

LAPORAN AKHIR PENELITIAN
PNBP FAKULTAS TEKNIK



KARAKTERISASI DAN OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN
PRODUKTIVITAS BIOMASSA MIKROALGA
ISOLAT IND-UNM1 DAN IND-UNM2

TIM PENGUSUL

INDRAYANI, S.Pi, M.Biotech.Stu, Ph.D NIDN: 0023127404 (Ketua)
RATNAWATY FADILAH, S.TP, M.Sc NIDN: 0027068006 (Anggota)
NURMILA S.Ag, M.Pd.I NIDN : 0031126929 (Anggota)

Dibiayai oleh:

DIPA Universitas Negeri Makassar Nomor 023.17.2.677523, tanggal 20 Juli 2022
Sesuai Surat Keputusan Rektor Universitas Negeri Makassar
Nomor 595/UN36/HK/2022, tanggal 14 April 2022

UNIVERSITAS NEGERI MAKASSAR
NOVEMBER 2022

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian

: Karakterisasi dan Optimasi Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa Mikroalga Isolat IND-UNM1 dan IND-UNM2

Ketua Peneliti:

- a. Nama Lengkap
- b. NIP/NIDN
- c. Jabatan Fungsional
- d. Program Studi
- e. Nomor HP
- f. Alamat surel (e-mail)

: Indrayani, S.Pi, M.Biotech.Stu, Ph.D
: 197412232001122001/0023127404
: Lektor
: Pendidikan Teknologi Pertanian
: 087840311101 / 082188629424
: indrayani@unm.ac.id

Anggota Peneliti (1)

- a. Nama Lengkap
- b. NIP/NIDN

: Ratnawaty Fadilah, S.TP, M.Si
: 0027068006
: Universitas Negeri Makassar

Anggota Peneliti (2)

- a. Nama Lengkap
- b. NIP/NIDN
- c. Perguruan Tinggi

: Nurmila, S.Ag, M.Pd.I
: 0031126929
: Universitas Negeri Makassar

Lama Penelitian : 8 bulan

Biaya Penelitian : Rp. 10.000.000

Jumlah Mahasiswa Yang Dilibatkan: 2 Orang

Makassar, 10-November-2022

Mengetahui,

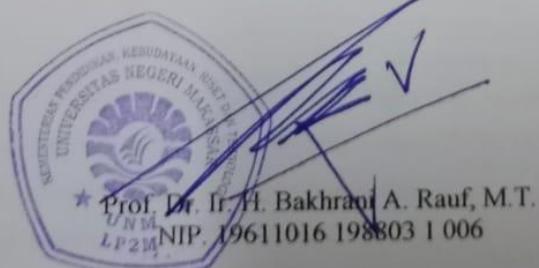
Dekan Fakultas Teknik

Ketua Peneliti,

Prof. Dr. H. Muhammad Yahya, M.Kes, M. Eng
NIP 19630623199103 1 002

Indrayani, S.Pi, M.Biotech.Stu, Ph.D
NIP 19741223 200112 2 001

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Negeri Makassar



IDENTITAS DAN URAIAN UMUM

1. Judul Penelitian : Karakterisasi dan Optimasi Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa Mikroalga Isolat IND-UNM1 dan IND-UNM2
2. Tim Peneliti :

No	Nama	Jabatan	Bidang keahlian	Instansi Asal	Alokasi Waktu (jam/minggu)
1.	Indrayani, S.Pi, M.BioTech.St u, Ph.D	Ketua	Bioteknologi Perikanan/ Mikroalga	UNM	20
2.	Ratnawaty Fadilah, S.TP,M.Si	Anggota	Teknologi Pangan	UNM	10
3.	Nurmila, S.Ag, M.Pd.I	Anggota	Pendidikan Agama	UNM	10

3. Mahasiswa yang dilibatkan

No .	Nama	NIM	Prodi	Uraian tugas	Alokasi waktu (jam/min ggu)
1	Indah Cahyani	1827042022	PTP	Melakukan eksperimen pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan dan produktivitas biomassa mikroalga isolat IND-UNM2	10
2	Nurul Mawaddah		PTP	Melakukan eksperimen pertumbuhan dan produktivitas biomassa mikroalga isolat IND-UNM1 pada intensitas cahaya yang berbeda	10

4. Objek Penelitian : Objek penelitian ini adalah mikroalga yang diisolasi dari sumber air panas Waepella Sinjai isolat IND-UNM1 dan isolat IND-UNM2 yang diisolasi dari tambak garam Jeneponto.

5. Masa Pelaksanaan :

- Mulai : Bulan April tahun : 2022
- Berakhir : Bulan Desember tahun : 2022
6. Usulan Biaya : PNBP Universitas Negeri Makassar
: Rp. 10.000.000.
7. Lokasi Penelitian : Labroatorium Prodi Pendidikan Teknologi Pertanian-FT-UNM
8. Instansi lain yang terlibat : -
9. Temuan yang ditargetkan : 1). Diketahui karakteristik pertumbuhan dari kedua isolate 2). Diketahui kondisi kultur yang optimum untuk pertumbuhan dan produktivitas biomassa kedua isolate.
10. Kontribusi mendasar pada suatu bidang ilmu : Penelitian tentang mikroba yang hidup pada habitat ekstrim masih sangat kurang dilakukan bahkan belum dilakukan di Sulawesi Selatan. Penelitian ini merupakan bagian dari rencana pengembangan spesies/strain lokal mikroalga/bakteri untuk aplikasi komersial khususnya untuk produksi high value products untuk pharmaceuticals dan nutraceuticals.
- 11. Jurnal ilmiah yang menjadi sasaran:** Jurnal internasional bereputasi (Biodiversitas/AACL Bioflux, Scopus Q3)

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	i
IDENTITAS DAN URAIAN UMUM.....	ii
DAFTAR ISI.....	iv
RINGKASAN.....	v
PRAKATA.....	vii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Extremophiles Mikroba	4
2.2 Peranan Extremophiles Mikroba Dalam Bidang Bioteknologi	6
BAB 3 METODE PELAKSANAAN	9
3.1 Persiapan Alat dan Bahan	9
3.2 Pembuatan Media Kultur	9
3.3 Eksperimen “Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa pada media kultur yang berbeda”.....	9
3.4 Eksperimen “Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan dan produktivitas Biomassa mikroalga isolate IND-UNM2.....	10
3.5 Eskperiment “Pengaruh intensitas cahaya yang berbeda terhadap pertumbuhan dan produktivitas biomassa isolate mikroalga IND-UNM1”....	10
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	12
4.1 Hasil	12
4.2 Pembahasan	23
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	45

RINGKASAN

KARAKTERISASI DAN OPTIMASI PERTUMBUHAN DAN PRODUKTIVITAS BIOMASSA MIKROALGA ISOLAT IND-UNM1 DAN IND-UNM2. Indrayani, Ratnawaty Fadilah, Nurmila. 2022. 52 halaman.

Mikroorganisme extremophiles merupakan kelompok organisme yang pada habitat ekstrim yang kondisi lingkungan fisika/kimia diatas ambang batas normal untuk mendukung kehidupan Sebagian besar organisme. Salah satu kelompok organisme yang dapat ditemukan pada habitat ekstrim adalah mikroalga. Pada penelitian sebelumnya di tahun 2021 telah berhasil diisolasi mikroalga dari sumber air panas Waepella Kab. Sinjai (isolate UNM-IND1) dan dari tambak garam Kab. Jeneponto (isolate UNM-IND2). Kedua isolate ini potensial untuk dikultur dan dikembangkan lebih lanjut berdasarkan kemampuannya untuk tumbuh baik pada media cair serta bersifat planktonik yang tidak menempel pada wadah kultur sehingga mudah untuk di kultur massal pada system kultur raceway pond ataupun photobioreactor. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pertumbuhan dan produktivitas biomassa isolate mikroalga pada berbagai kondisi kultur (media kultur, salinitas serta intensitas cahaya). Isolate IND-UNM1 dikultur pada berbagai media kultur (f/2. Walne, Jarowsky dan Urea+NPK) dan pada berbagai intensitas cahaya yakni 2500 lux, 3500 lux dan 8000 lux. Sementara isolate IND-UNM2 dikultur pada salinitas yang berbeda (6,8,10,12,14% NaCl). Kultur dipelihara pada rak kultur dengan suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$, siklus gelap terang masing-masing 12 jam. Kepadatan sel kultur mikroalga diamati setiap 2 hari menggunakan Haemocytometer selama dua minggu sementara biomas diukur pada fase eksponensial dan fase stationer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolate UNM-IND1 memiliki pertumbuhan dan produktivitas biomassa tertinggi pada media Urea+NPK dan pada intensitas cahaya tertinggi yakni 8000 lux. Sementara mikroalga isolate UNM-IND2 memiliki pertumbuhan dan produktivitas biomassa tertinggi pada salinitas 8% NaCl. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pH dan suhu optimum untuk pertumbuhan dan produktivitas biomasa serta komposisi biokimia dari masing-masing isolate.

SUMMARY

CHARACTERIZATION AND OPTIMIZATION OF GROWTH AND BIOMASS PRODUCTIVITY OF MICROALGAE ISOLATES IND-UNM1 AND IND-UNM2. Indrayani, Ratnawaty Fadilah, Nurmila. 2022. 52 pages.

Extremophiles are a group of organisms in extreme habitats whose physical/chemical environmental conditions are above the normal threshold to support the life of most organisms. One group of organisms that can be found in extreme habitats is microalgae. In a previous study in 2021, microalgae were isolated from the hot springs of Waepella Kab. Sinjai (UNM-IND1 isolate) and from the salt ponds of Kab. Jeneponto (UNM-IND2 isolate). These two isolates have the potential to be cultured and further developed based on their ability to grow well in liquid media and are planktonic which do not stick to the culture container so that they are easy to mass culture in raceway pond culture systems or photobioreactors. Therefore, this study aimed to analyze the growth and productivity of microalgae isolate biomass under various culture conditions (culture media, salinity and light intensity). IND-UNM1 isolates were cultured on various culture media (f/2. Walne, Jarowsky and Urea+NPK) and at various light intensities of 2500 lux, 3500 lux and 8000 lux. Meanwhile, IND-UNM2 isolates were cultured at different salinities (6,8,10,12,14% NaCl). Cultures were maintained on a culture room at $25\pm1^{\circ}\text{C}$, with a light-dark cycle of 12 hours each. Cell density of microalgae culture was observed every 2 days using a Haemocytometer for two weeks while biomass was measured in the exponential phase and stationary phase. The results showed that the isolate UNM-IND1 had the highest growth and productivity of biomass on Urea+NPK media and at the highest light intensity of 8000 lux. Meanwhile, the microalgae isolate UNM-IND2 had the highest growth and productivity of biomass at 8% NaCl salinity. Further research is needed to determine the optimum pH and temperature for growth and productivity of biomass as well as the biochemical composition of the isolates.

PRAKATA

Puji dan syukur kami panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan Berkah, Rahmat, Karunia dan RidhoNya sehingga kami dapat menyelesaikan Laporan Hasil Penelitian yang berjudul: “Karakterisasi dan Optimasi Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa Mikroalga Isolat IND-UNM1 dan IND-UNM2”. Laporan Hasil Penelitian ini disusun sebagai salah satu bentuk pertanggungjawaban ilmiah atas kegiatan penelitian yang dilakukan oleh Tim Peneliti.

Penelitian ini dilaksanakan berdasarkan Keputusan Rektor Universitas Negeri Makassar melalui Perjanjian / Kontrak Penelitian Nomor: UN36.11/LP2M/2022 mendapatkan Anggaran Penelitian PNBP Fakultas Teknik Universitas Negeri Makassar.

Pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Rektor Universitas Negeri Makassar yang telah memberikan kepercayaan dan dukungan kepada peneliti untuk melakukan penelitian tentang “ Karakterisasi dan Optimasi Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa Mikroalga Isolat IND-UNM1 dan IND-UNM2”
2. Bapak Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat Universitas Negeri Makassar beserta unsurnya yang telah memberikan kesempatan dan kepercayaan kepada peneliti untuk melakukan penelitian ini.
3. Bapak Dekan Fakultas Teknik Universitas Negeri Makassar atas kepercayaan dan dukungan kepada peneliti untuk melakukan penelitian ini
4. Bapak/Ibu Dosen Program Studi Pendidikan Teknologi Pertanian atas bantuan dan Kerjasamanya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.
5. Adik-adik mahasiswa (Nur Zakiyah Ramadhani, Nurul Mawaddah, Indah Cahyani) atas bantuan dan kerjasamanya sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat waktu.

Akhirnya, peneliti mengharapkan agar Laporan Hasil Penelitian ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan berkontribusi pada pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi khususnya dibidang bioteknologi mikroalga. Peneliti menyadari bahwa Laporan Hasil Penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat konstruktif dari para pembaca sangat diharapkan, guna perbaikan dan penyempurnaan Laporan Hasil Penelitian ini. Peneliti tak lupa menyampaikan permohonan maaf jika dalam penulisan Laporan Hasil Penelitian ini terdapat kekeliruan dan kekurangan.

Demikian, dan terima kasih.

Makassar, November 2022

Tim Peneliti.

BAB I. PENDAHULUAN

Mikroorganisme dapat ditemukan pada hampir semua habitat termasuk pada lingkungan perairan yang ekstrim. Hal ini menunjukkan bahwa mikroorganisme memiliki kemampuan adaptasi yang luas terhadap berbagai parameter lingkungan (Merino et al., 2019). Habitat ekstrim adalah lingkungan yang memiliki kondisi yang di luar batas normal untuk mendukung kehidupan dan pertumbuhan organisme seperti lingkungan dengan suhu yang sangat tinggi (hot springs), suhu sangat rendah (salju), salinitas tinggi (hypersaline ponds/lakes), pH yang sangat tinggi atau sangat asam (Varshney et al. 2015).

Mikroalga merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang dapat ditemukan pada habitat ekstrim. Mikroalga adalah mikroorganisme prokariotik dan eukariotik yang berfotosintesis yang dapat ditemukan pada hampir semua ekosistem akuatik (Mata et al. 2010) yang sangat potensial sebagai sumber senyawa biokimia penting yang memiliki aplikasi yang sangat luas pada bidang industri makanan, pakan, kosmetik, nutraceutical, pharmaceutikal dan bahkan industri biofuels (Olaizola 2003). Mikroalga yang mampu hidup pada habitat ekstrim menunjukkan bahwa mikroalga tersebut memiliki mekanisme tertentu untuk beradaptasi pada lingkungan tersebut. Spesies mikroalga yang mampu hidup pada hot springs memproduksi enzyme yang tahan terhadap suhu tinggi dan tidak mudah terdenaturasi. Mikroalga *Dunaliella salina* yang mampu hidup pada salinitas dan intensitas cahaya yang tinggi mengakumulasi beta-karotene dan glycerol sebagai mekanisme untuk bertahan terhadap intensitas cahaya dan salinitas yang tinggi (Indrayani 2017). Mikroalga Spirulina yang memiliki kandungan protein yang sangat tinggi hingga 70% memiliki lingkungan yang selektif untuk tumbuh dengan baik yakni pH yang tinggi. Lingkungan selektif yang dimiliki oleh *Dunaliella salina* dan Spirulina memungkinkan kedua jenis mikroalga ini untuk dikultur secara komersial pada kondisi outdoor tanpa kontaminasi (Avron dan ben-Amotz, 1992).

Di Sulawesi Selatan terdapat beberapa habitat/lingkungan perairan ekstrim terutama hot springs dan hypersaline ponds. Habitat-habitat tersebut belum diteliti hubungannya dengan keberadaan mikroalga. Eksplorasi mikroalga pada habitat ekstrim untuk dikembangkan sebagai produk komersial memerlukan tahapan yang panjang. Seleksi species atau strain adalah langkah pertama dan paling penting

dalam kegiatan bioprospeksi mikroalga/bakteri untuk aplikasi komersial (Borowitzka2013dalam Indrayani 2017). Proses seleksi dan skrining mikroalga/bakteri untuk aplikasi komersial melibatkan tahapan-tahapan seperti pengambilan/koleksi sampel,isolasi, purifikasi, identifikasi, pemeliharaan dan karakterisasi (Gong and Jiang 2011dalam Indrayani2017).

Kegiatan seleksi dan skrining mikroba dapat dilakukan melalui dua cara yaitu seleksi dan skrining mikroalga dari pusat koleksi mikroalga dan dari lingkungan alam. Seleksi spesies melalui koleksi kultur dapat diakses dengan mudah namun hanya merupakan bagian kecil dari spesies mikroalga yang terdapat di alam (Borowitzka 2013). Sebaliknya, sumberdaya mikroalga yang terdapat di alam jumlah dan potensinya sangat besar dan belum banyak dieksplorasi (Indrayani 2017). Selain itu, isolasi dan seleksi spesies lokal mikroalga memiliki keunggulan kompetitif ketika dikultur secara massal karena mikroalga tersebut sudah beradaptasi dengan lingkungan iklim setempat (Larkum et al.2012).

Melihat besarnya potensi pengembangan mikroalga yang hidup pada habitat ekstrim untuk menghasilkan produk-produk yang komersil untuk berbagai aplikasi industri serta masih sangat kurangnya kegiatan eksplorasi mikroalga spesies lokal terutama yang hidup pada habitat ekstrim tertutama di Sulawesi Selatan, maka penelitian mengenai mikroalga yang hidup pada habitat ekstrim penting untuk dilakukan. Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya pada tahun 2021 yng bertujuan untuk mengisolasi mikroalga yang hidup pada habitat ekstrim sumber air panas Waepella di Sinjai dan Tambak Garam Jeneponto di Sulawesi Selatan. Dari hasil penelitian ini diperoleh beberapa isolate mikroalga yang akan diteliti lebih lanjut untuk dapat dikembangkan menjadi produk komersil. Sebagai isolate baru, informasi mengenai pertumbuhan serta kondisi kultur yang optimal untuk pertumbuhannya belum diketahui. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pertumbuhan dan produktivitas biomassa isolate baru mikroalga pada berbagai kondisi kultur (media/nutrient, salinitas dan intensitas cahaya). Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar bagi pengembangan spesies local mikroalga untuk aplikasi komersial.

Tabel 1.1. Rencana target capaian tahunan

No	Jenis luaran		Indikator capaian		
			TS ¹⁾	TS+1	TS+2
1.	Publikasi ilmiah ²⁾	Internasional Bereputasi	Submitted		
2.	Pemakalah dalam pertemuan ilmiah ³⁾	Internasional	Terdaftar/ dilaksanakan		
		Nasional	Terdaftar/ dilaksanakan		
3.	Keynote speaker dalam pertemuan ilmiah ⁴⁾	Internasional	Belum		
		Nasional	Belum		
4.	Visiting lecture ⁵⁾	Internasional	Belum		
5.	Hak dan kekayaan intelektual (HKI) ⁶⁾	Paten	Belum		
		Paten sederhana	Belum		
		Hak Cipta	Belum		
		Merk dagang	Belum		
		Rahasia dagang	Belum		
		Desain produk industry	Belum		
		Indikasi geografis	Belum		
		Perlindungan varietas tanaman	Belum		
		Perlindungan topografi sirkuit terpadu	Belum		
6.	Teknologi tepat guna ⁷⁾		Belum		
7.	Model/purwarupa/desain/karya seni/rekayasa social ⁸⁾		Belum		
8.	Buku ajar (ISBN) ⁹⁾		Belum		
9.	Tingkat kesiapan teknologi (TKT) ¹⁰⁾		2		

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Extremophiles Mikroba

Mikroorganisme tidak hanya hidup pada perairan umum namun juga dapat bertahan pada kondisi lingkungan yang keras seperti lingkungan dengan tingkat radiasi yang ekstrem, tekanan dan temperatur yang ekstrim (Horneck et al., 2010; Yamagishi et al., 2018). Mikroorganisme ekstremophiles telah beradaptasi dengan sangat baik pada kondisi ekstrem yang memungkinkan mereka untuk hidup bahkan bereproduksi pada lingkungan tersebut (Rothschild and Mancinelli, 2001).

Extremophilic organisms termasuk prokaryotic (archaea dan bacteria/cyanobacteria) serta eukaryotic. Extremophiles mikroba dapat digambarkan sebagai acidophilic (memiliki pH yang optimal untuk tumbuh antara pH 1 -5); alkaliphilic (tumbuh optimal pada pH diatas 9); halophilic (tumbuh optimal pada salinitas yang sangat tinggi); thermophilic (tumbuh optimal pada suhu antara 60- 80 °C [140 and 176 °F]); hyperthermophilic (tumbuh optimal pada suhu diatas 80 °C [176 °F]); psychrophilic (tumbuh optimal pada suhu \leq 15 °C [60 °F] dengan maksimum suhu yang dapat ditolerir adalah 20 °C [68 °F] dan suhu minimal pada/dibawah 0 °C [32 °F]); piezophilic, atau barophilic (otumbuh optimal pada tekanan hidrostatik yang tinggi); oligotrophic (tumbuh pada lingkungan yang miskin nutrient); endolithic (tumbuh didalam batu atau di dalam pori batuan mineral) dan xerophilic (tumbuh pada kondisi kering) (Varshney et al. 2015).

Mikroalga merupakan kelompok tumbuhan berukuran renik yang termasuk dalam kelas alga, diameternya antara 3-30 μ m, baik sel tunggal maupun koloni yang hidup di seluruh wilayah perairan tawar maupun laut, yang lazim disebut fitoplankton. Di dunia mikrobia, mikroalg atermasuk eukariotik, umumnya bersifat fotosintetik dengan pigmen fotosintetik hijau (klorofil), coklat (fikosantin), biru kehijauan (fikobilin), dan merah (fikoeritrin). Morfologi mikroalga berbentuk uniseluler atau multiseluler tetapi belum ada pembagian tugas yang jelas pada sel-sel komponennya. Hal itulah yang membedakan mikroalga dari tumbuhan tingkat tinggi (Romimohtarto, 2004). Mikroalga merupakan sumber baku alternatif untuk produksi biodiesel. Biodiesel dapat dibuat dari berbagai macam sumber, seperti minyak nabati, lemak hewani, dan sisa dari minyak atau lemak (misalnya sisa minyak penggorengan). Walaupun lemak hewani dapat digunakan, akantetapi

minyak nabati merupakan bahan baku yang paling banyak dimanfaatkan untuk biodiesel (Raharjo, 2007). Dalam hasil penelitian yang dilakukan oleh Chisti (2007), mikroalga merupakan satu-satunya sumber bahan terbarukan untuk biodiesel yang mampu memenuhi permintaan global untuk bahan bakar transportasi, dan berpotensi untuk menggantikan penggunaan bahan bakar fosil secarapenuh.

