

Efektivitas Kandungan Nitrogen dalam Pupuk Berbeda terhadap Klorofil pada *Nannochloropsis* sp. Skala Laboratorium

Effectiveness of Nitrogen Content in Different Fertilizers on Chlorophyll in Nannochloropsis sp. Laboratory Scale

Fatmanita^{1*}, Irvina Nurrachmi¹, Feli Feliatra¹

¹Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan,
Universitas Riau, Pekanbaru 28293 Indonesia
email: fatmanita3166@student.unri.ac.id

(Received: 27 September 2023; Accepted: 3 November 2023)

ABSTRAK

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret 2023. Analisis dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis efektivitas kandungan nitrogen dalam pupuk pada masing-masing pupuk yang berbeda dalam mendorong pertumbuhan sel dan untuk menganalisis pupuk apa yang paling efektif dalam menunjang terbentuknya klorofil yang lebih tinggi dan lebih cepat pada *Nannochloropsis* sp. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan rancangan percobaan RAL (Rancangan Acak Lengkap) 1 faktor yang terdiri atas 4 taraf perlakuan yaitu pemberian konsentrasi pupuk Walne sebanyak 1 mL (A), Guillard sebanyak 1,13 mL (B), dan Urea sebanyak 0,042 g (C), D (Kontrol) tanpa pupuk, masing-masing 3 kali pengulangan sehingga didapatkan 12 unit percobaan. Hasil pengukuran parameter kualitas air menunjukkan kondisi air media pertumbuhan dalam keadaan baik yaitu dengan suhu air berkisar pada 25–28 °C, pH air yaitu berkisar 7-9 dan rata-rata salinitas yaitu 33 ppt. Hasil penelitian menunjukkan media pupuk yang paling efektif dalam mendorong pertumbuhan dan menunjang terbentuknya klorofil yang lebih tinggi dan cepat pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. adalah media pupuk Guillard yang menghasilkan kepadatan populasi sel (6.438×10^4 sel/mL) dan kandungan klorofil (8,13 µg/L). Selanjutnya media pupuk urea (6.362×10^4 sel/ml) dan klorofil (7,04 µg/L), dan pupuk Walne yaitu (6.177×10^4 sel/mL) dan klorofil (5,33 µg/L).

Kata Kunci: Nitrogen, Klorofil, *Nannochloropsis* sp.

ABSTRACT

This research was carried out in March 2023. The analysis was carried out at the Marine Microbiology Laboratory, Department of Marine Science, Faculty of Fisheries and Marine, Riau Universitas Riau. The aim of this research is to analyze the effectiveness of the nitrogen content in each different fertilizer in encouraging cell growth and analyze which fertilizer is most effective in supporting the formation of chlorophyll in *Nannochloropsis* sp. The method used in this research was an experimental method using a 1 factor CRD (Completely Randomized Design) experimental design consisting of 4 treatment levels, namely giving a concentration of Walne fertilizer of 1 mL (A), Guillard of 1.13 mL (B), and Urea was 0.042 g (C), D (Control) without fertilizer, 3 repetitions each to obtain 12 experimental units. The results of measuring water quality parameters show that the condition of the growth media water is in good condition, namely with water temperature ranging from 25-28°C, water pH ranging from 7-9 and average salinity of 33 ppt. The research results show that the most effective fertilizer media in encouraging growth and supporting the formation of chlorophyll in the *Nannochloropsis* sp. is a Guillard fertilizer medium that produces cell population density ($6,438 \times 10^4$ cells/mL) and chlorophyll content (8.13 µg/L). Next, the

fertilizer media is urea ($6,362 \times 10^4$ cells/mL) and chlorophyll ($7.04 \mu\text{g/L}$), and Walne fertilizer is (6.177×10^4 cells/mL) and chlorophyll ($5.33 \mu\text{g/L}$).

Keywords: Nitrogen, Chlorophyll, *Nannochloropsis* sp.

1. Pendahuluan

Fitoplankton adalah tumbuhan yang hidupnya mengapung atau melayang di laut. Fitoplankton adalah golongan plankton yang merupakan salah satu faktor pembatas bagi organisme di perairan (Rahmawati, 2018). Pembudidaya kolam pembenihan sebagian besar menggunakan fitoplankton atau zooplankton untuk pakan alami larva ikan (Nurmalasari *et al.*, 2020).

Mikroalga merupakan organisme mikroskopis yang sangat beragam dan tidak memiliki struktur sel yang kompleks, berdiameter antara $1\text{-}50 \mu\text{m}$, dan bersifat autotrof karena memiliki potensi sebagai produktivitas primer yang membentuk dasar rantai makanan di perairan (Endrawati dan Riniatsih, 2017). Sebagian besar spesies mikroalga mengandung klorofil, menggunakan sinar matahari sebagai sumber energi dan mengubah karbondioksida menjadi biomassa (protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat) (Olfan *et al.*, 2022). Mikroalga menghasilkan lebih dari 75 % oksigen yang dibutuhkan hewan dan manusia melalui proses fotosintesis (Dewi *et al.*, 2018).

Klorofil adalah pigmen alami 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 (Aziz, 2017). Tinggi rendahnya kandungan klorofil pada suatu mikroalga sangat penting untuk diperhatikan, dikarenakan kandungan klorofil yang tinggi akan menunjang terbentuknya nutrisi yang tinggi pula melalui proses fotosintesis, begitu sebaliknya. Komponen utama penyusun klorofil adalah nitrogen (N), sedangkan komponen penyusun klorofil lainnya adalah C, H, O, dan Mg (Prabowo, 2019). Salah satu jenis mikroalga yang memiliki kandungan klorofil yang cukup tinggi adalah *Nannochloropsis* sp. Hal ini dikarenakan mikroalga tersebut memiliki kandungan klorofil, yaitu berkisar antara $76,21\text{-}94,09 \text{ mg/L}$ (Saputra *et al.*, 2020).

