

## Pengaruh Konsentrasi Pupuk Walne Terhadap Laju Pertumbuhan dan Kandungan Klorofil-a *Tetraselmis chuii*

Nevanda Kusuma Wardani, Endang Supriyantini\*, Gunawan Widi Santosa

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof.H.Soedarto S.H, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

\*Corresponding author, e-mail : supri\_yantini@yahoo.com

**ABSTRAK:** Walne merupakan media sintesis yang sering digunakan sebagai media kultur mikroalga. Pupuk Walne sudah cukup memenuhi kebutuhan nutrisi bagi mikroalga kultur jika dibandingkan dengan pupuk organik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui laju pertumbuhan dan kandungan klorofil-a mikroalga *Tetraselmis chuii* pada kultur dengan perbedaan konsentrasi pupuk Walne. Materi yang digunakan adalah mikroalga *Tetraselmis chuii* dan pupuk Walne yang diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Metode penelitian ini adalah percobaan di laboratorium (*experimental laboratory*). Perlakuan yang diberikan adalah dengan pemberian konsentrasi pupuk Walne yang berbeda. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga taraf perlakuan, yaitu 1 mL/L, 1,5 mL/L dan 2 mL/L. Puncak kepadatan sel dari konsentrasi 1 mL/L dan konsentrasi 1,5 mL/L terjadi pada hari ke-9, dengan jumlah sel  $259,25 \times 10^4$  sel/mL dan  $323,50 \times 10^4$  sel/mL, sedangkan konsentrasi 2 mL/L mengalami puncak kepadatan pada hari ke-12 dengan jumlah sel  $194,58 \times 10^4$  sel/mL. Pemberian pupuk Walne 1,5 mL/L menghasilkan nilai tertinggi untuk laju pertumbuhan spesifik dan klorofil-a *T. chuii*. Nilai laju pertumbuhan spesifik tertinggi adalah 0,38 sel/mL/hari dengan kandungan klorofil-a *T. chuii* sebesar 2,392 mg/g biomassa basah. Hasil uji ANOVA dari data laju pertumbuhan spesifik dan kandungan klorofil-a menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan ( $p \geq 0,05$ ). Konsentrasi yang bisa untuk meningkatkan laju pertumbuhan dan kandungan klorofil-a adalah konsentrasi 1,5 mL/L.

**Kata kunci:** Kepadatan Sel; Kultur Mikroalga; Makronutrien; Mikronutrien

### **Effect of Concentration of Walne Fertilizer on Growth Rate and Content of Chlorophyll-a *Tetraselmis chuii***

**ABSTRACT:** Walne is a synthetic medium that is often used as a microalgae culture medium. Walne fertilizers already supply a complete nutritional needs for microalgae cultivation when compared to organic fertilizer. This study aims to determine the growth rate and content of chlorophyll-a microalgae *Tetraselmis chuii* in cultures with different concentrations of Walne fertilizer. The materials used were *Tetraselmis chuii* and Walne fertilizer obtained from Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. This research is using experimental laboratory method. The treatment given was to differentiate Walne fertilizer concentration. This study used a completely randomized design (RAL) three levels treatment, which is 1 mL/L, 1.5 mL/L and 2 mL/L. The peak of cell density from concentration 1 mL/L and concentration 1.5 mL/L occurred on day 9, with a cell number of  $259.25 \times 10^4$  cells/mL and  $323.50 \times 10^4$  cells/mL, while concentration 2 mL/L experienced a cell density peak on day 12 with a cell number of  $194.58 \times 10^4$  cells/mL. The application of 1.5 mL/L Walne fertilizer resulted in the highest values for the specific growth rate and chlorophyll-a of *T. chuii*. The highest specific growth rate value is 0.38 cell/mL/day with the chlorophyll-a content of *T. chuii* is 2.392 mg / g of wet biomass. The ANOVA test results from the growth rate and chlorophyll-a content showed that there were no significant differences ( $p \geq 0.05$ ). The concentration that can increase the growth rate and chlorophyll-a content is a concentration of 1.5 mL/L.

**Keywords:** Cell Density; Microalgae Culture; Macronutrient; Micronutrient

## PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan salah satu contoh organisme yang memiliki peran sangat luas dalam bidang bioteknologi. Aplikasi mikroalga sebagai produk bioteknologi diantaranya adalah sebagai

sumber biodiesel, agen remediasi perairan tercemar, dan pakan hewan budidaya (Schüler *et al.*, 2020). *Tetraselmis* sp. merupakan mikroalga yang tersebar luas, umum ditemukan, dan terdiri dari berbagai spesies. Satu atau lebih spesies dari genus ini dapat dengan mudah ditemukan pada setiap pengambilan sampel perairan (Butcher, 1965). *Tetraselmis* sp. memiliki potensi untuk dibudayakan sebagai pakan alami pada kegiatan budidaya (Iksan *et al.*, 2016). Penggunaan mikroalga seperti *Tetraselmis* sp. sebagai pakan alami seringkali terkendala pada penyediaan dan pertumbuhan biomasnya. Kandungan pigmen tertinggi pada mikroalga ini adalah klorofil dan karotenoid, dimana kedua pigmen tersebut dapat digunakan sebagai antioksidan, zat pewarna dan immunostimulan (Zainuddin *et al.*, 2017; Pereira *et al.*, 2019). Menurut Elmi (2018), diperlukan upaya penyediaan pakan alami yang baik dari segi kualitas maupun kuantitas. Ketersediaan mikroalga secara terus menerus dan mudah untuk didapatkan sangat diperlukan untuk menunjang kegiatan budidaya. Salah satu spesies *Tetraselmis* yang banyak ditemukan di perairan tropis adalah *Tetraselmis chuii*. Pemenuhan kebutuhan *Tetraselmis chuii* dari alam akan sangat sulit apabila dilakukan secara terus menerus, sehingga harus dilakukan produksi massal secara baik. Ketersediaan *Tetraselmis chuii* dapat diperbanyak salah satunya dengan melakukan teknik kultur skala laboratorium (Setyawati *et al.*, 2018).

