

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN KONSENTRASI PUPUK DAUN TURI
PUTIH (*Sesbania grandiflora*) TERHADAP KANDUNGAN
KLOOROFIL dan KAROTENOID PADA *Chlorella* sp.**



Oleh :

RETNO AMRIH UTAMI
SURABAYA – JAWA TIMUR

FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN

UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

2014

Surat Pernyataan

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

N a m a : RETNO AMRIH UTAMI

N I M : 140911014

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang berjudul : Pengaruh Pemberian Pupuk *Sesbania grandiflora* Kandungan Klorofil *Chlorella* sp. adalah benar hasil karya saya sendiri. Hal-hal yang bukan karya saya dalam skripsi tersebut diberi tanda citasi dan ditunjukkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku di Universitas Airlangga, termasuk berupa pencabutan gelar kesarjanaan yang telah saya peroleh.

Demikian surat pernyataan yang saya buat ini tanpa ada unsur paksaan dari siapapun dan dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 4 Agustus 2014

Yang membuat pernyataan,

Materei
Rp. 6.000,-

RETNO AMRIH UTAMI

NIM. 140911014

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN KONSENTRASI PUPUK DAUN TURI
PUTIH (*Sesbania grandiflora*) TERHADAP KANDUNGAN
KLOOROFIL dan KAROTENOID *Chlorella* sp.**

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Perikanan pada Program Studi Budidaya Perairan
Fakultas Perikanan Dan Kelautan Universitas Airlangga**

Oleh :

RETNO AMRIH UTAMI

NIM. 140911014

Menyetujui,

Komisi Pembimbing

Pembimbing Pertama

Pembimbing Kedua

Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP.

NIP. 19690912 199702 2 001

Sudarno, Ir., M.Kes

NIP. 195507130198601 1 001

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN KONSENTRASI PUPUK DAUN TURI
PUTIH (*Sesbania grandiflora*) TERHADAP KANDUNGAN KLOORFIL
dan KAROTENOID *Chlorella* sp.**

Oleh :

RETNO AMRIH UTAMI
NIM : 140911014

Telah diujikan pada
Tanggal : 21 Juli 2014

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Moch. Amin Alamsjah, Ir., M.Si., Ph.D.
Anggota : Abdul Manan, S.Pi., M.Si.
Sapto Andriyono, S.Pi, MT
Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP.
Sudarno, Ir., M.Kes

Surabaya, 4 Agustus 2014

Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Airlangga
Dekan,

Prof. Dr. Hj. Sri Subekti, drh., DEA
NIP.19520517 197803 2 001

RINGKASAN

RETNO AMRIH UTAMI. Pengaruh Pemberian Konsentrasi Pupuk *Sesbania grandiflora* Kandungan Klorofil *Chlorella* sp. Dosen Pembimbing Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP dan Sudarno, Ir., M.Kes

Chlorella sp. merupakan salah satu pakan alami yang cukup baik untuk ikan. Organisme ini adalah sumber makanan yang populer pada kultur rotifer, kerang, dan larva udang. Komposisi nutrisi *Chlorella* sp. berdasarkan berat kering (%) adalah sebagai berikut protein (51-58%), karbohidrat (12-17%), lemak (14-22%), mineral (5-10%). *Chlorella* sp adalah salah satu mikroalga yang telah diketahui memiliki potensi untuk dimanfaatkan kandungan nutrisinya, salah satu diantaranya adalah klorofil dan karoten yang digunakan dalam bidang kesehatan karena memiliki daya antioksidan yang kuat. *Chlorella* sp. juga memiliki pigmen klorofil sehingga dapat melakukan fotosintesis serta pigmen karotenoid yang dapat berperan dalam proses fotosintesis. Kandungan nutrisi dan pigmen dari mikroalga berkaitan erat dengan pertumbuhan sel. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel adalah faktor lingkungan dan ketersediaan nutrisi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh perbedaan pemberian pupuk *Sesbania grandiflora* terhadap kandungan klorofil dan karotenoid *Chlorella* sp. dan konsentrasi optimal pupuk *Sesbania grandiflora* yang menghasilkan kandungan klorofil dan karotenoid tertinggi pada *Chlorella* sp. Metode Penelitian ini adalah metode eksperimental. Penelitian dilakukan di Laboratorium Pendidikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga selama 8 hari. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan analisis yang menggunakan analisis deskriptif.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Chlorella* sp. yang dikultur pada medium 1L dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. Konsentrasi pupuk *Sesbania grandiflora* yang diberikan pada penelitian yaitu A (1 mL/L), B (2 mL/L), C (3 mL/L) dan K (kontrol walne 1 mL/L). Parameter yang diukur dalam penelitian terdiri dari parameter utama dan pendukung. Parameter utama yang diamati adalah kandungan klorofil dan karotenoid *Chlorella* sp. Parameter penunjang meliputi populasi *Sesbania grandiflora* dan kualitas air.

