

**PENGARUH SALINITAS YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN,  
PRODUKSI BIOMASSA, KLOOROFIL-a DAN PROTEIN *Cyclotella* sp.**

**SKRIPSI**

Oleh :

**NURUL HIDAYAT  
NIM. 145080501111018**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**PENGARUH SALINITAS YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN,  
PRODUKSI BIOMASSA, KLOOROFIL-a DAN PROTEIN *Cyclotella* sp.**

**SKRIPSI**

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

Oleh :

**NURUL HIDAYAT  
NIM. 145080501111018**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
JUNI, 2018**

## SKRIPSI

PENGARUH SALINITAS YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN,  
PRODUKSI BIOMASSA, KLOOROFIL-a DAN PROTEIN *Cyclotella* sp.

Oleh :

NURUL HIDAYAT  
NIM. 145080501111018

telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 6 Juni 2018  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing 1

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.)

NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal : 13 JUL 2018

Menyetujui,

Dosen Pembimbing 2

(M. Fakhri, SPI., MP., MSc.)

NIP. 19860717 201504 1 001

Tanggal : 13 JUL 2018

Mengetahui,

Ketua Jurusan

Manajemen Sumberdaya Perairan



(Dr. Ir. M. Firdaus, MP.)

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal : 13 JUL 2018

## IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PENGARUH SALINITAS YANG BERBEDA TERHADAP  
PERTUMBUHAN, PRODUKSI BIOMASSA, KLOOROFIL-a, DAN  
PROTEIN *Cyclotella* sp.**

Nama Mahasiswa : NURUL HIDAYAT

NIM : 145080501111018

Program Studi : Budidaya Perairan

### PENGUJI PEMBIMBING

Pembimbing I : Dr. Ir. ARNING WILUJENG EKAWATI, MS.

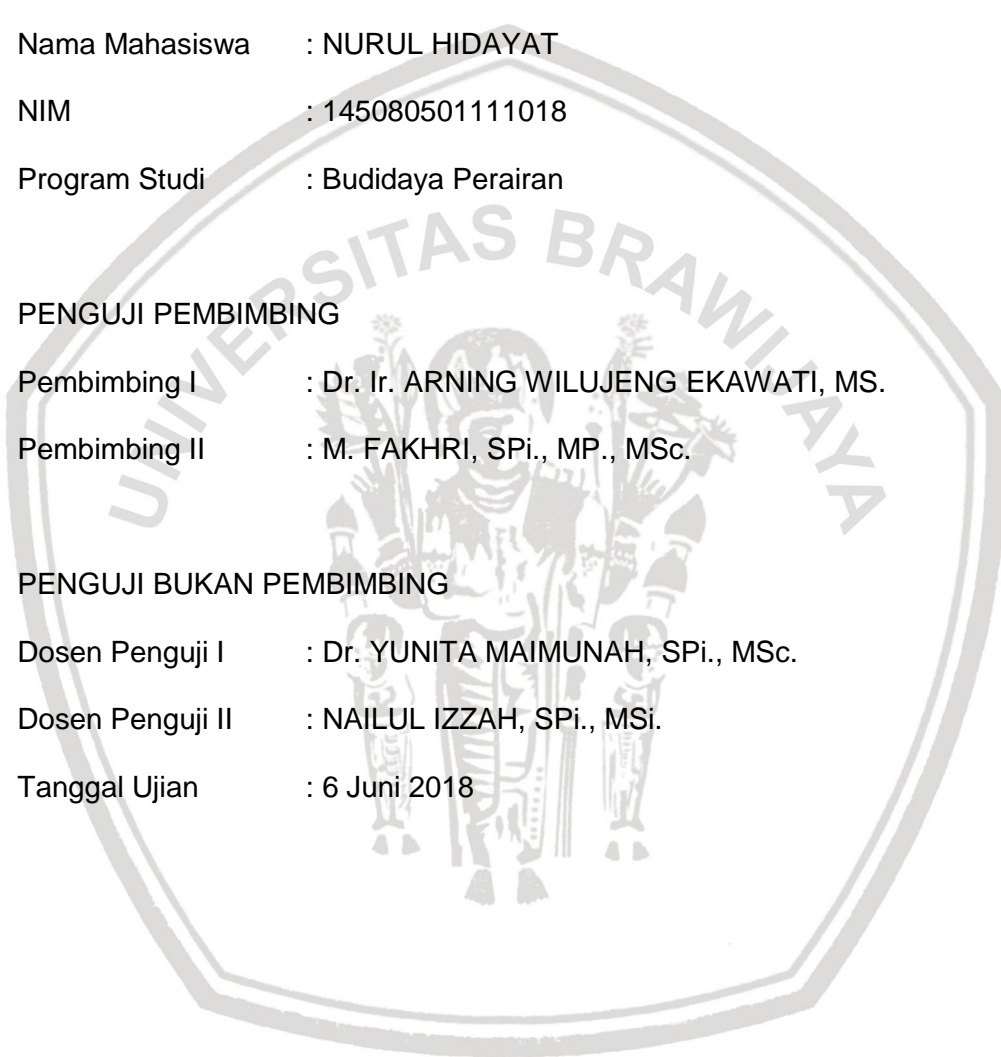
Pembimbing II : M. FAKHRI, SPi., MP., MSc.

### PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji I : Dr. YUNITA MAIMUNAH, SPi., MSc.

Dosen Penguji II : NAILUL IZZAH, SPi., MSi.

Tanggal Ujian : 6 Juni 2018



## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat selesai pada waktunya
2. Orang tua yang telah memberikan dukungan baik moral maupun material dalam menyelesaikan skripsi dengan baik
3. Ibu Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS. selaku dosen pembimbing I
4. Bapak M. Fakhri, SPi., MP., MSc. selaku dosen pembimbing II
5. Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, MSc. selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan
6. Ibu Dr. Yunita Maimunah, SPi., MSc. selaku dosen penguji I
7. Ibu Nailul Izzah, SPi., MSi. selaku dosen penguji II
8. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.
9. Tim skripsi pakan alami (Achmad Dhoif Sukron, Widyawatik, Eka Nur Asrurianta, Ika Febri Jayanti, Callista R.M., Mohammad Rizal Ilhami, Alif Idul Adha) yang telah membantu dalam proses penelitian.
10. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu.

Semoga Allah SWT membalas kebaikan Bapak, Ibu, serta teman-teman yang telah membantu jalannya penelitian. Amin.

Malang, Juni 2018

Penulis



## RINGKASAN

**Nurul Hidayat.** Skripsi tentang Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Pertumbuhan, Produksi Biomassa, Klorofil-a, dan Protein *Cyclotella* sp. (di bawah bimbingan Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS. dan M. Fakhri, Spi., MP., MSc.)

---

Mikroalga adalah kelompok tumbuhan berukuran renik yang termasuk dalam kelas alga, memiliki diameter 3-30  $\mu\text{m}$ , bersel tunggal atau berkoloni dan hidup diperairan tawar dan perairan laut. Mikroalga *Cyclotella* sp. masih sedikit dimanfaatkan untuk pakan larva, namun *Cyclotella* sp. memiliki kandungan protein yang cukup tinggi. *Cyclotella* sp. mengandung protein 20-30%.

Tujuan dari penelitian ini yaitu menjelaskan pengaruh dan menentukan salinitas terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a, dan protein *Cyclotella* sp. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan ikan serta Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Januari sampai dengan April 2018.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu perlakuan A salinitas 5 ppt, B salinitas 15 ppt, C salinitas 25 ppt dan D salinitas 35 ppt. Parameter utama yang diamati adalah pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp. serta parameter penunjang seperti suhu, salinitas, pH, DO (oksigen terlarut), nitrat dan fosfat.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Salinitas terbaik untuk laju pertumbuhan pada 20,1 ppt, biomassa 20,2 ppt, klorofil-a 20 ppt, protein 21,3 ppt. Pada salinitas yang optimal tersebut *Cyclotella* sp. mampu menghasilkan nilai laju pertumbuhan spesifik sebesar 0,693/hari dengan *doubling time* 1 hari, biomassa 0,618 g/L, klorofil-a 2,846  $\mu\text{g/mL}$  dan untuk protein 15,07%. Parameter penunjang seperti nitrat dan fosfat memiliki serapan tertinggi pada perlakuan dengan salinitas 15 ppt, serapan nitrat sebesar 70,47% dan fosfat 76,16%. Suhu pada media kultur selama penelitian berkisar 24,66<sup>o</sup>-28,80<sup>o</sup>C, pH sebesar 8,02-8,98 dan DO (oksigen terlarut) 4,10-6,74 ppm.

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa perlakuan dengan salinitas yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp. dan salinitas terbaik yaitu 20 ppt. Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp. dapat disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh fotoperiode yang berbeda dan menggunakan salinitas 20 ppt.

## KATA PENGANTAR

Skripsi ini berjudul “Pengaruh Salinitas yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan, Produksi Biomassa, Klorofil-a dan Protein *Cyclotella* sp.”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Dibawah bimbingan:

1. Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.
2. Muhammad Fakhri, SPi., MP., MSc.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dan keterbatasan dalam penyajian materi dan penulisannya, oleh karena itu penulis menerima segala kritik dan saran demi kesempurnaan penyusunan skripsi ini.

Malang, Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
<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.....	3
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Biologi <i>Cyclotella</i> sp. ....	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	4
2.1.2 Reproduksi .....	5
2.2 Fase Pertumbuhan.....	5
2.2.1 Fase Adaptasi .....	6
2.2.2 Fase Eksponensial .....	7
2.2.3 Fase Stationer.....	7
2.2.4 Fase Kematian .....	7
2.3 Sistem Kultur.....	8
2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan .....	9
2.4.1 Kondisi Lingkungan .....	9
2.5 Klorofil-a <i>Cyclotella</i> sp. ....	12
2.6 Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Pertumbuhan, Produksi Biomassa dan Biokimia Mikroalga.....	12
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>14</b>
3.1 Alat dan Bahan Penelitian .....	14
3.1.1 Alat Penelitian .....	14
3.1.2 Bahan Penelitian .....	14
3.2 Media Penelitian.....	15
3.3 Metode Penelitian.....	15
3.4 Rancangan Percobaan Penelitian .....	15
3.5 Prosedur Penelitian .....	16
3.5.1 Persiapan Penelitian.....	16
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian .....	19
3.6 Parameter yang Diukur.....	19
3.6.1 Parameter Utama .....	19
3.6.2 Parameter Penunjang.....	23



<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>26</b>
4.1 Pertumbuhan <i>Cyclotella</i> sp.....	26
4.2 Biomassa <i>Cyclotella</i> sp. ....	33
4.3 Klorofil-a <i>Cyclotella</i> sp. ....	35
4.5. Parameter Kualitas Air.....	38
4.5.1. Suhu.....	38
4.5.2. Derajat Keasaman (pH) .....	39
4.5.3. Oksigen Terlarut (DO) .....	39
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>40</b>
5.1. Kesimpulan .....	40
5.2. Saran .....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>41</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>41</b>
Error! Bookmark not defined.	



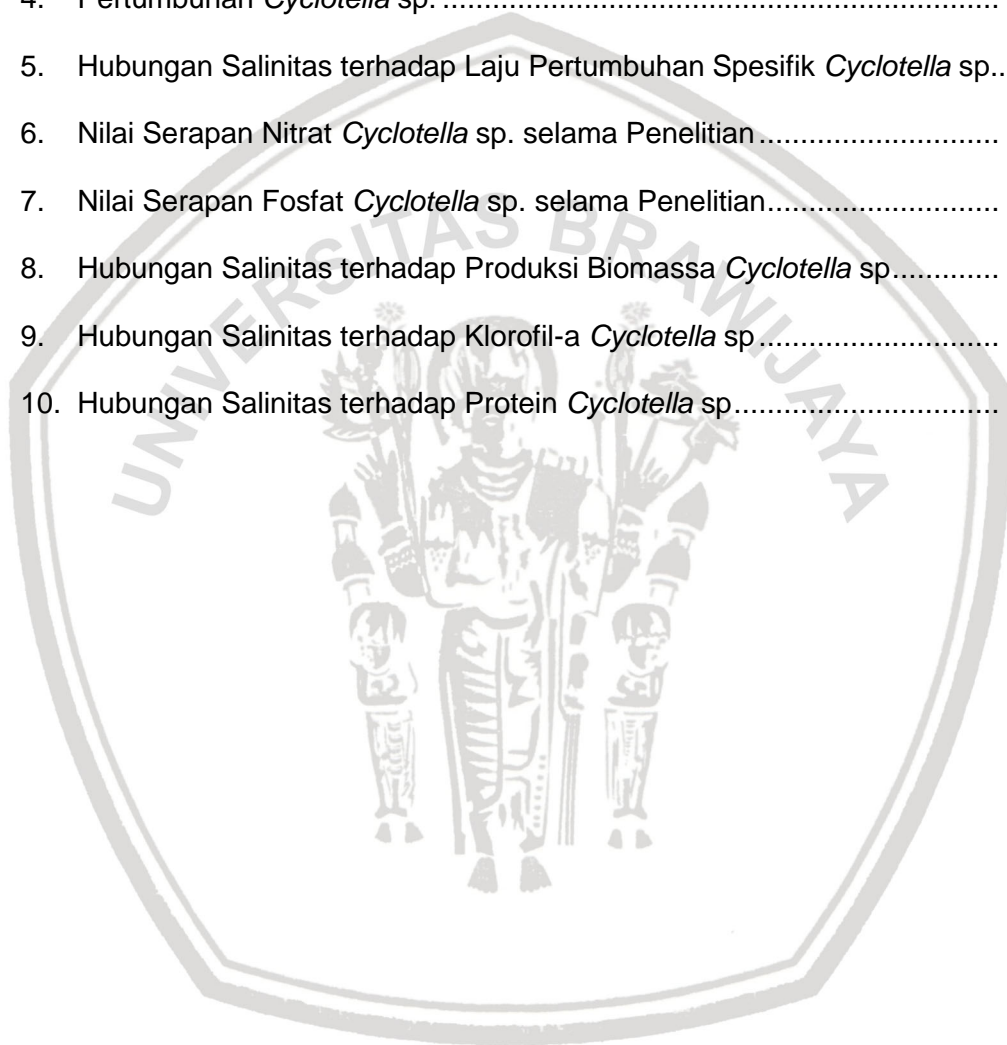
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-rata Parameter Uji selama Penelitian .....	26



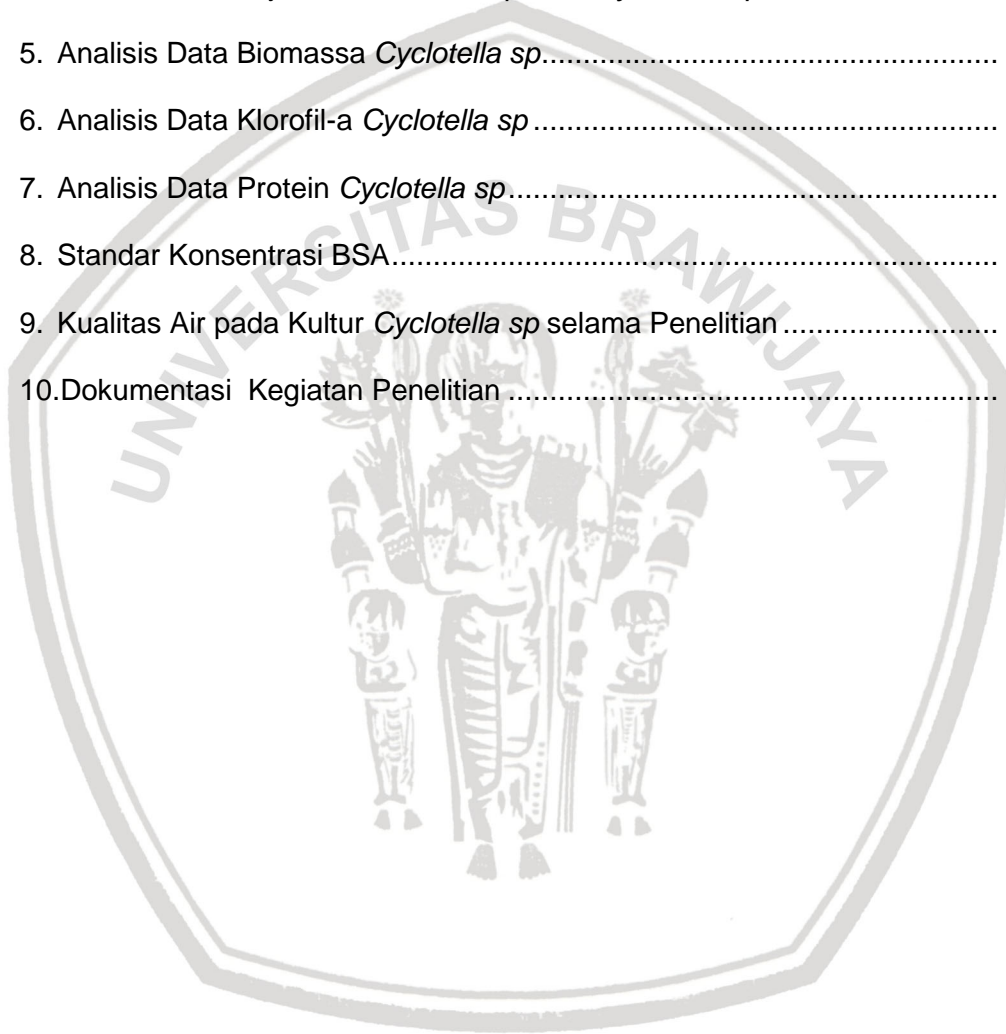
## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Cyclotella</i> sp .....	4
2. Fase Pertumbuhan Mikroalga .....	6
3. Denah Percobaan .....	16
4. Pertumbuhan <i>Cyclotella</i> sp. ....	27
5. Hubungan Salinitas terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik <i>Cyclotella</i> sp..	30
6. Nilai Serapan Nitrat <i>Cyclotella</i> sp. selama Penelitian .....	32
7. Nilai Serapan Fosfat <i>Cyclotella</i> sp. selama Penelitian.....	32
8. Hubungan Salinitas terhadap Produksi Biomassa <i>Cyclotella</i> sp.....	34
9. Hubungan Salinitas terhadap Klorofil-a <i>Cyclotella</i> sp.....	35
10. Hubungan Salinitas terhadap Protein <i>Cyclotella</i> sp.....	37



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Proses Sterilisasi.....	46
2. Komposisi Pupuk Walne .....	49
3. Data Pertumbuhan <i>Cyclotella sp.</i> .....	50
4. Analisis Data Laju Pertumbuhan Spesifik <i>Cyclotella sp.</i> .....	53
5. Analisis Data Biomassa <i>Cyclotella sp.</i> .....	59
6. Analisis Data Klorofil-a <i>Cyclotella sp.</i> .....	65
7. Analisis Data Protein <i>Cyclotella sp.</i> .....	71
8. Standar Konsentrasi BSA.....	77
9. Kualitas Air pada Kultur <i>Cyclotella sp.</i> selama Penelitian.....	78
10. Dokumentasi Kegiatan Penelitian .....	83



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Mikroalga adalah kelompok tumbuhan berukuran renik yang termasuk dalam kelas alga, memiliki diameter 3-30  $\mu\text{m}$ , bersel tunggal atau berkoloni dan hidup diperairan tawar dan perairan laut. Mikroalga termasuk eukariotik, morfologi mikroalga berbentuk uniseluler atau multiseluler. Mikroalga digunakan sebagai pakan alami pada kegiatan budidaya ikan, terutama pada pembenihan ikan, udang dan abalone (Budiardi, *et al.*, 2010). Mikroalga tidak hanya digunakan sebagai sumber pakan, tetapi mempunyai peranan penting dalam menyeimbangkan kadar oksigen dan karbondioksida dalam media kultur (Lente dan Herlinah, 2015).

Mikroalga *Cyclotella* sp. masih sedikit dimanfaatkan untuk pakan larva, namun *Cyclotella* sp. memiliki kandungan protein yang cukup tinggi. *Cyclotella* sp. mengandung protein 20-30% (Kutzing, 2004). *Cyclotella* sp. adalah diatom yang banyak ditemukan di muara sungai dan lingkungan estuari. Mikroalga ini bersifat euryhaline yang memiliki toleransi salinitas luas. *Cyclotella* sp. tumbuh baik pada lingkungan estuari karena ketersediaan nutrisi untuk pertumbuhan melimpah (Roubeix dan Lancelot, 2008).

Kultur mikroalga membutuhkan berbagai macam senyawa anorganik untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal. Faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga yaitu cahaya, suhu media, tekanan osmotik, pH air dan salinitas media kultur. Salinitas berhubungan dengan pengaturan tekanan osmotik dalam tubuh sel mikroalga. Faktor senyawa anorganik dan faktor lingkungan bisa meningkatkan atau menghambat pertumbuhan dari mikroalga (Prayitno, *et al.*, 2015).



Laju pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh salinitas. Salinitas media berkaitan dengan kemampuan mikroalga untuk mempertahankan tekanan osmotik antara protoplasma dengan lingkungan hidupnya. Salinitas media kultur plankton yang digunakan untuk menunjang pertumbuhan dari jenis *Cyclotella* sp. adalah 15-23 ppt (Roubeix dan Lancelot, 2008). Toleransi Salinitas *Cyclotella* sp. terhadap salinitas sangat lebar yaitu 5-40 ppt. Kisaran salinitas optimal untuk pertumbuhan *Cyclotella* sp. adalah 16-23 ppt dan salinitas minimum untuk mikroalga jenis ini adalah 5 ppt (Hakansson dan Chepurnov, 1999).

Penelitian mengenai pengaruh salinitas terhadap laju pertumbuhan, biomassa dan kandungan biokimia dari *Cyclotella* sp. yang dilakukan Roubeix dan Lancelot (2008), menyebutkan bahwa salinitas 18 ppt merupakan salinitas terbaik untuk mendapatkan laju pertumbuhan optimal mikroalga *Cyclotella* sp. karena kepadatan dan kandungan klorofil-a dapat mencapai konsentrasi optimal. Menurut Hakansson dan Chepurnov (1999), salinitas 16 ppt merupakan kondisi yang optimum untuk mendapatkan laju pertumbuhan terbaik. Menurut Banerjee, *et al.* (2011), perbedaan kondisi lingkungan serta asal spesies dapat menyebabkan mikroalga memiliki sifat yang berbeda, oleh karena itu diperlukan penelitian mengenai pengaruh perbedaan salinitas terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan kadar protein pada *Cyclotella* sp.

