

**ANALISIS KANDUNGAN PROTEIN DALAM MIKROALGAE
Nitzschia sp. DARI HUTAN MANGROVE LAMPUNG TIMUR**

(Skripsi)

Oleh

Nadia Safitri



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

ANALISIS KANDUNGAN PROTEIN DALAM MIKROALGAE *Nitzschia* sp. DARI HUTAN MANGROVE LAMPUNG TIMUR

Oleh

NADIA SAFITRI

Protein merupakan zat yang penting bagi tubuh, diantaranya untuk proses pembentukan sel-sel baru sehingga dapat memperbaiki jaringan tubuh yang rusak. Salah satu mikroalga yang memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yaitu mikroalga *Nitzschia* sp. Mikroalga ini memiliki kelebihan diantaranya tingkat pertumbuhan yang cepat dan produktivitas biomassa yang tinggi. Tujuan dari penelitian ini untuk mengkultivasi dan menganalisis kandungan protein mikroalga *Nitzschia* sp. dari hutan Mangrove Lampung Timur dengan metode Lowry. Mikroalga *Nitzschia* sp. dikultivasi, diekstraksi dengan buffer fosfat dan dianalisis kandungan protein menggunakan Spektrofotometri Uv Vis pada λ_{maks} 650 nm. Kurva kalibrasi larutan standar BSA ditentukan pada rentang konsentrasi 0 sampai 100 ppm, diperoleh nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9959, dengan batas deteksi sebesar 16,275 $\mu\text{g/mL}$, nilai presisi *repeatability* sebesar 0,014 %, dan nilai persen *recovery* sebesar 91,684 %. Berdasarkan hasil pengujian diperoleh kandungan protein mikroalga *Nitzschia* sp. sebesar 35,04%.

Kata kunci: Mikroalga *Nitzschia* sp., Spektrofotometri Uv Vis, metode Lowry, verifikasi

ABSTRACT

ANALYSIS OF PROTEIN CONTENT IN MICROALGAE *Nitzschia* sp. FROM EAST LAMPUNG MANGROVE FOREST

By

NADIA SAFITRI

Protein is an important substance for the body, including for the process of forming new cells so that they can repair damaged body tissues. One of the microalgae that has a fairly high protein content, namely microalgae *Nitzschia* sp. This microalgae has advantages including fast growth rate and high biomass productivity. The purpose of this study was to cultivate and analyze the protein content of the *Nitzschia* sp. microalgae. from East Lampung Mangrove forest with Lowry method. *Nitzschia* sp. microalgae was cultivated, extracted with phosphate buffer and analyzed for protein content using Uv Vis Spectrophotometry at λ_{\max} 650 nm. The calibration curve for the BSA standard solution was determined at a concentration range of 0 to 100 ppm, a correlation coefficient (r) of 0.9959 was obtained, with a detection limit of 16.275 $\mu\text{g/mL}$, a repeatability precision value of 0.014%, and a percent recovery value of 91.684%. Based on the test results, the protein content of *Nitzschia* sp. microalgae was obtained. by 35.04%.

Keywords: *Nitzschia* sp. microalgae, Uv Vis Spectrophotometry, Lowry method, verification

**ANALISIS KANDUNGAN PROTEIN DALAM MIKROALGAE
Nitzschia sp. DARI HUTAN MANGROVE LAMPUNG TIMUR**

Oleh

Nadia Safitri

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

2022

Judul Skripsi : **ANALISIS KANDUNGAN PROTEIN DALAM MIKROALGAE *Nitzschia* sp. DARI HUTAN MANGROVE LAMPUNG TIMUR**

Nama Mahasiswa : **Nadfa Safitri**

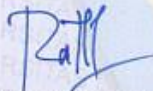
Nomor Pokok Mahasiswa : 1617011041

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si., M.Si.
NIP 19770713 200912 2 002


Prof. Andi Setiawan, Ph.D.
NIP 19580922 198811 1 001

2. Ketua Jurusan Kimia

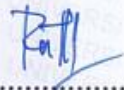


Mulyono, Ph.D.
NIP 19740611 200003 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji


Ketua : **Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si., M.Si.**



Sekretaris : **Prof. Andi Setiawan, Ph.D.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Prof. John Hendri, Ph.D.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Surtpto Dwi Yuwono, M.T.
NIP.19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **26 Desember 2022**

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nadia Safitri
NPM : 1617011041
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul **“Analisis Kandungan Protein dalam Mikroalgae *Nitzschia* sp. dari Hutan Mangrove Lampung Timur”** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebut dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 26 Desember 2022
Yang menyatakan



Nadia Safitri

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Nadia Safitri dilahirkan di Desa Sidodadi Asri Kecamatan Jati Agung Kabupaten Lampung Selatan pada tanggal 17 Januari 1998. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Maryanto dan Ibu Sutinah. Penulis menyelesaikan pendidikan di TK Darma Wanita pada tahun 2004 melanjutkan di SD Negeri 1 Sidodadi Asri dan lulus pada tahun 2010 melanjutkan di SMP Negeri 1 Tanjung Sari lulus pada tahun 2013, selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Jati Agung lulus pada tahun 2016. Penulis pernah mendapat juara catur sekecamatan dan seprovinsi pada tahun 2008. Penulis menjadi anggota Saka Bakti Husada (SBH) dari 2015 sampai sekarang. Penulis mengikut beberapa perkemahan baik sekecamatan, kabupaten, maupun provinsi. Pada tahun 2016, penulis terdaftar sebagai mahasiswi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswi, penulis pernah menjadi asisten praktikum bidang Kimia Analitik I semester ganjil 2019/2020. Penulis juga mengikuti aktivitas organisasi, dimulai dengan menjadi Kader Muda Himaki (KAMI) dan pada tahun 2016 terpilih menjadi anggota bidang Sosial Masyarakat (SOSMAS) di Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) FMIPA Unila periode 2016/2017 dan mengikuti kegiatan IKAHIMKI (Ikatan Himpunan Mahasiswa Kimia Indonesia). Pada periode 2017/2018 penulis terpilih menjadi anggota Komunikasi dan Informasi (KOMINFO) di Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas (BEMF). Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Tematik di Desa Nibung, Kecamatan Gunung Pelindung, Kabupaten Lampung Timur pada bulan Juli sampai Agustus 2019. Penulis menyelesaikan kerja praktik pada tahun 2021 dengan judul Analisis

Kadar Air, Nitrogen, C-Organik, dan Derajat Keasaman (pH) Limbah Lumpur Tambak Udang dari Desa Sriminosari Lampung Timur di Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi dan Teknologi Universitas Lampung Kota Bandar Lampung.

MOTTO

“Janganlah engkau bersedih, sesungguhnya Allah SWT bersama kita.” (Q.S. At-Taubah:40)

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kemampuannya.” (Q.S. Al-Baqarah: 286)

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu namun ia amat baik bagimu dan boleh jadi engkau mencintai sesuatu namun ia amat buruk bagimu, Allah Maha Mengetahui sedangkan kamu tidak mengetahui.” (Q.S. Al Baqarah:216)

Dan Bersabarlah. Sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar.” (Q.S. Al Anfaal:46)

“Jadilah terbaik di mata Allah SWT. Jadilah terburuk di mata sendiri. Jadilah sederhana diantara manusia” (Ali bin Abi Thalib)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang

Dengan mengucapkan
Alhamdulillah rabbilalamin
Ku persembahkan karya kecilku ini kepada

Ayahanda dan ibundaku tercinta yang tak pernah mengeluh, berlelah pikiran, berlimang kata-kata, dan menengadakan tangan seraya berdo'a untuk anak yang kalian percaya akan menjadi "sesuatu" nantinya maka aku tidak akan mengecewakan kasih sayang kalian yang tak ternilai Melalui Karya kecil ini, putrimu yang mengucapkan terimakasih atas segalanya.

Adik laki-laki tersayang serta Seluruh keluarga besar yang selalu mendo'akan keberhasilanku.

Dengan segala rasa hormat kepada Dr.Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si. M.Si, bapak Andi Setiawan Ph.D, dan Prof. Jhon Sendri, Ph.D.

Bapak Ibu Dosen Jurusan Kimia Atas segala dedikasi, ilmu, dan moral yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan dikampus.