Nitrogen diperlukan sebagai bahan dasar penyusun protein dan pembentukan klorofil dalam proses fotosintesis. Semakin tinggi

kandungan nitrogen pada kondisi pertumbuhan dapat meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas mikroalga karena nitrogen dapat membentuk protein, lemak, dan klorofil. Sedangkan konsentrasi nitrogen yang rendah menghambat sintesis protein, sehingga apabila terjadi kekurangan unsur nitrogen akan menyebabkan penurunan kandungan protein, terjadi degradasi komponen sel yang berkaitan dengan sintesis protein termasuk klorofil serta terjadi gangguan *in vivo* pada klorofil serta kloroplas (Ermavitalini, 2019).

Kultur pakan alami skala laboratorium banyak menggunakan pupuk Walne dan Guillard untuk media pemeliharaan dan tidak sedikit juga yang menggunakan pupuk urea sebagai alternatif pupuk yang lebih murah. Namun kemampuan pupuk dalam mendorong terbentuknya kandungan klorofil pada *Nannochloropsis* sp. tentu berbeda-beda. Media Walne mengandung $\text{N}(\text{NaNO}_3)$ sebanyak 100 g/L dan $\text{P}(\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ sebanyak 20 g/L (Marthia 2020). Media Guillard mengandung protein dan kadar lemak yang tinggi yaitu $\text{N}(\text{NaNO}_3)=88,20 \text{ g/L}$, $\text{P}(\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O})=10 \text{ g/L}$. Media Urea memiliki kandungan N dan P, yaitu $\text{N}=240 \text{ g/L}$, $\text{P}(\text{TSP})=80 \text{ g/L}$ (Trikuti *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Marthia (2020), menunjukkan bahwa kandungan klorofil pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. dengan media kultur Walne lebih tinggi dibandingkan dengan media Guillard, dimana kandungan klorofil Walne yaitu $353,04 \mu\text{g/mL}$, sedangkan pada media Guillard yaitu $295,46 \mu\text{g/mL}$. Sehingga produksi klorofil terbaik adalah kultivasi menggunakan media kultur Walne.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Octhreeani *et al.* (2014), bahwa pupuk Guillard merupakan pupuk yang terbaik dalam kultur *Nannochloropsis* sp. Pupuk Guillard memiliki kandungan klorofil sebesar $6,54 \mu\text{g/L}$ dan pada pupuk Walne sebesar $4,13 \mu\text{g/L}$. Sedangkan berdasarkan penelitian Wahyuni (2022) media terbaik untuk produksi mikroalga *Nannochloropsis* sp. dengan

kepadatan populasi tertinggi sebanyak 2.414×10^4 sel/mL adalah media Urea.

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis serta membuktikan media pupuk yang terbaik dari media yang biasa digunakan dalam mendorong pertumbuhan serta menunjang terbentuknya kandungan klorofil yang lebih tinggi pada *Nannochloropsis* sp. dengan cara menganalisis efektivitas konsentrasi nitrogen yang sama (100 g/L) pada masing-masing media pupuk yang berbeda.

2. Metode Penelitian

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret 2023. Analisis mikroalga *Nannochloropsis* sp. dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

2.2. Metode

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan rancangan percobaan RAL (Rancangan Acak Lengkap) 1 faktor yang terdiri atas 4 taraf perlakuan yaitu pemberian konsentrasi pupuk Walne sebanyak 1 ml (A), Guillard sebanyak 1,13 ml (B), dan Urea sebanyak 0,042 g (C), D (Kontrol) tanpa pupuk, masing-masing 3 kali pengulangan sehingga didapatkan 12 unit percobaan. Penambahan konsentrasi pupuk pada media pupuk Guillard dan pengurangan konsentrasi pupuk pada Urea dilakukan agar setiap perlakuan memiliki konsentrasi nitrogen yang sama yaitu 100 g/L.

2.3. Prosedur

Adapun prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini diantaranya ialah sterilisasi alat dan bahan, persiapan media kultur, formulasi pupuk, pengukuran kualitas air, inokulasi kultur, prosedur kultur *Nannochloropsis* sp., pengamatan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dan analisis kandungan klorofil. Sterilisasi dilakukan untuk menghindari kontaminasi yang tidak diinginkan di dalam penelitian. Media kultur yang digunakan adalah air laut steril dan akuades yang telah disaring. Air laut yang sudah disterilkan dicampurkan dengan akuades hingga salinitas mencapai 33 ppt. Selanjutnya air laut dengan salinitas 33 ppt

dimasukkan ke dalam botol kultur sebanyak 800 ml, kemudian disterilisasi dengan cara diautoklaf selama 45 menit dan didiamkan sampai dingin. Setelah dingin, media air laut diaerasi selama 5 menit agar media menyuplai oksigen lebih banyak.

Konsentrasi nitrogen pada masing-masing pupuk yang digunakan dalam kultur *Nannochloropsis* sp. ialah sebanyak 100 g/L. Untuk mendapatkan kandungan nitrogen 100 g/l sehingga pada media Walne digunakan pupuk sebanyak 1 mL, kemudian pada media Guillard dilakukan penambahan konsentrasi pupuk menjadi 1,13 mL, sedangkan pada media pupuk Urea dilakukan pengurangan sehingga hanya menggunakan pupuk sebanyak 0.042 g (41.7 ppm).

