

**PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN GIZI *Nannochloropsis* sp. YANG
DIISOLASI DARI *LAMPUNG MANGROVE CENTER* DENGAN
PEMBERIAN DOSIS UREA BERBEDA PADA
KULTUR SKALA LABORATORIUM**

(Skripsi)

Oleh

TIARA DAEFI



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRACT

THE GROWTH AND NUTRITION CONTENT OF *Nannochloropsis* sp. ISOLATED FROM LAMPUNG MANGROVE CENTER BY GIVING DIFFERENT DOSES OF UREA ON LABORATORY SCALE CULTURE

By

TIARA DAEFI

This research aimed to know the growth and nutrition content of *Nannochloropsis* sp. isolated from Lampung Mangrove Center by giving different doses of urea on laboratory scale culture and to determine the most effective urea dose in farm fertilizer medium for the growth and nutrition content of *Nannochloropsis* sp. The research were conducted in July-October 2016 at Lampung Mangrove Center and Laboratory of Phytoplankton, Division of Biofeed, Center for Marine Aquaculture Lampung. This research used Completely Randomized Design (CRD) with four treatments (A-D) and five repetitions. Treatment A (Urea 30 ppm; ZA 20 ppm; 10 ppm TSP); B (Urea 40 ppm; ZA 20 ppm; 10 ppm TSP); C (Urea 50 ppm; ZA 20 ppm; 10 ppm TSP); and D (Conwy as control). The observed parameters were the growth (population density, specific growth rate and doubling time) and nutrition content (protein, fat and carbohydrate) of *Nannochloropsis* sp. The data of growth were analyzed by one way analysis of variance and post-hoc test at 95% confidence interval. The data of nutrition content were analyzed descriptively. The results showed that giving different doses of urea on laboratory scale culture has significant differences for the growth (population density maximum, specific growth rate and doubling time) of *Nannochloropsis* sp. The giving urea dose of 50 ppm is the most effective to increase the growth of *Nannochloropsis* sp. and giving urea dose of 40 ppm is the most effective to increase nutrition content of *Nannochloropsis* sp. up to 67,538%.

Key words: *Nannochloropsis* sp., urea, growth, nutrition content

ABSTRAK

PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN GIZI *Nannochloropsis* sp. YANG DIISOLASI DARI *LAMPUNG MANGROVE CENTER* DENGAN PEMBERIAN DOSIS UREA BERBEDA PADA KULTUR SKALA LABORATORIUM

Oleh

TIARA DAEFI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan dan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp. yang diisolasi dari *Lampung Mangrove Center* dengan pemberian dosis urea berbeda pada kultur skala laboratorium dan untuk menentukan dosis urea paling efektif dalam media pupuk pertanian terhadap pertumbuhan dan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli-Oktober 2016 di *Lampung Mangrove Center* dan Laboratorium Fitoplankton, Divisi Pakan Hidup, Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) empat perlakuan (A-D) dan lima ulangan. Perlakuan A (Urea 30 ppm; ZA 20 ppm; TSP 10 ppm); B (Urea 40 ppm; ZA 20 ppm; TSP 10 ppm); C (Urea 50 ppm; ZA 20 ppm; TSP 10 ppm); dan D (Conwy sebagai kontrol). Parameter yang diamati yaitu pertumbuhan (kepadatan populasi, laju pertumbuhan spesifik dan waktu generasi) dan kandungan gizi (kadar protein, lemak dan karbohidrat) *Nannochloropsis* sp. Data pertumbuhan dianalisis menggunakan analisis varian satu arah dan diuji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada selang kepercayaan 95%. Data kandungan gizi dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian dosis urea berbeda pada kultur skala laboratorium memiliki perbedaan yang nyata terhadap pertumbuhan (kepadatan populasi maksimum, laju pertumbuhan spesifik dan waktu generasi) *Nannochloropsis* sp. Pemberian dosis urea 50 ppm paling efektif untuk meningkatkan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dan pemberian dosis urea 40 ppm paling efektif untuk meningkatkan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp. mencapai 67,538%.

Kata kunci: *Nannochloropsis* sp., urea, pertumbuhan, kandungan gizi

**PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN GIZI *Nannochloropsis* sp. YANG
DIISOLASI DARI *LAMPUNG MANGROVE CENTER* DENGAN
PEMBERIAN DOSIS UREA BERBEDA PADA
KULTUR SKALA LABORATORIUM**

Oleh

TIARA DAEFI

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

Judul Skripsi : **PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN GIZI
Nannochloropsis sp. YANG DIISOLASI DARI
LAMPUNG MAGROVE CENTER DENGAN
PEMBERIAN DOSIS UREA BERBEDA PADA
KULTUR SKALA LABORATORIUM**

Nama Mahasiswa : **Tiara Daefi**

No. Pokok Mahasiswa : 1317021076

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

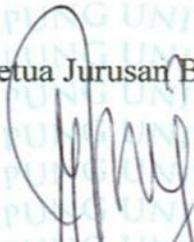


Drs. Tugiyono, M.Si., Ph.D.
NIP 19641119 199003 1 001



Emy Rusyani, S.Pi., M.Si.
NIP 19710928 199403 2 002

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA



Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Drs. Tugiyono, M.Si., Ph.D.**



Sekretaris : **Emy Rusyani, S.Pi., M.Si.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Dra. Sri Murwani, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.

NIP. 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **09 Desember 2016**

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 27 Agustus 1996 di Purwodadi Dalam, Kecamatan Tanjungsari, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara oleh pasangan Bapak Junaidi Juid dan Ibu Windartri.

Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Negeri 1 Purwodadi Dalam Lampung Selatan pada tanggal 25 Mei tahun 2007, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Negeri 1 Tanjungsari Lampung Selatan pada tanggal 7 Mei tahun 2010 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Perintis 1 Bandar Lampung pada tanggal 24 Mei tahun 2013. Penulis melanjutkan pendidikan Strata 1 di Perguruan Tinggi Negeri (PTN) Universitas Lampung pada tahun 2013. Penulis terdaftar sebagai mahasiswi jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri).

Selama menjadi mahasiswi, penulis aktif di Lembaga Kemahasiswaan yang berada di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, yakni HIMBIO (Himpunan Mahasiswa Biologi) sebagai

anggota Biro Danus (Dana dan Usaha) periode 2014-2015. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Fisiologi Tumbuhan di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam masa perkuliahan, pada tahun 2014 penulis melaksanakan Karya Wisata Ilmiah (KWI) selama 7 hari di Desa Mulyosari, Tanjung Sari, Lampung Selatan. Pada tahun 2016, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Periode I selama 60 hari di Desa Bumi Ratu, Rawajitu Selatan, Tulang Bawang. Kemudian penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) Periode I selama 40 hari di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung yang beralamat di Jalan Yos Sudarso, Desa Hanura, Teluk Pandan, Pesawaran dengan judul “Kultur Fitoplankton (*Nannochloropsis* sp.) pada Skala Laboratorium di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung”.

Ilmu yang didapatkan oleh penulis selama Praktik Kerja Lapangan (PKL) dilanjutkan dengan penelitian di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung, menyelesaikan tugas akhirnya dalam bentuk skripsi pada tanggal 09 Desember 2016 dengan judul “Pertumbuhan dan Kandungan Gizi *Nannochloropsis* sp. yang diisolasi dari *Lampung Mangrove Center* dengan Pemberian Dosis Urea Berbeda pada Kultur Skala Laboratorium”.

MOTTO

“Dream, Believe, Achieve”

“Sesuatu itu dikerjakan dan bukan hanya dipikirkan”

“Jangan hilang keyakinan, tetap berdoa dan tetap mencoba”

“Kerjakanlah, wujudkanlah dan raihlah cita-cita dengan memulainya dari usaha, bukan hanya menjadikan beban dalam impian”

“Tiada kemudahan kecuali yang Engkau buat mudah”

“Jangan melihat masa lampau dengan penyesalan, jangan pula melihat masa depan dengan ketakutan, tapi lihatlah sekitar dengan penuh kesadaran”
(James Thurber)

*Penuh rasa syukur kepada Allah SWT.
Saya persembahkan karya ini untuk orang- orang
yang saya cintai dan sayangi*

*Kedua orangtua saya
Papa (Junaidi Juid) dan Mama (Windartri)
yang selama ini menjadi semangat dalam perjuangan
Terimakasih atas doa, cinta kasih, perhatian,
motivasi, dukungan moral dan material*

*Kakak saya, Handy Sugama
Terimakasih atas doa dan segala dukungan*

*Bapak-Ibu Dosen dan Bapak-Ibu Guru
Terimakasih atas ilmu pengetahuan dan
budi pekerti yang telah diberikan*

*Sahabat Tercinta
Senantiasa menjadi penyemangat, selalu memberikan cinta kasih dan
perhatian, selalu mendukung dan memaksami
Meigi Dharmawansyah*

Dan

Asniamater saya Universitas Lampung

Terimakasih

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “Pertumbuhan dan Kandungan Gizi *Nannochloropsis* sp. yang diisolasi dari *Lampung Mangrove Center* dengan Pemberian Dosis Urea Berbeda pada Kultur Skala Laboratorium” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung.

Dengan terselesaikannya skripsi ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Warsito, D.E.A., Ph.D., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung;
2. Ibu Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung;
3. Bapak Drs. Tugiyono, M.Si., Ph.D., selaku Pembimbing Utama sekaligus Pembimbing Akademik atas doa, bimbingan, bantuan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi;
4. Ibu Emy Rusyani, S.Pi., M.Si., selaku Pembimbing Kedua atas doa, bimbingan, bantuan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi;

5. Ibu Dra. Sri Murwani, M.Sc., selaku Penguji Utama pada ujian skripsi.
Terimakasih atas masukan dan saran-saran pada seminar proposal skripsi terdahulu;
6. Bapak Ir. Mimid Abdul Hamid, M.Sc., selaku Kepala Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung atas izin yang diberikan untuk melakukan penelitian;
7. Seluruh Staf administrasi FMIPA Universitas Lampung;
8. Seluruh Staf Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung;
9. Sahabat saya, Lia Setiani Hermawan dan Dwi Octavia atas doa, dukungan dan kebersamaan;
10. Seluruh rekan-rekan Biologi'13 FMIPA Universitas Lampung;
11. Seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penyelesaian skripsi.

Semoga kebaikan mereka menjadi amalan yang tak terbatas dan diberkahi oleh Allah SWT.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa penyusunan dan penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Demikian skripsi ini disusun, semoga dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, Desember 2016
Penulis,

Tiara Daefi

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRACT	ii
ABSTRAK	iii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
MOTTO	ix
HALAMAN PERSEMBAHAN	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	5
C. Manfaat Penelitian	5
D. Kerangka Pemikiran	6
E. Hipotesis	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
A. Ekosistem Mangrove	9
B. Mikroalga sebagai Pakan Hidup	10

- Lampiran 12. Foto Peralatan yang Digunakan dalam Penelitian
- Lampiran 13. Foto *Nannochloropsis* sp.
- Lampiran 14. Lokasi Pengambilan Sampel
- Lampiran 15. Hasil Identifikasi Spesies Mikroalga di perairan *LMC*
- Lampiran 16. Hasil Kualitas Air *Lampung Mangrove Center*
- Lampiran 17. Dokumentasi Penelitian Pendahuluan

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Unsur mikro nutrien dan sumber material	19
2. Bahan-bahan yang digunakan untuk isolasi <i>Nannochloropsis</i> sp. selama penelitian pendahuluan	30
3. Bahan-bahan yang digunakan untuk kultur <i>Nannochloropsis</i> sp. selama penelitian utama	31
4. Alat-alat yang digunakan untuk isolasi <i>Nannochloropsis</i> sp. selama penelitian pendahuluan	31
5. Alat-alat yang digunakan untuk kultur <i>Nannochloropsis</i> sp. selama penelitian utama	32
6. Alat-alat yang digunakan untuk pengukuran kualitas air	33
7. Perlakuan dalam penelitian	34
8. Komposisi pupuk untuk kultur <i>Nannochloropsis</i> sp. skala laboratorium	41
9. Komposisi <i>trace metal solution</i> dan vitamin	41
10. Komposisi larutan pupuk perlakuan	42
11. Nilai rerata kepadatan populasi <i>Nannochloropsis</i> sp. saat pencapaian populasi maksimum pada tiap perlakuan	57
12. Nilai rerata laju pertumbuhan spesifik <i>Nannochloropsis</i> sp. saat pencapaian populasi maksimum pada tiap perlakuan	58
13. Nilai rerata waktu generasi <i>Nannochloropsis</i> sp. saat pencapaian populasi maksimum pada tiap perlakuan	61
14. Kisaran kualitas air selama penelitian pada semua perlakuan	70
15. Hasil identifikasi spesies mikroalga di perairan <i>LMC</i>	107

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Nannochloropsis</i> sp.	12
2. Morfologi sel <i>Nannochloropsis</i> sp.	13
3. Pola pertumbuhan mikroalga	26
4. Pupuk Urea	27
5. Pupuk TSP	28
6. Pupuk ZA	29
7. Tata letak wadah penelitian	34
8. Lokasi pengambilan sampel air dan sampel mikroalga di <i>Lampung Mangrove Center</i>	35
9. Grafik rerata kepadatan populasi <i>Nannochloropsis</i> sp. tiap perlakuan	51
10. Grafik kandungan gizi <i>Nannochloropsis</i> sp. tiap perlakuan.....	63

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Lampung memiliki hutan mangrove seluas $\pm 10.533,676$ hektar (Kordi, 2012) dimana 700 hektar atau 6,65% dari total luas hutan mangrove provinsi Lampung merupakan hutan mangrove Desa Margasari Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur yang masuk dalam kawasan *Lampung Mangrove Center* (Monografi Desa Margasari, 2012), ditetapkan berdasarkan Surat Keputusan Bupati No. 660/305/04/SK/2005/1546/J.26/KL/2005 tanggal 10 Mei 2005.

