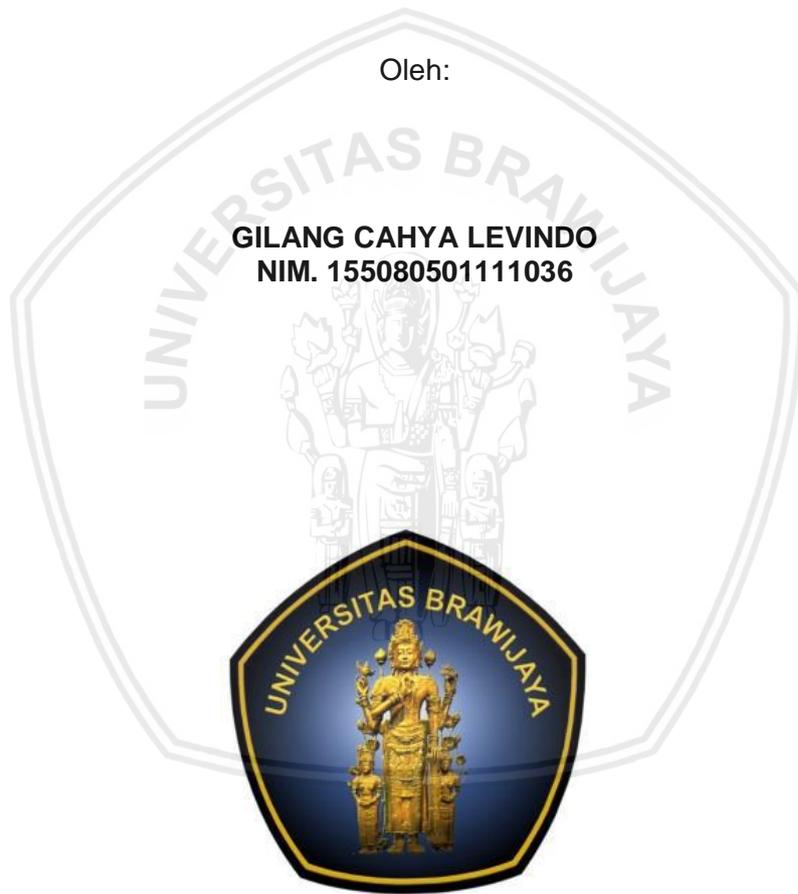


**PENGARUH PEMBERIAN LIMBAH (IKAN LEMURU (*Sardinella lemuru*) DAN
AGAR (*Gracillaria* sp.)) TERFERMENTASI DENGAN FORTIFIKASI FOSFAT
TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA DAN PROTEIN *Nannochloropsis*
sp.**

SKRIPSI

Oleh:

**GILANG CAHYA LEVINDO
NIM. 155080501111036**



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

**PENGARUH PEMBERIAN LIMBAH (IKAN LEMURU (*Sardinella lemuru*) DAN
AGAR (*Gracillaria* sp.)) TERFERMENTASI DENGAN FORTIFIKASI FOSFAT
TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA DAN PROTEIN *Nannochloropsis*
sp.**

SKRIPSI

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

Oleh:

**GILANG CAHYA LEVINDO
NIM. 155080501111036**



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

**PENGARUH PEMBERIAN LIMBAH (IKAN LEMURU (*Sardinella lemuru*) DAN
AGAR (*Gracillaria* sp.)) TERFERMENTASI DENGAN FORTIFIKASI FOSFAT
TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA DAN PROTEIN *Nannochloropsis*
sp.**

Oleh
GILANG CAHYA LEVINDO
NIM. 155080501111036

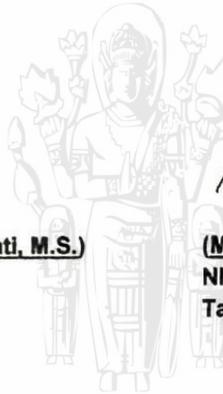
Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II



(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S.)
NIP. 196208051986032001
Tanggal : 15 JUL 2019



(M. Fakhri, S.PI., M.P.)
NIP. 198607172015041001
Tanggal : 15 JUL 2019

Mengetahui,
Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan



(Dr. Ir. Muhammad Firdaus, M.P.)
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 15 JUL 2019



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **Pengaruh Pemberian Campuran Limbah (Ikan Lemuru (*Sardinella lemuru*) dan Agar (*Gracilaria sp.*) Terfermentasi dengan Fortifikasi Fosfat terhadap Pertumbuhan, Biomassa, dan Protein *Nannochloropsis sp.***

Nama Mahasiswa : GILANG CAHYA LEVINDO

NIM : 155080501111036

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

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

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

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji I : Ir. HENY SUPRASTYANI, M.S.

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

Tanggal Ujian : 2 JULI 2019

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan berkah-Nya penyusunan laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu.
2. Keluarga besar yang tak henti-hentinya memberikan dukungan, serta doa sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan tepat waktu.
3. Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S. selaku dosen pembimbing 1 yang telah memberikan bimbingan, saran dan nasihat kepada penulis sehingga penyusunan skripsi ini dapat selesai tepat waktu.
4. M. Fakhri, S.Pi., M.P. yang tidak lelah memberikan bimbingan, saran dan nasihat kepada penulis sehingga penyusunan skripsi ini dapat selesai tepat waktu.
5. Pak Udin, selaku staf laboratorium yang banyak membantu penulis hingga selesainya penyusunan skripsi.
6. Teman – teman satu tim penelitian dan keluarga besar program studi Budidaya Perairan yang telah memberikan dorongan, semangat dan motivasi yang membangun selama proses administrasi dan menyelesaikan skripsi

Akhirnya penulis memanjatkan doa semoga Allah SWT memberikan pahala yang setimpal atas segala bantuan semua pihak yang telah ikhlas membantu penulis dalam menyusun dan menyelesaikan skripsi.

Malang, Juli 2019

Penulis

RINGKASAN

Gilang Cahya Levindo. Skripsi tentang Pengaruh Pemberian Limbah (Ikan Lemuru (*Sardinella lemuru*) dan Agar (*Gracillaria* sp.)) Terfermentasi dengan Fortifikasi Fosfat terhadap Pertumbuhan, Biomassa dan Protein *Nannochloropsis* sp. (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S. dan Muhammad Fakhri, S. Pi., M.P.**)

Nannochloropsis sp. merupakan alga yang mempunyai kandungan protein tinggi, nutrisi lengkap dan mudah dicerna. salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. adalah nutrisi pada media kultur. Mahalnya pupuk PA (*Pro Analys*) menyebabkan dibutuhkan pupuk alternatif lain seperti limbah ikan lemuru dan agar. Limbah ikan lemuru mengandung N yang tinggi dan limbah agar mengandung P dan mineral, namun N:P rasio pupuk limbah belum seimbang, maka dibutuhkan penambahan NaH_2PO_4 .

Tujuan dari penelitian ini untuk menjelaskan pengaruh pemberian pupuk yang berbeda terhadap pertumbuhan, biomassa, dan kandungan protein *Nannochloropsis* sp. dan menentukan dosis pupuk dan fosfat terbaik untuk pertumbuhan, biomassa dan protein *Nannochloropsis* sp.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, dan Laboratorium Hidrologi Divisi Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Desember 2018 – Mei 2019.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuan dalam penelitian terdiri atas perlakuan kontrol yaitu diberi pupuk walne dengan dosis 1 mL/L dan perlakuan pupuk limbah lemuru dan agar dengan penambahan NaH_2PO_4 yang berbeda, dimana dosis 0,6 mL/L dengan penambahan fosfat 1,8 mg (A), 1,2 mL/L dengan penambahan fosfat 3,4 mg (B) dan 1,8 mL/L dengan penambahan fosfat 4,7 mg (C). Parameter utama yang diamati, pertumbuhan, biomassa dan protein, serta parameter penunjang yaitu suhu, pH, salinitas, DO, nitrat dan fosfat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pupuk limbah lemuru dengan dosis yang berbeda berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan, biomassa dan protein *Nannochloropsis* sp. Dosis terbaik pada pupuk limbah ikan lemuru yang diberikan pada media kultur *Nannochloropsis* sp. yaitu pada perlakuan C dengan dosis 1,8 mL/L dengan hasil laju pertumbuhan sebesar $0,547 \text{ hari}^{-1}$ dan biomassa sebesar 0,469 gr/L. Hasil protein terbaik didapat pada perlakuan C sebesar 14,91% nilai ini selaras dengan total serapan nitrat sebesar 47,13% dan serapan fosfat tertinggi 62,62%.

Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan pemberian pupuk limbah ikan lemuru (*S. Lemuru*) dan agar (*Gracillaria* sp.) terfermentasi berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan, biomassa dan protein *Nannochloropsis* sp. dosis terbaik sebesar 1,8 mL/L dan disarankan pada penelitian selanjutnya untuk mencari dosis optimum pupuk limbah ikan lemuru dan agar.

KATA PENGANTAR

Skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Limbah (Ikan lemuru (*S. lemuru*) dan Agar (*Gracillaria* sp.)) Terfermentasi Dengan Fortifikasi Fosfat Terhadap Pertumbuhan, Biomassa dan Protein *Nannochloropsis* sp. ini tersajikan untuk menjelaskan metode penelitian pengaruh pemberian fermentasi dari limbah ikan lemuru dan limbah agar terhadap pertumbuhan, biomassa, dan protein yang dihasilkan oleh mikroalga yang diteliti sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

1. Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S.
2. M. Fakhri, S.Pi., M.P.

Dalam tulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi pendahuluan, tinjauan pustaka dan metode penelitian. 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 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Kegunaan penelitian.....	3
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Biologi <i>Nannochloropsis</i> sp.	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	4
2.1.2 Habitat dan Persebaran.....	5
2.1.3 Reproduksi dan Daur Hidup.....	5
2.1.4 Fase Pertumbuhan	6
2.2 Limbah Ikan Lemuru (<i>S. lemuru</i>)	8
2.3 Limbah Padat Agar (<i>Gracilaria</i> sp.).....	9
2.4 Sistem Kultur.....	9
2.5 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan.....	10
2.5.1 Suhu.....	10
2.5.2 Derajat Keasaman (pH).....	10
2.5.3 Intensitas Cahaya.....	11
2.5.4 Salinitas.....	11
2.5.5 Nutrien.....	12
2.6 Fermentasi	12
2.6.1 Pengertian Fermentasi	12
2.6.2 Macam-Macam Fermentasi	13
2.6.3 EM4.....	13
2.6.4 Molase.....	14
2.7 Pupuk.....	15
2.7.1 Pengertian Pupuk.....	15
2.7.2 Nutrien Pupuk.....	15
2.7.3 Jenis Pupuk.....	16
3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Alat dan Bahan Penelitian	17
3.1.1 Alat Penelitian	17
3.1.2 Bahan Penelitian	17
3.2 Media Penelitian.....	17

3.2.1 Pelaksanaann Penelitian	18
3.3 Metode Penelitian.....	18
3.4 Rancangan Percobaan Penelitian	18
3.5 Prosedur Penelitian	19
3.5.1 Persiapan Penelitian.....	19
3.6 Parameter yang diukur	22
3.6.1 Parameter Utama	22
3.6.2 Parameter Penunjang.....	24
3.7 Analisis Data	25
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Pertumbuhan <i>Nannochloropsis</i> sp.....	27
4.1.1 Fase Pertumbuhan	27
4.1.2 Laju Pertumbuhan Spesifik.....	29
4.2 Biomassa <i>Nannochloropsis</i> sp.	32
4.3 Kandungan Protein <i>Nannochloropsis</i> sp.....	34
4.4 Kualitas Air.....	35
4.4.1 Suhu.....	35
4.4.2 pH.....	35
4.4.4 Oksigen Terlarut.....	36
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi <i>Nannochloropsis</i> sp.....	5
2. Reproduksi <i>Nannochloropsis</i> sp.....	6
3. Fase pertumbuhan Mikroalga.	8
4. Denah Rancangan percobaan.	19
5. Pertumbuhan <i>Nannochloropsis</i> sp.	28
6. Hubungan pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan limbah agar dengan dosis yang berbeda terhadap laju pertumbuhan pesifik <i>Nannochloropsis</i> sp.....	30
7. Nilai serapan nitrat <i>Nannochloropsis</i> sp. dengan dosis pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan agar terfermentasi yang berbeda.	31
8. Nilai serapan fosfat <i>Nannochloropsis</i> sp. dengan pemberian dosis pupuk limbah ikan lemuru yang berbeda.....	32
9. Hubungan pemberian pupuk limbah ikan lemuru dengan dosis yang berbeda terhadap produksi biomassa <i>Nannochloropsis</i> sp.....	33
10. Hubungan pemberian pupuk limbah ikan lemuru dengan dosis berbeda terhadap kandungan protein <i>Nannochloropsis</i> sp.....	34

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-Rata Parameter Uji dengan Pemberian Dosis Limbah Ikan Lemuru dan Agar yang Berbeda Selama Penelitian	27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi Pupuk Walne, Vitamin dan Silikat (FAO, 1991 modifikasi Laing, 1991).....	44
2. Proses Sterilisasi	45
3. Pembuatan Pupuk limbah ikan lemuru dan agar terfermentasi	49
4. Hasil Uji Analisis Proksimat Limbah.	52
5. Hasil Uji Analisis Kimia Pupuk.....	53
6. Perhitungan Range Dosis Perlakuan.	54
7. Pengenceran Inokulan	59
8. Data pertumbuhan <i>Nannochloropsis</i> sp.	60
9. Data laju pertumbuhan spesifik <i>Nannochloropsis</i> sp.	61
10. Data hasil perhitungan <i>Doubling Time Nannochloropsis</i> sp.	62
11. Analisa data Laju pertumbuhan spesifik.....	63
12. Analisa Data Biomassa <i>Nannochloropsis</i> sp.....	67
13. Analisa Data protein <i>Nannochloropsis</i> sp.....	71
14. Data Kualitas Air (Nitrat, Fosfat, suhu, pH, DO, Salinitas) selama penelitian berlangsung.....	75

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pakan alami merupakan pakan yang terbaik untuk proses budidaya ikan. Hal dikarenakan pakan alami mempunyai kandungan nutrisi yang tidak bisa digantikan oleh pakan buatan. Kandungan nutrisi pada pakan alami sangat komplit untuk memenuhi kebutuhan ikan budidaya. Kandungan nutrisi pakan alami sangat tergantung pada media kultur. Media kultur yang bagus yang memenuhi syarat kultur pakan alami (Hewarati dan Agus, 2014).

Nannochloropsis sp. merupakan salah satu alga yang mempunyai tingkat pertumbuhan yang tinggi. Hal ini dikarenakan *Nannochloropsis* sp. berkembang biak melalui pembelahan sel. Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dipengaruhi oleh intensitas cahaya, suhu, salinitas dan nutrisi pada media. (Sari dan Manan, 2012). Pertumbuhan ditandai dengan bertambah besarnya sel atau banyaknya jumlah sel. *Nannochloropsis* sp mampu menggandakan dirinya dalam waktu 24 jam dan pada waktu ekponensial memiliki waktu yang lebih singkat yaitu 3,5 jam dalam satu kali pembelahan.

Pemasalahan dalam budidaya *Nannochloropsis* sp. adalah kebutuhan nutrisi yang berasal dari pupuk PA (*Pro Analys*) yang mahal. Oleh karena itu dibutuhkan pupuk alternatif dengan harga ekonomis dan sesuai kebutuhan. Penumbuhan memerlukan unsur hara yang dapat berasal dari bahan kimia maupun larutan hasil pembusukan atau limbah (Hanjani, 2006).

Limbah pada dasarnya adalah suatu bahan yang terbuang atau dibuang dari suatu sumber aktifitas manusia maupun proses alam dan kurang mempunyai nilai ekonomi. Limbah perikanan dapat berupa ikan yang terbuang, tercecer dan ikan-ikan yang mulai membusuk (Jenie dan Rahayu, 1990). Pemanfaatan ini salah satunya menjadikan pupuk cair organik limbah lemuru (*Sardinella* sp.)

pupuk cair limbah lemuru mempunyai kandungan mineral makro seperti Nitrogen (N) 21 g/L, fosfor (P) 7,3g/L dan kalium (K) 13 g/L. Kandungan mineral mikro pada pupuk ini adalah kalsium (Ca) sebesar 1,4 g/L, magnesium (Mg) 0,13 g/L tembaga (Cu) 0,00017 g/L, mangan (Mn) 0,0014 g/L, chlorin (Cl) 0,62 g/L (Sjaifullah, 2008).

Limbah padat agar mempunyai kandungan karbon organik yang tinggi. Karbon tersebut berasal dari selulosa atau hemiselulosa juga karbohidrat yang sebagai hasil fotosintesis rumput laut. Kandungan selulosa dalam limbah padat agar berkisar 27,38-39,45% (Fithriani, 2007).

Berdasarkan hasil analisis kimia, limbah ikan lemuru dan limbah agar memiliki N organik sebesar 1,06% dan P sebesar 0,032% sehingga didapatkan N/P rasio sebesar 33:1. Oleh karena itu, untuk memenuhi kebutuhan yang optimal diperlukan penambahan NaH_2PO_4 sebagai sumber P tambahan.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan Meritasari, *et al.* (2012) dalam penelitiannya melaporkan bahwa, pemanfaatan limbah lemuru berpengaruh untuk *Chlorella* sp. dengan dosis terbaik 0,75 mL/L. Oleh karena itu, pembuatan pupuk cair yang berasal dari limbah Ikan Lemuru (*Sardinella* sp.) dan digabungkan dengan limbah agar diharapkan menggantikan fungsi dari pupuk walne dalam kultur *Nannochloropsis* sp. dengan lebih optimal.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh pemberian pupuk dan fortifikasi fosfat pada produksi pertumbuhan, biomassa dan protein *Nannochloropsis* sp.?
2. Berapa dosis pemberian pupuk dan fortifikasi fosfat terbaik terhadap pertumbuhan, biomassa dan protein?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menjelaskan pengaruh pemberian dosis pupuk dan fortifikasi fosfat terhadap pertumbuhan, biomassa, dan protein *Nannochloropsis* sp.
2. Menentukan dosis pupuk dan fortifikasi fosfat terbaik untuk pertumbuhan, biomassa dan protein pada *Nannochloropsis* sp.

1.4 Hipotesis

H_0 : Pemberian dosis pupuk dan fortifikasi fosfat tidak mempengaruhi pertumbuhan biomassa, laju pertumbuhan dan protein *Nannochloropsis* sp.

H_1 : Pemberian dosis pupuk yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan biomassa, laju pertumbuhan dan protein *Nannochloropsis* sp.

1.5 Kegunaan penelitian

Kegunaan penelitian adalah sebagai informasi mengenai pemberian dosis pupuk dan fortifikasi fosfat dan jenis pupuk baru untuk produksi pertumbuhan, biomassa dan protein *Nannochloropsis* sp.

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, dan Laboratorium Hidrologi Divisi Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Desember 2018-Mei 2019.

2. TINJAUAN PUSTAKA

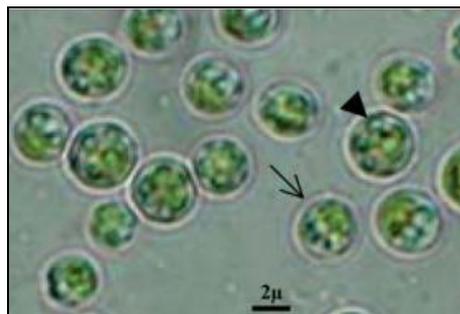
2.1 Biologi *Nannochloropsis* sp.

