

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

**SKRIPSI**

Oleh :  
**KHAIDIR AKIL**  
**NIM. 155080507111014**



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

**PENGARUH PEMBERIAN GLUKOSA DENGAN DOSIS YANG BERBEDA PADA  
KONDISI MIKSOTROFIK TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA, KLOOROFIL-a,  
DAN KANDUNGAN PROTEIN *Skeletonema costatum***

**SKRIPSI**

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

Oleh :  
**KHAIDIR AKIL**  
**NIM. 155080507111014**



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

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN GLUKOSA DENGAN DOSIS YANG BERBEDA  
PADA KONDISI MIKSOTROFIK TERHADAP PERTUMBUHAN, BIOMASSA,  
KLOORIFIL-a, DAN KANDUNGAN PROTEIN *Skeletonema costatum*

Oleh:  
KHAIDIR AKIL  
NIM. 155080507111014

telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 3 Juli 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Pembimbing 1,

Dosen Pembimbing 2,

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S.)

(Muhammad Fakhri, S.Pi., M.P., M.Sc.)

NIP. 196208051986032001

NIP. 198607172015041001

Tanggal: 02 AUG 2019

Tanggal: 02 AUG 2019

Mengetahui,  
Kepala Jurusan MSP,



(Muhammad Firdaus, M.P.)

NIP. 196809192005011001

Tanggal: 02 AUG 2019



**IDENTITAS TIM PENGUJI**

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

Nama Mahasiswa : KHAIDIR AKIL  
NIM : 155080507111014  
Program : Budidaya Perairan

**PENGUJI PEMBIMBING**

Pembimbing I : DR. IR. ARNING WILUJENG EKAWATI, M.S.  
Pembimbing II : MUHAMMAD FAKHRI, S.Pi., M.P.

**PENGUJI BUKAN PEMBIMBING**

Dosen Penguji I : Dr. Ating Yuniarti, S.Pi., M. Aqua  
Dosen Penguji II : Ir. Ellana Sanoesi, M. P.  
Tanggal Ujian : 3 Juli 2019

## UCAPAN TERIMA KASIH

Tidak lupa ingin saya sampaikan sebagai penulis ucapan rasa terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Karunia-Nya serta Kesehatan hingga Kelancaran.
2. Bapak Drs. Muh. Akil Said dan Ibu Hasbiah Harun yang tak pernah berhenti memberikan dukungan dan doa.
3. Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S. selaku dosen pembimbing yang telah membimbing, mengajarkan dalam penyusunan proposal skripsi ini.
4. Bapak Muhamad Fakhri, S.Pi., M.P., M.P. selaku selaku dosen pembimbing 2 yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Ating Yuniarti, S.Pi., M. Aqua dan ibu Ir. Ellana Sanoesi, M. P. seelaku penguji selama ujian skripsi.
6. Pak Udin selaku staff pegawai dan teknisi laboratorium reproduksi ikan atas segala arahannya dan ilmunya.
7. Sahabat-sahabat saya (Farah, Galang, Devriza, Saniy, Yany), teman-teman penelitian di laboratorium, serta masih banyak pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

## RINGKASAN

**Khaidir Akil.** Skripsi tentang Pengaruh Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda pada Kondisi Miksotrofik terhadap Pertumbuhan, Biomassa, Klorofil-a dan Kandungan Protein *Skeletonema costatum* (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S. dan Muhammad Fakhri, S.Pi., MP., M.Sc.**)

Mikroalga adalah organisme berukuran seluler yang bersifat fotosintesis. Mikroalga biasanya dimanfaatkan oleh pembudidaya ikan sebagai pakan alami benih. Salah satu mikroalga yang dimanfaatkan yaitu *Skeletonema costatum*. Plankton ini mudah dicerna dikarenakan memiliki enzim autolisis. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *Skeletonema costatum* salah satunya yaitu lingkungan media kultur yang dapat dilakukan dalam kondisi fototrofik, heterotrofik, dan miksotrofik. Pada kultur secara miksotrofik mikroalga melakukan proses fotosintesis dan menggunakan nutrisi karbon organik untuk menghasilkan energi. Glukosa sebagai sumber karbon organik berperan sebagai energi alternatif untuk menghasilkan biomassa yang lebih tinggi dan intensitas cahaya yang diperlukan rendah, sehingga dibutuhkan dosis glukosa yang sesuai untuk mendapatkan biomassa, kandungan protein dan klorofil-a *Skeletonema costatum* dengan hasil maksimal.

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda dengan kondisi miksotrofik terhadap pertumbuhan, biomassa, kandungan protein, dan klorofil-a *Skeletonema costatum* yang diharapkan menjadi salah satu informasi baru tentang pengaturan dan optimalisasi penggunaan glukosa sebagai sumber karbon organik untuk pertumbuhan, biomassa, kandungan protein, dan klorofil-a *Skeletonema costatum*.

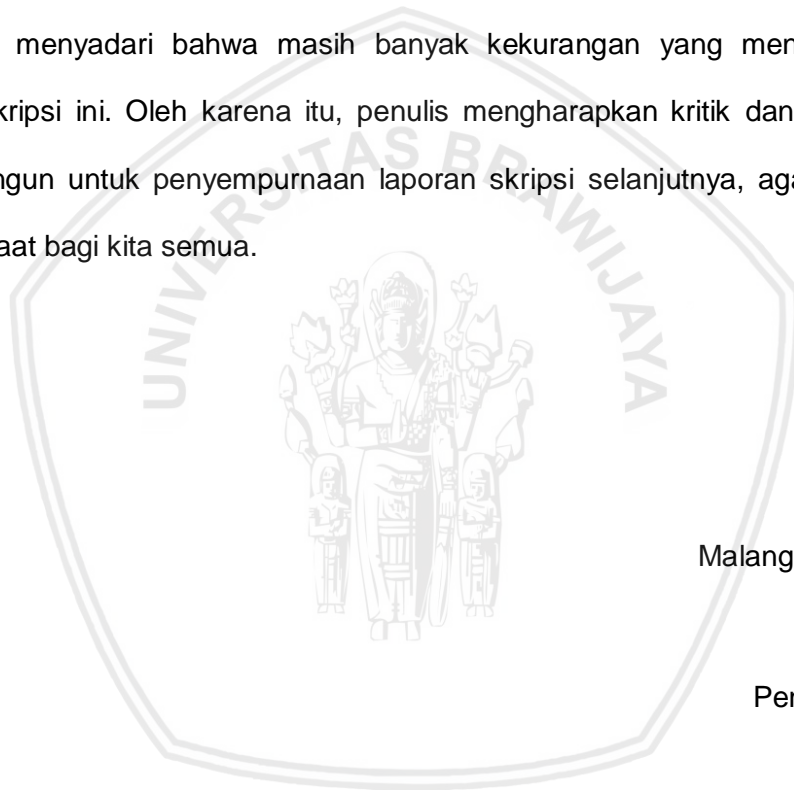
Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah perbedaan dosis glukosa yaitu (A) 0 g/l, (B) 0,08 g/l, (C) 0,16 g/l, dan (D) 0,24 g/l dengan intensitas cahaya yang digunakan 3.000 lux. Parameter utama yang diamati adalah pertumbuhan, biomassa, kandungan protein, dan klorofil-a *Skeletonema costatum* serta parameter penunjang yang diukur adalah suhu, pH, oksigen terlarut, nitrat, dan fosfat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda pada kondisi miksotrofik berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan, biomassa, klorofil-a, dan kandungan protein *Skeletonema costatum*. Pemberian dosis glukosa terbaik untuk pertumbuhan yaitu 0,13 g/l dengan hasil 1,065 hari<sup>-1</sup>, untuk biomassa dengan dosis 0,18 g/l menghasilkan 0,990 g/l, untuk klorofil-a dengan dosis 0,17 g/l menghasilkan 0,730 µg/ml, dan untuk kadar protein dengan dosis 0,12 g/l menghasilkan 33,309%. Serapan nitrat dan fosfat tertinggi mencapai 46,17% dan 41,59%. Hasil pengukuran parameter penunjang seperti suhu, pH, oksigen terlarut, nitrat, dan fosfat selama penelitian berada pada kisaran yang optimal untuk kehidupan *Skeletonema costatum*. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, biomassa, klorofil-a, dan kandungan protein *Skeletonema costatum*. Pemberian dosis glukosa terbaik selama penelitian yaitu sebesar 0,12-0,18 g/l, sehingga untuk selanjutnya dapat disarankan pada kultur *Skeletonema costatum* dengan sistem miksotrofik menggunakan dosis glukosa sebesar 0,12-0,18 g/l.

## KATA PENGANTAR

Skripsi ini berjudul Pengaruh Pemberian Glukosa dengan Dosis yang berbeda pada Kondisi Miksotrofik terhadap Pertumbuhan, Biomassa, Kandungan Protein dan klorofil-a *Skeletonema costatum*. Dalam skripsi ini disampaikan metode yang digunakan pada saat penelitian. Penelitian ini dibimbing oleh Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S. selaku dosen pembimbing I dan M. Fakhri, S.Pi., M.P., M.Sc. selaku dosen pembimbing 2.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang mendasar pada penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun untuk penyempurnaan laporan skripsi selanjutnya, agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.



Malang, Juli 2019

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xii</b>
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Kegunaan Penelitian.....	3
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	3
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Biologi <i>Skeletonema costatum</i> .....	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	4
2.1.2 Reproduksi .....	5
2.2 Fase Pertumbuhan .....	5
2.2.1 Fase Adaptasi .....	6
2.2.2 Fase Eksponensial .....	6
2.2.3 Fase Stationer .....	7
2.2.4 Fase Kematian .....	7
2.3 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan.....	8
2.3.1 Kondisi Lingkungan .....	8
2.3.2 Nutrien.....	10
2.4 Sistem Kultur Miksotrofik .....	11
2.5 Kadar protein <i>S. Costatum</i> .....	11
2.6 Klorofil-a <i>S. Costatum</i> .....	12
2.7 Pengaruh Glukosa terhadap Pertumbuhan <i>S. Costatum</i> .....	12



<b>3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>14</b>
3.1 Alat dan Bahan Penelitian .....	14
3.1.1 Alat Penelitian .....	14
3.1.2 Bahan Penelitian .....	14
3.2 Media Penelitian .....	15
3.3 Metode Penelitian .....	15
3.4 Rancangan Percobaan .....	15
3.5 Prosedur Penelitian .....	16
3.5.1 Persiapan Penelitian .....	16
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian .....	18
3.6 Parameter yang Diukur .....	19
3.6.1 Parameter Utama .....	19
3.6.2 Parameter Penunjang .....	22
3.7 Analisis Data .....	24
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>25</b>
4.1 Pertumbuhan <i>S. Costatum</i> .....	25
4.2 Biomassa <i>S. Costatum</i> .....	30
4.3 Klorofil-a <i>S. Costatum</i> .....	32
4.4 Kadar Protein <i>S. Costatum</i> .....	33
4.5 Parameter Kualitas Air.....	34
4.5.1 Suhu.....	34
4.5.2 pH.....	34
4.5.3 Oksigen Terlarut.....	34
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>36</b>
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran.....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>37</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>41</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. <i>Skeletonema costatum</i> .....	4
2. Fase Pertumbuhan Mikroalga .....	6
3. Denah Percobaan Rancangan Percobaan.....	16
4. Pertumbuhan <i>S. Costatum</i> .....	26
5. Hubungan Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik <i>S. Costatum</i> .....	28
6. Nilai Serapan Nitrat <i>Skeletonema costatum</i> dengan Pemberian Dosis Glukosa yang Berbeda.....	29
7. Nilai Serapan Fosfat <i>S. Costatum</i> dengan Pemberian Dosis Glukosa yang Berbeda .....	30
8. Hubungan Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda terhadap Produksi Biomassa <i>S. Costatum</i> .....	31
9. Hubungan Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda terhadap Klorofil-a <i>S. Costatum</i> .....	32
10. Hubungan Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda terhadap Protein <i>S. Costatum</i> .....	33

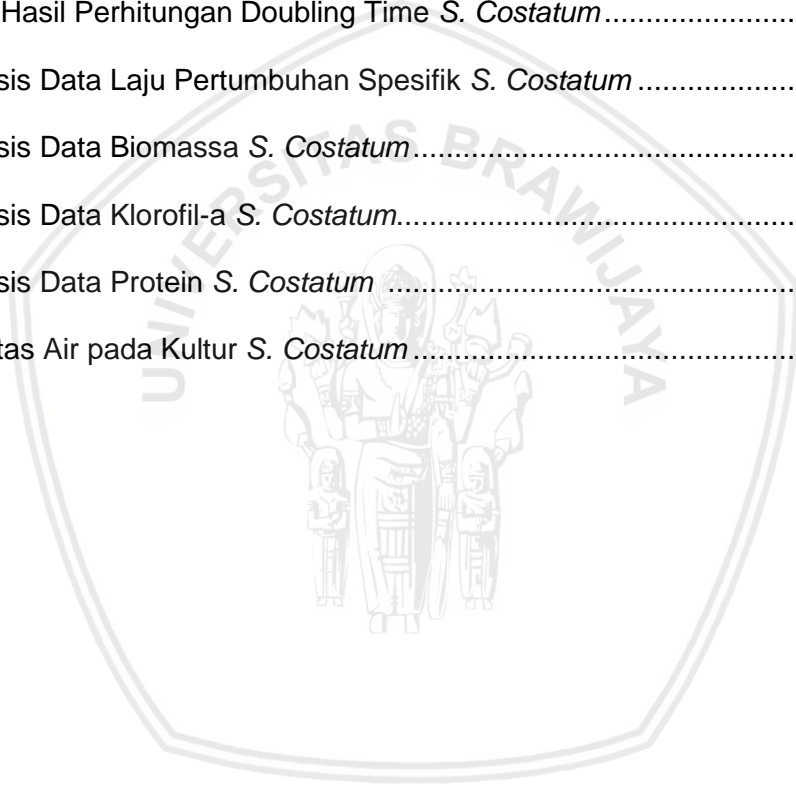
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-Rata Parameter Uji Selama Penelitian.....	26



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi Pupuk Walne, Vitamin, dan Silikat. ....	41
2. Proses Sterilisasi .....	42
3. Data Pertumbuhan <i>Skeletonema costatum</i> dalam Perlakuan Pemberian Glukosa .....	45
4. Data Hasil Perhitungan Laju Pertumbuhan Spesifik <i>S. Costatum</i> .....	46
5. Data Hasil Perhitungan Doubling Time <i>S. Costatum</i> .....	47
6. Analisis Data Laju Pertumbuhan Spesifik <i>S. Costatum</i> .....	48
7. Analisis Data Biomassa <i>S. Costatum</i> .....	54
8. Analisis Data Klorofil-a <i>S. Costatum</i> .....	60
9. Analisis Data Protein <i>S. Costatum</i> .....	66
10. Kualitas Air pada Kultur <i>S. Costatum</i> .....	72



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Skeletonema costatum* merupakan salah satu pakan alami yang banyak digunakan dalam usaha pembenihan udang, ikan, kerang-kerangan, dan kepiting. *S. costatum* sangat umum digunakan sebagai pakan larva udang windu yang dimulai sejak nauplius bermetamorfosa menjadi zoea. *S. costatum* memiliki beberapa kelebihan dibandingkan pakan buatan, karena memiliki enzim autolisis sendiri sehingga mudah dicerna oleh larva dan tidak mengotori media budidaya. Peranan pakan alami sampai saat ini belum dapat digantikan secara menyeluruh, berfungsi sebagai sumber protein, karbohidrat dan lemak, terutama merupakan sumber asam lemak esensial yang sangat potensial (Sutomo, 2005).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga sebagai faktor tumbuh (*growth factors*). Faktor tumbuh tersebut selanjutnya diklasifikasikan sebagai faktor sumber daya (*resource factors*) dan faktor pendukung (*non resource factors*). Faktor sumberdaya meliputi faktor-faktor yang terdiri dari sumberdaya yang secara langsung dipergunakan oleh sel-sel alga untuk pertumbuhannya, seperti unsur hara, cahaya matahari dan CO<sub>2</sub>. Sementara faktor pendukung terdiri dari faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi proses metabolisme dalam sel mikroalga, antara lain suhu dan pH (Chrismada, *et al.*, 2006). Mikroalga mampu merubah kandungan nutrisi akibat pengaruh lingkungan dalam tiga bentuk yaitu autotrof, heterotrof, miksotrof. Dalam kultur autotrofik, mikroalga menggunakan pigmen yang melakukan fotosintesis dengan zat anorganik dan menghasilkan zat organik dari bantuan H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> dan sinar matahari. Metode heterotrof memperoleh unsur-unsur dan energi dari proses metabolisme yang disintesis oleh organisme. Sedangkan pada kultur miksotrof, mikroalga menggunakan keduanya yaitu fotosintesis dan konsumsi nutrisi organik

(Salim, 2015). Kultur mikroalga dengan metode heterotrofik mudah terkena kontaminasi oleh mikroorganisme lain, serta membutuhkan pasokan nutrisi, aerasi untuk pengadukan pada media kultur (Garcia dan Bashan, 2015).

Kultur mikroalga pada kondisi miksotrofik dengan penambahan karbon organik mampu meningkatkan biomassa, sehingga menjadi alternatif dari kultur fotoautotrofik yang konvensional. Penggunaan glukosa sebagai sumber energi alternatif, lebih murah daripada menyediakan cahaya bagi pertumbuhan mikroalga. Glukosa merupakan substrat karbon kompleks yang dapat menghasilkan biomassa dan komponen biokimia pada mikroalga. Penambahan glukosa mampu meningkatkan pertumbuhan lebih baik dibandingkan sumber karbon lainnya, dikarenakan glukosa menghasilkan energi 2,8 kJ/mol dibandingkan pada asetat sebesar 0,8 kJ/mol (Wang, *et al.*, 2012) Pertumbuhan mikroalga *Synechocystis* sp. pada kultur miksotrofik memiliki kepadatan tinggi dengan pemberian glukosa maksimal sebanyak 3,2 g/l dan intensitas cahaya sebesar 5 klux (Chojnacka, *et al.*, 2004).

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

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

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

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

#### 1.4 Hipotesis

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

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

#### 1.5 Kegunaan Penelitian

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

#### 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

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



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi *Skeletonema costatum*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *S. Costatum* (Gambar 1) menurut Edhy, *et al.* (2003) adalah sebagai berikut :

Divisi	: Chrysophyta
Classi	: Bacillariophyceae
Ordo	: Centrales
Family	: Skeletonemoidae
Genus	: Skeletonema
Spesies	: <i>S. Costatum</i>



**Gambar 1.** *S. Costatum* (Triswanto,2011)

*S. Costatum* merupakan diatom yang dapat membentuk untaian rantai yang terdiri dari beberapa sel dan berwarna coklat. *S. Costatum* memiliki ukuran 4-6 mikron, bersel tunggal, mempunyai bentuk kotak yang terdiri atas epiteka pada bagian atas dan hipoteka pada bagian bawah dengan sitoplasma yang memenuhi sel dan tidak memiliki alat gerak. Perkembangbiakan *S. Costatum* terjadi melalui pembelahan sel. Dinding sel pada *S. Costatum* yaitu pada bagian epiteka dan hipoteka mempunyai struktur yang terbuat dari silikat (Armanda, 2013).

