

## PENGARUH PENAMBAHAN $\text{NaNO}_3$ DAN $\text{K}_2\text{HPO}_4$ PADA MEDIA BG-11 TERHADAP KONSENTRASI BIOMASSA DAN KLOROFIL *Tetraselmis chuii*

I Gusti Ayu Putu Agung Puspita Swandewi<sup>1</sup>, A. A. Made Dewi Anggreni<sup>2</sup>, Bambang Admadi H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

<sup>2</sup>Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

E-mail: itagek@yahoo.com<sup>1</sup>

E-mail koresponden: dewianggreni@unud.ac.id<sup>2</sup>

### ABSTRACT

The aims of this study were to know the effect of addition of  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  on BG-11 medium on biomass and chlorophyll concentration of *Tetraselmis chuii* and to fine out the best concentration of  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  on BG-11 medium to produce highest biomass and chlorophyll concentration of *Tetraselmis chuii*. This study used a factorial randomized block design. The first factor was  $\text{NaNO}_3$  consists of three levels i.e. 0.5, 1.5 and 2.5 g/l. The second factor was  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  consists of three levels i.e. 0.020, 0.035 and 0.050 g/l. The experiments were grouped into 2 groups based on the time of culturitation, in order to obtain 18 experimental units. Data were analyzed by analysis of variance and if the treatment significantly affected the parameter followed by Duncan test. The result showed that addition of  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  had very significant effect on the concentration of biomass and chlorophyll content of *Tetraselmis chuii*. The addition of  $\text{NaNO}_3$  1.5 g/l and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.035 g/l was produce the highest of biomass and chlorophyll concentration of  $3.3 \times 10^6$  cells/ml and 10.17 mg/g, respectively.

Keywords : biomass, chlorophyll,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$ , *Tetraselmis chuii*.

### PENDAHULUAN

Mikroalga adalah kelompok tumbuhan paling primitif berukuran seluler yang umumnya dikenal dengan nama fitoplankton. Salah satu contoh mikroalga yaitu *Tetraselmis chuii*. *Tetraselmis chuii* merupakan mikroalga dari kelas *Prasinophyceae* yang berukuran 7 – 12 mikron dan berwarna hijau atau dikenal dengan flagelata berklorofil (Kawaroe *et al.*, 2010). Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) *Tetraselmis chuii* memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi yaitu protein sebesar 48.42%, karbohidrat sebesar 20.63%, dan lemak sebesar 9.70%. Mikroalga seperti tumbuhan lainnya dapat melakukan fotosintesis yang dibantu dengan cahaya,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , dan klorofil. Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang terdapat dalam kloroplas bersama dengan karoten dan xantofil pada semua makhluk hidup yang mampu melakukan fotosintesis termasuk *Tetraselmis chuii* (Li *et al.*, 2006). Klorofil juga bermanfaat bagi manusia. Penggunaan klorofil pada tubuh manusia bermanfaat untuk mengikat radikal bebas (antioksidan) dan dapat dimanfaatkan sebagai suplemen makanan (Mujoriya, 2011).

Pembentukan klorofil oleh mikroalga dipengaruhi oleh kandungan nitrogen (N) dan fosfor (P) dalam media tumbuh yang digunakan selama kulturisasi (Pujiono, 2013). Unsur-unsur tersebut ada dalam bentuk nitrat ( $\text{NO}_3$ ) dan fosfat ( $\text{PO}_4$ ). Unsur nitrogen (N) dan fosfor (P) merupakan unsur hara (nutrisi) yang diperlukan oleh mikroalga untuk pertumbuhan dan perkembangan hidupnya. Dengan demikian pada saat konsentrasi nitrogen pada media kultur optimal maka kegiatan

metabolisme sel akan berjalan dengan baik, termasuk sintesis klorofil. Dengan adanya kandungan klorofil yang meningkat maka proses fotosintesis akan berjalan dengan baik sehingga pertumbuhan mikroalga akan optimal (Ernest, 2012). Mikroalga dapat tumbuh dengan cepat, sehingga memungkinkan dapat dipanen dalam beberapa hari, hal inilah yang tidak dapat dilakukan pada sayuran atau gandum (Setyaningsih *et al.*, 2011)