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *Nannochloropsis* sp. menurut Hibberd (1981), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Chromista
Super Divisi	: Eukaryotes
Divisi	: Chroniophyta
Kelas	: Eustigmatophyceae
Ordo	: Eustigmatales
Famili	: Monodopsidaceae
Genus	: <i>Nannochloropsis</i>
Spesies	: <i>Nannochloropsis</i> sp

Nannochloropsis sp. memiliki ukuran sel 2-4 mikron berbentuk bulat memanjang, warna kehijauan tidak motil dan tidak berflagel, memiliki kloroplas yang berbentuk stigma yang sensitif terhadap cahaya dan mengandung klorofil A. *Nannochloropsis* sp. bersifat kosmopolit, dapat tumbuh pada salinitas 29-35 ppt, suhu optimal 30°C dengan intensitas 1000 - 10.000 lux. (Facrullah ,2011). Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dalam kultur dapat ditandai dengan tambah besarnya sel atau bertambah banyaknya jumlah sel yang secara langsung dapat berpengaruh dengan kepadatan *Nannochloropsis* sp. (Bawias, *et al.*, 2018). Morfologi *Nannochloropsis* sp. dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi *Nannochloropsis* sp. (Gwo, *et al.*,2005).

2.1.2 Habitat dan Persebaran

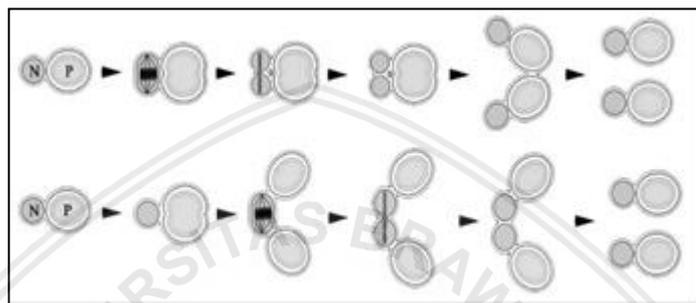
Penyebaran habitat mikroalga biasanya dibagi menjadi dua di air tawar (limnoplankton) dan air laut (Holoplankton), sedangkan sebaran berdasarkan oleh distribusi vertikal di perairan meliputi plankton yang hidup di zona euphotik, hidup di zona disphotik, hidup di zona aphotik dan hidup didasar perairan/bentik (Eryanto, *et al.*, 2003).

2.1.3 Reproduksi dan Daur Hidup

Mikroalga yang berkembang secara aseksual memiliki sel autospora. Proses aseksual terjadi pembelahan berlipat ganda dari sel induk dari proses autosporulasi. Autosporulasi merupakan reproduksi aseksual dari alga secara umum. Empat sel anak mendapatkan dinding sel yang terbentuk di dalam sel induk. Setelah pematangan sel- sel yang baru terbentuk, dinding sel induk akan pecah, sehingga sel hasil pembelahan akan terbebas dan sisa dari sel induk akan dikonsumsi sebagai makanan oleh sel yang baru terbentuk (Safi *et al.*, 2014).

Reproduksi perkembangbiakan *Nannochloropsis* sp. terjadi secara aseksual yaitu dengan pembelahan sel atau pemisahan autospora dari sel induknya. Reproduksi sel ini diawali dengan pertumbuhan sel yang membesar. Periode selanjutnya setiap sel akan membelah diri dan menghasilkan 2 dan 4 autospora. Autospora adalah spora non flagella yang bentuknya menyerupai

induknya tetapi mempunyai ukuran tubuh yang lebih kecil. Autospora yang telah dihasilkan akan dibebaskan dari sel induk dengan cara penghancuran dinding sel dan akan tumbuh hingga mencapai ukuran sel induk. Tahap selanjutnya terbentuknya sel induk muda yang merupakan tingkat ahir, yang disusul dengan pelepasan sel anak (Sahira, *et al.*, 2017). Reproduksi *Nannochloropsis* sp. dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Reproduksi *Nannochloropsis* sp. (Murakami dan Hasimoto 2009).

2.1.4 Fase Pertumbuhan

Nannochloropsis sp. berkembang secara aseksual, dengan pembelahan sel atau pemisahan autospora dari sel induknya. Pertumbuhan mikroalga ditandai dengan bertambahnya ukuran sel atau jumlah sel. Kepadatan sel tersebut selanjutnya dapat digunakan untuk mengetahui pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. (Facrullah, 2011).

a. Fase Adaptasi

Fase adaptasi merupakan tahapan awal yang dilalui mikroalga untuk tumbuh, namun tidak semua mikroalga memiliki waktu adaptasi yang sama karena dipengaruhi beberapa hal. Beberapa parameter yang mempengaruhi fase adaptasi yaitu jenis dan umur sel mikroorganisme, ukuran inokulan dan kondisi media tumbuh (Regista, *et al.*, 2017). Lamanya fase adaptasi tergantung pada inokulan yang ditanam, inokulan dari kultur yang sudah tua akan mengalami fase lag yang lama.

b. Fase Eksponensial

Fase pertumbuhan eksponensial yaitu sel-sel membelah diri dengan cepat. Fase pertumbuhan dengan tingkat penyerapan CO₂ dan laju pembentukan biomassa yang tinggi terjadi pada fase eksponensial. Pada fase eksponensial juga terjadi penyerapan nutrisi dari media secara cepat (Prayitno, 2016).

Fase eksponensial terjadi berkisar antara hari ke 4 sampai ke 8. Fase eksponensial ditandai dengan naiknya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat beberapa kali lipat. Pada fase eksponensial sel alga sedang aktif melakukan perkembangan dengan cara pembelahan (Ru'yatin, *et al.*, 2015).

c. Fase Stasioner

Fase stasioner merupakan fase yang terjadi ketika laju kematian sama dengan laju produksi sehingga populasi *Nannochloropsis sp.* pada fase ini tetap. Nutrien yang terdapat di perairan sudah mulai berkurang sehingga pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* menjadi tetap. Pada umumnya fase ini terjadi pada hari ke 7 (Arifah, *et al.*, 2017).

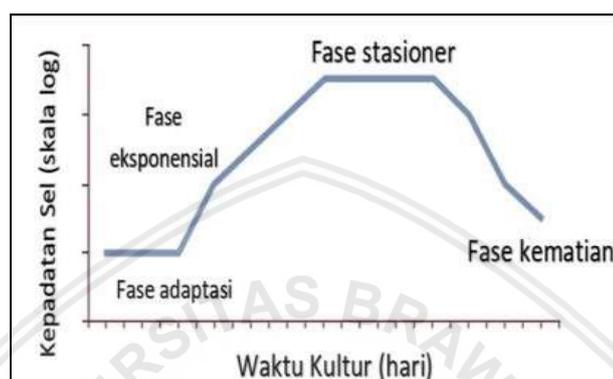
Penurunan laju pertumbuhan mikroalga mulai terjadi pada fase ini dibandingkan dengan laju pertumbuhan pada fase logaritmik. Pada fase ini laju reproduksi dan laju kematian sebanding. Sehingga jumlah mikroalga relatif tetap karena tidak terjadi penambahan atau pengurangan yang tinggi (Mcvey, 1993).

d. Fase Kematian

Fase kematian merupakan penurunan jumlah organisme kultur. Fase ini terjadi setelah melewati fase stasioner. Laju kematian yang lebih tinggi daripada laju reproduksi merupakan salah satu tanda bahwa pertumbuhan mikroalga sedang dalam tahap stasioner (Hermanto, *et al.*, 2011).

Fase kematian ditandai dengan penurunan jumlah sel mikroalga. Penurunan pertumbuhan disebabkan oleh kepadatan sel yang semakin meningkat dan

jumlah nutrisi yang berkurang. Laju pertumbuhan sel mikroalga pada media kultur tidak sebanding dengan kandungan nutrisinya. Fase kematian yaitu kematian sel mikroalga lebih cepat dibanding dengan pertumbuhannya (Gunawan dan wianto, 2016). Grafik fase pertumbuhan mikroalga dapat di lihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Fase pertumbuhan Mikroalga (Creswell,2010).

2.2 Limbah Ikan Lemuru (*S. lemuru*)

Limbah pada dasarnya adalah suatu bahan yang terbuang atau dibuang dari suatu sumber aktifitas manusia, maupun proses alam dan tidak atau belum mempunyai nilai ekonomi, bahkan dapat mempunyai nilai ekonomi negatif. Limbah perikanan dapat berupa ikan yang terbuang, tercecer, dan sisa olahan yang menghasilkan cairan dan pemotongan, pencucian dan pengolahan produk (Jenie dan Rahayu, 1990).

Ikan lemuru (*S. lemuru*) jarang dikonsumsi dalam kondisi segar karena memiliki banyak duri dan berukuran kecil. Hal ini menyebabkan ikan lemuru susah diolah ataupun dikonsumsi. Ikan lemuru yang tidak dibeli pengepul atau pabrik pengalengan menjadi ikan sisa dengan harga jual murah. Di kalangan penjual ikan segar, lemuru kurang diminati karena gampang busuk dan mudah rusak (Sa'diyah, *et al.*, 2016).

2.3 Limbah Padat Agar (*Gracilaria sp.*)

Rumput laut telah lama dimanfaatkan sejak lama oleh masyarakat sebagai bahan pangan, pakan ataupun obat-obatan. Salah satu jenis rumput laut yaitu *Gracilaria sp.* Rumput laut jenis *agarophyte* yang dapat menghasilkan hidrokoloid yang disebut agar. Agar merupakan polisakarida rantai panjang yang disusun oleh ulangan dari pasangan dua unit molekul agarosa dan agaropektin (Anggadireja, *et al.*, 2011).

Kebutuhan agar yang terus meningkat mengakibatkan produksi agar pun meningkat, demikian pula limbah yang dihasilkan. Limbah agar yang dihasilkan mencapai 65-70% dari total bahan baku. Maka limbah padat yang dihasilkan terus meningkat dari tahun ke tahun. Penumpukan limbah menjadi masalah kebutuhan dan sarana penimbunan yang harus memadai (Kim, *et al.*, 2007).

2.4 Sistem Kultur

Sistem kultur mikroalga yang paling sederhana yaitu salah satunya dengan sistem *batch culture*. Pada sistem *batch culture* ini, fase pertumbuhan mikroalga terdapat 4 fase yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Sistem *batch culture* merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan biomassa mikroalga. Hal ini dikarenakan dalam sistem *batch culture* akan mengontrol pembentukan nutrisinya. Kekurangan gizi dapat mempengaruhi sintesis aktivitas enzim lipid (Pratiwi, *et al.*, 2009).

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. Sedangkan kekurangan teknik *batch culture* 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).

2.5 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan

2.5.1 Suhu

Suhu mempengaruhi efisiensi fotosintesis dan merupakan factor yang menentukan pertumbuhan mikroalga (Afriza, *et al.*, 2015). Suhu adalah salah satu faktor yang berpengaruh terhadap produktifitas mikroalga. Setiap mikroalga mempunyai suhu optimalnya tersendiri. Peningkatan suhu air menyebabkan peningkatan aktivitas sel sehingga metabolisme berjalan lebih cepat. Akan tetapi suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan kematian sel mikroalga dengan cepat. Suhu optimal untuk pertumbuhan mikroalga berkisar 15°C sampai 30°C (Regista, 2017).

Suhu dapat berpengaruh terhadap aktivitas metabolisme organisme. Setiap mikroalga mempunyai suhu optimalnya tersendiri. Kisaran suhu optimal untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. yaitu 25°C-30°C (Arifah, *et al.*, 2017).

2.5.2 Derajat Keasaman (pH)

Keberhasilan teknik kultur mikroalga dipengaruhi oleh factor lingkungan, salah satu hal yang perlu diperhatikan adalah derajat keasaman (pH) agar metabolisme sel mikroalga tidak terganggu. Perubahan nilai pH yang drastis dapat mempengaruhi kerja enzim serta dapat menghambat proses fotosintesis dan pertumbuhan mikroalga. Kisaran pH media kultur yang sesuai bagi kehidupan *Nannochloropsis* sp. yaitu antara 6 – 8 (Masithah, *et al.*, 2011).

Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. selain dipengaruhi oleh ketersediaan nutrient juga dipengaruhi oleh faktor dari lingkungan. Faktor lingkungan yang mendukung pertumbuhan *Nannochloropsis* sp adalah suhu, oksigen terlarut (DO), salinitas dan pH. Nilai keasaman pH merupakan faktor yang penting bagi

pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. kisaran pH optimal untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. yaitu 7-8 (Jadid, *et al.*, 2017).

2.5.3 Intensitas Cahaya

Nannochloropsis sp. dikultur dengan intensitas cahaya 4000 lux. Intensitas cahaya tersebut masih dalam rentang optimum untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. intensitas cahaya yang optimum untuk *Nannochloropsis* sp. yaitu 1000-10.000 lux. Kebutuhan cahaya dipengaruhi kepadatan yang dikultur. Cahaya berperan sebagai membantu fotosintesis (Cahyaningsih, 2010).

Intensitas cahaya yang tinggi pada saat kultur menyebabkan pertumbuhan sel fitoplankton mendapatkan kepadatan tinggi. Intensitas cahaya yang optimal untuk kultur *Nannochloropsis* sp. yaitu 4000 lux (Manan, 2012). Kurangnya cahaya yang dibutuhkan untuk fotosintesis akan menyebabkan fotosintesis yang berlangsung tidak normal sehingga mengganggu metabolisme (Sobari, *et al.*, 2013).

2.5.4 Salinitas

Salinitas berpengaruh terhadap tingkat pertumbuhan bagi mikroalga. Salinitas pada media dapat meningkat karena terjadi penguapan akibat pengaruh dari panas lampu yang digunakan saat kultivasi. Selain itu kenaikan salinitas juga diduga berasal dari media kultur dari aerator sehingga mengakibatkan terjadinya penguapan (Nisak, *et al.*, 2013).

Salinitas dapat diukur menggunakan hand refractometer. Kisaran optimal salinitas pada mikroalga yaitu 30-35 ppt (Novianti, *et al.*, 2017). Salinitas berpengaruh terhadap kehidupan mikroalga dalam mempertahankan tekanan osmotiknya. Mikroalga terjadi hambatan pada proses fotosintesis setelah dipindah pada medium dengan salinitas yang lebih tinggi (Hariyati, 2008).

2.5.5 Nutrien

Ketersediaan nutrisi pada media kultur dalam jumlah tertentu sangat diperlukan. Kelebihan atau kekurangan nutrisi dalam media kultur akan mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Ketersediaan nutrisi akan menjadi faktor pembatas jika nutrisi dalam media mengalami penurunan dan habis dimanfaatkan oleh mikroalga. Akibatnya mikroalga akan berhenti tumbuh tetapi tidak mati akan aktif jika mendapat tambahan nutrisi (Telepta, 2011).

Nutrien atau unsur hara merupakan parameter penting yang mendukung pertumbuhan mikroalga selain cahaya, salinitas dan suhu. Nutrien terdiri atas mikronutrien dan makronutrien. Makronutrien tersebut antara lain adalah C, H, N, P, K, S, Mg dan Ca, sedangkan mikronutrien yang dibutuhkan adalah Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, dan Si. Diantara nutrisi tersebut N dan P sering dijadikan faktor pembatas pertumbuhan mikroalga (Kawaroe, *et al.*, 2009).

2.6 Fermentasi

2.6.1 Pengertian Fermentasi

Fermentasi adalah perubahan kimia dalam bahan pangan yang disebabkan oleh enzim. Enzim yang berperan dapat dihasilkan oleh mikroorganisme atau enzim yang telah ada dalam bahan pangan (Bucle, K.A., 1985).

Fermentasi pupuk bertujuan untuk meningkatkan kandungan C-organik dan N-organik pada pupuk. Proses fermentasi akan menyederhankan partikel bahan pakan sehingga akan meningkatkan nilai gizi dan kualitasnya. Fermentasi dapat mengubah protein menjadi asam amino sehingga mudah diserap oleh mikroalga (Chilmawati, *et al.*, 2015).

2.6.2 Macam-Macam Fermentasi

a. Fermentasi Aerob

Fermentasi aerob adalah fermentasi yang prosesnya memerlukan oksigen karena dengan adanya oksigen karena dengan adanya oksigen maka mikroba dapat mencerna glukosa menghasilkan air, CO₂ dan sejumlah energi (Afrianti,2005)

b. Fermentasi Anaerob

Menurut Winarno, (1984). Fermentasi anaerob adalah Fermentasi yang tidak membutuhkan adanya oksigen karena beberapa mikroba dapat mncerna bahan energi tanpa adanya oksigen. Sehingga hanya sebagian dari bahan energi tanpa adanya oksigen sehingga hanya sebagian dari bahan energi yang dipecah mikroorganisme yang melakukan fermentasi ini adalah yeast, beberapa jenis kapang dan bakteri.

2.6.3 EM4

a. Komposisi

Sebagian besar mikroorganisme yang terkandung dalam EM₄ adalah *Lactobacillus* sp. yang merupakan mikroorganisme penghasil asam laktat, *Rhizobium* sp. yang merupakan mikroorganisme yang mampu menambat N dari udara *Streptomyces* sp., *Actynomyces* dan mikroorganisme lain yang bersifat menguntungkan (Wididana,1995).

Effective Microorganism 4 atau EM₄ mengandung kelompok mikroorganisme yang terdiri atas bakteri fotosintetik, asam laktat, Actinomyces, ragi dan cendawan fermentasi. Selain mengandung mikroorganisme menguntungkan juga mengandung unsur hara makro dan mikro (Riry, et al.,2013).

b. Manfaat

Perkembangan probiotik di Indonesia sudah mulai dikembangkan dan salah satu probiotik yang telah mampu diproduksi dalam negeri berupa media kultur berbentuk cairan yang dapat disimpan lama adalah EM₄ mengandung 90% bakteri *lactobacillus* sp. pelarut fosfat, bakteri fotosintetik, *streptomyces* sp. EM₄ merupakan suatu tambahan untuk mengoptimalkan pemanfaatan zat-zat makanan karena bakteri yang terdapat dalam EM₄ dapat mencerna selulose, pati, gula, protein, lemak (Surung, 2008).

Penggunaan mikro organisme seperti Efektivitas Microorganisme (EM₄) merupakan bahan stater dengan memanfaatkan mikro organisme pembusuk bermanfaat dapat mempercepat proses dekomposisi bahan organik dari 3 bulan menjadi 7-14 hari (Rahayu, 2005).

2.6.4 Molase**a. Kandungan**

Menurut Utami (2009), molase merupakan bahan sisa dari proses pengkristalan gula pasir. Molase tidak dapat dikristalkan karena mengandung banyak glukosa dan fruktosa yang sulit untuk dikristalkan. Molase mengandung sejumlah besar gula, baik sukrosa maupun gula pereduksi. Total kandungan gula berkisar 48-56% dan pH sekitar 5,5-5,6.

Menurut Pramana (2008), pada industri gula (molase) termasuk kategori limbah dengan kandungan energi tinggi, tetapi rendah kandungan nitrogen. Selain itu molase juga tinggi akan kandungan karbohidrat tetapi rendah kandungan protein, kandungan lainnya seperti Kalsium, magnesium, potassium

b. Manfaat

Molase dapat digunakan sebagai pupuk organik karena merupakan sumber besar karbohidrat yang merangsang pertumbuhan mikroorganisme yang menguntungkan. Jenis molase yang baik dan banyak digunakan sebagai pupuk

adalah jenis *blackstrap molases* karena mengandung nutrisi yang lebih baik dibandingkan dengan jenis yang lain. Black strap mengandung konsentrasi terbesar belerang, potasium, besi dan mikronutrien dari bahan tebu asli (Priyono, 2009).

