

**PENGARUH PEMBERIAN GLUKOSA DENGAN DOSIS YANG BERBEDA
PADA KONDISI MIKSOTROFIK TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA,
KLOORFIL-a DAN KANDUNGAN PROTEIN *Tetraselmis chuii***

SKRIPSI

Oleh:

**APRYANY TUDENSIA DHIU BANO
NIM. 155080500111050**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN GLUKOSA DENGAN DOSIS YANG BERBEDA
PADA KONDISI MIKSOTROFIK TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA,
KLOORFIL-a DAN KANDUNGAN PROTEIN *Tetraselmis chuii***

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya**

Oleh:

**APRYANY TUDENSIA DHIU BANO
NIM. 155080500111050**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
JUNI, 2019**

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN GLUKOSA DENGAN DOSIS YANG BERBEDA
PADA KONDISI MIKSOTROFIK TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA,
KLOROFIL-a DAN KANDUNGAN PROTEIN *Tetraselmis chuii***

Oleh:
APRYANY TUDENSIA DHIU BANO
NIM. 155080500111050

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 21 Juni 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing 1



(Dr. Ir. Arning Wilueng Ekawati, M.S.)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal: 08 JUL 2019

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 2



(Muhammad Fakhri, S.Pi., M.P.)
NIP. 19860717 201504 1 001
Tanggal: 08 JUL 2019

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



(Dr. Ir. Muhammad Firdaus, M.P.)
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 08 JUL 2019



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul: **PENGARUH PEMBERIAN GLUKOSA DENGAN DOSIS YANG BERBEDA PADA KONDISI MIKSOTROFIK TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA, KLOOROFIL-a, DAN KANDUNGAN PROTEIN *Tetraselmis chuii***

Nama Mahasiswa : APRYANY TUDENSIA DHIU BANO

NIM : 155080500111050

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

Pembimbing I : Dr. Ir. ARNING WILUJENG EKAWATI, M.S.

Pembimbing II : MUHAMMAD FAKHRI, S.Pi., M.P.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji I : Dr. YUNITA MAIMUNAH, S.Pi., M.Sc

Dosen Penguji II : NASRULLAH BAI ARIFIN, S.Pi., M.Sc.

Tanggal Ujian : 21 Juni 2019

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari dalam menyelesaikan skripsi ini mendapat banyak dukungan serta bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sehingga penulis mengucapkan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Tuhan YME karena atas nikmat dan limpahan rahmat-Nya skripsi ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu.
2. Bapak, Ibu, Apyana Cresensia, dan Juan Krisostomus serta keluarga besar lainnya yang selalu memberi dukungan moril maupun materil kepada penulis selama menempuh pendidikan di perguruan tinggi Universitas Brawijaya.
3. Dr. Ir. Muhamad Firdaus, M.P. selaku Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan yang telah membantu proses administrasi.
4. Wahyu Endra Kusuma, S.Pi., M.P., D.Sc. selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan yang telah membantu dalam pengarahan serta proses administrasi dalam meraih cita-cita masa depan.
5. Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S. selaku dosen pembimbing 1 dan Muhammad Fakhri, S.Pi., M.P. selaku dosen pembimbing 2 yang telah memberikan arahan, dorongan dan bimbingan dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
6. Prive Widya Astuti, S.Pi. dan Endar Riyani, S.Pi. yang telah banyak membantu selama penyusunan laporan skripsi ini.
7. Teman-teman TIM Pakan Alami.

Malang, Juni 2019

Penulis

RINGKASAN

Apriyany Tudensia Dhiu Bano. Skripsi tentang Pengaruh Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda pada Kondisi Miksotrofik terhadap Pertumbuhan, Biomassa, Klorofil-a dan Kandungan Protein *Tetraselmis chuii* (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati. M.S.** dan **Muhammad Fakhri, S.Pi, M.P.**).

Mikroalga merupakan kelompok tumbuhan berukuran renik yang hidup di perairan tawar, payau maupun laut. Potensi mikroalga sangat besar sebab dapat dimanfaatkan sebagai pakan alami. *Tetraselmis chuii* merupakan salah satu jenis mikroalga yang mudah dicerna dan memiliki kandungan nutrisi tinggi. Kondisi lingkungan menjadi salah satu faktor yang mendukung keberhasilan pada kultur mikroalga. Kultur mikroalga dapat dilakukan pada kondisi lingkungan fototrofik, heterotrofik, dan miksotrofik. Mikroalga memanfaatkan nutrisi dari karbon organik untuk menghasilkan energi pada kultur miksotrofik. Glukosa menjadi salah satu alternatif karbon organik untuk mempercepat pertumbuhan dan meningkatkan biomassa. Dosis glukosa yang sesuai dengan kebutuhan *T. chuii* dapat menghasilkan biomassa, klorofil-a dan kandungan protein yang maksimal.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis glukosa yang berbeda pada kondisi miksotrofik terhadap pertumbuhan, biomassa, klorofil-a, dan kandungan protein *T. chuii* yang diharapkan menjadi salah satu pengetahuan baru tentang penggunaan glukosa yang optimal sebagai sumber karbon organik untuk pertumbuhan, biomassa, klorofil-a, dan kandungan protein *T. chuii*.

Metode yang digunakan yaitu metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah perbedaan dosis glukosa yaitu (A) 0 g/l, (B) 0,10 g/l, (C) 0,20 g/l, (D) 0,30 g/l dengan intensitas cahaya yang digunakan 3.000 lux. Parameter utama yang diamati adalah pertumbuhan, biomassa, klorofil-a, dan kandungan protein *T. chuii* serta parameter penunjang yang diukur adalah suhu, pH, oksigen terlarut, nitrat, dan fosfat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda pada kondisi miksotrofik berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii*. Pemberian glukosa terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *T. chuii* berkisar antara 0,17 – 0,18 g/l dengan laju pertumbuhan spesifik 0,549 hari⁻¹, produksi biomassa sebesar 0,81 g/l, klorofil-a sebesar 3,18 µg/ml dan kadar protein sebesar 35,04%. Hasil pengukuran parameter penunjang seperti suhu, pH, oksigen terlarut, nitrat, dan fosfat selama penelitian berada pada kisaran yang optimal untuk kehidupan *T. chuii*.

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii*. Pemberian dosis glukosa terbaik selama penelitian yaitu berkisar antara 0,17 g/l – 0,18g/l, sehingga untuk selanjutnya dapat disarankan pada kultur *T. chuii* dengan sistem miksotrofik menggunakan sumber karbon berbeda.

KATA PENGANTAR

Skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda pada Kondisi Miksotrofik terhadap Pertumbuhan, Biomassa, Klorofil-a dan Kandungan Protein *Tetraselmis chuii*” ini disajikan untuk menjelaskan pengaruh perbedaan pemberian glukosa terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan kadar protein yang dihasilkan oleh mikroalga yang diteliti sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Penelitian ini dibimbing oleh Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S. selaku dosen pembimbing 1 dan Muhammad Fakhri, S.Pi., M.P. selaku dosen pembimbing 2

Dalam tulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi pendahuluan, tinjauan pustaka dan metode penelitian serta analisis data. Penulis sadar bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kesalahan karena keterbatasan yang dimiliki oleh penulis. Penulis sangat mengharapkan adanya kritik dan saran yang membangun sebagai bahan evaluasi. Kritik konstruktif dari pembaca sangat diharapkan untuk penyempurnaan skripsi ini, agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
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>T. chuii</i>	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Reproduksi	6
2.2 Fase Pertumbuhan	6
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 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan	9
2.3.1 Faktor Lingkungan	9
2.3.2 Nutrien	11
2.4 Sistem Kultur Miksotrofik	12
2.5 Klorofil-a	12
2.6 Kandungan Protein	13
2.7 Pengaruh Glukosa terhadap Pertumbuhan <i>T. chuii</i>	13
3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Alat dan Bahan Penelitian	15
3.1.1 Alat Penelitian	15
3.1.2 Bahan Penelitian	15
3.2 Media Penelitian	16
3.3 Metode Penelitian	16
3.4 Rancangan Percobaan	16
3.5 Prosedur Penelitian	17
3.5.1 Persiapan Penelitian	17
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian	19
3.6 Parameter yang Diukur	20



3.6.1 Parameter Utama	20
3.6.2 Parameter Penunjang.....	23
3.7 Analisis Data	24
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Pengaruh Pemberian Glukosa terhadap Pertumbuhan <i>T. chuii</i>	25
4.1.1 Fase Pertumbuhan <i>T. chuii</i>	25
4.1.2 Laju Pertumbuhan <i>T. chuii</i>	27
4.2 Pengaruh Pemberian Glukosa terhadap Biomassa <i>T. chuii</i>	32
4.3 Pengaruh Pemberian Glukosa terhadap Klorofil-a <i>T. chuii</i>	33
4.4 Pengaruh Pemberian Glukosa terhadap Kadar Protein <i>T. chuii</i>	35
4.5 Parameter Kualitas Air	37
5. KESIMPULAN DAN SARAN	38
5.1 Kesimpulan	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	48



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi <i>T. chuii</i>	5
2. Fase Pertumbuhan Mikroalga	6
3. Denah Percobaan.....	17
4. Pertumbuhan <i>T. chuii</i> Selama 7 Hari Masa Kultur.....	26
5. Hubungan Dosis Glukosa yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik <i>T. chuii</i>	28
6. Nilai Serapan Nitrat <i>T. chuii</i> Selama Penelitian	30
7. Nilai Serapan Fosfat Selama Penelitian	31
8. Hubungan Pemberian Glukosa yang Berbeda terhadap Produksi Biomassa <i>T. chuii</i>	32
9. Hubungan Pemberian Glukosa yang Berbeda terhadap Klorofil-a <i>T. chuii</i>	34
10. Hubungan Pemberian Glukosa yang Berbeda terhadap Kadar Protein <i>T. chuii</i>	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-Rata Parameter Uji <i>T. chuii</i> dengan Pemberian Dosis Glukosa yang Berbeda pada Kondisi Miksotrofik	25



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi Pupuk Walne	48
2. Proses Sterilisasi	49
3. Data Pertumbuhan <i>T. chuii</i> dalam Perlakuan Pemberian Glukosa	51
4. Hasil Perhitungan Laju Pertumbuhan Spesifik <i>T. chuii</i>	53
5. Data Hasil Perhitungan <i>Doubling Time T. chuii</i>	54
6. Analisis Data Laju Pertumbuhan Spesifik <i>T. chuii</i>	55
7. Analisa Data Biomassa <i>T. chuii</i>	60
8. Analisa Data Klorofil-a <i>T. chuii</i>	65
9. Analisa Data Protein <i>T. chuii</i>	70
10. Data Kualitas Air pada Kultur <i>T. chuii</i>	75
11. Konsentrasi Larutan <i>Standar Bovine Serum Albumin (BSA)</i>	79
12. Dokumentasi Kegiatan Selama Penelitian	80

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroalga merupakan kelompok tumbuhan berukuran renik yang hidup di perairan tawar maupun laut. Mikroalga termasuk mikroorganisme yang menggunakan sinar matahari untuk reproduksi sel-sel tubuhnya dan menghasilkan biomassa (Abdurrachman, *et al.*, 2013). Mikroalga mampu memproduksi berbagai bahan kimia seperti asam lemak, gliserol, pigmen, vitamin dan metabolit. Mikroalga banyak dimanfaatkan sebagai pakan alami serta berpotensi dalam bidang kosmetik dan farmasi (Setyaningsih, *et al.*, 2017).

T. chunii merupakan mikroalga yang berpotensi untuk dibudidayakan karena memiliki kandungan protein 48,42%, lemak 9,70%, dan karbohidrat 12,10% (Sani, *et al.* 2014). Kandungan protein yang tinggi pada *T. chunii* menjadikan mikroalga ini sebagai pakan alami yang potensial dan mudah dicerna oleh larva ikan dan udang (Setyawati, *et al.*, 2018). Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh faktor abiotik meliputi cahaya, suhu, nutrisi, O₂, CO₂, pH dan salinitas. Faktor biotik seperti bakteri, jamur dan kompetisi dengan mikroalga lainnya serta faktor teknik mengenai cara pemanenan dan cara kultur (Handayani dan Ariyanti, 2012). Nutrisi yang diperlukan mikroalga yaitu berupa unsur hara makro dan unsur hara mikro. Unsur hara makro meliputi C, H, N, P, K, S, Mg dan Ca, sedangkan unsur hara mikro meliputi Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn dan Si (Kawaroe, *et al.*, 2009).

Kemampuan mikroalga dalam mengubah kandungan nutrisi menjadi energi yang dipengaruhi lingkungan dikelompokkan menjadi 3 bentuk kultur yaitu autotrofik, heterotrofik dan miksotrofik. Kultur autotrofik yaitu kultur yang memanfaatkan pigmen klorofil dalam melakukan proses fotosintesis dengan bantuan nutrien anorganik dan sinar matahari untuk menghasilkan energi (Salim,

2015). Kultur heterotrof yaitu kultur yang memanfaatkan karbon organik sebagai energi dengan memecah komponen kompleks suatu senyawa menjadi sederhana. Kultur mikсотrofik mampu mengasimilasi cahaya matahari dan karbon organik sebagai sumber energi secara bersamaan maupun bergantian (Gultom, 2018). Kondisi kultur autotrofik memerlukan ruang dan cahaya yang optimal sehingga memerlukan biaya yang mahal (Salim, 2015). Kultur secara heterotrofik menggunakan karbon organik sebagai sumber energi dan tidak memerlukan cahaya yang besar. Kondisi kultur mikсотrofik menggunakan kemampuannya dalam memanfaatkan substrat karbon organik dalam melakukan fotosintesis secara bersamaan (Chen, *et al.*, 2011).

Kultur pada kondisi mikсотrofik dapat mengurangi pengeluaran biaya dan penggunaan energi lingkungan. Penggunaan cahaya pada kondisi mikсотrofik tidak memerlukan intensitas cahaya yang tinggi. Pengeluaran biaya kultur lebih efisien sebab kultur mikсотrofik tidak menuntut syarat ruang dan pemeliharaan (Salim, 2015). Glukosa merupakan salah satu sumber karbon terbaik yang digunakan untuk pertumbuhan mikсотrofik (Setyoningrum, *et al.*, 2014). Penggunaan glukosa sebagai sumber karbon yang dapat meningkatkan pertumbuhan sel dan produktivitas mikroalga menjadi lebih efisien. Glukosa sebagai substrat karbon kompleks yang dapat menghasilkan biomassa dan komponen biokimia pada mikroalga (Kong, *et al.*, 2013). Penambahan glukosa sebagai substrat karbon dapat menghasilkan energi sebesar 2,8 kJ/mol dibandingkan dengan penggunaan sumber karbon lain seperti asetat sebesar 0,8 kJ/mol, sehingga glukosa dapat meningkatkan pertumbuhan mikroalga (Wang, *et al.*, 2012).

Penelitian mengenai pengaruh pemberian glukosa dan intensitas cahaya terhadap pertumbuhan mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dalam kondisi mikсотrofik telah dilakukan Martinez, *et al.* (1996), yang menunjukkan bahwa

terjadi peningkatan tingkat konsumsi glukosa untuk mengurangi cahaya. Hasil produksi biomassa terbaik pada penambahan glukosa sebanyak 0,1 g/l dan intensitas cahaya yang digunakan 2.000 lux. Informasi tentang pengaruh dosis glukosa terhadap pertumbuhan, biomassa, kandungan protein dan klorofil- a pada mikroalga *T. chuii* masih sangat terbatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda pada kondisi mikсотrofik terhadap pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii*.

1. 2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda pada kondisi mikсотrofik terhadap pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii*?
- Berapa dosis pemberian glukosa yang terbaik pada kondisi mikсотrofik untuk pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii*?

1. 3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Menjelaskan pengaruh pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda pada kondisi mikсотrofik terhadap pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii*
- Menentukan dosis pemberian glukosa yang terbaik pada kondisi mikсотrofik untuk pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii*.

1. 4 Hipotesis

H0: Dosis glukosa yang berbeda tidak mempengaruhi pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii*

H1: Dosis glukosa yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii*

1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai informasi mengenai pengaruh pemberian dosis glukosa yang berbeda pada kondisi mikсотrofik dan sebagai informasi tentang dosis pemberian glukosa yang terbaik pada kondisi mikсотrofik untuk pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii*

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan dan Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan dan UPT Sumberpasir, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Januari sampai dengan Mei 2019.

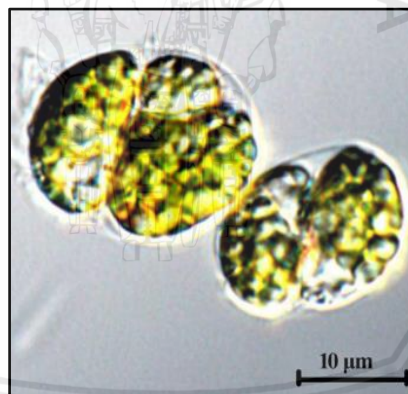
2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *T. chuii*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Butcher (1959), berdasarkan morfologinya *T. chuii* memiliki klasifikasi (Gambar 1.) sebagai berikut:

- Phylum : Chlorophyta
Subphylum : Chlorophytina
Class : Chlorodendrophyceae
Ordo : Chlorodendrales
Family : Chlorodendraceae
Genus : *Tetraselmis*
Spesies : *Tetraselmis chuii*



Gambar 1. Morfologi *T. chuii* (Lu, et al., 2017)

T. chuii adalah organisme bersel tunggal yang termasuk dalam kelas Chlorophyceae. Alga ini memiliki pigmen klorofil yang lebih banyak dari pigmen lainnya sehingga berwarna hijau. Bentuk tubuhnya oval lonjong dengan ukuran berkisar 7 – 12 μ . Spesies ini memiliki empat buah bulu cambuk (*flagella*) sebagai alat gerak. *Flagella* tersebut bergerak cepat yang membantu *T. chuii* bergerak aktif di perairan (Bachtiar dan Tim Lentera, 2003).

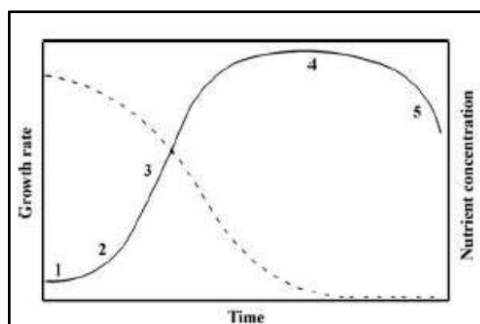
2.1.2 Reproduksi

T. chuii termasuk jenis mikroalga yang dapat melakukan reproduksi secara vegetatif (aseksual) dan generatif (seksual). Reproduksi aseksual dengan cara membelah diri yang berlangsung cepat. Masing-masing induk mampu membentuk 2 – 64 sel gamet berbentuk zoospora. Zoospora akan lepas dalam bentuk zigospora dengan ukuran dan bentuk sel yang berbeda. Reproduksi seksual dengan menyatukan kloroplas dari sel gamet jantan dan betina. Sel-sel gamet akan terbentuk menjadi zigot yang telah dibuahi dan berkembang menjadi zigot yang sempurna (Bachtiar dan Tim Lentera, 2003).

T. chuii bereproduksi secara vegetatif dan generatif. Perkembangbiakan vegetatif dilakukan dengan pembelahan sel berulang secara cepat. Setiap protoplasma yang membelah membentuk 2 – 16 sel baru. Secara generatif setiap satu sel membentuk sel gamet sebanyak 2 -64 buah. Ukuran sel gamet jantan terkadang lebih kecil daripada gamet betina. Sel gamet yang berukuran sama disebut isogamet dan gamet yang berbeda disebut anisogamet (Djarajah, 1996).

2.2 Fase Pertumbuhan

Pertumbuhan *T. chuii* dibagi menjadi fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian (Putri, *et al.*, 2013). Grafik pertumbuhan mikroalga dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Fase Pertumbuhan Mikroalga (Handayani dan Ariyanti, 2012).

2.2.1 Fase Adaptasi

Menurut Fitria, *et al.* (2018), fase adaptasi merupakan proses penyesuaian inokulan terhadap lingkungan barunya. Penyesuaian inokulan meliputi adaptasi terhadap bahan organik yang terdapat pada media kultur. Lama penyesuaian pada media kultur mempengaruhi cepat atau lambatnya pertumbuhan mikroalga. Inokulan biasanya belum mengalami peningkatan pertumbuhan pada fase ini.

Menurut Aulia, *et al.* (2017), pada fase ini mikroalga sudah dapat beradaptasi dengan baik pada media kultur yang baru. Mikroalga dapat beradaptasi dipengaruhi oleh senyawa atau bahan organik dan anorganik yang menjadi sumber nutrisi bagi pertumbuhannya. Pertumbuhan mikroalga dapat terhambat jika salah satu nutrisi tidak tersedia atau jumlah nutrisi yang terdapat terlalu besar. Nutrisi yang tersedia pada media kultur dapat menjadi nutrisi pembatas bagi pertumbuhan mikroalga.

2.2.2 Fase Eksponensial

Fase eksponensial merupakan fase perbanyakan individu karena adanya proses reproduksi sel (Nailulmuna, *et al.*, 2017). Fase eksponensial dapat diketahui saat terjadinya peningkatan jumlah populasi secara berlipat. Mikroalga sudah dapat beradaptasi dengan media kultur, sehingga dapat melakukan pembelahan sel secara maksimal. Pembelahan sel tersebut menandakan bahwa nutrisi dimanfaatkan dengan baik untuk proses pertumbuhan. Fase ini dicapai saat kecepatan pertumbuhan lebih besar daripada kematian (Putri, *et al.*, 2013).

