

**PENGARUH SALINITAS YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN,  
PRODUKSI BIOMASSA DAN KLOOROFL a *Tetraselmis chuii***

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

Oleh :  
**DICO OKTOVIA PRIHASTAMA**  
NIM. 125080500111054



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

**PENGARUH SALINITAS YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN,  
PRODUKSI BIOMASSA DAN KLOOROFIL a *Tetraselmis chuii***

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

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

**Oleh :  
DICO OKTOVIAN PRIHASTAMA  
NIM. 125080500111054**



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

**PENGARUH SALINITAS YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN,  
PRODUKSI BIOMASSA DAN KLOOROFIL a *Tetraselmis chull***

Oleh :  
**DICO OKTOVIAN PRIHASTAMA**  
NIM. 125080500111054

telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 26 Juli 2016  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
Tanggal : \_\_\_\_\_

Menyetujui,  
Dosen Penguji

  
**(Dr. Ating Yunlarti, S.PI., M.Aqua)**  
NIP. 19750604 199903 2 002  
Tanggal : 11 AUG 2016

Dosen Pembimbing I

  
**(Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS)**  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal : 11 AUG 2016

Dosen Pembimbing II

  
**(M. Fakhri, S.PI., MP., M.Sc)**  
NIP. 19860717 201504 1 001  
Tanggal : 11 AUG 2016

Mengetahui,  
Ketua Jurusan



**(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)**  
NIP. 19620805 198603 2 001

11 AUG 2016

## RINGKASAN

**DICO OKTOVIAN PRIHASTAMA.** Skripsi tentang Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Pertumbuhan, Produksi Biomassa, dan Klorofil a *Tetraselmis chuii*. (di bawah bimbingan Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS. dan Muhammad Fakhri, S.Pi, M.P, M.Sc)

---

Mikroalga termasuk mikroorganisme fotoautotrof yang memiliki peran penting dalam akuakultur. *T. chuii* merupakan salah satu mikroalga yang berperan dalam hal tersebut, guna meningkatkan keberhasilan kultur terdapat beberapa faktor lingkungan yang harus diperhatikan sebagai pembatas media tumbuh mikroalga khususnya Salinitas. Salinitas dapat mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa serta kandungan klorofil a dalam sel.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjelaskan pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a *T. chuii* dan menentukan salinitas yang terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a *T. chuii*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Workshop, Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi, Laboratorium Hidrobiologi, dan Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada Bulan Januari sampai dengan April 2016.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan yaitu salinitas 5 ppt, salinitas 15 ppt, salinitas 25 ppt, dan salinitas 35 ppt, masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini meliputi pertumbuhan, laju pertumbuhan spesifik, produksi biomassa, dan klorofil a *T. chuii*, sedangkan parameter penunjangnya meliputi pengukuran parameter kualitas air yaitu suhu, pH, dan oksigen terlarut serta pengukuran serapan nitrat dan fosfat pada medium kultur.

Berdasarkan pengamatan didapatkan perlakuan yang baik untuk kultur *T. chuii* pada salinitas 24-25 ppt dengan nilai rata-rata laju pertumbuhan spesifik sebesar  $0,443 \text{ hari}^{-1}$ , biomassa sebanyak  $0,346 \text{ g L}^{-1}$  dan klorofil a sebesar  $3,18 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Perlakuan salinitas 25 ppt mempunyai laju pertumbuhan spesifik, produksi biomassa, dan klorofil a yang lebih tinggi dibandingkn perlakuan yang lain. Pengukuran parameter kualitas air media diperoleh hasil pada kisaran optimal baik suhu, pH, oksigen terlarut, nitrat, dan fosfat.

Hasil penelitian disimpulkan bahwa perlakuan salinitas yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a *T. chuii*. Data hasil penelitian menyarankan untuk menggunakan perlakuan salinitas 25 ppt dalam kultur *T. chuii* untuk menghasilkan pertumbuhan, biomassa, dan klorofil a yang terbaik.

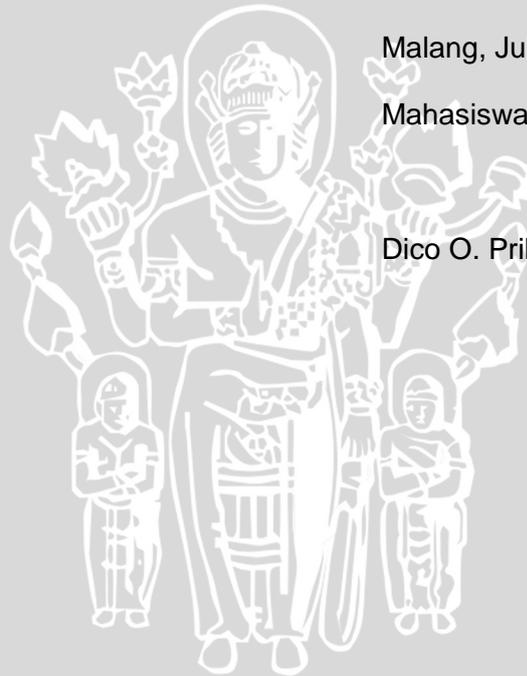
## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini penulis menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini hasil karya sendiri di bawah payung penelitian M. Fakhri, S. Pi., MP., M. Sc yang berjudul "Pertumbuhan, Produksi Biomassa, dan Pigmen Mikroalga Hijau pada Kondisi Lingkungan yang Berbeda". Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (*plagiasi*), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai peraturan yang berlaku di Indonesia.

Malang, Juli 2016

Mahasiswa

Dico O. Prihastama



## KATA PENGANTAR

Skripsi dengan judul “Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Petumbuhan, Produksi Biomassa dan Klorofil a *Tetraselmis chuii*” ini tersajikan untuk menjelaskan pengaruh perbedaan salinitas terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a yang dihasilkan oleh mikroalga yang diteliti. Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi pendahuluan, tinjauan pustaka, dan metode penelitian serta analisis data.

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

Malang, Juli 2016

Penulis



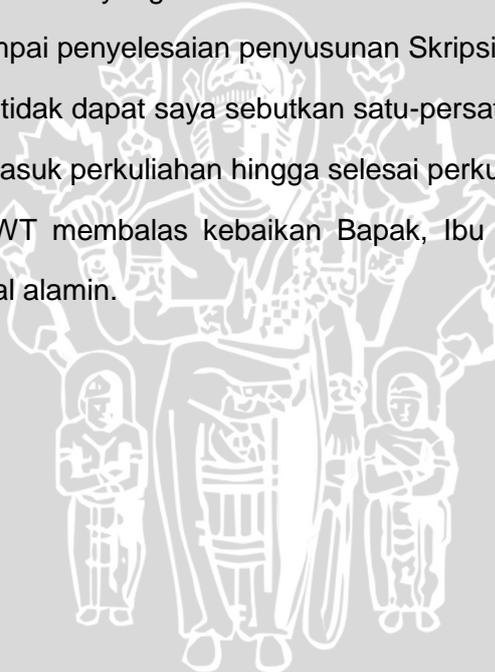
## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan berkah-Nya penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu.
2. Ayah Sugeng Priyono, Ibu Sri Heri Hastutik, dan Adik Dicky Ardika Kumbara serta keluarga besar yang tak henti-hentinya memberikan dukungan, serta doa sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan tepat waktu.
3. Ibu Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS. selaku dosen pembimbing 1 yang tidak lelah memberikan bimbingan, saran dan nasehat kepada penulis sehingga penyusunan skripsi ini dapat selesai tepat waktu.
4. Bapak M. Fakhri, S.Pi., MP., M.Sc. selaku dosen pembimbing 2 yang tidak lelah memberikan bimbingan, saran dan nasihat kepada penulis sehingga penyusunan skripsi ini dapat selesai tepat waktu.
5. Ibu Dr. Ating Yuniarti, S.Pi., M.Aqua selaku dosen penguji yang telah memberikan bimbingan dan masukan pada penulis.
6. Pak Udin, Pak Yit, Ibu Chod, Mbak Titin dan Mbak Hawa selaku staf laboratorium yang banyak membantu penulis hingga selesainya penyusunan skripsi.
7. Meidina Nur Azka yang telah memberikan semangat, doa dan dukungan secara moril sehingga diberikan kelancaran dalam penyusunan skripsi.
8. Tim Pakan Alami yaitu Wisnu, Endar, Sanudi, Pradipta, dan Uut yang telah lama bersama-sama dan membantu dari awal perkuliahan hingga melakukan penelitian bersama.
9. Teman-teman dilautan: Gogo, Uswa, Trino, Ummami dan juga Jefri, Laily, Udin, dan Arfan yang telah memberikan semangat dan hiburan

10. Teman-teman Fisheries Choir: Aris, Oka, Mas Aan, Mas Indra, Mas Tio, Nisa, Juki, Mbak Riris, Nina, Ilham, Aga yang telah memberikan semangat kepada penulis.
11. Teman-teman penghuni “Kontrakan Moeslim”: M. Sigit Firmansyah, Farid Burhanudin, dan Agung Setyomukti yang memberikan motivasi dalam pengerjaan penyusunan Skripsi ini.
12. Teman-teman Tim Limbah Cair Tahu: Nika M, Eva Riana D, Novy Purwita, Retno Palupi, dan Riza Nuraini yang telah membantu.
13. Eka Fanany R, Jefri Anjaini dan Asih Nurkaromah yang telah membantu penulis dalam rancangan percobaan skripsi.
14. Teman-teman *Aquasean* yang telah membantu dan memberi semangat kepada penulis sampai penyelesaian penyusunan Skripsi ini.
15. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu dalam membantu penulis dari awal masuk perkuliahan hingga selesai perkuliahan.

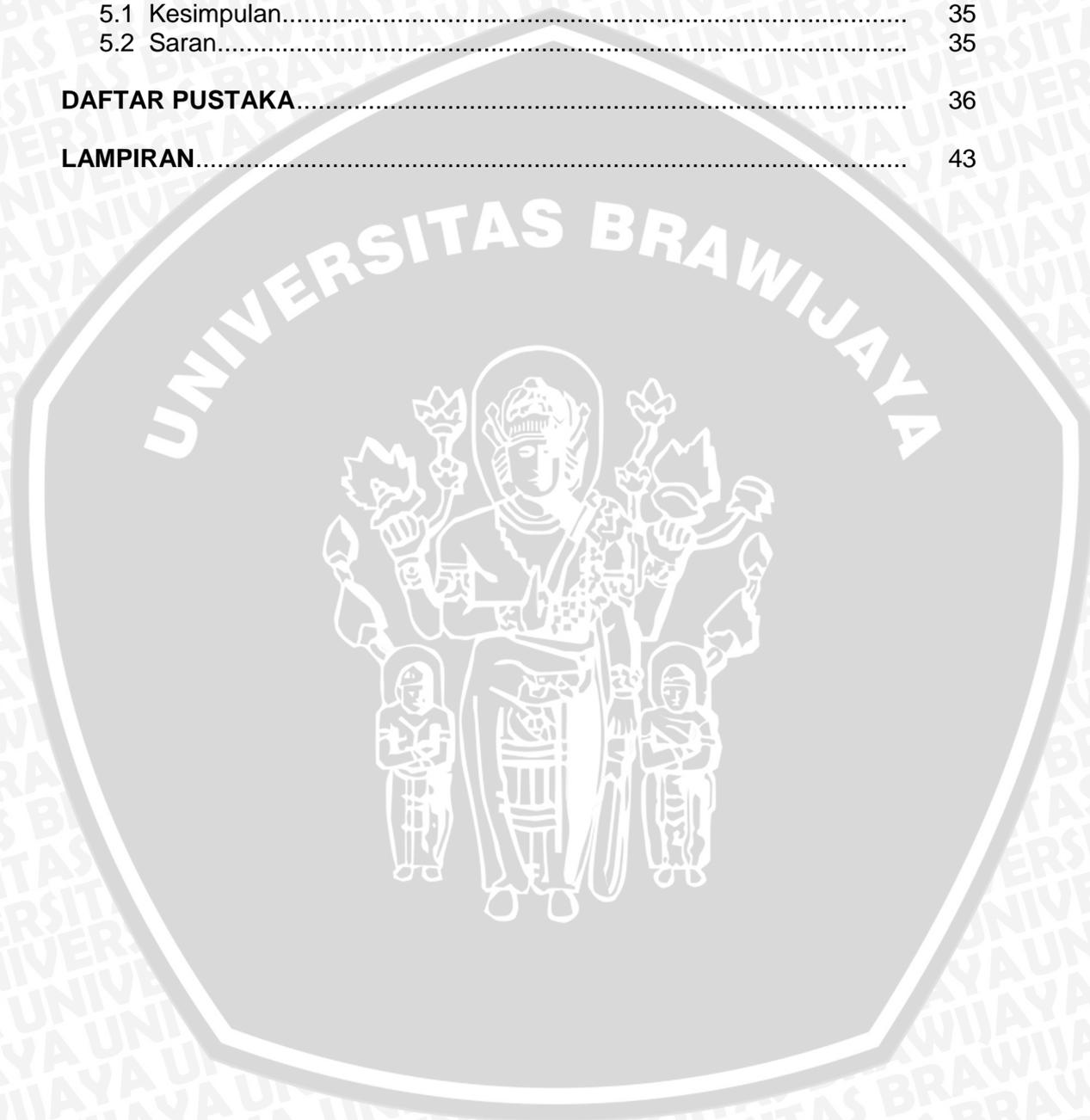
Semoga Allah SWT membalas kebaikan Bapak, Ibu serta teman-teman semua. Aamiin ya rabbal alamin.



DAFTAR ISI

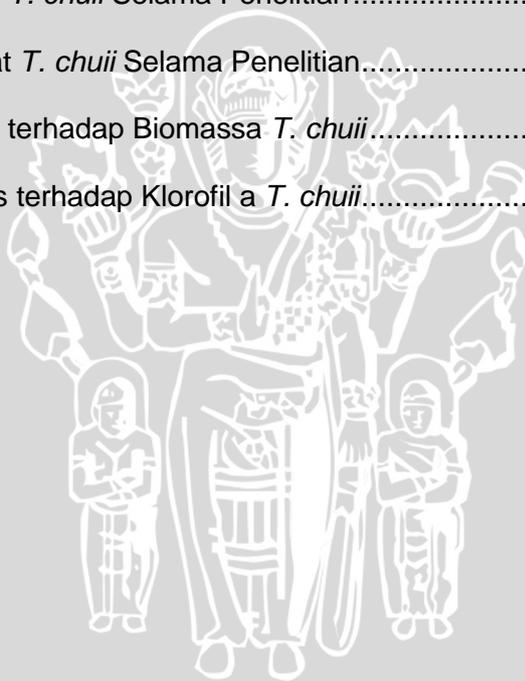
	Halaman
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Hipotesis .....	3
1.5 Kegunaan Penelitian .....	3
1.6 Tempat Dan Waktu Penelitian .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Biologi <i>T. chuii</i> .....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	5
2.1.2 Reproduksi <i>T. chuii</i> .....	6
2.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga .....	6
2.3 Sistem Kultur .....	8
2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan .....	8
2.4.1 Faktor Lingkungan .....	8
2.4.2 Faktor Nutrisi .....	9
2.5 Kandungan Pigmen .....	10
2.6 Mekanisme Salinitas Terhadap Pertumbuhan Mikroalga .....	12
<b>3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>13</b>
3.1 Alat dan Bahan Penelitian .....	13
3.1.1 Alat Penelitian .....	13
3.1.2 Bahan Penelitian .....	13
3.2 Media Penelitian .....	13
3.3 Metode Penelitian .....	14
3.4 Rancangan Percobaan Penelitian .....	14
3.5 Prosedur Penelitian .....	15
3.5.1 Persiapan Penelitian .....	15
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian .....	17
3.6 Parameter Uji .....	18
3.6.1 Parameter Utama .....	18
3.6.2 Parameter Penunjang .....	20
3.7 Analisis Data .....	21

<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	22
4.1 Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Pertumbuhan <i>T. chuii</i> ...	22
4.2 Pengaruh Salinitas Terhadap Biomassa <i>T. chuii</i> .....	29
4.3 Pengaruh Salinitas Terhadap Klorofil a <i>T. chuii</i> .....	31
4.4 Kualitas Air .....	33
<b>5. KESIMPULAN</b> .....	35
5.1 Kesimpulan.....	35
5.2 Saran.....	35
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	36
<b>LAMPIRAN</b> .....	43



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>T. chuii</i> .....	5
2. Fase Pertumbuhan Mikroalga.....	7
3. Struktur kimia pigmen klorofil a dan klorofil b.....	11
4. Denah Percobaan.....	15
5. Pertumbuhan <i>T. chuii</i> .....	23
6. Hubungan Salinitas terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik <i>T. chuii</i> .....	25
7. Nilai Serapan Nitrat <i>T. chuii</i> Selama Penelitian.....	27
8. Nilai Serapan Fosfat <i>T. chuii</i> Selama Penelitian.....	28
9. Hubungan Salinitas terhadap Biomassa <i>T. chuii</i> .....	30
10. Hubungan Salinitas terhadap Klorofil a <i>T. chuii</i> .....	32



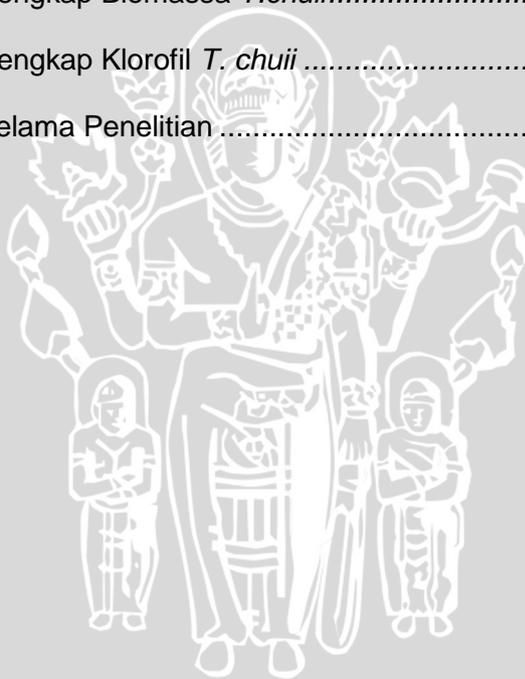
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-rata Parameter Uji Selama Penelitian.....	22



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Proses Sterilisasi.....	43
2. Komposisi Pupuk Walne.....	45
3. Data Pertumbuhan <i>T.chuii</i> selama Penelitian.....	46
4. Data Laju Pertumbuhan Spesifik <i>T.chuii</i> selama Penelitian.....	47
5. Rancangan Acak Lengkap Laju Pertumbuhan Spesifik <i>T.chuii</i> .....	48
6. Data Pengukuran Nitrat dan Fosfat serta Presentase Serapannya.....	54
7. Rancangan Acak Lengkap Biomassa <i>T.chuii</i> .....	56
8. Rancangan Acak Lengkap Klorofil <i>T. chuii</i> .....	62
9. Data Kualitas Air selama Penelitian.....	68



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Mikroalga merupakan mikroba fotoautotrof yang memiliki diversitas yang sangat besar dan kisaran hidup yang luas (Susilaningsih *et al.*, 2014). Manfaat mikroalga bagi keperluan manusia antara lain di bidang perikanan, industri farmasi dan makanan suplemen, pengolahan limbah logam berat, dan sumber energi alternatif biodiesel (Wang *et al.*, 2008). Pada bidang perikanan, mikroalga diperlukan untuk nutrisi larva, moluska, udang penaeid maupun larva ikan baik untuk konsumsi langsung maupun secara tidak langsung. Alasan mikroalga digunakan sebagai nutrisi karena beberapa mikroalga mampu menghasilkan beberapa senyawa yang menguntungkan atau dapat dimanfaatkan seperti asam amino, vitamin, karotenoid, asam lemak, polisakarida, dan antibiotik (Serdar *et al.*, 2007; Azma *et al.*, 2011).