Menurut Anwar (2002), molase juga merupakan agent *chelating* yang sangat baik, yang berarti bahwa hal itu dapat membantu mengubah beberapa nutrisi kimia menjadi bentuk yang mudah tersedia untuk organisme. Molase adalah pupuk cair atau sebagai komponen yang ditambah dengan bahan lain dan dapat menjadi tambahan penting untuk proses fermentasi.

2.7 Pupuk

2.7.1 Pengertian Pupuk

Pupuk adalah materi yang ditambahkan pada media tanam atau tanaman untuk mencukupi kebutuhan hara yang diperlukan tanaman sehingga mampu berproduksi dengan baik. Materi pupuk dapat berupa bahan organik maupun non-organik (Novita, 2015). Pupuk adalah bahan yang diberikan ke media baik organik maupun non-organik untuk menambah unsur hara (Sutedjo, 2010).

2.7.2 Nutrien Pupuk

Pupuk organik terdapat dalam bentuk padat dan cair. Kelebihan pupuk organik cair adalah unsur hara yang terdapat di dalamnya lebih mudah diserap oleh mikroalga. Pupuk organik cair adalah larutan dari hasil pembusukan bahan-bahan organik yang berasal dari sisa tanaman, hewan dan manusia yang kandungan unsur haranya lebih dari satu unsur (Marsono, 2003).

Pupuk organik cair merupakan salah satu jenis pupuk yang banyak beredar di pasaran. Pupuk organik cair kebanyakan diaplikasikan melalui daun yang mengandung hara makro dan mikro esensial (N, P, K, Ca, Mg, B, Mo, Cu, Fe, Mn). Pupuk organik cair mempunyai beberapa manfaat diantaranya dapat

mendorong dan meningkatkan pembentukan klorofil dan meningkatkan kemampuan fotosintesis (Huda, 2003).

2.7.3 Jenis Pupuk

a. Pupuk Organik

Pupuk organik dapat memperbaiki sifat fisik, kimia dan biologi tanah. Pupuk organik mengandung unsur hara mikro. Penggunaan pupuk organik dapat meningkatkan pertumbuhan mikroba dan perputaran hara. Pupuk organik sebagian besar terbuat dari bahan organik yang berasal dari tumbuhan atau hewan (Lingga, 2003).

b. Pupuk Anorganik

Pupuk anorganik atau disebut juga sebagai pupuk mineral adalah pupuk yang mengandung satu atau lebih senyawa anorganik (Leiwakabessy dan Sutandi, 2004). Fungsi utama pupuk anorganik adalah sebagai penambah unsur hara atau nutrisi tanaman. Dalam aplikasinya, sering dijumpai beberapa kelebihan dan kelemahan pupuk anorganik. Beberapa manfaat dan keunggulan pupuk anorganik antara lain mampu menyediakan hara dalam waktu relatif lebih cepat, menghasilkan nutrisi tersedia yang siap diserap tanaman, kandungan jumlah nutrisi lebih banyak, tidak berbau menyengat, praktis dan mudah diaplikasikan. Sedangkan kelemahan dari pupuk anorganik adalah harga relatif mahal dan mudah larut dan mudah hilang, menimbulkan polusi pada tanah apabila diberikan dalam dosis yang tinggi. Unsur yang paling dominan dijumpai dalam pupuk anorganik adalah unsur N, P, dan K.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu autoklaf GEA, autoklaf manual, nampan, blower, selang aerasi, lampu TL 5 15 watt, lampu spiral 42 watt, pH meter, DO meter, termometer, haemocytometer 0,1 mm, mikroskop cahaya, bola hisap D&N, pipet volume 10 mL, pipet tetes, corong, tabung reaksi, erlenmeyer (500 mL, 1000 mL) pyrek Iwaki, *handtally counter*, *washing bottle*, cover glass, cuvet, oven Redline RE53, toples kaca 3 liter, sentrifuge, timbangan analitik, kalkulator, lux meter sunche, botol film, botol sprayer, refraktometer, cawan porselen, vacum pum VE115, jerigen 3 liter.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bibit *Nannochloropsis* sp. yang berasal dari BBRBLPP Gondol Bali, limbah padat agar dari PT. Agar Sari Jaya Malang Jawa Timur, limbah ikan lemuru dari pantai sendang biru Malang, air laut salinitas 33 ppt, HCL 10%, alkohol 97%, tisu, kapas, alumunium foil, kain saring, vitamin B12, pupuk walne, plastik wrap, trash bag, lem G, lem alteco, kertas saring GF\C (diameter 90 mm), aquades, methanol, asam fenol disolfonik, natrium carbonat (Na_2CO_3), reagen *Folin Cioateltau*, kertas koran, benang kasur, kertas label.

3.2 Media Penelitian

Media yang digunakan pada penelitian ini yaitu toples kapasitas 3 liter di sterilisasi dengan HCL 10% dan dibilas dengan akuades. Air laut dipanaskan agar steril. Selanjutnya air laut salinitas 33 ppt dimasukkan kedalam 12 toples

sebanyak 1.000 mL dan diberikan aerasi selama 24 jam agar mensuplai oksigen terlarut.

3.2.1 Pelaksanaann Penelitian

Media kultur *Nannochloropsis* sp. diberikan pupuk limbah lemuru dengan dosis sesuai perlakuan dan pupuk walne 1 mL/L. Wadah yang telah diisi media sebanyak 1.000 mL, kemudian diletakkan di atas rak kultur sesuai dengan denah rancangan percobaan yang telah dibuat dengan menggunakan intensitas cahaya 3.000 lux, kemudian diberikan aerasi. Selanjutnya, dimasukkan bibit *Nannochloropsis* sp. dengan kepadatan awal 1×10^6 sel/mL (Endrawati, *et al.* 2013).

Pengamatan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dilakukan setiap hari selama masa kultur. Pengukuran biomassa dan kandungan protein *Nannochloropsis* sp. dilakukan pada saat pertumbuhan puncak tertinggi. Parameter penunjang (kualitas air) yang diukur pada media pemeliharaan meliputi suhu, pH, DO, nitrat, dan fosfat. Pengukuran suhu, pH dan DO dilakukan sekali sehari, sedangkan pengukuran nitrat dan fosfat dilakukan pada awal kultur, fase eksponensial dan fase kematian.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen. Metode ini merupakan metode untuk menguji hipotesis yang sudah dibuat, dengan menguji variabel bebas dan variabel terikat untuk menemukan variasi yang muncul bersamaan dengan manipulasi terhadap variabel bebas tersebut (Roman, 2016).

3.4 Rancangan Percobaan Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan acak lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap merupakan jenis rancangan percobaan yang sederhana,

rancangan ini bisa digunakan untuk percobaan yang seragam, analisis statistik terhadap objek percobaan sederhana, fleksibel dalam jumlah penggunaan, perlakuan dan ulangan (Pratisto, 2004). Denah rancangan percobaan disajikan pada Gambar 4.

Perlakuan dalam penelitian ini terdiri dari perlakuan kontrol yaitu menggunakan pupuk walne (1 mL/L) serta perlakuan menggunakan pupuk limbah ikan lemuru terfermentasi dengan perlakuan dosis 0,6 mL/L (perlakuan A), dosis 1,2 mL/L (perlakuan B), dan dosis 1,8 mL/L (perlakuan C). Penelitian ini menggunakan empat perlakuan dengan tiga kali ulangan:

K: Perlakuan dosis kontrol Walne 1 mL/L

A: Perlakuan dosis pupuk cair limbah dengan dosis 0,6 mL/L

B: Perlakuan dosis pupuk cair limbah dengan dosis 1,2 mL/L

C: Perlakuan dosis pupuk cair limbah dengan dosis 1,8 mL/L

Berikut disajikan denah rancangan percobaan perlakuan pupuk pada Gambar 4.



Gambar 4. Denah Rancangan percobaan.

Keterangan

A-C : Perlakuan

1-3 : Ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

a. Pembuatan Pupuk Limbah Ikan Lemuru dan Limbah Agar

Pembuatan pupuk cair limbah ikan lemuru dan limbah agar pertama yang dilakukan pada limbah ikan lemuru dipotong menjadi dua bagian lalu dihaluskan menggunakan *Blender* hingga berbentuk pasta. Limbah padat agar dihaluskan

menggunakan palu dan diayak hingga menjadi bubuk dan disimpan pada *trasbag*. Selanjutnya perbandingan limbah ikan lemuru dan limbah agar terbagi menjadi 5 kg ikan lemuru (5L) dan 1 kg limbah agar (1A). Kemudian semua bahan dimasukkan dengan dosis yang sudah ditentukan. Penambahan EM₄ dengan dosis masing-masing 10% dari total volume yang digunakan untuk mempercepat fermentasi. Menurut Munawaroh, *et al.* (2013), dalam penelitian penggunaan dosis <10% dianggap kurang mampu memfermentasikan limbah cair. Setelah itu ditambahkan molase dengan perbandingan 1 : 1 terhadap EM₄ dan air sebanyak 20%. Kemudian tutup jerigen diberi lubang dan dimasukan selang aerator yang berfungsi untuk media gas keluar. Proses fermentasi selama 4 minggu secara anaerob. Didapatkan hasil perlakuan (5L:1A) dengan C organik dan bahan organik yang rendah (Lampiran 5). Skema pembuatan pupuk dapat dilihat pada Lampiran 3. Saat akan menggunakan pupuk sebelumnya pupuk disaring menggunakan kertas saring 11 µm dan dibantu dengan *vaccum pump*. Tujuan dari proses penyaringan adalah agar memisahkan partikel padat dan cair.

b. Sterilisasi Alat dan Bahan

Kegiatan kultur diawali dengan sterilisasi alat dan bahan. Sterilisasi alat dan bahan adalah suatu perlakuan terhadap alat dan bahan sehingga akan terbebas dari mikroorganisme yang mempengaruhi hasil (Sari dan Manan, 2012). Sterilisasi yang digunakan dalam penelitian adalah sterilisasi panas basah dan sterilisasi kimia. Sterilisasi panas basah menggunakan autoklaf, sterilisasi kimia menggunakan HCl 10%.

Media kultur yang berupa air laut dengan salinitas 33 ppt disterilisasi dengan di panaskan. Sterilisasi autoklaf digunakan untuk mensterilisasi pupuk walne maupun pupuk limbah lemuru . Pupuk yang akan disterilkan dimasukan botol kaca kapasitas 150 mL, kemudian ditutup dengan kapas dan *aluminium foil* dan diikat dengan benang kasur. Setelah itu ditata pada autoklaf kemudian

ditutup. Prinsip kerja autoklaf adalah sterilisasi panas basah dengan 1 atm pada suhu 121°C selama 20 menit. Skema sterilisasi alat dan bahan dapat dilihat pada Lampiran 2.

c. Persiapan media

Media kultur yang digunakan adalah air laut bersalinitas 33 ppt yang berasal dari toko tirta, Malang. Air laut disimpan pada jerigen dan di sterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan dengan cara dipanaskan hingga mendidih selama kurang lebih 1 jam setelah itu ditunggu hingga suhu ruang. Media yang sudah di sterilisasi dituang kedalam toples dan ditambahkan beberapa nutrisi yaitu pupuk hasil buatan dengan dosis 0,6 mL/L dengan penambahan fosfat 1,8 mg (A), 1,2 mL/L dengan penambahan fosfat 3,4 mg (B) dan 1,8 mL/L dengan penambahan fosfat 4,7 mg (C). Untuk perlakuan kontrol menggunakan pupuk walne sebesar 1 mL/L.

d. Pernyediaan Inokulan

Inokulan diperoleh dari kultur murni BBRBLPP Gondol, Bali. Selanjutnya dikultur untuk stok penelitian, dikultur selama 3 hari untuk mencapai fase eksponensial. Selama penyiapan inokulan suhu ruangan dijaga pada kisaran 29-30°C dengan intensitas 3.000 lux. Inokulan *Nannochloropsis* sp. yang akan ditebar untuk penelitian, langkah pertama adalah menghitung jumlah awal inokulan yang akan dikultur dengan kepadatan $9,2 \times 10^6$ sel/mL.

Sebelum ditebar sebagai penelitian inti, inokulan dihitung kepadatan awal yang disesuaikan dengan kebutuhan. Perhitungan kepadatan dengan *haemocytometer*. Menurut Jati, *et al.* (2012), rumus pengenceran adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

V1: volume bibit yang diperlukan untuk penebaran awal (mL)

V2: volume air media yang akan ditebari bibit (mL)

N1: jumlah stok *Nannochloropsis* sp. (sel/mL)

N2: jumlah *Nannochloropsis* sp. yang diinginkan (sel/mL)

e. Perlakuan Dosis

Perlakuan dosis dilakukan dengan cara menentukan dosis yang akan digunakan selama penelitian. Dosis yang digunakan terdiri dari empat perlakuan satu kontrol dan tiga perlakuan menggunakan pupuk limbah ikan lemuru dan agar yang terfermentasi dengan dosis 0,6 mL/L dengan penambahan fosfat 1,8 mg (A), 1,2 mL/L dengan penambahan fosfat 3,4 mg (B) dan 1,8 mL/L dengan penambahan fosfat 4,7 mg (C). Pemberian dosis berawal dari hasil formulasi antara yang dibutuhkan *Nannochloropsis* sp. disajikan pada Lampiran 6.

3.6 Parameter yang diukur

3.6.1 Parameter Utama

a. Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

Pengamatan pertumbuhan populasi dilakukan setiap hari dari awal kultur sampai akhir kultur menggunakan mikroskop dengan bantuan *Haemocytometer*. Menurut Armanda (2013), kepadatan *Nannochloropsis* sp. dapat dihitung dengan rumus:

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

b. Biomassa

Menurut Janssen, *et al.* (1999), sampel mikroalga yang akan dianalisa kandungan biomasanya dilakukan pada saat akhir fase eksponensial. Kertas saring GF/C (diameter 90 mm) dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 2 jam hingga beratnya konstan. Dilakukan penimbangan Kertas saring GF/C (diameter 90 mm) menggunakan timbangan digital dan

dihitung sebagai A. Kemudian suspensi mikroalga diambil sebanyak 25 mL dan disaring menggunakan kertas saring GF/C yang telah di oven, lalu dicuci menggunakan akuades sebanyak 25 mL untuk menghilangkan kontaminasi garam yang tidak larut pada media. Kertas saring dan mikroalga kemudian dioven pada suhu 105°C selama 2 jam hingga beratnya konstan. Setelah dingin, kertas saring diletakkan di desikator selama 30 menit, dan beratnya ditimbang kembali dan dihitung sebagai B.

$$\text{Biomass kering (g/L)} = (B - A) \times 1,000 / \text{volume}$$

Perhitungan :

Berat kertas saring = A

Berat kertas saring + alga = B

c. Laju Pertumbuhan Spesifik

Perhitungan laju pertumbuhan dilakukan dari awal kultur hingga puncak konsentrasi maksimum. Laju pertumbuhan dihitung menggunakan rumus (Makkasau *et al.*, 2011).

$$\mu = \frac{\ln W_t - \ln W_0}{t}$$

Keterangan :

N_t = Kepadatan

t = Waktu

N₀ = Kepadatan Populasi sel pada saat awal

μ = Tetapan laju pertumbuhan

d. Protein

Menurut Lowry (1951), analisa protein dapat dilakukan dengan reagen A 5% Na₂CO₃, reagen B 1% CuSO₄·5H₂O, reagen C 25 A+1 mL reagen B+1 mL reagen C. Selain itu juga membuat reagen Folincioalteau, 1 N NaOH dan larutan standar BSA (*Bovie serum albumin*). Konsentrasi larutan BSA yang digunakan yaitu 2 mg/mL. 0,5 1 N NaOH ditambahkan kedalam 0,5 mL suspensi

mikroalga dan dipanaskan pada suhu 100°C selama sepuluh menit pada *water bath* kemudian tunggu hingga dingin. Kemudian ditambahkan 2,5 mL reagen D ke masing-masing tabung yang berisi suspensi mikroalga, dihomogenkan hingga merata dan didiamkan selama 10 menit. Dihomogenkan 0,5 mL reagen Folin-ciocalteu dan dihomogenkan hingga merata ditunggu 30 menit. Dispektrofotometer pada absorbansi 750 nm.

$$\text{Protein (\%biomassa)} = \frac{\frac{\text{OD} - a}{b} \times 100}{\text{berat kering alga (mg)} \times 1,000}$$

Keterangan:

OD

: Hasil dari spektrofotometer dengan panjang gelombang 750 nm

a : Intersep 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 thermometer yang di celupkan ke media kultur *Nannochloropsis* sp. kemudian di catat hasilnya. Pengukuran dilakukan setiap 24 jam sekali.

b. pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang dicelupkan pada media kultur *Nannochloropsis* sp. dan dicatat hasilnya. Pengamatan dilakukan 24 jam sekali.

c. DO

Pengukuran DO dilakukan menggunakan DO meter yang dicelupkan ke permukaan air pada media kultur *Nannochloropsis* sp. dan dicatat hasilnya. Pengamatan dilakukan 24 jam sekali.

d. Nitrat

Pengukuran kadar nitrat dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada awal kultur, fase ekponensial dan fase kematian. Cara pengukuran kadar nitrat yaitu dengan mengambil air sampel yang telah disaring diambil sebanyak 12,5 mL dan dimasukkan ke dalam cawan porselen, kemudian dipanaskan sampai berkerak dan ditunggu hingga dingin. Kemudian ditambahkan 0,25 mL asam fenol disulfonik (6-7 tetes) kedalam kerak nitrat. Selanjutnya ditambahkan sedikit aquades dan dikerik sampai keraknya larut dan ditambahkan NH_4OH 1:1 sampai warna berubah menjadi kuning (jika sudah 6 mL tapi belum berwarna kuning maka dihentikan) lalu ditambahkan akuades hingga volume seperti semula (12,5). Sampel dimasukan ke cuvet untuk diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 410 nm (Boyd, 1979).

e. Fosfat

Pengukuran fosfat dilakukan sebanyak tiga kali yaitu awal , ekponensial dan stasioner. Pengukuran kadar fosfat berdasarkan Boyd (1979), yaitu dengan cara diambil air sampel sebanyak 25 mL. Selanjutnya ditambahkan dengan SnCl_2 sebanyak 5 tetes dan dihomogenkan. Dimasukkan ke dalam cuvet dan diukur menggunakan spektrofotometer dengan nilai panjang gelombang 690 nm.

3.7 Analisis Data

Analisis data dihitung dari masing-masing perlakuan, diuji secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan

95% ($\alpha = 0,05$). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh nyata atau berbeda sangat nyata (F hitung $>$ F tabel) maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), dari uji ini dilanjutkan dengan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui perbedaan antar empat perlakuan.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan data hasil pengamatan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. yang dikultur didapatkan data laju pertumbuhan spesifik, biomassa dan protein yang dapat dilihat pada Tabel 1. .

Tabel 1. Rata-Rata Parameter Uji dengan Pemeberian Dosis Limbah ikan Lemuru dan Agar yang Berbeda Selama Penelitian.