Hasil penelitian menunjukkan penambahan konsentrasi pupuk *Sesbania grandiflora* sebanyak 2 mL/L menghasilkan klorofil tertinggi yaitu 0.62808 µg/mL pada hari ketiga dan karotenoid tertinggi 0.2628 µg/mL pada hari kedelapan Sedangkan konsentrasi untuk pertumbuhan terbaik terdapat pada perlakuan B(2 mL/L) sebanyak 1.682×10^7 sel/mL. Puncak populasi tertinggi pada hari ketujuh. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian yaitu suhu air berkisar antara 30-33°C, pengukuran salinitas pada media kultur *Chlorella* sp. berkisar antara 30-40 ppt dan pH berkisar 7-8.

SUMMARY

RETNO AMRIH UTAMI. GIVING EFFECT OF CONCENTRATION OF FERTILIZER AND WHITE LEAF Turi (*Sesbania grandiflora*) CONTENT OF CHLOROPHYLL and CAROTENOIDS of *Chlorella* sp. Advisor Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP dan Sudarno, Ir., M.Kes

Chlorella sp. is a fairly good natural food for fish. This organism is a popular food source in the rotifer culture, scallops, and shrimp larvae. Nutritional composition of *Chlorella* sp based on dry weight (%) are as follows protein (51-58%), carbohydrates (12-17%), fat (14-22%), minerals (5-10%). *Chlorella* sp. microalgae is one that has been known to have the potential to be used nutritional content, one of which is chlorophyll and carotene used in the health field because it has strong antioxidant power. *Chlorella* sp. also have chlorophyll pigments that can perform photosynthesis and carotenoid pigments that can play a role in the process of photosynthesis. And nutrient content of the pigment mikroalaga closely related to cell growth. Factors affecting the growth and development of cells are environmental factors and availability of nutrients.

This study aims to determine whether there are significant differences in fertilizer *Sesbania grandiflora* against chlorophyll and carotenoid content of *Chlorella* sp. and optimum concentration of manure *Sesbania grandiflora* which resulted in the highest content of chlorophyll and carotenoid in *Chlorella* sp. This research method is experimental method. The study was conducted at the Laboratory of Education Faculty of Fisheries and Marine University Press for 8 days. The study design used was completely randomized design (CRD) and analysis using descriptive analysis.

Materials used in this study is *Chlorella* sp. 1 L cultured in medium with 4 treatments and 5 replications. The concentration of manure *Sesbania grandiflora* given to research that is A (1 mL/L), B (2 mL/L), C (3 mL/L) and K (control walne 1 mL/L). The parameters measured in the study consisted of the main parameters and supporters. The main parameters measured were chlorophyll n carotenoid content of *Chlorella* sp. Supporting parameters include *Sesbania grandiflora* populations and water quality.

The results showed concentrations of manure *Sesbania grandiflora* as 2 mL/L resulted in the highest chlorophyll 0.62808 ug/mL on the third day and the highest carotenoid 0.2628 ug / ml, while the concentration on the ninth day for best growth are on treatment B (2 mL/L) as many as 1,682 x10⁷ cel/mL. The highest peak on seven day population. Results of water quality measurements during the study that the water temperature ranges from 30-33°C, salinity measurements in the culture medium of *Chlorella* sp ranged between 30-40 ppt and a pH range of 7-8.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga Skripsi tentang Pengaruh Pemberian Pupuk *Sesbania grandiflora* terhadap Kandungan Klorofil dan Karotenoid *Chlorella* sp. ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih sangat jauh dari kesempurnaan. Semoga Skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi semua pihak, khususnya bagi mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya guna kemajuan serta perkembangan ilmu dan teknologi dalam bidang perikanan, terutama budidaya perairan.