Penggunaan media kultur dengan pupuk Walne dinilai lebih baik untuk meningkatkan pertumbuhan mikroalga hijau dibandingkan dengan media Guillard karena kandungan nutrisinya yang lebih baik (Putri dan Alaa, 2019). Penggunaan pupuk sintesis seperti pupuk Walne untuk kultur mikroalga juga dinilai lebih praktis karena kandungan nutriennya yang sudah lengkap dibandingkan dengan pupuk organik (Budiono *et al.*, 2018). Penelitian yang telah dilakukan oleh Wiryadi dan Witono (2018), dengan penambahan konsentrasi  $\text{NaNO}_3$  mengakibatkan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. yang semakin meningkat. Ezeani dan Abu (2019), melakukan penelitian terhadap pigmen *Chlorella* sp. dengan pupuk yang berbeda. Perbedaan pupuk yang diberikan dalam media kultur *Chlorella* sp. menghasilkan kadar klorofil yang berbeda hampir dua kali lipat. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai laju pertumbuhan dan kadar klorofil-a pada mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan perbedaan konsentrasi pupuk Walne dalam media kulturnya.

## MATERI DAN METODE

Kultivasi mikroalga dilakukan pada tanggal 18 Februari - 08 April 2021 di Laboratorium Biologi Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro. Preparasi sampel ekstrak klorofil mikroalga dilakukan di Laboratorium Molekuler dan Laboratorium Biologi Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro pada tanggal 02 – 13 April 2021 dan pembacaan spektrofotometri dilakukan di Laboratorium Balai Pengujian dan Peralatan (BP2) Semarang pada tanggal 14 April 2021. Bibit mikroalga *Tetraselmis chuii* dan pupuk Walne diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Alat yang digunakan untuk penelitian antara lain : botol kaca steril, aerator, mikroskop, pH meter, Refraktometer, pipet tetes, *haemocytometer*, *sentrifuge* dan spektrofotometer. Bahan yang digunakan untuk penelitian antara lain : air laut steril, bibit mikroalga *Tetraselmis chuii*, Akuades, Aseton, Lugol dan Kertas *Whatmann*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode percobaan di laboratorium (*experimental laboratory*), yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) perlakuan dengan tiga taraf perlakuan penelitian, dimana masing-masing taraf perlakuan diulang tiga kali. Taraf perlakuan tersebut berupa pemberian konsentrasi pupuk Walne 1 mL/L, 1,5 mL/L dan 2 mL/L. Penentuan konsentrasi pupuk didasarkan oleh penelitian Pramusinta *et al.* (2012), dimana penambahan pupuk cair sebagai nutrisi tambahan memiliki batas optimal pada 1,5 mL/L. Data kepadatan sel dan data pendukung kualitas air berupa pH, salinitas, oksigen terlarut dan suhu diukur setiap hari pukul 10.00 pagi.

Langkah awal untuk memulai kultur adalah sterilisasi alat dan bahan kultur yang dilakukan untuk membunuh mikroorganisme yang dapat menjadi kontaminan pada saat kultur mikroalga. Sterilisasi botol kaca dilakukan dengan menggunakan Lampu UV dan alkohol 70% (Ilhamdy *et al.*, 2020). Air laut disetrilkan dengan cara disaring menggunakan kapas yang diletakkan pada corong air, kemudian air laut direbus selama kurang lebih 15 menit atau hingga mendidih. Air laut yang telah direbus kemudian dibiarkan hingga suhunya turun lalu disaring kembali dengan kapas filter.

Peralatan kultur lainnya, seperti plastik, botol vial, pipet dan selang dapat disterilkan dengan alkohol 70% dengan cara menyemprotkan alkohol pada alat dan dibiarkan hingga kering (Putra *et al.*, 2015).

Pembuatan media kultur menggunakan botol yang masing – masing berkapasitas 1 liter dan diisi air laut sebanyak kurang lebih 700 mL/botol yang sudah diukur salinitasnya sebesar 30 ppt. Media air laut ditambahkan pupuk dengan konsentrasi yang telah disesuaikan dan diberi aerasi (Zainuddin *et al.*, 2017).