## 1.2 Rumusan Masalah

Salinitas dapat mempengaruhi laju pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein. Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp.?
2. Berapa salinitas terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp.?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menjelaskan pengaruh perlakuan salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp.
2. Menentukan salinitas yang terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp.

### 1.4 Hipotesis

H0 : Salinitas yang berbeda tidak mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp.

H1 : Salinitas yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp.

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai informasi mengenai pengaruh salinitas yang berbeda dan sebagai informasi tentang nilai salinitas yang terbaik untuk produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp.

### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan dan Laboratorium Hidrobiologi Divisi Lingkungan dan Bioteknologi Perairan pada bulan Januari sampai April 2018.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi *Cyclotella* sp.

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *Cyclotella* sp. (Gambar 1) menurut Kutzing (1844), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Chromista
Phylum	: Bacillariophyta
Subphylum	: Bacillariophytina
Class	: Mediophyceae
Subclass	: Thalassiosirophycidae
Order	: Stephanodiscales
Family	: Stephanodiscaceae
Genus	: <i>Cyclotella</i>
Spesies	: <i>Cyclotella</i> sp.



Gambar 1. *Cyclotella* sp. (Purnomo, *et al.*, 2015).

*Cyclotella* sp. memiliki bentuk sel bulat, bersel tunggal, tidak berantai dan memiliki katup yang disebut *hipoteka* dan *epiteka*. Mikroalga jenis ini merupakan diatom yang banyak ditemukan muara sungai dan lingkungan estuari, namun *Cyclotella* sp. tumbuh melimpah di lingkungan estuari (Botte *et al.*, 2018). *Cyclotella* sp. memiliki diameter 11,5-14,5  $\mu\text{m}$ . Mikroalga ini memiliki

katup dengan ukuran yang berbeda, ukuran katup ini tergantung pada salinitas media yang digunakan (Hakansson dan Chepurnov, 1999).

### 2.1.2 Reproduksi

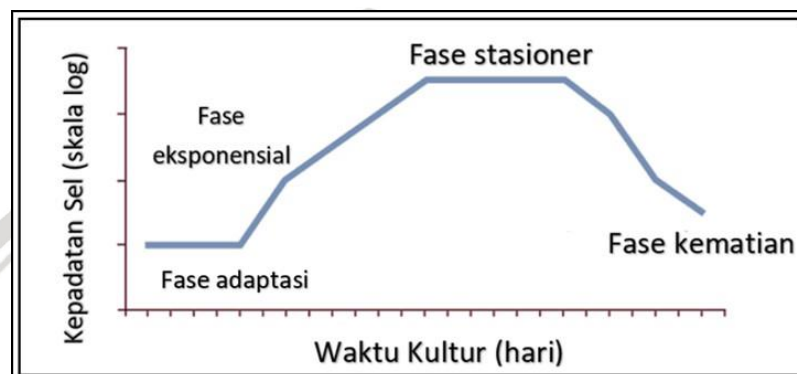
Menurut Richmond (2004), reproduksi mikroalga dapat terjadi secara seksual dan aseksual. Produksi yang paling umum terjadi adalah reproduksi dengan cara aseksual atau vegetatif yaitu dengan pembelahan sitoplasma dalam *frustul* sehingga *epiteka* dan *hipoteka* induk terpisah. Masing-masing bagian akan menghasilkan pasangan yang baru dan seterusnya. Semakin banyak pembelahan atau reproduksi aseksual yang terjadi, maka ukuran sel yang dihasilkan akan semakin kecil. Ketika ukurannya sudah minimum maka sel selanjutnya akan tumbuh auktospora berukuran besar yang akan membelah dan menghasilkan sel baru yang berukuran besar. Proses reproduksi ini dipengaruhi oleh lingkungannya.

Menurut Padang (2012), untuk mengembalikan ukuran sel dan bentuk yang normal, maka dilakukan dengan cara reproduksi seksual, dengan cara membentuk zigot diikuti dengan pembesaran ukuran sel dan selanjutnya berkembang menjadi sel vegetatif yang mempunyai ukuran mendekati maksimum. Pembelahan secara aseksual yaitu sel membelah menjadi dua sel baru, dimana rangka luar (*frustula*) terbagi menjadi dua yaitu katub atas (*epiteka*) dan katub bawah (*hipoteka*). Masing-masing bagian *frustula* yang terpisah ini akan membentuk *hipoteka* dan *epiteka* baru. *Hipoteka* dari sel asal akan menjadi *epiteka* dari sel baru, dengan demikian sel yang terbentuk dari *hipoteka* akan memiliki ukuran yang lebih kecil dari sel yang terbentuk dari *epiteka*.

### 2.2 Fase Pertumbuhan

Pertumbuhan mikroalga ditandai dengan bertambah besarnya ukuran sel atau bertambah banyaknya jumlah sel. Umumnya mikroalga ditumbuhkan dengan sistem curah maupun kontinyu. Pertumbuhan mikroalga pada sistem

curah mulai dengan cara memindahkan sebagian kecil *stock* kultur ke dalam kultur agar. Pada sistem skala laboratorium nutrisi menjadi faktor pembatas bagi pertumbuhan mikroalga. Menurut Prayitno (2016), pola pertumbuhan mikroalga yaitu berbentuk sigma sigmoid yang terdiri dari empat fase yaitu fase linier (*lag phase*), eksponensial, stasioner dan kematian. Kurva pertumbuhan mikroalga tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Fase Pertumbuhan mikroalga (Creswell, 2010).

### 2.2.1 Fase Adaptasi

Sesaat setelah penambahan inokulum ke dalam media kultur, populasi tidak mengalami perubahan. Secara fisiologis mikroalga sangat aktif dan terjadi proses sintesis protein. Organisme mengalami metabolisme, tetapi belum terjadi pembelahan sel sehingga kepadatan sel belum meningkat. Menurut Armanda (2013), fase ini disebut juga fase istirahat. Pada fase ini, sel diatom beradaptasi dengan medium dan lingkungan kulturnya (suhu, salinitas, pH). Diatom sudah bermetabolisme sehingga ukuran selnya meningkat. Namun diatom belum menunjukkan pertumbuhan populasi atau kenaikan jumlah sel yang nyata, karena masih dalam proses adaptasi dengan lingkungan yang baru. Diatom didalam fase ini sudah mulai memanfaatkan nutrisi yang ada dalam media kultur, meskipun belum optimum, sehingga beberapa enzim yang terkait pembelahan sel belum tersintesis dengan optimal. Lama tidaknya fase lag ini sangat tergantung pada kualitas dari sel diatom.



### 2.2.2 Fase Eksponensial

Fase ini diawali dengan pembelahan sel dengan laju pertumbuhan tetap pada kondisi kultur yang optimum. Pada fase ini, laju pertumbuhan dari plankton mencapai maksimal. Menurut Armanda (2013), pada fase ini jumlah sel mengalami peningkatan dengan cepat. Puncak pertumbuhan populasi diatom terjadi pada fase ini. Fase ini adalah bukti sel telah berhasil beradaptasi dan optimal dalam memanfaatkan nutrient dari media kultur. Pembelahan sel dan laju pertumbuhan dalam kondisi yang sangat optimal.

Menurut Selvika, *et al.* (2016), pada fase logaritmik (eksponensial) terjadi peningkatan jumlah sel secara konstan, karena pada awal kultur kandungan nutrient masih tinggi. Nutrien dapat dimanfaatkan oleh masing-masing fitoplankton untuk melakukan proses pertumbuhan. Laju pertumbuhan pada fase eksponensial ini mencapai maksimal karena pada fase ini sel melakukan konsumsi nutrient yang ada pada media.

### 2.2.3 Fase Stationer

Pada fase ini laju reproduksi sama dengan laju kematian. Kepadatan mikroalga relatif tetap. Menurut Armanda (2013), pertumbuhan populasi diatom cenderung stasioner, artinya pembelahan sel dan kematian sel seimbang. Fase ini berlangsung sangat singkat, sehingga kecenderungan yang ada adalah penurunan pertumbuhan populasi pada 24 jam. Penurunan pertumbuhan populasi ini karena diatom sudah mulai mengalami kematian dan jumlah nutrient pada media sudah berkurang.

### 2.2.4 Fase Kematian

Fase ini ditandai dengan jumlah sel menurun secara geometrik. Pada fase ini laju kematian lebih cepat dari pada laju reproduksi. Penurunan kepadatan mikroalga ditandai dengan perubahan kondisi optimum yang dipengaruhi oleh temperatur, cahaya, pH air, jumlah nutrient dan beberapa

kondisi lingkungan yang lain. Menurut Armanda (2013), penurunan jumlah sel lebih besar daripada pada fase stasioner. Penurunan jumlah sel ini karena seluruh sel secara alami mengalami kematian. Salah satu faktor yang mempercepat kematian ini adalah habisnya jumlah nutrient dan semakin banyaknya hasil metabolisme diatom yang dapat menghambat pertumbuhan sel secara alami.

### 2.3 Sistem Kultur

Sistem kultur dalam mikroalga yang paling sederhana yaitu dengan sistem kultur tertutup (*batch culture*). Pada sistem *batch culture* ini, fase pertumbuhan mikroalga terdapat 4 fase yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Fase lag atau masa adaptasi mikroalga ditentukan oleh banyaknya inokulan yang ditebar pada saat awal kultur. Semakin banyak inokulan awal yang ditebar maka fase lag dari mikroalga semakin singkat. Sistem *batch culture* juga mempengaruhi kecepatan plankton dalam mencapai fase eksponensial (Andersen, 2005).

Sistem *batch culture* merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan biomassa mikroalga. Hal ini dikarenakan dalam sistem *batch culture* pembentukan nutrisinya dikontrol, jika didalam kultur terjadi kekurangan gizi maka dapat mempengaruhi sintesis aktivitas enzim lipid pada plankton (Pratiwi, *et al.*, 2009).

Sistem kultur tertutup (*batch culture*) merupakan sistem kultur mikroalga yang terdiri dari inokulasi sel tunggal di dalam wadah berisi air laut dan akan terjadi periode pertumbuhan selama beberapa hari serta akan dipanen ketika populasinya mencapai maksimum atau mendekati maksimum (fase stasioner awal) (Lim dan Zaleha, 2013). Sistem ini memiliki dominasi dan kompetisi yang tinggi dalam ketersediaan nutrisi media kultur, namun dominasi dan kompetisi

dalam sistem ini dapat dikontrol oleh variasi biota, cahaya, suhu, pH, oksigen dan persediaan nutrisi di bawah kondisi yang terkendali (Foo, *et al.*, 2015).

*Batch culture* merupakan teknik kultur yang paling sederhana dan sering digunakan pada kultur skala laboratorium. Kelebihan teknik *batch culture* ini adalah konstruksi yang digunakan dalam kultur sederhana, mudah menangani spesies mikroalga sewaktu-waktu, alat yang digunakan sedikit dan mudah didapatkan. Kekurangan teknik ini yaitu memerlukan waktu yang lama untuk menghasilkan produksi biomassa dengan jumlah yang sama. Kualitas dan jumlah yang dihasilkan tiap panen tidak selalu sama, membutuhkan tenaga kerja yang lebih banyak dalam persiapan, pemeliharaan dan pemanenan (Prayitno, 2016).

## 2.4 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan

### 2.4.1 Kondisi Lingkungan

#### a. Suhu

Menurut Rahmawati, *et al.* (2014), fitoplankton termasuk organisme perairan yang tidak dapat mengatur suhu tubuhnya. Suhu tubuh organisme perairan sangat tergantung pada suhu perairan tempat hidupnya, oleh karena itu adanya perubahan suhu air akan membawa dampak yang cukup berpengaruh bagi fitoplankton. Suhu air rata-rata berkisar antara 24-32°C, pada kisaran tersebut plankton dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik. Kandungan nitrat dan fosfat sebagai nutrient akan meningkat jika suhu perairan mendukung untuk pertumbuhan organisme fitoplankton.

Raghavan, *et al.* (2008), menyatakan bahwa diatom merupakan pakan alami yang sangat potensial untuk perkembangan larva. Kultur diatom di dalam laboratorium sangat dipengaruhi kualitas air, terutama suhu. Suhu yang sesuai untuk pertumbuhan diatom adalah 20-25°C. Kisaran suhu untuk diatom jenis ini termasuk rendah.

### b. Derajat Keasaman (pH)

Nilai pH sangat dipengaruhi oleh aktivitas fotosintesis dan suhu. Kisaran nilai pH yang diperoleh termasuk dalam kisaran yang ideal untuk kehidupan organisme fitoplankton dalam perairan yaitu antara 6,5-8,5. Derajat keasaman (pH) mempunyai pengaruh terhadap kehidupan tumbuhan dan hewan air sehingga sering digunakan sebagai petunjuk untuk menyatakan baik buruknya suatu perairan (Rahmawati, *et al.*, 2014).

Kualitas air merupakan salah satu penunjang keberhasilan dalam kultur mikroalga. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Kutzing (2004), mendapatkan hasil bahwa pH untuk pemeliharaan *Cyclotella* sp. adalah 8. Jati, *et al.* (2012), kadar pH yang optimal yang di butuhkan mikroalga untuk mendapatkan pertumbuhan yang baik dan optimal adalah pH 7,2-8,5.

### c. Intensitas Cahaya

Menurut Dewi (2017), intensitas cahaya mempengaruhi laju pertumbuhan spesifik dan kerapatan sel mikroalga. Intensitas cahaya tinggi dan nutrisi masih tersedia maka laju pertumbuhan spesifik dan kerapatan sel akan meningkat, jika intensitas cahaya kultur rendah maka laju pertumbuhan spesifik juga rendah. Pembelahan sel akan melambat ketika nutrisi, cahaya, pH, karbondioksida atau faktor fisika dan kimia mulai membatasi pertumbuhan sehingga terjadi penurunan pertumbuhan mikroalga.

Menurut Jati, *et al.* (2012), intensitas cahaya yang dibutuhkan untuk proses terjadinya fotosintesis mikroalga berkisar antara 500-10.000 lux. Intensitas cahaya yang biasa digunakan dalam kultur secara *indoor* adalah 2500-4000 lux, sedangkan kisaran optimum intensitas cahaya bagi pertumbuhan diatom adalah 2000-8000 lux.

#### d. Salinitas

Menurut Rudiyanthi (2011), sebagian besar diatom sangat peka terhadap perubahan kadar garam dalam air. Kehidupan berbagai jenis fitoplankton tergantung pada salinitas yang ada diperairan. Faktor salinitas sangat penting karena berpengaruh langsung terhadap tekanan osmotik dalam tubuh fitoplankton. Produktivitas dan daya adaptasi berbagai jenis alga diduga berkaitan erat dengan tingkat salinitas lingkungannya.

Salinitas merupakan salah satu faktor pembatas bagi pertumbuhan dan perkembangan mikroalga. Umumnya mikroalga air laut hidup normal pada salinitas optimum 25-35 ppt (Jati, *et al.*, 2012). Kisaran salinitas optimal untuk pertumbuhan *Cyclotella* sp. adalah 16-23 ppt dan salinitas minimum untuk mikroalga jenis ini adalah 5 ppt (Hakansson dan Chepurnov, 1999).

#### e. Nutrien

Nutrien adalah salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan plankton, apabila salinitasnya sangat sesuai untuk pertumbuhan sel tetapi ketersediaan nutrien dan faktor lingkungan yang terbatas menyebabkan persaingan antar sel terhadap ruang dan nutrien semakin besar. Pada saat nutrien yang tersedia telah habis maka sel tidak dapat tumbuh lagi kemudian mati. Penurunan perkembangan populasi plankton yang kultur disebabkan oleh beberapa faktor yaitu kompetisi dan kandungan nutrien media yang semakin menurun (Rudiyanthi, 2011).

Kebutuhan nutrisi mikroalga meliputi makronutrien dan mikronutrien termasuk vitamin. Mikroalga membutuhkan senyawa anorganik sebagai makronutrien seperti C, N, P, K, S, Si dan Ca serta mikronutrien seperti Fe, Zn, N, Cu, Mg, Co dan lain-lain. Setiap unsur hara memiliki fungsi khusus yang akan berpengaruh pada pertumbuhan dan kepadatan yang dipengaruhi kondisi lingkungan. Unsur N, P, dan S penting untuk pembentukan protein,



sedangkan K berfungsi dalam metabolisme karbohidrat. Mikronutrien Fe dan Na berperan untuk pembentukan klorofil, sedangkan Si dan Ca merupakan bahan untuk pembentukan dinding sel (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

### **2.5 Klorofil-a *Cyclotella* sp.**

Menurut Aryawati dan Thoha (2011), kelimpahan fitoplankton dan kandungan klorofil-a sangat terkait dengan kondisi oseanografi suatu perairan. Parameter lingkungan yang mempengaruhi kelimpahan fitoplankton dan kandungan klorofil-a antara lain adalah intensitas cahaya, suhu, salinitas, arus, oksigen terlarut dan nutrien (terutama nitrat, fosfat dan silikat). Perbedaan parameter fisika-kimia tersebut secara langsung merupakan penyebab bervariasinya produktivitas primer di beberapa tempat di laut. Kandungan klorofil-a di lapisan permukaan berkisar antara 0,19-4,24 mg/m<sup>3</sup>.

Tinggi rendahnya kandungan klorofil-a di perairan sangat berhubungan dengan pasokan nutrien. Korelasi antara kelimpahan fitoplankton dan kandungan klorofil-a cukup kuat walaupun tidak terlalu besar. Ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan kelimpahan fitoplankton di suatu perairan tidak selalu berkorelasi secara nyata dengan kandungan klorofil-a, faktornya antara lain adalah proporsi klorofil-a yang berbeda pada setiap jenis fitoplankton (Aryawati dan Thoha, 2011).

### **2.6 Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Pertumbuhan, Produksi Biomassa dan Biokimia Mikroalga**

Laju pertumbuhan pada *Cyclotella* sp. yang diteliti oleh Botte, *et al.* (2018), *Cyclotella* sp. mengalami fase lag pada hari ke 0-3 (72 jam) ditandai dengan bertambahnya kepadatan sel yang tidak terlalu signifikan. Fase logaritmik mikroalga ini sampai pada hari ke 13. Hari ke 13 didapatkan kepadatan sel tertinggi. Hari ke 14 terjadi fase stasioner yang ditandai dengan jumlah

kematian dan pertumbuhan sel berjalan seimbang yang ditandai dengan menurunnya kepadatan.

Penelitian yang dilakukan oleh Hakansson dan Chepurnov (1999), kisaran salinitas optimal untuk pertumbuhan *Cyclotella* sp. adalah 16-23 ppt dan salinitas minimum untuk mikroalga jenis ini adalah 5 ppt. Suhu ruangan kultur yang optimal untuk pertumbuhan mikroalga adalah 20°C. *Cyclotella* sp. di pelihara pada salinitas 0 ppt, 2 ppt, 5 ppt, 10 ppt, 18 ppt, 25 ppt, 30 ppt dan 33 ppt menggunakan air laut yang sudah di sterilisasi. Salinitas 18 ppt merupakan salinitas terbaik untuk mengoptimalkan biomassa, sedangkan pada salinitas yang lebih rendah atau lebih tinggi dari 18 ppt kepadatan biomassa yang dihasilkan kurang optimal hal ini dikarenakan kandungan  $\text{FeCl}_3$  dalam media kultur berkurang.

Penelitian yang dilakukan oleh Kutzing (2004), pada salinitas 8,75 ppt yang memiliki pH 8 dengan suhu ruangan penelitian 21°C. Pertumbuhan maksimum pada mikroalga *Cyclotella* sp. yang dikultur selama 10 hari dengan kepadatan awal  $8 \times 10^4$  sel/mL adalah  $41 \times 10^4$  sel/mL sampai  $81 \times 10^4$  sel/mL. Kandungan klorofil yang dihasilkan 0,12-1,53  $\mu\text{g/mL}$ . Perbedaan jumlah kepadatan dan kandungan klorofil-a yang dihasilkan dikarenakan konsentrasi nutrisi yang terlarut dalam perairan berbeda. Semakin tinggi nilai nutrient yang terlarut dalam media akan menyebabkan kepadatan meningkat. Kadar protein yang dihasilkan adalah 18  $\mu\text{g/mL}$  sampai 24  $\mu\text{g/mL}$ . Tinggi rendahnya protein dikarenakan perbedaan konsentrasi nutrient. Salinitas yang tepat dapat menghasilkan komposisi kimia yang seimbang untuk mikroalga karena mempengaruhi tekanan osmotik antara protoplasma sel dengan air sebagai lingkungannya. Semakin tinggi salinitas maka mikroalga akan melakukan adaptasi dengan melakukan proses osmotik sehingga kandungan biokimia tidak optimal.

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain wadah kultur (toples kaca) kapasitas 3 Liter, botol film, autoklaf GEA, nampan, blower, selang aerasi, lampu TL 36 W, pH meter, DO meter, termometer, *haemocytometer* 0,1 mm (BOECO, Hamburg, Germany), mikroskop Olympus CX21 FSI, bola hisap, pipet volume (1 mL dan 10 mL), pipet tetes, erlenmeyer 50 mL dan 1.000 mL, mikropipet (*Eppendorf Research Plus*), gelas ukur (50 mL dan 100 mL), *beaker glass* 500 mL dan 1.000 mL, *handtally counter*, gayung, *washing bottle*, *cover glass*, *cuvet*, *centrifuge*, oven RedLine RE53, timbangan analitik, bak besar, kalkulator, bunsen, botol *sprayer*, cawan porselen, *petridish*, *vaccum pump*, refraktometer (*Master Refractometer*, Jepang), *hotplate*, lux meter *Sunche*, panci (50 liter), kompor gas, *vortex mixer*, *water bath* dan spektrofotometer *Quantum* 4.0, saringan, kulkas, box penyimpanan, kamera, desikator, pinset, inkubator, stopwatch, spatula, tabung reaksi, dan rak tabung reaksi.