Surabaya, 4 Agustus 2014

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Hj. Sri Subekti, DEA., drh selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga.
2. Dr. Endang Dewi Masithah, Ir., MP selaku Dosen Pembimbing pertama dan Sudarno, Ir., M.Kes selaku Dosen Pembimbing kedua yang telah memberikan arahan, petunjuk dan bimbingan sejak penyusunan usulan hingga selesainya penyusunan skripsi ini.
3. Ir. Mochammad Amin Alamsjah, M.Si., Ph.D, Abdul Manan, S.Pi., M.Si dan Sapto Andryono, S.Pi, MT. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan masukan, kritik serta saran demi kesempurnaan Skripsi ini.
4. Bapak Agustono, Ir. M.Kes selaku Koordinator Pelaksana Skripsi dan seluruh Dosen dan Staf Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyelesaian skripsi ini.
5. Ayah, ibu dan adikku serta keluarga besar yang telah memberikan bantuan, motivasi dan doa.
6. Keluarga besar Budidaya Perairan 2009 dan 2010 seluruh angkatan aktif maupun non aktif Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga yang ikut membantu dalam pelaksanaan dan penyelesaian skripsi ini.
7. Siti Arifah Budidaya Perairan 2010 yang banyak membantu dan menyemangati dalam penyusunan skripsi ini.

8. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan maupun penyelesaian Skripsi ini.



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	v
SUMMARY	vi
KATA PENGANTAR	vii
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Biologi Ganggang Hijau (<i>Chlorella</i> sp.).....	7
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Chlorella</i> sp.	7
2.1.2 Habitat <i>Chlorella</i> sp.	8
2.1.3 Siklus Hidup <i>Chlorella</i> sp.	9
2.1.4 Pertumbuhan Plankton	10
2.1.5 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan <i>Chlorella</i> sp.	11
2.2 Klorofil.....	14
2.2.1 Kandungan Klorofil <i>Chlorella</i> sp	15
2.2.2 Pembentukan Klorofil	17

2.2.3	Faktor yang Mempengaruhi Pembentukan Klorofil	20
2.2.4	Sifat Klorofil <i>Chlorella</i> sp.	23
2.2.5	Faktor – faktor yang Dapat Mempengaruhi Jumlah Klorofil <i>Chlorella</i> sp.	25
2.3	Karotenoid.....	27
2.3.1	Sifat – Sifat Karotenoid.....	28
2.3.2	Faktor-faktor Pembentuk Karotenoid	28
2.3.3	Fungsi Karotenoid.....	30
2.3.4	Betakarotenoid.....	30
2.3.5	Peranan Betakarotenoid.....	31
2.3.6	Struktur Karotenoid.....	31
2.4	Klasifikasi dan Morfologi Turi Putih.....	32
2.4.1	Habitat Turi Putih (<i>S. grandiflora</i>).....	34
2.4.2	Kandungan Unsur Makro dan Mikro <i>S. grandiflora</i>	34
2.4.3	Simbiosis <i>S. grandiflora</i> dengan Rhizobium.....	35
2.4.4	<i>Sesbania grandiflora</i> sebagai Pupuk <i>Chlorella</i> sp.	35
III	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN ...	37
3.1	Kerangka Konseptual	37
3.2	Hipotesis Penelitian.....	38
IV	METODOLOGI PENELITIAN.....	40
4.1	Waktu dan Tempat	40
4.2	Materi Penelitian	40
4.3	Metode Penelitian.....	40
4.3.1	Rancangan Penelitian	40
4.3.2	Prosedur Kerja	41
	A. Persiapan Penelitian	41
	B. Persiapan Pupuk Kontrol Walne Sebagai Media Kontrol	42
	C. Persiapan Pupul <i>S. grandiflora</i>	43

D. Lingkungan dan Media Kultur <i>Chlorella</i> sp.	43
E. Penebaran Bibit <i>Chlorella</i> sp.	44
F. Metode Pengukuran Kandungan Klorofil.....	45
G. Metode Pengukuran Kandungan Beta Karoten (Karotenoid) 45	
H. Perhitungan Populasi <i>Chlorella</i> sp.....	46
I. Pengukuran Kualitas Air	47
4.3.3 Parameter pengamatan	47
A. Parameter utama.....	47
B. Parameter pendukung.....	47
4.3.4 Analisis data	48
V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	50
5.1 Hasil Penelitian	50
5.1.1 Kandungan klorofil <i>Chlorella</i> sp.	50
5.1.2 Kandungan karotenoid <i>Chlorella</i> sp.	52
5.1.3 Pertumbuhan Populasi <i>Chlorella</i> sp.	53
5.1.4 Kualitas Air	55
5.2 Pembahasan.....	55
VI SIMPULAN DAN SARAN.....	63
6.1 Simpulan.....	63
6.2 Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN.....	74

