optimal, karena kandungan nitrat pada pupuk limbah cair karet masih rendah. Menurut Komarawidjaja (2011), nitrogen merupakan nutrisi penting dalam proses fotosintesis mikroalga, diperlukan dalam proses metabolisme organisme bagi kelangsungan hidupnya. Oleh karena itu, kecukupan nutrisi N akan menentukan laju pembelahan sel mikroalga. Konsentrasi nitrat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga.

Selain nitrat, unsur lain yang dibutuhkan dalam pertumbuhan adalah fosfat (Gambar 9). Fosfor merupakan senyawa esensial bagi pertumbuhan mikroalga. Selain itu fosfor juga berperan dalam transfer energi pada proses fotosintesis dan pembentukan klorofil pada proses selular (Komarawidjaja, 2011).



Gambar 4. Serapan Fosfat *Tetraselmis chunii*

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 160 mg/L)

Berdasarkan Gambar 4, serapan fosfat tertinggi pada perlakuan B (limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L) yaitu pada hari ke-3 sebesar 44,80% dan pada hari ke-6 sebesar 27,16%. Serapan fosfat terendah pada perlakuan C (limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L) yaitu pada hari ke-3 sebesar 26,31% dan pada hari ke-6 sebesar 12,44%. Fosfor merupakan unsur esensial bagi seluruh organisme yang membutuhkan energi untuk mentransformasi energi, membentuk membran dan menyimpan dan mereplikasi informasi genetika. Fosfat sebagai unsur pembatas pertumbuhan mikroalga. Keterbatasan unsur P akan menyebabkan terganggunya pembentukan sel atau pembelahan sel (Komarawidjaja, 2011).

Berdasarkan hasil pengukuran kandungan nitrat dan fosfat yang dilakukan di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan rasio perbandingan N:P pada kontrol dan perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea adalah 5:1. Perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L rasio N:P yaitu 5,7:1 dan perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea adalah 5,5:1. Rasio N:P pada kontrol dan tiap perlakuan masih sesuai untuk pertumbuhan *T. chunii*, hal ini sesuai pendapat Khairy dan Hussein (2009), bahwa rasio N:P *T. chunii* adalah 5:1.

## 2.2 Biomassa *Tetraselmis chunii*

Berdasarkan perhitungan analisis statistik didapatkan pengaruh pemberian pupuk limbah cair tahu memberikan perbedaan yang signifikan terhadap biomassa. Perbedaan tersebut membentuk pola kuadratik dengan persamaan  $Y = -0,00004x^2 + 0,0083x - 0,016$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0,94$ . Dosis terbaik untuk biomassa *T. chunii* pada perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu 103,75 mL/L + urea 200 mg/L sebesar 0,41 g/L.

Berdasarkan Tabel 1 diperoleh biomassa tertinggi pada dosis 120 mL/L + urea 200 mg/L dengan nilai biomassa 0,42 g/L, diikuti perlakuan 60 mL/L + urea 200 mg/L dengan

biomassa 0,33 g/L, dan kontrol (walne 1 mL/L) 0,28 g/L. Hasil biomassa tertinggi pada penelitian ini lebih sedikit dibanding dengan penelitian yang dilakukan Pratama (2016), *T. chunii* dengan kepadatan  $12,00 \times 10^5$  menghasilkan biomassa sebesar 0,625 g/L. Biomassa terendah pada perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L sebesar 0,25 g/L. Peningkatan biomassa mikroalga ditandai dengan peningkatan konsentrasi sel, dimana konsentrasi sel dipengaruhi oleh kandungan nutrisi pada media dan intensitas cahaya (Adi *et al.*, 2015). Semakin banyak nutrisi yang tersedia pada media kultur maka pertumbuhan mikroalga semakin baik sehingga biomasanyapun meningkat (Widayat dan Hadiyanto, 2015). Biomassa mikroalga meningkat sejalan dengan meningkatnya pertumbuhan mikroalga (Hariyati, 2008).

### 2.3 Klorofil a *Tetraselmis chunii*

Hasil uji polynomial orthogonal 3 perlakuan diperoleh hubungan pemberian dosis pupuk limbah cair tahu terhadap klorofil a *T. chunii* menunjukkan persamaan  $Y = -0,0003x^2 + 0,0635x - 1,0628$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0,96$ . Hasil terbaik klorofil a *T. chunii* pada perlakuan 105,83 sebesar 2,30  $\mu\text{g/mL}$ .