Salah satu mikroalga yang dapat dimanfaatkan sebagai pakan alami larva ikan, larva udang dan moluska yaitu *Tetraselmis chuii*. *T. chuii* dipilih karena mengandung nilai gizi yang tinggi yaitu protein 48,42%, karbohidrat 12,10% dan lemak 9,70%. Selain itu, *T. chuii* mengandung total klorofil berkisar antara 3,65-19,20 mg/g (Sani *et al.*, 2014).

Sementara itu, untuk menunjang produksi mikroalga perlu dilakukan optimalisasi lingkungan hidup mikroalga agar pertumbuhan optimal. Beberapa parameter lingkungan seperti intensitas cahaya dan salinitas merupakan faktor pembatas pertumbuhan serta mempunyai efek yang signifikan terhadap laju pertumbuhan, produktivitas mikroalga, mekanisme fisiologi dan biokimia serta kandungan pigmen mikroalga (Ghezelbash *et al.*, 2008; Kalita *et al.*, 2011; Cowan dan Rose, 1998).

Salinitas bagi *T. chuii* sangat penting untuk mempertahankan tekanan osmotik antara protoplasma dengan air sebagai lingkungan hidupnya. Salinitas yang terlalu tinggi atau rendah menyebabkan tekanan osmosis di dalam sel menjadi lebih rendah atau lebih tinggi, sehingga aktifitas sel menjadi terganggu. Hal ini dapat mempengaruhi pH sitoplasma sel dan menurunkan kegiatan enzim di dalam sel juga dapat mempengaruhi proses metabolisme. Di samping itu, pemulihan tekanan turgor, regulasi penyerapan dan ekspor ion melalui membran sel, akumulasi osmo yang melindungi zat terlarut dan kandungan protein akan aktif ketika sel-sel tersebut terkena salinitas yang nantinya akan berpengaruh terhadap pertumbuhan sel. *T. chuii* dapat tumbuh pada salinitas 0 – 35 ppt (Baharuddin, 2011; Talebi *et al.*, 2013).

Salinitas berpengaruh terhadap pertumbuhan *Tetraselmis* sp. dan kandungan biokimia *T. chuii* seperti karbohidrat, protein, proline, dan kandungan pigmen (Ghezelbash *et al.*, 2008). Penelitian mengenai pengaruh salinitas pada pertumbuhan *T. chuii* sebelumnya pernah dilakukan Serdar *et al.* (2007), dimana didapatkan hasil pertumbuhan tertinggi pada media kultur bersalinitas 25 ppt dengan jumlah sel  $6,48 \times 10^6$  sel.ml<sup>-1</sup>. Akan tetapi, pada penelitian Fakhri *et al.* (2015), menunjukkan bahwa salinitas optimal bagi pertumbuhan *Tetraselmis* sp. adalah 15 ppt. Banerjee *et al.* (2011), menyatakan bahwa kemampuan adaptasi mikroalga terhadap salinitas bervariasi antar spesies. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh salinitas terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *T. chuii*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Mikroalga *T. chuii* memiliki peran sebagai produsen primer dengan kandungan nutrisi tinggi yang dibutuhkan sebagai makanan alami larva ikan maupun non-ikan. Sebagai organisme fotosintetik, selain membutuhkan nutrisi,

*T. chunii* juga memerlukan kondisi lingkungan yang terbaik untuk pertumbuhan dan proses fotosintesisnya. Salinitas memegang peranan penting baik dalam pertumbuhan serta proses tersebut. Salinitas pada kultur *T. chunii* akan menentukan biomassa serta kandungan klorofil a selnya. Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh perlakuan salinitas yang berbeda terhadap produksi biomassa dan klorofil a *T. chunii*?
- Berapa salinitas yang terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *T. chunii*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Menjelaskan pengaruh perlakuan salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *T. chunii*.
- Menentukan salinitas yang terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a *T. chunii*.

### 1.4 Hipotesis

H<sub>0</sub>: Perlakuan salinitas yang berbeda tidak mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *T. chunii*.

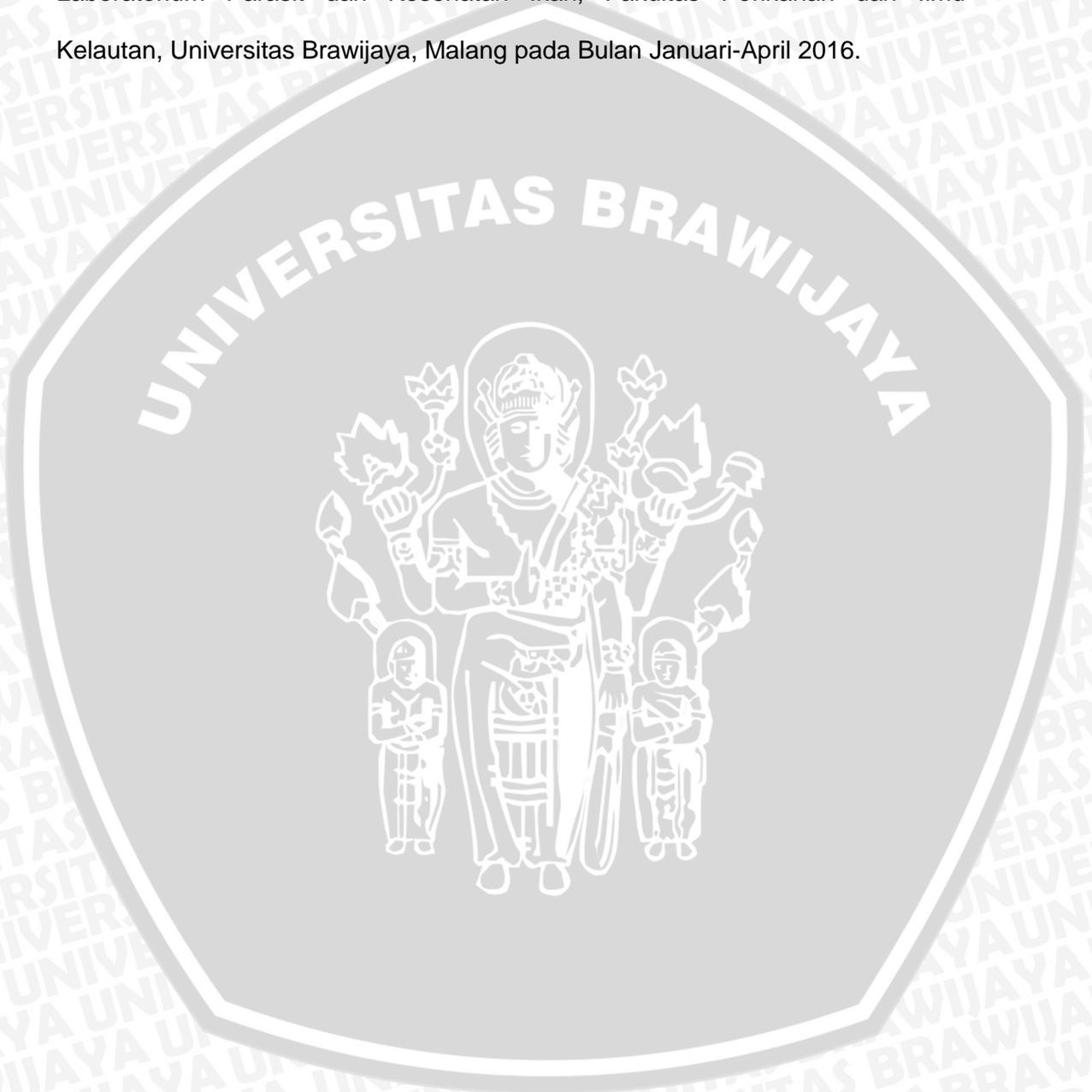
H<sub>1</sub>: Perlakuan salinitas yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *T. chunii*

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai informasi tentang pengaruh salinitas yang berbeda terhadap produksi biomassa dan klorofil a *T. chunii* dan sebagai informasi tentang salinitas yang terbaik untuk produksi biomassa dan klorofil a *T. chunii*.

### 1.6 Tempat Dan Waktu Penelitian

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



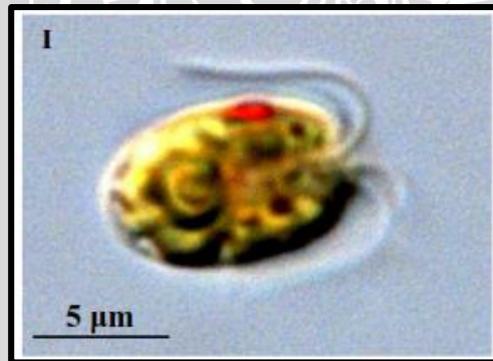
## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi *T. chuii*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

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

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



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

Spesies dari kelompok ini adalah bersel tunggal dan mempunyai flagella serta mengandung banyak klorofil, sehingga jika dilihat dibawah mikroskop tampak berwarna hijau dengan plastida kloroplast. Ukuran selnya berkisar antara 7-12 mikron dan berbentuk oval dan memiliki dinding sel yang tipis. Nilai gizi yang terkandung dalam *T. chuii* cukup tinggi diantaranya mengandung protein (50%), karbohidrat (20%), asam amino, vitamin dan mineral. (Sumeru dan Anna, 1992; Graham dan Lee, 2002; Putri *et al.*, 2013).

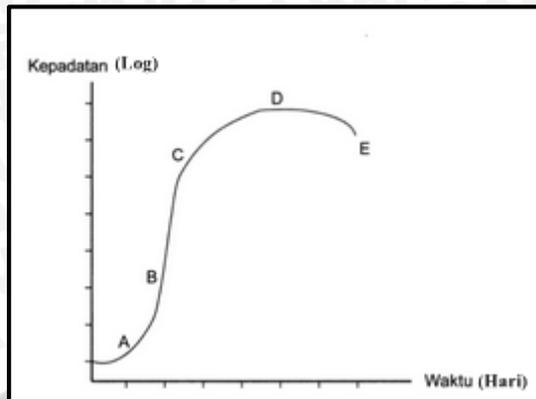
### 2.1.2 Reproduksi *T. chuii*

Reproduksi *T. chuii* terjadi secara vegetatif aseksual dan seksual. Bagan reproduksi *T. chuii* secara aseksual: dimulai dari sel vegetatif, kemudian membentuk 4 buah zoospora. Ketika keempat zoospora telah terbentuk maka akan berlanjut pada penentuan letak gamet. Setelah letak gamet ditentukan maka unit unit gamet mengalami pembelahan. Kemudian unit unit gamet tersebut berkembang menjadi *zygospora*. Sedangkan reproduksi secara seksual atau yang biasa dikenal dengan istilah isogami diawali dari terjadinya fusi antara gamet jantan dan gamet betina, kemudian kloroplas bersatu. Setelah kloroplas bersatu maka akan terbentuk zygot baru (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

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

### 2.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga

Menurut Ru'yatin *et al.* (2015), faktor lingkungan, ukuran tubuh, perbedaan jenis merupakan penyebab dari perbedaan pola pertumbuhan mikroalga. Mikroalga mengalami beberapa fase pertumbuhan secara umum yang meliputi fase lag atau fase adaptasi, fase eksponensial atau log, fase stasioner dan fase drop atau kematian. Akan tetapi, tidak semua mikroalga mengalami fase adaptasi, fase eksponensial maupun fase stasioner. Hal ini dapat terjadi karena adanya beberapa faktor seperti misalnya faktor dari mikroalga itu sendiri, faktor pengambilan inokulum, maupun faktor lingkungan. Adapun fase pertumbuhan mikroalga dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Fase Pertumbuhan Mikroalga (Murtidjo, 2003)

Keterangan:

- A : Tahap adaptasi atau tahap sel menyesuaikan diri dengan lingkungan barunya
- B : Tahap pertumbuhan atau tahap sel sudah mulai dapat menyerap nutrisi dan mengalami pembelahan sel
- C : Tahap pertumbuhan dipercepat atau tahap sel mengalami pembelahan berkali-kali
- D : Tahap stasioner atau tahap puncak populasi, faktor pembatas seimbang dengan jumlah populasi
- E : Tahap kematian atau tahap sel sudah banyak yang mati

Fase adaptasi pada mikroalga biasanya terjadi pada hari pertama kultur.

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

Kabinawa (2006), pada fase eksponensial, sel inokulum mengalami pembelahan maksimal yaitu menjadi dua kali lipat dari sebelumnya. Faktor yang mempengaruhi hal tersebut adalah kondisi lingkungan dan komposisi medium.

Fase stasioner merupakan fase dimana laju kematian sama dengan laju pertumbuhan, sehingga populasi menjadi tetap untuk sementara waktu (Purwitasari *et al.*, 2012). Pada fase ini mikroalga dapat mempertahankan sel dengan memanfaatkan nutrisi yang ada di lingkungan, agar jumlah sel yang mati dengan jumlah sel yang masih berkembang memiliki laju yang sama, dengan kata lain pada fase ini mikroalga tumbuh dalam kondisi konstan. Fase

kematian merupakan tingkat kematian mikroalga lebih tinggi dibandingkan sel yang membelah (Khrisnan *et al.*, 2015). Fase ini ditandai dengan kepadatan populasi yang terus berkurang, hal ini dikarenakan laju kematian yang lebih tinggi dari pada laju pertumbuhan (Pelczar *et al.*, 1986).

### 2.3 Sistem Kultur

Ketiga budidaya ini (bertingkat, semi-kontinu dan kontinu) merupakan tipe dasar dari budidaya mikroalga. Budidaya bertingkat meliputi kegiatan inokulasi bibit mikroalga murni ke media budidaya yang telah dipupuk dan dipelihara beberapa hari, mikroalga dipanen setelah populasi bertambah mendekati kepadatan maksimum pada fase pertumbuhan eksponensial (Ekawati, 2005).

Kultivasi pada skala laboratorium diperlukan dimulai dengan media agar sebagai habitat tempat tumbuh sampai dengan media air volume 10-15 liter per wadah. Kultivasi skala laboratorium memiliki tujuan untuk mempertahankan bibit dari strain unggulan tetap, berada pada kondisi terjaga dan terkendali, sehingga pertumbuhan mikroalga bisa maksimum. Kultivasi skala laboratorium membutuhkan pupuk dan vitamin yang bersifat pro analisis untuk menjamin kondisi sel mikroalga tetap baik (Kawaroe *et al.*, 2010).

### 2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan

#### 2.4.1 Faktor Lingkungan

Proses kultur mikroalga sangat dipengaruhi oleh dua faktor pertumbuhan yaitu faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal meliputi spesies serta faktor eksternal meliputi komposisi media kultur, pH, karbondioksida, intensitas cahaya, suhu, dan salinitas (Putri *et al.*, 2013).

Menurut Wagenen *et al.* (2012), dampak suhu secara fisiologi pada mikroalga dapat mengubah laju reaksi kimia dan stabilitas komponen seluler.

Kebanyakan mikroalga merespon kenaikan suhu dengan peningkatan pertumbuhan eksponensial hingga mencapai suhu optimum, dan setelah kehilangan titik optimum cenderung menyebabkan penurunan tajam dalam tingkat pertumbuhan. Sharma *et al.* (2014), menjelaskan bahwa pH memainkan peran penting dalam kegiatan metabolisme mikroalga. pH sangat mempengaruhi produksi biomassa, pemecahan bahan kimia dan fisiologi sel. Menurut Parmar *et al.* (2011), untuk budidaya mikroalga, intensitas cahaya dan lama penyinaran merupakan komponen yang penting dalam menentukan produksi biomassa. Mikroalga menggunakan cahaya sebagai sumber energi mensintesis sel protoplasma.

Berdasarkan penelitian, bahwa titik optimum salinitas bagi pertumbuhan *T. chuii* adalah 25 ppt, pH optimum sebesar 8,23 dan dengan intensitas cahaya 4500 lux pada media walne (Adi *et al.*, 2015; Ghezlbash *et al.*, 2008; Mohammadi *et al.*, 2015).

#### 2.4.2 Faktor Nutrisi

Pada umumnya media terdiri dari tiga komponen: makronutrien, mikronutrien, unsur jejak dan vitamin. Ketiganya sering disiapkan sebagai larutan stok (Andersen, 2005). Unsur makronutrien yang dibutuhkan mikroalga untuk meningkatkan pertumbuhan dan kandungan karbohidrat adalah unsur nitrogen (N) dan fosfat (P). Unsur nitrogen yang dapat dimanfaatkan berupa senyawa nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) dan ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) (Sari, 2014). Ammonium diperlukan dalam jumlah besar untuk meningkatkan jumlah methionin yang akan berdampak pada peningkatan pembentukan protein sehingga pertumbuhan mikroalga meningkat (Sari, 2009).

Kebutuhan nutrisi ideal agar mikroalga dapat tumbuh dengan optimal berdasarkan rasio berat untuk masing – masing nutrien C : N : P adalah 56% : 8,6 % : 1,2%. Sumber nitrogen didapat dari penambahan urea, karbon didapat

dari penambahan bikarbonat, dan sumber fosfat didapat dari penambahan TSP. Manfaat nitrogen bagi mikroalga yaitu sebagai pembentuk asam amino dan asam nukleat, sedangkan fosfat digunakan untuk pembentukan ATP, asam nukleat dan koenzim (Krismawati dan Rizky, 2013).