Umumnya organisme tidak mampu bertahan hidup di lingkungan yang ekstrem seperti suhu, salinitas, pH atau keberadaan xenobiotik. Namun, ada daerah di bumi yang kondisi lingkungannya berada di luar batas normal untuk pertumbuhan organisme dan lingkungan yang demikian tergolong sebagai lingkungan yang ekstrim (Varshney et al. 2015). Organisme yang dapat mengatasi pH, suhu, tekanan, dan salinitas yang ekstrem disebut organisme ekstremofil. Terkadang organisme ini memiliki tambahan kualitas seperti kemampuan untuk mengatasi tingkat gas yang sangat tinggi seperti CO₂, atau tumbuh dengan adanya logam dengan konsentrasi tinggi dan beberapa dapat berkembang dengan kombinasi lebih dari satu stres (polyextremophiles). Beberapa organisme bahkan memiliki kemampuan yang luar biasa untuk tumbuh di bawah tingkat radiasi yang sangat tinggi dan mengakumulasi radionuklida (Rivasseau et al., 2013).

Beberapa jenis mikroalga diketahui memiliki kemampuan untuk hidup pada habitat ekstrim termasuk dua jenis mikroalga yang sudah diproduksi secara komersial oleh industri yakni mikroalga hijau *Dunaliella salina* yang diisolasi dari hypersaline pond yang mampu hidup pada salinitas yang sangat tinggi mencapai 3 M atau 300 ppt (Varshney et al. 2015). Jenis yang lainnya adalah mikroalga *Spirulina* yang merupakan alga cyanobacteria berfilamen yang blooming pada danau alkaline dengan pH 9-11 (Silli et al, 2012). *Dunaliella* digunakan sebagai sumber alami b-karoten sedangkan *Spirulina* memiliki pasar sebagai makanan dan pakan tambahan nutrisi manusia dan hewan karena kandungan nutrisinya terutama protein. Faktor kunci keberhasilan komersial kedua spesies ini adalah kemampuan mereka untuk tumbuh dalam kondisi ekstrim tertentu yang membantu mengurangi kontaminasi oleh spesies alga lainnya (Avron dan Ben- Amotz, 1992). Diatom *Amphora* sp.MUR258 memiliki kemampuan hidup pada salinitas yang tinggi hingga 5 kali salinitas air laut (150ppt) dan suhu yang tinggi mencapai 40°C

(Indrayani et al.2019; Indrayani et al. 2020). Diatom Amphora ini memiliki kandungan lipid yang sangat tinggi mencapai 65% dari berat biomasnya sehingga potensil untuk dikembangkan sebagai bahan baku biodiesel (Indrayani, 2017).

2.2 Peranan Extremophiles Mikroba dalam Bidang Bioteknologi

Extremophiles mikroba sangat menarik perhatian bioteknologist karena kemampuannya untuk memproduksi extremozymes yakni enzim yang tetap aktif dan fungsional pada kondisi ekstrim. Extremozymes sangat berguna dalam proses produksi industri dan aplikasi research karena kemampuannya untuk tetap aktif pada kondisi yang ekstrim seperti suhu, tekanan dan pH yang tinggi yang digunakan dalam proses industri (Arora and Panosyan 2019).

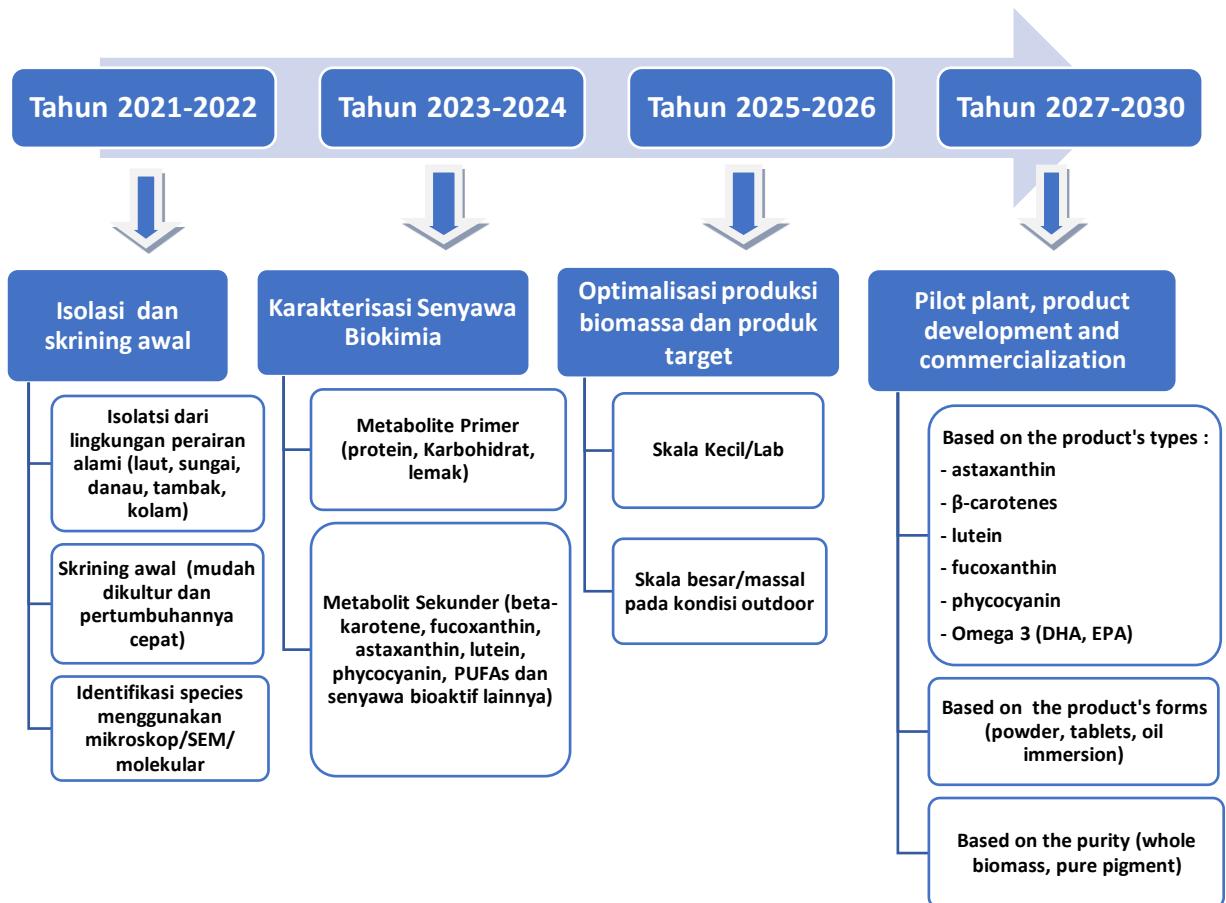
Potensi komersial mikroalga telah diakui lebih dari 50 tahun namun jumlah spesies mikro-alga yang ada saat ini diproduksi dalam skala besar dalam proses ekonomi yang berkelanjutan masih sangat terbatas (Richmond, 2004). Kendala utama dalam menciptakan perkembangan baru, berbasis mikro-alga terletak pada pencapaian skala besar pada kondisi luar ruangan (Torzillo et al., 2003). Tingginya cahaya, suhu, fluktuasi musiman dan diurnal dalam cahaya dan suhu dan kontaminasi oleh organisme lain mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas pada kultur di luar ruangan (Vonshak dan Richmond, 1988). Dari beberapa strain mikroalga yang telah mencapai tahap menjadi produk yang diperdagangkan secara komersial, terdapat dua mikroalga ekstremofil yaitu *D. Salina* dan *Spirulina* sp.

Dunaliella salina merupakan mikroalga laut dari jenis kelas Chlorophyceae yang responsif terhadap perubahan osmotic yang mampu hidup pada salinitas yang sangat tinggi hingga 300 ppt. Spesies ini dikenal karena kemampuannya untuk menghasilkan karotenoid sebagai sumber antioksidan sekitar 1.100-2.100 mg β-karoten per 100 gram berat kering (Del Campo et al., 2007). Beta-karoten dari mikroalga *D. salina* dapat dimanfaatkan dalam tiga kategori yakni dalam industri farmasi, industri pangan dan industri kosmetik (termasuk dalam jenis fine chemical). Beta karoten alami memiliki kandungan karotenoid yang kompleks dan nutrien esensial dibandingkan dengan β-karoten buatan sehingga permintaan global tahunan untuk β-karoten adalah sekitar 1.430 ton per tahun dan sisanya dipenuhi melalui karoten sintesis (Ramajaj and Juntawong, 2015). Selain itu, β-karoten dapat

meningkatkan penampilan produk pangan dan minuman seperti margarin, keju, jus, makanan kalengan, dan sebagainya (Nur, 2014). Di bidang akuakultur *D. salina* banyak dimanfaatkan sebagai pakan alami kaya akan karotenoid untuk post larva (Kusumaningrum dan Zainuri 2013). Selain kandungan karotenoid, *D. salina* juga memiliki senyawa bioaktif lainnya seperti fenol, sulfat polisakarida dan vitamin, yang salah satu fungsi dari senyawa bioaktif tersebut dapat mempengaruhi regulasi sel, respon kekebalan tubuh dan sebagai antioksidan (de Fretes et al., 2012). Oleh karena itu, *D. salina* selain dimanfaatkan sebagai pakan alami bagi ikan tetapi berpotensi sebagai bahan pangan alternatif potensial dan produk kesehatan yang menjadi target penjualan pasar dunia. Salah satu produsen Dunaliella salina terbesar di dunia adalah Parry's agro Ltd. di India untuk skala farmasi dengan produk untuk 180 kapsul dihargai \$72.86 atau setara Rp. 973.992,00. Perusahaan lain yang memproduksi Dunaliella adalah ABC Biotech Ltd. di Tamil, Nadu (Nur, 2014). Dunaliella salina dapat menghasilkan β -karoten sampai 17% per berat kering sehingga memiliki nilai ekonomis tinggi karena dengan mengkultur *D. salina* dengan skala yang besar dapat menghemat lahan pertanian untuk menanam wortel dan tentunya menghemat waktu mulai dari penanaman hingga pemanenan. Menurut National Measurement Institute Australia and Craft Technologies Inc., sebuah perusahaan di Amerika menjelaskan bahwa 2 kg Algotene 500 mg kapsul berisi *D. Salina* dapat menyediakan β -karoten lebih daripada 1 kg wortel.

Spirulina sp. adalah Cyanobacterium fotosintesis, multiseluler, berfilamen dan spiral yang diproduksi dalam skala besar. *Spirulina* sp. memiliki kemampuan untuk hidup pada lingkungan dengan pH yang sangat tinggi yang tumbuh baik pada pH 9-11. Mikroalga ini menonjol karena kandungan proteinnya yang tinggi dan keberadaan asam lemak esensial, vitamin, dan mineral. *Spirulina platensis* merupakan organisme autotroph berwarna hijau kebiruan terdiri dari sel-sel silindris yang membentuk koloni dimana selnya berkotom membentuk filament terpilin menyerupai spiral (helix) sehingga disebut juga alga biru hijau berfilamen (Ariyati, 1998; Hariyati, 2008). Beberapa penelitian yang pernah dilakukan menunjukkan bahwa spirulina mempunyai aktivitas biologis seperti mencegah replikasi virus, mencegah anemia, mencegah penyakit akibat perlemakan hati, menurunkan kadar glukosa darah, profil lipid, serta menurunkan tekanan darah.

Spirulina mengandung beberapa bahan aktif terutama Phycocyanin dan β karoten yang memiliki aktivitas antioksidan dan antininflamasi yang kuat. Phycocyanin memiliki kemampuan untuk mengikat radikal bebas, termasuk radikal alkoxyl, hidroksil, dan peroksil.



Gambar 1. Road map penelitian “Pengembangan spesies lokal mikroalga/Bakteri untuk Aplikasi Komersial/Industri”

BAB III. METODE PENELITIAN

Penelitian ini berlangsung mulai Mei-November 2022 dengan tahapan sebagai berikut:

3.1 Persiapan alat dan bahan.

Hal pertama dan penting dilakukan adalah melakukan pembelian/pemesanan alat-alat dan bahan-bahan yang digunakan untuk kegiatan kultur seperti bahan untuk pembuatan media, wadah kultur, rak kultur, lampu, aerasi, timer dan lainnya.

3.2 Pembuatan media kultur

Media kultur yang digunakan dalam penelitian ini adalah f/2 medium (Guillard and Ryther 1962), Walne media, Jarowsky media dan pupuk pertanian (NPK dan Urea). Air yang akan digunakan untuk pembuatan media sebelumnya difilter menggunakan kapas dan whatman filter. Untuk media kultur isolate IND-UNM1 menggunakan media dasar air tawar sedangkan isolate IND-UNM2 menggunakan media dasar air laut.

3.3 Eksperimen Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa pada media kultur yang berbeda

Eksperimen ini bertujuan untuk menganalisis pertumbuhan dan produktivitas biomassa isolate mikroalga dari sumber air panas (IND-UNM1) menggunakan berbagai media kultur yakni f/2, Walne, Jarowsky dan NPK/Urea. Dari penelitian ini akan diketahui media kultur terbaik/optimal untuk pertumbuhan dan produktivitas biomassa isolate. Dari masing-masing perlakuan dibuat 3 kali ulangan.

Mikroalga dikultur menggunakan Erlenmeyer volume 300 mL yang berisi kultur 150 mL. Kultur diinkubasi pada suhu ruang dengan intensitas cahaya sekitar 50 $\mu\text{mol}.\text{photon}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ dan siklus gelap dan terang 12 jam:12 jam. Kultur diaduk secara manual setiap hari (pagi, siang dan sore).

Pengambilan data kepadatan sel dilakukan setiap dua hari sekali yakni pada hari ke 0, 2, 4, 6, 8, 9, 10, dan 12. Sedangkan data biomass dilakukan pada hari ke 4 dan 10.

3.4 Eksperimen “Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pertumbuhan dan produktivitas Biomassa mikroalga isolate IND-UNM2.

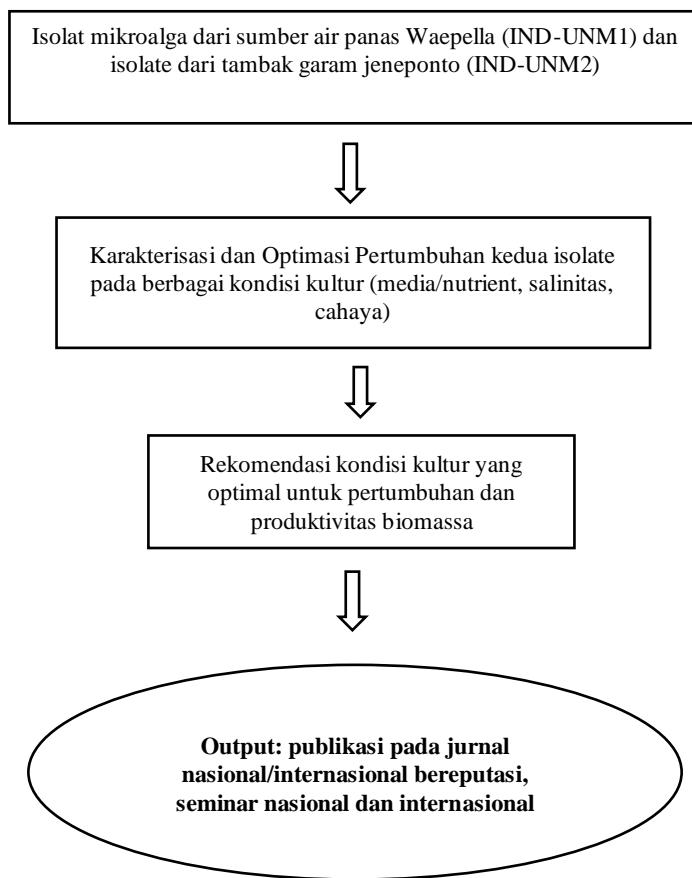
Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh perbedaan salinitas terhadap pertumbuhan dan produktivitas mikroalga serta mengetahui kisaran salinitas yang dapat ditolerir oleh isolate tersebut. Isolat akan dikultur pada salinitas diatas air laut yakni 6, 8, 10, 12, 14% NaCl dengan tiga kali ulangan. Media kultur yang digunakan adalah f/2 media. Mikroalga dikultur menggunakan Erlenmeyer volume 300 mL yang berisi kultur 150 mL. Kultur diinkubasi pada suhu ruang dengan intensitas cahaya sekitar 50 $\mu\text{mol.photon.m}^{-2.\text{s}}^{-1}$ dan siklus gelap dan terang 12 jam:12 jam. Kultur diaduk secara manual setiap hari (pagi, siang dan sore).

Pengambilan data kepadatan sel dilakukan setiap dua hari sekali yakni pada hari ke 0, 2, 4, 6, 8, 9, 10, dan 12. Sedangkan data biomass dilakukan pada fase eksponensial dan fase awal stationer.

3.5 Eksperimen Pengaruh intensitas cahaya yang berbeda terhadap pertumbuhan dan produktivitas biomassa mikroalga isolate IND-UNM1

Eksperimen ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh intensitas cahaya yang berbeda terhadap pertumbuhan dan komposisi biokimia isolate. Isolat mikroalga akan dikultur menggunakan Erlenmeyer volume 300 mL dengan volume media 150 mL pada intensitas yang berbeda yakni 2500 lux, 3500 lux dan 8000 lux dengan siklus gelap dan terang 12 jam:12 jam. Kultur diaduk secara manual setiap hari (pagi, siang dan sore). Pengambilan data kepadatan sel dilakukan setiap dua hari sekali sementara data biomass dan komponen biokimia akan dilakukan pada fase eksponensial dan stationer.

Adapun bagan alir penelitian adalah :



BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

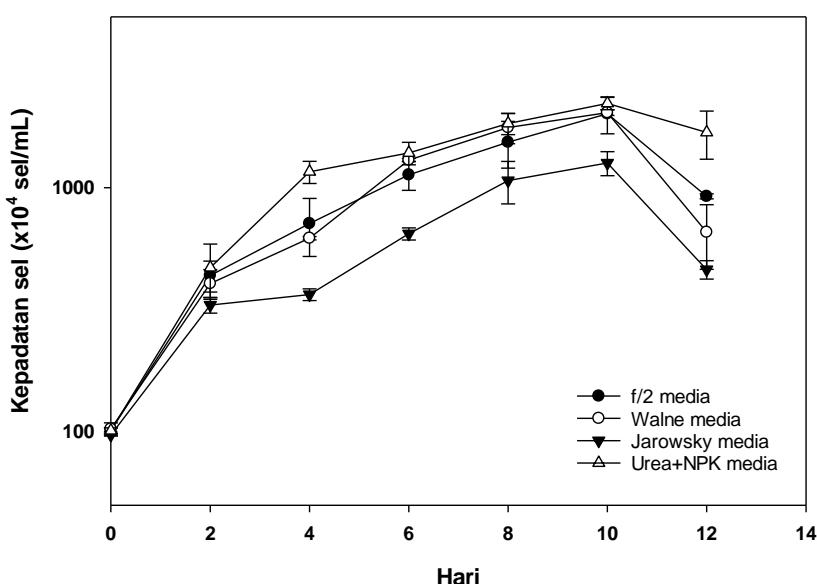
4.1 Hasil

4.1.1 Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa mikroalga isolate UNM-IND1 dan UNM-IND2 pada media kultur yang berbeda

Mikroalga isolate IND-UNM01 merupakan mikroalga yang baru saja diisolasi dari sumber air panas Waepella yang terdapat di Kabupaten Sinjai. Sebagai isolat baru yang akan dikaji potensi pemanfaatan untuk aplikasi komersial, maka informasi mengenai media kultur yang optimal untuk pertumbuhan dan produktivitas biomassa isolate perlu untuk diketahui. Oleh karena itu, kultivasi mikroalga isolate IND-UNM 01 pada media kultur yang berbeda yakni media F/2, Walne, Jaworski dan urea+NPK bertujuan untuk mengetahui media yang paling optimal untuk pertumbuhan serta produktivitas biomassanya.

4.1.1.1 Pertumbuhan Mikroalga Isolate UNM-IND1

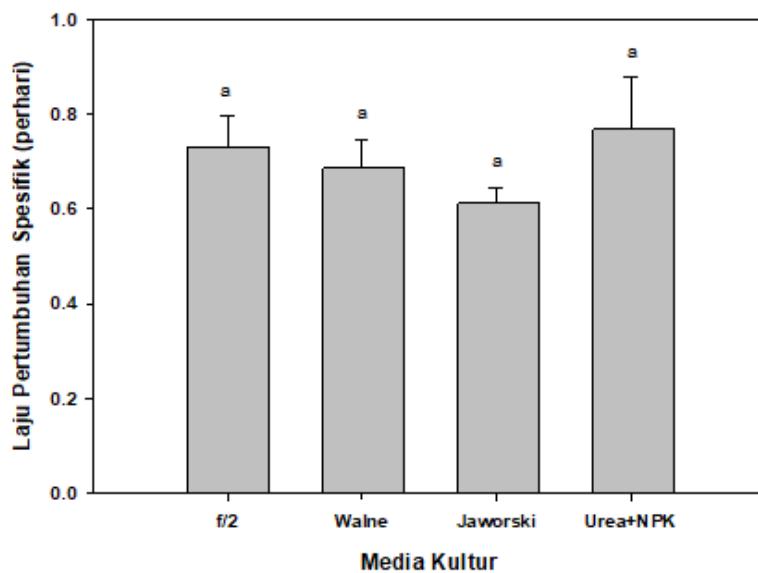
Berdasarkan hasil pengamatan Pertumbuhan jumlah sel mikroalga isolate IND-UNM 01 yang dikultur selama 14 hari dengan menggunakan media kultur yang berbeda menunjukkan bahwa sel mikroalga isolate IND-UNM 01 dapat tumbuh pada semua jenis media kultur yang digunakan hanya saja pertumbuhan sel pada setiap media berbeda-beda. (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Isolat IND-UNM1 pada media kultur yang berbeda

4.1.1.2 Laju Pertumbuhan Spesifik (SGR)

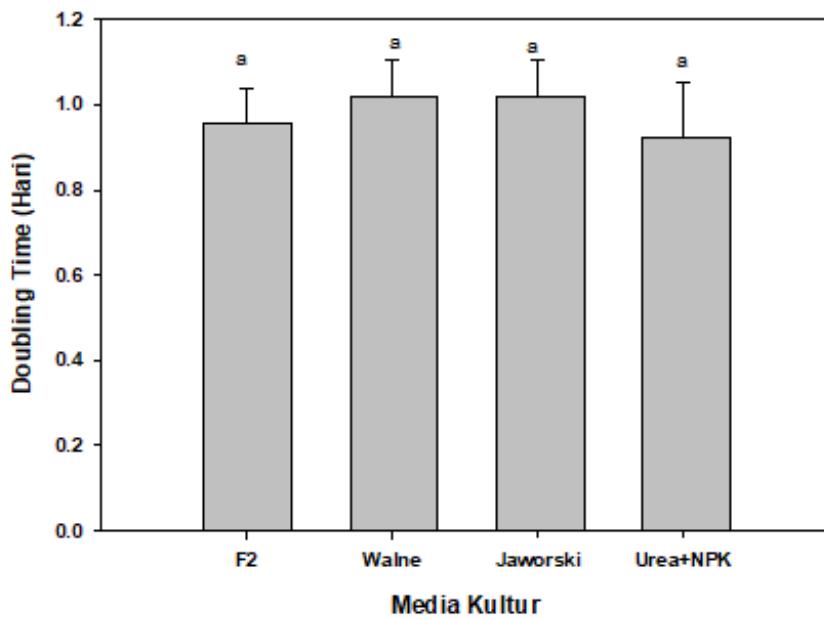
Berdasarkan hasil pengamatan laju pertumbuhan spesifik (SGR) terlihat bahwa rata-rata SGR tertinggi yakni pada perlakuan media Urea+NPK dengan nilai rata-rata SGR 0,769/Hari disusul oleh perlakuan menggunakan media F/2 dengan SGR 0,732/Hari kemudian disusul oleh media Walne dengan jumlah SGR 0,686/Hari dan SGR terendah pada perlakuan media Jaworski yakni 0,612/Hari. Hasil analisis One Way Anova menunjukkan bahwa perlakuan media kultur yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik mikroalga isolate UNM-IND1 ($P>0,05$).