Pengukuran kualitas air ini dilakukan tiga hari sekali sebelum melakukan perhitungan kepadatan *Nannochloropsis* sp. dan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan pada setiap perlakuannya. Pengukuran suhu dan pH diukur dengan menggunakan alat ukur digital kualitas air. Salinitas air kultur diukur dengan menggunakan *Handrefractometer*.

Inokulasi bertujuan memperpendek fase adaptasi pada volume media yang lebih besar. Setelah inokulasi kultur mencapai fase eksponensial selanjutnya dilakukan penelitian dengan memberi perlakuan diantaranya pupuk Walne ditambahkan sebanyak 1 ml/l pada botol perlakuan A1, A2, A3, pupuk Guillard ditambahkan sebanyak 1,13 ml/l pada botol perlakuan B1, B2, B3, pupuk Urea ditambahkan sebanyak 0.042 g (41.7 ppm) pada botol perlakuan C1, C2, C3. Setelah pupuk sudah tercampur dengan media, bibit *Nannochloropsis* sp. sebanyak 200 mL dengan kepadatan awal $\pm 1000 \times 10^4$ sel/mL yang berasal dari inokulasi kultur dimasukkan ke dalam wadah kultur.

Pengamatan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dilakukan setiap tiga hari sekali selama ± 15 hari. Perhitungan kepadatan sel *Nannochloropsis* sp. dengan menggunakan rumus Mudjiman (2008) yang setiap ml dihitung dengan menggunakan rumus :

$$D = \frac{n1 + n2 + \dots + nx \times 25 \times 10^4 \text{ sel/ml}}{x}$$

Keterangan :

D = Kepadatan *Nannochloropsis* (sel/mL)

n = Jumlah *Nannochloropsis* pada kotak

x = Jumlah kotak

Perhitungan kepadatan sel *Nannochloropsis* sp. diamati dari awal penelitian sampai terjadi penurunan jumlah sel. Pengamatan kepadatan sel dengan menggunakan Mikroskop dengan perbesaran 40x. Alat yang digunakan untuk menghitung kepadatan mikroalga yaitu *Haemocytometer*.

Analisis kandungan klorofil *Nannochloropsis* sp. dilakukan setiap tiga hari sekali selama ± 15 hari. Menurut Putra (2021) analisis kandungan klorofil menggunakan metode yang berasal dari Vonshak pada tahun 1997, hasil kultur *Nannochloropsis* sp. diambil sebanyak 10 mL kemudian *disentrifuge* pada kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit. Hasil supernatan *sentrifuge* dibuang dan pellet *Nannochloropsis* sp. yang berada di dasar tube diekstraksi dengan 10 mL metanol absolut, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 70°C selama 2 menit. Setelah diberi metanol absolut dan diinkubasi kemudian hasil campuran *disentrifuse* pada kecepatan 3.000 rpm selama 5 menit, filtrat yang diperoleh dianalisis serapannya dengan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 665 nm. Analisis kandungan klorofil *Nannochloropsis* sp. pada setiap sampel dihitung dengan menggunakan rumus yang digunakan Vonshak (1997) sebagai berikut:

$$\text{Klorofil } \mu\text{g/L} = \text{Koefisien Absorbansi} \times A_{665}$$

Keterangan :

A_{665} = Nilai absorbansi filtrat pada panjang gelombang 665 nm
 Klorofil $\mu\text{g/l}$ = Nilai Kandungan Klorofil pada *Nannochloropsis* sp. ($\mu\text{g/L}$)

(Koefisien Absorbansi = 1,69)

2.4. Data Analisis

Data yang diperoleh pada penelitian ini disajikan dalam bentuk tabel dan grafik untuk membandingkan pertumbuhan populasi dan kandungan klorofil pada *Nannochloropsis* sp. menggunakan pupuk Walne, Guillard, Urea dan Kontrol. Lalu dilakukan analisis dengan menggunakan *one way* ANOVA. Apabila menunjukkan perbedaan yang nyata, selanjutnya dilakukan uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD). Selanjutnya dibandingkan dengan berdasarkan literatur yang berkaitan dengan pertumbuhan mikroalga.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Kualitas Air

Rata-rata parameter kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Parameter Kualitas Air

No.	Parameter Kualitas Air	Perlakuan				Ambang Batas
		Walne	Guillard	Urea	Kontrol	
1.	Suhu (°C)	25,6	26	26,2	26,4	25-30
2.	pH	7,3	7,4	7,4	7,4	7-9
3.	Salinitas (ppt)	33	33	33	33	33-35

Hasil dari pengukuran parameter kualitas air menunjukkan kondisi air media pertumbuhan dalam keadaan yang optimal yaitu dengan rata-rata suhu air berkisar pada 25–26°C. Menurut Damanik et al. (2020) kisaran suhu tersebut tergolong optimal untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. karena kisaran suhu yang paling optimal untuk pertumbuhan mikroalga tersebut adalah 25-30 °C.