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi inokulan *Cyclotella* sp. berasal dari BBRBLPP Gondol, air laut bersalinitas 42 ppt dari Pasar Bunurejo, HCl 5%, alkohol 76%, tissue, kapas steril, kain saring, vitamin, pupuk walne, silikat, kertas saring GF/C (diameter 90 mm), aquadest, *metanol absolute*, *aluminium foil*, benang kasur, kertas koran, asam fenol disulfonik, *sodium carbonate* ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), *sulfate pentahydrate* ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), *sodium potassium tartrate tetrahydrate* ( $\text{Na}_2\text{KC}_4\text{H}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), reagen Folin-Ciocalteu, *Bovine Serum Albumin* (BSA), natrium hydroxida (NaOH) dan kertas label.

### 3.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian ini yaitu air bersalinitas 5, 15, 25 dan 35 ppt. Air tawar yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Air laut yang digunakan diperoleh dari Pasar Bunul Rejo. Air tawar dan air laut kemudian disterilisasi dengan cara perebusan hingga mendidih (100°C) untuk selanjutnya diencerkan sesuai dengan kebutuhan salinitas media yang akan digunakan sebagai media kultur karena air laut yang didapat memiliki salinitas yang tinggi. Media diaerasi selama 24 jam untuk mensuplai kandungan oksigen terlarut.

### 3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen yaitu RAL (Rancangan Acak Lengkap). Yudha, *et al.* (2013), menjelaskan bahwa metode eksperimen bertujuan untuk mendapatkan data-data penelitian yang dilakukan melalui percobaan di laboratorium melalui pengamatan dan pengontrolan secara langsung dan sistematis dari kejadian objek yang diteliti.

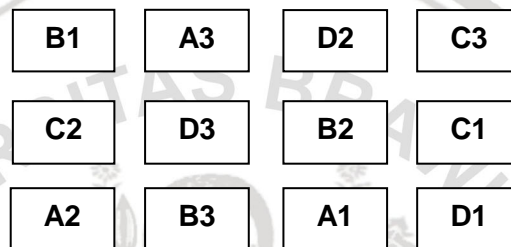
### 3.4 Rancangan Percobaan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL adalah desain yang mana perlakuan seluruhnya dikenakan secara acak kepada unit-unit eksperimen. Sistem pengacakannya tidak memiliki pembatasan misalnya dengan adanya pemblokkan dan pemindahan perlakuan terhadap unit-unit eksperimen, dan diperoleh desain yang diacak secara lengkap atau sempurna. Karena bentuknya sederhana, maka desain ini banyak digunakan (Siska dan Salam, 2012). RAL pada umumnya digunakan untuk alat, bahan, media dan kondisi lingkungan yang homogen. Metode ini hanya bisa digunakan di ruang terkontrol seperti laboratorium (Yudha, *et al.*, 2013).

Perlakuan dalam penelitian salinitas (Gambar 3) digunakan perbedaan kadar salinitas untuk media yang dipakai yaitu terdiri dari empat perlakuan dengan tiga kali ulangan:

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

Berikut ini adalah penyusunan letak toples untuk penelitian:



Gambar 3. Denah Percobaan

Keterangan:

Perlakuan : A, B, C, D.

Ulangan : 1, 2, 3.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Persiapan Penelitian

##### a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Tahap awal kultur plankton *Cyclotella* sp. dalam penelitian ini adalah proses sterilisasi yang merupakan suatu proses untuk menjaga kondisi aseptik dengan cara menghilangkan atau membunuh organisme yang terdiri atas sterilisasi peralatan dan bahan penelitian (Indarmawan, *et al.*, 2012). Sterilisasi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sterilisasi panas basah, sterilisasi kimia, dan perebusan. Sterilisasi panas basah menggunakan autoklaf, sedangkan sterilisasi kimia menggunakan bahan kimia yaitu senyawa HCl. HCl



digunakan untuk mensterilisasi peralatan seperti toples, erlenmeyer, gelas ukur, selang aerasi, botol film, *beaker glass* dan corong dilakukan sterilisasi dengan perendaman HCl 5% selama 5 menit kemudian dibilas dengan akuades. Media kultur yang berupa air laut dan air tawar di rebus sampai mendidih, kemudian didinginkan.

Sterilisasi autoklaf digunakan untuk mensterilisasi bahan berupa pupuk walne dan silikat. Bahan yang akan disterilkan dimasukkan ke erlenmeyer 50 mL, ditutup dengan menggunakan kapas dan *aluminium foil* dan diikat dengan benang kasur, kemudian ditata di dalam autoklaf. Prinsip kerja autoklaf adalah sterilisasi panas basah dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C selama 30 menit. Skema sterilisasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

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

Media kultur yang digunakan yaitu air tawar dan air laut. Media kultur yang akan digunakan pada penelitian ditampung dalam bak penampungan. Media kultur yang dituang ke dalam toples bervolume 3L dilakukan penyaringan terlebih dahulu. Nutrien yang ditambahkan ke dalam media kultur yaitu pupuk walne, vitamin dan silikat dengan dosis 1 mL/L. Komposisi pupuk walne dapat dilihat pada Lampiran 2.

#### **c. Penyiapan Inokulan *Cyclotella* sp.**

Bibit inokulan *Cyclotella* sp. diperoleh dari kultur murni BBRBLPP Gondol, Bali. Selanjutnya dikultur pada media air laut hingga 900 mL. Penyediaan inokulan untuk stok penelitian *Cyclotella* sp. dilakukan selama 4 hari untuk mencapai fase logaritmik. Suhu ruang inokulan dijaga pada 28°C dengan intensitas cahaya 3.500 lux dan menggunakan salinitas 18 ppt.

Inokulan *Cyclotella* sp. yang akan ditebar untuk percobaan, sebelumnya dihitung kepadatan awalnya dengan menggunakan mikroskop dan *haemocytometer* untuk mengetahui seberapa banyak inokulan *Cyclotella* sp.



yang dibutuhkan untuk ditebar pada media. Selanjutnya ditentukan inokulan *Cyclotella* sp. yang dibutuhkan dengan metode pengenceran. Menurut Jati, *et al.* (2012), rumus pengenceran adalah sebagai berikut:

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

Keterangan:

V<sub>1</sub> : volume bibit yang diperlukan untuk penebaran awal (mL)

V<sub>2</sub> : volume air media yang akan ditebari bibit (mL)

N<sub>1</sub> : jumlah stok *Cyclotella* sp. (sel/mL)

N<sub>2</sub> : jumlah *Cyclotella* sp. yang diinginkan (sel/mL)

#### d. Pengaturan Salinitas

Perlakuan salinitas untuk media yang digunakan dalam penelitian plankton *Cyclotella* sp. yaitu sebanyak 4 perlakuan dengan salinitas yang digunakan adalah 5, 15, 25 dan 35 ppt dengan menggunakan intensitas cahaya 3.500 lux yang bersumber dari lampu TL 36 W dan jarak antara lampu dengan media pemeliharaan yaitu 25 cm. Salinitas media dicek setiap hari agar kadar salinitas sesuai dengan perlakuan yang diinginkan, karena salinitas dapat meningkat jika terjadi penguapan. Menurut Arrokhman, *et al.* (2012), pengenceran air laut dapat dihitung menggunakan rumus:

$$V_1 = \frac{V_2 \times M_2}{M_1}$$

Keterangan:

V<sub>1</sub> : Volume air laut yang akan diencerkan (L)

M<sub>1</sub> : Salinitas air laut yang akan diencerkan (ppt)

V<sub>2</sub> : Volume air dengan salinitas yang diinginkan (L)

M<sub>2</sub> : Salinitas yang diinginkan (ppt)

### 3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

Pupuk walne, vitamin dan silikat diberikan dengan dosis masing-masing yaitu 1 mL/L. Wadah yang telah diisi media air bersalinitas sebanyak 2.000 mL sehingga dosis pupuk walne vitamin dan silikat sebanyak 2 mL/L kemudian diletakkan di atas rak kultur sesuai dengan denah rancangan percobaan yang telah dibuat (Gambar 3) dengan intensitas cahaya 3.500 lux dengan lama penyinaran 24 jam dan diaerasi selama 10 menit yang bertujuan untuk menyediakan oksigen sebelum diberikan inokulan. Dimasukkan bibit *Cyclotella* sp. yang ditebar dengan kepadatan awal  $25 \times 10^4$  sel/mL (Khairuddin dan Sahabuddin, 2013). Pengamatan pertumbuhan *Cyclotella* sp. dilakukan setiap hari selama masa kultur pada pukul 06.00 WIB. Pengukuran biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp. dilakukan pada saat pertumbuhan puncak tertinggi. Parameter penunjang yang diukur pada media pemeliharaan meliputi nitrat, fosfat, suhu, pH, dan DO. Pengukuran suhu, pH, dan DO dilakukan sekali sehari pada 06.00 WIB, sedangkan pengukuran nitrat dan fosfat dilakukan pada fase awal, pertumbuhan puncak tertinggi dan fase stasioner awal.

### 3.6 Parameter yang Diukur

#### 3.6.1 Parameter Utama

##### a. Pertumbuhan *Cyclotella* sp.

Perhitungan kepadatan *Cyclotella* sp. dilakukan setiap hari dari awal kultur hingga akhir percobaan. Perhitungan kepadatan *Cyclotella* sp. dilakukan pukul 06.00 WIB dan menggunakan metode penghitungan konsentrasi sel menggunakan *haemocytometer* 0,1 mm dan alat bantu mikroskop. Menurut Armanda (2013), rumus kepadatan *Cyclotella* sp. dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah (sel/mL)} = \frac{\text{jumlah sel pada bidang pandang (n)}}{\text{jumlah bidang pandang (15)}} \times 25 \times 10^4$$

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

$$\text{Jumlah (sel/mL)} = \frac{n}{\text{jumlah bidang pandang (15)}} \times 25 \times 10^4 \times \text{faktor pengenceran}$$

Keterangan :

n = jumlah sel pada bidang pandang

15 = jumlah bidang pandang yang diamati

25 = jumlah keseluruhan bidang pandang

$10^4$  = volume kotak pada *haemocytometer*

#### - Laju Pertumbuhan Spesifik

Perhitungan laju spesifik dari pertumbuhan saat awal kultur *Cyclotella* sp. hingga mencapai puncak konsentrasi maksimum. Laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan menggunakan rumus Krichnavaruk, *et al.* (2004).

Berikut ini adalah rumus dari perhitungan laju pertumbuhan spesifik:

$$\mu = \frac{\ln(x_2) - \ln(x_1)}{T_t - T_o}$$

Keterangan:

$\mu$  : merupakan laju pertumbuhan spesifik (/hari)

$x_1$  : konsentrasi sel pada  $T_o$  (sel/mL)

$x_2$  : konsentrasi sel pada  $T_t$  (sel/mL)

$T_o$  : waktu awal *sampling*

$T_t$  : waktu akhir *sampling*

- **Doubling Time**

*Doubling time* (DT) atau *generation time* (G) adalah waktu penggandaan dari sel *Cyclotella* sp. Waktu penggandaan sel ( $t_d$ ) merupakan rata-rata waktu generasi konsentrasi sel *Doubling Time* (hari) yang dihitung dari laju pertumbuhan berdasarkan rumus Vonshak (1997) sebagai berikut:

$$DT=G= \frac{\text{Ln } 2}{\mu \text{ (laju pertumbuhan spesifik)}} = \frac{0,693}{\mu}$$

**b. Biomassa**

Menurut Janssen, *et al.* (1999), sampel mikroalga yang digunakan untuk analisis biomassa yaitu pada saat akhir fase stasioner. Kertas saring GF/C (diameter 90 mm) dikeringkan pada suhu 105°C selama 2 jam agar beratnya konstan. Kertas yang telah dikeringkan diletakkan di desikator selama 30 menit. Kemudian ditimbang menggunakan timbangan digital dan dihitung sebagai A. Diambil sampel suspensi mikroalga sebanyak 25 mL dan difilter melalui kertas saring GF/C yang telah dikeringkan lalu dicuci dengan 25 mL akuades untuk menghindari garam yang tidak larut pada media. Kertas saring diletakkan di oven pada suhu 105°C selama 2 jam hingga beratnya konstan, setelah dingin kertas saring diletakkan di desikator selama 30 menit, kemudian beratnya ditimbang kembali dan dihitung dengan cara sebagai berikut:

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

Keterangan:

A = Berat kertas saring

B = Berat kertas saring + alga

Volume sampel = 25 mL

### c. Klorofil-a

Pengukuran kandungan klorofil-a menggunakan cara modifikasi Bennett and Bogorad (1973) dan Lichtenthaler (1987), yaitu diambil 5 mL sampel mikroalga lalu dimasukkan dalam tabung reaksi 10 mL dan dibungkus *aluminium foil* tertutup rapat. Setelah itu disentrifugasi pada 5.000 rpm selama 20 menit dan dibuang supernatannya. Selanjutnya dilakukan proses *freezing-thawing* masing-masing 15 menit (hingga membeku dan mencair) sebanyak 3 kali ulangan. Tambahkan 5 mL *methanol absolute* dan divortex selama 15 detik. Campuran (endapan dan pelarut) diletakkan pada *hot plate* dengan suhu 70°C selama 30 menit. Sampel diinkubasi pada suhu 4°C dalam keadaan gelap selama 24 jam. Kemudian sampel divortex dan dilakukan sentrifugasi 6.000 rpm selama 10 menit. Perhitungan klorofil-a pada diatom menurut Ritchie (2006), yaitu:

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/mL}) = -2,6839 \times \text{OD}_{632} + 13,2654 \times \text{OD}_{665}$$

### d. Protein

Analisis protein dilakukan dengan cara menggunakan metode Lowry, *et al.* (1951), yaitu dibuat reagen A 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, reagen B 1% CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, reagen C 2% NaKC<sub>4</sub>H<sub>6</sub>.4H<sub>2</sub>O, reagen D campuran 50 mL dari reagen A + 1 mL reagen B + 1 mL reagen C, reagen Folin-Ciocalteu, 1N NaOH dan larutan standar BSA. Kemudian disiapkan larutan BSA dengan konsentrasi 2 mg/mL. Ditambah 0,5 mL 1N NaOH ke dalam 0,5 mL suspensi alga atau standar dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit pada *water bath* kemudian ditunggu hingga dingin. Kemudian ditambah 2,5 mL reagen D ke masing-masing tabung dan dihomogenkan hingga merata menggunakan *vortex* dan didiamkan selama 10 menit. Kemudian ditambah 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan dihomogenkan hingga merata menggunakan *vortex* dan tunggu selama 30 menit. Diukur dengan spektrofotometer pada absorbansi 750 nm.



Rumus perhitungan protein, yaitu:

$$\text{Protein (\%)} = \frac{(\text{OD}-a)/b}{\text{biomassa} \times 1.000} \times 100$$

Keterangan:

OD = hasil dari spektrofotometer dengan panjang gelombang 750 nm

A = *intercept* dalam persamaan regresi larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA)

B = *slope* dalam persamaan regresi larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA)

### 3.6.2 Parameter Penunjang

#### a. Suhu

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer digital. Cara pengukurannya yaitu dengan memasukkan thermometer digital ke dalam media kultur *Cyclotella* sp. selama 1 menit, kemudian dicatat hasilnya. Pengukuran suhu dilakukan 1 kali sehari setiap 24 jam pada pagi hari pukul 06.00 WIB.

#### b. Derajat Keasaman (pH)

Kandungan derajat keasaman (pH) pada percobaan ini diukur menggunakan pH meter. Cara pengukurannya adalah dengan memasukkan pH meter ke dalam media kultur *Cyclotella* sp. dan dicatat hasilnya. Pengamatan pH dilakukan 1 kali sehari setiap 24 jam pada pukul 06.00 WIB.

#### c. *Dissolved Oxygen* (DO)

Pengukuran DO pada media kultur menggunakan DO meter yang dicelupkan ke dalam media kultur *Cyclotella* sp. dan dicatat hasilnya. Pengamatan DO dilakukan sebanyak 1 kali sehari setiap 24 jam pada pukul 06.00 WIB.

#### d. Pengukuran Kadar Nitrat

Pengukuran kadar nitrat dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada awal tebar, puncak pertumbuhan tertinggi dan fase stasioner awal. Pengukurannya yaitu air sampel dituang dan disaring sebanyak 12,5 mL ke dalam cawan porselen dan dipanaskan sampai membentuk kerak dan didinginkan. Ditambahkan 0,25 mL asam fenol disulfonik (6-7 tetes). Ditambahkan sedikit akuades dan dikerik sampai keraknya larut semua. Sampel ditambahkan  $\text{NH}_4\text{OH}$  1:1 sampai berwarna kuning (jika sudah 6 mL tapi tidak berwarna kuning maka dihentikan), lalu ditambahkan akuades sampai seperti volume semula (12,5 mL). Sampel dimasukkan ke dalam cuvet dan diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang yang digunakan adalah 410 nm (Boyd, 1979). Menurut Mengel dan Kirkby (2001), rumus presentase serapan nitrat adalah sebagai berikut:

- Fase Adaptasi =  $\frac{\text{nitrat fase adaptasi} - \text{nitrat fase adaptasi}}{\text{nitrat fase adaptasi}} \times 100\%$
- Fase Puncak =  $\frac{\text{nitrat fase adaptasi} - \text{nitrat fase puncak}}{\text{nitrat fase adaptasi}} \times 100\%$
- Fase Stasioner =  $\frac{\text{nitrat fase puncak} - \text{nitrat fase stasioner}}{\text{nitrat fase adaptasi}} \times 100\%$
- Total N Terserap =  $\frac{\text{nitrat fase adaptasi} - \text{nitrat fase stasioner}}{\text{nitrat fase adaptasi}} \times 100\%$

#### e. Pengukuran Kadar Fosfat

Pengukuran kadar fosfat pada media kultur plankton dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada awal tebar, puncak pertumbuhan tertinggi dan fase stasioner awal. Pengukurannya yaitu air sampel sebanyak 25 mL, ditambahkan 1 mL *ammonium molybdate*. Tetesi 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). Menurut Mengel dan Kirkby (2001), rumus presentase serapan fosfat adalah sebagai berikut:

- Fase Adaptasi =  $\frac{\text{fosfat fase adaptasi} - \text{fosfat fase adaptasi}}{\text{fosfat fase adaptasi}} \times 100\%$
- Fase Puncak =  $\frac{\text{fosfat fase adaptasi} - \text{fosfat fase puncak}}{\text{fosfat fase adaptasi}} \times 100\%$
- Fase Stasioner =  $\frac{\text{fosfat fase puncak} - \text{fosfat fase stasioner}}{\text{fosfat fase adaptasi}} \times 100\%$
- Total P Terserap =  $\frac{\text{fosfat fase adaptasi} - \text{fosfat fase stasioner}}{\text{fosfat fase adaptasi}} \times 100\%$

### 3.7 Analisis Data

Analisis data dihitung secara statistik menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95 % ( $\alpha = 0,05$ ). Apabila dari data sidik ragam diketahui perlakuan menunjukkan pengaruh nyata atau berbeda sangat nyata ( $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$ ) maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), kemudian uji *polynomial orthogonal* sebagai uji lanjut analisis ragam untuk menentukan nilai tertinggi yang digunakan untuk menentukan persamaan hubungan antara perlakuan uji dengan unit percobaan.

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan data hasil penelitian tentang pengaruh salinitas yang berbeda terhadap *Cyclotella* sp. didapatkan hasil mengenai pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein dapat dilihat pada Tabel 1. Mengenai perhitungan lengkap akan disajikan pada Lampiran 4 (pertumbuhan), Lampiran 5 (produksi biomassa), Lampiran 6 (klorofil-a) dan Lampiran 7 (protein).

Tabel 1. Rata-rata Parameter Uji selama Penelitian

Parameter	Perlakuan Salinitas (ppt)			
	A (5 ppt)	B (15 ppt)	C (25 ppt)	D (35 ppt)
Laju Pertumbuhan Spesifik (/hari)	0,606 ± 0,006 <sup>a</sup>	0,709 ± 0,004 <sup>d</sup>	0,671 ± 0,005 <sup>c</sup>	0,630 ± 0,006 <sup>b</sup>
Biomassa (g/L)	0,447 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,641 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,561 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,484 ± 0,01 <sup>b</sup>
Klorofil-a (µg/mL)	1,887 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,953 ± 0,09 <sup>d</sup>	2,548 ± 0,10 <sup>c</sup>	2,044 ± 0,06 <sup>b</sup>
Protein (%)	11,586 ± 0,42 <sup>a</sup>	15,637 ± 0,37 <sup>d</sup>	13,897 ± 0,42 <sup>c</sup>	13,189 ± 0,47 <sup>b</sup>

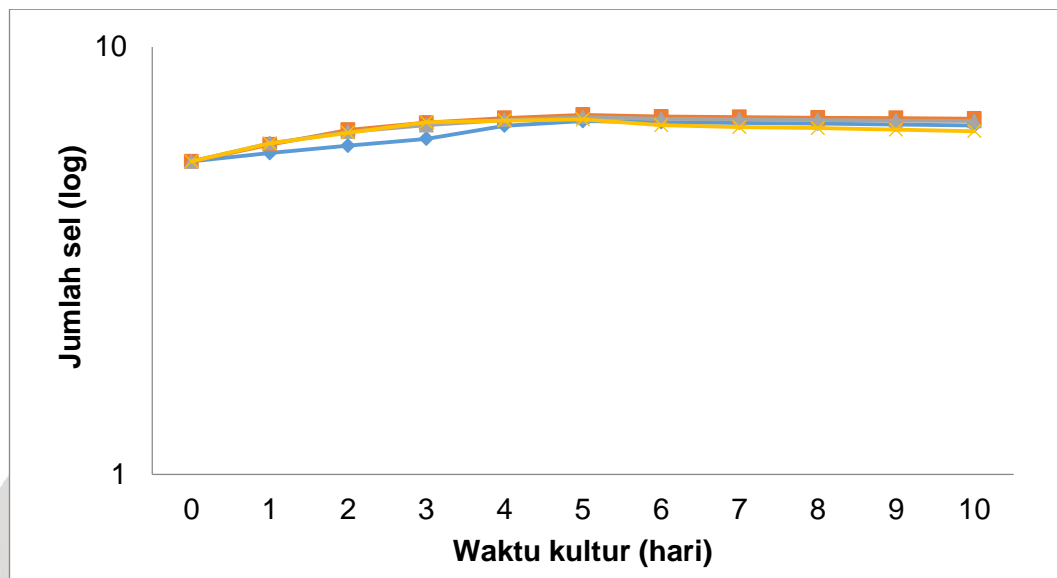
Keterangan : notasi berbeda menunjukkan adanya pengaruh disetiap perlakuan; kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ )

Tabel 1 menunjukkan bahwa salinitas yang berbeda berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp. dengan nilai tertinggi didapatkan pada perlakuan B dengan salinitas 15 ppt.