Gambar 4.3 Laju Pertumbuhan Isolat UNM-IND1 pada media kultur yang berbeda

4.1.1.3 Doubling Time (Hari)

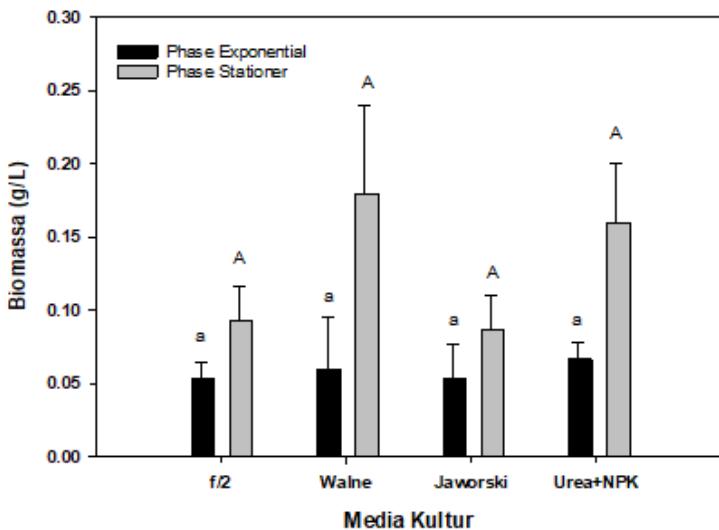
Doubling time atau waktu penggandaan adalah waktu yang diperlukan oleh mikroalga untuk menggandakan selnya dimana semakin tinggi nilai waktu penggandaan maka waktu yang diperlukan untuk menggandakan selnya lebih lama. Sebaliknya semakin kecil nilai waktu penggandaan maka semakin cepat waktu yang diperlukan untuk menggandakan selnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa doubling time tertinggi 1,13 hari diperoleh pada media Jaworski dan terendah pada media Urea+NPK 0,92 Hari. Hal ini menunjukkan bahwa waktu penggandaan isolate UNM-IND1 lebih cepat pada media urea+NPK yaitu atau kurang dari sehari (Gambar 4.3).



Gambar 4.3. Doubling Time mikroalga Isolat UNM-IND1 pada media kultur yang berbeda

4.1.1.4 Biomassa mikroalga Isolate UNM-IND1

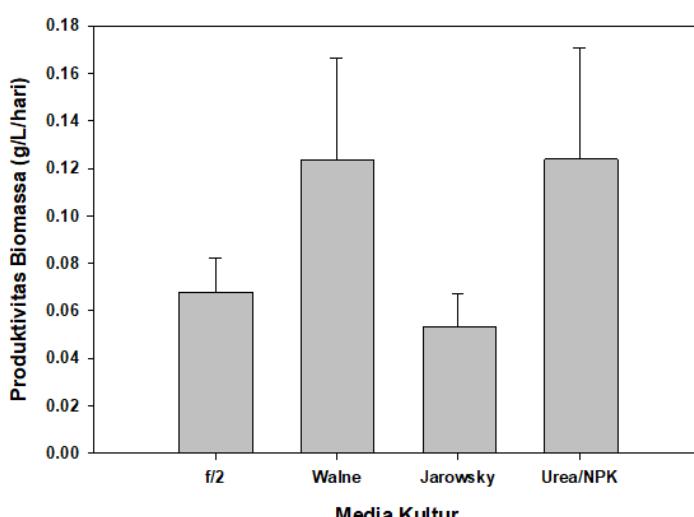
Pengukuran biomassa mikroalga bertujuan untuk mengetahui berat sel kering mikroalga selama proses kultur. Sample mikroalga yang digunakan diambil pada hari ke-4 dan hari ke-10. Hasil pengukuran biomassa mikroalga IND-UNM 01 pada hari ke-4 (fase eksponensial) menunjukkan bahwa media yang memiliki biomassa tertinggi yakni media Urea+NPK dengan rata-rata biomassaa 0,06 g/L, sedangkan biomass terendah pada perlakuan media Jaworski dan F/2 memiliki perhitungan biomassa yang sama yakni 0,05 g/L. Pada perhitungan biomassa mikroalga pada Hari ke-10 (fase stasioner) menunjukkan bahwa media Walne mempunyai biomassa yang lebih besar yakni 0,18 g/L, kemudian media Urea+NPK dengan jumlah biomassa 0,16 g/L, disusul oleh media F/2 yakni 0,933 g/L dan kadar biomassa terendah terdapat pada perlakuan media Jaworski yakni biomassa 0,086 g/L. Berdasarkan hasil uji analisis One Way Anova menunjukan bahwa perbedaan media kultur tidak berpengaruh nyata terhadap biomassa mikroalga UNM-IND1 ($P>0,05$).



Gambar 4.4. Biomassa sel mikroalga Isolat IND-UNM1 pada media kultur yang berbeda

4.1.1.5 Produktivitas Biomassa mikroalga IND-UNM 01

Produktivitas biomassa mikroalga isolate IND-UNM01 pada media kultur yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 4.5. Dari penelitian menunjukkan bahwa produktivitas biomassa tertinggi diperoleh pada perlakuan media Urea+NPK dan Walne dengan rata-rata produktivitas biomassa yang sama yakni 0,124 g/L/hari, dan produktivitas Biomassa terendah diperoleh pada penggunaan media Jaworski yakni 0,053 g/L/hari. Berdasarkan hasil uji analisis One Way Anova menunjukkan bahwa perlakuan media yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap produktivitas biomassa mikroalga isolate UNM-IND1 ($P>0.05$)

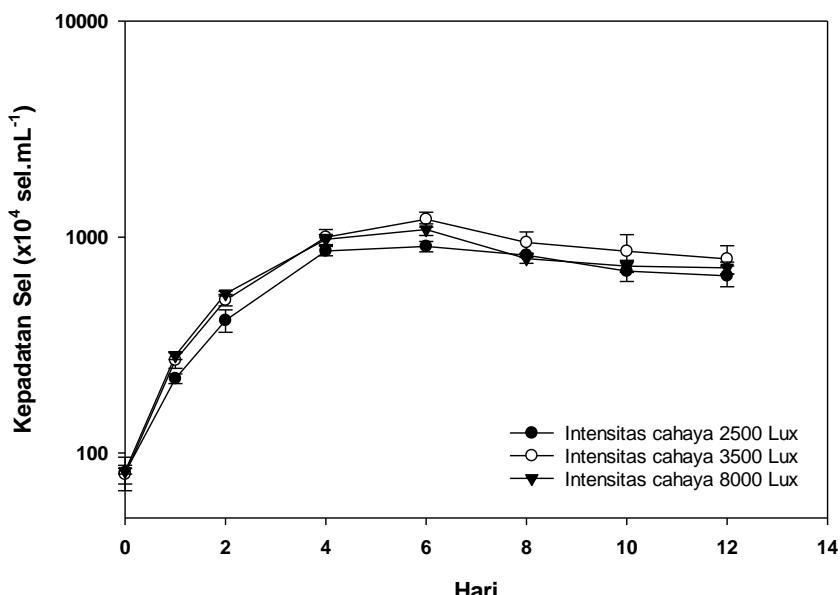


Gambar 4.5. Produktivitas Biomassa (g/L/hari) mikroalga UNM-IND1

4.1.2 Pertumbuhan dan Produktivitas Biomass mikroalga isolate UNM-IND1 dan UNM-IND2 pada Intensitas cahaya yang berbeda

4.1.2.1 Pertumbuhan Mikroalga Isolat UNM-IND1

Berdasarkan hasil pengamatan pertumbuhan jumlah sel mikroalga isolat UNM-IND 1 yang dikultur selama 12 hari menggunakan intensitas cahaya yang berbeda menunjukkan bahwa sel mikroalga isolat UNM-IND 1 dapat tumbuh pada semua taraf intensitas cahaya namun pertumbuhan sel pada setiap perlakuan bervariasi. (Gambar 4.6). Kepadatan sel tertinggi diperoleh pada perlakuan 3500 lux (1208×10^4 sel/mL), diikuti oleh perlakuan 8000 lux (1084×10^4 sel/mL) dan kepadatan sel terendah pada perlakuan 2500 lux (905×10^4 sel/mL). Pada semua perlakuan terlihat bahwa fase eksponensial terjadi pada hari ke-0 hingga hari ke-2 yang dengan pertambahan jumlah sel terus menerus hingga mencapai puncak pada hari ke-6 sebelum memasuki fase kematian pada hari ke-8 yang ditandai dengan penurunan kepadatan sel.

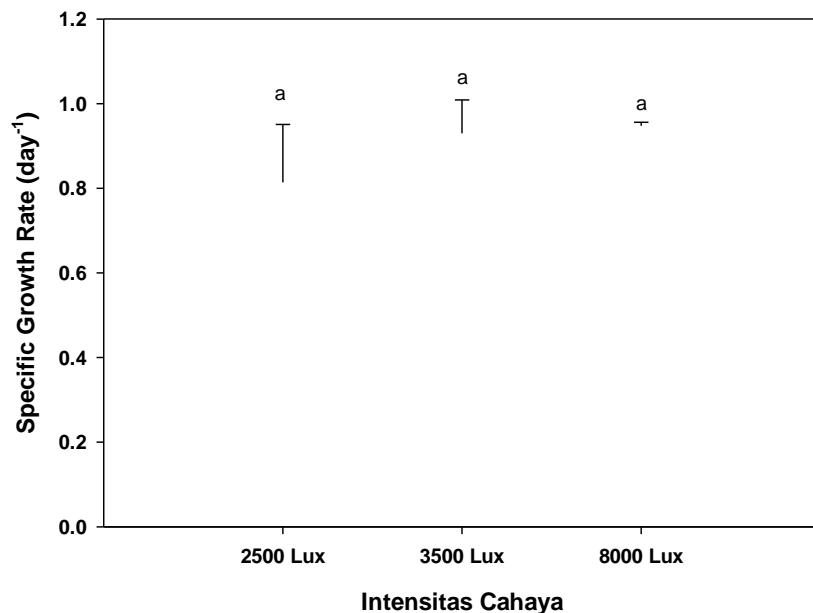


Gambar 4.6. Kurva pertumbuhan isolat UNM-IND 1 pada intensitas cahaya berbeda

4.1.2.2. Laju Pertumbuhan Spesifik (SGR)

Berdasarkan hasil perhitungan laju pertumbuhan spesifik (SGR) dapat diketahui bahwa rata-rata SGR tertinggi diperoleh pada perlakuan intensitas cahaya 8000 lux dengan nilai rata-rata SGR (0,94/hari), disusul intensitas cahaya 3500 lux (0,93/hari) dan SGR terendah diperoleh pada intensitas cahaya 2500 lux (0,81/hari).

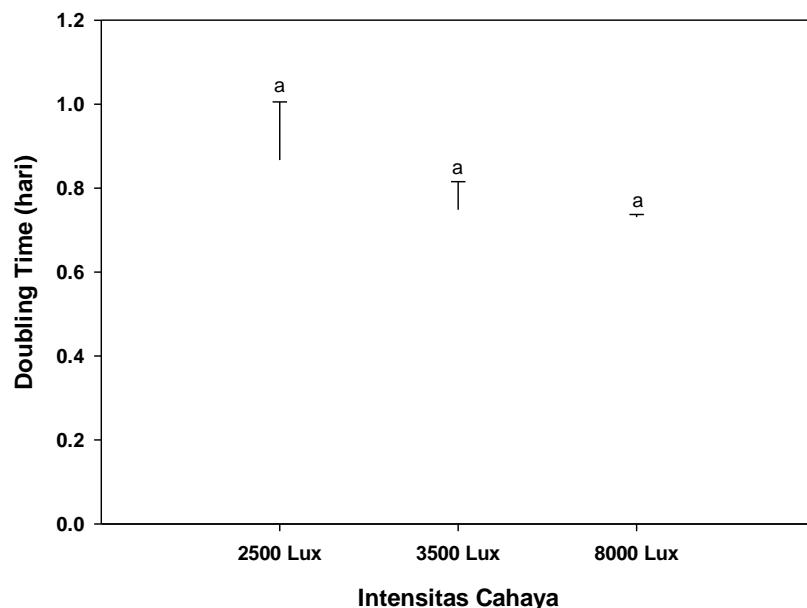
Hasil uji One Way Anova menunjukkan bahwa perlakuan intensitas cahaya yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik mikroalga isolat UNM-IND1 ($P>0,05$) (Gambar 4.7).



Gambar 4.7. Laju pertumbuhan isolat UNM-IND 1 pada intensitas cahaya yang berbeda

4.1.2.3 Waktu Penggandaan

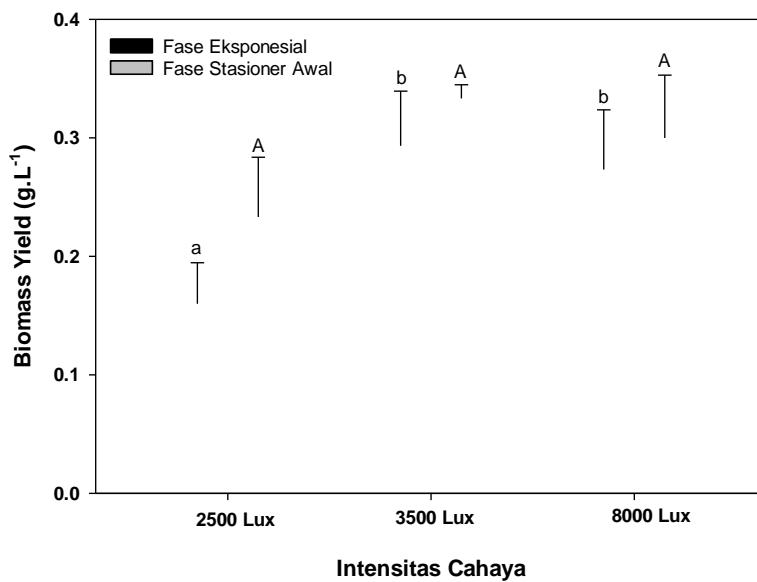
Dari hasil penelitian diketahui bahwa Doubling time tertinggi diperoleh pada intensitas cahaya 2500 lux (0,851 hari) kemudian intensitas cahaya 3500 lux (0,745 hari) dan terendah pada intensitas cahaya 8000 lux (0,731 Hari). Hasil analisis statistic menunjukkan bahwa penggunaan intensitas cahaya yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap waktu penggandaan mikroalga isolat UNM-IND 1 ($P>0,05$) (Gambar 4.8).



Gambar 4.8. Waktu penggandaan sel mikroalga isolat UNM-IND 1 pada intensitas cahaya berbeda

4.1.2.4 Biomassa Sel Mikroalga Isolat UNM-IND 1

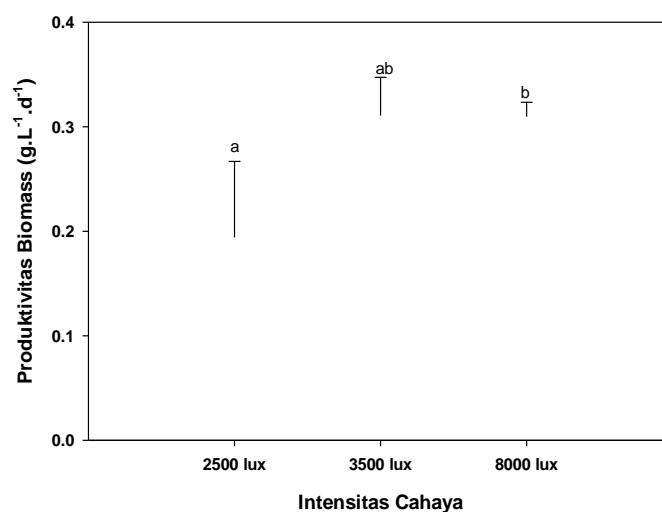
Biomassa sel mikroalga dihitung untuk mengatahi berat kering biomass selama proses kultivasi. Sampel mikroalga yang digunakan diambil pada hari ke-4 dan hari ke-6. Berdasarkan hasil pengukuran biomassa mikroalga isolat UNM-IND 1 pada hari ke-4 data hasil perhitungan biomassa tertinggi diperoleh pada kultur yang menggunakan intensitas cahaya 3500 lux dengan rata-rata biomassa 0,29 g/L, sedangkan pada perlakuan intensitas cahaya 8000 lux 0,27 g/L, dan nilai biomassa terendah yaitu 0,16 g/L pada intensitas cahaya 2500 lux. Pada hari ke-6 biomassa tertinggi diperoleh pada intensitas cahaya 3500 lux sebesar 0,33 g/L, pada intensitas cahaya 8000 lux yaitu 0,30 g/L, dan pada intensitas cahaya 2500 lux yaitu 0,23 g/L. Hasil uji analisis One Way Anova menunjukkan bahwa perlakuan dengan intensitas cahaya yang berbeda berpengaruh nyata terhadap biomassa sel mikroalga isolat UNM-IND 1 ($P<0.05$) (Gambar 4.6)



Gambar 4.8. Biomassa sel mikroalga isolat UNM-IND 1 pada intensitas cahaya berbeda

4.1.2.5 Produktivitas Biomassa Mikroalga Isolat UNM-IND 1

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa produktivitas biomassa tertinggi diperoleh pada perlakuan intensitas cahaya 3500 lux ($0,31 \text{ g/L/hari}$) diikuti oleh intensitas cahaya 8000 lux ($0,30 \text{ g/L/hari}$), dan nilai produktivitas terendah ($0,18 \text{ g/L/hari}$) pada intensitas cahaya 2500 lux. Berdasarkan uji analisis One Way Anova menunjukkan intensitas cahaya berbeda berpengaruh nyata terhadap produktivitas biomassa mikrolga isolat UNM-IND 1 ($P<0,05$).

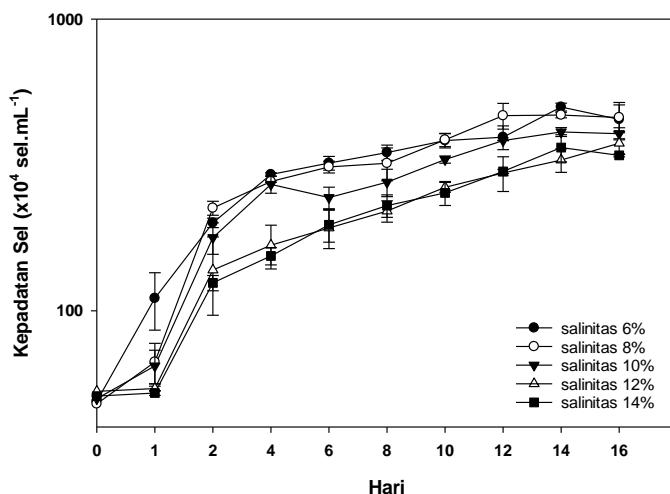


Gambar 4.9. Produktivitas biomassa (g/L/hari) mikroalga UNM-IND 1

4.1.3 Pertumbuhan dan produktivitas Biomassa mikroalga isolate UNM-IND2 pada salinitas yang berbeda

4.1.3.1. Kurva Pertumbuhan Mikroalga Isolat UNM-IND 2

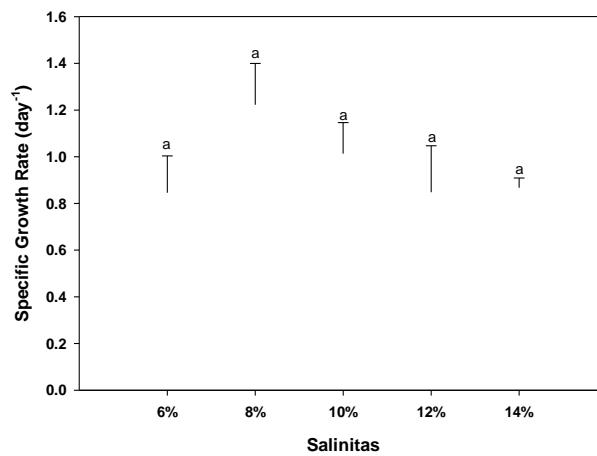
Berdasarkan hasil pengamatan pertumbuhan jumlah sel mikroalga isolat UNM-IND2 yang dikultur selama 16 hari menggunakan salinitas yang berbeda menunjukkan bahwa sel mikroalga isolat UNM-IND2 dapat tumbuh pada semua salinitas namun, pertumbuhan sel pada setiap perlakuan bervariasi. Perlakuan 6% menunjukkan peningkatan sel secara eksponensial pada hari pertama inokulasi. Perlakuan salinitas 12 da 14% tidak mengalami pertambahan jumlah sel yang berarti pada hari pertama inokulasi sementara perlakuan salinitas 8 dan 10% sudah mengalami peningkatan jumlah sel meskipun sedikit (Gambar 4.1)



Gambar. 4.10. Kurva pertumbuhan isolat UNM-IND2 pada perbedaan salinitas

4.1.3.2. Laju Pertumbuhan Spesifik (SGR)

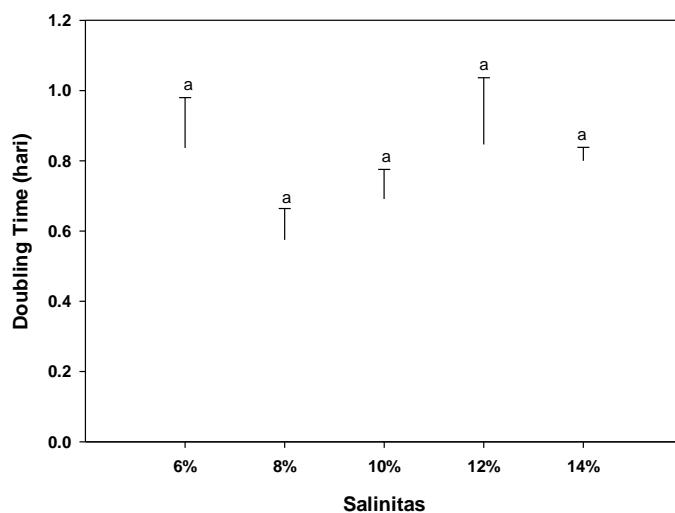
Berdasarkan hasil pengukuran laju pertumbuhan spesifik (SGR) diketahui bahwa rata-rata SGR tertinggi diperoleh pada perlakuan salinitas 8% dengan nilai 1,22/hari diikuti perlakuan 10%, 14%, 12%, 6% berturut-turut sebesar 1,01/hari, 0,86/hari, 0,85/hari, 0,84/hari. Hasil uji One Way Anova menunjukkan bahwa perbedaan salinitas tidak berbeda nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik mikroalga isolate UNM-IND2.