Bibit *T. chuii* terlebih dahulu dilakukan kultur starter yang bertujuan untuk memperpendek masa adaptasi mikroalgae pada media kultur yang lebih besar. *Starter* mikroalga *T. chuii* dibuat sebanyak 3 liter dalam 1 botol kultur yang berkapasitas 3,2 L. Pembuatan *starter* menggunakan perbandingan air laut : mikroalgae sebesar 70 : 30. Setiap botol kultur yang telah berisi *starter* kemudian ditambahkan dengan pupuk Walne sebanyak 1 mL/L sebagai sumber nutriennya dan diberi aerasi. Masa kultur *starter* dilakukan selama 7 hari atau sampai memasuki fase stasioner (Putra *et al.*, 2015).

Kultur perlakuan *T. chuii* pada setiap wadah dibuat dengan perbandingan antara mikroalgae *starter* dengan air laut steril adalah 30 : 70, yaitu 300 mL inokulan mikroalgae dengan 700 mL media air laut. Kultur mikroalgae dilakukan selama kurang lebih 10 hari atau setelah mencapai fase stasioner (Swandewi *et al.*, 2017). Pupuk Walne dengan konsentrasi yang telah disesuaikan kemudian ditambahkan pada media kultur, masing – masing 1 mL/L; 1,5 mL/L; dan 2 mL/L. Masing – masing perlakuan konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan.

Perhitungan kepadatan sel mikroalgae *T. chuii* dilakukan sekali dalam 24 jam. Kepadatan sel dihitung menggunakan *haemocytometer*, mikroskop dan *hand counter*. Perbesaran mikroskop yang digunakan adalah 40x. Sampel diambil sebanyak 0,1–0,5 mL menggunakan pipet tetes, lalu ditambahkan larutan lugol sebanyak 2 tetes, selanjutnya diteteskan pada *haemocytometer* dan diamati dibawah mikroskop (Negara *et al.*, 2019). Tujuan penambahan larutan lugol adalah untuk mengawetkan sampel dan memudahkan dalam perhitungan sel tanpa merusak sel mikroalga (Bimantara *et al.*, 2017).

Perhitungan kepadatan sel mikroalgae dilakukan dengan menghitung sel mikroalgae yang terdapat pada empat blok besar (blok A, C, G, I) *haemocytometer*. Rumus yang digunakan untuk menghitung kepadatan sel mikroalgae adalah sebagai berikut (Endrawati *et al.*, 2012). Data laju pertumbuhan dihitung menggunakan data kepadatan sel yang sudah didapat. Laju pertumbuhan spesifik sel mikroalgae dapat dihitung menggunakan rumus menurut Wahyuni *et al.* (2019).

Menurut Pisal dan Lele (2005), analisis pigmen klorofil-a dapat dilakukan dengan mengambil kultur basah mikroalga. Pengambilan ekstrak mikroalgae dilakukan dengan cara pemanenan menggunakan teknik sentrifugasi (Hartini *et al.*, 2018). Biomassa mikroalgae sebanyak 500 mL diambil kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 5 menit. Natan lalu diambil sebanyak 1 mL menggunakan pipet. Larutan aseton kemudian ditambahkan untuk mengencerkan filtrat dengan perbandingan 9 : 1 (9 mL aseton dan 1 mL natan). Sampel yang telah diencerkan dengan aseton kemudian dihomogenisasi. Setelah dihomogenkan, sampel di-sentrifugasi kembali dengan kecepatan 3500 rpm selama 5 menit. Supernatan diambil dengan cara disaring menggunakan kertas *whatmann* no. 41. Menurut Nollet (2004), kadar klorofil dapat dilakukan dengan cara mengukur nilai absorbansi supernatan mikroalgae pada panjang gelombang 645 nm dan 663 nm.

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa data laju pertumbuhan dan kandungan klorofil-a dari mikroalgae *T. chuii* yang sudah diberi perlakuan beberapa konsentrasi pupuk Walne. Semua data akan dianalisis menggunakan *Analysist of Variance* (ANOVA) satu arah dengan menggunakan *software* SPSS 25 untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Sebelum dilakukan uji ANOVA terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Derajat kepercayaan yang digunakan sebesar 95% atau dengan taraf signifikan sebesar 5% (Jayardi *et al.*, 2017). Data hasil penelitian kemudian dianalisis dengan statistika inferensial, dimana metode ini merupakan cara objektif untuk mengumpulkan, mengolah, dan menganalisis data kuantitatif untuk menarik kesimpulan (Sutopo dan Slamet, 2017).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kepadatan awal sel *Tetraselmis chuii* yang dikultur adalah  $33,5 \times 10^4$  sel/mL, namun satu hari setelahnya ketiga perlakuan konsentrasi kultur mengalami penurunan jumlah sel. Menurut Negara *et al.* (2019), fase adaptasi mikroalga *Tetraselmis chuii* terjadi selama 1 – 3 hari. Fase adaptasi ini dapat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi pada media kultur. Semakin sedikit nutrisi pada media, maka semakin lama masa adaptasi *Tetraselmis chuii* karena harus menyesuaikan nutrisi yang ada. Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* (Tabel 1) menunjukkan peningkatan jumlah sel pada hari ke-2 hingga hari ke-9 untuk perlakuan yang diberikan konsentrasi pupuk 1 mL/L dan 1,5 mL/L, sedangkan peningkatan jumlah sel pada konsentrasi pupuk 2 mL/L terjadi pada hari ke-2 hingga hari ke-12.