Ekosistem hutan mangrove memiliki fungsi baik secara fisik, ekonomi maupun ekologi. Fungsi secara ekologi ekosistem hutan mangrove yaitu 1) sebagai tempat mencari makan (*feeding ground*), tempat memijah (*spawning ground*) dan tempat berkembang biak (*nursery ground*) berbagai jenis ikan, udang, kerang dan biota laut lainnya; 2) sebagai tempat berlindung, bersarang, dan berkembangbiak berbagai jenis satwa liar terutama burung; 3) merupakan sumber plasma nutfah; dan 4) menghasilkan unsur hara yang menjadi sumber nutrisi bagi mikroalga sehingga penting bagi keberlanjutan rantai makanan (Kusmana dkk., 2003).

Pada ekosistem hutan mangrove, tumbuh dan berkembang berbagai jenis mikroalga yang berpotensi sebagai biotarget industri (Bahtiar, 2007). Mikroalga merupakan sumber daya hayati perairan yang kini mulai menjadi fokus penelitian karena manfaatnya sangat besar, salah satunya untuk menunjang budidaya organisme perairan (Fulks dan Main, 1991). Sinar matahari sebagai sumber fotosintesis dan unsur hara yang tinggi dalam ekosistem hutan mangrove menyebabkan produktivitas mikroalga tinggi sehingga akan meningkatkan jumlah dan keanekaragaman jenis biota laut lainnya seperti ikan. Peranan penting mikroalga dalam ekosistem perairan, berpotensi untuk dikembangkan sebagai pakan hidup melalui isolasi dari alam dan dikulturkan skala laboratorium (Tjahjo dkk., 2002).

Berdasarkan hasil penelitian Tugiyono dkk. (2013) dari hasil analisis isi lambung pada 13 jenis ikan yang ditangkap di *Lampung Mangrove Center* diketahui tiga jenis mikroalga yang paling banyak ditemukan yaitu *Nannochloropsis* sp., *Tetraselmis* sp. dan *Nitzschia* sp. Dari ketiga jenis mikroalga tersebut, dipilih *Nannochloropsis* sp. sebagai objek penelitian berdasarkan berbagai pertimbangan bahwa 1) *Nannochloropsis* sp. telah banyak digunakan sebagai pakan hidup untuk menunjang budidaya organisme perairan khususnya kegiatan pembenihan ikan laut; 2) memiliki kandungan gizi tinggi; 3) mudah tumbuh dalam berbagai kondisi lingkungan (Martosudarmo dan Wulani, 1990); 4) mempunyai kecepatan pertumbuhan yang tinggi sehingga masa panennya cepat (Griffiths dan Harrison, 2009);

dan 5) penelitian lain berkaitan dengan *Nannochloropsis* sp. cukup banyak dilakukan sehingga dapat dijadikan pembandingan.

Dalam kondisi normal pada ekosistem perairan alam, keanekaragaman pakan hidup tersedia secara cukup bahkan melimpah dan dapat dimanfaatkan oleh organisme perairan setiap trofik level secara efisien. Permasalahan mengenai kebutuhan pakan hidup akan muncul sejalan dengan kegiatan budidaya.

Pakan hidup merupakan faktor penting dalam budidaya ikan yang bersifat komersial, udang, teripang, kerang dan komoditi lainnya baik pada stadium awal maupun dewasa (Fulks dan Main, 1991).

Fungsi pakan hidup pada tingkatan tertentu masih belum dapat digantikan oleh pakan buatan, karena kemampuan larva dalam mencerna pakan buatan masih sangat terbatas (Rusyani dkk., 2007). Selanjutnya untuk memenuhi kebutuhan pakan hidup maka banyak digunakan pakan hidup instan dalam bentuk pasta atau dormansi dalam bentuk *powder* yang diproduksi oleh pabrik dan merupakan barang impor, sehingga harganya sangat mahal.

Berdasarkan PP. No. 75 tahun 2015 bahwa harga *Nannochloropsis* sp. dalam bentuk *powder* mencapai Rp. 2.000.000/kg sedangkan dalam bentuk pasta Rp. 250.000/L.

Harga *Nannochloropsis* sp. dalam bentuk *powder* dan pasta yang mahal disebabkan oleh tingginya biaya untuk memproduksi *Nannochloropsis* sp. khususnya dalam penggunaan pupuk pertumbuhan di media kultur mikroalga

tersebut. Penggunaan pupuk pro analisis laboratorium sebagai nutrisi media pertumbuhan mikroalga secara umum telah terbukti berpengaruh baik secara signifikan terhadap pertumbuhan mikroalga (Shelef dan Soeder, 1980).

Namun dalam segi pembiayaan dinilai kurang ekonomis mengingat harga masing-masing komponen cukup mahal, sehingga perlu dicari alternatif lain seperti penggunaan pupuk pertanian yang harganya relatif murah dibanding pupuk pro analisis laboratorium (Prabowo, 2009).

Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) pupuk pertanian umumnya hanya digunakan untuk kultur mikroalga skala massal, karena pada tahap tersebut kondisi optimal pertumbuhan mikroalga telah tercapai sehingga peran nutrisi tidak lagi signifikan seperti pada fase lag di laboratorium. Mengingat komersialisasi pemanfaatan selalu berkaitan dengan tingkat efisiensi, efektivitas dan nilai ekonomi dalam proses produksinya, maka penelitian berkaitan dengan penggunaan pupuk pertanian seperti Urea, TSP, dan ZA perlu dilakukan pada kultur skala laboratorium.

Pertumbuhan mikroalga dapat ditingkatkan dengan penggunaan dosis pupuk yang tepat. Berbagai penelitian untuk meningkatkan pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis* sp. telah banyak dilakukan. Salah satu unsur makronutrien yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroalga adalah nitrogen. Kandungan nitrogen pada pupuk urea mencapai 46%. Unsur N merupakan komponen utama pembentuk protein dalam sel sebagai bagian dasar kehidupan organisme (Rusyani dkk., 2007).

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan mengenai pertumbuhan dan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp. yang diisolasi dari *Lampung Mangrove Center* dengan pemberian dosis urea yang berbeda pada kultur skala laboratorium.

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Membuat kultur isolat murni *Nannochloropsis* sp. yang diambil dari lima lokasi berbeda di *Lampung Mangrove Center* pada skala laboratorium.
2. Mengetahui pertumbuhan dan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp. yang diisolasi dari *Lampung Mangrove Center* dengan pemberian dosis urea berbeda pada kultur skala laboratorium.
3. Menentukan dosis urea paling efektif dalam media pupuk pertanian terhadap pertumbuhan dan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp.

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pembuatan kultur isolat murni *Nannochloropsis* sp. pada skala laboratorium; dan penggunaan dosis urea paling efektif dalam media pupuk pertanian untuk meningkatkan pertumbuhan dan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp. yang diisolasi dari *Lampung Mangrove Center*.

D. Kerangka Pemikiran

Ekosistem hutan mangrove memiliki banyak fungsi baik secara fisik, ekologi maupun ekonomi. Secara ekologi, ekosistem hutan mangrove sangat berarti bagi sumbangan unsur hara bagi flora dan fauna yang hidup di daerah tersebut maupun kaitannya dengan perputaran hara dalam ekosistem mangrove. Tingginya unsur hara dalam ekosistem hutan mangrove menjadi sumber makanan bagi mikroalga sehingga penting bagi keberlanjutan rantai makanan. Meningkatnya produktivitas mikroalga maka akan meningkatkan jumlah dan keanekaragaman jenis biota laut lainnya seperti ikan.

Mikroalga sebagai tumbuhan mikroskopis bersel tunggal, yang tumbuh dan berkembang dengan memanfaatkan unsur hara dan sinar matahari maka termasuk dalam organisme autotrof yang dapat melakukan fotosintesis.

Dalam ekosistem, organisme ini berperan sebagai *balance system* pada suatu perairan selain itu juga banyak dikembangkan sebagai pakan hidup organisme perairan, sehingga perlu dilakukan isolasi dan budidayanya.

Salah satu mikroalga yang telah diisolasi dari ekosistem hutan mangrove pada *Lampung Mangrove Center* dan akan dikembangkan sebagai pakan hidup untuk menunjang budidaya organisme perairan khususnya dalam kegiatan pembenihan ikan laut adalah *Nannochloropsis* sp., karena memiliki ukuran sesuai dengan bukaan mulut zooplankton, mudah dicerna, kandungan gizi tinggi dan kecepatan pertumbuhan tinggi sehingga masa panennya cepat.

Saat ini beberapa perusahaan budidaya ikan dalam skala besar terkendala dalam memenuhi ketersediaan pakan hidup dan biasanya mengimpor dalam bentuk konsentrat tinggi (gel atau pasta) maupun *powder* dan harganya sangat mahal. Hal ini disebabkan oleh penggunaan pupuk pro analisis dalam produksi *Nannochloropsis* sp. yang sangat mahal, sehingga tidak dapat terjangkau bagi pelaku *Hatchery* Skala Rumah Tangga (HSRT) dan masyarakat. Oleh sebab itu perlu dicari alternatif penggunaan pupuk seperti pupuk pertanian yang cukup murah, mudah diperoleh dan mampu mendukung pertumbuhan dan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp.

Penggunaan dosis pupuk yang tepat dapat meningkatkan pertumbuhan mikroalga berdasarkan berbagai penelitian yang telah dilakukan. Nitrogen merupakan salah satu unsur makronutrien yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroalga sebagai komponen utama pembentuk protein dalam sel, yang merupakan bagian dasar kehidupan organisme. Kandungan nitrogen pada pupuk urea mencapai 46%. Oleh sebab itu, pada penelitian ini akan diuji penggunaan dosis urea yang tepat dalam media pupuk pertanian untuk memenuhi kebutuhan nitrogen pada kultur *Nannochloropsis* sp. yang diisolasi dari *Lampung Mangrove Center*. Penggunaan dosis urea yang tepat dalam media pupuk pertanian pada penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi paling efektif dalam meningkatkan pertumbuhan dan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp.

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah pemberian dosis urea 50 ppm dapat meningkatkan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dan pemberian dosis urea 40 ppm dapat meningkatkan kandungan gizi *Nannochloropsis* sp.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Ekosistem Mangrove

Hutan mangrove adalah suatu tipe hutan yang tumbuh di daerah pasang surut (terutama di pantai yang terlindung, laguna dan muara sungai) yang tergenang waktu air laut pasang dan bebas dari genangan pada saat air laut surut, yang komunitas tumbuhannya toleran terhadap garam. Sedangkan ekosistem mangrove merupakan suatu sistem yang terdiri atas organisme yang berinteraksi dengan faktor lingkungan di dalam suatu habitat mangrove (Kusmana dkk., 2003).