##### 4.1 Pertumbuhan *Cyclotella* sp.

Pertumbuhan dari *Cyclotella* sp. pada salinitas yang berbeda menunjukkan bahwa pada salinitas 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt dan 35 ppt berpengaruh terhadap jumlah sel yang dihasilkan. Perbedaan salinitas merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh bagi pertumbuhan mikroalga. Menurut Laing dan Helm (1981), salinitas media berkaitan dengan kemampuan mikroalga untuk mempertahankan tekanan osmotik antara protoplasma dengan lingkungan

hidupnya. Alga laut bersel tunggal biasanya sangat toleran terhadap perubahan salinitas yang besar. Rata-rata pertumbuhan *Cyclotella* sp. berdasarkan sel (log) selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 4 dan untuk data pertumbuhan secara rinci dapat dilihat pada Lampiran 3.



Gambar 4. Pertumbuhan *Cyclotella* sp., —◆— A (5 ppt), —■— B (15 ppt)  
—▲— C (25 ppt), —✕— D (35 ppt).

Grafik pertumbuhan *Cyclotella* sp. (Gambar 4) menunjukkan bahwa *Cyclotella* sp. pada perlakuan salinitas yang berbeda memiliki pola pertumbuhan sel yang berbeda. *Cyclotella* sp. memiliki fase adaptasi yang baik, hal ini menyebabkan pertumbuhan sel dengan cepat dalam waktu yang cukup singkat. Fase adaptasi tidak terlihat secara jelas pada semua perlakuan, hal ini dikarenakan inokulan yang digunakan merupakan inokulan yang telah beradaptasi dengan nutrisi yang sama dan inokulan yang digunakan adalah inokulan pada saat mengalami fase logaritmik. Penelitian ini menggunakan kepadatan awal inokulan sebesar  $25 \times 10^4$  sel/mL. Hal ini didukung oleh penelitian Indarmawan, *et al.* (2012), fase adaptasi tidak terjadi jika kondisi lingkungan sudah sesuai dengan lingkungan sebelumnya dan Menurut Suantika,



dan Hendrawandi (2009), laju pertumbuhan populasi mikroalga dapat dipengaruhi oleh jumlah kepadatan awal populasi, pada media dengan populasi inokulan awal lebih tinggi memiliki fase lag (adaptasi) lebih cepat. Menurut Gilmour, *et al.* (1983), adaptasi yang cepat pada mikroalga pada tekanan salinitas yang berbeda dengan cara sintesis atau mengurangi giserol dari dalam sel.

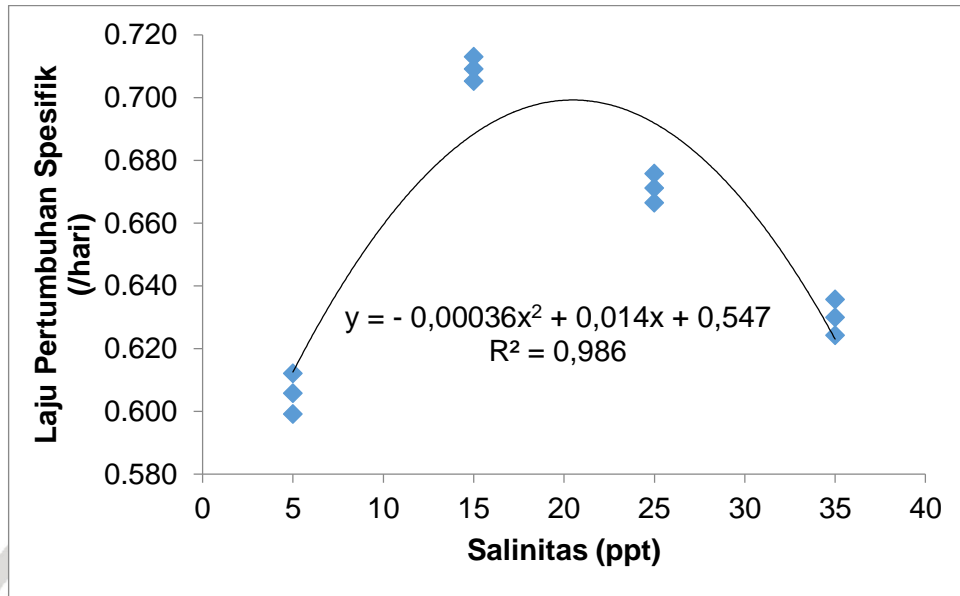
Fase eksponensial ditandai dengan naiknya laju pertumbuhan hingga kepadatan dari sel mikroalga meningkat. Pada fase ini biasanya ditandai dengan peningkatan pembelahan jumlah sel, bahkan pembelahan sel dalam fase ini bisa mencapai dua kali lipat. Fase eksponensial pada penelitian ini dimulai pada hari ke 2. Kepadatan tertinggi pada semua perlakuan didapatkan pada hari ke 5. Pada fase eksponensial sel sudah menyesuaikan diri dengan media sekitarnya dan mengalami keadaan homeostatis, sehingga sel dapat tumbuh dengan optimal. Pada fase eksponensial keberadaan nutrisi masih mencukupi sehingga sel dapat menyerap nutrisi lebih cepat untuk memenuhi kebutuhan metabolisme sel. Perbedaan fase pertumbuhan *Cyclotella* sp. disebabkan oleh perbedaan salinitas pada setiap perlakuan. Perlakuan dengan salinitas yang terlalu tinggi akan mengalami fase pertumbuhan yang lebih lambat. Hal ini dikarenakan peningkatan konsentrasi garam pada media kultur yang didominasi oleh ion  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  dapat mengganggu keseimbangan osmotik antara bagian dalam sel dengan lingkungan luarnya dan menyebabkan air dalam sel banyak keluar. Kondisi ini akan menyebabkan sel kesulitan untuk menarik air dari media sekitarnya. Sel akan merespon dengan menarik ion, sedangkan penarikan osmotik air dari vakuola sel terus berlanjut hingga menyebabkan sel menyusut. Keadaan ini menyebabkan sel mengalami kelebihan ion dan berakibat toksik pada sel sehingga menyebabkan pertumbuhan terhambat dan kematian (Ahmad dan Hellebust, 1984).

Penurunan kepadatan mikroalga menuju fase kematian disebabkan oleh ketersediaan nutrisi yang kurang, pertumbuhan sel menjadi tidak optimal. Menurut Hu dan Zhang (1993), mikroalga *Cyclotella* sp. didapatkan kepadatan pada puncak tertinggi pada hari ke-10, sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Botte, *et al.* (2018), mengalami fase puncak tertinggi pada hari ke-13 dan mulai mengalami penurunan sel pada hari ke-14. Hasil dari penelitian ini menunjukkan penurunan jumlah sel *Cyclotella* sp. tidak terjadi secara signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan nutrisi dalam media masih mendukung sel untuk bertahan hidup namun tidak cukup untuk mendukung pertumbuhan sel.

Hasil dari penelitian ini didapatkan pertumbuhan *Cyclotella* sp. yang dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran 3. Hasil rata-rata kepadatan tertinggi pada fase stasioner atau puncak tertinggi terdapat pada perlakuan B (15 ppt) yaitu  $866 \times 10^4$  sel/mL dan kepadatan terendah terdapat pada perlakuan A (5 ppt) dengan jumlah  $516 \times 10^4$  sel/mL. Penelitian yang dilakukan oleh Roubex dan Lancelot (2008), mendapatkan salinitas terbaik untuk pertumbuhan *Cyclotella* sp. yaitu 18 ppt, karena pada salinitas tersebut pengaturan osmoregulasi dalam sel sudah sesuai. Salinitas yang semakin tinggi menyebabkan ketahanan sel menurun. Mikroalga jenis ini membutuhkan salinitas yang tidak terlalu tinggi untuk memperbanyak sel, karena efisiensi pemanfaatan nutrisi lebih optimal pada salinitas yang rendah. Hasil penelitian tersebut memiliki nilai salinitas optimal yang lebih rendah karena dipengaruhi oleh konsentrasi nutrisi yang berbeda pada media kultur mikroalga seperti nitrat dan fosfat.

Hasil dari laju pertumbuhan spesifik *Cyclotella* sp. pada setiap perlakuan salinitas yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil uji BNT pada Lampiran 4 dapat diperoleh urutan perlakuan tertinggi adalah perlakuan B (15 ppt) dan perlakuan terendah yaitu perlakuan A (5 ppt). Grafik uji *polynomial*

*orthogonal* dapat dilihat pada Gambar 5 dan hasil perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 4.



Gambar 5. Hubungan antara Salinitas terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik *Cyclotella* sp.

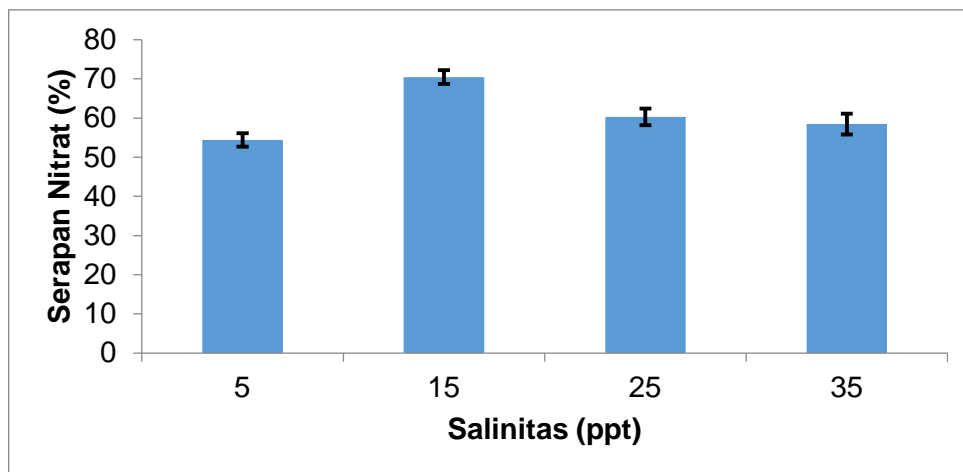
Gambar 5 menunjukkan hasil kuadratik, didapatkan persamaan  $y = -0,00036x^2 + 0,014x + 0,547$  dengan  $R^2 = 0,986$  didapatkan salinitas terbaik untuk laju pertumbuhan spesifik pada salinitas 20,1 ppt dengan nilai laju pertumbuhan spesifik 0,693/hari DT:1 (Lampiran 4). Menurut Huesemann, *et al.* (2009), laju pertumbuhan spesifik dari jenis mikroalga dipengaruhi oleh kemampuan sel untuk melakukan adaptasi terhadap media, jika fase adaptasi lama maka laju pertumbuhan spesifik akan semakin lambat.

Laju pertumbuhan mikroalga berhubungan dengan tekanan osmotik dalam tubuh. Cara mikroalga menjaga tekanan osmotik dalam tubuhnya melalui mekanisme regulasi osmotik yaitu regulasi hiperosmotik, isoosmotik dan hipoosmotik. Pada media 5 ppt, mikroalga *Cyclotella* sp. cenderung hiperosmotik terhadap medianya, sehingga air cenderung masuk ke dalam sel secara difusi melalui permukaan sel yang semipermeabel, sel akan terus mengembang dan pada akhirnya sel menjadi lisis karena sel tidak dapat mengendalikan tekanan

osmotiknya. Pengaturan osmotik cairan bertujuan untuk menyamakan konsentrasi garam internal dengan konsentrasi garam lingkungan sekelilingnya. Perlakuan salinitas 35 ppt bersifat hipoosmotik terhadap mediana, sehingga air cenderung keluar dari sel karena tekanan di dalam sel lebih rendah daripada di luar sel. Media 20,1 ppt merupakan hasil terbaik untuk pertumbuhan karena bersifat isoosmotik yaitu cairan didalam sel dan diluar sel sudah sesuai dengan media hidup sehingga *Cyclotella* sp. dapat menyerap nutrisi dengan optimal dan dimanfaatkan oleh sel untuk pertumbuhan.

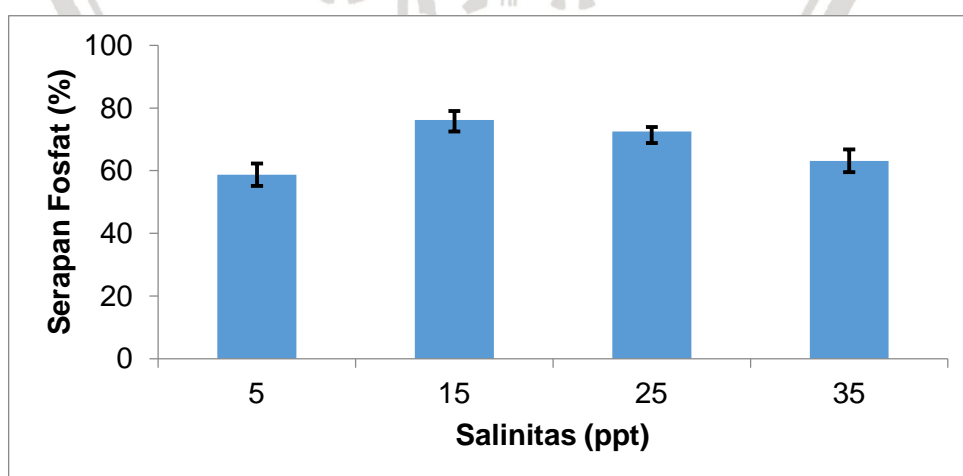
Menurut Roubex dan Lancelot (2008), salinitas dapat mempengaruhi tekanan sel mikroalga, apabila salinitas lebih tinggi maka sel akan mengalami kerusakan lebih cepat. Menurut Kirst, (1989), tekanan osmotik dalam tubuh mikroalga dapat mempengaruhi keseimbangan ion. Ion yang dapat terpengaruh antara lain  $K^+$ ,  $Na^+$  dan  $Cl^-$ , dan ion yang tidak terpengaruh adalah  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ . Perubahan konsentrasi  $Cl^-$  biasanya sejajar dengan fluktuasi salinitas, sehingga dapat disimpulkan bahwa media kultur mikroalga *Cyclotella* sp. dengan menggunakan salinitas yang berbeda yaitu salinitas 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt dan 35 ppt berpengaruh terhadap laju pertumbuhan dan juga pembelahan sel pada mikroalga, hal ini juga dikarenakan pada salinitas yang berbeda mempengaruhi jumlah nutrisi yang dapat diserap oleh mikroalga untuk melakukan pertumbuhan.

Nutrien sangat penting untuk pertumbuhan mikroalga terutama nitrat dan fosfat (Soewardi, *et al.*, 2005). Nutrien berhubungan erat dengan pertumbuhan, nitrat dan fosfat adalah nutrisi yang mempengaruhi kepadatan sel mikroalga, oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan pengukuran nitrat dan fosfat pada awal tebar, fase eksponensial (puncak tertinggi) dan fase stasioner (menuju fase kematian) sebagai parameter penunjang. Perhitungan yang lebih rinci dapat dilihat pada Lampiran 9. Hasil serapan nitrat (Gambar 6) dan fosfat (Gambar 7).



Gambar 6. Nilai serapan nitrat pada media kultur *Cyclotella* sp.

Gambar 6 menunjukkan bahwa serapan nitrat yang tertinggi pada perlakuan B (15 ppt) sebesar 70,47% dan terendah pada perlakuan A (5 ppt) sebesar 54,41%, hasil tersebut berbanding lurus dengan laju pertumbuhan maksimum pada perlakuan 15 ppt yang menunjukkan hasil terbaik diantara perlakuan lainnya. Semakin tinggi nitrat yang diserap oleh mikroalga maka semakin tinggi pertumbuhan dan kepadatan selnya. Konsentrasi nitrat pada media kultur mikroalga mengalami penurunan seiring dengan peningkatan kepadatan sel. Nitrat adalah salah satu sumber N yang digunakan oleh mikroalga untuk pertumbuhan, ketika peningkatan jumlah populasi kultur akan diikuti oleh penurunan konsentrasi nitrat dalam media kultur (Soewardi, *et al.*, 2005).



Gambar 7. Nilai serapan fosfat pada media kultur *Cyclotella* sp.

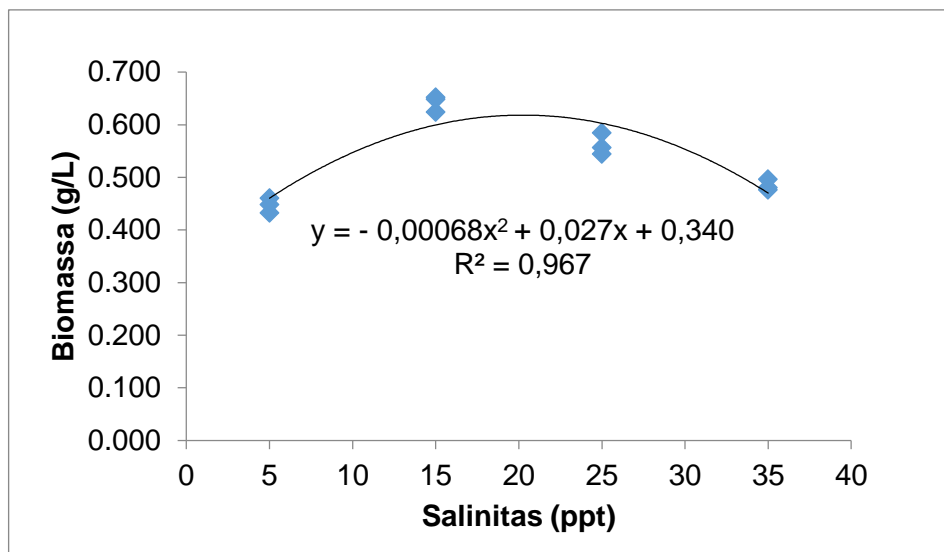


Gambar 7 menunjukkan bahwa serapan fosfat yang tertinggi pada perlakuan B dengan salinitas 15 ppt sebesar 76,16% dan yang terendah pada perlakuan A dengan salinitas 5 ppt sebesar 58,73%. Pada perlakuan salinitas 5 ppt dan 35 ppt terjadi penyerapan fosfat yang paling rendah dikarenakan mikroalga *Cyclotella* sp. tidak dapat memanfaatkan kandungan fosfat secara maksimal pada salinitas yang terlalu rendah atau terlalu tinggi, berbeda dengan penyerapan fosfat pada perlakuan dengan salinitas 15 ppt yang lebih tinggi. Penyerapan fosfat pada salinitas yang berbeda ini berbanding lurus dengan kepadatan sel *Cyclotella* sp.

Soewardi, *et al.* (2005), menyatakan jika serapan kandungan fosfat pada media kultur yang sedikit akan menyebabkan laju pertumbuhan spesifik rendah, karena fosfat yang terlarut dalam media sangat berperan penting untuk pertumbuhan sel dan akan mempercepat kematian sel. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan nilai nitrat dan fosfat dari pengukuran awal, hal ini dikarenakan adanya pemanfaatan nitrat dan fosfat pada media kultur untuk pertumbuhan. Laju pertumbuhan dan kepadatan sel mikroalga berbanding lurus dengan nilai serapan nitrat dan fosfat. Tingginya nilai serapan maka kepadatan sel akan meningkat.

#### **4.2 Biomassa *Cyclotella* sp.**

Biomassa didapatkan dari sampel pada kepadatan sel maksimal atau puncak tertinggi pada masing-masing perlakuan (hari ke 5 kultur). Hasil biomassa *Cyclotella* sp. pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Perhitungan sidik ragam dilakukan untuk mengetahui perlakuan yang diberikan berpengaruh atau tidak terhadap produksi biomassa *Cyclotella* sp. yang dapat dilihat lebih detail pada Lampiran 5. Grafik uji *polynomial orthogonal* dari biomassa dapat dilihat pada Gambar 8.

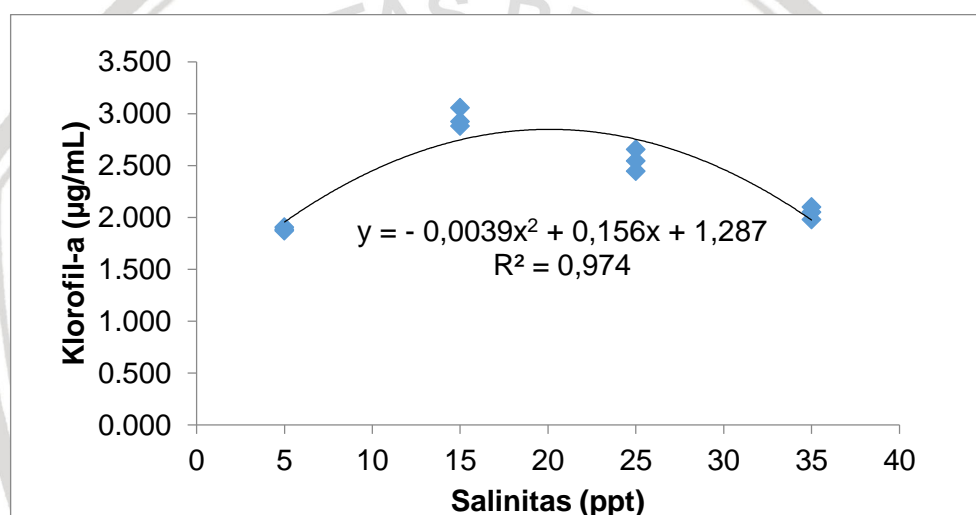


Gambar 8. Hubungan salinitas terhadap produksi biomassa *Cyclotella* sp.