Suhu air yang optimal akan mendorong terjadinya proses metabolisme dan fisiologis pada mikroalga, serta akan berpengaruh juga dengan proses fotosintesis yang akan berjalan dengan baik. Hal tersebut berkaitan dengan yang diungkapkan oleh Arsad et al. (2019),

bahwa suhu memiliki peranan penting khususnya dalam proses metabolisme dan fungsi fisiologis mikroalga. Nilai suhu mempengaruhi kandungan karbondioksida (CO₂) yang digunakan dalam proses fotosintesis, dimana gas CO₂ mudah terlarut pada suhu rendah dibandingkan suhu tinggi, sehingga dapat meningkatkan laju fotosintesis. Pada hasil pengukuran suhu yang diamati selama penelitian suhu mengalami penurunan serta kenaikan, hal tersebut dikarenakan penggunaan AC yang tidak dapat dikontrol, sehingga suhu pada ruangan kultur mikroalga berubah-ubah.

Hasil pengukuran parameter kualitas air menunjukkan rata-rata pH air pada media

pertumbuhan mikroalga ini yaitu 7. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fery et al. (2020) pH untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. adalah pada pH 7-9, namun mikroalga ini dapat tumbuh baik pada kisaran pH 8-9,5. Terjadinya peningkatan pH dari yang awalnya 7 kemudian pada hari ke-3 hingga hari ke-6 pH menjadi 8 dan 9, hal tersebut disebabkan adanya aktivitas fotosintesis mikroalga. Seperti yang diungkapkan oleh Prihantini et al. (2010) pada saat fotosintesis penyerapan CO₂ bebas dan bikarbonat oleh mikroalga menyebabkan penurunan konsentrasi CO₂ terlarut dan mengakibatkan peningkatan nilai pH dan juga dapat disebabkan terjadinya penguraian protein dan persenyawaan nitrogen lain. Pada umumnya, senyawa nitrogen yang digunakan dalam metabolisme sel mikroalga berupa amonium. Amonium dihasilkan melalui proses disosiasi amonium hidroksida. Reaksi pembentukan amonium adalah sebagai berikut: $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{NH}_4\text{OH} \rightleftharpoons \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$. Bila reaksi tersebut bergerak ke kanan maka konsentrasi amonium di dalam media akan meningkat dan pH media menjadi basa.

Pada hari ke-9 dan seterusnya Ph kembali netral dan tidak terjadi peningkatan lagi, hal ini disebabkan adanya sistem *buffer* alami berupa gas CO₂ terlarut yang terdapat dalam media kultur. Gas CO₂ terlarut yang terdapat dalam media akan menjadi asam karbonat yang akan terurai menjadi ion-ion karbonat dan ion bikarbonat. Reaksi kesetimbangan antara CO₂ terlarut, asam karbonat, ion bikarbonat, dan ion karbonat akan menyebabkan nilai pH turun lagi.

Salinitas menjadi faktor pembatas bagi pertumbuhan dan perkembangan *Nannochloropsis* sp. Apabila salinitasnya terlalu tinggi ataupun terlalu rendah akan menyebabkan tekanan osmosis di dalam sel menjadi lebih rendah atau lebih tinggi sehingga aktivitas sel dapat terganggu. Rata-rata salinitas pada saat penelitian yaitu 33 ppt. Kisaran salinitas tersebut masih dalam kondisi baik, hal ini sesuai dengan pernyataan Ayuzar et al. (2022) bahwa kisaran salinitas optimum bagi pertumbuhan mikroalga ini adalah 25-35 ppt.

Terjadinya peningkatan salinitas pada hari ke-3 yaitu 34 ppt, kemungkinan diakibatkan oleh suhu ruangan kultur yang tidak dapat dikontrol, sehingga pada saat suhu

tinggi akan terjadi laju penguapan yang tinggi, yang mana laju penguapan yang tinggi akan membuat salinitas meningkat. Perubahan salinitas yang meningkat juga akan mempengaruhi kepadatan populasi dan kandungan klorofil. Hal ini diungkapkan oleh Anggraeni et al. (2020), dimana peningkatan salinitas mengakibatkan peningkatan kepadatan populasi, namun semakin tinggi kadar salinitas justru menurunkan konsentrasi klorofil pada mikroalga.

3.2. Kepadatan Populasi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara pengaruh pupuk dengan kepadatan sel. Kepadatan populasi tertinggi pada mikroalga ini terjadi pada perlakuan yang menggunakan pupuk Guillard dengan kepadatan populasi mencapai 6.438×10^4 sel/ml, sedangkan kepadatan populasi terendah terdapat pada perlakuan tanpa pupuk (Kontrol) dengan kepadatan populasi hanya mencapai 4.370×10^4 sel/ml. Perlakuan dengan menggunakan pupuk Walne kepadatan populasi tertinggi mencapai 6.177×10^4 sel/ml, sedangkan pada perlakuan dengan menggunakan pupuk Urea kepadatan populasinya mencapai 6.362×10^4 sel/ml (Tabel 2).

Hasil yang diperoleh dari perhitungan kepadatan populasi *Nannochloropsis* sp. pada setiap perlakuan dianalisis dengan uji *Analisis of Varians* (ANOVA). Berdasarkan hasil uji *One way Anova* pada hari ke-6 dan ke-9 pada setiap perlakuan yang diberikan tidak mengalami perbedaan nyata, karena memiliki nilai *significant* yaitu $p > 0,05$.