Hasil tertinggi klorofil a *T. chunii* berdasarkan Tabel 2 pada penelitian ini pada perlakuan dosis 120 mL/L + urea 200 mg/L dengan kandungan klorofil sebesar 2,48  $\mu\text{g/mL}$  diikuti perlakuan dosis 60 mL/L + urea 200 mg/L dan kontrol (walne 1 mL/L) sebesar 1,75  $\mu\text{g/mL}$  dan 1,57  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil klorofil terendah pada perlakuan dosis 180 mL/L + urea 200 mg/L sebesar 1,14  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil klorofil a ini lebih rendah dari hasil penelitian yang dilakukan Tsai *et al.* (2016), kandungan klorofil tertinggi *T. chunii* yang didapat yaitu  $3,21 \pm 0,60\%$  berat kering. Hasil klorofil a pada perlakuan 120 mL/L + urea 200 mg/L dan 60 mL/L + urea 200 mg/L lebih tinggi daripada kontrol (walne 1 mL/L). Hal ini disebabkan oleh penambahan urea pada media kultur menyebabkan sumber nitrogen lebih tinggi dari pada kontrol, sehingga biomassa dan klorofilnya juga lebih tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Setyaningsih *et al.* (2011), penggunaan urea sebagai sumber nitrogen pada kultur mikroalga menyebabkan peningkatan

produksi biomassa sel dan juga kandungan klorofil. Namun perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L sumber nitrogennya tinggi, namun kekeruhan dan BOD juga tinggi. Inilah yang menyebabkan kandungan klorofil a *T. chunii* rendah karena cahaya tidak dapat masuk secara optimal dan proses fotosintesis tidak berjalan optimal (Dianursanti *et al.*, 2014). Pemberian pupuk limbah cair tahu diatas 50% menyebabkan kekeruhan. Kadar nutrisi yang terlalu banyak dalam media kultur akan bersifat racun dan mengakibatkan aktivitas sel terganggu dalam proses metabolisme (Wimas, 2015). Namun jika dilihat dari rasio N:P selama penelitian, rasio tersebut masih dalam kisaran yang baik untuk pertumbuhan *T. chunii* dimana N:P yaitu 5:1. Hal ini sesuai dengan pendapat Khairy dan Hussein (2009), yang menyatakan rasio perbandingan N:P *T. chunii* adalah 5:1. Peningkatan kandungan klorofil pada mikroalga akan sangat berpengaruh pada kemampuan fotosintesis mikroalga tersebut (Rizky, 2013).

### 2.4 Parameter Kualitas Air

Kualitas air memiliki peran yang penting dalam kegiatan budidaya. Hasil pH pada penelitian ini selama kultur yaitu 7,43-8,40. Kisaran ini masih termasuk baik untuk kultur *T. chunii* seperti yang dikemukakan Widayat dan Hadiyanto (2015), kisaran pH selama kultur *T. chunii* adalah 7-9.

Suhu pada penelitian ini diukur dua kali sehari pada pagi dan siang hari menggunakan termometer. Suhu pada pagi hari berkisar antara 26-27°C, sementara suhu siang hari berkisar antara 28-29°C. Kisaran suhu ini masih terbilang baik untuk kultur mikroalga, seperti penelitian yang dilakukan Putri *et al.* (2009), suhu selama penelitian berkisar antara 25-30°C.

Kisaran oksigen terlarut pada penelitian ini yaitu 6,7-8,49 ppm. Kisaran tersebut tergolong baik untuk kultur mikroalga dalam skala laboratorium seperti pendapat Shintawati (2011), biakan mikroalga di laboratorium perlu penyediaan oksigen terlarut yang cukup. Kadar oksigen terlarut 2-5 ppm kurang produktif, 5-7 ppm produktifitasnya tinggi, dan diatas 7 ppm sangat tinggi.