Putri *et al.* (2013), menyebutkan bahwa fase eksponensial mikroalga ditandai dengan adanya peningkatan jumlah sel mikroalga. Fase ini menunjukkan bahwa *Tetraselmis chuii* sudah dapat memanfaatkan nutrisi yang ada untuk pertumbuhan dan pembelahan selnya. Puncak kepadatan perlakuan pupuk 1 mL/L dan 1,5 mL/L terjadi pada hari ke-9 dengan nilai kepadatan sel konsentrasi 1 mL/L  $259,25 \times 10^4$  sel/mL dan konsentrasi 1,5 mL/L  $323,50 \times 10^4$  sel/mL, sedangkan perlakuan pupuk 2 mL/L mengalami puncak kepadatan pada hari ke-12 dengan nilai  $194,58 \times 10^4$  sel/mL. Menurut Negara *et al.* (2019), fase stasioner merupakan fase dimana mikroalga mencapai puncak kepadatannya. Fase ini terjadi karena sel telah mencapai titik jenuh sehingga tingkat pertumbuhan sama dengan tingkat kematian selnya.

Pratiwi *et al.* (2019), menyebutkan bahwa pemberian nutrisi berlebih akan mengakibatkan kondisi *stress* pada mikroalga budidaya dan berujung pada penurunan biomassa. Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi pada media tumbuh yang terbagi menjadi makronutrien dan mikronutrien. Menurut Brahmantara *et al.* (2015), nitrat dan fosfor merupakan nutrisi makro yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel mikroalga. Kandungan fosfor yang berlebih akan mempengaruhi pertumbuhan sel mikroalga. Kelebihan konsentrasi fosfor pada media tumbuh akan berdampak pada terhambatnya proses asimilasi senyawa fosfor untuk pertumbuhan mikroalga (Swandewi *et al.*, 2017). Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi juga oleh ketersediaan mikronutrien dalam media tumbuhnya. Mikronutrien yang terkandung dalam pupuk Walne yang diberikan pada kultur *Tetraselmis chuii* antara lain Fe, Cu, Co, Zn dan Mn. Pranajaya *et al.* (2014), menyebutkan bahwa konsentrasi Cu yang berlebih dalam media dapat berakibat toksik bagi sel mikroalga dan menghambat pertumbuhan. Ion logam Cu dapat mengganggu metabolisme mikroalga karena Cu akan berkompetisi dengan senyawa lain pada sisi aktif enzim sehingga pertumbuhan mikroalga menjadi rendah atau tidak tumbuh sama sekali.

**Tabel 1.** Kepadatan Sel Harian *Tetraselmis chuii*

Hari ke -	Kepadatan Sel Rata – Rata ( $\times 10^4$ sel/mL)		
	Kontrol	1,5 ml/L	2 ml/L
0	33,50±0	33,50±0	33,50±0
1	23,58±1,28	14,83±2,25	6±0,90
2	74,58±3,45	52,83±7,84	11,83±2,70
3	132±28,23	111±7,51	20,75±3,03
4	158,42±24,38	148,67±36,97	40,17±17,95
5	162,08±29,04	165,50±5,86	57,17±36,46
6	215,17±87,35	196,17±29,77	85,42±36,28
7	184,58±55,81	220,08±29,17	108±43,05
8	248,50±89,79	223,67±40,88	121,92±47,82
9	<b>259,25±121,62</b>	<b>323,50±69,74</b>	119,25±80,89
10	238,50±93,74	317,42±55,02	112,08±72,50
11	242,42±57,07	301,67±51,84	167,92±69,88
12	215,42±41,21	283,50±111,71	<b>194,58±63,75</b>
13	189,08±48,92	226,42±45,31	178,17±65,75

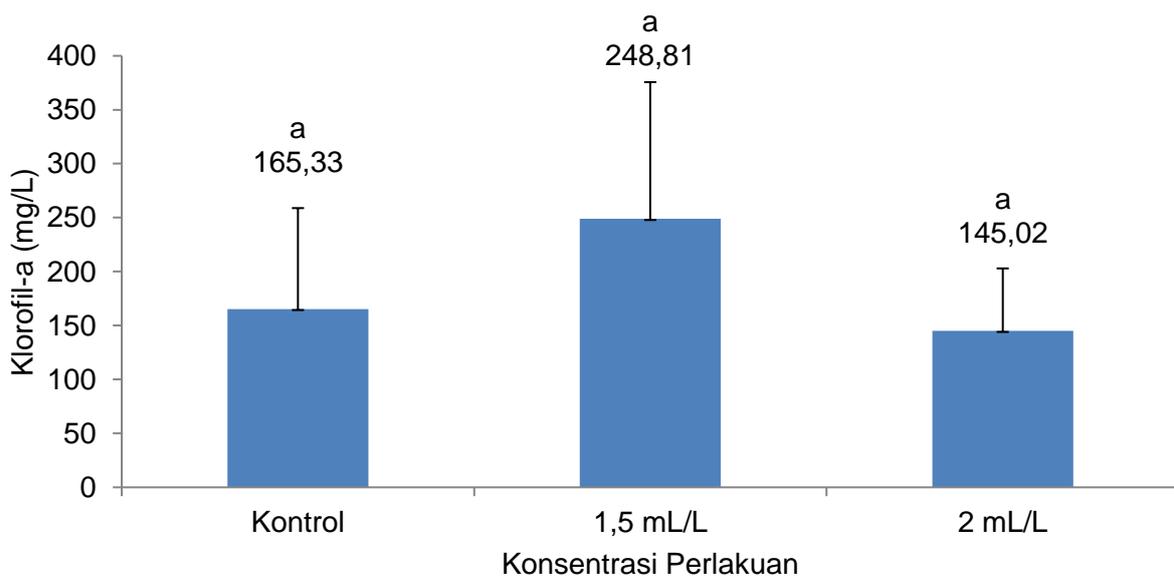
Nilai laju pertumbuhan spesifik rata-rata sel mikroalga *Tetraselmis chuii* disajikan dalam Tabel 2. Nilai laju pertumbuhan spesifik tertinggi ada pada konsentrasi pupuk 1,5 mL/L, yaitu sebesar 0,38 sel/mL/hari. Laju pertumbuhan spesifik pada konsentrasi 2 mL/L memiliki nilai 0,36 sel/mL/hari, sedangkan pada konsentrasi 1 mL/L memiliki nilai laju pertumbuhan spesifik sebesar 0,29 sel/mL/hari.