Media tumbuh mengandung zat-zat yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroalga, salah satu contohnya adalah media *Blue-Green 11 (BG-11)*. Media *BG-11* merupakan media yang terbaik untuk produksi biomassa mikroalga *Tetraselmis chuii* (Putra *et al.*, 2014). Konsentrasi Fe dan Mg yang terkandung dalam media *BG-11* menghasilkan konsentrasi biomassa dan klorofil terbaik yaitu 4 g/l ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) dan 24  $\mu\text{M}$  ( $\text{FeCl}_3$ ) (Primaryadi *et al.*, 2015). Selain nutrisi yang berasal dari media tumbuh yang digunakan, pertumbuhan mikroalga juga dipengaruhi oleh faktor salinitas dan pH lingkungan (Goldman, 1979). Salinitas dan pH awal yang optimum pada media *BG-11* untuk mendapatkan kandungan klorofil tertinggi pada mikroalga *Tetraselmis chuii* adalah salinitas 40‰ dan pH 8 (Adi *et al.*, 2015). Mikroalga *Tetraselmis chuii* memiliki laju pertumbuhan dan adaptasi lingkungan yang relatif cepat. Puncak pertumbuhan *Tetraselmis chuii* terjadi pada hari ke-10 inkubasi (Putra *et al.*, 2014).

*Chlorella vulgaris* pada media *BG-11* memiliki kandungan klorofil tertinggi sebanyak 1,7 mg/l (Wijoseno, 2011). Kandungan astaxanthin *Botryococcus braunii* tertinggi dihasilkan pada fase stasioner sebesar 17,875 ppm pada penambahan kalium nitrat 1,5 g/l dan sebesar 16,01 ppm pada media penambahan kalium dihidrogen fosfat 0,035 g/l (Agustini, 2014).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan  $\text{NaNO}_3$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  pada media *BG-11* terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil *Tetraselmis chuii* dan menentukan konsentrasi penambahan  $\text{NaNO}_3$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  pada media *BG-11* yang terbaik untuk menghasilkan biomassa *Tetraselmis chuii* dengan kadar klorofil tertinggi. Selama ini belum diketahui penambahan  $\text{NaNO}_3$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  yang tepat untuk produksi biomassa dan kandungan klorofil *Tetraselmis chuii*. Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh  $\text{NaNO}_3$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil *Tetraselmis chuii*.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan dan Laboratorium Analisis Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan penelitian dari bulan Maret 2016 – September 2016.

## Alat

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik (Ohaus Pioneer), pisau, gunting, botol kaca, toples kaca, *plastic wrap*, selang, corong plastik, batang pengaduk, kain kasa, kertas saring, kapas, lampu neon (Philips), *hemacytometer* (Neubauer Improved), *tissue*, mikroskop (Cole Parmer), kaca preparat, plastik, kertas label, aerator (Boyu S-4000 b), gelas beaker, erlenmeyer (Pyrex), tabung reaksi, pipet tetes, *sentrifuge*, pipet volume, aluminium foil (Klin Pak), labu ukur (Pyrex), oven (Ecocell), *autoclave* (Tommy), pH meter (Hanna Instruments), lemari pendingin (Sharp), *waterbath* (P Selecta), *thermometer* (Iwaki), gelas ukur (Pyrex), *vortex* (Barntead Thermolyne), *hand counter* (Joyko), spektrofotometer (Thermo Scientific Genesys 10s Uv-vis) dan *rotary evaporator* (IKA RV 10).

## Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur *Tetraselmis chuii* yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut Gondol, Kabupaten Buleleng, air laut dari Pantai Pandawa, Badung-Bali. Bahan yang digunakan untuk membuat media BG-11 yaitu *aquadest*,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ , vitamin B<sub>1</sub>, vitamin B<sub>12</sub>, *aquadest*, NaCl. Bahan yang digunakan dalam proses sterilisasi dan analisis adalah alkohol 70% dan aseton ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ) 80%. Bahan yang digunakan dalam proses panen mikroalga adalah tawas ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ).

## Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan pola Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor. Faktor yang pertama adalah penambahan  $\text{NaNO}_3$  (N) yang terdiri atas tiga taraf yaitu N<sub>1</sub> : 0,5 g/l, N<sub>2</sub> : 1,5 g/l, dan N<sub>3</sub> : 2,5 g/l. Faktor yang kedua adalah penambahan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (P) yang terdiri atas tiga taraf yaitu P<sub>1</sub> : 0,020 g/l, P<sub>2</sub> : 0,035 g/l, dan P<sub>3</sub> : 0,050 g/l.

Faktor – faktor di atas diperoleh 9 kombinasi perlakuan, masing – masing perlakuan di atas dikelompokkan menjadi dua berdasarkan waktu kulturisasi sehingga terdapat 18 unit percobaan. Data yang diperoleh dari masing-masing perlakuan dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel dan Torrie, 1993).

## Pelaksanaan penelitian

### Sterilisasi alat dan bahan

Proses pembuatan kultur mikroalga diawali dengan sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan. Proses sterilisasi pada penelitian ini dibagi menjadi dua yaitu sterilisasi alat dan bahan. Sterilisasi alat yang digunakan untuk kulturisasi disteril dengan menggunakan *autoclave* dan *waterbath*. Alat kulturisasi berbahan kaca disterilisasi dengan menggunakan oven pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan alat kulturisasi seperti selang disterilisasi dengan menggunakan

*waterbath* pada suhu 100°C selama 15 menit (Kawaroe *et al.*, 2010). Media kultur disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 115°C selama 30 menit sedangkan air laut disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

**Pembuatan media BG-11**

Media pertumbuhan mikroalga yang digunakan dalam kultur *Tetraselmis chuii* pada penelitian ini adalah *BG-11* yang telah dimodifikasi sesuai dengan hasil biomassa dan klorofil terbaik (Primariyadi *et al.*, 2015). Tahapan pembuatan larutan media *BG-11* yaitu menyiapkan bahan-bahan. Semua bahan ditimbang (sesuai perlakuan), bahan-bahan yang sudah ditimbang dilarutkan dengan *aquadest*. Campuran semua larutan kemudian diaduk hingga homogen. Larutan ditempatkan dalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Larutan media disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 115°C selama 30 menit, setelah disterilisasi media didinginkan sebelum digunakan atau disimpan dalam lemari pendingin. Larutan media digunakan sebanyak 1 ml/l kultur mikroalga. Media *BG-11* terdiri dari, larutan *trace element*, larutan media dan vitamin yang dapat dilihat pada Tabel : 1, 2, dan 3.

Tabel 1. Komposisi Larutan *Trace Element*

Nutrisi	Jumlah
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,286 g
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,181 g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,039 g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,022 g
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,020 g
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,008 g
<i>Aquadest</i> sampai	100 ml

Sumber : Kawaroe *et al.* (2010) yang telah dimodifikasi

Tabel 2. Komposisi Media *BG-11*

Nutrisi	Jumlah
Na <sub>2</sub> EDTA	0,0001 g
NaNO <sub>3</sub>	(sesuai perlakuan)
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,002 g
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,0036 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,4 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	(sesuai perlakuan)
FeCl <sub>3</sub>	24 µM
C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	0,0006 g
Larutan <i>trace element</i>	0,1 ml
<i>Aquadest</i> sampai	100 ml

Sumber: Kawaroe *et al.* (2010) dan Primariyadi *et al.* (2015)

Tabel 3. Komposisi Larutan *Vitamin Mix*

Nutrisi	Jumlah
Vitamin B <sub>1</sub>	0.01 g
Vitamin B <sub>12</sub>	0.02 g
<i>Aquadest</i> hangat	sampai 100 ml

Sumber: Isnansetyo dan Kurniastuty (1995)

Tahapan dalam pembuatan *trace element* untuk media *BG-11* yaitu menyiapkan bahan-bahan yang telah tertera pada Tabel 1. Bahan ditimbang sesuai dengan takarannya, bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan *aquadest* dan diaduk hingga homogen. Larutan ditempatkan dalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Larutan *trace element* apabila tidak langsung digunakan dapat disimpan dalam lemari pendingin.