Gambar 4.11. Laju pertumbuhan isolat UNM-IND2 Pada perbedaan salinitas

4.1.3.3. Waktu Penggandaan

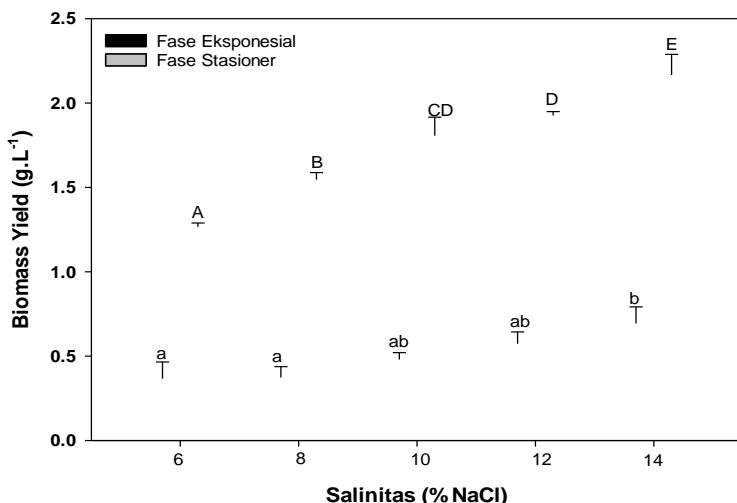
Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa doubling time dari isolate UNM-UND2 adalah kurang dari sehari. Doubling time yang paling tinggi berturut-turut dihasilkan pada salinitas 6% (0,825 hari), diikuti salinitas 12% (0,815 hari), salinitas 14% (0,805 hari), salinitas 10% (0,686 hari) dan yang paling rendah pada salinitas 8% dengan nilai sebesar (0,568 hari). Dari analisis statistic diketahui bahwa perbedaan salinitas yang digunakan tidak berpengaruh signifikan terhadap waktu penggandaan mikroalga isolate UNM-IND2 ($P>0,05$).



Gambar 4.12. Waktu penggandaan sel mikroalga isolat UNM-IND2 pada perbedaan salinitas

4.1.3.4. Biomassa Sel Mikroalga Isolat UNM-IND2

Biomassa sel mikroalga diambil pada hari ke-4 dan hari ke-8. Berdasarkan hasil pengukuran biomassa mikroalga isolat UNM-IND2 pada hari ke-4 data biomassa tertinggi diperoleh pada kultur salinitas 14% dengan rata-rata biomassa 0,693 g/L, sedangkan pada perlakuan salinitas 12%, 10%, 8%, dan 6% diperoleh biomassa lebih rendah dengan nilai rata-rata berturut-turut 0,573 g/L, 0,48 g/L, 0.373 g/L, 0.366 g/L. Pada hari ke-8 data biomassa tertinggi diperoleh pada kultur salinitas 14% dengan rata-rata biomassa 2,166 g/L, diikuti salinitas 12% dengan rata-rata biomassa 1,926 g/L, salinitas 10% rata-rata biomassanya 1,806 g/L, salinitas 8% dengan rata-rata bimassanya 1,546 g/L, dan salinitas 6% diperoleh biomassa lebih rendah dengan nilai rata-rata biomassa 1,26 g/L (Gambar 4.5).

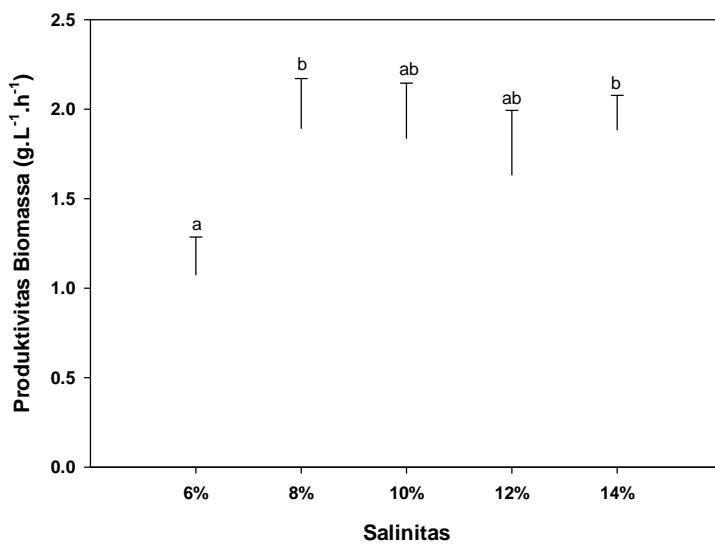


Gambar 4.13. Biomassa sel mikroalga isolat isolat UNM-IND2 Pada perbedaan salinitas

Hasil uji One Way Anova menunjukkan terdapat perbedaan biomassa yang signifikan pada perlakuan salinitas yang berbeda ($P>0,05$). Pada fase eksponensial, biomass pada perlakuan pada perlakuan salinitas 6%, 8%, 10% dan 12% tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Sementara biomass pada perlakuan salinitas 10%, 12% dan 14% tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Pada fase stasionar awal, biomass pada masin g-masing perlakuan 6%, 8%, 10% dan 12% berbeda nyata ($P>0,05$) sementara biomass pada perlakuan salinitas 10% dan 12% tidak berbeda nyata ($P>0,05$).

4.1.3.5. Produktivitas Biomassa Mikroalga Isolat UNM-IND2

Berdasarkan hasil pengamatan produktivitas biomassa tertinggi diperoleh pada salinitas 8% dengan nilai 1,89 g/L/hari diikuti salinitas 14%, dengan nilai 1,88 g/L/hari, salinitas 10% didapatkan nilai 1,83 g/L/hari, salinitas 12% dengan nilai 1,63 g/L/hari dan terendah pada salinitas 6% dengan nilai produktivitas 1,07 g/L/hari (Gambar 4.6). Hasil uji One Way Anova menunjukkan perbedaan salinitas berbeda berpengaruh nyata terhadap produktivitas biomassa mikroalga isolate UNM-IND 2 ($P<0,05$). Produktivitas biomassa perlakuan 6%, 10% dan 12% tidak berbeda nyata ($P<0,05$) namun produktivitas biomassa perlakuan salinitas 6% berbeda nyata dengan perlakuan salinitas 8% dan 14%. Sementara produktivitas biomassa pada perlakuan salinitas 8%, 10%, 12%, dan 14% tidak berbeda nyata ($P<0,05$) (Gambar 4.6).



Gambar 4.14. Produktivitas biomassa (g/L/hari) mikroalga Isolate UNM-IND2

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa mikroalga isolate UNM-IND1 pada media kultur yang berbeda

Pertumbuhan mikroorganisme termasuk mikroalga secara umum memiliki tahapan fase yakni yakni lag fase, fase eksponensial atau logaritmik, fase stationer dan fase kematian. Pada penelitian ini hampir semua fase pertumbuhan dapat diamati kecuali fase lag yang dicirikan dengan tidak terjadinya pertumbuhan atau pertumbuhan sangat lambat karena merupakan fase adaptasi. Tidak terlihatnya fase

lag pada penelitian ini tidak berarti kultur tidak mengalami fase lag/adaptasi namun diduga kultur mengalami fase adaptasi yang singkat/cepat sehingga tidak terlihat dimana pada hari ke-2 kepadatan sel meningkat secara eksponensial menunjukkan bahwa isolate dapat beradaptasi secara cepat untuk selanjutnya tumbuh secara eksponensial. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sutomo (2005) dalam Sukesni, dkk (2009), bahwa pada awal pertumbuhan nilai laju pertumbuhan relatif tinggi yang menunjukkan bahwa mikroalga cepat memiliki daya adaptasi terhadap lingkungan kultur yang baru dan menunjukkan bahwa mikroalga tersebut mengalami daya adaptasi yang cukup singkat dan langsung tumbuh dengan cepat. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Chlimawanti dan Suminto (2010), menyatakan bahwa perbedaan lamanya masa adaptasi diduga karena adanya perbedaan kepekatan antara media kultur dengan cairan tubuh sel alga dimana dalam masa adaptasi sel-sel memulihkan enzim dan konsentrasi substrat ke tingkat yang diperlukan untuk pertumbuhan serta masuknya unsur pertumbuhan dan terbentuknya buangan metabolismik yang melampaui tingkat toleransi Winaeri (2003). Selain itu, kematian populasi ini disebabkan antara lain terbatasnya nutrisi dan suplay cahaya, umur sel yang sudah tua, kondisi lingkungan yang tidak lagi mendukung, atau kontaminasi oleh organisme lain. Fase ini ditandai juga dengan warna air kultur berubah, terjadi buih di permukaan media kultur dan warna yang pudar serta gumpalan sel alga mengendap didasar media kultur.

Menurut fadilla (2010) menyatakan bahwa pada fase laju kematian lebih cepat dari pada laju reproduksi, jumlah sel menurun secara signifikan , penurunan kepadatan mikroalga ditandai dengan perubahan kondisi optimum yang dipengaruhi oleh suhu, cahaya, jumlah hara yang ada dan beberapa kondisi lingkungan yang ada. kematian sel mikroalga juga dapat dilihat secara langsung yakni warna pada media berubah dan beberapa sel mengalami lisis ditandai dengan adanya gumpulan-gumpalan sel yang mengendap dipermukaan medium kultur. Menurut Hasanuddin (2012) penurunan pertumbuhan sel mikroalga disebabkan oleh berkurangnya proses fotosintesis didalam medium akibat pekatnya medium sehingga cahaya yang masuk kedalam medium berkurang. Laju pertumbuhan mikroalga meningkat seiring dengan peningkaan intensitas cahaya begitupun sebaliknya semakin rendah intensitas cahaya pertumbuhan mikroalaga akan terhambat.

Laju pertumbuhan menggambarkan banyaknya individu baru yang terbentuk per satuan waktu tertentu yang disebut dengan laju pertumbuhan spesifik (Spesifik Growth Rate). Laju Pertumbuhan spesifik dapat dipengaruhi oleh banyaknya nutrien yang ada didalam media pertumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi pada mikroalga (Rusidi, 2012). Hasil penelitian menunjukkan bahwa laju pertumbuhan spesifik (SGR) tertinggi diperoleh pada perlakuan Media Urea+NPK dengan rata-rata SGR 0,7694/Hari sedangkan SGR terendah pada perlakuan media Jaworski yakni 0,6127/Hari. Tingginya SGR pada perlakuan media Urea+NPK disebabkan karena media mempunyai unsur hara makro yang lebih lengkap dan lebih tersedia dalam jumlah yang banyak dibandingkan dengan perlakuan media walne, F/2 dan perlakuan media Jaworski. Karena media Urea+NPK merupakan dua jenis pupuk yang digabungkan menjadi satu sehingga nutrisinya lebih kompleks sehingga sel mikroalga isolate IND-UNM 01 dapat tumbuh dengan cepat.

Medium yang menggunakan pupuk urea+NPK dapat langsung berubah menjadi ammonium sehingga dapat lebih mudah berasimilasi dengan mikroalga. Selain itu, nitrogen yang ada pada medium Urea+NPK paling besar dibandingkan medium yang lainnya. Diketahui bahwa Pupuk urea mengandung unsur hara N sebesar 46% serta mudah larut dalam air sehingga mudah diserap oleh mikroalga. Unsur nitrogen yang tinggi dalam pupuk urea+NPK sangat bermanfaat bagi mikroalga untuk proses perkembangan dan mempercepat pertumbuhan fotosintesi. Pengaruh pupuk urea dan Npk sebagai unsur nitrogen dalam kultur mikroalga telah diaplikasikan pada *Scenedesmus* sp. Yang menunjukkan peningkatan pertumbuhan sel (Goswami Chandra, 2011).

Media Walne dan Media F/2 juga menunjukkan pertumbuhan sel mikroalga yang cukup baik, walupun unsur Nitrogen yang terdapat pada kedua media ini jauh lebih sedikit dibandingkan Media pupuk Urea+NPK namun dalam penyusun media tersebut terdapat unsur hara mikro salah satunya Vitamin B12 yang mampu memacu pertumbuhan sel mikroalga melalui rangsangan fotosintetik (Isnansetyo dan Kurniastuty, 2015). Media Jaworski menunjukkan laju pertumbuhan spesifik yang paling rendah hal ini dikarenakan unsur hara makro pada media ini tidak mencukupi untuk pertumbuhan mikroalga serta tidak memiliki unsur zat besi.

Dimana Fe berperan penting dalam regulasi metabolism sel sebagai unsur esensial pada mikroalga yang dapat meningkatkan pertumbuhan sel, sehingga jika kekurangan konsentrasi Fe akan menekan pertumbuhan sel yang mengakibatkan kepadatan sel menjadi lebih sedikit (Allen et al., 2011). Perbedaan pertumbuhan harian setiap perlakuan tersebut disebabkan oleh kemampuan sel dalam menyerap unsur hara yang terdapat pada media kultur. Sesuai pernyataan Afriza et al., (2015) terkadang konsentrasi bahan yang terlalu tinggi membuat bahan sulit untuk diserap oleh sel. Dimana nilai laju pertumbuhan dapat dijadikan sebagai tolak ukur untuk mengetahui daya dukung media terhadap pertumbuhan mikroalga maka semakin baik daya dukung media pupuk terhadap perumbuhan sel mikroalga isolate IND-UNM01.

Seiring dengan meningkatnya laju pertumbuhan spesifik maka dobling time mikroalga akan semakin rendah hal ini membuktikan bahwa nilai doubling time berbanding terbalik dengan spesifik growth rate. Hal ini sesuai dengan pernyataan Afriza et, al.(2015), waktu regenerasi yang lebih rendah berarti pertumbuhan jumlah populasi lebih cepat kerena waktu yang diperlukan unuk memperbanyak individu lebih singkat sehingga untuk mencapai kepadatan maksimum lebih cepat. Menurut Hasanuddin (2012) doubling time tercepat biasanya terjadi pada fase eksponensial yaitu fase dimana sel-sel membelah dengan cepat dan konstan. Sedangkan doubling time paling rendah merupakan waktu tersingkat yang dibutuhkan satu (generasi) populasi untuk tumbuh menjadi dua kali lipat atau generasi selanjunya.

Menurut Borowitzka (1998) dalam Afriza et,al(2015), menjelaskan bahwa konsentrasi nitrogen yang terdapat pada media kultur yang digunakan dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga, pembentukan protein dan asam amino. Perbedaan pertumbuhan harian setiap perlakuan tersebut disebabkan oleh kemampuan individu dalam menyerap unsur hara yang terdapat pada media kultur. Hal ini juga sejalan dengan pernyataan Afriza et,al(2015), terkadang konsentrasi bahan yang terlalu tinggi membuat bahan sulit untuk diserap oleh individu, sehingga diasumsikan bahwa hasil laju pertumbuhan populasi, laju pertumbuhan relative, laju pertumbuhan spesifik dan waktu peggandaan diri mikroalga yang didapat pada penelitian ini dipengaruhi oleh unsur nitrogen yang terkandung dalam

pupuk yang digunakan dengan konsentrasi nitrogen yang berbeda pada setiap pupuk yang digunakan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan yang menunjukkan Doubling Time terendah terdapat pada mikroalga yang dikultur menggunakan pupuk Urea+NPK hal ini diketahui bahwa nitrogen yang terkandung didalam pupuk tersebut sangat tinggi dibandingkan dengan pupuk yang lain yang kadar nitrogennya mencapai 46% hal ini yang membuat sel mikroalga membutuhkan waktu yang cukup lama untuk menyerap nutrian yang terdapat pada media tersebut.

Mikroalga Isolate IND-UNM 01 yang dikultur pada berbagai jenis media memiliki konsentrasi biomassa sel yang berbeda-beda baik pada fase eksponensial maupun pada akhir pengamatan yakni pada fase stasioner. Pengukuran jumlah biomassa sel mikroalga bertujuan untuk mengetahui berat sel kering setiap masa kultur. Pengukuran biomassa Mikroalga Isolate IND-UNM 01 dilakukan pada hari ke-4 yang memasuki fase Eksponensial dan fase stasioner hari ke-10 dimana pada pengukuran biomassa pada hari ke-4 media yang menghasilkan konsentrasi biomassa sel tertinggi yaitu pada media Urea+NPK sebesar 0,06 g/L begitupun dengan media F/2 sebesar 0,06 g/L. Pengamatan biomassa selanjutnya dilakukan pada hari ke-10 pada fase stasioner mikroalga yang dikultur pada media walne menghasilkan konsentrasi biomassa sel tertinggi yaitu 0,18 g/L dan media Jaworski menghasilkan konsentrasi biomassa sel terendah yaitu sebesar 0,08 g/L. Perbedaan hasil pertumbuhan biomassa pada penelitian ini dengan menggunakan berbagai media menunjukkan pengaruh yang tidak disignifikan hal ini dapat dilihat dari hasil uji analisis statistika. Perbedaan hasil biomassa yang dihasilkan pada setiap media disebabkan oleh adanya perbedaan komposisi dan kadar nutrien, sehingga menyebabkan setiap mikroalga yang dikultur menggunakan media yang berbeda menghasilkan kadar biomassa yang berbeda-beda.

Mikroalga yang dikultivasi pada media walne memiliki konsentrasi biomassa lebih tinggi karena konsentrasi biomassa mikroalga erat kaitannya dengan kandungan nutrisi yang ada didalam media. Media walne diketahui memiliki kandungan nutrien yang lengkap yakni nutrien makro dan mikro yang lebih tinggi dibandingkan dengan media yang lain sehingga konsentrasi biomassanya menjadi lebih tinggi. Pada media walne unsur-unsur Fe, Mn, Cl dan Zn lebih banyak tersedia

dari pada media yang lainnya. Unsur-unsur tersebut digunakan untuk proses fotosintesi, dimana hasilnya digunakan untuk pertumbuhan. Peranan unsur hara mikronutrien dalam laju pertumbuhan sangat besar, yaitu bersama-sama makro nutrien melakukan proses respirasi dan metabolisme (Chilmawati dan Suminto, 2010). Sedangkan pada media Jaworski memiliki kandungan biomassa yang paling rendah, hal ini disebabkan karena jumlah pertumbuhan sel mikroalga relative lambat. Hal ini disebabkan karena pada media Jaworski memiliki kandungan posfor yang rendah yaitu KH₂PO₄ 3,48g dan Protein yang terkandung didalam nya NaHCO₃ 3,18 g serta unsur hara mikro yang tidak cukup lengkap dibandingkan dengan media kultur Walne dan Media F/2 yang memiliki komposisi FeCl₃ yang merupakan unsur yang berperan penting dalam komposisi biokimia seluler karena memiliki redoks dan implikasi dalam proses-proses penting seperti fotosintesis, respirasi, fiksasi nitrogen dan sintesis DNA. Keterbatasan zat besi dapat menurunkan kandungan biomassa yang dihasilkan oleh mikroalga (Vale et al., 2011). Sedangkan Biomassa mikroalga yang dikultur menggunakan Media Pupuk Urea+NPK. dimana hasil menunjukkan bahwa media Pupuk Urea+NPK menghasilkan laju pertumbuhan sel Mikroalga yang tinggi dibandingkan dengan media yang lain namun hasil biomassa yang dihasilkan tidak seimbang dengan laju pertumbuhan sel yang cukup melimpah. Hal serupa juga terjadi pada Penelitian yang dilakukan oleh Adhani dkk (2014), menunjukkan bahwa penggunaan pupuk Urea 0,10 g/l dan TSP 0,05 g/l menghasilkan kepadatan dan biomassa tertinggi dibandingkan dengan dosis yang lebih rendah. Penelitian lanjutan oleh Hadi dkk (2014),dengan dosis dan jenis pupuk yang sama menunjukkan bahwa kepadatan tebar 20.000 sampai 35.000 filamen/ml meghasilkan produksi biomassa dan kepadatan yang sama. Hal ini kemungkinan disebabkan karena Pupuk Urea+NPK yang digunakan hanya menyumbang unsur hara makro yaitu N dan P serta dosis yang diberikan relatif lebih rendah yakni hanya 0,2 g/800ml. sedangkan unsur mikro dalam bentuk mineral tidak mencukupi untuk menunjang pertumbuhan biomassa pada mikroalga. Round (2010), menyebutkan bahwa media kultur dilaboratorium bagi pertumbuhan alga harus mengandung unsur-unsur utama (makro elemen) seperti N, P, K, S dan unsur-unsur renik (mikro elemen) seperti Si, Zn, Cu, Mn, Co, Fe dan Bo.

Perbedaan hasil biomassa yang dihasilkan disebabkan oleh adanya perbedaan komposisi dan kadar nutrien, sehingga menyebabkan setiap mikroalga yang dikultur menggunakan media yang berbeda menghasilkan kadar biomassa yang berbeda-beda.