Laju pertumbuhan *T. chuii* yang diberikan pupuk Walne dengan konsentrasi 1,5 mL/L memiliki nilai paling tinggi diantara taraf perlakuan lainnya. *Tetraselmis chuii* yang diberikan pupuk 1 mL/L memiliki nilai laju pertumbuhan terendah dibanding taraf perlakuan lainnya. Berdasarkan Wahyuni *et al.* (2019), nilai laju pertumbuhan yang rendah dapat disebabkan karena kandungan nitrogen dan fosfat terlarut yang tidak dapat diserap dengan baik oleh sel mikroalga. Aulia *et al.* (2021), menyatakan bahwa nilai laju pertumbuhan spesifik yang semakin tinggi menunjukkan bahwa daya dukung media terhadap mikroalgae semakin baik. Menurut Oktaviani *et al.* (2017), semakin tinggi kadar nitrat pada media kultur, maka akan semakin tinggi pula nilai laju pertumbuhan mikroalgae. Hal ini disebabkan karena nitrat merupakan makronutrien penting yang digunakan untuk pembentukan klorofil, sehingga suplai nitrat yang tinggi akan berakibat pada pembelahan sel dan fotosintesis yang lebih tinggi.

Kandungan rata – rata klorofil-a pada mikroalga *Tetraselmis chuii* (Gambar 3) menunjukkan nilai tertinggi hingga terendah pada konsentrasi pupuk 1,5 mL/L; 1 mL/L; dan 2 mL/L, yaitu berturut – turut sebesar 248,81 mg/L; 165,33 mg/L; dan 145,02 mg/L. Nilai klorofil-a yang diubah menjadi satuan miligram / gram biomassa basah pada perlakuan 1,5 mL/L; 1 mL/L; dan 2 mL/L adalah 2,3924 mg/g biomassa basah; 1,6370 mg/g biomassa basah; dan 1,4217 mg/g biomassa basah. Qaishum *et al.* (2015), menyatakan bahwa kandungan total klorofil pada *Tetraselmis chuii* berkisar antara 3,65 – 19,20 mg/g.

**Tabel 2.** Laju Pertumbuhan Spesifik Rata- Rata *Tetraselmis chuii* ( $\bar{x} \pm SD$ , n = 3)

Konsentrasi/ Ulangan	1 mL/L	1,5 mL/L	2 mL/L
1	0,34	0,40	0,32
2	0,29	0,41	0,28
3	0,24	0,34	0,46
Rerata $\pm$ SD	0,29 $\pm$ 0,05	0,38 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,09



**Gambar 1.** Kandungan Klorofil-a *Tetraselmis chuii* (mg/L)

Keterangan : Angka dengan huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata berdasarkan uji ANOVA pada taraf 5% ( $p \geq 0,05$ )

Apabila kandungan klorofil-a (Gambar 1) dikaitkan dengan kepadatan sel *Tetraselmis chuii* (Tabel 1), maka laju pertumbuhan sel sebanding dengan kadar klorofil-a yang didapat. Menurut Oktaviani *et al.* (2017), jumlah biomassa mikroalga berkaitan dengan proses fotosintesis oleh klorofil dan sintesis klorofil-a dapat berlangsung dengan baik apabila ketersediaan N dalam media sudah cukup sesuai. Nitrogen dibutuhkan sebagai elemen penyusun klorofil dan protein pada sel mikroalga. Semakin tinggi kadar nitrat maka semakin tinggi biomassa dan klorofil-a yang dihasilkan.

Konsentrasi unsur mikro yang berbeda dalam pupuk juga akan mempengaruhi proses pembuatan klorofil. Menurut Apriati (2021), unsur yang berperan penting dalam pembentukan klorofil pada mikroalga adalah Fe dan Mg. Semakin tinggi kandungan Fe dan Mg dalam suatu media, maka semakin tinggi pula kadar klorofil yang dihasilkan. Berdasarkan Pratiwi *et al.* (2019), magnesium memiliki peranan fisiologis bagi tanaman karena merupakan komponen utama dalam molekul klorofil. Setidaknya 15–30% magnesium yang terdapat pada tanaman tergabung dalam molekul klorofil. Menurut Primaryadi *et al.* (2015), Magnesium (Mg) berperan dalam pembentukan klorofil pada proses pertumbuhan mikroalga. Selain itu Mg juga mengatur penyerapan unsur lain seperti P dan K.