Fase eksponensial biasanya terjadi pada hari ke-2 setelah proses inokulasi dan mengalami pembelahan sel hingga kepadatan maksimum. Pembelahan sel dipengaruhi oleh nutrisi yang terdapat pada media kultur, intensitas cahaya serta kualitas air kultur (Leksono, *et al.*, 2017). Faktor lain seperti intensitas cahaya, suhu, aerasi dan pH selama proses kultur menjadi faktor penunjang untuk pertumbuhan mikroalga (Aulia, *et al.*, 2017).

2.2.3 Fase Stasioner

Fase stasioner adalah fase puncak dari pertumbuhan dan kepadatan populasi mikroalga. Fase ini terjadi dalam waktu singkat sebelum mengalami penurunan kepadatan yang ditandai terjadinya kematian atau menuju fase kematian mikroalga (Anwar, *et al.*, 2017). Fase ini umumnya menggambarkan puncak pertumbuhan populasi hingga penurunan populasi secara drastis yang mengakibatkan kematian massal mikroalga (Darmawan, 2014).

Fase stasioner ditandai dengan berkurangnya nutrisi yang terdapat pada media kultur sehingga mengakibatkan penurunan pertumbuhan mikroalga. Lama fase stasioner berpengaruh terhadap penyerapan mikroalga terhadap nutrisi pada media kultur. Faktor utama yang mempengaruhi fase ini adalah ketersediaan nutrisi yang terdapat pada media kultur. Pertumbuhan mikroalga mulai mengalami penurunan akibat ketersediaan nutrisi yang terdapat dalam media kultur tidak mampu mencukupi kebutuhan pertumbuhan (Pamungkas, *et al.*, 2017).

2.2.4 Fase Kematian

Fase kematian mikroalga ditandai dengan menurunnya kelimpahan sel secara drastis (Maulana, *et al.*, 2017). Penurunan sel dapat diamati secara visual pada media kultur yang berwarna kehijauan berubah menjadi hijau kekuningan. Warna media kultur yang berubah menandakan bahwa mikroalga yang dikultur telah memucat. Hal ini juga menandakan bahwa laju pertumbuhan mikroalga tidak sebanding dengan kandungan nutrisinya (Kabinawa, 2006).

Manurut Prihantini, *et al.* (2005), Fase kematian ditandai dengan terjadinya penurunan pada kepadatan sel. Penurunan tersebut menandakan bahwa kandungan nutrisi pada media kultur tidak dapat mendukung pertumbuhan sel. Faktor pendukung terjadinya penurunan kepadatan sel yaitu intensitas cahaya. Kurangnya cahaya yang ditangkap akibat kepadatan sel yang meningkat pada

fase stationer menyebabkan laju fotosintesis melambat. Akibat dari melambatnya laju fotosintesis berbanding lurus terhadap menurunnya pertumbuhan sel.

2.3 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan

2.3.1 Faktor Lingkungan

a. Suhu

Suhu merupakan faktor lingkungan yang mempengaruhi aktivitas organisme seperti reproduksi, pertumbuhan dan kematian (Nailulmuna, *et al.*, 2017). Kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan mikroalga yaitu 24°C sampai 30°C. Setiap jenis mikroalga mampu menoleransi suhu yang berbeda-beda tergantung lokasi dan komposisi media yang akan digunakan. Pertumbuhan mikroalga dapat melambat pada suhu dibawah 16°C dan dapat meyebabkan kematian pada suhu 35°C (Khotimah, 2018).

T. chunii adalah salah satu jenis mikroalga yang memiliki batas toleransi tinggi terhadap suhu. Batas kisaran suhu yang mampu ditoleransi oleh *T. chunii* antara 15°C hingga 36°C (Unaida, 2015). Suhu berperan pada proses fotosintesis yang berpengaruh terhadap pertumbuhan sel. Nilai suhu yang tinggi mengakibatkan kondisi mikroalga menurun dan mengalami kematian (Purba dan Khairunisa, 2012).

b. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) berperan sebagai faktor pembatas. Nilai pH berpengaruh terhadap adaptasi organisme perairan yang dipengaruhi oleh suhu dan fotosintesis (Rajab, *et al.*, 2016). Kisaran pH 8 – 9 merupakan pH optimal untuk pertumbuhan fitoplankton, pada pH 11 fitoplankton masih dapat hidup (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995).

Teknik kultur mikroalga yang dibudidayakan bergantung pada kesesuaian mikroalga dengan lingkungannya, seperti derajat keasaman (pH). Nilai pH pada

media kultur menentukan kelarutan dan ketersediaan ion mineral. Kisaran pH yang banyak digunakan untuk kultur mikroalga yaitu antara 7 – 9. Perubahan nilai pH yang drastis menyebabkan terganggunya kerja enzim serta menghambat proses fotosintesis dan pertumbuhan mikroalga (Nurhayati, *et al.*, 2013).

c. Intensitas Cahaya

Cahaya merupakan faktor lingkungan yang sangat berpengaruh dalam fotosintesis, karena perannya sebagai penyedia energi untuk mikroalga. Fotosintesis yang tidak optimal menyebabkan terganggunya penyerapan energi untuk pertumbuhan mikroalga. Jumlah energi yang dapat diterima dipengaruhi oleh kualitas, kuantitas dan lama penyinaran. Intensitas cahaya memberikan pengaruh terhadap kandungan klorofil-a dan β -karoten (Budiardi, *et al.*, 2010).

Intensitas cahaya yang baik untuk pertumbuhan *T. chuii* yaitu sebesar 6.000 lux (Sani, *et al.*, 2014). Intensitas cahaya diperlukan untuk proses fotosintesis pada mikroalga. Fotosintesis erat hubungannya dengan besarnya jumlah energi yang akan diterima. Kisaran optimum yang diperlukan untuk tumbuh oleh setiap jenis mikroalga berbeda tergantung kedalaman kultur dan kepadatannya (Padang, *et al.*, 2015).

d. Salinitas

Mikroalga laut dapat menoleransi perubahan salinitas yang besar. Optimal nilai salinitas untuk pertumbuhan mikroalga berkisar antara 20 – 24 ppt (Khotimah, 2018). Salinitas adalah faktor lingkungan yang penting dalam pembentukan pigmen, produksi biomassa dan pertumbuhan sel. Salinitas yang meningkat berpengaruh terhadap fotosintesis dan respirasi. Pengaruh tinggi atau rendahnya salinitas terhadap fotosintesis lebih besar dibanding respirasi (Zainuddin, *et al.*, 2017).

Salinitas bagi *T. chuii* diperlukan untuk mempertahankan tekanan osmotik antara protoplasma dengan lingkungan hidupnya. Kisaran salinitas yang tinggi

atau rendah dapat mempengaruhi tekanan osmotik di dalam sel, sehingga aktifitas sel terganggu. *T. chuii* dapat tumbuh pada salinitas 30 – 35 ppt. Optimum kisaran salinitas yang baik untuk pertumbuhan *T. chuii*. yaitu 32 ppt (Baharuddin, 2011).

2.3.2 Nutrien

Perkembangan mikroalga memerlukan unsur makronutrien berupa nitrogen (N) dan fosfor (P). Unsur nitrogen (N) berperan dalam pembentukan dan pertumbuhan sel mikroalga dan unsur fosfor (P) berperan sebagai pengatur metabolisme energi dan stabilitor membran sel. Jumlah fosfor (P) tidak dibutuhkan dalam jumlah banyak pada pertumbuhan mikroalga. Pertumbuhan mikroalga akan terhambat ketika nutrien nitrogen (N) mengalami penurunan yang menyebabkan pembentukan klorofil terhambat untuk proses fotosintesis. Kandungan nutrien fosfor (P) yang kurang atau lebih dapat berdampak negatif pada pertumbuhan sel mikroalga. Penambahan unsur nitrogen (N) dan fosfor (P) yang sesuai dengan lingkungan akan menghasilkan konsentrasi biomassa yang optimal (Swandewi, *et al.*, 2017).

Faktor lain yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan mikroalga yaitu nutrien. Nutrien yang diperlukan dapat diabsorpsi dari media hidup mikroalga. Nutrien yang dibutuhkan terbagi menjadi makronutrien dan mikronutrien. Makronutrien yang dibutuhkan terdiri dari C, H, N, P, K, S, Mg dan Ca, sedangkan mikronutrien terdiri atas Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn dan Si. Nitrat (NO_3) merupakan bentuk nitrogen di perairan yang berperan bagi metabolisme dan reproduksi mikroalga. Fosfat (PO_4) merupakan nutrient yang berperan dalam transfer energi ADP (Adenosine Diphosphate) menjadi ATP (Adenosine Triphosphate). Keberadaan fosfat di perairan akan terurai menjadi senyawa ionisasi, antara lain dalam bentuk ion H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} (Brahmantara, *et al.*, 2015).

2.4 Sistem Kultur Miksotrofik

Kultur miksotrofik merupakan sistem kultur yang menggabungkan antara kultur autotrofik dan kultur heterotrofik. Sistem kultur miksotrofik menggunakan sumber energi dari cahaya dan konsumsi nutrisi bersumber dari karbon organik. Kondisi kultur miksotrofik tidak memerlukan intensitas cahaya yang tinggi, sehingga peningkatan produktivitas mikroalga dipengaruhi antara sinergis antara cahaya dan karbon organik. Mikroalga mampu mengakumulasi lipid dalam jumlah besar karena mikroalga melaksanakan proses fotosintesis menggunakan sumber karbon yang tersedia (Salim, 2015).

Pertumbuhan pada kultur miksotrofik terdapat dua proses utama yaitu fotosintesis dan respirasi aerob. Proses ini dipengaruhi oleh intensitas cahaya dan konsentrasi substrat organik. Kepadatan sel yang optimal menunjukkan bahwa stimulasi intensitas cahaya dan bahan organik mampu meningkatkan produktivitas mikroalga (Kong, *et al.*, 2013). Kultur miksotrofik menggunakan substrat organik sebagai sumber karbon atau energi utama dan cahaya sebagai pelengkap. Kultur ini mengoptimalkan proses fotosintesis sebagai pendukung pertumbuhan dengan cahaya sebagai sumber energi tambahan (Lee, 2001).

2.5 Klorofil-a

Pigmen klorofil-a merupakan pigmen umum pada fitoplankton yang terlibat langsung dalam proses fotosintesis. Konsentrasi klorofil-a tergantung pada ketersediaan nutrisi dan intensitas cahaya yang cukup (Rahmawati, *et al.*, 2014). Kandungan klorofil-a meningkat seiring dengan peningkatan pH pada media hidup. Produksi klorofil-a dipengaruhi oleh kandungan Fe, Mg dan Na yang terdapat dalam media tumbuh (Adi, *et al.*, 2015).

Jenis pigmen yang banyak ditemukan pada alga adalah pigmen klorofil. Klorofil-a yang tinggi akan membuat warna hijau yang pekat pada fitoplankton.

Jumlah kandungan klorofil-a ditentukan oleh sel fitoplankton yang memiliki dinding sel yang berklorofil. Peningkatan kandungan klorofil-a dapat disebabkan oleh peningkatan kepadatan sel (Ochtreeani, *et al.*, 2014).

2.6 Kandungan Protein

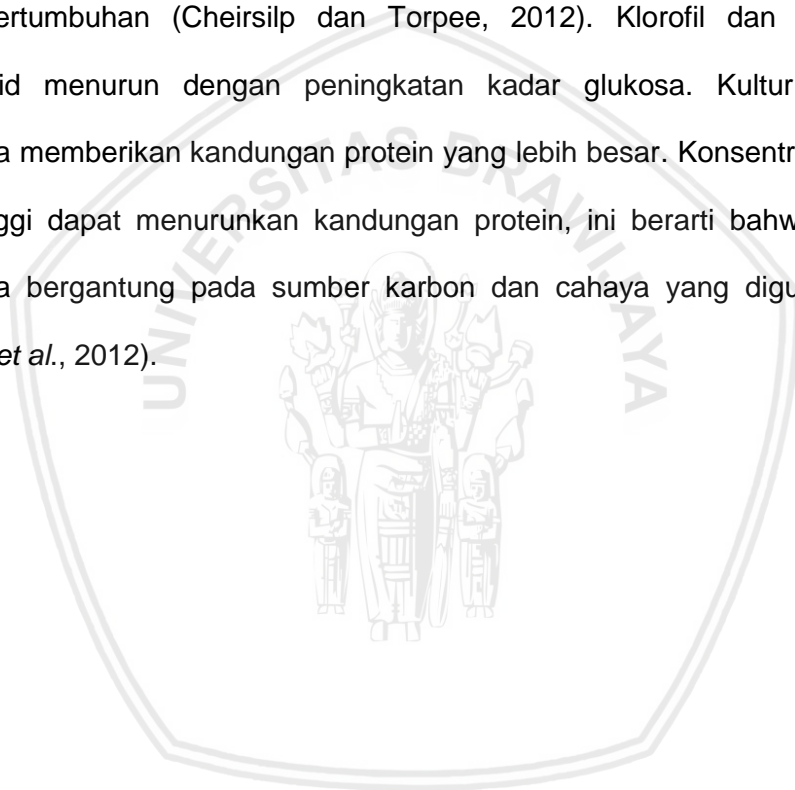
T. chuii memiliki kandungan nutrisi dan DHA yang cukup tinggi. Kandungan nutrisi yang terdapat dalam *T. chuii* yaitu protein 26,4%, lemak 13,8% dan karbohidrat 9,4% berat kering. Kandungan lain seperti DHA 4,3% dan Eikosapentaenoat Acid (EPA) 0,1% dari total asam lemak (Sutomo, 2007). Beberapa faktor yang mempengaruhi kandungan protein pada mikroalga yaitu umur kultur, nutrisi, cahaya dan suhu kultur (Setyaningsih, *et al.*, 2013).

Kandungan protein dipengaruhi oleh jumlah nitrogen, karena nitrogen merupakan unsur pembentuk protein. Faktor lingkungan dan tempat kultur mikroalga yang berbeda menghasilkan perbedaan jumlah protein (Yarti, *et al.*, 2014). Protein merupakan kandungan nutrisi yang berperan penting dalam mempengaruhi laju pertumbuhan. Fungsi protein yaitu untuk mempertahankan fungsi sel, merawat jaringan tubuh serta pembentukan sel-sel baru (Maryam, *et al.*, 2015).

2.7 Pengaruh Glukosa terhadap Pertumbuhan *T. chuii*

Glukosa merupakan sumber karbon yang baik untuk pertumbuhan mikсотrofik. Penggunaan glukosa dalam proses fotosintesis digunakan untuk metabolisme sel dan mampu menghasilkan biomassa mikroalga lebih tinggi. Kultur dengan sistem mikсотrofik dapat menghasilkan biomassa sebesar 1,84 kali lipat dari pada kultur secara heterotrofik. Oleh karena itu, penggunaan glukosa lebih efisien dalam kultur mikсотrofik (Zhang, *et al.*, 2017). Glukosa pada sel mikroalga dapat dimanfaatkan oleh dua proses yaitu anabolisme dan katabolisme (Zhao, *et al.*, 2015).

Dosis glukosa sebesar 2 gr/l dapat digunakan sebagai sumber karbon pada kultur mikсотrofik. Kandungan substrat organik menunjukkan pertumbuhan sel tidak sepenuhnya tergantung pada keberadaan cahaya yang menjadi faktor pertumbuhan utama. Secara umum konsentrasi glukosa sebesar 0 - 10 gr/l dapat meningkatkan biomassa mikroalga, tetapi tidak meningkatkan konsentrasi glukosa sebesar 20 gr/l. Penurunan klorofil pada intensitas cahaya tinggi dapat disebabkan karena jumlah energi yang berasal dari cahaya sepenuhnya diserap untuk pertumbuhan (Cheirsilp dan Torpee, 2012). Klorofil dan kandungan karotenoid menurun dengan peningkatan kadar glukosa. Kultur misotrofik mikroalga memberikan kandungan protein yang lebih besar. Konsentrasi glukosa yang tinggi dapat menurunkan kandungan protein, ini berarti bahwa produksi mikroalga bergantung pada sumber karbon dan cahaya yang digunakan (El-sheekh, *et al.*, 2012).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya yaitu erlenmeyer (1.000 ml, 500 ml, 25 ml) *Pyrex Iwaki*, *beaker glass* 1.000 ml *Pyrex Iwaki*, gelas ukur (100 ml dan 1.000 ml) *Pyrex Iwaki*, lampu TL 36 watt, autoklaf GEA, kompor gas, oven *RedLine RE53*, pipet volume 10 ml *Pyrex Iwaki*, pipet tetes, bola hisap, *blower* LP-60, selang aerasi, *plankton net*, mikroskop cahaya *Olympus CX21*, *haemocytometer* 0,1 mm (BOECO, Hamburg, Germany), *lux meter Sunche*, *cover glass*, *object glass*, spatula, panci (30 liter), bak plastik besar (60 liter), nampan, botol *sprayer*, refraktometer (*Master Refractometer*, Jepang), desikator, timbangan analitik *Radwag AS2201X*, botol film (25 ml dan 50 ml), *hot plate*, *vorter mixer*, tabung *falcon*, *freezer*, spektrofotometer (*Spectroquant pharo 300*), *water bath*, *sentrifuge*, rak tabung, *blue tip*, mikropipet *Eppendorf Research Plus*, *thermometer*, DO meter, pH meter, cawan porselen, *cuvet*, *handtally counter*, kalkulator, pinset, *vacuum pump* (VE115 *Value*), *washing bottle* dan corong.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya meliputi bibit *T. chunii* yang berasal dari Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan (BBRBLPP) Gondol, Bali, air laut bersalinitas 30 ppt, pupuk walne, vitamin B₁₂, glukosa p. a. (pro analis), HCl 10%, tisu, alkohol 96%, *aquadest*, kapas, kasa, kertas label, *aluminium foil*, plastik *wrap*, lugol, kertas saring GF/C diameter 90mm), reagen A Na₂CO₃, reagen B CuSO₄.5H₂O, reagen C NaKC₄H₆.4H₂O, 1N NaOH, reagen *Folin-ciocalteau*, larutan standart BSA (*Bovine*

Serum Albumin), *blue tip*, *methanol absolute*, asam fenol disulfonik, NH_4OH 1:1, *ammonium molybdate*, SnCl_2 dan karet gelang.

3.2 Media Penelitian

Penelitian ini menggunakan media air laut bersalinitas 30 ppt. Air laut yang digunakan kemudian disterilisasi dengan perebusan yang selanjutnya akan digunakan sebagai media kultur pada erlenmeyer 1.000 ml sebanyak 12 buah dan diberikan aerasi. Nutrien yang ditambahkan ke dalam media kultur yaitu pupuk walne dan vitamin B12 (Lampiran 1).

3.3 Metode Penelitian

Metode pada penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Metode eksperimen menurut Hartanto (2003), menjelaskan bahwa dasar dari penelitian eksperimen adalah menguji suatu hubungan sebab dan akibat. Sistem pengujian ini menggunakan sistem pengujian tertutup dalam kondisi terkontrol. Rancangan dari penelitian ini berguna untuk mendapatkan informasi yang relevan.

3.4 Rancangan Percobaan

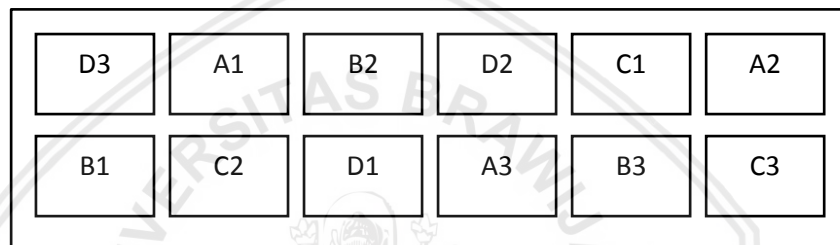
Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) (Gambar 3.). Menurut Lake, *et al.* (2017), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan jenis rancangan percobaan yang paling sederhana. Rancangan ini biasanya digunakan dalam percobaan yang memiliki kondisi lingkungan yang diatur seragam (homogen). Perlakuan diberikan secara acak pada seluruh unit percobaan, hal ini dilakukan karena kondisi lingkungan unit percobaan dalam keadaan relatif homogen sehingga media atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh berarti pada respon uji yang diamati.