Mikroalga isolate IND-UNM 01 yang dikultur pada media Urea+NPK dan media Walne menghasilkan produktivitas biomassa tertinggi yaitu sebesar 0,123663 g/L/Hari, media walne 0,123607 g/L/Hari, dan F/2 0,067644 g/L/Hari sedangkan produkivitas biomassa terendah diperoleh oleh media Jaworski 0,052947 g/L/Hari. Perbedaan jumlah konsentrasi biomasa sel mikroalga isolate IND-UNM 01 yang dihasilkan oleh kultur mikroalga isolate IND-UNM 01 yang dikultur pada berbagai media jenis media disebabkan oleh ketersediaan nutrien penyusun masing-masing media. Pada media Urea+NPK yang digunakan dalam penelitian ini ketersediaan unsur hara makro cukup tinggi dan lengkap begitupun dengan media walne ketersediaan unsur hara dan mikro nutriennya lebih lengkap dibandingkan dengan media F/2 dan Jaworski. Ketersediaan unsur hara makro dan mikro nutrien yang lengkap dapat mempengaruhi pertumbuhan biomassa sel mikroalga. Faktor-faktor yang mempengaruhi produktivitas biomassa diantaranya CO₂, nutrisi terutama N dan P dan Cahaya (Chilmawati dan Suminto, 2010). Hal ini diperkuat oleh pendapat Becker (1995), Vonshak et al. (2004), dan Andersen (2005), yang menyatakan bahwa produktivitas biomassa sel akan dipengaruhi oleh ketersediaan unsur utama dalam lingkungan kultur yaitu berupa C, H, O,N, P, K, S, Ca, Fe, Mg dan keberadaan unsur mikro nutrien. Komponen vitamin yang tersedia dalam medium dapat mempercepat produktivitas biomassa terutama vitamin B12.

Nilai produktivitas biomassa pada penelitian ini menunjukkan pangaruh yang tidak signifikan pada nilai biomassa yang diperoleh. Hal ini ditunjukkan pula pada penelitian Prayata dkk (2013), bahwa kepadatan populasi awal yang berbeda menghasilkan pertumbuhan populasi berbeda pula namun tidak menghasilkan pertumbuhan biomassa yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa dari pemberian perlakuan kepadatan inoculum pada setiap media yang berbeda tidak mempengaruhi pertumbuhan biomassa tetapi hanya pada pertumbuhan populasi saja, diduga karena sel isolate mikroalga. Pada setiap media yang digunakan menggunakan nutrisi pada lingkungan yang lebih cenderung untuk bereproduksi

yaitu dengan cara pembelahan dari namun tidak dioptimalkan untuk pertumbuhan biomasa. Riyono (2007) mengatakan, Perbedaan laju pertumbuhan harian pada setiap perlakuan tersebut disebabkan oleh kemampuan sel dalam menyerap unsur hara yang terdapat pada media kultur. Semakin cepat laju pertumbuhan maka semakin baik daya dukung media pupuk terhadap laju pertumbuhan mikroalga. Djarijah (2016) mengatakan bahwa media pupuk berpengaruh pada laju pertumbuhan karena laju pertumbuhan fotosintesa mikroalga dipengaruhi oleh faktor nutrisi yang diberikan. Laju pertumbuhan tinggi berarti peningkatan jumlah populasi lebih cepat karena tingkat kecepatan pertambahan sel persatuhan waktu lebih cepat sehingga masa panenpun akan lebih cepat. Laju pertumbuhan yang tinggi berhubungan dengan biomassa Produktivitas seimbang dengan biomassa, dimana bila terjadi efesiensi pertumbuhan dari suatu populasi secara cepat, maka biasanya biomassa yang sangat kecil memiliki produktivitas sangat besar.

4.2.2 Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa mikroalga isolate UNM-IND1 pada intensitas cahaya yang berbeda

Pertumbuhan mikroalga dibagi menjadi beberapa fase, yaitu fase lag, fase eksponensial, fase diam, dan fase kematian. Selama masa budidaya mikroalga isolat sp. UNM-IND1, hampir semua fase dapat diamati kecuali fase lag. Kepadatan sel dari semua kultur meningkat secara eksponensial setelah inokulasi awal dari kepadatan sel awal sekitar $80 \times 10^4 \text{cell.mL}^{-1}$ pada hari 0 hingga sekitar $282 \times 10^4 \text{cells.mL}^{-1}$ pada hari 1. Tidak adanya fase lag disebabkan karena kemampuan alga untuk beradaptasi dengan cepat dengan lingkungan baru. Fase adaptasi dapat terjadi hanya beberapa saat setelah inokulasi, kemudian mikroalga mampu beradaptasi dengan cepat dan tumbuh secara eksponensial dalam sehari karena kondisi kultur dan media yang digunakan untuk preparasi inokulum sama dengan kondisi percobaan. Menurut Wang dkk. (2012), fase adaptasi akan berlangsung lebih cepat atau tidak akan terlihat jika tidak ada perbedaan kondisi lingkungan dan unsur hara pada budidaya starter dengan budidaya media percobaan. Setelah pertumbuhan eksponensial pada dua hari pertama, densitas sel terus meningkat dengan laju yang lebih lambat mencapai densitas sel maksimum pada hari ke-6 hingga $1208 \times 10^4 \text{cells.mL}^{-1}$ sebelum memasuki fase kematian pada hari ke-8 yang ditunjukkan dengan penurunan densitas sel.

SGR kultur yang ditumbuhkan pada intensitas cahaya yang berbeda tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan berkisar antara 0,81-0,94 hari⁻¹ yang menunjukkan bahwa alga dapat beradaptasi dengan baik dalam terhadap variasi intensitas cahaya. Hal ini sejalan dengan kurva pertumbuhan pada Gambar 3 dimana tidak terlihat adanya fase lag setelah inokulasi sel pada intensitas cahaya yang berbeda menunjukkan bahwa sel dapat beradaptasi dengan baik dengan perubahan intensitas cahaya. Meskipun tidak ada perbedaan yang signifikan dalam laju pertumbuhan alga pada intensitas cahaya yang berbeda, laju pertumbuhan alga meningkat dengan meningkatnya intensitas cahaya hingga tingkat intensitas cahaya tertentu. Pada penelitian ini, laju pertumbuhan alga meningkat ketika intensitas cahaya ditingkatkan dari 2500 menjadi 3500 lux. Namun peningkatan intensitas cahaya lebih lanjut dari 3500 menjadi 8000 lux tidak meningkatkan laju pertumbuhan alga secara signifikan. Hal ini sejalan dengan temuan umum bahwa laju pertumbuhan alga akan meningkat pada peningkatan intensitas cahaya hingga tingkat tertentu tergantung spesiesnya (Bialevich et al. 2022) dan peningkatan intensitas cahaya lebih lanjut di atas titik jenuh akan menyebabkan fotoinhibisi (Difusa dkk.2015). SGR dari isolat UNM-IND1 dalam penelitian ini lebih tinggi dibandingkan penelitian sejenis lainnya. Sebagai contoh, Ievina dan Romagnoli (2020) melaporkan laju pertumbuhan *Chlorella vulgaris* tertinggi ($0,552\text{ d}^{-1}$) dicapai pada intensitas cahaya $100\text{ mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$. Intensitas cahaya tertinggi pada penelitian ini adalah 8000 lux yang setara dengan sekitar $112\text{ mol. foton.m}^{-2}\text{ s}^{-1}$.

Biomassa yield isolate UNM-IND1 meningkat dengan peingkatan intensitas cahaya. Namun, peningkatan intensitas cahaya dari 3500 lux menjadi 8000 lux tidak secara signifikan meningkatkan hasil biomassa alga. Hasil biomassa kultur pada 3500 lux dan 8000 lux hampir sama masing-masing sekitar $0,33\text{ g.L}^{-1}$ dan $0,32\text{ g.L}^{-1}$. Produksi biomassa lebih rendah pada intensitas cahaya rendah (2500 lux) karena intensitas cahaya rendah menyebabkan penurunan laju fotosintesis yang mengakibatkan rendahnya biosintesis makromolekul akibat sintesis glukosa yang kurang optimal dalam proses fotosintesis (Nielsen 2017). Demikian pula Parson dan Chapman (2000) menyatakan bahwa jika intensitas cahaya rendah akan menyebabkan suplai bahan mentah yang dihasilkan dalam proses fotosintesis berkurang. Penurunan laju fotosintesis juga akan berdampak pada semakin rendahnya jumlah biomassa yang dihasilkan (Patmawati, 2010). Studi ini

menunjukkan bahwa intensitas cahaya optimum untuk hasil biomassa alga yang lebih tinggi adalah 3500 lux. Hasil biomassa ditemukan dalam penelitian ini sebanding dengan penelitian lain. Nzayisenga dkk. (2020) melaporkan hasil biomassa *Chlorella vulgaris* setelah 8 hari budidaya pada tiga intensitas cahaya yang berbeda dari 50, 150 dan 300 E m⁻² s⁻¹ adalah masing-masing 0,4, 0,6 dan 0,7 g.L⁻¹. Peningkatan intensitas cahaya dari 150 E m⁻² s⁻¹ menjadi 300 E m⁻² s⁻¹ tidak meningkatkan hasil biomassa secara signifikan. Khalili dkk. (2015) melakukan studi tentang pengaruh perbedaan intensitas cahaya 50, 80, dan 110 mol m⁻² s⁻¹ terhadap pertumbuhan *C. vulgaris*. Mereka menemukan bahwa intensitas cahaya optimum untuk produksi biomassa yang lebih tinggi diperoleh pada intensitas cahaya 80 mol m⁻² s⁻¹.

4.2.3 Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa mikroalga isolate UNM-UNM-IND2 pada salinitas yang berbeda

Kepadatan mikroalga merupakan salah satu parameter pertumbuhan yang dapat digunakan sebagai acuan untuk mengetahui apakah mikroalga tersebut tumbuh atau tidak. Pertumbuhan mikroalga terdiri dari fase lag, fase eksponensial, fase penurunan laju pertumbuhan, fase stasioner dan fase kematian (Tewal et al., 2021).

Dari hasil penelitian diketahui bahwa mikroalga yang dikultur pada salinitas 6% tidak memperlihatkan adanya fase lag/fase adaptasi dimana kultur pada hari ke-1 sudah mengalami peningkatan jumlah sel yang eksponensial. Hal ini menandakan bahwa sel dapat beradaptasi dengan cepat dengan kondisi kultur. Kultur pada salinitas 8% dan 10% menunjukkan penambahan jumlah sel yang sangat sedikit menandakan bahwa kultur mengalami fase lag. Demikian juga pada kultur salinitas 12% dan 14% yang hampir tidak mengalami peningkatan jumlah sel yang menunjukkan bahwa kultur masih berada pada fase adaptasi sebagai upaya penyesuaian diri dari perubahan kondisi lingkungan media yang baru. Menurut Hasanuddi (2012) Fase lag merupakan fase awal dimana penambahan kelimpahan mikroalga terjadi dalam jumlah sedikit, pada fase ini mikroalga mengalami penyesuaian terlebih dahulu. Fase lag tetap terjadi namun tidak terlihat karena berlangsung sangat cepat.

Kultur pada salinitas 6% memasuki fase eksponensial pada hari ke-1 sementara kultur pada salinitas 8%, 10%, 12% dan 14% memasuki fase eksponensial pada hari ke-2. Fase eksponensial ditandai dengan penambahan dengan penambahan jumlah sel yang tinggi/eksponensial. Penambahan jumlah sel secara cepat pada fase ini disebabkan karena sel sudah beradaptasi dengan lingkungan media yang mendukung pertumbuhan lebih cepat karena ketersediaan nutrient dan cahaya yang melimpah. Menurut Kawaroe et al., (2010), fase eksponensial diawali dengan pembelahan sel dan ditandai dengan kepadatan populasi yang meningkat.

Seiring pertambahan waktu pertambahan kepadatan sel semakin melambat dan mencapai kepadatan sel maksimum pada hari ke-14 (fase stasioner). Perlambatan pertumbuhan disebabkan karena nutrient yang semakin berkurang sementara jumlah sel yang semakin banyak. Demikian juga dengan intensitas cahaya yang tersedia untuk sel semakin berkurang karena kultur menjadi semakin pekat oleh banyaknya sel. Menurut Rafaelina et al., (2016) fase stasioner mikroalga mengalami pertumbuhan yang cenderung konstan. Setelah melewati fase stasioner terjadi penurunan jumlah kepadatan sel yang disebut fase kematian, hal ini dikarenakan kandungan nutrien pada media kultur berada dalam jumlah yang terbatas atau bahkan sudah habis. Pada hari ke-16 semua kultur pada semua perlakuan memasuki fase kematian, hal ini diduga karena populasi mikroalga semakin tinggi, tetapi nutrien pada media kultivasi tidak bertambah dan semakin terbatas jumlahnya sehingga mikroalga kekurangan nutrien dan mati (Nisa et al., 2020). Fase kematian lebih cepat terjadi karena kandungan nutrisi yang ada didalam media sudah sangat sedikit (Ru'yatin et al., 2015). Menurut Fadilla (2010) menyatakan bahwa pada fase laju kematian lebih cepat dari pada laju reproduksi, jumlah sel menurun secara signifikan, penurunan kepadatan mikroalga ditandai dengan perubahan kondisi optimum yang dipengaruhi oleh suhu, cahaya, jumlah hara yang ada dan beberapa kondisi lingkungan yang ada.

Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa perlakuan dengan salinitas dengan salinitas berbeda memberikan hasil yang bervariasi pada kepadatan sel. Hal ini dapat disebabkan kerena salinitas merupakan faktor yang dapat mempengaruhi jumlah kepadatan mikroalga pada media kultur. Semakin rendah atau semakin

tinggi salinitas dari kisaran optimal maka laju kepadatan semakin rendah (Nisa et al., 2020). Berdasarkan hasil penelitian kepadatan sel pada perlakuan salinitas 6% lebih tinggi dibandingkan perlakuan yang lain. Rendahnya kepadatan pada perlakuan salinitas 8%, 10%, 12% dan 14% disebabkan oleh kandungan garam yang lebih banyak sehingga tekanan osmosis menjadi lebih besar yang menyebabkan proses difusi atau penyerapan nutrisi terjadi lebih lambat dan mengakibatkan waktu untuk pencapaian kepadatan maksimum terganggu. Hal ini dikarenakan energi yang diperoleh dari nutrisi yang diserap terbagi untuk pertumbuhan dan untuk upaya adaptasi dengan lingkungan yang mempunyai kadar garam lebih tinggi (Nisa et al., 2020). Mikroalga yang mengalami perubahan salinitas akibat pemindahan dari lingkungan bersalinitas rendah ke tinggi akan mendapat hambatan dalam proses fotosintesis. Hart et al., (1991: dalam Ningsih et al., 2017) mengungkapkan bahwa penurunan pertumbuhan pada salinitas yang lebih tinggi dapat menyebabkan menurunnya proses fotosintesis. Tingginya salinitas akan menghambat proses fotosintesis, proses respirasi serta menghambat pembentukan sel anakan.

Laju pertumbuhan spesifik merupakan parameter yang menggambarkan kecepatan pertambahan sel mikroalga per satuan waktu. Laju Pertumbuhan spesifik dapat dipengaruhi oleh banyaknya nutrien yang ada didalam media pertumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi pada mikroalga (Rusidi, 2012).

Laju pertumbuhan spesifik mikroalga memberikan hasil yang berbeda-beda pada tiap salinitas. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa laju pertumbuhan spesifik tertinggi diperoleh pada perlakuan salinitas 8% dengan nilai rata-rata SGR 1,22/hari, kemudian salinitas 10% sebesar 1,01/hari, diikuti salinitas 14% sebesar 0,86/hari, salinitas 12% sebesar 0,85/hari sedangkan SGR terendah pada perlakuan salinitas 6%. Menurut penjelasan Rosly et al., (2013) kepadatan sel mikroalga memiliki perbedaan antar perlakuan yang disebabkan oleh perbedaan kondisi pertumbuhan kultur mikroalga. Menurut Astiani et al., (2016) pesatnya laju pertumbuhan menyebabkan kepadatan suatu populasi meningkat. Meningkatnya populasi terjadi karena adanya pengaruh nutrien pada setiap media. Besarnya laju pertumbuhan menggambarkan tingkat kesuksesan relatif suatu mikroalga dalam

beradaptasi terhadap lingkungan alaminya atau media kultur buatan (Rosly et al., 2013).

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Muliadi dan Nurhamsiah (2010) menyatakan bahwa laju pertumbuhan spesifik juga dipengaruhi oleh besar kecilnya permukaan sel. Semakin kecil ukuran sel, maka semakin besar luas permukaannya sehingga masuknya nutrien ke dalam jaringan sel lebih cepat. Sedangkan menurut Nurfadillah et al., (2012) menyatakan bahwa penurunan pertumbuhan disebabkan adanya beberapa faktor yaitu proses fotosintesis, ketersediaan unsur hara dan kekeruhan. Kekeruhan dapat menghalangi penetrasi cahaya dan mengganggu proses fotosintesis yang dilakukan oleh mikroalga. Menurut Andreas, et al., (2014) yang menyatakan bahwa peningkatan laju pertumbuhan spesifik suatu mikroalga akan meningkat ketika kandungan nutrisi yang tepat dalam media kultur dapat dimanfaatkan secara optimal, hal tersebut ditandai dengan masa adaptasi sel mikroalga terhadap media kultur semakin cepat untuk menuju fase eksponensial. Menurut Goa, et al.,(2019) menyatakan bahwa nutrien yang semakin menipis (bahkan habis), menyebabkan cadangan makanan dalam tubuh sel akan menjadi berkurang, penumpukan racun semakin meningkat, dan penurunan jumlah sel. Jumlah sel yang dihasilkan mikroalga mempengaruhi tinggi rendahnya laju pertumbuhan spesifik, karena laju pertumbuhan spesifik didapatkan dari jumlah sel awal tebar hingga mencapai fase eksponensial selama masa kultur berlangsung.

Waktu penggandaan minimum dicapai ketika laju pertumbuhan spesifik mencapai nilai maksimum yang dicapai doubling time yang paling tinggi berturut-turut dihasilkan pada salinitas 6% (0,825 hari), diikuti salinitas 12% (0,815 hari), salinitas 14% (0,805 hari), salinitas 10% (0,686 hari) dan yang paling rendah pada salinitas 8% dengan nilai sebesar (0,568 hari). Semakin rendah waktu penggandaan berarti pertumbuhan sel lebih cepat karena waktu yang dibutuhkan menggandakan sel/populasi lebih cepat sebagaimana yang dikemukakan oleh Afriza et al., (2015) bahwa waktu penggandaan yang lebih rendah berarti pertumbuhan jumlah populasi lebih cepat karena waktu yang diperlukan untuk pembelahan sel lebih singkat sehingga untuk mencapai kepadatan maksimum lebih cepat. Hal ini menunjukkan bahwa mikroalga yang dikultur pada salinitas

8% memiliki waktu pembelahan/penggandaan yang cepat yakni 0,568 hari atau sekitar 11-12 jam yang berarti miktoalga isolate UNM-IND2 memiliki salinitas optimum 8% NaCl. Dibawah dan di atas salinitas 8% waktu penggandaan menjadi lebih lama.

Fardiaz (1992; Suantika dan Deri, 2009) menjelaskan bahwa waktu penggandaan yang tercepat biasanya tercapai ketika fase eksponensial, yaitu fase pertumbuhan ketika sel-sel membelah dengan cepat dan konstan. Pada fase tersebut pertumbuhan dan aktivitas sel berada dalam keadaan maksimum, sehingga pada umur tersebut sel berada dalam keadaan aktif dan memiliki waktu adaptasi yang pendek selama proses kultur. Menurut Yang et al. (2016), serta Morais dan Costa (2007), variasi waktu penggandaan disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya perbedaan kondisi saat kultivasi, pH, faktor fisik, maupun kandungan CO₂ yang terdapat pada media.

Biomassa yang dihasilkan dari kultur mikroalga menunjukkan banyaknya biomass yang terbentuk sebagai hasil fotosintetis serta merupakan salah satu cara untuk mengetahui pertumbuhan dan produktivitas biomass. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa produksi biomass tertinggi pada salinitas 14% dan terendah pada salinitas 6%. Hal tersebut diduga karena berkaitan dengan kepadatan sel serta laju pertumbuhan yang disebabkan oleh adanya perbedaan salinitas. Pada salinitas yang lebih rendah yakni 6% dan 8% peningkatan jumlah sel awal kultur sangat cepat dimana energy yang dihasilkan dari hasil metabolism digunakan untuk pertumbuhan sementara pada salinitas yang lebih tinggi pertumbuhan sedikit melambat sehingga masih terdapat energi yang tersimpan (storage Produts) yang berkontribusi terhadap penambahan biomass sebagaimana yang dikemukakan oleh Huang et al., (2011) menyatakan bahan mikroalga memanfaatkan cahaya, energi dan nutrisi yang ada untuk memproduksi biomass. Lebih lanjut dikemukakan oleh Adenan et al., (2013) bahwa salinitas memiliki peran pada kelangsungan hidup mikroalga dan dapat menyebabkan penghambatan aktivitas metabolisme akibat menurunnya fotosintesis.

Laju pembentukan biomass yang tinggi terjadi pada fase eksponensial, dimana pada fase ini terjadi serapan nutrisi dari media secara cepat sehingga ketersediaan nutrisi dalam media menjadi berkurang (Prayitno, 2015). Mikroalga

dapat dipanen pada dua fase yaitu fase akhir eksponensial dan fase awal stasioner. Mikroalga sebaiknya dipanen pada akhir fase eksponensial bila tujuan kultivasi untuk mendapatkan biomass yang maksimal, katrena pada fase ini struktur sel masih berada pada kondisi norma dan secara nutrisi menjadi keseimbangan antara nurien dalam media dan kandungan nutrisi dalam sel. Selain itu, kandungan protein dalam sel sangat tinggi, sehingga kondisi mikroalga berada pada kondisi yang optimal (Andriani, 2021). Menurut Akbar (2008) pertumbuhan suatu mikroalga adalah suatu ukuran pertambahan biomass dalam rentang waktu tertentu dan ditentukan dari fase eksponensial. Besarnya konstanta pertumbuhan menggambarkan tingkat kesuksesan relatif suatu mikroalga dalam beradaptasi terhadap lingkungan alaminya atau media kultur buatan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan salinitas berpengaruh terhadap biomass. Hal tersebut diduga karena berkaitan dengan variasi ukuran sel dan kepadatan sel serta laju pertumbuhan yang disebabkan oleh adanya perbedaan salinitas. Ukuran sel yang bervariasi dikarenakan sesuai dengan kondisi pertumbuhannya dan perubahan lingkungan seperti salinitas. Menurut Adenan (2013) bahwa salinitas memiliki peran pada kelangsungan hidup mikroalga dan dapat menyebabkan penghambatan aktivitas metabolisme akibat menurunnya fotosintesis. Sedangkan Huang et al., (2011) menyatakan bahwa mikroalga memanfaatkan cahaya, energi dan nutrisi yang ada untuk memproduksi biomass. Pada penelitian ini semakin tinggi salinitas menyebabkan pertumbuhan akan terhambat, dengan meningkatnya konsentrasi garam, maka pertumbuhan mikroalga menjadi lebih terhambat sehingga hampir tidak ada reaksi berlangsung dalam sitoplasma pada salinitas tinggi, hanya proses pembentukan gliserol yang tetap aktif dalam sel. Fakhri et al., (2020) menambahkan bahwa mikroalga akan mengeluarkan energi lebih banyak Ketika mencoba untuk mempertahankan tekanan turgor, dan ini mengakibatkan penurunan produktivitas atau penurunan pertumbuhan.