Pengukuran parameter media kultur *Tetraselmis chuii* dilakukan setiap hari meliputi pengukuran suhu, salinitas, pH dan DO. Suhu media kultur pada ketiga perlakuan berkisar antara 18,5°–21°C, salinitas berkisar antara 28–34 ppt, nilai pH antara 7,05–8,69 dan nilai DO antara 5,8–7,5 mg/l (Tabel 3).

Adanya kenaikan suhu pada masa kultur berakibat pada menurunnya kepadatan sel konsentrasi 1 mL/L dan 1,5 mL/L. Kultur *T. chuii* pada konsentrasi 2 mL/L mengalami kenaikan suhu menjadi 20°C pada hari ke-10 dan seterusnya, dimana kepadatannya mulai mengalami penurunan setelah hari ke-12 dan seterusnya. Hal ini sesuai dengan Endrawati dan Ita (2013), bahwa kondisi suhu akan berpengaruh pada laju fotosintesis sel mikroalga. Gas – gas seperti O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub> yang digunakan dalam proses fotosintesis lebih mudah terlaruh dalam suhu yang rendah, akibatnya laju fotosintesis akan meningkat pada suhu yang rendah.

Apabila nilai pH kultur *T. chuii* dikaitkan dengan nilai kepadatan selnya maka sejalan dengan naiknya nilai pH, kepadatan sel *T. chuii* juga ikut meningkat. Hal ini sesuai dengan Sayadi *et al.* (2016), bahwa nilai pH bertambah sesuai dengan bertambahnya jumlah sel mikroalga dan naiknya kadar nitrat dan fosfat pada media. Kenaikan nilai pH disebabkan karena adanya pengendapan fosfat pada media kultur.

Salinitas awal kultur *Tetraselmis chuii* adalah 30 ppt, namun terjadi penurunan maupun kenaikan selama masa kultur. Rata – rata salinitas media kultur masih ada dalam batas toleransi pertumbuhan *Tetraselmis chuii*. Berdasarkan Fitriyanto dan Soeprbowati (2013), nilai salinitas secara alami dapat mengalami peningkatan karena respirasi dari organisme dalam air akan meningkatkan proses mineralisasi yang menyebabkan kadar garam meningkat.

**Tabel 3.** Parameter Media Kultur

Konsentrasasi/ Ulangan		Kisaran hasil pengukuran			
		Suhu (°C)	Salinitas (ppt)	pH	DO (mg/l)
1 mL/L (Kontrol)	1	19 - 21	28 – 32	7,05 – 7,99	6,1 – 7
	2	19 – 20,5	27 – 30	7,29 – 7,99	5,9 – 6,6
	3	19 – 21	27 – 31	7,46 – 8,69	6,2 – 7,1
1,5 mL/L	1	19 – 20	28 – 30	7,29 – 8,32	6,2 – 6,9
	2	19 – 20	29 – 31	7,33 – 8,68	6,2 – 6,9
	3	19 – 21	29 – 31	7,12 – 8,39	6,3 – 6,8
2 mL/L	1	18,5 – 20,5	30 – 34	7,13 – 8,36	5,8 – 7,5

2	18,5 - 20	30 – 34	7,12 – 7,97	5,7 – 6,5
3	19 – 20,5	30 – 34	7,07 – 8,66	6,1 – 6,8

Ketersediaan oksigen terlarut pada media kultur berpengaruh terhadap pembentukan molekul organik melalui proses fotosintesis. Kandungan oksigen terlarut untuk pertumbuhan mikroalga memiliki nilai optimal antara 4,65 – 6,27 mg/l (Maulana *et al.*, 2017). Nilai oksigen terlarut yang diukur pada masa awal kultur untuk ketiga taraf perlakuan bernilai antara 6,8 – 7 mg/L. Pengukuran oksigen terlarut selama masa kultur selanjutnya menunjukkan nilai yang lebih rendah, dimana nilai oksigen terlarut berbanding terbalik dengan nilai suhu. Ketika suhu kultur mengalami peningkatan maka nilai oksigen terlarut yang terukur akan mengalami penurunan. Nilai oksigen terlarut yang turun menandakan bahwa proses fotosintesis tidak lancar (Nurhayati *et al.*, 2013).