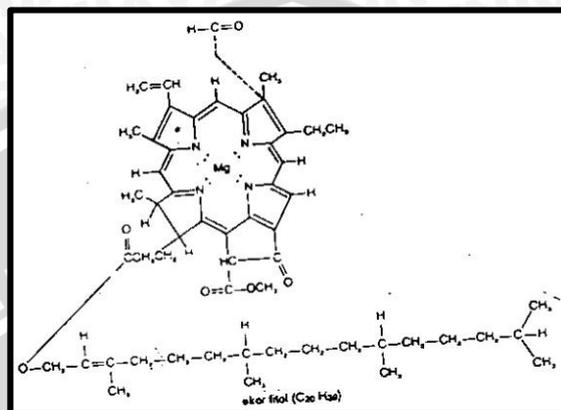
## 2.5 Kandungan Pigmen

Pigmen adalah suatu senyawa kimia yang menyerap dan memantulkan panjang gelombang tertentu dari cahaya yang tampak. Pigmen mempunyai peran sebagai penyerap energi cahaya dalam sistem fotosintesis mikroalga. Pigmen utama dikelompokkan dalam klorofil, karotenoid dan *phycobilins* (Spolaore *et al.*, 2006). Tanaman dan mikroalga mengandung berbagai jenis senyawa kimia. Warna tanaman dan mikroalga disebabkan oleh kandungan pigmen di dalamnya terdiri atas klorofil, karotenoid dan grup flavonoid yang terdiri atas antosianin, antoxantin dan tannin (Abdilla *et al.*, 2014). *T. chuii* yang termasuk kelompok alga hijau ini mengandung banyak pigmen hijau, sehingga terlihat berwarna hijau jika dilihat di bawah mikroskop. Pigmennya terdiri atas dua macam yaitu klorofil a dan klorofil b, serta sedikit karotenoid (Sumeru dan Anna, 1992).

### - Klorofil dan Karotenoid

Zat warna pada mikroalga dibagi menjadi tiga kelompok: (1) klorofil; (2) karotenoid dan xantofil; dan (3) pikobiliptotein. Warna hijau yang tampak kasat mata pada mikroalga fotoautotropik adalah berasal dari pigmen, pigmen hijau terutama berasal dari klorofil dan karotenoid yang dominan memberikan warna pada mikroalga tersebut (Chronakis *et al.*, 2000). Kelompok klorofil terdapat dua macam yaitu klorofil-a dan klorofil-b. Komposisi dari kedua klorofil ini adalah sama dimana komposisi klorofil-a adalah  $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ , sedangkan klorofil-b adalah  $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ , masing-masing dengan atom Mg sebagai pusat. Yang

membedakan keduanya yaitu terletak pada gugus  $\text{CH}_3$  pada klorofil-a yang disubstitusikan dengan  $\text{HC-O}$  pada klorofil-b. Klorofil-a mempunyai berat molekul 893 dan klorofil-b 907 (Riyono, 2007). Struktur kimia klorofil a dan klorofil a untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Struktur kimia pigmen klorofil a dan klorofil b (Diharmi, 2001)

Menurut penelitian yang dilakukan Tsai *et al.* (2016), kandungan klorofil tertinggi *T. chunii* yang didapat yaitu klorofil a  $3,21 \pm 0,60$  % berat kering dan klorofil b  $1,05 \pm 0,20$  % berat kering. Kandungan klorofil *T. chunii* menurut Abdilla *et al.* (2014) adalah klorofil a 6,76 mg/g BB dan klorofil b 3,84 mg/g BB dengan total klorofil 10,60 mg/g BB. Karotenoid merupakan pigmen paling umum di alam dan disintesis oleh semua organisme fotosintetik dan fungi (Vilchez *et al.*, 2011). Karotenoid berasal dari kelas terpenoid, berupa rantai poliena dengan 40 karbon yang dibentuk dari delapan unit isoprena  $\text{C}_5$  yang memberikan struktur molekul karotenoid yang khas (de Campo *et al.*, 2007). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Tsai *et al.* (2016), kandungan  $\beta$  karoten tertinggi *T. chunii* adalah  $6,32 \pm 1,27$  % biomassa kering. Karotenoid memberikan kontribusi yang besar bagi berbagai sektor kehidupan terutama sebagai sumber vitamin A yang bermanfaat bagi organ visual, pewarna makanan, bahan aditif pada makanan, penambah sel darah merah, antioksidan, antibakteria, meningkatkan imunitas, serta pengganti sel sel yang rusak (de Fretes *et al.*, 2012).

## 2.6 Mekanisme Salinitas Terhadap Pertumbuhan Mikroalga

Salinitas bagi pertumbuhan *T. chuii* sangat berpengaruh karena berhubungan dengan tekanan osmotik antara protoplasma dengan air sebagai media hidupnya. Jika dalam keadaan salinitas yang terlalu tinggi akan menyebabkan tekanan osmotik di dalam sel *T. chuii* menjadi lebih rendah atau tinggi dimana hal ini mengganggu aktivitas sel. Di samping itu, salinitas juga dapat mempengaruhi pH sitoplasma sel dan menurunkan kegiatan enzim di dalam sel, juga dapat mempengaruhi proses metabolisme. Perubahan salinitas mempengaruhi organisme dalam tiga cara, yang pertama adalah stres osmotik yang berdampak langsung pada potensi sel, yang kedua adalah ion (garam) stres yang disebabkan oleh penyerapan atau kehilangan ion, yang sekaligus merupakan bagian dari aklimatisasi dan ketiga adalah perubahan rasio ionik seluler karena permeabilitas ion selektif membran (Rao *et al.*, 2006).

Terdapat dua tahap respon alga terhadap perubahan salinitas. Tahap pertama yaitu ditandai dengan perubahan yang cepat dalam perubahan volume atau tekanan turgor yang disebabkan oleh fluktuasi air yang masuk atau keluar dari organisme mengikuti gradien osmotik. Aklimatisasi osmotik merupakan bagian dari tahap kedua respon alga terhadap perubahan osmotik (Kirst, 1989).

Menurut Noriko *et al.* (2015), salinitas mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas mikroalga, dengan penelitian yang menunjukkan tingkat pertumbuhan mikroalga bervariasi sesuai dengan tingkat salinitas di lingkungan sekitar. Dalam penelitian ini, *Tetraselmis* sp. tumbuh pada tingkat salinitas 25 ppt dan 35 ppt. Akan tetapi, ditunjukkan Alsull dan Omar (2012), *Tetraselmis* sp. dari *Penang National Park* dapat tumbuh pada salinitas di bawah 16 ppt. Di sisi lain, berdasarkan penelitian Kunjapur dan Eldridge (2010), menyatakan bahwa pertumbuhan optimum *Tetraselmis* sp. yaitu pada salinitas 20-35 ppt.

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini antara lain toples kaca 2,5 L sebagai wadah kultur, aerator, selang aerator, lampu TL 36 watt, botol *sprayer*, pH meter, DO meter, termometer Hg 100 °C, *haemocytometer Neubauer Assistend*, nampan, mikroskop *Olympus CX21*, bola hisap *D&N*, pipet volume 1 dan 10 ml *Pyrex Iwaki*, pipet tetes, erlenmeyer 500 ml, autoklaf *GEA*, gayung, gelas ukur 100 ml, *beaker glass* 250 ml, *handtally counter*, mikropipet 100-1.000 µl *Eppendorf Research Plus*, *washing bottle*, *cover glass*, *cuvet*, *sentrifuge*, oven *RedLine RE53*, timbangan analitik *Radwag AS2201X*, bak besar, refraktometer *Agata*, kalkulator, spektrofotometer *Spectroquant pharo 300*, bunsen, botol film, cawan petri, *vacuum pump VE115 Value*.

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *T. chuii*, air tawar, air laut, klorin, Na-Thiosulfat, alkohol 70 %, tissue, kapas, kain saring, kertas saring GF/C, vitamin, pupuk walne, aquades, methanol absolut, benang kasur, kertas koran, kertas label, alumunium foil, kapas, lugol.

#### 3.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian ini yaitu air laut dengan salinitas 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt, dan 35 ppt. Air tawar yang digunakan diperoleh dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya yang kemudian didistribusikan melalui pipa menuju bak penampungan air. Air laut diperoleh dari Pasar Bunu. Sebelum digunakan, air disterilisasi untuk selanjutnya digunakan

sebagai media kultur pada toples kaca 2,5 L sebanyak 12 buah dan diaerasi untuk mensuplai kandungan oksigen terlarut.

### 3.3 Metode Penelitian

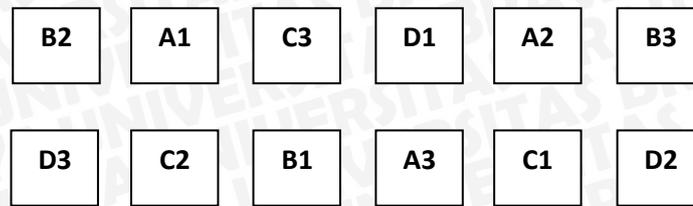
Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen. Wibisono (2013), menjelaskan kegunaan dari perlakuan eksperimen adalah melakukan sesuatu terhadap objek dan mengobservasi reaksinya dalam kondisi dimana dalam penggunaannya dapat diukur menggunakan standart atau ukuran yang sudah dikenal.

### 3.4 Rancangan Percobaan Penelitian

Pada penelitian ini, rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penggunaan RAL digunakan karena penelitian dilakukan di laboratorium dengan kondisi lingkungan yang terkontrol (Nazir, 2003). RAL merupakan rancangan penelitian yang paling sederhana dengan bahan yang homogen dan perlakuan terbatas. Keuntungan menggunakan RAL yaitu denah perancangan lebih mudah, analisis statistik terhadap subjek percobaan sangat sederhana, fleksibel dalam penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan, kehilangan informasi relatif sedikit dalam hal data hilang dibandingkan dengan rancangan lain (Novianti *et al.*, 2014). Denah percobaan dapat dilihat pada Gambar 4.

Perlakuan yang diberikan adalah pemberian salinitas yang berbeda yaitu terdiri dari empat perlakuan dengan tiga kali ulangan:

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



**Gambar 4.** 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 suatu proses membunuh mikroorganisme yang tidak diinginkan baik pada alat-alat, bahan, atau media yang digunakan. Sterilisasi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sterilisasi panas basah dan sterilisasi kimia. Sterilisasi panas basah menggunakan autoklaf, sedangkan sterilisasi kimia menggunakan bahan dalam bentuk larutan meliputi klorin 30 ppm selama 24 jam dan diberi Na-Thiosulfat 15 ppm untuk menetralkan serta menghilangkan bau klorinnya (Suminto, 2009).

Peralatan yang terbuat dari kaca meliputi pipet volume dan pipet tetes disterilisasi dengan menggunakan autoklaf. Peralatan yang disterilkan dicuci menggunakan sabun, kemudian dibilas dengan air tawar, dan ditunggu sampai kering. Selanjutnya peralatan tersebut dibungkus dengan menggunakan kertas koran. Namun sebelum dibungkus, pipet volume dan pipet tetes harus diberi kapas dan diikat menggunakan benang kasur. Setelah itu, ditata peralatan yang akan disterilkan di dalam autoklaf, kemudian ditutup. Prinsip kerja autoklaf adalah sterilisasi panas basah dengan tekanan 1 atm pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 30 menit. Peralatan lainnya yaitu toples kaca, erlenmeyer, *beaker glass*, dan

gelas ukur yang digunakan untuk kultur disterilisasi cara direndam air tawar dan ditambahkan larutan klorin 30 ppm, didiamkan selama 24 jam kemudian dinetralkan dengan larutan Na-Thiosulfat 15 ppm. Proses sterilisasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

Media kultur berupa air tawar disterilisasi dengan cara ditampung dalam bak penampungan dengan kapasitas 60 liter, kemudian disterilkan dengan menggunakan larutan klorin 30 ppm dan dinetralkan menggunakan larutan Na-Thiosulfat 15 ppm.

#### **b. Penyiapan Media Kultur**

Media kultur yang digunakan yaitu air tawar yang berasal dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang dan air laut yang berasal dari Pasar Bunul. Media kultur yang akan digunakan pada percobaan ditampung pada bak penampungan kapasitas 60 liter. Media kultur yang dituang ke dalam toples dilakukan penyaringan terlebih dulu. Nutrien yang ditambahkan ke dalam media kultur yaitu pupuk walne dan vitamin dengan dosis 1 ml/L yang berasal dari Balai Perikanan Budiaya Air Payau (BBAP) Situbondo. Komposisi pupuk walne dapat dilihat pada Lampiran 2.

#### **c. Penyiapan Inokulan *T. chuii***

Bibit *T. chuii* diperoleh dari kultur murni Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut (BBRPBL) Gondol, Bali. Selanjutnya dikultur pada media air laut sebanyak 300 ml yang telah disterilisasi. Penyediaan inokulan untuk stok penelitian *T. chuii* dilakukan selama 4 hari untuk mencapai fase eksponensial. Selama penyiapan inokulan tersebut suhu ruang dijaga pada 28 °C dengan intensitas cahaya 4.500 lux.

Stok *T. chuii* yang akan ditebar untuk percobaan, sebelumnya dihitung kepadatan awalnya dengan menggunakan mikroskop dan *haemocytometer* untuk mengetahui seberapa banyak bibit *T. chuii* yang dibutuhkan untuk ditebar

pada media. Selanjutnya apabila telah diketahui kepadatannya, ditentukan, bibit *T. chuii* siap digunakan untuk stok awal penebaran.

#### d. Pengaturan Salinitas

Perlakuan salinitas yang dilakukan dalam penelitian ini adalah membuat media dengan salinitas 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt, dan 35 ppt dimana pembuatannya dilakukan dengan metode pengenceran antara air laut dan air tawar. Intensitas cahaya yang diberikan yaitu 4.500 lux, dimana pada setiap sisi rak kultur diberi penutup berupa styrofoam untuk memaksimalkan penyerapan cahaya dan perlakuan kultur. Lamanya pencahayaan pada penelitian ini adalah selama 24 jam. Berikut adalah rumus pengenceran untuk perlakuan media dengan salinitas yang berbeda:

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

Keterangan :

- $V_1$  : Volume air tawar dan air laut yang diketahui
- $N_1$  : Salinitas air laut dan air tawar yang diketahui
- $V_2$  : Volume air media yang diinginkan
- $N_2$  : Salinitas air media yang diinginkan

#### 3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

Pemberian pupuk walne dan vitamin dilakukan sebelum penataan wadah kultur dengan dosis masing-masing yaitu 1 ml L<sup>-1</sup>. Wadah yang telah diisi media sebanyak 1,5 liter diletakkan di atas rak kultur sesuai dengan denah rancangan percobaan yang telah dibuat dengan salinitas yang berbeda. Selanjutnya diaerasi, setelah itu dimasukkan bibit *T. chuii* dengan kepadatan awal 1 x 10<sup>5</sup> sel mL<sup>-1</sup> (Khaton *et al.*, 2014). Pengamatan pertumbuhan *T. chuii* dilakukan setiap hari selama masa kultur atau setiap 24 jam sekali. Selanjutnya dilakukan pengukuran biomassa dan klorofil a *T. chuii* pada saat puncak pertumbuhan tertinggi.

Parameter penunjang yang diukur pada media pemeliharaan meliputi suhu, pH, DO, nitrat dan fosfat. Adapun pengukuran suhu, pH, DO, nitrat dan fosfat dilakukan satu kali sehari setiap 24 jam.

### 3.6 Parameter Uji

#### 3.6.1 Parameter Utama

##### a. Pertumbuhan *T. chuii*

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

$$\text{Jumlah (sel mL}^{-1}\text{)} = \frac{n}{\text{jumlah bidang pandang}} \times 25 \times 10^4$$

Apabila kepadatannya tinggi maka perlu dilakukan pengenceran agar hasil hitungan lebih akurat dan maksimal. Rumus yang digunakan untuk menghitung kepadatan sel yang telah mengalami pengenceran yaitu:

$$\text{Jumlah (sel mL}^{-1}\text{)} = \frac{n}{\text{jumlah bidang pandang}} \times 25 \times 10^4 \times \text{faktor pengenceran}$$

##### - Laju Pertumbuhan Spesifik

Perhitungan laju spesifik dari pertumbuhan saat awal kultur hingga puncak konsentrasi maksimum. Laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan menggunakan rumus Ak *et al.* (2008), yaitu:

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

keterangan:

- $\mu$  : merupakan laju pertumbuhan spesifik (hari<sup>-1</sup>)
- $x_1$  : konsentrasi sel pada  $t_1$  (sel/jam)
- $x_2$  : konsentrasi sel pada  $t_2$  (sel/jam)
- $t_1$  : waktu awal *sampling* (jam)
- $t_2$  : waktu akhir *sampling* (jam)

### - **Doubling Time**

*Doubling time* (td) 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 Ak *et al.* (2008) sebagai berikut:

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

### b. Biomassa *T. chuii*

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

Perhitungan:

Berat kertas saring = A

Berat kertas saring + alga = B

Berat kering/biomassa (g L<sup>-1</sup>) = ([B] – [A]) x 1.000 / Volume sampel

### c. Klorofil a

Cara pengukuran kandungan klorofil a modifikasi Bennett dan Bogorad (1973) dan Lichtenthaler (1987), yaitu diambil 5 ml sampel lalu dimasukkan dalam *falcon* dan dibungkus *aluminium foil* tertutup rapat. Setelah itu disentrifugasi pada 5.000 rpm selama 20 menit dan dibuang supernatannya. Dilakukan proses *freezing-thawing* masing-masing 15 menit (hingga membeku

dan mencair) sebanyak 3 kali ulangan. Ditambahkan 5 ml *methanol absolute* lalu divortex selama 15 detik. Diinkubasi pada suhu 4 °C dalam keadaan gelap selama 24 jam. Kemudian sampel divortex dan dilakukan sentrifugasi 6.000 rpm selama 10 menit. Perhitungan klorofil a menurut Ritchie (2006), yaitu:

$$\text{Chl a } (\mu\text{g mL}^{-1}) = -8,0962 \times \text{OD}_{652} + 16,5169 \times \text{OD}_{665}$$

### 3.6.2 Parameter Penunjang

#### a. Suhu

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer yang dicelupkan ke dalam media kultur *T. chuii* kemudian dicatat hasilnya. Pengukuran dilakukan 1 kali sehari setiap 24 jam.

#### b. pH

Kandungan pH (derajat keasaman) pada percobaan diukur menggunakan pH meter yang dicelupkan ke dalam media kultur *T. chuii* dan dicatat hasilnya. Pengamatan pH dilakukan 1 kali sehari setiap 24 jam.

#### c. DO

Pengukuran DO pada media kultur dilakukan sebanyak 1 kali sehari setiap 24 jam. Pengukuran DO dilakukan dengan menggunakan DO meter yang dicelupkan ke dalam media kultur *T. chuii* dan dicatat hasilnya.

#### d. Pengukuran Kadar Nitrat

Pengukuran kadar nitrat dilakukan pada awal tebar, fase eksponensial, dan pada puncak pertumbuhan tertinggi. Air sampel dituang sebanyak 12,5 ml ke dalam cawan porselen dan dipanaskan sampai membentuk kerak dan didinginkan. Kemudian ditambahkan 0,25 ml asam fenol disulfonik (6-7 tetes). Selanjutnya ditambahkan sedikit H<sub>2</sub>O dan dikerik sampai keraknya larut semua. Sampel ditambahkan NH<sub>4</sub>OH 1:1 sampai berwarna kuning dan jika sudah 6 ml tapi tidak berwarna kuning maka dihentikan, lalu ditambahkan H<sub>2</sub>O sampai seperti volume semua (12,5 ml). Sampel dimasukkan ke dalam cuvet untuk

diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 410 nm (Boyd, 1979).

