

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

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA 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  
KLOROFIL *a* *Tetraselmis chuii*

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:  
NOVY PURWITA ARDHYANI  
NIM. 125080501111035



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016

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

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

Menyetujui

Dosen Penguji I

**(Dr. Ating Yuniarti, S.Pi, M.Aqua)**  
NIP. 19750604 199903 2 002  
Tanggal: 12 AUG 2016

Dosen Pembimbing I

**(Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS)**  
NIP. 19620805/198603 2 001  
Tanggal: 12 AUG 2016

Dosen Penguji II

**(Ir. M. Rasyid Fadholi, M.Si)**  
NIP. 19520713 198003 1 001  
Tanggal: 12 AUG 2016

Dosen Pembimbing II

**(M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc)**  
NIP. 19860717 201504 1 001  
Tanggal: 12 AUG 2016

Mengetahui  
Ketua Jurusan MSP



**(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)**  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal: 12 AUG 2016



## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Agustus 2016

Mahasiswa

NOVY PURWITA ARDHYANI



## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyadari bahwa skripsi ini dibuat 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 rahmat, karunia serta ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Bapak Suroso, Ibu Sumarmi, dan Nova Dwi Ardhyana yang telah memberikan do'a restu, motivasi, dukungan, dan segala upaya yang dikerahkan sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
3. Ibu Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan, dan nasehat bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
4. Bapak M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc selaku dosen pembimbing II yang banyak memberikan saran, bimbingan, arahan, dan nasehat bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
5. Ibu Dr. Ating Yuniarti, S.Pi, M. Aqua selaku dosen penguji I yang banyak memberikan saran, bimbingan, arahan, dan nasehat bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
6. Bapak Ir. M. Rasyid Fadholi, M.Si selaku dosen penguji II yang banyak memberikan saran, bimbingan, arahan, dan nasehat bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
7. Pak Udin, Pak Yit, Mbak Hawa, Mbak Titin, Mbak Mega selaku laboran yang banyak membantu dan memberikan saran saat penelitian.
8. Teman-teman satu tim limbah cair tahu (Nika, Eva, Riza, Eno) yang telah banyak membantu dan mendukung saat penelitian.

9. Teman-teman tim pakan (Sanudi, Dico, Endar, dan Gogo) yang telah banyak membantu dan mendukung penyelesaian skripsi ini.
10. Wahyu, Deeda, Januar, Aul, Viqi, dan Merry yang telah menemani begadang dan menjaga saat penulis tidur di Laboratorium Reproduksi Ikan.
11. Sira spesialis pembuatan power point yang mau begadang demi terselesaikannya power point penulis.
12. Teman-teman Budidaya Perairan 2012 “Aquasean” dan Kos “SS/IV 280” yang telah membantu dan mendukung penyelesaian skripsi ini.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## RINGKASAN

**Novy Purwita Ardhyani.** Pengaruh Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda dengan Penambahan Urea terhadap Pertumbuhan, Biomassa, dan Klorofil a *Tetraselmis chuii*. Di bawah bimbingan **Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS** dan **M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc**

*Tetraselmis chuii* merupakan pakan alami yang potensial bagi artemia, rotifera, dan ikan. Permasalahan dalam kultur *T. chuii* adalah pupuk PA (pro analisis) yang mahal, oleh karena itu diperlukan pupuk alternatif yang harganya relatif murah dan sesuai untuk pertumbuhan *T. chuii*, salah satunya limbah cair industri tahu. Namun kadar Biological Oxygen Demand (BOD) dan kekeruhan yang tinggi serta pH yang asam menjadi penghambat pertumbuhan mikroalga. Oleh karena itu, dilakukan fermentasi secara anaerob pada limbah cair tahu menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* untuk mengurangi kadar BOD dan penambahan NaOH sampai pH menjadi 7. Selain itu perlu dilakukan penambahan urea untuk meningkatkan kandungan nitrat pada pupuk limbah cair tahu.

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

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2016 yang bertempat 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. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 1 kontrol masing-masing diulang sebanyak 3 kali. Perlakuan dalam penelitian ini adalah A (pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L), B (pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L), C (pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L), dan kontrol (pupuk walne 1 mL/L). Parameter utama dalam penelitian ini adalah pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*. Pertumbuhan *T. chuii* meliputi konsentrasi sel, laju pertumbuhan spesifik, dan *doubling time*. Kemudian untuk parameter penunjang yang diamati adalah pH, suhu, oksigen terlarut, salinitas, nitrat, dan fosfat.

Hasil penelitian mengenai 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 dengan total biomassa 0,42 gr/L dan klorofil a 2,48 µg/mL. Perlakuan dosis pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L dan 120 mL/L + urea 200 mg/L hasilnya lebih tinggi daripada kontrol (walne 1 mL/L) karena adanya kandungan C organik pada pupuk limbah cair tahu, dimana C organik ini tidak terdapat pada pupuk walne. 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 disebabkan oleh kadar BOD dan kekeruhan yang terlalu tinggi, sehingga menghalangi cahaya yang masuk ke media dan proses fotosintesis tidak optimal.

## KATA PENGANTAR

Skripsi dengan judul “Pengaruh Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda dengan Penambahan Urea terhadap Pertumbuhan, Biomassa, dan Klorofil a *Tetraselmis chuii*” ini tersajikan untuk menjelaskan pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a yang dihasilkan oleh mikroalga yang diteliti. Tulisan ini menyajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, analisis data, serta hasil dan pembahasan.

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

Malang, Agustus 2016

Penulis

DAFTAR ISI

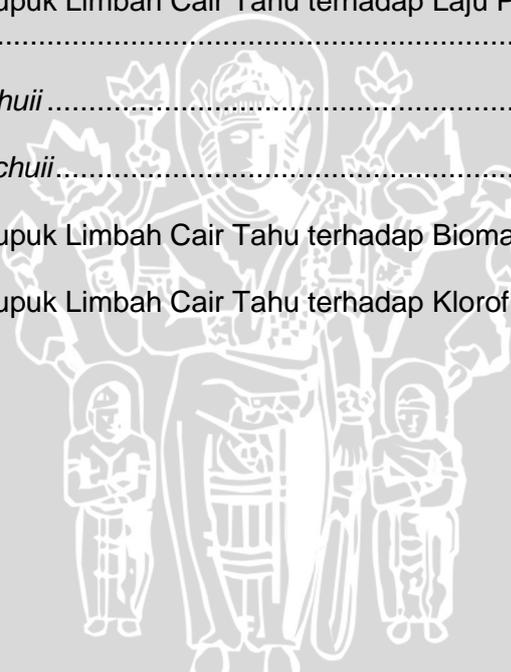
	Halaman
RINGKASAN .....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Hipotesis .....	3
1.5 Kegunaan Penelitian .....	4
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian .....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Biologi <i>Tetraselmis chuii</i> .....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Tetraselmis chuii</i> .....	5
2.1.2 Reproduksi <i>Tetraselmis chuii</i> .....	6
2.1.3 Kandungan Gizi .....	6
2.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga .....	7
2.2.1 Fase Adaptasi .....	7
2.2.2 Fase Eksponensial .....	7
2.2.3 Fase Stasioner .....	8
2.2.4 Fase Kematian .....	8
2.3 Sistem Kultur Mikroalga .....	8
2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga .....	9
2.4.1 Kondisi Lingkungan .....	9
2.4.2 Nutrisi .....	11
2.5 Klorofil a <i>Tetraselmis chuii</i> .....	11
2.6 Limbah Cair Tahu .....	12
2.7 Fermentasi Limbah Cair Tahu .....	13
2.8 Pengaruh Limbah Cair Tahu terhadap Mikroalga .....	15
2.9 Pengaruh Nitrat dan Fosfat terhadap Mikroalga .....	15
3. METODE PENELITIAN .....	17
3.1 Alat dan Bahan Penelitian .....	17
3.1.1 Alat Penelitian .....	17
3.1.2 Bahan Penelitian .....	17
3.2 Media Penelitian .....	17
3.3 Metode Penelitian .....	18

3.4 Rancangan Percobaan Penelitian.....	18
3.5 Prosedur Penelitian.....	20
3.5.1 Persiapan Penelitian .....	20
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian .....	23
3.6 Parameter Uji.....	24
3.6.1 Parameter Utama .....	24
3.6.2 Parameter Penunjang.....	26
3.7 Analisis Data.....	27
4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	28
4.1 Pertumbuhan <i>Tetraselmis chuii</i> .....	28
4.2 Biomassa <i>Tetraselmis chuii</i> .....	35
4.3 Klorofil a <i>Tetraselmis chuii</i> .....	37
4.4 Parameter Kualitas Air .....	39
4.4.1 pH .....	39
4.4.2 Suhu.....	39
4.4.3 Oksigen Terlarut.....	39
4.4.4 Salinitas .....	39
5. KESIMPULAN DAN SARAN .....	41
5.1 Kesimpulan .....	41
5.2 Saran .....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN .....	49



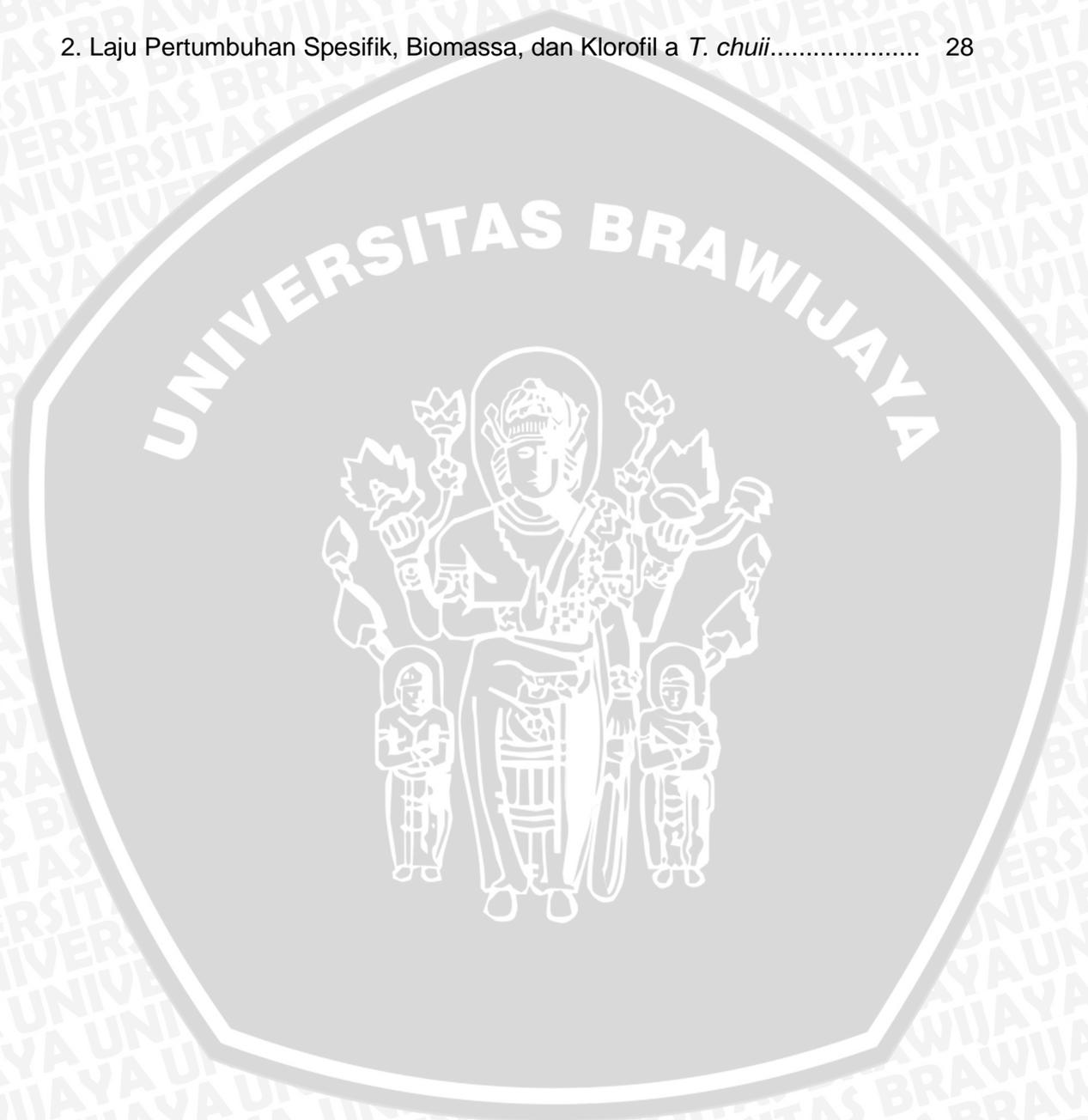
## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi <i>Tetraselmis chuii</i> .....	5
2. Fase Pertumbuhan Mikroalga .....	7
3. Struktur Kimia Pigmen Klorofil a dan Klorofil b .....	12
4. Denah Percobaan .....	20
5. Pengenceran Metode Bujur Sangkar .....	22
6. Rata-rata Pertumbuhan Harian <i>T. chuii</i> .....	28
7. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik <i>T. chuii</i> .....	30
8. Serapan Nitrat <i>T. chuii</i> .....	33
9. Serapan Fosfat <i>T. chuii</i> .....	34
10. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu terhadap Biomassa <i>T. chuii</i> .....	36
11. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu terhadap Klorofil a <i>T. chuii</i> .....	37



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Karakteristik Limbah Cair Industri Tahu .....	13
2. Laju Pertumbuhan Spesifik, Biomassa, dan Klorofil a <i>T. chuii</i> .....	28



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur Fermentasi Limbah Cair Tahu .....	49
2. Kandungan Pupuk Limbah Cair Tahu .....	50
3. Perhitungan Kebutuhan Urea.....	51
4. Kandungan Pupuk Walne .....	53
5. Sterilisasi Alat dan Bahan .....	54
6. Data Pertumbuhan <i>Tetraselmis chuii</i> (sel/mL).....	56
7. Data Biomassa Klorofil a <i>Tetraselmis chuii</i> (g/L) .....	64
8. Data Klorofil a <i>Tetraselmis chuii</i> ( $\mu\text{g/mL}$ ).....	71
9. Hasil Uji Kandungan Bahan Organik Limbah Cair Tahu.....	77
10. Data Konsentrasi Nitrat pada Perlakuan Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda dengan Penambahan Urea.....	78
11. Data Konsentrasi Fosfat pada Perlakuan Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda.....	79
12. pH Media Kultur Selama Penelitian.....	80
13. Suhu Media Kultur Selama Penelitian.....	81
14. Oksigen Terlarut Media Kultur Selama Penelitian.....	82
15. Salinitas Media Kultur Selama Penelitian.....	83

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

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.

## 1.2 Rumusan Masalah

Mahalnya harga pupuk PA dan banyaknya limbah cair tahu yang langsung dibuang begitu saja sehingga mencemari lingkungan. Limbah cair tahu setelah difermentasi mengandung unsur hara yang dibutuhkan mikroalga untuk pertumbuhannya. Penggunaan pupuk limbah cair tahu dapat menekan biaya dalam kultur mikroalga. Penelitian ini memiliki rumusan masalah sebagai berikut:

- a) Bagaimana pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*?
- b) Berapakah dosis pupuk limbah cair tahu yang terbaik dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a) Untuk menjelaskan pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*.
- b) Untuk menentukan dosis pupuk limbah cair tahu yang terbaik dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*.

## 1.4 Hipotesis

$H_0$  : Pemberian dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*.

$H_1$  : Pemberian dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*.

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini yaitu sebagai informasi tentang pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chunii*. Selain itu juga sebagai informasi tentang penggunaan dosis yang terbaik untuk pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chunii* sehingga dapat diketahui oleh pembudidaya pakan alami khususnya pembudidaya *T. chunii* maupun dapat berguna bagi masyarakat yang antusias dengan budidaya perikanan tentang pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chunii*. Bagi masyarakat dapat menjadi informasi tentang pupuk limbah cair tahu yang menjadi solusi dari harga pupuk PA yang mahal sehingga dapat menekan biaya pembelian pupuk serta sebagai solusi alternatif yang efisien untuk kegiatan budidaya perikanan.