Menurut Rufaida, (2008) bahwa peningkatan biomass disebabkan karena hadirnya gas CO₂ yang kemudian diserap oleh mikroalga dan digunakan untuk melakukan proses fotosintesis, dimana proses fotosintesis tersebut adalah karbohidrat yang merupakan sumber utama dari biomass. Mikroalga yang mempunyai laju pertumbuhan baik akan lebih aktif dalam melakukan fotosintesis

dan mengkonversi CO₂ menjadi biomassa sehingga produktivitas biomassa menjadi tinggi. Prayitno (2016) menyatakan bahwa laju pertumbuhan spesifik dan produktifitas biomassa mikroalga sangat dipengaruhi oleh jenis mikroalga, kondisi nutrisi dan lingkungan kultur. Keseluruhan faktor tersebut akan menentukan waktu yang dibutuhkan oleh mikroalga hingga mencapai fase eksponensial, bila nutrisi dan lingkungan dalam kondisi optimum.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Mikroalga isolate UNM-IND1 yang dikultur pada media kultur yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan spesifik, waktu penggandaan dan produktivitas biomassa namun untuk keperluan kultur secara massa sebaiknya digunakan media NPK+urea karena memberikan pertumbuhan dan produktivitas biomassa yang lebih tinggi serta lebih ekonomis.
2. Mikroalga isolate UNM-IND1 yang dikultur pada intensitas cahaya yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan dan waktu penggandaan namun berpengaruh nyata terhadap produktivitas biomassa dimana produktivitas biomassa tertinggi diperoleh pada intensitas cahaya 8000 lux.
3. Mikroalga isolat UNM-IND2 yang dikultur pada Salinitas yang berbeda tidak berpengaruh signifikan terhadap laju pertumbuhan spesifik dan waktu penggandaan, namun berpengaruh nyata terhadap produktivitas biomassa dimana tertinggi diperoleh pada perlakuan salinitas 8% dengan nilai 1,89 g/L/hari.

B. Saran

Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pertumbuhan dan produktivitas biomassa isolate pada suhu dan pH yang berbeda serta komposisi biokimia mikrolaga isolate UNM-IND1 dan UNM-IND2.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar Al.2016. Effect of Salinity on the Growth Parameters of Halotolerant Microalgae, *Dunaliella* spp. Nigerian Journal of Basic and Applied Science, 24(2): 85-91.
- Adenan, N.S., F. Md. Yusoff, M. Shariff. 2013. Effect of Salinity and Temperature on the Growth of Diatoms and Green Algae. Journal of Fisheries and Aquatic Science, 8(2): 397-404.
- Afriza dan Adhani D.Y. 2015. Pengaruh perbedaan dosis pupuk Urea dan TSP terhadap pertumbuhan *Spirulina* sp. Program Studi Budidaya Perairan Universitas Mataram. Mataram. [unpublished]
- Akbar, T. M., 2008. Pengaruh Cahaya Terhadap Senyawa Antibakteri dari *Chaetoceros gracilis*. Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor.
- Andreas., S.Q, Suminto dan D. Chilmawati. 2014. Studi pola pertumbuhan dan kualitas sel *Chlorella* sp. yang dihasilkan melalui teknologi pencucian bibit sel. Journal of Aquaculture Management and Technology.3(4):273-280.
- Andriani, Ina. 2021. Perbedaan jumlah produksi biomassa sel yang dihasilkan dipengaruhi oleh kelimpahan sel selama masa kultivasi. Skripsi. Perbedaan jumlah produksi biomassa sel yang dihasilkan dipengaruhi oleh kelimpahan sel selama masa kultivasi.
- Apriyatmoko Yudi. 2015. Isolasi dan Karakteristik Mikroalga yang Berpotensi Sebagai Bahan Baku Biodiesel di Perairan Estuaria Sungai Porong. Jurusan Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Astiani, F., Dewiyanti I., & Mellisa, S. 2016. Pengaruh Media Kultur Yang Berbeda Terhadap Laju Pertumbuhan dan Biomassa *Spirulina* sp. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah. 1(3): 441-447.
- Aulia Ana Evita, Yunita Maimunah, dan Heny Suprastyani. 2021. Penggunaan Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena Leucocephala*) sebagai Pupuk Dengan Salinitas yang Berbeda Terhadap Laju Pertumbuhan, Biomassa dan Klorofil-A pada Mikroalga *Chlorella Vulgaris*. Journal of Fisheries and Marine Research. Vol. 5 No.1 hal: 47-55. Andersen, R.A., Kawachi, M. (2005). Traditional microalgae isolation techniques. In: Andersen RA (ed) Algal culturing techniques. Elsevier Academic Press, London, pp83-100
- Arora, N.K., Panosyan, H. (2019). Extremophiles: applications and roles in environmental sustainability. Environmental Sustainability 2:217–218 <https://doi.org/10.1007/s42398-019-00082-0>
- Avron, M., Ben-Amotz, A. (1992). *Dunaliella*:Physiology,Biochemistry, and Biotechnology. CRC Press, Boca Raton.
- Bariyyah Siti Khairul, A. Ghanaim Fasya, Munirul Abidin, dan A. Hanapi. 2013. Uji Aktivitas Terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella* sp. Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge. ALCHEMY. 2(3):150 – 204.
- Becker E.W. 1994.Oil production. In: Baddiley, et al., editors. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press;
- Borowitzka, M.A., (2013). Species and strain selection. In: Borowitzka MA, MoheimaniNR(eds)Algae for biofuels and energy. Springer, Dordrecht, pp77-89.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from Mikroalgae. Biotechnology advances. 25. Pp.294-306.

- Devgoswami Ch.R., Kalita M. C., Talukdar J., Bora R., and Sharma P.. 2011. Studies on the growth behavior of Chlorella, Haematococcus and Scenedesmus sp. in culture media with different concentrations of sodium bicarbonate and carbon dioxide gas. African Journal of Biotechnology Vol. 10(61), pp. 13128-13138.
- Dewi Merry Sintya, Joko Samiaji ,dan Irvina Nurrachmi. 2018. Pengaruh Perbedaan Salinitas Terhadap Pertumbuhan Biomassa Kultivasi Mikroalga Spirulina platensis Pada Skala Semi Outdoor. Fakultas Perikanan dan KelautanUniversitas Riau.
- Diharmi A. 2001. Pengaruh Pencahayaan Terhadap Kandungan Pigmen Bioaktif Mikroalga Spirulina platensis Strain Local (Ink). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Djunaedi, Ali, Chrisna Adi Suryono dan Sardjito. 2017. Kandungan Pigmen Polar Dan Biomassa Pada Mikroalga Dunaliella Salina Dengan Salinitas Berbeda. Jurnal Kelautan Tropis. Vol. 20(1):1–6.
- Del Campo, J. A., Garcia-Gonzales, M., and Guerrero, M. G. (2007). Outdoor Cultivation of 461 Microalgae for Carotenoid Production. *Current State and Perspectives*. 74: 1163-1174.
- De Fretes, H., A. B. Susanto., B. Prasetyo, dan L. Limantara. 2012. Karotenoid dari Mikroalga dan Makroalga: Potensi Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. XXIII (2): 221-228. Effendi, H. 2003. Buku Telaah Kualitas Air Bagi Pengolahan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. Yogyakarta. 33-129 hlm.
- Engström N.. 2012. Cultivation of seven different species of marine microalgae using simulated flue gas mimicking effluents from paper mills as carbon source. [Tesis]. Master of Science Thesis in the Master Degree Program iotechnology: Department of Chemical and Biological Engineering, Industrial Biotechnology, Chalmers University Of Technology Gothenburg, Sweden. p26.
- Ertekin, O., Kosesakal, T., Unlu, V.S., Dagli, S., Pelitli, V., Uzyol, H., Tuna, Y., Kulen, O., Yuksel, B., Onarici, S., Keskin, B.C. and Memon, A., 2015. Phytoremediation potential of Landoltia punctata on petroleum hydrocarbons. Turkish Journal of Botany, (39), pp. 23–29.
- Fadilla, Z. 2010. Pengaruh Konsentrasi Limbah Cair Tahu terhadap Pertumbuhan mikroalga Scenedesmus sp., Skripsi. Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Syrif Hidayatullah. Jakarta.kawaroe et al., (2010). Fogg, GE. & Thake, B. 1987. Algae cultures and Phytoplankton Ecology, 3rd ed. Wisconsin, University Wisconsin Press, Madison.
- Goa.S., W.Iba dan Indrayani.2019. Pengaruh Dosis Pupuk Organik Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Chlorella vulgaris. Media Akuatika. 4(2):68-76.
- Graneli, Enda, & Salomon, PS. 2010. Factor Influenceing Allelopathy And Toxicity in *Prymnesium parvum*. Journal of The American Water Resources Association.46,1.
- Griffith JM, Harrison TSL. 2008. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J Appl Phycology*.
- Gunam Ida Bagus wayan. 2016. Pengaruh Jenis media Terhadap Konsentrasi Biomassa dan Kandungan Protein Mikroalga Chaetoceros Calcitrans. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. Vol 4, No 2. ISSN : 2503-488X.

- Gong, Y., Jiang, M. (2011). Biodiesel production with microalgae as feedstock: from strains to biodiesel. *Biotechnol Lett* 33:1269-1284.
- Hadriyanto, F. Yasidi, Salwiyah. 2012. Sudi Kelimpahan dan Keanekaragaman Zooplankton di Perairan Tekul Staring Desa Puasana Kecamatan Moramo Utara Kabupaten Konawe Selatan. Jurnal Manajemen Sumber Daya Perairan. Vol 4 (3):243-249.
- Hardiyanto dan Maulana Azim. 2012. Mikroalga (Sumber Pangan dan Energi Masa Depan). Center of Biomassa and Renewable Energy. Edisi Pertama. ISBN: 978-602-097-298-3.
- Hariyati, R. 1994. Kelimpahan dan keanekaragaman mikroalga di sumber air panas Gonoharjo Kendal. Semarang: Majalah Penelitian Lembaga Penelitian UNDIP.
- Hart BT, Bailey P., Edwards R., Hottle K., James K., McMahon A., Meredith C., Swadling K., 1991 Tinjauan sensitivitas garam biota air tawar Australia. *Hidrobiologia* 210 (1): 105-144.
- Hasanuddin, M. 2012. Pengaruh Perbedaan Intensitas cahaya terhadap pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Scenedemud* sp. yang dibudidayakan pada limbah cair tapioka, Skripsi. UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Horneck, G., Klaus, D. M., and Mancinelli, R. L. (2010). Space microbiology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74, 121–156. doi: 10.1128/MMBR.00016-09.
- Huang, W.W., B.Z. Dong, Z.P. Cai dan S.S. Duan. 2011. Growth Effect on Mixed Culture of *Dunaliella salina* and *Phaeodactylum tricornutum* Under Different Inoculation Densities and Nitrogen Concentrations. *Afr. J.Biotechnol.*, 10:13164-13174.
- Indrayani, I. (2017). Isolation and Characterization of Microalgae with Commercial Potential. [Dissertation]. Murdoch University, Perth, Western Australia.
- Indrayani, I., Haslanti,. Asriyana. (2018). Isolation and screening of marine microalgae from Kendari waters, Southeast Sulawesi, Indonesia suitable for outdoor mass cultivation in hypersaline media. *AACL Bioflux* 11 (5): 1445-1455.
- Indrayani, I., Moheimani, N.R., Borowitzka, M.A. (2019). Long-term reliable culture of a halophilic diatom, *Amphora* sp. MUR258, in outdoor raceway ponds. *J Appl Phycol* 31: 2771-2778.
- Indrayani, I., Moheimani, N.R., de Boer K., Bahri, P.A., Borowitzka, M.A. (2020). Temperature and salinity effects on growth and fatty acid composition of a halophilic diatom, *Amphora* sp. MUR258 (Bacillariophyceae). *J Appl Phycol* 31 (5), 2771-2778.
- Isnansetyo A, Kurniastuty. 1995. Teknik kultur phytoplankton dan zooplankton. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Istirikhaatun, T. 2017. Potensi Chlorella sp. untuk menyisihkan COD dan Nitrat dalam limbah cair Tahu. Universitas Dipenegoro : Semarang.
- James, G. S., dan Morrissey, J. F. 2004. Introduction to the Biology Marine Life 8th Edition. Canada: Jones and Bartlett.
- Jati, F., J. Hutabarat, dan V.E. Herawati. 2012. Pengaruh Penggunaan Dua Jenis Media Kultur Teknis yang Berbeda Terhadap Pola Pertumbuhan, Kandungan Protein, dan Asam Lemak Omega 3 EPA (*Chaetoceros gracilis*). *Journal Of Aquaculture Management and Technology*. 1.(1):221.132.
- Jeon MW, Ali MB, Hahn EJ, Paek KY. 2005. Effect of photon flux density on the

- morphology, photosynthesis, and growth of a CAM orchid, *Doritaenopsis* during postmicropropagation acclimatization. *Plant Growth Regul.* 45,139-147
- John, F. M., dan James, L. S. 2008. Introduction to the iology of Marine Life. Canada: Jones and Bartlet Learning.
- Kawaroe, M. 2010. Mikroalga untuk biofuel. Pusat Penelitian Surfaktan dan Bioenergi: Institut Pertanian Bogor.
- Kong, QX, Li, L., Martinez, B., Chen, P., and Ruan, R. 2010. Culture of Microalgae Chlamydomonas reinhardtii in Wastewater for Biomass Feedstock Production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 160, 9-18.
- Kusumaningrum, H. P., Zainuri, M. (2013). Aplikasi Pakan Alami Kaya Karotenoid untuk Post Larvae Penaeus monodon Fab. *Jurnal Ilmu Kelautan* Vol.18 (3) : 143-149. ISSN0853-7291.
- Larkum, A.W.D., Ross, I.L., Kruse, O., Hankamer, B. (2012). Selection, breeding and engineering of microalgae for bioenergy and biofuel production. *Trends Biotechnol* 30(4):198-205.
- Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew Sust Energy Rev* 14 (1):217-232.
- Olaizola, M. (2003). Commercial development of microalgal biotechnology : from test tube to the marketplace. *Biomol Eng* 20:459-466.
- Merino, N., Aronson, H.S.4., Bojanova, D.P., Jayme Feyhl-Buska, J., Wong, M.L., Zhang, S., Iovannelli, D. (2019). Living at the Extremes: Extremophiles and the Limits of Life in a Planetary Context. *Frontiers in Microbiology* 10. doi: 10.3389/fmicb.2019.00780
- Novianti, T. (2019). Kajian Pemanfaatan Mikroalga *Dunaliella Salina* Sebagai Bahan Fortifikasi Pangan Dengan Pendekatan Bioekonomi Kelautan. *Mangifera Edu* 3 (2): 100-109.
- Nur, M.M.A. (2014). Potensi Mikroalga sebagai Sumber Pangan Fungsional di Indonesia (overview). *Jurnal Eksbergi*. Vol XI (2) : 1-6.
- Raharjo. (2007). Analisa Performa Mesin Diesel dengan Bahan Biodiesel dari Minyak Jarak Pagar. Makalah pada Seminar Nasional Teknologi, Yogyakarta.
- Ramajaj, S., Juntawong. (2015). Identification and Comparison of Culture Medium for High β-carotene Production by Dunaliella salina KU11 Isolated from Salt Soil Samples Collected from Northeastern parts of Thailand. Bioscience Program, Faculty of Science, Kasetsart University. Bangkok. Research gate. 10pp.
- Rafaelina et al., (2016) Hotos George N. and Despoina Avramidou. 2021. The Effect of Various Salinities and Light Intensities on the Growth Performance of Five Locally Isolated Microalgae (*Amphidinium carterae*, *Nephroselmis* sp., *Tetraselmis* sp. (var.red pappas), *Asteromonas gracilis* and *Dunaliella* sp.) in Laboratory Batch Cultures. *Journal Marine Science an Engineering*. ,9, 1275.
- Richmond, A. (2004). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Science, Oxford, OX, UK; Ames, Iowa, USA.
- Romimohtarto, K. (2004). Meroplankton Laut: Larva Hewan Laut yang Menjadi Plankton, Djambatan, Jakarta.
- Rivasseau, C., Farhi, E., Atteia, A., Couté, A., Gromova, M., Gromovade Gouvin

- Saint Cyr, D., Boisson, A.-M., Féret, A.-S., Compagnon, E., Bligny, R. (2013). An extremely radioresistant green eukaryote for radionuclide bio-decontamination in the nuclear industry. *Energy Environ. Sci.* 6, 1230.
- Rothschild, L.J., Mancinelli, R.L. (2001). Life in extreme environments. *Nature* 409, 1092–1101. doi: 10.1038/35059215.
- Ru'yatin., Rohyani, I. S dan Ali, L. 2015. Pertumbuhan Tertraselmis dan Nannochloropsis sp. Pada Skala Laboratorium. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon Vol. 1, No. 2: 296-299.
- Setiasih Intan Budi , Agus Sabdono, dan Rini Pramesti. 2020. Pengaruh Salinitas terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan Dunaliella salina (Chlorophyceae: Dunaliellaceae). *Journal of Marine Research.* Vol 9, No.2. pp. 181-185
- Simamora Lira Anaida, Sudarno, dan Titik Istirokhatun. 2017. Kultivasi Mikroalga Sebagai Metode Pengolahan Dalam Menyisikan Kadar COD dan Omonium pada Limbah Tahu. *Jurnal Teknik Lingkungan*, Vol. 6, No. 1.
- Sobari, R., A.B. Susanto, S. Dwi, dan Y.R. Delicia. 2013. Kandungan Lipid Beberapa Jenis Sianobakteria Laut Sebagai Bahan Sumber Penghasil Biodiesel. *Jurnal of Marine Research.* Vol. 2 (1), 112-119.
- Soeder, C. and E. Stengel. 1974. Physico- chemical factors affecting metabolism and growth rate. In : “Algal Physiology and Biochemistry”. (W.D.P. Stewart. Editor). Blackwell Scientific Publication. Oxford London Edinburgh Melbourne : 714- 730.
- Suantika.G dan Deri Hendrawandi. 2009. Efektivitas Teknik Kultur menggunakan Sistem Kultur Statis, Semi-kontinyu, dan Kontinyu terhadap Produktivitas dan Kualitas Kultur Spirulina sp. *Jurnal Matematika dan Sains*, Vol.14 No.2.
- Supriyo.,H dan D. Prehaten. 2014. Kandungan unsur hara dalam daun jati yang baru jatuh pada tapak yang berbeda. *Jurnal Ilmu Kehutanan.* 8(2):108-116.
- Taiz L and Zeiger E. 2002. *Plant Physiology* Third Edition. Sunderland, editor: Sinauer Associates. p. 17-34.
- Tewal F, Kurniati Kemer, Joice R.T.S.L. Rimper, Desy M.H. Mantiri, Wilmy E. Pelle, Joppy D. Mudeng. 2021. Laju Pertumbuhan dan Kepadatan Mikroalga Dunaliella Sp. Pada Pemberian Timbal Asetat dengan konsentrasi yang berbeda. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis.* Vo.9, No.1.
- Trikuti I Komang, A.A. Made Dewi Anggreni , Ida Bagus Wayan Gunam. 2016. Pengaruh Jenis Media terhadap Konsentrasi Biomassa dan Kandungan Protein Mikroalga Chaetoceros calcitrans. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri.* ISSN : 2503-488X, Vol 4, No 2. Hal. 13-22.
- Ugwu, CU., Aoyagi, H., dan Uchiyama, H. 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology.* 99, 4021-4028.
- Velea S., Ilie L., dan Filipescu L.. 2011. Optimization Of Porphyridium Purpureum Culture Growth Using Two Variables Experimental Design: Light And Sodium Bicarbonate. *U.P.B. Sci. Bull., Series B*, Vol. 73, Iss. 4.
- Sakti, Mayta., Darmono, S.S., Nyoman Suci, W. (2015). Pengaruh suplementasi spirulina terhadap beberapa parameter sindrom metabolik (studi di puskesmas lebdosari kota semarang). *Jurnal Gizi Indonesia* (ISSN : 1858-4942).
- Silli, C., Torzillo, G., Vonshak, A. (2012). Arthrosphaera (Spirulina), pp. 677–705. In: Whitton, B.A. (Ed.), *Ecology of Cyanobacteria II. Their Diversity in Space and Time.* Springer.
- Torzillo, G., Pushparaj, B., Masojidek, J., Vonshak, A. (2003). Biological

- constraints in algal biotechnology. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 8, 338–348.
- Taiz L and Zeiger E. 2002. Plant Physiology Third Edition. Sunderland, editor: Sinauer Associates. p. 17-34.
- Tewal F, Kurniati Kemer, Joice R.T.S.L. Rimper, Desy M.H. Mantiri, Wilmy E. Pelle, Joppy D. Mudeng. 2021. Laju Pertumbuhan dan Kepadatan Mikroalga Dunaliella Sp. Pada Pemberian Timbal Asetat dengan Konsentrasi yang berbeda. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Vo.9, No.1.
- Trikuti I Komang, A.A. Made Dewi Anggreni , Ida Bagus Wayan Gunam. 2016. Pengaruh Jenis Media terhadap Konsentrasi Biomassa dan Kandungan Protein Mikroalga Chaetoceros calcitrans. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. ISSN : 2503-488X, Vol 4, No 2. Hal. 13-22.
- Ugwu, CU., Aoyagi, H., dan Uchiyama, H. 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*. 99, 4021-4028.
- Velea S., Ilie L., dan Filipescu L.. 2011. Optimization Of Porphyridium Purpureum Culture Growth Using Two Variables Experimental Design: Light And Sodium Bicarbonate. *U.P.B. Sci. Bull., Series B*, Vol. 73, Iss. 4.
- Varshney, P., Mikulic, P., Vonshak, A., Beardall, J., Wangikar, J.P. (2015). Extremophilic micro-algae and their potential contribution in biotechnology. *Bioresource Technology* 184 : 363–372
- Vonshak, A., Richmond, A. (1988). Mass production of the blue-green Spirulina: an overview. *Biomass* 15, 233–247.
- Widianingsih. 2010. Eksplorasi Mikroalga yang Berpotensi Sebagai Biofuel dalam Upaya Pencaharian Energi Alterfnatif Yang Terbarukan. Abstrack Penelitian. Undip: Semarang.
- Wulandari, A.P., Frida N., Annisa E.P., dan Dilaekha R.P.. 2010. Identifikasi Mikroalgae di Sekitar Pantai Pangandaran dan Potensi Pertumbuhannya pada Formulasi Medium Ekstrak Tauge (MET). Prosiding Seminar Nasional Limnologi, V.
- Yamagishi, A., Kawaguchi, Y., Hashimoto, H., Yano, H., Imai, E., Kodaira, S., et al. (2018). Environmental data and survival data of *Deinococcus aetherius* from the exposure facility of the Japan experimental module of the internationalspace station obtained by the tanpopo mission. *Astrobiology* 18, 1369–1374.doi: 10.1089/ast.2017.1751

LAMPIRAN

1. Surat Keterangan Penelitian Mahasiswa yang dilibatkan



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN

UNIVERSITAS NEGERI MAKASSAR (UNM)

FAKULTAS TEKNIK

Alamat : Jl. Daeng Tata Raya Parangtambung Makassar

Telp. (0411) 865677 - Fax. (0411) 861377

Laman: www.ft.unm.ac.id.