Salinitas pada penelitian ini berkisar antara 25-30 ppt, dimana kenaikan salinitas disebabkan oleh evaporasi selama kultur berlangsung. Hal ini sesuai dengan pendapat Nurhayati *et al.* (2013), terjadinya kenaikan salinitas karena terjadi penguapan akibat suhu tinggi, sehingga kadar garamnya menjadi meningkat. Namun, kisaran salinitas tersebut masih tergolong baik untuk kultur *T. chuii*, sesuai pendapat Supriyantini *et al.* (2012), kisaran salinitas untuk kultur *T. chuii* 25-30 ppt.

#### 4. Kesimpulan dan Saran

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

- Penelitian mengenai pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*
- Dosis pemberian pupuk limbah cair tahu yang terbaik dengan penambahan urea untuk pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii* yaitu pada dosis pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L dengan laju pertumbuhan spesifik 0,46 hari<sup>-1</sup> dengan total biomassa 0,42 gr/L dan klorofil a 2,48 µg/mL.

Pada penelitian mengenai pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii* dapat disarankan untuk menggunakan dosis pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L.

#### DAFTAR PUSTAKA

Adi, I.A., A.A.M.D. Anggreni, dan I.W. Arnata. 2015. Optimasi salinitas dan pH awal media BG-11 terhadap konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **3** (4): 51-61.

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.

Arinto, D.J., H.P. Paramastri, dan D. Soetrinanto. 2013. Potensi air dadih (*whey*) tahu sebagai nutrien dalam kultivasi *Chlorella* sp. untuk bahan baku pembuatan biodisel. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. **2** (4): 233-242.

Bennett, A. and L. Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *Journal of Cell Biology*. **58**(2): 419-435.

Boyd, C. E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish Pond. Agricultural Experiment Station, Auburn University. Auburn, Alabama, USA. 359 pp.

Chalid, S.Y., S. Amini, dan S.D. Lestari. 2010. Kultivasi *Chlorella* sp. pada media tumbuh yang diperkaya dengan pupuk anorganik dan soil extract. *Valensi*. **1** (6): 298-304.

Cresswell, L. 2010. Phytoplankton culture for aquaculture feed. Southern Regional Aquaculture Center. 5004 pp.

Dianursanti, B., T. Rizkytata, M.T. Gumelar, and T.H. Abdullah. 2014. Industrial tofu wastewater as a cultivation medium of mikroalga *Chlorella vulgaris*. *Energy Procedia*. **47**: 56-61.

Fasya, A.G., U. Khamidah, S. Amaliyah, S.B. Khairul, dan Romaidi. 2013. Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol mikroalga *Chlorella* sp. hasil kultivasi dalam medium ekstrak tauge (MET) pada tiap fase pertumbuhan. *Alchemy*. **2** (3): 162-169.

Handajani, H. 2006. Pemanfaatan limbah cair tahu sebagai pupuk alternatif pada kultur mikroalga *Spirulina* sp. *Jurnal Protein*. **13** (2): 188-193.

Hariyati, R. 2008. Pertumbuhan dan biomassa *Spirulina* sp. dalam skala laboratorium. *Bioma*. **10** (1):19-22.

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 ligh/dark cycles: 13 -87s. *Journal Biotechnology*. **70**: 323-333.

Kaswinarni, F. 2007. *Kajian teknis pengolahan limbah padat dan cair industri tahu*. Tesis. Program Studi Magister Ilmu Lingkungan.