Gambar 8, menunjukkan hasil kuadrat dengan persamaan yang didapatkan  $Y = -0,00068x^2 + 0,027x + 0,340$  dengan  $R^2 = 0,967$ , salinitas terbaik untuk biomassa yaitu 20,2 ppt dengan nilai sebesar 0,618 g/L (Lampiran 5) yang dapat disimpulkan bahwa ketika salinitas yang optimal akan mengakibatkan produksi biomassa optimal. Menurut penelitian yang dilakukan Huesemann, *et al.* (2009), kadar biomassa yang dihasilkan oleh mikroalga *Cyclotella* sp. berkisar antara 0,180-0,640 g/L. Menurut Adenan (2013), salinitas memiliki peran pada kelangsungan hidup mikroalga dan dapat menyebabkan penghambatan aktivitas metabolisme akibat menurunnya fotosintesis yang berkaitan dengan pembentukan biomassa. Djunaedi, *et al.* (2017), menambahkan bahwa salinitas berbeda berpengaruh nyata terhadap pembentukan biomassa mikroalga, hal tersebut diduga perbedaan salinitas berpengaruh terhadap tekanan osmotik pada media tumbuh, sehingga akan mempengaruhi proses metabolisme serta pembentukan sel mikroalga. Pada penelitiannya salinitas yang optimum pada pemeliharaan mikroalga memiliki produksi biomassa tertinggi sebesar 0,648 g/L.

### 4.3 Klorofil-a *Cyclotella* sp.

Kandungan klorofil-a *Cyclotella* sp. merupakan parameter utama yang di uji. Pengambilan sampel klorofil-a yaitu ketika pertumbuhan *Cyclotella* sp. pada fase puncak tertinggi pada masing-masing perlakuan (H 5 kultur). Kadar klorofil-a dapat dilihat pada Tabel 1. Perhitungan sidik ragam dilakukan untuk mengetahui perlakuan yang diberikan berpengaruh atau tidak terhadap kandungan klorofil-a *Cyclotella* sp. yang dapat dilihat lebih detail pada Lampiran 6. Uji *polynomial orthogonal* dilakukan untuk mengetahui respon perlakuan terhadap klorofil-a *Cyclotella* sp. dan grafik uji *polynomial orthogonal* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Hubungan Salinitas terhadap Klorofil-a *Cyclotella* sp.

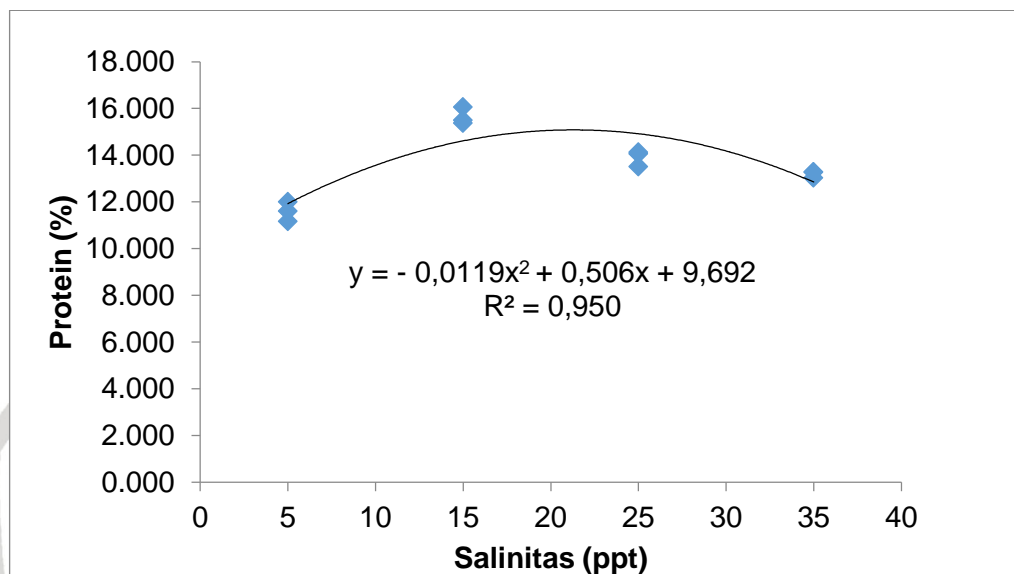
Gambar 9, menunjukkan hasil kuadratik didapatkan persamaan  $y = -0,0039x^2 + 0,156x + 1,287$  dengan  $R^2 = 0,974$  dengan salinitas terbaik untuk klorofil-a pada salinitas 20 ppt dengan nilai sebesar 2,846 µg/mL (Lampiran 6) yang dapat disimpulkan bahwa ketika salinitas yang optimal akan mengakibatkan produksi klorofil-a optimal. Menurut Juneau, *et al.* (2015), pada mikroalga jenis diatom kandungan klorofil-a berkisar 0,793-2,366 µg/mL. Hasil dari klorofil-a menunjukkan hubungan yang berbanding lurus dengan kepadatan sel pada puncak tertinggi, kepadatan sel yang semakin tinggi akan menghasilkan klorofil-a

yang semakin tinggi. Klorofil-a berkaitan erat dengan proses fotosintesis pada mikroalga. Hal ini didukung oleh Zainuddin, *et al.* (2017), yang menyatakan bahwa salinitas berpengaruh terhadap proses fotosintesis. Naiknya salinitas dapat menghambat proses fotosintesis mikroalga menyebabkan kandungan klorofil-a menurun. Pada penelitiannya salinitas yang optimal menghasilkan kandungan klorofil-a yang tertinggi. Juneau, *et al.* (2015), pada keadaan salinitas yang meningkat terjadi hambatan proses fotosintesis sehingga menimbulkan kandungan klorofil-a yang menurun. Perbedaan salinitas dapat mempengaruhi sintesis klorofil dan memiliki hubungan berbanding terbalik antara salinitas dengan klorofil. Beberapa organisme dapat beradaptasi dengan cara mengatur tekanan osmotik dan melakukan sedikit penyesuaian diri dengan lingkungan luar. Sebagian besar tekanan osmotik sel disebabkan oleh garam. Keadaan sel berubah sesuai dengan salinitas lingkungan, hal ini dapat menyebabkan cedera pada sel. Peningkatan atau penurunan fotosintesis menunjukkan pasokan senyawa yang diproduksi oleh fotosintesis yang biasanya digunakan untuk pertumbuhan dan sintesis seluler berkurang. Hal ini mengakibatkan penurunan ukuran dan penurunan konsentrasi sel (Mclachlan, 1961).

Tinggi rendahnya nilai klorofil-a pada media sangat berhubungan erat dengan kandungan nitrat. Ketersediaan nitrat dimanfaatkan oleh mikroalga untuk pertumbuhan, dengan kepadatan yang tinggi maka menghasilkan nilai klorofil-a tinggi (Huesemann, *et al.*, 2009; Aryawati dan Thoha, 2011). Menurut Kutzing (2004), kadar klorofil-a yang dihasilkan sangat berkaitan erat dengan kepadatan sel yang dipanen, pada penelitiannya dengan kepadatan sel yang tinggi mampu menghasilkan klorofil yang tinggi. Octhreeani, *et al.* (2014) menyatakan bahwa tinggi rendahnya kandungan klorofil mikroalga ditentukan oleh banyak sedikitnya sel yang mempunyai bagian-bagian dinding sel yang berklorofil.

#### 4.4. Protein *Cyclotella* sp.

Protein didapatkan dari sampel yang diambil pada saat kepadatan sel mengalami puncak tertinggi (hari ke-5 kultur). Hasil protein *Cyclotella* sp. pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Grafik uji *polynomial orthogonal* dari protein dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Hubungan Salinitas dengan Protein *Cyclotella* sp.

Gambar 10 didapatkan hasil kuadratik dengan persamaan yang didapatkan  $Y = -0,0119x^2 + 0,506x + 9,692$  dengan  $R^2 = 0,950$  untuk protein terbaik terdapat pada salinitas 21,3 ppt dengan nilai sebesar 15,07% (Lampiran 7). Salinitas menjadi penyebab yang mempengaruhi proses biokimia dalam mikroalga. Salinitas yang tidak sesuai akan menyebabkan tekanan osmotik atau pertukaran ion dalam tubuh menjadi terhambat. Imron, *et al.* (2016), pada salinitas yang lebih tinggi terdapat hambatan dalam proses pertumbuhan dan reproduksi akibat dari proses adaptasi mikroalga tersebut, sehingga pemanfaatan nutrisi dalam media berkurang. Efek salinitas dalam mikroalga *Chaetoceros wighamii* terlihat penurunan kandungan protein di salinitas 35, meskipun banyak spesies mikroalga toleran terhadap perbedaan salinitas yang besar namun komposisi kimia mikroalga tersebut dapat terpengaruh. Protein sedikit terpengaruh oleh



perbedaan salinitas, namun terjadi penurunan protein dengan peningkatan salinitas pada beberapa spesies. Perbedaan pengaruh salinitas terhadap protein ini berkaitan dengan penyesuaian tekanan osmotik stres pada salinitas yang tinggi. Menurut hasil penelitiannya salinitas 25 sesuai untuk pertumbuhan dan komposisi protein pada mikroalga *Chaetoceros wighamii* (Araujo dan Garcia, 2005). *Thalassiosira weissflogii* menghasilkan kandungan protein terbaik pada salinitas 25 dan 30 ppt dan terjadi penurunan pada salinitas 35 ppt yang menunjukkan bahwa penurunan protein dikarenakan peningkatan kadar garam, sehingga protein lebih tinggi pada salinitas rendah. Hal ini dikarenakan pada salinitas tinggi hasil penyerapan nutrisi diubah menjadi energi untuk mempertahankan sel (Garcia, *et al.*, 2012).

Nitrogen dan fosfor sangat berperan penting sebagai unsur dalam pembentukan protein dalam sel mikroalga, sehingga kekurangan unsur-unsur tersebut akan mengakibatkan penurunan pada kandungan protein. Mikroalga mampu memanfaatkan nitrogen jika hidup pada salinitas yang optimal, (Chrismanda, *et al.*, 2006; Trikuti, *et al.*, 2016). Pada penelitian didapatkan hasil serapan nitrat dan fosfat tertinggi adalah pada salinitas 15 ppt, hal ini juga berbanding lurus dengan hasil protein yang memiliki nilai tertinggi pada perlakuan dengan salinitas 15 ppt. Nilai serapan nitrat pada salinitas dibawah dan diatas kadar optimal akan mengakibatkan penyerapan nutrisi berkurang sehingga menyebabkan kandungan protein pada perlakuan di atas dan dibawah titik optimal lebih sedikit.

#### **4.5. Parameter Kualitas Air**

##### **4.5.1. Suhu**

Suhu merupakan salah satu parameter lingkungan yang memiliki pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan sel *Cyclotella* sp. Suhu yang didapatkan pada penelitian ini pada kisaran 24,66°-28,80°C (Lampiran 9). Suhu pada penelitian ini

masih baik untuk pertumbuhan *Cyclotella* sp. karena masih dalam rentang suhu yang baik untuk pertumbuhan. Kisaran suhu optimal untuk pertumbuhan mikroalga menurut Yoshimura, *et al.* (2013), adalah antara 23°-30°C. Suhu sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan, jika suhu terlalu rendah maka akan menghambat pertumbuhan dan jika suhu terlalu tinggi dapat menghancurkan sel mikroalga (Lavens and Sorgeloos, 1996).

#### 4.5.2. Derajat Keasaman (pH)

Beberapa parameter lingkungan memiliki peranan yang sangat penting terhadap pertumbuhan sel *Cyclotella* sp. Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan kisaran rentang pH sebesar 8,02-8,98 (Lampiran 9). Rentang pH tersebut masih termasuk baik untuk pertumbuhan mikroalga. pH yang optimum menyebabkan mikroalga cenderung tumbuh lebih baik. Nilai pH yang dapat ditoleransi untuk pertumbuhan mikroalga berada dikisaran 7-9,5 dan tumbuh optimal pada pH 8,5 (Rai, *et al.*, 2007). *Cyclotella* sp. optimal pada media kultur dengan salinitas yang memiliki pH 8 (Kutzing, 2004).

#### 4.5.3. Oksigen Terlarut (DO)

Parameter kualitas air yang diukur dalam penelitian selanjutnya adalah DO atau oksigen terlarut. Hasil pengukuran DO adalah 4,10-6,74 ppm (Lampiran 9). Menurut Soewardi, *et al.* (2005), oksigen terlarut yang layak dan baik untuk mendukung metabolisme serta pertumbuhan mikroalga berkisar 4,9-8,3 ppm. DO selama penelitian ini termasuk layak dan baik untuk mendukung pertumbuhan *Cyclotella* sp. karena masuk dalam kisaran optimum.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian tentang pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp. maka diperoleh beberapa kesimpulan yaitu:

- Salinitas yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp.
- Salinitas terbaik untuk laju pertumbuhan pada 20,1 ppt, biomassa 20,2 ppt, klorofil-a 20 ppt, protein 21,3 ppt. Pada salinitas optimal *Cyclotella* sp. mampu menghasilkan laju pertumbuhan spesifik sebesar 0,693/hari dengan nilai *doubling time* 1 hari, biomassa 0,618 g/L, klorofil-a 2,846 µg/mL dan untuk protein 15,07 %.

### 5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, klorofil-a dan protein *Cyclotella* sp. dapat disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh fotoperiode yang berbeda dan menggunakan salinitas 20 ppt. Diharapkan penelitian selanjutnya dilakukan uji parameter lain pada *Cyclotella* sp.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adenan, N.S., F.M. Yusoff and M. Shariff. 2013. Effect of salinity and temperature on the growth of diatoms and green algae. *J. Fish. Aqua. Sci.* **8** (2): 397-404.
- Ahmad, I and J. A. Hellebust. 1984. Osmoregulation in the extremely euryhaline marine mikroalga *Chlorella autotrophica*. *Plant Physiol.* **74** : 1010-1015.
- Andersen, R.A. 2005. Algal Culturing Techniques. Academic Press. China. pp. 275-296.
- Araujo, S.D.C. and V.M.T. Garcia. 2005. Growth and biochemical composition of the diatom *Chaetoceros cf. wighamii* brightwell under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. I. Protein, carbohydrates and lipids. *Aquaculture.* **246**: 405-412.
- Armanda, D.T. 2013. Pertumbuhan kultur mikroalga diatom *Skeletonema costatum* (Greville) cleve isolat jepara pada medium f/2 dan medium conway. *Bioma.* **2** (1): 49-63.
- Arrokhman, S., N. Abdulgani dan D. Hidayati. 2012. Survival rate ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) dalam media pemeliharaan menggunakan rekayasa salinitas. *Jurnal Sains dan Seni ITS.* **1** (1): 32-35.
- Aryawati, R. dan T. Hikmah. 2011. Hubungan kandungan klorofil-a dan kelimpahan fitoplankton di perairan Berau Kalimantan Timur. *Maspari Journal.* **02**: 89-94.
- Bennerjee, B.S., W.E. Hew., H. Khatoun., M. Shariff, and F.M. Yusoff. 2011. Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannocloropsis oculaata* cultured outdoors and under laboratory conditions. *African Journal Biotechnology.* **10** (8):1375-1383
- Bennett, A., and L. Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *Journal of Cell Biology.* **58** (2): 419-435.
- Botte, P., A. Fontana., G. D'Ippolito., C. Gallo and A. Sardo. 2018. Combined exploitation of CO and nutrient replenishment for increasing biomass and lipid productivity of the marine diatoms *Thalassiosira weissflogii* and *Cyclotella cryptic*. *Jurnal Appl Phycol.* **30**: 243-251.
- Boyd, C.E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish Pond. Agricultural Experiment Station, Auburn University. Auburn, Alabama. USA. 359 pp.
- Budiardi, T., N.B.P. Utomo dan S. Asep. 2010. Pertumbuhan dan kandungan nutrisi *Spirulina* sp. pada fotoperiode yang berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia.* **9** (2): 146-156.



- Chrismanda, T., L.M. Panggabean dan Y. Mardiaty. 2006. Pengaruh konsentrasi nitrogen dan fosfor terhadap pertumbuhan, kandungan protein, karbohidrat dan fikosianin pada kultur *Spirulina fusiformis*. *Berita Biologi*. **8** (3): 163-169.
- Creswell, L. 2010. Phytoplankton culture for aquaculture feed. *SRAC Publication*. **5004**: 1-13.
- Dewi, R. 2017. Produktivitas minyak dan kandungan asam lemak *Thalassiosira* sp. yang dikultivasi dengan makronutrien pupuk. *Jurnal Kimia dan Pendidikan*. **2** (2): 221-235.
- Djunaedi, A., C.A. Suryono dan Sardjito. 2017. Kandungan pigmen polar dan biomassa pada mikroalga *Dunaliella salina* dengan salinitas berbeda. *Jurnal Kelautan Tropis*. **20** (10): 1-6.
- Foo, S.C., F.M. Yusoff., M. Ismail., M. Basri., N.M.H. Khong., K.W. Chan and S.K. Yau. 2015. Efficient solvent extraction of antioxidant-rich extract from a tropical diatom, *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) Takano 1968. *Asian Pac Journal Trop Biomed*. **5** (10): 834-840.
- Garcia, N., J.A.L. Elias, A. Miranda, M.M.Porchas, N. Huerta and A. García. 2012. Effect of salinity on growth and chemical composition of the diatom *Thalassiosira weissflogii* at three culture phases. *Lat. Am. J. Aquat. Res*. **40** (2): 435-440.
- Gilmour, D.J., M.F. Hipkins and A.D. Boney. 1983. The effect of osmotic and ionic stress on the primary processes of photosynthesis in *Dunaliella tertiolecta*. *Journal of experimental botany*. **150** (35): pp. 18-27.
- Hakansson, H. and V. Chepurnov. 1999. A study of variation in valve morphology of the diatom *Cyclotella meneghiniana* in monoclonal cultures: effect of auxospore formation and different salinity conditions. *Diatom Research*. **14** (2): 251-272.
- Hu, Shuhua and Zhang, Da-Yong. 1993. The effects of initial population density on the competition for limiting nutrients in two freshwater algae. *Oecologia*. **96**: 569-574.
- Huesemann, M.H., T.S. Hausmann., R. Bartha., M. Aksoy., J.C. Weissman and J.R. Benemann. 2009. Biomass Productivities in Wild Type and Pigment Mutant of *Cyclotella* sp. (Diatom). *Appl Biochem Biotechnol*. **157**: 507-526.
- Imron, M. A., Sudarno dan E. D. Masithah. 2016. Pengaruh salinitas terhadap kandungan lutein pada mikroalga *Botryococcus braunii*. *Journal of Marine and Coastal Science*. **5** (1): 36-48.
- Indarmawan, T., A.S. Mubarak dan G. Mahasr. 2012. Pengaruh konsentrasi pupuk *Azolla Pinnata* terhadap populasi *Chaetoceros* sp. *Journal of Marine and Coastal Science*. **1** (1): 61-70.



- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton: Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Kanisius. Yogyakarta. 116 hlm.
- Janssen, M., T.C. Kuijpers., B. Veldhoen., M.B. Ternbach., J. Tramper., L.R. Mur and R.H. Wijffels. 1999. Specific growth rates of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* under medium duration light/dark cycles: 13-87s. *Journal Biotechnology*. **70**: 323-333.
- Jati, F., J. Hutabarat dan V.E. Herawati. 2012. Pengaruh penggunaan dua jenis media kultur teknis yang berbeda terhadap pola pertumbuhan, kandungan protein dan asam lemak omega 3 EPA (*Chaetoceros gracilis*). *Journal of Aquaculture Management And Technology*. **1** (1): 221-235.
- Juneau, P., A. Barnett.,V. Meleder., C. Dupuy and J. Lavaud. 2015. Combined effect of high light and high salinity on the regulation of photosynthesis in three diatom species belonging to the main growth forms of intertidal flat inhabiting microphytobenthos. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **463**: 95-104
- Khairuddin dan Sahabuddin. 2013. Komposisi nutrisi dan pertumbuhan mikroalga *Chaetoceros gracilis* yang di kultur pada berbagai konsentrasi karbondioksida. *Jurnal Galung Tropika*. **2** (2): 106-115.
- Kirst, G.O. 1989. Salinity tolerance of eukaryotic marine algae. *Annu. Rev. plant physiol. Plant mol. Boil.* **40**: 21-53.
- Krichnavaruk, S., Worapanne, Sorawit, and Prasert. 2004. Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor. *Chemical engineering*. **105**: 91-98.
- Kutzing, F. T. 1884. Die Kieselschaligen Bacillarien Oder Diatomeen. Nordhausen. pp 152.
- Kutzing. 2004. Effect of iron limitation on cells of the diatom *Cyclotella meneghiniana*. *Oceanologia*. **46** (2): pp. 269-287.
- 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.
- Lante, S. dan Herlinah. 2015. Pengaruh pakan alami *Chaetoceros* spp. Terhadap perkembangan dan sintasan larva udang windu, *Penaeus monodon*. *Jurnal Riset Akuakultur*. **10** (3): 389-396.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology*. **148**: 350-382.
- Lim, K.C And K. Zaleha. 2013. Effect of photoperiod on the cellular fatty acid composition of three tropical marine microalgae. *Malaysia Application Biology*. **42** (1): 41-49.