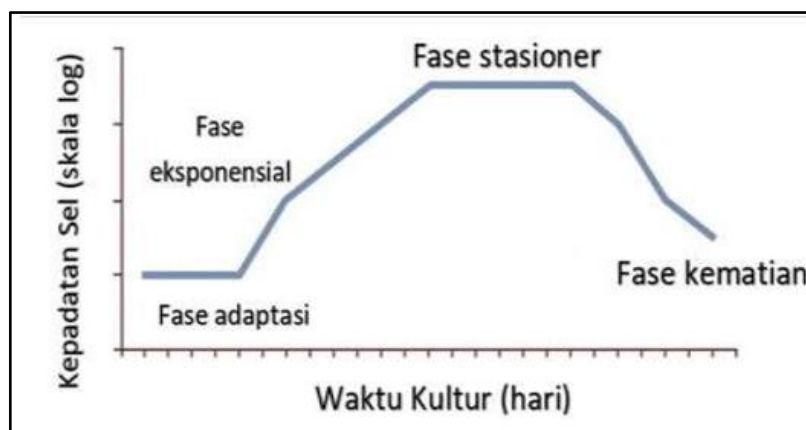
### 2.1.2 Reproduksi

Siklus hidup *Skeletonema costatum* secara normal bereproduksi secara aseksual, yaitu secara pembelahan sel. Pembelahan sel yang terjadi berulang-ulang ini akan mengakibatkan ukuran sel menjadi lebih kecil secara berangsur-angsur hingga generasi tertentu. Apabila ukuran sel telah menjadi 7 mikron, secara reproduksi tidak lagi secara aseksual tetapi berganti menjadi seksual dengan pembentukan auxsopora. Mula-mula epiteka dan hipoteka ditinggalkan dan menghasilkan auxsopora tersebut. Auxsopora akan membangun epiteka dan hipoteka baru dan tumbuh menjadi sel yang ukurannya membesar, kemudian melakukan pembelahan sel sehingga membentuk rantai. Menurut hasil penelitian Romimohtarto dan Juwana (2001) umumnya *S. Costatum* berkembangbiak dengan pembelahan sel sederhana. Cara ini memberikan hasil yang bagus dalam mengembangkan populasi melalui dua jalan yang berbeda yaitu:

1. Cara ini mendorong dalam jumlah besar yang cepat jika kondisi untuk tumbuh.
2. Ukuran terbesar yang dicapai sel tunggal sebagai bagian dari populasi terus berkurang oleh setiap pembelahan berikutnya. (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995)

### 2.2 Fase Pertumbuhan

Pertumbuhan mikroalga dapat dibagi menjadi empat fase yang meliputi fase lag (adaptasi), fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian (Fachrullah, 2011). Kurva pertumbuhan mikroalga tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Fase Pertumbuhan Mikroalga (Cresswell, 2010)

### 2.2.1 Fase Adaptasi

Fase adaptasi yaitu fase penyesuaian diri dengan media kultur yang sudah diberi pupuk atau nutrisi. Salah satu faktor yang menentukan lamanya fase adaptasi adalah umur mikroalga yang digunakan sebagai inokulan. Fase adaptasi menjadi lebih singkat atau bahkan tidak terlihat apabila sel-sel yang diinokulasikan berasal dari kultur yang berada dalam fase eksponensial. Fase adaptasi juga ditentukan oleh media lingkungan pertumbuhan. Sel yang ditempatkan dalam media lingkungan pertumbuhan sama seperti lingkungan sebelumnya, sedikit memerlukan waktu untuk adaptasi. Nutrien yang tersedia dan kondisi lingkungan yang berbeda dengan sebelumnya akan memerlukan waktu penyesuaian untuk mensintesis enzim-enzim yang dibutuhkan untuk metabolisme (Regista, *et al.*, 2017).

Fase lag yaitu inokulan mengalami adaptasi terhadap lingkungannya. Faktor yang menentukan terjadinya fase lag adalah umur inokulan. Umur inokulan yang tua memerlukan waktu agak lama untuk mengaktifkan kembali pertumbuhan selnya (Setyaningsih, *et al.*, 2012).

### 2.2.2 Fase Eksponensial

Fase pertumbuhan eksponensial yaitu sel-sel membelah diri dengan cepat. Fase pertumbuhan dengan tingkat penyerapan CO<sub>2</sub> pembentukan biomassa yang

tinggi terjadi pada fase eksponensial. Pada fase eksponensial juga terjadi penyerapan nutrisi dari media secara cepat (Prayitno, 2016). Pada fase eksponensial terjadi peningkatan kepadatan sel. Proses perbanyakan sel pada fase eksponensial berlangsung cepat sehingga sel bertambah. Fase eksponensial dapat terjadi karena kandungan nutrisi yang tersedia dalam lingkungan masih dalam jumlah yang banyak sehingga pertumbuhan dan pembelahan sel terus terjadi secara maksimal (Salim, *et al.*, 2011)

### **2.2.3 Fase Stationer**

Pada fase stasioner jumlah populasi sel mikroalga tetap, karena jumlah sel yang membelah sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase stasioner menjadi lebih kecil-kecil. Hal tersebut terjadi karena sel tetap melakukan pembelahan meskipun zat-zat nutrisi yang terdapat dalam media sudah mulai berkurang (Setyati, *et al.*, 2015).

Fase stasioner kepadatan sel menjadi konstan dan maksimum. Fase stasioner dapat terjadi karena berkurangnya nutrisi dalam media lingkungan pertumbuhan sehingga laju pertumbuhan mikroalga setara dengan laju kematian. Pada fase ini jumlah sel mencapai maksimum dan mengakibatkan sel mengalami keterbatasan dalam memperoleh cahaya maupun nutrisi. Fase ini sel berusaha untuk mempertahankan dirinya (Agustini, 2002).

### **2.2.4 Fase Kematian**

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 dari laju reproduksi dan jumlah sel mengalami penurunan (Gunawan dan Wianto, 2016).

Fase kematian merupakan penurunan jumlah mikroalga setelah melewati fase stasioner. Pada fase ini ditandai dengan laju kematian yang lebih tinggi daripada laju reproduksi (Hermanto, *et al.*, 2013). Fase kematian terjadi pada umur kultivasi 9-15 hari. Kepadatan sel juga dipengaruhi oleh temperatur, aerasi, cahaya, dan pH (Boyd, 2004).

## **2.3 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan**

### **2.3.1 Kondisi Lingkungan**

#### **a. Suhu**

Suhu mempengaruhi efisiensi fotosintesis dan merupakan faktor 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 (Regista, 2017).

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Tinggi atau rendahnya suhu pada media kultur akan mempengaruhi kehidupan mikroalga didalamnya. Semakin tinggi suhu maka kebutuhan organisme akan oksigen semakin meningkat (Hasanudin, 2012). Menurut Tafreshi dan Tafreshi (2009), suhu optimal untuk kultur *S. Costatum* yaitu 25-35 °C

#### **b. Derajat Keasaman (pH)**

Keberhasilan teknik kultur mikroalga dipengaruhi oleh faktor 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 *S. Costatum* yaitu antara 6 – 8 (Taraldsvik dan Myklestad, 2000).

Derajat keasaman atau pH merupakan nilai yang menunjukkan aktivitas ion hidrogen dalam air. Nilai pH suatu perairan dapat mencerminkan keseimbangan antar asam dan basa dalam perairan tersebut. Penyerapan CO<sub>2</sub> penurunan konsentrasi CO<sub>2</sub> dan bikarbonat oleh mikroalga menyebabkan terlarut dan mengakibatkan peningkatan nilai pH. Derajat keasaman optimum untuk sebagian besar mikroalga berkisar antara 6,5-9,5 (Lokaria dan Misra, 2017).

#### **c. Intensitas Cahaya**

Cahaya merupakan faktor penting dalam pertumbuhan mikroalga. Cahaya digunakan dalam proses fotosintesis. Intensitas cahaya yang diterima oleh mikroalga akan berpengaruh terhadap kepadatan puncak serta waktu penanaman. Pada intensitas cahaya rendah pertumbuhan mikroalga tidak optimal. Hal ini akan berakibat terhadap kecenderungan mikroalga untuk mempertahankan kelangsungan hidup dibandingkan memperbanyak sel. Intensitas cahaya yang optimal bagi mikroalga dapat menghasilkan pertumbuhan biomassa yang maksimum. Sebaliknya intensitas cahaya yang terlalu tinggi maupun rendah akan berdampak buruk terhadap pertumbuhan sel mikroalga (Sobari, *et al.*, 2013).

Cahaya diperlukan dalam proses fotosintesis sebagai sumber energi. Penambahan lama penyinaran dapat dilakukan dengan menggunakan lampu listrik yang spektrum cahayanya semirip mungkin dengan cahaya matahari. Kultur mikroalga yang dilakukan di laboratorium dapat digunakan lampu led sebagai pengganti sinar matahari. Lampu led memberikan cahaya yang merata ke seluruh wadah budidaya (Utami, *et al.*, 2012).

#### **d. 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 pengadukan media kultur dari aerator sehingga mengakibatkan terjadinya penguapan (Nisak, *et al.*, 2013).

Salinitas dapat diukur menggunakan *hand refractometer*. Kisaran salinitas optimal pada mikrolaga yaitu berkisar antara 28-30 ppt Salinitas berpengaruh terhadap kehidupan mikroalga dalam mempertahankan tekanan osmotiknya. Mikroalga memperlihatkan terjadi hambatan pada proses fotosintesis setelah dipindahkan pada medium dengan salinitas yang lebih tinggi atau tekanan osmotik yang lebih tinggi (Hariyati, 2008).

### 2.3.2 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 dan akan aktif lagi jika memperoleh tambahan nutrisi kembali. Penurunan jumlah sel terjadi karena banyak sel yang sudah tidak mendapatkan 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, Bo, Vn, dan Si. Diantara nutrisi tersebut, N dan P sering dijadikan faktor pembatas pertumbuhan mikroalga. Kekurangan nutrisi pada mikroalga dapat mengakibatkan penurunan protein, pigmen fotosintesis, serta kandungan karbohidrat dan lemak (Kawaroe, *et al.*, 2009).



## 2.4 Sistem Kultur Miksotrofik

Kondisi miksotrofik pada suatu kultur dicirikan dengan sumber energi berasal dari cahaya dan sumber karbon. Sumber karbon yang digunakan bukan hanya dari karbon anorganik ( $\text{CO}_2$ ) melainkan juga dari karbon organik. Pada kultur miksotrofik, spesies mikroalga mampu mengakumulasi lipid dalam jumlah yang besar, karena mikroalga ini menggunakan sumber energi selain melalui proses fotosintesis juga menggunakan sumber karbon organik yang ada (Salim, 2015).

Kultur miksotrofik adalah strategi untuk meningkatkan pertumbuhan spesifik dan kepadatan sel. Sistem miksotrofik merupakan kombinasi antara kultur fotoautotrofik dan kultur heterotrofik. Biomassa pada mikroalga didapatkan lebih tinggi pada kultur secara miksotrofik dibandingkan dengan kultur secara fotoautotrofik dan heterotrofik. Peningkatan biomassa pada kultur secara miksotrofik karena penggunaan kembali  $\text{CO}_2$  dari respirasi untuk mensintesis karbon organik dengan pemanfaatan energi yang dihasilkan dari fotosintesis (Zhang, *et al.*, 2017).

## 2.5 Kadar protein *Skeletonema costatum*

Kandungan protein merupakan salah satu syarat bagi mikroalga sebagai pakan alami. *S. Costatum* mengandung nutrisi yang dibutuhkan larva ikan dengan Kandungan protein yaitu 33,30%. Protein mempunyai peranan penting diantaranya untuk pertahanan fungsi jaringan secara normal, perawatan jaringan tubuh, mengganti sel-sel yang rusak dan pembentukan sel-sel baru. Komponen penyusun protein adalah asam amino. Asam amino tersebut akan menentukan kualitas protein. Pembentukan asam amino *S. Costatum* diperoleh dari unsur hara yang terdapat pada media tumbuhnya (Fitriani, *et al.*, 2017).

Nitrogen mampu mempengaruhi kandungan protein, karena nitrogen merupakan unsur penting dalam pembentukan protein. Salinitas, pH, zat hara

(termasuk nitrogen, fosfor), suhu, sumber karbon dan cahaya berpengaruh pada pertumbuhan fitoplankton, sehingga kultur mikroalga pada kondisi lingkungan dan tempat yang berbeda dapat menghasilkan perbedaan protein (Yarti, *et al.*, 2014).

## 2.6 Klorofil-a *Skeletonema costatum*

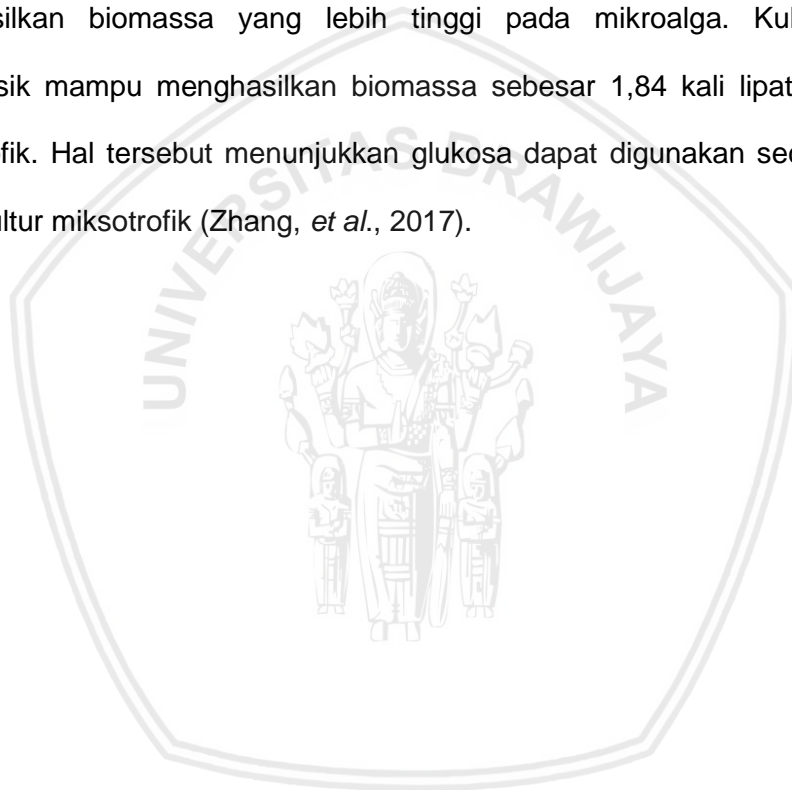
Klorofil adalah pigmen pemberi warna hijau pada tumbuhan, alga dan bakteri fotosintetik. Pigmen ini berperan dalam proses fotosintesis tumbuhan dengan menyerap dan mengubah energi cahaya menjadi energi kimia. Klorofil merupakan faktor utama yang mempengaruhi fotosintesis. Fotosintesis merupakan proses perubahan senyawa anorganik ( $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$ ) menjadi senyawa organik (karbohidrat) dan  $\text{O}_2$  dengan bantuan cahaya matahari. Klorofil merupakan pigmen (Song dan Banyo, 2011).

Klorofil-a adalah bagian integral dari fotosintesis yang ditemukan pada mikroalga dan berfungsi sebagai pigmen aksesori di kompleks pemanen cahaya (*light harvesting*) dan sebagai agen pelindung melawan produk oksigen aktif yang terbentuk dari fotooksidasi (Fretes, *et al.*, 2012). *S. Costatum* sebagai penghasil pigmen klorofil-a yang tinggi, dalam pertumbuhannya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan nutrisi (Agustini dan Kusmiati, 2011). *S. Costatum* dapat menghasilkan klorofil-a sampai 17% biomassa (Nur, 2014).

## 2.7 Pengaruh Glukosa terhadap Pertumbuhan *Skeletonema costatum*

Glukosa pada sel mikroalga dapat dimanfaatkan oleh dua proses yaitu anabolisme dan katabolisme. Hal tersebut merupakan proses dasar dari semua aktivitas biokimia mikroalga. Dalam katabolisme, glukosa digunakan pada proses respirasi untuk menghasilkan energi. Aktivitas anabolisme menggunakan energi untuk mensintesis beberapa komponen seperti protein, karbohidrat dan lipid (Zhao, *et al.*, 2015)

Di antara monosakarida, glukosa adalah yang terbaik sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan mikotropik (Setyoningrum, *et al.*, 2014). Fotosintesis dan metabolisme glukosa oksidatif dapat berjalan optimal pada pertumbuhan sel mikroalga di bawah kondisi mikotrofik. Pemanfaatan glukosa secara optimum mampu meningkatkan hasil biomassa dan kandungan lipid mikroalga yang tinggi (Wan, *et al.*, 2011). Reaksi fotosintesis dan penggunaan glukosa dapat menyediakan energi untuk metabolisme sel secara langsung dan mampu menghasilkan biomassa yang lebih tinggi pada mikroalga. Kultur secara mikotrosik mampu menghasilkan biomassa sebesar 1,84 kali lipat dari kultur heterotrofik. Hal tersebut menunjukkan glukosa dapat digunakan secara efisien dalam kultur mikotrofik (Zhang, *et al.*, 2017).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan membutuhkan alat-alat sebagai berikut yaitu , erlenmeyer (50 mL, 500 mL) pyrex lwaki , blower LP-60, lampu TL, pipet tetes, mikroskop (Olympus CX21, Jepang), selang, pH meter, termometer, spektrofotometer Spectroquant pharo 300., vacum pump VE115 Value, autoklaf GEA, nampan, *haemocytometer* 0,1 mm (BOECO, Hamburg, Germany), *bluetip*, gelas ukur (100 mL dan 1.000 mL), *beaker glass* 500 mL, *handtally counter*, *washing bottle*, *cover glass*, *cuvet*, oven RedLine RE53, *sentrifuge*, spatula, corong, suchen, bunsen, botol film, gayung, bak besar, beaker glass pyrex 1.000 mL, panci (50 liter), 1 mL pyrex lwaki, mikropipet Eppendorf Research Plus, kalkulator, lux meter, botol *sprayer*, botol film, refraktometer (Master Refractometer, Jepang), timbangan analitik Radwag AS2201X, pipet volume 10 mL, *petridish*, cawan porselen, rak tabung reaksi, tabung reaksi 10 mL dan bola hisap.

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan membutuhkan bahan-bahan sebagai berikut yaitu bibit *Skeletonema* yang berasal dari BBPPBL Gondol Bali, air laut salinitas 28 ppt, Na-thiosulfat, glukosa, pupuk walne, vitamin b-12, kertas label kapas steril, kain saring, tissue, *aluminium foil*, kertas koran, kertas label, benang kasur, kertas saring GF/C (diameter 90 mm), alkohol 70%, hexana, etanol, *ammonium molybdate*, SnCl<sub>2</sub>, *aquadest*, asam fenol disulfonik, Methanol absolute (CuSO<sub>4</sub>), natrium carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), Copper (II) sulfat pentahydrate (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O), Sodium Potasssium tartrate (NaKC<sub>4</sub>H<sub>6</sub>.4H<sub>2</sub>O), Natrium hydroxida

(NaOH), reagen Folin Ciocalteu, dan Asam fenol disulfonik larutan standar BSA (*Bovie Serum Albumin*).