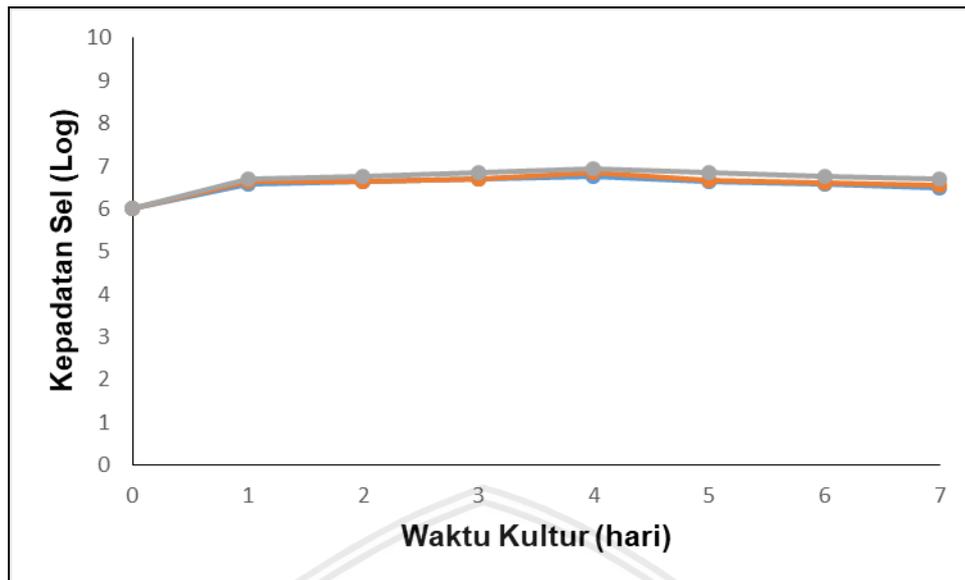
Parameter	Dosis Pupuk (mL/L)			
	A (0,6)	B (1,2)	C (1,8)	K(walne)
Kepadatan sel puncak (sel/mLx10 ⁴)	561,7	712	893	962
Laju Pertumbuhan Spesifik (/hari)	0,431±0,01 ^a	0,491±0,01 ^b	0,547±0,02 ^c	0,652±0,01 ^c
Biomassa (g/L)	0,267±0,019 ^a	0,371±0,018 ^b	0,469±0,028 ^c	0,544±0,0461 ^d
Protein (%)	7,097±1,806 ^a	9,931±0,740 ^b	14,909±1,158 ^c	19,70±0,764 ^d

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

4.1 Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

4.1.1 Fase Pertumbuhan

Dari penelitian ini, pada setiap perlakuan baik dengan penggunaan dosis 0,6 mL/L, 1,2 mL/L dan 1,8 mL/L berpengaruh pada pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. pada kultur mikroalga terjadi peningkatan kepadatan data awal dan mengalami penurunan setelah masa puncak. Warna pada saat kultur juga bisa digunakan untuk menunjukan tingkat kepadatan pada mikroalga. Grafik rata-rata pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. berdasarkan kepadatan sel dengan skala log selama penelitian disajikan pada Gambar 5 dan data pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. secara rinci dapat dilihat pada Lampiran 8



Gambar 5. Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

Keterangan : — 0,6 mL/ L — 1,8 mL/L
— 1,2 mL/L

Pertumbuhan sel pada *Nannochloropsis* sp. pada setiap pemberian dosis pupuk yang berbeda menunjukkan pola pertumbuhan yang berbeda pula. *Nannochloropsis* sp. mengalami penambahan kepadatan seiring dengan lamanya waktu dan diawali dengan konsentrasi awal 1×10^6 sel/mL. Data yang telah didapatkan, terlihat bahwa hasil rata-rata kepadatan tertinggi *Nannochloropsis* sp. pada perlakuan 1,8 mL/L (C) dengan jumlah kepadatan sebesar 893×10^4 sel/mL. Jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol menggunakan walne masih berada di bawah kontrol dengan nilai kepadatan 962×10^4 (Lampiran 8). Hal ini dikarenakan komposisi dari pupuk walne yang lebih kompleks dibandingkan dengan pupuk limbah ikan lemuru dan agar, selain itu pada saat kultur inokulan digunakan pupuk walne sehingga alga telah beradaptasi dengan pupuk tersebut. Untuk mendapatkan kepadatan yang tinggi dan kandungan nutrisi yang optimum diperlukan media dengan komposisi yang tepat antara nutrien makro maupun mikro yang diperlukan oleh mikroalga tersebut (Jati, *et al.*, 2012).

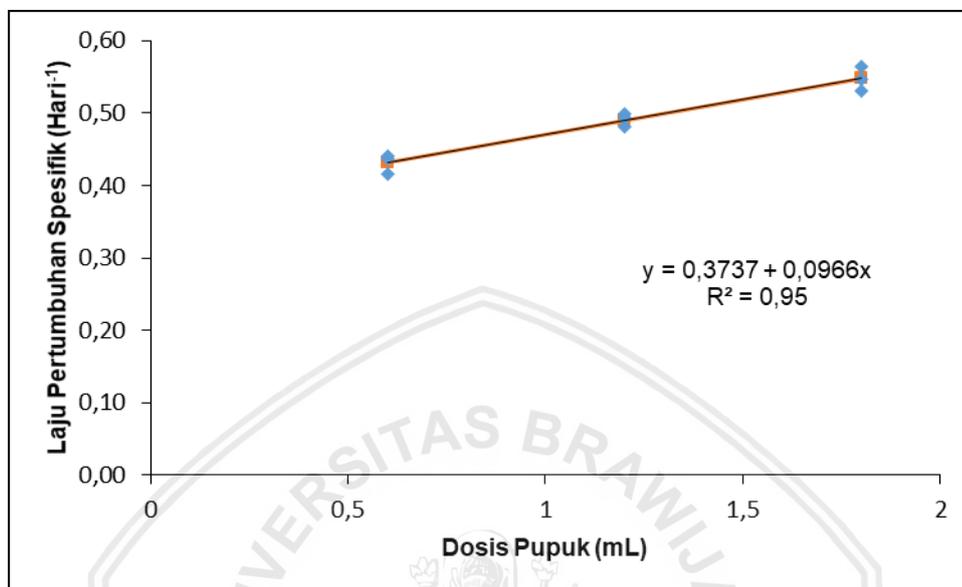
Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. memiliki empat fase, fase adaptasi eksponensial, fase stationer dan fase kematian. Pada penelitian ini fase adaptasi tidak teramati karena berlangsung cepat yaitu kurang dari 24 jam. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Fogg dan Thake (1987), fase adaptasi akan menjadi singkat atau bahkan tidak terlihat apabila sel yang diinokulasi berasal dari kultur dalam fase ekponensial.

Widyaningsih, *et al.* (2008) menambahkan bahwa fase eksponensial ditandai dengan naiknya kepadatan mikroalga dikarenakan terjadinya peningkatan jumlah sel. Setelah melewati fase ekponensial, kepadatan mikroalga cenderung tetap bahkan bisa menurun yang menandakan mikroalga memasuki fase stasioner. Menurut Prayitno (2016), fase stasioner terjadi penurunan nutrisi sehingga menyebabkan penurunan kepadatan sel. Setelah melewati fase stasioner, mikroalga mengalami fase kematian dikarenakan pertumbuhan yang semakin terbatas. Faktor yang menyebabkan terjadinya kematian mikroalga yaitu berkurangnya nutrisi dalam media dan terjadinya kompetisi yang semakin besar dalam mendapatkan nutrient dan ruang hidup dalam media (Hariyati, 2008).

4.1.2 Laju Pertumbuhan Spesifik

Berdasarkan hasil uji F pada Lampiran 11 menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$, hal ini berarti pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan agar berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik *Nannochloropsis* sp. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat laju pertumbuhan spesifik *Nannochloropsis* sp. pada setiap perlakuan berbeda nyata, dimana pada dosis pupuk 1,8 mL/L (perlakuan C) menghasilkan laju pertumbuhan spesifik yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan dosis pupuk 1,2 mL/L (perlakuan B) dan 0,6 mL/L (perlakuan A). Laju pertumbuhan spesifik dipengaruhi oleh kandungan nutrisi media kultur. Faktor tersebut akan menentukan waktu yang dibutuhkan mikroalga untuk mencapai fase eksponensial (Prayitno, 2016).

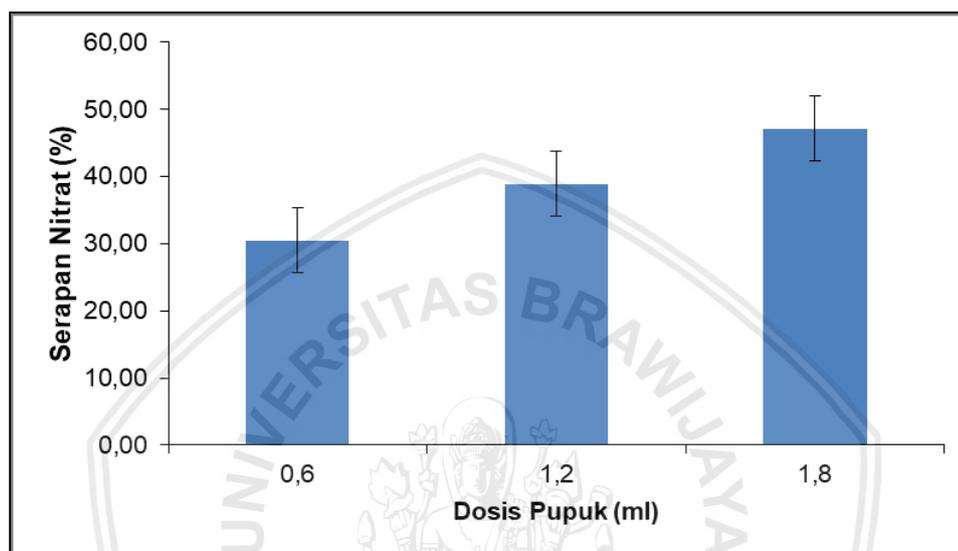
Hasil perhitungan polynomial orthogonal didapatkan kurva linier dari laju pertumbuhan laju spesifik *Nannochloropsis* sp. yang diberikan pupuk limbah ikan lemuru dan agar dengan dosis yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan limbah agar dengan dosis yang berbeda terhadap laju pertumbuhan spesifik *Nannochloropsis* sp.

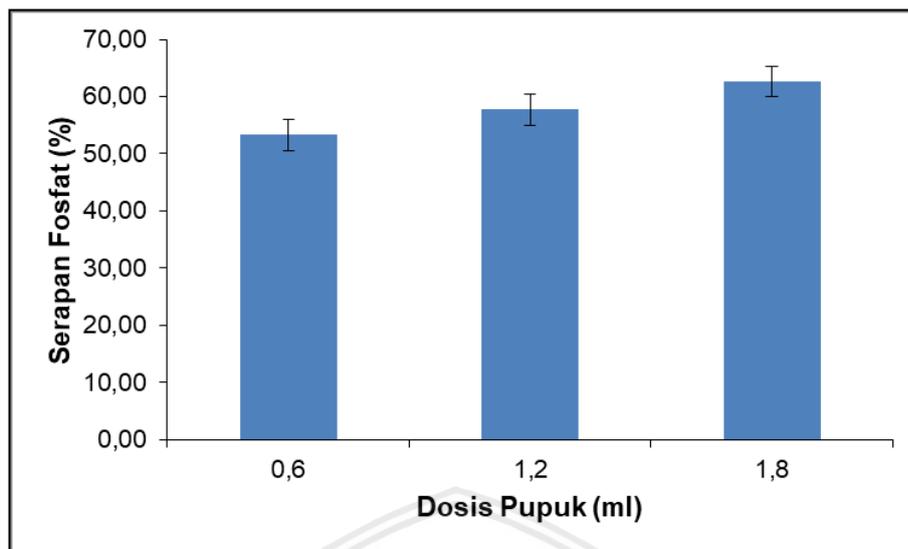
Hubungan pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan agar dengan dosis berbeda terhadap laju pertumbuhan spesifik *Nannochloropsis* sp. menunjukkan persamaan linier $y = 0,3737 + 0,0966x$ dengan R^2 sebesar 0,95. Laju pertumbuhan spesifik tertinggi yaitu $0,547 \text{ hari}^{-1}$ dengan pemberian pupuk sebanyak 1,8 mL dengan *doubling time* 1,268 hari lebih rendah apabila dibandingkan dengan perlakuan kontrol (pupuk walne) yaitu sebesar $0,561 \text{ hari}^{-1}$ (Lampiran 9). Kepadatan sel pada perlakuan kontrol tinggi dikarenakan konsentrasi N dalam NaNO_3 yang tinggi pada media Walne membuat aktivitas metabolisme berlangsung dengan optimum. Sehingga pembelahan sel masih terus berlangsung hingga masa puncak eksponensial. Sumber N pada NaNO_3 dan KNO_3 merupakan unsur yang paling penting bagi pertumbuhan sel (Suminto, 2009).

Laju pertumbuhan spesifik *Nannochloropsis* sp. berbanding lurus dengan tingkat penyerapan nutrisi media kultur. Nitrat dan fosfat berperan penting dalam pembentukan protein maupun aktivitas metabolisme (Jamilah, 2003). Serapan nitrat dan fosfat pada fase puncak kepadatan memiliki nilai yang lebih tinggi dari fase kematian.



Gambar 7. Nilai serapan nitrat *Nannochloropsis* sp. dengan dosis pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan agar terfermentasi yang berbeda.

Serapan nitrat tertinggi pada dosis pemberian pupuk 1,8 mL sebesar 47,13% dan nilai serapan nitrat terendah pada perlakuan 0,6 mL sebesar 30,50%. Namun, apabila dibandingkan dengan kontrol hasil serapan nitrat cenderung lebih rendah dengan nilai 59,89%. Adapun data daya serap nitrat lengkapnya pada Lampiran 14. Hal ini disebabkan oleh tingginya kepadatan sel, maka semakin tinggi pula nilai serapan nitratnya karena dimanfaatkan untuk pertumbuhan mikroalga. Menurut Istirokhatun, *et al.* (2017), nitrat yang terkandung dalam air media berfungsi sebagai sumber nitrogen mikroalga dalam pertumbuhannya. Mikroalga dapat menyerap nitrat sebanyak 90% pada limbah cair. Menurut Christiani, *et al.*, (2017), unsur hara nitrat dalam media kultur alga akan semakin berkurang seiring dengan bertambahnya kepadatan mikroalga



Gambar 8. Nilai serapan fosfat *Nannochloropsis* sp. dengan pemberian dosis pupuk limbah ikan lemuru yang berbeda.

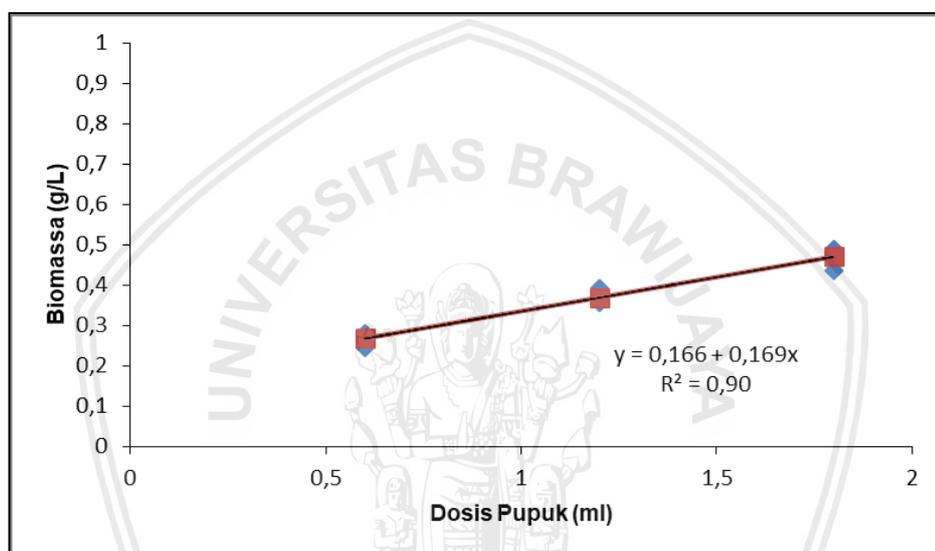
Serapan fosfat tertinggi terdapat pada pemberian pupuk dengan dosis 1,8 mL sebesar 62,62% dan serapan fosfat terendah pada pemberian pupuk 0,6 mL dengan nilai 53,29%. Namun, apabila dibandingkan dengan kontrol hasil serapan fosfat cenderung lebih rendah dengan nilai 89,84%. Adapun data daya serap fosfat lengkapnya pada Lampiran 14. Fosfat berperan penting dalam pembentuk dinding sel, komponen nukleotida dan asam amino yang dibutuhkan sebagai penyusun DNA dan RNA. Fosfat juga mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel mikroalga. Semakin tinggi serapan fosfat, maka laju pertumbuhan spesifik mikroalga akan semakin tinggi (Noortsany, 2017).

4.2 Biomassa *Nannochloropsis* sp.

Berdasarkan hasil uji F pada Lampiran 12 menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$, hal ini berarti pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan agar berpengaruh nyata terhadap biomassa *Nannochloropsis* sp. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat biomassa *Nannochloropsis* sp. pada setiap perlakuan berbeda nyata, dimana pada dosis pupuk 1,8 mL/L (perlakuan C) menghasilkan biomassa yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan dosis pupuk 1,2 mL/L (perlakuan B) dan 0,6

mL/L (perlakuan A). Menurut Andersen (2005), perbedaan nilai biomassa dipengaruhi oleh kandungan nutrisi yang terkandung dalam media kultur. Jenis media dan kandungan nutrisi yang sesuai dengan media tumbuh mikroalga dapat menyebabkan mikroalga tumbuh dengan cepat.

Hasil perhitungan polynomial orthogonal didapatkan kurva linier dari biomassa *Nannochloropsis* sp. yang diberikan pupuk limbah ikan lemuru dan agar dengan dosis yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 9



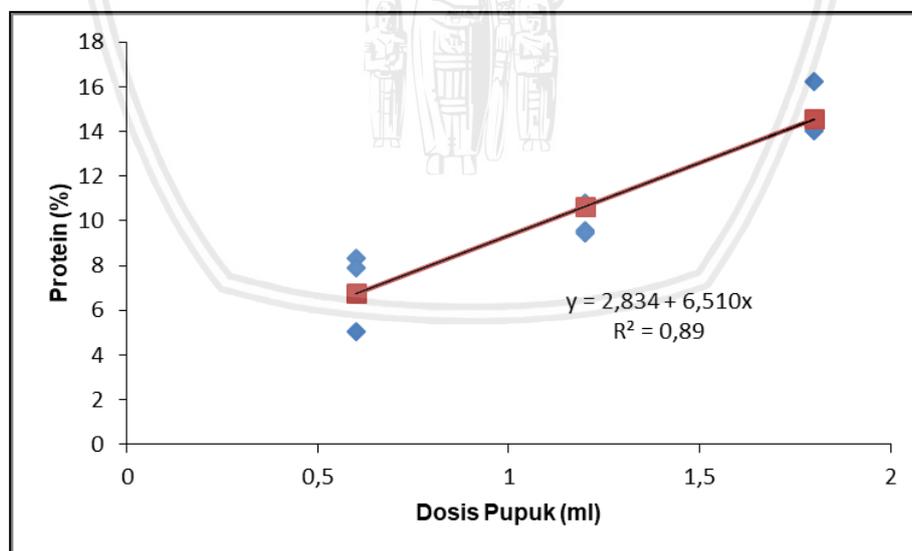
Gambar 9. Hubungan pemberian pupuk limbah ikan lemuru dengan dosis yang berbeda terhadap produksi biomassa *Nannochloropsis* sp.