Fungsi ekosistem hutan mangrove menurut Arief (2003) dibedakan menjadi tiga macam yaitu fungsi fisik, fungsi ekonomi dan fungsi ekologi. Fungsi fisik ekosistem hutan mangrove yaitu 1) menjaga garis pantai dan tebing; menjaga sungai dari erosi/abrasi agar tetap stabil; 3) mempercepat perluasan lahan; 4) mengendalikan intrusi air laut; 5) melindungi daerah belakang mangrove atau pantai dari hempasan gelombang dan angin kencang; 6) menjadi kawasan penyangga terhadap rembesan air laut (intrusi); dan 7) mengolah bahan limbah organik. Fungsi ekonomi ekosistem hutan mangrove yaitu 1) merupakan penghasil kayu sebagai sumber bahan bakar (arang, kayu bakar) dan bahan bangunan (balok, atap rumah, tikar); 2) memberikan hasil

hutan bukan kayu seperti madu, obat-obatan, minuman serta makanan, tanin dan lain-lain; 3) merupakan lahan untuk produksi pangan dan tujuan lain (pemukiman, pertambangan, industri, infrastruktur, transportasi, rekreasi dan lain-lain). Fungsi ekologi ekosistem hutan mangrove yaitu 1) sebagai tempat mencari makan (*feeding ground*), tempat memijah (*spawning ground*) dan tempat berkembang biak (*nursery ground*) berbagai jenis ikan, udang, kerang dan biota laut lainnya; 2) sebagai tempat berlindung, bersarang, dan berkembangbiak berbagai jenis satwa liar terutama burung; 3) merupakan sumber plasma nutfah; dan 4) menghasilkan unsur hara yang menjadi sumber makanan bagi mikroalga sehingga penting bagi keberlanjutan rantai makanan. Menurut Saenger dkk. (1983) ekosistem hutan mangrove juga berperan dalam pendidikan, penelitian dan pariwisata. Bahkan menurut FAO (1982), di kawasan Asia dan Pasifik, areal hutan mangrove juga digunakan sebagai bahan cadangan untuk transmigrasi, industri minyak, pemukiman dan peternakan.

B. Mikroalga sebagai Pakan Hidup

Mikroalga memiliki peranan yang sangat besar yaitu sebagai dasar dari suatu rantai makanan dalam ekosistem perairan, sehingga mikroalga digunakan sebagai pakan hidup untuk menunjang budidaya organisme perairan yang bersifat komersial. Saat ini lebih dari 40 spesies mikroalga yang telah berhasil dibudidayakan, guna menunjang kegiatan pembenihan ikan (Fulks dan Main, 1991).

Pemilihan jenis pakan hidup untuk organisme budidaya merupakan prakultur yang harus dicermati dengan baik (Coutteau, 1996). Spesies yang dikultur di unit pembenihan harus berpedoman pada spesies target. Beberapa faktor lain yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pakan hidup yaitu ukuran harus sesuai dengan bukaan mulut, mudah dicerna, tidak beracun, mudah dikultur secara massal dan mengandung gizi tinggi (Brown dkk., 1997; Fulks dan Main, 1991).

Mikroalga yang sudah dikembangkan untuk menunjang kegiatan pembenihan ikan laut antara lain *Nannochloropsis* sp., *Tetraselmis* sp., *Dunaliella* sp., *Chaetoceros* sp., *Isochrysis* sp. dan *Scenedesmus* sp. (Martosudarmo dan Wulani, 1990). Jenis-jenis mikroalga yang dapat digunakan sebagai pakan hidup karena mempunyai gizi yang tinggi yaitu *Nannochloropsis* sp., *Tetraselmis* sp., dan *Dunaliella* sp. (Tjahjo dkk., 2002). Menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) bahwa ketiga jenis mikroalga tersebut melimpah di perairan Lampung dan harus diisolasi dengan berbagai metode isolasi.

Hasil isolasi jenis mikroalga ini selain mempunyai gizi yang cukup tinggi juga mudah tumbuh dalam berbagai lingkungan, siklus hidupnya sangat pendek, sehingga memungkinkan dikultur secara massal dengan pemupukan (Martosudarmo dan Wulani, 1990). Kultur massal *Nannochloropsis* sp., *Tetraselmis* sp., dan *Dunaliella* sp. tidak akan menimbulkan racun bahkan memiliki kandungan antibiotik yang cukup tinggi (Fulks dan Main, 1991).

C. Biologi *Nannochloropsis* sp.

1. Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *Nannochloropsis* sp. menurut Adehoog dan Simon (2001) sebagai berikut:

Regnum: Protista

Divisio: Chromophyta

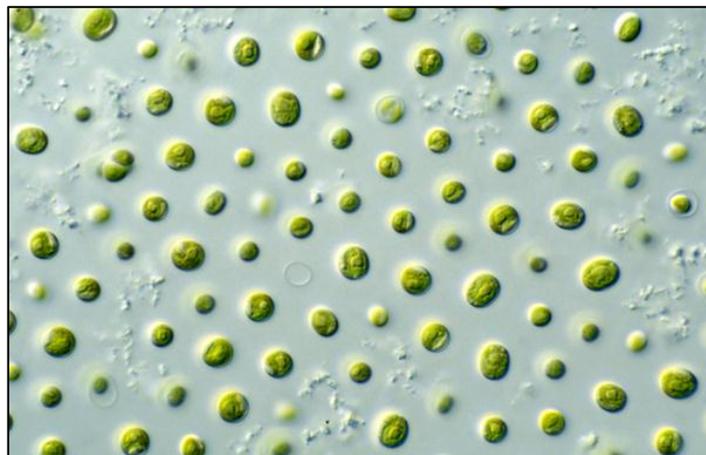
Classis: Eustigmatophyceae

Ordo: Eustigmatales

Familia: Monodopsidaceae

Genus: *Nannochloropsis*

Spesies: *Nannochloropsis* sp. (Gambar 1)

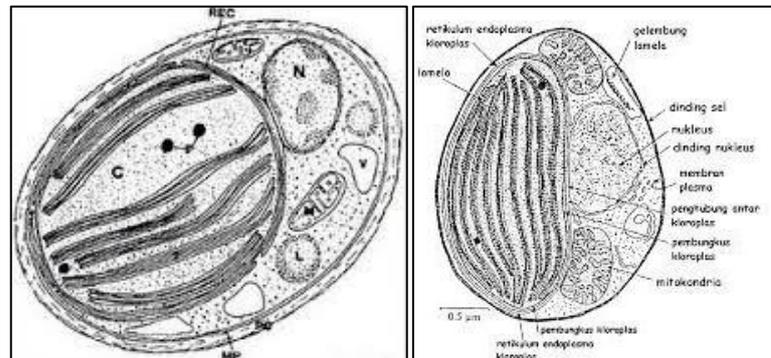


Gambar 1. *Nannochloropsis* sp. (CSIRO, 2009)

Nannochloropsis sp. merupakan mikroalga berwarna hijau kuning, berbentuk bola, berukuran kecil dengan diameter 2-4 μm .

Nannochloropsis sp. memiliki dinding sel, mitokondria, kloroplas dan nukleus yang dilapisi membran. Kloroplas berbentuk seperti lonceng yang terletak di tepi sel dan memiliki stigma (bintik mata) yang bersifat sensitif terhadap cahaya. *Nannochloropsis* sp. dapat berfotosintesis

karena memiliki klorofil a dan c. Ciri khas dari mikroalga ini adalah memiliki dinding sel yang terbuat dari komponen selulosa (Gambar 2) (Sleigh, 1989; Brown dkk., 1997).



Gambar 2. Morfologi sel *Nannochloropsis* sp. (Adehoog dan Simon, 2001)

2. Habitat dan Ekologi

Nannochloropsis sp. bersifat kosmopolit, dapat ditemukan hampir di semua jenis perairan baik laut maupun tawar. *Nannochloropsis* sp. dapat tumbuh pada salinitas 0-35 ‰. Salinitas optimum untuk pertumbuhannya adalah 25-35 ‰ dengan kisaran suhu optimal yaitu 25-30 °C.

Nannochloropsis sp. dapat tumbuh baik pada kisaran pH 8,0-9,5 dan intensitas cahaya 1.000-10.000 lux (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Menurut Restiada dkk. (2008), standar oksigen terlarut untuk kehidupan organisme di laut adalah > 3,0 mg/L.

3. Kandungan Gizi *Nannochloropsis* sp.

Nannochloropsis sp. memiliki sejumlah kandungan gizi dan pigmen seperti protein (52,11 %), karbohidrat (16 %), lemak (27,64 %), vitamin C (0,85 %) dan klorofil A (0,89 %) (Anon dkk., 2009). Laven dan

Sorgeloos (1996) melaporkan bahwa kandungan protein *Nannochloropsis* sp. sebesar 37 %, karbohidrat 18 % dan lemak sebesar 7,8 % berat kering. *Nannochloropsis* sp. memiliki kandungan minyak mentah yang cukup tinggi yaitu maksimal mencapai 68 % (Susilaningsih dkk., 2009).

Nannochloropsis sp. mengandung vitamin B12 dan *Eicosapentaenoic acid* (EPA) masing – masing 30,5 % dan total kandungan omega 3 *Highly unsaturated Fatty acids* (HUFAs) sebesar 42,7 %. Komposisi asam lemak pada *Nannochloropsis* sp. lebih tinggi dibandingkan jenis mikroalga yang lain (Fulks dan Main 1991). *Nannochloropsis* sp. juga mengandung komponen antioksidan yang tinggi seperti karotenoid, astaxanthin, kantaxanthin, flavoxanthin, loraxanthin, neoxanthin dan sebagian fenolik (Hasegawa dkk., 1990).

4. Reproduksi

Nannochloropsis sp. bereproduksi secara aseksual dengan cara membelah diri dan membentuk autospora. Setiap sel yang sudah masak akan membelah diri dan menghasilkan dua dan empat autospora. Autospora adalah spora non flagela yang bentuknya menyerupai sel induknya, tetapi mempunyai ukuran tubuh lebih kecil. Autospora yang telah dihasilkan dibebaskan dari sel induk melalui penghancuran dinding sel dewasa dan berkembang hingga mencapai ukuran sel induknya (Barsanti dan Gualtieri, 2006).

D. Isolasi dan Kultur Murni Mikroalga

1. Isolasi

Prinsip dasar isolasi yaitu memurnikan spesies mikroalga yang tercampur jenis lain atau memilih spesies mikroalga tertentu apabila diperoleh dari perairan alam. Metode isolasi tergantung ukuran dan karakteristik mikroalga. Ada lima metode yang dapat dilakukan yaitu (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995):

a) Metode isolasi secara biologis

Isolasi berdasarkan pergerakan oleh pengaruh fototaksis positif.

Organisme akan bergerak menuju sumber cahaya.

b) Metode isolasi pengenceran berseri

Isolasi pada organisme yang banyak dan salah satunya dominan.

Caranya dengan memindahkan sampel ke tabung reaksi erlenmeyer berulang-ulang hingga diperoleh bibit murni.

c) Metode isolasi pengulangan sub-kultur

Isolasi ini dilakukan pada organisme yang jumlah dan jenisnya sedikit.

Caranya seperti pengenceran berseri, tetapi media bermacam-macam.

d) Metode isolasi pipet kapiler

Isolasi dengan memasukkan 10-15 tetes ke tengah cawan petri dan

kemudian dimasukkan 6-8 tetes media di sekelilingnya.

e) Metode isolasi goresan/ metode agar

Isolasi untuk mikroalga sel tunggal. Media yang digunakan adalah

agar-agar 1,5 % dicampur dengan air laut dan dididihkan hingga larut.

Dipupuk dan disterilkan dengan *autoclave*. Didinginkan pada cawan

petri atau pada tabung dalam posisi miring. Air sampel digoreskan dengan jarum ose. Diberi cahaya dari lampu TL 40 watt. Cawan dalam posisi terbalik untuk menghindari kekeringan. Hasil kultur murni dikembangkan dalam media cair.

2. Kultur Murni

Kultur murni merupakan kegiatan penggandaan mikroalga dalam ruangan terkendali, biasanya di laboratorium sehingga didapatkan monospesies mikroalga dalam jumlah cukup sebagai stok pengembangan dikultur skala massal. Bibit kultur murni ini diperoleh dari hasil isolasi, dimulai dari tabung reaksi volume 10-15 mL, kemudian erlenmeyer 100 mL, 250 mL, 500 mL, botol kultur 1 liter, 3 liter dan 5 liter dengan pemberian pupuk yang sesuai (Rusyani dkk., 2007).

E. Media Pertumbuhan

Dalam budidaya mikroalga media kultur digunakan sebagai tempat untuk bertumbuh dan berkembang biak. Menurut Suriawira (1985) susunan bahan baik bahan alami maupun bahan buatan yang digunakan untuk perkembangan dan perkembangbiakan dinamakan media. Organisme dapat tumbuh dan berkembang dengan baik di dalam media, diperlukan persyaratan tertentu yaitu:

1. Media tersedia unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan.

2. Media harus mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai.
3. Media dalam keadaan steril.

Media yang digunakan dalam budidaya mikroalga berbentuk cair yang di dalamnya terkandung beberapa senyawa kimia (pupuk) yang merupakan sumber nutrisi untuk keperluan hidupnya. Media atau substrat tempat tumbuh dan berkembangnya mikroalga, terdiri dari komponen kimia yang diramu atau dikombinasikan sedemikian rupa dalam bentuk formula media, sehingga akan menghasilkan pertumbuhan dan produksi sel yang tinggi.