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Unsur Makro dan Mikro <i>S. grandiflora</i> per 100 gram.....	34
2. Kandungan Klorofil <i>Chlorella</i> sp. yang Dikultur Menggunakan Pupuk <i>S. grandiflora</i>	50
3. Kandungan Karotenoid <i>Chlorella</i> sp. yang Dikultur Menggunakan Pupuk <i>S. grandiflora</i>	52
4. Data Rata-rata Kepadatan Populasi <i>Chlorella</i> sp. Setelah Dikultur Menggunakan Pupuk <i>Sesbania grandiflora</i> Pada Hari Pertama Hingga Hari kedelapan.....	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Klorofil dan Senyawa Karoten: (a) Klorofil a, (b) Klorofil b dan (c) β -karoten.....	2
2. <i>Chlorella</i> sp.	7
3. Sel <i>Chlorella</i> sp.....	8
4. Tahapan <i>Chlorella</i> sp. Membentuk Autospora.....	9
5. Pola Pertumbuhan Fitoplankton	11
6. Sintesis Klorofil.....	18
7. Struktur kimia penyusun klorofil $-a$ dan $-b$	23
8. Rumus struktur β -karoten.....	32
9. <i>S. grandiflora</i> (Turi Putih)	33
10. Bagan Kerangka Konseptual Penelitian.....	39
11. Denah Penempatan Perlakuan.....	41
12. Bagan Rancangan Penelitian.....	49
13. Grafik Rata-rata Kandungan Klorofil <i>Chlorella</i> sp. yang Dikultur Menggunakan Pupuk Daun Turi Putih (<i>S. grandiflora</i>) pada Hari Ke-satu, Ke-tiga, Ke-empat, Ke-lima dan Ke-delapan.	51
14. Grafik Rata-rata Kandungan Karotenoid yang Dikultur Menggunakan Pupuk <i>Sesbania grandiflora</i> Pada Hari Ke 1, 5,7 dan 8	52
15. Grafik Rata-Rata Pertumbuhan Populasi <i>Chlorella</i> sp (sel/mL), Setelah Penambahan Pupuk <i>S. grandiflora</i> yang Dikultur Selama Delapan hari. ...	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Hasil Pengujian Kimia Kandungan <i>Sesbania grandiflora</i>	75
2. Data Rata-rata Hasil Pengukuran Kualitas Air.....	76
3. Data Kandungan Klorofil <i>Chlorella</i> sp. dalam ($\mu\text{g}/\text{mL}$) Pada Hari Ke-1 Sampai Hari Ke-8.....	77
4. Data Kandungan Karotenoid <i>Chlorella</i> sp. dalam ($\mu\text{g}/\text{mL}$) Pada Hari Ke-1, 5, 7 Sampai Hari Ke-8	78
5. Data Kepadatan Populasi <i>Chlorella</i> sp. dalam ($\mu\text{g}/\text{mL}$) Pada Hari Ke-1 Sampai Hari Ke-8.....	79