### 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

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. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi *Tetraselmis chuii*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *Tetraselmis chuii*

Menurut Butcher (1959), *T. chuii* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Phylum	: Chlorophyta
Subphylum	: Chlorophytina
Class	: Chlorodendrophyceae
Ordo	: Chlorodendrales
Family	: Chlorodendraceae
Genus	: <i>Tetraselmis</i>
Spesies	: <i>Tetraselmis chuii</i> Butcher

*T. chuii* memiliki empat buah flagella yang digunakannya untuk bergerak (Graham dan Lee, 2000). *T. chuii* merupakan organisme yang mempunyai klorofil berwarna hijau. Ukuran selnya berkisar 7-12 dan berbentuk oval. *T. chuii* mempunyai enzim yang dapat dicerna oleh larva ikan dan udang (Kuncoro, 2004). *T. chuii* memiliki dinding sel yang tipis dan enzim autolisis sehingga mudah dicerna oleh larva ikan dan udang (Putri *et al.*, 2013). Morfologi *T. chuii* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi *Tetraselmis chuii* (Tsai *et al.*, 2016)

### 2.1.2 Reproduksi *Tetraselmis chuii*

*T. chuii* berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel dan seksual dengan penyatuan kloroplast dari gamet jantan dan gamet betina. Pada reproduksi secara aseksual protoplasma sel membelah menjadi 2, 4, dan 8 sel dalam bentuk zoospora. Zoospora ini masing-masing akan melengkapi dengan empat buah flagella dan akan terlepas bebas dalam bentuk zygospora. Pada reproduksi secara seksual gamet jantan dan betina identik sehingga disebut dengan isogami. Bersatunya kloroplast diikuti dengan menurunkan zygot baru yang akan berkembang menjadi zygot yang sempurna (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

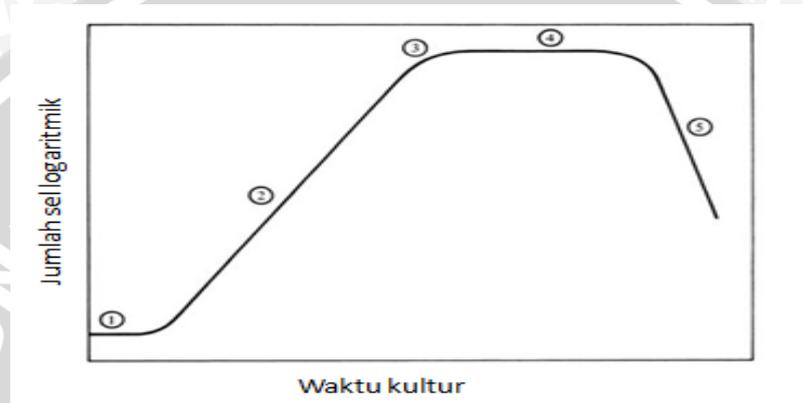
Reproduksi *T. chuii* terjadi secara aseksual dan seksual. Pada reproduksi aseksual, terjadi pembelahan protoplasma dari 2, 4, 8 dan seterusnya dalam bentuk zoospora setelah dilengkapi dengan 4 buah flagella. Pada reproduksi seksual, setiap sel mempunyai gamet yang identik (isogami) yang kemudian menurunkan zygot baru dan diikuti dengan perkembangan zygot yang sempurna (Sumeru dan Anna, 1992).

### 2.1.3 Kandungan Gizi

*T. chuii* mempunyai nilai gizi tinggi karena mengandung protein (50%), lemak (20%), karbohidrat (20%), asam amino, vitamin, dan mineral (Pranata *et al.*, 2015). *T. chuii* mengandung protein sebesar 48,42%, karbohidrat 12,10%, dan lemak 9,70% (Sani *et al.*, 2014). Pada penelitian yang dilakukan Nurmalitasari *et al.* (2014), kandungan lipid paling tinggi *T. chuii* yaitu  $70,32 \pm 2,49\%$  dan terendah sebesar  $7,89 \pm 2,92\%$ . Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), *T. chuii* mengandung protein cukup tinggi yaitu 48,42% dan lemak 9,70%.

## 2.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga

Menurut Ru'yatin *et al.* (2015), setiap fitoplankton memiliki pola pertumbuhan yang berbeda, hal ini diduga karena perbedaan jenis, ukuran tubuh dan faktor lingkungannya. Pertumbuhan fitoplankton secara umum meliputi fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Grafik fase pertumbuhan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Fase Pertumbuhan Mikroalga (Fogg dan Thake, 1987)

Keterangan:

- 1 : Fase adaptasi
- 2 : Fase eksponensial
- 3 : Fase penurunan laju pertumbuhan
- 4 : Fase stasioner
- 5 : Fase kematian

### 2.2.1 Fase Adaptasi

Fase adaptasi merupakan fase dimana kultur pada umumnya hanya mengalami peningkatan ukuran sel, tetapi belum terjadi pembelahan (Putra *et al.*, 2014). Fase adaptasi *T. chuii* pada penelitian Putri *et al.* (2013), tidak teramati kemungkinan fase adaptasi terjadi dibawah 24 jam, hal tersebut diduga karena *T. chuii* sudah dapat beradaptasi dengan baik terhadap media kultur.

### 2.2.2 Fase Eksponensial

Fase selanjutnya adalah fase eksponensial. Pada fase ini *T. chuii* membelah dengan cepat. Kecepatan pembelahannya tergantung pada ketersediaan nutrisi

dalam media (Pujiono, 2013). Fase eksponensial *T. chuii* terjadi pada jam ke 48 sampai jam ke 72 (Putri *et al.*, 2013).

### 2.2.3 Fase Stasioner

Fase stasioner adalah fase dimana penambahan kepadatan populasi seimbang dengan laju kematian sehingga pertumbuhan populasi yang terjadi kecil. Jumlah sel cenderung tetap diakibatkan sel telah mencapai titik jenuh (Ru'yatin *et al.*, 2015). Fase stasioner *T. chuii* terjadi selama 1-2 hari setelah puncak kepadatannya (Putra *et al.*, 2014).

### 2.2.4 Fase Kematian

Fase kematian adalah jumlah sel *T. chuii* yang mati lebih tinggi dibandingkan jumlah sel yang hidup. Fase kematian tersebut dikarenakan jumlah nutrisi yang terdapat dalam media pertumbuhan sudah mulai habis sehingga sel *T. chuii* kekurangan sumber nutrisi untuk melakukan pertumbuhannya (Putri *et al.*, 2013).

## 2.3 Sistem Kultur Mikroalga

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

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

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

## 2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga

### 2.4.1 Kondisi Lingkungan

#### a. pH

Data kualitas air selama penelitian menunjukkan kisaran yang sesuai dengan syarat suatu media kultur *T. chunii*. Nilai pH atau derajat keasaman berkisar antara 8-9 (Putri *et al.*, 2013). Menurut Junda *et al.* (2013), pH optimum untuk *T. chunii* berkisar antara 7-8. pH pada kultur *T. chunii* yang dilakukan Primaryadi (2014), adalah 8.

#### b. Suhu

Data hasil pengukuran suhu selama penelitian menunjukkan kisaran 24-29°C, kondisi suhu tersebut dapat dikategorikan baik untuk pertumbuhan *T. chunii* (Putri *et al.*, 2013). Menurut Primaryadi (2014), suhu yang digunakan untuk kultur

*T. chuii* yaitu 30°C. Penelitian yang dilakukan Putra *et al.* (2014), menggunakan suhu berkisar antara 28-30°C, sedangkan Pujiono (2013), menggunakan suhu 28°C. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), *T. chuii* mempunyai toleransi suhu yang lebar yaitu 15-36°C.

#### c. Oksigen Terlarut

Hasil pengamatan nilai oksigen terlarut pada penelitian berkisar antara 4,1-6,07 mg/l. Nilai oksigen terlarut tertinggi terjadi pada puncak kepadatan mikroalga, hal ini terjadi karena peningkatan fotosintesis dari mikroalga yang menghasilkan oksigen (Widiyanto *et al.*, 2014). Konsentrasi oksigen terlarut pada kultur mikroalga dipengaruhi oleh aktivitas fotosintesis mikroalga itu sendiri dan aerasi (Nurhayati *et al.*, 2013). Menurut Widianingsih *et al.*, (2008), pengukuran oksigen terlarut selama penelitian kultur mikroalga adalah 5,3-5,4 ppm.

#### d. Salinitas

*T. chuii* mempunyai toleransi salinitas antara 15-36 ppt (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Salinitas untuk pertumbuhan mikroalga berkisar antara 30-32 ppt (Nurhayati *et al.*, 2013). Penelitian kultur *T. chuii* menggunakan media bersalinitas 30 ppt (Primaryadi, 2014), sedangkan Nurmalita *et al.* (2014), mengkultur *T. chuii* pada salinitas 33 ppt.

#### e. Intensitas Cahaya

Cahaya diperlukan sebagai sumber energi mikroalga untuk melakukan proses fotosintesis. Hasil pengukuran cahaya menunjukkan kisaran antara 3.600-4.400 lux menggunakan dua buah lampu TL berkekuatan 40 watt (Putri *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan Putra *et al.* (2014), intensitas cahaya yang digunakan untuk kultur *T. chuii* berkisar antara 2.500-2659 lux, sedangkan Pujiono (2013) menggunakan intensitas cahaya 5.000 lux dengan lampu spiral 24 watt.

#### 2.4.2 Nutrisi

Media pertumbuhan fitoplankton dalam suatu lingkungan sangat bergantung bukan hanya dari kecukupan makro nutrisi seperti C, N, dan P serta beberapa ion utama seperti  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  dan  $\text{SO}_4^{2-}$ , tetapi masih memerlukan sejumlah elemen mikro nutrisi seperti Fe, Mn, Zn, dan Co dalam konsentrasi rendah (Mulyanto, 2010).

##### a. Unsur Makro Nutrisi

Makro nutrisi yang penting dalam pertumbuhan mikroalga adalah nitrogen (N) dalam media kultur. Sari (2014), mengatakan bahwa mikroalga diketahui dapat mengurangi kandungan nitrogen (N) dan fosfat (P) dalam limbah peternakan. N dan P tersebut digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan dan kandungan karbohidrat mikroalga. Menurut Amini dan Syamdidi (2006), nitrat merupakan sumber nutrisi bagi mikroalga dalam bentuk nitrogen. Penelitian yang dilakukan Khairy dan Hussein (2009), kebutuhan unsur makro *T. chuii* adalah N 15 mg/L dan P 3 mg/L, sehingga rasio N:P yaitu 5:1.

##### b. Unsur Mikro Nutrisi

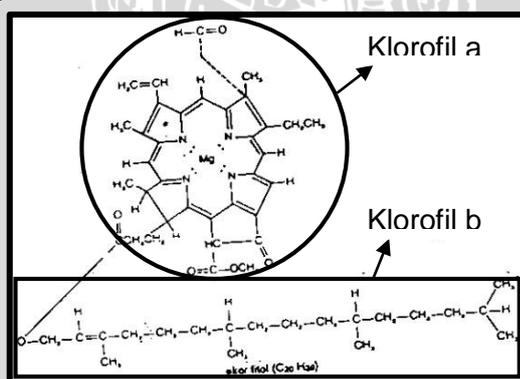
Unsur anorganik yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pembentukan klorofil adalah Magnesium (Mg) dan Besi (Fe). Magnesium berfungsi dalam pembentukan klorofil. Selain itu Mg juga berperan sebagai regulator atau pengatur dalam penyerapan unsur lain seperti P dan K (Primaryadi, 2014). Besi termasuk unsur yang esensial bagi makhluk hidup. Pada tumbuhan termasuk alga, besi berperan sebagai penyusun klorofil. Besi juga berperan dalam sistem enzim dan transfer elektron pada proses fotosintesis (Putri *et al.*, 2009).

#### 2.5 Klorofil a *Tetraselmis chuii*

Pigmen adalah bahan bioaktif yang terdapat pada sel alga digunakan untuk memberikan warna pada bahan makanan dan minuman, selain itu juga digunakan

dalam bidang farmasi dan kosmetik (Diharmi, 2001). *T. chuii* yang termasuk kelompok alga hijau ini mengandung banyak pigmen hijau, sehingga terlihat berwarna hijau jika dilihat di bawah mikroskop. Pigmennya terdiri atas dua macam yaitu klorofil a dan klorofil b, serta sedikit karotenoid (Sumeru dan Anna, 1992). Mikroalga mengandung berbagai jenis senyawa kimia. Warna mikroalga disebabkan oleh kandungan pigmen di dalamnya terdiri atas klorofil dan karotenoid (Abdilah *et al.*, 2014).

Mikroalga mempunyai zat warna hijau daun (pigmen) klorofil yang berperan pada proses fotosintesis dengan bantuan  $H_2O$ ,  $CO_2$ , dan sinar matahari untuk menghasilkan energi. Energi ini digunakan untuk biosintesis sel, bergerak atau berpindah dan reproduksi (Chalid *et al.*, 2010). Klorofil merupakan pigmen yang digunakan untuk fotosintesis mikroalga (Diharmi, 2001). Struktur pigmen klorofil a dan klorofil b dapat dilihat pada Gambar 3. Menurut penelitian yang dilakukan Tsai *et al.* (2016), kandungan klorofil tertinggi *T. chuii* yang didapat yaitu klorofil a  $3,21 \pm 0,60\%$  berat kering. Kandungan klorofil a *T. chuii* menurut Abdilah *et al.* (2014), adalah 6,76 mg/g BB.



Gambar 3. Struktur Kimia Pigmen Klorofil a dan Klorofil b (Diharmi, 2001)

## 2.6 Limbah Cair Tahu

Limbah yang dihasilkan dari industri tahu berupa limbah padat dan limbah cair. Pemanfaatan limbah padat pada saat ini adalah untuk makanan ternak dan untuk pembuatan tempe. Limbah cair yang dihasilkan cukup mengganggu

lingkungan karena mengandung sisa air dari susu tahu yang tidak menggumpal dan limbah ini masih mengandung bahan organik, seperti protein, karbohidrat, dan lemak. Karakteristik air limbah tahu meliputi suhu, warna, bau, kekeruhan, BOD, dan pH (Astuti *et al.*, 2007).

Air limbah tahu merupakan limbah organik dan tidak mengandung logam berat, sehingga proses pengolahannya dapat dilakukan secara biologi. Proses pengolahan biologi merupakan suatu proses pengolahan limbah dengan memanfaatkan mikroorganisme seperti bakteri untuk mendegradasi kandungan polutan. Sistem pengolahan secara biologi dapat dimanfaatkan sebagai pupuk atau media tanam yang sangat baik (Sani, 2006). Kandungan limbah cair tahu yang telah didegradasi oleh mikroorganisme dapat dimanfaatkan mikroalga sebagai media pertumbuhannya. Karakteristik limbah cair tahu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Limbah Cair Industri Tahu

Karakteristik Fisik dan Kimia	Nilai
Padatan Terendap (mg/L)	170-190
Padatan Tersuspensi (mg/L)	638-660
Padatan total (mg/L)	668-703
Amonia-Nitrogen (mg/L)	23,3-23,5
Nitrit-Nitrogen (mg/L)	0,1-0,5
Nitrat-Nitrogen (mg/L)	3,5-4,0
pH	4-6
BOD (mg/L)	6.000-8.000
Abu (%)	0,19
Protein (%)	0,08
Karbohidrat (%)	0,51
Pati (%)	0,46

Sumber: Irmanto dan Suyata (2009)

## 2.7 Fermentasi Limbah Cair Tahu

Menurut Kwartiningsih dan Mulyati (2005), fermentasi adalah perubahan kimia suatu senyawa yang disebabkan oleh enzim. Enzim yang berperan dapat dihasilkan oleh mikroorganisme atau enzim yang telah ada dalam senyawa

tersebut. Fermentasi merupakan suatu reaksi oksidasi atau reaksi dalam sistem biologi yang menghasilkan energi di mana donor dan aseptor adalah senyawa organik. Senyawa tersebut akan diubah oleh reaksi reduksi dengan katalis enzim menjadi senyawa lain.

Teknologi pengolahan limbah cair tahu dapat dilakukan dengan proses biologi sistem anaerob, aerob dan kombinasi anaerob-aerob (Kaswinarni, 2013). Pengolahan secara biologi menggunakan mikroorganisme disebut bioremediasi. Kelompok mikroorganisme yang mampu memetabolisme limbah organik adalah bakteri, fungi, dan virus. Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme terpenting dalam pengolahan air limbah. Kultur bakteri dapat digunakan untuk menghilangkan bahan organik dan mineral-mineral yang tidak diinginkan dari air limbah (Kaswinarni, 2007). Molekul organik yang terdapat dalam limbah cair industri tahu secara garis besar mengalami perombakan terutama karbohidrat, lemak, dan protein yang terkandung di dalamnya yang dilakukan oleh mikroorganisme pengurai. Bahan organik kompleks berupa karbohidrat, lemak, dan protein mula-mula diubah menjadi bentuk persenyawaan yang lebih sederhana yaitu glukosa, gliserol, asam lemak, dan asam amino. Asam amino yang merupakan hasil perombakan protein, akan dioksidasi menjadi nitrogen amonia dan akan dioksidasi lagi menjadi nitrat. (Irmanto dan Suyata, 2009). Bakteri pengurai bahan organik merupakan aktivator biologis yang tumbuh alami atau sengaja diberikan untuk mempercepat perombakan bahan organik. Bakteri pengurai tersebut antara lain *Pseudomonas* spp., *Achromobacter* spp., *Bacillus* spp., *Flavobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Streptomyces* spp., dan lain sebagainya (Zahidah dan Shovitri, 2013). Limbah cair tahu mengalami penurunan nilai BOD. Penurunan ini disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme dalam mendegradasi senyawa-senyawa organik untuk keperluan hidupnya. Penurunan

nilai BOD dengan penambahan mikroorganisme memberikan hasil yang lebih baik dari pada tanpa pemberian mikroorganisme (Sudaryati *et al.*, 2008).

### **2.8 Pengaruh Limbah Cair Tahu terhadap Mikroalga**

Menurut Rini (2013), penambahan media kultur dengan limbah cair tahu 25% memberikan pertumbuhan yang paling tinggi terhadap mikroalga, hal ini karena pada konsentrasi tersebut mempunyai nutrisi yang mendukung pertumbuhan mikroalga. Pertumbuhan mikroalga berbanding lurus dengan produksi biomassa. Kemampuan mikroalga dalam beradaptasi dengan lingkungan dipengaruhi oleh unsur organik dan anorganik yang terkandung dalam media yang akan menjadi sumber nutrisi dan dapat juga menjadi faktor pembatas bagi pertumbuhan mikroalga, jika salah satu nutrisi tidak tersedia dalam limbah atau jumlahnya terlalu besar maka proses reduksi senyawa organik dan pertumbuhan mikroalga tersebut terhambat.