Seperti halnya pada semua makhluk hidup, untuk dapat berkembang biak dan melakukan aktifitas secara wajar memerlukan sumber makanan yang lengkap dan seimbang. Jika salah satu unsur nutrisi berlebihan atau kurang maka pertumbuhanpun akan terganggu.

Pertumbuhan dan perkembangan mikroalga memerlukan berbagai nutrisi yang diabsorpsi dari luar (media). Hal ini berarti ketersediaan unsur makro nutrisi dan mikro nutrisi dalam media tumbuhnya mutlak diperlukan (Chen dan Shetty, 1991). Menurut Borowitzka (1988) unsur nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah besar disebut unsur makro nutrisi sedangkan unsur nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah relatif sedikit disebut unsur mikro nutrisi.

Adapun unsur makro nutrisi yang dibutuhkan dalam media pertumbuhan mikroalga antara lain:

1. Nitrogen (N)

Unsur N merupakan komponen utama dari pembentuk protein dalam sel yang merupakan bagian dasar kehidupan organisme. Sumber N dapat diperoleh dari KNO_3 , NaNO_3 , NH_4Cl , $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (urea) dan lain-lain (Chen dan Shetty, 1991).

2. Fosfor (P)

Unsur P sangat dibutuhkan dalam proses protoplasma dan inti sel. P juga merupakan bahan dasar pembentuk asam nukleat, fosfolipida, enzim dan vitamin. P sangat berperan nyata dalam semua aktifitas kehidupan mikroalga. Sumber P dapat diperoleh dari KH_2PO_4 , NaH_2PO_4 , Ca_3PO_4 (TSP) dan lain-lain. Menurut Dwijoseputro (1994) unsur P dibutuhkan untuk pembentukan pospolipida dan nukleoprotein. Posporilasi dalam fotosintesis juga banyak melibatkan P untuk membentuk senyawa berenergi tinggi.

3. Kalium (K)

Unsur K selain berperan dalam pembentukan protoplasma juga berperan penting dalam kegiatan metabolisme, satu kation anorganik utama di dalam sel dan kofaktor untuk beberapa koenzim (Kurniastuty dan Julinasari, 1995). Sumber K dapat diperoleh dari KCl , KNO_3 dan KH_2PO_4 . Unsur K juga dapat di jumpai secara melimpah dalam air laut. Penggunaan K sangat dibutuhkan dalam media kultur jika akan digunakan air laut buatan (Brown dkk., 1997; Chen dan Shetty, 1991; Watanabe, 1985; dan Suriawiria, 1985).

4. Magnesium (Mg)

Unsur Mg merupakan kation sel yang utama dan bahan dasar klorofil.

Kation sel yang utama, kofaktor anorganik untuk banyak reaksi enzimatik berfungsi di dalam penyatuan substrat dan enzim. Dari hasil penelitian Chen dan Shetty (1991), kandungan Mg pada air laut sangat tinggi yaitu 1.200 ppm/liter.

5. Sulfur (S)

Unsur S juga merupakan salah satu elemen penting yang dibutuhkan dalam pembentukan protein. Sumber S dapat diperoleh dari NH_4SO_4 (ZA), CuSO_4 dan lain-lain (Watanabe, 1985).

6. Kalsium (Ca)

Unsur Ca berperan dalam penyalarsan dan pengaturan aktifitas protoplasma dan kandungan pH di dalam sel. Sumber Ca dapat diperoleh dari CaCl_2 dan $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (Chen dan Shetty, 1991).

Unsur mikro nutrien meskipun dibutuhkan dalam jumlah sedikit namun keberadaannya sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan mikroalga (Chen dan Shetty, 1991). Adapun unsur mikro nutrien yang dibutuhkan dalam media pertumbuhan mikroalga antara lain dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Unsur mikro nutrien dan sumber material

No	Unsur Mikro Nutrien	Sumber Material
1	Boron (Bo)	H_3BO_3
2	Mangan (Mn)	MnCl_2
3	Seng (Zn)	ZnCl_2
4	Kobalt (Co)	CoCl_2
5	Molibdenum (Mo)	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
6	Tembaga (Cu)	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Masing-masing spesies kebutuhan unsur tersebut tidak sama, tergantung pada komposisi kimia. Berdasarkan studi penelitian dinyatakan bahwa unsur N dalam bentuk nitrat dan P dalam bentuk fosfor merupakan dua unsur pokok yang harus tersedia dalam media kultur mikroalga (Laven dan Soergeloos, 1996; Fogg, 1987; dan Bougis, 1979). Sedangkan formula yang dianggap cocok untuk kultur *Nannochloropsis* sp. antara lain formula EDTA (Kurniastuty dan Julinasari, 1995), formula Alen-Nelson dan formula Miquel (Borowitzka, 1988), formula Guillard (Laven dan Soergeloos, 1996) dan formula Conwy (Brown dkk., 1997).

F. Faktor Lingkungan yang Berpengaruh Terhadap Pertumbuhan

***Nannochloropsis* sp.**

Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis* sp. antara lain cahaya, suhu, pH, kandungan CO₂ bebas dan salinitas (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

1. Cahaya

Cahaya merupakan sumber energi untuk melakukan fotosintesis. Pada budidaya mikroalga di dalam laboratorium, cahaya matahari dapat digantikan dengan sinar lampu TL (*Tube Luminescent*) dengan intensitas cahaya antara 1.000-10.000 lux (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Intensitas cahaya adalah jumlah cahaya yang mengenai satu satuan permukaan, satuannya adalah *foot-candle* atau lux. Kisaran intensitas cahaya optimum bagi pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis* sp. adalah 2.000-8.000 lux (Laven dan Soergeloos, 1996).

2. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor penting yang sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan laju pertumbuhan mikroalga. Suhu secara langsung mempengaruhi efisiensi fotosintesis dan merupakan faktor yang menentukan dalam pertumbuhan mikroalga. Kondisi laboratorium, perubahan suhu air dipengaruhi oleh suhu ruangan dan intensitas cahaya, sedangkan kondisi di luar ruangan dalam kultur skala massal, suhu dipengaruhi oleh keadaan cuaca (Coutteau, 1996). Selanjutnya Lakitan (2007) menjelaskan di dalam proses metabolisme terjadi suatu rangkaian reaksi kimia maka kenaikan suhu sampai pada batas nilai tertentu, dapat mempercepat proses metabolisme, tetapi pada suhu tinggi yang melebihi suhu maksimum akan menyebabkan denaturasi protein dan enzim. Hal ini akan menyebabkan terhentinya proses metabolisme dalam sel. Menurut pendapat Nybakken (1992) temperatur tinggi 40 °C dapat menonaktifkan atau mematikan enzim di dalam tubuh organisme. Kisaran suhu optimum bagi pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis* sp. adalah 25-30 °C (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Menurut Ismi (1996) bahwa pada suhu 15 °C, 20 °C dan 25 °C menghasilkan perkembangan populasi yang baik dibandingkan suhu 30 °C.

3. pH

Sel mikroalga sangat peka terhadap derajat keasaman cairan yang mengelilinginya. Derajat keasaman diukur pada skala satuan pH (Kimball, 1999). Batas pH untuk pertumbuhan jasad merupakan suatu gambaran dari batas pH bagi kegiatan enzim (Van Den Hoek dkk., 1995).

Kisaran pH optimum bagi pertumbuhan mikroalga *Nannochloropsis* sp. adalah 8,0-9,5 (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

4. Kandungan CO₂ Bebas

Tersedianya CO₂ di dalam media kultur merupakan faktor penting untuk mikroalga, karena secara langsung dipakai sebagai bahan untuk membentuk molekul-molekul organik melalui proses fotosintesa.

Karbon dioksida dengan kadar < 5 % biasanya sudah cukup digunakan dalam kultur mikroalga (Panggabean dkk., 2010). Kadar karbon dioksida yang berlebih dapat menyebabkan pH kurang dari batas optimum sehingga akan berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga (Taw, 1990)

Dalam budidaya mikroalga suplai O₂ terlarut ke dalam media kultur biasanya dilakukan dengan pemberian aerasi melalui *blower* (pompa udara), aerasi juga berfungsi untuk meratakan sebaran nutrisi yang ada (Burkhard dkk., 1999).

5. Salinitas

Sebagai salah satu organisme yang hidup di dalam air, salinitas merupakan salah satu faktor pembatas bagi pertumbuhan dan perkembangan mikroalga. Fluktuasi salinitas secara langsung menyebabkan perubahan tekanan osmosis di dalam sel mikroalga.

Salinitas yang terlalu tinggi atau terlalu rendah, menyebabkan tekanan osmosis di dalam sel menjadi lebih rendah atau lebih tinggi, sehingga aktifitas sel menjadi terganggu. Hal ini dapat mempengaruhi pH sitoplasma sel dan menurunkan kegiatan enzim di dalam sel (Rusyani, dkk., 2007). *Nannochloropsis* sp. dapat tumbuh pada salinitas 0-35 ‰.

Kisaran salinitas optimum bagi pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. adalah 25-35 ‰ (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

G. Pola Pertumbuhan Mikroalga

Pertumbuhan adalah biosintesis yang menyebabkan bertambahnya substansi atau protoplasma berupa perbanyakan sel, pembesaran sel, dan penggabungan berbagai materi dari sekitar sel. Untuk mikroalga *Nannochloropsis* sp., pertumbuhan diartikan sebagai pertambahan jumlah sel (Dwijoseputro, 1994). Pertumbuhan suatu jasad dapat ditinjau dari dua segi yaitu pertumbuhan dari segi sel dan pertumbuhan dari segi populasi. Pertumbuhan sel diartikan sebagai adanya penambahan volume sel serta bagian-bagian sel lainnya, yang diartikan juga penambahan kuantitas isi atau kandungan di dalam selnya. Pertumbuhan populasi merupakan akibat dari adanya pertumbuhan sel, misalnya satu sel menjadi dua sel, dari dua sel menjadi empat sel dan seterusnya hingga jutaan jumlahnya (Lakitan, 2007).

Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dalam kultur dengan media yang terbatas umumnya sangat dipengaruhi oleh suhu, salinitas, cahaya, pH, aerasi dan nutrisi. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan Divisi Pakan Hidup BBPBL tahun 2008 diperoleh data rata-rata pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. pada hari ke-7 mengalami penurunan dan mencapai fase puncak pertumbuhan pada hari ke-5. Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai kepadatan tertinggi bervariasi, tergantung pada beberapa faktor yaitu kualitas bibit, padat penebaran, intensitas cahaya, pupuk dan kualitas air.

Pertambahan sel dalam kultur tersebut akan mengikuti pola tertentu, yaitu kurva S atau Sigmoid.

Pola pertumbuhan dibagi menjadi lima fase pertumbuhan sebagai berikut: (Pelczar dkk., 1986). Pola tersebut dapat dilihat pada gambar 3.

1. Fase lag

Fase ini ditandai dengan peningkatan populasi yang tidak nyata. Fase ini disebut sebagai fase adaptasi terhadap kondisi lingkungan, karena sel mikroalga sedang beradaptasi terhadap media tumbuhnya. Pada fase ini sel alga tersebut tetap hidup, namun tidak berkembang biak. Lamanya fase lag tergantung pada inokulan yang dimasukkan. Sel-sel yang diinokulasikan pada awal fase logaritmik akan mengalami fase lag yang amat singkat. Inokulan yang berasal dari kultur yang sudah tua akan mengalami fase lag yang lama, karena membutuhkan waktu untuk menyusun enzim-enzim yang tidak aktif lagi (Pelczar dkk., 1986).

2. Fase eksponensial

Fase ini ditandai dengan naiknya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat beberapa kali lipat. Fase eksponensial karena pesatnya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat melalui pembelahan sel dan apabila dihitung secara matematis membentuk fungsi logaritma. Pada fase ini sel mikroalga sedang aktif berkembang biak. Ciri metabolisme selama fase eksponensial ini adalah tingginya aktivitas yang berguna untuk pembentukan protein dan komponen penyusun plasma sel yang dibutuhkan dalam pertumbuhan (Laven dan Soergeloos, 1996).