### **3.2 Media Penelitian**

Penelitian ini menggunakan media berupa air laut yang memiliki kadar salinitas 30 ppt. Air laut yang akan digunakan telah disterilisasi yang selanjutnya air laut tersebut akan digunakan sebagai media kultur pada toples kaca 1 Liter sebanyak 12 buah dan diberikan aerasi. Nutrien yang ditambahkan ke dalam media kultur yaitu pupuk walne, (Lampiran 1) vitamin dan glukosa sesuai dengan perlakuan.

### **3.3 Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Metode eksperimen menurut Hartanto (2003) menjelaskan bahwa dasar penelitian eksperimen adalah menguji antara suatu sebab dan akibat. Sistem yang digunakan dalam pengujian yaitu tertutup dalam kondisi terkontrol. Rancangan penelitian ini berguna untuk mendapatkan informasi yang relevan.

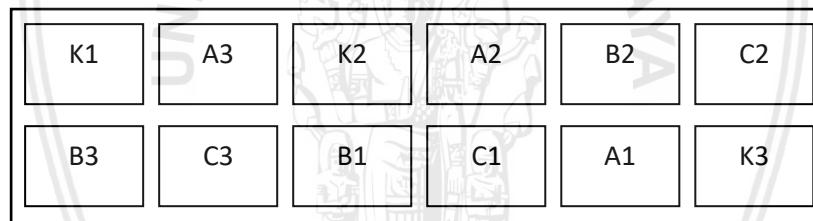
### **3.4 Rancangan Percobaan**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) (Gambar 3.). Penggunaan Desain RAL ini digunakan karena percobaan dilakukan pada laboratorium dengan kondisi lingkungan yang dapat dikontrol (Nazir, 2003). RAL merupakan rancangan penelitian yang paling sederhana dengan larutan yang homogen dan perlakuan terbatas. Keuntungan menggunakan RAL yaitu denah perancangan lebih mudah, analisis statistik terhadap subjek percobaan sangat sederhana, fleksibel dalam penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan, kehilangan informasi relatif sedikit dalam hal data hilang dibandingkan dengan rancangan lain (Novianti, *et al.*, 2014).

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas perlakuan kontrol dan perlakuan dengan pemberian dosis glukosa. Perlakuan kontrol yaitu tanpa diberikan glukosa dengan intensitas cahaya yaitu 3.000 lux, sedangkan perlakuan dengan pemberian dosis glukosa diberi intensitas cahaya 3.000 lux dan lama penyinaran pada kontor dan perlakuan dilakukan selama 24 jam. Penelitian ini terdiri dari empat perlakuan dengan tiga kali ulangan.

- A: Perlakuan tanpa diberikan glukosa dan intensitas cahaya 3.000 lux
- B: Perlakuan pemberian glukosa dengan dosis 0,07 g/l
- C: Perlakuan pemberian glukosa dengan dosis 0,14 g/l
- D: Perlakuan pemberian glukosa dengan dosis 0,21 g/l

Berikut ini denah peletakan pada kultur *S. Costatum* dengan perlakuan tanpa pemberian dosis glukosa dan dengan pemberian dosis glukosa:



**Gambar 3.** Denah Percobaan Rancangan Acak Lengkap

Keterangan:

A-C : Perlakuan  
1-3 : Ulangan

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Persiapan Penelitian

##### a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan suatu kegiatan yang bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme yang tidak diinginkan pada alat-alat, bahan, dan media yang akan digunakan. Sterilisasi dalam penggunaannya terdiri dari beberapa macam diantaranya sterilisasi ruang, peralatan, bahan penelitian, serta sterilisasi laboran (Indarmawan, *et al.*, 2012). Sterilisasi yang digunakan pada saat penelitian

menggunakan sterilisasi panas basa, sterilisasi kimia, dan perebusan. Sterilisasi panas basah dengan menggunakan autoklaf, sedangkan sterilisasi kimia menggunakan bahan kimia berupa klorin 1 ml/liter dan diberi Na-thiosulfat yang telah dilarutkan 1ml/liter (Lampiran 2) (Buwono dan Nurhasanah, 2009).

Peralatan yang terbuat dari kaca meliputi pipet volume dan pipet tetes, serta bahan berupa pupuk walne dan glukosa disterilisasi menggunakan autoklaf dan disterilisasi dengan tekanan 1 atm dengan suhu 121 °C selama 30 menit. Media kultur berupa air laut disterilisasi dengan cara ditampung dalam bak penampungan dengan kapasitas 60 liter, kemudian disterilkan dengan menggunakan larutan klorin 1 ml/liter dan dinetralkan menggunakan larutan Na-thiosulfat yang telah dilarutkan 1ml/liter.

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

Media kultur yang digunakan yaitu air tawar yang berasal dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya dan air laut yang berasal dari Toko Tirta Mutiara, Malang. Media kultur yang digunakan pada *S. Costatum* bersalinitas 28 ppt, salinitas tersebut didapatkan melalui pengenceran dan ditampung di dalam bak penampungan kapasitas 60 liter. Media kultur yang dituang ke dalam bak penampung dilakukan penyaringan terlebih dulu setelah itu dilakukan sterilisasi kimia. Media kultur yang telah steril dimasukkan ke dalam toples 1L. Nutrien yang ditambahkan ke dalam media kultur yaitu pupuk walne, dan vitamin dengan dosis 1 mL/L dan penambahan glukosa dengan dosis sesuai dengan perlakuan masing-masing.

#### **c. Penyiapan Inokulan *Skeletonema costatum***

Penyediaan bibit *S. Costatum* yang diperoleh dari BBRBLPP Gondol, Bali dikultur pada erlenmeyer yang berisi media air laut dengan volume 400 ml.



Penyediaan inokulan untuk stok penelitian *S. Costatum* dilakukan selama 4 hari untuk mencapai fase eksponensial. Persiapan inokulan dilakukan pada suhu ruangan yang dijaga pada 28 °C dengan intensitas cahaya sebesar 3.000 lux

Inokulan *S. Costatum* yang akan ditebar pada media, sebelumnya dihitung kepadatan awalnya menggunakan mikroskop dan *haemocytometer* yang bertujuan untuk mengetahui jumlah inokulan *S. Costatum* sebelum penebaran. Inokulan *S. Costatum* yang dibutuhkan dapat ditentukan dengan metode pengenceran. Untuk menghitung jumlah kepadatan fitoplankton dengan rumus pengenceran menurut Jati, *et al.*, (2012) adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

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

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

N1: Jumlah stok *Skeletonema costatum* (sel/ml)

N2: Jumlah *Skeletonema costatum* yang diinginkan (sel/ml)

#### d. Pemberian Glukosa

Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan pemberian dosis glukosa yang terdiri dari 0 g/l, 0,07 g/l, 0,14 g/l, dan 0,21 g/l dengan penggunaan intensitas cahaya 3.000 lux.

### 3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

Media kultur plankton pada diberikan pupuk walne dan vitamin dengan dosis masing-masing 1 ml/l. Kemudian untuk tiap perlakuan ditambahkan glukosa dengan masing masing dosis yaitu 0 g/l, 0,07 g/l, 0,14 g/l, dan 0,21 g/l . Wadah yang telah diisi media sebanyak 1 L, diletakkan di atas rak kultur sesuai dengan denah rancangan percobaan yang telah dibuat (Gambar 3.), intensitas cahaya yang digunakan 3.000 lux, kemudian diberikan aerasi. Selanjutnya, dimasukkan bibit *S. Costatum* dengan kepadatan awal  $1 \times 10^4$  sel/ml.

Pengamatan pertumbuhan *S. Costatum* dilakukan setiap hari selama masa kultur. Pengukuran biomassa dan kandungan protein *S. Costatum* 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 Di dilakukan sekali sehari, sedangkan pengukuran nitrat dan fosfat dilakukan pada awal kultur, fase eksponensial dan fase kematian.

### 3.6 Parameter yang Diukur

#### 3.6.1 Parameter Utama

##### a. Pertumbuhan *Skeletonema costatum*

Perhitungan kepadatan *S. Costatum* dilakukan setiap hari dari awal kultur hingga akhir percobaan. Perhitungan *S. Costatum* menggunakan metode penghitungan konsentrasi sel menggunakan *haemocytometer* 0,1 mm dan menggunakan alat mikroskop. Menurut Cresswel (2010), rumus kepadatan *S. Costatum* dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Apabila kepadatannya tinggi maka menggunakan perhitungan yaitu sebagai berikut :

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

##### - Laju Pertumbuhan Spesifik

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

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

Keterangan:

- N<sub>t</sub> : kepadatan populasi saat ekponensial(sel/ml)  
 t : waktu eksponensial (hari)  
 N<sub>0</sub> : kepadatan populasi sel pada saat awal (sel/ml)  
 μ : tetapan laju pertumbuhan spesifik (hari-1)

- ***Doubling Time***

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

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

b. **Biomassa**

Perhitungan biomassa dari mikroalga memiliki beberapa tahapan menurut Janssen, *et al.* (1999), sampel mikroalga yang digunakan untuk analisis biomassa yaitu pada saat akhir fase stasioner. Kertas saring GF/C (diameter 90 mm) dikeringkan pada suhu 105°C selama 2 jam agar beratnya konstan. Setelah itu ditimbang menggunakan timbangan digital dan dihitung sebagai A. Kemudian diambil sampel suspensi mikroalga sebanyak 25 mL dan difilter melalui kertas saring GF/C yang telah dikeringkan lalu dicuci dengan 25 mL akuades untuk menghindari garam yang tidak larut pada media. Tahap selanjutnya kertas saring diletakkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 2 jam hingga beratnya konstan. Kemudian kertas saring didiamkan hingga suhunya normal, setelah itu kertas saring diletakkan didesikator selama 30–60 menit, kemudian timbang kembali berat kertas saring dan dihitung sebagai B.

Perhitungan:

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

**c. Klorofil-a**

Perhitungan klorofil-a menggunakan metode modifikasi Bennett dan Bogorad (1973) dan Lichtenthaler (1987). Sampel mikrolga diambil 5 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung/*falcon* dan dibungkus *aluminium foil* hingga tertutup rapat. Setelah itu disentrifugasi pada 5.000 rpm selama 20 menit dan dibuang supernatannya. Selanjutnya dilakukan proses *freezing-thawing* masing-masing 15 menit (hingga membeku dan mencair) sebanyak 3 kali ulangan. Ditambahkan 5 mL *methanol absolute* lalu divortex selama 15 detik. Tahap selanjutnya campuran (endapan dan pelarut) diletakkan pada *hot plate* dengan suhu 70°C selama 30 menit. Sampel diinkubasi pada suhu 4°C dalam keadaan gelap selama 24 jam. Kemudian sampel divortex dan dilakukan sentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit. Sampel kemudian diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 665 nm dan 652 nm. Perhitungan klorofil-a menurut Ritchie (2006), yaitu:

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

**d. Kadar Protein**

Analisis protein dilakukan dengan cara menggunakan metode Lowry (1951), langkah pertama yang dilakukan yaitu disiapkan larutan BSA konsentrasi 2 mg/mL serta dibuat reagen A (5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), reagen B (1% CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O), reagen C (2% NaKC<sub>4</sub>H<sub>6</sub>.4H<sub>2</sub>O), reagen D (campuran 50 mL reagen A + 1 mL reagen B + 1 mL reagen C), reagen Folin-ciocalteau, 1N NaOH. Diambil sampel *S. Costatum* sebanyak 0,5 mL. Kemudian ditambah 0,5 mL 1N NaOH ke dalam 0,5 mL suspensi

algadan dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit pada *water bath*. Setelah mendidih selanjutnya ditunggu hingga dingin. Kemudian ditambahkan 2,5 mL reagen D ke masing-masing tabung, dihomogenkan hingga merata dengan menggunakan *vortex mixer* dan didiamkan selama 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan dihomogenkan hingga merata dengan menggunakan *vortex mixer*. Setelah itu didiamkan dan ditunggu hingga 30 menit dan dispektrofotometer pada absorbansi 750 nm. Kadar protein *S. Costatum* dapat dihitung dengan rumus perhitungan berikut :

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

Keterangan :

- OD : Hasil spektrofotometer dengan panjang gelombang 750 nm  
 a : *Intercept* dalam persamaan regresi larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA)  
 b : *Slope* dalam persamaan regresi larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA)

### 3.6.2 Parameter Penunjang

#### a. Suhu

Pengukuran suhu penelitian ini dilakukan menggunakan termometer yang dicelupkan ke dalam media kultur *S. Costatum* kemudian dicatat hasilnya. Pengukuran suhu ini dilakukan 1 kali sehari pada pagi hari pukul 07.00 WIB.

#### b. Derajat Keasaman (pH)

Kandungan derajat keasaman (pH) penelitian ini dilakukan menggunakan pH meter yang dicelupkan ke dalam media kultur *S. Costatum* dan dicatat hasilnya. Pengamatan pH dilakukan 1 kali sehari setiap 24 jam pada pagi hari pukul 07.00 WIB

**c. Dissolved Oxygen (DO)**

Pengukuran DO penelitian ini dilakukan menggunakan DO meter yang dicelupkan ke dalam media kultur *S. Costatum* dan dicatat hasilnya. Pengukuran DO dilakukan sebanyak 1 kali sehari setiap 24 jam pada pagi hari pukul 07.00 WIB

**d. Pengukuran Kadar Nitrat**

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

$$\text{Total N Terserap} = \frac{(\text{nitrat fase awal} - \text{nitrat fase stasioner})}{\text{nitrat fase awal}} \times 100\%$$

**e. Pengukuran Kadar Fosfat**

Pengukuran kadar fosfat dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada awal tebar, fase puncak pertumbuhan tertinggi dan fase menuju kematian. Cara pengukurannya yaitu air sampel diambil sebanyak 25 mL. Selanjutnya ditambahkan 1 mL ammonium molybdate. Lalu ditetesi dengan 3 tetes  $\text{SnCl}_2$  dan dihomogenkan, ditunggu sampai 10 menit hingga warna biru terbentuk.

Kemudian, dimasukkan ke dalam cuvet. Kadar fosfat diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 690 nm (Boyd, 1979). Menurut Mengel dan Kirkby (2001), perhitungan presentase serapan fosfat dapat dihitung dengan rumus perhitungan berikut:

$$\text{Total P Terserap} = \frac{(\text{fosfat fase awal} - \text{fosfat fase eksponensial})}{\text{fosfat fase awal}} \times 100\%$$

### 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 % ( $\alpha = 0,05$ ). Tahapan analisis data ini dimulai dengan analisis keragaman untuk mengetahui apakah perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata atau tidak berpengaruh. Selanjutnya apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh nyata atau berbeda sangat nyata ( $F_{\text{hitung}} > F_{\text{table}}$ ) maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan fotoperiode, dari uji ini dilanjutkan dengan uji *polynomial orthogonal* sebagai uji lanjutan analisis ragam terhadap data percobaan dengan perlakuan kuantitatif untuk menentukan persamaan hubungan antara perlakuan uji dengan unit percobaan.



#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pengamatan pertumbuhan *Skeletonema costatum* yang dikultur dalam kondisi mikсотrofik dengan penambahan glukosa dengan dosis yang berbeda diperoleh laju pertumbuhan spesifik, biomassa, klorofil-a, dan kandungan protein yang disajikan pada Tabel 1. Perhitungan lengkapnya terdapat pada Lampiran 6, Lampiran 7, Lampiran 8, dan Lampiran 9.

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

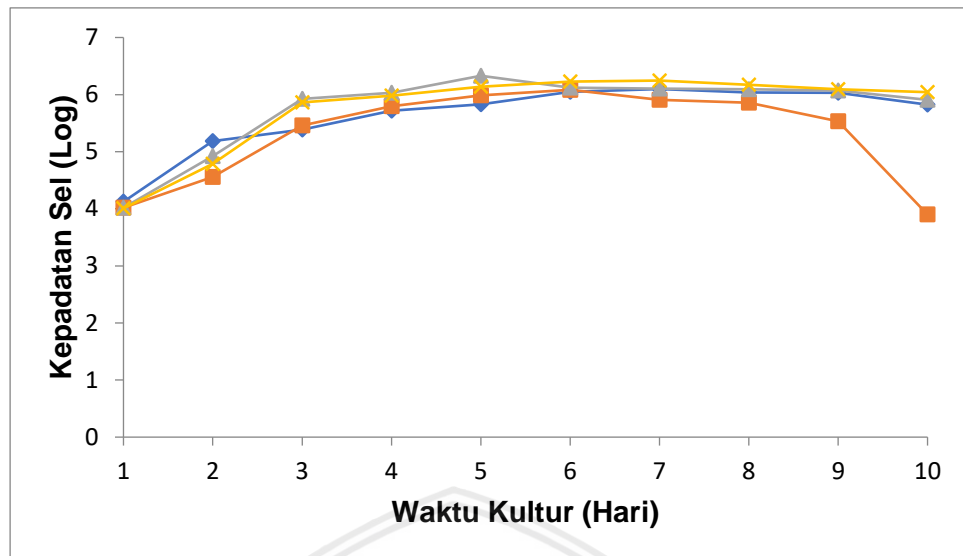
Parameter	Perlakuan Pemberian Glukosa (g/l)			
	A 0,00	B 0,07	C 0,14	D 0,21
<b>Laju Pertumbuhan Spesifik (Hari<sup>-1</sup>)</b>	0,684 ± 0,0359 <sup>a</sup>	0,972 ± 0,0120 <sup>b</sup>	1,065 ± 0,0151 <sup>c</sup>	0,907 ± 0,0852 <sup>b</sup>
<b>Konsentrasi Sel Maksimum (x10<sup>4</sup>)</b>	114,13	136,66	215,33	180,08
<b>Biomassa (g/l)</b>	0,443 ± 0,1052 <sup>a</sup>	0,861 ± 0,0361 <sup>c</sup>	1,029 ± 0,0384 <sup>d</sup>	0,673 ± 0,0494 <sup>b</sup>
<b>Klorofil-a (µg/ml)</b>	0,418 ± 0,0339 <sup>a</sup>	0,540 ± 0,0208 <sup>b</sup>	0,806 ± 0,0135 <sup>c</sup>	0,510 ± 0,0292 <sup>b</sup>
<b>Protein (%)</b>	21,536 ± 1,0393 <sup>a</sup>	28,889 ± 0,9655 <sup>a</sup>	35,204 ± 1,7275 <sup>b</sup>	25,252 ± 2,3347 <sup>a</sup>

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

Data hasil pengamatan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan, biomassa, klorofil-a, dan kandungan protein

##### 4.1 Pertumbuhan *Skeletonema costatum*

Hasil penelitian dari setiap perlakuan dosis (0; 0,07; 0,14; dan 0,21) g/l berpengaruh terhadap pertumbuhan *S. Costatum* Grafik rata-rata pertumbuhan *S. Costatum* berdasarkan sel (log) selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 4 dan data pertumbuhan *S. Costatum* secara rinci pada Lampiran 3.