#### e. Pengukuran Kadar Fosfat

Pengukuran kadar fosfat dilakukan pada awal tebar, fase eksponensial, dan pada puncak pertumbuhan tertinggi. Air sampel yang diambil yaitu 25 ml. Selanjutnya ditambahkan 1 ml ammonium molybdate. Lalu ditetesi dengan 5 tetes  $\text{SnCl}_2$  dan dihomogenkan, ditunggu sampai 10 menit hingga warna biru terbentuk. Kemudian, dimasukkan ke dalam cuvet. Kadar fosfat diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 690 nm (Boyd, 1979).

### 3.7 Analisis Data

Semua analisis dihitung dari masing-masing perlakuan dan diuji secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95 % ( $\alpha = 0,05$ ) dan 99% ( $\alpha = 0,01$ ). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh nyata atau berbeda sangat nyata ( $F$  hitung  $>$   $F$  tabel maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), dari uji ini dilanjutkan dengan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui perbedaan antar empat perlakuan.

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Salinitas merupakan salah satu parameter lingkungan yang penting bagi pertumbuhan mikroalga karena mempengaruhi proses metabolisme. Berdasarkan pengamatan pertumbuhan *T. chuii* diperoleh data laju pertumbuhan spesifik, biomassa, dan kandungan klorofil a *T. chuii* seperti pada Tabel 1. Adapun perhitungan lengkapnya terdapat pada Lampiran 5., Lampiran 7, dan Lampiran 8.

**Tabel 1.** Rata-rata Parameter Uji Selama Penelitian

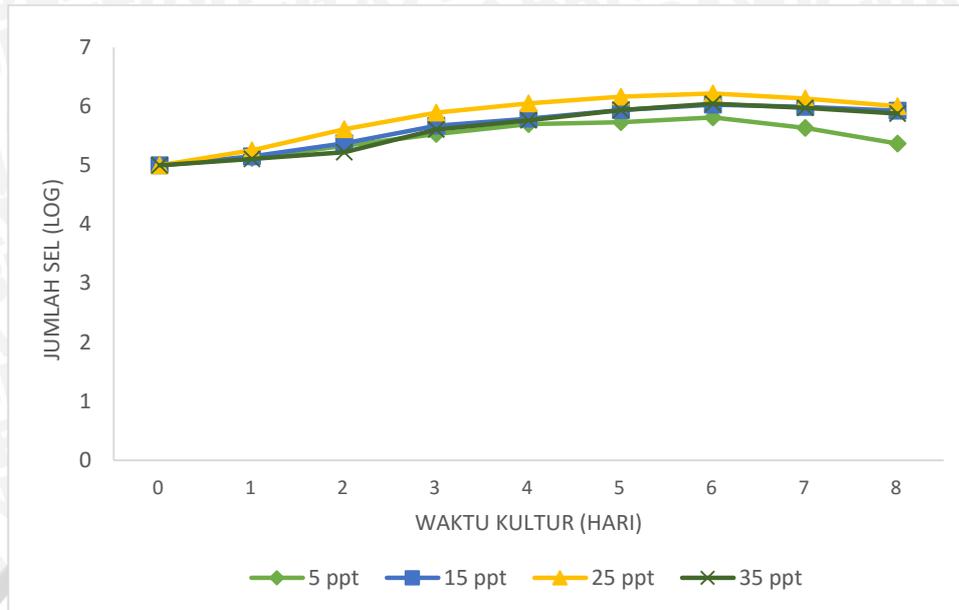
Parameter	Perlakuan Salinitas (ppt)			
	5	15	25	35
<b>Laju Pertumbuhan Spesifik (Hari<sup>-1</sup>)</b>	0,323±0,01 <sup>a</sup>	0,394±0,01 <sup>b</sup>	0,472±0,00 <sup>c</sup>	0,399±0,01 <sup>b</sup>
<b>Biomassa (g L<sup>-1</sup>)</b>	0,248±0,00 <sup>a</sup>	0,291±0,01 <sup>b</sup>	0,374±0,01 <sup>d</sup>	0,307±0,00 <sup>c</sup>
<b>Klorofil a (µg mL<sup>-1</sup>)</b>	1,06±0,13 <sup>a</sup>	1,89±0,06 <sup>b</sup>	3,91±0,09 <sup>d</sup>	2,22±0,17 <sup>c</sup>

Keterangan : notasi berbeda menunjukkan adanya pengaruh, notasi yang sama menunjukkan tidak adanya pengaruh

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa salinitas yang berbeda berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik, produksi biomassa dan klorofil a *T. chuii* dengan nilai tertinggi pada perlakuan salinitas 25 ppt pada masing-masing parameter uji.

##### 4.1 Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *T. chuii*

Hasil menunjukkan bahwa setiap perlakuan baik perlakuan salinitas 5 ppt, salinitas 15 ppt, salinitas 25 ppt maupun salinitas 35 ppt berpengaruh terhadap pertumbuhan *T. chuii*. Grafik rata-rata pertumbuhan *T. chuii* berdasarkan jumlah sel (log) dapat dilihat pada Gambar 5 dan data pertumbuhan *T. chuii* secara rinci dapat dilihat pada Lampiran 3.



**Gambar 5.** Pertumbuhan *T. chuii*

Keterangan:

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

Berdasarkan Gambar 5 di atas, pertumbuhan sel *T. chuii* pada perbedaan salinitas menunjukkan pola pertumbuhan yang berbeda pada masing-masing perlakuan. Pada penelitian ini, *T. chuii* mengalami fase awal atau yang disebut fase adaptasi. Hal ini dapat diketahui karena pada hari ke-1, sel *T. chuii* tidak mengalami peningkatan pertumbuhan yang signifikan jika dibandingkan dengan hari ke 0. Menurut Mata *et al.* (2010), fase adaptasi pada mikroalga biasanya terjadi pada hari pertama kultur. Pada fase ini sangat menentukan pertumbuhan mikroalga, apabila kondisi lingkungan bagus dan banyak terdapat nutrisi maka mikroalga ini dapat beradaptasi dengan baik. Namun setiap spesies mikroalga memiliki pola adaptasi yang berbeda terhadap lingkungannya. Menurut Ru'yatin *et al.* (2015), beberapa parameter yang mempengaruhi waktu fase adaptasi adalah jenis dan umur sel mikroorganisme, ukuran inokulum dan kondisi media tumbuh. Masa adaptasi yang berbeda pada mikroalga dapat disebabkan oleh

perbedaan kepekatan antara media dengan cairan tubuh selnya. Akibatnya terjadi proses difusi dengan pemulihan enzim dalam sel-sel tubuh dan konsentrasi substrat pada tingkat yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya (Chilmawati dan Suminto, 2008).

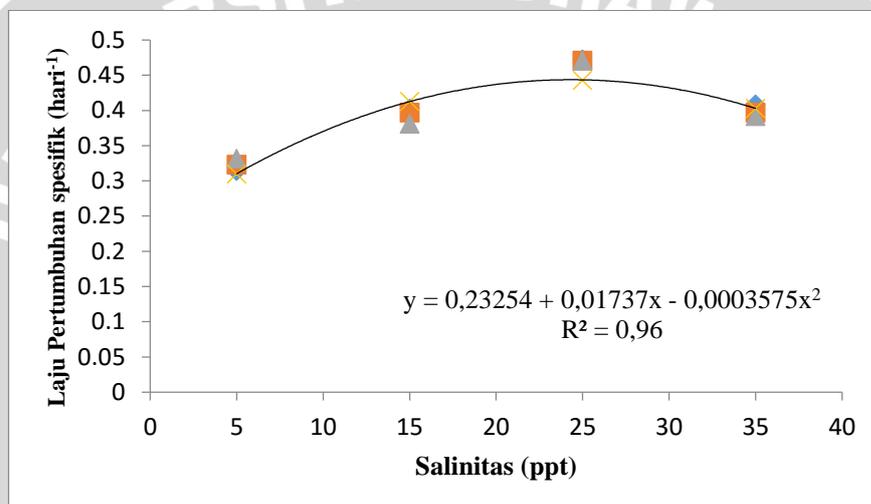
Setelah mengalami fase adaptasi, fase selanjutnya pada pertumbuhan *T. chuii* selama penelitian yaitu fase eksponensial yang terjadi pada hari ke-1 sampai hari ke-6 kultur. Fase eksponensial biasanya ditandai dengan peningkatan pembelahan jumlah sel, bahkan pembelahan sel dalam fase ini bisa mencapai dua kali lipatnya. Suantika dan Hendrawandi (2009), berpendapat bahwa pada fase ini pertumbuhan dan aktivitas sel berada dalam keadaan maksimum, sehingga pada umur tersebut sel berada dalam keadaan aktif dan memiliki waktu adaptasi yang pendek selama proses kultur. Ukuran inokulum, laju pertumbuhan, kapasitas medium di perairan dan sistem kultur mikroalga yang digunakan akan mempengaruhi lamanya fase eksponensial (Fogg dan Thake, 1987).

Fase selanjutnya yaitu fase kematian, dimana fase ini terjadi pada hari ke-6 sampai hari ke-8. Menurut Suantika dan Hendrawandi (2009), sel mikroalga akan berkurang pada fase kematian. Ketersediaan nutrisi yang kurang, parameter kualitas air yang menurun, dan akumulasi metabolit ( $\text{NO}_2^-$  dan  $\text{NH}_4^+$ ) menjadi penyebab pertumbuhan sel tidak optimal, sehingga sel tidak mampu untuk tumbuh dan berkembang. Hal tersebut menyebabkan sel akan berkurang setiap harinya dan populasi menunjukkan konsentrasi sel nol pada akhir kematian.

Hasil perhitungan pertumbuhan *T. chuii* dapat dilihat pada Lampiran 3. Selama penelitian didapatkan hasil rata-rata kepadatan tertinggi pada fase stationer adalah pada perlakuan C yaitu  $1.644.320 \text{ sel mL}^{-1}$ , kepadatan tertinggi ke-2 yaitu pada perlakuan D dengan jumlah sebesar  $1.100.000 \text{ sel mL}^{-1}$ , kepadatan tertinggi ke-3 pada perlakuan B dengan jumlah sebesar  $1.063.670 \text{ sel}$

mL<sup>-1</sup> dan diikuti dengan perlakuan A sebagai perlakuan dengan kepadatan terendah sebesar 644.300 sel mL<sup>-1</sup>. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ru'yatin (2015), yang mengatakan bahwa pertumbuhan *Tetraselmis* sp. yang di kultur pada skala laboratorium pada fase eksponensial mencapai kepadatan tertinggi sebesar 1.600.000 sel mL<sup>-1</sup>.

Pada penelitian ini didapatkan hasil laju pertumbuhan *T. chuii* yang dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran 4 dan hasil tertinggi pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.



**Gambar 6.** Hubungan Salinitas terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik *T. chuii*

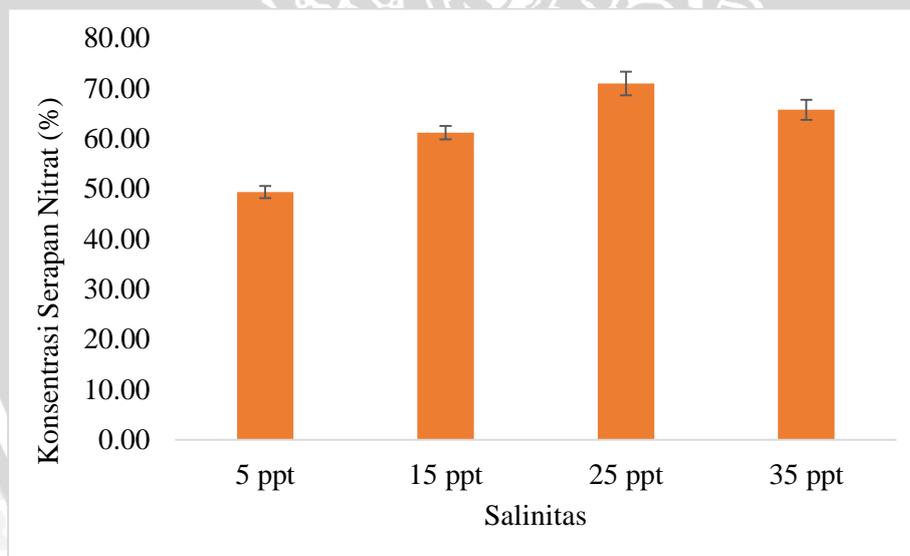
Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan kepadatan *T. chuii* maka perlu dilanjutkan uji polinomial orthogonal. Grafik uji polynomial dapat dilihat pada Gambar 6 dan dapat dilihat lebih rinci pada Lampiran 5.

Persamaan grafik perumbuhan *T. chuii* dengan perlakuan salinitas yang berbeda menunjukkan persamaan kuadratik  $y = 0,23254 + 0,01737x - 0,0003575x^2$  dengan nilai determinasi ( $R^2$ ) = 0,96 yang artinya variabel bebas (perlakuan) berpengaruh sebesar 96% terhadap variabel terikat (pertumbuhan *T. chuii*). Hasil dari garis polynomial orthogonal tersebut menunjukkan garis kuadratik dimana hasil laju pertumbuhan spesifik terbaik ada pada perlakuan salinitas 24,29 ppt dengan nilai laju pertumbuhan spesifik sebesar 0,443 hari<sup>-1</sup>.

Laju pertumbuhan spesifik maksimum *T. chuii* yang tertinggi ada pada perlakuan C dengan salinitas 25 ppt sebesar 0,473 hari<sup>-1</sup>, sedangkan nilai terendah ada pada perlakuan A dengan salinitas 5 ppt sebesar 0,314 hari<sup>-1</sup>. Berdasarkan rata-rata nilai laju pertumbuhan spesifik maksimum *T. chuii* nilai tertinggi ada pada perlakuan C sebesar 0,472 hari<sup>-1</sup>, diikuti dengan perlakuan D sebesar 0,399 hari<sup>-1</sup>, perlakuan B sebesar 0,394 hari<sup>-1</sup> dan paling rendah yaitu perlakuan A sebesar 0,323 hari<sup>-1</sup>. Laju pertumbuhan spesifik pada masing-masing perlakuan didapatkan dari hasil pertumbuhan tertinggi dikurangi dengan hasil pertumbuhan awal atau padat tebar. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Khatoon *et al.* (2014), yang menunjukkan hasil laju pertumbuhan tertinggi *Tetraselmis* sp. pada salinitas 30 ppt dengan hasil untuk perlakuan kontrol didapatkan nilai sebesar 0,734 hari<sup>-1</sup> sedangkan pada perlakuan alami yaitu sebesar 0,598 hari<sup>-1</sup>. Perbedaan hasil ini mungkin karena adanya perbedaan karakter fisiologis spesies (Richmond, 1986). Hal ini diduga karena *T. chuii* yang dikultur memiliki daya adaptasi pada salinitas 25 ppt dan pertumbuhan akan menurun jika pada salinitas diatas maupun dibawah 25 ppt. Hal ini sesuai dengan pernyataan Frank dan Wegmann (1974), bahwa dengan meningkatnya konsentrasi garam dalam media menyebabkan enzim sel *Dunaliella* terhambat sehingga hampir tidak ada reaksi pada sitoplasma. Richmond (2003), menyatakan bahwa produktivitas antara spesies satu dengan yang lainnya berbeda dan adaptasi alga terhadap salinitas bersifat spesifik dan dipengaruhi asal spesiesnya. Salinitas juga berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroalga, terutama tekanan osmosis antara protoplasma sel dengan air untuk media tumbuh (Laing dan Helm, 1981).

Konsentrasi sel, produksi biomassa dan total klorofil a pada *T. chuii* memiliki jumlah yang berbeda tergantung pada perlakuan kultur yang dijadikan sebagai faktor utama. Faktor salinitas, intensitas cahaya dan lama penyinaran yang digunakan pada kultur *T. chuii* akan menentukan konsentrasi sel, produksi

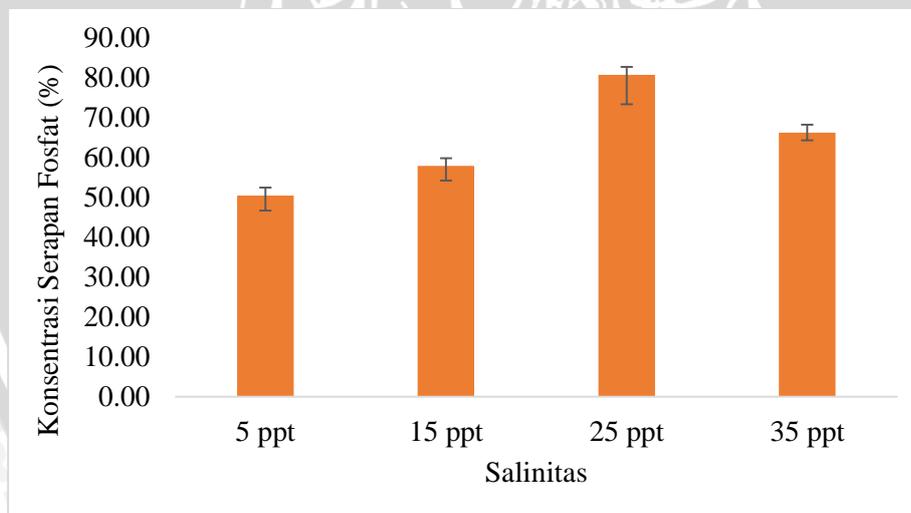
biomassa dan total klorofil a. Pada penelitian ini, lama pencahayaan yang digunakan yaitu selama 24 jam, intensitas cahaya 4.500 lux, dan perlakuan salinitas yang digunakan yaitu 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt, dan 35 ppt yang bertujuan untuk menentukan kisaran salinitas optimum bagi *T. chuii* untuk mencapai konsentrasi sel, produksi biomassa, dan total klorofil yang maksimum. Agar pertumbuhan *T. chuii* dapat optimal, maka diperlukan faktor pendukung lainnya antara faktor lingkungan dan faktor nutrisi. Faktor nutrisi yang dibutuhkan mikroalga secara umum antara lain nitrat dan fosfat, oleh karena itu pada penelitian diukur nitrat dan fosfat pada hari penebaran, fase logaritmik, dan fase stasioner *T. chuii* sebagai parameter penunjang. Hasil dari pengukuran nitrat dan fosfat selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 7 untuk nitrat dan Gambar 8 untuk fosfat dan lebih rinci dapat dilihat pada Lampiran 6.