Sahabat dan seluruh teman-temanku yang telah memberikan semangat, kebahagiaan, dan pelajaran hidup.

Almamater tercinta Universitas Lampung

SANWACANA

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT Tuhan semesta alam yang telah memberikan segala bentuk rahmat dan nikmat-Nya, sehingga Penulis mampu menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam selalu tercurah kepada Baginda Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabat, semoga kita termasuk umat yang beliau cintai dan mendapat *syafa'at* beliau di *yaumil* akhir nanti, *aamiin yarabbal'alamin*.

Skripsi dengan judul “Analisis Kandungan Protein dalam Mikroalga *Nitzschia* sp. dari Hutan Mangrove Lampung Timur” merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Teiring do'a yang tulus, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tua Penulis, Bapak Maryanto dan Ibu Sutinah yang selalu memberikan segala usaha dan do'a, dukungan dan kepercayaan atas segala keputusan. Ayah, Ibu, terimakasih atas cinta, kasih sayang, kerja keras dan segala nasehat yang engkau berikan untukku, semoga Allah SWT selalu menyertaimu dan menghadiahkan surga-Nya untukmu. *aamiin Allahumma aamiin*.
2. Adik tersayang, Delon Saputra yang selalu memberikan semangat, dukungan, canda dan tawa disaat penulis dalam keadaan jenuh. Semoga Allah SWT. catat sebagai amal *jariyah* dan melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya.

3. Dr.Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih,S.Si.M.Si, selaku pembimbing akademik dan pembimbing I atas segala kebaikan, ilmu, motivasi, kritik, saran, kesabaran, dan bimbingan sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian dan skripsi ini dengan baik. Atas semua yang telah beliau berikan, semoga Allah SWT senantiasa memberikan keberkahan atas semua yang beliau berikan.
4. Bapak Andi Setiawan Ph.D., selaku pembimbing II atas segala saran, nasehat, kesabaran, keikhlasan, bimbingan, dan ilmu yang bermanfaat kepada penulis dalam perencanaan dan penyelesaian penelitian serta skripsi ini. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan ridho-Nya dan membalas semuanya dengan kebaikan
5. Prof. John Hendri Ph.D., selaku pembahas atas bimbingan, kritik, saran, dan ilmu bermanfaat yang telah diberikan kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat menyelesaikan dengan baik. Semoga Allah SWT memberikan keberkahan atas semua yang diberikan.
6. Bapak Mulyono Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan banyak masukan dan saran.
7. Bapak Dr.Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung beserta jajarannya.
8. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung atas seluruh ilmu, bimbingan, perhatian, dan pengalaman yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi ini dengan baik berkat ilmu yang telah diberikan, serta terimakasih kepada staff administrasi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unila yang telah membantu penulis untuk menyelesaikan persyaratan administrasi selama kuliah. Semoga Allah SWT senantiasa membalas kebaikan-kebaikan bapak dan ibu.

9. Bapak Syaiful Bahri, M.Si., selaku Kepala Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi dan Teknologi Universitas Lampung Kota Bandar Lampung atas izin penggunaan laboratorium yang telah diberikan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan baik.
10. Bapak, Ibu guru dari SD, SMP, SMA yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan, Pendidikan akhlak serta pengalaman kepada penulis. Terimakasih banyak semoga bapak dan ibu selalu dalam lindungan diberikan *Jannah-Nya*.
11. Keluarga tersayang yang selalu memberikan semangat, dukungan, canda dan tawa yang kalian lontarkan disaat penulis dalam keadaan jenuh. Semoga Allah SWT catat sebagai amal *jariyah* dan melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya.
12. Yosefin Tiurma Tampubolon, Mona Elisabet Tambunan, Leo Bahari Manik, Yan Pramulia, Mifta Rahma Widiyanti, Istiqomah, atas kebersamaan, keceriaan, dan kesedihannya selama ini.
13. Teman satu penelitian Dahliani Silvia Sianipar, terimakasih atas bantuan, doa, keceriaan, kesedihan, dan kebersamaan selama ini. Semoga sehat dan selalu dalam lindungannya.
14. Teman dan adik-adik dalam grup NGRJ *Research Team* yang sudah menambahkan keceriaan dan kebersamaan selama ini, semoga kalian sehat selalu dan semangat melanjutkan penelitian sampai selesai.
15. Teman-teman 2016, kakak tingkat 2014-1015, beserta adik-adik angkatan 2017-2019 yang tidak bisa saya sebutkan. Terimakasih atas persaudaraan dan kekeluargaan kita selama ini, semoga kita semua menjadi orang-orang sukses dan teman-teman sekalian lekas menyelesaikan pendidikan.
16. Teman-teman KKN: Kak Vidi, Kak Dicky, Kak Apri, Diananti, Nafa, dan Mona yang mengukirkan kisah manis, duka, bahkan keanehan selama 40 hari.
17. Almamater tercinta Universitas Lampung.

18. Kim Tae Hyung, Jeon Jeong-guk, Min Yoon Gi, Kim Nam Joon, Park Ji Min, Kim Soek Jin, dan Jung Ho Seok. Terima kasih sudah menjadi *mood booster* untuk penulis baik dari lagu-lagu maupun videonya.
19. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu. Terima kasih atas segala ketulusan, bantuan, dan doa. Semoga kebaikan yang sudah diberikan selama ini mendapat balasan dari Allah SWT.

Bandar Lampung, 26 Desember 2022
Penulis,

Nadia Safitri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR TABEL.....	iii
DAFTAR GAMBAR	iiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Mikroalga.....	4
2.1.1 Pengertian Mikroalga.....	4
2.1.2 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan.....	4
2.1.3 Siklus Pertumbuhan	6
2.1.4 Perhitungan Sel Mikroalga	8
2.1.5 Pemanenan	8
2.2 <i>Nitzschia</i> sp.....	9
2.2.1 Taksonomi <i>Nitzschia</i> sp.....	9
2.2.2 Morfologi Biologi <i>Nitzschia</i> sp.	10
2.2.3 Kandungan Mikroalga <i>Nitzschia</i> sp.....	10
2.3 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry.....	11
2.4 Spektrofotometri UV-Vis.....	12
2.5 Verifikasi Metode	14
2.5.1 Akurasi.....	14
2.5.2 Presisi.....	15
2.5.3 Batas Deteksi Dan Batas Kuantitasi	17
2.5.4 Linieritas	18

III. METODE PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.3 Prosedur Penelitian	20
3.3.1 Pemeliharaan Mikroalga dan Budidaya.....	20
3.3.2 Fase Pertumbuhan, dan Pemanenan Mikroalga <i>Nitzschia</i> sp. .	20
3.3.3 Penentuan Kandungan Protein dengan Metode Lowry	20
3.3.4 Verifikasi Metode dan Teknik Analisis Data	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Pemeliharaan Mikroalga dan Budidaya.....	25
4.2 Fase Pertumbuhan Mikroalga <i>Nitzschia</i> sp.....	26
4.3 Pemanenan Mikroalga <i>Nitzschia</i> sp.....	27
4.4 Penentuan Kandungan Protein dengan Metode Lowry	28
4.5 Verifikasi Metode	29
4.5.1 Batas Deteksi (<i>Limit of Detection</i> = LoD).....	30
4.5.2 Presisi.....	31
4.5.3 Akurasi.....	32
V. KESIMPULAN DAN SARAN	33
5.1 Kesimpulan	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan nutrisi dari <i>Nitzschia</i> sp.	11
2. Persyaratan presisi dan % <i>recovery</i>	15
3. Kriteria Nilai Simpangan Baku Relatif	17
4. Kadar protein mikroalga <i>Nitzschia</i> sp.	30
5. Data hasil uji batas deteksi	31
6. Data hasil uji presisi pada penentuan kadar protein mikroalga <i>Nitzschia</i> sp.....	32
7. Data hasil uji akurasi pada penentuan kadar protein mikroalga <i>Nitzschia</i> sp.....	33
8. Data Kultur 13 Juni 2022 – 27 Juni 2022 dan Produktivitas Biomassa	41
9. Persamaan regresi linier	47
10. Standar Deviasi	50
11. Hasil Uji Akurasi	51
12. Hasil Batas Deteksi (LoD)	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Grafik Pertumbuhan Mikroalga.....	7
2. <i>Nitzschia</i> sp.	10
3. Kurva Absorbansi (A) Konsentrasi (C)	12
4. Skema Spektrofotometer UV Vis.....	13
5. Tahapan dalam penentuan kandungan protein mikroalga <i>Nitzschia</i> sp.	25
6. Mikroalga <i>Nitzschia</i> sp.	26
7. Kultur Mikroalga <i>Nitzschia</i> sp.	27
8. Kurva pertumbuhan mikroalga <i>Nitzschia</i> sp.	28
9. Kurva standar BSA	29

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan yang secara geografis terletak di antara dua samudra yaitu Samudra Hindia dan Samudra Pasifik yang mempunyai keanekaragaman hayati, salah satu diantaranya adalah hutan mangrove. Ciri dari hutan mangrove umumnya tumbuh pada daerah intertidal dengan tanah berlumpur, daerahnya tergenang air laut secara berkala dan airnya bersalinitas payau (Sugeng *et al.*, 2015).