Pencapaian puncak populasi yang lebih cepat pada perlakuan limbah cair tahu pada konsentrasi yang tepat memungkinkan sel mikroalga melaksanakan fotosintesis yang lebih cepat sehingga menghasilkan biomassa yang lebih banyak. Ketersediaan unsur hara pada medium yang terbatas menyebabkan tidak mendukung terhadap pertumbuhan sel. Begitupun ketersediaan unsur hara yang berlebihan dapat menurunkan jumlah sel karena unsur hara dari limbah cair tahu yang berlebihan dapat menyebabkan keracunan bagi sel mikroalga (Salim, 2013).

### **2.9 Pengaruh Nitrat dan Fosfat terhadap Mikroalga**

Nitrogen dan fosfor merupakan unsur yang sangat penting bagi mikroalga. Nitrogen yang dibutuhkan didapatkan dalam bentuk nitrat ( $\text{NO}_3^+$ ) dan fosfor dalam bentuk fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) (Budiardi *et al.*, 2010). Nitrat pada media dibutuhkan untuk

fotosintesis, fosfat pada media digunakan untuk energi metabolisme, stabilisasi membran sel, dan replikasi sel (Dianursanti *et al.*, 2014).

Dari analisis dinamika perubahan nutrisi menunjukkan bahwa konsentrasi nitrat dan fosfat mengalami penurunan dari 3-4 mg/l menjadi 0,05-0,1 mg/l selama pemeliharaan mikroalga, hal ini menunjukkan mikroalga memanfaatkan nitrat dan fosfat selama pemeliharaan (Santoso *et al.*, 2011). Nitrogen yang dapat dimanfaatkan oleh fitoplankton adalah nitrat ( $\text{NO}_3$ ), berfungsi untuk pembentukan asam amino, lemak dan sel-sel vegetatif (Nawansih *et al.*, 2015). Konsentrasi nitrat akan menurun dengan meningkatnya jumlah populasi kultur mikroalga (Suantika *et al.*, 2009). Konsentrasi nitrat dan fosfat memiliki pengaruh sebesar 91,07% terhadap produksi biomassa mikroalga dan sisanya dipengaruhi oleh faktor lain seperti suhu, pH dan salinitas (Brahmantara *et al.*, 2016).

Nitrogen akan menjadi nitrat melalui beberapa proses kimia yaitu dengan nitrifikasi. Menurut Nindrasari *et al.* (2011), reaksi kimia nitrifikasi diawali dengan proses pemecahan nitrogen organik menjadi amonia oleh bakteri heterotrof dari genus *Bacillus*, *Clostridium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, dan *Streptomyces* yang disebut amonifikasi. Nitrifikasi merupakan oksidasi aerob amonia menjadi nitrit oleh bakteri *Nitrosomonas*, dilanjutkan dengan oksidasi nitrit menjadi nitrat oleh bakteri *Nitrobacter*.

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan antara lain wadah kultur (toples kaca 2,5 L), refraktometer *Agata*, termometer, pH meter, DO meter, *haemocytometer* 0,1 mm *Neubauer Assistend*, *handtally counter*, mikroskop *Olympus CX21*, pipet tetes, botol hisap *D&N*, pipet volume *Pyrex lwaki*, selang aerasi, *cover glass*, Erlenmeyer 500 ml *Pyrex lwaki*, gelas ukur 100 ml dan 1 L *Pyrex lwaki*, *beaker glass* 1 L *Pyrex lwaki*, 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 µL Eppendorf Research Plus*, *blue tip*, *vacum pump VE115 value*, dan kalkulator.

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan antara lain *T. chuii*, 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 kasar.

#### 3.2 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 (Lampiran 1).

### 3.3 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.

### 3.4 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). Rancangan Acak Lengkap dipandang lebih berguna dalam percobaan laboratorium, dalam beberapa percobaan rumah kaca atau dalam percobaan pada beberapa jenis bahan percobaan tertentu yang mempunyai sifat relatif homogen. Beberapa keuntungan dari penggunaan Rancangan Acak Lengkap antara lain denah perancangan percobaan lebih mudah, analisis statistika terhadap subyek percobaan sangat sederhana, fleksibel dalam penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan. Penggunaan Rancangan Acak Lengkap akan tepat jika bahan percobaan homogen dan jumlah perlakuan terbatas (Gaspersz, 1991).

Menurut Sastrosupadi (2002), model untuk Rancangan Acak Lengkap yaitu sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

- $Y_{ij}$  : respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke  $i$  dan ulangan ke  $j$   
 $\mu$  : nilai rata-rata  
 $T_i$  : pengaruh perlakuan ke- $i$   
 $\varepsilon_{ij}$  : pengaruh kesalahan (galat) percobaan perlakuan ke- $i$  dan ulangan ke- $j$

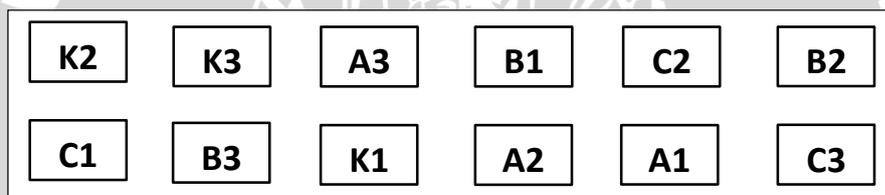
Dosis pupuk limbah cair tahu yang digunakan pada penelitian pendahuluan sebelumnya adalah 60 mL/L, 120 mL/L, dan 180 mL/L. Dosis terbaik yang didapat yaitu 120 mL/L pada pemeliharaan hari ke 6 dengan konsentrasi sel maksimal  $20,8 \times 10^5$  sel/mL dengan padat tebar awal  $1,00 \times 10^5$  sel/mL, namun pada perlakuan kontrol yang menggunakan pupuk walne 1 mL/L menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan pupuk limbah cair tahu yaitu dengan konsentrasi sel  $32,5 \times 10^5$  sel/mL pada hari ke 6. Hal ini dikarenakan pupuk walne mengandung nutrisi lebih banyak dibandingkan dengan pupuk limbah cair tahu yang hanya mengandung nitrat 17,90 mg/L dan fosfat 5,61 mg/L (Lampiran 2). Hasil tersebut diperoleh dari uji nitrat dan fosfat yang diuji di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Dapat disimpulkan bahwa penggunaan pupuk limbah cair tahu kurang optimal dalam meningkatkan pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*. Oleh karena itu untuk meningkatkannya diperlukan penambahan pupuk lain seperti urea yang mengandung kadar N 46%. Berdasarkan kebutuhan nutrisi *T. chuii* memerlukan N:P sebesar 15:1 (Khairy dan Hussein, 2009), sehingga perlu dilakukan penambahan urea sebesar 13,91 mg/L (Lampiran 3). Namun penambahan urea tersebut belum dapat menghasilkan konsentrasi sel *T. chuii* yang terbaik dimana konsentrasi sel yang didapat pada hari ke 6 yaitu  $25,00 \times 10^5$  sel/mL. Sehingga dilakukan penambahan urea 200 mg/L (Lutama *et al.*, 2015).

Diharapkan dengan penggunaan pupuk limbah cair tahu yang diperkaya urea mampu meningkatkan pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *T. chuii*.

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 dengan kandungannya dapat dilihat pada Lampiran 4. Denah percobaan dapat dilihat pada Gambar 4.

- 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



Gambar 4. Denah Percobaan

Keterangan:

K, A – C : perlakuan  
1 – 3 : ulangan

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Persiapan Penelitian

##### a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah sterilisasi menggunakan autoklaf dan sterilisasi kimia. Sterilisasi autoklaf digunakan pada alat yang terbuat dari kaca dan sterilisasi kimia menggunakan klorin dan Na Thiosulfat. Alur sterilisasi dapat dilihat pada Lampiran 5.

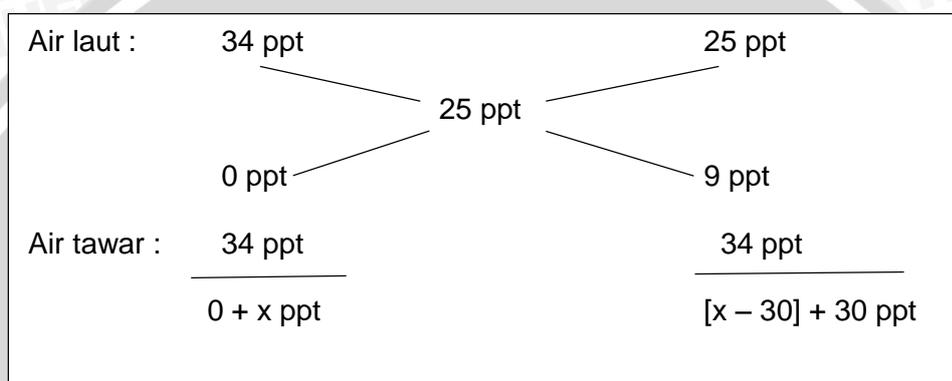
Peralatan yang akan disterilisasi menggunakan autoklaf seperti pipet tetes dan pipet volume terlebih dahulu dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air tawar kemudian ditunggu hingga kering. Selanjutnya untuk pipet ditutup kapas dan dibungkus dengan kertas koran lalu diikat menggunakan benang kasur. Setelah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

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

Pupuk limbah cair tahu sebelum digunakan disterilisasi dengan cara disaring menggunakan kertas saring untuk menghilangkan partikel-partikel yang tidak terlarut (Widanti dan Susilawati, 2011). Limbah cair tahu kemudian dipasteurisasi pada suhu 65°C selama 30 menit, didinginkan pada suhu 0°C selama 30 menit lalu dibiarkan pada suhu ruangan selama 24 jam. Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali. (Somaye *et al.*, 2008). Bakteri *B. subtilis* dimasukkan pada limbah cair tahu dengan kepadatan  $1 \times 10^8$  sel/mL dan difermentasi selama 48 jam. Optimasi pH dilakukan dengan menambahkan NaOH hingga pH 7 (Lutama *et al.*, 2015). Menurut Somaye *et al.* (2008), limbah cair tahu kemudian diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Penyiapan Media Kultur

Media kultur yang digunakan adalah campuran air laut dan air tawar. Salinitas yang diinginkan adalah 25 ppt. Media kultur yang akan digunakan ditampung di dalam bak besar. Sebelum digunakan dalam penelitian, media kultur dimasukkan ke dalam toples kaca dan dicampur dengan pupuk limbah cair tahu sesuai perlakuan penelitian. Pengenceran dilakukan untuk mendapatkan salinitas yang diinginkan menggunakan rumus bujur sangkar (Gambar 5).



Gambar 5. Pengenceran Metode Bujur Sangkar (Ekawati, 2005)

c. Penyiapan Inokulan *Tetraselmis chuii*

Stok *T. chuii* diperoleh dari kultur murni Balai Besar Riset Perikanan Budidaya dan Pengembangan Budidaya Laut Gondol. Stok yang didapat dari balai kemudian dikultur untuk diperbanyak. Hasil dari kultur tersebut kemudian dijadikan stok kembali. Kultur perbanyakan dilakukan di Laboratorium Reproduksi Ikan menggunakan erlenmeyer 500 mL yang kemudian diisi media air laut bersalinitas 25 ppt sebanyak 300 mL dan ditambah pupuk walne 1 mL/l serta vitamin 1 mL/l. Walne dan vitamin didapat dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo. Selanjutnya erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dibungkus aluminium foil lalu diikat benang kasur. Erlenmeyer yang berisi media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit untuk menghilangkan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Inokulan *T. chuii* dimasukkan dalam erlenmeyer sebanyak 30 mL. Kemudian diaerasi dan ditutup plastik lalu diikat karet

agar tidak terjadi kontaminasi. Kultur untuk stok menggunakan suhu 28°C dan intensitas cahaya 3.000 lux. *T. chuii* dipelihara selama 4 hari sampai fase eksponensial. Selanjutnya dipanen dan dihitung konsentrasi awal sel untuk mengetahui inokulan *T. chuii* yang dibutuhkan untuk ditebar dalam media kultur. Setelah diketahui kepadatan awal sel maka dilakukan pengenceran untuk menghitung jumlah inokulan yang dikehendaki menggunakan rumus:

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

Keterangan:

V1 : volume bibit untuk penebaran awal (mL)

N1 : jumlah bibit yang akan ditebar (sel/mL)

V2 : volume media kultur yang dikehendaki (mL)

N2 : jumlah bibit yang dikehendaki (sel/mL)

### 3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

Toples yang telah disterilisasi diletakkan di atas rak yang telah dipasang lampu dengan intensitas cahaya 3.000 lux, fotoperiode yang digunakan yaitu 24:0 (terang:gelap), salinitas yang digunakan untuk kultur yaitu 25 ppt dengan suhu 28°C. Toples ditata sesuai dengan denah percobaan kemudian dimasukkan air laut dan pupuk limbah cair tahu sesuai dosis yang telah ditentukan yaitu, perlakuan A (pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L), perlakuan B (pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L), perlakuan C (pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L), dan kontrol (pupuk walne 1 mL/L). Volume media kultur yang digunakan adalah 1,7 liter. Setelah itu media diaerasi beberapa saat sampai pupuk limbah cair tahu dan air laut tercampur merata, kemudian inokulan *T. chuii* dengan konsentrasi awal sel  $1 \times 10^5$  sel/mL dimasukkan ke dalam media (Nurmalitasari *et al.*, 2014). Pengamatan pertumbuhan dilakukan setiap hari selama masa kultur. Pengukuran biomassa dan klorofil a *T. chuii* dilakukan pada fase pertumbuhan stasioner. Parameter penunjang yang diukur pada media pemeliharaan meliputi pH, suhu, oksigen terlarut, salinitas, nitrat, dan fosfat.

### 3.6 Parameter Uji

#### 3.6.1 Parameter Utama

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

##### a. Pertumbuhan *Tetraselmis chuii*

- Konsentrasi sel *Tetraselmis chuii*

Perhitungan konsentrasi sel *T. chuii* dilakukan setiap hari dari awal kultur hingga akhir percobaan. Perhitungan konsentrasi sel *T. chuii* 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 konsentrasil selnya 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:

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

Keterangan:

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

- *Doubling Time*

*Doubling time* (dt) ialah waktu 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:

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

b. Biomassa *T. 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].

Perhitungan:

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

Keterangan:

- A : berat kertas saring (g)
- B : berat kertas saring dan mikroalga (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:

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

### 3.6.2 Parameter Penunjang

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

#### a. pH

Pengukuran pH dilakukan satu kali sehari setiap 24 jam menggunakan pH meter dengan cara pH meter dicelupkan ke dalam media kultur lalu dicatat hasilnya.

#### b. Suhu

Pengukuran suhu menggunakan termometer yang dicelupkan di dalam media kultur kemudian dicatat hasilnya. 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).

### 3.7 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.

#### 4. 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 2 dan lebih lengkapnya pada Lampiran 6, Lampiran 7, dan Lampiran 8.

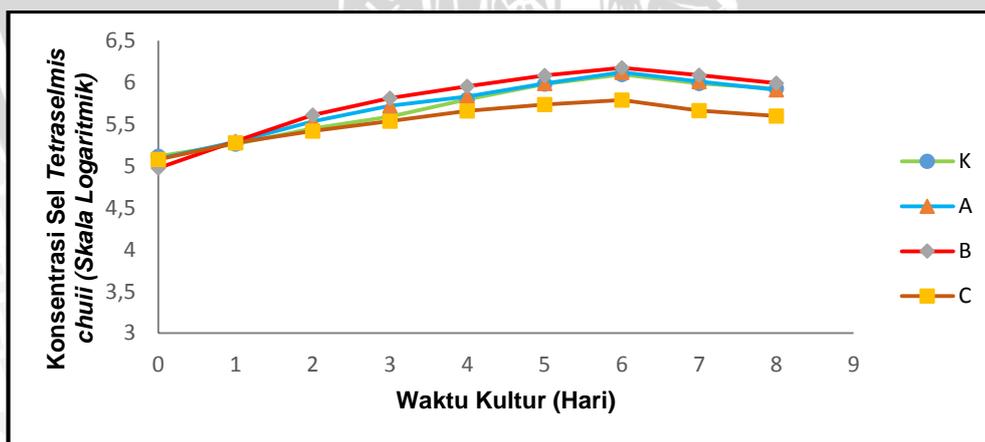
Tabel 2. Laju Pertumbuhan Spesifik, Biomassa, dan Klorofil a *T. chuii*

Parameter	Perlakuan			
	K (Walne 1 mL/L)	A (60 mL/L)	B (120 mL/L)	C (180 mL/L)
Laju Pertumbuhan Spesifik (/hari)	0,38 ± 0,02 <sup>b</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>b</sup>	0,33 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,42 ± 0,02 <sup>d</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 berbeda menunjukkan adanya pengaruh, notasi yang sama menunjukkan tidak adanya pengaruh; selang kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ) dan 99% ( $\alpha = 0,01$ )

##### 4.1 Pertumbuhan *Tetraselmis chuii*

Data hasil penelitian mengenai rata-rata pertumbuhan *T. chuii* dapat dilihat pada Gambar 6 dan lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6.