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas perlakuan kontrol dan perlakuan pemberian dosis glukosa. Perlakuan kontrol yaitu tanpa diberikan dosis glukosa dengan intensitas cahaya 3.000 lux, sedangkan perlakuan lainnya

diberikan dosis glukosa dengan intensitas cahaya 3.000 lux dan lama penyinaran selama 24 jam. Penelitian ini terdiri dari empat perlakuan, yaitu:

- A: Perlakuan pemberian glukosa dengan dosis 0 g/l
- B: Perlakuan pemberian glukosa dengan dosis 0,10 g/l
- C: Perlakuan pemberian glukosa dengan dosis 0,20 g/l
- D: Perlakuan pemberian glukosa dengan dosis 0,30 g/l

Berikut ini denah peletakan pada kultur *T. chuii* dengan sesuai dengan perlakuan pemberian dosis glukosa:



Gambar 3. Denah Percobaan

Keterangan:

A-D : Perlakuan

1-3 : Ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan proses memusnahkan mikroorganisme yang tidak diinginkan pada alat-alat, bahan, dan media yang akan digunakan. Sterilisasi terdiri dari sterilisasi ruang, peralatan, bahan penelitian, serta sterilisasi laboran (Indarmawan, *et al.*, 2012). Sterilisasi yang digunakan pada saat penelitian menggunakan sterilisasi panas basah, sterilisasi kimia, dan perebusan. Sterilisasi panas basah dengan menggunakan autoklaf dan sterilisasi kimia menggunakan larutan HCl 10%. Peralatan seperti pipet volume, pipet tetes dan selang aerasi, serta bahan berupa pupuk walne dan glukosa disterilisasi menggunakan autoklaf

dengan dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C selama 30 menit. Glukosa dan pupuk walne dimasukkan dalam Erlenmeyer 100 ml dan ditutup dengan kapas dan *aluminium foil*. Sterilisasi kimia menggunakan bahan kimia berupa larutan HCl untuk sterilisasi peralatan seperti erlenmeyer, gelas ukur, *beaker glass*, botol film dan corong dengan pemberian HCl 10%, kemudian dibilas menggunakan alkohol 96% hingga tidak berbau. Media kultur berupa air laut disterilisasi dengan dengan perebusan hingga mendidih. Media kultur dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditutup (Lampiran 2.)

b. Penyiapan Media Kultur

Media kultur yang digunakan yaitu air laut bersalinitas yang berasal dari Toko Tirta Mutiara, Malang. Media kultur yang digunakan pada *T. chuii* bersalinitas 30 ppt, salinitas tersebut sudah sesuai dengan kebutuhan media kultur dan ditampung di dalam bak penampungan kapasitas 60 liter. Lakukan penyaringan terlebih dahulu menggunakan *plankton net* sebelum media kultur disterilisasi, setelah itu dilakukan perebusan media kultur. Media kultur yang sudah disterilisasi dimasukkan dalam erlenmeyer 1.000 ml dan ditambahkan pupuk walne dan vitamin dengan dosis 1 ml/l. Penambahan glukosa diberikan sesuai dengan masing-masing dosis perlakuan.

c. Penyiapan Inokulan *T. chuii*

Bibit *T. chuii* yang diperoleh dari BBRBLPP Gondol, Bali dikultur pada erlenmeyer yang berisi media air laut dengan volume 500 ml. Penyediaan inokulan untuk stok penelitian *T. chuii* dilakukan selama 3 hingga 4 hari untuk mencapai fase eksponensial. Persiapan inokulan dilakukan pada suhu ruangan yang dijaga berkisar antara 28 - 30°C dengan intensitas cahaya sebesar 4.000 lux.

Inokulan *T. chuii* dihitung kepadatan awalnya menggunakan mikroskop dan *haemocytometer* yang akan ditebar untuk percobaan untuk mengetahui jumlah

inokulan *T. chuii* yang dibutuhkan untuk ditebar pada media. Inokulan *T. chuii* yang dibutuhkan dapat ditentukan dengan metode pengenceran. Cara mendapatkan kepadatan fitoplankton menurut Jati, *et al.*, (2012) adalah sebagai berikut:

$$V1 = \frac{V2 \times N2}{N1}$$

Keterangan:

V1: Volume bibit yang diperlukan untuk penebaran awal (ml)

V2: Volume air media yang akan ditebari bibit (ml)

N1: Jumlah stok *T. chuii* (sel/ml)

N2: Jumlah *Tetraselmi chuii* yang diinginkan (sel/ml)

d. Pemberian Glukosa

Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan pemberian dosis glukosa yang terdiri dari 0 g/l, 0,10 g/l, 0,20 g/l, dan 0,30 g/l dengan menggunakan intensitas cahaya 3.000 lux.

3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

Media kultur plankton diberikan pupuk walne dan vitamin dengan dosis masing-masing 1 ml/l. Lakukan penambahan dosis glukosa sesuai perlakuan yaitu 0 g/l, 0,10 g/l, 0,20 g/l, dan 0,30 g/l. Erlenmeyer yang telah diisi media kultur diletakkan pada rak kultur sesuai dengan rancangan percobaan (Gambar 3.) dengan menggunakan intensitas cahaya 3.000 lux dan diberikan aerasi. Bibit *T. chuii* dimasukkan pada media kultur dengan kepadatan awal sebesar 10^4 sel/ml (Ru'yatin, *et al.*, 2015). Penelitian ini menggunakan bibit *T.chuii* sebanyak 50,8 ml dengan kepadatan awal sebesar $11,67 \times 10^4$ sel/ml.

Pengamatan pertumbuhan mikroalga *T. chuii* dilakukan setiap hari selama masa kultur. Pengamatan pertumbuhan dilakukan setiap hari pada jam yang sama saat penanaman awal. Pengukuran uji parameter utama yaitu biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii* dilakukan saat pertumbuhan puncak

tertinggi (fase eksponensial). Parameter penunjang yang diukur meliputi suhu, pH, DO, nitrat, dan fosfat. Pengukuran suhu, pH, dan dilakukan sekali sehari, sedangkan pengukuran nitrat dan fosfat dilakukan pada media pemeliharaan saat awal kultur, fase eksponensial dan fase kematian.

3.6 Parameter yang Diukur

3.6.1 Parameter Utama

a. Pertumbuhan *T. chuii*

Perhitungan kepadatan pertumbuhan *T. chuii* dilakukan dari awal kultur hingga akhir percobaan. Perhitungan kepadatan *T. chuii* menggunakan metode perhitungan konsentrasi kepadatan sel dengan *haemocytometer* 0,1 mm dan dibantu menggunakan alat mikroskop cahaya. Menurut Armanda (2013), rumus kepadatan mikroalga dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Jika kepadatannya tinggi maka menggunakan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Jumlah } \left(\frac{\text{sel}}{\text{ml}} \right) = \frac{n}{\text{jumlah bidang pandang}} \times 25 \times 10 \times \text{faktor pengenceran}$$

b. Laju Pertumbuhan Spesifik

Laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan menggunakan rumus (Makkasau, *et al.*, 2011).

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}$$

Keterangan:

N_t : kepadatan populasi saat t (sel/ml)

t : waktu (hari)

N_0 : kepadatan populasi sel pada saat awal (sel/ml)

μ : tetapan laju pertumbuhan spesifik (hari⁻¹)

c. Doubling Time

Doubling time (dt) atau *generation time* (G) ialah waktu penggandaan dari sel biomassa *T. chuii*. Waktu penggandaan sel (td) merupakan rata-rata waktu generasi konsentrasi sel *Doubling Time* (hari) yang dihitung dari laju pertumbuhan berdasarkan rumus Vonshak (1997) sebagai berikut:

$$dt = G = \frac{\ln 2}{\mu \text{ (Laju pertumbuhan spesifik)}} = \frac{0,693}{\mu}$$

d. Biomassa

Menurut Janssen, *et al.* (1999), sampel yang digunakan untuk mengetahui biomassa mikroalga dilakukan pada saat akhir fase stasioner. Mikroalga disaring menggunakan kertas saring GF/C yang dikeringkan pada suhu 105°C selama 2 jam agar beratnya konstan. Timbang menggunakan timbangan digital dan dihitung sebagai A. Sampel suspensi mikroalga diambil sebanyak 25 ml dan filter melalui kertas saring GF/C yang telah di oven, lalu dicuci dengan akuades untuk menghindari garam yang tidak larut. Tahap berikutnya kertas saring dan mikroalga diletakkan di oven pada suhu 105°C selama 2 jam. Kertas saring diletakkan didesikator selama ± 30 menit, kemudian beratnya ditimbang dan dihitung sebagai B.

Perhitungan:

$$\text{Berat kering/biomassa (g/l)} = \frac{(B-A) \times 1.000}{\text{Volume sampel}}$$

e. Klorofil-a

Perhitungan klorofil-a dilakukan menggunakan cara modifikasi Bennett dan Bogorad (1973) dan Lichtenthaler (1987), langkah pertama yang dilakukan yaitu diambil 5 ml sampel mikroalga lalu dimasukkan dalam *falcon* dan dibungkus *aluminium foil* tertutup rapat. Sentrifugasi pada 5.000 rpm selama 20 menit dan

dibuang supernatannya. Lakukan proses *freezing-thawing* masing-masing 15 menit (hingga membeku dan mencair) sebanyak 3 kali ulangan. Tambahkan 5 ml *methanol absolute* lalu divortex selama 15 detik menggunakan *vortex mixer*. Campuran (endapan dan pelarut) diletakkan pada *hot plate* dengan suhu 70°C selama 30 menit. Sampel diinkubasi pada suhu 4°C dalam keadaan gelap selama 24 jam. Sampel divortex dan dilakukan sentrifugasi 6.000 rpm selama 10 menit. Perhitungan klorofil-a menurut Ritchie (2006), yaitu:

$$\text{Chl a } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right) = -8,0962 \times \text{OD}_{652} + 6,5169 \times \text{OD}_{665}$$

f. Kandungan Protein

Analisis protein yang dilakukan menggunakan metode Lowry (1951), langkah pertama analisa protein yaitu membuat reagen A (5% Na₂CO₃), reagen B (1% CuSO₄.5H₂O), reagen C (2% NaKC₄H₆.4H₂O), reagen D (campuran 50 ml reagen A + 1 ml reagen B + 1 ml reagen C), reagen *Folin-ciocalteau*, 1N NaOH dan larutan standard BSA (Bovine Serum Albumin). Konsentrasi larutan BSA yang digunakan yaitu 2 mg/ml. Tambah 0,5 ml 1N NaOH ke dalam 0,5 ml sampel suspensi alga dan panaskan pada suhu 100°C selama 10 menit pada *water bath* hingga mendidih, selanjutnya ditunggu hingga dingin. Tambahkan 2,5 ml reagen D ke masing-masing tabung, homogenkan hingga merata dengan menggunakan *vortex mixer* dan didiamkan selama 10 menit. Tambahkan 0,5 ml reagen *Folin-Ciocalteau* dan dihomogenkan hingga merata. Diamkan dan ditunggu hingga 30 menit dan spektrofotometer pada absorbansi 750 nm. Kadar protein dapat dihitung dengan rumus perhitungan berikut:

$$\text{Protein (\% Berat Kering)} = \frac{\frac{\text{OD-a}}{\text{b}}}{\text{biomassa alga kering (g)} \times 1.000} \times 100\%$$

Keterangan :

OD : Hasil spektrofotometer dengan panjang gelombang 750 nm

a : *Intercept* dalam persamaan regresi larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA)

b : *Slope* dalam persamaan regresi larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA)

3.6.2 Parameter Penunjang

a. Suhu

Pengukuran suhu penelitian ini dilakukan menggunakan termometer yang dicelupkan ke dalam media kultur kemudian dicatat hasilnya. Pengukuran suhu ini dilakukan 1 kali sehari pada pagi hari pukul 08.00 WIB.

b. Derajat Keasaman (pH)

Sampel air media diambil sebanyak 10 ml dalam botol film. Pengukuran derajat keasaman (pH) dilakukan menggunakan pH meter yang dicelupkan ke dalam media kultur dan dicatat hasilnya. Pengamatan pH dilakukan 1 kali sehari setiap 24 jam pada pagi hari pukul 08.00 WIB.

c. *Dissolved Oxygen* (DO)

Sampel air media diambil sebanyak 10 ml dalam botol film. Pengukuran DO penelitian ini dilakukan menggunakan DO meter yang dicelupkan ke dalam media kultur dan dicatat hasilnya. Pengukuran DO dilakukan sebanyak 1 kali setiap pukul 08.00 WIB selama penelitian.

d. Pengukuran Kadar Nitrat

Pengukuran kadar nitrat dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada awal tebar, fase puncak pertumbuhan tertinggi (eskponensial) dan fase menuju kematian. Cara pengukurannya yaitu air sampel disaring terlebih dahulu dituang sebanyak 12,5 ml. Air sampel yang telah disaring dimasukkan ke dalam cawan porselen dan dipanaskan sampai membentuk kerak dan didinginkan. Tambahkan 0,25 ml asam fenol disulfonik (6-7 tetes). Tambahkan sedikit akuades dan dikerik sampai keraknya larut semua. Sampel ditambahkan NH_4OH 1:1 sampai berwarna kuning (jika sudah 7 ml tapi tidak berwarna kuning maka dihentikan), lalu ditambahkan

akuades sampai seperti volume semula 12,5 ml. Sampel dimasukkan ke dalam cuvet untuk diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 410 nm (Boyd, 1979).

e. Pengukuran Kadar Fosfat

Pengukuran kadar fosfat dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada awal tebar, fase puncak pertumbuhan tertinggi dan fase menuju kematian. Cara pengukurannya yaitu air sampel diambil sebanyak 25 ml. Tambahkan 1 ml ammonium molybdate. Tetesi dengan 3 tetes SnCl_2 dan dihomogenkan, ditunggu sampai 10 menit hingga warna biru terbentuk. Masukkan ke dalam cuvet, kemudian kadar fosfat diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 690 nm (Boyd, 1979).

3.7 Analisis Data

Analisis data hasil penelitian ini dihitung secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan sesuai rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Analisa data ini dimulai dengan tahap analisis keragaman untuk mengetahui perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata atau berbeda sangat nyata ($F_{\text{hit}} > F_{\text{tabel}}$). Nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil), dari uji ini dilanjutkan dengan uji *polynomial orthogonal* untuk menentukan persamaan hubungan antara perlakuan uji dengan parameter uji.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan pertumbuhan *T. chuii* yang dikultur dalam kondisi mikсотrofik dengan pemberian dosis glukosa yang berbeda sebagai sumber karbon organik, diperoleh laju pertumbuhan spesifik, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii* seperti pada Tabel 1. Perhitungan lengkap terdapat pada Lampiran 6, Lampiran 7, Lampiran 8 dan Lampiran 9.

Tabel 1. Rata-Rata Parameter Uji *T. chuii* dengan Pemberian Dosis Glukosa yang Berbeda pada Kondisi Mikсотrofik

Parameter	Perlakuan Pemberian Glukosa			
	A (0 g/l)	B (0,10 g/l)	C (0,20 g/l)	D (0,30 g/l)
Konsentrasi Kepadatan Sel (10^4 sel/ml)	80,83 ± 0,589	94,17 ± 0,833	113,33 ± 0,589	90,83 ± 1,179
Laju Pertumbuhan Spesifik (Hari⁻¹)	0,466 ± 0,010 ^a	0,520 ± 0,002 ^b	0,544 ± 0,006 ^c	0,504 ± 0,013 ^b
Biomassa (g/l)	0,421 ± 0,016 ^a	0,625 ± 0,034 ^c	0,815 ± 0,032 ^d	0,537 ± 0,022 ^b
Klorofil-a (µg/ml)	1,370 ± 0,112 ^a	2,358 ± 0,111 ^c	3,170 ± 0,147 ^d	1,777 ± 0,118 ^b
Protein (% Berat Kering)	24,160 ± 0,536 ^a	30,793 ± 0,697 ^c	34,541 ± 0,418 ^d	27,695 ± 0,521 ^b

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan adanya pengaruh pada setiap perlakuan, dengan kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$)

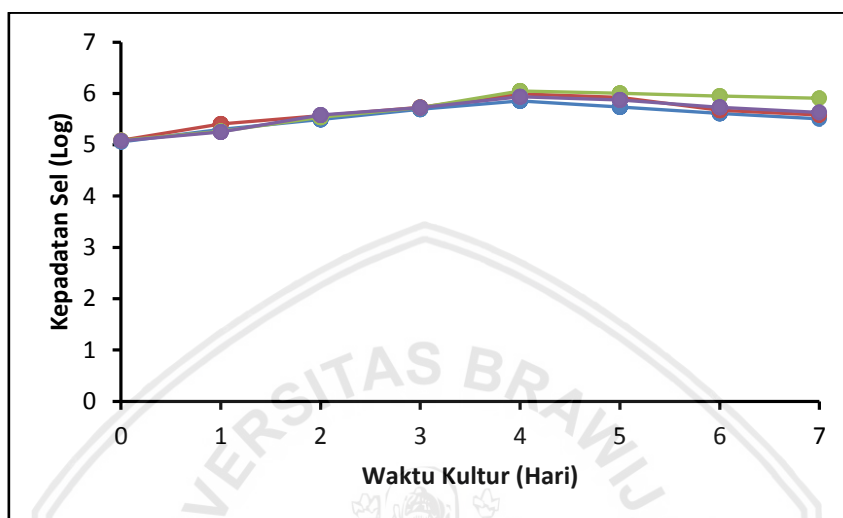
Data hasil pengamatan parameter pada Tabel 1. menunjukkan bahwa pemberian dosis glukosa yang berbeda berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan, biomassa, klorofil-a dan kandungan protein *T. chuii* didapatkan perlakuan terbaik yaitu pada perlakuan C dengan dosis glukosa 0,20 g/l.

4.1 Pengaruh Pemberian Glukosa terhadap Pertumbuhan *T. chuii*

4.1.1 Fase Pertumbuhan *T. chuii*

Pemberian glukosa dengan dosis 0 g/l, 0,10 g/l, 0,20 g/l dan 0,30 g/l menunjukkan pertumbuhan yang berbeda selama masa kultur. Hasil penelitian

menunjukkan bahwa setiap perlakuan berpengaruh nyata terhadap jumlah kepadatan sel pertumbuhan *T. chuii*. Data hasil pengamatan pertumbuhan dari mikroalga *T. chuii* dapat dilihat pada Gambar 4. Dan perhitungan terperinci terdapat pada Lampiran 7.



Gambar 4. Pertumbuhan *T. chuii* Selama 7 Hari Masa Kultur

Keterangan:

- A (—): dosis pemberian glukosa 0 g/l
 B (—): dosis pemberian glukosa 0,10 g/l
 C (—):dosis pemberian glukosa 0,20 g/l
 D (—):dosis pemberian glukosa 0,30 g/l

Pertumbuhan *T. chuii* meningkat seiring dengan pertambahan hari dimulai dari awal tebar dengan konsentrasi 10×10^4 sel/ml. Fase pertumbuhan fitoplankton meliputi fase adaptasi, fase eksponensial, fase penurunan pertumbuhan (fase stationer) dan fase kematian (Ru'yatin, *et al.*, 2015). Pendapat Trikuti, *et al.* (2016), menyatakan bahwa fase pertumbuhan mikroalga tergantung pada kandungan nutrisi pada media kultur. Jenis media kultur yang sesuai dapat mempercepat pertumbuhan mikroalga.

Fase fase eksponensial pada penelitian ini terjadi pada kultur hari ke-4. Kultur inokulan memasuki fase eskponensial ketika nutrisi, intensitas cahaya serta pH memenuhi kebutuhan mikroalga. Kondisi ini membantu mikroalga untuk

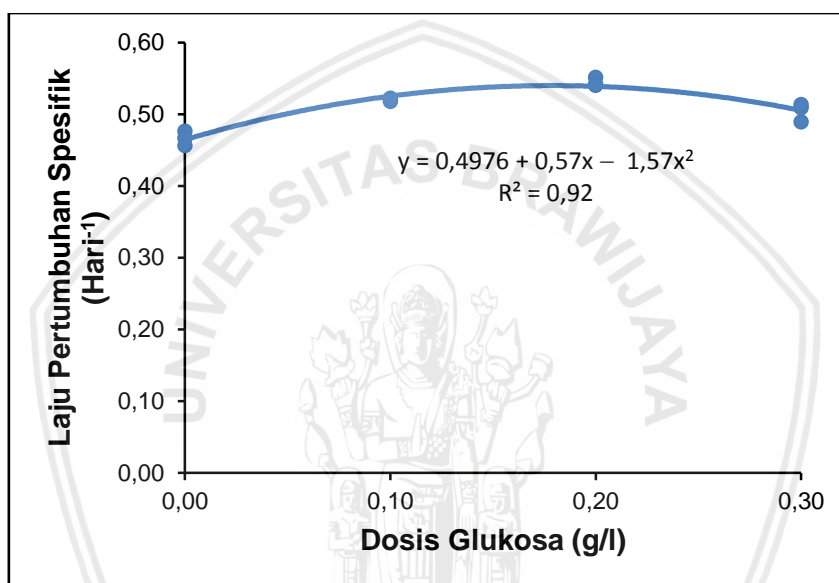
terus bereproduksi (Suantika dan Hendrawandi, 2009). Fase eksponensial tersebut ditandai dengan naiknya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat beberapa kali lipat (Setyawati, *et al.*, 2018). Fase stasioner terjadi setelah fase eksponensial yang ditandai dengan laju pertumbuhan seimbang dengan laju kematian. Pembelahan sel masih terjadi pada fase ini walaupun nutrisi semakin berkurang (Bahagia dan Viena, 2019). Selama penelitian fase stasioner terjadi pada hari ke-5 dan ke-6 pada masa kultur mikroalga *T.chuii*, kemudian mengalami penurunan pertumbuhan pada hari ke-7. Fase akhir pada pertumbuhan mikroalga yaitu fase kematian yang ditandai dengan laju kematian lebih cepat dibandingkan laju pertumbuhannya. Terjadi penurunan kepadatan dan kematian sel pada fase ini yang disebabkan nutrisi dalam media telah habis (Putra, *et al.*, 2015).