**Gambar 4.** Pertumbuhan *S. Costatum*

Keterangan: — 0 g/l      — 0,14 g/l  
 — 0,07 g/l      — 0,21 g/l

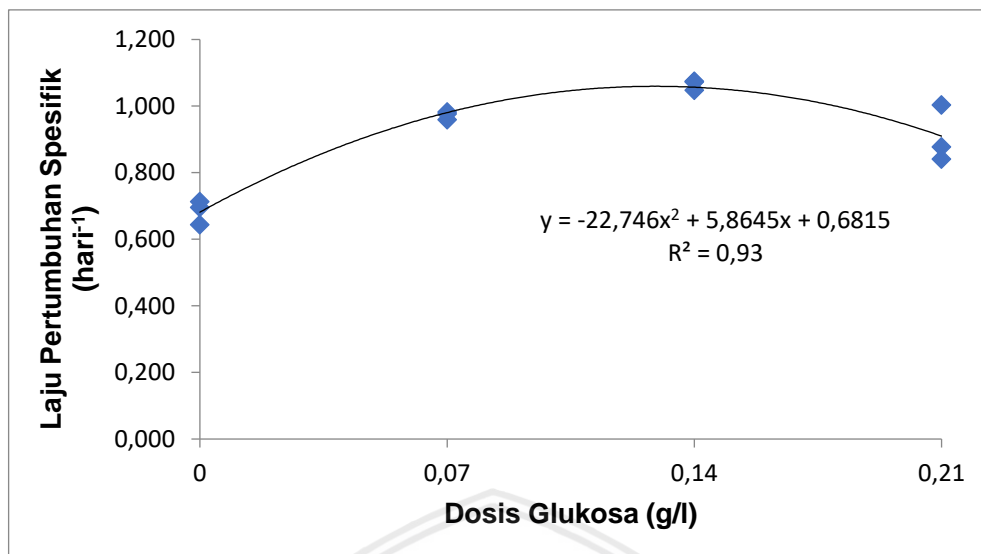
Berdasarkan Gambar 4, pertumbuhan *S. Costatum* pada setiap perlakuan yang berbeda menghasilkan pola pertumbuhan yang berbeda pula. *S. Costatum* pada penelitian ini mengalami fase eksponensial pada hari ke 5 hingga 7. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rudiyantri (2011), bahwa *S. Costatum* akan beradaptasi pada media yang baru karena ada perbedaan salinitas. Fase ini akan berakhir saat kebutuhan fisiologisnya terpenuhi. Fase selanjutnya yaitu fase eksponensial yang merupakan fase di mana terjadi peningkatan jumlah sel. Fase ini biasanya terjadi pada hari ke-5. Pembelahan sel pada fase eksponensial menjadi lebih cepat apabila nutrisi, pH, dan cahaya pada media dapat memenuhi kebutuhan fisiologisnya (Rivkin, 1979). Setelah fase eksponensial, pertumbuhan *S. Costatum* cenderung tetap atau mulai menurun yang menandakan kultur mulai memasuki fase stasioner. Selama penelitian, fase stasioner terjadi pada hari ke-4 sampai hari ke-5. Fase stasioner terjadi akibat nutrisi di dalam media berkurang sehingga sudah tidak mencukupi atau kurang untuk pertumbuhan dan pembelahan sel mikroalga (Prihantini, *et al.*, 2005). Semakin berkurangnya nutrisi, pertumbuhan

sel akan mengalami penurunan yang menandakan kultur akan memasuki fase kematian. Ketersediaan nutrisi yang berkurang, kualitas air menurun, dan akumulasi ( $\text{NO}_2^-$  dan  $\text{NH}_4^+$ ) mengakibatkan sel sulit untuk tumbuh dan berkembang, sehingga mikroalga akan mengalami kematian (Kusdarwati, *et al.*, 2011).

Puncak tertinggi kepadatan sel *S. Costatum* rata-rata pada hari ke-5 dan ke-6. Hasil rata-rata kepadatan sel tertinggi terdapat pada pemberian glukosa dengan dosis 0,14 g/l (perlakuan C) sebesar  $5,77 \times 10^4$  sel/ml dan terendah pada pemberian glukosa dengan dosis 0 g/l (perlakuan A) sebesar  $5,35 \times 10^4$  sel/ml (Lampiran 3). Selama kultur, kepadatan tertinggi *S. Costatum* pada fase eksponensial mencapai  $215,33 \times 10^4$  sel/ml. Menurut Fitriani *et al.* (2002), kelimpahan diatom *Skeletonema* sp. di perairan mampu mencapai  $121 \times 10^4$  sel/ml. Energi cahaya untuk proses fotosintesis tidak menjadi satu-satunya faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga, namun sumber karbon yang berasal dari glukosa mampu mendukung pertumbuhan mikroalga. Pada kultur ini, peningkatan biomassa dilakukan dengan penggunaan kembali  $\text{CO}_2$  dari respirasi untuk mensintesis karbon organik dengan memanfaatkan energi yang dihasilkan dari fotosintesis (Zhang, *et al.*, 2017).

Pertumbuhan *S. Costatum* yang tinggi akan meningkatkan laju pertumbuhan spesifik, untuk itu diperlukan perbandingan antara laju pertumbuhan spesifik dan waktu penggandaan sel untuk menentukan pertumbuhan terbaik. Semakin tinggi kandungan nutrisi pada media kultur maka semakin cepat terjadinya pembelahan dan pertumbuhan sel (Musa, *et al.*, 2013).

Hasil perhitungan *polynomial orthogonal* didapatkan kurva respons dengan pola kuadrat dari laju pertumbuhan spesifik *S. Costatum* dengan pemberian dosis glukosa yang berbeda seperti yang disajikan pada Gambar 5.

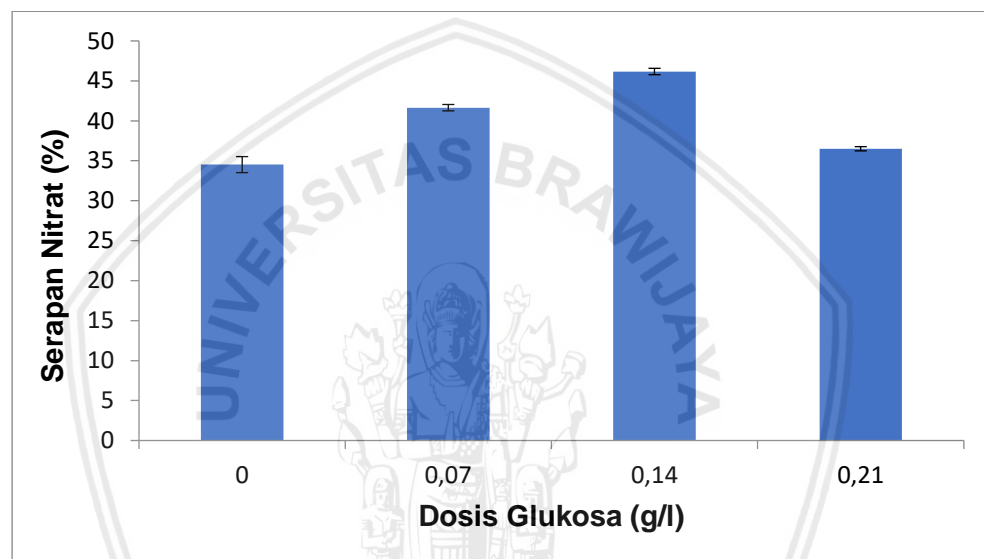


**Gambar 5.** Hubungan Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik *S. Costatum*

Hubungan pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda terhadap laju pertumbuhan spesifik *S. Costatum* (Gambar 5) diperoleh persamaan kuadratik yaitu  $y = -22,746x^2 + 5,8645x + 0,6815$  dengan  $R^2$  yaitu 0,93 (Lampiran 6). Kepadatan tertinggi *S. Costatum* pada laju pertumbuhan spesifik sebesar 1,065 hari<sup>-1</sup> dengan pemberian dosis glukosa 0,14 g/l (perlakuan C) dengan *doubling time* selama 0,651 hari. Laju pertumbuhan spesifik *S. Costatum* dengan laju pertumbuhan spesifik terendah sebesar 0,684 hari<sup>-1</sup> dengan pemberian dosis glukosa sebesar 0 g/l (perlakuan A) dengan *doubling time* selama 1,077 hari (Lampiran 4 dan Lampiran 5). Sumber karbon organik seperti glukosa mampu meningkatkan laju pertumbuhan spesifik mikroalga (Bajwa, *et al.*, 2016). Laju pertumbuhan spesifik *S. Costatum* terbaik pada penelitian ini didapatkan pada pemberian dosis 0,14 g/l dengan hasil 1,065 hari<sup>-1</sup>. Hasil tersebut merupakan dosis glukosa optimum, jika dosis dikurangi atau ditambahi maka kepadatan *S. Costatum* akan mengalami penurunan.

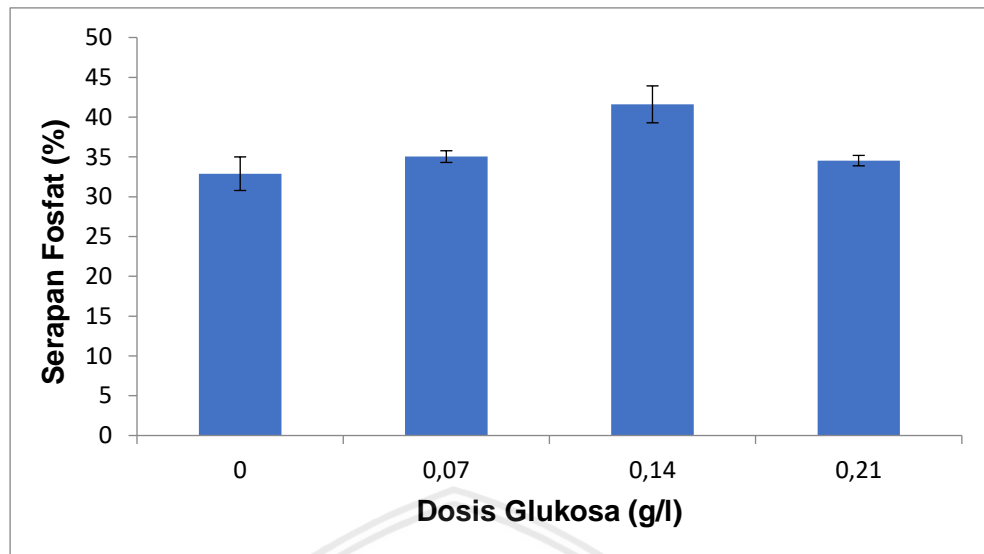
Pertumbuhan dan laju pertumbuhan spesifik *S. Costatum* berbanding lurus dengan daya serap nutrient plankton pada media kultur. Nitrat dan fosfat dibutuhkan dalam pembentukan protein dan aktivitas metabolisme, sehingga

pertumbuhan dan biomassa tercapai dengan baik (Jamilah, 2013). Semakin tinggi pertumbuhan maka pemanfaatan nutrisi semakin tinggi, sehingga serapannya juga meningkat. Serapan nitrat dan fosfat tertinggi terdapat pada perlakuan dosis glukosa sebesar 0,14 g/l (perlakuan C), karena terjadi pertumbuhan sel yang tinggi sehingga tinggi pula serapan nitrat dan fosfat. Hasil pengukuran nitrat dan fosfat selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 6 untuk nitrat dan Gambar 7 untuk fosfat dengan perhitungan lengkap pada Lampiran 10.



**Gambar 6.** Nilai Serapan Nitrat *S. Costatum* dengan Pemberian Dosis Glukosa yang Berbeda

Serapan nitrat (Gambar 6) pada kultur *S. Costatum* tertinggi terdapat pada pemberian glukosa dengan dosis 0,14 g/l (perlakuan C) sebesar 46,17% dan serapan nitrat terendah pada pemberian glukosa dengan dosis 0 g/l (perlakuan A) sebesar 34,52% (Lampiran 10). Nitrat merupakan salah satu makronutrien yang sangat mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas biomassa fitoplankton yang dibutuhkan untuk pembentukan protein dan lipid. Kisaran dosis nitrat optimal untuk pertumbuhan fitoplankton adalah 0,9-3,5 ppm (Rudiyanti, 2011). Semakin tinggi konsentrasi sel *S. Costatum* maka akan meningkatkan serapan nitrat yang dapat dimanfaatkan dalam pertumbuhan dan reproduksi.



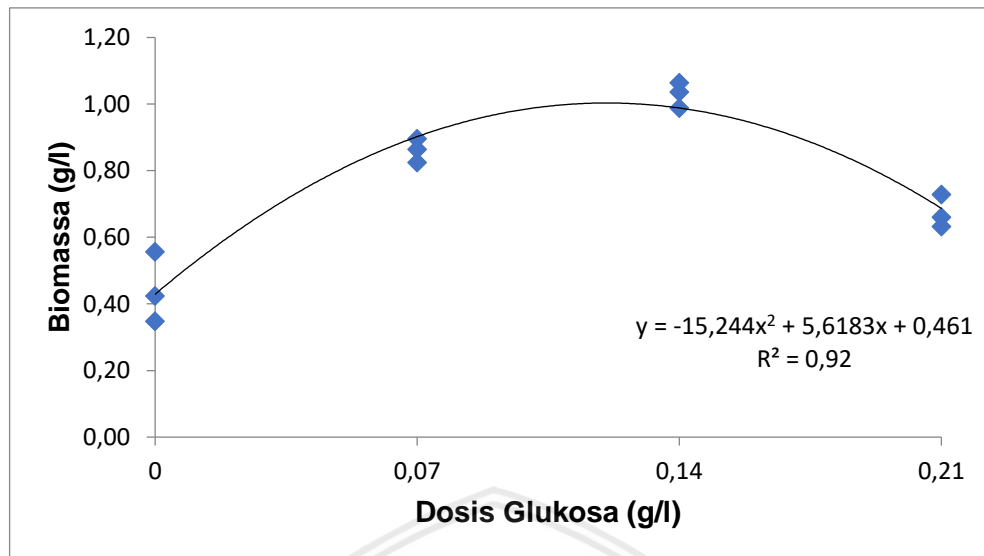
**Gambar 7.** Nilai Serapan Fosfat *S. Costatum* dengan Pemberian Dosis Glukosa yang Berbeda

Serapan fosfat (Gambar 7) pada kultur *S. Costatum* tertinggi terdapat pada pemberian glukosa dengan dosis 0,14 g/l (perlakuan C) sebesar 41,59% dan serapan nitrat terendah pada pemberian glukosa dengan dosis 0 g/l (perlakuan A) sebesar 32,89% (Lampiran 10). Fosfat merupakan salah satu makronutrien yang menjadi faktor pembatas bagi pertumbuhan dan keberhasilan kultur mikroalga. Kandungan fosfat yang optimal bagi pertumbuhan mikroalga adalah 0,27-5,51 ppm (Rudiyanto, 2011). Semakin tinggi konsentrasi sel *S. Costatum*, maka akan meningkatkan serapan fosfat yang dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel, dan transportasi energi.

#### 4.2 Biomassa *Skeletonema costatum*

Berdasarkan hasil perhitungan *polynomial orthogonal* didapatkan kurva respons dengan pola kuadratik dari biomassa *S. Costatum* dengan pemberian dosis glukosa yang berbeda seperti yang disajikan pada Gambar 8.





**Gambar 8.** Hubungan Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda terhadap Produksi Biomassa *S. Costatum*.

Hubungan pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda terhadap biomassa *S. Costatum* (Gambar 8) menunjukkan persamaan kuadratik yaitu  $y = -15,244x^2 + 5,6183x + 0,461$  dengan  $R^2$  yaitu 0,92 (Lampiran 7). Biomassa tertinggi *S. Costatum* sebesar 1,029 g/l dengan pemberian dosis glukosa 0,14 g/l (perlakuan C), sedangkan biomassa terendah sebesar 0,433 dengan pemberian dosis glukosa sebesar 0 g/l (perlakuan A) (Lampiran 7).

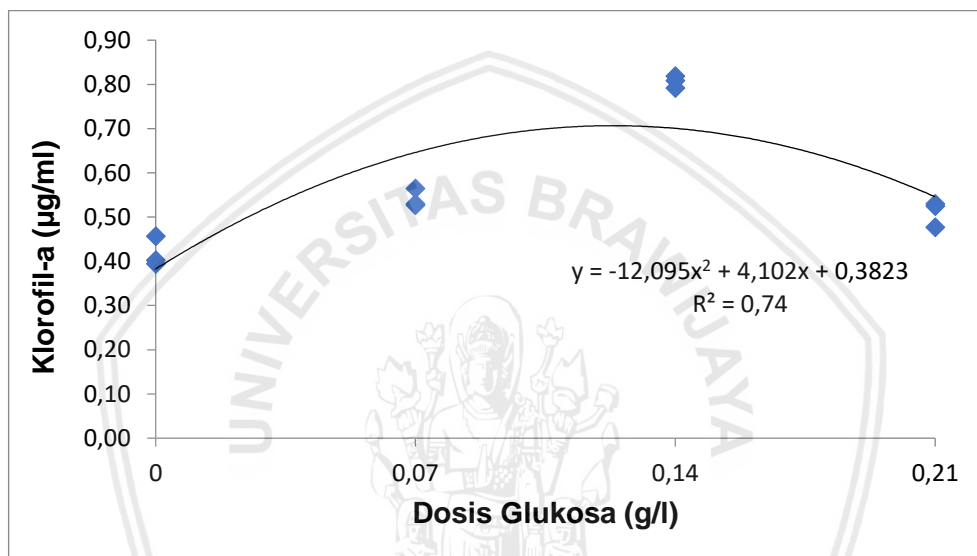
Hasil biomassa *S. Costatum* terbaik pada penelitian ini didapatkan pada pemberian dosis 0,18 g/l mampu menghasilkan produksi biomassa sebesar 0,990 g/l. Hasil tersebut merupakan dosis glukosa optimum, jika dosis dikurangi atau ditambahi maka kepadatan *S. Costatum* akan mengalami penurunan. Produksi biomassa mikroalga dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi cahaya, nutrisi (N dan P),  $CO_2$  dan faktor lingkungan lainnya (suhu, pH, oksigen terlarut, dan pengadukan) perlu dipertahankan dalam kondisi optimal agar menghasilkan biomassa yang maksimal. Produksi biomassa *S. Costatum* dapat mencapai 0,78 g/l (Fachrul, 2017). Mikroalga yang dikultur pada kondisi mikсотrofik dengan penambahan karbon organik seperti glukosa dapat menghasilkan produksi



biomassa yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan mikroalga yang dikultur pada kondisi fotoautotrofik (Liang, *et al.*, 2009).