Gambar 6. Rata-rata Pertumbuhan Harian *T. chuii*

Keterangan:

K : Kontrol (pupuk walne 1 mL/L)

A : Pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L

B : Pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L

C : Pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L

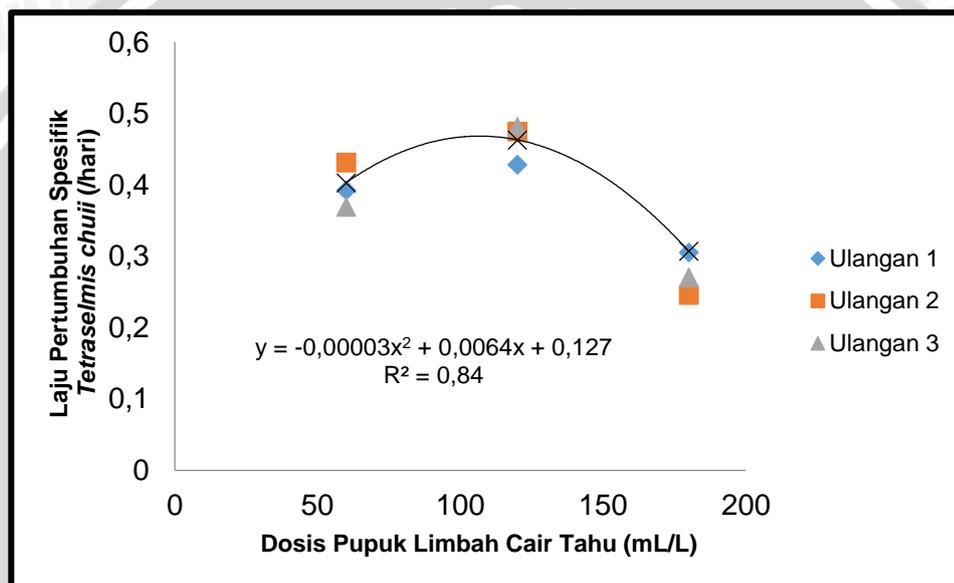
Berdasarkan Gambar 6 dapat dilihat bahwa *T. chuii* menunjukkan peningkatan pertumbuhan sel yang berbeda tiap perlakuan. *T. chuii* mengalami 2 fase pada penelitian ini yaitu fase eksponensial dan fase kematian.

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). Hal ini didukung oleh pernyataan Putri *et al.* (2013), bahwa fase eksponensial ditandai dengan peningkatan jumlah populasi secara berlipat. 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). Fase kematian disebabkan karena berkurangnya kandungan nutrisi dalam media sehingga tidak dapat menunjang pertumbuhan sel mikroalga (Suantika *et al.*, 2009).

Berdasarkan hasil penelitian, nilai laju pertumbuhan spesifik dapat dilihat pada Tabel 2 dan lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6. Laju pertumbuhan spesifik menggambarkan kecepatan pertambahan sel mikroalga per

satuan waktu yang dapat dipakai sebagai tolak ukur untuk mengetahui daya dukung media atau nutrisi terhadap pertumbuhan dan pembelahan sel mikroalga (Musa *et al.*, 2014). Hasil uji BNT pada Tabel 2 menunjukkan pemberian pupuk limbah cair tahu yang ditambah urea memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata, kemudian dilanjutkan uji polynomial orthogonal dengan 3 perlakuan. Kontrol menggunakan walne 1 mL/L tidak dimasukkan dalam uji ini karena tidak seragam (Gambar 7).



Gambar 7. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik *T. chuii*

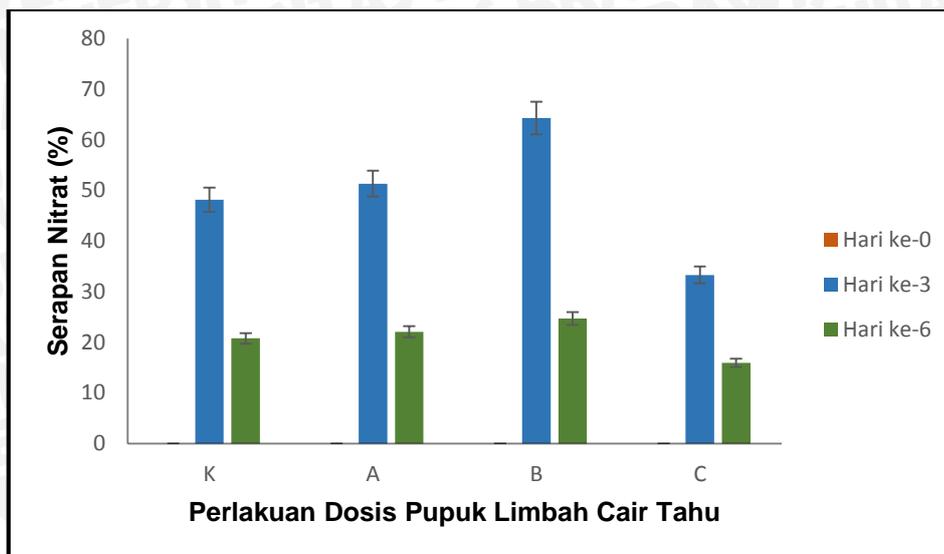
Berdasarkan Gambar 7, hubungan antara pengaruh pemberian pupuk limbah cair tahu terhadap laju pertumbuhan spesifik *T. chuii* didapatkan persamaan  $Y = -0,00003x^2 + 0,0064x + 0,127$  dengan koefisien determinasi sebesar  $R^2 = 0,84$  (Lampiran 6). Dosis terbaik untuk laju pertumbuhan spesifik *T. chuii* pada perlakuan pupuk limbah cair tahu 106,67 mL/L + urea 200 mg/L yaitu 0,47/hari.

Berdasarkan Tabel 2 dan Lampiran 6 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 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 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 dan waktu penggandaannya 1,85 hari. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Handajani (2006), pupuk limbah cair tahu 0 mg/L menghasilkan laju pertumbuhan spesifik 0,0084/hari; dosis 31 mg/L sebesar 0,3669/hari; dosis 64 mg/L sebesar 0,3659/hari; dosis 93 mg/L sebesar 0,2711/hari dan dosis 124 mg/L sebesar 0,1502/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 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% (Lampiran 9), 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. Karbon berpengaruh pada

proses fotosintesis mikroalga dengan bantuan sinar matahari yang menghasilkan energi. Energi tersebut digunakan 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 dosis 0 mg/L, 62 mg/L, 93 mg/L, dan 124 mg/L, dikarenakan tingkat efektivitas pemanfaatan nutrisi yang rendah. Hal ini 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. chuii* 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. chuii* sejalan dengan serapan nutrisi yang dibutuhkan yaitu nitrat dan fosfat. Serapan nitrat dan fosfat sesuai dengan konsentrasi sel maksimum yang dicapai. Pertumbuhan *T. chuii* pada pengaruh pemberian pupuk limbah cair tahu memberikan perbedaan variasi serapan nitrat yang berbeda pada masing-masing perlakuan (Gambar 7).



Gambar 8. Serapan Nitrat *T. chuii*

Keterangan:

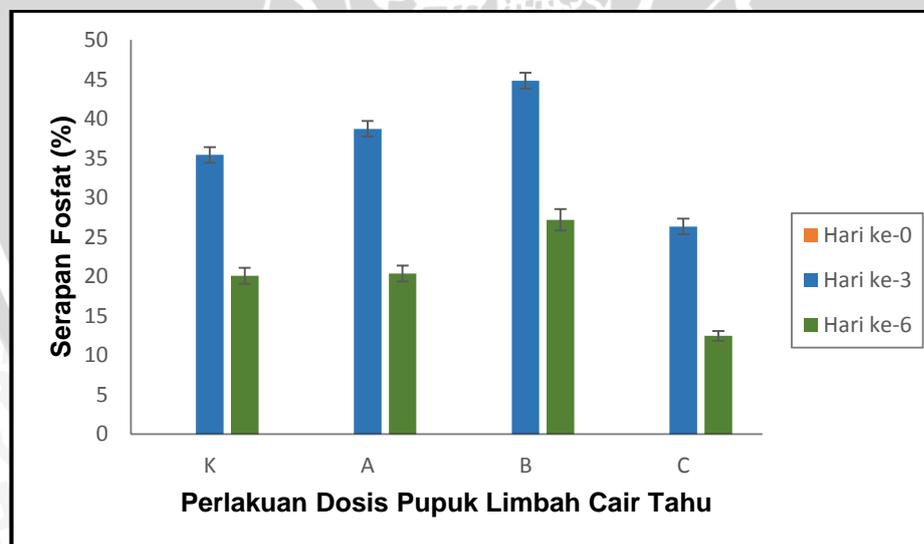
- K : Kontrol (pupuk walne 1 mL/L)  
 A : Pupuk limbah cair tahu 60 mL/L + urea 200 mg/L  
 B : Pupuk limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L  
 C : Pupuk limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L

Berdasarkan Gambar 8 serapan nitrat tertinggi *T. chuii* 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%. Data lebih lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 10.

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. chuii*, oleh karena itu dilakukan penambahan urea untuk meningkatkan laju pertumbuhan sel *T. chuii*. Hal ini seperti yang dilakukan oleh Pratama (2016), dimana pada penelitiannya yang menggunakan pupuk limbah cair karet perlu dilakukan penambahan urea agar *T. chuii* 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, Febtisuhasri (2016) mengatakan pertumbuhan mikroalga berbanding lurus dengan konsentrasi nitrogen dalam bentuk nitrat pada suatu media. Semakin tinggi kandungan nitrat dalam suatu media maka konsentrasi sel yang dihasilkan juga semakin tinggi. Menurut Faradilla dan Juwita (2011), konsentrasi nitrat semakin lama waktu kultur semakin berkurang, hal ini membuktikan bahwa mikroalga memanfaatkan nitrat untuk pertumbuhannya.

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 9. Serapan Fosfat *T. chuii*

Keterangan:

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

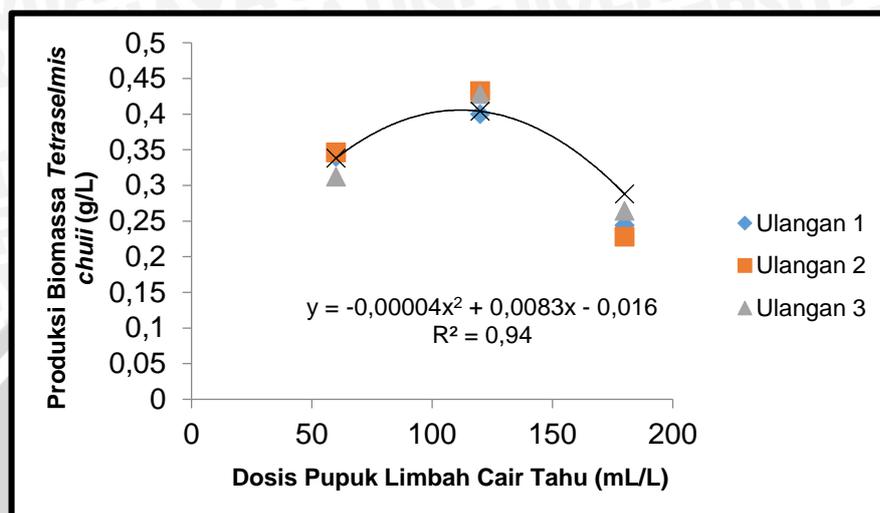
Berdasarkan Gambar 9, serapan fosfat tertinggi pada perlakuan B (limbah cair tahu 120 mL/L + urea 200 mg/L) yaitu pada hari ke-3 sebesar 44,80% dan pada hari ke-6 sebesar 27,16%. Serapan fosfat terendah pada perlakuan C (limbah cair tahu 180 mL/L + urea 200 mg/L) yaitu pada hari ke-3 sebesar 26,31% dan pada hari ke-6 sebesar 12,44%. Data lebih lengkapnya pada Lampiran 11. 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). Fosfat memiliki peran dalam proses penyimpanan dan transfer energi yang terkait dalam proses metabolisme mikroalga. Konsentrasi fosfat yang terbaik untuk pertumbuhan mikroalga berkisar antara 5,00-5,51 ppm (Pratama, 2016). Kandungan fosfat pada pupuk limbah cair tahu pada akhir kultur menurut Handajani (2006) berkisar antara 2,098-3,047 ppm.

Berdasarkan Lampiran 10 dan Lampiran 11, 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. chuii*, hal ini sesuai pendapat Khairy dan Hussein (2009), bahwa rasio N:P *T. chuii* adalah 5:1.

#### 4.2 Biomassa *Tetraselmis chuii*

Data biomassa *T. chuii* selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2. Data lebih rincinya dapat dilihat pada Lampiran 7. Berdasarkan Tabel 2 hasil uji BNT rata-rata biomassa *T. chuii* didapatkan pemberian pupuk limbah cair tahu memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap biomassa *T. chuii*.

Hasil analisis BNT ini dianalisis dengan polynomial orthogonal untuk mengetahui kurva regresi dan hubungan antar perlakuan, dimana perlakuan kontrol tidak diikuti dalam uji polynomial orthogonal karena tidak seragam (Gambar 9).



Gambar 10. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu terhadap Biomassa *T. chuii*

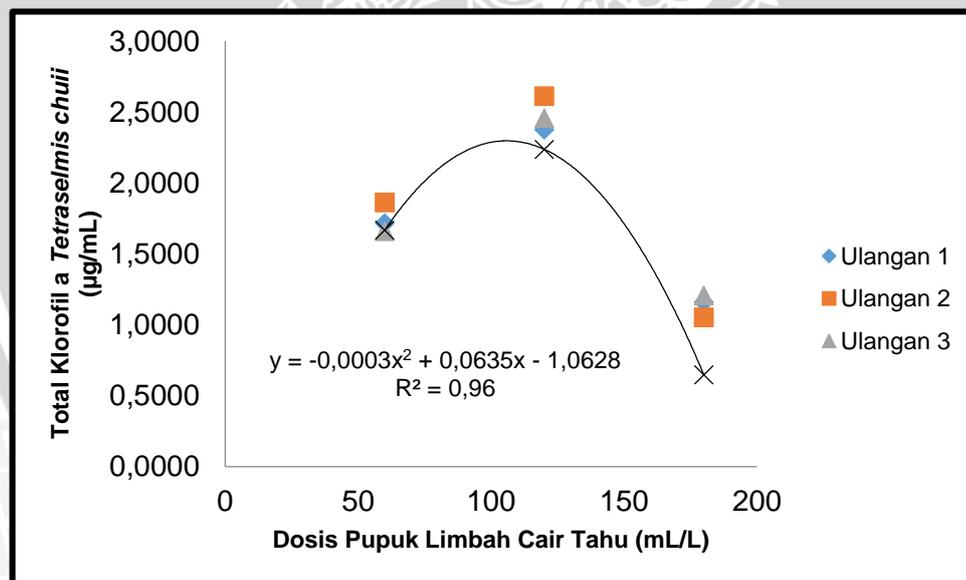
Grafik tersebut menunjukkan pengaruh pemberian pupuk limbah cair tahu memberikan perbedaan yang signifikan terhadap biomassa. Perbedaan tersebut membentuk pola kuadrat dengan persamaan  $Y = -0,00004x^2 + 0,0083x - 0,016$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0,94$ . Dosis terbaik untuk biomassa *T.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

Berdasarkan Tabel 2, Gambar 10, dan Lampiran 7 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. chuii* 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 biomassanyapun meningkat (Widayat dan Hadiyanto, 2015). Biomassa mikroalga meningkat sejalan dengan meningkatnya pertumbuhan mikroalga (Hariyati, 2008).

#### 4.3 Klorofil a *Tetraselmis chuii*

Data rata-rata penghitungan klorofil a *T. chuii* dapat dilihat pada Tabel 2 dan selengkapnya pada Lampiran 8. Hasil uji BNT pada Tabel 2 menunjukkan pupuk limbah cair tahu memberikan pengaruh berbeda sangat nyata, kemudian hasil analisis BNT ini di analisis dengan polynomial orthogonal untuk mengetahui kurva regresi dan hubungan antar perlakuan. Pada analisis polynomial orthogonal didapatkan grafik regresi membentuk pola kuadratik (Gambar 11).



Gambar 11. Hubungan Dosis Pupuk Limbah Cair Tahu terhadap Klorofil a *T. chuii*

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

Hasil tertinggi klorofil a *T. chuii* berdasarkan Tabel 2 pada penelitian ini pada perlakuan dosis 120 mL/L + urea 200 mg/L dengan kandungan klorofil sebesar 2,48 µg/mL diikuti perlakuan dosis 60 mL/L + urea 200 mg/L dan kontrol (walne 1 mL/L) sebesar 1,75 µg/mL dan 1,57 µg/mL. Hasil klorofil terendah pada perlakuan dosis 180 mL/L + urea 200 mg/L sebesar 1,14 µg/mL. Hasil klorofil a ini lebih rendah dari hasil penelitian yang dilakukan Tsai *et al.* (2016), kandungan klorofil tertinggi *T. chuii* 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. chuii* 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. chuii* dimana N:P yaitu 5:1. Hal ini sesuai dengan pendapat Khairy dan Hussein (2009), yang menyatakan rasio perbandingan N:P *T. chuii* adalah 5:1. Peningkatan kandungan klorofil pada mikroalga akan sangat berpengaruh pada kemampuan fotosintesis mikroalga tersebut (Rizky, 2013).