Kepadatan sel tertinggi rata-rata terjadi pada hari ke-4 masa kultur. Hasil konsentrasi sel tertinggi pada perlakuan pemberian dosis glukosa 0,20 g/l (perlakuan C) sebesar $113,33 \times 10^4$ sel/ml dan konsentrasi sel terendah pada perlakuan pemberian glukosa 0 g/l (perlakuan A) sebesar $77,50 \times 10^4$ sel/ml (Lampiran 3.). Kepadatan sel *T. chuii* pada fase eksponensial dapat mencapai 127×10^4 sel/ml. Laju pertumbuhan menggambarkan kecepatan penambahan sel-sel mikroalga per satuan waktu yang dapat dipakai sebagai tolak ukur untuk mengetahui daya dukung media atau nutrisi terhadap pertumbuhan dan pembelahan sel mikroalga (Simamora, *et al.*, 2017). Kultur mikсотrofik dapat meningkatkan dan mempercepat siklus pertumbuhan dengan menghasilkan kepadatan yang tinggi dengan penambahan karbon organik dan pencahayaan yang cukup (Adesanya, *et al.*, 2014).

4.1.2 Laju Pertumbuhan *T. chuii*

Laju pertumbuhan spesifik *T.chuii* tertinggi terdapat pada perlakuan pemberian dosis glukosa 0,20 g/l (perlakuan C) sebesar $0,544 \text{ hari}^{-1}$ dengan

doubling time selama 1,274 hari dan terendah pada perlakuan pemberian dosis glukosa 0 g/l (perlakuan A) sebesar 0,466 hari⁻¹ dengan *doubling time* selama 1,487 hari (Lampiran 4. Dan Lampiran 5.). Perbedaan hasil laju pertumbuhan spesifik antara perlakuan secara statistik dapat diketahui melalui uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil uji BNT diketahui bahwa perlakuan pemberian glukosa dengan dosis berbeda berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik *T.chuii*.



Gambar 5. Hubungan Dosis Glukosa yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik *T. chuii*

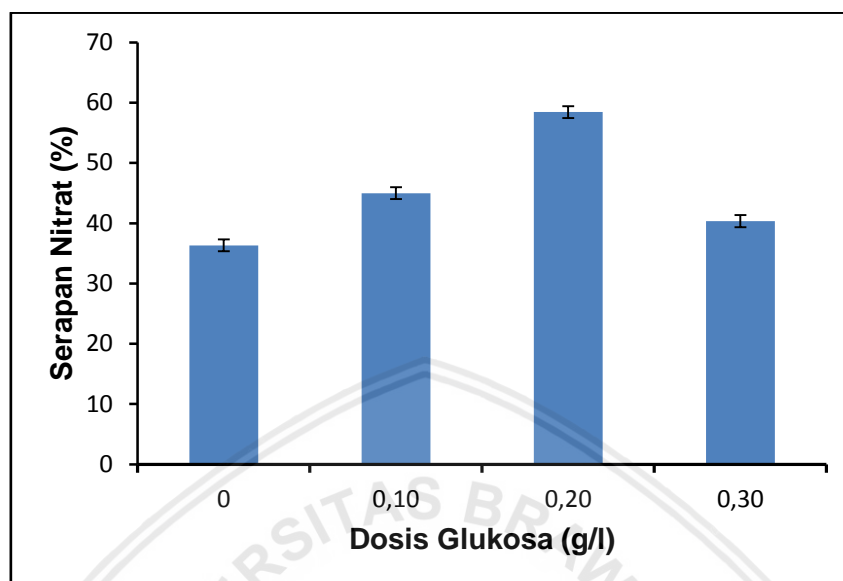
Hasil tersebut kemudian dilanjutkan dengan perhitungan *polynomial orthogonal* dan didapatkan kurva respon dengan pola kuadratik (Gambar 5.). Hubungan pemberian dosis glukosa yang berbeda terhadap laju pertumbuhan spesifik *T. chuii* menunjukkan persamaan kuadratik $y = 0,4976 + 0,57x - 1,57x^2$ dengan nilai R^2 yaitu 0,92 (Lampiran 6.). Berdasarkan persamaan kuadratik tersebut didapatkan dosis pemberian glukosa yang terbaik sebesar 0,18 g/l menghasilkan laju pertumbuhan spesifik sebesar 0,549 hari⁻¹. Dosis pemberian glukosa 0,18 g/l merupakan titik optimum, jika dosis yang diberikan terlalu tinggi atau rendah mengakibatkan pertumbuhan mikroalga menurun dan

mempengaruhi kepadatan serta laju pertumbuhan *T. chuii*. Glukosa merupakan sumber karbon organik yang baik digunakan untuk pertumbuhan mikсотrofik. Pemberian dosis glukosa yang kurang akan menyebabkan mikroalga kekurangan sumber C:N sehingga laju pertumbuhan akan terhambat, sedangkan dosis glukosa yang diberikan melebihi kebutuhan C:N mikroalga maka dapat mengakibatkan kelebihan nutrisi pada media kultur (Setyoningrum, *et al.*, 2014). Hal ini sesuai dengan pendapat Widayat dan Hadiyanto (2015), bahwa setiap mikroalga mempunyai batas maksimum dalam pemanfaatan unsur hara pada media kultur. Pemberian jumlah glukosa yang berlebih akan menyebabkan penumpukan nutrisi sehingga pertumbuhan mikroalga terhambat. Penumpukan nutrisi dapat menurunkan laju fotosintesis mikroalga, karena mikroalga memerlukan waktu yang lama untuk beradaptasi.

Perubahan fase pertumbuhan dan laju pertumbuhan spesifik mikroalga berbanding lurus dengan serapan nutrisi berupa nitrat dan fosfat. Laju penyerapan unsur hara meningkat seiring dengan peningkatan laju pertumbuhan. Penurunan nilai nitrat dan fosfat terjadi karena dimanfaatkan sebagai nutrisi pertumbuhan mikroalga (Mulyanto dan Handayani, 2015). Ketersediaan makronutrien N dan P dibutuhkan dalam jumlah yang banyak. Unsur nitrat dan fosfat mempengaruhi perkembangan dan kadar protein mikroalga. Hal ini dikarenakan ketersediaan unsur nitrat dan fosfat sangat diperlukan dalam media kultur, maka ketersediaan unsur makro dan mikro nutrisi sangat mutlak diperlukan (Dinata, *et al.*, 2017).

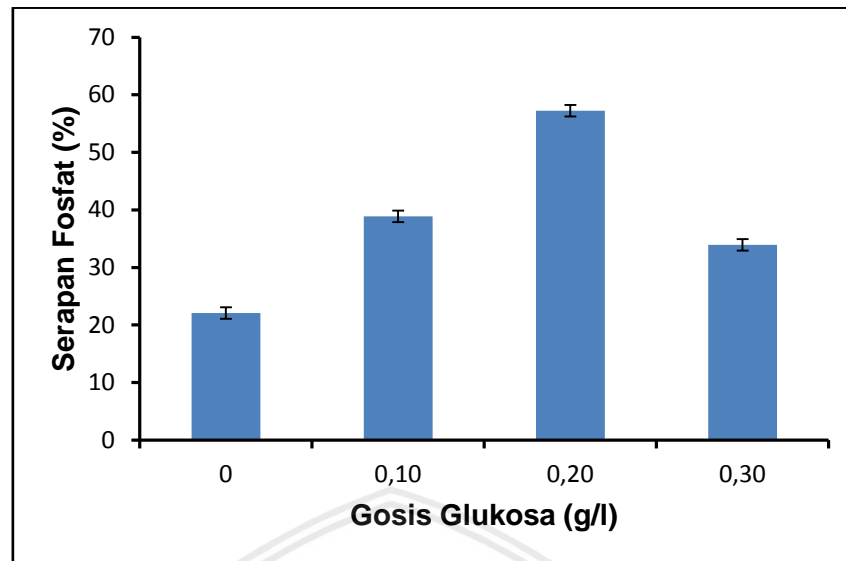
Serapan nitrat dan fosfat pada fase puncak (fase eksponensial) memiliki nilai yang besar daripada fase kematian. Nilai serapan nitrat dan fosfat tertinggi terdapat pada perlakuan pemberian dosis glukosa 0,20 g/l (perlakuan C) dan nilai serapan terendah pada perlakuan pemberian dosis glukosa 0 g/l (perlakuan A). Tinggi atau rendahnya nilai serapan nitrat dan fosfat bergantung pada kebutuhan

mikroalga selama fase pertumbuhan, pada fase eksponensial membutuhkan serapan nitrat dan fosfat yang tinggi untuk kebutuhan pembentukan sel.



Gambar 6. Nilai Serapan Nitrat *T. chuii* Selama Penelitian

Nilai serapan nitrat pada Gambar 6. menunjukkan bahwa serapan nitrat tertinggi terdapat pada perlakuan pemberian dosis glukosa 0,20 g/l (perlakuan C) dengan serapan mencapai 58,43% dan nilai serapan nitrat terendah pada perlakuan pemberian dosis glukosa 0 g/l (perlakuan A) mencapai 36,34% (Lampiran 10.). Nitrat yang terdapat pada media kultur digunakan oleh *T.chuii* untuk pertumbuhan dan reproduksi sel. Konsentrasi sel yang tinggi akan meningkatkan kebutuhan nitrat sehingga memperbesar nilai serapan nitrat. Unsur nitrogen yang terdapat dalam nitrat merupakan unsur hara makro yang dibutuhkan untuk produktifitas biomassa mikroalga, pembentukan protein dan klorofil (Arnata, *et al.*, 2013). Pengaruh variasi dari konsentrasi nitrogen memberikan dampak berupa penurunan biomassa dan kandungan protein. Unsur nitrogen pada pupuk walne dalam bentuk nitrat (NaNO_3). Nitrat bersifat mudah larut dalam air sehingga mikroalga mudah memanfaatkan nitrat tersebut sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya (Purwitasari, *et al.*, 2012). Kisaran dosis nitrat (NO_3) untuk pertumbuhan fitoplankton adalah 0,9 – 3,5 ppm (Handajani, 2006).



Gambar 7. Nilai Serapan Fosfat Selama Penelitian

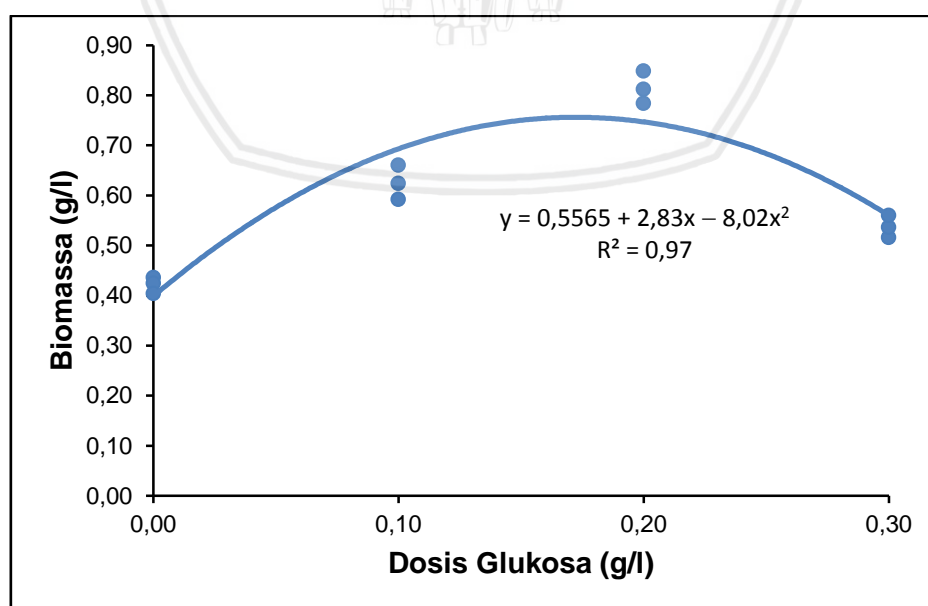
Nilai serapan fosfat pada Gambar 7. menunjukkan bahwa serapan pada fase eksponensial lebih tinggi dibandingkan dengan serapan pada fase kematian. Serapan fosfat tertinggi didapatkan pada perlakuan C yaitu pemberian dosis glukosa sebanyak 0,20 g/l dan serapan fosfat terendah pada pemberian dosis glukosa sebanyak 0 g/l. Semakin tinggi kepadatan sel maka serapan fosfat juga akan semakin bertambah pula. Data serapan fosfat dapat dilihat pada Lampiran 10.

Nilai serapan fosfat tertinggi yaitu pada perlakuan pemberian dosis glukosa 0,20 g/l (perlakuan C) sebesar 57,21% dan nilai serapan fosfat terendah pada perlakuan pemberian dosis glukosa 0 g/l (perlakuan A) sebesar 22,05% (Lampiran 10.). Nilai serapan fosfat dengan pemberian dosis glukosa 0,20 g/l (perlakuan C) merupakan nilai serapan tertinggi selama penelitian. Semakin tinggi fosfat yang terserap maka pertumbuhan *T. chuii* akan meningkat pula. Fosfat merupakan salah satu unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan berperan dalam transfer energi jaringan makanan (Padang, *et al.*, 2018). Pertumbuhan fitoplankton membutuhkan kandungan unsur P yang optimal berkisar 0,27 – 5,51 mg/l (Agung, *et al.*, 2014).

4.2 Pengaruh Pemberian Glukosa terhadap Biomassa *T. chuii*

Perhitungan uji F biomassa pada Lampiran 7. didapatkan hasil $F_{hitung} > F_{table}$ sehingga pemberian dosis glukosa yang berbeda berpengaruh nyata terhadap produksi biomassa *T. chuii*. Hasil uji BNT diperoleh bahwa perlakuan C lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dosis pemberian glukosa yang diberikan memiliki titik optimum. Berdasarkan biomassa pada Tabel 1. menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada setiap perlakuan, dimana perlakuan C (0,20 g/l) memiliki biomassa *T. chuii* yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Hasil tersebut kemudian dilanjutkan dengan perhitungan *polynomial orthogonal* dan didapatkan kurva respon dengan pola kuadratik (Gambar 8.). Hubungan pemberian dosis glukosa yang berbeda terhadap biomassa *T. chuii* menunjukkan persamaan kuadratik $y = 0,5565 + 2,83x - 8,02x^2$ dengan nilai R^2 yaitu 0,97 (Lampiran 7.). Berdasarkan persamaan kuadratik tersebut didapatkan dosis pemberian glukosa yang terbaik sebesar 0,18 g/l menghasilkan biomassa sebesar 0,806 g/l.



Gambar 8. Hubungan Pemberian Glukosa yang Berbeda terhadap Produksi Biomassa *T. chuii*

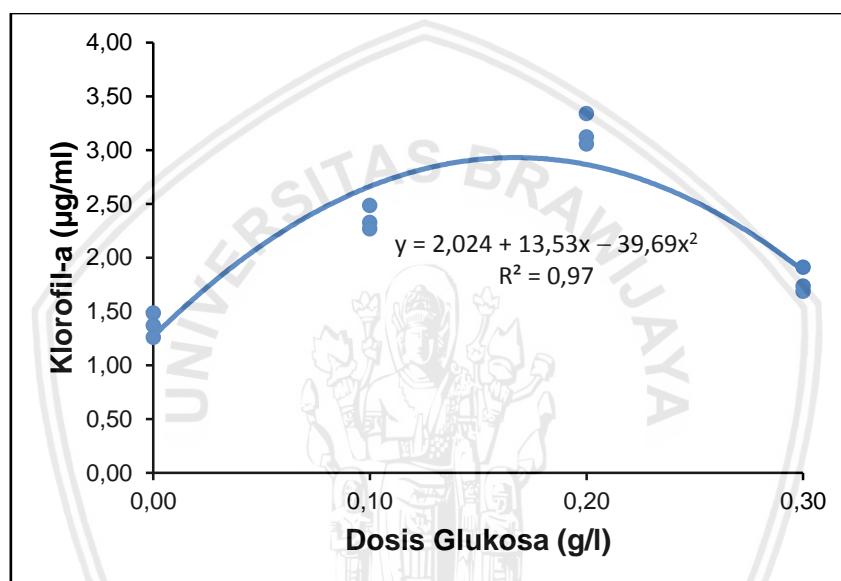
Pertumbuhan mikroalga pada kultur mikсотrofik berpengaruh terhadap produksi biomassa mikroalga. Nutrisi selama kultur mikсотrofik meningkatkan biomassa melalui pemanfaatan karbon organik (Mohan dan Devi, 2014). Pemberian glukosa berlebih akan menurunkan biomassa pada mikroalga, hal tersebut dapat terjadi karena pembentukan biomassa terjadi melalui proses fotosintesis yang membutuhkan enzim untuk meningkatkan laju fotosintesis (Pertamawati, 2010). Fotosintesis memiliki 2 proses yaitu reaksi gelap dan reaksi terang. Penambahan glukosa berperan pada proses glikolisis yang terjadi saat reaksi gelap. Glukosa akan dipecah menjadi 2 molekul asam piruvat, 2 molekul ATP dan 2 molekul NADH. ATP digunakan untuk energi dan NADH digunakan untuk transport elektron. Tahap selanjutnya yaitu yaitu perubahan asam piruvat menjadi asetil-KoA dengan melepaskan CO₂ dan NADH (dekarboksilasi oksidatif). Asetil-KoA akan diproses dalam siklus krebs yang menghasilkan 1 molekul ATP, 1 molekul FADH, 3 molekul NADH, 2 molekul CO₂ yang dimanfaatkan oleh mikroalga sebagai karbon anorganik (Liang, *et al.*, 2009).

Penurunan biomassa diduga bahwa nutrien yang berlebih tidak dimanfaatkan secara efektif sehingga akan menghasilkan tumpukan bahan organik akhirnya dapat menghambat pertumbuhan, karena dengan adanya sifat racun maka efektivitas metabolisme sel secara langsung akan terganggu (Meritasari, *et al.*, 2012). Glukosa berlebih akan menghasilkan CO₂ yang berlebih pula. CO₂ yang dihasilkan akan bereaksi dengan media kultur menghasilkan asam karbonat (H₂CO₃) yang bersifat asam dan dapat menimbulkan racun dalam bentuk ion di perairan. Sifat yang terlalu asam mempengaruhi kerja enzim dan memiliki efek buruk terhadap proses pertumbuhan (Susana, 1988).

4.3 Pengaruh Pemberian Glukosa terhadap Klorofil-a *T. chuii*

Perhitungan uji F klorofil-a pada Lampiran 8. didapatkan hasil F hitung > F table sehingga pemberian dosis glukosa yang berbeda berpengaruh nyata

terhadap kandungan klorofil-a *T. chuii*. Hasil uji BNT diperoleh bahwa perlakuan C lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dosis pemberian glukosa yang diberikan memiliki titik optimum. Berdasarkan kandungan klorofil-a pada Tabel 1. menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada setiap perlakuan, dimana perlakuan C (0,20 g/l) memiliki kandungan klorofil-a *T. chuii* yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya.



Gambar 9. Hubungan Pemberian Glukosa yang Berbeda terhadap Klorofil-a *T. chuii*

Hasil tersebut kemudian dilanjutkan dengan perhitungan *polynomial orthogonal* dan didapatkan kurva respon dengan pola kuadratik (Gambar 9.). Hubungan pemberian dosis glukosa yang berbeda terhadap kandungan klorofil-a *T. chuii* menunjukkan persamaan kuadratik $y = 2,024 + 13,53x - 39,69x^2$ dengan nilai R^2 yaitu 0,97 (Lampiran 8.). Berdasarkan persamaan kuadratik tersebut didapatkan dosis pemberian glukosa yang terbaik sebesar 0,17 g/l menghasilkan klorofil-a sebesar 3,178 µg/ml.

Tinggi rendahnya kelimpahan mikroalga dapat mempengaruhi besar atau kecilnya kandungan klorofil-a. Parameter lingkungan yang mempengaruhi

kandungan klorofil-a adalah intensitas cahaya, suhu, oksigen terlarut dan nutrisi (Aryawati dan Thoha, 2011). Nitrat dan fosfat merupakan unsur hara yang esensial bagi tingkat pertumbuhan mikroalga, sedangkan klorofil-a merupakan jenis klorofil yang paling banyak terdapat pada fitoplankton (Zulfia dan Aisyah, 2013). Cahaya dan nutrisi berperan penting dalam pembentukan klorofil pada mikroalga. Sintesis klorofil dapat terjadi pada kondisi gelap maupun kondisi terang dengan intensitas cahaya yang rendah. Pada reaksi berantai pembentukan klorofil-a dapat terjadi bila ada cahaya matahari (Riyono, 2007).