**Gambar 7.** Nilai Serapan Nitrat *T. chuii* Selama Penelitian

Pada Gambar 7 dapat dilihat bahwa nilai serapan nitrat pada perlakuan salinitas 5 ppt dengan nilai rata-rata serapan dari awal tebar hingga puncak pertumbuhan tertinggi sebesar 48,01-50,41%, kemudian perlakuan salinitas 15 ppt dengan nilai serapan nitrat sebesar 59,71-62,36%, kemudian perlakuan salinitas 35 ppt dengan nilai serapan nitrat sebesar 63,52-67,48%, dan nilai

serapan nitrat terbanyak yaitu pada perlakuan salinitas 25 ppt sebesar 69,23-73,67%. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa serapan nilai terbanyak berada pada perlakuan salinitas 25 ppt. Hal ini berbanding lurus dengan konsentrasi maksimum pada perlakuan salinitas 25 ppt yang menunjukkan hasil paling baik diantara perlakuan lainnya. Semakin besar konsentrasi sel pada suatu perlakuan maka semakin besar juga serapan nitrat yang dibutuhkan untuk proses pertumbuhan *T. chunii*. Hal ini sesuai dengan pendapat Armanda *et al.* (2013), yang menyebutkan bahwa salah satu makronutrien yang sangat mempengaruhi pertumbuhan dan produktifitas biomassa alga adalah nitrogen dalam nitrat, karena dibutuhkan untuk pembentukan protein, lemak dan klorofil. Pada pengaruh media kultur, kandungan nutrisi berupa nitrogen mempengaruhi mikroalga pada saat fotosintesis, nitrogen tersebut memiliki peranan yang sangat penting dalam mensintesis klorofil (Chrimadha *et al.*, 2006).



**Gambar 8.** Nilai Serapan Fosfat *T. chunii* Selama Penelitian

Pada Gambar 8 dapat dilihat bahwa nilai serapan fosfat pada perlakuan salinitas 5 ppt dengan nilai rata-rata serapan fosfat dari awal tebar sampai puncak pertumbuhan tertinggi sebesar 48,19-54,79%, kemudian perlakuan salinitas 15 ppt dengan nilai serapan fosfat sebesar 38,08-45,17%, kemudian perlakuan salinitas 35 ppt dengan nilai serapan fosfat sebesar 64,94-68,42%,

dan nilai serapan fosfat terbanyak yaitu pada perlakuan salinitas 25 ppt sebesar 72,80-87,39%. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai serapan fosfat terbanyak berada pada perlakuan salinitas 25 ppt. Hal ini berbanding lurus dengan konsentrasi sel maksimum pada perlakuan salinitas 25 ppt yang menunjukkan hasil paling baik diantara perlakuan lainnya. Semakin besar konsentrasi sel pada suatu perlakuan maka semakin besar juga serapan fosfat yang dibutuhkan untuk proses pertumbuhan *T. chuii*.

Menurut Wang *et al.* (2008), fosfat adalah salah satu makronutrien yang berhubungan penting pada pertumbuhan sel dan metabolisme mikroalga. Menurut Bergmen (1999), salah satu makronutrien yang dibutuhkan oleh organisme perairan adalah fosfat ( $PO_4$ ), dimana peran fosfat yaitu dalam transfer energi ADP (*Adenosine Diphosphate*) menjadi ATP (*Adenosine Triphosphate*) yang terjadi dalam mitokondria sel. Fosfat memegang peran penting di dalam transfer energi sel. Konsentrasi P yang rendah akan berdampak pada keseimbangan proses asimilasi C dan N terganggu (Beardall *et al.*, 1998). Fosfat mutlak diperlukan karena penting untuk proses transformasi energi dalam proses fotosintesis (Kuhl, 1974).

Adanya perbedaan bobot biomassa *T. chuii* yang dihasilkan pada penelitian ini diduga karena selain faktor nutrisi berupa nitrat dan fosfat, juga terdapat faktor-faktor lain yang berpengaruh terhadap produksi biomassa *T. chuii* itu sendiri, seperti suhu (Ben-amotz *et al.*, 1987), salinitas (Hu dan Gao, 2006), dan pH (Banerjee *et al.*, 2011).

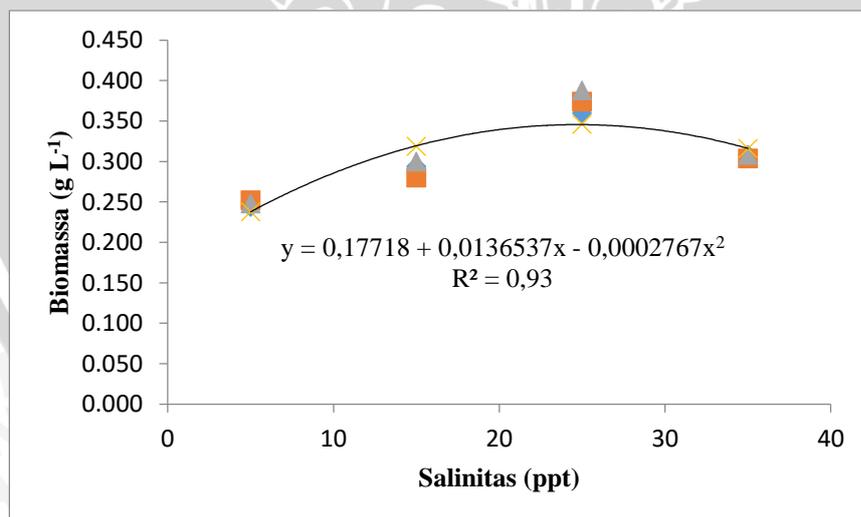
#### **4.2 Pengaruh Salinitas terhadap Biomassa *T. chuii***

Pada penelitian ini, salah satu parameter utama yang dihitung adalah biomassa dari *T. chuii*. Biomassa didapatkan dari sampel yang telah diambil

pada puncak pertumbuhan tertinggi. Hasil biomassa *T. chuii* pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil sidik ragam yang dapat dilihat lebih rinci pada Lampiran 7 menunjukkan bahwa perbedaan salinitas berpengaruh sangat nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik maksimum *T. chuii*. Hal ini dibuktikan dengan nilai  $F_{hitung}$  (34,14) lebih besar dari nilai  $F_{tabel 5\%}$  (4,07) dan  $F_{tabel 1\%}$  (7,59).

Berdasarkan hasil uji BNT pada Lampiran 7 di atas dapat diperoleh urutan perlakuan tertinggi adalah perlakuan C, kemudian diikuti dengan perlakuan D, selanjutnya adalah perlakuan B dan perlakuan terendah yaitu pada perlakuan A. Dapat disimpulkan bahwa perlakuan C yaitu media bersalinitas 25 ppt mampu meningkatkan laju pertumbuhan spesifik *T. chuii* dibandingkan dengan perlakuan D yang bersalinitas 35 ppt, B yang bersalinitas 15 ppt dan perlakuan A dengan salinitas 5 ppt. Untuk mengetahui grafik antara perlakuan dengan hasil maka perlu dilanjutkan uji polinomial ortogonal. Grafik uji polynomial dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Hubungan Salinitas terhadap Biomassa *T. chuii*

Dari Gambar 9, didapatkan persamaan  $y = 0,17718 + 0,0136537x - 0,0002767x^2$  dengan nilai determinasi ( $R^2$ ) = 0,93 yang berarti variabel bebas (salinitas) berpengaruh sebesar 93% terhadap variabel terikat (laju pertumbuhan

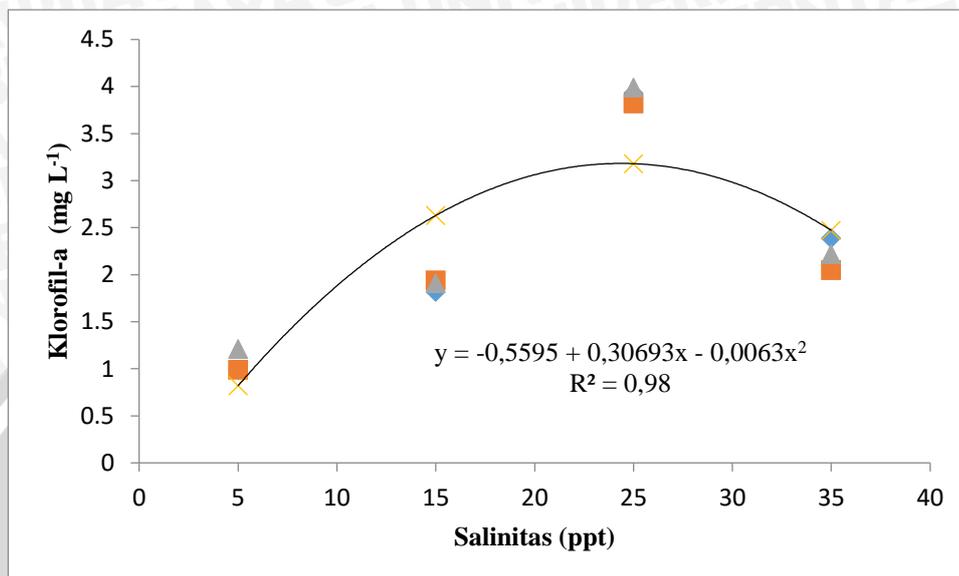
spesifik), sedangkan 7% lainnya merupakan pengaruh dari faktor lain. Grafik pada Gambar 9 menunjukkan kuadratik dengan salinitas yang terbaik pada 24,67 ppt dengan nilai biomassa sebesar 0,3456 g L<sup>-1</sup>. Berdasarkan penelitian, didapatkan hasil rata-rata biomassa *T. chuii* pada perlakuan salinitas yang berbeda dengan nilai tertinggi ada pada perlakuan C yaitu 0,374 g L<sup>-1</sup>, tertinggi ke-2 pada perlakuan D sebesar 0,307 g L<sup>-1</sup>, tertinggi ke-3 yaitu pada perlakuan B sebesar 0,291 g L<sup>-1</sup> dan nilai terendah ada pada perlakuan A dengan nilai sebesar 0,248 g L<sup>-1</sup>. Perbedaan biomassa setiap perlakuan sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Secara individu spesies mikroalga memiliki perbedaan dalam hal kebutuhan nutrisi, persyaratan cahaya, siklus hidup, dan cara reproduksi. Oleh karena itu, kondisi budidaya memiliki efek besar terhadap tingkat proliferasi mikroalga dan produksi biomassa (Krzeminska *et al.*, 2014). Endrawati dan Riniatsih (2013), menambahkan peningkatan kepadatan sel akan diikuti peningkatan produksi biomassa. Apabila kondisi salinitas tidak sesuai maka akan terjadi penurunan pertumbuhan yang sesuai dengan pendapat Kirst (1989) yang menyatakan bahwa alga akan mengeluarkan energi ketika mencoba untuk mempertahankan tekanan turgor dimana akan mempengaruhi penurunan produktivitas atau penurunan pertumbuhan.

#### **4.3 Pengaruh Salinitas terhadap Klorofil a *T. chuii***

Pada penelitian ini, klorofil a merupakan parameter yang dihitung. Pengambilan sampel klorofil yaitu ketika pertumbuhan *T. chuii* pada puncak pertumbuhan tertinggi pada masing-masing perlakuan. Setelah diuji, didapatkan hasil klorofil a pada masing-masing perlakuan yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Untuk mengetahui perlakuan yang diberikan berpengaruh atau tidak terhadap klorofil a *T. chuii* maka dilakukan sidik ragam yang dapat dilihat lebih rinci pada Lampiran 8 menunjukkan bahwa perbedaan salinitas berpengaruh

sangat nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik *T. chunii*. Hal ini dibuktikan dengan nilai  $F_{hitung}$  (305,392) lebih besar dari nilai  $F_{tabel 5\%}$  (4,07) dan  $F_{tabel 1\%}$  (7,59). Grafik uji polynomial orthogonal dapat dilihat pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Hubungan Salinitas terhadap klorofil a *T. chunii*

Setelah mengetahui selisih dari uji BNT, selanjutnya adalah melakukan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui arah hubungan antar perlakuan dan hasil. Berdasarkan Gambar 10, pengaruh salinitas yang berbeda terhadap total klorofil a *T. chunii* menunjukkan pola kuadratik dengan persamaan  $y = -0,5595 + 0,30693x - 0,0063x^2$  dengan nilai determinasi ( $R^2$ ) = 0,98 yang berarti variabel bebas (salinitas) berpengaruh sebesar 98% terhadap variabel terikat (laju pertumbuhan spesifik), sedangkan 2% lainnya merupakan pengaruh dari faktor lain. Dari persamaan tersebut, didapatkan perlakuan terbaik yaitu pada salinitas 24,36 ppt dengan nilai klorofil a sebesar 3,18  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Berdasarkan hasil penelitian, diketahui klorofil a tertinggi ada pada perlakuan C yaitu sebesar 3,99  $\mu\text{g mL}^{-1}$  dan klorofil a terendah ada pada perlakuan A sebesar 0,99  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Rata-rata klorofil a tertinggi yaitu pada perlakuan C sebesar 3,91  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , kemudian diikuti perlakuan D sebesar 2,22  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , perlakuan B sebesar 1,89  $\mu\text{g mL}^{-1}$  dan perlakuan terendah yaitu perlakuan A sebesar 1,06  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Menurut

penelitian yang dilakukan Tsai *et al.* (2016), kandungan klorofil tertinggi *T. chuii* yang didapat yaitu klorofil a  $3,21 \pm 0,60$  % berat kering. Kandungan klorofil *T. chuii* menurut Abdilla *et al.* (2014) adalah klorofil a 6,76 mg/g. Kandungan klorofil a tertinggi berbanding lurus dengan konsentrasi sel maksimum. Ketika kandungan pigmen, terutama klorofil-a, yang minim dalam salinitas tinggi, efisiensi fotosintesis yang rendah mengakibatkan produksi biomassa secara signifikan rendah dalam beberapa mikroalga (Warr *et al.*, 1985). Selain itu Chrismanda *et al.* (2006), mengatakan nitrogen dan fosfor sangat berperan sebagai penyusun senyawa protein dalam sel mikroalga sehingga kekurangan unsur – unsur tersebut akan mengakibatkan penurunan kandungan protein yang diikuti oleh degradasi berbagai komponen sel yang berkaitan dengan sintesis protein seperti klorofil a dan pigmen lainnya.

#### 4.4 Kualitas Air

Parameter kualitas air dalam penelitian ini sangat berperan untuk menunjang pertumbuhan *T. chuii* selama pemeliharaan. Kualitas air yang diukur selama pemeliharaan antara lain: suhu, pH, dan DO

Hasil pengukuran suhu selama pemeliharaan, didapatkan data rata-rata tiap perlakuan yaitu berkisar antara 27- 28 °C. Suhu merupakan faktor penunjang dalam pertumbuhan *T. chuii*, karena jika suhu tidak terkontrol dengan baik maka yang terjadi adalah fluktuasi suhu yang besar sehingga memungkinkan pertumbuhan *T. chuii* kurang optimal. Kisaran suhu yang dapat ditoleransi *T. chuii* adalah 26-30 °C. Hal ini sesuai dengan pernyataan Cresswel (2010), yang menyebutkan bahwa pertumbuhan optimal beberapa jenis *Tetraselmis* berada pada kisaran suhu 5-33 °C. Morris dan Kromkamp (2003), menjelaskan suhu mempengaruhi laju pertumbuhan mikroalga. Laju pertumbuhan menurun pada konsentrasi sel maksimum disebabkan oleh kenaikan suhu di atas 30°C.

Data hasil pengukuran pH pada media pemeliharaan pada semua perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 9. Kisaran pH pada saat penelitian dari masing-masing perlakuan adalah 8,21-9,36. Dari hasil pengukuran pH tersebut didapatkan hasil yang berbeda pada setiap media pemeliharaan *T. chuii*, akan tetapi masih dalam batas toleransi *T. chuii* terhadap pertumbuhannya. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Khatoun *et al.* (2014), bahwa *Tetraselmis* sp. menunjukkan hasil pertumbuhan optimal pada perlakuan pH 7,5 dan 8,5 dalam kondisi yang terkontrol. Berdasarkan hasil penelitian Supramaniam *et al.* (2012), *T. chuii* dikultur pada media dengan pH 8,00-8,30 dan meningkat seiring dengan waktu kultur menjadi 8,73-8,76. Menurut Widiyanto *et al.* (2014), peningkatan pH terjadi karena adanya proses fotosintesis. Kenaikan pH pada perlakuan disebabkan karena terjadinya penguraian protein dan senyawa nitrogen lainnya seperti ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) yang merupakan senyawa nitrogen organik (Prihantini *et al.*, 2005).

DO atau kadar oksigen dalam perairan merupakan salah satu parameter kualitas air yang diukur dalam penelitian ini. Data hasil pengukuran DO dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada lampiran. Berdasarkan hasil pengukuran, kisaran DO pada masing-masing perlakuan didapatkan kisaran DO sebesar 6,24-7,87 ppm. Menurut Chi *et al.* (2009), oksigen terlarut berpengaruh terhadap reproduksi sel namun tidak pada akumulasi lemak dan penambahan biomassa.

## 5. KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian tentang pengaruh salinitas yang berbeda terhadap produksi biomassa dan klorofil a *T. chunii*, maka diperoleh beberapa kesimpulan yaitu;

- Pada penelitian ini salinitas yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil a *T. chunii*.
- Salinitas yang optimal untuk pertumbuhan, produksi biomassa dan total klorofil a *T. chunii* berada pada kisaran salinitas 24,29 – 24,67 ppt dengan pertumbuhan maksimum sebesar  $1,644 \times 10^6$  sel  $\text{mL}^{-1}$ , laju pertumbuhan spesifik  $0,443 \text{ hari}^{-1}$ , produksi biomassa sebesar  $0,346 \text{ g L}^{-1}$  dan klorofil a sebesar  $3,18 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh salinitas yang berbeda terhadap produksi biomassa dan klorofil a *T. chunii* didapatkan saran untuk menggunakan perlakuan salinitas 24-25 ppt dan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk dilakukan di luar ruangan agar mendapatkan hasil yang terbaik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, F., I. Raya, dan A. Ahmad. 2014. Pengujian daya anti oksidan dan sifat toksisitas ekstrak Co(II) turunan klorofil. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. **2**(1): 1-8.
- Adi, I. A., A. A. M. D. Anggreni, dan I. W. Arnata. 2015. Optimalisasi salinitas dan pH awal media *BG-11* terhadap konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **4**(2): 1-11.
- Ak, I., S. Cirik, and T. Goksan. 2008. Effect of light intensity, salinity and temperature on growth in camalt strain of *Dunaliella viridis* teodoresco from Turkey. *Journal of Biological Sciences*. **8**(8): 1356-1359.
- Alsull, M and M. W. Omar. 2012. Ecology and Environmental Sciences (ICEES, 2012). Bangkok. 142 pp.
- Andersen, R. A. 2005. Alga Culturing Technique. Elsevier Academic Press, UK. 596 pp.
- Armanda, D. N. 2013. Pertumbuhan kultur mikroalga diatom *Skeletonema costatum* (greville) cleve isolate jepara pada medium f/2 dan medium Conway. *Bioma*. **2**(1): 49-63.
- Azma, M., M. S. Mohamed., R. Mohamed., R. A Rahim and A. B. Ariff. 2011. Improvement of medium composition for heterotrophic cultivation of green microalgae, *Tetraselmis suecica*, using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal*. **53**(2): 187-195.
- Baharuddin, M. 2011. Analisis perbedaan kandungan lipida mikroalga (*Tetraselmis chuii* dan *Nannochloropsis oculata*) pada air laut dan air payau. *Jurnal Teknosains*. **5**(1): 26-32.
- Banerjee, S., W. E. Hew, H. Khatoun, M. Shariff and F. M. Yusoff. 2011. Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory conditions. *Afr. Journal Biotechnology*. **10**(8): 1375-1383.
- Beardall, J., A. Johnson, and J. A. Raven. 1998. Environmental regulation of CO<sub>2</sub> concentrating mechanism in microalgae. *Canadian Journal of Botany*. **76**: 1010-1017.
- Ben-amotz, A. 1987. Effect of irradiance and nutrient deficiency on the chemical composition of *Dunaliella bardawil* Ben-Amotz and Avron (Volvocales, Chlorophyta). *Journal of Plant Physiology*. **131**: 479-487.
- Bennett, A. and L. Bogorad. 1973. Complimentary chromatic adaptation in a filamentous blue-green algae. *The Journal of Cell Biology*. **58**(2): 419-435.
- Bergman, J. 1999. ATP: the perfect energy currency for the cell. *Creation Research Society Quarterly*. **36**(1): 2-9.