#### 4.4 Parameter Kualitas Air

##### 4.4.1 pH

Beberapa parameter lingkungan memiliki peranan yang sangat dominan terhadap pertumbuhan sel *T. chunii*. Pada pengaruh pH misalnya, pH yang optimum akan membuat pertumbuhan mikroalga lebih optimal. Pada penelitian ini kisaran pH selama kultur yaitu 7,43-8,40 (Lampiran 12), 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.

##### 4.4.2 Suhu

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 (Lampiran 13). 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.

##### 4.4.3 Oksigen Terlarut

Kisaran oksigen terlarut pada penelitian ini yaitu 6,7-8,49 ppm (Lampiran 14). 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.

##### 4.4.4 Salinitas

Salinitas pada penelitian ini berkisar antara 25-30 ppt (Lampiran 15), 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.



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai pengaruh dosis pupuk limbah cair tahu yang berbeda dengan penambahan urea terhadap pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a *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 dengan total biomassa 0,42 gr/L dan klorofil a 2,48 µg/mL.

### 5.2 Saran

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

- Abdilah, F., I. Raya, dan A. Ahmad. 2014. Pengujian daya anti oksidan dan sifat toksisitas ekstrak Co(II) turunan klorofil. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. **2** (1): 1-8.
- 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 starin of *Dunaliella viridis* teodoresco from Turkey. *Journal of Biological Sciences*. **8** (8): 1356-1359.
- Amini, S. dan Syamdidi. 2006. Konsentrasi unsur hara pada media dan pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dengan pupuk anorganik teknis dan analisis. *Jurnal Perikanan*. **8** (2): 201-206.
- 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.
- Astuti, A.D., W. Wisaksono, dan A.R. Nurwini. 2007. Pengolahan air limbah tahu menggunakan bioreaktor anaerob-aerob bermedia karbon aktif dengan variasi waktu tinggal. *Jurnal Teknologi Lingkungan Universitas Trisakti*. **4** (2): 30-35.
- Bennett, A. and L. Bogorad. 1973. Complimentary chromatic adaptation in a filamentous blue-green algae. *The Journal of Cell Biology*. **58** (2): 419-435.
- Boyd, C.E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish Pond. Agricultural Experiment Station. USA. 359 pp.
- Brahmantara, G.I.B., A.A.M.D. Anggreni, dan I.B.W. Gunam. 2016. Pengaruh konsentrasi penambahan sodium nitrat dan sodium fosfat pada media guillard terhadap konsentrasi biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **3** (4): 1-10.
- Budiardi, T., N.B.P. Utomo, dan A. Santoso. 2010. Pertumbuhan dan kandungan nutrisi *Spirulina* sp. pada fotoperiode yang berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **9** (2): 146-156.
- Butcher, R.W. 1959. An Introductory Account of the Smaller Algae of British Coastal Water Part I: Introduction and Chlorophyceae. H.M.S.O. London. 74 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.

- Creswell, L. 2010. Phytoplankton Culture for Aquaculture Feed. Southern Regional Aquaculture Center. University of Florida Sea Grant. 16 pp.
- Dianursanti, B., T. Rizkytata, M.T. Gumelar, and T.H. Abdullah. 2014. Industrial tofu wastewater as a cultivation medium of mikroalgae *Chlorella vulgaris*. *Energy Procedia*. **47**: 56-61.
- Diharmi, A. 2001. *Pengaruh pencahayaan terhadap kandungan pigmen bioaktif mikroalga Spirulina platensis strain lokal (Ink)*. Tesis. Program Studi Teknologi Pasca Panen. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 90 hlm.
- Ekawati, A.W. 2005. Budidaya Makanan Alami. Diktat Kuliah. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 101 hlm.
- FAO, 1991. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. *Fisheries and Aquaculture Department*. USA. 361 pp.
- Faradilla, A. dan A.R. Juwita. 2011. Pemanfaatan air limbah pabrik pupuk kadar amonia tinggi sebagai media kultur mikroalga untuk perolehan sumber minyak nabati sebagai bahan bakar biodiesel. *Journal of Biotechnology*. **1** (1):1-6.
- 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.
- Febtisuhasri, A. 2016. Kepadatan sel dan kadar lipid mikroalga *Chlorella* sp. pada kultur media alternatif kotoran ternak. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 77 hlm.
- Fogg, G. E dan B. Thake. 1987. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. The University of Wisconsin Press. pp. 219.
- Gaspersz, V. 1991. Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan. Tarsito. Bandung. 623 hlm.
- Graham, L.E. dan W.W. Lee. 2000. *Algae*. Prentice Hall. United State of America. 419 pp.
- 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.
- Irmanto dan Suyata. 2009. Penurunan kadar amonia, nitrit, dan nitrat limbah cair industri tahu menggunakan arang aktif dari ampas kopi. *Molekul*. **4** (2): 105-114.

- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Kanisius. Yogyakarta. 116 hlm.
- Janssen, M., T.C. Kuijpers, B. Veldhoen, M.B. Ternbach, J. Tramper, L.R. Mur, and R.H. Wijffels. 1999. Specific growth rates of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* under medium duration light/dark cycles: 13 -87s. *Journal of Biotechnology*. **70**: 323-333.
- Junda, M., Hijriah, dan Y. Hala. 2013. Identifikasi perifiton sebagai penentu kualitas air pada tambak ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Bionature*. **14** (1): 16-24.
- 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.
- \_\_\_\_\_. 2013. Kajian teknis pengolahan limbah padat dan cair industri tahu. *Jurnal Ilmiah Lontar*. **2** (22): 1-20.
- 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 pengolahan rumput laut sebagai media kultur mikroalga *Chlorella* sp. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. **12** (3):241-250.
- Kuncoro, E.B. 2004. *Akuarium Laut*. Kanisius. Yogyakarta. 40 hlm.
- Kwartiningsih, E. dan L.N.S. Mulyati. 2005. Fermentasi sari buah nenas menjadi *Vinegar*. *Ekuilibrum*. **4** (1): 8-12.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. **148**: 350-382.
- Lutama, D., S. Winarso, dan T.C. Setiawati. 2015. Uji efektifitas pertumbuhan *Spirulina* sp. pada limbah cair tahu yang diperkaya urea dan Super Phosphate 36 (SP 36). *Berkala Ilmiah Pertanian*. **10** (10): 1-5.
- Mulyanto, A. 2010. Mikroalga (*Chlorella* sp.) sebagai agensi penambat gas karbondioksida. *Jurnal Hidrosfir Indonesia*. **5** (2): 13-23.
- Musa, B., I. Raya, dan S. Dali. 2014. Pengaruh penambahan ion  $\text{Cu}^{2+}$  terhadap laju pertumbuhan fitoplankton *Chlorella vulgaris*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makassar. 9 hlm.
- Nawansih, O., T.P. Utomo, dan R.R. Wulan. 2015. Kemampuan mikroalga yang dikultivasi pada limbah cair industri karet remah dalam menghasilkan biomassa dan menurunkan pencemaran. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi VI*. **1**: 436-446.

- Nindrasari, G., V.I. Meitiniarti, dan J.C. Mangimbulude. 2011. Pengurangan amonium dengan metode nitrifikasi dan anammox pada air lindi dari tempat pembuangan akhir sampah Jatibarang, Semarang. *Prosiding Seminar Biologi*. **8** (1): 192-195.
- 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.
- Nurmalitasari, E., A. Ridlo, dan Sunaryo. 2014. Injeksi karbondioksida (CO<sub>2</sub>) pada media pemeliharaan terhadap biomassa dan kandungan total lipid mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Journal of Marine Research*. **3** (3): 388-394.
- Pitrianingsih, 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.
- Pranata, M.B., G.J. Utomo, dan C. Angela. 2015. Sistem ccos untuk kultivasi mikroalga *Tetraselmis chuii*: prospek industri ramah lingkungan pada *power plant* tambak lorok, Kota Semarang, Jawa Tengah. *Proceeding Seminar Nasional Kebumihan*. **8**: 360-370.
- 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.
- Primaryadi, I.N.B. 2014. Pengaruh penambahan magnesium sulfat heptahidrat dan feri klorida pada *Blue Green Medium-11* terhadap konsentrasi biomassa mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **3** (1): 1-9.
- Pujiono, A.E. 2013. *Pertumbuhan Tetraselmis chuii pada medium air laut dengan intensitas cahaya, lama penyinaran, dan jumlah inokulan yang berbeda pada skala laboratorium*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Jember. Jember. 41 hlm.
- 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  $\text{FeCl}_3$  terhadap pertumbuhan *Chaetoceros calcitrans*. *Jurnal Kelautan*. **2** (1): 73-80.
- Richmond, A. 2004. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell. Australia. 719 pp.
- Rini, I.S. 2013. Pengaruh konsentrasi limbah cair tahu terhadap pertumbuhan dan kadar lipid *Chlorella* sp. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang. 1-9.
- Ritchie, R.J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis research*. **89**: 27-41.
- Rizky, Y.A. 2013. Pengaruh penambahan Fe(II) terhadap produksi klorofil dan potensi hidrogen yang dihasilkan pada fitoplankton *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, dan *Porphyridium cruentum*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makassar. 119 hlm.
- 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.
- Salim, M.A. 2013. Penggunaan limbah cair tahu untuk meningkatkan pertumbuhan dan produksi biodisel dari mikroalga *Scenedesmus* sp. *Jurnal Kajian Islam, Teknologi, dan Sains*. **7** (1): 82-98.
- Sani, E.Y. 2006. *Pengolahan air limbah tahu menggunakan reaktor anaerob bersekat dan aerob*. Tesis. Program Magister Ilmu Lingkungan. Universitas Jember. Jember. 65 hlm.
- 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.
- Santoso, A.D., R.A. Darmawan, dan J.P. Susanto. 2011. Mikroalga untuk penyerapan emisi  $\text{CO}_2$  dan pengolahan limbah cair di lokasi industri. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **3** (2): 62-70.
- Sari, I.Z.R. 2014. *Pengaruh cahaya biru dalam fotobioreaktor silinder terhadap penyerapan nitrogen dan fosfat pada limbah cair peternakan sapi serta kandungan karbohidrat Chlorella zofingiensis* Donz. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 50 hlm.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi. Kanisius. Yogyakarta. 53 hlm.

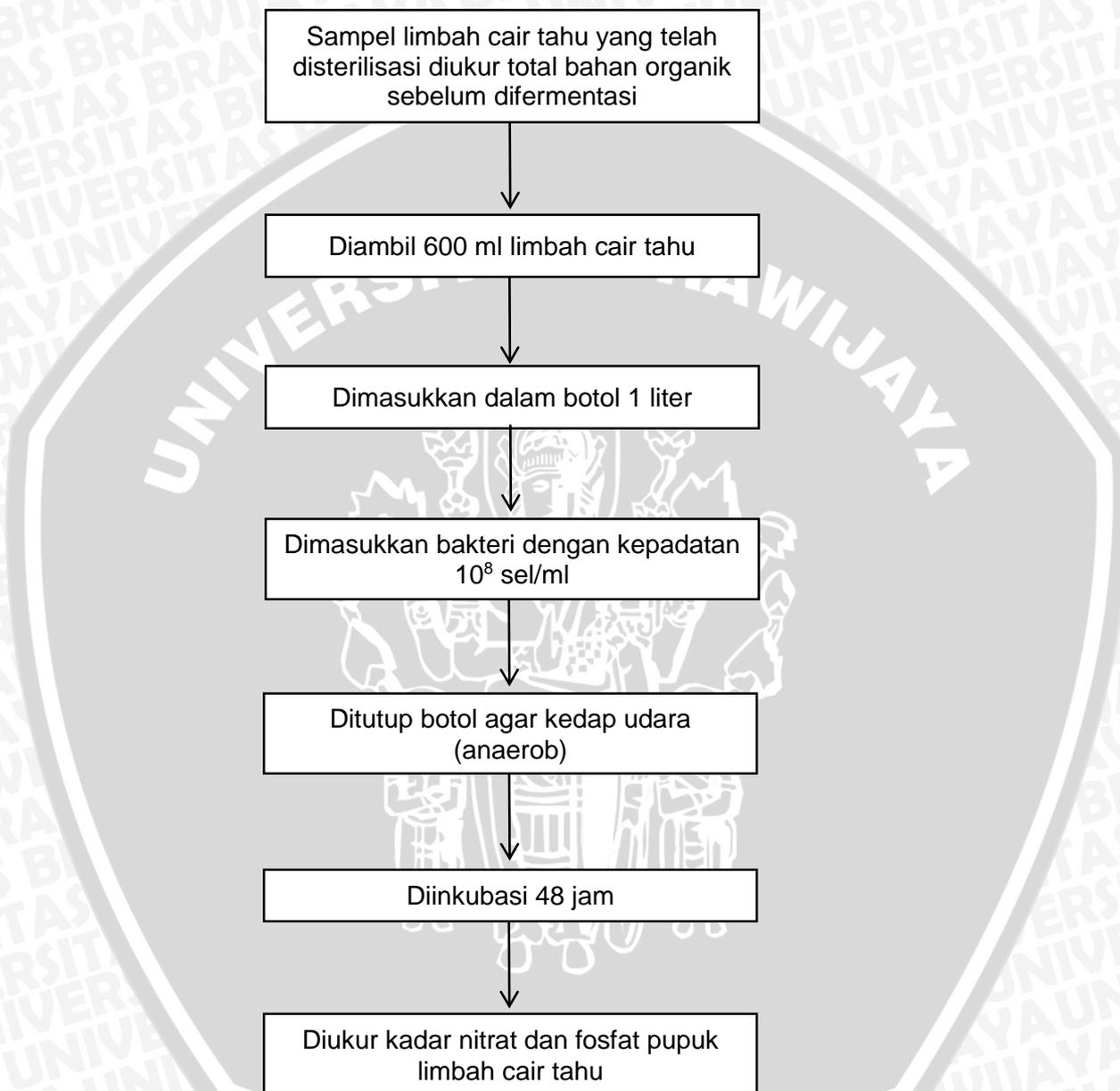
- Setyaningsih, I., A.T. Saputra, dan Uju. 2011. Komposisi kimia dan kandungan pigmen *Spirulina fusiformis* pada umur panen yang berbeda dalam media pupuk. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **14** (1): 63-69.
- Setyaningsih, I., Desniar, dan T. Sriwardani. 2005. Konsentrasi hambatan minimum 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.
- Somaye, F., M.N. Marzich, and N. Lale. 2008. Single Cell Protein (SCP) production from UF cheese whey by *Kluyveromyces marxianus*. *18<sup>th</sup> National Congress on Food Technology Iran*. **1**: 1-6.
- Suantika, G., P. Adityawati, D.I. Astuti, dan Y. Sofyan. 2009. Pengaruh kepadatan awal inokulum terhadap kualitas kultur *Chaetoceros gracilis* (Schutt) pada sistem *batch*. *Jurnal Matematika dan Sains*. **14** (1): 1-8.
- Subiyanto, I. 1999. Metodologi Penelitian. Akademi Manajemen Perusahaan YKPN. Yogyakarta. 272 hlm.
- Sudaryati, N.L.G., I.W. Kasa, dan I.W.B. Suyasa. 2008. Pemanfaatan sedimen perairan tercemar sebagai bahan lumpur aktif dan pengolahan limbah cair industri tahu. *Ecotrophic*. **3** (1): 21-29.
- Sumeru, S.U. dan S. Anna. 1992. Pakan Udang Windu (*Penaeus monodon*). Agia Media. Bandung. 96 hlm.
- Suminto. 2009. Penggunaan jenis media kultur teknis terhadap produksi dan kandungan nutrisi sel *Spirulina platensis*. *Jurnal Saintek Perikanan*. **4** (2): 53-61.
- Supriyantini, 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-Hayah*. **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.

- Widanti, A. dan L. Susilawati. 2011. Optimasi waktu pertumbuhan yeast *Saccharomyces cerevisiae* 3005 pada substrat limbah cair tahu. *Prosiding Seminar Biologi*. **8** (1): 78-80.
- Widayat dan Hadiyanto. 2015. Pemanfaatan limbah cair industri tahu untuk produksi biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. sebagai bahan baku biodiesel. *Reaktor*. **15** (4): 253-260.
- Widianingsih, W., A. Ridho, R. Hartati, dan Harmoko. 2008. Kandungan nutrisi *Spirulina platensis* yang dikultur pada media yang berbeda. *Ilmu Kelautan*. **13** (3): 167-170.
- Widiyanto, A., B. Susilo, dan R. Yulianingsih. 2014. Studi kultur semi-massal mikroalga *Chlorella* sp. pada area tambak dengan media air payau (di Desa Rayunggumuk, Kec. Glagah, Kab. Lamongan). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. **2** (1): 1-7.
- 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.
- Wulandari, S., W. Syafii, dan Yossilia. 2004. Respon eksplan daun tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) secara *in vitro* akibat pemberian NA dan BA. *Jurnal Biogenesis*. **1** (1): 21-25.
- Zahidah, D. dan M. Shovitri. 2013. Isolasi, karakterisasi, dan potensi bakteri aerob sebagai pendegradasi limbah organik. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **2** (1): 2337-3520.