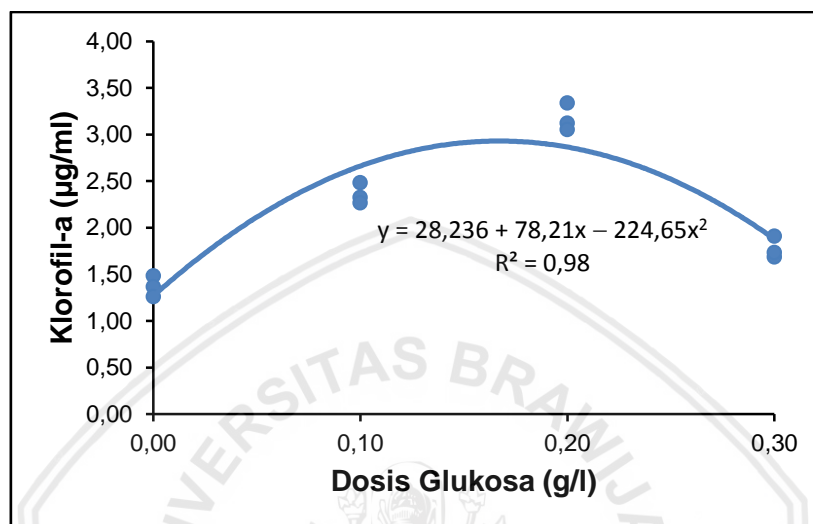
Konsentrasi klorofil-a sangat tergantung pada ketersediaan nutrisi dan intensitas cahaya dalam suatu perairan. Ketersediaan nutrisi nitrat dan fosfat akan diserap mikroalga, sehingga proses metabolisme berjalan dengan baik termasuk fotosintesis klorofil (Amanatin dan Nurhidayati, 2013). Penambahan konsentrasi glukosa akan menghasilkan klorofil yang tinggi. Klorofil tersebut digunakan dalam penyerapan cahaya dalam proses fotosintesis. Intensitas cahaya yang tinggi hanya digunakan sepenuhnya untuk pertumbuhan mikroalga (Cheirslip and Torpee, 2012).

4.4 Pengaruh Pemberian Glukosa terhadap Kadar Protein *T. chuii*

Perhitungan uji F kadar protein pada Lampiran 9. Didapatkan bahwa hasil F hitung > F table sehingga pemberian dosis glukosa yang berbeda berpengaruh nyata terhadap kadar protein *T. chuii*. Hasil uji BNT diperoleh bahwa perlakuan C lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Berdasarkan kadar protein pada Tabel 1. menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada setiap perlakuan, dimana perlakuan C (0,20 g/l) memiliki kadar protein *T. chuii* yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Hasil tersebut kemudian dilanjutkan dengan perhitungan *polynomial orthogonal* dan didapatkan kurva respon dengan pola kuadratik (Gambar 10.). Hubungan pemberian dosis glukosa yang berbeda terhadap kandungan protein

T. chuii menunjukkan persamaan kuadrat $y = 28,236 + 78,21x - 224,65x^2$ dengan nilai R^2 yaitu 0,98 (Lampiran 9.). Berdasarkan persamaan kuadrat tersebut didapatkan dosis pemberian glukosa yang terbaik sebesar 0,17 g/l menghasilkan protein sebesar 35,04%.



Gambar 10. Hubungan Pemberian Glukosa yang Berbeda terhadap Kadar Protein *T. chuii*

Glukosa yang digunakan dalam kultur mikroalga pada kondisi mikсотrofik dapat meningkatkan protein mikroalga. Kandungan nutrisi pada media kultur juga berperan dalam proses sintesis asam amino sebagai penyusun protein dan memperbanyak sel mikroalga (Christiani, *et al.*, 2017). Nitrogen dalam bentuk NO_3 akan digunakan untuk metabolisme sel seperti katabolisme maupun asimilasi khususnya biosintesis protein. Asam glutamat merupakan bahan dasar dalam biosintesis asam amino yaitu sebagai penyusun utama dalam makromolekul protein (Hadi, *et al.*, 2015).

Konsentrasi glukosa yang berlebih dapat menurunkan kandungan protein. Hal ini menunjukkan bahwa produksi mikroalga bergantung pada sumber karbon yang digunakan (El-sheekh, *et al.*, 2012). Sumber karbon dan nutrisi yang berlebih dapat menghambat biosintesis protein, karena mikroalga memiliki batas maksimum dalam pemanfaatan sumber karbon dan nutrisi di dalam media kultur

(Amanatin dan Nurhidayati, 2013). Konsentrasi nitrogen dan fosfor yang rendah akan menghambat sintesis protein, sehingga menyebabkan sel-sel alga mengalami penurunan kandungan protein yang pada umumnya diikuti oleh degradasi berbagai komponen sel yang berkaitan dengan protein (Chrismadha, *et al.*, 2006).

4.5 Parameter Kualitas Air

Parameter penunjang yang dilakukan pada penelitian ini yaitu suhu, derajat keasaman (pH) dan *dissolved oxygen* (DO). Data pengamatan parameter penunjang dapat dilihat pada Lampiran 10. Kisaran suhu selama penelitian berkisar 29 – 31°C. Keseimbangan temperatur suhu selama penelitian harus selalu diperhatikan. Kisaran suhu optimal untuk pertumbuhan *T. chuii* antara 25 – 30°C, tetapi masih dapat bertahan hidup pada suhu 40°C (Pratiwi, *et al.*, 2019). Hal ini sesuai dengan Padil, *et al.* (2016), yang menyatakan bahwa peningkatan suhu dapat meningkatkan aktivitas enzim bersamaan dengan laju proses metabolisme akan naik sampai batasan suhu maksimal.

Hasil pH yang didapat selama penelitian berkisar antara 7,38 – 8,78. Derajat keasaman (pH) sangat berpengaruh terhadap media kultur sebagai lingkungan hidup fitoplankton. Kisaran pH optimum untuk pertumbuhan *T. chuii* adalah 7 – 8,5 (Baharuddin, 2011). Derajat keasaman (pH) mempengaruhi fisiologi mikroalga, sehingga perubahannya mempengaruhi pertumbuhan diatom (Asia, *et al.*, 2018). Kandungan oksigen terlarut pada saat penelitian berkisar antara 6,72 – 7,74 ppm. Oksigen terlarut dalam air dapat berasal dari proses difusi dan proses fotosintesis fitoplankton. Oksigen terlarut digunakan mikroalga untuk respirasi agar terjadi pertukaran udara dengan CO₂ (Munir, *et al.*, 2017).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian tentang pengaruh pemberian glukosa yang berbeda terhadap laju pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan kadar protein *T. chuii* maka diperoleh kesimpulan yaitu:

- Pada penelitian ini pemberian glukosa yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan kadar protein *T. chuii*.
- Pemberian glukosa terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *T. chuii* berkisar antara 0,17 – 0,18 g/l dengan laju pertumbuhan spesifik 0,549 hari⁻¹, produksi biomassa sebesar 0,81 g/l, klorofil-a sebesar 3,18 µg/ml dan kadar protein sebesar 35,04%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian glukosa yang berbeda disarankan untuk menggunakan dosis antara 0,17 – 0,18 g/l pada saat kultur *T. chuii* untuk mendapatkan pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan kadar protein terbaik. Saran untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan penelitian dengan pemberian sumber karbon berbeda pada kultur *T. chuii* pada kondisi mikсотrofik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrachman, O., M. Mutiara dan L. Buchori. 2013. Peningkatan karbondioksida dengan mikroalga (*Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas* sp., *Spirulina* sp.) dalam upaya untuk meningkatkan kemurnian biogas. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. **2** (4): 212-216.
- Adesanya, V. O., M. P. Davey, S. A. Scott and A. G. Smith. 2014. Kinetic modelling of growth and storage molecule production in microalgae under mixotrophic and autotrophic conditions. *Bioresource Technology*. **157** (1): 293-304.
- Adi, I. A., A. A. M. D. Anggreni dan I. W. Arnata. 2015. Optimalisasi salinitas dan pH awal media BG-11 terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil *Tetraselmis chunii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agrobisnis*. **3** (4): 5-61.
- Agung, G. I., M. Lutfi dan W. A. Nugroho. 2014. Pengaruh penambahan cahaya di malam hari terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. pada instalasi pengolahan limbah cair industri tahu tipe *Recirculate Raceway Pond*. **2** (3): 287-296.
- Amanatin, D. R. dan T. Nurhidayati. 2013. Pengaruh konsentrasi media ekstrak tauge (met) dengan pupuk urea terhadap kadar protein *Spirulina* sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **2** (2): 182-185.
- Anwar, S., J. Hutabarat dan V. E. Herawati. 2017. Performa peningkatan lemak dan asam lemak linoleat dari *Daphnia* sp. dengan menggunakan fermentasi kotoran burung puyuh, roti afkir, dan ampas tahu. *Bioma*. **19** (2): 150-158.
- Armanda, D.T. 2013. Pertumbuhan kultur mikroalga diatom *Skeletonema costatum (greville) cleve* isolat jepara pada medium F/2 dan medium Conway. *Bioma*. **2** (1):49-63.
- Arnata, W., B. W. Gunam, A. M. M. D. Anggreni, W. R. Aryanta dan P. M. Loberto. 2013. Produksi biomassa dan potensi nutrisi mikroalga *Nannochloropsis* sp. K4. *E-Jurnal Universitas Udayana*. **1** (1): 1-12.
- Aryawati, R. dan H. Thoha. 2011. Hubungan kandungan klorofil-a dan kelimpahan fitoplankton di Perairan Berau Kalimantan Timur. *Maspari Journal*. **2** (1): 89-94.
- Asia, N., M. Idris, A. Rahman, A. Kurnia dan I. J. Effendy. 2018. Identifikasi jenis dan kepadatan bentik mikroalga dari *Enhalus acoroides* dan *Gracillaria arcuata* yang dikultur pada bak Ssstem IMTA (*Integrated Multi Trophic Aquaculture*). *Media Akuatika*. **3** (1): 581-589.

- Aulia, M., T. Istirokhatum dan Sudarno. 2017. Penyisihan kadar COD dan nitrat melalui kultivikasi *Chlorella* sp. dengan variasi konsentrasi limbah cair tahu. *Jurnal Teknik Lingkungan*. **6** (2): 1-9.
- Bachtiar, Y. dan Tim Lentera. 2003. Kiat mengatasi permasalahan praktis: menghasilkan pakan alami untuk ikan hias. Agromedia Pustaka: Jakarta. 76 hlm.
- Bahagiana dan V. Viena. 2019. Analisis CO₂ Pertumbuhan mikro alga hijau dengan menggunakan fermentor dalam tanki tertutup. *Serambi Engineering*. **4** (1): 464-470.
- Baharuddin, M. 2011. Analisis perbedaan kandungan lipida mikroalga (*Tetraselmis chuii* dan *Nannochloropsis oculata*). *Jurnal Teknosains*. **5** (1): 26-32.
- Bennett, A. and L. Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *Journal of Cell Biology*. **58** (2): 419-435.
- Boyd, C. E. 1979. Water quality in warmwater fish pond agricultural experiment station, Auburn University. Auburn, Alabama, USA. 359 p.
- Brahmantara, I. B. G., A. A. M. D. Anggreni dan I. B. W. Gunam. 2015. Pengaruh konsentrasi penambahan sodium fosfat pada media guillard terhadap konsentrasi biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Rekayasa dan Agroindustri*. **3** (4): 73–81.
- Budiardi, T., N. B. P. Utomo dan A. Santosa. 2010. Pertumbuhan dan kandungan nutrisi *Spirulina* sp pada fotoperiode yang berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **9** (2): 146–156.
- Butcher, R. W. 1959. *An introductory account of the smaller algae of british coastal waters, part 1 introduction and Chlorophyceae, fishery investigation series IV*. HMSO. London. 560 pg.
- Cheirsilp, B. and S. Torpee. 2012. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Biosource Technology*. **110** (1): 510-516.
- Chen, C. Y., K. L. Yeh, R. Aisyah, D. J. Lee and J. S. Chang. 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. *Bioresource Technology*. **102** (1): 71-81.
- Christiani., H. A. I. Insan dan H. A. Hidayah. 2017. Pertumbuhan mikroalga hasil budidaya skala laboratorium dengan media kultur limbah cair tapioka. *Prosiding Seminar Nasional*. **7**: 17-18.
- Chrimadha, T., L. M. Panggabean dan Y. Mardiaty. 2006. Pengaruh konsentrasi nitrogen dan fosfor terhadap pertumbuhan, kandungan protein,

- karbohidrat dan fikosianin pada kultur *Spirulina fusiformis*. *Berita Biologi*. **1** (1): 163-169.
- Darmawan, J. 2014. Pertumbuhan populasi *Daphnia* sp. pada media budidaya dengan penambahan air buangan budidaya ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Berita Biologi Jurnal Ilmu Ilmu Hayati*. **13** (1): 57-63.
- Dinata, K. D. W. B., A. A. D. Anggreni dan N. S. Antara. 2017 Pengaruh konsentrasi natrium nitrat dan natrium dehidrogen fosfat pada media walne terhadap konsentrasi biomassa dan protein *Nannochloropsis oculata*. *Jurna Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **5** (1): 40-49.
- Djarajah, A. S. 1996. Pakan ikan alami. Kanisius. Yogyakarta. 88 hlm.
- El-Sheekh, M. M., M. Y. Bedaiwy, M. E. Osman and M. M. Ismail. 2012. Mixotrophic and heterotrophic growth of some microalgae using extract of fungal-treated wheat bran. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*. **1** (12): 1-9.
- Fitria, S., C. N. Defira dan Nurfadillah. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak bayam dengan dosis yang berbeda terhadap laju pertumbuhan dan kepadatan populasi *Infusoria*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. **3** (1): 157-162.
- Gultom, S. O. 2018. Mikroalga sumber energi terbarukan masa depan. *Jurnal Kelautan*. **11** (1): 95-103.
- Hadi, R. P., T. R. Setyawan dan Mukarlina. 2015. Kandungan protein dan kepadatan sel *Nannochloropsis oculata* pada media kultur limbah cair karet. *Protobiont*. **4** (1): 120-127.
- Handajani, H. 2006. Pemanfaatan limbah cair tahu sebagai pupuk alternatif pada kultur mikroalga *Spirulina* sp. *Jurnal Protein*. **13** (2):189-193.
- Handayani, N. A. dan D. Ariyanti. 2012. Potensi mikroalga sebagai sumber biomasa dan pengembangan produk turunannya. *Teknik*. **33** (2): 58-65.
- Hartanto, R. 2003. Modul metodologi penelitian. Universitas Diponegoro: Semarang. 24 hlm.
- Indarmawan, T., A.S. Mubarak dan G. Mahasri. 2012. Pengaruh konsentrasi pupuk *Azolla pinnata* terhadap populasi *Chaetoceros* sp. *Journal of Marine and Coastal Science*. **1** (1): 61-70.
- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. Teknik kultur fitoplankton dan zooplankton. Kanisius. Yogyakarta. 116 hlm.
- Janssen, M., T. C. Kuijpers., B. Veldhoen., M.B. Ternbach., J. Tramper., L. R. Mur and R. H. Wijffels. 1999. Specific growth rates of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* under medium duration light/dark cycles: 13-87s. *Journal Biotechnology*. **70**: 323-333.

- Jati, F., J. Hutabarat dan V.E. Herawati. 2012. Pengaruh penggunaan dua jenis media kultur teknis yang berbeda terhadap pola pertumbuhan, kandungan protein, dan asam lemak omega 3 EPA (*Chaetoceros gracilis*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **1** (1): 221-235.
- Kabinawa, I.N. K. 2006. Spirulina ganggang penggempur aneka penyakit. AgroMedia Pustaka. Tangerang: 66 hlm.
- Kawaroe, M., T. Prartono, A. Sunuddin, D. W. Sari dan D. Augustine. 2009. Laju pertumbuhan spesifik *Chlorella* sp. dan *Dunaliella* sp. berdasarkan perbedaan nutrisi dan fotoperiode. *Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*. **16** (1): 73-77.
- Khotimah, K. 2018. Membangun ketahanan energi pendukung pertahanan maritime melalui pemanfaatan mikroalga sebagai biodiesel bagi masyarakat pesisir. *Jurnal Pertahanan & Bela Negara*. **9** (1): 67-84.
- Kong, W. B., H. Yang, Y. T. Cao, H. Song, S. F. Hua and C. G. Xia. 2013. Effect of glycerol and glucose on the enhancement of biomass, lipid and soluble carbohydrate production by *Chlorella vulgaris* in mixotrophic culture. *Biotechnol.* **51** (1): 62-69.
- Lake, I. G., Y. Conterius dan D. D. A. A. Daud. 2017. Kajian material lokal guna mendapatkan bahan timbunan pilihan untuk diterapkan pada ruas jalan perbatasan TTU-Timor Leste. *Jurnal Teknik Sipil*. **2** (1): 82-92.
- Lee, Y. K. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*. **13** (1): 307-315.
- Leksono, A. W., D. Mutiara dan I. A. Yusanti. 2017. Penggunaan pupuk organik cair hasil fermentasi dari *Azolla pinnata* terhadap kepadatan sel *Spirulina* sp. *Jurnal Ilmu Ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan*. **12** (1): 56-65.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology*. **148** (1): 350-382.
- Lowry, O. H., N. J. Roseborough., A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagen. *Journal of Biological Chemistry*. **193** (1): 265-275.
- Liang, Y., N. Sarkany, dan Y. Cui. 2009. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. *Biotechnol.* **31** (1): 1043-1049.
- Lu, L., J. Wang, G. Yang, B. Zhu and K. Pan. 2017. Heterotrophic growth and nutrient productivities of *Tetraselmis chunii* using glucose as a carbon source under different C/N ratios. *J. Appl Phycol.* **29** (1): 15-21.
- Makkasau, A., M. Sjahrul., M. N. Jalaluddin dan I. Raya. 2011. Teknik fitoremediasi fitoplankton suatu alternatif pemulihan lingkungan laut

- yang tercemar ion logam Cd^{2+} dan Cr^{6+} . *Pendidikan Guru*. **7** (2): 155-168.
- Martinez, M. E., A. F. Camacho, B. J. M. Jimnez and J. B. Espinola. 1996. Influence of light intensity on the kinetic and yield parameters of *Chlorella pyrenoidosa* mixotrophic growth. *Process Biochemistry*. **32** (2) : 93-98.
- Maryam, S., G. Diansyah dan Isnaini. 2015. Pengaruh pemberian pakan fitoplankton (*Tetraselmis* sp., *Porphyridium* sp. Dan *Chaetoceros* sp.) terhadap laju pertumbuhan zooplankton *Diaphanosoma* sp. pada skala laboratorium. *Maspari Journal*. **7** (2): 41–50.
- Maulana, P. M., S. Karina dan S. Mellisa. 2017. Pemanfaatan fermentasi limbah cair tahu menggunakan EM4 sebagai alternative nutrisi bagi mikroalga *Spirulina* sp. *Jurnal Ilmu Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. **2** (1): 104–112.
- Meritasari, D., A. S. Mubarak, L. Sulmartiwi dan E. D. Masithah. 2012. Pengaruh pemberian pupuk cair limbah ikan lemuru (*Sardinella* sp.) dengan dosis yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **4** (1): 27-32.
- Mohan, S. V. and M. P. Devi. 2014. Salinity stress induced lipid synthesis to harness biodiesel during dualmode cultivation of mixotrophic microalgae. *Biosource Technology*. **1** (1): 1 – 7.
- Mulyanto, A. dan T. Handayani. 2015. Fiksasi emisi karbon dioksida dengan kultivasi mikroalga menggunakan nutrisi dari air limbah industri susu. *Jurnal Riset Industri*. **9** (1): 13 – 21.
- Munir, F., R. Hariyati dan E. Wiryani. 2017. Pengaruh limbah cair tahu terhadap pertumbuhan populasi *Chlorella pyrenoidosa* H. chick dalam skala laboratorium. *Jurnal Biologi*. **6** (2): 84-92.
- Nailulmuna, Z., Pinandoyo dan V. E. Herawati. 2017. Pengaruh pemberian fermentasi kotoran ayam, roti afkir dan ampas tahu dalam media kultur massal terhadap pertumbuhan dan kandungan nutrisi *Daphnia* sp. *Bioma*. **19** (1): 47–57.
- Norbawa, P., N. Mafrihah., S. Hidayatullah and E. Yudiati. 2013. The effect of total lipid, protein, reducing sugar, phycocyanin and chlorophyll content on CO_2 aeration in *Spirulina platensis* culture. *Seminar Nasional Bioteknologi*: 78-90.
- Nurhayati, C., B. Hamzah dan R. Pambayun. 2013. Optimasi pengolahan limbah cair karet remah menggunakan mikroalga indigen dalam menurunkan kadar BOD, COD, TSS. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. **24** (1): 16-26.

- Ochthreeani, A.M., Supriharyono dan P. Soedarsono. 2014. Pengaruh perbedaan jenis pupuk terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dilihat dari kepadatan sel dan klorofil a pada skala semi massal. *Diponegoro Journal of Maquares*. **3** (2):102-108.
- Padang, A., A. Lestaluhu dan R. Siding. 2018. Pertumbuhan fitoplankton *Dunaliella* sp dengan cahaya berbeda pada skala laboratorium. *Jurnal Agribisnis Perikanan*. **11** (1): 1-7.
- _____, A., S. L. Djen dan T. Tuasikal. 2015. Pertumbuhan fitoplankton *Tetraselmis* sp. di wadah terkontrol dengan perlakuan cahaya lampu tl. *Jurnal Ilmiah Agribisnis dan Perikanan*. **8** (1): 21–26.
- Padil, S. Syamsiah, M. Hidayat dan R. S. Kasiamdari. 2016. Kinerja enzim ganda pada *pretreatment* mikroalga untuk produksi bioetanol. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. **5** (2): 92-100.
- Pamungkas, C. P., J. Hutabarat dan V. E. Herawati. 2017. Pengaruh waktu fermentasi bahan organik (kotoran ayam, ampas tahu dan roti afkir sebagai pupuk untuk pertumbuhan dan kandungan protein *Daphnia* sp. *Pena Akuatik*. **16** (1): 71-93.
- Pertamawati. 2010. Pengaruh fotosintesis terhadap pertumbuhan tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) dalam lingkungan fotoautotrof secara *invitro*. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. **12** (1): 31-37.
- Pratiwi, A., Rohmat dan E. Purba. 2019. Penentuan jumlah nutrisi magnesium dari $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ dan besi dari $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ pada kultivasi *Tetraselmis chuii* terhadap kandungan lipid maksimum. *Jurnal Kelitbangan*. **7** (1): 75-86.
- Prihantini, N. B., B. Putrid an R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan variasi pH awal. *Makara Sains*. **9** (1): 1-6.
- Purba, E. dan A. C. Khairunisa. 2012. Kajian awal laju reaksi fotosintesis untuk penyerapan gas CO_2 menggunakan mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa Proses*. **6** (1): 7-13.
- Purwitasari, A. T., M. A. Alamsjah dan B. S. Rahardja. 2012. Pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh (asam-2,4 diklorofenoksiasetat) terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*. *Journal of Marine and Coastal Science*. **1** (2): 61-70.
- Putra, I. K. R. W., A. A. M. D. Anggreni dan I. W. Arnata. 2015. Pengaruh jenis media terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **3** (2): 40-46.