Tahapan dalam pembuatan *vitamin mix* yaitu alat – alat yang digunakan dalam pembuatan vitamin disterilisasi terlebih dahulu seperti lumpang, erlenmeyer, labu takar dan sendok. *Aquadest* dipanaskan pada suhu 121°C selama 15 menit. Vitamin B1 dan B12 dihancurkan dan ditimbang, vitamin dimasukkan ke dalam labu takar yang sudah steril. Setelah *aquadest* dingin, *aquadest* dimasukkan ke dalam labu takar yang sudah berisi vitamin hingga volume 100 ml. Larutan vitamin yang sudah siap dapat langsung digunakan atau disimpan dalam lemari pendingin, larutan vitamin mix digunakan sebanyak 1 ml/l kultur mikroalga.

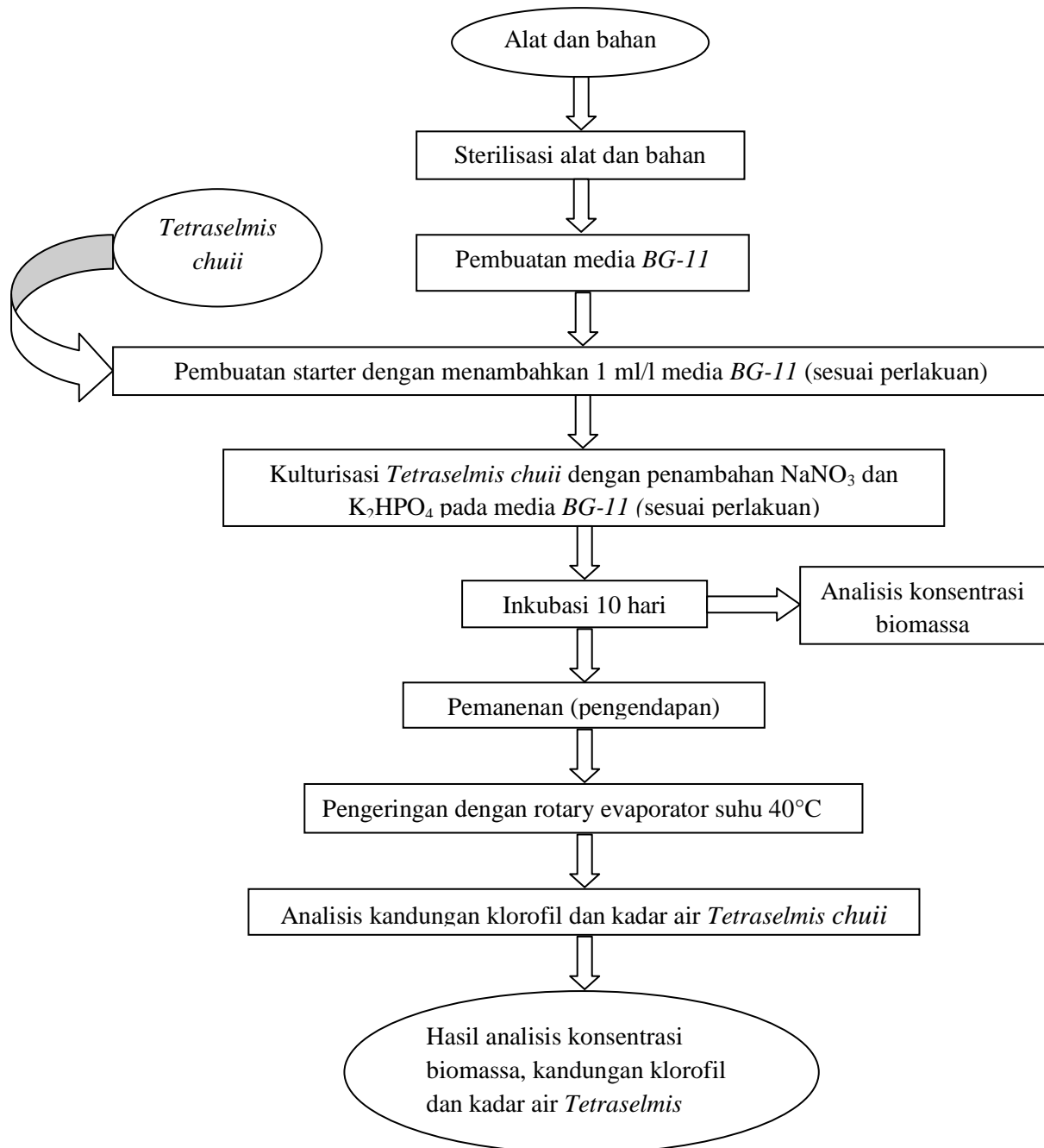
### **Pembuatan starter**

Pembuatan starter *Tetraselmis chuii* pada media *BG-11* bertujuan untuk memperpendek fase adaptasi pada media kulturisasi yang lebih besar. Kepadatan awal yang digunakan dalam kulturisasi sebesar  $1,3 \times 10^6$  sel/ml (Adi *et al.*, 2015). Starter *Tetraselmis chuii* dibuat sebanyak 1 liter dan digunakan untuk memproduksi biomassa. Penggunaan bibit dalam pembuatan starter ini dilakukan dengan menggunakan perbandingan air laut dan bibit kultur yaitu 70:30 menggunakan botol kaca steril (Putra *et al.*, 2014). Pada proses pembuatan starter, air laut sebanyak 700 ml dimasukkan ke dalam botol kaca steril, kultur *Tetraselmis chuii* dimasukkan sebanyak 300 ml/l, media *BG-11* sebanyak 1 ml/l (sesuai perlakuan), dan vitamin sebanyak 1 ml/l. Kulturisasi dilakukan dengan menggunakan intensitas cahaya 5000 lux, suhu 30°C, pH 8 dan salinitas 40‰, serta diberikan aerasi secara terus menerus selama proses kulturisasi, yang bertujuan untuk meratakan penyebaran nutrisi dan sirkulasi pada kultur sehingga proses fotosintesis terjadi secara optimal. Starter *Tetraselmis chuii* diinkubasi selama 10 hari (Putra *et al.*, 2014).

### **Kulturisasi mikroalga *Tetraselmis chuii* dengan penambahan nitrat dan fosfat terhadap produksi biomassa pada media *BG-11***

Produksi biomassa bertujuan untuk memperoleh kelimpahan biomassa yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut. Proses produksi biomassa *Tetraselmis chuii* sama