3. Fase penurunan laju pertumbuhan

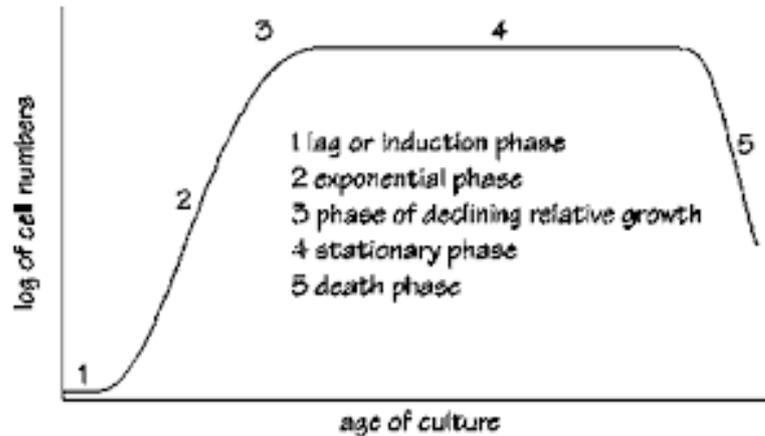
Fase ini ditandai dengan terjadinya penurunan laju pertumbuhan jika dibandingkan dengan fase eksponensial. Fase penurunan karena terjadi penurunan pertambahan populasi persatuan waktu bila dibandingkan dengan fase eksponensial (Pelczar dkk., 1986).

4. Fase stasioner

Fase ini ditandai dengan seimbangnya laju pertumbuhan dengan laju kematian. Fase statis karena pertambahan kepadatan populasi seimbang dengan laju kematian sehingga sepertinya tidak ada lagi adanya pertumbuhan populasi. Jumlah sel cenderung tetap diakibatkan sel telah mencapai titik jenuh. Pertumbuhan sel yang baru dihambat oleh keberadaan sel yang telah mati dan faktor pembatas lainnya. Faktor lain yang dapat menghambat pertumbuhan kultur yang terlalu padat sehingga terbentuk bayangan oleh mikroalga itu sendiri, sehingga terjadi pembatasan dalam bentuk penggunaan cahaya (Laven dan Sorgeloos, 1996).

5. Fase kematian

Fase ini ditandai dengan kepadatan populasi yang terus berkurang, hal ini dikarenakan laju kematian yang lebih tinggi dari pada laju pertumbuhan (Pelczar dkk., 1986).



Gambar 3. Pola pertumbuhan mikroalga (Laven dan Sorgeloos, 1996)

H. Pupuk Pertanian

Berbagai jenis pupuk pertanian dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi. Pupuk-pupuk tersebut dibedakan terutama berdasarkan unsur hara yang dikandungnya.

1. Urea

Urea adalah senyawa organik yang tersusun dari unsur karbon, hidrogen, oksigen dan nitrogen dengan rumus $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$. Urea juga dikenal dengan nama *carbamide* yang terutama digunakan di kawasan Eropa. Nama lain yang juga sering dipakai adalah *carbamide resin*, *isourea*, *carbonyl diamide* dan *carbonyldiamine*. Urea ditemukan pertama kali oleh Hilaire Roulle pada tahun 1773. Senyawa ini merupakan senyawa organik pertama yang berhasil disintesis dari senyawa anorganik. Tahun 1828, Friedrich Woehler berhasil membuat urea secara sintetis. Pada tahun 1992, Bosh dan Meiser berhasil menemukan cara produksi urea dengan bahan dasar ammonia dan karbondioksida. Proses ini dinilai lebih efisien dibanding proses yang ditemukan oleh Woehler (Overdahl dkk., 1991).

Pupuk urea adalah pupuk kimia yang mengandung Nitrogen (N) berkadar tinggi. Pupuk urea mampu menambah kandungan protein di dalam tanaman. Proses reproduksi urea secara massal dan komersial umumnya difokuskan untuk mencukupi kebutuhan pupuk pertanian karena kandungan nitrogennya yang cukup tinggi (sekitar 46%) merupakan sumber nitrogen yang baik bagi pertumbuhan mikroalga. Urea memiliki sifat yang mudah menyerap uap air yang ada di udara dan memiliki kelarutan yang tinggi di dalam air (Overdahl dkk., 1991).

Tampilan fisik pupuk urea yang tersedia di pasaran umumnya berbentuk kristal dengan berbagai ukuran tergantung pada produsen yang membuatnya (Overdahl dkk., 1991). Bentuk pupuk urea dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pupuk urea (Seacret, 2016)

2. TSP (*Triple Super Phosphate*)

Pupuk TSP adalah nutrien anorganik yang digunakan untuk memperbaiki hara tanah untuk pertanian. Kepanjangan dari TSP adalah *Triple Super*

Phosphate dengan rumus kimia $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)$. Kadar P_2O_5 pupuk ini sekitar 44-46%, namun di lapangan bisa mencapai 56% (Havlin dkk., 2005).

Tampilan fisik pupuk TSP yang tersedia di pasaran umumnya berupa butiran kecil kasar berwarna kecoklatan, abu-abu, atau kekuningan dan bahan penyusunnya seperti tanah mengering (Havlin dkk., 2005). Bentuk pupuk TSP dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pupuk TSP (Goodloh, 2014)

3. ZA (*Zwavelzuur Amonia*)

Pupuk ZA memiliki kepanjangan *Zwavelzuur Amonia*, dari bahasa Belanda. Nama kimia ZA adalah ammonium sulfat dengan rumus kimia $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Senyawa garam anorganik ini memiliki kandungan nitrogen sekitar 20% dan sulfur sekitar 24% sehingga tujuan produksinya adalah sebagai pupuk pertanian (George dan Sussot, 1971).

Sulfur merupakan unsur hara yang sangat penting yang berperan dalam pembentukan berbagai jenis asam amino esensial pada tanaman yaitu sistein, sistin dan metionin. Pembuatan pupuk ZA umumnya melalui

reaksi antara ammonia dengan asam sulfat. Reaksi lain yang juga dapat digunakan untuk membuat pupuk ZA adalah dengan mereaksikan garam gypsum dengan ammonium karbonat. Penggunaan pupuk ZA dalam bidang pertanian yang berlebihan dapat menurunkan pH (George dan Sussot, 1971).

Tampilan fisik pupuk ZA yang tersedia dipasaran umumnya seperti bubuk kasar atau bongkahan-bongkahan kecil berwarna putih seperti gula pasir dan mudah larut dalam air (Patnaik, 2002). Bentuk pupuk ZA dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Pupuk ZA (Indonetwork, 2016)

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-Oktober 2016 di *Lampung Mangrove Center* Desa Margasari, Labuhan Maringgai, Lampung Timur dan di Laboratorium Fitoplankton, Divisi Pakan Hidup, Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung beralamat di Jalan Yos Sudarso, Desa Hanura, Teluk Pandan, Pesawaran, Provinsi Lampung.

B. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada tabel 2 dan 3 (gambar dapat dilihat pada lampiran 11).

Tabel 2. Bahan-bahan yang digunakan untuk isolasi *Nannochloropsis* sp. selama penelitian pendahuluan

Nama Bahan	Kegunaan
Bacto agar	Sebagai media kultur padatan
Air laut steril	Sebagai media kultur cair
Pupuk conwy PA	Sumber nutrisi dalam media kultur
Vitamin B12	Suplemen dalam media kultur
Alkohol 70%	Untuk sterilisasi
Kapas	Sumbat tabung reaksi
Sealtape	Sebagai perekat cawan petri untuk menghindari terjadinya kontaminasi
Batu es	Untuk menjaga suhu sampel sebelum tiba di laboratorium

Tabel 3. Bahan-bahan yang digunakan untuk kultur *Nannochloropsis* sp. selama penelitian utama

Nama Bahan	Kegunaan
Isolat <i>Nannochloropsis</i> sp. dari Lampung Mangrove Center	Bibit mikroalga sebagai bahan penelitian
Pupuk conwy PA	Sumber nutrisi dalam media kultur
Urea	Sumber nutrisi dalam media kultur
TSP	Sumber nutrisi dalam media kultur
ZA	Sumber nutrisi dalam media kultur
Vitamin B12	Suplemen dalam media kultur
Alkohol 70%	Untuk sterilisasi
Kaporit 100 ppm	Untuk sterilisasi alat
Air tawar	Untuk mencuci peralatan kultur
Air laut steril	Sebagai media kultur
Aquades	Sebagai pelarut
Aquabides	Sebagai pelarut

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada tabel 4, 5 dan 6 (gambar dapat dilihat pada lampiran 12)

Tabel 4. Alat-alat yang digunakan untuk isolasi *Nannochloropsis* sp. selama penelitian pendahuluan

Nama Alat	Ukuran/Ketelitian	Kegunaan
Plankton net	No. 15; ukuran lubang 0,08 mm ²	Untuk menyaring sampel
Botol plastik	2 Liter	Sebagai wadah sampel
Box sampel	-	Sebagai wadah botol sampel
Ember plastik	5 Liter	Sebagai wadah air yang akan disaring
<i>Refractometer</i>	1 ‰	Untuk mengukur salinitas
<i>Secchi disc</i>	cm	Untuk mengukur kecahayaan
<i>Thermometer</i>	1°C	Untuk mengukur suhu
pH meter	-	Untuk mengukur pH
<i>Laminar Air Flow</i>	-	Untuk sterilisasi
<i>Autoclave</i>	-	Untuk sterilisasi alat dan bahan
Cawan petri	100mm x 15mm; 120mm x 20 mm	Sebagai wadah uji kultur
Jarum ose	-	Untuk mengambil bahan uji yang akan dipindahkan
Lampu bunsen	-	Untuk sterilisasi fisik
Korek api	-	Untuk menyalakan Bunsen

Pengukus	-	Untuk sterilisasi
Pemanas	-	Untuk sterilisasi dan sebagai sarana membuat media agar
Tabung reaksi	10 mL	Sebagai wadah isolat
Rak tabung reaksi	-	Sebagai wadah tabung reaksi
Timbangan	0,00 g	Untuk menimbang bahan agar
<i>Vortex</i>	-	Untuk menghomogenkan isolat dengan media

Tabel 5. Alat-alat yang digunakan untuk kultur *Nannochloropsis* sp. selama penelitian utama

Nama Alat	Ukuran/Ketelitian	Kegunaan
Erlenmeyer	500 mL	Sebagai wadah uji kultur <i>Nannochloropsis</i> sp.
<i>Beaker glass</i>	100 mL	Untuk mengambil bahan uji <i>Nannochloropsis</i> sp.
Tabung reaksi	10 mL	Sebagai wadah sampel untuk menghitung kepadatan <i>Nannochloropsis</i> sp.
Kertas saring	10 μ m	Untuk menyaring <i>Nannochloropsis</i> sp.
Timbangan	0,00 g	Untuk menimbang bahan-bahan pupuk
Botol gelap	500 mL	Untuk wadah larutan pupuk
<i>Magnetic stirrer</i>	-	Sebagai pengaduk dalam pembuatan larutan
<i>Vortex</i>	-	Untuk menghomogenkan
Pipet tetes	1 mL	Untuk mengambil bahan uji
<i>Haemocytometer</i>	10 ⁴ sel/mL	Untuk menghitung kepadatan <i>Nannochloropsis</i> sp.
Mikroskop	-	Untuk mengamati kualitas <i>Nannochloropsis</i> sp.
<i>Hand Counter</i>	-	Sebagai alat bantu menghitung kepadatan <i>Nannochloropsis</i> sp.
Lampu TL	40 watt	Sebagai sumber cahaya dalam pemeliharaan <i>Nannochloropsis</i> sp.
Selang aerasi, aerator, dan timah pemberat)	-	Untuk aerasi media pemeliharaan <i>Nannochloropsis</i> sp.

<i>Aluminium foil</i>	-	Sebagai alat perlengkapan kultur
<i>Cartbridge filter</i>	-	Untuk menyaring air media
<i>UV emitter</i>	-	Untuk mensterilkan air media

Tabel 6. Alat-alat yang digunakan untuk pengukuran kualitas air

Nama Alat	Ukuran/Ketelitian	Kegunaan
<i>Thermometer</i>	1 °C	Mengukur suhu air
DO meter	0,01 mg/L	Mengukur O ₂ terlarut
<i>Spectrophotometer</i>	mg/L	Mengukur ammonia
pH meter	-	Mengukur pH
<i>Refractometer</i>	1 ‰	Mengukur salinitas

C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif-eksplorasi dan metode eksperimentasi (*experimental design*). Metode deskriptif-eksplorasi berupa pengambilan sampel air dimana spesies mikroalga yang diinginkan diduga berada dari lima lokasi berbeda pada ekosistem *Lampung Mangrove Center* Desa Margasari Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur secara acak terpilih (*purposive random sampling*). Selanjutnya dilakukan tahap pemurnian spesies mikroalga dengan teknik isolasi metode agar. Metode eksperimentasi (*experimental design*) menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan masing-masing dalam lima ulangan. Rancangan ini digunakan karena satuan yang homogen dalam arti keragaman antar satuan percobaannya kecil (Steel dan Torie, 1995).