- Boyd, C. E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish Pond. Agricultural experiment station, Auburn University. Auburn, Alabama, USA. 359 pp.
- Butcher, R.W. 1959. An Introductory Account of the Smaller Algae of British Coastal Waters. Part I: Introduction and Chlorophyceae. H.M.S.O. London. 74 pp.
- Chi, Z., Y. Liu, C. Frear, and S. Chen. 2009. Study of a two-stage growth of DHA-producing marine algae *Schizochytrium limacinum* SR21 with shifting dissolved oxygen level. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **81**: 1141-1148.
- Chrismadha, T., Y. Mardiyati, and D. Hadiansyah. 2006. Phytoplankton response to increasing of air CO<sub>2</sub> concentration. *Limnotek*. **13**(1): 26-32.
- Chrismanda, T., L.M. Panggabean dan Y. Mardiyati. 2006. Pengaruh konsentrasi nitrogen dan fosfor terhadap pertumbuhan, kandungan protein, karbohidrat dan fikosianin pada kultur *Spirulina fusiformis*. *Berita Biologi*. **8** (3): 163-169.
- Chilmawati, D. dan Suminto. 2008. Penggunaan media kultur yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. *Jurnal Saintek Perikanan*. **4**(1): 42-49.
- Chronakis, I. S., A. N. Galatanu., T. Nylander and B. Lindman. 2000. The behavior of protein preparation from blue-green algae *Spirulina platensis* strain pacifica at the air/water interface. *Colloid and Surface a Physicochemical and engineering aspect*. **173**: 181-192.
- Cowan, A. K and P. D. Rose. 1998. Abscisic acid metabolism in salt-stressed cells of *Dunaliella salina*, possible interrelationship with beta-carotene accumulation. *Plant Physiology*. **97**: 798-803
- Cresswell, L. 2010. Phytoplankton culture for aquaculture feed. Southern Regional Aquaculture Center. University Florida of Seagrant. 16 pp.
- de Campo, A. J., M. Garcia-Gonzales and M. G. Guerrero. 2007. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: Current state and perspectives. *Applied Microbiol Biotechnology*. **74**: 1163-1174.
- de Fretes, H., A. B. Susanto, B. Prasetyo, dan L. Limantara. 2012. Karotenoid dari makroalgae dan mikroalgae: potensi kesehatan aplikasi dan bioteknologi. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. **23**(2): 221-228
- Diharmi, A. 2001. *Pengaruh pencahayaan terhadap kandungan pigmen bioaktif mikroalga Spirulina platensis strain lokal (Ink)*. Tesis. Program Studi Teknologi Pasca Panen. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 90 hlm. Tidak Dipublikasikan
- Ekawati, A. W. 2005. Budidaya Makanan Alami. Diktat Kuliah. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 101 hlm.
- \_\_\_\_\_. 2011. Penuntun Praktikum Budidaya Makanan Alami. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 45 hlm

- Endrawati, H dan I. Riniatsih. 2013. Kadar total lipid mikroalga *Nannochloropsis oculata* yang dikultur dengan suhu yang berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*. 1: 25-33.
- FAO, 1991. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. *Fisheries and Aquaculture Department*. USA. 361 pp.
- Fogg, G. E. and B. Thake. 1987. Algal Cultures and Phytoplankton Ecology. The University of Wisconsin Press. p 219.
- Fakhri, M., N.B. Arifin., B. Budianto., A. Yuniarti., and A. M. Hariati. 2015. Effect of salinity and photoperiod on growth of microalgae *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. *Nature Environment and Pollution Technology*. **14**(3): 563-566.
- Frank, G. dan Wegmann, K., 1974. Physiology and biochemistry of glycerol biosynthesis in *Dunaliella*. *Biologisches Zentralblatt*, **93**: 707-723.
- Ghezelbash, F., T. Farboodnia, R. Heidari and N. Agh. 2008. Effects of different salinities and luminance on growth rate of the green microalgae *Tetraselmis chuii*. *Research Journal of Biological Sciences*. **3**(3): 311-314.
- Gouveia, L., A. E. Marques, T. L. Da Silva, and A. Reis. 2009. *Neochloris oleabundans* UTEX #1185: a suitable renewable lipid source for biofuel production. *Journal Industrial Microbiol Biotechnology*. **36**: 821-826.
- Graham, L. E. and W. W. Lee. 2002. Algae. Prentice Hall. United State of America. 419 pp.
- Hu, H. and K. Gao. 2006. Optimization of growth and fatty acid composition of a unicellular marine picoplankton, *Nannochloropsis* sp. with enriched carbon sources. *Biotechnology Letters*. **25**(5): 421-425.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Kanisius. Yogyakarta. 116 hlm.
- Janssen, M., T. C. Kuijpers., B. Veldhoen., M. B. Ternbach., J. Tramper., L. R. Mur and R. H. Wijffels. 1999. Specific growth rates of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* under medium duration light/dark cycles: 13-87s. *Journal Biotechnology*. **70**: 323-333.
- Kabinawa, I Nyoman K. 2006. Ganggang Penggempur Aneka Penyakit. Agromedia Pustaka. Depok. 92 hlm
- Kalita, N., G. Baruah, R.C.D. Goswami, J. Talukdar, and M.C. Kalita, 2011. *Ankistrodesmus falcatus*: a promising candidate for lipid production, its biochemical analysis and strategies to enhance lipid productivity. *Journal Microbiol Biotechnology Research*. **1** (4): 148-157
- Kawaroe, M.,T. Prartono., A. Sunudin., D. W. Sari., dan D. Augustin. 2010. Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bahan Bakar. IPB Press. Bogor. 149 hlm.
- Khatoon, H., N. A. Rahman, S. Banerjee, N. Harum, S. S. Suleiman, N. H. Zakaria, F. Lananan, S. H. A. Hamid, and A. Endut. 2014. Effect of different salinities and pH on the growth and proximate composition of

*Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. Isolated from South China sea cultured under control and natural condition. *International Biodeterioration and Biodegradation*. **95**:11-18.

Khrisnan, V., Y. Uemura, N. T. Thanh, N. A. Khalid, N. Osman and N. Mansor. 2015. Three types of marine microalgae and *Nannochloropsis oculata* cultivation for potential source of biomass production. *Journal of physic*. **622**: 1-6.

Kirst C. O. 1989. Salinity tolerance of eukaryotic marine algae. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. **40**:21-53

Krismawati, R dan A. Rizky. 2013. Pengolahan efluen pond fakultatif anaerobik ipal industri kelapa sawit secara faklutatif anaerobik fitoremediasi sebagai pre treatment media tumbuh alga. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. **2**(2): 286-294.

Krzeminska, I., B. Pawlik-Skowronska, M. Trzcinska, and J. Tys. 2014. Influence of photoperios on the growth rate and biomass productivity of gren microalgae. *Bioprocess Biosystem Eng*. **37**: 735-741.

Kuhl, A. 1974. Phosphorus, In: Stewart, W. D (ed) *Algal physiology and biochemistry*. University of California Press. California. p 161-175.

Kunjapur, A. M. and R. B. Eldridge. 2010. Review: Photobioreactor design for commercial biofuel production. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. **49**: 3516-3526.

Laing, I. and M. M. Helm. 1981. Factors affecting the semi-continuous production of *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butch in 200-1 Vessels. *Aquaculture*. **22**: 137-148.

Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. **148**: 350-382.

Liu, J., J. Huang, Z. Sun., Y. Zhong., Y. Jiang and F. Chen. 2011. Differential lipid and fatty acid profiles of photoautotrophic and heterotrophic *Chlorella zofingiensis*: Assessment of algal oils for biodiesel production. *Bioresource Technology*. **102**: 106-110.

Mata, T. M., A. A. Martins and N. S. Caetano. 2010. Microalgae for biodiesel production and other application: a review. *Renewable and Sustainable Energy*. **14**: 217-232.

Mohammadi, M., N. Kazeroni and M. J. Baboli. 2015. Fatty acid composition of the marine micro alga *Tetraselmis chuii* Butcher in response to culture conditions. *Journal of Algal Biomass Utilization*. **6**(2): 49-55.

Morris, E. P. and J. C. Kromkamp. 2003. The influence of temperature on the relationship between oxygen and fluorescence-based estimates of photosynthetic parameters in a marine benthic diatom (*Cylindrotheca closterium*). *European Journal of Phycology*. **38**: 133-142.

Murtidjo, B.A. 2003. Benih Udang Windu Skala Kecil. Kanisius. Yogyakarta. 55 hlm.

- Nazir. 2003. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 70 hlm.
- Novianti, V. Anisa, dan N. Sirajang. 2014. Keragaman dalam blok pada rancangan acak kelompok tidak lengkap seimbang dengan intergradien. Universitas Hasanuddin. Makassar. 10 hlm.
- Noriko, N., J. Prayitno and B. Anggraini. 2015. Effect of nitrate and salinity on fatty acid composition of marine *Tetraselmis* sp.: potential as biodiesel. *Makara Journal Science*. **19**(1): 21-26.
- Parmar, A., N. K. Singh, A. Pandey, E. Gnansounou, and D. Madamwar. 2011. Cyanobacteria and microalgae: a positive prospect for biofuels. *Bioresource Technology*. **102**: 10163-10172.
- Pelczar M. J. JR., E. C. S. Chan, and N. R. Krieg. 1986. Microbiology, Fifth Edition. Tata McGraw-Hill. New York. 900 pp.
- Pick U. 2002. Adaptation of the Halotolerant Alga *Dunaliella* to High Salinity. In A Lauchli, U Luthge (Eds). Salinity: Enviroment, Plants, Molecules. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, p 97–112.
- Prihantini, N.B., B. Putri, dan R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan Chlorella spp dalam medium ekstrak tauge (MET) dengan variasi pH awal. *Makara, Sains*. **9**(1): 1-6.
- Purwitasari, Adinda Tri., M.A. Alamsjah and B. S. Rahardja. 2012. Effect of concentration of growth regulators (2,4-dichlorophenoxyaceticacid) against the growth of *Nannochloropsis oculata*. *Journal of Marine and Coastal Science*. (2): 61-70.
- Putri, B., A. H. Vickry, dan H. W. Maharani. 2013. Pemanfaatan air kelapa sebagai pengkaya media pertumbuhan mikroalga *Tetraselmis* sp. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. **1**(1): 135-142.
- Rao, A. R., C. Dayananda., R. Sarada., T. R. Shamala., and G. A. Ravishankar. 2006. Effect of salinity on growth of green alga *Botryococcus braunii* and its constituents. *Bioresource Technology*. **98**: 560–564.
- Richmond, A. 1986. Cell response to environmental factors. In: Richmond, A. (Ed.), Handbook of Microalgal Mass Culture. CRC Press. Boca Raton. p 69-99.
- \_\_\_\_\_, A. 2003. Industrial Production of Microalgal Cell-mass and Secondary Products Major Industrial Species, Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. p 47-48.
- Riyono, S. H. 2007. Beberapa sifat umum dari klorofil fitoplankton. *Oseana*. **32**(1): 23-31.
- Ritchie, R. J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone methanol and ethanol solvents. *Photosynthetic Research*. **89**: 27-41
- Ru'yatin, I. S. Rohyani, dan L. Ali. 2015. Pertumbuhan *Tetraselmis* dan *Nannochloropsis* pada skala laboratorium. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. **1**(2): 296-299.

- Sani, R. N., F. C Nisa., R. D. Andriani dan J. Y. Maligan. 2014. Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **2(2)**: 121-126.
- Sari, I. Z. R. 2014. *Pengaruh cahaya biru dalam fotobioreaktor silinder terhadap penyerapan nitrogen dan fosfat pada limbah cair peternakan sapi serta kandungan karbohidrat Chlorella zofingiensis* Donz. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 50 hlm.
- Sari, L. A. 2009. *Pengaruh penambahan FeCl<sub>3</sub> terhadap pertumbuhan Spirulina platensis yang dikultur pada media asal blotong kering*. Artikel. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. 16 hlm.
- Sharma, G., M. Kumar., M. I. Ali and N. D Jasuja. 2014. Effect of carbon content, salinity and pH on *Spirulina platensis* for phycocyanin, allophycocyanin and phycoerythrin accumulation. *Journal Microbial Biochemistry Technology*. **6(4)**: 202-206
- Serdar, S., A. lok, S. Acarli and A. Kose. 2007. The effect of two different culture media and five different salinities on growth of *Tetraselmis suecica*. *Rapp. Comm. Int. Mer Medit*. **38**: 394.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan C., Duran E and A. Isambert. 2006. Commercial applications of mikroalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **101**: 87-96.
- Suantika, G. dan D. Hendrawandi. 2009. Efektivitas teknik kultur menggunakan sistem kultur statis, semi-kontinyu, dan kontinyu terhadap produktivitas dan kualitas kultur *Spirulina* sp. *Jurnal Matematika dan Sains*. **14(2)**: 48-49.
- Sumeru, S. U. dan S. Anna. 1992. Pakan Udang Windu (*Penaeus monodon*). Agia Media. Bandung. 96 hlm.
- Suminto. 2009. Penggunaan jenis media kultur teknis terhadap produksi kandungan nutrisi sel *Spirulina plantesis*. *Jurnal Saintek Perikanan*. **4(2)**: 53-61.
- Supramaniam, J., K. Palanisamy., S. M. Nomanbhay. 2012. Study on the pH changes of mikroalgae (*Tetraselmis chuii*) cultivated in newly developed closed photobioreactor using natural sunlight and artificial light. *Journal of Energy and Environtment*. **4(1)**: 18-20.
- Susilaningsih, D., S. Lestari, Kusnandi, T. Hidayat, dan H. Susanti. 2014. Efikasi limbah sagu sebagai substrat kaya nutrisi untuk mikroalga isolat lipi11-2-al002. *Berita biologi*. **13(3)**: 301-307.
- Talebi, A. F., S. K. Mohtashami., M. Tabatabaei., M. Tohidfar., A. Bagheri., M. Zeinalabedini., H. H. Mirzaei., M. Mirzajanzadeh., S. M. Shafaroudi., S. Bakhtiari. 2013. Fatty acids profiling: a selective criterion for screening mikroalgae strains for biodiesel production. *Algal Research*. **2(3)**: 258-267.
- Tsai, H. P., L. T. Chuang, dan C. N. N. Chen. 2016. Production of long chain omega-3 fatty acids and carotenoid in tropical areas by a new heat-tolerant mikroalga *Tetraselmis* sp. DS3. *Food Chemistry*. **192**: 682-690.

Vilchez, C., E. Forjan, M. Cuaresma, F. Bedmar, I. Garbayo, and J. M. Vega. 2011. Marine caratenoids: biological functions and commercial applications. *Marine Drugs*. **9**: 319-333.

Wagenen, J. V., T. W. Miller, S. Hobbs, P. Hook, B. Crowe and M. Hueseman. 2012. Effect of light and temperature on fatty acid production in *Nannochloropsis salina*. *Energies*. **5**: 731-740

Wang, B., Y. Li, N. Wu and C. Q. Lan. 2008. CO<sub>2</sub> bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiol Biotechnol*. **79**: 707-718.

Warr, S. R. C., R. H. Reed, J. A. Chudek, R. Foster, dan W. D. P. Steward. 1985. Osmotic adjustment in *Spirulina platensis*. *Planta* **163**:424–429.

Wibisono, D. 2013. Panduan Penyusunan Skripsi, Tesis, dan Disertasi. ANDI. Yogyakarta. 556 hlm.