dengan proses pembuatan starter. Media *BG-11* dan vitamin diberikan sebanyak 1 ml/l kultur (sesuai perlakuan). Setelah 10 hari masa inkubasi *Tetraselmis chuii* akan dilakukan analisis konsentrasi biomassa dan selanjutnya dipanen. Diagram alir produksi biomassa *Tetraselmis chuii* pada media *BG-11* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Alir Pelaksanaan Penelitian

### Pemanenan

Proses pemanenan mikroalga *Tetraselmis chuii* dilakukan dengan metode pengendapan. Pemanenan dilakukan pada hari ke-10 inkubasi karena merupakan waktu panen optimum mikroalga *Tetraselmis chuii* (Putra *et al.*, 2014). Pada proses pemanenan ini digunakan 0,15 g Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> untuk setiap liter kultur dengan tujuan untuk memisahkan (mengendapkan) mikroalga dari air laut.

Mikroalga *Tetraselmis chuii* akan mengendap, dan air laut yang masih tersisa dipisahkan menggunakan selang. Endapan mikroalga dibilas dengan air tawar hingga salinitas 0 ppt. Setelah mendapatkan biomassa murni, biomassa dievaporasi pada suhu 40°C dan dianalisis kandungan klorofil dan kadar airnya.

### Variabel yang diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii* dengan *hemacytometer* (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995), kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* dengan metode Yoshida (Yoshida *et al.*, 1976) dan kadar air *Tetraselmis chuii* dengan metode pemanasan (Sudarmadji *et al.*, 1984).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Konsentrasi Biomassa Sel *Tetraselmis chuii*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan NaNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dan interaksi antar perlakuan pada mikroalga *Tetraselmis chuii* berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii*. Data konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii* berkisar antara 2,3 x 10<sup>6</sup> sampai 3,3 x 10<sup>6</sup> sel/ml (Tabel 4).