#### 4.3 Klorofil-a *Skeletonema costatum*

Berdasarkan hasil perhitungan *polynomial orthogonal* didapatkan kurva respons dengan pola kuadratik dari klorofil-a *S. Costatum* dengan pemberian dosis glukosa yang berbeda seperti yang disajikan pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Hubungan Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda terhadap Klorofil-a *S. Costatum*

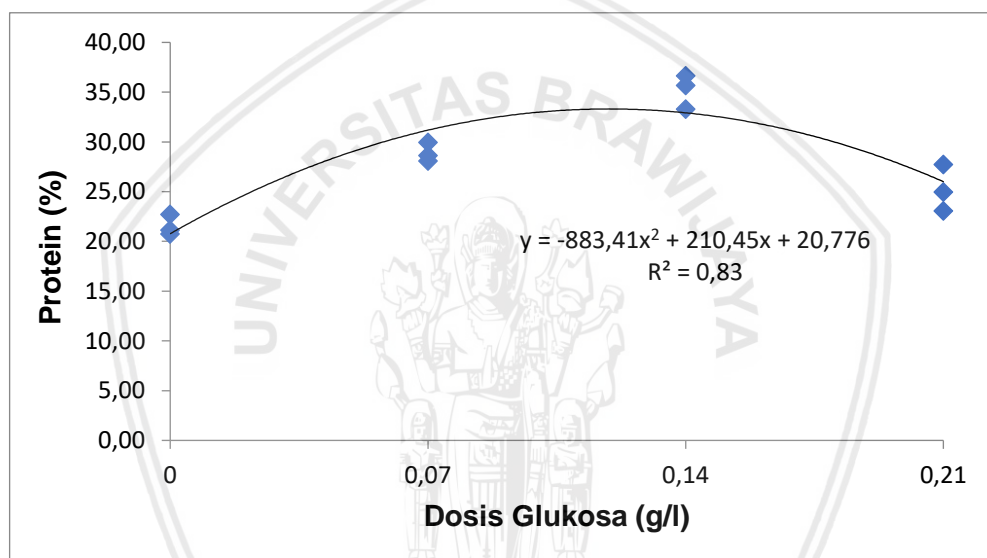
Hubungan pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda terhadap klorofil-a *S. Costatum* (Gambar 9) menunjukkan persamaan kuadratik yaitu  $y = -12,095x^2 + 4,102x + 0,3823$  dengan  $R^2$  yaitu 0,74 (Lampiran 8).

Klorofil-a tertinggi *S. Costatum* sebesar 0,806 µg/ml dengan pemberian dosis glukosa 0,14 g/l (perlakuan C), sedangkan klorofil-a terendah sebesar 0,418 µg/ml dengan pemberian dosis glukosa sebesar 0 g/l (perlakuan A) (Lampiran 8). Hasil klorofil-a *S. Costatum* terbaik pada penelitian ini didapatkan pada pemberian dosis 0,17 g/l mampu menghasilkan klorofil-a sebesar 0,730 µg/ml. Berbeda dengan pernyataan Jeffrey (1974), kandungan klorofil-a pada *S. Costatum* rata-rata berkisar 0,74-0,84 µg/l. Konsentrasi klorofil-a sangat tergantung pada

ketersediaan nutrisi dan intensitas cahaya dalam suatu perairan. Jika nutrisi dan intensitas cahaya tersedia, maka konsentrasi klorofil-a akan tinggi, begitu juga sebaliknya. Ponnuswamy, *et al.* (2013), mengungkapkan bahwa pada konsentrasi sel yang tinggi maka akan menghasilkan klorofil yang tinggi pula.

#### 4.4 Kadar Protein *Skeletonema costatum*

Berdasarkan hasil perhitungan *polynomial orthogonal* didapatkan kurva respons dengan pola kuadratik dari kadar protein *S. Costatum* dengan pemberian dosis glukosa yang berbeda seperti yang disajikan pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Hubungan Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda terhadap Protein *S. Costatum*

Hubungan pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda terhadap kadar protein *S. Costatum* (Gambar 10) menunjukkan persamaan kuadratik yaitu  $y = -883,41x^2 + 210,45x + 20,776$  dengan  $R^2$  yaitu 0,83 (Lampiran 9). Kadar protein tertinggi *S. Costatum* sebesar 29,461% dengan pemberian dosis glukosa 0,19 g/l (perlakuan C), sedangkan kadar protein terendah sebesar 15,082% dengan pemberian dosis glukosa sebesar 0 g/l (perlakuan A) (Lampiran 9).

Kadar protein *S. Costatum* terbaik pada penelitian ini didapatkan pada pemberian dosis 0,12 g/l mampu menghasilkan kadar protein sebesar 33,309%.

Glukosa yang digunakan dalam kultur mikroalga pada kondisi miksotrofik dapat meningkatkan protein mikroalga. Konsentrasi glukosa yang berlebih dapat menurunkan kandungan protein. Hal ini menunjukkan bahwa produksi mikroalga bergantung pada sumber karbon dan cahaya yang digunakan (Chrismadha, *et al.*, 2006). Perbedaan nilai suhu, pH, salinitas, intensitas cahaya, sumber karbon, zat hara (N dan P) juga berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga, sehingga kondisi lingkungan dan tempat kultur mikroalga yang berbeda dapat menghasilkan perbedaan kandungan protein (Erlina, *et al.*, 2004). Kandungan protein *S. Costatum* menurut Granum, *et al.* (2002) adalah berkisar 27-33%.

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

##### **4.5.1 Suhu**

Suhu pada media kultur harus dalam kondisi terkontrol dan menunjukkan pada kisaran yang optimal, sehingga mikroalga dapat tumbuh dengan baik. Data hasil pengamatan menunjukkan suhu 29°C (Lampiran 10). Suhu tersebut masih dalam kisaran optimal untuk pertumbuhan *S. Costatum* dapat tumbuh pada kisaran suhu 20-30 °C dan optimalnya pada suhu 28-30 °C (Yulianto, 2016).

##### **4.5.2 pH**

pH dalam media kultur memiliki peranan penting dalam pertumbuhan sel *S. Costatum*. Pada penelitian ini kisaran pH yang didapat antara 7,18-7,82 (Lampiran 10). pH tersebut masih dalam kisaran optimal untuk pertumbuhan *S. Costatum*. Nilai pH yang aman bagi kultur *S. Costatum* yaitu berada dalam kisaran 7,2 – 8,5 (Jati, *et al.*, 2012).

##### **4.5.3 Oksigen Terlarut**

Oksigen terlarut dibutuhkan mikroalga untuk proses pertumbuhannya. Oksigen terlarut dalam media kultur *S. Costatum* selama penelitian yaitu antara

5,1-8,9 mg/l (Lampiran 10). Oksigen terlarut tersebut masih dalam kisaran optimal untuk pertumbuhan *S. Costatum* Nilai oksigen terlarut optimum untuk pertumbuhan *S. Costatum* berkisar antara 6-8 mg/l (Hermawan, 2016).



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai pengaruh pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda pada kondisi mikсотrofik terhadap pertumbuhan, biomassa, klorofil-a, dan kandungan protein *Skeletonema costatum* diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

- Pemberian glukosa dengan dosis yang berbeda pada kondisi mikсотrofik berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan, biomassa, klorofil-a, dan kandungan protein *S. Costatum*
- Pemberian dosis glukosa terbaik untuk pertumbuhan yaitu 0,14 g/l dengan hasil 1,065 hari<sup>-1</sup>, untuk biomassa dengan dosis 0,18 g/l menghasilkan 0,990 g/l, untuk klorofil-a dengan dosis 0,17 g/l menghasilkan 0,730 µg/ml, dan untuk kadar protein dengan dosis 0,12 g/l menghasilkan 33,309%.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini dapat disarankan bahwa untuk mendapatkan pertumbuhan, biomassa, klorofil-a, dan kandungan protein terbaik dalam kultur *S. Costatum* pada kondisi mikсотrofik dengan penggunaan sumber karbon organik berupa glukosa dapat digunakan dosis glukosa sebesar 0,12-0,18 g/l. Selain itu dapat digunakan substitusi sumber karbon organik yang beragam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afriza, Z., G. Diansyah, dan A. I. S. Purwiyanto. 2015. Pengaruh pemberian pupuk urea ( $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ ) dengan dosis berbeda terhadap kepadatan sel dan laju pertumbuhan *Porphyridium* sp. pada kultur fitoplankton skala laboratorium. *Maspari Journal*. **7** (2) : 33-40.
- Agustini, N.W.S. 2002. Kandungan pigmen astaxanthin dari mikroalga *Botryococcus braunii* pada berbagai penambahan nitrogen dan phosphor. *Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS* . 156-164.
- Armanda, D. T. 2013. Pertumbuhan kultur mikroalga diatom *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve isolat Jepara pada medium F dan medium conway. *Bioma*, Vol. 2, No. 1 : 49-63.
- Bennett, A. dan L. Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *Journal of Cell Biology*. **58** (2): 419-435.
- Boyd, J. 2004. *Oceanography, Water, Seawater Ocean Circulation and Dynamics*. Chemical: Pub Ink USA. 112-324 pp.
- Chojnacka, K., and A. Noworyta. 2004. Evaluation of Spirulina sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. *Enzyme and Microbial Technology*, **34**(5), 461-465.
- Chrismadha, T., L. M. Panggabean dan Y. Mardiaty. 2006. Pengaruh konsentrasi nitrogen dan fosfor terhadap pertumbuhan, kandungan protein, karbohidrat dan fikosianin pada kultur Spirulina fusiformis [Effects of nitrogen and phosphorous concentration on the growth, protein, carbohydrate and phycocyanin content. *Berita Biologi*, **8**(3): 163-169.
- Creswell, L. 2010. Phytoplankton Culture for Aquaculture Feed. Southern Regional Aquaculture Center. University of Florida Sea Grant. 16 p.
- Edhi, W., A. Pribadi dan J. Kurniawan. 2003. Plankton di Lingkungan PT. *Central Pertiwi Bahari: Suatu Pendekatan Biologi dan Manajemen Plankton dalam Budidaya Udang. PT. Central Pertiwi Bahari, Lampung*.
- Erlina, A., S. Amini, H. Endrawati, dan M. Zainuri. 2004. Kajian Nutritif Phytoplankton Pakan Alami pada Sistem Kultivasi Massal. *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, **9**(4), 206-210.
- Fachrul, R. 2017. Pengaruh fotoperiode yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *Skeletonema costatum*. *Agriculture*. **1** (1): 11-21.
- Fachrullah, M. R. 2011. Laju pertumbuhan mikroalga penghasil *biofuel* jenis *Chlorella* sp. dan *Nannochloropsis* sp. yang dikultivasi menggunakan air limbah di Pulau Bangka. *Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor*. Bogor. 1-63 hlm.
- Granum, E., Kirkvold, S., & Myklestad, S. M. 2002. Cellular and extracellular production of carbohydrates and amino acids by the marine diatom



- Skeletonema costatum*: diel variations and effects of N depletion. *Marine Ecology Progress Series*, 242, 83-94.
- 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
- Hariyati, R. 2008. Pertumbuhan dan biomassa *Spirulina* sp dalam skala laboratories. *Bioma*. 10 (1) : 19-22.
- Hasanudin, M. 2012. *Pengaruh perbedaan intensitas cahaya terhadap pertumbuhan dan kadar lipid mikroalga Scenedesmus sp. yang dibudidayakan pada limbah cair tapioka*. Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. 67 hlm.
- Hermanto, M. B., S. L. C. Hawa dan S. M. Fiqtinovri. 2013. Perancangan bioreaktor untuk pembudidayaan mikroalga *bioreactor design for microalgae cultivation*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 12 (3) : 153-162.
- Isnantyo, A. dan Kurniastuty, 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton, Kanisius. Yogyakarta.
- 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 ligh/dark cycles: 13-87s. *Journal Biotechnology*. 70: 323-333.
- Jeffrey, S. W. 1974. Profiles of photosynthetic pigments in the ocean using thin layer chromatography. *Mar. Biol.*, 26:101-110.
- Kawaroe, M., T. Prartono., A. Sunuddin., D. W. Sari dan D. Augustine. 2009. Laju pertumbuhan spesifik *Chlorella* sp. dan *Dunaliella* sp. berdasarkan perbedaan nutrient dan fotoperiode. *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*. 16 (1) : 73-77.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of fotosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology*. 148: 350-382.
- Lokaria dan S. Misra. 2017. Eksplorasi mikroalga di air terjun Waterfang Kota Lubuklinggau. *Bioedukasi*. 8 (1) : 75-82.
- Lubis, D. F., & M. Hasbi. 2014. The identification of potential microalga as degradable agent in the rubber waste water PT. Ricry, Pekanbaru. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Perikanan dan Ilmu Kelautan*, 1(2), 1-10.
- Makkasau, A., M. Sjahrul., M. N. Jalaluddin dan I. Raya. 2011. Teknik fitoremediasi fitoplankton suatu alternatif pemulihan lingkungan laut yang tercemar ion logam Cd<sub>2+</sub> dan Cr<sub>6+</sub>. *Pendidikan Guru*. 7 (2) : 155-168.
- Mengel, K. dan E. A. Kirkby. 2001. Principles of Plant Nitrition 5th Edition. Springer Science-Business Media. 848 p.
- Musa, B., I. Raya. , dan S. Dali. 2013. Pengaruh Penambahan Ion Cu 2+ terhadap Laju Pertumbuhan Fitoplankton *Chlorella vulgaris*. *Universitas Hasanuddin. Makassar*, 9: 135-142
- 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.
- Perez-Garcia, O., and Y. Bashan. 2015. Microalgal heterotrophic and mixotrophic culturing for bio-refining: from metabolic routes to techno-economics. In *Algal biorefineries*. 61-131 pp.
- Prihantini, N. B., B. Putri, dan R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam medium ekstrak tauge (met) dengan variasi pH awal. *Makara, Sains*. **9** (1): 1-6.
- Regista, Ambeng, M. Litaay, dan M. R. Umar. 2017. Pengaruh pemberian vermikompos cair *Lumbricus rubellus* Hoffmeister pada pertumbuhan *Chlorella* sp. *Jurnal Biologi Makassar*. **2** (1): 1-8.
- Rivkin, R. B. 1979. Effects of lead on growth of the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Marine Biology*, **50**(3): 239-247.
- Romimohtarto, K., dan Juwana, S. 2001. *Biologi laut: Ilmu pengetahuan tentang biota laut*. Djambatan.
- Salim, M. A. 2015. Kadar lipida *Scenedesmus* sp pada kondisi mikсотrof dan penambahan sumber karbon dari hidrolisat pati singkong. **9** (2) :222-243.
- \_\_\_\_\_. Y. Yuniarti., dan R. M. Hasby. 2011. Pengaruh Co terhadap pertumbuhan *Staurastrum* sp. **5** (1) : 1-2.
- Setyaningsih, I., Desniar dan E. Purnamasari. 2012. Antimikroba dari *Chaetoceros gracilis* yang di kultivasi dengan lama penyinaran berbeda. *Jurnal Akuatika*. **3** (2) : 180-189.
- Setyati, W. A., E. Martani., T. Subagiyo dan M. Zainuddin. 2015. Kinetika pertumbuhan dan aktivitas protease isolat 36k dari sedimen ekosistem mangrove, Karimunjawa, Jepara. *Ilmu Kelautan*. **20** (3) : 163-169.
- Song, A. N., & Y. Banyo. 2011. Konsentrasi klorofil daun sebagai indikator kekurangan air pada tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*, **11**(2), 166-173.
- Sutomo. 2005. Kultur tiga jenis mikroalga (*Tetraselmis* sp., *Chlorella* sp. dan *Chaetoceros gracilis*) dan pengaruh kepadatan awal terhadap pertumbuhan *C. gracilis* di laboratorium. *Oseanologi dan Limnologi*, **37** : 43 – 58.
- Tafreshi, A. H. and Shariati, M. 2009. *Dunaliella* biotechnology: methods and applications. *Journal of applied microbiology*. **107**(1) : 14-35.
- Taraldsvik, M., & S. M. Myklestad. 2000. The effect of pH on growth rate, biochemical composition and extracellular carbohydrate production of the marine diatom *Skeletonema costatum*. *European Journal of Phycology*, **35**(2) :189-194.
- Tetelepta, L. D. 2011. Pertumbuhan kultur *Chlorella* spp skala laboratorium pada beberapa tingkat kepadatan inokulum. *Pengembangan Pulau Pulau Kecil* : 198-202.
- Triswanto, Y. 2011. Kultivasi diatom penghasil biofuel jenis *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira* sp., dan *Chaetoceros gracilis* pada sistem indoor dan outdoor.

Utami, N. P., M.S. Yuniari dan K. Haetami. 2012. Pertumbuhan *Chlorella* sp. yang dikultur pada perioditas cahaya yang berbeda. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3** (3): 237-244.

Wang, H., R. Fu, and G. Pei. 2012. A study on lipid production of the mixotrophic microalgae *Phaeodactylum tricornutum* on various carbon sources. *African Journal of Microbiology Research*. **6**(5) : 1041-1047.

\_\_\_\_\_ Y. Yuniarti., dan R. M. Hasby. 2011. Pengaruh Co terhadap pertumbuhan *Staurastrum* sp. **5** (1) : 1-2.

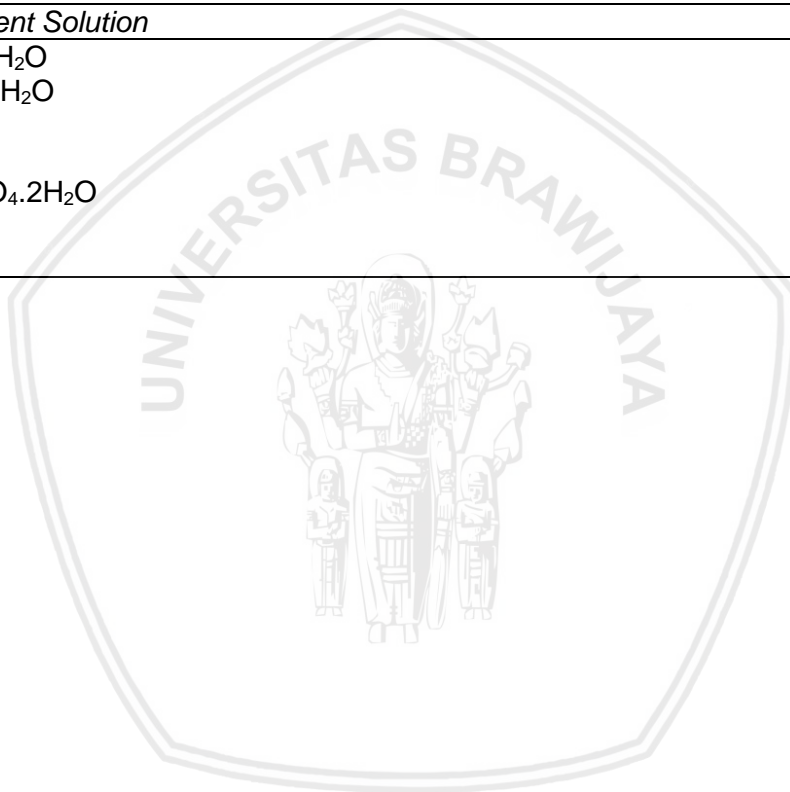
Zhang, Z., D. Sun., T. Wu., Y. Li., Y. Lee., J. Liu, dan F. Chen. 2017. The synergistic energy and carbon metabolism under mixotrophic cultivation reveals the coordination between photosynthesis and aerobic respiration in *Chlorella zofingiensis*. *Algal Research*: **12**:109-116.