Dari hasil uji *One way Anova* dapat ditarik kesimpulan bahwa perlakuan kandungan nitrogen yang sama (100 g/L) pada masing-masing media pupuk yang berbeda tidak berpengaruh besar dalam menentukan media pupuk yang paling efektif bagi pertumbuhan kepadatan populasi pada mikroalga *Nannochloropsis* sp., hal ini dikarenakan nitrogen adalah unsur utama yang berfungsi dalam mendorong pertumbuhan mikroalga, sehingga jika konsentrasi nitrogen dibuat sama, maka kemampuan masing-masing pupuk dalam mendorong pertumbuhan mikroalga tentunya juga sama-sama besar. Penyebab lainnya adalah tidak terlalu besar perbedaan kandungan nutrisi lain (P, Fe, Mn, Cl, dan Zn) yang terkandung dalam masing-

masing media pupuk yang digunakan, dan kemungkinan ada pengaruh dari kondisi lingkungan media pertumbuhan yang digunakan sehingga tidak terlalu nampak perbedaan kemampuan masing-masing media pupuk dalam mendorong pertumbuhan pada *Nannochloropsis* sp. Meskipun demikian, dari

hasil kepadatan populasi pada *Nannochloropsis* sp., tetap dapat dilihat media pupuk yang paling tinggi dan paling efektif dalam mendorong kepadatan populasi pada mikroalga ini adalah dengan menggunakan media pupuk Guillard.

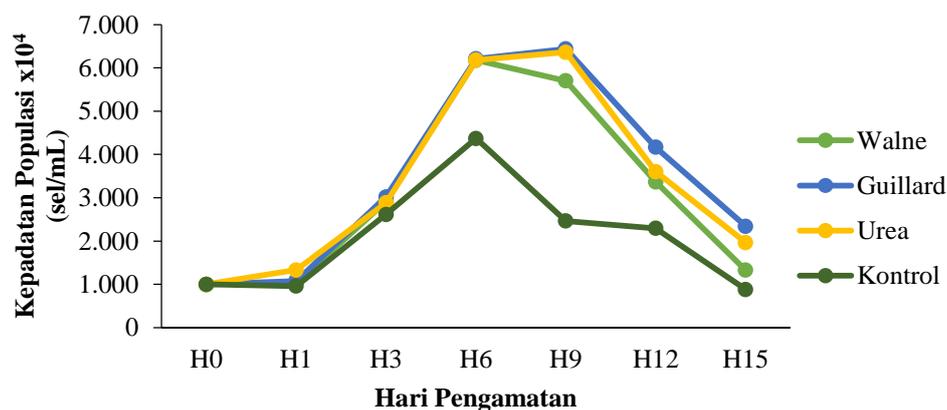
Tabel 2. Rata-rata Kepadatan Populasi *Nannochloropsis* sp

Hari Ke-	Kepadatan Populasi <i>Nannochloropsis</i> sp. X10 ⁴ (sel/mL)			
	Walne (A)	Guillard (B)	Urea (C)	Kontrol(D)
H0	1.000	1.000	1.000	1.000
H1	1.027	1.078	1.330	957
H3	2.908	3.020	2.883	2.615
H6	6.177	6.212	6.182	4.370
H9	5.700	6.438	6.362	2.465
H12	3.365	4.166	3.602	2.293
H15	1.326	2.343	1.965	882

Penggunaan konsentrasi nitrogen yang sama pada masing-masing media pupuk yang digunakan membuat kepadatan populasi pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. mengalami peningkatan populasi yang optimal. Kepadatan mikroalga pada perlakuan dengan menggunakan media pupuk Guillard dan Urea mengalami peningkatan dari hari ke-1 hingga hari ke-9, di hari selanjutnya sudah mengalami penurunan. Sedangkan pada perlakuan Walne dan Kontrol mengalami peningkatan kepadatan populasi pada hari ke-

1 hingga hari ke-6 saja, di hari ke-9 dan seterusnya sudah mengalami penurunan populasi, hal tersebut dikarenakan adanya nutrisi lain pada masing-masing pupuk yang juga ikut berperan dalam mendorong pertumbuhan mikroalga.

Menurut Almomani (2020) pertumbuhan fitoplankton secara umum ditandai dengan empat tahap yaitu tahap adaptasi, tahap eksponensial, tahap stationer, dan tahap kematian.



Gambar 2. Pertumbuhan Kepadatan Populasi *Nannochloropsis* sp

Berdasarkan Gambar 2 terlihat bahwa pada hari ke-0 hingga hari ke-1 mikroalga tersebut mengalami fase adaptasi (lag) karena sel mikroalga ini masih beradaptasi terhadap media kultur yang ditandai dengan sel yang belum aktif bereproduksi. Seperti pernyataan Ariany *et al.* (2021) pada masa adaptasi mikroalga mengalami metabolisme dalam

selnya, akan tetapi pembelahan sel belum terjadi sehingga belum terdapat peningkatan dalam populasi sel.

Pada hari ke-3 hingga pada masa akhir puncak eksponensial hari ke-6, media guillard memberikan nilai kepadatan populasi tertinggi, yakni 6.212 x10⁴ sel/ml, kemudian disusul oleh media pupuk Urea dengan

kepadatan populasi sebesar 6.182×10^4 sel/ml dan media pupuk Walne dengan kepadatan populasi sebesar 6.177×10^4 sel/ml, sedangkan tanpa pupuk (kontrol) kepadatan populasi sebesar 4.370×10^4 sel/ml. Fase eksponensial terjadi ketika sel-sel dalam keadaan stabil dan jumlah sel bertambah dengan kecepatan yang konstan, sehingga kepadatan sel akan meningkat mengikuti kurva logaritmik (Putra, 2020). Dalam rentangan waktu ini kepadatan populasi masih terus meningkat karena fase adaptasi telah berjalan dengan normal dan mulai memanfaatkan nutrisi yang berada pada media kultur untuk memperbanyak jumlah sel.