Tabel 4. Konsentrasi biomassa sel *Tetraselmis chuii* (sel/ml) pada perlakuan NaNO<sub>3</sub> dan K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

NaNO <sub>3</sub> (g/l)	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (g/l)		
	P1 (0,020)	P2 (0,035)	P3 (0,050)
N1 (0,5)	2,3 x 10 <sup>6</sup> h	2,4 x 10 <sup>6</sup> g	2,5 x 10 <sup>6</sup> f
N2 (1,5)	2,9 x 10 <sup>6</sup> c	3,3 x 10 <sup>6</sup> a	3,1 x 10 <sup>6</sup> b
N3 (2,5)	2,6 x 10 <sup>6</sup> e	2,8 x 10 <sup>6</sup> d	2,7 x 10 <sup>6</sup> d

Keterangan : Huruf yang sama di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf kesalahan 5%

Berdasarkan data pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa konsentrasi biomassa sel *Tetraselmis chuii* yang dikultivasi dengan media *BG-11* yang diberikan perlakuan penambahan NaNO<sub>3</sub> dan K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda. *Tetraselmis chuii* yang dikultivasi pada media *BG-11* dengan perlakuan NaNO<sub>3</sub> sebanyak 1,5 g/l dan K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sebanyak 0,035 g/l menghasilkan konsentrasi biomassa tertinggi yaitu 3,3 x 10<sup>6</sup> sel/ml. *Tetraselmis chuii* yang dikultivasi pada media *BG-11* dengan perlakuan penambahan NaNO<sub>3</sub> sebanyak 0,5 g/l dan K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sebanyak 0,020 g/l menghasilkan konsentrasi biomassa terendah yaitu 2,3 x 10<sup>6</sup> sel/ml. Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) unsur nitrogen (N) dan fosfor (P) merupakan makronutrien yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroalga. Nitrogen (N) berfungsi untuk pertumbuhan dan pembentukan sel mikroalga. Pada pertumbuhan mikroalga fosfor (P) dibutuhkan dalam jumlah yang sedikit (Agustini dan Kusmiati, 2011). Fosfor (P) berfungsi

untuk metabolisme energi, sebagai stabilitor membran sel dan pengaturan metabolisme mikroalga (Agustini, 2014). Ketika nutrisi nitrogen (N) diturunkan pada konsentrasi tertentu maka pembentukan klorofil menjadi terhambat yang mengakibatkan proses fotosintesis menjadi terhambat juga. Terhambatnya proses fotosintesis mengakibatkan pertumbuhan mikroalga menjadi terhambat (Ernest, 2012).

Menurut Becker (1994) selain nitrogen, senyawa fosfor juga merupakan senyawa esensial bagi pertumbuhan mikroalga, serta merupakan bahan dasar pembentukan asam nukleat, enzim serta berperan dalam biosintesis asam nukleat dan transfer energi yang berperan dalam proses fotosintesis dan pembentukan klorofil. Nitrogen (N) dalam keadaan berlebih pada mikroalga dapat menghambat pertumbuhan sel mikroalga (Ernest, 2012). Kandungan nutrisi fosfor (P) yang berlebih maupun kurang dapat berdampak negatif pada pertumbuhan sel mikroalga (Oktafiani dan Joni, 2013). Konsentrasi fosfor (P) berlebih maka akan menghambat proses asimilasi senyawa fosfor (P) bagi pertumbuhan mikroalga, bila konsentrasi fosfor (P) rendah akan mengganggu proses pembentukan Adenosin Tri Phosphate (ATP) sehingga pertumbuhan sel terbatas. Penambahan nitrogen (N) dan fosfor (P) yang sesuai serta faktor lingkungan yang mendukung menyebabkan proses fotosintesis dapat berjalan dengan optimal dan menyebabkan laju pertumbuhan semakin cepat sehingga menghasilkan konsentrasi biomassa yang tinggi.

**Kandungan Klorofil *Tetraselmis chuii***

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan NaNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dan interaksi antar perlakuan pada mikroalga *Tetraselmis chuii* berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap kandungan klorofil *Tetraselmis chuii*. Data kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* berkisar antara 6,01 sampai 10,17 mg/g (Tabel 5).