Hubungan pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan agar dengan dosis berbeda terhadap biomassa *Nannochloropsis* sp. menunjukkan persamaan linier $y = 0,166 + 0,169x$ dengan R^2 sebesar 0,90 (Lampiran 12). Biomassa tertinggi yaitu 0,469 g/l dengan pemberian pupuk sebanyak 1,8 mL. Jika, apabila dibandingkan dengan kontrol hasil biomassa cenderung lebih rendah dengan nilai 0,544 g/l (Lampiran 12). Hal ini disebabkan kandungan nutrisi yang optimal dalam media kultur dapat meningkatkan produksi biomassa alga (Amanatin dan Nurhidayati, 2012). Laju pertumbuhan mikroalga yang tinggi dapat menyebabkan biomassa alga tinggi pula (Setiawan, *et al.*, 2008).

4.3 Kandungan Protein *Nannochloropsis* sp.

Berdasarkan hasil uji F pada Lampiran 13 menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$, hal ini berarti pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan agar berpengaruh nyata terhadap protein *Nannochloropsis* sp. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat protein *Nannochloropsis* sp. pada setiap perlakuan berbeda nyata, dimana pada dosis pupuk 1,8 mL/L (perlakuan C) menghasilkan protein yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan dosis pupuk 1,2 mL/L (perlakuan B) dan 0,6 mL/L (perlakuan A). Rendahnya kandungan protein pada mikroalga disebabkan karena adanya kekurangan nutrisi, terutama nitrogen pada media kultur dan juga diakibatkan protein diurai kembali, karena cadangan hasil fotosintesis kurang memenuhi kebutuhan mikroalga (Göksan, *et al.*, 2007).

Hasil perhitungan polynomial orthogonal didapatkan kurva linier dari protein *Nannochloropsis* sp. yang diberikan pupuk limbah ikan lemuru dan agar dengan dosis yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Hubungan pemberian pupuk limbah ikan lemuru dengan dosis berbeda terhadap kandungan protein *Nannochloropsis* sp.

Hubungan pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan agar dengan dosis berbeda terhadap kandungan protein *Nannochloropsis* sp. menghasilkan

persamaan linier $y = 2,834 + 6,510x$ dengan R^2 sebesar 0,89 (Lampiran 13). Protein tertinggi yaitu 14,91% dengan pemberian pupuk sebanyak 1,8 mL. Namun, apabila dengan perlakuan kontrol nilai protein cenderung lebih rendah yaitu sebesar 19,70%. Hal ini disebabkan oleh kandungan protein mikroalga dipengaruhi oleh nutrisi (terutama nitrogen). Komposisi nutrisi yang lengkap dan konsentrasi nutrisi yang tepat menentukan produksi biomassa dan kandungan gizi mikroalga. Nitrogen dalam nitrat merupakan salah satu makronutrien yang sangat mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas biomassa alga karena dibutuhkan untuk pembentuk protein (Ulya, *et al.*, 2018).

4.4 Kualitas Air

4.4.1 Suhu

Berdasarkan data hasil pengamatan didapatkan bahwa suhu selama proses kultur mendapatkan nilai rata-rata setiap perlakuan berkisar antara 29°C-30°C. Menurut Haumahu, (2005), kisaran suhu optimal untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. berkisar antara 25°C - 29°C. Suhu adalah salah satu faktor yang dapat mempengaruhi laju pertumbuhan pada mikroalga (Morris dan Kromkamp, 2003).

4.4.2 pH

Berdasarkan data hasil pengamatan didapatkan bahwa pH selama proses kultur mendapat nilai rata-rata setiap perlakuan berkisar antara 8,2 – 8,6. Kisaran kandungan pH tersebut masih dapat ditolerir oleh *Nannochloropsis* sp. Hal tersebut didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Haumahu (2005), bahwa kisaran pH untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. berkisar antara 7 - 9. Peningkatan pH pada media kultur menunjukkan adanya peningkatan proses metabolisme mikroalga karena konsentrasi sel yang semakin tinggi pula.

Widiyanto, *et al.* (2014), bahwa peningkatan pH terjadi karena adanya proses fotosintesis pada mikroalga.

4.4.3 Salinitas

Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan bahwa salinitas selama proses masa kultur mendapatkan nilai rata-rata setiap perlakuan berkisar antara 33-35 ppt. Salinitas berpengaruh terhadap tingkat pertumbuhan bagi mikroalga. Salinitas pada media dapat meningkat karena terjadi penguapan akibat pengaruh dari panas lampu yang digunakan saat kultivasi. Selain itu, kenaikan salinitas juga diduga berasal dari pengadukan media dari aerator sehingga terjadinya penguapan (Nisak, *et al.*, 2013). Kisaran salinitas yang optimum untuk *Nannochloropsis* sp. adalah 25 ppt – 35 ppt (Widyaningrum, *et al.*, 2013).

4.4.4 Oksigen Terlarut

Berdasarkan data hasil pengamatan didapatkan bahwa DO selama proses masa kultur mendapatkan nilai rata-rata setiap perlakuan berkisar antara 8,6 - 8,8 ppm. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuti, (1995). Kadar oksigen terlarut yang optimum bagi kelangsungan hidup dan pertumbuhan pada *Nannochloropsis* sp. adalah berkisar antara 5 – 9 ppm. Tingkat konsentrasi pada oksigen terlarut pada media kultur menunjukkan adanya perubahan pada perlakuan yang diberikan. Sebagian besar oksigen berasal dari fotosintesis pada mikroalga itu sendiri (Mara, *et al.*, (2007).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

- Pemberian pupuk limbah ikan lemuru dan agar dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan, biomassa dan protein *Nannochloropsis* sp.
- Pemberian dosis terbaik pada pupuk limbah ikan lemuru dan agar untuk pertumbuhan, biomassa dan protein *Nannochloropsis* sp. yaitu 1,8 mL/L dengan hasil masing – masing $0,547 \text{ hari}^{-1}$, 0,469 g/l dan 14,91%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan untuk menggunakan dosis terbaik sebesar 1,8 mL/L. Selain itu, disarankan pada penelitian selanjutnya untuk mencari dosis optimum pupuk limbah ikan lemuru dan agar.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, H.L., 2005, Fermentasi, Limbah ikan lemuru. *Jurnal perikanan*. 1(2): 27-36
- Afriza, Z., G. Diansyah, dan A. I. S. Purwiyanto. 2015. Pengaruh pemberian pupuk urea (CH₄N₂O) dengan dosis berbeda terhadap kepadatan sel dan laju pertumbuhan *Porphyridium* sp. pada kultur fitoplankton skala laboratorium. *Maspari Journal*. 7 (2) : 33-40.
- Anderson, R.A. 2005. *Algal Culturing Techniques*. China. Elsevier Academic press. 249 pp.
- Anggadiredja JT. 2007. Prospek pasar rumput laut Indonesia di pasar global. Lokakarya Implementasi Program Berkelanjutan Sulawesi Selatan Menuju Sentra Rumput Laut Dunia. Makasar, 7 Mei 2007.
- Anwar dan Suganda. 2002. Pupuk limbah industri. pupuk organik dan pupuk hayati. pemanfaatan limbah cair pabrik gula tebu bagi upaya meningkatkan kesuburan lahan. proyek pengkajian teknologi pertanian partisipatif (PAATP). Badan penelitian dan pengembangan pertanian. Departemen pertanian. 2 (1) : 70-74
- Arifah, S., B.S. Rahardja dan E.D. Masithah. 2017. Studi kemampuan *Nannochloropsis* sp. dan *Chlorella* sp. sebagai agen bioremediasi logam berat merkuri (Hg) dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan plankton. *Journal of Marine and Coastal Science*. 6 (3):134-147.
- _____, S., B.S. Rahardja dan E.D. Masithah. 2017. Studi kemampuan *Nannochloropsis* sp. dan *Chlorella* sp. sebagai agen bioremediasi logam berat merkuri (Hg) dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan plankton. *Journal of Marine and Coastal Science*. 6 (3):134-147.
- 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.
- Bawias, M., K. Kemer, D. M. H. Mantiri, D. R. Kumampung, D. S. J. Paransa, dan R. Mantiri. 2018. Isolasi pigmen karotenoid pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. dengan menggunakan beda pelarut. *Pesisir dan Laut Tropis*, 2(1): 1-8.
- Bleeker 1853. Analisis sumberdaya Lemuru di selat bali. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Edisi Sumberdaya dan Penangkapan. Volume 10 Nomor 4 tahun 2004. Badan Riset Kelanjutan dan Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan. 2 (2): 11
- Boyd, C. E. 1979. *Water Quality in Warmwater Fish Pond*. Agricultural Experiment Station, Auburn University. Auburn, Alabama, USA. 359 pp.
- Buckle, K.A., 1985, *Ilmu Pangan*, UI Pres, Jakarta. 98 hlm.
- Cahyaningsih, S., A. N. M. Muchtar, S. J. Purnomo, I. Kusumaningrum, Pujiati, A. Haryono, Slamet, dan Asniar. 2009. *Juknis Produksi Pakan Alami*. Departemen Kelautan dan Perikanan Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Balai Budidaya Air Payau Situbondo. 35 hlm.

- Chilmawati, D., Suminto dan T. Yuniarti. 2015. Pemanfaatan fermentasi limbah organic ampas tahu, bekatul dan kotoran ayam untuk peningkatan produksi kultur dan kualitas cacing sutera (*Tubifex* sp.). *Pena Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*. 186-201.
- Christiani., H. A. I. Insan dan H. A. Hidayah. 2017. Pertumbuhan mikroalga hasil budidaya skala laboratorium dengan media kultur limbah cair tapioka. *Prosiding Seminar Nasional*. **7** : 17-18.
- Creswell, L. 2010. Phytoplankton culture for aquaculture feed. *SRAC Publication*. 5004: 1-13.
- Endrawati, H dan I. Riniatsih. 2013. Kadar total lipid mikroalga *Nannochloropsis oculata* yang dikultur dengan suhu yang berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*. **2** (1):25-33.
- Eryanto, 2003. Keanekaragaman Hayati laut: Aset pembangunan berkelanjutan Indonesia. Gramedia pustaka. Jakarta. 50 hlm.
- Facrullah, M. R. 2011. Laju pertumbuhan mikroalga penghasil biofuel jenis *Chlorella* sp dan *Nannochloropsis* sp. yang dikultivasi dengan menggunakan air limbah hasil penambangan timah di pulau bangka. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan. Institut pertanian bogor. **2** (1): 21-23.
- Fithriani D, Rodiah N, Bakti BS. 2007. Ekstraksi selulosa dari limbah pembuatan karaginan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. **2**(2):91-97.
- Fogg GE, Thake B. 1987. *Algae Culture and Phytoplankton Ecology*. Second edition. London:The University of Winconsin Press. 48 page
- Göksan, T., A. Zekeriyaoğlu and A. K. İlknur. 2007. The growth of *Spirulina platensis* in different culture systems under greenhouse condition. *Turk. J. Biol.* **31**: 47-52.
- Gunawan dan T. Wianto. 2016. Respon pertumbuhan mikroalga indigenous *Synechococcus* sp. dan penurunan konsentrasi logam berat Fe pada media kultur. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Basah*. **1** : 244-249.
- Gwo, J.C., J.Y. Chiu., C.C. Chou and H.Y. Cheng.2005. Cryopreservation of a marine microalga, *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae). *Cryobiology*. **50** (1):338-343.
- Handjani, H. 2006. *Pemanfaatan limbah cair tahu sebagai pupuk alternatif pada kultur mikroalga spirulina* sp. skripsi Jurusan perikanan universitas Muhammadiyah Malang. **1** (1): 17-20.
- Hariyati, R. 2008. Pertumbuhan dan biomassa *Spirulina* sp dalam skala laboratories. *Bioma*. **10** (1) : 19-22.
- R. 2008. Pertumbuhan dan biomassa *Spirulina* sp. dalam skala laboratoris. *Bioma*. **10** (1):19-22.
- Haumahu, S. 2005. Distribusi Spasial Fitoplankton di Perairan Teluk Haria Saparua, Maluku Tengah. *Indonesian Journal of Marine* **10** (3):126-134

- Herawati, V.E. dan M. Agus. 2014. Analisis pertumbuhan dan kelulushidupan larva lele (*Clarias gariepinus*) yang diberi pakan *Daphnia* sp. hasil kultur massal menggunakan pupuk organik fermentasi. *Pena Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*. **26**(1): 1-11.
- Hermanto, M. B., Sumardi, L. C. Hawa. S. M. Fiqtinovri. 2011. Perancangan bioreaktor untuk pembudidayaan Mikroalga. *Jurnal Teknologi Pertanian*. **12** (3): 153-162.
- Hibberd, D. J. 1981. Noteron the taxonomy and nomenclature of the algae classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (synonym xanthiphyceae). *Journal of the Linnean Society of London. Botany*. **82** (1): 92-119.
- Huda, Miftahul. 2013. Model-model Pengajaran dan Pembelajaran. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. 78 hlm.
- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton. Kanisius. Yogyakarta. 116 hlm.
- Istirokhatun, T., M. Aulia dan Sudarno. 2017. Potensi *Chlorella* sp. untuk menyisihkan COD dan nitrat dalam limbah cair tahu. *Jurnal Presipitasi*. **14** (2):88-96
- Jadid, R., I. Dewiyanti dan Nurfadillah. 2017. Penambahan air kelapa pada media pertumbuhan populasi *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. **2** (1):113-118.
- 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
- Jenie, B.S.L dan W. P. Rahayu. 1990. Teknologi limbah pangan. Kanisius. Yogyakarta.1 (1): 25-28.
- Kawaroe, M., T. Prartono dan G. Saefurahman. 2015. Kepadatan dan laju pertumbuhan spesifik *Nannochloropsis* sp. pada kultivasi heterotropik menggunakan media hidrolisat singkong. *Omni Akuatika*. **11** (2) : 15-19.
- Kim GS, Myung KS, Kim YJ, Oh KK,. 2007. *Method of Producing Biofuel Using Sea Algae*. Seoul: World Intellectual Property Organization.2 (1) : 427-474.
- Kromkamp, J. C. (2003). Influence of temperature on the relationship between oxygen and fluorescence-based estimates of photosynthetic parameters in a marine benthic diatom (*Cylindrotheca closterum*). *European Journal of Phycology*, **38** : 133-142.
- Leiwakabessy, F.M dan A. Sutandi. 2004. Pupuk dan Pemupukan (TNH). Bogor: Departemen Ilmu Tanah Fakultas Pertanian (IPB). **1** (1): 225-260
- Lingga, P dan Marsono. 2003. Petunjuk Penggunaan Pupuk. Penebar Swadaya. Jakarta.93hlm.

- Lowry, O. H., N. J. Roseborough., A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagen. *J. Biol. Chem.***193**: 265-275..
- Makkasau, A., M. Sjahrul., M. N. Jalaluddin dan I. Raya. 2011. Teknik fitoremediasi fitoplankton suatu alternatif pemulihan lingkungan laut yang tercemar ion logam Cd₂₊ dan Cr₆₊. *Pendidikan Guru.* **7** (2) : 155-168.
- Manan, A., I, P, Sari. 2012. Pola pertumbuhan *Nannochloropsis* pada kultur skala Laboratorium intermediate dan Massal. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 4(2).
- Mara, D. 2007 .Domestic Wastewater Treatmen in Devoloping Countries.Earthscan. London. 60 hlm.
- Masithah, E. D., Choiriyah dan Prayogo. 2011. Pemanfaatan isi rumen sapi yang difermentasi dengan bakteri *Bacillus pumulus* terhadap kandungan klorofil pada kultur *Dunaliella salina*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan.* **3** (1) : 97-102.
- McVey, J, P. 1993. Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture. Silver Spring. Maryland. 13 pp.
- Meritasari, Inayah S, Wahyuni I. 2012. Pengaruh pemberian limbah ikan lemuru (*Sardinella lemuru*) dengan dosis yang berbeda terhadap *chlorella* sp. *Jurnal ilmiah Kelautan.* 4(1): 1-25
- Munawaroh, S. dan Handayani, P. A., 2013, Ekstraksi Minyak Daun jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana, *Jurnal Kompetensi Teknik.*, 2:73-78.
- Murakami, R dan H. Hashimoto. 2009. Unusual nuclear division in *Nannochloropsis oculata* (*Eustigmatophyceae*, Heterokonta) which may ensure faithful transmission of secondary plastids. *Protist.* 160 (1):41-49.
- Nisak, K., B. S. Rahardja dan E. D. Masithah. 2013. Studi perbandingan kemampuan *Nannochloropsis* sp. dan *Chlorella* sp. sebagai agen bioremediasi terhadap logam berat timbal (Pb). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan.* **5** (2) : 175-180.
- Noortsany, M. R. 2017. *Studi pemberian kalsium hidroksida (Ca(OH)₂) dan natrium bikarbonat (NaHCO₃).* Skripsi. Universitas Airlangga. 63 hlm
- Novianti, T., M. Zainuri dan I. Widowati. 2017. studi tentang pertumbuhan mikroalga *Chlorella vulgaris* yang dikultivasi berdasarkan sumber cahaya yang berbeda. **2** (1) : 81-89.
- Novita, R., N. Sari. 2015. Sistem Informasi Penjualan Pupuk Berbasis E-comeers. 40 hlm.
- Pramana, A.S.D. 2008. Selayang Pandang Tentang Molase (TetesTebu). *Chemical Engineering Knowledge.* 1: 3-5.
- Pramesti, R., Nirwani. 2007. Studi organ reproduksi *Gracilaria gigas harvey* pada fase karposporofit. *Ilmu kelautan.* 12(2): 93-96.
- Pratisto. 2004. *Cara Mudah Mengatasi Masalah Statistik dan Rancangan Percobaan dengan SPSS 12*, Elex Media Komputindo, Jakarta. 48 hlm.