Ekosistem hutan mangrove memiliki fungsi fisik, ekonomi, dan ekologi. Salah satu fungsi secara ekologi yaitu menghasilkan unsur hara yang menjadi sumber nutrisi. Unsur hara yang terkandung dalam hutan mangrove adalah nitrogen dan fosfor. Nitrogen dan fosfor merupakan unsur hara yang dibutuhkan oleh tanaman dan biota laut, sehingga mangrove memungkinkan menjadi tempat tumbuh dan berkembang berbagai jenis mikroalga (Rina *et al.*, 2012), beberapa jenis diantaranya *Skeletonema sp.*, *Nitzschia sp.*, dan *Spirulina* (Armanda, 2013).

Mikroalga memiliki beberapa manfaat, salah satunya sebagai sumber bioenergi, sebagai bahan pangan dan sumber protein, vitamin serta mineral. Mikroalga juga sudah dimanfaatkan sebagai bahan baku industri farmasi dan kosmetik, dikarenakan adanya kandungan berbagai senyawa kimia yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar, salah satunya kandungan protein, lipid, dan karbohidrat. Selain itu mikroalga tidak memberi dampak negatif bagi tubuh meskipun dikonsumsi dalam waktu singkat maupun lama (Adeline, 2022).

Salah satu mikroalga yang memiliki kandungan protein yang cukup tinggi adalah *Nitzschia sp.* Mikroalga *Nitzschia sp.* memiliki kandungan protein 33%, lemak

21%, dan karbohidrat 28%. Kandungan protein pada mikroalga ini cukup tinggi dibandingkan kandungan lemak ataupun karbohidrat (Puspitasari dan Rachma, 2017).

Uji kadar protein mikroalga sudah dilakukan oleh beberapa peneliti, salah satunya mikroalga *Spirulina platensis* dengan metode Lowry, menggunakan spektrofotometri UV-Vis, pada panjang gelombang 550 nm dengan menggunakan larutan BSA. Selain menggunakan metode Lowry, kadar protein dapat juga ditentukan dengan metode Kjeldahl, metode Biuret, dan metode spektrofotometri UV. Peneliti memilih metode Lowry karena lebih akurat, lebih sensitive, dan hanya memerlukan sampel protein sedikit dibandingkan metode lainnya (Muyassarrah, Rini, dan Faidliyah, 2020).

Berdasarkan latar belakang diatas mengenai kandungan mikroalga yang kaya akan protein, maka penulis tertarik untuk mengukur kandungan protein dalam mikroalga *Nitzschia* sp. yang diperoleh dari Hutan Mangrove Lampung Timur. Uji kadar protein mikroalga *Nitzschia* sp. pada penelitian ini dilakukan dengan metode Lowry menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm (Benny dan Neni, 2014), untuk memastikan metode ini memenuhi persyaratan maka dilakukan verifikasi metode (Riyanto, 2015).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengkultivasi mikroalga *Nitzschia* sp dengan media pupuk buatan.
2. Menganalisis kandungan protein mikroalga *Nitzschia* sp. dengan metode Lowry.

1.3 Manfaat Penelitian

1. Meningkatkan pengetahuan, keterampilan, dan wawasan mengenai teknik kultur mikroalga *Nitzschia* sp.
2. Memberikan informasi tentang kandungan protein mikroalga *Nitzschia* sp. dari Hutan Mangrove Lampung Timur.
3. Sebagai referensi untuk penelitian berikutnya yang berkaitan dengan pengujian mikroalga *Nitzschia* sp.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

2.1.1 Pengertian Mikroalga

Mikroalga adalah kelompok mikroorganisme yang sebagian besar merupakan mikroorganisme fotoautotrof yang meliputi spesies prokariotik dan eukariotik. Organisme ini dapat berfotosintesis mengkonversi CO₂ dan mineral untuk biomassa, tetapi beberapa spesies juga tumbuh secara heterotrof (Duong, V.T., Y. Li, E. Nowak, P.M. Schenk, 2012). Mikroalga umumnya bersel satu atau berbentuk benang dan mampu memproduksi komponen yang bernilai tinggi. Habitat hidupnya terdapat di air laut maupun air tawar. Organisme ini memiliki kemampuan mengubah energi matahari, air, dan karbondioksida layaknya tumbuhan tingkat tinggi (Wulandari dan Adiwilaga, 2014).

2.1.2 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan

Faktor lingkungan sangat menentukan dalam pertumbuhan mikroalga. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga yaitu sebagai berikut:

Cahaya

Cahaya mempunyai peranan penting dalam proses fotosintesis, yaitu sebagai sumber cahaya yang dimanfaatkan oleh organisme autotrof menjadi energi kimia oleh aktivitas klorofil (Gultom, 2018). Selain itu, pencahayaan yang cukup juga berperan menjaga temperatur media supaya tetap berada pada kisaran optimum pertumbuhan mikroalga (Edward, 2010).

Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor abiotik yang keberadaannya sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Peningkatan suhu pada kisaran optimum akan meningkatkan laju metabolisme dan aktivitas fotosintesis mikroalga (Asriyana dan Yuliana, 2012). Suhu optimum untuk kultivasi mikroalga berkisar 24-30°C, dan dapat berubah tergantung komposisi media yang digunakan dan jenis mikroalga yang dikultivasi (Rafaelina *et al.*, 2016).

Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) adalah salah satu parameter penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Perairan sangat dipengaruhi oleh konsentrasi CO₂ dan senyawa yang bersifat asam. Selama fotosintesis pada siang hari, mikroalga menggunakan CO₂ dari perairan sehingga hal ini mengakibatkan pH perairan meningkat sedangkan pada malam hari fotosintesis tidak berlangsung tetapi respirasi tetap berlangsung sehingga menurunkan pH perairan (Nirwawan *et al.*, 2014).

Salinitas

Salinitas merupakan gambaran jumlah garam dalam suatu perairan. Sebaran salinitas di air laut dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti sirkulasi air, penguapan, curah hujan dan aliran sungai (Nontji, 2002). Salinitas juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan sel karena salinitas berpengaruh terhadap tekanan osmosis (yang secara langsung akan mempengaruhi proses metabolisme, proses respirasi sehingga menghambat perkembangbiakkan sel vegetatif yang selanjutnya secara bertahap akan mempengaruhi kepadatan populasi mikroalga) (Mahardani *et al.*, 2017). Mikroalga *Nitzschia* sp. dapat hidup pada salinitas 26 – 35 ppt, namun salinitas yang berubah-ubah dapat mempengaruhi dan menghambat pertumbuhan mikroalga (Widiyaningsih, 2011).