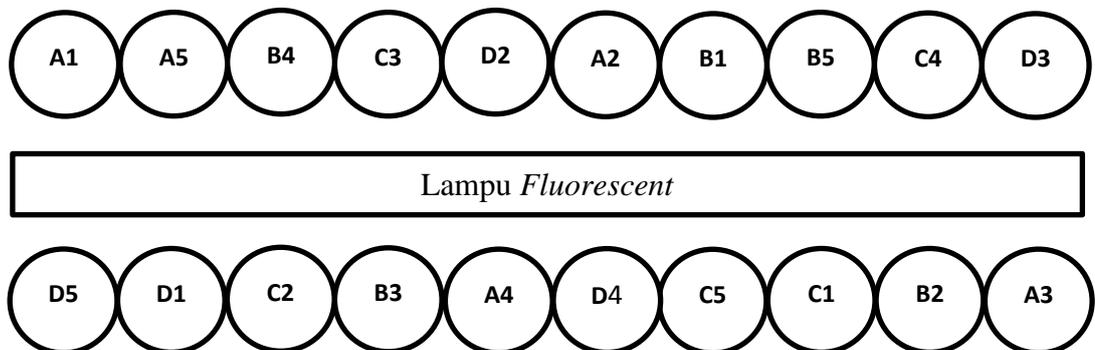
Perlakuan dalam penelitian ini adalah pemberian urea dengan dosis berbeda dan pupuk conwy sebagai kontrol dapat dilihat pada tabel 7. Dosis pupuk ZA dan TSP yang digunakan yaitu ZA 20 ppm dan TSP 10 ppm berdasarkan uji coba yang sudah dilakukan BBPBL Lampung. Dosis tersebut biasa digunakan untuk kultur *Nannochloropsis* sp. di Divisi Pakan Hidup Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung.

Tabel 7. Perlakuan dalam penelitian

Perlakuan	Komposisi Pupuk Pertanian (ppm)			Pupuk Conwy (mL)
	Urea	ZA	TSP	
A	30	20	10	-
B	40	20	10	-
C	50	20	10	-
D (Kontrol)	-	-	-	0,5

Adapun tata letak wadah penelitian hasil pengacakan dapat dilihat pada

Gambar 7.



Gambar 7. Tata letak wadah penelitian

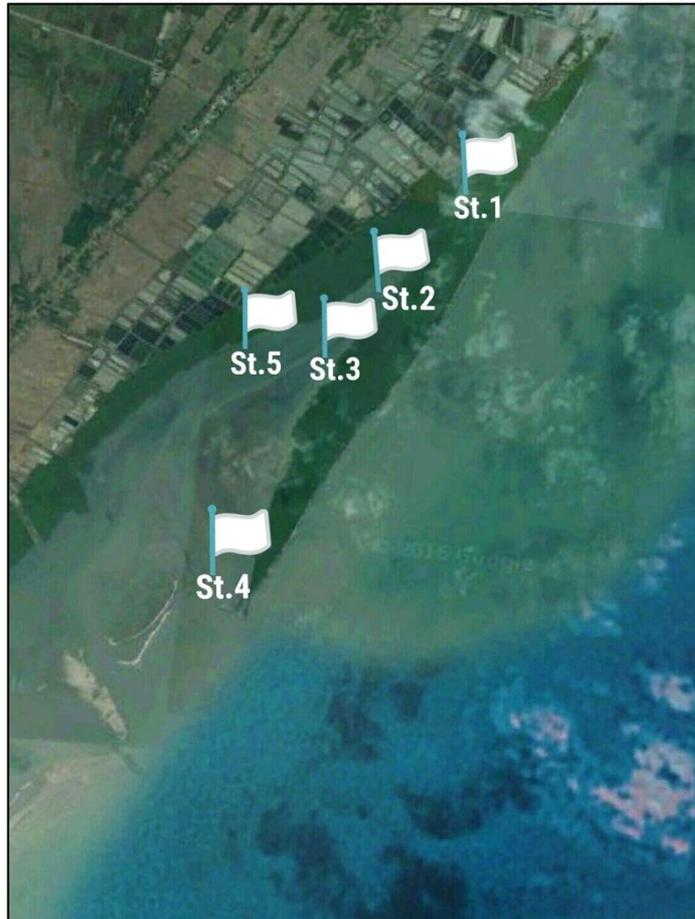
D. Pelaksanaan

1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan isolat *Nannochloropsis* sp. untuk dijadikan bahan penelitian.

a) Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak terpilih (*purposive random sampling*) di lima lokasi yang berbeda pada ekosistem *Lampung Mangrove Center* Desa Margasari Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur, lokasi pengambilan sampel disajikan pada gambar 8 dan lampiran 14.



Gambar 8. Lokasi pengambilan sampel air dan sampel mikroalga di *Lampung Mangrove Center*

Untuk pengambilan sampel mikroalga dilakukan menggunakan metode filtrasi dengan teknik pengambilan secara vertikal, dengan tahap sebagai berikut (gambar dapat dilihat pada lampiran 17)

(Triana dkk., 2007):

- (1) Sampel air diambil menggunakan ember yang dimasukan secara tegak lurus sampai kedalaman yang diinginkan.
- (2) Sampel air tersebut disaring menggunakan plankton net nomor 15 dengan ukuran lubang $0,08 \text{ mm}^2$ yang diambil dari 5 lokasi penelitian yang berbeda. Hasil penyaringan dimasukan ke dalam botol plastik ukuran 2 liter.
- (3) Plankton net tersebut dibilas menggunakan air di tempat pengambilan sampel dengan cara mencelupkannya tetapi mulut plankton net tetap diatas permukaan air. Sampel air yang tersaring dimasukan kembali ke dalam botol penampung.
- (4) Botol sampel diberi label sesuai dengan lokasi pengambilan lalu disimpan dalam *cool box* dan diberi es, kemudian dibawa ke laboratorium.

b) Isolasi Mikroalga

Isolasi mikroalga bertujuan untuk memurnikan spesies mikroalga yang tercampur jenis lain supaya mendapatkan mikroalga monospesies apabila diperoleh dari perairan alam. Isolasi dilakukan dengan menggunakan metode agar. Isolasi metode agar adalah pemurnian spesies mikroalga menggunakan media agar dengan cara

goresan. Metode ini sangat baik digunakan untuk mengisolasi mikroalga tunggal seperti *Nannochloropsis* sp.

Adapun tahapan kerja isolasi dengan metode agar sebagai berikut (gambar dapat dilihat pada lampiran 17) (Rusyani, 2010):

- (1) Bacto agar ditimbang sebanyak 1,5 gram dan dilarutkan dalam 100 mL air laut.
- (2) Larutan bacto agar dipanaskan sampai mendidih dan selama pemanasan dilakukan pengadukan terus menerus agar tidak menggumpal dan larutan menjadi jernih.
- (3) Larutan bacto agar yang telah mendidih diangkat kemudian didinginkan.
- (4) Setelah larutan bacto agar menjadi agak dingin, lalu ditambahkan pupuk conwy PA dosis 1 mL/L.
- (5) Larutan bacto agar yang telah ditambahkan pupuk conwy PA dosis 1 mL/L dituangkan ke dalam cawan petri dengan ketebalan 3-5 mm. Cawan petri yang digunakan harus dalam kondisi steril.
- (6) Sampel mikroalga diinokulasikan ke dalam media agar yang telah membeku.
- (7) Jarum ose disterilisasi dengan cara dipanaskan pada lampu bunsen, kemudian bibit mikroalga digoreskan pada media agar dengan jarum ose steril.

- (8) Cawan petri yang telah ditanami bibit mikroalga ditutup menggunakan selotip kemudian diletakan di rak kultur yang disinari dengan lampu TL.
- (9) Cawan petri diletakan dalam posisi terbalik untuk mencegah terjadinya penetesan embun dari bagian tutup ke media agar yang bisa mengganggu pertumbuhan mikroalga dan koloni akan tumbuh setelah 4-7 hari inkubasi.
- (10) Setelah koloni tumbuh banyak, koloni tersebut diambil dengan jarum ose dan dipindahkan ke media cair (*test tube* 10 mL)

Isolasi dengan metode agar merupakan metode yang cukup efektif karena mikroalga yang dikultur akan berbentuk koloni, sehingga pengambilannya cukup mudah.

2. Penelitian Utama

a) Persiapan media dan peralatan

Persiapan media dan peralatan meliputi sterilisasi media kultur seperti air laut dan alat. Adapun tahapan dalam sterilisasi media kultur air laut steril sebagai berikut (gambar dapat dilihat pada lampiran 10) (Rusyani, 2012):

- (1) Air diambil dari laut yang bagian dasarnya pasir dan berkarang.
- (2) Air laut tersebut disalurkan melalui pipa masuk ke tandon air.
- (3) Dari tandon air disalurkan melalui pipa ke penyaring pertama (*sand filter*)

- (4) Air laut disaring dengan 3 tahap penyaringan yaitu dengan *cartridge filter* 10 μm , 5 μm dan karbon aktif yang berfungsi untuk menyaring partikel atau bahan organik.
- (5) Air laut yang telah disaring disterilisasi kembali dengan menggunakan sinar ultra violet.
- (6) Air tersebut ditampung di dalam penampungan air sementara dan dilakukan pengukuran salinitas air menggunakan *refractometer*.
- (7) Air laut hasil penyaringan direbus sampai mendidih.
- (8) Air yang telah steril dimasukkan dengan disaring ke dalam wadah uji.
- (9) Air laut hasil penyaringan direbus kembali sampai mendidih.
- (10) Air yang telah steril dimasukkan kembali dengan disaring ke dalam wadah uji.
- (11) Air laut hasil penyaringan dimasukkan ke dalam *Laminar Air Flow* disinari UV selama 10 menit. Setelah itu air laut steril disimpan dan ditutup sebelum digunakan.

Sedangkan tahapan dalam sterilisasi peralatan, sebagai berikut

(gambar dapat dilihat pada lampiran 10):

- (1) Peralatan direndam dengan kaporit 100 ppm.
- (2) Peralatan uji dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air tawar sampai bersih.

- (3) Setelah itu peralatan disemprot dengan alkohol 70%, lalu ditiriskan.
- (4) Peralatan aerasi seperti selang dan batu aerasi direbus sampai mendidih.
- (5) Peralatan gelas seperti pipet, tabung reaksi, gelas ukur, cawan petri dan erlenmeyer disterilisasi menggunakan *autoclave*.

b) Pembuatan larutan stok pupuk pembanding dan perlakuan

Pupuk yang digunakan sebagai pembanding pada skala laboratorium ini terbuat dari bahan kimia PA (pro analis) dengan dosis pemakaian 1 mL pupuk untuk 1 liter volume kultur. Jenis dan formula pupuk yang sudah distandarkan dan umum digunakan yaitu Conwy atau Walne's medium. Untuk memudahkan pemakaiannya, terlebih dahulu dibuat larutan stok pupuk tersebut.

Adapun tahapan dalam pembuatan larutan stok pupuk pembanding, sebagai berikut (gambar dapat dilihat pada lampiran 10) (Rusyani, 2012):

- (1) Aquabides ditempatkan dalam *beaker glass* 1000 mL.
- (2) Bahan-bahan kimia untuk pembuatan pupuk conwy ditimbang sesuai komposisi disajikan pada tabel 8.

Tabel 8. Komposisi pupuk untuk kultur *Nannochloropsis* sp. skala laboratorium (Borowitzka, 1988)

No	Bahan Kimia	Komposisi Pupuk Conwy/ Walne
1	EDTA	45 gram
2	NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	20 gram
3	FeCl ₃ ·6H ₂ O	1,5 gram
4	H ₃ BO ₃	33,6 gram
5	MnCl ₂	0,36 gram
6	NaNO ₃	100 gram
7	<i>Trace Metal Solution</i> *	1 mL
8	Vitamin*	1 mL
9	Aquabides sampai	1000 mL

Keterangan: Stok larutan pupuk Conwy 1000 mL digunakan untuk kultur *Nannochloropsis* sp. sebanyak 1000 liter

*Komposisi *trace metal solution* dan vitamin dapat dilihat di tabel 9

Tabel 9. Komposisi *trace metal solution* dan vitamin

No	Bahan Kimia	Komposisi Pupuk Conwy/ Walne
A Trace Metal Solution		
1	ZnCl ₂	2,10 gram
2	CuSO ₄ ·5H ₂ O	2,00 gram
3	CoCl ₂ ·6H ₂ O	2,00 gram
4	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,9 gram
5	Aquabides sampai	100 mL
B Vitamin		
1	B1	200 mg
2	B12	10 mg
3	Aquades	200 mL

Keterangan: *Trace metal solution* dan vitamin dibuat dalam gelas ukur secara terpisah

- (3) Bahan-bahan dimasukkan dan dilarutkan satu-persatu secara berurutan dalam *beaker glass* 1000 mL yang telah berisi aquabides, lalu diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai terlarut sempurna.
- (4) Setelah itu ditambahkan aquabides sampai menjadi 1000 mL.