I PENDAHULUAN

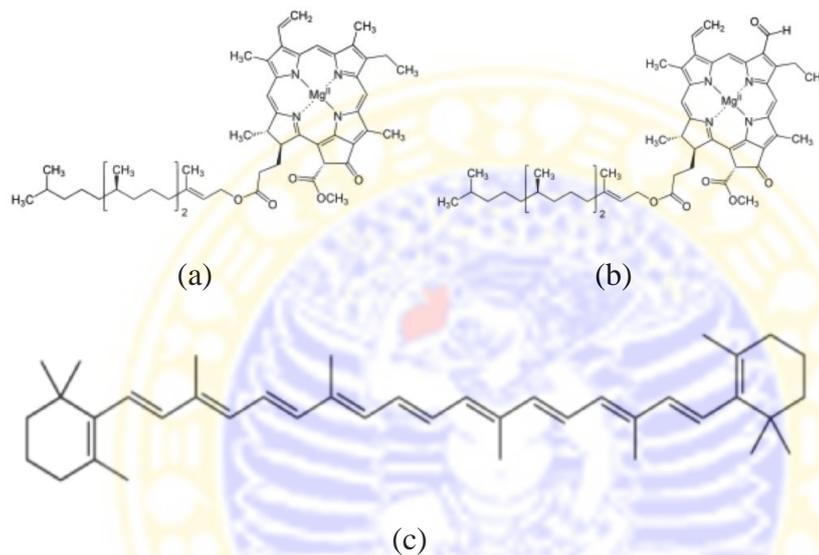
1.1 Latar Belakang

Mikroalga merupakan tumbuhan air mikroskopik yang mampu bergerak secara pasif (Parsons, 1989 dalam Andayani, 2009). Mikroalga juga merupakan mikroorganisme fotosintetik dengan morfologi sel yang bermacam-macam, baik bersel tunggal maupun bersel banyak, berukuran kecil hidup di perairan dan dibedakan menjadi dua golongan yakni *phytoplankton* dan *zooplankton* (Kurniawan dan Gunarto, 1999).

Mikroalga memiliki peranan yang penting dalam ekosistem perairan sebagai sumber makanan, pelindung fisik bagi organisme perairan karena mikroalga mengandung komposisi kimia yang potensial misalnya protein, karbohidrat, pigmen (klorofil dan karotenoid), asam amino, lipid dan hidrocarbon (Djarajah, 1995).

Mikroalga adalah tanaman sederhana yang ukurannya sangat kecil dan memiliki kemampuan fotosintesis sangat efisien (Ahmad dan Ahmad, 1994). Kandungan makromolekul dalam biomassa mikroalga ini telah banyak diteliti dan dimanfaatkan sebagai sumber energi alternatif (Sheehan dkk, 1998; Tim Nasional Pengembangan BBN, 2007; Ramachandra, 2011) pengganti bahan bakar fosil, seperti biodiesel dari lipid (Erliza, 2006; Nurachman dkk, 2012) dan bioetanol dari karbohidratnya (Bersanti dan Gualtieri, 2006; Huang dkk, 2010). Selain kedua kandungan tersebut, masih banyak kandungan kimia bermanfaat lainnya dalam biomassa mikroalga yang memiliki nilai ekonomi tinggi tetapi belum

diteliti, seperti klorofil dan senyawa karoten (Abu-Rezq dkk, 2010; Leema dkk, 2010). Klorofil merupakan senyawa bercincin pirol dengan ion Mg^{2+} di dalamnya dan berperan penting dalam proses fotosintesis sebagai pigmen penangkap cahaya pada tanaman. Sedangkan, senyawa karoten merupakan pigmen alami dari senyawa turunan terpenoid yang berfungsi sebagai antena klorofil (Gambar 1).



Gambar 1. Struktur Klorofil dan Senyawa Karoten: (a) Klorofil-a, (b) Klorofil-b dan (c) β -karoten.

Klorofil dan senyawa karoten memiliki banyak manfaat selain fungsi utamanya di alam sebagai pigmen fotosintesis. Klorofil dapat diaplikasikan sebagai pewarna alami makanan dan bahkan dapat digunakan dalam terapi pengobatan penyakit kanker, photo-dynamic therapy. Senyawa karoten pun dapat diaplikasikan sebagai pewarna makanan alami, pro-vitamin A, bahan tambahan pada kosmetik dan obat-obatan, agen anti-kanker, serta antioksidan (Leema dkk, 2010; Muthukannan dkk, 2010). Begitu banyak aplikasi dari klorofil dan senyawa karoten ini membuat permintaan akan keduanya sangat tinggi. Namun, sayuran

serta buah-buahan yang selama ini menjadi sumber utama manusia untuk memperoleh keduanya diketahui hanya memiliki konsentrasi yang rendah, sehingga dibutuhkan sayur dan buah dalam jumlah yang sangat besar (Nonomura, 1987). Hal ini berarti pula dibutuhkan lahan yang sangat luas untuk menanam sayuran dan buah-buahan.

Chlorella sp. merupakan salah satu pakan alami yang banyak digunakan secara luas terutama di panti pembenihan ikan, udang, kerang dan budidaya lainnya (Pangabea dan Sutomo, 1995).