Nutrien

Nutrien pada media pemeliharaan merupakan komponen yang paling penting dalam pertumbuhan mikroalga, pengurangan persentase nutrisi dapat mempengaruhi proses fisiologi mikroalga dan berdampak pada pertumbuhan (Widiyaningsih, 2011). Zat nutrisi yang diperlukan mikroalga untuk tumbuh dan berkembang biak terdiri dari mikronutrien dan makronutrien. Makronutrien yang diperlukan antara lain seperti C, H, N, P, K, S, Mg dan Ca dan untuk mikronutrien seperti Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn, dan Si. Zat nutrisi lain, baik anorganik dan organik mungkin diperlukan dalam jumlah kecil atau sangat kecil, namun pengaruhnya terhadap produktivitas tidak sebesar nitrogen dan fosfor. Nitrogen dan fosfor sebagai nutrisi utama yang dibutuhkan oleh mikroalga untuk pertumbuhan dan perkembangannya memiliki kadar optimal untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel-sel mikroalga. Hal ini sangat bergantung pada nutrisi yang dibutuhkan, bukan hanya CO₂ dan H₂O. Fase pertumbuhan mikroalga yang cepat, kadang kala membuat satu atau lebih dari nutrisi ini kuantitasnya tidak dapat memenuhi kebutuhan. Dalam hal seperti ini maka pertumbuhan mikroalga menjadi terbatas oleh regenerasi nutrisi (Asriyana dan Yuliana, 2012).

2.1.3 Siklus Pertumbuhan

Menurut Prayitno (2016), pola pertumbuhan mikroalga umumnya berbentuk kurva sigmoid seperti yang tertera pada Gambar 1. Fase pertumbuhan mikroalga terdiri dari 4 fase, yaitu :

Fase Lag atau Adaptasi

Pada fase ini sel-sel mikroalga mulai penyesuaian dengan kondisi lingkungan secara fisiologis. Fase sesaat setelah penambahan alga ke dalam media kultur dan secara fisiologis organisme mengalami metabolisme tetapi belum terjadi pembelahan sel sehingga kepadatan sel belum meningkat (Prayitno, 2016).

Fase Logaritmik atau Eksponensial

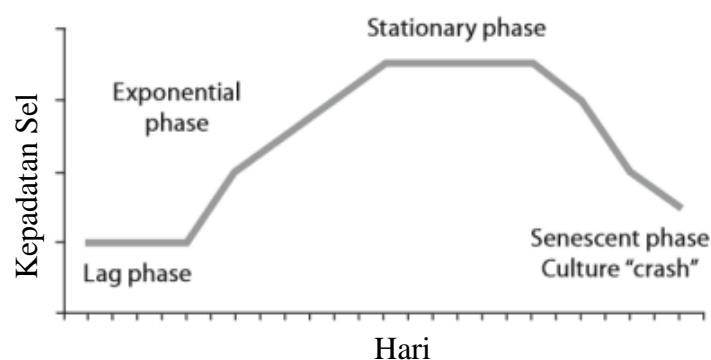
Fase ini diawali dari pembelahan sel dengan laju pertumbuhan tetap. Pada kondisi kultur optimum, laju pertumbuhan pada fase eksponensial mencapai optimal. Pada fase eksponensial kecepatan pertumbuhan dipengaruhi oleh tempat tumbuh, seperti pH, kandungan nutrisi, suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini sel membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan dengan fase lainnya, selain itu sel paling sensitif terhadap keadaan lingkungannya (Prayitno, 2016).

Fase Stasioner

Pada fase ini laju reproduksi sama dengan laju kematian, dengan demikian penambahan dan pengurangan jumlah sel relatif sama atau seimbang sehingga kepadatan sel tetap. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena setiap sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah mulai habis (Prayitno, 2016).

Fase Kematian

Fase ini ditandai dengan kematian sel-sel dalam jumlah besar, sedangkan pembelahan sel hampir tidak terjadi. Pada fase ini grafik menunjukkan penurunan secara tajam karena merupakan akhir dari suatu jumlah individu yang kembali ke titik awal, dikarenakan mikroalga sudah tidak mampu bertahan hidup selama stasioner (yang tidak mendapatkan sumber nutrisi) (Prayitno, 2016).



Gambar 1. Grafik Pertumbuhan Mikroalga (Creswell, 2010).

2.1.4 Perhitungan Sel Mikroalga

Salah satu metode yang dapat digunakan dalam perhitungan kepadatan sel mikroalga adalah dengan metode perhitungan keseluruhan dengan menggunakan alat *haemocytometer*. Cara menghitung sel menggunakan *haemocytometer* :

1. Jumlah sel dihitung dalam ruang hitung *haemocytometer* yang ditutup kaca objek, kemudian dihitung dengan bantuan mikroskop.
2. Sebanyak 1 mL suspensi diteteskan dengan menggunakan pipet, sehingga mengalir ke bawah kaca objek dan mengisi ruang hitung.
3. Jumlah sel dihitung dalam 5 kotak sedang yang berada pada center kotak, yaitu pada kiri atas, kanan atas, pojok kanan bawah, pojok kiri bawah, dan tengah.
4. Sel dalam setiap kotak tersebut dihitung dengan bantuan *hand counter*.

Rumus perhitungan jumlah sel sebanyak 1 mL dalam 5 kotak sedang yaitu:

$$S = \frac{\sum n}{5}$$

Keterangan:

S = Jumlah sel

$\sum n$ = $n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5$

n_1 = jumlah sel pada kotak sedang 1 dan seterusnya

(Simamora *et al.*, 2017).

2.1.5 Pemanenan

Pemanenan mikroalga dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti filtrasi, sentrifugasi dan flokulasi. Filtrasi merupakan salah satu metode pemanenan mikroalga dengan menggunakan media permeabel (Al hattab *et al.*, 2015). Sentrifugasi adalah metode pemanenan secara fisik yang bergantung pada gaya sentrifugal, bekerja secara radial (berputar) dengan pergerakan yang cepat dan pemisahan partikel berdasarkan perbedaan kepadatan antara partikel dan medianya

(Najjar and Shamleh, 2020). Flokulasi adalah proses dimana partikel-partikel kecil yang tidak stabil membuat kontak dengan flokulan sehingga terjadi netralisasi dan membentuk partikel-partikel yang lebih besar (Matter *et al.*, 2019).

2.2 *Nitzschia* sp.

2.2.1 Taksonomi *Nitzschia* sp.

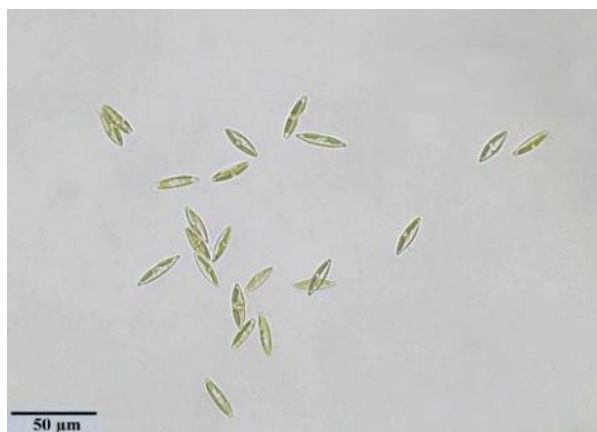
Mikroalga *Nitzschia* sp. diklasifikasikan sebagai berikut:

Filum	:	<i>Bacillariophyta</i>
Sub Division	:	Algae
Ordo	:	Pennales
Kelas	:	Bacillariophyceae
Spesies	:	<i>Nitzschia</i> sp.
Genus	:	<i>Nitzschia</i>

Mikroalga *Nitzschia* sp. sering ditemukan dalam bentuk lonjong atau oval tidak terlalu panjang. Mikroalga *Nitzschia* sp. merupakan mikroalga bersel tunggal yang mempunyai peranan yang penting dalam ekosistem perairan sebagai produsen primer (Nontji, 2008). Mikroalga ini mempunyai beberapa keunggulan, diantaranya kecepatan pertumbuhan yang tinggi sehingga masa panennya cepat (Andersen, 2005) dibandingkan dengan tanaman perkebunan lainnya seperti sawit, mikroalga mempunyai sifat ramah lingkungan, nilai emisinya rendah, dan dapat diperbarui (Christi, 2007).

2.2.2 Morfologi Biologi *Nitzschia* sp.

Nitzschia sp. memiliki kisaran panjang 3 – 10 μm dan kisaran lebar 3 - 4 μm , serta dapat berkembangbiak secara seksual. Seiring bertambahnya waktu, ukuran sel *Nitzschia* sp. akan berkurang dan akhirnya mati apabila mereka tidak mengalami reproduksi. Hal ini disebabkan oleh pembelahan sel vegetatif yang membelah dari dinding sel (Davidovich dan Bates, 2022). Mikroalga *Nitzschia* sp. dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. *Nitzschia* sp. (Wulandari dan Adiwilaga, 2014).