- 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. 2016. Pola pertumbuhan dan pemanenan biomassa dalam fotobioreaktor mikroalga untuk penangkapan karbon. *Jurnal Teknologi Lingkungan* **17** (1) : 45-52.
- Priyono. 2009. *Penggunaan molase untuk meningkatkan pupuk*. Mahasiswa Magister Ilmu Ternak UNDIP. 1:12-15.
- Rahayu, Murni Sari dan Nurhayati. 2005. Penggunaan EM-4 dalam Pengomposan Limbah Teh Padat. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*. Medan. **3** (2): 1-8
- Regista, Ambeng, M. Litaay dan M. R. Umar. 2017. Pengaruh pemberian vermikompos cair *Lumbricus rubellus Hoffmeister* pada pertumbuhan *Chlorella* sp. *BIOMA*. **2** (1) : 1-8.
- Regista, Ambeng, M. Litaay dan M. R. Umar. 2017. Pengaruh pemberian vermikompos cair *Lumbricus rubellus Hoffmeister* pada pertumbuhan *Chlorella* sp. *BIOMA : JURNAL BIOLOGI MAKASSAR*. **2** (1):1-8
- Riry, N. H. Rehatta., V.L. Tanasale. 2013. Pengaruh berbagai komposisi bokashi ampas biji kakao dan pemberian EM₄ yang berbeda terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman petersai (*Brassica Chinensis*). *Agrologia*, **2**(2):132-143.
- Roman and Richardson, G. 2016. Corporate Social Responsibility and Tax Aggressiveness: An empirical analysis. *Journal of Accounting and Public Policy*. Hlm 31.
- Ru'yatin., I. S. Rohyani dan L. Ali. 2015. Pertumbuhan *Tetraselmis* dan *Nannochloropsis* pada skala laboratorium. *Pros Sem Mas Masv Biodiv Indon*. **1** (2):296-299.
- Safi, C., , B. Zebib, O. Merah, P. Y. Pontalier and C. Vaca-Garcia. 2014. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **35** : 265-278.
- Sahira., W. H. Muskita dan O. Astuti. 2017. Pengaruh dosis pupuk nitrofoska terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. *Media Akuatika*. **2** (4) :494-501.
- Sari, I. P. dan A. Manan. 2012. Pola pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* pada kultur skala laboratorium, intermediet, dan massal. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **4**(2): 123-128
- Sjaifullah , H. 2008. Pemanfaatan limbah ikan untuk pupuk organik. *Jurnal saintek perikanan* **1** (2) :20-32
- Soegiarto, A., Sulistijo, Atmadja, W.S., Mubarak, H. 1978. Rumput Laut (*Algae*) Manfaat, Potensi dan Usaha Budidayanya. LON-LIPI, Jakarta. Hlm 50
- Suminto. 2009. Penggunaan jenis media kultur teknis terhadap produksi dan kandungan nutrisi sel *Spirulina platensis*. *Jurnal Saintek Perikanan*. **4** (2):53-61

- Surung. 2008. *Pengaruh Dosis EM4 (Effective Microorganism 4) pada Pembuatan Biogas dari Enceng Gondok dan Rumen Sapi*. Jurnal Agrisistem. 4(4). pp 40-47.
- Sutandi. 2004. Pupuk dan Pemupukan. Departemen Ilmu Tanah. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor 34 hlm
- Sutedjo, M. M. 2010. *Pupuk dan Cara Pemupukan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Tetelepta, L. D. 2011. Pertumbuhan kultur *Chlorella* sp. skala laboratorium pada beberapa tingkat kepadatan inokulum. *Pengembangan Pulau-Pulau Kecil* : 198-202.
- Ulya, Himmatul. Profil Kemampuan Pemecahan Masalah Siswa Bermotivasi Belajar Tinggi Berdasarkan Ideal Problem Solving. *Jurnal Konseling*, 1(2):ISSN2460-1187.
- Utami, B. 2009. Pengolahan dan pemanfaatan limbah pabrik gula (*Molase*). jurusan teknik kimia. Fakultas Teknik. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. 2 (1) : 39 43
- Wididna, G. N., Riyatmo, S. K., dan Higa, T. 1995. Tanya jawab teknologi efektif mikroorganism. koperasi karyawan departemen kehutanan. Jakarta. 70 hlm
- Widyaningrum, N, F., B. Susilo dan M.B. Hermanto. 2013. Studi eksperimental fotobioreaktor photovoltaic untuk produksi mikroalga *Nannochloropsis oculata*. *Jurnal bioproses komoditas tropis*. 1 (2):30-39.
- Winarno F.G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi . PT Gramedia Pustaka Utama : Jakarta. 100 hlm.
- Wujdi A, Suwarso, Wudianto. 2012. Beberapa parameter populasi ikan lemuru (*Sardinella lemuru*, Bleeker 1853) di perairan Selat Bali. *Bawal*, 5(1): 49-57

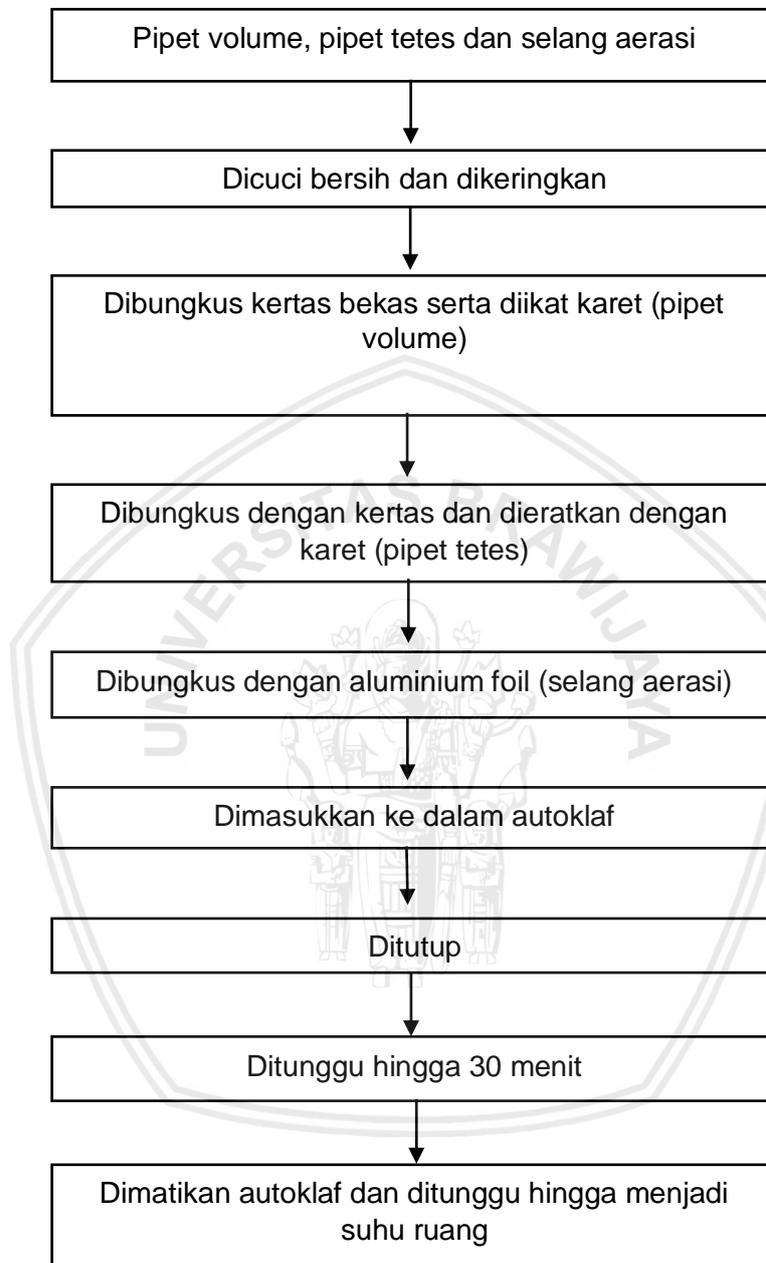
LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Pupuk Walne, Vitamin dan Silikat (FAO, 1991 modifikasi Laing, 1991)

Komposisi	Walne (gr)
Larutan A (1 mL/L untuk kultur):	
Sodium di-hydrogen orthophosphate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	20,0
Sodium nitrate (NaNO_3)	100,0
$\text{Na}_2\text{EDTA}^{(b)}$	45
Solution B	1,0 mL
Manganous chloride ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0,4
Ferric chloride (FeCl_3)	0,8 ^(a)
Boric acid (H_3BO_3)	33,6
Akuades hingga	1 L
Larutan B:	
Zinc chloride (ZnCl_2)	2,1
Cobaltous chloride ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	2,0
Ammonium molybdate ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0,9
Cupric sulphate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	2,0
Konsentrasi HCl	10,0
Akuades hingga ^(c)	100 mL
Larutan C (0,1 mL/L untuk kultur):	
Vitamin B1	0,2
Solution E	25,0
mL Akuades hingga ^(c)	200 mL
Larutan D (kultur diatom ditambahkan larutan A dan C, 2 mL/L untuk kultur)	
Sodium metasilicate ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	40,0
Akuades hingga ^(c)	1 L
Larutan E:	
Vitamin B12	0,1

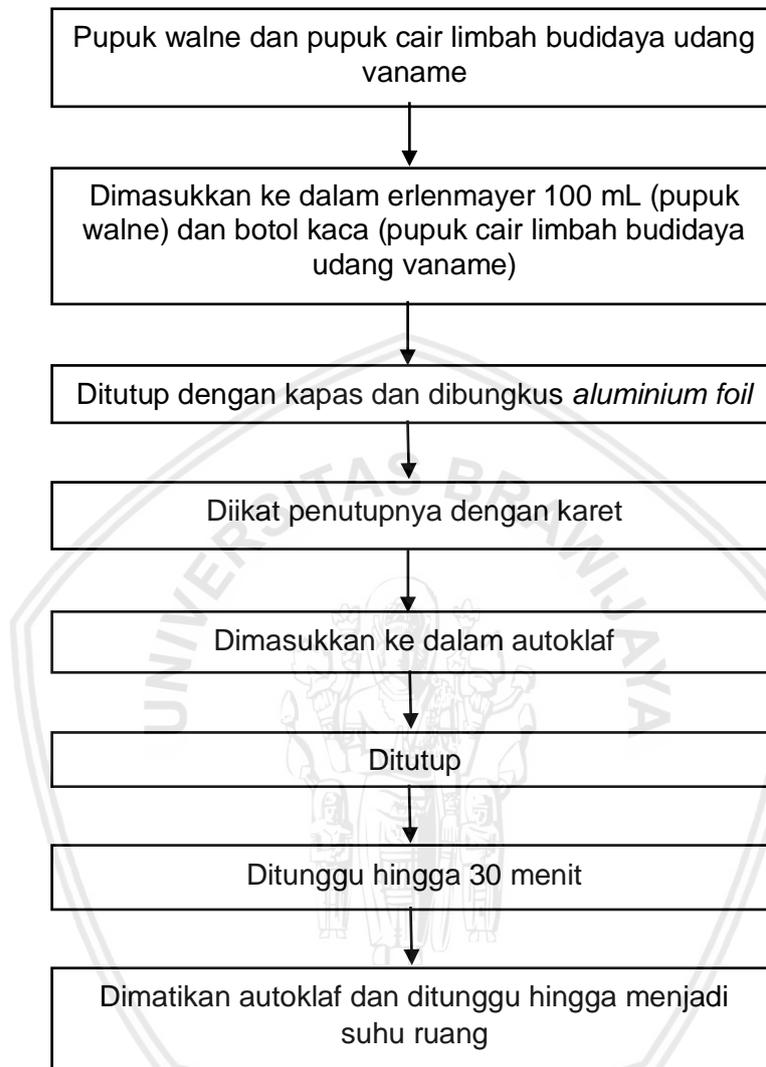
Lampiran 2. Proses Sterilisasi

a. Sterilisasi Alat menggunakan Autoklaf



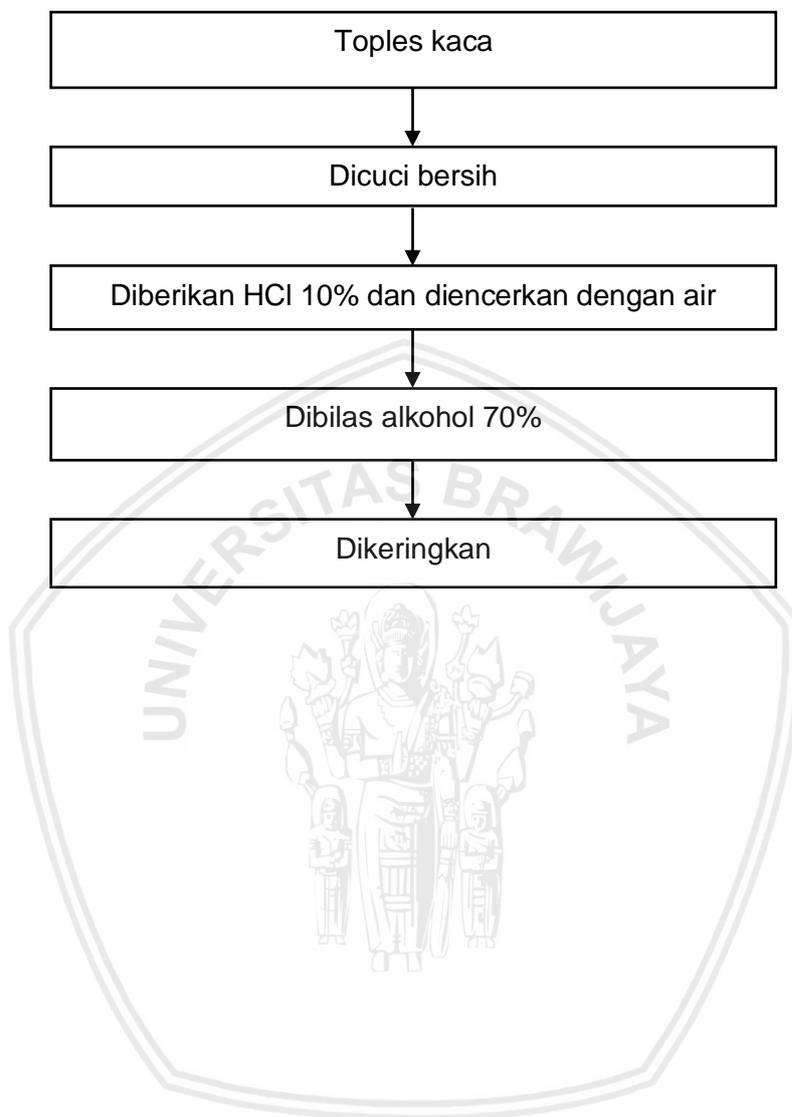
Lampiran 2. Lanjutan

b. Sterilisasi Bahan Menggunakan Autoklaf



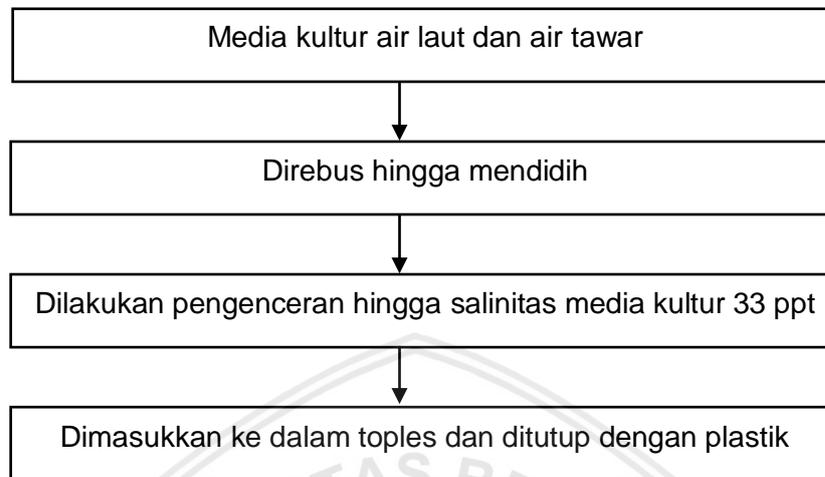
Lampiran 2. Lanjutan

c. Sterilisasi Menggunakan Bahan Kimia (Alat)



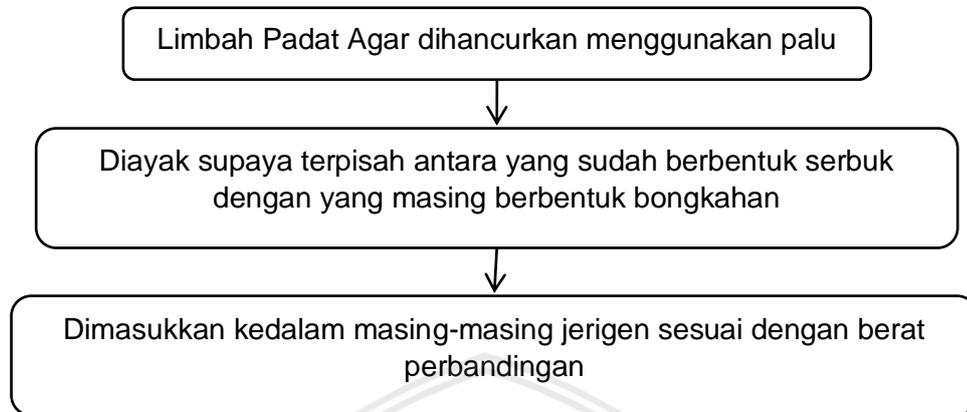
Lampiran 2. Lanjutan

d. Sterilisasi Menggunakan Bahan Kimia (Media Kultur)