Tabel 5. Kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* (mg/g) pada perlakuan NaNO<sub>3</sub> dan K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

NaNO <sub>3</sub> (g/l)	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (g/l)		
	P1 (0,020)	P2 (0,035)	P3 (0,050)
N1 (0,5)	6,01 h	6,31 g	6,47 f
N2 (1,5)	8,29 c	10,17 a	9,52 b
N3 (2,5)	7,08 e	7,53 d	7,55 d

Keterangan : Huruf yang sama di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf kesalahan 5%

Berdasarkan data pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* yang dikultivasi dengan media *BG-11* yang diberikan perlakuan penambahan NaNO<sub>3</sub> dan K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda. Dalam penelitian ini *Tetraselmis chuii* yang dikultivasi pada media *BG-11* dengan perlakuan penambahan NaNO<sub>3</sub> sebanyak 1,5 g/l dan K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sebanyak 0,035 g/l menghasilkan kandungan klorofil tertinggi yaitu 10,17 mg/g.



*Tetraselmis chuii* yang di kulturisari pada media *BG-11* dengan perlakuan penambahan  $\text{NaNO}_3$  sebanyak 0,5 g/l dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  sebanyak 0,020 g/l menghasilkan kandungan klorofil terendah yaitu 6,01 mg/g.

Nitrogen erat kaitannya dengan sintesis klorofil dan sintesis protein maupun enzim (Salisbury dan Ross, 1992). Nitrogen juga berperan dalam sintesis klorofil yang berfungsi untuk mengontrol seluruh proses metabolisme mikroalga (Gardner *et al.*, 1991). Menurut Becker *et al.*, (1994), selain nitrogen senyawa fosfor juga merupakan senyawa esensial bagi pertumbuhan mikroalga. Fosfor (P) merupakan unsur penting penyusun Adenosin Tri Phosphate (ATP) yang secara langsung berperan dalam proses penyimpanan dan transfer energi yang terkait dalam proses metabolisme. Kandungan klorofil dipengaruhi oleh ketersediaan fosfor (P) untuk transfer energi dalam proses fotosintesis. Pada saat penambahan nitrogen (N) dalam media kultur optimal maka kegiatan metabolisme sel akan berjalan dengan baik, termasuk sintesis klorofil. Dengan meningkatnya kandungan klorofil maka proses fotosintesis akan berjalan dengan baik sehingga pertumbuhan mikroalga akan optimal.

#### **Kadar Air *Tetraselmis chuii***

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  dan interaksi antar perlakuan pada mikroalga *Tetraselmis chuii* tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap kadar air *Tetraselmis chuii*. Data kadar air *Tetraselmis chuii* berkisar antara 13,57 sampai 14,35% (Tabel 6).

Tabel 6. Kadar Air *Tetraselmis chuii* (%) pada perlakuan  $\text{NaNO}_3$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$

NaNO <sub>3</sub> (g/l)	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (g/l)		
	P1 (0,020)	P2 (0,035)	P3 (0,050)
N1 (0,5)	14,28 a	14,20 a	14,30 a
N2 (1,5)	14,04 a	13,57 a	14,00 a
N3 (2,5)	14,03 a	14,05 a	14,35 a

Keterangan : Huruf yang sama di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf kesalahan 5%

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan yaitu :

- 1) Perlakuan  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  dan interaksi antar perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap konsentrasi biomassa dan kandungan klorofil *Tetraselmis chuii*.