2.2.3 Kandungan Mikroalga *Nitzschia* sp.

Pada penelitian sebelumnya Puspitasari dan Rachman (2017) telah menganalisis kandungan mikroalga *Nitzschia* sp. dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan mikroalga *Nitzschia* sp.

No	Kandungan	%
1	Protein	33 %
2	Karbohidrat	28 %
3	Lipid	21 %

(Puspitasari dan Rachman, 2017).

Sebagai produsen primer, mikroalga *Nitzschia* sp. dapat digunakan sebagai kultur pakan alami untuk memenuhi kekurangan makanan biota perairan dengan cara menambahkan beberapa jenis pupuk. Mikroalga juga telah digunakan secara komersial sebagai lulur herbal (*Laminaria* dicampur tanaman herbal lainnya) untuk mencegah penyakit dan untuk menghaluskan kulit. Mikroalga dapat meningkatkan kualitas kulit dalam menangkal paparan sinar UV, radiasi dan toksin (Baweja *et al.*, 2016).

2.3 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry

Metode Lowry merupakan metode perkembangan lebih lanjut dari metode Biuret. Metode Lowry mengandung reaksi Biuret dengan reduksi reagen *Folin-Ciocalteu fenol* (asam fosfomolibdat-fosfotungstat) oleh residu tirosin dan triptofan dalam protein. Warna kebiruan yang terbentuk dibaca pada panjang gelombang 650 nm (sensitivitas tinggi untuk konsentrasi protein) atau 500 nm (mempunyai sensitivitas rendah untuk konsentrasi protein tinggi) (Krohn, 2005).

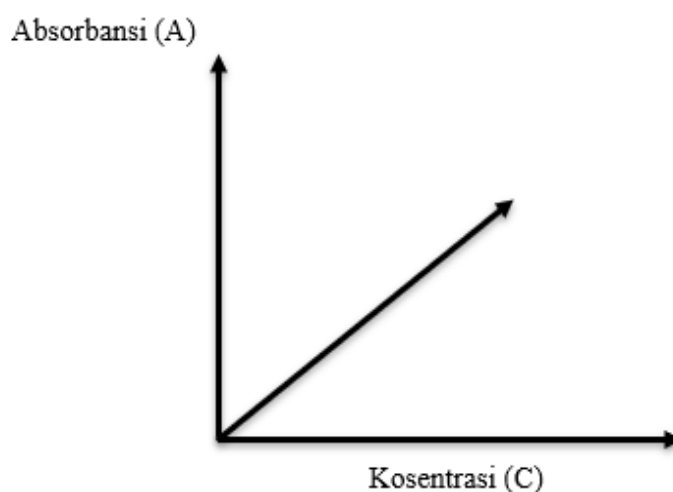
Konsentrasi protein diukur berdasarkan absorbansi pada panjang gelombang tertentu. Untuk mengetahui banyaknya protein dalam larutan, lebih dahulu dibuat kurva standar yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi. Larutan yang umum digunakan sebagai standar adalah *Bovine Serum Albumin* (BSA). Pada umumnya analisis dengan metode Lowry 100 – 1000 kali lebih sensitif, sederhana daripada metode lainnya, dan dapat diselesaikan dalam waktu 1 – 1,5 jam (Muyassaroh, 2020).

Pemilihan metode yang baik dan tepat untuk pengukuran bergantung beberapa faktor seperti, banyaknya material atau sampel yang tersedia, waktu yang tersedia untuk melakukan pengukuran, dan alat spektrofotometri yang tersedia (Vis atau Uv). Reagen pendeteksi gugus-gugus fenolik yaitu reagen *folin dan ciocalteu* telah digunakan dalam penentuan konsentrasi protein oleh Lowry (1951) yang kemudian dikenal dengan metode Lowry (Muyassaroh, 2020).

2.4 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri Sinar Tampak (Uv-Vis) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu. Sinar ultraviolet (UV) memiliki panjang gelombang antara 200 – 300 nm dan sinar tampak (Visible) memiliki panjang gelombang 400 – 750 nm. Spektrofotometri digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorbansi atau diteruskan. Sinar radiasi monokromatik akan melewati larutan yang mengandung senyawa yang dapat menyerap sinar radiasi tersebut. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur cahaya yang terserap oleh larutan pada Panjang gelombang tertentu berdasarkan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2011).

Berdasarkan hukum Lambert-Beer, absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi sehingga kurva absorbansi (A) Vs konsentrasi (C) digambarkan garis linier melalui titik (0,0) seperti Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Absorbansi (A), Konsentrasi (C) (Shita, 2016).

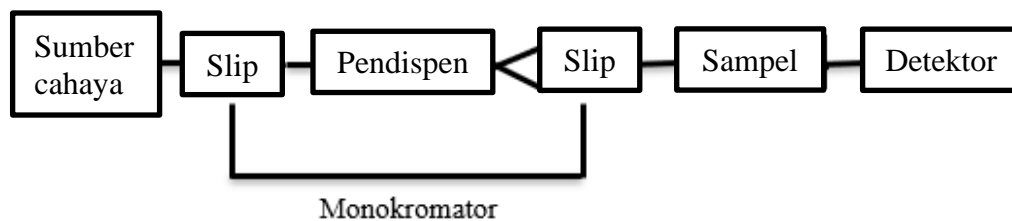
Dalam hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan konsentrasi larutan (Shita, 2016). Hukum Lambert-Beer tersebut dinyatakan dalam persamaan sebagai berikut (Rohman, 2012):

$$A = a \cdot b \cdot c$$

Keterangan:

A	=	Absorbansi
a	=	Absorbansi molar
b	=	Tebal kuvet (cm)
c	=	Konsentrasi

Menurut Khopkar (2003) Instrumen Spektrofotometri Uv-Vis antara lain terdiri dari: sumber cahaya, monokromator, wadah sampel (kuvet), detektor, dan visual *display* atau *recorder*. Secara sederhana instrumen spektrofotometri dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema Spektrofotometri Uv Vis

Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis adalah cahaya yang berasal dari lampu deuterium maupun wolfram yang bersifat polikromatis diteruskan melalui lensa menuju ke monokromator dan filter cahaya pada fotometer. Monokromator mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas-berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian diteruskan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu. Oleh karena itu, terdapat cahaya yang diserap (diabsorpsi) dan ada cahaya yang dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan diterima oleh detektor (Triyati, 1985).

2.5 Verifikasi Metode

Verifikasi metode adalah kegiatan untuk mengkonversi (penyetaraan) ulang suatu metode yang digunakan karena adanya pembaharuan atau penggunaan untuk sampel lain. Sedangkan validasi adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk digunakan (Huber, 2001). Tujuan verifikasi metode adalah untuk menjamin bahwa metode analisis yang digunakan mampu memberikan hasil yang dapat dipercaya (ICH, 1996). Verifikasi bertujuan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan dalam suatu penelitian memenuhi persyaratan sehingga dapat dinyatakan bahwa data yang diperoleh selama penelitian merupakan hasil yang baik dan dapat dipercaya. Parameter dalam verifikasi metode analisis kuantitatif antara lain:

2.5.1 Akurasi

Akurasi suatu prosedur analisis adalah tingkat kedekatan antara hasil pengujian dengan prosedur yang sedang diverifikasi terhadap nilai yang benar atau dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Nilai % *recovery* diperoleh dari membandingkan konsentrasi analit dalam sampel. Akurasi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) dan metode penambahan baku (*standard addition method*).