Pada hari ke-9 *Nannochloropsis* sp. dengan media pupuk Guillard, Urea dan Walne mengalami fase stasioner yang mana pada fase tersebut mikroalga mencapai puncak jenuh dalam pertumbuhan sel, yang mana laju pertumbuhan seimbang dengan laju kematian. Sesuai dengan pernyataan Dwirejeki dan Ermavitalini, (2019) pada fase stasioner penambahan kepadatan populasi seimbang dengan laju kematian sehingga jika adanya pertumbuhan populasi maka kemungkinan sangat kecil. Jumlah sel cenderung tetap karena telah mencapai titik jenuh. Namun lain halnya dengan media Kontrol, fase stasioner

pada mikroalga dengan media tanpa pupuk ini tidak terlihat pada kurva pertumbuhan disebabkan oleh singkatnya waktu yang terjadi pada tahapan ini, sehingga lewat dari waktu pengamatan. Hal ini dikarenakan masa mengamati pertumbuhan hanya dilakukan sebanyak tiga hari sekali, sehingga kemungkinan pada perlakuan Kontrol fase stasioner terjadi sebelum atau sesudah masa pengamatan.

Pada penelitian ini, *Nannochloropsis* sp. mengalami fase kematian pada hari ke-12 hingga hari ke-15. Nutrisi yang larut dalam badan air langsung dimanfaatkan oleh fitoplankton untuk pertumbuhan populasi sehingga nutrisi yang terdapat dalam media pertumbuhan terus berkurang, sehingga mikroalga tidak mampu lagi mengalami pertumbuhan sel dan mengalami kematian. Sedangkan pada perlakuan Kontrol, mikroalga mengalami kematian yang lebih cepat yaitu pada hari ke-9 hingga hari ke-15. Hal tersebut dikarenakan sedikitnya nutrisi yang ada pada media pertumbuhan pada perlakuan kontrol, karena tidak mendapatkan nutrisi tambahan dari pupuk.

Hasil perhitungan rata-rata kandungan klorofil dilihat pada Tabel 3.

Tabel 6. Rata-rata kandungan klorofil *Nannochloropsis* sp

Hari Ke-	Rata-Rata Kandungan Klorofil ($\mu\text{g/L}$)			
	Walne	Guillard	Urea	Kontrol
H1	0,6554	0,7337	0,7776	0,6861
H3	2,183	2,1857	2,2311	2,8526
H6	4,5341	4,6267	5,5527	3,0951
H9	5,3347	8,1324	7,0476	3,4758
H12	5,329	7,4476	6,8032	3,0506
H15	2,2673	3,5782	2,8373	0,7051

Kandungan pigmen yang berwarna hijau yang sangat pekat menunjukkan bahwa *Nannochloropsis* sp. memiliki jumlah klorofil yang tinggi disertai kepadatannya dalam waktu sangat cepat dan tinggi (Omairah *et al.*, 2019). Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat bahwa nilai kandungan klorofil pada mikroalga tersebut berkisar antara 0,65-8,13 $\mu\text{g/L}$. Hal ini juga dapat dilihat dari tingkat kepadatan sel yang dihasilkan dari masing-masing pupuk. Tinggi rendahnya kandungan klorofil fitoplankton ditentukan oleh banyak sedikitnya sel fitoplankton yang mempunyai

bagian-bagian dinding sel yang berklorofil, sehingga kandungan klorofil akan meningkat atau berkurang seiring dengan meningkat dan berkurangnya kepadatan fitoplankton dalam kultur tersebut (Sutomo *dalam* Othreani *et al.* 2014).

Pernyataan Sutomo tersebut dibantah oleh Anggraeni *et al.* (2020), bahwa perubahan salinitas yang meningkat juga akan mempengaruhi kepadatan populasi dan kandungan klorofil, dimana peningkatan salinitas mengakibatkan peningkatan kepadatan populasi, namun semakin tinggi

kadar salinitas justru menurunkan konsentrasi klorofil pada mikroalga. Hal inilah yang menyebabkan kandungan klorofil pada hari ke-3 pada perlakuan Walne dan Guillard lebih rendah dari pada perlakuan Urea dan Kontrol, sehingga untuk kultur di hari selanjutnya tentunya juga berpengaruh. Hal inilah yang menyebabkan hasil analisis kandungan klorofil tidak seiring dengan hasil kepadatan populasi pada mikroalga *Nannochloropsis* sp.

Media pupuk yang paling efektif dalam menunjang terbentuknya kandungan klorofil pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. terdapat pada perlakuan dengan menggunakan media pupuk Guillard yaitu dengan kepadatan populasi sel (6.438×10^4 sel/mL) dan kandungan klorofil ($8,13 \mu\text{g/L}$) pada hari ke-9. Hal ini dikarenakan tingginya kandungan nutrisi lain selain nitrogen yang juga berfungsi mendorong pertumbuhan dan menunjang kandungan klorofil pada mikroalga ini. Selain kandungan nitrogen tentunya ada kandungan nutrisi lain yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan kandungan klorofil pada mikroalga. Pada media Guillard ketersediaan unsur hara makro dan mikro nutriennya (Fe, Mn, Cl, dan Zn) lebih lengkap dibandingkan dengan media lainnya. Ketersediaan unsur hara makro dan mikro nutrien yang lengkap dapat mempengaruhi pertumbuhan biomassa sel, untuk proses fotosintesis, dimana hasilnya digunakan untuk pertumbuhan kepadatan populasi sel dan menunjang terbentuknya kandungan klorofil (Juniantari et al., 2015).