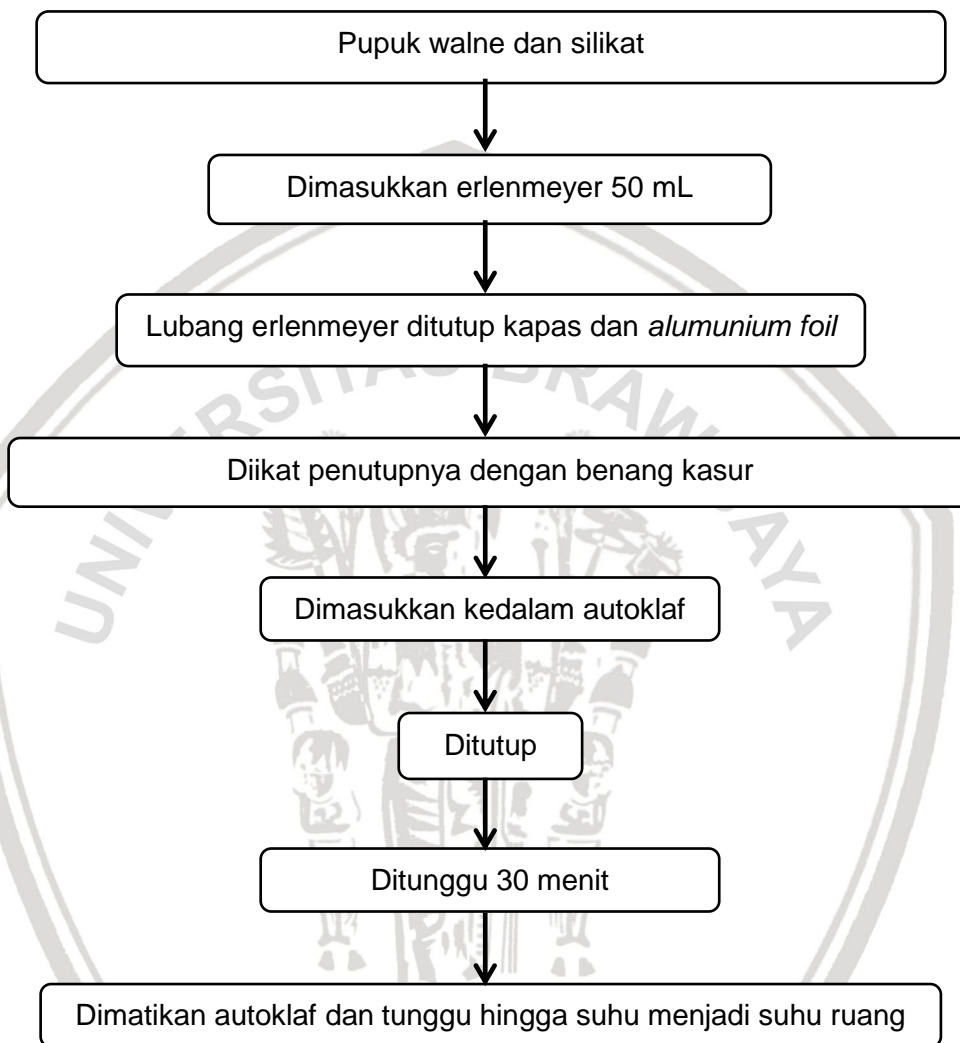
- Lowry, O.H., Roseborough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagen. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Mclachlan, Jack. 1961. Effect of salinity on growth and chlorophyll content in representative classes of unicellular marine algae. *Canadian Journal Of Microbiology.* (7): 399-406.
- Mengel, K and E.A. Kirkby. 2001. Principles of Plant Nutrition 5th Edition. Springer Science-Business Media. 848 pp.
- Octhreeani, A.M., Supriharyono., dan P. Soedarsono. 2014. Pengaruh perbedaan jenis pupuk terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dilihat dari kepadatan sel dan klorofil-a skala semi massal. *Diponegoro Journal of Maquares.* 3 (2): 102-108.
- Padang, A. 2012. Peranan diatom bagi produktivitas primer di lingkungan bentik. *Bimafika.* 4: 420-424.
- Pratiwi, L.B.R., D. Syah., L. Hardjito., L.M.G. Panggabean dan M.T. Suhartono. 2009. Fatty acid synthesis by Indonesian marine diatom, *Chaetoceros gracilis*. *Hayati Journal of Biosciences.* 16 (4): 151-156.
- Prayitno, J., R.A. Darmawan dan A. Rifai. 2015. Pemberian pupuk komersial untuk pembentukan biomassa pada kultur mikroalga *Chlorella* sp. dalam sistem fotobioreaktor penangkap karbon. *Jurnal Ekologi Lingkungan.* 16 (1): 37-42.
- \_\_\_\_\_. 2016. Pola pertumbuhan dan pemanenan biomassa dalam fotobioreaktor mikroalga untuk penangkapan karbon. *Jurnal Teknologi Lingkungan.* 7(1): 45-52.
- Purnomo, A. A., I. K. Junitha dan N. M. Suartini. 2015. Variasi spesies diatom pada tipe perairan berbeda untuk kepentingan forensik sebagai petunjuk kematian akibat tenggelam. *Jurnal Simbiosis iii.* (1): 247-257.
- Raghavan, G., C.K. Haridevi and C.P. Gopinathan. 2008. Proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilu* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. Central Marine Fisheries Research Institute, Kochi, Kerala, India.
- Rahmawati, I., B. Hendrarto dan P.W. Purnomo. 2014. Fluktuasi bahan organik dan sebaran nutrisi serta kelimpahan fitoplankton dan klorofil-a di muara sungai Sayung Demak. *Diponegoro Journal of Maquares.* 3 (1): 27-36.
- Rai, U.N., S. Dwivedi., V.S. Baghel., R.D. Tripathi., O.P. Shukla and M.K. Shukla. 2007. Morphology and cultural behavior of *Botryococcus protuberans* with notes on the genus. *Journal of Environmental Biology.* 28 (2): 181-184.
- Richmond, A. 2004. Handbook of Microalgal Culture: *Biotechnology and Applied Phycology*. Iowa State Press. Blackwell Publishing. 566 pp.

- Ritchie, R.J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*. **89**: 27-41.
- Roubeix, V. and C. Lancelot. 2008. Effect of salinity on growth, cell size and silicification of an euryhaline freshwater diatom: *Cyclotella meneghiniana* kutz. *Transitional Waters Bulletin*. **1**: 31-38.
- Rudiyanti, S. 2011. Pertumbuhan *Skeletonema costatum* pada berbagai tingkat salinitas media. *Jurnal Saintek Perikanan*. **6** (2): 69-76.
- Selvika, Z., A.B. Kusuma., N.E. Herliyany dan B.F.S.P. Negara. 2016. Pertumbuhan *Chlorella* sp. pada beberapa konsentrasi limbah batubara. *Depik*. **5** (3): 107-112.
- Siska, M., dan R. Salam. 2012. Desain eksperimen pengaruh zeolit terhadap penurunan limbah Kasdmium (Cd). *Jurnal Ilmiah Teknik industri*. **11** (2): 173-184.
- Soewardi, K., N. Pratiwi dan Messenreng. 2005. Komposisi dan kelimpahan fitoplankton cysophyta (*Paheodactylum* sp., *Chaetoceros* sp., dan *Pavlova* sp.) pada berbagai tingkat kandungan unsur hara nitrogen, fosfor dan silikat. *Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*. Desember. **12** (2): 153-160.
- Suantika, G dan D. Hendrawandi. 2009. Efektivitas teknik kultur menggunakan sistem kultur statis, semi kontinyu, dan kontinyu terhadap produktivitas dan kualitas kultur *Spirulina* sp. *Jurnal Matematika dan Sains*. **14** (2): 41-50.
- Trikuti, I.K., A.A.M.D. Anggreni dan I.B.W. Gunam. 2016. Pengaruh jenis media terhadap konsentrasi biomassa dan kandungan protein mikroalga *Chaetoceros calcitrans*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **4** (2): 13-22.
- Vonshak, A. 1997. *Spirulina Platensis* Arthrospira: Physiology, Cell-Biology and Biotechnology. Taylor and Francis publisher. United States. 233 pp.
- Yoshimura, T., S. Okada and M. Honda. 2013. Culture of the hydrocarbon producing microalga *Botryococcus braunii* strain Showa: optimal co salinity, temperature, and irradiance conditions. *Bioresource Technology*. **133**: 232-239.
- Yudha, A.A., F. Agustriani dan Isnaini. 2013. Pemberian mikroalga terhadap penambahan populasi rotifera (*Brachionus plicatilis*) pada skala laboratorium di BBPBL Lampung. *Maspri Journal*. **5** (2): 140-144.
- Zainuddin, M., S. Raharjo dan L.I. Boikh. 2017. Analisis korelasi pertumbuhan, biopigmen dan antioksidan ekstrak polar *Dunaliella salina* pada kultur bersalinitas berbeda. *Jurnal Enggano*. **2** (2): 170-184.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Proses Sterilisasi

#### a. Sterilisasi Menggunakan Autoklaf (Panas Basah)



**Lampiran 1. (Lanjutan)**

## b. Sterilisasi Alat (Kimia)

Toples, gelas ukur 100 mL, *beaker glass* 1 liter, selang aerasi, pipet tetes, pipet volume, botol film, dan corong

Dicuci bersih

Dikeringkan

Direndam HCl 5% selama 5 menit

Dibilas akuades

## c. Perebusan Media

Media air tawar dan air laut

Dimasukkan panci

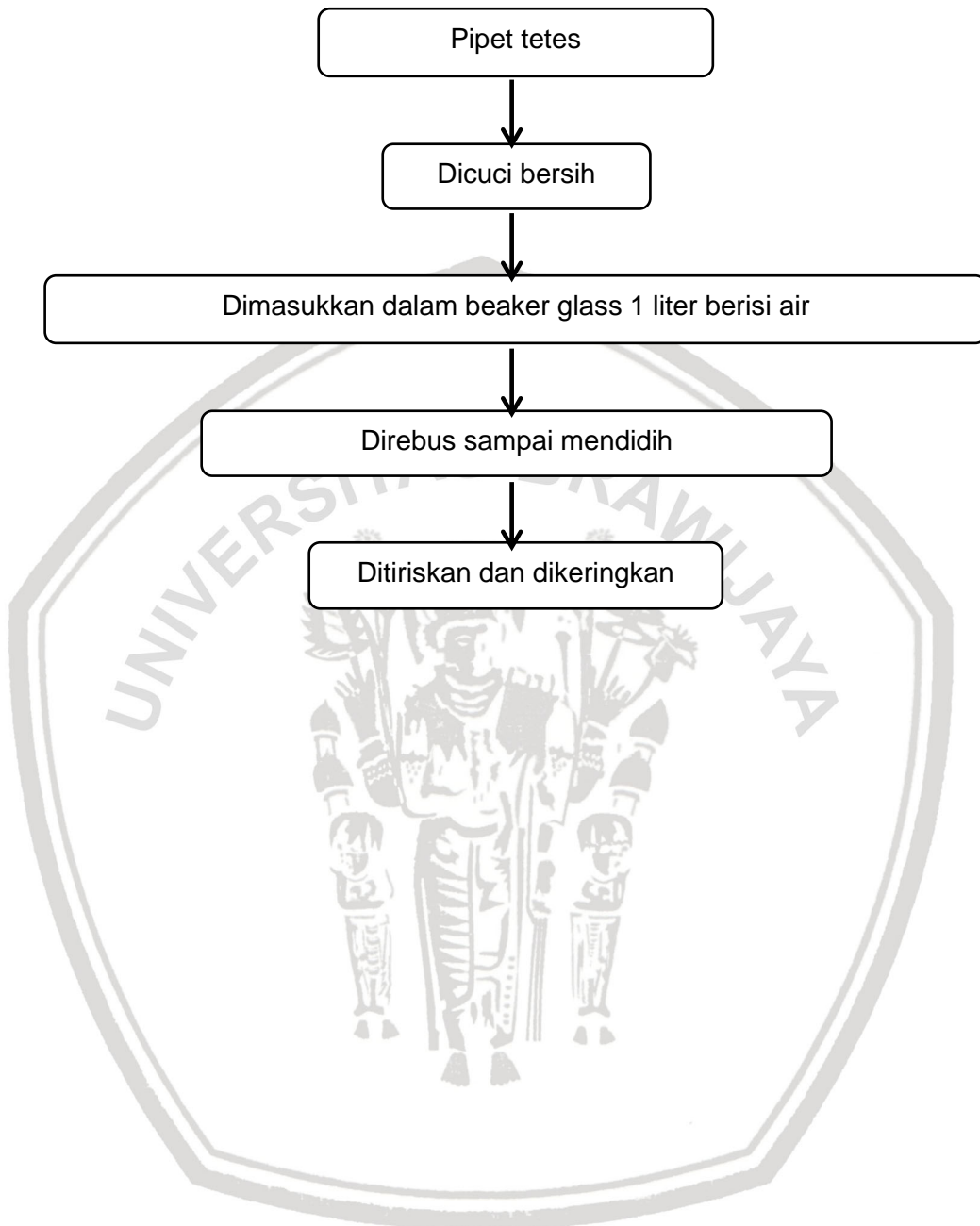
Direbus sampai mendidih

Didinginkan



**Lampiran 1. (Lanjutan)**

## d. Sterilisasi Alat (Perebusan)



**Lampiran 2.** Komposisi Pupuk Walne, Vitamin dan Silikat yang digunakan

<b>Bahan Pupuk Walne</b>	<b>Jumlah</b>
<b>Larutan A (Trace Metal Solution (TMS))</b>	
Zinc chloride ( $ZnCl_2$ )	2,1 g
Cobaltous chloride ( $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ )	2,0 g
Ammonium molybdate ( $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ )	0,9 g
Cupric sulphate ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ )	2,0 g
Akuades hingga	100 mL
<b>Larutan B (1 mL/L untuk Kultur)</b>	
Ferric chloride hexahydrate ( $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ )	1,3 g
Manganous chloride tetrahydrate ( $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ )	0,36 g
Boric acid ( $H_3BO_3$ )	33,6 g
Ethylene diamine tetra acetic (EDTA)	45,0 g
Sodium di-hydrogen orthophospate ( $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ )	20,0 g
Sodium nitrate ( $NaNO_3$ )	100 g
Trace Metal Solution (TMS)	1,0 mL
Akuades hingga	1 L
<b>Bahan Vitamin</b>	
<b>Larutan C (0,1 mL untuk Kultur)</b>	
Vitamin Thiamine (B1)	10,0 g
Akuades hingga	100 mL
<b>Bahan Silikat</b>	
<b>Larutan D</b>	
Sodium metasilicate ( $Na_2SiO_3 \cdot 5H_2O$ )	40,0 g
Akuades hingga	1 L

Lampiran 3. Data Pertumbuhan *Cyclotella* sp.

Hari Ke-	Kepadatan ( $\times 10^4$ ) (sel/mL)											
	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	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00
1	43,27	43,47	46,58	81,15	83,55	78,70	93,33	88,33	86,67	90,00	85,00	91,67
2	73,03	79,98	71,78	266,67	233,33	250,00	233,33	200,00	216,67	200,00	183,33	216,67
3	126,17	123,87	125,38	449,93	466,67	433,33	366,67	350,00	383,33	483,33	466,67	450,00
4	366,67	350,00	333,33	666,67	683,33	650,00	550,00	566,67	583,33	550,00	533,33	516,67
5	516,67	500,00	533,33	883,33	850,00	866,67	716,67	700,00	733,33	583,33	600,00	566,67
6	466,67	483,33	450,00	750,00	766,67	733,33	616,67	633,33	616,67	366,67	400,00	333,33
7	450,00	466,67	416,67	716,67	733,33	716,67	583,33	600,00	591,67	316,67	316,67	300,00
8	416,67	450,00	383,33	683,33	700,00	666,67	566,67	566,67	550,00	283,33	300,00	283,33
9	383,33	416,67	350,00	666,67	666,67	650,00	533,33	550,00	516,67	250,00	266,67	250,00
10	366,67	383,33	316,67	633,33	616,67	633,33	516,67	533,33	500,00	233,33	233,33	216,67



Lampiran 3. (Lanjutan)

Hari Ke-	Laju Pertumbuhan Spesifik (/hari)											
	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0,549	0,553	0,622	1,177	1,207	1,147	1,317	1,262	1,243	1,281	1,224	1,299
2	0,536	0,581	0,527	1,184	1,117	1,151	1,117	1,040	1,080	1,040	0,996	1,080
3	0,540	0,533	0,537	0,963	0,976	0,951	0,895	0,880	0,910	0,987	0,976	0,963
4	0,671	0,660	0,648	0,821	0,827	0,815	0,773	0,780	0,787	0,773	0,765	0,757
5	0,606	0,599	0,612	0,713	0,705	0,709	0,671	0,666	0,676	0,630	0,636	0,624
6	0,488	0,494	0,482	0,567	0,571	0,563	0,534	0,539	0,534	0,448	0,462	0,432
7	0,413	0,418	0,402	0,479	0,483	0,479	0,450	0,454	0,452	0,363	0,363	0,355
8	0,352	0,361	0,341	0,414	0,417	0,410	0,390	0,390	0,386	0,303	0,311	0,303
9	0,303	0,313	0,293	0,365	0,365	0,362	0,340	0,343	0,337	0,256	0,263	0,256
10	0,269	0,273	0,254	0,323	0,321	0,323	0,303	0,306	0,300	0,223	0,223	0,216



Lampiran 3. (Lanjutan)

Hari Ke-	<i>Doubling Time (hari)</i>											
	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1,263	1,253	1,113	0,589	0,574	0,604	0,526	0,549	0,557	0,541	0,566	0,533
2	1,293	1,192	1,314	0,586	0,621	0,602	0,621	0,667	0,642	0,667	0,696	0,642
3	1,284	1,299	1,289	0,719	0,710	0,729	0,774	0,788	0,762	0,702	0,710	0,719
4	1,032	1,050	1,070	0,844	0,838	0,851	0,897	0,888	0,880	0,897	0,906	0,915
5	1,144	1,157	1,132	0,972	0,983	0,977	1,033	1,040	1,026	1,100	1,090	1,110
6	1,421	1,404	1,439	1,223	1,215	1,231	1,297	1,286	1,297	1,548	1,500	1,605
7	1,678	1,657	1,724	1,446	1,436	1,446	1,540	1,526	1,533	1,911	1,911	1,952
8	1,971	1,918	2,031	1,676	1,664	1,688	1,776	1,776	1,794	2,284	2,231	2,284
9	2,285	2,217	2,363	1,900	1,900	1,914	2,038	2,018	2,059	2,709	2,635	2,709
10	2,580	2,538	2,729	2,144	2,162	2,144	2,288	2,265	2,313	3,103	3,103	3,209





Lampiran 4. Analisis Data Laju Pertumbuhan Spesifik *Cylotella* sp.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± SD
	1	2	3		
A (5 ppt)	0,606	0,599	0,612	1,817	0,606± 0,006
B (15 ppt)	0,713	0,705	0,709	2,127	0,709± 0,004
C (25 ppt)	0,671	0,666	0,676	2,013	0,671± 0,005
D (35 ppt)	0,630	0,636	0,624	1,890	0,630 ± 0,006
<b>Total</b>				<b>7,847</b>	<b>0,654</b>

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{r \times t} = \frac{(7,847)^2}{3 \times 4} = 5,13180$$

$$JK \text{ Total} = (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + (B2)^2 + (B3)^2 + \dots + (D3)^2 - FK$$

$$= ((0,606)^2 + (0,599)^2 + (0,612)^2 + (0,713)^2 + \dots + (0,624)^2) - 5,13180$$

$$= 0,01897$$

$$JK \text{ perlakuan} = \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(1,817)^2 + (2,127)^2 + (2,013)^2 + (1,890)^2}{r} - 5,13180$$

$$= 0,01875$$

$$JK \text{ Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 0,01897 - 0,01875$$

$$= 0,00022$$

Tabel Sidik Ragam

	Derajat Bebas	JK	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 5%
<b>Perlakuan</b>	3	0,01875	0,00625	225,738*	4,07
<b>Acak</b>	8	0,00022	0,00003		
<b>Total</b>	11	0,01897			

Keterangan : \* = berbeda nyata

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

$$= 0,00430$$

#### Lampiran 4. (lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,00430 \\ &= 0,00991 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-rata Perlakuan	A (0,606)	D (0,630)	C (0,671)	B(0,709)	Notasi
A (0,606)	—	—	—	—	a
D (0,630)	0,024*	—	—	—	b
C (0,671)	0,065*	0,041*	—	—	c
B(0,709)	0,103*	0,103*	0,038*	—	d

Keterangan : \* = berbeda nyata

#### Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Total/Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A (5 ppt)	1,817	-3	1	-1
B (15 ppt)	2,127	-1	-1	3
C (25 ppt)	2,013	1	-1	-3
D (35 ppt)	1,890	3	1	1
$Q = \sum Ci.Ti$		0,10452	-0,43405	0,41504
$Kn = \sum (Ci^2) \cdot n$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kn$		0,00018	0,01570	0,00287

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= (0,00018) + (0,01570) + (0,00287) \\ &= 0,01875 \end{aligned}$$

#### Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
1. Perlakuan	3	0,01875			
- Linier	1	0,00018	0,00018	6,58*	5,32
- Kuadratik	1	0,01570	0,01570	566,96*	5,32
- Kubik	1	0,00287	0,00287	103,67**	5,32
2. Acak	8	0,00022	0,00003		
3 Total	11				

Keterangan : \* = berbeda nyata

**Lampiran 4. (lanjutan)**

Menghitung R Square ( $R^2$ ) :

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Linier}} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{0,00018}{0,00018 + 0,00022} \\ &= 0,451 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Kuadrat}} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadrat}}{\text{JK Regresi Kuadrat} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{0,01570}{0,01570 + 0,00022} \\ &= 0,986 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Kubik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{0,00287}{0,00287 + 0,00022} \\ &= 0,928 \end{aligned}$$

Karena  $R^2$  kuadrat >  $R^2$  kubik >  $R^2$  linier, persamaan regresi kuadrat:

$$\bar{X} = \frac{5+15+25+35}{4} = 20$$

$$d = 10$$

$$u_j = \frac{x-20}{10}$$

untuk  $x = 5$ ; maka  $u_j = (5-20) : 10 = -1,5$

untuk  $x = 15$ ; maka  $u_j = (15-20) : 10 = -0,5$

untuk  $x = 25$ ; maka  $u_j = (25-20) : 10 = 0,5$

untuk  $x = 35$ ; maka  $u_j = (35-20) : 10 = 1,5$

**Lampiran 4. (lanjutan)**

$x_j$	5	15	25	35	$\Sigma x_j =$	80
$u_j$	-1,5	-0,5	0,5	1,5	$\Sigma u_j =$	0
$u_j^2$	2,25	0,25	0,25	2,25	$\Sigma u_j^2 =$	5
$u_j^2$	5,0625	0,0625	0,0625	5,0625	$\Sigma u_j^2 =$	10,250
$y_{ij}$	1,817	2,127	2,013	1,890	$\Sigma y_{ij} =$	7,847
$u_j \cdot y_{ij}$	-2,725	-1,064	1,007	2,835	$\Sigma u_j y_{ij} =$	0,052
$u_j^2 \cdot y_{ij}$	4,088	0,532	0,503	4,252	$\Sigma u_j^2 \cdot y_{ij} =$	9,375