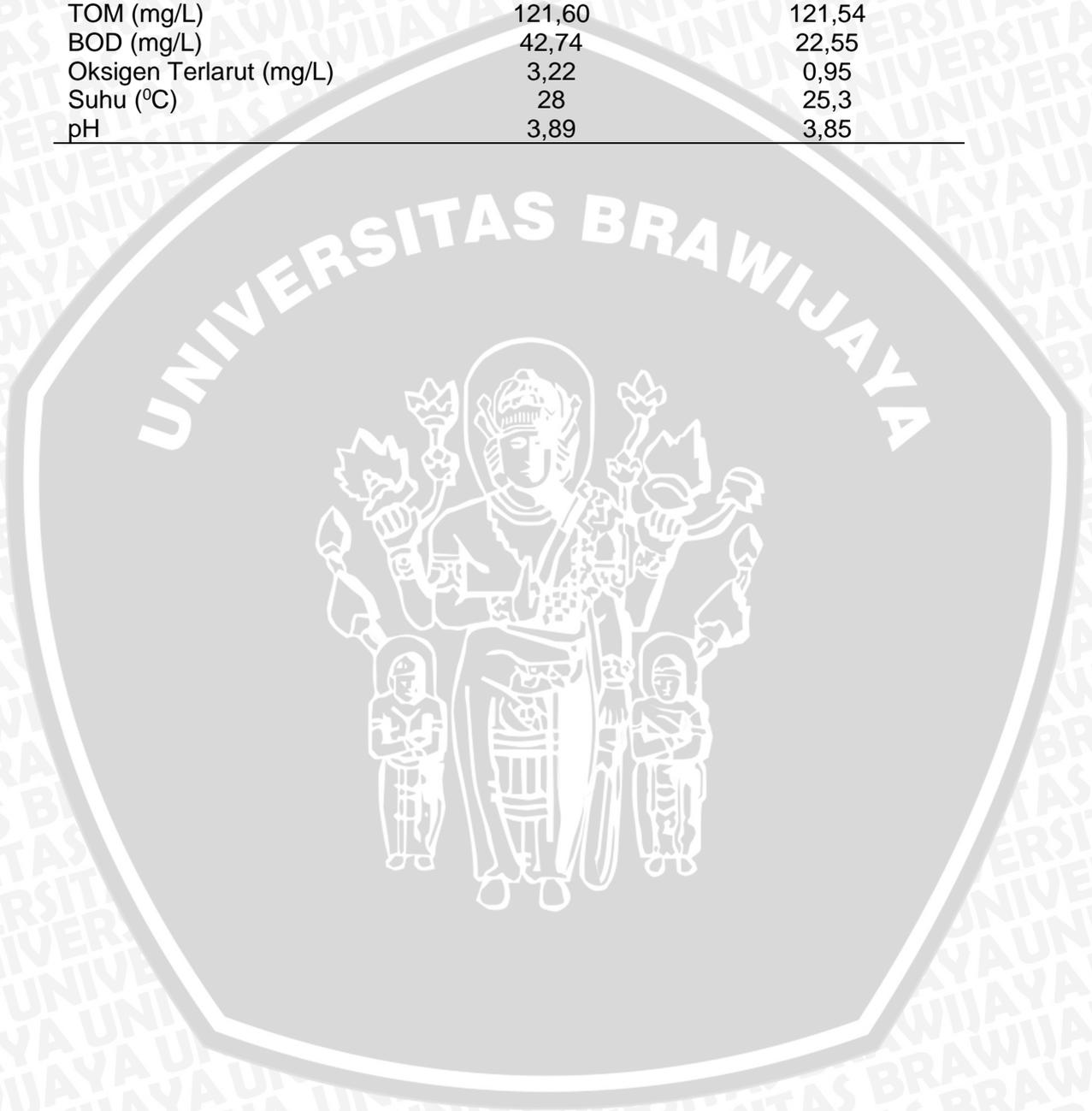
## LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Fermentasi Limbah Cair Tahu



## Lampiran 2. Kandungan Pupuk Limbah Cair Tahu

Kandungan Pupuk Limbah Cair Tahu	Sebelum Fermentasi	Sesudah Fermentasi
Amonia (mg/L)	21,15	21,03
Nitrat (mg/L)	17,32	17,90
Fosfat (mg/L)	5,43	5,61
TOM (mg/L)	121,60	121,54
BOD (mg/L)	42,74	22,55
Oksigen Terlarut (mg/L)	3,22	0,95
Suhu (°C)	28	25,3
pH	3,89	3,85



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## Lampiran 3. Perhitungan Kebutuhan Urea

Diketahui kandungan pupuk limbah cair tahu:

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

Jika diketahui kadar nitrogen dalam pupuk limbah cair tahu

- N dalam  $\text{NH}_3$  diketahui Ar N = 14, Ar H = 1

$$N = \frac{Ar N}{Mr \text{NH}_3} \times \text{Jumlah NH}_3$$

$$= \frac{14}{17} \times 21,03$$

$$= 17,31 \text{ mg/L}$$

- N dalam  $\text{NO}_3$  diketahui Ar N = 14, Ar O = 16

$$N = \frac{Ar N}{Mr \text{NO}_3} \times \text{Jumlah NO}_3$$

$$= \frac{14}{62} \times 17,90$$

$$= 4,04 \text{ mg/L}$$

Sehingga total nitrogen dalam pupuk limbah cair tahu adalah  $\text{N} (\text{NH}_3) + \text{N} (\text{NO}_3)$

$$= 17,31 + 4,04 = 21,35 \text{ mg/L}$$

Diketahui kadar P dalam pupuk limbah cair tahu

- P dalam  $\text{PO}_3$  diketahui Ar P = 31, Ar O = 16)

$$P = \frac{Ar P}{Mr \text{PO}_3} \times \text{Jumlah PO}_3$$

$$= \frac{31}{95} \times 5,61$$

$$= 1,85 \text{ mg/L}$$

Jika diketahui hasil perhitungan  $\text{N} = 21,35 \text{ mg/L}$  dan  $\text{P} = 1,85 \text{ mg/L}$ , maka perbandingan N:P adalah 11,54:1. Akan tetapi rasio untuk *T. chuii* adalah 15:1

## Lampiran 3. (Lanjutan)

(Khairy dan Hussein, 2009), sehingga diperlukan penambahan unsur N dari luar, dalam hal ini ditambahkan dengan urea (kadar nitrogen 46%). Adapun perhitungannya sebagai berikut:

- N dalam pupuk limbah cair tahu yaitu 21,35 mg/L, P sebesar 1,85 mg/L. Agar unsur N 15 kali dari P, maka  $P (1,85 \text{ mg/L}) \times 15 = 27,75 \text{ mg/L}$ . Hal ini berarti N yang diinginkan dalam pupuk limbah cair tahu yang ditambahkan urea adalah 27,75 mg/L, sedangkan P yaitu 1,85 mg/L dengan N:P rasio sebesar 15:1.

- Adapun kebutuhan N yang harus ditambahkan adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} N &= 27,75 - 21,35 \\ &= 6,40 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

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

$$46\% \times b = 6,40 \text{ mg/L}$$

$$b = \frac{6,40 \times 100}{46}$$

$$b = 13,91 \text{ mg/L}$$

Jadi dalam 1 L pupuk limbah cair tahu harus ditambahkan 13,91 mg/L urea.

## Lampiran 4. Kandungan Pupuk Walne

Bahan	Jumlah	Satuan
Larutan A (1 ml/L untuk kultur)		
FeCl <sub>3</sub>	0.8	g
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.4	g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	33.6	g
Na <sub>2</sub> EDTA	45.0	g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	20.0	g
NaNO <sub>3</sub>	100.0	g
Solution B	1.0	ml
Akuades hingga	1	L
Larutan B		
ZnCl <sub>2</sub>	2.1	g
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	2.0	g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.9	g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	2.0	g
Concentrated HCl	10.0	ml
Akuades hingga	100	ml
Larutan C (0.1 ml/L untuk kultur)		
Vitamin B1	0.2	g
Solution E	25.0	ml
Akuades hingga	200	ml
Larutan D (kultur diatom ditambahkan larutan A and C, 2 ml/L untuk kultur)		
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	40.0	g
Akuades hingga	1	L
Larutan E		
Vitamin B12	0.1	g
Akuades hingga	250	ml

Sumber: FAO (1991)

## Lampiran 5. Sterilisasi Alat dan Bahan

## a. Sterilisasi Menggunakan Autoklaf

Persiapan pipet tetes, pipet volume, gelas ukur, dan erlenmeyer

Dicuci bersih

Dikeringkan

Pipet dan erlenmeyer ditutup kapas, sedangkan gelas ukur tidak

Semua alat dibungkus koran lalu diikat dengan benang kasur

Dimasukkan ke dalam autoklaf

Ditutup

## b. Sterilisasi alat

Toples

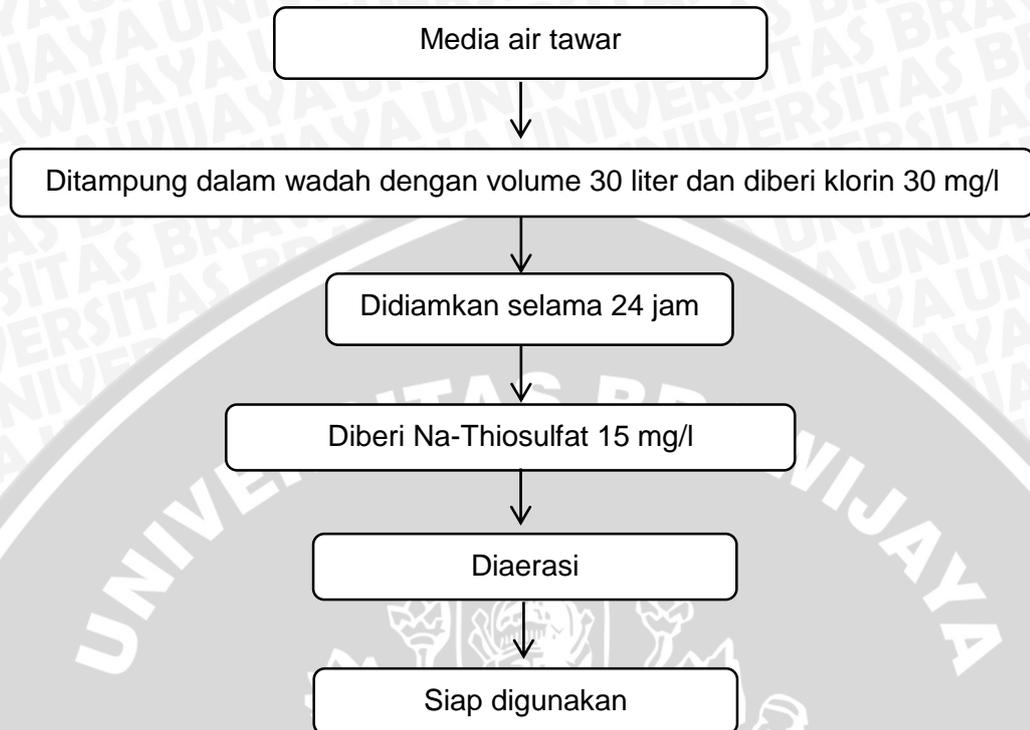
Dicuci bersih dengan air tawar

Dikeringkan

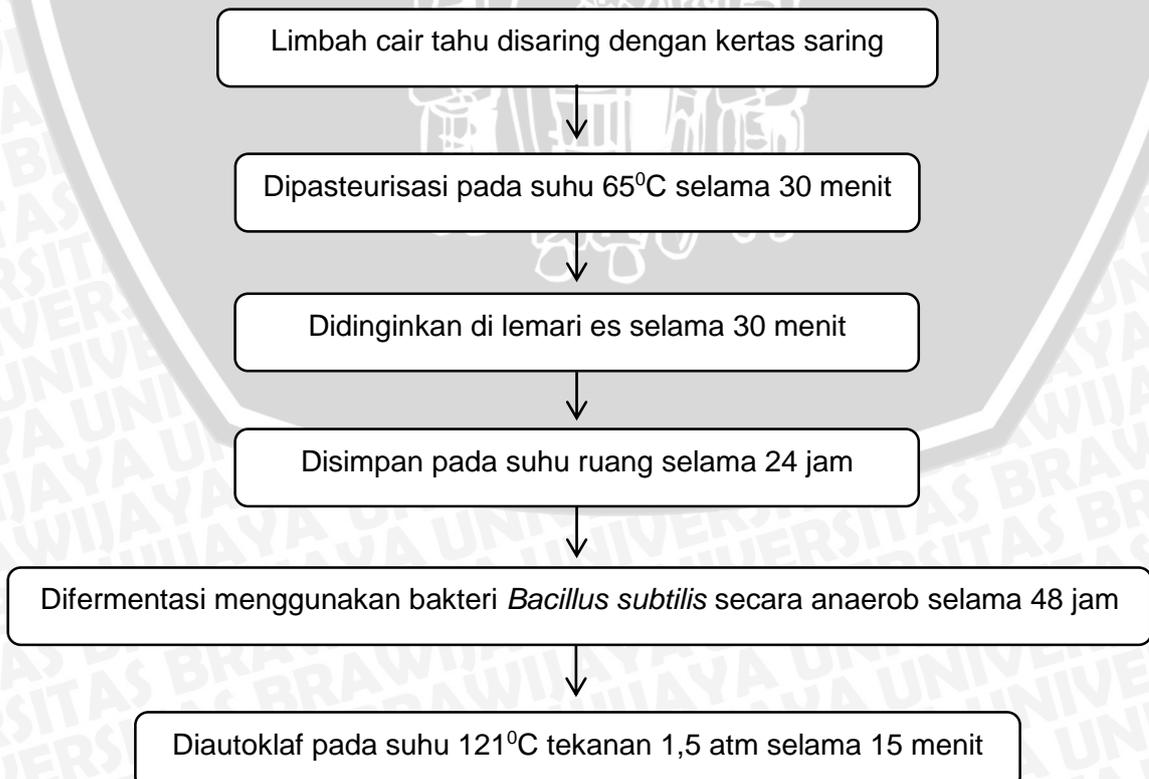
Diisi air tawar dan ditambahkan klorin 30 mg/l selama 24 jam

Dibilas Na-thiosulfat 15 mg/l kemudian dibilas air tawar hingga bau klorin hilang

## c. Sterilisasi media



## d. Sterilisasi Limbah Cair Tahu



Lampiran 6. Data Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* (sel/mL)

Hari	Perlakuan x 10 <sup>5</sup> (sel/mL)									
	K (Walne 1 mL/L)					A (Pupuk Limba Cair Tahu 60 mL/L)				
	K1	K2	K3	Rerata	STDV	A1	A2	A3	Rerata	STDV
0	1,42	1,25	1,25	1,31	0,10	1,25	1,00	1,42	1,22	0,21
1	1,67	1,83	2,00	1,83	0,17	1,92	2,00	1,92	1,94	0,05
2	2,34	2,92	3,17	2,81	0,43	3,17	3,42	3,67	3,42	0,25
3	3,58	3,67	4,42	3,90	0,46	4,50	5,08	6,17	5,25	0,85
4	6,50	6,67	5,58	6,25	0,58	5,58	7,83	6,83	6,75	1,13
5	9,08	10,08	9,50	9,56	0,50	10,33	9,42	9,42	9,72	0,53
6	11,92	12,75	12,58	12,42	0,44	13,50	13,17	13,00	13,17	1,67
7	9,42	10,00	9,83	9,75	0,30	10,83	9,83	10,17	10,28	0,51
8	8,17	8,25	8,92	8,44	0,41	8,67	7,58	8,17	8,14	0,54

Hari	B (Pupuk Limbah Cair Tahu 120 mL/L)					C (Pupuk Limbah Cair Tahu 180 mL/L)				
	B1	B2	B3	Rerata	STDV	C1	C2	C3	Rerata	STDV
0	1,08	0,92	0,83	0,94	0,13	1,00	1,33	1,25	1,19	0,17
1	2,25	2,08	1,58	1,97	0,35	1,50	1,75	2,42	1,89	0,48
2	4,50	4,08	3,67	4,08	0,42	2,42	2,58	2,83	2,62	0,21
3	6,58	7,33	5,50	6,47	0,92	2,92	3,67	3,75	3,44	0,46
4	9,42	9,75	7,67	8,94	1,12	3,83	4,92	4,92	4,56	0,63
5	12,00	12,58	11,58	12,06	0,50	5,17	5,67	5,42	5,42	0,25
6	14,17	15,83	15,00	15,00	0,83	6,25	5,83	6,33	6,14	0,27
7	11,92	11,83	12,83	12,19	0,55	4,42	4,67	4,75	4,61	0,17
8	9,50	9,42	10,50	9,81	0,60	3,25	4,25	4,42	3,97	0,63

Data Rata-rata Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* Tiap Perlakuan

Hari	Perlakuan x 10 <sup>5</sup> (sel/mL)			
	K	A	B	C
0	1,31	1,22	0,94	1,19
1	1,83	1,94	1,97	1,89
2	2,81	3,42	4,08	2,62
3	3,90	5,25	6,47	3,44
4	6,25	6,75	8,94	4,56
5	9,56	9,72	12,06	5,42
6	12,42	13,17	15,00	6,14
7	9,75	10,28	12,19	4,61
8	8,44	8,14	9,81	3,97