Media pupuk selanjutnya yang cukup efektif dalam menunjang terbentuknya kandungan klorofil pada *Nannochloropsis* sp. terdapat pada perlakuan dengan menggunakan pupuk Urea yaitu $7,04 \mu\text{g/L}$ pada puncak di hari ke-9. Hal ini dikarenakan media pupuk Urea memiliki kandungan fosfor yang cukup tinggi yaitu sebesar 80 g/L yang juga berfungsi untuk mendorong pertumbuhan dan menunjang terbentuknya kandungan klorofil pada mikroalga. Selain itu pupuk Urea mempunyai sifat higroskopis mudah larut dalam air dan bereaksi cepat, sehingga cepat pula diserap oleh mikroalga.

Hasil analisis mengungkapkan bahwa pupuk Urea dengan konsentrasi nitrogen 100 g/l adalah konsentrasi yang efektif dalam menunjang terbentuknya kandungan klorofil pada fitoplankton ini. Hal ini sesuai dengan pernyataan Arfah et al. (2019), konsentrasi

pupuk Urea $0,045 \text{ g/L}$ (100 g/L nitrogen) merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menghasilkan pertumbuhan populasi sel dan klorofil *Nannochloropsis* sp. Konsentrasi nitrogen pupuk Urea pada umumnya terlalu tinggi yaitu 240 g/L . Hal ini juga dijelaskan oleh Afrah et al. (2019) semakin tinggi konsentrasi pupuk Urea maka pertumbuhan semakin akan meningkat namun membuat mikroalga cepat jenuh dalam pertumbuhan, sehingga pertumbuhan relatif cepat menurun. Sehingga mikroalga mengalami fase pertumbuhan yang singkat dan tidak mengalami pembelahan sel yang optimal.

Hasil analisis klorofil menunjukkan perlakuan dengan menggunakan pupuk Walne dengan konsentrasi nitrogen yang sama (100 g/L) tidak efektif dalam menunjang terbentuknya kandungan klorofil pada *Nannochloropsis* sp., yang mana hanya memiliki kandungan klorofil sebanyak $5,33 \mu\text{g/l}$ pada puncak di hari ke-9. Hasil tersebut bertolak belakang dengan penelitian yang dilakukan oleh Marthia (2020), bahwa kandungan klorofil pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. dengan media kultur Walne lebih tinggi dibandingkan dengan media Guillard dengan total klorofil senilai $353,045 \mu\text{g/mL}$. Tidak efektifnya media Walne pada penelitian ini kemungkinan dikarenakan karena rendahnya kandungan nutrisi lainnya seperti fosfor dan unsur hara lain dalam media pupuk ini, dan juga kemungkinan pengaruh oleh faktor parameter kualitas air yang mengalami peningkatan.

Kandungan klorofil terendah terdapat pada perlakuan tanpa pupuk (Kontrol) yaitu sebesar $3,47 \mu\text{g/L}$. Hal ini mengungkapkan bahwa pengkulturan mikroalga dengan menggunakan media pupuk sangat menunjang pertumbuhan mikroalga dalam melakukan pembelahan sel dan pembentukan kandungan klorofil pada mikroalga tersebut. Dalam melakukan pertumbuhan, *Nannochloropsis* sp. membutuhkan nutrisi untuk dapat bertahan hidup dan melakukan pembelahan sel. Nutrisi tersebut tentunya diperoleh dari media pertumbuhan yang digunakan, namun nutrisi yang ada pada media air laut tentunya tidak mencukupi kebutuhan mikroalga, sehingga perlu dilengkapi dengan cara pemberian media pupuk pada pengkulturan mikroalga tersebut.

4. Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian, setiap media pupuk yang diberikan mampu mendorong pertumbuhan dan menunjang terbentuknya klorofil. Media pupuk yang paling efektif dalam mendorong pertumbuhan dan menunjang terbentuknya klorofil yang lebih tinggi dan cepat pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. adalah media pupuk Guillard yang menghasilkan kepadatan populasi sel (6.438×10^4 sel/mL) dan kandungan klorofil (8,13 µg/L) pada hari ke-9.