## KESIMPULAN

Perbedaan konsentrasi pupuk Walne tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan laju pertumbuhan ( $p=0,280$ ) dan kandungan klorofil-a ( $p=0,463$ ) mikroalga *Tetraselmis chuii*. Namun demikian konsentrasi pupuk Walne 1,5 mL/L dapat meningkatkan laju pertumbuhan dan kandungan klorofil-a *Tetraselmis chuii* sebesar 0,38 sel/ml/hari dan 248,81 mg/L atau 2,392 mg/g biomassa basah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Apriati, D. 2021. Kadar Klorofil *Chlorella pyrenoidosa* dalam Berbagai Konsentrasi Limbah Cair Tahu. *UNBARA Environmental Engineering Journal*, 01(02):1-8
- Aulia, A.E., Maimunah, Y. & Suprastyani, H. 2021. Penggunaan Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena Leucocephala*) sebagai Pupuk dengan Salinitas yang Berbeda terhadap Laju. *Journal of Fisheries and Marine Research*, 5(1):47-55.
- Bimantara, A., Santri, D.J. & Susanti, R. 2017. Pengaruh Pupuk Cair Anorganik terhadap Kepadatan Fitoplankton dan Sumbangannya pada Pembelajaran Biologi di *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan IPA*, pp. 415-427.
- Brahmantara, I.B.G., Anggreni, A.A.M.D. & Gunam, I.B.W. 2015. Pengaruh Konsentrasi Penambahan Sodium Nitrat dan Sodium Fosfat pada Media Guillard terhadap Konsentrasi Biomassa Mikroalga *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 3(4):73-81.
- Budiono, R., Juahir, H. & Mamat, M. 2018. Modelling Interaction of CO<sub>2</sub> Concentration and the Biomass Algae Due to Reduction of Anthropogenic Carbon Based on Predator-Prey Model. *International Journal of Applied Environmental Sciences*, 13(1):27-38.
- Butcher, R.W. 1965. *An Introductory Account of the Smaller Algae of British Coastal Waters. Part V. Bacillariophyceae (Diatoms)*. London: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. DOI : 10.2307/2258001.
- Ezeani, S. & Abu, O.G. 2019. Commercial Microalgae Culture in Inorganic Fertilizer Media. *Current Journal of Applied Science and Technology*, 38(4):1-9. DOI: 10.9734/cjast/2019/v38i430372.
- Elmi, D. 2018. Pengaruh Pemberian Darah Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan Dosis yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan dan Kepadatan Populasi Infusoria The Effect of Blood Tuna Fish (*Euthynnus affinis*) With Different Doses on the Growth Rate and Population Den, *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 3(1):33-38.
- Endrawati, H., Manulang, C. & Widianingsih, 2012. Densitas dan Kadar Total Lipid Mikroalga *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Fotoperioda yang Berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*, 1(3):33-38. DOI: 10.14710/buloma.v1i3.6908.
- Endrawati, H. & Ita, R. 2013. Kadar Total Lipid Mikroalga *Nannochloropsis oculata* yang Dikultur dengan Suhu yang Berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*, 2(1): 25-33. DOI: 10.14710/buloma.v2i1.6923.
- Fitriyanto, E.B. & Soeprobawati, T.R. 2013. Pemanfaatan Plasma Lucutan Pijar Korona sebagai Sumber Nutrien Alternatif pada Monokultur *Dunaliella salina* (Dunal), *Prosiding Seminar*

*Nasional Biologi*, 1:277–279.