- (5) Larutan stok pupuk conwy PA yang telah dibuat disimpan dalam botol gelap dan siap untuk digunakan.

Sedangkan pupuk yang digunakan sebagai perlakuan pada skala laboratorium ini terbuat dari pupuk pertanian yaitu pupuk Urea, ZA, dan TSP dengan dosis pemakaian 1 mL pupuk untuk 1 liter volume kultur. Untuk memudahkan pemakaiannya, terlebih dahulu dibuat stok larutan pupuk tersebut.

Adapun tahapan dalam pembuatan stok larutan pupuk perlakuan masing-masing sebanyak 500 mL (gambar dapat dilihat pada lampiran 10), sebagai berikut:

- (1) Aquades ditempatkan dalam *beaker glass* 500 mL.
- (2) Bahan-bahan ditimbang sesuai komposisi seperti disajikan pada tabel 10.

Tabel 10. Komposisi larutan pupuk perlakuan

No	Bahan	Dosis (ppm)	Dosis (gram) *pembuatan larutan stok pupuk 500ml
1	Urea	30, 40 dan 50	15, 20 dan 25
2	ZA	20	10
3	TSP	10	5

- (3) Bahan yang telah ditimbang, dilarutkan dalam *beaker glass* yang telah berisi aquades, lalu diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai terlarut sempurna.
- (4) Setelah itu ditambahkan aquades sampai menjadi 500 mL.
- (5) Larutan stok pupuk perlakuan yang telah dibuat disimpan dalam botol dan siap untuk digunakan.

c) Perbanyak bibit *Nannochloropsis* sp.

Bibit awal *Nannochloropsis* sp. yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil isolasi dari *Lampung Mangrove Center* Desa Margasari Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur Provinsi Lampung.

Adapun tahapan dalam perbanyak bibit *Nannochloropsis* sp., sebagai berikut (gambar dapat dilihat pada lampiran 10):

- (1) Sebagian hasil isolasi bibit mikroalga *Nannochloropsis* sp. setelah pertumbuhannya meningkat dipindahkan dari tabung reaksi ke erlenmeyer volume 100 mL.
- (2) Bibit *Nannochloropsis* sp. dipanen setelah 5-7 hari kultur.
- (3) Bibit diperbanyak lagi sesuai kebutuhan penelitian dengan kultur bertingkat ke erlenmeyer dengan volume yang lebih besar.

d) Pelaksanaan penelitian utama

Tahapan awal adalah pengadaptasian bahan uji *Nannochloropsis* sp. yang akan digunakan dalam penelitian utama (gambar dapat dilihat pada lampiran 10) meliputi :

- (1) Bibit *Nannochloropsis* sp. dikultur dengan kepadatan sebanyak 500×10^4 sel/mL pada wadah kultur volume 500 liter.

- (2) Bibit *Nannochloropsis* sp. dibiakan dengan media ZA (20 ppm) dan TSP (10 ppm) sehingga *Nannochloropsis* sp. dapat beradaptasi dengan media tersebut.
- (3) Hasil kultur, dikembangkan lagi dengan melakukan kultur pada media yang sesuai dengan perlakuan yaitu pemberian urea dengan dosis 30, 40 dan 50 ppm.
- (4) Hasil kultur digunakan sebagai bahan uji *Nannochloropsis* sp. untuk penelitian.

Adapun tahapan penelitian utama adalah sebagai berikut (gambar dapat dilihat pada lampiran 10):

- (1) Wadah kultur volume 500 mL sebanyak 20 buah diisi dengan air laut steril salinitas 27 ‰. Salinitas dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Villegas, 1995):

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

Keterangan:

V1 = Volume air laut yang dipakai (mL)

N1 = Salinitas yang terukur pada refraktometer (‰)

V2 = Volume total air media (mL)

N2 = Salinitas yang dikehendaki (‰)

- (2) Bahan uji *Nannochloropsis* sp. yang sudah disaring dengan kertas saring dimasukkan dalam wadah kultur supaya sel-sel yang mati tidak terbawa dalam kultur. Kepadatan awal inokulum (KAI) adalah 500×10^4 sel/mL.

Kepadatan awal tebar dihitung dengan rumus (Villegas, 1995):

$$V1 \times N1 = V2 \times N2 \text{ maka, } V1 = V2 \times N2 / N1$$

Keterangan:

V1 = Volume bibit untuk penebaran awal (mL)

N1 = Kepadatan bibit/stok *Nannochloropsis* sp. (sel/mL)

V2 = Volume media kultur *Nannochloropsis* sp. yang dikehendaki (mL)

N2 = Kepadatan bibit *Nannochloropsis* sp. yang dikehendaki (sel/mL)

- (3) Pada perlakuan A B dan C, pupuk ZA dengan dosis 20 ppm dan TSP 10 ppm dimasukkan kedalam masing-masing wadah uji lalu pupuk urea dimasukkan berturut-turut dengan dosis 30, 40 dan 50 ppm ke dalam wadah kultur tersebut dengan ulangan masing-masing sebanyak 5 kali.
- (4) Pada perlakuan D, pupuk conwy dimasukkan ke dalam wadah kultur dengan ulangan sebanyak 5 kali.
- (5) Semua perlakuan diletakkan pada rak kultur yang dilengkapi pencahayaan dari 2 lampu TL 40 watt dengan intensitas cahaya berkisar 1.500-3.800 lux, kemudian diberi aerasi.
- (6) Selama pengujian dilakukan pengamatan pertumbuhan, meliputi penghitungan kepadatan populasi *Nannochloropsis* sp. perlakuan setiap hari sampai terjadi penurunan populasi.
- (7) Analisis proksimat dilakukan pada saat mencapai puncak populasi untuk mengetahui kandungan gizi *Nannochloropsis* sp.
- (8) Pengukuran kualitas air dilakukan pada awal dan akhir penelitian.

E. Pengamatan

1. Pengamatan Pertumbuhan

Pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan menghitung populasi *Nannochloropsis* sp. untuk mengetahui kepadatan puncak populasi yaitu pada saat jumlah populasi *Nannochloropsis* sp. berada pada titik tertinggi selama penelitian (Suminto dan Hirayama, 1997). Juga diketahui kepadatan akhir populasi yang dilakukan pada saat akhir penelitian (Laven dan Sorgeloos, 1996).

Penghitungan kepadatan populasi *Nannochloropsis* sp. menggunakan alat *Haemocytometer* model Neubreuer dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100-400 kali (gambar dapat dilihat pada lampiran 10).

Penghitungan dilakukan setiap hari pada waktu yang sama, dimulai dari hari pertama sampai kepadatan populasi menurun. Estimasi penghitungan jumlah sel menurut Fatuchri (1985) adalah sebagai berikut:

- a) Dalam 400 kotak (bila kepadatan rendah)

$$\text{Jumlah sel/mL} = \text{jumlah sel} \times 10^4$$

- b) Dalam beberapa kotak dipilih secara acak (bila kepadatan tinggi):

$$\text{Jumlah sel/mL} = \text{rata-rata jumlah sel perkotak} \times 400 \times 10^4$$

Setelah didapatkan kepadatan populasi mikroalga *Nannochloropsis* sp. selama kultur, maka dapat dihitung laju pertumbuhan spesifik. Laju pertumbuhan spesifik diukur berdasarkan jumlah populasi mencapai titik tertinggi (maksimal) (Suminto dan Hirayama, 1997).

Laju pertumbuhan spesifik (k) dihitung dengan rumus menurut Fogg dkk. (1987) sebagai berikut:

$$k = \frac{\ln W_t - \ln W_o}{T}$$

Keterangan :

k = Laju pertumbuhan spesifik (sel/mL/hari)

W_t = Jumlah sel setelah waktu t (sel/mL)

W_o = Jumlah sel awal (sel/mL)

T = Waktu kultur dari W_o ke W_t (hari)

Pertumbuhan jenis mikroalga *Nannochloropsis* sp. dianalisis dengan kurva pertumbuhan mikroalga yang dibuat berdasarkan data yang didapatkan persatuan waktu. Berdasarkan data tersebut dapat dihitung waktu generasi (*doubling time*) dengan rumus menurut Stevenson dikutip Kumiastuty dan Julinasari (1995) sebagai berikut :

$$G = \frac{T}{3,3 (\log W_t - \log W_o)}$$

Keterangan :

G = Waktu generasi (jam)

W_t = Jumlah sel setelah waktu t (sel/mL)

W_o = Jumlah sel awal (sel/mL)

T = Waktu dari W_o ke W_t (jam)

Karakteristik pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. terbaik adalah yang menghasilkan kepadatan populasi yang tinggi, laju pertumbuhan yang tertinggi dan waktu generasi (*doubling time*) yang singkat.

2. Pengamatan Kandungan Gizi

Pengamatan kandungan gizi dilakukan dengan melakukan analisis proksimat. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui jumlah kadar protein, lemak dan karbohidrat. Penentuan kadar protein dengan Metode Semimikro Kjeldahl, penentuan kadar lemak dengan Metode Soxhlet (SII 2453-90) dan penentuan kadar karbohidrat secara *By Different*. Analisis proksimat dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung (THP Polinela).

3. Parameter Kualitas Air

Sebagai data pendukung maka dilakukan pengukuran beberapa parameter fisika dan parameter kimia kualitas air. Adapun parameter fisika yang diukur meliputi suhu dan salinitas.

a) Suhu

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan *thermometer*, yaitu dengan cara memasukan *thermometer* ke dalam air selama kurang lebih dua menit kemudian melakukan pembacaan nilai suhu pada saat *thermometer* masih berada di dalam air supaya nilai suhu yang terukur tidak dipengaruhi oleh suhu udara. Pembacaan nilai suhu sampai menunjukkan nilai yang konstan (Hutagalung dkk., 1997).

b) Salinitas

Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan *refractometer* yaitu dengan cara mengkalibrasi *refractometer* dengan aquades sampai skala 0‰. Selanjutnya melakukan pengukuran salinitas dengan cara meneteskan sampel air pada prisma *refractometer* dengan menggunakan pipet tetes (Hutagalung dkk., 1997).

Sedangkan parameter kimia yang diukur meliputi DO, pH, dan amoniak

a) DO

Pengukuran oksigen terlarut dilakukan dengan menggunakan DO meter, yaitu dengan cara memasukan salah satu elemen DO meter ke dalam air sampel, kemudian menunggu beberapa saat untuk memperoleh kisaran kandungan oksigen terlarut dalam air sampel (Hutagalung dkk., 1997).

b) pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, yaitu dengan cara mula-mula membilas ujung elektroda dengan aquades, kemudian memasukkannya dalam larutan penyangga untuk kalibrasi. Mengatur kontrol pada pH meter sampai terbaca pH larutan penyangga. Selanjutnya membilas kembali ujung elektroda dengan aquades, lalu memasukkannya ke dalam air sampel sampai beberapa saat hingga skala menunjukkan angka yang konstan (Hutagalung dkk., 1997).

c) Amoniak

Pengukuran amoniak dilakukan dengan menggunakan *spectrophotometer* yang didasarkan pada pembentukan senyawa indifenol berwarna biru (Hutagalung dkk., 1997). Analisis parameter amoniak apabila sesampai di laboratorium tidak segera dianalisa maka sampel disimpan dalam *freezer* suhu -20°C . Jika sampel tidak dbekukan, maka dapat ditambahkan larutan fenol sebanyak 10 mL per 250 mL sampel air atau dapat juga digunakan H_2SO_4 sebanyak 0,2 mL per 250 mL sampel air (Muawanah dkk., 2007).