- Putri, B., A. Vickry dan H. W. Maharani. 2013. Pemanfaatan air kelapa sebagai pengkaya media pertumbuhan mikroalga *Tetraselmis* sp. *Prosiding Semirata Fmipa Universitas Lampung*. **1** (1): 135-142.
- Rahmawati, I., B. Hendrarto dan P. W. Purnomo. 2014. Fluktuasi bahan organik dan sebaran nutrien serta kelimpahan fitoplankton dan klorofil-a di Muara Sungai Sayung Demak. *Diponegoro Journal of Maquares*. **3** (1): 27-36.
- Rajab, A., Bahtiar dan Salwiyah. 2016. Studi kepadatan dan distribusi kerang lahubado (*Galuconome* sp.) di perairan teluk staring Desa Ranooha Raya Kabupaten Konawe Selatan. *Jurnal Manajemen Sumber Daya Perairan*. **1** (3): 103-114.
- Ritchie, R. J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*. **89** (1): 27-41
- Riyono, S. H. 2007. Beberapa sifat umum dari klorofil fitoplankton. *Oseana*. **32** (1): 23-31.
- Ru'yatin, I., S. Rohyani dan L. Ali. 2015. Pertumbuhan *Tetraselmis* dan *Nannochloropsis* pada skala laboratorium. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia*. **1** (2): 296-299.
- Salim, M. A. 2015. Kadar lipida *Scenedesmus* sp. pada kondisi miksotrof dan penambahan sumber karbon dari hidrolisat pati singkong. *Jurnal Istek*. **9** (2): 222-243.
- Sani, R. B., F. C. Nisa, R. D. Andriani dan J. M. Maligan. 2014. Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **2** (2): 121-126.
- Setyaningsih, I., L. Hardjito, D. R. Monintja, M. F. A. Sondita, M. Bintang, N. Lailati dan L. Panggabean. 2017. Ekstraksi senyawa antibakteri dari diatom *Chaetoceros calcitrans* dengan berbagai metode. *Jurnal Biologi Indonesia*. **5** (1): 23-33.
- _____, I., E. Salamah, D. A. Rahman. 2013. Komposisi kimia dan aktivitas antihiperlipidemik biomassa dan polisakarida ekstraseluler dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **16** (1): 79-85.
- Setyawati, F., W. H. Satyantini, M. Arief dan Kismiyati. 2018. Teknik kultur *Tetraselmis chuii* dalam skala laboratorium di PT. Central Pertiwi Bahari, Rembang, Jawa Tengah. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. **7** (2): 63-69.
- Setyoningrum, T. M., V. A. Wikasitakusuma, Annisaturraihan, N. I. Putra dan M. M. A. Nur. 2014. Evaluasi rasio C/N pada kultivasi *Spirulina platensis*

- dengan penambahan molase sebagai sumber karbon organik. *Eksergi*. **9** (2): 30-34.
- Simamora, L. A., Sudarno dan T. Istirokhatun. 2017. Kultivasi mikroalga sebagai metode pengolahan dalam menyisihkan kadar COD dan amonium pada limbah cair tahu. *Jurnal Teknik Lingkungan*. **6** (1): 1-14.
- Suantika, G dan D. Hendrawandi. 2009. Efektivitas teknik kultur menggunakan sistem kultur statis, semi-kontinyu, dan kontinyu terhadap produktivitas dan kualitas kultur *Spirulina* sp. *Jurnal Matematika Dan Sains*. **14** (2) : 41-50.
- Susana, T. 1988. Karbon dioksida. *Oseana*. **13** (1): 1-11.
- Sutomo. 2007. Pertumbuhan populasi kopepoda harpacticoid, *Tigriopus* sp. dengan jenis pakan mikroalga yang berbeda. *Jurnal Perikanan*. **9** (2): 297-306
- Swandewi, I. G. A. P. A. P., A. A. M. D. Anggreni dan B. Admadi. 2017. Pengaruh penambahan NaNO_3 dan K_2HPO_4 pada media BG-11 terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **5** (1): 1-11.
- Trikuti, I. K., A. A. M. D. Anggreni dan I. B. W. Gunan. 2016. Pengaruh Jenis Media terhadap Konsentrasi Biomassa dan Kandungan Protein Mikroalga *Chaetoceros calcitrans*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **4** (2): 13 – 22.
- Unaida, R. 2015. Keragaman plankton di lagun pembuangan limbah cair pabrik PT. Pupuk Iskandar Muda (PIM) dan PT. Asean Aceh Fertilizer (AAF). *Jurnal Edukasi dan Sains Biologi*. **4** (2): 29-32.
- Vonshak, A. 1997. *Spirulina platensis* Arthrospira: Physiology, Cell-Biology and Biotechnology. Taylor and Francis Publisher: United States. 233 pg.
- Wang, H., R. Fu and G. Pei. 2012. A study on lipid production of the mixotrophic microalgae *Phaeodactylum tricornutum* on various carbon source. *Journal of Microbiology Research*. **6** (5): 1041-1047.
- Widayat dan Hadiyanto. 2015. Pemanfaatan limbah cair industri tahu untuk produksi biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. sebagai bahan baku biodiesel. *Reaktor*. **15** (4): 253-260.
- Yarti, N., M. Muhaemin dan S. Hudaidah. 2014. Pengaruh salinitas dan nitrogen terhadap kandungan protein total *Nannochloropsis* sp. *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **2** (2): 273-278.
- Zainuddin, M., N. Hamid, L. Mudiarti, N. Kursistyanto dan B. Aryono. 2017. Pengaruh media hiposalin dan hipersalin terhadap respon pertumbuhan dan biopigmen *Dunaliella salina*. *Jurnal Enggano*. **2** (1): 46-57.

- Zhang, Z., D. Sun., T. Wu., Y. Li., Y. Lee., J. Liu and F. Chen. 2017. The synergistic energy and carbon metabolism under mixotrophic cultivation reveals the coordination between photosynthesis and aerobic respiration in *Chlorella zofingiensis*. *Algal Research*. **1** (1): 109-116.
- Zhao, F., X. Tan., Y. Zhang., H. Chu and L. Y. X. Zhou. 2015. Effect of temperature on the conversion ratio of glucose to *Chlorella pyrenoidosa* cells: reducing the cost of cultivation. *Algal Research*. **12**: 431-435.
- Zulfia, N. dan Aisyah. 2013. Statustrofik perairan rawa pening ditinjau dari kandungan unsur hara (NO_3 dan PO_4) serta klorofil-a. *Bawal*. **5** (3): 189-199.



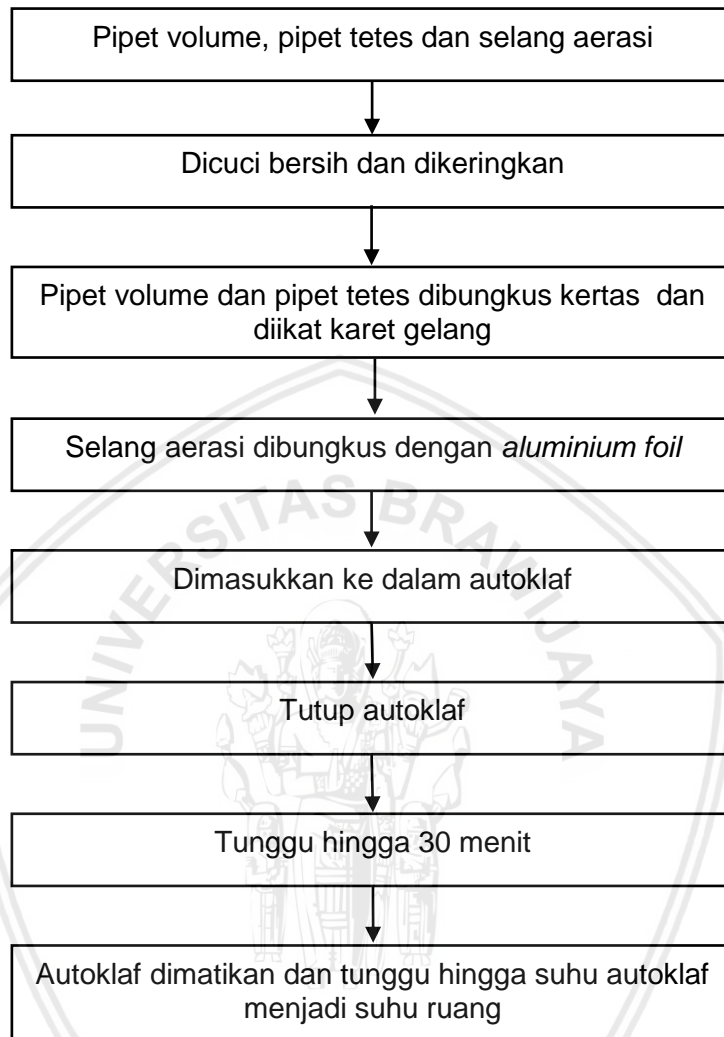
LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Pupuk Walne (Jati, et al., 2012)

Komposisi	Walne (gr)
Larutan nutrient:	
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	20
NaNO ₃	100
Na ₂ EDTA	5
Na ₂ SiO ₃	40
MnCl ₂ ·H ₂ O	0,36
FeCl ₃	1,3
H ₃ BO ₃	10
Akuades	1.000 ml
Larutan Trace metal:	
ZnCl ₂	21
CoCl ₂ ·6H ₂ O	2
(NH ₄) ₈ ·Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,9
CuSO ₄ ·7H ₂ O	20
FeCl ₃ ·6H ₂ O	3,15
Akuades	100 ml
Vitamin:	
Vitamin B12	0,1
Thiamin	20
Biotin	0,1

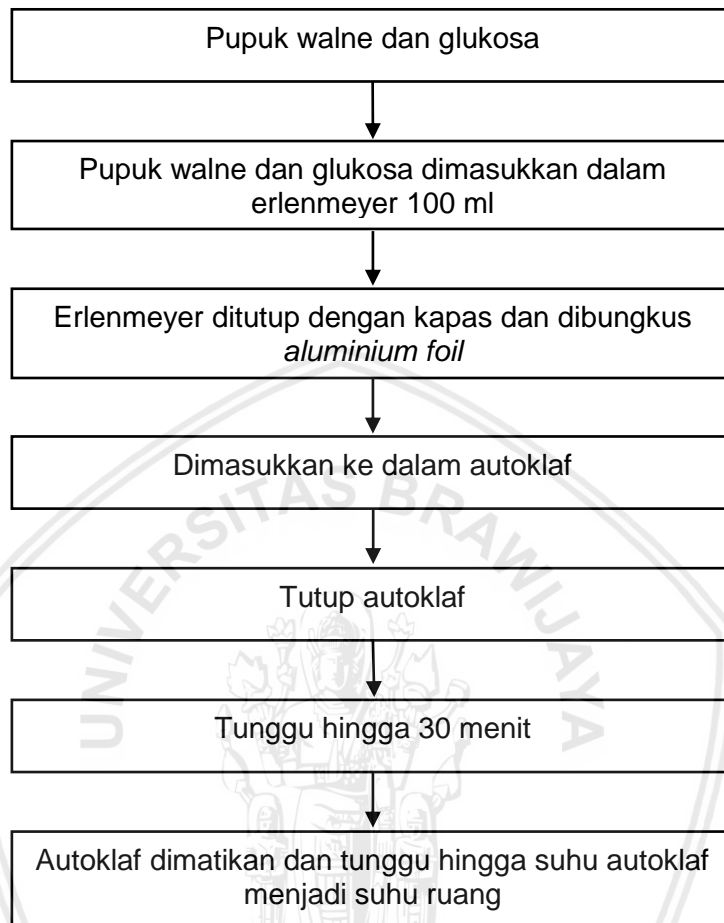
Lampiran 2. Proses Sterilisasi

a. Sterilisasi Alat Menggunakan Autoklaf



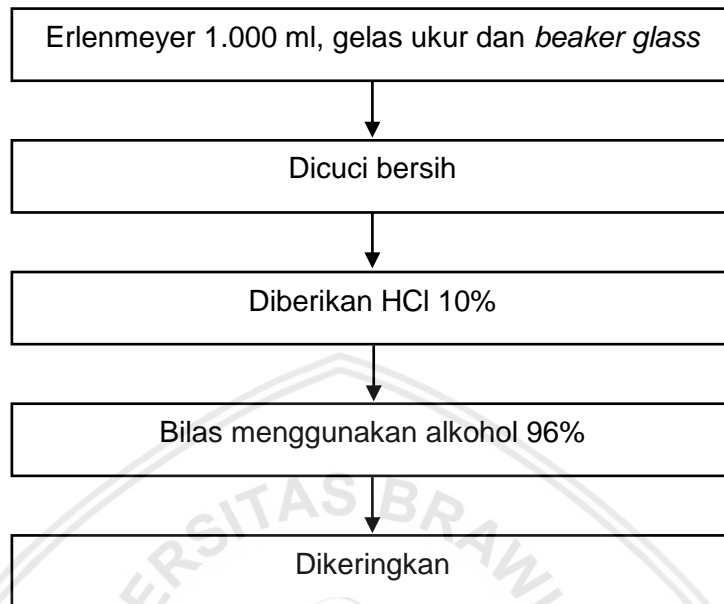
Lampiran 2. (Lanjutan)

b. Sterilisasi Bahan Menggunakan Autoklaf

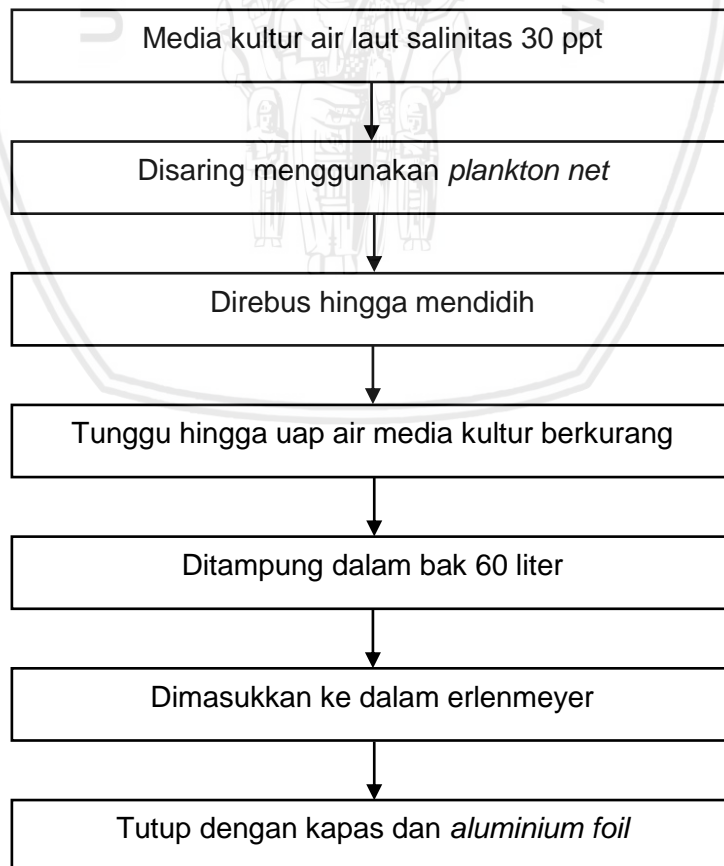


Lampiran 2. (Lanjutan)

c. Sterilisasi Alat Menggunakan Bahan Kimia



d. Sterilisasi Media Menggunakan Metode Perebusan



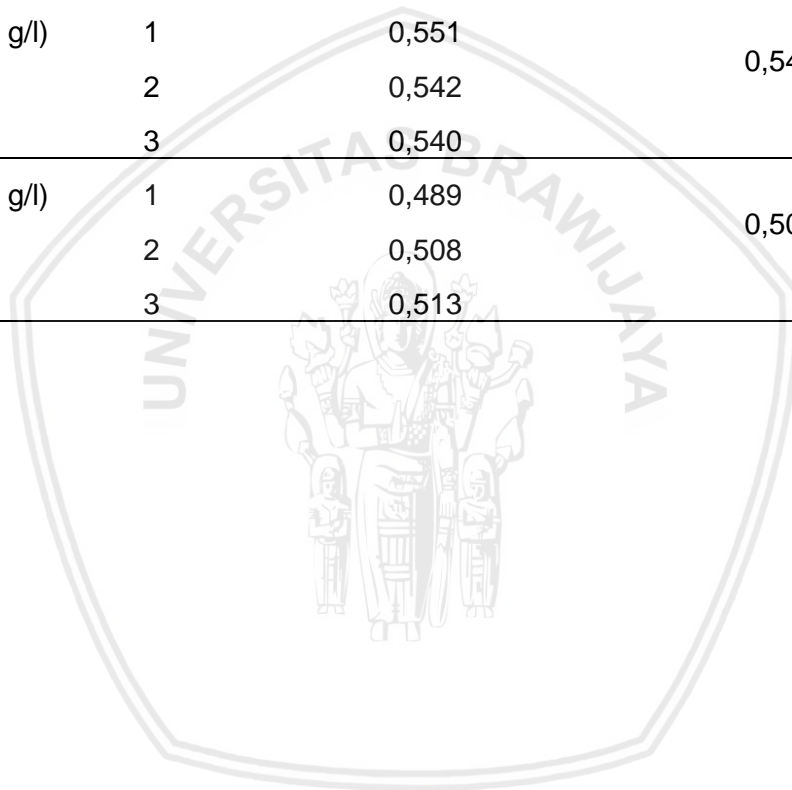
Lampiran 3. Data Pertumbuhan *T. chuii* dalam Perlakuan Pemberian Glukosa

Kepadatan <i>T. chuii</i> ($\times 10^4$) (sel/ml)												
Hari Ke-	A			B			C			D		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	11,67	12,50	12,50	11,67	11,67	11,67	12,50	12,50	12,50	11,67	11,67	11,67
1	23,33	20,83	16,67	28,33	22,50	25,83	20,83	18,33	15,83	16,67	17,50	19,17
2	38,33	32,50	24,17	42,50	32,50	37,50	42,50	31,67	30,00	32,50	39,17	42,50
3	54,17	49,17	44,17	70,00	40,83	54,17	55,00	53,33	50,83	51,67	52,50	55,00
4	78,33	80,83	77,50	94,17	92,50	93,33	113,33	109,17	108,33	82,50	89,17	90,83
5	59,17	54,17	50,00	88,33	77,50	84,17	100,83	96,67	89,17	70,83	75,83	78,33
6	45,83	43,33	34,17	55,83	40,00	46,67	95,83	90,83	82,50	50,83	54,17	57,50
7	39,17	35,00	24,17	47,50	30,83	37,50	84,17	82,50	75,83	32,50	45,83	52,50



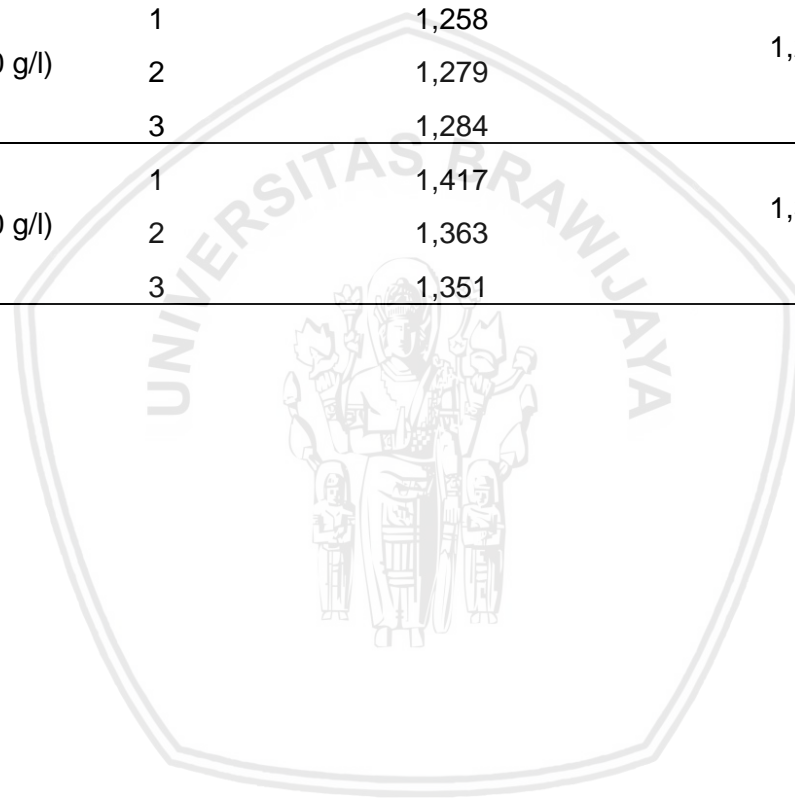
Lampiran 4. Hasil Perhitungan Laju Pertumbuhan Spesifik *T. chuii*