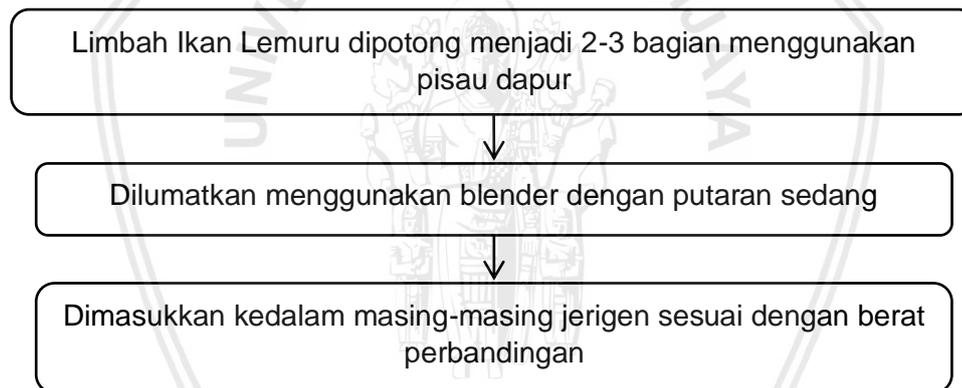


Lampiran 3. Pembuatan Pupuk limbah ikan lemuru dan agar terfermentasi

a. Penghancuran Limbah Padat Agar

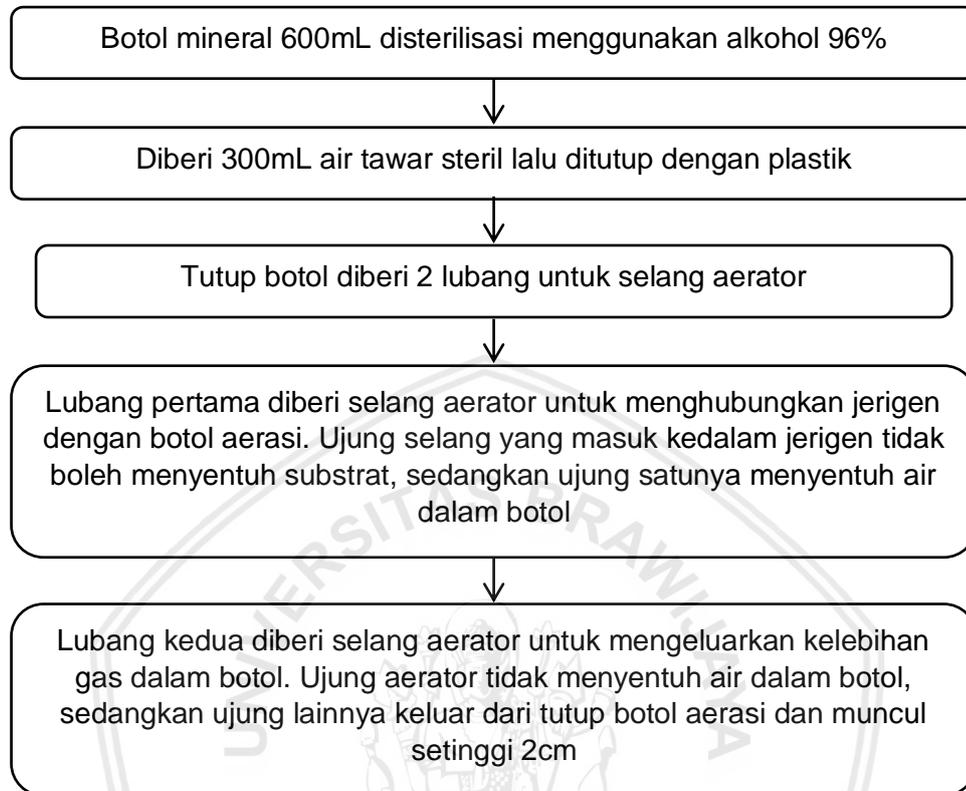


b. Pelumatan Limbah Ikan Lemuru

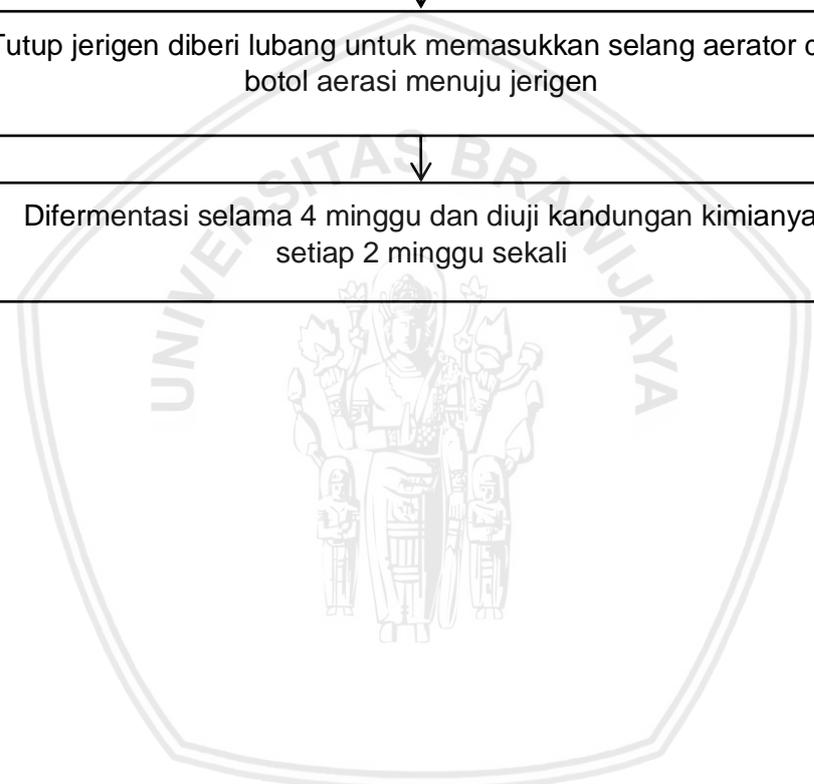
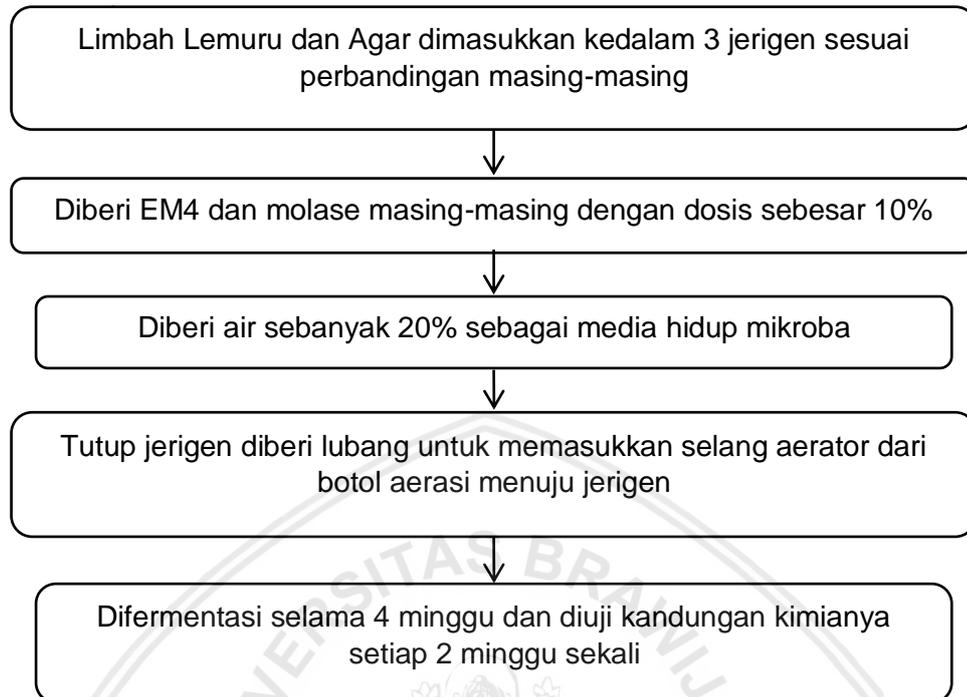


Lampiran 3. Lanjutan

c. Pembuatan botol aerasi



e. Fermentasi Campuran Limbah



Lampiran 4 . Hasil Uji Analisis Proksimat Limbah.

KODE	LIMBAH LEMURU (%)	LIMBAH AGAR (%)
Protein	10,22	0,19
Lemak	3,64	0,07
Air	82,38	75,47
Abu	1,62	17,31
Karbohidrat	2,14	6,96
Serat Kasar	0,02	9,48

Sumber: Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur (2019).



Lampiran 5. Hasil Uji Analisis Kimia Pupuk

- a. Analisis Kimia Fermentasi Campuran Limbah Minggu ke-4 (28 Januari 2019)

KODE (A: L)	C-Org (%)	N tot (%)	BO (%)	P (%)	K (%)	Mg (%)
1:1	1,16	0,74	2,00	0,005	0,082	0,005
1:3	1,29	1,04	2,22	0,030	0,070	0,002
1:5	1,20	1,06	2,08	0,032	0,065	0,001

Sumber: Laboratorium Kimia Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur.

Keterangan :

A : Limbah Agar

L : Limbah Lemuru



Lampiran 6. Perhitungan Range Dosis Perlakuan.

Dosis optimum pemberian pupuk fermentasi adalah 1,2 mL/L dengan penambahan pupuk fosfat sebanyak 0,0034 g atau 3,4 mg dalam 1 liter

Range dosis pupuk fermentasi yang digunakan 0,6 mL/L 1,2 mL/L dan 1,8 mL/L

- a. Perhitungan dosis pupuk fermentasi 0,6 mL/L

Dosis yang dipakai (V_1) : 0,6 mL/L

Kandungan N dalam pupuk (N_1) : 1,067% (10.670 ppm)

Volume media yang digunakan (V_2) : 1.000 mL

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

$$N_2 = \frac{V_1 \cdot N_1}{V_2} = \frac{0,6 \text{ ml} \times 10.670 \text{ ppm}}{1.000 \text{ ml}} = 6,4 \text{ ppm}$$

Sehingga diperoleh kandungan N pada dosis 0,6 mL/L sebanyak 6,4 ppm.

Kebutuhan N:P rasio *Nannochloropsis* sp. :

N:P = 10:1

N=P

Dosis yang digunakan : 0,6 mL/L

P yang digunakan : 0,67 ppm

P dalam pupuk :

$$\frac{320 \text{ ppm}}{1.000 \text{ ml}} = \frac{x}{0,6 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{320 \times 0,6}{1.000} = 0,192 \text{ ppm}$$

Lampiran 6. (Lanjutan).

Kandungan P yang harus digunakan agar seimbang dengan N/P rasio adalah 0,478 ppm. P dalam dosis pupuk fermentasi 0,6 mL/L adalah 0,192 ppm. Pupuk tambahan berupa NaH_2PO_4 yang perlu ditambahkan dapat dihitung sebagai berikut:

Kandungan P dalam pupuk tambahan	:
Ar Na	: 22
Ar H	: 1
Ar P	: 31
Ar O	: 16
Mr NaH_2PO_4	: $22+(2 \times 1)+31+(4 \times 16) = 119$

$$P = \frac{31}{119} \times 100\% = 26\%$$

Dosis P dalam NaH_2PO_4 yang perlu ditambahkan : $0,67 - 0,192 = 0,478$ ppm

Kandungan P dalam NaH_2PO_4 (N_1) : 26% (260.000 ppm)

Volume media yang digunakan (V_2) : 1.000 mL

Kandungan P yang perlu ditambahkan (N_2) : 1,154 ppm

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

$$V_1 = \frac{V_2 \cdot N_2}{N_1} = \frac{1.000 \text{ ml} \times 0,478}{260.000} = 1,8 \text{ g}$$

Volume NaH_2PO_4 yang perlu ditambahkan sebanyak 1,8 g.

Lampiran 6. (Lanjutan).

Perhitungan dosis pupuk fermentasi 1,2 mL/L

Dosis yang dipakai (V_1) : 1,2 mL/L

Kandungan N dalam pupuk (N_1) : 1,067% (10.670 ppm)

Volume media yang digunakan (V_2) : 1.000 mL

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

$$N_2 = \frac{V_1 \cdot N_1}{V_2} = \frac{1,2 \text{ ml} \times 10.670 \text{ ppm}}{1.000 \text{ ml}} = 12,8 \text{ ppm}$$

Sehingga diperoleh kandungan N pada dosis 1,2 mL/L sebanyak 12,8 ppm.

Dosis yang digunakan : 1,2 mL/L

P yang digunakan : 1,28 ppm

P dalam pupuk :

$$\frac{320 \text{ ppm}}{1.000 \text{ ml}} = \frac{x}{1,2 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{320 \times 1,2}{1.000} = 0,384 \text{ ppm}$$

Kandungan P yang harus digunakan agar seimbang dengan N/P rasio adalah 9,6 ppm. P dalam dosis pupuk fermentasi 1,2 mL/L adalah 0,384 ppm. Pupuk tambahan berupa NaH_2PO_4 yang perlu ditambahkan dapat dihitung sebagai berikut:

Dosis P dalam NaH_2PO_4 yang perlu ditambahkan : $1,28 - 0,384 = 0,896$ ppm

Kandungan P dalam NaH_2PO_4 (N_1) : 26% (260.000 ppm)

Volume media yang digunakan (V_2) : 1.000 mL

Kandungan P yang perlu ditambahkan (N_2) : 0,896 ppm

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

Lampiran 6. (Lanjutan).

$$V_1 = \frac{V_2 \cdot N_2}{N_1} = \frac{1.000 \text{ ml} \times 0,896}{260.000} = 0,0034 \text{ g}$$

Volume NaH_2PO_4 yang perlu ditambahkan sebanyak 3,4 g.

b. Perhitungan dosis pupuk fermentasi 1,8 mL/L

Dosis yang dipakai (V_1) : 1,8 mL/L

Kandungan N dalam pupuk (N_1) : 1,067% (10.670 ppm)

Volume media yang digunakan (V_2) : 1.000 mL

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

$$N_2 = \frac{V_1 \cdot N_1}{V_2} = \frac{1,8 \text{ ml} \times 10.670 \text{ ppm}}{1.000 \text{ ml}} = 19,2 \text{ ppm}$$

Sehingga diperoleh kandungan N pada dosis 1,8 mL/L sebanyak 1,92 ppm.

Dosis yang digunakan : 1,8 mL/L

P yang digunakan : 1,92 ppm

P dalam pupuk :

$$\frac{320 \text{ ppm}}{1.000 \text{ ml}} = \frac{x}{1,8 \text{ ml}}$$

$$x = \frac{320 \times 1,8}{1.000} = 0,576 \text{ ppm}$$

Kandungan P yang harus digunakan agar seimbang dengan N/P rasio adalah 19,2 ppm. P dalam dosis pupuk fermentasi 1,8 mL/L adalah 0,576 ppm.

Pupuk tambahan berupa NaH_2PO_4 yang perlu ditambahkan dapat dihitung sebagai berikut:

Dosis P dalam NaH_2PO_4 yang perlu ditambahkan: $1,91 - 0,576 = 1,324$ ppm

Kandungan P dalam NaH_2PO_4 (N_1) : 26% (260.000 ppm)

Volume media yang digunakan (V_2) : 1.000 mL

Kandungan P yang perlu ditambahkan (N_2) : 2,624 ppm

Lampiran 6. (Lanjutan).

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

$$V_1 = \frac{V_2 \cdot N_2}{N_1} = \frac{1.000 \text{ ml} \times 1,324}{260.000} = 0,0047 \text{ g}$$

Volume NaH_2PO_4 yang perlu ditambahkan sebanyak 4,7 g.



Lampiran 7. Pengenceran Inokulan

Diketahui:

- Kepadatan awal *Nannochloropsis* sp. $9,2 \times 10^6$ sel/mL
- Volume untuk media kultur: 1.000 mL
- Kepadatan *Nannochloropsis* sp. yang diinginkan: 1×10^6 sel/mL

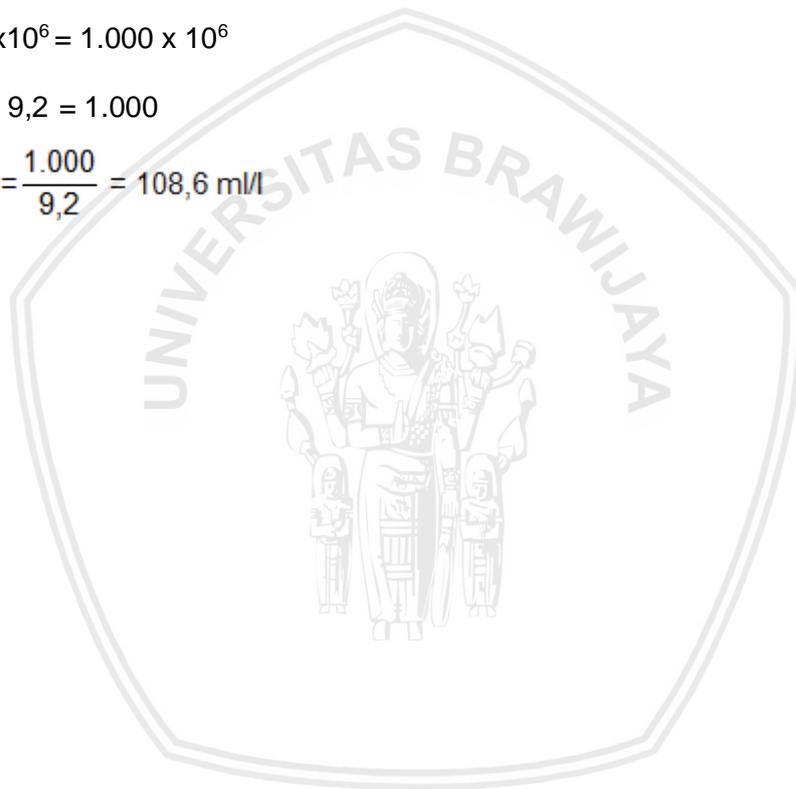
Rumus pengenceran:

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

$$V1 \times 9,2 \times 10^6 = 1.000 \times 10^6$$

$$V1 \times 9,2 = 1.000$$

$$V1 = \frac{1.000}{9,2} = 108,6 \text{ ml/l}$$





Lampiran 8. Data pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

Pertumbuhan <i>Nannochloropsis</i> sp. (sel/mL) x10 ⁴												
Hari Ke-	A (0,6 mL)			B (1,2 mL)			C (1,8 mL)			K (Walne)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
1	350,00	438,33	391,67	426,67	420,00	425,00	465,00	638,00	455,00	475,00	420,00	638,33
2	426,67	480,00	405,00	433,33	443,33	441,67	585,00	681,67	481,67	585,00	890,00	720,00
3	490,00	531,67	531,67	495,00	516,67	490,00	728,33	728,33	623,33	638,33	900,00	900,00
4	526,67	575,00	583,33	683,33	718,33	733,33	833,33	890,00	956,7	990,00	940,00	956,00
5	483,33	476,67	333,33	425,00	500,00	520,00	638,33	833,33	683,33	590	500	520
6	425,00	405,00	283,33	391,67	400,00	416,67	465,00	750,00	566,67	391,67	400	416,66
7	333,33	350,00	255,00	330,00	350,00	351,67	345,00	650,00	460,00	330	350	351,66

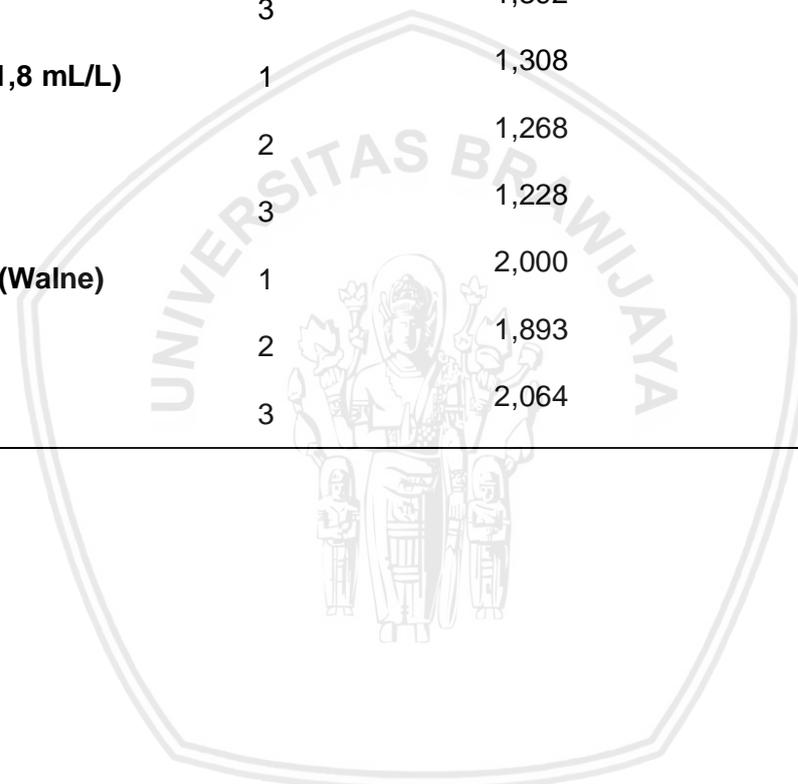
Lampiran 9. Data laju pertumbuhan spesifik *Nannochloropsis* sp.