- 2) Penambahan  $\text{NaNO}_3$  sebanyak 1,5 g/l dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  sebanyak 0,035 g/l pada media *BG-11* menghasilkan konsentrasi biomassa tertinggi yaitu  $3,3 \times 10^6$  sel/ml dan menghasilkan kandungan klorofil tertinggi yaitu 10,17 mg/g.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian dengan modifikasi penambahan  $\text{NaNO}_3$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  pada media lainnya untuk menghasilkan konsentrasi biomassa dan kandungan klorofil yang tinggi pada mikroalga *Tetraselmis chuii*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Adi, I. A., A. A. M. D. Anggreni. dan I. W. Arnata. 2015. Optimasi Salinitas dan pH Awal Media *BG-11* Terhadap Konsentrasi Biomassa dan Klorofil *Tetraselmis chuii*. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri 3 (4): 1-11
- Agustini, N. W. S. 2014. Kandungan Pigmen Astaxanthin dari Mikroalga *Botryococcus braunii* Pada Berbagai Penambahan Nitrogen dan Phosphor. Pusat Penelitian Bioteknologi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jawa Barat.
- Agustini, N. W. S dan Kusmiati. 2011. Variasi Penambahan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Sebagai Sumber Fosfat Terhadap Pembentukan Karotenoid dan  $\beta$ -karoten *Dunaliella salina*. Pusat Penelitian Bioteknologi. Surakarta.
- Becker, E. W. 1994. Biotechnology and Microbiology. Cambridge University Press. New York.
- Becker, E. W., S. J. Baddley., N. H. Carey., I. J. Higgins. and W. G. Potter. 1994. Microalgae. Biotechnology and Microbiology. Cambridge University Press. New York.
- Ernest, P. 2012. Pengaruh Kandungan Ion Nitrat Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. Skripsi. Universitas Indonesia. Depok.
- Gardner F. P., R. B. Pearce. and R. L. Mitchell. 1991. Physiology of Crop Plants. Diterjemahkan oleh H.Susilo. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Goldman, J. C. 1979. Outdoor algal mass culture. II. Photosynthetic yield limitations. Water Research. 13 (1) :119 – 136
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phyto Mikroalga dan Zoo Mikroalga Pakan 2 Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Kanisius. Yogyakarta.
- Kawaroe, M., T. Prartono., A. Sunuddin., D. W. Sari. dan D. Augustine. 2010. Mikroalga : Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar. IPB Press. Bogor.
- Li, R., P. Guo., M. Baum., S. Grando. and S. Ceccarelli. 2006. Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. Agricultural Sciences in China 5 (10): 751-757

- Mujoriya, R. 2011. A Study on Wheat Grass and its Nutritional Value. Food Science and Quality Management 2 : 1 – 9
- Oktafiani, M. dan M. Joni. 2013. Pengaruh Konsentrasi Nutrien dan Konsentrasi Bakteri Pada Produksi Alga dalam Sistem Bioreaktor Proses *Batch*. Jurusan Teknik Lingkungan. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Primaryadi, I N. B., A. A. M. D. Anggreni dan N. M. Wartini. 2015. Pengaruh Penambahan Magnesium Sulfat Heptahidrat dan Feri Klorida Pada *Blue Green Medium* Terhadap Konsentrasi Biomassa dan Kandungan Klorofil Mikroalga *Tetraselmis chuii*. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri 3 (2) :1-9
- Pujiono, A. E. 2013. Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* Pada Medium Air Laut dengan Intensitas Cahaya, Lama Penyinaran, dan Jumlah Inokulan yang Berbeda Pada Skala Laboratorium. Skripsi. Universitas Jember. Jember.
- Putra, I K. R. W., A. A. M. D. Anggreni. dan I. W. Arnata. 2014. Pengaruh Jenis Media Terhadap Konsentrasi Biomassa, dan Klorofil Mikroalga *Tetraselmis chuii*. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri 3 (2) : 1-7
- Salisbury F. B. and C. W. Ross. 1992. Plant Physiology. 4th Edition. California. Wadsworth Publ. Co.
- Setyaningsih, I., A. T. Saputra. dan Uju. 2011. Komposisi Kimia dan Kandungan Pigmen *Spirulina fusiformis* Pada Umur Panen yang berbeda Dalam Media Pupuk. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 15 (1) : 63-69
- Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik. Terjemahan : M. Syah. Garamedika Pustaka Utama. Jakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono. dan Suhardi, 1984. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian: Edisi 4. Liberty. Yogyakarta.
- Wijoseno, T. 2011. Uji Pengaruh Variasi Media Kultur Terhadap Tingkat Pertumbuhan dan Kandungan Protein, Lipid, Klorofil, dan Karatenoid Pada Mikroalga *Chlorella vulgaris Buitenzorg*. Skripsi. Universitas Indonesia. Depok.
- Yoshida, S., D. A. Forno., J. H. Cock. and K. A. Gomez. 1976. Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice: 3<sup>rd</sup> Edition. The International Rice Research Institute Los Banos. Manila.