Perlakuan	Ulangan	Laju Pertumbuhan Spesifik (Hari ⁻¹)	Rata-rata (Hari ⁻¹)
A (0 g/l)	1	0,476	0,466
	2	0,467	
	3	0,456	
B (0,10 g/l)	1	0,522	0,520
	2	0,518	
	3	0,520	
C (0,20 g/l)	1	0,551	0,544
	2	0,542	
	3	0,540	
D (0,30 g/l)	1	0,489	0,504
	2	0,508	
	3	0,513	



Lampiran 5. Data Hasil Perhitungan Doubling Time *T. chuii*

Perlakuan	Ulangan	Doubling Time (Hari)	Rata-rata (Hari)
A (0 g/l)	1	1,456	1,487
	2	1,485	
	3	1,520	
B (0,10 g/l)	1	1,328	1,333
	2	1,339	
	3	1,333	
C (0,20 g/l)	1	1,258	1,274
	2	1,279	
	3	1,284	
D (0,30 g/l)	1	1,417	1,377
	2	1,363	
	3	1,351	



Lampiran 6. Analisis Data Laju Pertumbuhan Spesifik *T. chuii*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	0,476	0,467	0,456	1,399	0,466 ± 0,010
B	0,522	0,518	0,520	1,560	0,520 ± 0,002
C	0,551	0,542	0,540	1,633	0,544 ± 0,006
D	0,489	0,508	0,513	1,511	0,504 ± 0,013
Total				6,1018	

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK): G^2

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{(6,1018)^2}{3 \times 4} = 3,102626$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= (0,476)^2 + (0,467)^2 + (0,456)^2 + (0,522)^2 + \dots + (0,513)^2 - 3,102626 \\ &= 0,010253 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(1,399)^2 + (1,560)^2 + (1,633)^2 + (1,511)^2}{3} - 3,102626 \\ &= 0,009646 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 0,010253 - 0,009646 \\ &= 0,000607 \end{aligned}$$

Tabel Analisa Keragaman

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhitung	F 5 %
Perlakuan	3	0,0096456	0,0032152	42,34997*	4,07
Acak	8	0,0006074	0,0000759		
Total	11	0,010253			

Keterangan: * = berbeda nyata

Lampiran 6. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2 \times \text{KT Acak}}}{r} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,0000759}}{3} \\
 &= 0,007114
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\
 &= 2,306 \times 0,007114 \\
 &= 0,016406
 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-rata perlakuan	A = 0,466	D = 0,504	B = 0,520	C = 0,544	Notasi
A = 0,466	0,000				a
D = 0,504	0,0372*	-			b
B = 0,520	0,0536*	0,01063 ^{ns}	-		b
C = 0,544	0,0780*	0,0408*	0,0244*	-	c

Keterangan: * = berbeda nyata

Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	1,3989	-3	1	-1
B	1,5596	-1	-1	3
C	1,6328	1	-1	-3
D	1,5105	3	1	1
Q= Σ(Ci*Ti)		0,408256	-0,282977	-0,108074
Kμ= (Σci²)*μ		60	12	60
JK=Q²/Kμ		0,002778	0,006673	0,000195

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\
 &= (0,002778) + (0,006673) + (0,000195) \\
 &= 0,0096456
 \end{aligned}$$

Lampiran 6. (Lanjutan)

Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F table 5%
1. Perlakuan	3	0,0096456			
Linier	1	0,0027779	0,0027779	36,5898*	4,07
Kuadratik	1	0,006673	0,0066730	87,8960*	
Kubik	1	0,0001947	0,0001947	2,5641*	
2. Acak	8	0,0006074	0,0000759		
3. Total	11	0,0198985			

Keterangan: * = berbeda nyata

Menghitung R square (R^2)

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Linier}} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,0027779}{0,0027779 + 0,0006074} \\
 &= 0,82059
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Kuadratik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,006673}{0,006673 + 0,0006074} \\
 &= 0,91658
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Kubik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,0001947}{0,0001947 + 0,0006074} \\
 &= 0,24272
 \end{aligned}$$

Karena R^2 Kuadratik > R^2 Linier dan R^2 kubik, maka persamaan regresi kuadratik

Lampiran 6. (Lanjutan)

Mencari persamaan regresi kuadratik

$$u_j = \frac{X_j - x}{d}$$

$$x = \frac{0,10 + 0,20 + 0,30 + 0}{4} = 0,15$$

$$d = 0,10$$

$$U_j = \frac{X_j - 0,15}{0,10}$$

$$x = 0 \quad \text{maka } U_j = -2$$

$$x = 0,10 \quad \text{maka } U_j = -1$$

$$x = 0,20 \quad \text{maka } U_j = 1$$

$$x = 0,30 \quad \text{maka } U_j = 2$$

Sehingga didapatkan

X_j	0,00	0,10	0,20	0,30	0,600
U_j	-2	-1	1	2	0
U_j²	4	1	1	4	10
U_j⁴	16	1	1	16	34
Y_{ij}	1,399	1,560	1,633	1,511	6,102
U_jY_{ij}	-2,798	-1,560	1,633	3,021	0,297
U_j²Y_{ij}	5,595	1,560	1,633	6,042	14,830

Substitusi pada rumus

$$\text{Persamaan 1. } \sum U_j Y_{ij} = b_1 \pi \sum U_j^2$$

$$0,297 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$$

$$0,297 = b_1 \cdot 30$$

$$\mathbf{0,0099 = b_1}$$

$$\text{Persamaan 2. } \sum Y_{ij} = b_0 \cdot n + b_2 \pi \sum U_j^2$$

$$6,102 = b_0 \cdot 12 + b_2 \cdot 3 \cdot 10$$

$$6,102 = 12b_0 + 30b_2$$

Lampiran 6. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{Persamaan 3. } \sum U_j^2 Y_{ij} &= b_0^1 \pi \sum U_j^2 + b_2^1 \pi \sum U_j^4 \\ 14,830 &= b_0^1 3 \cdot 10 + b_2^1 3 \cdot 34 \\ 14,830 &= 30b_0^1 + 102b_2^1 \end{aligned}$$

Kemudian substitusikan persamaan 2 dan persamaan 3 untuk mencari b_0 dan b_2

$$6,102 = 12b_0^1 + 30b_2^1$$

$$14,830 = 30b_0^1 + 102b_2^1$$

$$30,509 = 60b_0^1 + 150b_2^1$$

$$29,660 = 60b_0^1 + 204b_2^1$$

$$0,849 = -54 b_2^1$$

$$b_2^1 = -0,01572$$

Nilai b_2^1 kemudian disubstitusikan ke Persamaan 2

$$6,102 = 12b_0^1 + 30b_2^1$$

$$6,102 = 12b_0^1 + 30 \cdot (-0,01572)$$

$$6,102 = 12b_0^1 - 0,4716$$

$$6,102 + 0,4716 = 12b_0^1$$

$$b_0^1 = 0,54778$$

Sehingga didapatkan persamaan U_j sebagai berikut:

$$Y = 0,54778 + 0,0099 \cdot U_j - 0,01572 \cdot U_j^2$$

Kembali ke transformasi $U_j = \frac{X_j - 0,15}{0,10}$ pada persamaan tersebut

$$Y = 0,54778 + 0,0099 \left(\frac{X_j - 0,15}{0,10} \right) - 0,01572 \left(\frac{X_j - 0,15}{0,10} \right)^2$$

Akan didapatkan persamaan kuadrat $Y = 0,4976 + 0,57x - 1,57x^2$

$$x = 0,00 \quad Y = 0,4976$$

$$x = 0,10 \quad Y = 0,5389$$

$$x = 0,20 \quad Y = 0,5488$$

$$x = 0,30 \quad Y = 0,5272$$

Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah menggunakan turunan pertama persamaan tersebut = 0 atau $Y = 0$

$$Y = 0,4976 + 0,57x - 1,57x^2$$

$$Y' = 0,57 - 2 \times 1,57x$$

$$x = 0,181 \quad Y = 0,549$$

Lampiran 7. Analisa Data Biomassa *T. chuii*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	0,436	0,424	0,404	1,264	0,421 ± 0,016
B	0,660	0,592	0,624	1,876	0,625 ± 0,034
C	0,848	0,812	0,784	2,444	0,815 ± 0,032
D	0,516	0,536	0,560	1,612	0,537 ± 0,022
Total				7,196	

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK) :

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{(7,196)^2}{3 \times 4} = 4,315201$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= (0,436)^2 + (0,424)^2 + (0,404)^2 + (0,660)^2 + \dots + (0,560)^2 - 4,315 \\ &= 0,253583 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(1,264)^2 + (1,876)^2 + (2,444)^2 + (1,612)^2}{3} - 4,315201 \\ &= 0,247716 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 0,253583 - 0,247716 \\ &= 0,005867 \end{aligned}$$

Tabel Analisa Keragaman

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhitung	F 5 %
Perlakuan	3	0,247716	0,082572	112,598*	4,07
Acak	8	0,005867	0,000733		
Total	11	0,253583			

Keterangan: * = berbeda nyata

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \frac{\sqrt{2 \times \text{KT Acak}}}{r} \\ &= \frac{\sqrt{2 \times 0,000733}}{3} \\ &= 0,02211 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,02211 \\ &= 0,05099 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-rata perlakuan	A = 0,421	D = 0,537	B = 0,625	C = 0,815	Notasi
A = 0,421	0,000				a
D = 0,537	0,116*	-			b
B = 0,625	0,204*	0,088*	-		c
C = 0,815	0,393*	0,277*	0,189*	-	d

Keterangan: * = berbeda nyata

Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	1,264	-3	1	-1
B	1,876	-1	-1	3
C	2,444	1	-1	-3
K	1,612	3	1	1
Q= Σ(Ci*Ti)		1,612	-1,444	-1,356
Kμ= (Σci²)*μ		60	12	60
JK=Q²/Kμ		0,04331	0,17376	0,03065

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Linier} \\ &= 0,04331 + 0,17376 + 0,03065 \\ &= 0,247716 \end{aligned}$$

Lampiran 7. (Lanjutan)

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F tabel 5%
1. Perlakuan	3	0,247716			
Linier	1	0,043309	0,043309	59,0578*	4,07
Kuadratik	1	0,173761	0,173761	236,9473*	
Kubik	1	0,030646	0,030646	41,7895*	
2. Acak	8	0,005867	0,001173		
3. Total	11	0,501299			

Keterangan: * = berbeda nyata

Menghitung R Square (R^2) :

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,043309}{0,043309 + 0,005867} \\
 &= 0,88070
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,173761}{0,173761 + 0,005867} \\
 &= 0,96734
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kubik} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,030646}{0,030646 + 0,005867} \\
 &= 0,83932
 \end{aligned}$$

Karena R^2 Kuadratik > R^2 Linier dan R^2 Kubik, persamaan regresi kuadratik

Mencari persamaan regresi kuadratik

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$u_j = \frac{X_j - x}{d}$$

$$x = \frac{0,10+0,20+0,30+0}{4} = 0,15$$

$$d = 0,10$$

$$U_j = \frac{X_j - 0,15}{0,10}$$

$x = 0$ maka $U_j = -2$

$x = 0,10$ maka $U_j = -1$

$x = 0,20$ maka $U_j = 1$

$x = 0,30$ maka $U_j = 2$

Sehingga didapatkan

X_j	0,00	0,10	0,20	0,30	0,600
U_j	-2	-1	1	2	0
U_j^2	4	1	1	4	10
U_j^4	16	1	1	16	34
Y_{ij}	1,264	1,876	2,444	1,612	7,196
$U_j Y_{ij}$	-2,528	-1,876	2,444	3,224	1,264
$U_j^2 Y_{ij}$	5,056	1,876	2,444	6,448	15,824

Substitusi pada rumus

Persamaan 1. $\sum U_j Y_{ij} = b_1' n \sum U_j^2$

$$1,264 = b_1' * 3 * 10$$

$$1,264 = b_1' * 30$$

$$\mathbf{0,0421 = b_1'}$$

Persamaan 2. $\sum y_{ij} = b_0' n + b_2' n \sum U_j^2$

$$7,196 = b_0' * 12 + b_2' * 3 * 10$$

$$7,196 = 12b_0' + 30b_2'$$

Lampiran 7. (Lanjutan)

Persamaan 3. $\sum U_j^2 Y_{ij} = b_0^1 \sum U_j^2 + b_2^1 n \sum U_j^4$

$$15,824 = b_0^1 \cdot 3 \cdot 10 + b_2^1 \cdot 3 \cdot 34$$

$$15,824 = 30b_0^1 + 102b_2^1$$

Kemudian substitusikan persamaan 2 dan persamaan 3 untuk mencari b_0 dan b_2

$$7,196 = 12b_0^1 + 30b_2^1$$

$$15,824 = 30b_0^1 + 102b_2^1$$

$$35,980 = 60b_0^1 + 150b_2^1$$

$$31,648 = 60b_0^1 + 204b_2^1$$

$$4,332 = -54 b_2^1$$

$$b_2^1 = -0,0802$$

Nilai b_2^1 kemudian disubstitusikan ke Persamaan 2

$$7,196 = 12b_0^1 + 30b_2^1$$

$$7,196 = 12b_0^1 + 30 \cdot (-0,0802)$$

$$7,196 = 12b_0^1 - 2,4067$$

$$7,196 + 2,4067 = 12b_0^1$$

$$b_0^1 = 8,0022$$

Sehingga didapatkan persamaan U_j sebagai berikut:

$$Y = 8,0022 + 0,0421 \cdot U_j - 0,0802 \cdot U_j^2$$

Kembali ke transformasi $U_j = \frac{X_j - 0,15}{0,10}$ pada persamaan tersebut

$$Y = 8,0022 + 0,0421 \left(\frac{X_j - 0,15}{0,10} \right) - 0,0802 \left(\frac{X_j - 0,15}{0,10} \right)^2$$

Akan didapatkan persamaan kuadrat $Y = 0,5565 + 2,83x - 8,02x^2$

$$x = 0,00 \quad Y = 0,557$$

$$x = 0,10 \quad Y = 0,759$$

$$x = 0,20 \quad Y = 0,801$$

$$x = 0,30 \quad Y = 0,683$$

Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah menggunakan turunan pertama persamaan tersebut = 0 atau $Y = 0$

$$Y = 0,5565 + 2,83x - 8,02x^2$$

$$Y' = 2,83 - 2 \times 8,02x$$

$$x = 0,176 \quad Y = 0,806$$



Lampiran 8. Analisa Data Klorofil-a *T. chuii*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	1,483	1,367	1,259	4,109	1,370 ± 0,112
B	2,483	2,325	2,266	7,074	2,358 ± 0,111
C	3,336	3,121	3,054	9,511	3,170 ± 0,147
D	1,686	1,735	1,910	5,332	1,777 ± 0,118
Total				26,056	

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK) :

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{(26,056)^2}{3 \times 4} = 56,4442$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= (1,483)^2 + (1,367)^2 + (1,259)^2 + (2,483)^2 + \dots + (1,910)^2 - 56,4442 \\ &= 5,61305 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(4,109)^2 + (7,074)^2 + 9,511^2 + (5,332)^2}{3} - 56,4442 \\ &= 5,49156 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 5,61305 - 5,49156 \\ &= 0,121483 \end{aligned}$$

Tabel Analisa Keragaman

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhitung	F 5 %
Perlakuan	3	5,491567	1,83052	120,545*	4,07
Acak	8	0,12148	0,01519		
Total	11	5,613050			

Keterangan: * = berbeda nyata

Lampiran 8. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \frac{\sqrt{2 \times \text{KT Acak}}}{r} \\ &= \frac{\sqrt{2 \times 0,01519}}{3} \\ &= 0,100617 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) } \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,100617 \\ &= 0,23202 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-rata perlakuan	A = 1,370	B = 1,777	C = 2,358	D = 3,170	Notasi
A = 1,370	0,000				a
B = 1,777	0,407*	-			b
C = 2,358	0,988*	0,581*	-		c
D = 3,170	1,801*	1,393*	0,812*	-	d

Keterangan: * = berbeda nyata

Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	4,1092	-3	1	-1
B	7,0742	-1	-1	3
C	9,5106	1	-1	-3
K	5,3315	3	1	1
Q= Σ(Ci*Ti)		6,103271	-7,144128	-6,086981
Kμ= (Σci²)*μ		60	12	60
JK=Q²/Kμ		0,620832	4,253213	0,617522

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Linier} \\ &= 0,620832 + 4,253213 + 0,617522 \\ &= 5,491567 \end{aligned}$$

Lampiran 8. (Lanjutan)

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F tabel 5%
1. Perlakuan	3	5,491567			
Linier	1	0,620831	0,62083	40,884*	4,07
Kuadratik	1	4,25321	4,25321	280,086*	
Kubik	1	0,617522	0,61752	40,666*	
2. Acak	8	0,121483	0,01519		
3. Total	11	11,104618			

Keterangan: * = berbeda nyata

Menghitung R Square (R^2) :

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,620831}{0,620831 + 0,121483} \\
 &= 0,8364
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{4,25321}{4,25321 + 0,121483} \\
 &= 0,9722
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kubik} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,617522}{0,617522 + 0,121483} \\
 &= 0,8356
 \end{aligned}$$

Karena R^2 Kuadratik $>$ R^2 Linier dan R^2 Kubik, persamaan regresi kuadratik

Mencari persamaan regresi kuadratik

Lampiran 8. (Lanjutan)

$$u_j = \frac{X_j - x}{d}$$

$$x = \frac{0,10 + 0,20 + 0,30 + 0}{4} = 0,15$$

$$d = 0,10$$

$$U_j = \frac{X_j - 0,15}{0,10}$$

$x = 0$ maka $U_j = -2$

$x = 0,10$ maka $U_j = -1$

$x = 0,20$ maka $U_j = 1$

$x = 0,30$ maka $U_j = 2$

Sehingga didapatkan

X_j	0,00	0,10	0,20	0,30	0,600
U_j	-2	-1	1	2	0
U_j²	4	1	1	4	10
U_j⁴	16	1	1	16	34
Y_{ij}	4,109	7,074	9,511	5,332	26,026
U_jY_{ij}	-8,218	-7,074	9,511	10,663	4,881
U_j²Y_{ij}	16,437	7,074	9,511	21,326	54,348

Substitusi pada rumus

Persamaan 1. $\sum U_j Y_{ij} = b_1' n \sum U_j^2$
 $4,881 = b_1' * 3 * 10$
 $4,881 = b_1' * 30$
 $0,1627 = b_1'$

Persamaan 2. $\sum y_{ij} = b_0' n + b_2' n \sum U_j^2$
 $26,026 = b_0' * 12 + b_2' * 3 * 10$
 $26,026 = 12b_0' + 30b_2'$



Lampiran 8. (Lanjutan)

Persamaan 3. $\sum U_j^2 Y_{ij} = b_0^1 \sum U_j^2 + b_2^1 n \sum U_j^4$

$$54,348 = b_0^1 \cdot 3 \cdot 10 + b_2^1 \cdot 3 \cdot 34$$

$$54,348 = 30b_0^1 + 102b_2^1$$

Kemudian substitusikan persamaan 2 dan persamaan 3 untuk mencari b_0 dan b_2

$$26,026 = 12b_0^1 + 30b_2^1$$

$$54,348 = 30b_0^1 + 102b_2^1$$

$$130,128 = 60b_0^1 + 150b_2^1$$

$$108,695 = 60b_0^1 + 204b_2^1$$

$$21,432 = -54 b_2^1$$

$$b_2^1 = -0,3969$$

Nilai b_2^1 kemudian disubstitusikan ke Persamaan 2

$$26,026 = 12b_0^1 + 30b_2^1$$

$$26,026 = 12b_0^1 + 30 \cdot (-0,3969)$$

$$26,026 = 12b_0^1 - 11,907$$

$$26,026 + 11,907 = 12b_0^1$$

$$b_0^1 = 3,161$$

Sehingga didapatkan persamaan U_j sebagai berikut:

$$Y = 3,161 + 0,1627 \cdot U_j - 0,3969 \cdot U_j^2$$

Kembali ke transformasi $U_j = \frac{X_j - 0,15}{0,10}$ pada persamaan tersebut

$$Y = 3,161 + 0,1627 \left(\frac{X_j - 0,15}{0,10} \right) - 0,3969 \left(\frac{X_j - 0,15}{0,10} \right)^2$$

Akan didapatkan persamaan kuadrat $Y = 2,024 + 13,53x - 39,69x^2$

$$x = 0,00 \quad Y = 2,024$$

$$x = 0,10 \quad Y = 2,980$$

$$x = 0,20 \quad Y = 3,143$$

$$x = 0,30 \quad Y = 2,512$$

Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah menggunakan turunan pertama persamaan tersebut = 0 atau $Y = 0$

$$Y = 2,024 + 13,53x - 39,69x^2$$

$$Y' = 13,53 - 2 \times 39,69x$$

$$x = 0,171 \quad Y = 3,178$$



Lampiran 9. Analisa Data Protein *T. chuii*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	24,720	24,109	23,652	72,481	24,160 ± 0,536
B	31,538	30,155	30,686	92,379	30,793 ± 0,697
C	34,984	34,483	34,155	103,622	34,541 ± 0,418
D	27,204	27,640	28,241	83,084	27,695 ± 0,521
Total				351,566	