## LAMPIRAN

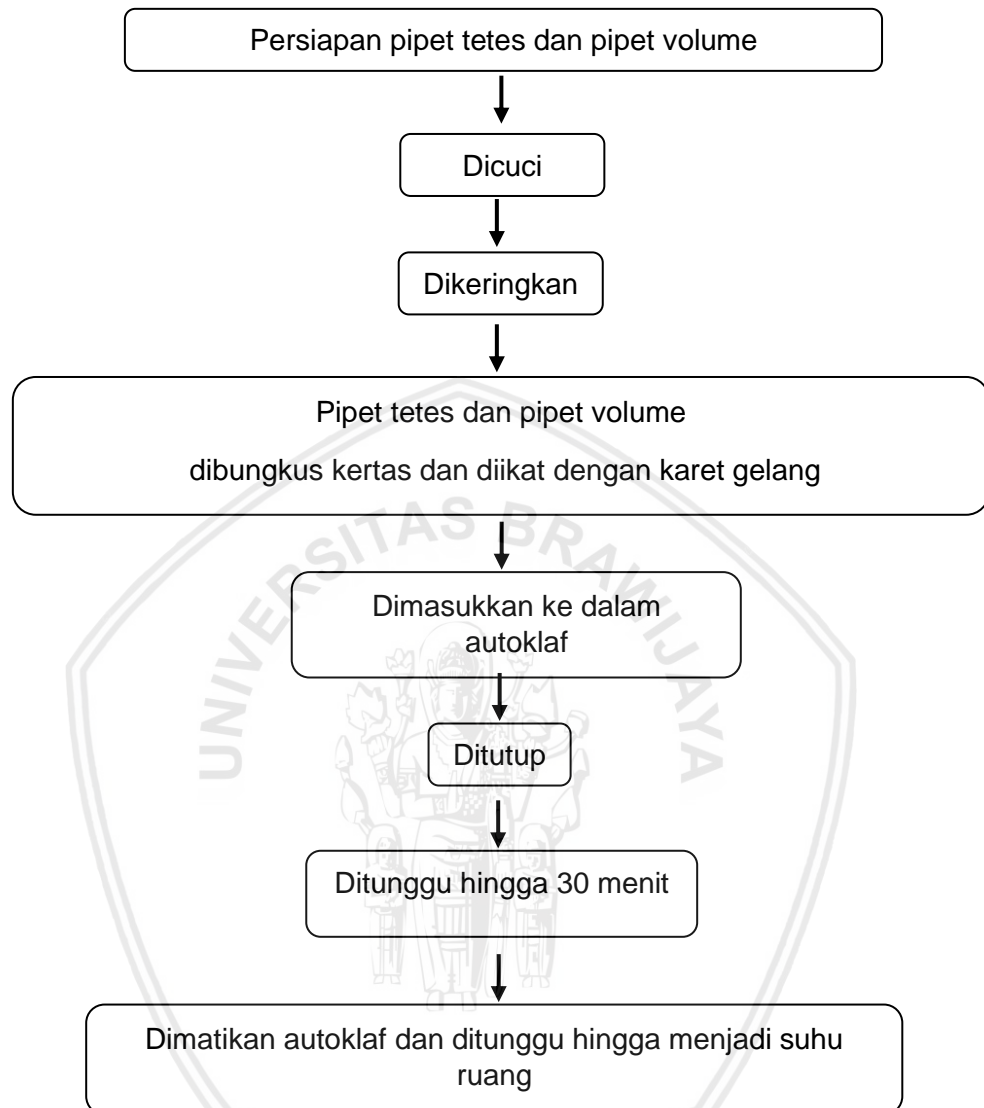
Lampiran 1. Komposisi Pupuk Walne, Vitamin, dan Silikat (Jati, *et al.*, 2012).

(1) <i>Stock</i>	Per 100 ml
ZnCl	2,1 g
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	2,0 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MO <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,9 g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	2,0 g
(2) <i>Vitamin Solution</i>	Per 100 ml
Cyanocobalamin	10,0 mg
Thiamine	10,0 mg
Biotin	200,0 µg
(3) <i>Nutrient Solution</i>	Per liter
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	1,3 g
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,36 g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	33,6 g
EDTA	45,0 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	20,0 g
NaNO <sub>3</sub>	100,0 g
TMS	1,0 ml



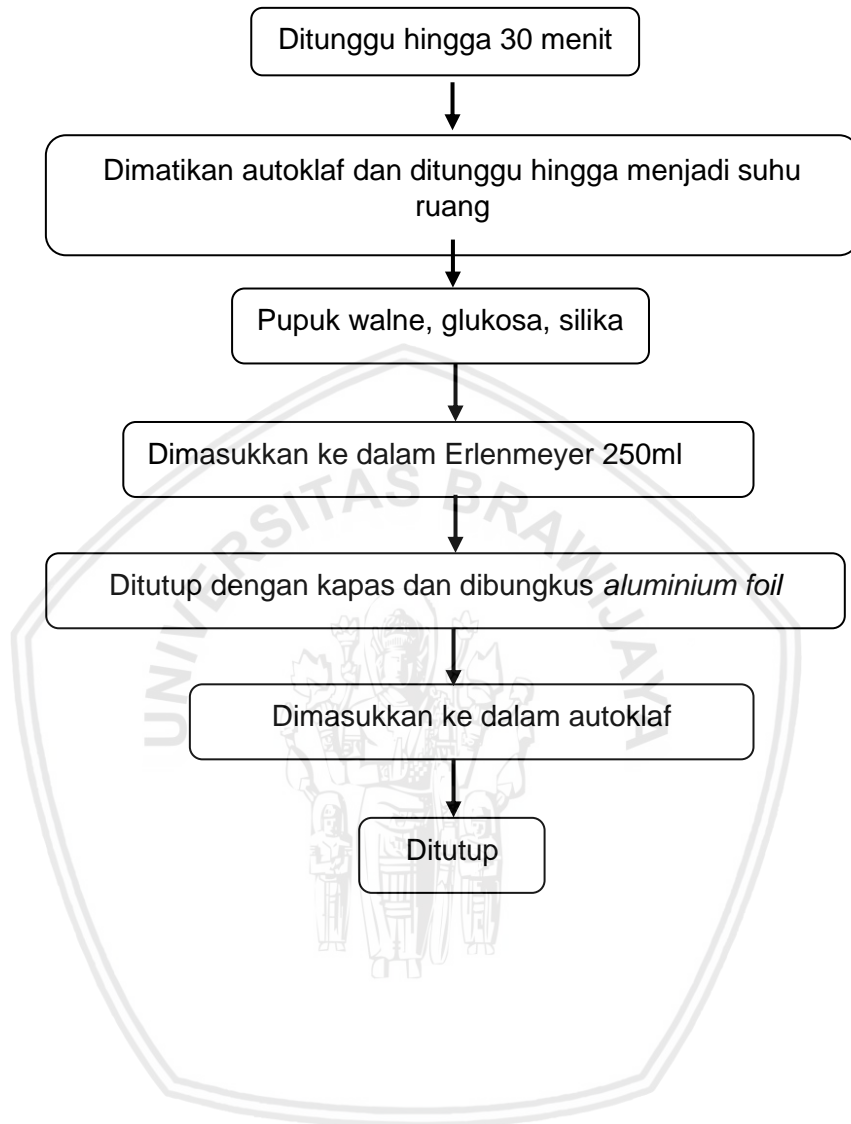
**Lampiran 2. Proses Sterilisasi**

## a. Sterilisasi Alat Menggunakan Autoklaf



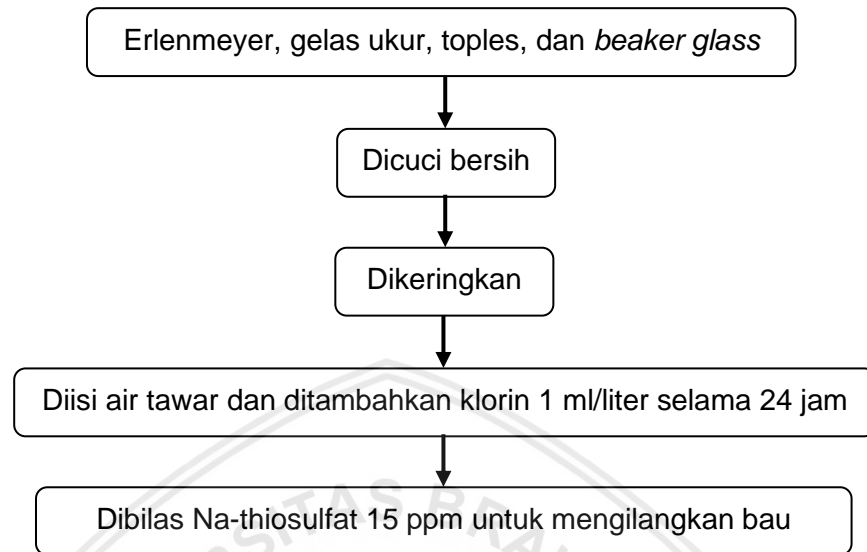
**Lampiran 2. Lanjutan**

## b. Sterilisasi Bahan Menggunakan Autoklaf

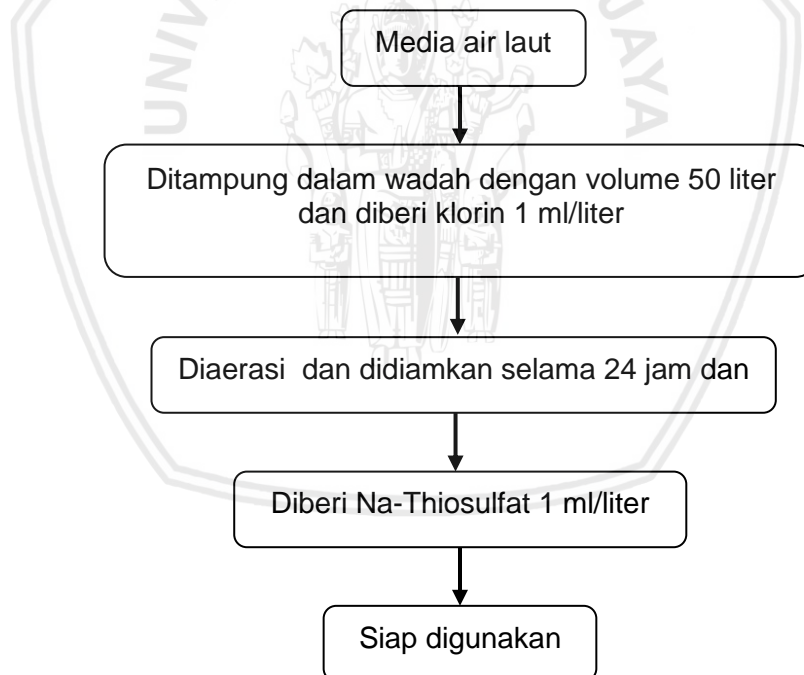


**Lampiran 2. Lanjutan**

## c. Sterilisasi Alat Menggunakan Bahan Kimia



## d. Sterilisasi Media Menggunakan Bahan Kimia



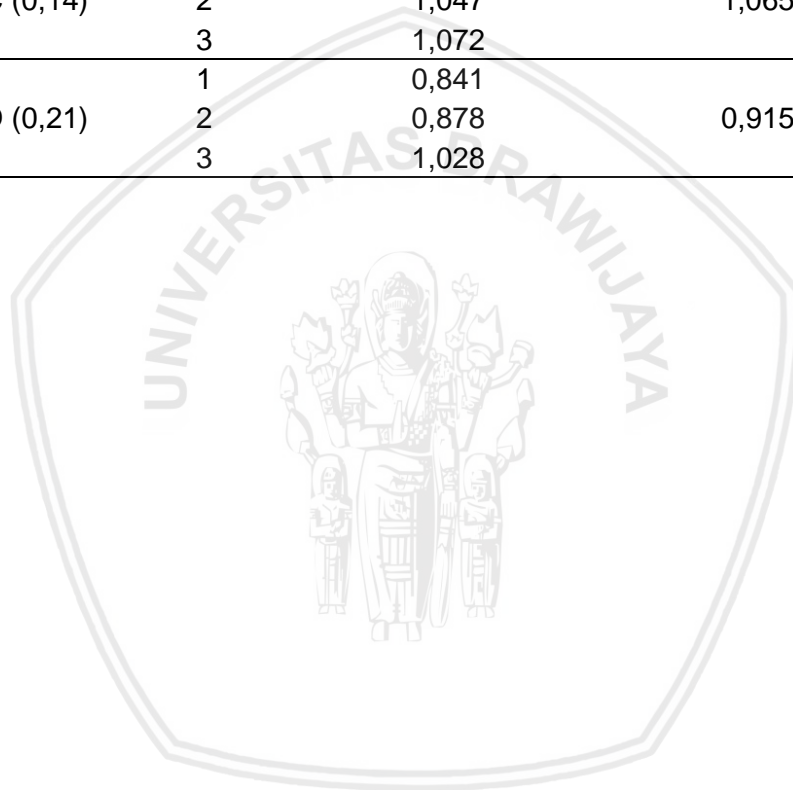
**Lampiran 3.** Data Pertumbuhan *Skeletonema costatum* dalam Perlakuan Pemberian Glukosa

Kepadatan <i>S. Costatum</i> ( $\times 10^5$ ) (sel/ml)												
Hari ke-	A			B			C			D		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	1,36	1,33	1,30	1,13	1,00	1,00	1,00	1,13	1,00	1,13	0,93	1,00
1	18,33	12,50	15,42	2,50	2,50	7,50	9,16	8,33	7,50	7,50	6,16	5,00
2	21,66	27,50	24,58	20,00	28,33	42,50	83,33	85,13	82,83	74,16	73,33	72,50
3	55,83	48,33	52,08	78,33	60,00	52,50	101,14	112,54	110,13	94,16	96,83	97,50
4	71,66	63,33	67,49	107,50	84,16	99,16	125,83	122,50	16,00	133,33	138,50	141,66
5	112,33	114,13	112,33	136,66	135,83	131,66	215,33	212,45	213,13	170,83	167,66	170,83
6	124,16	125,83	125,16	88,33	63,33	93,33	135,00	128,33	133,33	175,15	180,08	173,33
7	111,66	112,54	110,13	71,66	58,33	90,83	130,83	125,83	125,83	161,66	148,58	137,50
8	101,14	102,83	107,24	35,00	33,33	34,16	121,66	113,33	124,16	125,83	125,16	122,50
9	89,16	48,33	68,74	0,50	1,00	1,00	89,16	79,66	73,66	112,34	110,75	109,16
10	70,83	49,17	60,00	0,50	0,50	0,50	23,33	21,66	18,66	99,16	102,50	105,83



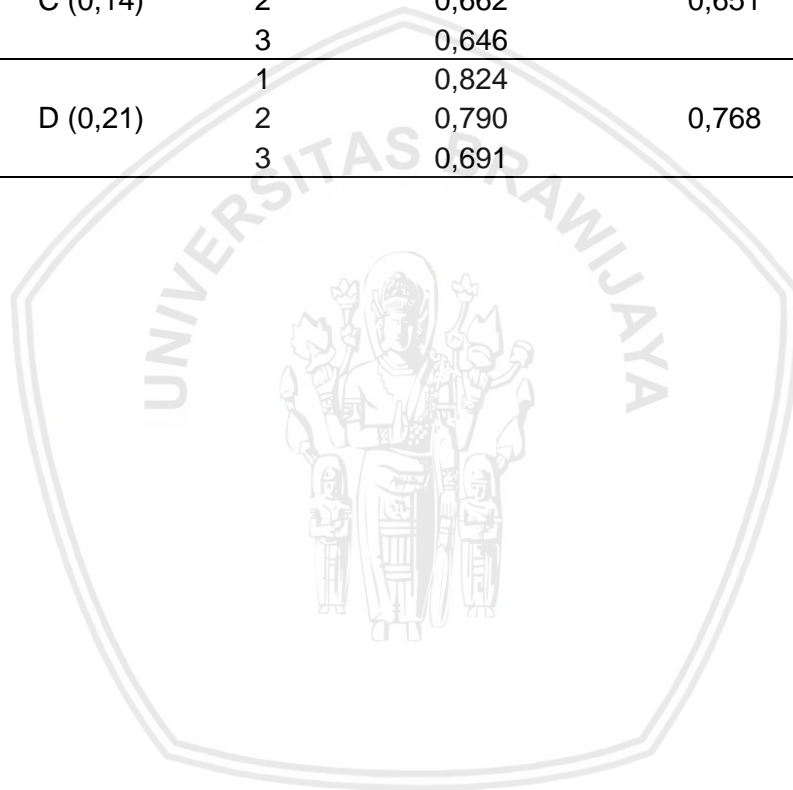
**Lampiran 4.** Data Hasil Perhitungan Laju Pertumbuhan Spesifik *S. Costatum*

Perlakuan (g/l)	Ulangan	Laju Pertumbuhan Spesifik (Hari <sup>-1</sup> )	Rata-Rata (Hari <sup>-1</sup> )
A (0,00)	1	0,752	0,757
	2	0,758	
	3	0,762	
B (0,07)	1	0,959	0,972
	2	0,982	
	3	0,976	
C (0,14)	1	1,074	1,065
	2	1,047	
	3	1,072	
D (0,21)	1	0,841	0,915
	2	0,878	
	3	1,028	



**Lampiran 5.** Data Hasil Perhitungan Doubling Time *S. Costatum*

Perlakuan (g/l)	Ulangan	<i>Doubling Time</i> (Hari)	Rata-Rata (Hari)
A (0,00)	1	0,996	1,015
	2	1,077	
	3	0,972	
B (0,07)	1	0,723	0,713
	2	0,706	
	3	0,710	
C (0,14)	1	0,645	0,651
	2	0,662	
	3	0,646	
D (0,21)	1	0,824	0,768
	2	0,790	
	3	0,691	



**Lampiran 6.** Analisis Data Laju Pertumbuhan Spesifik *S. Costatum*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STDEV
	1	2	3			
A	0,696	0,644	0,713	2,052	0,684	0,0359
B	0,959	0,982	0,976	2,917	0,972	0,0120
C	1,074	1,047	1,072	3,194	1,065	0,0151
D	0,841	0,878	1,003	2,722	0,907	0,0852
	Total			10,886		

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{(10,886)^2}{3 \times 4} = 9,875$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= ((0,696)^2 + (0,644)^2 + (0,713)^2 + (0,959)^2 + \dots + (1,003)^2) - 9,875 \\ &= 0,254 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(2,052)^2 + (2,917)^2 + (3,194)^2 + (2,722)^2}{3} - 9,875 \\ &= 0,236 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 0,254 - 0,236 \\ &= 0,018 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fhitung	F 5 %
Perlakuan	3	0,236	0,07883	35,34860*	4,07
Acak	8	0,018	0,00223		
Total	11	0,254			

Keterangan: \* = berbeda nyata

### Lampiran 6. (Lanjutan)

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

$$= 0,0386$$

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

$$= 2,306 \times 0,0386$$

$$= 0,089$$

Tabel BNT

Rata-Rata Perlakuan	A	D	B	C	Notasi
A 0,684	0,000				a
D 0,907	0,223*				b
B 0,972	0,288*	0,065			b
C 1,065	0,381*	0,157*	0,092*	0,000	c

Keterangan: \* = berbeda nyata

### Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	2,052	-3	1	-1
B	2,917	-1	-1	3
C	3,194	1	-1	-3
D	2,722	3	1	1
Q= $\sum(Ci \cdot Ti)$		2,284	-1,337	-0,161
K $\mu$ = $(\sum ci^2) \cdot \mu$		60,000	12,000	60,000
JK=Q <sup>2</sup> /K $\mu$		0,087	0,149	0,000

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

$$= 0,087 + 0,149 + 0,000$$

$$= 0,236$$

### Lampiran 6. (Lanjutan)

#### Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	3	0,236	0,079	22,0929*	5,41
Linier	1	0,087	0,087	24,3777*	6,61
Kuadratik	1	0,149	0,149	31,7799*	6,61
Kubik	1	0,000	0,000	0,1210	6,61
Acak	5	0,021	0,004		
Total	11	0,320			