Chlorella sp. memiliki kandungan bahan kering yaitu protein (51-58%), karbohidrat (12-17%), lemak (14-22%), mineral (5-10%) (Phang, 1992 dalam Chowdhury *et al.*, 2001). Menurut Milner (1953) dalam Chowdhury *et al.* (2001), *Chlorella* sp. juga mengandung mineral dan vitamin. Mineral yang terkandung di dalam *Chlorella* sp. adalah Ca (1,7-2,0 g.kg⁻¹), P (1,5-21 g.kg⁻¹) dan Fe (1,7-2,0 g.kg⁻¹)

Menurut Eyster (1978) konsentrasi nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *Chlorella* sp. baik makronutrien dan mikronutrien ditetapkan menjadi tiga yaitu konsentrasi minimum, maksimum dan optimum. Eyster (1978) mengemukakan bahwa nutrisi yang dibutuhkan oleh *Chlorella* sp. berupa makronutrien dan mikronutrien. Makronutrien terdiri dari, N, P, K, Si dan Ca sedangkan mikronutrien terdiri dari Fe, Mo, Cu, Mn, Zn dan Co. Unsur yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *Chlorella* sp. antara lain N (0,14-0,7 g/l) dan P (0,015-0,62 g/l). Kebutuhan unsur makro nutrisi dan mikro nutrisi dalam kultur *Chlorella* sp. harus tercukupi untuk pertumbuhan yang optimal terutama unsur N

dan P yang berfungsi untuk pembentukan klorofil, karotenoid dan keperluan fotosintesis (Sumarlinah, 2000).

Chlorella sp. menghasilkan berbagai senyawa bioaktif yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi seperti karotenoid (Suharyanto, 2011). Karotenoid merupakan pigmen yang secara alami terdapat pada tanaman dan beberapa organisme fotosintesis seperti alga dan beberapa tipe dari jamur dan bakteri. Pengambilan pigmen karotenoid dari *Chlorella* sp. dapat dilakukan dengan metode ekstraksi (Ekawati, 2005). Diperlukan suatu kondisi ekstraksi yang optimum sehingga dapat menghasilkan pigmen karotenoid yang optimum pula. Parameter yang digunakan sebagai perbandingan dalam ekstraksi pigmen karotenoid ini adalah temperatur, jenis solven yang digunakan dalam ekstraksi serta lama waktu ekstraksi. Analisa secara kuantitatif hasil ekstraksi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer (Promya, *et al.*, 2008)

Turi Putih (*Sesbania grandiflora*) adalah tanaman legum dan biasa digunakan sebagai pupuk hijau. *S. grandiflora* bersimbiosis secara mutualistik dengan bakteri Rhizobium pada bintil akar. Rhizobium merupakan bakteri berbentuk batang bulat yang mampu menfiksasi nitrogen dari udara sehingga tanaman *S. grandiflora* memiliki kandungan nutrisi N tinggi. Duke (1983), Evans & Rotar (1987) dan Serra *et al.* (2009) menyatakan bahwa daun *S. grandiflora* memiliki berbagai unsur hara antara lain N (10,3 mg), P (258 mg), K (2005 mg), Fe (3,9 mg), Ca (1684 mg), Na (21 mg), Cu (5,0 mg), Zn (30,0 mg), Mo (15,3 mg), Co (1,6 mg) dan Mn (99 mg).

S. grandiflora memiliki kandungan hara yang lengkap, secara kualitatif (unsur makro dan mikronutrien terpenuhi) dan kuantitatif (jumlah kandungan *S. grandiflora* dapat memenuhi kebutuhan *Chlorella* sp.) sehingga mengurangi ketergantungan terhadap pupuk Walne yang memiliki resiko kontaminasi bahan kimia serta harganya yang mahal. Pada penelitian sebelumnya pupuk *S. grandiflora* terbukti dapat meningkatkan populasi *Chlorella* sp. dengan konsentrasi tertentu, oleh karena itu dengan adanya kandungan nitrogen, fosfor, besi, magnesium pada *Chlorella* sp, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian pupuk *S. grandiflora* terhadap kandungan klorofil dan karotenoid pada *Chlorella* sp. dengan konsentrasi yang berbeda (Rochdianto, 2008).