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK) :

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{(351,566)^2}{3 \times 4} = 10,299,8986$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= (24,720)^2 + (24,109)^2 + (23,652)^2 + (31,538)^2 + \dots + (28,641)^2 - \\ &\quad 10.299,8986 \\ &= 178,5012 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(72,481)^2 + (92,379)^2 + (103,622)^2 + (83,084)^2}{3} - 10.299,8986 \\ &= 176,06393 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 178,5012 - 176,06393 \\ &= 2,4373 \end{aligned}$$

Tabel Analisa Keragaman

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhitung	F 5%
Perlakuan	3	176,0639	58,68798	192,636*	4,07
Acak	8	2,4373	0,30466		
Total	11	178,501198			

Keterangan: * = berbeda nyata

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2 \times \text{KT Acak}}}{r} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,30466}}{3} \\
 &= 0,450672
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) } \times \text{SED} \\
 &= 2,306 \times 0,450672 \\
 &= 1,0393
 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-rata perlakuan	A = 24,160	B = 27,695	C = 30,793	D = 34,541	Notasi
A = 23,77	-				a
B = 27,62	3,5343*	-			b
C = 30,69	6,6326*	3,0983*	-		c
D = 34,60	10,3804*	6,8462*	3,7478*	-	d

Keterangan: * = berbeda sangat nyata

Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	72,481	-3	1	-1
B	92,379	-1	-1	3
C	103,622	1	-1	-3
D	83,084	3	1	1
Q= Σ(Ci*Ti)		43,05196	-40,43632	-23,12760
Kμ= (Σci²)*μ		60	12	60
JK=Q²/Kμ		30,89118	136,25798	8,91477

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Linier} \\
 &= 30,89118 + 136,25798 + 8,91477 \\
 &= 176,0639
 \end{aligned}$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F table 5%
1. Perlakuan	3	176,06393			
Linier	1	30,89118	30,89118	101,3962*	4,07
Kuadratik	1	136,25798	136,25798	447,2488*	
Kubik	1	8,91477	8,91477	29,2615*	
2. Acak	8	2,43727	0,30466		
3. Total	11	354,56513			

Keterangan: * = berbeda nyata

Menghitung R Square (R^2) :

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{30,89118}{30,89118 + 2,43727} \\ &= 0,92687 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{136,25798}{136,25798 + 2,43727} \\ &= 0,98243 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Kubik} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{8,91477}{8,91477 + 2,43727} \\ &= 0,78530 \end{aligned}$$

Karena R^2 Kuadratik > R^2 Linier dan R^2 Kubik, persamaan regresi kuadratik

Mencari persamaan regresi kuadratik

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$u_j = \frac{X_j - x}{d}$$

$$x = \frac{0,10 + 0,20 + 0,30 + 0}{4} = 0,15$$

$$d = 0,10$$

$$U_j = \frac{X_j - 0,15}{0,10}$$

$x = 0$ maka $U_j = -2$

$x = 0,10$ maka $U_j = -1$

$x = 0,20$ maka $U_j = 1$

$x = 0,30$ maka $U_j = 2$

Sehingga didapatkan

X_j	0,00	0,10	0,20	0,30	0,600
U_j	-2	-1	1	2	0
U_j²	4	1	1	4	10
U_j⁴	16	1	1	16	34
Y_{ij}	72,481	92,379	103,622	83,084	351,566
U_jY_{ij}	-144,962	-92,379	103,622	166,168	32,449
U_j²Y_{ij}	289,924	92,379	103,622	332,336	818,261

Substitusi pada rumus

Persamaan 1. $\sum U_j Y_{ij} = b_1' n \sum U_j^2$

$$32,499 = b_1' * 3 * 10$$

$$32,499 = b_1' * 30$$

$$\mathbf{1,0816 = b_1'}$$

Persamaan 2. $\sum y_{ij} = b_0' n + b_2' n \sum U_j^2$

$$351,566 = b_0' * 12 + b_2' * 3 * 10$$

$$351,566 = 12b_0' + 30b_2'$$



Lampiran 9. (Lanjutan)

Persamaan 3. $\sum U_j^2 Y_{ij} = b_0^! \sum U_j^2 + b_2^! h \sum U_j^4$

$$818,261 = b_0^! 3 \cdot 10 + b_2^! 3 \cdot 34$$

$$818,261 = 30b_0^! + 102b_2^!$$

Kemudian substitusikan persamaan 2 dan persamaan 3 untuk mencari b_0 dan b_2

$$351,566 = 12b_0^! + 30b_2^!$$

$$818,261 = 30b_0^! + 102b_2^!$$

$$1.757,83 = 60b_0^! + 150b_2^!$$

$$1.636,52 = 60b_0^! + 204b_2^!$$

$$121,31 = -54 b_2^!$$

$$b_2^! = -2,2465$$

Nilai $b_2^!$ kemudian disubstitusikan ke Persamaan 2

$$351,566 = 12b_0^! + 30b_2^!$$

$$351,566 = 12b_0^! + 30 \cdot (-2,2465)$$

$$351,566 = 12b_0^! - 67,394$$

$$351,566 + 67,394 = 12b_0^!$$

$$b_0^! = 34,913$$

Sehingga didapatkan persamaan U_j sebagai berikut:

$$Y = 34,913 + 1,0816 \cdot U_j - 2,2465 \cdot U_j^2$$

Kembali ke transformasi $U_j = \frac{X_j - 0,15}{0,10}$ pada persamaan tersebut

$$Y = 34,913 + 1,0816 \left(\frac{X_j - 0,15}{0,10} \right) - 2,2465 \left(\frac{X_j - 0,15}{0,10} \right)^2$$

Akan didapatkan persamaan kuadrat $Y = 28,236 + 78,21x - 224,65x^2$

$$x = 0,00 \quad Y = 28,236$$

$$x = 0,10 \quad Y = 33,811$$

$$x = 0,20 \quad Y = 34,893$$

$$x = 0,30 \quad Y = 31,481$$

Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah menggunakan turunan pertama persamaan tersebut = 0 atau $Y' = 0$

$$Y = 28,236 + 78,21x - 224,65x^2$$

$$Y' = 78,21 - 2 \times 224,65x$$

$$x = 0,171 \quad Y = 35,039$$

Lampiran 10. Data Kualitas Air pada Kultur *T. chuii*

- Daya Serap Nitrat *T. chuii*

Perlakuan	Ulangan	Konsentrasi Nitrat (ppm)			N Terserap (%)			Total N Terserap (%)	Rerata N Terserap (%)
		H0	H4	H7	H0	H4	H7		
A	1	2,857	2,325	1,914	0,000	18,621	17,677	36,30	36,34
	2	2,854	2,321	1,911	0,000	18,676	17,665	36,34	
	3	2,849	2,319	1,907	0,000	18,603	17,766	36,37	
B	1	2,883	2,284	1,731	0,000	20,777	24,212	44,99	44,99
	2	2,873	2,243	1,726	0,000	21,928	23,049	44,98	
	3	2,879	2,247	1,729	0,000	21,952	23,053	45,01	
C	1	2,846	1,695	1,392	0,000	40,443	17,876	58,32	58,43
	2	2,835	1,682	1,389	0,000	40,670	17,420	58,09	
	3	2,832	1,679	1,374	0,000	40,713	18,166	58,88	
D	1	2,811	1,709	1,689	0,000	39,203	1,170	40,37	40,75
	2	2,827	1,713	1,691	0,000	39,406	1,284	40,69	
	3	2,859	1,723	1,689	0,000	39,734	1,451	41,19	

Lampiran 10. (Lanjutan)

- Daya Serap Fosfat *T. chuii*

Perlakuan	Ulangan	Konsentrasi Nitrat (ppm)			N Terserap (%)			Total N Terserap (%)	Rerata N Terserap (%)
		H0	H4	H7	H0	H4	H7		
A	1	0,736	0,625	0,587	0,000	14,734	6,080	20,814	22,050
	2	0,733	0,618	0,568	0,000	16,033	8,091	24,123	
	3	0,704	0,609	0,562	0,000	13,494	7,718	21,212	
B	1	0,766	0,598	0,492	0,000	21,932	17,726	39,658	38,850
	2	0,723	0,577	0,474	0,000	20,194	17,851	38,045	
	3	0,751	0,584	0,487	0,000	22,237	16,610	38,847	
C	1	0,771	0,462	0,389	0,000	40,078	15,801	55,879	57,208
	2	0,740	0,459	0,367	0,000	37,973	20,044	58,017	
	3	0,704	0,453	0,353	0,000	35,653	22,075	57,728	
D	1	0,709	0,487	0,471	0,000	31,312	3,285	34,597	33,935
	2	0,717	0,493	0,486	0,000	31,241	1,420	32,661	
	3	0,745	0,501	0,492	0,000	32,752	1,796	34,548	

Lampiran 10. (Lanjutan)

- Suhu pada Kultur *T. chuii*

Suhu (°C)												
Hari	A (0 g/l)			B (0,10 g/l)			C (0,20 g/l)			D (0,30 g/l)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	29	30	31	31	31	31	31	29	30	30	30	30
1	31	29	31	30	29	29	29	30	31	31	30	29
2	29	29	30	30	30	30	30	29	31	31	29	31
3	30	29	31	29	30	31	31	30	29	30	31	30
4	30	30	29	31	29	29	29	31	30	30	29	30
5	31	31	30	30	30	31	31	30	29	29	29	30
6	29	29	29	31	29	31	29	31	29	31	31	30
7	29	30	31	29	31	30	29	29	30	29	29	30

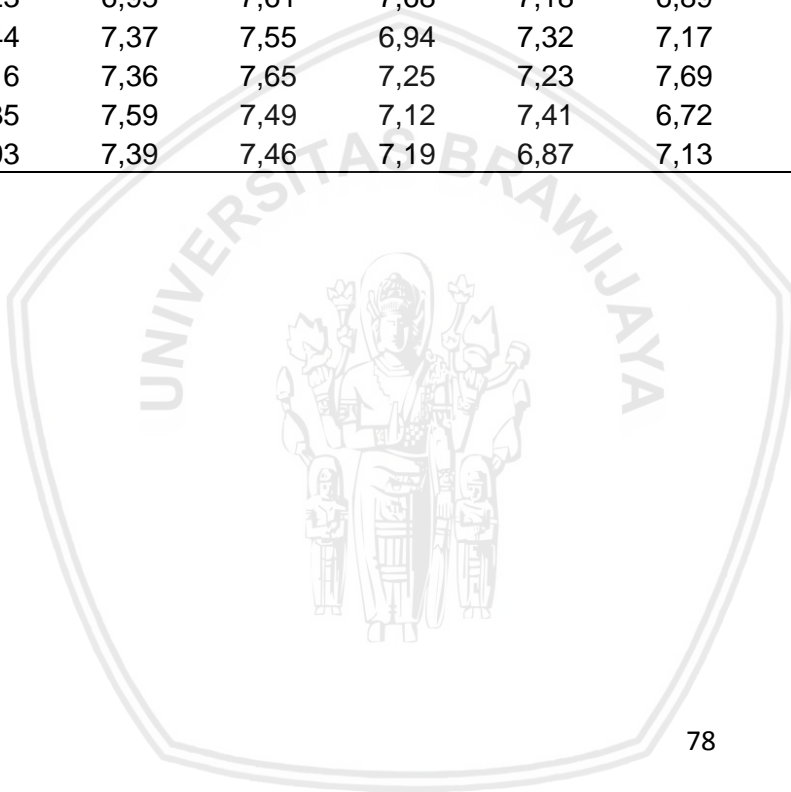
- pH pada Kultur *T. chuii*

pH												
Hari	A (0 g/l)			B (0,10 g/l)			C (0,0 g/l)			D (0,30 g/l)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	8,20	8,25	8,24	8,26	8,22	8,23	8,27	8,29	8,22	8,26	8,29	8,21
1	8,22	8,18	8,08	8,17	8,15	8,07	8,23	8,27	8,67	8,27	8,18	8,23
2	8,47	8,51	8,56	8,54	8,53	8,52	8,42	8,44	8,54	8,52	8,42	8,44
3	7,38	8,37	8,48	8,51	8,46	7,84	8,47	8,52	8,46	8,49	8,48	8,50
4	8,57	8,64	8,60	8,61	8,56	8,63	8,56	8,57	8,65	8,36	8,68	8,61
5	8,65	8,66	8,66	8,67	8,45	6,63	8,46	8,25	8,53	8,63	8,64	8,65
6	8,64	7,93	8,74	8,48	8,76	8,84	6,98	8,43	8,78	8,54	8,45	7,92
7	8,57	8,54	7,95	8,46	8,62	8,55	8,43	8,75	8,57	8,62	8,57	8,45

Lampiran 10. (Lanjutan)

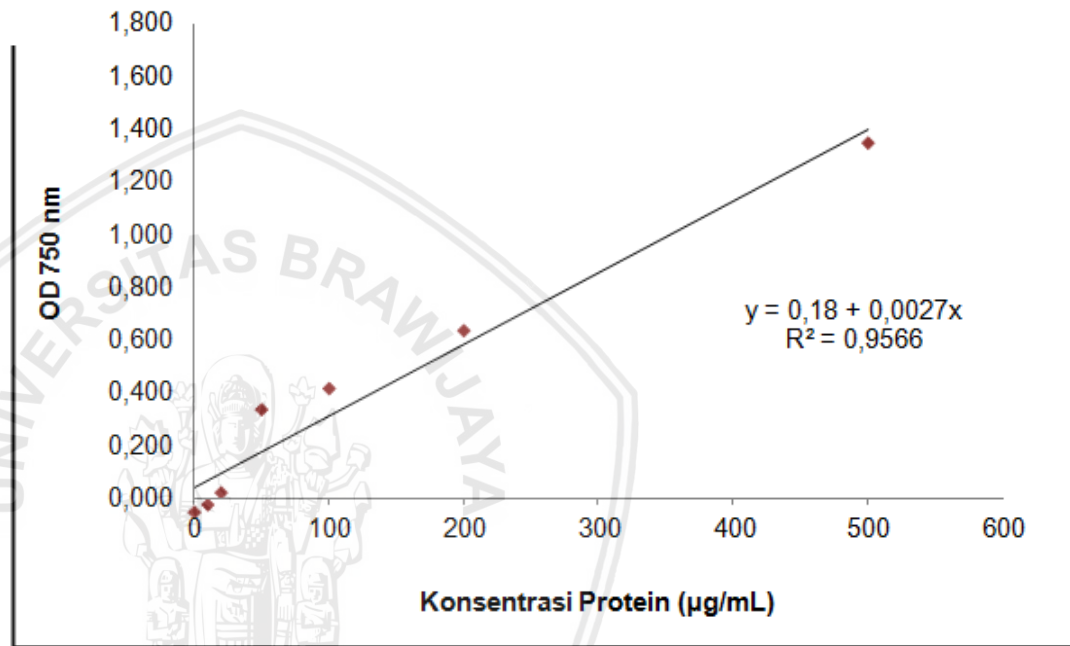
- Oksigen Terlarut pada Kultur *T. chuii*

Hari	DO (mg/l)											
	A			B			C			D		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	7,55	7,34	7,15	7,27	7,46	7,55	6,84	7,47	7,62	7,36	6,85	6,73
1	7,36	7,23	7,14	7,47	7,35	7,44	6,95	7,16	7,56	6,97	7,66	7,42
2	6,92	7,56	7,56	6,72	7,74	7,66	7,3	7,24	7,44	6,99	7,17	7,16
3	7,23	6,95	7,61	7,68	7,18	6,89	7,29	7,66	7,45	7,17	7,39	6,97
4	7,44	7,37	7,55	6,94	7,32	7,17	7,49	7,29	7,61	7,16	7,74	7,26
5	7,16	7,36	7,65	7,25	7,23	7,69	7,47	7,21	7,36	7,41	7,66	7,12
6	7,35	7,59	7,49	7,12	7,41	6,72	7,46	7,16	7,44	7,35	6,87	7,40
7	6,93	7,39	7,46	7,19	6,87	7,13	7,25	6,94	6,97	7,52	7,43	7,47



Lampiran 11. Konsentrasi Larutan *Standar Bovine Serum Albumin (BSA)*

Stock solution (µl)	0	2,5	5	12,5	25	50	125	250	500
Water (µl)	500	497,5	495	487,5	475	450	375	250	0
Protein Conc. (µg/ml)	0	10	20	50	100	200	500	1.000	2.000

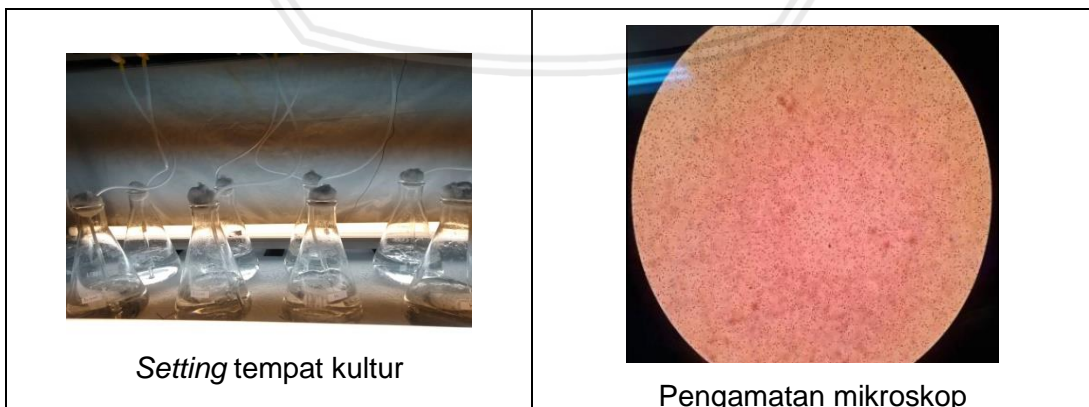


Lampiran 12. Dokumentasi Kegiatan Selama Penelitian

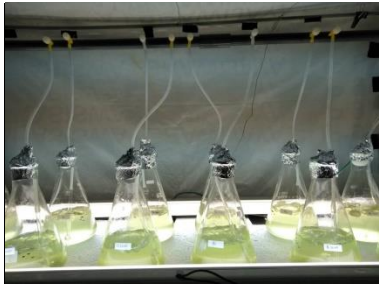
- **Persiapan Penelitian**



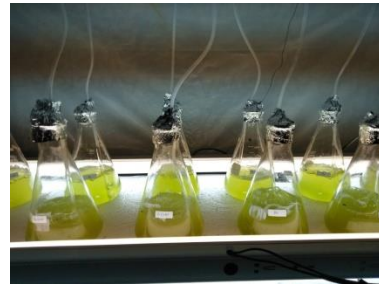
- **Pelaksanaan Penelitian**



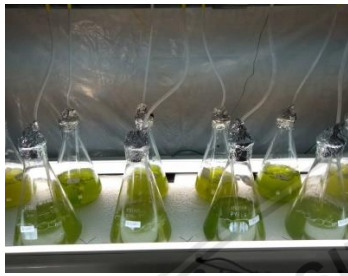
Lampiran 12. (Lanjutan)



Kultur hari ke-1



Kultur hari ke-2



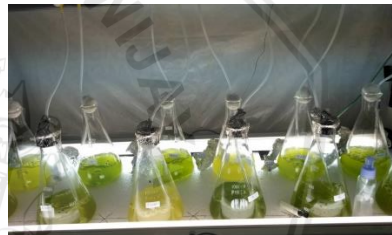
Kultur hari ke-3



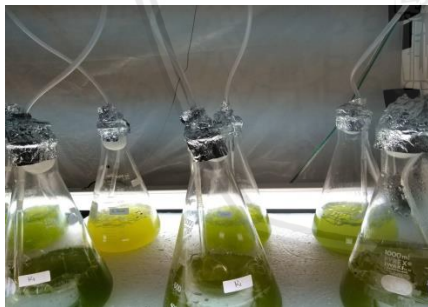
Kultur hari ke-4



Kultur hari ke-5



Kultur hari ke-6



Kultur hari ke-7



Pengerakan sampel nitrat



Sampel fosfat



Pengukuran menggunakan spektrofotometer

Lampiran 12. (Lanjutan)

Uji Biomassa



Penyaringan *T. chuii* menggunakan vacuum pump



Pengovenan sampel



Peletakkan sampel pada desikator



Penimbangan berat kering sampel.

Uji Klorofil-a



Sampel klorofil-a *Spirulina* sp.



Sampel disentrifugasi

Lampiran 12. (Lanjutan)



Proses *freezing-thawing* sampel klorofil-a



Sampel klorofil-a yang diberi *methanol absolute* di vortex



Sampel klorofil-a dipanaskan pada suhu 70°C



Pengukuran sampel klorofil-a menggunakan spektrofotometer

Uji Kandungan Protein



Pembuatan reagen



Penambahan larutan 1 N NaOH

Lampiran 12. (Lanjutan)

 <p>Sampel protein dipanaskan pada suhu 100°C</p>	 <p>Pemberian reagen D pada sampel</p>
 <p>Pemberian reagen <i>Folin-ciocalteu</i> pada sampel</p>	 <p>Tunggu selama 30 menit</p>
 <p>Pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 750nm</p>	

Uji Kualitas Air
 <p>Pengukuran suhu, DO, dan pH</p>