Perlakuan	Ulangan	Laju Pertumbuhan Spesifik (Hari⁻¹)	Rata-Rata (Hari⁻¹)
A (0,6 mL/L)	1	0,415	0,431
	2	0,437	
	3	0,441	
B (1,2 mL/L)	1	0,480	0,491
	2	0,493	
	3	0,498	
C (1,8 mL/L)	1	0,530	0,547
	2	0,547	
	3	0,565	
K (Walne)	1	0,573	0,561
	2	0,547	
	3	0,565	



Lampiran 10. Data hasil perhitungan *Doubling Time Nannochloropsis sp.*

Perlakuan	Ulangan	<i>Doubling Time</i> (Hari)	Rata-Rata (Hari)
A (0,6 mL/L)	1	1,669	1,609
	2	1,585	
	3	1,572	
B (1,2 mL/L)	1	1,443	1,413
	2	1,406	
	3	1,392	
C (1,8 mL/L)	1	1,308	1,268
	2	1,268	
	3	1,228	
K (Walne)	1	2,000	1,235
	2	1,893	
	3	2,064	



Lampiran 11. Analisa data Laju pertumbuhan spesifik

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	0,415	0,437	0,441	1,294	0,431 ± 0,01
B	0,480	0,493	0,498	1,472	0,491 ± 0,01
C	0,530	0,547	0,565	1,641	0,547 ± 0,02
K	0,573	0,547	0,565	1,685	0,562 ± 0,01
Total				6,091	

Perhitungan Jumlah Kuadrat :

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{6,091^2}{3 \times 4} = 3,091$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + (B2)^2 + \dots + (K3)^2 - FK \\ &= (0,415)^2 + (0,437)^2 + (0,441)^2 + (0,480)^2 + (0,493)^2 + \dots + (0,565)^2 - \\ &3,09 \\ &= 0,0333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum K)^2}{3} - FK \\ &= \frac{(1,673)^2 + (2,165)^2 + (2,693)^2 + (2,839)^2}{3} - 3,09 \\ &= 0,0318 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 0,0015 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	3	0,0318	0,0106	56,68*	5,14
Acak	8	0,0014	0,0002	-	-
Total	11	0,0333	-	-	-

Keterangan : * = berbeda nyata

Lampiran 11. Lanjutan

Perhitungan Uji BNT :

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{ KT Acak}}{\mu}} \\ &= \sqrt{\frac{2 (0,0002)}{3}} \\ &= 0,0111 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) x SED} \\ &= 2,306 \times 0,0111 \\ &= 0,0249 \end{aligned}$$

Tabel BNT :

Rata-Rata Perlakuan	0,431 (A)	0,491 (C)	0,547 (B)	0,652 (K)	Notasi
0,431 (A)	-	-	-	-	a
0,491 (B)	0,059*	-	-	-	b
0,547 (C)	0,116*	0,057*	-	-	c
0,562 (K)	0,130*	0,071*	0,015 ^{ns}	-	c

Keterangan : * = berbeda nyata

Uji Polinomial Orthogonal :

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A (0,6)	1,294	-1	1
B (1,6)	1,472	0	-2
C (1,8)	1,641	1	1
Q=ΣCi.Ti		0,347	-0,008
Kn=Σ(Ci ²)*n		6	18
JK=Q ² /Kn		0,0201	0,000003

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\ &= 0,0201 + 0,000003 \\ &= 0,0201 \end{aligned}$$

Lampiran 11. (Lanjutan)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%
1. Perlakuan	2	0,0214	-	-	-
- Linier	1	0,0201	0,02014	80,67*	5,14
- Kuadrat	1	0,0003	0,00038	0,015 ^{ns}	5,14
2. Acak	6	0,0014	0,00024	-	-
3. Total	8	-	-	-	-

Keterangan : * = berbeda nyata

Mencari R square (R²):

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

$$= \frac{0,0201}{0,021 + 0,0014}$$

$$= 0,9307$$

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

$$= \frac{0,0003}{0,0003 + 0,0014}$$

$$= 0,0025$$

Karena R² Kuadrat < R² Linier, maka dicari persamaan regresi linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
A1	0,6	0,415	0,249	0,36
A2	0,6	0,437	0,262	0,36
A3	0,6	0,441	0,265	0,36
B1	1,200	0,480	0,577	1,44
B2	1,200	0,493	0,592	1,44
B3	1,200	0,498	0,598	1,44
C1	1,800	0,530	0,954	3,24
C2	1,800	0,547	0,984	3,24
C3	1,800	0,565	1,016	3,24
Jumlah	10,8	4,406	5,496	15,120
Rata-rata	1,2	0,489577557	0,610666627	1,68

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{5,496 - \frac{10,8 \times 4,406}{9}}{15,120 - \frac{(10,8)^2}{9}} = 0,0965$$

$$b_0 = \Delta Y - (b_1 \times \Delta X) = 0,4895 - (0,0965 \times 1,2) = 0,3737$$



Lampiran 11. (Lanjutan)

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 \cdot x$ sehingga didapatkan persamaan y sebagai berikut $y = 0,3737 + 0,0965x$



Lampiran 12. Analisa Data Biomassa *Nanochloropsis* sp.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	0,280	0,244	0,276	0,800	0,267 ± 0,019
B	0,364	0,392	0,356	1,112	0,371 ± 0,018
C	0,436	0,484	0,488	1,408	0,469 ± 0,028
K	0,520	0,592	0,520	1,632	0,544 ± 0,041
Total				4,952	

Perhitungan Jumlah Kuadrat :

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{4,952^2}{3 \times 4} = 2,0435$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + (B2)^2 + \dots + (K3)^2 - FK \\ &= (0,280)^2 + (0,244)^2 + (0,276)^2 + (0,364)^2 + (0,392)^2 + \dots + (0,520)^2 - \\ &2,0435 \\ &= 0,1372 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum K)^2}{3} - FK \\ &= \frac{(0,640)^2 + (1,237)^2 + (1,982)^2 + (2,663)^2}{3} - 2,0435 \\ &= 0,1306 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 0,0066 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	3	0,1306	0,0435	52,584*	5,14
Acak	8	0,0066	0,0008	-	-
Total	11	0,1372	-	-	-

Keterangan : * = berbeda nyata

Lampiran 12. Lanjutan

Perhitungan Uji BNT :

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{ KT Acak}}{\mu}} \\ &= \sqrt{\frac{2 (0,0008)}{3}} \\ &= 0,0234 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) x SED} \\ &= 2,306 \times 0,0234 \\ &= 0,0523 \end{aligned}$$

Tabel BNT :

Rata-Rata Perlakuan	0,267(A)	0,371 (B)	0,469 (C)	0,544 (K)	Notasi
0,267 (A)	-				a
0,371 (B)	0,1040*	-			b
0,469 (C)	0,2020*	0,0980*	-		c
0,544 (K)	0,2770*	0,1730*	0,0750*	-	d

Keterangan : * = berbeda nyata

Uji Polinomial Orthogonal :

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A (0,6)	0,800	-1	1
B (1,2)	1,112	0	-2
C (1,8)	1,408	1	1
Q=ΣCi.Ti		0,608	-0,016
Kn=Σ(Ci²)*n		6	18
JK=Q²/Kn		0,0616	0,0014

$$\begin{aligned} \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\ &= 0,0616 + 0,0014 \\ &= 0,063 \end{aligned}$$

Dilanjutkan pada halaman berikutnya

Lampiran 12. (Lanjutan)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%
1. Perlakuan	2	0,06163	-	-	-
- Linier	1	0,06161	0,0616	55,8067*	5,14
- Kuadrat	1	0,00014	1,4222	0,01288 ^{ns}	5,14
2. Acak	6	0,0066	0,0011	-	-
3. Total	8	-	-	-	-

Keterangan : * = berbeda nyata

Mencari R square (R²):

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

$$= \frac{0,0616}{0,0616 + 0,00662}$$

$$= 0,90$$

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

$$= \frac{0,00014}{0,00014 + 0,00662}$$

$$= 0,002$$

Karena R² Kuadrat < R² Linier, maka dicari persamaan regresi linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
A1	0,6	0,2800	0,1680	0,36
A2	0,6	0,2440	0,1464	0,36
A3	0,6	0,2760	0,1656	0,36
B1	1,2	0,3640	0,4368	1,44
B2	1,2	0,3920	0,4704	1,44
B3	1,2	0,3560	0,4272	1,44
C1	1,8	0,4360	0,7848	3,24
C2	1,8	0,4840	0,8712	3,24
C3	1,8	0,4880	0,8784	3,24
Jumlah	10,8	3,3200	4,3488	15,12
Rata-rata	1,2	0,3689	0,4832	1,68

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{2,0844 - \frac{10,8 \times 3,3200}{9}}{15,12 - \frac{(10,8)^2}{9}} = 0,169$$

$$b_0 = \Delta Y - (b_1 \times \Delta X) = 0,3689 - (0,169 \times 1,2) = 0,166$$

Lampiran 12. (Lanjutan)

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 \cdot x$ sehingga didapatkan persamaan y sebagai berikut $y = 0,166 + 0,169x$



Lampiran 13. Analisa Data protein *Nanochloropsis* sp

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	5,026	8,349	7,917	21,292	7,10 ± 1,806
B	10,786	9,543	9,467	29,796	9,93 ± 0,740
C	16,225	14,463	14,041	44,728	14,91 ± 1,158
K	20,260	18,831	20,018	59,109	19,70 ± 0,764
Total				154,925	

Perhitungan Jumlah Kuadrat :

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{154,925^2}{3 \times 4} = 2.000,15$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + (B2)^2 + \dots + (K3)^2 - FK \\ &= (5,026)^2 + (8,349)^2 + (7,917)^2 + (10,786)^2 + (9,543)^2 + \dots + (20,109)^2 - \\ &2000,15 \\ &= 289,87 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum K)^2}{3} - FK \\ &= \frac{(0,640)^2 + (1,237)^2 + (1,982)^2 + (2,663)}{3} - 2,0435 \\ &= 278,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 11,47 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	3	1988,67	662,89	64,68*	5,14
Acak	8	1698,8	212,350	-	-
Total	11	289,87	-	-	-

Keterangan : * = berbeda nyata

Lampiran 13. Lanjutan

Perhitungan Uji BNT :

$$\begin{aligned}
 SED &= \sqrt{\frac{2 \text{ KT Acak}}{\mu}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 (212,35)}{3}} \\
 &= 11,89
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ able 5\% (db acak) x SED} \\
 &= 2,228 \times 11,89 \\
 &= 26,59
 \end{aligned}$$

Tabel BNT :

Rata-Rata Perlakuan	7,09 (A)	9,93 (B)	14,90 (C)	19,70 (K)	Notasi
7,09 (A)	-	-	-	-	a
9,93 (B)	2,8344*	-	-	-	b
14,90 (C)	7,8120*	4,9776*	-	-	c
19,70 (K)	12,605*	9,7713*	4,7937*	-	d

Keterangan : * = berbeda nyata

Uji Polinomial Orthogonal :

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A (0,6)	21,29	-1	1
B (1,2)	29,79	0	-2
C (1,8)	44,72	1	1
Q=ΣCi.Ti		23,43	6,42
Kn=Σ(Ci²)*n		6	18
JK=Q²/Kn		91,83	2,29

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\
 &= 91,83 + 2,29 \\
 &= 93,83
 \end{aligned}$$

Dilanjutkan pada halaman berikutnya



Lampiran 13. (Lanjutan)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%
1. Perlakuan	2	93,83	-	-	-
- Linier	1	91,54	91,54	47,86*	5,14
- Kuadrat	1	2,29	2,29	1,20 ^{ns}	
2. Acak	6	1169,80	16,984	-	-
3. Total	8	-	-	-	-

Keterangan : * = berbeda nyata

Mencari R square (R²):

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

$$= \frac{91,54}{91,54 + 1169,80}$$

$$= 0,89$$

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

$$= \frac{2,29}{2,29 + 1169,80}$$

$$= 0,16$$

Karena R² Linier > R² Kuadrat dan R² Linier, maka dicari persamaan regresi linier

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
A1	0,6	5,03	3,02	0,36
A2	0,6	8,35	5,01	0,36
A3	0,6	7,92	4,75	0,36
B1	1,2	10,79	12,94	1,44
B2	1,2	9,54	11,45	1,44
B3	1,2	9,47	11,36	1,44
C1	1,8	16,22	29,20	3,24
C2	1,8	14,46	26,03	3,24
C3	1,8	14,04	25,27	3,24
Jumlah	10,8	95,82	129,04	15,12
Rata-rata	1,2	10,65	14,34	14,34

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{129,04 - \frac{10,8 \times 95,82}{9}}{15,12 - \frac{(10,8)^2}{9}} = 6,51$$

$$b_0 = \Delta Y - (b_1 \times \Delta X) = 10,65 - (6,51 \times 1,2) = 2,83$$

Lampiran 13. (Lanjutan)

Persamaan regresi linier adalah $y = b_1.x + b_0$ sehingga didapatkan persamaan y sebagai berikut $y = 2,834 + 6,510X$



Lampiran 14. Data Kualitas Air (Nitrat, Fosfat, suhu, pH, DO, Salinitas) selama penelitian berlangsung

Daya serap Nitrat pada *Nannochloropsis* sp.

Perlakuan	Ulangan	Konsentrasi Nitrat (ppm)			N terserap (%)			Total N terserap (%)	Rerata N terserap (%)
		H0	H4	H7	H0	H4	H7		
A (0,6 mL/L)	1	0,07	0,05	0,05	0,00	27,61	2,53	30,13	30,50
	2	0,07	0,05	0,05	0,00	28,56	1,96	30,52	
	3	0,07	0,05	0,05	0,00	28,69	2,15	30,84	
B (1,2 mL/L)	1	0,09	0,06	0,06	0,00	30,75	7,14	37,90	38,91
	2	0,10	0,07	0,06	0,00	31,30	7,34	38,64	
	3	0,10	0,06	0,06	0,00	33,68	6,52	40,20	
C (1,8 mL/L)	1	0,16	0,10	0,09	0,00	40,00	6,73	46,73	47,13
	2	0,16	0,09	0,09	0,00	42,52	3,31	45,82	
	3	0,17	0,10	0,09	0,00	41,79	7,06	48,84	
K (Walne)	1	0,50	0,25	0,19	0,00	50,71	19,73	60,44	59,89
	2	0,50	0,25	0,20	0,00	50,54	18,52	59,70	
	3	0,50	0,25	0,20	0,00	50,61	18,07	59,54	

Lampiran 14. (Lanjutan)

Daya serap Fosfat Pada *Nannochloropsis* sp.

Perlakuan	Ulangan	Konsentrasi Fosfat (ppm)			P Terserap (%)			Total P Terserap(%)	Rerata P Terserap (%)
		H0	H4	H7	H 0	H 4	H 7		
A (0,6 mL/L)	1	0,20	0,11	0,10	0,00	43,04	10,43	53,46	53,29
	2	0,20	0,12	0,10	0,00	42,71	10,86	53,57	
	3	0,20	0,12	0,10	0,00	42,11	10,73	52,84	
B (1,2 mL/L)	1	0,20	0,12	0,10	0,00	42,35	14,99	57,34	57,69
	2	0,20	0,11	0,10	0,00	43,36	13,95	57,31	
	3	0,20	0,11	0,10	0,00	43,81	14,62	58,44	
C (1,8 mL/L)	1	0,26	0,14	0,12	0,00	46,74	15,21	61,95	62,62
	2	0,27	0,14	0,12	0,00	47,23	16,11	63,34	
	3	0,26	0,14	0,12	0,00	46,87	15,71	62,57	
K (Walne)	1	2,96	0,51	0,30	0,00	82,68	41,33	89,84	89,84
	2	2,96	0,51	0,30	0,00	82,62	41,63	89,86	
	3	2,96	0,51	0,30	0,00	82,64	41,37	89,82	

Lampiran 14. (Lanjutan)

Suhu pada Kultur *Nannochloropsis* sp.

Hari Ke-	Suhu (°C)											
	K (Walne)			A (0,6 mL/L)			B (1,2 mL/L)			C (1,8 mL/L)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	28	29	29	30	30	30	30	30	30	30	30	30
1	29	30	30	29	30	29	29	30	29	29	30	29
2	29	30	30	29	29	29	29	29	29	29	29	29
3	30	30	30	29	29	29	29	29	29	29	29	29
4	30	30	31	29	29	29	29	29	29	29	29	29
5	30	30	31	29	29	29	29	29	29	29	29	29
6	30	30	31	29	29	29	29	29	29	29	29	29
7	30	29	31	29	29	30	29	29	29	29	29	29

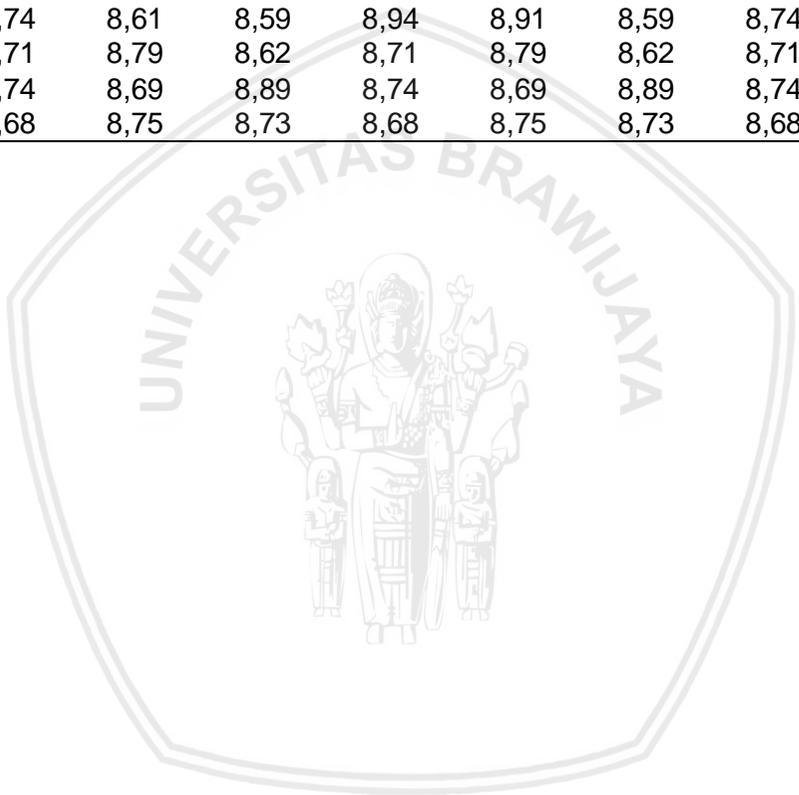
pH pada Kultur *Nannochloropsis* sp

Hari Ke-	pH											
	K (Walne)			A (0,6 mL)			B (1,2 mL)			C (1,8 mL)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	8,39	8,21	8,07	8,25	8,37	8,32	8,32	8,23	8,26	8,52	8,72	8,64
1	8,32	8,32	8,04	8,31	8,41	8,29	8,24	8,29	8,37	8,59	8,61	8,57
2	8,21	8,04	8,39	8,39	8,39	8,25	8,36	8,44	8,49	8,72	8,69	8,56
3	8,21	8,39	8,1	8,35	8,52	8,22	8,43	8,39	8,39	8,11	8,21	8,32
4	8,04	8,39	8,32	8,21	8,39	8,13	8,45	8,47	8,22	8,32	8,47	8,41
5	8,39	8,06	8,21	8,36	8,39	8,02	8,31	8,55	8,43	8,56	8,67	8,62
6	8,07	8,41	8,21	8,41	8,34	8,19	8,39	8,52	8,28	8,41	8,39	8,27
7	8,39	8,39	8,1	8,32	8,42	8,25	8,49	8,42	8,39	8,62	8,59	8,57

Lampiran 14. (Lanjutan)

Oksigen Terlarut (DO) pada Kultur *Nannochloropsis* sp.

Hari Ke-	DO (mg/L)											
	K (Walne)			A (0,6 mL)			B (1,2 mL)			C (1,8 mL)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	8,83	8,71	8,72	8,53	8,71	8,72	8,63	8,72	8,7	8,58	8,71	8,72
1	8,68	8,67	8,69	8,68	8,67	8,69	8,78	8,67	8,69	8,68	8,67	8,69
2	8,57	8,68	8,66	8,57	8,88	8,66	8,77	8,88	8,66	8,67	8,88	8,66
3	8,68	8,72	8,61	8,68	8,92	8,81	8,68	8,82	8,61	8,68	8,72	8,81
4	8,74	8,61	8,59	8,94	8,91	8,59	8,74	8,81	8,59	8,64	8,91	8,59
5	8,71	8,79	8,62	8,71	8,79	8,62	8,71	8,79	8,62	8,71	8,79	8,72
6	8,74	8,69	8,89	8,74	8,69	8,89	8,74	8,69	8,79	8,74	8,69	8,89
7	8,68	8,75	8,73	8,68	8,75	8,73	8,68	8,75	8,73	8,68	8,75	8,73



Lampiran 14. Salinitas pada Kultur *Nannochloropsis* sp.

Hari Ke-	Salinitas (ppt)											
	K (Walne)			A (0,6 mL)			B (1,2 mL)			C (1,8 mL)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33
1	33	32	33	33	33	33	33	32	33	32	32	33
2	32	33	32	32	32	33	32	33	32	32	31	31
3	33	35	33	33	34	32	32	34	34	33	33	32
4	36	34	32	35	35	34	34	34	36	34	34	35
5	34	33	33	34	35	34	33	32	34	33	32	35
6	34	34	34	34	34	35	35	33	35	33	34	33
7	33	34	33	33	34	34	34	33	34	34	33	32