**Persamaan 1**

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

$$0,052 = b_1 \times 3 \times 5$$

$$0,052 = 15 b_1$$

$$b_1 = 0,003$$

**Persamaan 2**

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

$$7,847 = b_0 \times 12 + b_2 \times 3 \times 5$$

$$7,847 = 12 b_0 + 15 b_2$$

**Persamaan 3**

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

$$9,375 = b_0 \times 3 \times 5 + b_2 \times 3 \times 10,250$$

$$9,375 = 15 b_0 + 30,75 b_2$$

Substitusi Persamaan 2 dan 3

$$7,847 = 12 b_0 + 15 b_2 \quad | \quad \times 5 \quad | \quad 39,237 = 60 b_0 + 75 b_2$$

$$9,375 = 15 b_0 + 30,75 b_2 \quad | \quad \times 4 \quad | \quad 37,501 = 60 b_0 + 123 b_2$$

$$1,736 = -48 b_2$$

$$b_2 = -0,036$$

Substitusikan  $b_2$  pada salah satu persamaan untuk mencari  $b_0$

$$7,847 = 12 b_0 + 15 b_2$$

$$7,847 = 12 b_0 + 15 (-0,036)$$

**Lampiran 4. (lanjutan)**

$$7,847 = 12 b_0 - 0,543$$

$$12 b_0 = 7,847 + 0,543$$

$$B_0 = 8,390 : 12$$

$$b_0 = 0,699$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

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

$$Y = 0,699 + 0,003uj - 0,036uj^2$$

Kembalikan transformasi  $uj = \left(\frac{x-20}{10}\right)$  pada persamaan tersebut :

$$Y = 0,699 + 0,003uj - 0,036uj^2$$

$$Y = 0,699 + 0,003 \left(\frac{x-20}{10}\right) - 0,036 \left(\frac{x-20}{10}\right)^2$$

$$Y = 0,699 + 0,003 \left(\frac{x}{10} - \frac{20}{10}\right) - 0,036 \left(\frac{x}{10} - \frac{20}{10}\right)^2$$

$$Y = 0,699 + 0,0003x - 0,007 - 0,036 \left(\frac{x^2 - 40x + 400}{100}\right)$$

$$Y = 0,699 + 0,0003x - 0,007 - 0,00036x^2 + 0,01447x - 0,1447$$

$$Y = -0,00036x^2 + 0,01447x + 0,5473$$

Dari persamaan tersebut diperoleh:

X	Y
5	0,61065
15	0,68347
25	0,68425
35	0,61303

$$Y = -0,00036x^2 + 0,01447x + 0,5473$$

$$Y = 0,5473 + 0,01447x - 0,00036x^2$$

$$Y' = 0,01447 - 2(0,00036)x$$

$$0 = 0,01447 - 0,00072x$$

$$0,00072x = 0,01447$$



**Lampiran 4. (lanjutan)**

$$X = 0,01447 / 0,00072$$

$$\text{Jadi } X = 20,097$$

$$Y = 0,5473 + 0,01447 (20,097) - 0,00036 (20,097^2)$$

$$\text{Maka } Y = 0,6927$$



Lampiran 5. Analisis Data Biomassa *Cylotella* sp.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± SD
	1	2	3		
A (5 ppt)	0,448	0,460	0,432	1,340	0,447 ± 0,014
B (15 ppt)	0,652	0,624	0,648	1,924	0,641 ± 0,015
C (25 ppt)	0,584	0,544	0,556	1,684	0,561 ± 0,021
D (35 ppt)	0,480	0,496	0,476	1,452	0,484 ± 0,011
<b>Total</b>				<b>6,400</b>	<b>2,133</b>

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{r \times t} = \frac{(6,400)^2}{3 \times 4} = 3,41333$$

$$JK \text{ Total} = (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + (B2)^2 + (B3)^2 + \dots + (D3)^2 - FK$$

$$= ((0,448)^2 + (0,460)^2 + (0,432)^2 + (0,652)^2 + \dots + (0,476)^2) - 3,41333$$

$$= 0,06910$$

$$JK \text{ perlakuan} = \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(1,340)^2 + (1,924)^2 + (1,684)^2 + (1,452)^2}{4} - 3,41333$$

$$= 0,06718$$

$$JK \text{ Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 0,06910 - 0,06718$$

$$= 0,00192$$

Tabel Sidik Ragam

	Derajat Bebas	JK	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 5%
<b>Perlakuan</b>	3	0,06718	0,02239	93,304*	4,07
<b>Acak</b>	8	0,00192	0,00024		
<b>Total</b>	11	0,06910			

Keterangan : \*\* = berbeda sangat nyata

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

$$= 0,013$$

## Lampiran 5. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,013 \\ &= 0,029 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-rata Perlakuan	A (0,447)	D (0,484)	C (0,561)	B(0,641)	Notasi
A (0,447)	—	—	—	—	a
D (0,484)	0,037*	—	—	—	b
C (0,561)	0,115*	0,077*	—	—	c
B(0,641)	0,195*	0,157*	0,080*	—	d

Keterangan : \* = berbeda nyata

## Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Total/Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A (5 ppt)	1,340	-3	1	-1
B (15 ppt)	1,924	-1	-1	3
C (25 ppt)	1,684	1	-1	-3
D (35 ppt)	1,452	3	1	1
$Q = \sum Ci.Ti$		0,09600	-0,81600	0,83200
$Kn = \sum (Ci^2) \cdot n$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kn$		0,00015	0,05549	0,01154

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= (0,00015) + (0,05549) + (0,01154) \\ &= 0,06718 \end{aligned}$$

## Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
1. Perlakuan	3	0,06718			
- Linier	1	0,00015	0,00015	0,640 <sup>ns</sup>	5,32
- Kuadratik	1	0,05549	0,05549	231,200*	5,32
- Kubik	1	0,01154	0,01154	48,071*	5,32
2. Acak	8	0,00192	0,00024		
3 Total	11				

Keterangan : \* = berbeda nyata  
Ns = tidak berbeda nyata

**Lampiran 5. (Lanjutan)**

Menghitung R Square ( $R^2$ ) :

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Linier}} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{0,00015}{0,00015 + 0,00192} \\ &= 0,074 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Kuadratik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{0,05549}{0,05549 + 0,00192} \\ &= 0,967 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Kubik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{0,01154}{0,01154 + 0,00192} \\ &= 0,857 \end{aligned}$$

Karena  $R^2$  kuadratik >  $R^2$  kubik dan  $R^2$  linier, persamaan regresi

kuadratik:

$$\bar{x} = \frac{5+15+25+35}{4} = 20$$

$$d = 10$$

$$u_j = \frac{x-20}{10}$$

$$\text{untuk } x = 5; \text{ maka } u_j = (5-20) : 10 = -1,5$$

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

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

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

**Lampiran 5. (Lanjutan)**

$x_j$	5	15	25	35	$\Sigma x_j =$	80
$u_j$	-1,5	-0,5	0,5	1,5	$\Sigma u_j =$	0
$u_j^2$	2,25	0,25	0,25	2,25	$\Sigma u_j^2 =$	5
$u_j^4$	5,0625	0,0625	0,0625	5,0625	$\Sigma u_j^4 =$	10,250
$y_{ij}$	1,340	1,924	1,684	1,452	$\Sigma y_{ij} =$	6,400
$u_j \cdot y_{ij}$	-2,010	-0,962	0,842	2,178	$\Sigma u_j y_{ij} =$	0,048
$u_j^2 \cdot y_{ij}$	3,015	0,481	0,421	3,267	$\Sigma u_j^2 y_{ij} =$	7,184

**Persamaan 1**

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

$$0,048 = b_1 \times 3 \times 5$$

$$0,048 = 15 b_1$$

$$b_1 = 0,003$$

**Persamaan 2**

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

$$6,400 = b_0 \times 12 + b_2 \times 3 \times 5$$

$$6,400 = 12 b_0 + 15 b_2$$

**Persamaan 3**

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

$$7,184 = b_0 \times 3 \times 5 + b_2 \times 3 \times 10,250$$

$$7,184 = 15 b_0 + 30,75 b_2$$

Substitusi Persamaan 2 dan 3

$$6,400 = 12 b_0 + 15 b_2 \quad | \quad \times 5 \quad | \quad 32,000 = 60 b_0 + 75 b_2$$

$$7,184 = 15 b_0 + 30,75 b_2 \quad | \quad \times 4 \quad | \quad 28,736 = 60 b_0 + 123 b_2$$

$$3,254 = -48 b_2$$

$$b_2 = -0,068$$

Substitusikan  $b_2$  pada salah satu persamaan untuk mencari  $b_0$

$$6,400 = 12 b_0 + 15 b_2$$

$$6,400 = 12 b_0 + 15 (-0,068)$$



**Lampiran 5. (Lanjutan)**

$$6,400 = 12 b_0 - 1,020$$

$$12 b_0 = 6,400 + 1,020$$

$$B_0 = 6,400 : 12$$

$$b_0 = 0,618$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

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

$$Y = 0,618 + 0,003uj - 0,068uj^2$$

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

$$Y = 0,618 + 0,003uj - 0,068uj^2$$

$$Y = 0,618 + 0,003 \left( \frac{x-20}{10} \right) - 0,068 \left( \frac{x-20}{10} \right)^2$$

$$Y = 0,618 + 0,003 \left( \frac{x}{10} - \frac{20}{10} \right) - 0,068 \left( \frac{x}{10} - \frac{20}{10} \right)^2$$

$$Y = 0,618 + 0,0003 x - 0,0064 - 0,068 \left( \frac{x^2 - 40x + 400}{100} \right)$$

$$Y = 0,618 + 0,0003 x - 0,0064 - 0,00068x^2 + 0,0272x - 0,272$$

$$Y = -0,00068x^2 + 0,0275x - 0,3396$$

$$Y = -0,00068x^2 + 0,0275x - 0,3396$$

Dari persamaan tersebut diperoleh:

X	Y
5	0,460
15	0,599
25	0,602
35	0,469

$$Y = -0,00068x^2 + 0,0275x + 0,340$$

$$Y = 0,340 + 0,0275x - 0,00068x^2$$

$$Y' = 0,0275 - 2(0,00068)x$$

**Lampiran 5. (Lanjutan)**

$$0 = 0,0275 - 0,00136x$$

$$0,00136x = 0,0275$$

$$X = 0,275 / 0,00136$$

$$\text{Jadi } X = 20,22$$

$$Y = 0,340 + 0,0275 (20,22) - 0,00068 (20,22)^2$$

$$\text{Maka } Y = 0,618$$



**Lampiran 6.** Analisis Data Klorofil-a *Cylotella* sp.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± SD
	1	2	3		
A (5 ppt)	1,905	1,873	1,884	5,662	1,887 ± 0,02
B (15 ppt)	2,922	2,880	3,057	8,860	2,953 ± 0,09
C (25 ppt)	2,544	2,446	2,655	7,644	2,548 ± 0,10
D (35 ppt)	1,979	2,051	2,101	6,131	2,044 ± 0,06
	Total			28,296	9,432

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{r \times t} = \frac{(28,292)^2}{3 \times 4} = 66,722$$

$$JK \text{ Total} = (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + (B2)^2 + (B3)^2 + \dots + (D3)^2 - FK$$

$$= ((1,905)^2 + (1,873)^2 + (1,884)^2 + (2,922)^2 + \dots + (2,101)^2) - 66,722$$

$$= 2,17985$$

$$JK \text{ perlakuan} = \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(5,662)^2 + (8,860)^2 + (7,644)^2 + (6,131)^2}{r} - 66,722$$

$$= 2,13274$$

$$JK \text{ Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 2,17985 - 2,13274$$

$$= 0,04711$$

Tabel Sidik Ragam

	Derajat Bebas	JK	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	3	2,13274	0,71091	120,718*	4,07
Acak	8	0,04711	0,00589		
Total	11	2,17985			

Keterangan : \* = berbeda nyata

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

$$= 0,06266$$

### Lampiran 6. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,06266 \\ &= 0,14449 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-rata Perlakuan	A (1,887)	D (2,044)	C (2,548)	B(2,953)	Notasi
A (1,887)	—	—	—	—	a
D (2,044)	0,156*	—	—	—	b
C (2,548)	0,661*	0,505*	—	—	c
B(2,953)	1,066*	0,910*	0,405*	—	d

Keterangan : \* = berbeda nyata

#### Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Total/Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A (5 ppt)	5,662	-3	1	-1
B (15 ppt)	8,860	-1	-1	3
C (25 ppt)	7,644	1	-1	-3
D (35 ppt)	6,131	3	1	1
Q=ΣCi.Ti		0,19232	-4,71157	4,11500
Kn=Σ(Ci <sup>2</sup> )*n		60	12	60
JK=Q <sup>2</sup> /Kn		0,00062	1,84991	0,28222

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= (0,00062) + (1,84991) + (0,28222) \\ &= 2,13274 \end{aligned}$$

#### Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
1. Perlakuan	3	2,13274			
- Linier	1	0,00062	0,00062	0,105 <sup>ns</sup>	5,32
- Kuadratik	1	1,84991	1,84991	314,127*	5,32
- Kubik	1	0,28222	0,28222	47,923*	5,32
2. Acak	8	0,04711	0,00589		
3 Total	11				

Keterangan : \* = berbeda nyata, ns = tidak berbeda nyata

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

Menghitung R Square ( $R^2$ ) :

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Linier}} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{0,00062}{0,00062 + 0,04711} \\ &= 0,013 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Kuadratik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{1,84991}{1,84991 + 0,04711} \\ &= 0,975 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Kubik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{0,28222}{0,28222 + 0,04711} \\ &= 0,857 \end{aligned}$$

Karena  $R^2$  kuadratik  $>$   $R^2$  kubik  $>$   $R^2$  linier, persamaan regresi kuadratik:

$$\bar{X} = \frac{5+15+25+35}{4} = 20$$

$$d = 10$$

$$u_j = \frac{x-20}{10}$$

$$\text{untuk } x = 5; \text{ maka } u_j = (5-20) : 10 = -1,5$$

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

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

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



## Lampiran 6. (Lanjutan)

$x_j$	5	15	25	35	$\Sigma x_j =$	80
$u_j$	-1,5	-0,5	0,5	1,5	$\Sigma u_j =$	0
$u_j^2$	2,25	0,25	0,25	2,25	$\Sigma u_j^2 =$	5
$u_j^4$	5,0625	0,0625	0,0625	5,0625	$\Sigma u_j^4 =$	10,250
$y_{ij}$	5,662	8,860	7,644	6,131	$\Sigma y_{ij} =$	28,296
$u_j \cdot y_{ij}$	-8,492	-4,430	3,822	9,196	$\Sigma u_j y_{ij} =$	0,096
$u_j^2 \cdot y_{ij}$	12,738	2,215	1,911	13,794	$\Sigma u_j^2 y_{ij} =$	30,659

Persamaan 1

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

$$0,096 = b_1 \times 3 \times 5$$

$$0,096 = 15 b_1$$

$$b_1 = 0,006$$

Persamaan 2

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

$$28,296 = b_0 \times 12 + b_2 \times 3 \times 5$$

$$28,296 = 12 b_0 + 15 b_2$$

Persamaan 3

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

$$30,659 = b_0 \times 3 \times 5 + b_2 \times 3 \times 10,250$$

$$30,659 = 15 b_0 + 30,75 b_2$$

Substitusi Persamaan 2 dan 3

$$28,296 = 12 b_0 + 15 b_2 \quad | \quad \times 5 \quad | \quad 141,480 = 60 b_0 + 75 b_2$$

$$30,659 = 15 b_0 + 30,75 b_2 \quad | \quad \times 4 \quad | \quad 122,634 = 60 b_0 + 123 b_2$$

$$18,846 = -48 b_2$$

$$b_2 = -0,393$$

Substitusikan  $b_2$  pada salah satu persamaan untuk mencari  $b_0$

$$28,296 = 12 b_0 + 15 b_2$$

$$28,296 = 12 b_0 + 15 (-0,393)$$

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

$$28,296 = 12 b_0 - 5,889$$

$$12 b_0 = 28,296 + 5,889$$

$$b_0 = 34,186 : 12$$

$$b_0 = 2,849$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

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

$$Y = 2,849 - 0,006uj - 0,393uj^2$$

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

$$Y = 2,849 - 0,006uj - 0,393uj^2$$

$$Y = 2,849 - 0,006 \left( \frac{x-20}{10} \right) - 0,393 \left( \frac{x-20}{10} \right)^2$$

$$Y = 2,849 - 0,006 \left( \frac{x}{10} - \frac{20}{10} \right) - 0,393 \left( \frac{x}{10} - \frac{20}{10} \right)^2$$

$$Y = 2,849 - 0,006x - 0,0049 - 0,393 \left( \frac{x^2 - 40x + 400}{100} \right)$$

$$Y = 2,849 - 0,006x - 0,0049 - 0,00393x^2 + 0,1557x - 1,5573$$

$$Y = -0,0039x^2 + 0,1559x + 1,2868$$

Dari persamaan tersebut diperoleh:

X	Y
5	1,96805
15	2,74105
25	2,72805
35	1,92905

$$Y = -0,0039x^2 + 0,1559x + 1,287$$

$$Y' = 0,1559 - 2(0,0039)x$$

$$0 = 0,1559 - 0,0078x$$

$$0,0078x = 0,1559$$

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

$$X = 0,1559 / 0,0078$$

$$\text{Jadi } X = 19,99$$

$$X = 20,0$$

$$Y = 1,287 + 0,156 (20,0) - 0,0039 (20,0)^2$$

$$\text{Maka } Y = 2,847$$



**Lampiran 7. Analisis Protein *Cylotella* sp.**

Perlakuan	Ulangan (%DW)			Total	Rerata ± SD
	1	2	3		
A (5 ppt)	11,161	11,594	12,003	34,758	11,586 ± 0,42
B (15 ppt)	15,366	16,055	15,489	46,910	15,637 ± 0,37
C (25 ppt)	13,508	14,059	14,122	41,690	13,897 ± 0,34
D (35 ppt)	13,272	13,030	13,266	39,568	13,189 ± 0,14
	Total			162,926	54,309

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{r \times t} = \frac{(162,926)^2}{3 \times 4} = 2212,067$$

$$JK \text{ Total} = (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + (B2)^2 + (B3)^2 + \dots + (D3)^2 - FK$$

$$= ((11,161)^2 + (11,594)^2 + (12,003)^2 + (15,366)^2 + \dots + (13,266)^2) - 2212,067$$

$$= 26,26983$$

$$JK \text{ perlakuan} = \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(34,758)^2 + (46,910)^2 + (41,690)^2 + (39,568)^2}{r} - 2212,067$$

$$= 25,37887$$

$$JK \text{ Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 26,26983 - 25,37887$$

$$= 0,89096$$

Tabel Sidik Ragam

	Derajat Bebas	JK	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	3	25,37887	8,45962	75,960*	4,07
Acak	8	0,89096	0,11137		
Total	11	26,26983			

Keterangan : \*= berbeda nyata

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

$$= 0,272$$

**Lampiran 7. (lanjutan)**

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,272 \\ &= 0,628 \end{aligned}$$

Tabel BNT

Rata-rata Perlakuan	A (12,437)	D (13,261)	C (14,402)	B(15,471)	Notasi
A (12,437)	—	—	—	—	a
D (13,261)	1,604*	—	—	—	b
C (14,402)	2,311*	0,707*	—	—	c
B(15,471)	4,051*	2,447*	1,740*	—	d

Keterangan : \* = berbeda nyata

Uji *Polinomial Ortogonal*

Perlakuan	Data (Total/Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A (5 ppt)	34,758	-3	1	-1
B (15 ppt)	46,910	-1	-1	3
C (25 ppt)	41,690	1	-1	-3
D (35 ppt)	39,568	3	1	1
Q=ΣCi.Ti		9,21069	-14,27405	20,47322
Kn=Σ(Ci <sup>2</sup> )*n		60	12	60
JK=Q <sup>2</sup> /Kn		1,41395	16,97904	6,98588

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= (1,41395) + (16,97904) + (6,98588) \\ &= 25,37887 \end{aligned}$$

## Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
1. Perlakuan	3	25,37887			
- Linier	1	1,41395	1,41395	12,696*	5,32
- Kuadratik	1	16,97904	16,97904	152,457*	5,32
- Kubik	1	6,98588	6,98588	62,727*	5,32
2. Acak	8	0,89096	0,11137		
3 Total	11				

Keterangan : \* = berbeda nyata



**Lampiran 7. (lanjutan)**

Menghitung R Square ( $R^2$ ) :

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Linier}} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{1,41395}{1,41395 + 0,89096} \\ &= 0,613 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Kuadrat}} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadrat}}{\text{JK Regresi Kuadrat} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{16,97904}{16,97904 + 0,89096} \\ &= 0,950 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2_{\text{Kubik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\ &= \frac{6,98588}{6,98588 + 0,89096} \\ &= 0,887 \end{aligned}$$

Karena  $R^2$  kuadrat >  $R^2$  kubik >  $R^2$  linier, persamaan regresi kuadrat:

$$\bar{X} = \frac{5+15+25+35}{4} = 20$$

$$d = 10$$

$$u_j = \frac{x-20}{10}$$

untuk  $x = 5$ ; maka  $u_j = (5-20) : 10 = -1,5$

untuk  $x = 15$ ; maka  $u_j = (15-20) : 10 = -0,5$

untuk  $x = 25$ ; maka  $u_j = (25-20) : 10 = 0,5$

untuk  $x = 35$ ; maka  $u_j = (35-20) : 10 = 1,5$

## Lampiran 7. (lanjutan)

$x_j$	5	15	25	35	$\Sigma x_j =$	80
$u_j$	-1,5	-0,5	0,5	1,5	$\Sigma u_j =$	0
$u_j^2$	2,25	0,25	0,25	2,25	$\Sigma u_j^2 =$	5
$u_j^4$	5,0625	0,0625	0,0625	5,0625	$\Sigma u_j^4 =$	10,250
$y_{ij}$	34,758	46,910	41,690	39,568	$\Sigma y_{ij} =$	162,926
$u_j \cdot y_{ij}$	-52,136	-23,455	20,845	59,352	$\Sigma u_j y_{ij} =$	4,605
$u_j^2 \cdot y_{ij}$	78,205	11,728	10,422	89,028	$\Sigma u_j^2 y_{ij} =$	189,383