Widiyanto, A., B. Susilo, dan R. Yulianingsih. 2014. Studi kultur semi-massal mikroalga *Chlorella* sp pada area tambak dengan media air payau (di Desa Rayunggumuk, Kecamatan Glagah, Kabupaten Lamongan). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. **2**(1): 1-7.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Proses Sterilisasi

#### a. Sterilisasi Menggunakan Autoklaf

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

Dicuci bersih

Dikeringkan

Pipet dan erlenmeyer ditutup kapas, sedangkan gelas ukur tidak

Semua alat dibungkus koran lalu diikat dengan benang kasur

Dimasukkan kedalam autoklaf

Ditutup

#### b. Sterilisasi alat

Toples

Dicuci bersih

Dikeringkan

Direndam klorin 30 ppm selama 24 jam

Dibilas Na-thiosulfat 15 ppm kemudian dibilas air tawar hingga bau klorin hilang

## c. Sterilisasi media



## Lampiran 2. Komposisi Pupuk Walne (FAO, 1991)

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

**Lampiran 3. Data Pertumbuhan *T.chuii* selama Penelitian**

Perlakuan	Ulangan	Kepadatan (hari) (sel/ml)								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
A (5 ppt)	1	100000	141600	216000	375000	500000	508300	658300	500000	250000
	2	100000	133300	216000	333000	500000	516000	541600	333000	216000
	3	100000	125000	216000	308300	500000	575000	733000	458000	230000
B (15 ppt)	1	100000	141600	216000	458000	658000	925000	1125000	1041600	875000
	2	100000	141600	283000	458300	600000	841600	1083000	958300	833000
	3	100000	141600	208300	483000	583000	816700	983000	916000	808300
C (25 ppt)	1	100000	183000	400000	833000	1025000	1525000	1708300	1416700	1083000
	2	100000	150000	403500	782500	1125000	1458300	1683000	1367000	1008300
	3	100000	175000	416700	725000	1200000	1367000	1541670	1250000	916700
D (35ppt)	1	100000	125000	166000	441670	667000	983000	1167000	1000000	791670
	2	100000	130000	167000	407500	558300	800000	1083000	916700	708300
	3	100000	125000	175000	358300	500000	800000	1050000	908300	758300

#### Lampiran 4. Data Laju Pertumbuhan Spesifik *T.chuii* selama Penelitian

##### - Laju Pertumbuhan Spesifik Harian *T.chuii*

Hari ke-	A (5 ppt) Ulangan			B (15 ppt) Ulangan			C (25 ppt) Ulangan			D (35 ppt) Ulangan		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0												
1	0.347836	0.287432	0.223144	0.347836	0.347836	0.347836	0.604316	0.405465	0.559616	0.223144	0.262364	0.223144
2	0.422272	0.482676	0.546965	0.422272	0.692441	0.385973	0.781978	0.989541	0.867581	0.283674	0.250459	0.336472
3	0.551648	0.432864	0.355795	0.751591	0.482077	0.841037	0.733569	0.662317	0.553805	0.978575	0.892047	0.716585
4	0.287682	0.406466	0.483535	0.362336	0.269406	0.188171	0.207414	0.363044	0.503905	0.412227	0.314856	0.333237
5	0.016464	0.031499	0.139762	0.340589	0.338375	0.337085	0.397302	0.259488	0.130297	0.387819	0.359715	0.470004
6	0.258589	0.048421	0.242776	0.195745	0.252185	0.185337	0.113504	0.143307	0.120248	0.171583	0.302879	0.271934
7	-0.27505	-0.48639	-0.47028	-0.07703	-0.12233	-0.07059	-0.18717	-0.20796	-0.20972	-0.15444	-0.16671	-0.14497
8	-0.69315	-0.43286	-0.68879	-0.17429	-0.14013	-0.12508	-0.2686	-0.30435	-0.31012	-0.23361	-0.25791	-0.1805

##### - Data Laju Pertumbuhan Spesifik Pada Konsentrasi Maksimum *T. chuii*

Perlakuan	Ulangan			Rata – Rata
	1	2	3	
A	0,314	0,323	0,332	0,323 ± 0,06
B	0,403	0,397	0,381	0,394 ± 0,19
C	0,473	0,471	0,471	0,472 ± 0,10
D	0,409	0,397	0,392	0,399 ± 0,13

**Lampiran 5.** Rancangan Acak Lengkap Pengaruh Salinitas Terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik *T.chuii*

Perlakuan (ppt)	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A (5)	0,314	0,323	0,332	0,969	0,323
B (15)	0,403	0,397	0,381	1,181	0,394
C(25)	0,473	0,471	0,471	1,415	0,472
D (35)	0,409	0,397	0,392	1,198	0,399
	Total			4,763	1,588

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{4,763^2}{3 \times 4} = 1,890514$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + (B_1)^2 + (B_2)^2 + (B_3)^2 + \dots + (D_3)^2 - FK \\ &= (0,314)^2 + (0,323)^2 + (0,332)^2 + (0,403)^2 + \dots + (0,392)^2 - 1,891 \\ &= 0,0338 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{3} \\ &= \frac{(0,969)^2 + (1,181)^2 + (1,415)^2 + (1,198)^2}{3} - 1,891 \\ &= 0,033203 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 0,0338 - 0,033203 \\ &= 0,000576 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Fhit	Ftabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	0,033203	0,011068	153**	4.07	7.59
Galat	8	0,000576	0,000072			
Total	11					

dilanjutkan pada halaman berikutnya

**Lampiran 5. (Lanjutan)**

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

$$= \sqrt{\frac{2 (0.000072)}{3}}$$

$$= 0,006928$$

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

$$= 2,306 \times 0,006928$$

$$= 0,015976$$

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

$$= 3,355 \times 0,006928$$

$$= 0,02324$$

Tabel BNT

Rata-rata Perlakuan	A (0,32)	B (0,39)	D (0,40)	C (0,47)	Notasi
A (0,32)	-	-	-	-	a
B (0,39)	0.07**	-	-	-	b
D (0,40)	0.08**	0.01 <sup>ns</sup>	-	-	b
C (0,47)	0.15**	0.08**	0.07**	-	c

Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	0,969	-3	1	-1
B	1,181	-1	-1	3
C	1,415	1	-1	-3
D	1,198	3	1	1
Q= $\sum CiTi$		0,921	-0,429	-0,473
$K\mu = (\sum Ci^2) * \mu$		60	12	60
JK regresi= $Q^2/K\mu$		0.014137	0,015337	0,003729

dilanjutkan pada halaman berikutnya



### Lampiran 5. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadrat} + \text{JK Kubik} \\ &= (0,014137) + (0,015337) + (0,003729) \\ &= 0,033203 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3		-	-	5,32	11,26
*Linier	1	0,014137	0,014137	196,3521**		
*Kuadrat	1	0,015337	0,015337	213,01**		
*Kubik	1	0,003729	0,003729	51,789**		
Acak	8	0.0006	0.000072			
Total	11		-			

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{0,014137}{0,0006 + 0,014137} \\ &= 0,9608 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadrat}}{\text{JK Regresi Kuadrat} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{0,015337}{0,015337 + 0,0006} \\ &= 0,9638 \end{aligned}$$

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

Mencari persamaan regresi kuadrat :

$$\begin{aligned} \bar{x} &= \frac{5+15+25+35}{4} \\ &= 20 \\ d &= 10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} u_j = \frac{x-20}{10} &\longrightarrow \text{untuk } x = 5; \text{ maka } u_j = \frac{5-20}{10} = -1,5 \\ &\text{untuk } x = 15; \text{ maka } u_j = \frac{15-20}{10} = -0,5 \\ &\text{untuk } x = 25; \text{ maka } u_j = \frac{25-20}{10} = 0,5 \end{aligned}$$

## Lampiran 5. (Lanjutan)

untuk  $x = 35$ ; maka  $u_j = \frac{35-20}{10} = 1,5$

$x_j$	5	15	25	35	$\sum x_j = 80$
$u_j$	-1,5	-0,5	0,5	1,5	$\sum u_j = 0$
$U_j^2$	2,25	0,25	0,25	2,25	$\sum u_j^2 = 5$
$U_j^4$	5,0625	0,0625	0,0625	5,0625	$\sum u_j^4 = 10,25$
$y_{ij}$	0,969	1,181	1,415	1,198	$\sum y_{ij} = 4,763$
$u_j y_{ij}$	-1,4535	-0,5905	0,7075	1,797	$\sum u_j y_{ij} = 0,4605$
$U_j^2 y_{ij}$	2,1803	0,2953	0,3538	2,6955	$\sum u_j^2 y_{ij} = 5,5248$

Persamaan 1

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

$$0,4605 = b_1 \times 3 \times 5$$

$$0,4605 = 15 b_1$$

$$b_1 = 0,0307$$

Persamaan 2

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

$$4,763 = b_0 \times 12 + b_2 \times 3 \times 5$$

$$4,763 = 12 b_0 + 15 b_2$$

Persamaan 3

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

$$5,5248 = b_0 \times 3 \times 5 + b_2 \times 3 \times 10,25$$

$$5,5248 = 15 b_0 + 30,75 b_2$$

$$4,763 = 12 b_0 + 15 b_2 \quad \times 5 \quad \left| \quad 23,815 = 60 b_0 + 75 b_2$$

$$5,5248 = 15 b_0 + 30,75 b_2 \quad \times 4 \quad \left| \quad 22,099 = 60 b_0 + 123 b_2$$

$$1,72 = -48 b_2$$

$$b_2 = -0,03575$$

Substitusikan  $b_2$  pada salah satu persamaan :

**Lampiran 5. (Lanjutan)**

$$4,763 = 12 b_0 + 15 b_2$$

$$4,763 = 12 b_0 + 15 (-0,03575)$$

$$4,763 = 12 b_0 - 0,53625$$

$$12 b_0 = 5,24325$$

$$b_0 = 0,43694$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

$$Y = b_0 + b_1 u_j + b_2 u_j^2$$

$$Y = 0,43694 + 0,0307 u_j - 0,03575 u_j^2$$

Kembalikan transformasi  $u_j = \frac{x-20}{10}$  pada persamaan tersebut :

$$Y = 0,43694 + 0,0307 u_j - 0,03575 u_j^2$$

$$Y = 0,43694 + 0,0307 \left(\frac{x-20}{10}\right) - 0,03575 \left(\frac{x-20}{10}\right)^2$$

$$Y = 0,43694 + \left(\frac{0,0307 x - 0,614}{10}\right) - 0,03575 \left(\frac{x^2 - 40 x + 400}{100}\right)$$

$$Y = 0,43694 + \left(\frac{0,0307 x - 0,614}{10}\right) - \left(\frac{0,03575 x^2 - 1,43 x + 14,3}{100}\right)$$

$$Y = 0,43694 + 0,00307 x - 0,0614 - 0,0003575 x^2 + 0,0143x - 0,143$$

$$Y = (0,43694 - 0,0614 - 0,143) + (0,00307x + 0,0143x) - 0,0003575x^2$$

$$Y = 0,23254 + 0,01737x - 0,0003575x^2$$

Dari persamaan tersebut diperoleh:

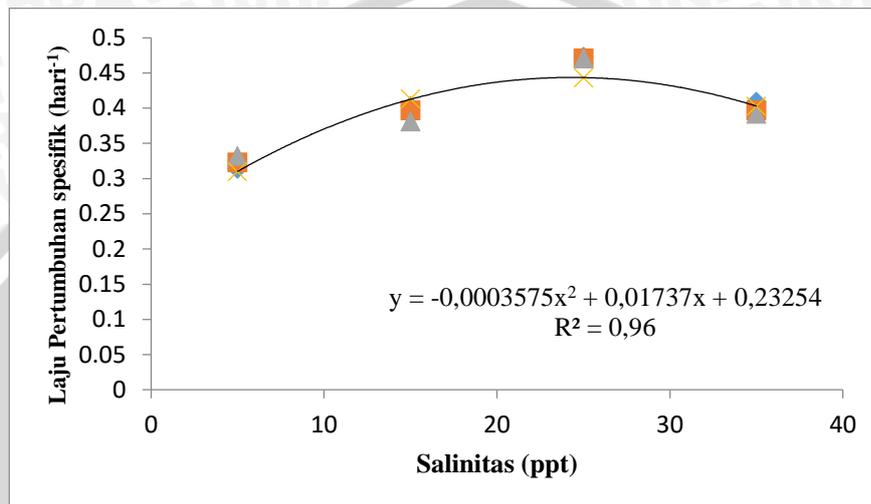
X	Y
5	0.31045
15	0.41265
25	0.44335
35	0.40255

Untuk membuat grafik berdasarkan seri 4 dari Y

Perlakuan	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4
A	0,314	0,323	0,332	0,311

## Lampiran 5. (Lanjutan)

B	0,403	0,397	0,381	0,413
C	0,473	0,471	0,471	0,443
D	0,409	0,397	0,392	0,403



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

$$Y = 0,23254 + 0,01737x - 0,0003575x^2$$

$$Y' = 0,01737 - 2(0,0003575)x$$

$$0 = 0,01737 - 0,000715x$$

$$0,000715x = 0,01737$$

$$x = 0,01737 : 0,000715$$

untuk  $x = 24,2937$  maka  $Y = 0,4435$

**Lampiran 6. Data Pengukuran Nitrat dan Fosfat serta Presentase Serapannya**

**- Nitrat**

Perlakuan	Konsentrasi Nitrat (ppm)			N Terserap (%)			Total Persentase(%)	Serapan Nitrat (ppm)	Sisa Di perairan (%)
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6			
<b>A1</b>	32.69	20.77	16.21	0	36.46	13.95	50.41	16.48	49.59
<b>A2</b>	31.97	21.72	16.11	0	32.06	17.55	49.61	15.86	50.39
<b>A3</b>	31.12	21.33	16.18	0	31.46	16.55	48.01	14.94	51.99
<b>B1</b>	32.89	18.85	13.25	0	42.69	17.03	59.71	19.64	40.29
<b>B2</b>	32.97	18.01	12.41	0	45.37	16.99	62.36	20.56	37.64
<b>B3</b>	31.97	17.75	12.31	0	44.48	17.02	61.50	19.66	38.50
<b>C1</b>	32.93	11.73	8.67	0	64.38	9.29	73.67	24.26	26.33
<b>C2</b>	31.92	12.4	9.57	0	61.15	8.87	70.02	22.35	29.98
<b>C3</b>	32.27	13.89	9.93	0	56.96	12.27	69.23	22.34	30.77
<b>D1</b>	32.38	16.59	10.53	0	48.76	18.72	67.48	21.85	32.52
<b>D2</b>	33.03	17.75	12.05	0	46.26	17.26	63.52	20.98	36.48
<b>D3</b>	31.92	16.88	10.79	0	47.12	19.08	66.20	21.13	33.80

## Lampiran 6. (Lanjutan)

## - Fosfat

Perlakuan	Konsentrasi Fosfat (ppm)			P Terserap (%)			Serapan Fosfat (ppm)	Total Persentase (%)	Sisa di Perairan (%)
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6			
<b>A1</b>	12.16	9.13	6.29	0	24.92	23.36	5.87	48.27	51.73
<b>A2</b>	13.36	8.01	6.04	0	40.04	14.75	7.32	54.79	45.21
<b>A3</b>	13.26	7.1	6.87	0	46.46	1.73	6.39	48.19	51.81
<b>B1</b>	12.64	6.48	5.71	0	48.73	6.09	6.93	54.83	45.17
<b>B2</b>	13.29	7.31	5.76	0	45.00	11.66	7.53	56.66	43.34
<b>B3</b>	13.47	7.39	5.13	0	45.14	16.78	8.34	61.92	38.08
<b>C1</b>	13.32	3.02	1.68	0	77.33	10.06	11.64	87.39	12.61
<b>C2</b>	13.31	5.1	3.62	0	61.68	11.12	9.69	72.80	27.20
<b>C3</b>	13.33	4.09	2.43	0	69.32	12.45	10.9	81.77	18.23
<b>D1</b>	13.53	5.47	4.72	0	59.57	5.54	8.81	65.11	34.89
<b>D2</b>	12.54	5.5	3.96	0	56.14	12.28	8.58	68.42	31.58
<b>D3</b>	13.52	7.39	4.74	0	45.34	19.60	8.78	64.94	35.06

### Lampiran 7. Rancangan Acak Lengkap Biomassa *T.chuii*

Perlakuan (ppt)	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A (5)	0.244	0.252	0.248	0.744	0.248
B (15)	0.294	0.280	0.300	0.874	0.291
C(25)	0.360	0.374	0.388	1.122	0.374
D (35)	0.308	0.304	0.308	0.920	0.307
	Total			3.660	1.20

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{3.66^2}{3 \times 4} = 1.1163$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + (B_1)^2 + (B_2)^2 + (B_3)^2 + \dots + (D_3)^2 - FK \\ &= (0.244)^2 + (0.252)^2 + (0.248)^2 + (0.294)^2 + \dots + (0.308)^2 - 1.1163 \\ &= 0.0252 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{3} - FK \\ &= \frac{(0.744)^2 + (0.874)^2 + (1.122)^2 + (0.920)^2}{3} - 1.1163 \\ &= 0.024599 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 0.0252 - 0.024599 \\ &= 0.000645 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Fhit	Ftabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	0.0245987	0.0082	101**	4.07	7.59
Galat	8	0.0064533	0.000081			
Total	11					

dilanjutkan pada halaman berikutnya

**Lampiran 7. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 SED &= \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 (0.000081)}{3}} \\
 &= 0.00733
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) } \times \text{ SED} \\
 &= 2,306 \times 0.00733 \\
 &= 0.016911
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak) } \times \text{ SED} \\
 &= 3,355 \times 0.00733 \\
 &= 0.0246
 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-rata Perlakuan	A (0.25)	B (0.29)	D (0.31)	C (0.37)	Notasi
A (0.25)	-	-	-	-	a
B (0.29)	0.04**	-	-	-	b
D (0.31)	0.06**	0.02*	-	-	bc
C (0.37)	0.13**	0.08**	0.06**	-	d

Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	0.744	-3	1	-1
B	0.874	-1	-1	3
C	1.122	1	-1	-3
D	0.92	3	1	1
Q = $\sum CiTi$		0.776	-0.332	-0.568
$K\mu = (\sum Ci^2) * \mu$		60	12	60
JK regresi = $Q^2 / K\mu$		0.010036	0.009185	0.00537

dilanjutkan pada halaman berikutnya



**Lampiran 7. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadrat} + \text{JK Kubik} \\
 &= (0.010036) + (0.009185) + (0.00537) \\
 &= 0.024599
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3		-	-	3.48	5.99
*Linier	1	0.010036	0.010036	124,42**		
*Kuadrat	1	0.009185	0.009185	113,88**		
*Kubik	1	0.00537	0.00537	66,66**		
Acak	8	0.000654	0.000087			
Total	11		-			

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0.010036}{0.010036 + 0.0006} \\
 &= 0,9395
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadrat}}{\text{JK Regresi Kuadrat} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0.009185}{0.009185 + 0.0006} \\
 &= 0,9343
 \end{aligned}$$

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

Mencari persamaan regresi kuadrat :

$$\begin{aligned}
 \bar{x} &= \frac{5+15+25+35}{4} \\
 &= 20 \\
 d &= 10
 \end{aligned}$$

$$u_j = \frac{x-20}{10} \longrightarrow \text{untuk } x = 5; \text{ maka } u_j = \frac{5-20}{10} = -1,5$$

$$\text{untuk } x = 15; \text{ maka } u_j = \frac{15-20}{10} = -0,5$$

$$\text{untuk } x = 25; \text{ maka } u_j = \frac{25-20}{10} = 0,5$$

$$\text{untuk } x = 35; \text{ maka } u_j = \frac{35-20}{10} = 1,5$$



Lampiran 7. (Lanjutan)

$x_j$	5	15	25	35	$\sum x_j = 80$
$u_j$	-1,5	-0,5	0,5	1,5	$\sum u_j = 0$
$U_j^2$	2,25	0,25	0,25	2,25	$\sum u_j^2 = 5$
$U_j^4$	5,0625	0,0625	0,0625	5,0625	$\sum u_j^4 = 10,25$
$y_{ij}$	0,744	0,874	1,122	0,920	$\sum y_{ij} = 3,66$
$u_j y_{ij}$	-1,116	-0,437	0,561	1,380	$\sum u_j y_{ij} = 0,388$
$U_j^2 y_{ij}$	1,6740	0,2185	0,2805	2,070	$\sum u_j^2 y_{ij} = 4,243$

Persamaan 1

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

$$0,388 = b_1 \times 3 \times 5$$

$$0,388 = 15 b_1$$

$$b_1 = 0,02587$$

Persamaan 2

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

$$3,66 = b_0 \times 12 + b_2 \times 3 \times 5$$

$$3,66 = 12 b_0 + 15 b_2$$

Persamaan 3

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

$$4,243 = b_0 \times 3 \times 5 + b_2 \times 3 \times 10,25$$

$$4,243 = 15 b_0 + 30,75 b_2$$

$$3,66 = 12 b_0 + 15 b_2 \quad \times 5 \quad \left| \quad 18,3 = 60 b_0 + 75 b_2$$

$$4,243 = 15 b_0 + 30,75 b_2 \quad \times 4 \quad \left| \quad 16,972 = 60 b_0 + 123 b_2$$