Pada metode simulasi, sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam plasebo (semua campuran reagen yang digunakan minus analit), lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar standar yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya) (Riyanto, 2015), dalam metode penambahan baku sampel dianalisis terlebih dahulu lalu sejumlah larutan standar ditambahkan ke dalam sampel tersebut, kemudian dihomogenkan dan dianalisis kembali. *Recovery* dapat ditentukan dengan cara membuat sampel kemudian ditambah analit dengan konsentrasi tertentu (biasanya 80% sampai 120% dari kadar analit yang

diperkirakan), kemudian dianalisis dengan metode yang akan diverifikasi (AOAC, 2012). Persyaratan dari presisi dan *recovery* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persyaratan presisi dan % *recovery*

Analit %	Rasio Analit	Unit	%RSD	% <i>Recovery</i>
100	1	100%	1,3	98-102
10	10	10%	1,9	98-102
1	10	1%	2,7	97-103
0,1	10	0,10%	3,7	95-105
0,01	10	100 ppm	5,3	90-107
0,001	10	10 ppm	7,3	80-110
0,0001	10	1 ppm	11	80-110
0,00001	10	100 ppb	15	80-110
0,000001	10	10 ppb	21	60-115
0,0000001	10	1 ppb	30	40-120

(AOAC, 2012)

Akurasi atau persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Nilai %*recovery* diperoleh dari membandingkan perbedaan konsentrasi analit dalam sampel. Rumus mencari akurasi adalah:

$$\% \text{ recovery} = \frac{C_F - C_A}{C_S} \times 100\%$$

Keterangan:

- C_F : konsentrasi total sampel yang diperoleh dari pengukuran
 C_A : konsentrasi sampel sebenarnya
 C_S : konsentrasi standar yang ditambahkan

2.5.2 Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil pengulangan tes, presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Presisi dapat ditentukan dengan dua cara yaitu *repeatability* (keterulangan) atau *reproducibility* (ketertiruan) (Riyanto, 2015). *Repeatability* (keterulangan) merupakan metode jika dilakukan berulang kali oleh

analisis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek. *Reproducibility* (ketertiruan) merupakan keseksamaan metode jika dikerjakan pada kondisi yang berbeda, dilakukan dalam laboratorium-laboratorium yang berbeda dengan peralatan, pereaksi, pelarut, dan analisis yang berbeda pula. Analisis dilakukan terhadap sampel-sampel yang diduga identik yang dicuplik dari tempat yang sama. *Reproducibility* dapat juga dilakukan dalam laboratorium yang sama dengan menggunakan peralatan, pereaksi, dan analisis yang berbeda (Riyanto, 2015).

Pengujian presisi atau keseksamaan biasanya dilakukan 6 – 15 kali replikasi pada sampel tunggal untuk masing-masing konsentrasi. Suatu metode dinyatakan presisi (seksama) jika metode tersebut memberikan simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV) 2%. Namun kriteria tersebut fleksibel, tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium. Pengukuran presisi dapat ditentukan dengan menghitung nilai simpangan baku (SD) dan dari nilai simpangan baku tersebut dapat dihitung nilai koefisien variasi dengan rumus sebagai berikut:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Keterangan :

- SD : standar deviasi
- RSD : simpangan baku relatif (koefisien variasi)
- x : kadar sampel yang diperoleh
- \bar{x} : kadar rata-rata
- N : jumlah pengulangan analisis (Kumalasari *et al.*, 2017).

Kriteria nilai simpangan baku relatif (%RSD) dapat dilihat pada Tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Kriteria Nilai Simpangan Baku Relatif

Nilai RSD	Keterangan
$RSD \leq 1\%$	Sangat teliti
$2\% < RSD \leq 2\%$	Teliti
$2\% < RSD \leq 5\%$	Ketelitian sedang
$RSD \geq 5\%$	Tidak teliti

(AOAC, 2015).

Berdasarkan aturan Horwitz (1995) bahwa metode presisi yang baik ditunjukkan dengan nilai % RSD yang diperoleh dari pengukuran lebih kecil daripada nilai batas presisi persamaan Horwitz. % RSD Horwitz dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Horwitz \% CV} = (2^{(1-0,5 \log C)})$$

Keterangan :

C : fraksi konsentrasi dan dinyatakan sebagai pangkat 10

2.5.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi (parameter uji batas). Batas kuantitasi merupakan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Riyadi, 2015). Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi (Ariska, 2018):

$$\text{LoD} = \frac{3 \times s_{y/x}}{S}$$

$$LoQ = \frac{10 \times s_{y/x}}{S}$$

Dengan

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y-y_i)^2}{n-2}}$$

Keterangan:

S : arah garis linear (kepekaan arah) dan kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (b pada persamaan garis $y = a + bx$)

2.5.4 Linieritas

Linieritas adalah ukuran seberapa baik kurva kalibrasi menghubungkan respons (y) dengan konsentrasi (x). Linearitas dapat diukur dengan mengambil pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda (Harmita, 2012). Linearitas secara matematis dinyatakan sebagai persamaan garis linear seperti pada rumus berikut:

$$y = a + b$$

$$a = \frac{(\sum y_i)(\sum x_i)^2 - (\sum x_i)(\sum y_i)}{N(\sum x_i^2) - (\sum y_i)^2}$$

$$b = \frac{N(\sum x_i y_i) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{N(\sum x_i^2) - (\sum y_i)^2}$$

$$r = \frac{N(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{[(N(\sum x^2) - (\sum x)^2)(N(\sum y^2) - (\sum y)^2)]^{1/2}}$$

Linearitas dapat ditentukan dari nilai koefisien korelasi (r). Nilai (r) yang mendekati satu menggambarkan bahwa konsentrasi larutan standar sebanding dengan respon/intensitas hasil pengukuran. Eurachem (1998) menetapkan kriteria hasil verifikasi metode analisis pada uji linearitas merupakan koefisien determinasi (r^2) $\geq 0,990$. Hal ini menunjukkan bahwa hasil pengukuran tersebut dapat diterima sebagai pembanding/acuan dalam pengukuran sampel.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan April – September 2022 di Unit Pelaksanaan Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi dan Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung Kota Bandar Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer 200 mL, botol kaca, salinometer, alumunium foil, plastik tahan panas, *Autoclave* Tomy SX-700 High-Pressure Steam Sterilizer, mikropipet Wigggen Hauser (FAA 10-100 μ L), lampu TL (Tube Light) 35 watt, *Aerator*, bunsen, korek, centrifuge HITACHI CF 16 RXII 4000 rpm, mikroskop ZEISS Axio Imager Z2m pada perbesaran 100x, kaca preparat, kaca cover, *Haemocytometer* Improved Neubauer, oven, neraca analitik KERN:ABS 220-4, gelas ukur 200 mL, lemari asam, tabung reaksi, *water bath*, *vortex*, dan Spektrofotometer UV-Vis CARY 100 Conc.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel (mikroalga yang diambil dari Lampung Timur) garam krosok, air keran, KNO_3 , FeCl_3 , TSP, Na_2SiO_3 , aquades, NaOH, KH_2PO_4 , Na_2CO_3 , CuSO_4 , $\text{NaKC}_4\text{H}_6\text{O}_6$, NaOH, BSA (*Bovine Serum Albumin*), dan *Folin ciocalteu*.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pemeliharaan Mikroalga dan Budidaya

Mikroalga yang digunakan merupakan deposit dari Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi dan Teknologi Universitas Lampung Kota Bandar Lampung yang diperoleh dari Hutan Mangrove Lampung Timur. Monokultur tersebut dipertahankan dalam media air laut buatan yang mengandung KNO_3 , FeCl_3 , TSP, dan Na_2SiO_3 dengan pemanenan dalam jangka waktu 6 atau 7 hari.

Budidaya mikroalga *Nitzschia* sp. ditumbuhkan dalam erlenmeyer 200 mL yang berisi 80 mL media air laut buatan 26 ppt, kemudian ditambahkan larutan KNO_3 sebanyak 1,8 mL/ 100 mL, FeCl_3 sebanyak 1,8 mL/100 mL, TSP sebanyak 2,3 mL/100 mL, dan Na_2SiO_3 sebanyak 1,5 mL/100 L, dengan lama pencahayaan 12 jam (terang) : 12 jam (gelap) dengan intensitas cahaya $95 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, diaerasi secara terus menerus selama proses kultivasi berlangsung.

3.3.2 Fase Pertumbuhan, dan Pemanenan Mikroalga *Nitzschia* sp.

Fase pertumbuhan mikroalga dilihat menggunakan mikroskop ZEISS Axio Imager Z2m dengan perbesaran 100x dan dihitung kepadatan sel menggunakan *Haemocytometer* Improved Neubauer selama 14 hari.

Pemanenan mikroalga dilakukan dengan sentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm pada suhu 4°C selama 5 menit (Japar *et al.*, 2017).