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data kepadatan populasi *Nannochloropsis sp.* disajikan dalam bentuk grafik kepadatan populasi (sel/mL) terhadap waktu (hari). Data perbedaan kepadatan populasi maksimum, laju pertumbuhan dan waktu generasi (*doubling time*) *Nannochloropsis sp.* dianalisis menggunakan analisis varian satu arah (*one way analysis of variance*), jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan selang kepercayaan 95% (Steel dan Torrie, 1995). Data hasil pengamatan kandungan gizi disajikan dalam bentuk grafik dan dijelaskan secara deskriptif. Data pengukuran kualitas air penelitian dijelaskan secara deskriptif dengan pendekatan kuantitatif.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Pemberian dosis urea 50 ppm dalam media pupuk pertanian merupakan dosis yang paling efektif untuk meningkatkan pertumbuhan (kepadatan populasi, laju pertumbuhan spesifik dan waktu generasi) *Nannochloropsis* sp.
2. Pemberian dosis urea 40 ppm dalam media pupuk pertanian merupakan dosis yang paling efektif untuk meningkatkan total kandungan gizi (protein, lemak dan karbohidrat) *Nannochloropsis* sp. mencapai 67,538%.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui kandungan gizi *Nannochloropsis* sp. yang diisolasi dari *Lampung Mangrove Center* pada setiap fase pertumbuhan.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk aplikasi pemberian dosis urea 50 ppm dan 40 ppm dalam media pupuk pertanian sebagai penyedia makro nutrien pada kultur isolat *Nannochloropsis* sp. pada skala semi massal dan massal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adehoog & K. F. Simon. 2001. *Marine Ecological Proseses*. Great Britain. London.
- Anon, Sen M.A.T., M.T. Kocer, & H. Erbas. 2009. Studies on Growth Marine Microalgae in Batch Cultures: *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyta). *Asian J. of Plant Sciences*. 4(6): 642-644.
- Arief, A. 2003. *Hutan Mangrove: Fungsi dan Manfaatnya*. Kanisius. Yogyakarta.
- Bahtiar, E. 2007. *Penelusuran Sumber Daya Hayati Laut (Alga) sebagai Biotarget Industri*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Barsanti, L. & P, Gualtieri. 2006. *Algae Anatomy, Biochemistry, and Biotechnolgy*. CRC Press. United States of America.
- Ben-Amotz. 2009. Bio-Fuel and CO2 Capture by Micro-Algae. (online). (<http://newbusiness.grc.nasa.gov> diakses 20 November 2016).
- Borowitzka, M.A & L.J. Borowitzka. 1988. *Microalgae Biotechnology*. Cambridge University Press. New York.
- Bougis, P. 1979. *Marine Plankton Ecology*. American Elseiver Publishing Company. New York.
- Brown, M.R, S.W. Jeffrey, J.K. Volkman & G.A Dunstan. 1997. Nutritional Properties of Microalgae for Mariculture. *Aquaculture*. 151: 315-331.

- Burkhard, S.J. Zondervan & U. Riebesell. 1999. Effect Of CO₂ Concentration on C:N:P Ratio in Marine Phytoplankton: A Species Comparison. *Limnol. and Ocean.* 44(3): 683-690.
- Campbell, N.A. & J. B. Reece. 2008. Biologi Edisi 8. Erlangga. Jakarta.
- Chen, J dan H.P.C. Shetty. 1991. *Culture of Marine Feed Organisms*. National Inland Institute Kasetsart University Campus. Bangkok.
- Chen,S., Pan, M. Hong, & A. Lee. 2011. The Effects of Temperature on The Growth of and Ammonia Uptake by Marine Microalgae. National Chiayi Univ. Taiwan.
- Chi, Z., J. V. O'Fallon & S. Chen. 2011. Bicarbonat Produced from Carbon Capture for Algae Culture. Elsevier. Dept. of Bio. Syst. Engineering Washington State University. USA.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel From Microalgae. *Biotechnology Advances.* 25: 294-306.
- Coutteau, P. 1996. Micro Algae. Dalam: *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture*. Laboratory of Quaculture and Artemia Reference Center University of Gent. Belgium.
- CSIRO. 2009. *Nannochloropsis* sp. (online). (<http://www.scienceimage.csiro.au/image/10697> diakses 07 Juli 2016).
- Dwidjoseputro. 1994. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- FAO. 1982. Management and Utilization of Mangrove in Asia and the Pacific. *FAO Environmental Paper III*. Rome.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. Gramedia. Jakarta
- Fatuchri M. 1985. Budidaya Rotifera (*Brachionus plicatilis* O.F Muller). *Proyek Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut.* 192: 9-16.

- Fogg, G. E. 1987. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. The University of Wisconsin Press. London.
- Fulks, W. & K.L. Main. 1991. Rotifer and microalgae culture system. *Proceeding of a U.S – Asia Workshop*. Argent Laboratories.
- Gao, K., dan H. Hu. 2006. Response of Growth and Fatty Acid Compositions of *Nannochloropsis* sp. to Environmental Factors Under Elevated CO₂ Concentration. *Biotechnol Lett.* 28 : 987-992.
- George, C.W. & R.A, Sussot. 1971. *Effect of Ammonium Phosphate and Sulphate on the Pyrolysis and Combustion of Cellulose*. USDA Forest Service. Washington DC.
- Goodloh. 2014. Pupuk TSP. (online). (http://goodloh.co.id/products-1691/PUPUK_TSP#.WGUiweV97Mw diakses 07 Juli 2016).
- Griffiths, M.J. & S.T.L. Harrison. 2009. Lipid Productivity as A Key Characteristic for Choosing Algal Species for Biodiesel Production. *J. Appl. Phycol.* 21: 493-507.
- Hasegawa, T., Y .Yoshikai, M. Okuda. & K. Nomoto. 1990. Accelerated Restoration of The Leukocyte Number and Augmented Resistance Against *Escherichia Coli* in Cyclophosphamide-Treated Rats Orally Administered with A Hot Water Extract of *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Immunopharmacology.* 12(8): 883-891.
- Havlin, J. L., J. D. Beaton, S. L. Tisdale, & W. L. Nelson. 2005. *Soil Fertility and Fertilizers: An Introduction to Nutrient Management*. Pearson Prentice Hall. New Jersey.
- Hoyle, B. D., K.L. Lerner dan E. Richmond. 2016. Algal Blooms in Fresh Water. (online). (<http://www.waterencyclopedia.com/A-Bi/Algal-Blooms-in-Fresh-Water.html> diakses pada 26 November 2016).
- Hutagalung, H.P., D. Setiapermana & H. Riyono. 1997. *Metode Analisis Air Laut, Sedimen, dan Biota*. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jakarta.

- Indonetwork. 2016. Pupuk ZA. (online). (<http://jualpupukza.indonetwork.co.id/> diakses 07 Juli 2016).
- Ismi, S. 1996. Perkembangan Populasi *Nannochloropsis oculata* pada Suhu dan Salinitas yang Berbeda. *Jurnal Pendidikan Perikanan Indonesia*. 2(2): 71-75.
- Isnansetyo, A., & Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton*. Kanisius. Yogyakarta.
- Kawaroe, M. 2008. Potensi Beberapa Mikroalga sebagai Bahan Baku Biodiesel. Pusat Penelitian Surfaktan dan Bioenergi. IPB. Bogor.
- Kawaroe, M. T. Prartono, A. Sunuddin, D.W. Sari, dan D. Augustine. 2010. Mikroalga: Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar. Penerbit Institut Pertanian Bogor Press. Bogor.
- Kementerian Lingkungan Hidup. 2004. Baku Mutu Air Laut untuk Biota Laut Budidaya. Kep. Men. Lingkungan Hidup No. 51 tahun 2004.
- Kimbal, J. W. 1999. *Biologi*. Edisi Kelima. Erlangga. Jakarta.
- Kordi, K.M.G.H. 2012. *Ekosistem Mangrove: Potensi, Fungsi dan Pengelolaan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Kurniastuty & Julinasari. 1995. Kepadatan populasi alga *Dunaliella* sp. pada media kultur yang berbeda. *Buletin Budidaya Laut Lampung*. 9: 11-67.
- Kusmana, C., Onrizal, Sudarmadji. 2003. *Jenis-Jenis Pohon Mangrove di Teluk Bentuni Papua*. IPB Press. Bogor.
- Lakitan, B. 2007. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Laven, P., & P. Sorgeloos. 1996. *Manual on The Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper. Rome.

- Martosudarmo & Wulani. 1990. *Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murni dan Massal Mikroalga*. Proyek Pengembangan Budidaya Udang Situbondo. Situbondo.
- Monografi Desa Margasari. 2012. *Potensi Desa Margasari, Kecamatan Labuhan Maringgai, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung*.
- Muawanah, N. S., dan T. Haryono. 2007. Petunjuk Teknis Pengambilan Sampel Seri Budidaya laut No. 15. Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Laut. Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Nybakken, J. W. 1992. *Biologi Laut: Suatu Pendekatan Ekologis*. Gramedia. Jakarta.
- Overdahl, C. J., Rehm, G. W., & H.L. Meredith. 1991. *Fertilizer Urea*. College of Agriculture, Food and Environmental Sciences, University of Minnesota Extension.
- Panggabean, L. M. G., R. Hartono., V. S. Saveya., & S. Sitorus. 2010. Pengaruh Injeksi Karbondioksida terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. Dan *Nannochloropsis oculata*. Prosiding Seminar Nasional Limnologi V Tahun 2010.
- Patnaik, P. 2002. *Handbook of Inorganic Chemicals*. McGraw-Hill. New York.
- Pelczar, M. J., E. C. S. Chan & N. R. Krieg. 1976. *Microbiology*. McGraw-Hill New York.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 75 Tahun 2015 Tentang Jenis dan Tarif Atas Jenis Penerimaan Negara Bukan Pajak yang Berlaku pada Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Prabowo, D. A. 2009. Optimasi pengembangan media untuk pertumbuhan *Chlorella* sp. Pada skala laboratorium. *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Restiada, I. N., Muhdiat, & A. G. Arif. 2008. Penyediaan Bibit Plankton *Nannochloropsis oculata* untuk Skala Massal. *Buletin Teknik. Lit. Akuakultur*. 7(1): 34.

- Round, F.E. 1973. *The Biology of Algae*. Edward Arnold. London.
- Rusyani, E., A.I.M. Sapta, & M. Firdaus. 2007. Budidaya Phytoplankton Dan Zooplankton Skala Laboratorium. Seri Budidaya laut No. 9. Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Laut. Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Rusyani, E. 2010. Potensi Penggunaan Mikroalga sebagai Biofuel di Indonesia. Makalah dalam rangka kerjasama dengan Dewan Energi Nasional Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral Republik Indonesia.
- Rusyani, E. 2012. Molase sebagai Sumber Mikro Nutrien pada Budidaya Phytoplankton *Nannochloropsis* sp., Salah Satu Alternatif Pemanfaatan Hasil Samping Pabrik Gula. *Thesis* Pascasarjana Universitas Lampung. Lampung
- Saenger, P., E. J. Hegerl & J. D. S. Davie. 1983. Global Status Mangrove Ecosystem. *IUCN Commission on Ecology Paper*, No 3.
- Seacret. 2016. Pupuk TSP. (online). (<http://www.seacretspa.com/Urea> diakses 07 Juli 2016).
- Shapely, P. 2011. Seawater Composition. University of Illinois. (online). (<http://butane.chem.uiuc.edu/pshapley/genchem1/L17/2.html> diakses pada 26 November 2016).
- Shelef, G. & C. J. Soeder. 1980. *Algae Biomass: Production and Use*. North Holland Biomedical Press. Amsterdam.
- Sleigh, M.A. 1989. *Protista and Other Protist*. Edward Arnold. London.
- Steel, R.G.D & J.H. Torrie, 1995. *Prinsip Dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Suminto & K. Hirayama. 1997. *Relation Between Diatom Growth and Bacterial Population in Semi Mass Culture Tanks of Diatom*. Nagasaki University. Japan.

- Suriawiria, U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Angkasa. Bandung.
- Susilaningsih, D., A.C. Djohan, D.N. Widyaningrum, & K. Anam. 2009. Biodiesel from Indigenous Indonesian Marine Microalgae *Nannochloropsis* sp. *Journal of biotechnology*. 2(2) Oct. 2009 ISSN: 1979-9756.
- Taw, N. 1990. *Petunjuk Kultur Murni dan Massal Mikroalga*. Proyek Pengembangan Udang. United Nation Development Programme. Food and Agriculture Organization of the United Station.
- Tjahjo, L. Erawati & Hanung. 2002. *Biologi Fitoplankton dalam Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Balai Budidaya Laut Dirjen Perikanan Budidaya DKP. Lampung.
- Triana, A., P. Hartono, & Syarifudin. 2007. Petunjuk Teknis Pengambilan Sampel Seri Budidaya laut No. 15. Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Laut. Departemen Kelautan Dan Perikanan.
- Tugiyono, 2010. Evaluasi Kesuburan Ekosistem Perairan Pesisir Di Desa Sriminosari Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur Provinsi Lampung. Prosiding Seminar Nasional Limnologi V Tahun 2010 ISBN 987-979-8163-14-2.
- Tugiyono, Murwani, S., Bakri, A., & Erwinsyah. 2013. Studi Status Kualitas Perairan Ekosistem Mangrove Desa Margasari Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi V Tahun 2013 ISBN 978-979-8510-71-7.
- Van Den Hoek , C., D.G. Mann & H.M. Johns. 1995. *An Introduction to Phycology*. Cambridge at the University Press. London.
- Villegas, C. T., 1995. *Production Natural Food Organisms*. Southeast Asian Fisheries Development Center. Philippines.
- Watanabe, M.M. 1985. Nutritional Values Of Live Organism Use In Japan For Mass Propagation On Fish. *A. Review Aquaculture*. 34: 115-143.