Daftar Pustaka

- Almomani, F. (2020). Kinetic modeling of microalgae growth and CO₂ bio-fixation using central composite design statistical approach. *Science of the Total Environment*, 720(1):137-594.
- Anggraeni, U.E., Mahardika, R.G. (2022). Pengaruh Salinitas terhadap Kepadatan Populasi dan Konsentrasi Klorofil-a *Spirulina* pada Media Kultur Modifikasi Walne dan Air Limbah Budidaya Ikan. *Jurnal Ekotonia*, 7(2): 112-120.
- Arfah, Y., Cokrowati, N., Mukhlis, A. (2019). Pengaruh Konsentrasi Pupuk Urea terhadap Pertumbuhan Populasi Sel *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Kelautan*, 12(1):1907-9931.
- Ariany, N., Mustaha, M., Syamsunarno, M.B. (2021). Pemberian Pupuk Organik Cair *Duckweed* terhadap Populasi Sel dalam Kultur *Nannochloropsis oculata*. *Torani: JFMarSci*, 4(2): 58-71.
- Arsad, S., Salzsabil, N., Prasetya, F., Safitri, I., Saputra, D., Musa, M. (2019). Komunitas Mikroalga Perifiton pada Substrat Berbeda dan Perannya sebagai Biondikator Perairan. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 15(1): 73-79.
- Ayuzar, E., Mahdaliana., Khaidir., Fitria, A., Erlangga. (2021). Kultivasi Mikroalga *Nannochloropsis* sp. dalam Pupuk Kotoran Ayam untuk Meningkatkan Biomassa dan Lipid Sebagai Preliminari Produksi Biodiesel. *Aquatic Sciences Journal*, 9(2): 125-130.
- Aziz, M. (2017). *Laju Pertumbuhan dan Kandungan Pigmen (Klorofil dan Karotenoid) Mikroalga Nannochloropsis sp. dalam Media Hipersalin*. Jawa Tengah: Unisnu Jepara.
- Damanik, R., Komariyah, S., Putriningtias, A. (2020). Pengaruh Penggunaan Warna Cahaya yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. *Journal of Aquaculture Science*, 5(2): 99-109.
- Dewi, S.M., Samiaji, J., Nurrachmi, I. (2018). Pengaruh Perbedaan Salinitas Terhadap Pertumbuhan Biomassa Kultivasi Mikroalga *Spirulina platensis* pada Skala Semi Outdoor. *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 5: (1-14).
- Dwirejeki, S., Ermavitalini, D. (2019). Pengaruh Cekaman Nitrogen dan Fotoperiode terhadap Kurva pertumbuhan Kultur *Nannochloropsis* sp. *Jurnal sains dan seni*, 8(1):2337-3520.
- Endrawati, H., Riniatsih, I. (2017). Kadar Total Lipid Mikroalga *Nannochloropsis oculata* yang dikultur dengan suhu yang berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*, 1: 25 – 33.
- Ermavitalini, D., Dwirejeki, S., Nurhatika, S., Saputro, T. (2019). Pengaruh Kombinasi Cekaman Nitrogen dan Fotoperiode Terhadap Biomasa, Kandungan Kualitatif Triasilgliserol dan Profil Asam Lemak Mikroalga *Nannochloropsis* sp. *Akta Kimindo*, 4(1): 32-49.
- Fery, R.A., Nasution, S., Siregar, S.H. (2020). The Effect of Ammonium Sulphate (ZA) Fertilizer concentration on the Growth of Microalga Population (*Nannochloropsis oculata*). *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 3(2): 94-102.
- Juniantari, N.K., Anggreni, D., Gunam, I.B. (2015). Pengaruh Jenis Media terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 3(2): 1-9.
- Marthia, N. (2020). Pengaruh Jenis Media Kultur Terhadap Konsentrasi Bomassa *Nannochloropsis* sp. *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*, 7(3): 97-101.
- Mudjiman, A. (2008). *Makanan Ikan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nurmalasari, N., Rusyani, E., Chandra, I., Anwar, S., Fitriyanti, R. (2020). Laju

- Pertumbuhan Spesifik *Diaphanosoma* sp. dengan Pakan *Chaetoceros* sp., *Nannochloropsis* sp., *Porphyridium* sp., dan *Tetraselmis* sp. *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan*, 15(1): 21-27.
- Octhreeani, A.M., Supriharyono, S., Soedarsono, P. (2014). Pengaruh Perbedaan Jenis Pupuk terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dilihat dari Kepadatan Sel dan Klorofil α pada Skala Semi Masal. *Diponegoro Journal of Maquares Management of Aquatic Resources*, 3(2): 102-108.
- Olfan, W., Barat, B., Naibaho, W. (2022). Pelatihan Kultivasi Mikroalga Skala Open Raceway Ponds. *Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat*:180-186.
- Omairah, R., Diansyah, G., Agustriani, F. (2019). Pengaruh Pemberian Amonia dengan Dosis Berbeda Terhadap Pertumbuhan Fitoplankton *Nannochloropsis* sp. Skala Laboratorium. *Maspari journal*, 11(2):41-48.
- Prabowo, G.A. (2019). Pengaruh Pemberian Glukosa dengan Dosis yang Berbeda pada Kondisi Miksotrofik terhadap Pertumbuhan, Biomassa, Klorofil-a dan Kandungan Protein *Nannochloropsis* sp. Malang: Universitas Brawijaya.
- Prihantini, N.B., Putri, B., Yuniati, R. (2010). Pertumbuhan *Chlorella* sp. dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan Variasi pH Awal. *Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*, 9(1):1-6.
- Putra, M.A. (2021). Pengaruh Pemberian Pupuk Berbahan *Azolla microphylla* Terhadap Pertumbuhan Populasi dan Kandungan Klorofil pada *Spirulina platensis*. Pekanbaru: Universitas Riau.
- Rahmawati, N. (2018). Phytoplankton Community Structure in Pengklik Lagoon, Bantul Regency, Special Region of Yogyakarta. *Jurnal Prodi Pendidikan Biologi*, 7 (6): 403-406.
- Saputra, N.A., Tantu, A.G., Amin, M., Dahlifa, Budi, S. (2020). Pengaruh Warna Wadah Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp., *Journal of Aquac. Environment*, 3(1): 15-18.
- Trikuti, K.A., Anggreni, D., Gunam, I. (2016). Pengaruh Jenis Media terhadap Konsentrasi Biomasa dan Kandungan Protein Mikroalga *Chaetoceros calcitrans*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 4(2):13-22.
- Wahyuni, I. (2022). Pengaruh Konsentrasi Urea Terhadap Pertumbuhan Sel *Nannochloropsis* sp. Skala Laboratorium. Pekanbaru: Universitas Riau.