3.3.3 Penentuan Kandungan Protein dengan Metode Lowry

Analisis protein dilakukan menggunakan metode Lowry (Lowry *et al.*, 1951).

Adapun tahapan dalam analisis protein mikroalga sebagai berikut:

Ekstraksi

Biomassa *Nitzschia* sp. ditimbang sebanyak 50 mg kemudian dilarutkan dengan 50 mL buffer fosfat pH 7, disonikasi selama 10 menit, lalu disentrifugasi pada suhu 4 °C dengan kecepatan 4500 rpm selama 10 menit. Filtrat dipisahkan dari endapan yang terbentuk.

Pembuatan Pereaksi

- Pereaksi A : 2 gram Na_2CO_3 dalam 100 mL NaOH
- Pereaksi B : 5 mL $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% ditambahkan ke dalam 3mL larutan Na/K tartarat 1%
- Pereaksi C : 2 mL pereaksi B + 100 mL pereaksi A
- Pereaksi D : Reagen *folin ciocelleau* diencerkan dengan aquades (1:1)
- Larutan standar : Larutan BSA (*Bovine Serum Albumin*)

Filtrat hasil ekstraksi diambil sebanyak 1 mL lalu ditambahkan 3 mL akuades dan 5 mL pereaksi C, kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex* selama 10 detik dibiarkan selama 15 menit pada suhu kamar. Setelah itu, pereaksi D ditambahkan dengan cepat sebanyak 0,5 mL dan dihomogenkan, didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar dalam keadaan gelap. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis CARY 100 Conc pada panjang gelombang 650 nm. Untuk menentukan konsentrasi protein mikroalga *Nitzschia* sp. digunakan kurva standar BSA (*Bovine Serum Albumin*). Larutan standar BSA dibuat dengan konsentrasi 0,20,40,60,80,100 ppm. Adapun tahapan dalam penentuan kandungan protein mikroalga *Nitzschia* sp. ditunjukkan pada Gambar 5.

Kandungan protein biomassa mikroalga dapat dihitung menggunakan persamaan Victoris *et al.*, (2010) sebagai berikut:

$$\text{Protein } \left(\%, \frac{w}{w} \right) = \frac{CVD}{m} \times 100\%$$

Keterangan :

- C : Konsentrasi protein (mgL^{-1}), dari kurva kalibrasi
 V : Volume buffer yang digunakan untuk ekstraksi (L)
 D : Faktor pengenceran
 M : Berat biomassa (mg)

3.3.4 Verifikasi Metode dan Teknik Analisis Data

Verifikasi metode adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2006). Pada penelitian ini dapat dilakukan teknik analisis data sebagai berikut:

Presisi

Penentuan presisi dilakukan dengan mengukur larutan sampel. Pengukuran secara *Repeatability* (pengulangan) dilakukan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis CARY 100 Conc dengan 8 kali replikasi. Nilai absorbansi yang telah diperoleh ditentukan nilai konsentrasi, simpangan baku (SD), nilai relatif standar deviasi (RSD), dan nilai % RSD Horwitz (ISO/IEC 1725).

Akurasi

Sebanyak 0,1 mL larutan standar 100 ppm dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan dengan larutan sampel sampai tanda batas. Selanjutnya dilakukan

pengulangan sebanyak 8 replikasi dan ditentukan % *recovery*. Parameter ini dikatakan akurat bila % *recovery* yang didapatkan yaitu 80-110% (AOAC, 2015). Hasil dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

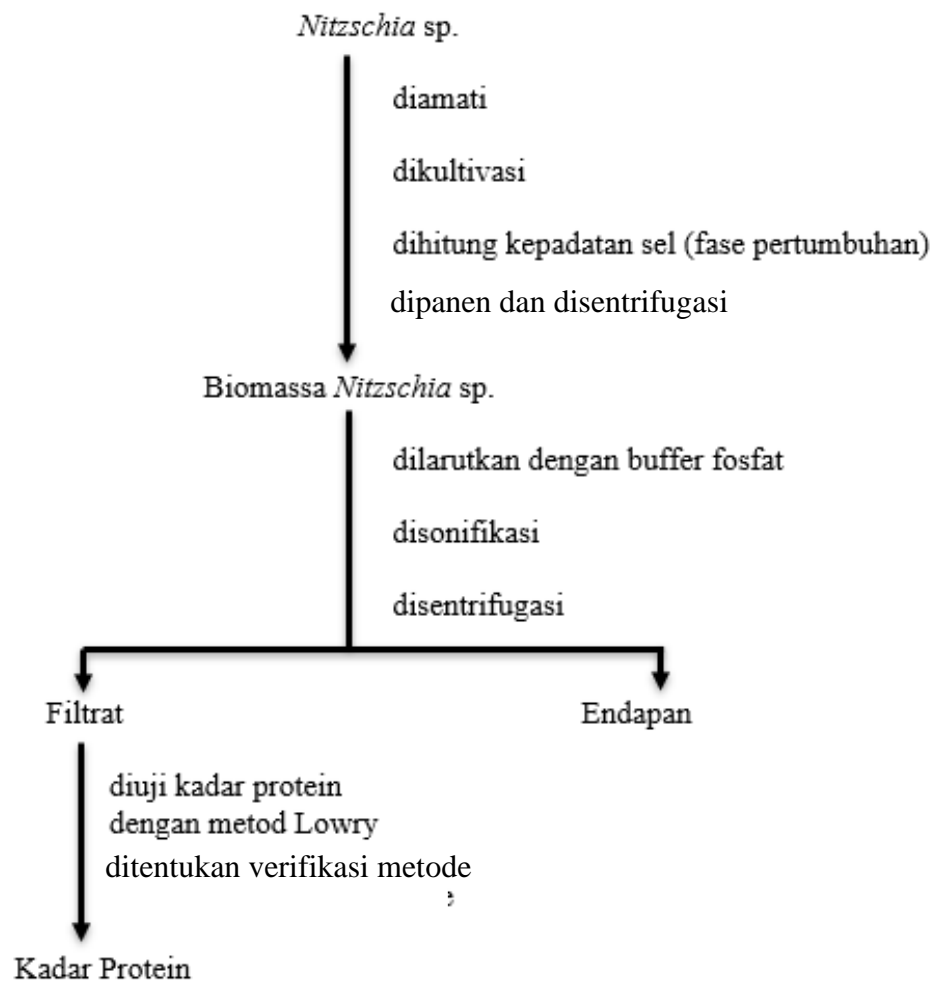
$$\% \textit{recovery} = \frac{C_F - C_A}{C_S} \times 100\%$$

Keterangan:

- C_F = konsentrasi total sampel setelah penambahan baku ($\mu\text{g/mL}$)
 C_A = rata-rata konsentrasi sampel sebelum penambahan baku ($\mu\text{g/mL}$)
 C_S = konsentrasi analit yang ditambahkan ($\mu\text{g/mL}$)

Penentuan Batas Deteksi

Penentuan batas deteksi ditentukan berdasarkan kurva kalibrasi linier. Batas deteksi dilakukan dengan mengukur larutan blanko. Larutan blanko yang terdiri dari buffer fosfat pH 7 sebanyak 1 mL, 3 mL akuades, 5 mL pereaksi Lowry, dan 0,5 mL pereaksi D.