Keterangan: \* = berbeda nyata

Menghitung R Square ( $R^2$ ):

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Linier}} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,087}{0,087 + 0,021} \\
 &= 0,82980
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Kuadratik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,149}{0,149 + 0,021} \\
 &= 0,89312
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Kubik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,000}{0,000 + 0,021} \\
 &= 0,02363
 \end{aligned}$$

$R^2_{\text{Kuadratik}} > R^2_{\text{Linier}}, R^2_{\text{Kubik}}$

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

Mencari persamaan regresi kuadratik

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

$$x = \frac{0 + 0,07 + 0,14 + 0,21}{4} = 0,1$$

$$d = 0,15$$

$$U_j = \frac{X_j - 0,1}{0,15}$$

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

$$x = 0,07 \quad \text{maka } U_j = 0$$

$$x = 0,14 \quad \text{maka } U_j = 1$$

$$x = 0,21 \quad \text{maka } U_j = 2$$

Sehingga didapatkan:

$X_j$	0,00	0,07	0,14	0,21	0
$U_j$	-1	0	1	2	3
$U_j^2$	4	1	1	4	10
$U_j^4$	16	1	1	16	34
$Y_{ij}$	2,05	2,92	3,19	2,72	10,89
$U_j Y_{ij}$	-1,44	0,88	4,15	6,26	9,85
$U_j^2 Y_{ij}$	8,21	2,92	3,19	10,89	22,21

Substitusi pada rumus

$$\sum U_j Y_{ij} = b_1 \cdot n \sum U_j^2$$

$$9,85 = b_1 \cdot 4 \cdot 10$$

$$9,85 = b_1 \cdot 40$$

$$0,246 = b_1$$

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

$$\Sigma y_{ij} = b_0'n + b_2' n \Sigma U_j^2$$

$$10,89 = b_0' \cdot 12 + b_2' \cdot 3 \cdot 10$$

$$10,89 = 12b_0' + 30b_2'$$

$$\Sigma U_j^2 Y_{ij} = b_0' \Sigma U_j^2 + b_2' n \Sigma U_j^4$$

$$25,21 = b_0' \cdot 3 \cdot 10 + b_2' \cdot 3 \cdot 34$$

$$25,21 = 30b_0' + 102b_2'$$

$$b_2' = -0,0743032$$

$$b_0' = 1,34551645$$

Sehingga didapatkan persamaan Uj sebagai berikut:

$$\begin{aligned} Y &= b_0 + b_1 U_j + b_2 U_j^2 \\ &= 1,346 + 0,328 U_j - 0,074 U_j^2 \end{aligned}$$

Dikembalikan ke transformasi Uj sebagai berikut:

$$Y = 1,346 + 0,328 \left( \frac{X_j - 0,1}{0,15} \right) - 0,074 \left( \frac{X_j - 0,1}{0,15} \right)^2$$

Akan didapatkan persamaan kuadrat  $Y = -22,746x^2 + 5,8645x + 0,6815$

Mencari titik puncak kurva kuadrat menggunakan turunan pertama persamaan

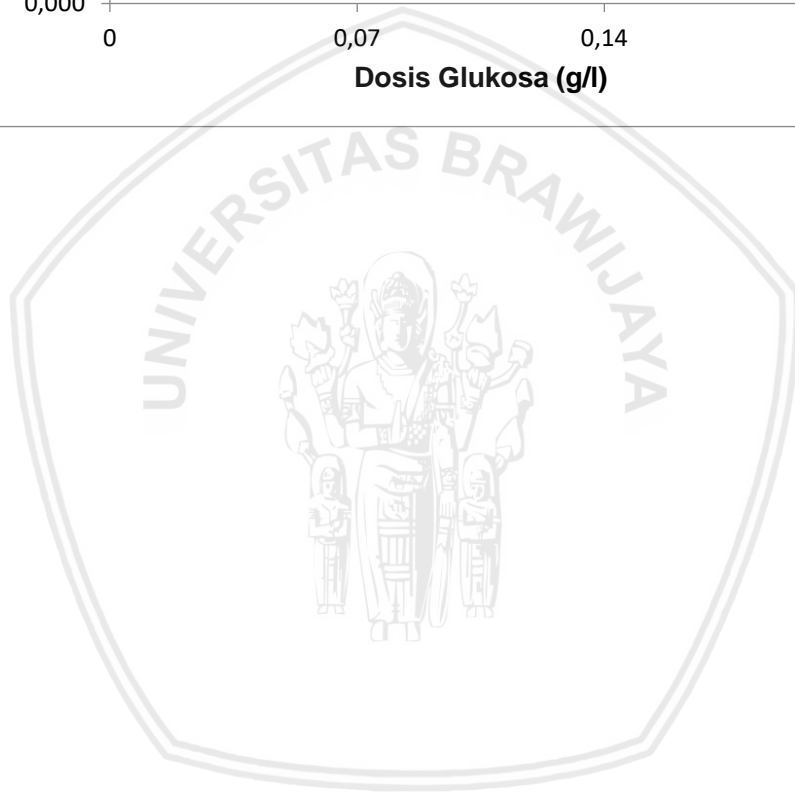
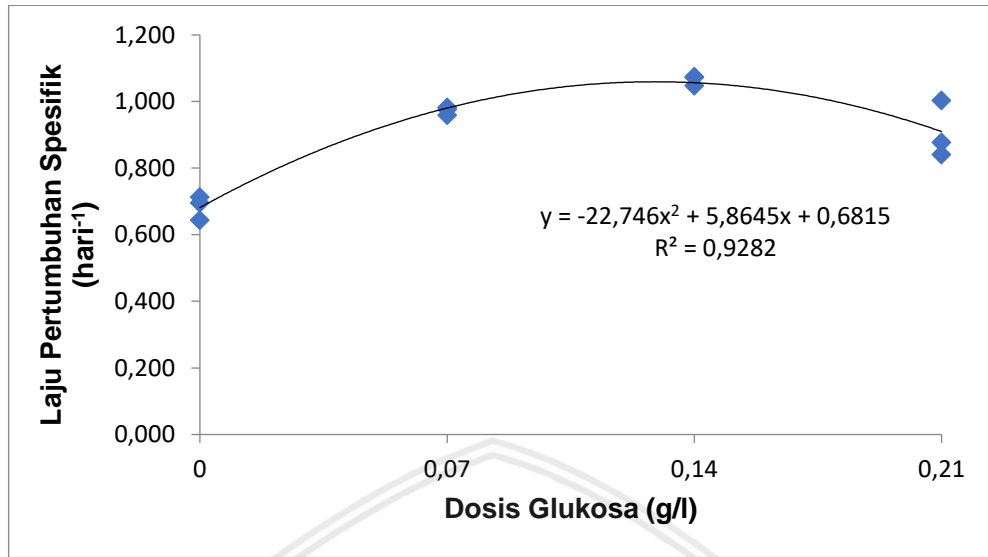
tersebut ( $Y' = 0$ )

$$Y = 0,6815 + 5,8645x - 22,746x^2$$

$$Y' = 5,8645 + 2(-22,746)x$$

$$X = 0,129 \quad Y = 1,056$$





**Lampiran 7. Analisis Data Biomassa *S. Costatum***

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STDEV
	1	2	3			
A	0,348	0,556	0,424	1,328	0,443	0,1052
B	0,824	0,896	0,864	2,584	0,861	0,0361
C	1,036	0,988	1,064	3,088	1,029	0,0384
D	0,632	0,728	0,660	2,020	0,673	0,0494
Total				9,020		

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{(9,020)^2}{3 \times 4} = 6,780$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= ((0,348)^2 + (0,556)^2 + (0,424)^2 + (0,824)^2 + \dots + (0,660)^2) - \\ &\quad 6,780 \\ &= 0,605 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(1,328)^2 + (2,584)^2 + (3,088)^2 + (2,020)^2}{3} - 6,780 \\ &= 0,572 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 0,605 - 0,572 \\ &= 0,033 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fhitung	F 5 %
Perlakuan	3	0,572	0,19074	46,82717*	4,07
Acak	8	0,033	0,00407		
Total	11	0,605			

Keterangan: \* = berbeda nyata

### Lampiran 7. (Lanjutan)

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

$$= 0,0521$$

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

$$= 2,306 \times 0,0521$$

$$= 0,120$$

### Tabel BNT

Rata-rata perlakuan	A	D	B	C	Notasi
0,443	0,000				a
0,673	0,231*				b
0,861	0,419*	0,188*			c
1,029	0,587*	0,356*	0,168*	0,000	d

Keterangan: \* = berbeda nyata

### Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	1,328	-3	1	-1
B	2,584	-1	-1	3
C	3,088	1	-1	-3
D	2,020	3	1	1
Q= $\sum(Ci \cdot Ti)$		2,580	-2,324	-0,820
$K\mu = (\sum Ci^2) \cdot \mu$		60,000	12,000	60,000
JK=Q <sup>2</sup> /K $\mu$		0,111	0,450	0,011

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

$$= 0,111 + 0,450 + 0,011$$

$$= 0,572$$

### Lampiran 7. (Lanjutan)

#### Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	3	0.572	0.191	29.26*	5.41
Linier	1	0.111	0.111	17.02*	6.61
Kuadratik	1	0.450	0.450	69.05*	6.61
Kubik	1	0.011	0.011	1.71	6.61
Acak	5	0.033	0.007		
Total	11	1.117			

Keterangan: \* = berbeda sangat nyata

Menghitung R Square ( $R^2$ ):

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Linier}} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,111}{0,111 + 0,036} \\
 &= 0,77296
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Kuadratik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,450}{0,450 + 0,036} \\
 &= 0,93249
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Kubik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0,011}{0,011 + 0,036} \\
 &= 0,25590
 \end{aligned}$$

$R^2$  Kuadratik >  $R^2$  Linier,  $R^2$  Kubik

**Lampiran 7. (Lanjutan)**

Mencari persamaan regresi kuadratik

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

$$x = \frac{0 + 0,07 + 0,14 + 0,21}{4} = 0,1$$

$$d = 0,15$$

$$U_j = \frac{X_j - 0,1}{0,15}$$

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

$$x = 0,09 \quad \text{maka } U_j = 0$$

$$x = 0,19 \quad \text{maka } U_j = 1$$

$$x = 0,29 \quad \text{maka } U_j = 2$$

Sehingga didapatkan:

$X_j$	0.00	0.07	0.14	0.21	0
$U_j$	-1	0	1	2	3
$U_j^2$	4	1	1	4	10
$U_j^4$	16	1	1	16	34
$Y_{ij}$	1.33	2.58	3.09	2.02	9.02
$U_j Y_{ij}$	-0.93	0.78	4.01	4.65	8.51
$U_j^2 Y_{ij}$	5.31	2.58	3.09	8.08	19.06

Substitusi pada rumus

$$\sum U_j Y_{ij} = b_1 \cdot n \sum U_j^2$$

$$8,51 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$$

$$8,51 = b_1 \cdot 30$$

$$0,016 = b_1$$

**Lampiran 7. (Lanjutan)**

$$\Sigma y_{ij} = b_0'n + b_2' n \Sigma U_j^2$$

$$9,02 = b_0' \cdot 12 + b_2' \cdot 3 \cdot 10$$

$$9,02 = 12b_0' + 30b_2'$$

$$\Sigma U_j^2 Y_{ij} = b_0' \Sigma U_j^2 + b_2' n \Sigma U_j^4$$

$$19,06 = b_0' \cdot 3 \cdot 10 + b_2' \cdot 3 \cdot 34$$

$$19,06 = 30b_0' + 102b_2'$$

$$b_2' = -0,12911$$

$$b_0' = 1,5134222$$

Sehingga didapatkan persamaan Uj sebagai berikut:

$$\begin{aligned} Y &= b_0 + b_1 U_j + b_2 U_j^2 \\ &= 1,513 + 0,284 U_j - 0,129 U_j^2 \end{aligned}$$

Dikembalikan ke transformasi Uj sebagai berikut:

$$Y = 1,513 + 0,284 \left( \frac{X_j - 0,1}{0,15} \right) - 0,129 \left( \frac{X_j - 0,1}{0,15} \right)^2$$

Akan didapatkan persamaan kuadrat  $Y = -15,244x^2 + 5,6183x + 0,461$

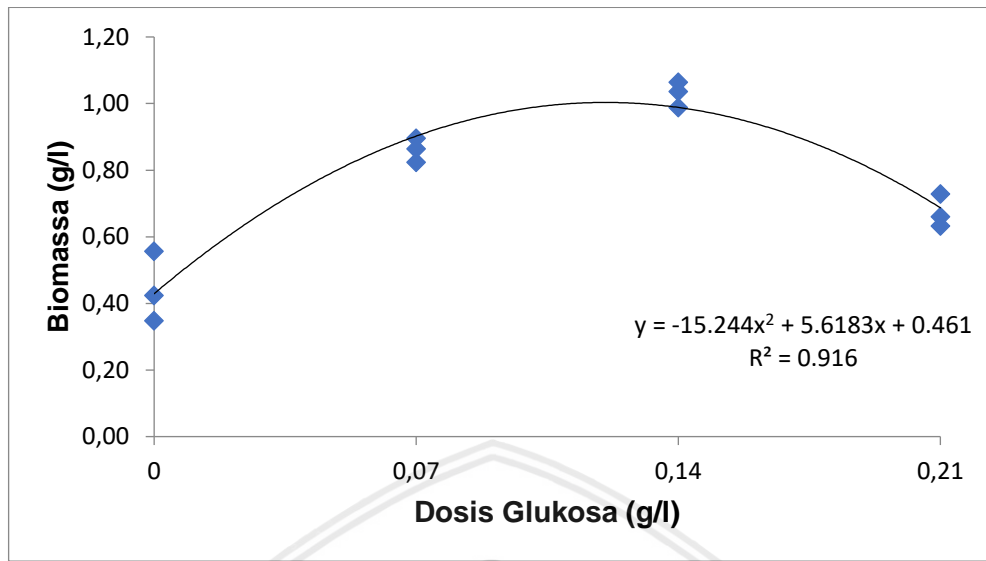
Mencari titik puncak kurva kuadrat menggunakan turunan pertama persamaan

tersebut ( $Y' = 0$ )

$$Y = 0,461 + 5,6183x - 15,244x^2$$

$$Y' = 5,6183 + 2(-15,244)x$$

$$X = 0,18 \quad Y = 0,990$$





**Lampiran 8. Analisis Data Klorofil-a *S. Costatum***

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STDEV
	1	2	3			
A	0.395	0.457	0.402	1.254	0.418	0.0339
B	0.527	0.564	0.530	1.621	0.540	0.0208
C	0.808	0.792	0.819	2.419	0.806	0.0135
D	0.477	0.530	0.525	1.531	0.510	0.0292
	Total			6.825		

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{(6.825)^2}{3 \times 4} = 3,882$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= ((0,395)^2 + (0,457)^2 + (0,402)^2 + (0,527)^2 + \dots + (0,525)^2) - \\ &\quad 3,882 \\ &= 0,255 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(1,254)^2 + (1,621)^2 + (2,419)^2 + (1,531)^2}{3} - 3,882 \\ &= 0,250 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 0,255 - 0,250 \\ &= 0,005 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fhitung	F 5 %
Perlakuan	3	0.250	0.08336	127.13568*	4.07
Acak	8	0.005	0.00066		
Total	11	0.255			

Keterangan: \* = berbeda nyata

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

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

$$= 0,0209$$

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

$$= 2,306 \times 0,0209$$

$$= 0,048$$

**Tabel BNT**

Rata-rata perlakuan	A	D	B	C	Notasi
0.418	0.000				a
0.510	0.092*				b
0.540	0.123*	0.030			bc
0.806	0.388*	0.296*	0.266*	0.000	c

Keterangan: \* = berbeda nyata

**Uji Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	1.254	-3	1	-1
B	1.621	-1	-1	3
C	2.419	1	-1	-3
D	1.531	3	1	1
Q= $\sum(C_i \cdot T_i)$		1.630	-1.255	-2.115
$K\mu = (\sum C_i^2) \cdot \mu$		60.000	12.000	60.000
JK=Q <sup>2</sup> /K $\mu$		0.044	0.131	0.075

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

$$= 0,044 + 0,131 + 0,075$$

$$= 0,250$$

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

## Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	3	0.250	0.083	79.46*	5.41
Linier	1	0.044	0.044	42.20*	6.61
Kuadratik	1	0.131	0.131	125.14*	6.61
Kubik	1	0.075	0.075	71.04*	6.61
Acak	5	0.005	0.001		
Total	11	0.505			

Keterangan: \* = berbeda sangat nyata

Menghitung R Square ( $R^2$ ) :

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Linier}} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0.044}{0.044 + 0.005} \\
 &= 0.89406
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Kuadratik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0.131}{0.131 + 0.005} \\
 &= 0.96158
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Kubik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{0.075}{0.075 + 0.005} \\
 &= 0.93425
 \end{aligned}$$

**Lampiran 8.** (Lanjutan)

Mencari persamaan regresi kuadratik

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

$$x = \frac{0 + 0,07 + 0,14 + 0,21}{4} = 0,1$$

$$d = 0,15$$

$$U_j = \frac{X_j - 0,1}{0,15}$$

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

$$x = 0,07 \quad \text{maka } U_j = 0$$

$$x = 0,14 \quad \text{maka } U_j = 1$$

$$x = 0,21 \quad \text{maka } U_j = 2$$

Sehingga didapatkan

$X_j$	0,00	0,15	0,30	0,45	1
$U_j$	-1	0	1	2	3
$U_j^2$	4	1	1	4	10
$U_j^4$	16	1	1	16	34
$Y_{ij}$	1,25	1,62	2,42	1,53	6,83
$U_j Y_{ij}$	-0,88	0,49	3,14	3,52	6,28
$U_j^2 Y_{ij}$	5,02	1,62	2,42	6,13	15,18

Substitusi rumus

$$\sum U_j Y_{ij} = b_1 \cdot n \sum U_j^2$$

$$6,28 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$$

$$6,28 = b_1 \cdot 30$$

$$0,2093 = b_1$$

**Lampiran 8.** (Lanjutan)

$$\Sigma y_{ij} = b_0'n + b_2' n \Sigma U_j^2$$

$$6,83 = b_0' \cdot 12 + b_2' \cdot 3 \cdot 10$$

$$6,83 = 12b_0' + 30b_2'$$

$$\Sigma U_j^2 Y_{ij} = b_0' \Sigma U_j^2 + b_2' n \Sigma U_j^4$$

$$15,18 = b_0' \cdot 3 \cdot 10 + b_2' \cdot 3 \cdot 34$$

$$15,18 = 30b_0' + 102b_2'$$

$$b_2' = -0,06973$$

$$b_0' = 0,980197$$

Sehingga didapatkan persamaan Uj sebagai berikut:

$$\begin{aligned} Y &= b_0 + b_1 U_j + b_2 U_j^2 \\ &= 0,980 + 0,209 U_j - 0,06973 U_j^2 \end{aligned}$$

Dikembalikan ke transformasi Uj sebagai berikut:

$$Y = 0,980 + 0,209 \left( \frac{X_j - 0,1}{0,15} \right) - 0,06973 \left( \frac{X_j - 0,1}{0,15} \right)^2$$