## Lampiran 6. (Lanjutan)

Data Hasil Perhitungan Laju Pertumbuhan dan Waktu Penggandaan *Tetraselmis chuii*

Perlakuan	Ulangan	10 <sup>5</sup> (sel/mL)		waktu (t)	μ (/hari)	Waktu Penggandaan (Hari)
		Co	Ct			
K	1	1,42	11,92	6	0,36	1,95
	2	1,25	12,75	6	0,39	1,79
	3	1,25	12,58	6	0,38	1,80
A	1	1,25	13,17	6	0,39	1,77
	2	1,00	13,33	6	0,43	1,61
	3	1,42	13,00	6	0,37	1,88
B	1	1,08	14,17	6	0,43	1,62
	2	0,94	15,83	6	0,47	1,46
	3	0,83	15,00	6	0,48	1,44
C	1	1,00	6,25	6	0,31	2,27
	2	1,33	5,83	6	0,25	2,82
	3	1,25	6,33	6	0,27	2,56

Sidik Ragam Laju Pertumbuhan *Tetraselmis chuii*

Perlakuan	Perlakuan			Total (/hari)	Rerata (/hari)	Waktu Penggandaan (hari)
	1	2	3			
K	0,36	0,39	0,38	1,13	0,38±0,02	1,85
A	0,39	0,43	0,37	1,19	0,40±0,03	1,75
B	0,43	0,47	0,48	1,36	0,46±0,03	1,57
C	0,31	0,25	0,27	0,82	0,27±0,03	2,55
	Total			4,53		

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{4,53^2}{3 \times 4} = 1,70$$

$$JK \text{ Total} = (K_1)^2 + (K_2)^2 + (K_3)^2 + (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK$$

$$= (0,36)^2 + (0,39)^2 + (0,38)^2 + (0,39)^2 + \dots + (0,27)^2 - 1,70$$

$$= 0,06077$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(\sum K)^2 + (\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2}{3}$$

$$= \frac{(1,13)^2 + (1,19)^2 + (1,34)^2 + (0,82)^2}{3} - 1,70$$

Lampiran 6. (Lanjutan)

$$= 0,05468$$

JK Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 0,06077 - 0,05468$$

$$= 0,00609$$

Tabel Sidik Ragam Laju Pertumbuhan Spesifik *Tetraselmis chuii*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F1%
Perlakuan	3	0,05468	0,018227	23,93993**	4,07	7,59
Acak	8	0,00609	0,000761			
Total	11	0,06077				

Uji BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 (0,000761)}{3}}$$

$$= 0,022529$$

BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED

$$= 2,306 \times 0,022529$$

$$= 0,05195$$

BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED

$$= 3,355 \times 0,022529$$

$$= 0,07557$$

Tabel BNT

Perlakuan	Rerata	C	K	A	B	Notasi
		0,27	0,38	0,40	0,46	
C	0,27	-	-	-	-	a
K	0,38	0,10**	-	-	-	b
A	0,40	0,12**	0,02 <sup>ns</sup>	-	-	b
B	0,46	0,19**	0,09**	0,06*	-	c

Lampiran 6. (Lanjutan)

Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Pembanding (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	1,19	-1	1
B	1,36	0	-2
C	0,82	1	1
Q= $\sum CiTi$		-0,37171	-0,75468
K $\mu$ = ( $\sum Ci^2$ )* $\mu$		6	18
JK regresi= Q <sup>2</sup> /K $\mu$		0,023029	0,031641

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\
 &= (0,023029) + (0,031641) \\
 &= 0,054669
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,05467	0,027335	26,92702	5,14	10,92
*Linier	1	0,023029	0,023029	22,68497**		
*Kuadratik	1	0,031641	0,031641	31,16907**		
Acak	6	0,006091	0,001015			
Total	8	0,11543	-			

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,023029}{0,023029 + 0,006091} \\
 &= 0,790831245
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,024587}{0,031641 + 0,006091} \\
 &= 0,83857544
 \end{aligned}$$

Karena R<sup>2</sup> kuadratik > R<sup>2</sup> Linier maka menggunakan kuadratik

Mencari persamaan regresi kuadratik :



Lampiran 6. (Lanjutan)

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

$$d = 60$$

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

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

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

$x_j$	60	120	180	$\sum x_j = 360$
$u_j$	-1	0	1	$\sum u_j = 0$
$U_j^2$	1	0	1	$\sum u_j^2 = 2$
$U_j^4$	1	0	1	$\sum u_j^4 = 2$
$y_{ij}$	1,1935 -1,1935	1,3851	0,8218	$\sum y_{ij} = 3,3556$
$u_j y_{ij}$		0	0,8218	$\sum u_j y_{ij} = -0,3717$
$U_j^2 y_{ij}$	1,1935		0,8218	$\sum u_j^2 y_{ij} = 2,0153$

Persamaan 1

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

$$-0,3717 = b_1 \times 3 \times 2$$

$$-0,3717 = 6 b_1$$

$$b_1 = -0,0619$$

Persamaan 2

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

$$3,3556 = b_0 \times 9 + b_2 \times 3 \times 2$$

$$3,3556 = 9 b_0 + 6 b_2$$

Persamaan 3

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

$$2,0153 = b_0 \times 3 \times 2 + b_2 \times 3 \times 2$$

Lampiran 6. (Lanjutan)

$$2,0153 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$3,3556 = 9 b_0 + 6 b_2$$

$$2,0153 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$1,3403 = 3 b_0$$

$$b_0 = 0,4468$$

Substitusikan  $b_0$  pada salah satu persamaan :

$$2,0153 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$2,0153 = 6 (0,4468) + 6 b_2$$

$$2,0153 = 2,6808 + 6 b_2$$

$$6 b_2 = -0,6655$$

$$b_2 = -0,1109$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

$$Y = 0,4468 - 0,0619 u_j - 0,1109 u_j^2$$

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

$$Y = 0,4468 - 0,0619 u_j - 0,1109 u_j^2$$

$$Y = 0,4468 - 0,0619 \left(\frac{x-120}{60}\right) - 0,1109 \left(\frac{x-120}{60}\right)^2$$

$$Y = 0,4468 + \left(\frac{-0,0619x+7,428}{60}\right) - 0,1109 \left(\frac{x^2 - 240x + 14.400}{3.600}\right)$$

$$Y = 0,4468 + \left(\frac{-0,0619x+7,428}{60}\right) + \left(\frac{-0,1109x^2 + 26,616x - 1.596,96}{3.600}\right)$$

$$Y = 0,4468 - 0,001x + 0,1238 - 0,00003x^2 + 0,0074x - 0,4436$$

$$Y = (0,4468 + 0,1238 - 0,4436) + (-0,001x + 0,0074x) - 0,00003x^2$$

$$Y = 0,127 + 0,0064x - 0,00003x^2$$

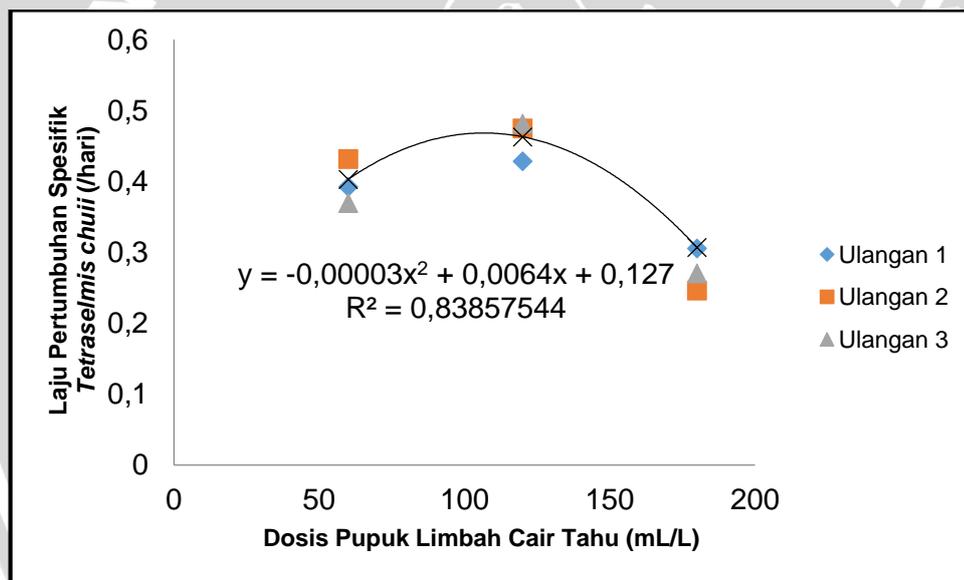
Lampiran 6. (Lanjutan)

Dari persamaan tersebut diperoleh:

X	Y
60	0,403
120	0,463
180	0,307

Untuk membuat grafik berdasarkan seri 4 dari Y

Perlakuan	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4
60	0,39242	0,43171	0,36944	0,40300
120	0,4285	0,47485	0,48173	0,46300
180	0,30543	0,24598	0,27045	0,30700



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

$$Y = 0,127 + 0,0064x - 0,00003x^2$$

$$Y' = 0,0064 - 2(0,00003) x$$

$$0 = 0,0064 - 0,00006x$$

$$0,00006x = 0,0064$$



Lampiran 6. (Lanjutan)

$$x = 106,67$$

untuk  $x = 106,67$  maka  $Y = 0,46833$



Lampiran 7. Data Biomassa Klorofil a *Tetraselmis chuii* (g/L)

Perlakuan	Ulangan	Berat		Biomassa (g/L)	Rerata
		Wt (B)	W0 (A)		
K	1	0,3294	0,3227	0,268	0,280
	2	0,3347	0,3274	0,292	
	3	0,3297	0,3227	0,280	
A	1	0,3399	0,3314	0,340	0,333
	2	0,3363	0,3276	0,346	
	3	0,3289	0,3211	0,312	
B	1	0,3353	0,3253	0,400	0,42
	2	0,3370	0,3262	0,432	
	3	0,3395	0,3288	0,428	
C	1	0,3310	0,3249	0,244	0,245
	2	0,3289	0,3232	0,228	
	3	0,3267	0,3201	0,264	

Produksi Biomassa *Tetraselmis chuii*

Perlakuan	Ulangan			Total (g/L)	Rerata (g/L)
	1	2	3		
K	0,268	0,292	0,280	0,840	0,28±0,01
A	0,340	0,346	0,312	0,998	0,33±0,02
B	0,400	0,432	0,428	1,260	0,42±0,02
C	0,244	0,228	0,264	0,736	0,25±0,02
	Total			3,834	

## Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{3,834^2}{3 \times 4} = 1,224963$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (K_1)^2 + (K_2)^2 + (K_3)^2 + (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK \\ &= (0,268)^2 + (0,292)^2 + (0,280)^2 + (0,340)^2 + \dots + (0,264)^2 - \\ &1,224963 \\ &= 0,0542 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum K)^2 + (\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2}{3} - FK \\ &= \frac{(0,840)^2 + (0,998)^2 + (1,260)^2 + (0,736)^2}{3} - 0,224963 \\ &= 0,052004 \end{aligned}$$

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 0,0542 - 0,052004 \\
 &= 0,0022
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F1%
Perlakuan	3	0,052004	0,017335	62,88231**	4,07	7,59
Acak	8	0,0022	0,000276			
Total	11	0,0542				

Uji BNT

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 (0,000276)}{3}}$$

$$= 0,013556$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED}$$

$$= 2,306 \times 0,013556 = 0,031261$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED}$$

$$= 3,355 \times 0,013556 = 0,04548$$

Tabel BNT

Perlakuan	Rerata	C	K	A	B	Notasi
		<b>0,25</b>	<b>0,28</b>	<b>0,33</b>	<b>0,42</b>	
C	0,25	-				a
K	0,28	0,0347*	-			b
A	0,33	0,09**	0,05*	-		c
B	0,42	0,17**	0,14**	0,09**	-	d

## Lampiran 7. (Lanjutan)

## Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Pembanding (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	0,998	-1	1
B	1,260	0	-2
C	0,736	1	1
Q= $\sum CiTi$		-0,262	-0,786
K $\mu$ = ( $\sum Ci^2$ )* $\mu$		6	18
JK regresi= Q <sup>2</sup> /K $\mu$		0,011441	0,034322

$$\text{JK Total Regresi} = \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik}$$

$$= 0,011441 + 0,034322 = 0,045763$$

## Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,045763	0,022881	10,37545*	5,14	10,92
*Linier	1	0,011441	0,011441	31,12636**		
*Kuadratik	1	0,034322	0,034322	93,37908**		
Acak	6	0,0022	0,000368			
Total	8	0,093731				

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}}$$

$$= \frac{0,011441}{0,011441 + 0,0022}$$

$$= 0,83839$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}}$$

$$= \frac{0,034322}{0,034322 + 0,0022}$$

$$= 0,939625$$

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

Mencari persamaan regresi kuadratik :

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

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$= 120$$

$$d = 60$$

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

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

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

$X_j$	60	120	180	$\sum x_j = 360$
$U_j$	-1	0	1	$\sum u_j = 0$
$U_j^2$	1	0	1	$\sum u_j^2 = 2$
$U_j^4$	1	0	1	$\sum u_j^4 = 2$
$Y_{ij}$	0,998	1,26	0,736	$\sum y_{ij} = 2,994$
$u_j y_{ij}$	-0,998	0	0,736	$\sum u_j y_{ij} = -0,262$
$U_j^2 y_{ij}$	0,998	0	0,736	$\sum u_j^2 y_{ij} = 1,734$

Persamaan 1

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

$$-0,262 = b_1 \times 3 \times 2$$

$$-0,262 = 6 b_1$$

$$b_1 = -0,044$$

Persamaan 2

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

$$2,994 = b_0 \times 9 + b_2 \times 3 \times 2$$

$$2,994 = 9 b_0 + 6 b_2$$

Persamaan 3

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

$$1,734 = b_0 \times 3 \times 2 + b_2 \times 3 \times 2$$

$$1,734 = 6 b_0 + 6 b_2$$

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$2,994 = 9 b_0 + 6 b_2$$

$$1,734 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$1,276 = 3 b_0$$

$$b_0 = 0,42$$

Substitusikan  $b_0$  pada salah satu persamaan :

$$1,734 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$1,734 = 6 (0,42) + 6 b_2$$

$$1,734 = 2,52 + 6 b_2$$

$$6 b_2 = -0,786$$

$$b_2 = -0,131$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

$$Y = 0,42 - 0,044 uj - 0,131 uj^2$$

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

$$Y = 0,42 - 0,044 uj - 0,131 uj^2$$

$$Y = 0,42 - 0,044 \left( \frac{x-120}{60} \right) - 0,131 \left( \frac{x-120}{60} \right)^2$$

$$Y = 0,42 + \left( \frac{-0,044x+5,28}{60} \right) - 0,131 \left( \frac{x^2 - 240x + 14.400}{3.600} \right)$$

$$Y = 0,42 + \left( \frac{-0,044x+5,28}{60} \right) + \left( \frac{-0,131x^2 + 31,44x - 1.886,4}{3.600} \right)$$

$$Y = 0,42 + (-0,0007x + 0,088 + (-0,00004x^2 + 0,009x - 0,524))$$

$$Y = (0,42 + 0,088 - 0,524) + (-0,0007x + 0,009x) - 0,00004x^2$$

$$Y = -0,016 + 0,0083x - 0,00004x^2$$

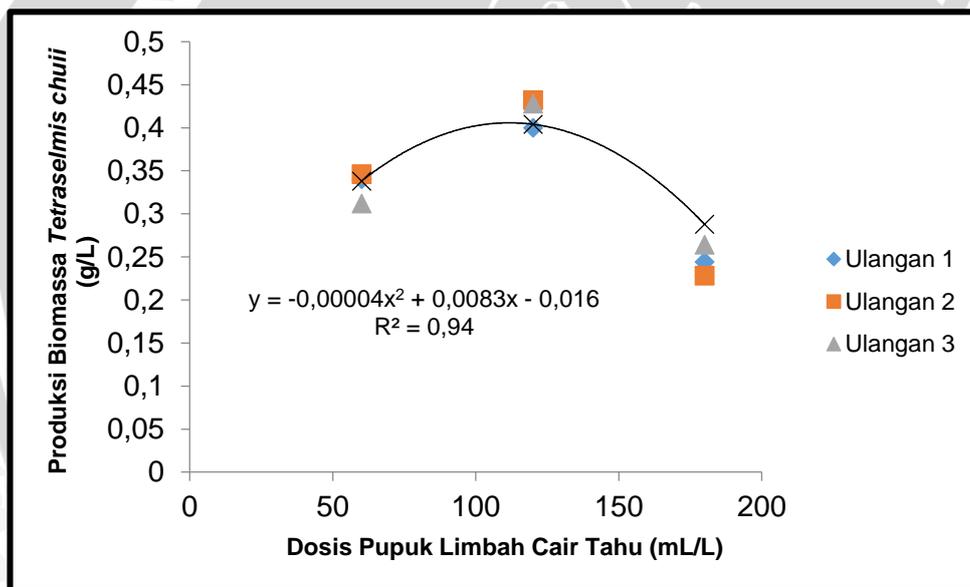
Lampiran 7. (Lanjutan)