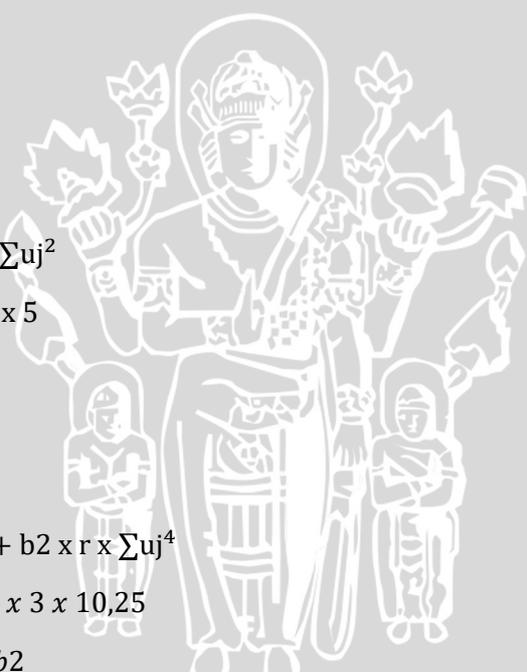
$$1,328 = -48 b_2$$

$$b_2 = -0,02767$$

Substitusikan  $b_2$  pada salah satu persamaan :

$$3,66 = 12 b_0 + 15 b_2$$

$$3,66 = 12 b_0 + 15 (-0,02767)$$



**Lampiran 7. (Lanjutan)**

$$3,66 = 12 b_0 - 0,415$$

$$12 b_0 = 4,075$$

$$b_0 = 0,33958$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

$$Y = b_0 + b_1 u_j + b_2 u_j^2$$

$$Y = 0,33958 + 0,02587 u_j - 0,02767 u_j^2$$

Kembalikan transformasi  $u_j = \frac{x-20}{10}$  pada persamaan tersebut :

$$Y = 0,33958 + 0,02587 u_j - 0,02767 u_j^2$$

$$Y = 0,33958 + 0,02587 \left(\frac{x-20}{10}\right) - 0,02767 \left(\frac{x-20}{10}\right)^2$$

$$Y = 0,33958 + \left(\frac{0,02587 x - 0,51733}{10}\right) - 0,02767 \left(\frac{x^2 - 40 x + 400}{100}\right)$$

$$Y = 0,33958 + \left(\frac{0,02587 x - 0,51733}{10}\right) - \left(\frac{0,02767 x^2 - 1,10667 x + 11,0667}{100}\right)$$

$$Y = 0,33958 + 0,002587 x - 0,051733 - 0,0002767 x^2 + 0,0110667 x - 0,110667$$

$$Y = (0,33958 - 0,051733 - 0,11067) + (0,002587 x + 0,0110667 x) - 0,0002767 x^2$$

$$Y = 0,17718 + 0,0136537 x - 0,0002767 x^2$$

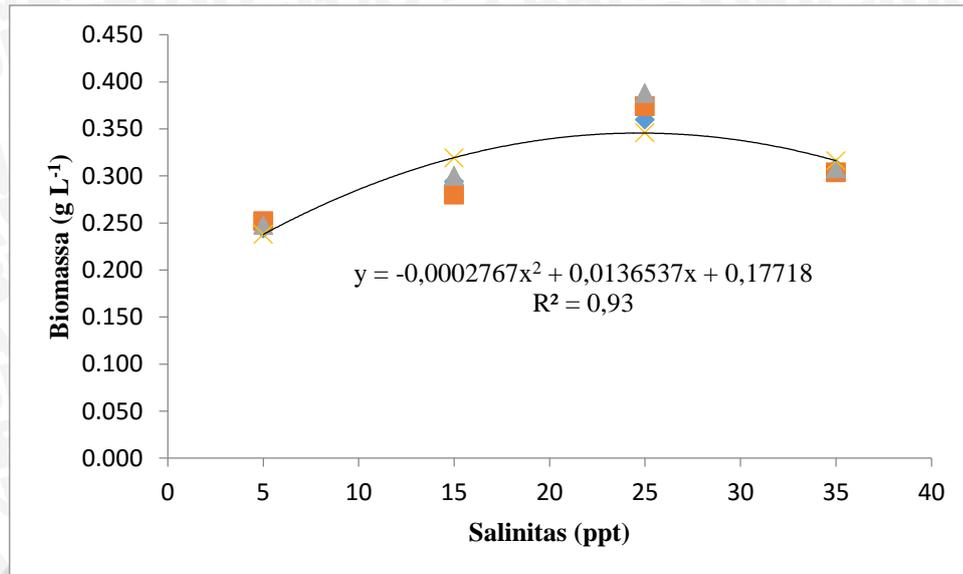
Dari persamaan tersebut diperoleh:

X	Y
5	0.23853
15	0.31973
25	0.34559
35	0.316102

Untuk membuat grafik berdasarkan seri 4 dari Y

Perlakuan	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4
A	0,244	0,252	0,248	0,238
B	0,294	0,280	0,300	0,319
C	0,360	0,374	0,388	0,346
D	0,308	0,304	0,308	0,316

## Lampiran 7. (Lanjutan)



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

$$Y = 0,17718 + 0,0136537x - 0,0002767x^2$$

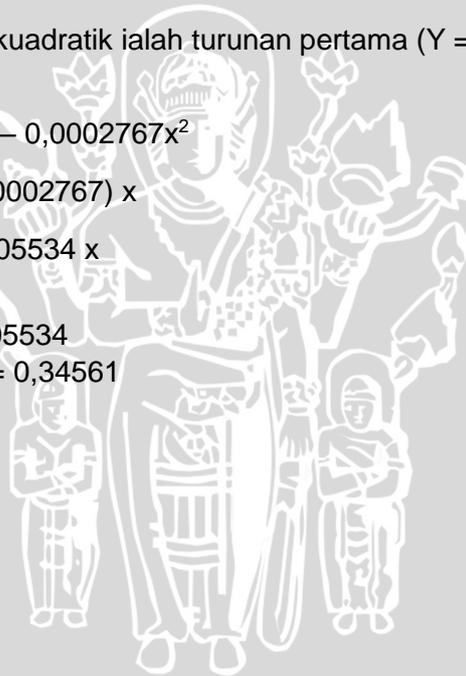
$$Y' = 0,0136537 - 2(0,0002767) x$$

$$1 = 0,0136537 - 0,0005534 x$$

$$0,0005534 x = 0,0136537$$

$$x = 0,0136537 : 0,0005534$$

$$\text{untuk } x = 24,6724 \text{ maka } Y = 0,34561$$



**Lampiran 8.** Rancangan Acak Lengkap Klorofil a *T.chuii*

Perlakuan (ppt)	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A (5)	0.99	0.99	1.21	3.19	1.06
B (15)	1.82	1.94	1.91	5.67	1.89
C(25)	3.93	3.82	3.99	11.74	3.91
D (35)	2.39	2.05	2.22	6,66	2.22
	Total			27.26	9.29

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{27.26^2}{3 \times 4} = 61,9256$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + (B_1)^2 + (B_2)^2 + (B_3)^2 + \dots + (D_3)^2 - FK \\ &= (0.99)^2 + (0.99)^2 + (1.21)^2 + (1.82)^2 + \dots + (2.22)^2 - 61,9256 \\ &= 13.0232 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{3} \\ &= \frac{(3.19)^2 + (5.67)^2 + (11.74)^2 + (6.66)^2}{3} - 61,9256 \\ &= 12.9104 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 13.0232 - 12.9104 \\ &= 0.1127 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Fhit	Ftabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	12.9104	4.3034	305,39**	4.07	7.59
Galat	8	0.1127	0.01409			
Total	11					

dilanjutkan pada halaman berikutnya

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{KT acak}}{\mu}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 (0.01409)}{3}} \\
 &= 0,09692
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) x SED} \\
 &= 2,306 \times 0,9692 \\
 &= 0.22351
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak) x SED} \\
 &= 3,355 \times 0,09692 \\
 &= 0.32518
 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-rata Perlakuan	A (1.06)	B (1.89)	D (2.22)	C (3.91)	Notasi
A (1.06)	-	-	-	-	a
B (1.89)	0.83**	-	-	-	b
D (2.22)	1.16**	0.33**	-	-	c
C (3.91)	2.85**	2.02**	1.69**	-	d

Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Hasil (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	3,19	-3	1	-1
B	5,67	-1	-1	3
C	11,74	1	-1	-3
D	6,66	3	1	1
Q= ∑CiTi		16,48	-7,56	-14,74
Kμ= (∑Ci^2)*μ		60	12	60
JK regresi= Q^2/Kμ		4,52651	4,7628	3.62113

dilanjutkan pada halaman berikutnya



### Lampiran 8. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadrat} + \text{JK Kubik} \\ &= (4,52651) + (4,7628) + (3,62113) \\ &= 12,9404 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3		-	-	3,48	5,99
*Linier	1	4,5261	4,52651	321,22**		
*Kuadrat	1	4,7628	4,7628	337,987**		
*Kubik	1	3,62113	3,62113	256,97**		
Acak	8	0,1127	0,01409			
Total	11		-			

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{4,5261}{4,5261 + 0,1127} \\ &= 0,976 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadrat}}{\text{JK Regresi Kuadrat} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{4,7628}{4,7628 + 0,1127} \\ &= 0,977 \end{aligned}$$

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

Mencari persamaan regresi kuadrat :

$$\begin{aligned} \bar{x} &= \frac{5+15+25+35}{4} \\ &= 20 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d &= \frac{20}{2} \\ &= 10 \end{aligned}$$

$$u_j = \frac{x-20}{10} \longrightarrow \text{untuk } x = 5; \text{ maka } u_j = \frac{5-20}{10} = -1,5$$

$$\text{untuk } x = 15; \text{ maka } u_j = \frac{15-20}{10} = -0,5$$

$$\text{untuk } x = 25; \text{ maka } u_j = \frac{25-20}{10} = 0,5$$

$$\text{untuk } x = 35; \text{ maka } u_j = \frac{35-20}{10} = 1,5$$

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

$x_j$	5	15	25	35	$\sum x_j = 80$
$u_j$	-1,5	-0,5	0,5	1,5	$\sum u_j = 0$
$U_j^2$	2,25	0,25	0,25	2,25	$\sum u_j^2 = 5$
$U_j^4$	5,0625	0,0625	0,0625	5,0625	$\sum u_j^4 = 10,25$
$y_{ij}$	3,19	5,67	11,74	6,66	$\sum y_{ij} = 27,26$
$u_j y_{ij}$	-4,785	-2,835	5,87	9,99	$\sum u_j y_{ij} = 8,24$
$U_j^2 y_{ij}$	7,1775	1,4175	2,935	14,985	$\sum u_j^2 y_{ij} = 26,515$

Persamaan 1

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

$$8,24 = b_1 \times 3 \times 5$$

$$8,24 = 15 b_1$$

$$b_1 = 0,54933$$

Persamaan 2

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

$$27,26 = b_0 \times 12 + b_2 \times 3 \times 5$$

$$27,26 = 12 b_0 + 15 b_2$$

Persamaan 3

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

$$26,515 = b_0 \times 3 \times 5 + b_2 \times 3 \times 10,25$$

$$26,515 = 15 b_0 + 30,75 b_2$$

$$27,26 = 12 b_0 + 15 b_2 \quad \times 5 \quad \left| \quad \begin{array}{l} 136,3 = 60 b_0 + 75 b_2 \\ 106,06 = 60 b_0 + 123 b_2 \\ 30,24 = -48 b_2 \\ b_2 = -0,63 \end{array} \right.$$

$$26,515 = 15 b_0 + 30,75 b_2 \quad \times 4$$

$$30,24 = -48 b_2$$

$$b_2 = -0,63$$

Substitusikan  $b_2$  pada salah satu persamaan :

$$27,26 = 12 b_0 + 15 b_2$$

$$27,26 = 12 b_0 + 15 (-0,63)$$

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

$$27,26 = 12 b_0 - 9,45$$

$$12 b_0 = 36,71$$

$$b_0 = 3,05917$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

$$Y = b_0 + b_1 u_j + b_2 u_j^2$$

$$Y = 3,05917 + 0,54933 u_j - 0,63 u_j^2$$

Kembalikan transformasi  $u_j = \frac{x-20}{10}$  pada persamaan tersebut :

$$Y = 3,05917 + 0,54933 u_j - 0,63 u_j^2$$

$$Y = 3,05917 + 0,54933 \left(\frac{x-20}{10}\right) - 0,63 \left(\frac{x-20}{10}\right)^2$$

$$Y = 3,05917 + \left(\frac{0,54933 x - 10,9867}{10}\right) - 0,63 \left(\frac{x^2 - 40 x + 400}{100}\right)$$

$$Y = 3,05917 + \left(\frac{0,54933 x - 10,9867}{10}\right) - \left(\frac{0,63x^2 - 25,2 x + 252}{100}\right)$$

$$Y = 3,05917 + 0,054933 x - 1,09867 - 0,0063 x^2 + 0,252x - 2,52$$

$$Y = (3,05917 - 2,52 - 1,09867) + (0,054933x + 0,252x) - 0,0063x^2$$

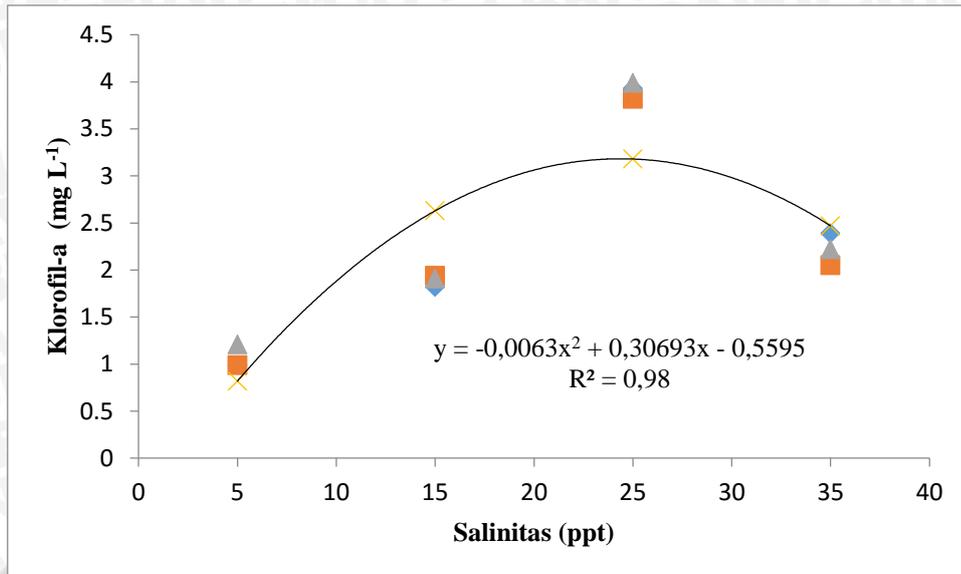
$$Y = -0,5595 + 0,30693x - 0,0063x^2$$

Dari persamaan tersebut diperoleh:

X	Y
5	0,81765
15	2,62695
25	3,17625
35	2,46555

Untuk membuat grafik berdasarkan seri 4 dari Y

Perlakuan	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4
A	0,99	0,99	1,21	0,82
B	1,82	1,94	1,91	2,63
C	3,93	3,82	3,99	3,18
D	2,39	2,05	2,22	2,47



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

$$Y = -0,5595 + 0,30693x - 0,0063x^2$$

$$Y' = 0,30693 - 2(0,0063) x$$

$$1 = 0,30693 - 0,0126 x$$

$$0,0126 x = 0,30693$$

$$x = 0,30693 : 0,0126$$

$$\text{untuk } x = 24,3598 \text{ maka } Y = 3,1783$$

**Lampiran 9. Data Kualitas Air selama Penelitian**

**- DO**

Pengamatan Hari ke-	A (5 ppt)			B (15 ppt)			C (25 ppt)			D (35 ppt)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	6.72	6.75	6.85	6.6	6.68	6.62	6.71	6.65	6.69	6.72	6.73	6.75
1	6.45	6.38	6.44	6.73	6.65	6.75	6.6	6.62	6.62	6.75	6.73	6.72
2	6.73	6.7	6.77	7.17	7.09	7.5	7.24	7.12	7.43	7.21	6.56	6.49
3	7.41	7.83	6.97	8.18	8.29	8.02	8.5	8.12	8.07	8.37	8.14	8.09
4	7.99	7.9	7.97	8.52	8.47	8.5	8.68	8.54	8.59	8.44	8,32	8.26
5	8.35	8.66	8.23	8.57	8.44	8.4	8.55	8.37	8.25	8.47	8.5	8.41
6	8.55	8.35	8.42	8.45	8.56	8.35	8.3	8.44	8.65	8.41	8.37	8.25
7	8.34	8.23	8.43	8.35	8.38	8.4	8.36	8.31	8.5	8.35	8.4	8.31
8	8.21	8.05	8.37	8.3	8.35	8.38	8.32	8.29	8.43	8.32	8.31	8.3

**- pH**

Pengamatan Hari ke-	A (5 ppt)			B (15 ppt)			C (25 ppt)			D (35 ppt)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	8.58	8.48	8.5	8.53	8.3	8.37	8.28	8.56	8.4	8.65	8.49	8.34
1	8.6	8.59	8.62	8.6	8.32	8.43	8.38	8.57	8.42	8.67	8.5	8.36
2	8.69	8.71	8.69	8.64	8.4	8.52	8.53	8.69	8.53	8.71	8.59	8.44
3	8.87	8.84	8.82	8.71	8.63	8.88	8.71	8.84	8.71	8.86	8.91	8.7
4	8.93	8.87	8.92	8.89	8.73	8,91	8.78	8.9	8.83	8.93	8.98	8.85
5	9	8.91	8.98	8.95	8.89	9.07	8.74	8,6	8.91	9.02	9.1	8.92

dilanjutkan pada halaman berikutnya

6	9.05	8.98	9.01	9.03	8.97	9.15	8.7	8.93	8.94	9.1	9.23	9
7	8.91	8.87	8.92	9.15	8.82	8.9	9	8.84	9.02	8.97	9.17	9.1
8	8.92	8.89	8.92	9.17	8.82	8.91	9.02	8.9	9.02	9	9.2	9.13

- Suhu (°C)

Pengamatan Hari ke-	A (5ppt)			B (15 ppt)			C (25 ppt)			D (35 ppt)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	27.75	28	28.10	28.40	28.00	28.50	28.90	28.50	28.00	28.42	28.70	28.39
1	28.03	28.1	27.92	28.00	28.05	27.95	28.14	28.21	28.00	28.31	28.27	28.01
2	28.21	27.97	28.00	28.00	28.20	28.00	27.90	28.19	27.82	28.40	28.32	28.25
3	27.91	28.09	27.85	28.09	27.87	27.98	28.24	28.34	28.3	27.5	28.4	28.16
4	28.68	28.44	28.06	28.36	28.69	28.39	27.65	28.25	28.16	28	28.02	27.88
5	27.37	27.83	28.33	27.39	27.48	27.41	28.55	27.99	27.82	28.3	27.6	28.15
6	28.1	28.37	27.66	28.69	28.23	28.3	28.36	28.1	28.4	27.9	28.44	28.4
7	28.87	28.34	28.58	27.35	28.36	28.09	28.48	26.87	28.33	28.31	27.61	27.9
8	28.23	28.27	28.3	28.36	28.04	28.36	28.4	27.69	27.76	27.4	28.34	28.6