Persamaan 1

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

$$4,605 = b_1 \times 3 \times 5$$

$$4,605 = 15 b_1$$

$$b_1 = 0,307$$

Persamaan 2

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

$$162,926 = b_0 \times 12 + b_2 \times 3 \times 5$$

$$162,926 = 12 b_0 + 15 b_2$$

Persamaan 3

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

$$189,383 = b_0 \times 3 \times 5 + b_2 \times 3 \times 10,250$$

$$189,383 = 15 b_0 + 30,75 b_2$$

Substitusi Persamaan 2 dan 3

$$162,926 = 12 b_0 + 15 b_2 \quad | \times 5 \quad | \quad 814,629 = 60 b_0 + 75 b_2$$

$$189,383 = 15 b_0 + 30,75 b_2 \quad | \times 4 \quad | \quad 757,533 = 60 b_0 + 123 b_2$$

$$57,096 = -48 b_2$$

$$b_2 = -1,190$$

Substitusikan  $b_2$  pada salah satu persamaan untuk mencari  $b_0$

$$162,926 = 12 b_0 + 15 b_2$$

$$162,926 = 12 b_0 + 15 (-1,190)$$

**Lampiran 7. (lanjutan)**

$$162,926 = 12 b_0 - 17,842$$

$$12 b_0 = 162,926 + 17,842$$

$$b_0 = 180,768 : 12$$

$$b_0 = 15,064$$

Sehingga didapatkan persamaan uj sebagai berikut :

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

$$Y = 15,064 + 0,3070uj - 1,190uj^2$$

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

$$Y = 15,064 + 0,307 uj - 1,190 uj^2$$

$$Y = 15,064 + 0,307 \left(\frac{x-20}{10}\right) - 1,190 \left(\frac{x-20}{10}\right)^2$$

$$Y = 15,064 + 0,307 \left(\frac{x}{10} - \frac{20}{10}\right) - 1,190 \left(\frac{x}{10} - \frac{20}{10}\right)^2$$

$$Y = 15,064 + 0,0307x - 0,6140 - 1,190 \left(\frac{x^2 - 40x + 400}{100}\right)$$

$$Y = 15,064 + 0,0307 x - 0,6140 - 0,01190 x^2 + 0,4758x - 4,758$$

$$Y = -0,0119x^2 + 0,5065x + 9,692$$

Dari persamaan tersebut diperoleh :

X	Y
5	11,927
15	14,612
25	14,917
35	12,842

$$Y = -0,0119x^2 + 0,5065x + 9,692$$

$$Y = 9,692 + 0,5065x - 0,0119x^2$$

$$Y' = 0,5065 - 2(0,0119)x$$

$$0 = 0,5065 - 0,0238x$$

$$0,0238x = 0,5065$$

$$X = 0,5065 : 0,0238$$

**Lampiran 7. (lanjutan)**

Jadi  $X = 21,281$

$$Y = 9,692 + 0,506 (21,281) - 0,0119 (21,281)^2$$

Maka  $Y = 15,0709$

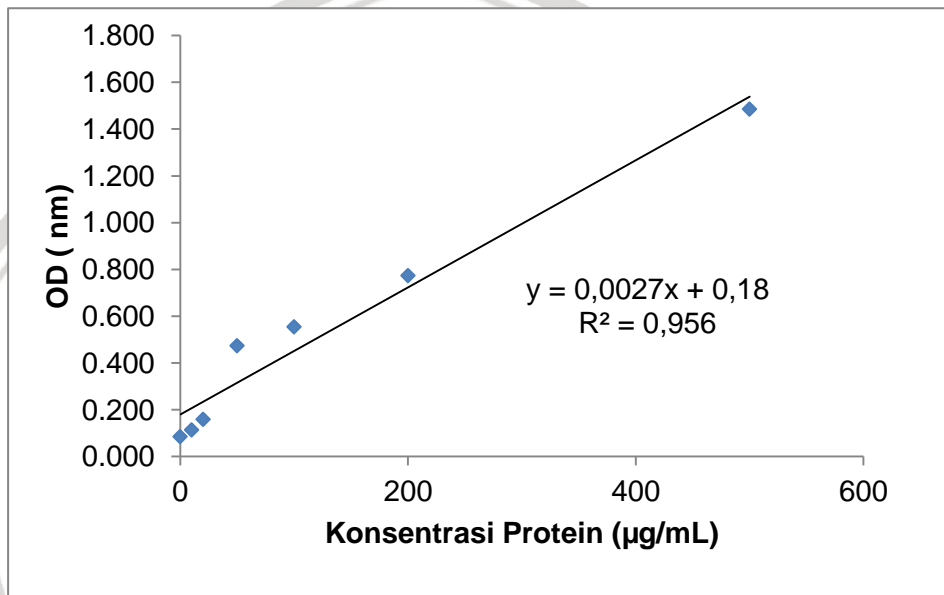


**Lampiran 8. Standar Konsentrasi BSA**

Standar BSA

Stock solution (µL)	0	2,5	5	12,5	25	50	125	250	500
Water (µL)	500	497,5	495	487,5	475	450	375	250	0
Protein Conc. (µg/mL)	0	10	20	50	100	200	500	1000	2000
OD	0,086	0,114	0,160	0,475	0,555	0,775	1,486	1,926	1,395

Grafik Regresi Standar BSA





**Lampiran 9.** Data Kualitas Air pada Kultur *Cyclotella* sp. selama Penelitian

- Daya Serap Nitrat *Cyclotella* sp.

Perlakuan	Ulangan	Konsentrasi Nitrat (ppm)			Serapan Nitrat (ppm)	N Terserap (%)			Total N Terserap (%)	Rerata N Terserap (%)
		H0	H5	H7		H0	H5	H7		
A (5 ppt)	1	0,377	0,197	0,176	0,201	0,00	47,75	5,57	53,32	54,41
	2	0,394	0,216	0,172	0,222	0,00	45,18	11,17	56,35	
	3	0,308	0,172	0,143	0,165	0,00	44,16	9,42	53,57	
B (15ppt)	1	0,314	0,128	0,099	0,215	0,00	59,24	9,24	68,47	70,47
	2	0,360	0,134	0,101	0,259	0,00	62,78	9,17	71,94	
	3	0,324	0,119	0,094	0,230	0,00	63,27	7,72	70,99	
C (25 ppt)	1	0,331	0,154	0,128	0,203	0,00	53,47	7,85	61,33	60,28
	2	0,397	0,176	0,152	0,245	0,00	55,67	6,05	61,71	
	3	0,365	0,163	0,154	0,211	0,00	55,34	2,47	57,81	
D (35 ppt)	1	0,386	0,194	0,171	0,215	0,00	49,74	5,96	55,70	58,50
	2	0,305	0,159	0,119	0,186	0,00	47,87	13,11	60,98	
	3	0,352	0,178	0,145	0,207	0,00	49,43	9,38	58,81	

Keterangan : H0 (fase adaptasi), H5 (fase puncak), H7 (fase stasioner)

$$\text{Fase Adaptasi} = \frac{\text{nitrat fase adaptasi} - \text{nitrat fase adaptasi}}{\text{nitrat fase adaptasi}} \times 100\% \quad \text{Fase Stasioner} = \frac{\text{nitrat fase puncak} - \text{nitrat fase stasioner}}{\text{nitrat fase adaptasi}} \times 100\%$$

$$\text{Fase Puncak} = \frac{\text{nitrat fase adaptasi} - \text{nitrat fase puncak}}{\text{nitrat fase adaptasi}} \times 100\% \quad \text{Total N Terserap} = \frac{\text{nitrat fase adaptasi} - \text{nitrat fase stasioner}}{\text{nitrat fase adaptasi}} \times 100\%$$

**Lampiran 9. (Lanjutan)**

- Daya Serap Fosfat *Cyclotella* sp.

Perlakuan	Ulangan	Konsentrasi Fosfat (ppm)			Serapan Fosfat (ppm)	P Terserap (%)			Total P Terserap (%)	Rerata P Terserap (%)
		H0	H5	H7		H0	H5	H7		
A (5 ppt)	1	0,971	0,489	0,367	0,604	0,00	49,64	12,56	62,20	58,73
	2	0,846	0,475	0,380	0,466	0,00	43,85	11,23	55,08	
	3	0,954	0,487	0,392	0,562	0,00	48,95	9,96	58,91	
B (15ppt)	1	0,874	0,313	0,208	0,666	0,00	64,19	12,01	76,20	76,16
	2	0,956	0,306	0,201	0,755	0,00	67,99	10,98	78,97	
	3	0,884	0,322	0,236	0,648	0,00	63,57	9,73	73,30	
C (25 ppt)	1	0,849	0,352	0,244	0,605	0,00	58,54	12,72	71,26	72,47
	2	0,994	0,365	0,258	0,736	0,00	63,28	10,76	74,04	
	3	0,828	0,347	0,231	0,597	0,00	58,09	14,01	72,10	
D (35 ppt)	1	0,962	0,449	0,336	0,626	0,00	53,33	11,75	65,07	63,16
	2	0,917	0,436	0,317	0,600	0,00	52,45	12,98	65,43	
	3	0,880	0,444	0,361	0,519	0,00	49,55	9,43	58,98	

Keterangan : H0 (fase adaptasi), H5 (fase puncak), H7 (fase stasioner)

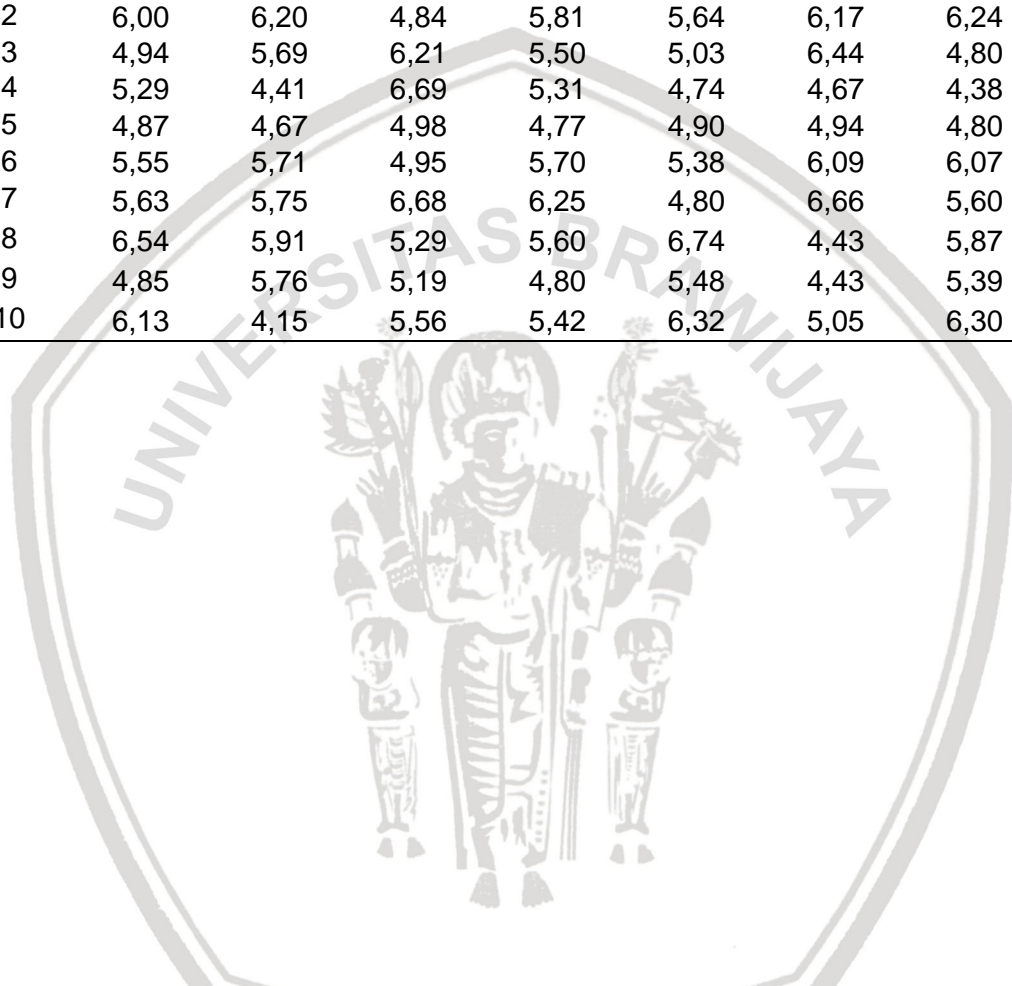
$$\text{Fase Adaptasi} = \frac{\text{fosfat fase adaptasi} - \text{fosfat fase adaptasi}}{\text{fosfat fase adaptasi}} \times 100\% \quad \text{Fase Stasioner} = \frac{\text{fosfat fase puncak} - \text{fosfat fase stasioner}}{\text{fosfat fase adaptasi}} \times 100\%$$

$$\text{Fase Puncak} = \frac{\text{fosfat fase adaptasi} - \text{fosfat fase puncak}}{\text{fosfat fase adaptasi}} \times 100\% \quad \text{Total P Terserap} = \frac{\text{fosfat fase adaptasi} - \text{fosfat fase stasioner}}{\text{fosfat fase adaptasi}} \times 100\%$$

**Lampiran 9. (Lanjutan)**

- Oksigen terlarut (DO) pada Kultur *Cyclotella* sp.

Hari Ke-	DO (mg/L)											
	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	5,70	5,88	5,57	5,43	5,43	5,21	5,51	5,47	5,15	5,38	5,33	6,74
1	4,65	6,34	6,38	6,09	4,31	4,48	4,12	4,17	4,10	5,88	4,74	6,00
2	6,00	6,20	4,84	5,81	5,64	6,17	6,24	5,35	5,95	5,52	5,30	6,13
3	4,94	5,69	6,21	5,50	5,03	6,44	4,80	6,12	6,39	4,84	5,17	5,33
4	5,29	4,41	6,69	5,31	4,74	4,67	4,38	4,88	4,49	4,49	4,42	5,43
5	4,87	4,67	4,98	4,77	4,90	4,94	4,80	4,92	4,83	4,91	4,75	4,82
6	5,55	5,71	4,95	5,70	5,38	6,09	6,07	5,63	5,84	6,23	5,63	6,61
7	5,63	5,75	6,68	6,25	4,80	6,66	5,60	6,04	5,87	4,89	5,72	5,38
8	6,54	5,91	5,29	5,60	6,74	4,43	5,87	4,98	6,33	4,60	5,18	5,59
9	4,85	5,76	5,19	4,80	5,48	4,43	5,39	4,42	6,70	5,34	6,47	6,36
10	6,13	4,15	5,56	5,42	6,32	5,05	6,30	6,67	4,62	5,58	5,80	4,73



Lampiran 9. (Lanjutan)

- pH pada Kultur *Cyclotella* sp.

Hari Ke-	pH											
	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	8,04	8,25	8,16	8,19	8,22	8,20	8,22	8,16	8,22	8,07	8,38	8,23
1	8,27	8,49	8,08	8,17	8,20	8,25	8,49	8,43	8,25	8,24	8,19	8,40
2	8,03	8,45	8,34	8,38	8,55	8,56	8,49	8,50	8,48	8,30	8,25	8,41
3	8,23	8,44	8,22	8,28	8,15	8,16	8,29	8,42	8,10	8,15	8,30	8,13
4	8,61	8,51	8,57	8,12	8,29	8,17	8,19	8,02	8,27	8,14	8,02	8,16
5	8,44	8,14	8,37	8,17	8,14	8,15	8,29	8,26	8,38	8,19	8,09	8,20
6	8,57	8,59	8,58	8,25	8,22	8,26	8,20	8,04	8,19	8,16	8,05	8,09
7	8,43	8,31	8,36	8,27	8,12	8,17	8,22	8,43	8,29	8,28	8,24	8,31
8	8,59	8,49	8,14	8,67	8,40	8,49	8,23	8,98	8,55	8,67	8,71	8,48
9	8,39	8,10	8,81	8,47	8,75	8,74	8,30	8,35	8,41	8,49	8,62	8,43
10	8,28	8,28	8,07	8,59	8,70	8,48	8,33	8,52	8,83	8,77	8,52	8,46



**Lampiran 9. (Lanjutan)**

- Suhu pada Kultur *Cyclotella* sp.



Hari Ke-	Suhu (°C)											
	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	25,30	25,30	25,30	25,30	25,30	25,30	25,30	25,30	25,30	25,30	25,30	25,30
1	25,68	25,15	25,01	25,58	25,61	25,13	25,05	25,26	25,41	25,00	25,65	25,57
2	25,10	25,04	25,86	25,20	25,10	25,00	25,00	25,00	25,10	25,10	24,70	24,80
3	25,53	24,96	25,37	25,51	25,90	25,32	25,45	24,73	25,61	25,44	25,21	24,72
4	26,40	26,50	27,00	26,60	26,60	26,60	26,60	26,70	26,70	26,10	26,80	28,80
5	26,26	25,93	27,03	26,30	26,02	26,50	27,10	26,25	27,16	26,64	27,18	26,76
6	24,90	25,90	26,50	25,70	26,60	26,50	26,80	27,20	26,80	26,60	27,10	26,60
7	25,13	26,10	25,75	25,97	24,78	25,38	27,09	27,11	26,49	27,12	26,99	27,19
8	27,42	26,24	26,67	28,15	26,78	27,88	28,05	25,34	28,60	27,74	26,02	25,60
9	28,58	25,74	25,95	27,00	26,12	28,37	26,57	25,46	27,09	27,89	27,78	24,73
10	25,67	26,26	24,66	24,72	28,67	26,01	27,44	24,92	24,85	25,66	25,91	27,27







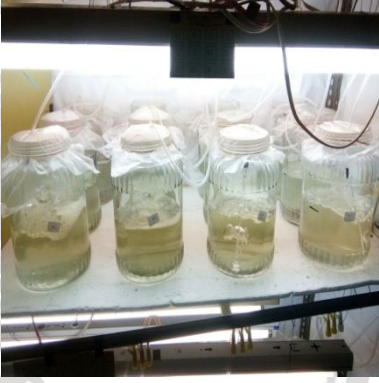

**Lampiran 10. Dokumentasi Kegiatan Penelitian**


- Persiapan Penelitian

No	Kegiatan	Dokumentasi
1	Sterilisasi panas basah alat yang akan digunakan	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
2	Persiapan tempat kultur stok inokulan <i>Cyclotella</i> sp.	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>



- Pelaksanaan Penelitian

No	Kegiatan	Dokumentasi
1	Persiapan media bersalinitas 5 ppt, 15 ppt, 25 ppt dan 35 ppt.	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>

No	Kegiatan	Dokumentasi
2	<p>Persiapan tempat kultur, pemberian aerasi, pemberian pupuk, vitamin dan silikat dengan dosis 1 mL/L serta pemberian inokulan <i>Cyclotella</i> sp. dengan kepadatan <math>25 \times 10^4</math> sel/mL pada media</p>	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
3	<p>Sampel awal tebar <i>Cyclotella</i> sp. (H0 kulttur)</p>	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
4	<p>Sampel <i>Cyclotella</i> sp. pada fase puncak kepadatan tertinggi (H5 kultur)</p>	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>

No	Kegiatan	Dokumentasi
5	Sampel <i>Cyclotella</i> sp. fase stasioner (H7 kultur)	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>

- Pengukuran Nitrat dan Fosfat *Cyclotella* sp.

No	Kegiatan	Dokumentasi
1	Persiapan <i>kurs porselen</i> 30 mL untuk melakukan pengerakan nitrat yang nantinya akan di tetesi asam fenol disulfonik (6-7 tetes), NH <sub>4</sub> OH 1:1 (maksimal 6 mL)	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
2	Persiapan Erlenmeyer 50 mL untuk sampel fosfat	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>




No	Kegiatan	Dokumentasi
3	<p>Sampel (25 mL) uji fosfat <i>Cyclotella</i> sp. yang telah ditetesi larutan <i>ammonium molybdate</i> (1 mL) dan <math>\text{SnCl}_2</math> (5 tetes).</p>	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
4	<p>Cuvet untuk tempat sampel yang akan di ukur kadar nitrat dan fosfatnya</p>	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
5	<p>Pengukuran nitrat dan fosfat menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang nitrat 410 nm dan fosfat 690 nm</p>	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>




- Uji Biomassa *Cyclotella* sp.



No	Kegiatan	Dokumentasi
1	Penimbangan kertas saring GF/C (dameter 90 mm) sebelum dan sesudah di oven dengan timbangan analitik	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
2	Penyaringan sampel <i>Cyclotella</i> sp. menggunakan <i>vacuum pump</i> menggunakan kertas saring yang telah di oven	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
3	Sampel <i>Cyclotella</i> sp. yang telah di <i>vacuum pump</i> , dan dilakukan penimbangan	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>



No	Kegiatan	Dokumentasi
4	Kertas saring + sampel yang telah ditimbang, dioven selama 2 jam dengan suhu 105°C	 <p data-bbox="928 707 1310 741">(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
5	Kertas saring + sampel <i>Cyclotella</i> sp. yang telah dioven dimasukkan dalam desikator 30 menit	 <p data-bbox="928 1171 1310 1205">(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
6	Sampel <i>Cyclotella</i> sp. yang telah dioven	 <p data-bbox="928 1664 1310 1697">(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>

No	Kegiatan	Dokumentasi
7	Penimbangan sampel <i>Cyclotella</i> sp. yang telah dioven	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>

-Uji klorofil-a *Cyclotella* sp.

No	Kegiatan	Dokumentasi
1	Sampel klorofil-a di <i>centrifuge</i>	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>
2	Supernatan dibuang	 <p>(Dokumentasi Pribadi, 2018).</p>


No	Kegiatan	Dokumentasi
3	Sampel di <i>freezing-thawing</i>	
4	Hasil sampel klorofil-a yang sudah di tambahkan <i>methanol absolute</i> dan telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 5°C.	
5	Sampel klorofil-a yang sudah di spektrofotometer dengan panjang gelombang 632 nm dan 665 nm	

(Dokumentasi Pribadi, 2018).

(Dokumentasi Pribadi, 2018).

(Dokumentasi Pribadi, 2018).

- Uji Protein *Cyclotella* sp.

No	Kegiatan	Dokumentasi
1	Sampel <i>Cyclotella</i> sp. dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit.	
2	Sampel protein yang telah di beri tambahan reagen dan siap dispektrofotometer dengan panjang gelombang 750 nm.	