Dari persamaan tersebut diperoleh:

x	Y
60	0,338
120	0,404
180	0,288

Untuk membuat grafik berdasarkan seri 4 dari Y

Perlakuan	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4
60	0,340	0,346	0,312	0,338
120	0,400	0,432	0,428	0,404
180	0,244	0,228	0,264	0,288



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

$$Y = -0,016 + 0,0083x - 0,00004x^2$$

$$Y' = 0,0083 - 2(0,00004)x$$

$$0 = 0,0083 - 0,00008x$$

$$0,00008x = 0,0083$$

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$x = 103,75$$

untuk  $x = 103,75$  maka  $Y = 0,41456$



Lampiran 8. Data Klorofil a *Tetraselmis chuii* ( $\mu\text{g/mL}$ )

Perlakuan	Ulangan	Panjang Gelombang (nm)			Total Klorofil a ( $\mu\text{g/mL}$ )	Rerata ( $\mu\text{g/mL}$ )
		470	652	665		
K	1	0,141	0,250	0,215	1,4721	1,58604
	2	0,164	0,293	0,251	1,7092	
	3	0,182	0,297	0,245	1,5768	
A	1	0,145	0,282	0,246	1,7180	1,74725
	2	0,169	0,282	0,255	1,8625	
	3	0,141	0,265	0,234	1,6612	
B	1	0,164	0,332	0,311	2,3748	2,48157
	2	0,205	0,387	0,353	2,6122	
	3	0,162	0,362	0,331	2,4567	
C	1	0,142	0,214	0,178	1,1604	1,14010
	2	0,118	0,235	0,182	1,0518	
	3	0,148	0,246	0,197	1,2081	

Sidik Ragam Klorofil a *Tetraselmis chuii*

Perlakuan	Ulangan			Total (mg/mL)	Rerata (mg/mL)
	1	2	3		
K	1,4721	1,7092	1,5768	4,75812	1,59 $\pm$ 0,12
A	1,7180	1,8625	1,6612	5,24174	1,75 $\pm$ 0,10
B	2,3758	2,6122	2,4567	7,44471	2,48 $\pm$ 0,12
C	1,1604	1,0518	1,2081	3,42029	1,14 $\pm$ 0,08
	Total			20,86485	

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{120,86485^2}{3 \times 4} = 36,27851$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (K_1)^2 + (K_2)^2 + (K_3)^2 + (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK \\ &= (1,47)^2 + (1,70)^2 + (1,58)^2 + (1,72)^2 + \dots + (0,71)^2 - 36,27851 \\ &= 2,8921 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum K)^2 + (\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2}{3} - FK \\ &= \frac{(4,76)^2 + (5,24)^2 + (6,56)^2 + (2,19)^2}{3} - 36,27851 \\ &= 2,800683 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 2,8921 - 2,800683 = 0,0914 \end{aligned}$$

Lampiran 8. (Lanjutan)

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F1%
Perlakuan	3	2,800683	0,933561	81,6834**	4,07	7,59
Acak	8	0,0914	0,011429			
Total	11	2,8921				

Uji BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 (0,011429)}{3}}$$

$$= 0,087289$$

$$BNT 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times SED$$

$$= 2,306 \times 0,087289$$

$$= 0,201288$$

$$BNT 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times SED$$

$$= 3,355 \times 0,087289 = 0,29285$$

Perlakuan	Rerata	C	K	A	B	Notasi
		1,14	1,59	1,75	2,48	
C	1,14	-				a
K	1,59	0,45**	-			b
A	1,75	0,61**	0,16 <sup>ns</sup>	-		b
B	2,48	1,34**	0,90**	0,73**	-	c

Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Pembanding (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	5,241736	-1	1
B	7,444711	0	-2
C	3,420288	1	1
Q = $\sum CiTi$		-1,82145	-6,2274
$K\mu = (\sum Ci^2) * \mu$		6	18
JK regresi = $Q^2 / K\mu$		0,552946	2,154471



Lampiran 8. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadrat} \\
 &= 0,552946 + 2,154471 \\
 &= 2,707417
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	2,707417	1,353708	14,80561	5,14	10,92
*Linier	1	0,552946	0,552946	36,28564**		
*Kuadrat	1	2,154471	2,154471	141,3816**		
Acak	6	0,0914				
Total	8	5,506266	-			

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,552946}{0,552946 + 0,0914} = 0,858108
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadrat}}{\text{JK Regresi Kuadrat} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{2,154471}{2,154471 + 0,0914} \\
 &= 0,959289
 \end{aligned}$$

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

Mencari persamaan regresi kuadrat :

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

$$= 120$$

$$d = 60$$

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

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

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



## Lampiran 8. (Lanjutan)

$x_j$	60	120	180	$\sum x_j = 360$
$u_j$	-1	0	1	$\sum u_j = 0$
$U_j^2$	1	0	1	$\sum u_j^2 = 2$
$U_j^4$	1	0	1	$\sum u_j^4 = 2$
$y_{ij}$	5,2417	7,444711	3,420288	$\sum y_{ij} = 16,1067$
$u_j y_{ij}$	-5,2417	0	3,420288	$\sum u_j y_{ij} = -1,8214$
$U_j^2 y_{ij}$	5,2417	0	3,420288	$\sum u_j^2 y_{ij} = 8,6620$

## Persamaan 1

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

$$-1,8214 = b_1 \times 3 \times 2$$

$$-1,8214 = 6 b_1$$

## Lampiran 13. (Lanjutan)

$$b_1 = -0,3036$$

## Persamaan 2

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

$$16,1067 = b_0 \times 12 + b_2 \times 3 \times 2$$

$$16,1067 = 9 b_0 + 6 b_2$$

## Persamaan 3

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

$$8,6620 = b_0 \times 3 \times 2 + b_2 \times 3 \times 2$$

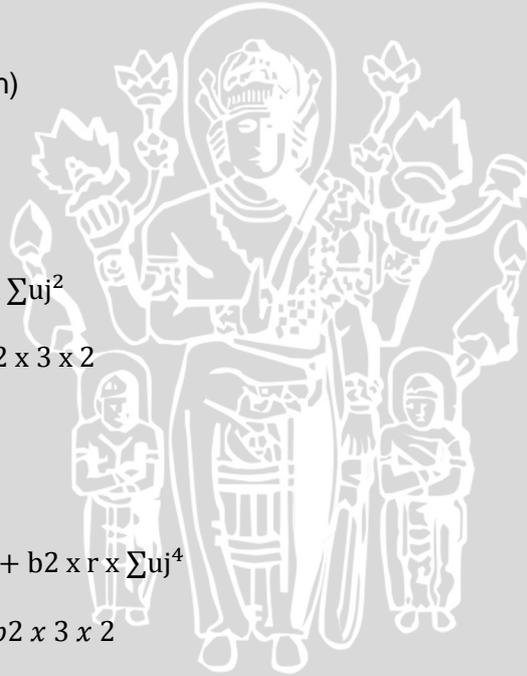
$$8,6620 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$16,1067 = 9 b_0 + 6 b_2$$

$$8,6620 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$7,4447 = 3 b_0$$

$$b_0 = 2,4816$$



Lampiran 8. (Lanjutan)

Substitusikan b2 pada salah satu persamaan :

$$8,6620 = 6 b_0 + 6 b_2$$

$$8,6620 = 6 + 6 b_2$$

$$8,6620 = 6 (2,4816) + 6 b_2$$

$$6 b_2 = -6,2274$$

$$b_2 = -1,0379$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

$$Y = 2,4816 - 0,3036 u_j - 1,0379 u_j^2$$

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

$$Y = 2,4816 - 0,3036 u_j - 1,0379 u_j^2$$

$$Y = 2,4816 - 0,3036 \left( \frac{x-120}{60} \right) - 1,0379 \left( \frac{x-120}{60} \right)^2$$

$$Y = 2,4816 + \left( \frac{-0,3036 x + 61,032}{60} \right) - 1,0379 \left( \frac{x^2 - 240 x + 14.400}{3.600} \right)$$

$$Y = 2,4816 + \left( \frac{-0,3036x + 36,432}{60} \right) + \left( \frac{-1,0379 x^2 + 249,096x - 14.945,76}{3.600} \right)$$

$$Y = 2,4816 + (-0,0056x + 0,6072) + (-0,0003x^2 + 0,0691x - 4,1516)$$

$$Y = (2,4816 + 0,6072 - 4,1516) + (-0,0056x + 0,0691x) - 0,0003x^2$$

$$Y = -1,0628 + 0,0635x - 0,0003x^2$$

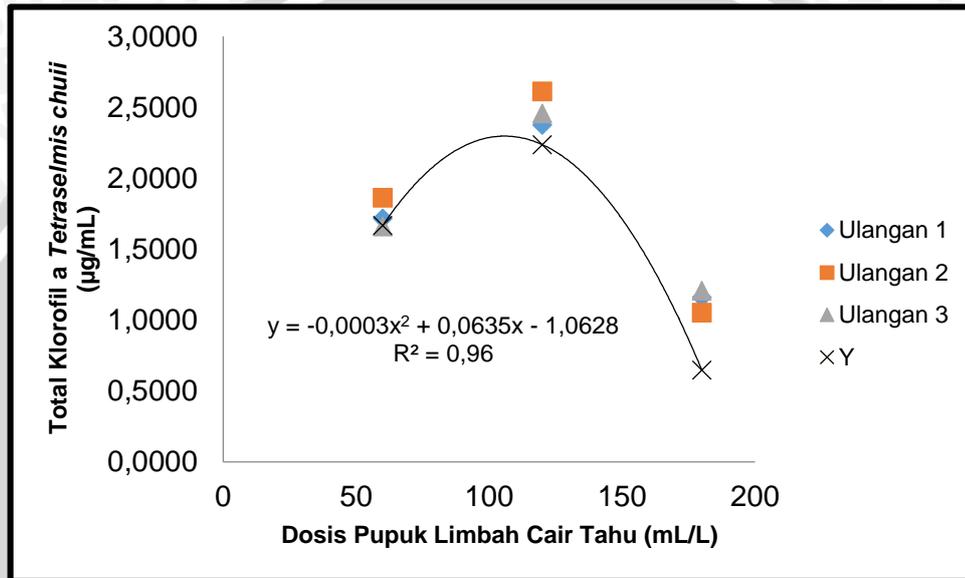
Dari persamaan tersebut diperoleh:

x	Y
60	1,6672
120	2,2372
180	0,6472

Lampiran 8. (Lanjutan)

Untuk membuat grafik berdasarkan seri 4 dari Y

Perlakuan	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4
60	1,7180	1,8625	1,6612	1,6672
120	2,3758	2,6122	2,4567	2,2372
180	1,1604	1,0518	1,2081	0,6472



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

$$Y = -1,0628 + 0,0635x - 0,0003x^2$$

$$Y' = 0,0635 - 2(0,0003)x$$

$$0 = 0,0635 - 0,0006x$$

$$0,0006x = 0,0548$$

$$x = 105,83$$

untuk  $x = 105,83$  maka  $Y = 2,2974$

## Lampiran 9. Hasil Uji Kandungan Bahan Organik Limbah Cair Tahu

Parameter	Nilai
C (%)	0,60
N (%)	0,40
C/N	1,50
BO (%)	1,03
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)	0,12



Lampiran 10. Data Konsentrasi Nitrat pada Perlakuan Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda dengan Penambahan Urea

Perlakuan	Konsentrasi Nitrat Pada Medium (ppm)			Nitrat Terserap (%)			Rata-rata Nitrat Terserap (%)		
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6
K1	19,31	10,29	6,13	0	46,73	21,52			
K2	20,85	10,16	5,88	0	51,30	20,48	0	48,18	20,78
K3	19,95	10,67	6,61	0	46,51	20,34			
A1	19,57	9,77	5,23	0	50,07	23,22			
A2	20,08	9,25	5,23	0	53,92	20,05	0	51,35	22,06
A3	19,82	9,90	5,36	0	50,07	22,91			
B1	23,17	8,48	2,84	0	63,40	24,34			
B2	24,72	7,71	2,32	0	68,82	21,77	0	64,32	24,70
B3	22,92	8,99	2,58	0	60,74	27,99			
C1	22,66	15,73	11,74	0	30,56	17,63			
C2	22,27	15,35	11,48	0	31,09	17,36	0	33,29	15,93
C3	23,17	14,32	11,35	0	38,22	12,79			

Lampiran 11. Data Konsentrasi Fosfat pada Perlakuan Pupuk Limbah Cair Tahu yang Berbeda.

Perlakuan	Konsentrasi Fosfat Pada Medium (ppm)			Fosfat Terserap (%)			Rata-rata Fosfat Terserap (%)		
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6
K1	4,05	2,76	1,81	0	31,97	23,49			
K2	4,21	2,51	1,78	0	40,50	17,27	0	35,40	20,06
K3	4,08	2,71	1,92	0	33,71	19,45			
A1	4,16	2,73	1,78	0	34,34	22,89			
A2	4,32	2,41	1,55	0	44,10	19,94	0	38,71	20,35
A3	4,21	2,63	1,86	0	37,68	18,21			
B1	4,35	2,47	1,25	0	43,23	28,01			
B2	4,44	2,32	1,12	0	47,69	27,12	0	44,80	27,17
B3	4,32	2,44	1,30	0	43,49	26,34			
C1	4,19	3,12	2,70	0	25,59	9,79			
C2	4,15	3,13	2,53	0	24,56	14,35	0	26,31	12,44
C3	4,32	3,08	2,51	0	28,79	13,17			

Lampiran 12. pH Media Kultur Selama Penelitian

Tanggal	pH											
	K1	K2	K3	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
16-Mei-16	7,56	7,76	7,65	7,43	7,54	7,66	7,77	7,86	7,61	7,59	7,51	7,43
17-Mei-16	7,63	7,80	7,79	7,68	7,70	7,57	7,69	7,81	7,89	7,87	7,63	7,59
18-Mei-16	7,43	7,75	7,65	7,73	7,55	7,50	7,76	7,76	7,8	7,76	7,61	7,65
19-Mei-16	7,60	7,64	7,74	7,75	7,70	7,69	7,79	7,69	7,85	7,84	7,68	7,73
20-Mei-16	7,79	7,78	7,90	7,87	7,86	7,74	7,87	7,85	7,96	7,93	7,78	7,79
21-Mei-16	8,05	8,1	8,09	8,11	8,13	7,98	8,15	8,18	8,20	8,18	7,90	8,03
22-Mei-16	8,19	8,25	8,15	8,23	8,20	8,17	8,07	8,01	8,00	8,19	8,03	8,08
23-Mei-16	8,34	8,23	8,38	8,25	8,30	8,31	8,28	8,11	8,39	8,23	8,23	8,17
24-Mei-16	8,4	8,28	8,32	8,26	8,29	8,3	8,39	8,26	8,43	8,29	8,40	8,36



Lampiran 13. Suhu Media Kultur Selama Penelitian

Tanggal	SUHU (°C)											
	K1		K2		K3		A1		A2		A3	
	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang
16-Mei-16	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27
17-Mei-16	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28
18-Mei-16	27	29	27	29	27	29	27	29	27	29	27	29
19-Mei-16	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27
20-Mei-16	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28
21-Mei-16	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28
22-Mei-16	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28
23-Mei-16	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27
24-Mei-16	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28

Tanggal	SUHU (°C)											
	B1		B2		B3		C1		C2		C3	
	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang	Pagi	Siang
16-Mei-16	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27
17-Mei-16	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28
18-Mei-16	27	29	27	29	27	29	27	29	27	29	27	29
19-Mei-16	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27
20-Mei-16	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28
21-Mei-16	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28
22-Mei-16	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28
23-Mei-16	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27
24-Mei-16	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28	27	28

Lampiran 14. Oksigen Terlarut Media Kultur Selama Penelitian

Tanggal	Oksigen Terlarut (ppm)											
	K1	K2	K3	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
16-Mei-16	6,87	6,90	6,70	6,60	6,80	6,75	6,79	6,81	6,99	6,95	6,76	6,69
17-Mei-16	7,20	7,50	7,49	7,68	7,60	7,59	7,59	7,69	7,70	7,45	7,58	7,34
18-Mei-16	7,59	7,79	7,88	7,89	7,79	7,89	7,69	7,73	7,89	7,80	7,75	7,69
19-Mei-16	8,30	8,38	8,36	8,50	8,49	8,40	8,47	8,39	8,59	8,29	8,37	8,51
20-Mei-16	8,35	8,49	8,39	8,32	8,48	8,50	8,33	8,40	8,50	8,38	8,40	8,39
21-Mei-16	7,79	7,86	7,59	7,88	7,79	7,90	7,86	7,69	7,71	7,89	7,95	7,84
22-Mei-16	7,54	7,43	7,50	7,43	7,48	7,40	7,48	7,56	7,30	7,50	7,49	7,41
23-Mei-16	7,69	7,59	7,61	7,54	7,85	7,59	7,53	7,32	7,68	7,43	7,54	7,43
24-Mei-16	7,77	7,75	7,89	7,69	7,76	7,69	7,69	7,59	7,73	7,79	7,65	7,64



## Lampiran 15. Salinitas Media Kultur Selama Penelitian

Tanggal	Salinitas (ppt)											
	K1	K2	K3	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
16-Mei-16	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
17-Mei-16	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
18-Mei-16	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
19-Mei-16	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
20-Mei-16	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
21-Mei-16	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
22-Mei-16	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
23-Mei-16	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
24-Mei-16	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