- Program Pascasarjana. Universitas Diponegoro. Semarang. 106 hlm.
- Khairy, H.M. dan N.R. Hussein. 2009. Changes in some metabolic activities of the green alga *Tetraselmis chuii* (Butcher) as affected by different concentration of nitrogen and phosphorus in the medium. *Egyptian Journal Experimental Biology*. **5** (1): 67-73.
- Komarawidjaja, W. 2011. Kajian pemanfaatan limbah padat industri pengolah rumput laut sebagai media kultur mikroalga *Chlorella* sp. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. **12** (3):241-250.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods 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.
- Nurhayati, T., M.B. Hermanto, dan M. Lutfi. 2013. Penggunaan fotobioreaktor sistem *batch* tersirkulasi terhadap tingkat pertumbuhan mikroalga *Chlorella vulgaris*, *Chlorella* sp., dan *Nannochloropsis oculata*. *Jurnal Kelautan Pertanian Tropis dan Biosistem*. **1** (3): 249-257.
- Pitrianiingsih, C., Suminto, dan Sarjito. 2014. Pengaruh bakteri kandidat probiotik terhadap perubahan kandungan nutrisi C, N, P, dan K media kultur lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3** (4): 247-256.
- Pratama, A.I. 2016. Kajian produksi biomassa *Tetraselmis* sp. pada media limbah cair industri karet remah yang diperkaya nitrogen dan diatur salinitasnya. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. Lampung. 66 hlm.
- Prihantini, N.B., B. Putri, dan R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam medium ekstrak tauge (MET) dengan variasi pH awal. *Makara*. **9** (1): 1-6.
- Prihantini, N.B., D. Damayanti, dan R. Yuniati. 2007. Pengaruh konsentrasi medium ekstrak tauge (MET) terhadap pertumbuhan *Scenedesmus* isolat subang. *Makara Sains*. **11** (1): 1-9.
- Putra, I.K.R.W., A.A.D. Anggreni, dan I.W. Arnata. 2014. Pengaruh jenis media terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **3** (1): 1-7.
- Putri, B., A.H. Vickry, dan H.W. Maharani. 2013. Pemanfaatan air kelapa sebagai pengkaya media pertumbuhan mikroalga *Tetraselmis* sp. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. **1**: 135-142.
- Putri, C.L.O., Insafitri, dan I.W. Abida. 2009. Pengaruh pemberian  $FeCl_3$  terhadap pertumbuhan *Chaetoceros calcitrans*. *Jurnal Kelautan*. **2** (1): 73-80.
- Ritchie, R. J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*. **89**: 27-41.
- Ru'yatin, I., S. Rohyani, dan L. Ali. 2015. Pertumbuhan *Tetraselmis* dan *Nannochloropsis* pada skala laboratorium. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. **1** (2): 296-299.
- Rukka, A.H. 2011. Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan rotifera *Brachionus plicatilis* O.F Muller. *Media Litbang Sulawesi Tengah*. **4** (1): 8-11.
- Sani, R.N., F.C. Nisa, R.D. Andriani, dan J.M. Maligan. 2014. Analisis rendaman dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **2** (2): 121-126.
- Setyaningsih, I., A.T. Saputra, dan Uju. 2011. Komposisi kimia dan kandungan pigmen *Spirulina fusiformis* pada umur panen yang berbeda dalam media pupuk. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **14** (1): 63-69.
- Setyaningsih, I., Desniar, dan T. Sriwardani. 2005. Konsentrasi hambatan minimum ekstrak *Chlorella* sp. terhadap bakteri dan kapang. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. **8** (1): 25-34.
- Shintawati, D.P. 2011. Produksi biodiesel dari mikroalga *Chlorella* sp. dengan metode esterifikasi *in-situ*. *Tesis*. Program Pasca Sarjana. Universitas Diponegoro. Semarang. 70 hlm.

- Subiyanto, I. 1999. Metodologi Penelitian. Akademi Manajemen Perusahaan YKPN. Yogyakarta. 272 hlm.
- Supriyanti, E., D.W. Ismunarti, dan A. Ridlo. 2012. Pengaruh penggunaan pakan alami *Tetraselmis chuii* dan *Skeletonema costatum* dengan dosis yang berbeda terhadap pertumbuhan kerang totok. *Ilmu Kelautan*. **17** (2):81-86.
- Sutanto, A. 2011. Degradasi bahan organik limbah cair nanas oleh bakteri indigen. *El-Hayab*. **1** (4): 151-156.
- Tapehe, Y. 2015. Statistika dan Rancangan Percobaan. EGC. Jakarta. 144 hlm.
- Tsai, H.P., L.T. Chuang, and C.N.N. Chen. 2016. Production of long chain omega-3 fatty acids and carotenoid in tropical areas by a new heat-tolerant microalga *Tetraselmis* sp. DS3. *Food Chemistry*. **192**: 682-690.
- 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.
- Widayat dan Hadiyanto. 2015. Pemanfaatan limbah cair industri tahu untuk produksi biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. sebagai bahan baku biodiesel. *Reaktor*. **15** (4): 253-260.
- Wimas, D. L. 2015. Uji efektivitas pertumbuhan *Spirulina* sp. pada limbah cair tahu yang diperkaya urea dan super phosphate 36 (SP 36). *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Jember. Jember. 65 hlm.