Nomor : 2096/UN36.2/PP/OL/2022 30 Mei 2022

Hal : Penunjukan Sebagai Pembimbing/
Konsultasi Skripsi

Yth. : 1. Dr. Hj. Ernawati SK, S.Pi., M.Si. (Pembimbing I)
: 2. Indrayani, S.Pi., M.Biotech.Stu., Ph.D. (Pembimbing II)

Dosen Fakultas Teknik Universitas Negeri Makassar

Dalam rangka penulisan Skripsi mahasiswa di bawah ini:

Nama : Indah Cahyani
Nim : 1827042022
Jurusan : Pendidikan Teknologi Pertanian
Program Studi : Pendidikan Teknologi Pertanian

Diminta kesediaan Saudara untuk menjadi pembimbing/konsultan dalam penulisan Skripsi dengan judul sementara:

"Pengaruh Perbedaan Salinitas terhadap Pertumbuhan dan Produktifitas Biomassa Mikroalga Isolat IND-UNM 2 "

Judul tersebut masih dapat didiskusikan antara Saudara dengan Mahasiswa yang bersangkutan. Maksimal waktu pembimbingan 6 (enam) bulan terhitung dari tanggal dikeluarkannya SK pembimbingan hingga siap ujian akhir. Jika dalam waktu tersebut proses pembimbingan belum selesai, maka tugas yang diberikan kepada Saudara akan ditinjau kembali.

Kiranya sebelum penulisan Skripsi Mahasiswa tersebut lebih dahulu memasukkan Kerangka Skripsi yang ditulis dan Saudara setuju untuk kami ketahui.

Atas kesediaan dan perhatian diucapkan terima kasih.



Tembusan:
1. Ketua Jurusan
2. Sekretaris Jurusan
3. Arsip

2.



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS NEGERI MAKASSAR (UNM)
FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN TEKNOLOGI PERTANIAN (S1)**

Alamat: Jln Daeng Tata Raya Parangtambang Makassar
Tlp (0411) 865677 – Fax. (0411) 861377

SURAT KETERANGAN PENELITIAN

No.48/SEKPRO/LAB/VIII/2022

Yang bertanda tangan di bawah ini, menerangkan bahwa :

Nama : Indah Cahyani
NIM : 1827042022
Program Studi : Pendidikan Teknologi Pertanian (S1)

Mahasiswa yang bersangkutan telah melaksanakan penelitian di Laboratorium Pendidikan Teknologi Pertanian.

**PENGARUH PERBEDAAN SALINITAS TERHADAP PERTUMBUHAN DAN
PRODUKTIVITAS BIOMASSA MIKROALGA ISOLAT UNM-IND2**

Demikian surat keterangan ini, diberikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 25 Agustus 2022

/,, Kepala Laboratorium PTP,


Indrayani, S.Pi., M.Biotech.Stu., Ph.D.
NIP. 19691013 20000 3 1 001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN

UNIVERSITAS NEGERI MAKASSAR (UNM)

FAKULTAS TEKNIK

Alamat : Jl. Daeng Tata Raya Parangtambung Makassar

Telp. (0411) 865677 - Fax. (0411) 861377

Laman: www.fl.unm.ac.id

Nomor : 2094/UN36.2/PP/OL/2022 30 Mei 2022

Hal : Penunjukan Sebagai Pembimbing/Konsultasi Skripsi

Yth. : 1. Dr. Hj. Ernawati SK, S.Pi., M.Si. (Pembimbing I)
: 2. Indrayani, S.Pi., M.Biotech.Stu., Ph.D. (Pembimbing II)

Dosen Fakultas Teknik Universitas Negeri Makassar

Dalam rangka penulisan Skripsi mahasiswa di bawah ini:

Nama : Nurul Mawaddah
Nim : 1827041029
Jurusan : Pendidikan Teknologi Pertanian
Program Studi : Pendidikan Teknologi Pertanian

Diminta kesedian Saudara untuk menjadi pembimbing/konsultan dalam penulisan Skripsi dengan judul sementara:

"Pengaruh Intensitas Cahaya Yang Berbeda terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Biomassa Mikroalga Isolat UNM-IND 1"

Judul tersebut masih dapat didiskusikan antara Saudara dengan Mahasiswa yang bersangkutan. Maksimal waktu pembimbingan 6 (enam) bulan terhitung dari tanggal dikeluarkannya SK pembimbingan hingga siap ujian akhir. Jika dalam waktu tersebut proses pembimbingan belum selesai, maka tugas yang diberikan kepada Saudara akan ditinjau kembali.

Kiranya sebelum penulisan Skripsi Mahasiswa tersebut lebih dahulu memasukkan *Kerangka Skripsi* yang ditulis dan Saudara setujui untuk kami ketahui.

Atas kesediaan dan perhatian diucapkan terima kasih.

a.n Dekan
Makil Dekan Bidang Akademik,

- 1 -
Dr. H. Ruslan, M.Pd.
NIP. 186312311990011028

Tembusan:
1. Ketua Jurusan
2. Sekretaris Jurusan
3. Arsip



KEMENTERIAN PENDIDIKAN KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS NEGERI MAKASSAR (UNM)
FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN TEKNOLOGI PERTANIAN (S1)

Alamat: Jln Daeng Tata Raya Parangtambung Makassar
Tlp (0411) 865677 – Fax. (0411) 861377

SURAT KETERANGAN PENELITIAN

No.47/SEKPRO/LAB/VIII/2022

Yang bertanda tangan di bawah ini, menerangkan bahwa :

Nama : Nurul Mawaddah
NIM : 1827041029
Program Studi : Pendidikan Teknologi Pertanian (S1)

Mahasiswa yang bersangkutan telah melaksanakan penelitian di Laboratorium Pendidikan Teknologi Pertanian.

PENGARUH INTENSITAS CAHAYA YANG BERBEDA TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN PRODUKTIVITAS BIOMASSA MIKROALGA ISOLAT
UNM-INDI

Demikian surat keterangan ini, diberikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 25 Agustus 2022

 Kepala Laboratorium PTP,


Indrayani, S.Pi., M.Biotech.Stu., Ph.D.
NIP. 19691013 20000 3 1 001

2. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian



Inokulasi awal



Inkubasi mikroalga pada Ruang kultur



Menghitung kepadatan sel



Sampling Biomass



Filtrasi sampel



Penimbangan berat biomass

3. Hasil analisis statistik Perbedaan Cahaya

Specific Growth Rate

One Way Analysis of Variance SGR Tuesday, July 12, 2022 2:36:47 PM

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.833$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.224$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
LL	3	0	0.814	0.137	0.0792
ML	3	0	0.930	0.0798	0.0461
HL	3	0	0.948	0.00826	0.00477
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	0.0318	0.0159	1.889	0.231
Residual	6	0.0505	0.00842		
Total	8	0.0823			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0.231$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.142

The power of the performed test (0.142) is below the desired power of 0.800.

Less than desired power indicates you are less likely to detect a difference when one actually exists. Negative results should be interpreted cautiously.

Doubling time

One Way Analysis of Variance-doubling time Thursday, July 14, 2022
9:57:21 AM

Data source: Data 1 in intensitas cahaya

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.175$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.738$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
LL	3	0	0.807	0.160	0.0924
ML	3	0	0.781	0.0970	0.0560

HL	3	0	0.759	0.0571	0.0330		
Source of Variation		DF	SS	MS	F	P	
Between Groups		2	0.00347		0.00174		0.136 0.876
Residual		6	0.0766	0.0128			
Total	8		0.0801				

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0.876$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.050

The power of the performed test (0.050) is below the desired power of 0.800.

Less than desired power indicates you are less likely to detect a difference when one actually exists. Negative results should be interpreted cautiously.

Biomass Yield

One Way Analysis of Variance-Biomass EP Wednesday, July 13, 2022 10:18:07 AM

Data source: Data 1 in intensitas cahaya

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.258$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 1.000$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM		
LL	3	0	0.160	0.0346	0.0200		
ML	3	0	0.293	0.0462	0.0267		
HL	3	0	0.273	0.0503	0.0291		
Source of Variation		DF	SS	MS	F	P	
Between Groups		2	0.0310	0.0155	7.932	0.021	
Residual		6	0.0117	0.00196			
Total	8		0.0428				

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = 0.021$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.725

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):

Overall significance level = 0.05

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	t	P	P<0.050
ML vs. LL	0.133	3.693	0.030	Yes
HL vs. LL	0.113	3.139	0.040	Yes
ML vs. HL	0.0200	0.554	0.600	No

One Way Analysis of Variance-Biomass SP Wednesday, July 13, 2022 10:20:32 AM

Data source: Data 1 in intensitas cahaya

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.305)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.486)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
LL	3	0	0.233	0.0503	0.0291
ML	3	0	0.333	0.0115	0.00667
HL	3	0	0.300	0.0529	0.0306
Source of Variation		DF	SS	MS	F
Between Groups		2	0.0156	0.00778	4.268
Residual		6	0.0109	0.00182	
Total	8		0.0265		

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.070).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.410

The power of the performed test (0.410) is below the desired power of 0.800.

Less than desired power indicates you are less likely to detect a difference when one actually exists. Negative results should be interpreted cautiously.

Produktivitas Biomass

One Way Analysis of Variance-Produktivitas biomass
2022 9:40:09 AM

Thursday, July 14,

Data source: Data 1 in intensitas cahaya

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.814$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.148$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
LL	3	0	0.194	0.0726	0.0419
ML	3	0	0.311	0.0366	0.0212
HL	3	0	0.310	0.0137	0.00789
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	0.0269	0.0135	5.933	0.038
Residual	6	0.0136	0.00227		
Total	8	0.0405			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = 0.038$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.574

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):

Overall significance level = 0.05

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	t	P	P<0.050
ML vs. LL	0.116	2.995	0.071	No
HL vs. LL	0.116	2.971	0.049	Yes
ML vs. HL	0.000931	0.0239	0.982	No

4. Hasil Analisa Statistik Perbedaan Salinitas

SGR

One Way Analysis of Variance-SGR Friday, July 15, 2022 11:07:57 AM

Data source: Indah Cahyani in intensitas cahaya dan salinitas

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.559$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.666$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
6% 3	0	0.846	0.158	0.0909	
8% 3	0	1.223	0.177	0.102	
10%	3	0	1.013	0.133	0.0768
12%	3	0	0.848	0.199	0.115
14%	3	0	0.868	0.0413	0.0239
Source of Variation		DF	SS	MS	F P
Between Groups	4		0.318	0.0795	3.455 0.051
Residual	10		0.230	0.0230	
Total	14		0.548		

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0.051$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.490

Doubling Time

One Way Analysis of Variance-Doubling time Friday, July 15, 2022 11:52:09 AM

Data source: Indah Cahyani in intensitas cahaya dan salinitas

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.972$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.319$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
6% 3	0	0.837	0.143	0.0827	
8% 3	0	0.575	0.0888	0.0513	
10%	3	0	0.691	0.0846	0.0488

12%	3	0	0.847	0.190	0.110	
14%	3	0	0.800	0.0384	0.0222	
Source of Variation			DF	SS	MS	F P
Between Groups	4		0.160	0.0400	2.735	0.090
Residual	10		0.146	0.0146		
Total	14		0.306			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0.090$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.356

Biomass Yield

One Way Analysis of Variance-Biomass Eksponesial Saturday, July 16, 2022 8:52:08 PM

Data source: Indah Cahyani in intensitas cahaya dan salinitas

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.627$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.930$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
6% 3	0	0.367	0.0987	0.0570	
8% 3	0	0.373	0.0643	0.0371	
10%	3	0	0.480	0.0400	0.0231
12%	3	0	0.573	0.0702	0.0406
14%	3	0	0.693	0.0987	0.0570
Source of Variation			DF	SS	MS F P
Between Groups	4		0.231	0.0577	9.575 0.002
Residual	10		0.0603	0.00603	
Total	14		0.291		

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = 0.002$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.972

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):

Overall significance level = 0.05

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	t	P	P<0.050
14% vs. 6%	0.327	5.154	0.004	Yes
14% vs. 8%	0.320	5.048	0.004	Yes
14% vs. 10%	0.213	3.366	0.056	No
12% vs. 6%	0.207	3.260	0.058	No
12% vs. 8%	0.200	3.155	0.060	No
14% vs. 12%	0.120	1.893	0.368	No
10% vs. 6%	0.113	1.788	0.356	No
10% vs. 8%	0.107	1.683	0.326	No
12% vs. 10%	0.0933	1.472	0.314	No
8% vs. 6%	0.00667	0.105	0.918	No

One Way Analysis of Variance-Biomass Fase Stasioner Saturday, July 16, 2022 8:55:24 PM

Data source: Indah Cahyani in intensitas cahaya dan salinitas

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.570)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.491)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
6% 3	0	1.267	0.0231	0.0133	
8% 3	0	1.547	0.0416	0.0240	
10%	3	0	1.807	0.110	0.0636
12%	3	0	1.927	0.0231	0.0133
14%	3	0	2.167	0.122	0.0706
Source of Variation		DF	SS	MS	F
Between Groups	4	1.448	0.362	60.609	<0.001
Residual	10	0.0597	0.00597		
Total	14	1.508			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = <0.001$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 1.000

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):

Overall significance level = 0.05

Comparisons for factor:

Comparison		Diff of Means	t	P	P<0.050
14% vs. 6%		0.900	14.262	<0.001	Yes
12% vs. 6%		0.660	10.459	<0.001	Yes
14% vs. 8%		0.620	9.825	<0.001	Yes
10% vs. 6%		0.540	8.557	<0.001	Yes
12% vs. 8%		0.380	6.022	<0.001	Yes
14% vs. 10%		0.360	5.705	<0.001	Yes
8% vs. 6%	0.280	4.437	0.005	Yes	
10% vs. 8%		0.260	4.120	0.006	Yes
14% vs. 12%		0.240	3.803	0.007	Yes
12% vs. 10%		0.120	1.902	0.086	No

Produktivitas Biomass

One Way Analysis of Variance-Prod.Biomassa Saturday, July 16, 2022
9:10:56 PM

Data source: Indah Cahyani in intensitas cahaya dan salinitas

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.304$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.545$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
6% 3	0	1.073	0.213	0.123	
8% 3	0	1.891	0.281	0.162	
10%	3	0	1.836	0.311	0.179
12%	3	0	1.631	0.363	0.209

14%	3	0	1.883	0.194	0.112
Source of Variation			DF	SS	MS
Between Groups	4		1.437	0.359	4.608
Residual	10		0.780	0.0780	
Total	14		2.217		

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference ($P = 0.023$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.671

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Holm-Sidak method):

Overall significance level = 0.05

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	t	P	P<0.050
8% vs. 6%	0.818	3.587	0.048	Yes
14% vs. 6%	0.810	3.551	0.046	Yes
10% vs. 6%	0.762	3.344	0.058	No
12% vs. 6%	0.558	2.447	0.217	No
8% vs. 12%	0.260	1.140	0.862	No
14% vs. 12%	0.252	1.104	0.826	No
10% vs. 12%	0.204	0.897	0.862	No
8% vs. 10%	0.0554	0.243	0.993	No
14% vs. 10%	0.0473	0.207	0.974	No
8% vs. 14%	0.00818		0.0359	0.972 No

5. Hasil Analisa statistic perbedaan media

SGR

One Way Analysis of Variance SGR Tuesday, March 29, 2022 1:21:08
PM

Data source: Anova in zakiyah

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 0.316$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed ($P = 0.640$)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM	
F2 3	0	0.729	0.0644	0.0372		
Walne	3	0	0.683	0.0603	0.0348	
JW 3	0	0.612	0.0325	0.0188		
Urea	3	0	0.760	0.109	0.0630	
Source of Variation		DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3		0.0372	0.0124	2.392	0.144
Residual	8		0.0415	0.00518		
Total	11		0.0787			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0.144$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.245

The power of the performed test (0.245) is below the desired power of 0.800.

Less than desired power indicates you are less likely to detect a difference when one actually exists. Negative results should be interpreted cautiously.

Biomass

One Way Analysis of Variance Biomass Tuesday, March 29, 2022 1:24:46
PM

Data source: Anova in zakiyah

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed ($P = 1.000$)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Failed ($P < 0.050$)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks Tuesday,
March 29, 2022 1:24:46 PM

Data source: Anova in zakiyah

Group	N	Missing	Median	25%	75%
F2 3	0	0.0800	0.0800	0.120	
Walne	3	0	0.180	0.120	0.240
JW 3	0	0.1000	0.0600	0.1000	
Urea	3	0	0.160	0.120	0.200

H = 7.674 with 3 degrees of freedom. (P = 0.053)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference (P = 0.053).

Produktivitas Biomassa

One Way Analysis of Variance Produktivitas biomassa Tuesday, March 29, 2022 1:27:41 PM

Data source: Anova in zakiyah

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0.983)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0.416)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
F2 3	0	0.0676	0.0148	0.00855	
Walne	3	0	0.124	0.0428	0.0247
JW 3	0	0.0529	0.0142	0.00817	
Urea	3	0	0.124	0.0469	0.0271

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	3	0.0124	0.00412	3.702	0.062
Residual	8	0.00890	0.00111		
Total	11	0.0213			

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random

sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0.062$).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.445

The power of the performed test (0.445) is below the desired power of 0.800.

Less than desired power indicates you are less likely to detect a difference when one actually exists. Negative results should be interpreted cautiously.

Influence of different culture media and light intensity on the growth and biomass productivity of a newly isolated *Chlorella* sp. UNM-IND1 from Waepella Hot Spring, South Sulawesi Indonesia

Indrayani Indrayani^{1*}, Nur Zakiyah Ramadani¹, Nurul Mawaddah¹, Ernawati S. Kaseng¹, Andi Sukaenah¹, Reski Praja Putra¹, Ratnawaty Fadilah¹, Nurmila¹, Ardiansyah²

¹Study Program of Agricultural Technology Education, Faculty of Engineering, Universitas Negeri Makassar, Makassar 90224, South Sulawesi, Indonesia

²Departement of Aquaculture, Pangkep State Polytechnic of Agriculture, Pangkep, South Sulawesi, Indonesia

*Corresponding Author: indrayani@unm.ac.id or
Indrayani_tajudin@yahoo.com.au

Abstract

The *Chlorella* sp.UNM-IND1 is a newly isolated microalga species from Waepella Hot Spring in Sinjai Regency, South Sulawesi, Indonesia. As a newly isolated species, there is no information available regarding its optimum culture condition for high growth rate and biomass productivity. Therefore, this study aimed to analyze the growth and productivity of the alga under different culture media and light intensity. The alga was cultured under various culture media including F/2, Walne, Jaworsky and NPK+Urea media at salinity 0% NaCl and incubated at 25°C, light intensity of 2500 lux with light and dark cycles of 12:12 hours. The best culture media was then used for the light intensity experiment. The cultures were grown in NPK+urea media under different light intensity (2500, 3500 and 8000 lux) and incubated at 25°C with light and dark cycles of 12:12 hours. The alga was cultured for 2 weeks. The results showed that the highest growth (0.77d^{-1}) and biomass productivity ($0.13 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$) was obtained when the alga was cultured in NPK+urea media. For the light intensity, the highest growth rate (0.94 d^{-1}) and biomass productivity ($0.31 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$) were obtained at the highest light intensity 8000 lux. This study indicated that the microalga *Chlorella* sp.UNM-IND1 prefer NPK+urea media and high light intensity of 8000 lux for higher growth rate and biomass productivity.

Keywords: *Chlorella* sp., Extremophiles, light intensity, culture media, Hot Springs

Introduction. Microalgae are photosynthetic prokaryotic and eukaryotic microorganisms that can be found in almost all aquatic ecosystems (Mata et al. 2010) including extreme habitats (Merino et al 2019). Extreme habitat is an environment that has conditions beyond normal limits to support the life and growth of organisms such as an environment with very high temperatures (hot springs), very low temperatures (snow), high salinity (hypersaline ponds/lakes), very high pH or highly acidic (Varshney et al. 2015).

Microalgae have great potential as a source of important biochemical compounds that have very wide applications in the food, feed, cosmetic, nutraceutical, pharmaceutical and chemical industries. even the biofuels industry (Olaizola 2003). Microalgae that are able to live in extreme habitats show that these microalgae have certain mechanisms to adapt to that environment. Several commercially important microalgae are known to live under extreme conditions. For example, *Dunaliella salina* is a green alga that are able to live at high salinity and light intensity and accumulate beta-carotene and glycerol as a mechanism to survive against high light intensity and salinity (Indrayani 2017). *Spirulina* sp. has a very high protein content of up to 70% has a selective environment to grow well at very high pH. The selective environment of *Dunaliella salina* and *Spirulina* allows these two types of microalgae to be commercially cultured in outdoor conditions without contamination (Avron and ben-Amotz, 1992).

There are several extreme aquatic habitats/environments specifically hot springs in South Sulawesi. Waepella hot spring is one of them. It is a famous recreational area located in Sinjai Regency, South Sulawesi. This habitat has not been studied in relation to the microbial diversity. Exploration of microalgae for any commercial application requires a long process. Species or strain selection is the first and most important step in microalgae bioprospecting activities for commercial applications (Borowitzka 2013). We have successfully isolated several microalgae species from the Waepella Hot Springs and one of them *Chlorella* sp.UNM-IND1. This strain is of interest as it grows fast when transferred from agar media into the liquid media. Most importantly, this alga does not stick to the culture vessel so it will remain suspended in the medium under mixing condition resulted in fast growth and high biomass productivity. As a newly isolated species, information about the optimal culture conditions for high grow rate and biomass productivity is unknown. Therefore, this study aimed to analyze the growth and productivity of the alga under various culture media and light intensity. This research is expected to be the basis for the development of the local species microalgae for commercial applications.