- Hartini, H., Lasmini, T., Pratiwi, M. & Juita, E. 2018. Potensi Biopigmen *Chlorella* sp. sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Laboratorium Medik*, 3(1):1-7.
- Iksan, Junaidi, M. & Mukhlis, A. 2016. Pengaruh Pemberian Ragi Roti dengan Dosis yang Berbeda terhadap Pertumbuhan Populasi *Brachionus Plicatilis*. *Jurnal Biologi Tropis*, 16(1):1–9. DOI: 10.29303/jbt.v16i1.218.
- Ilhamdy, A.F., Jumsurizal, Darwin, & Tambunan, Y.F.S. 2020. Kultivasi *Spirulina platensis* Menggunakan Media Walne dalam Skala Laboratorium. *Marinade*, 3(2):114-120.
- Jayardi, A., Irawan, H. & Julianto, T. 2017. Pengaruh Pemberian Fitoplankton (*Tetraselmis Chuiii*, *Tetraselmis Suecica* dan *Nanochloropsis Oculata*) yang Berbeda terhadap Pertumbuhan Kopepoda *Apocyclops* sp. *Intek Akuakultur*, 1(2): 23–42.
- Maulana, P.M., Karina, S. & Mellisa, S. 2017. Pemanfaatan Fermentasi Limbah Cair Tahu Menggunakan Em4 sebagai Alternatif Nutrisi bagi Mikroalga *Spirulina* sp. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 2(1):104–112.
- Negara, B.F.S.P., Nursalim, N., Herliany, N.E., Renta, P.P., Purnama, D. & Utami, M.A.F. 2019. Peranan dan Pemanfaatan Mikroalga *Tetraselmis chuii* sebagai Bioetanol, *Jurnal Enggano*, 4(2):136-147.
- Nollet, L.M. 2004. Handbook of Food Analysis: Volume 1: Physical Characterization and Nutrient Analysis. CRC Press, United States.
- Nurhayati, T., Mustofa, L. & Mochammad, B.H. 2013. Penggunaan Fotobioreaktor Sistem Batch Tersirkulasi terhadap Tingkat Pertumbuhan Mikroalga *Chlorella vulgaris*, *Chlorella* sp. dan *Nanochloropsis oculata*, *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 1(3): 249–257.
- Oktaviani, D., Adisyahputra & Amelia, N. 2017, Pengaruh Kadar Nitrat terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Melosira* sp. sebagai Tahap Awal Produksi Biofuel, *Jurnal Risenologi KPM UNJ*, 2(1): 1–13.
- Pereira, H., Silva, J., Santos, T., Gangadhar, K.N., Raposo, A., Nunes, C., Coimbra, M.A., Gouveia, L., Barreira, L. & Varela, J. 2019. Nutritional Potential and Toxicological Evaluation of *Tetraselmis* sp. CTP4 Microalgal Biomass Produced in Industrial Photobioreactors. *Molecules*, 24(17):1–18. DOI: 10.3390/molecules24173192.
- Pisal, D.S. & Lele, S.S. 2005. Carotenoid Production from Microalga, *Dunaliella salina*. *Indian Journal of Biotechnology*, 4(4):476–483.
- Pramusinta, G., Masithah, E.D., & Rahardja, B.S. 2012. Pengaruh Pemberian Pupuk Cair Limbah Ikan Lemuru terhadap Kandungan Karotenoid *Spirulina platensis*. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(1):91–100.
- Pranajaya, R.H., Ali, D, & Bambang, Y. 2014. Pengaruh Tembaga terhadap Kandungan Pigmen dan Pertumbuhan Mikroalga Merah *Porphyridium cruentum*. *Ilmu Kelautan*, 19(2):97–104.
- Pratiwi, A., Rohmat & Purba, E. 2019, Penentuan Jumlah Nutrisi Magnesium dari MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O dan Besi dari FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O pada Kultivasi *Tetraselmis chuii* terhadap Kandungan Lipid Maksimum. *Jurnal Kelitbangan*, 7(1):75-86.
- Primaryadi, I.N.B., Anggreni, A.A.M.D. & Wartini, N.M. 2015. Pengaruh Penambahan Magnesium Sulfat Heptahidrat dan Feri Klorida pada Blue Green Medium-11 terhadap Konsentrasi Biomassa Mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 3(2): 92-100.
- Putra, I.K.R.W., Anggreni, A.A.M.D. & Arnata, I.W. 2015. Pengaruh Jenis Media terhadap Konsentrasi Biomassa dan Klorofil Mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa*, 3(2):40–46.
- Putri, B., Vickry, A.H., & Maharani, H.W. 2013. Pemanfaatan Air Kelapa sebagai Pengkaya Media. *Prosiding Seminar FMIPA Universitas Lampung*, pp. 135–142.
- Putri, D.S. & Alaa, S. 2019. The Growth Comparison of *Haematococcus pluvialis* in Two Different Medium. *Biota*, 12(2):90–97. DOI: 10.20414/jb.v12i2.202.
- Qaishum, F., Amun, A. & Syelvia, P.U. 2015. Hidrolisis Mikroalga *Tetraselmis chuii* Menjadi Glukosa Menggunakan Solvent H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan Variasi Waktu Hidrolisis, *Jom Fteknik*, 2(1):1–5.
- Sayadi, M.H., Ahmadpour, N., Capoorchali, M.F. & Rezaei, M.R. 2016. Removal of Nitrate and Phosphate from Aqueous Solutions by Microalgae: An experimental study. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 2(4): 357–364. DOI: 10.22034/gjesm.2016.02.04.005.

- Schüler, L.M., Santos, T., Pereira, H., Duarte, P., Gangadhar, K.N., Florindo, C., Schulze, P.S.C., Barreira, L. & Varela, J.C.S. 2020. Improved Production of Lutein and  $\beta$ -carotene by Thermal and Light Intensity Upsift in the Marine Microalga *Tetraselmis* sp. CTP4', *Algal Research*, 45: 1–9. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101732.
- Setyawati, F., Satyantini, W.H., Arief, M. & Kismiyati, 2018. Teknik Kultur *Tetraselmis chunii* dalam Skala Laboratorium DI PT. Central Pertiwi Bahari, Rembang, Jawa Tengah. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 7(2):63-69. DOI: 10.20473/jafh.v7i2.11249.
- Sutopo, E.Y., & Slamet, A. 2017. Statistik Inferensial, Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Swandewi, I.G.A.P.A.P., Anggreni, A.A.M.D. & Ahmadi, B. 2017. Pengaruh Penambahan  $\text{NaNO}_3$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  pada Media BG-11 terhadap Konsentrasi Biomassa dan Klorofil *Tetraselmis chunii*. *Jurnal Rekayasa*, 5(1):1–11.
- Wahyuni, N., Rahardja, B.S. & Azhar, H. 2019, Pengaruh Pemberian Kombinasi Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dengan Pupuk Walne dalam Media Kultur terhadap Laju Pertumbuhan dan Kandungan Karotenoid *Dunaliella salina*. *Journal of Aquaculture Science*, 4(1):37–49.
- Wiryadi, F. & Witono, J.R.B. 2018, Pengaruh Aerasi dan Penambahan Nitrogen terhadap Laju Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp., Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” , Yogyakarta 12 April 2018, pp. 1–6.
- Zainuddin, M., Hamid, N., Mudiarti, L., Kursistyanto, N. & Aryono, B. 2017, Pengaruh Media Hiposalin dan Hipersalin terhadap Respon Pertumbuhan dan Biopigmen *Dunaliella salina*, *Jurnal Enggano*, 2(1):46–57. DOI: 10.31186/jenggano.2.1.46-57.