Akan didapatkan persamaan kuadrat  $Y = -12,095x^2 + 4,102x + 0,3823$

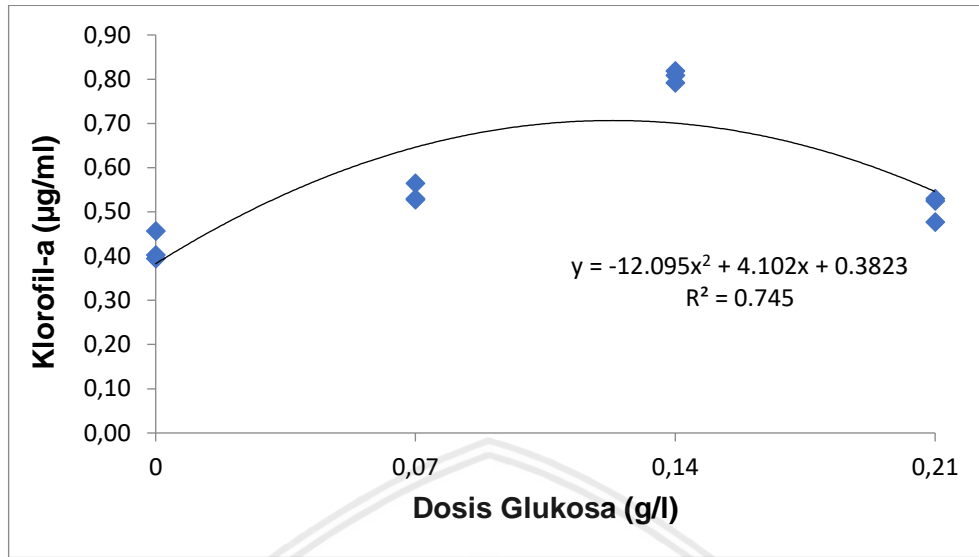
Mencari titik puncak kurva kuadratik menggunakan turunan pertama persamaan

tersebut ( $Y' = 0$ )

$$Y = 0,3823 + 4,102x - 12,095x^2$$

$$Y' = 4,102 + 2(-12,095)x$$

$$X = 0,17 \quad Y = 0,730$$



**Lampiran 9.** Analisis Data Protein *S. Costatum* sp.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STDEV
	1	2	3			
A	20,754	22,715	21,139	64,608	21,536	1,0393
B	28,092	29,969	28,635	86,696	28,889	0,9655
C	36,644	33,288	35,679	105,612	35,204	1,7275
D	24,965	27,727	23,064	75,756	25,252	2,3447
	Total			332,671		

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK):

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{(332,671)^2}{3 \times 4} = 9.222,509$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= ((20,754)^2 + (22,715)^2 + (21,139)^2 + (28,092)^2 + \dots + (23,064)^2) \\ &\quad - 9.222,509 \\ &= 326,185 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(64,608)^2 + (86,696)^2 + (105,612)^2 + (75,756)^2}{3} - 9.222,509 \\ &= 305,196 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 326,185 - 305,196 \\ &= 20,988 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhitung	F 5 %
Perlakuan	3	305,196	101,73207	42,42176*	4.07
Acak	8	20,988	2,62354		
Total	11	326,185			

Keterangan: \* = berbeda sangat nyata



### Lampiran 9. (Lanjutan)

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

$$= 1,3225$$

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

$$= 2,306 \times 1,3225$$

$$= 3,050$$

Tabel BNT

Rata-rata perlakuan	A	D	B	C	Notasi
	21,536	25,252	28,899	25,204	
21,536	0,000				a
25,252	3,716*				b
28,899	7,363*	3,647*			c
25,204	13.668*	9,952*	6,305*	0.000	d

Keterangan: \* = berbeda nyata

### Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	64,608	-3	1	-1
B	86,696	-1	-1	3
C	105,612	1	-1	-3
D	75,756	3	1	1
Q= $\sum(Ci \cdot Ti)$		52,359	-51,944	-45,599
$K\mu = (\sum ci^2) \cdot \mu$		60.000	12.000	60.000
$JK = Q^2 / K\mu$		45,692	224,851	34,654

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

$$= 45,692 + 224,851 + 34,654$$

$$= 305,196$$

**Lampiran 9. (Lanjutan)**

## Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	3	305,196	101,732	24,2354*	5.41
Linier	1	45,692	45,692	10,8850*	6.61
Kuadratik	1	224,851	224,851	53,5656*	6.61
Kubik	1	34,654	34,654	8,2555*	6.61
Acak	5	20,988	4,198		
Total	11	631,381			

Keterangan: \* = berbeda nyata

Menghitung R Square ( $R^2$ ) :

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Linier}} &= \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{45,692}{45,692 + 20,988} \\
 &= 0,68524
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Kuadratik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kuadratik}}{\text{JK Regresi Kuadratik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{224,851}{224,851 + 20,988} \\
 &= 0,91463
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2_{\text{Kubik}} &= \frac{\text{JK Regresi Kubik}}{\text{JK Regresi Kubik} + \text{JK Regresi Acak}} \\
 &= \frac{34,654}{34,654 + 20,988} \\
 &= 0,62280
 \end{aligned}$$

**Lampiran 9.** (Lanjutan)

Mencari persamaan regresi kuadratik

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

$$x = \frac{0 + 0,07 + 0,21 + 0,14}{4} = 0,1$$

$$d = 0,15$$

$$U_j = \frac{X_j - 0,1}{0,15}$$

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

$$x = 0,07 \quad \text{maka } U_j = 0$$

$$x = 0,14 \quad \text{maka } U_j = 1$$

$$x = 0,21 \quad \text{maka } U_j = 2$$

Sehingga didapatkan

$X_j$	0,00	0,07	0,14	0,21	0
$U_j$	-1	0	1	2	3
$U_j^2$	4	1	1	4	10
$U_j^4$	16	1	1	16	34
$Y_{ij}$	64,61	86,70	105,61	75,76	332,67
$U_j Y_{ij}$	-45,23	26,01	137,30	174,24	292,32
$U_j^2 Y_{ij}$	258,43	86,70	105,61	303,02	753,76

Substitusi rumus

$$\sum U_j Y_{ij} = b_1 \cdot n \cdot \sum U_j^2$$

$$292,32 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$$

$$292,32 = b_1 \cdot 30$$

$$0,016 = b_1$$

**Lampiran 9. (Lanjutan)**

$$\Sigma y_{ij} = b_0'n + b_2' n \Sigma U_j^2$$

$$332,67 = b_0' \cdot 12 + b_2' \cdot 3 \cdot 10$$

$$332,67 = 12b_0' + 30b_2'$$

$$\Sigma U_j^2 Y_{ij} = b_0' \Sigma U_j^2 + b_2' n \Sigma U_j^4$$

$$753,76 = b_0' \cdot 3 \cdot 10 + b_2' \cdot 3 \cdot 34$$

$$753,76 = 30b_0' + 102b_2'$$

$$b_2' = -2,885793071$$

$$b_0' = 44,74877722$$

Sehingga didapatkan persamaan Uj sebagai berikut:

$$\begin{aligned} Y &= b_0 + b_1 U_j + b_2 U_j^2 \\ &= 44,749 + 9,744 U_j - 2,886 U_j^2 \end{aligned}$$

Dikembalikan ke transformasi Uj sebagai berikut:

$$Y = 44,749 + 9,744 \left( \frac{X_j - 0,1}{0,15} \right) - 2,886 \left( \frac{X_j - 0,1}{0,15} \right)^2$$

Akan didapatkan persamaan kuadrat  $Y = -883,41x^2 + 210,45x + 20,776$

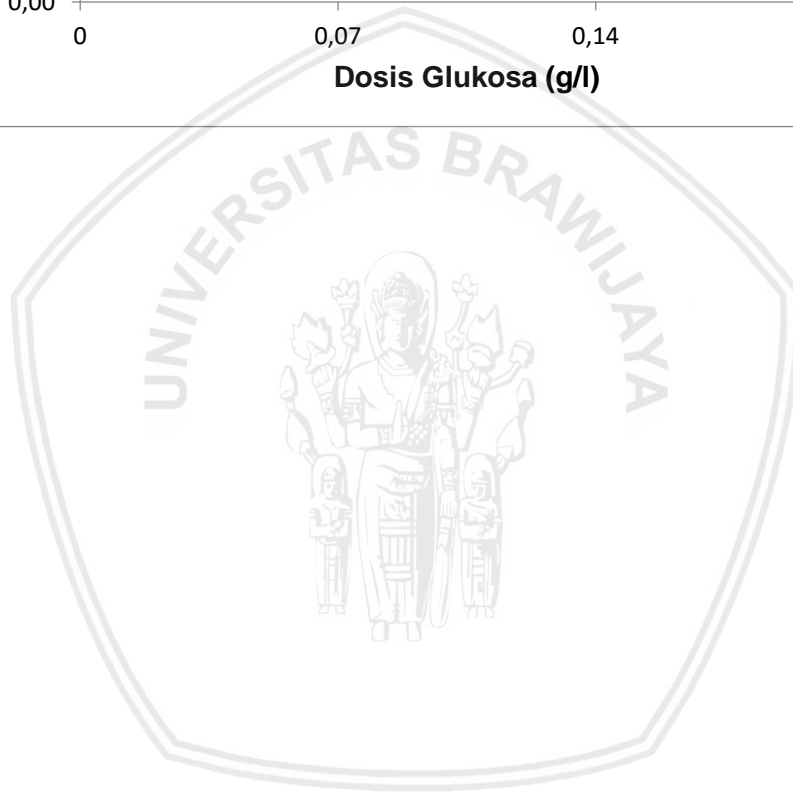
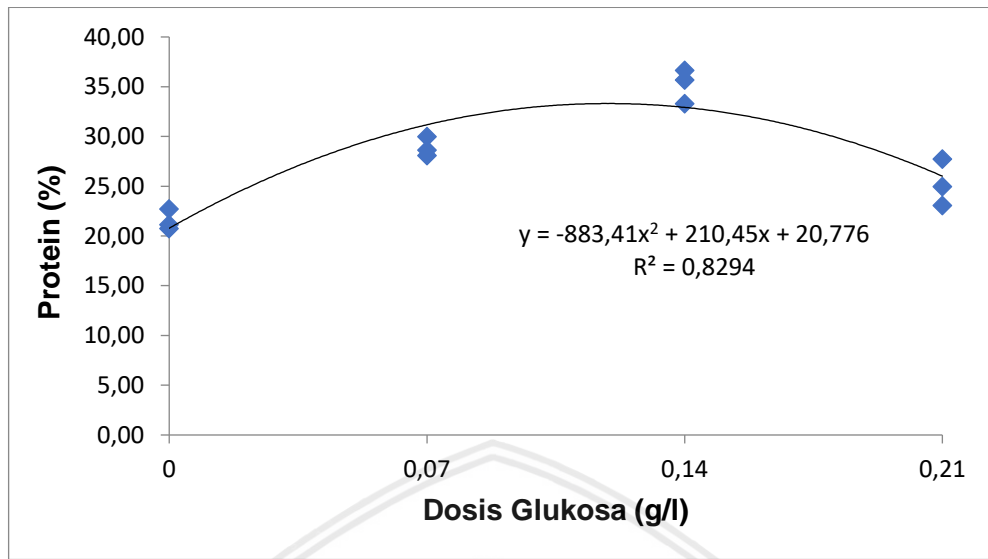
Mencari titik puncak kurva kuadrat menggunakan turunan pertama persamaan

tersebut ( $Y' = 0$ )

$$Y = 20,776 + 210,45x - 883,41x^2$$

$$Y' = 210,45x + 2(-883,41)x$$

$$X = 0,12 \quad Y = 33,309$$



**Lampiran 10.** Kualitas Air pada Kultur *S. Costatum*

- Daya Serap Nitrat *S. Costatum*

Perlakuan	Ulangan	Konsentrasi Nitrat (ppm)			N Terserap (%)			Total N Terserap (%)	Rerata N Terserap (%)
		H0	H3	H7	H0	H3	H7		
A	1	2.095	1.503	1.369	0.000	28.258	6.396	34.654	34.523
	2	2.101	1.524	1.398	0.000	27.463	5.997	33.460	
	3	2.090	1.480	1.349	0.000	29.187	6.268	35.455	
B	1	2.565	1.919	1.485	0.000	25.185	16.920	42.105	41.644
	2	2.499	1.881	1.464	0.000	24.730	16.687	41.417	
	3	2.497	1.875	1.463	0.000	24.910	16.500	41.410	
C	1	2.781	1.994	1.487	0.000	28.299	18.231	46.530	46.172
	2	2.700	1.927	1.465	0.000	28.630	17.111	45.741	
	3	2.703	1.920	1.453	0.000	28.968	17.277	46.245	
D	1	2.093	1.559	1.323	0.000	25.514	11.276	36.789	36.506
	2	2.090	1.552	1.328	0.000	25.742	10.718	36.459	
	3	2.101	1.571	1.339	0.000	25.226	11.042	36.268	

- Daya Serap Fosfat *S. Costatum*

Perlakuan	Ulangan	Konsentrasi Fosfat (ppm)			P Terserap (%)			Total P Terserap (%)	Rerata P Terserap (%)
		H0	H3	H7	H0	H3	H7		
A	1	0.802	0.629	0.531	0.000	21.571	12.219	33.791	32.890
	2	0.853	0.685	0.593	0.000	19.695	10.785	30.481	
	3	0.814	0.617	0.534	0.000	24.201	10.197	34.398	
B	1	0.870	0.677	0.559	0.000	22.184	13.563	35.747	35.037
	2	0.875	0.685	0.568	0.000	21.714	13.371	35.086	
	3	0.881	0.692	0.579	0.000	21.453	12.826	34.279	
C	1	0.879	0.687	0.524	0.000	21.843	18.544	40.387	41.598
	2	0.887	0.683	0.531	0.000	22.999	17.136	40.135	
	3	0.899	0.694	0.501	0.000	22.803	21.468	44.271	
D	1	0.825	0.611	0.534	0.000	25.939	9.333	35.273	34.532
	2	0.869	0.691	0.571	0.000	20.483	13.809	34.292	
	3	0.861	0.675	0.568	0.000	21.603	12.427	34.030	

- Suhu pada Kultur *S. Costatum*

Perlakuan	Ulangan	Hari							
		0	1	2	3	4	5	6	7
K	1	29	29	29	29	29	29	29	29
	2	29	29	29	29	29	29	29	29
	3	29	29	29	29	29	29	29	29
A	1	29	29	29	29	29	29	29	29
	2	29	29	29	29	29	29	29	29
	3	29	29	29	29	29	29	29	29
B	1	29	29	29	29	29	29	29	29
	2	29	29	29	29	29	29	29	29
	3	29	29	29	29	29	29	29	29
C	1	29	29	29	29	29	29	29	29
	2	29	29	29	29	29	29	29	29
	3	29	29	29	29	29	29	29	29

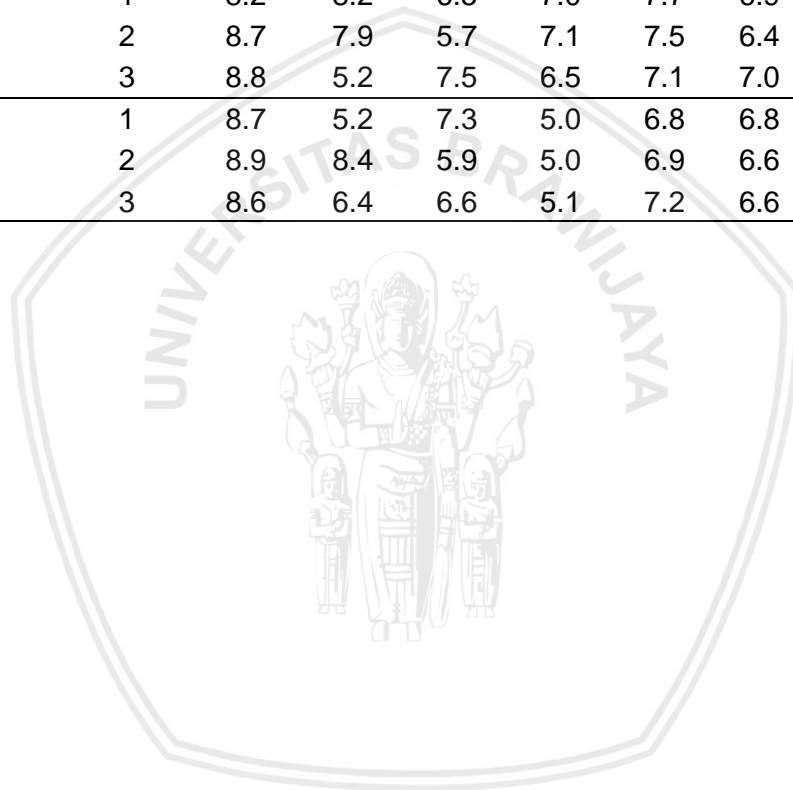
- pH pada Kultur *S. Costatum*

Perlakuan	Ulangan	Hari							
		0	1	2	3	4	5	6	7
K	1	7.77	7.18	7.25	7.32	7.29	7.66	7.32	7.30
	2	7.72	7.20	7.39	7.29	7.24	7.82	7.39	7.37
	3	7.75	7.25	7.54	7.61	7.23	7.77	7.43	7.41
A	1	7.74	7.24	7.38	7.63	7.54	7.58	7.33	7.25
	2	7.78	7.24	7.44	7.52	7.46	7.55	7.51	7.34
	3	7.76	7.20	7.66	7.58	7.67	7.51	7.49	7.51
B	1	7.75	7.23	7.28	7.47	7.64	7.62	7.38	7.33
	2	7.72	7.23	7.35	7.54	7.71	7.69	7.45	7.41
	3	7.71	7.23	7.76	7.42	7.61	7.82	7.37	7.35
C	1	7.78	7.24	7.63	7.49	7.50	7.74	7.50	7.42
	2	7.72	7.23	7.59	7.46	7.81	7.71	7.51	7.43
	3	7.72	7.23	7.45	7.53	7.80	7.66	7.48	7.4



- Oksigen Terlarut pada Kultur *S. Costatum*

Perlakuan	Ulangan	Hari							
		0	1	2	3	4	5	6	7
K	1	8.9	7.1	6.3	6.6	8.1	6.5	6.5	6.3
	2	8.4	7.7	6.7	6.7	7.4	6.8	6.8	6.5
	3	8.8	8.4	8.0	8.3	7.3	6.8	5.9	5.4
A	1	8.7	7.5	8.2	8.5	8.3	7.1	6.7	6.3
	2	8.1	8.3	5.9	5.4	8.1	7.2	6.6	6.3
	3	8.1	5.6	7.6	7.5	6.9	6.5	6.3	6.0
B	1	8.2	8.2	6.5	7.0	7.7	6.9	7.0	6.9
	2	8.7	7.9	5.7	7.1	7.5	6.4	6.8	8.2
	3	8.8	5.2	7.5	6.5	7.1	7.0	6.9	6.5
C	1	8.7	5.2	7.3	5.0	6.8	6.8	6.3	6.0
	2	8.9	8.4	5.9	5.0	6.9	6.6	6.4	6.0
	3	8.6	6.4	6.6	5.1	7.2	6.6	6.7	6.5



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

Stock solution	0	2,5	5	12,5	25	50	125	250	500
Water	500	497,5	495	487,5	475	450	375	250	0
Protein Conc. ( $\mu\text{g/mL}$ )	0	10	20	50	100	200	500	1000	2000