Materials and Methods

Microalgal Species. Microalgae species used in this study is *Chlorella* sp.UNM-IND1 isolated from Waepella Hot Spring in Sinjai Regency, South Sulawesi, Indonesia. The alga was isolated using agar plating technique in Guillard's F/2 agar medium (2% w/v) (Andersen and Kawachi 2005). The alga is maintained in

the Agricultural Technology Laboratory, Faculty of Engineering, Universitas Negeri Makassar.

Growth and productivity under different culture media. This experiment aimed to analyze the effect of different culture media on the growth and biomass productivity of *Chlorella* sp. UNM-IND1. The media used were Guillard's F/2, Walne, Jaworsky and NPK+Urea. Microalgae were cultured using 300 mL volume Erlenmeyer containing 150 mL culture in respective media and in triplicates. The cultures were incubated at 25±1°C with a light intensity of about 2500 lux and a light and dark cycle of 12 hours:12 hours.

Growth and productivity under different light intensity. This experiment aimed to analyze the effect of different light intensity on the growth and biomass productivity of *Chlorella* sp. UNM-IND1. The microalgae were cultured using NPK+Urea media in 300 mL volume Erlenmeyer containing 150 mL culture. The cultures were incubated under different light intensities (2500, 3500 and 8000 lux) at temperature 25±1°C and a light and dark cycle of 12 hours:12 hours.

Analytical Methods

Specific Growth Rate (SGR). Calculation of the cell number of the cultures was carried out every two days for 2 weeks using a Neubauer Haemaocytometer. The growth curve is generated from the cell density data. The calculation of the specific growth rate used the formula proposed by Moheimani et. al (2013):

$$SGR = (\ln(N_2/N_1)/(t_2-t_1))$$

Where N_2 is the cell density at time t_2 and N_1 is the cell density at time t_1 within the exponential phase.

Dry Weight (Biomass). Dry weight was determined following the method of Moheimani et al (2013). Briefly, five mL of culture was filtered through pre-weighed and pre-combusted Whatman GF/C, 25 mm using Millipore filter apparatus. The filters were removed from the apparatus and then dried in an oven at 75°C for 5 hours. The filters were then cooled in desiccator before weighting. The DW was determined by the following equation:

$$DW \text{ (g.L}^{-1}\text{)} = (\text{weight of filter+algae}) - \text{weight of filter}$$

Biomass Productivity. Biomass productivity was determined by the following equation:

$$\text{Biomass Productivity (g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}\text{)} = SGR \times DW$$

Statistical Analysis. One-way analysis of variance (ANOVA) was used to analyzed significant differences between treatments. To precisely test differences between condition, the Pairwise multiple comparison procedure (Holm-Sidak Method) was used. All statistical analysis was performed using Sigma-Plot 14 Systat Software Inc., USA.

Results

Growth and Biomass Productivity of *Chlorella* sp. UNM-IND1 under different growth media. Microalga *Chlorella* sp. UNM-IND1 is a newly isolated alga from Waepella hot springs in Sinjai Regency, South Sulawesi, Indonesia. As a new isolate, there is no information available regarding the best culture medium for high growth rate and biomass productivity. Four different media namely F/2, Walne, Jaworski and NPK+urea media were chosen for the determination of the best culture media for optimum growth and high productivity. The results of this study showed that the alga could grow well in all types of culture media used. There was no lag phase observed from all cultures following initial inoculation. All cultures showed exponential growth in the first two days. Afterwards, the growth of the cultures slowed down before reaching the death phase on day 12 (Figure 1).

The specific growth rate (SGR) of the alga ranged from 0.61 to 0.77d⁻¹. There was no significant difference in the SGR between different culture (One Way Anova, P>0.05). Cultures grown using Urea + NPK media had the highest SGR whereas their counterpart grown using Jaworski media had the lowest SGR. (Figure 1).

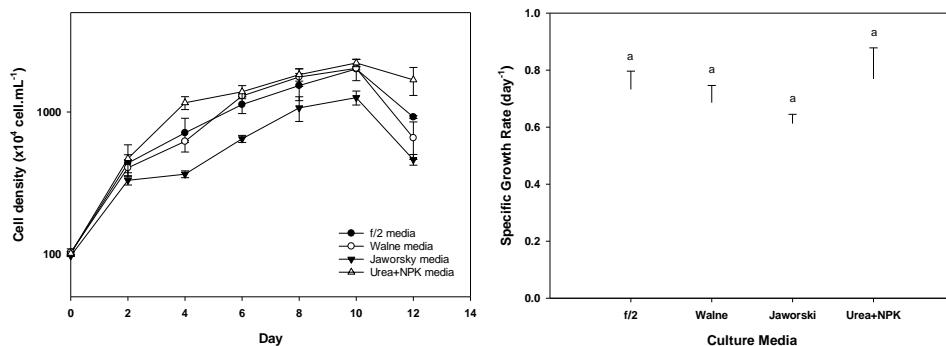


Figure 1. Growth curve and Specific growth rate of *Chlorella* sp. UNM-IND1 under different media

Determination of dry biomass was taken at exponential phase (day 4) and at stationary phase (day 10). The biomass yield of all the cultures at exponential phase was almost the same ranging from 0.053 – 0.067 g. L⁻¹. At stationary phase, the biomass increased to more than two fold in Walne and NPK+urea media in which the cultures grown in Walne media had the highest biomass (0.18 g.L⁻¹). The ones grown in Jaworski media had the least biomass (0.087 g.L⁻¹). Statistical analysis showed that there was no significant difference in the biomass of the culture among different culture media used (One Way Anova, P> 0.05).

From the SGR and the biomass yield data, the biomass productivity is calculated. Alga cultured in Walne and Urea+NPK media had the same biomass productivity of about 0.124 g.L⁻¹.d⁻¹, and the lowest biomass productivity was obtained in Jaworski media (0.053 g.L⁻¹.d⁻¹). The statistical analysis showed that there was

no significant difference in the biomass productivity of the microalga under different media (One Way Anova, $P>0.05$) (Figure 2).

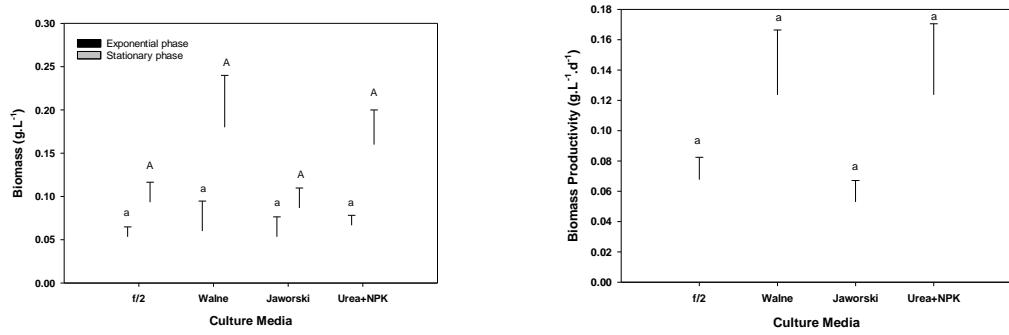


Figure 2. Biomass yield and biomass productivity of *Chlorella* sp. UNM-IND1 under different culture media

Growth and Biomass Productivity of *Chlorella* sp. UNM-IND1 under different light intensity. The effect of different light intensity on the growth and biomass productivity of the microalga was studied. The study showed that the alga could grow well in all light intensity tested. The growth curve of all cultures showed a similar pattern. The cultures could adapt well following inoculation as no lag phase observed. All the cultures grew fast in the first four days reaching the highest cell density on day 6 before entering the death phase on day 8 marked by the decrease in the cell density (Figure 3).

There was no significant difference in the specific growth rate (SGR) of the cultures grown under different light intensity (One Way Anova, $P>0.05$). The SGR ranged from 0.81d^{-1} to 0.94d^{-1} . Cultures grown at the highest light intensity (8000 lux) had the highest SGR whereas the ones grown at 2500 lux had the lowest SGR (Figure 3).

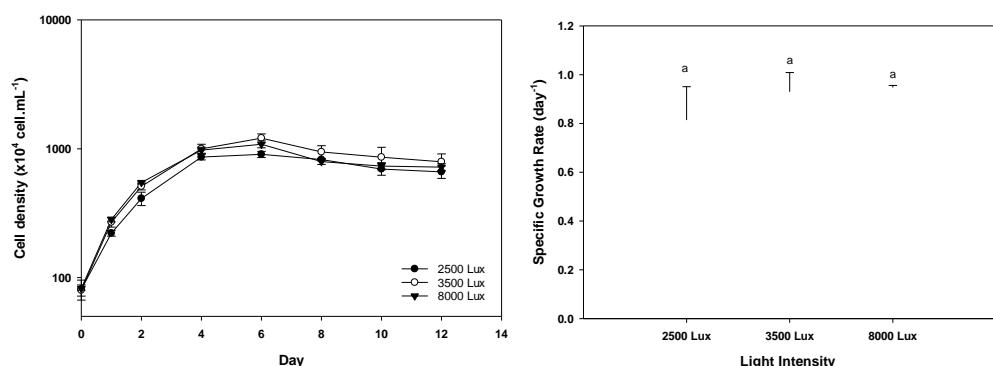


Figure 3. Growth curve (left) and specific growth rate (right) of *Chlorella* sp. UNM-IND1 under different light intensity

Microalgae cell biomass was calculated to determine the dry weight of biomass during the cultivation process. Microalgae samples used were taken on the 4th and 6th days. The highest biomass on day 4th was obtained from the cultures using a light intensity of 3500 lux with an average biomass of 0.29 g.L⁻¹, and the lowest biomass value was 0.16 g.L⁻¹ obtained at a light intensity of 2500 lux. On day 6, the highest biomass was obtained at a light intensity of 3500 lux of 0.33 g.L⁻¹ and the lowest at a light intensity of 2500 lux at 0.23 g.L⁻¹. The statistical analysis showed that different light intensities had a significant effect on the cell biomass of *Chlorella* sp.UNM-IND1($P<0.05$) (Figure 4).

There was a significant difference between biomass productivity of the cultures grown under different light intensity ($P<0.05$). The cultures grown at the highest light intensity of 8000 lux had the highest biomass productivity of 0.31 g.L⁻¹day⁻¹ and the lowest biomass productivity of 0.18 g.L⁻¹.day⁻¹ was obtained at a light intensity of 2500 lux (Figure 4).

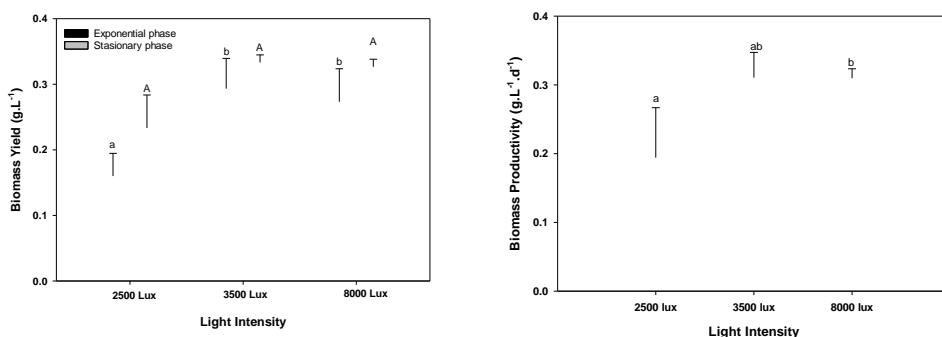


Figure 4. Biomass yield and biomass productivity of *Chlorella* sp.UNM-IND1 under different light intensity

Discussion

Growth and Biomass Productivity of *Chlorella* sp. UNM-IND1 under different culture media.

Microalgae require nutrients to make up biomass through photosynthesis and nutrients requirements of algae varied naturally. As with the higher plants, algae require macro nutrients such as nitrogen, phosphorous and carbon as well as micro nutrients and vitamins. There are various culture media available for microalgae, each of which has a different composition and concentration. To find out the best culture medium for the growth and productivity of the newly isolated microalgae *Chlorella* sp.UNM-IND1, the alga was grown on various culture media including F/2, Walne, Jaworski and agricultural fertilizers NPK+urea.

This study found that the alga could grow well on all culture media tested as there were no lag phase observed following initial inoculation. The culture experienced the highest growth rate in the first two days because the cells undergo rapid division due to the availability of nutrients and abundant of light to support their growth. Afterwards, the growth rate slowed down and reached the maximum cell density on

day 10. The slow growth rate was caused by the decrease in nutrients consumed by the actively growing cells so that they are not sufficient to support the cell growth and division (Prihantiki et al., 2008). In addition, high cell density will reduce the light intensity received by the cells so that it becomes a growth limiting factor. According to Cohen (2009), light is the most important factor in the life of microalgae, one of which is the growth of microalgae cells which is influenced by the high and low intensity of light.

On day 12, all cultures entered the death phase. The decrease in cell density is caused by a decrease in the amount of nutrients to a level that is no longer able to support growth and the formation of metabolic wastes that exceed the tolerance level (Winaeri 2003). In addition, the death is caused by, among other things, limited nutrition and light supply, old cell age, environmental conditions that are no longer supportive, or contamination by other organisms. This phase is also characterized by changing the color of the culture, foaming on the surface of the culture media and fading color and clumps of algal cells settling at the bottom of the culture media.

The microalga isolate *Chlorella* sp. UNM-IND1 achieved higher specific growth rates and biomass productivities in NPK+Urea media. The ability for the microalga to grow well on NPK+Urea media is very beneficial considering that NPK+urea is an agricultural fertilizer that is easy to obtain and is cheaper than laboratory grade mediums such as F/2, Walne and Jaworski.

Growth and Biomass Productivity of *Chlorella* sp. UNM-IND1 under different light intensity. Microalgae growth is divided into several phases, namely the lag phase, exponential phase, stationary phase, and death phase. During the cultivation period of the microalga *Chlorella* sp. UNM-IND1, almost all phases could be observed except for the lag phase. The cell density of all cultures increased exponentially following initial inoculation from the initial cell density of about $80 \times 10^4 \text{ cell.mL}^{-1}$ on day 0 up to about $282 \times 10^4 \text{ cells.mL}^{-1}$ on day 1. The possible reason for the absence of the lag phase was due to the ability of the alga to quickly adapt to the new environment. The adaptation phase may occur only moments after inoculation, then microalgae are able to adapt rapidly and grew exponentially within a day as the culture conditions and the media used for inoculum preparation were the same as for the experimental conditions except for the light intensity. According to Wang et al. (2012), the adaptation phase will take place more quickly or will not be seen if there are no differences in environmental conditions and nutrients in starter cultivation with experimental media cultivation. After exponential growth in the first two days, the cell density continued to increase at a slower rate reaching maximum cell density on day 6 up to $1208 \times 10^4 \text{ cells.mL}^{-1}$ before entering the death phase on day 8 indicated by decrease in the cell density.

The SGR of the cultures grown under different light intensity showed no significant differences ranging from $0.81\text{-}0.94 \text{ day}^{-1}$ indicating that the alga could adapt well in response to variation of the light intensity. This is in line with the

growth curve in the Figure 3 as no lag phase observed following inoculation of the cells under different light intensity showing that the cells could adapt well with changing light intensity. Although there was no significant difference in the growth rate of the alga under different light intensity, the growth rate of the alga increased with light intensity up to a certain level of light intensity. In this study, the growth rate of the alga increased when the light intensity was increased from 2500 to 3500 lux. However, further increased in the light intensity from 3500 to 8000 lux did not significantly increase the growth rate of the alga. This is in line with general findings that the growth rate of the alga will increase at increasing light intensity up to a certain species dependent level (Bialevich et al. 2022) and further increase in light intensity above the saturation point will lead to photoinhibition (Difusa et al. 2015). SGR of the *Chlorella* sp. UNM-IND1 in this study is higher than other similar studies. For example, Ievina and Romagnoli (2020) reported the highest growth rate of *Chlorella vulgaris* (0.552 d^{-1}) was achieved at light intensity $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. The highest light intensity in this study was 8000 lux which is equal to about $112 \mu\text{mol. photon.m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Variation in the SGR of the same species of the *Chlorella* sp. is not only strain specific but also the culture conditions including the range of the light intensity tested (Indrayani et al. 2020).

The biomass yields and biomass productivity of the *Chlorella* sp. increased with light intensity. However, increasing the light intensity from 3500 lux to 8000 lux did not significantly increase both the biomass yield and biomass productivity of the alga. The biomass yield of the cultures grown at 3500 lux dan 8000 lux was nearly the same at around 0.33 and 3.2 g.L^{-1} , respectively. Similarly, the biomass productivity of both light intensity 3500 and 8000 was the same of about $0.31 \text{ g.L}^{-1.\text{d}^{-1}}$. The biomass yield of the *Chlorella* sp. found in this study is comparable with other studies. Nzayisenga et al. (2020) reported the biomass yield of *Chlorella vulgaris* after 8 days of cultivation at three different light intensities of 50, 150 and $300 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ was 0.4 , 0.6 and 0.7 g.L^{-1} , respectively. Increasing light intensity from $150 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ to $300 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ did not significantly increase the biomass yield. Khalili et al. (2015) studied the influence of different light intensities of 50, 80, and $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ on the growth of *C. vulgaris*. They found that the optimum light intensity for higher biomass production was obtained at light intensity of $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Biomass production was lower at low light intensity (2500 lux) because low light intensity causes a decrease in the rate of photosynthesis resulted in the low macromolecules biosynthesis due to the suboptimal synthesis of glucose in the photosynthesis process (Nielsen 2017). Similarly, Parson and Chapman (2000) stated that if the light intensity is low, it will cause the supply of crude material produced in the photosynthesis process to decrease. The decrease in the rate of photosynthesis will also have an impact on the lower amount of biomass produced (Patmawati, 2010). This study suggests that higher light intensity resulted in the higher biomass productivity of the alga. The ability of microalgae to grow well at high light intensity will be beneficial especially if the microalgae will be cultivated in open pond systems in outdoors

where the intensity of sunlight is far higher above the currently tested light intensity. Therefore, outdoor culture trials are certainly needed to further study the light intensity tolerance of the alga species.

Conclusion. The *Chlorella* sp. could grow well in all culture media tested. However, for mass cultivation of the alga, NPK+Urea media is the best option as they are more economical and accessible. For the light intensity, the highest growth and biomass productivity were obtained at the highest light intensity 8000 lux . This study indicated that the *Chlorella* sp.UNM-IND1 is suitable and economical for mass cultivation in outdoors for any commercial application due its high growth rate and biomass productivity when grown under high light intensity and when using NPK+urea media.

References

- Andersen, R.A., Kawachi, M. (2005). Traditional microalgae isolation techniques. In: Andersen RA (ed) Algal culturing techniques. Elsevier Academic Press, London, pp83-100
- Avron, M., Ben-Amotz, A. (1992). *Dunaliella*:Physiology,Biochemistry, and Biotechnology. CRC Press, Boca Raton.
- Bialevich, V.; Zachleder, V.; Bišová, K. 2022. The Effect of Variable Light Source and Light Intensity on the Growth of Three Algal Species. Cells 11, 1293. <https://doi.org/10.3390/cells11081293>
- Borowitzka, M.A., (2013). Species and strain selection. In: Borowitzka MA, MoheimaniNR(eds)Algae for biofuels and energy. Springer, Dordrecht, pp77-89
- Difusa, A.; Talukdar, J.; Kalita, M.C.; Mohanty, K.; Goud, V.V. 2015. Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae *Scenedesmus* species. Biofuels 6:37–44.
- Indrayani, I. (2017). Isolation and Characterization of Microalgae with Commercial Potential. [Dissertation]. Murdoch University, Perth, Western Australia.
- Ievina, B, Romagnoli, F. 2020. Effect of light intensity on the growth of three microalgae in laboratory batch cultures. 28th european biomass conference and exhibition, 6-9 july 2020, Virtual.
- Indrayani, I., Haslanti,. Asriyana. (2018). Isolation and screening of marine microalgae from Kendari waters, Southeast Sulawesi, Indonesia suitable for outdoor mass cultivation in hypersaline media. AACL Bioflux 11 (5): 1445-1455.
- Indrayani, I., Moheimani, N.R., Borowitzka, M.A. (2019). Long-term reliable culture of a halophilic diatom, *Amphora* sp. MUR258, in outdoor raceway ponds. *J Appl Phycol* 31: 2771-2778.
- Indrayani I., Haslanti H., Asmarianni A., Muskita W. H., Balubi M., 2020b Growth, biomass and lipid productivity of a newly isolated tropical marine diatom, *Skeletonema* sp.UHO29, under different light intensities. Biodiversitas 21(4):2085-4722.
- Khalili, A.; Najafpour, G.D.; Amini, G.; Samkhaniyani, F. 2015. Influence of nutrients and LED light intensities on biomass production of microalgae *Chlorella vulgaris*. Biotechnol. Bioprocess Eng. 20:284–290
- Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S. (2010). Microalgae for biodiesel

- production and other applications: A review. *Renew Sust Energy Rev* 14 (1):217-232.
- Merino, N., Aronson, H.S.4., Bojanova, D.P., Jayme Feyhl-Buska, J., Wong, M.L., Zhang, S., Iovannelli, D. (2019). Living at the Extremes: Extremophiles and the Limits of Life in a Planetary Context. *Frontiers in Microbiology* 10. doi: 10.3389/fmicb.2019.00780.
- Moheimani, N.R., Borowitzka, M.A., Isdepsky, A., Sing, S.F., 2013. Standard methods for measuring growth of algae and their composition, Anonymous Algae for biofuels and energy. Springer 265–284.
- Nielsen, J.C. & Nielsen, J. 2017. Development of Fungal Cell Factories for the Production of Secondary Metabolites : Linking Genomics and Metabolism. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2:5–12. doi: 10.1016/j.synbio.2017.02.002
- Nzayisenga JC, Farge X, Groll SL, Sellstedt A. 2020. Effects of light intensity on growth and lipid production in microalgae grown in wastewater. *Biotechnol Biofuels* 13:4. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1646-x>
- Olaizola, M. (2003). Commercial development of microalgal biotechnology : from test tube to the marketplace. *Biomol Eng* 20:459-466.
- Parsons, A.J. dan Chapman, D.F. 2000. The Principles of Pasture Growth and Utilization. In: A. Hopkins (Editor). Grass its Production and Utilization. Ed 3rd. Blackwell Science Institute of Grassland and Environment Research, North Wyke, Okehampton Devon, 440 p.
- Varshney, P., Mikulic, P., Vonshak, A., Beardall, J., Wangikar, J.P. (2015). Extremophilic micro-algae and their potential contribution in biotechnology. *Bioresource Technology* 184 : 363–372.
- Wang, H, Fu, R. & Pei, G. 2012. A Study on Lipid Production of the Mixotrophic Microalgae Phaeodactylum tricornutum on Various Carbon Sources, African. *Journal of Microbiology Research*, 6(5):1041-1047. doi: 10.5897/AJMR11.1365