Diagram Alir

Gambar 5. Tahapan dalam penentuan kandungan protein mikroalga *Nitzschia sp.*

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian diperoleh kesimpulan bahwa:

1. Mikroalga *Nitzschia* sp. yang diperoleh dari Hutan Mangrove Lampung Timur dapat dikultivasi menggunakan media pupuk buatan (KNO_3 , FeCl_3 , TSP) dan penambahan Na_2SiO_3 .
2. Kandungan protein pada mikroalga *Nitzschia* sp. dapat diukur menggunakan metode Lowry dengan batas deteksi $16,275 \mu\text{g/mL}$, kandungan protein yang diperoleh sebesar 35,04%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan

1. Metode Lowry bisa dipakai untuk pengembangan kajian kandungan protein berbagai jenis mikroalga yang lain, tetapi perlu diperhatikan konsentrasi larutan standar BSA.
2. Perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai kandungan mikroalga *Nitzschia* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Al hattab, M., Ghaly, A., and Hammouda, A. 2015. Microalgae Harvesting Methods for Industrial Production of Biodiesel: Critical Review and Comparative Analysis. *Journal of Fundamentals of Renewable Energy and Applications*, 5: 2-3.
- Angraeni, T.D. 2016. *Teknik Kultur Nitzschia sp. dari Skala Laboratorium Sampai Skala Intermediet di Balai Budidaya Perikanan Air Payau (BPBAP) Situbondo*. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga.
- Association of Official Analytical Chemist. 2015 [AOAC]. *Official Methods of Analysis*. Guidelines for Standard Method Performance Requirements Appendix F. 1-17.
- Balai Budidaya Lampung. 2002. *Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. Balai Budidaya Laut*. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan. Lampung.
- Baweja, P., Kumar, S., Sahoo, D., and Levine, I. 2016. *Seaweed in Health and Disease Prevention. Chapter 3: Biology of Seaweed*. Edited by J. Fleurence and I. Levine. Elsevier: 10:41-106.
- Chen, C., Yeh, Kuei-Ling., Aisyah, R, Lee, Duu-Jong., and Chang, Jo-Shu. 2011. Bioresource Technology Cultivation , Photobioreactor Design and Harvesting Of Microalgae For Biodiesel Production: A Critical Review88. *Bioresource Technology*, 102: 71-81.
- Christwardana, M.M.M.A., Nur dan Hadiyanto. 2013. *Spirulina platensis: Potensinya Sebagai Bahan Pangan Fungsional*. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2 (1): 19-22.
- Creswell, L. 2010. Phytoplankton Culture for Aquaculture Feed. Southern *Regional Aquaculture Center*. 5004:1-16.

- Davidovich, N.A., dan Bates S. *Pseudo-nitzschia* life cycle and the sexual diversity of clones in diatom populations. <http://diatoms.lifedesks.org/pages/990>. Diakses pada 20 Desember 2021.
- Day, R A, dan Underwood, A L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam*. Erlangga. Jakarta.
- Duong, V.T., Nowak, Y., dan Schenk LI. 2012. Microalgae Isolation and Selection for Prospective Biodiesel Production. *Energies* 5: 1835-1849.
- Fabrowska, J., Leska B., Schroeder G., Messyasz B., and Pikosz M. 2015. Marine Algae Extracts: Processes, Products, and Applications, First Edition. Chapter 38: Biomass and Extracts of Algae as Material for Cosmetics. Edited by S.K. Kim and K. Chojnacka. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.* KgaA: 681-706.
- Gultom, S. O. 2018. Mikroalga : Sumber Energi Terbarukan Masa Depan. *Jurnal Kelautan*. 11(1):95-103.
- Hariato, S.P, Bainah, S.D. dan Wicaksono. 2015. *Mangrove Pesisir Lampung Timur Upaya Rehabilitasi dan Peran Serta Masyarakat*. Plantaxia. Bandar Lampung.
- Huber, L. 2001. *Validation of Analytical Methods*. Terjemahan oleh A. S. Kuswa. Erlangga. Jakarta.
- Japar, A.S., Azis, N.M., Takriff, M.S., and Yasin, N.H.M. 2017. Application of Different Techniques to Harvest Microalgae. *Transactions on Science and Technology*, 2: 98-108.
- Kale, A.and Karthick, B.2015. The Diatoms: Big Significance of Tiny Glass Houses. *Resonance*. 20: 919-930.
- Kawaroe, M. 2010. *Potensi Mikroalga dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. IPB Press. Bogor.

- Khopkar, S.M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press. Jakarta.
- Mahardani, D., Putri, B. dan Hudaidah, S. 2017. Pengaruh Salinitas Berbeda Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Karotenoid *Dunaliella* Sp. dalam Media Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena Leucocephala*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*. 7: 50-58.
- Matter, I.A., Bui, V.K.H., Jung, M., Seo, J.Y., Kim Y.E., Lee, Y.C., Oh, Y.K. 2019. Flocculation Harvesting Techniques for Microalgae: A Review. *Applied Sciences*.
- Muyassaroh, Rini, K.D, dan Faidlyah, N.M. 2020. Penentuan Kadar Protein pada *Spirulina platensis* Menggunakan Metode Lowry dan Kjeldahl. *Jurnal Teknik Kimia*. 15: 40-41.
- Najjar, Y.S.H and Shamleh, A.A. 2020. Harvesting of Microalgae by Centrifugation for Biodiesel Production: A Review. *Algal Research*, 51: 10-20.
- Nirwawan, R., Kussuryani, Y. dan Hanupurti, D. A. 2014. Reduksi Gas CO₂ Oleh Mikroalga *Scenedesmus* Sp. pada Fotobioreaktor Tertutup dengan Variasi Konsentrasi Gas CO₂. *Lembaran Publikasi Minyak Dan Gas Bumi*. 48: 55-62.
- Novrina, R. 2003. *Teknik Kultur Nannochloropsis Sp.* Universitas Lampung. Balai Budidaya Lampung.
- Nur, M.M.A. 2014. Potensi Mikroalga Sebagai Sumber Pangan Fungsional di Indonesia. *Eksergi*. 11: 1-6.
- Prayitno, J. 2016. Pertumbuhan dan Pemanenan Biomassa dalam Fotobioreaktor Mikroalga untuk Penangkapan Karbon. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 17: 45-52.
- Pomeranz, Y. and Meloan, C.E. 1987. *Food Analysis: Theory and Practice. Second Edition*. Van Nostrand Reinhold Company. New York.

- Puspitasari dan Rachma. 2017. Pengembangan *Nitzschia* sp. Sebagai Biota Uji Sedimen. *Oseana, Volume XLII*: 30.
- Rafaelina, M., Rustam, Y. dan Amini, S. 2016. Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan dari Mikroalga. *BIOMA*, 12: 12-21.
- Rahman, N.A., Katayama, T., Effendy, M., Wahid, A., Monica, H., and Peralta, M. 2020. Taxon- and Growth Phase-Specific Antioxidant Production by Chlorophyte, Bacillariophyte, and Haptophyte Strains Isolated from Tropical Waters. *Frontiers In Bioengineering And Biotechnology*. 8: 1-16.
- Riyanto, 2015. *Validasi dan Verifikasi Metode Uji Sesuai ISO/ICE 1725 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*. Deepublish. Yogyakarta.
- Shita, A.E. 2016. *Selektivitas Metode Analisis Formalin Secara Spektrofotometri dengan Pereaksi Schiff's*. (Skripsi). Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Simamora, L.A., Sudarno., dan Istirokhatun, T. 2017. Kultivasi Mikroalga Sebagai Metode Pengolahan dalam Menyisihkan Kadar COD dan Ammonium pada Limbah Cair Tahu. *Journal Teknik Lingkungan*. 6(1). Online <http://ejournal.S1.undip.ac.id/index.php/tlingkungan>.
- Spolaore. 2006. Commercial Applications of Microalgae. *Journal Of Bioscience and Bioengineering*. 101: 87-96.
- Swandari dan Wijastuti. 2022. *Pengaruh Waktu Panen dan Metode Kultur pada Kandungan Protein, Pigmen dan Senyawa Aktif Spirulina Sp*. Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Al Azhar Indonesia. Universitas Al Azhar Indonesia.
- Tri, D.A. 2016. *Teknik Kultur Nitzschia sp. dari Skala Laboratorium Sampai Skala Intermediet di Balai Budidaya Perikanan Air Payau (BPBAP) Situbondo*. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Universitas Airlangga.

- Triyati, E. 1985. Spektrofotometer Ultra-Violet dan Sinar Tampak Serta Aplikasinya dalam Oseanologi. *Jurnal Oseana*. 10: 39-47.
- Widianingsih. 2011. Pengaruh Pengurangan Konsentrasi Nutrien Fosfat dan Nitrat Terhadap Kandungan Lipid Total *Nannochloropsis Oculate*. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 16: 24-29.
- Wulandari, P. dan Adiwilaga, E.M. 2014. Distribusi Spasial Fitoplankton di Perairan Pesisir Tangerang. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 19:156-162.
- Yudi, A. 2015. Isolation and Characterization of Microalgae That Potential As Raw Material for Biodiesel In Estuary of Porong River. *Biology Department*. 10: 78-79.