1.2 Perumusan Masalah

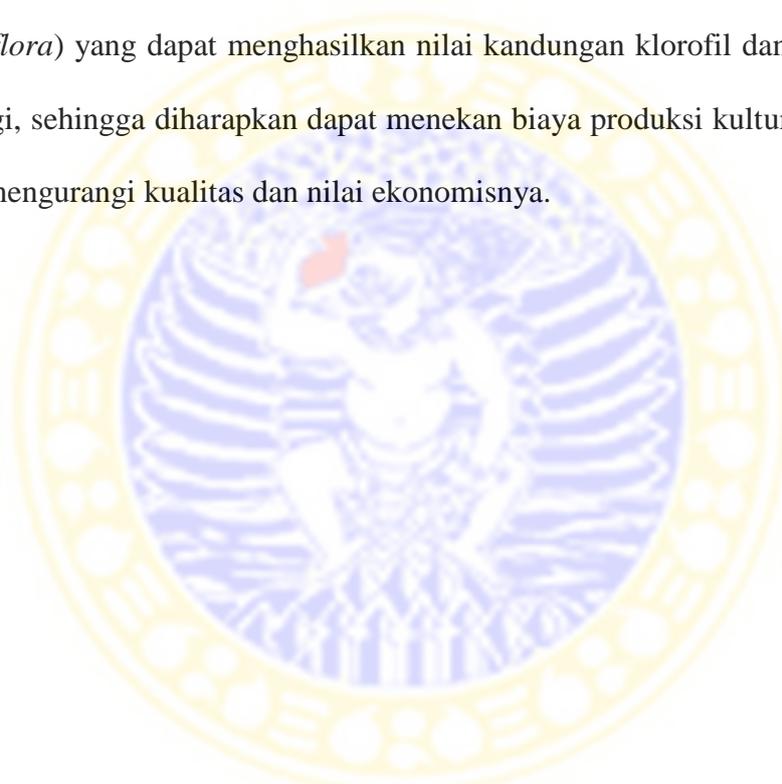
1. Apakah pupuk daun Turi Putih (*S. grandiflora*) mampu meningkatkan kandungan klorofil dan Karotenoid pada *Chlorella* sp.?
2. Berapakah konsentrasi optimal penggunaan pupuk daun Turi Putih (*S. grandiflora*) yang dapat menghasilkan kandungan klorofil dan karotenoid tertinggi pada *Chlorella* sp.?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kemampuan pupuk daun Turi Putih (*S. grandiflora*) dalam meningkatkan kandungan klorofil dan karotenoid pada *Chlorella* sp.
2. Mengetahui konsentrasi optimal pupuk daun Turi Putih (*S. grandiflora*) yang dapat menghasilkan kandungan klorofil dan karotenoid tertinggi pada *Chlorella* sp.

1.5 Manfaat Penelitian

Memberi informasi ilmiah tentang penggunaan pupuk daun Turi Putih (*S. grandiflora*) kultur *Chlorella* sp mengingat ketersediaan daun Turi Putih (*S. grandiflora*) yang melimpah di Indonesia sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pupuk alternatif terhadap peningkatan kandungan klorofil dan karotenoid. Selain itu untuk memberikan informasi tentang konsentrasi pupuk daun Turi Putih (*S. grandiflora*) yang dapat menghasilkan nilai kandungan klorofil dan karoten yang tertinggi, sehingga diharapkan dapat menekan biaya produksi kultur *Chlorella* sp. tanpa mengurangi kualitas dan nilai ekonomisnya.



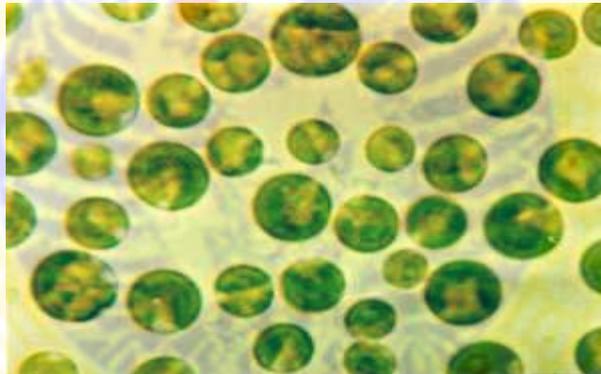
II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ganggang Hijau (*Chlorella* sp.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Vashista (1979), *Chlorella* sp. termasuk divisi Chlorophyta. Klasifikasi *Chlorella* sp. adalah :

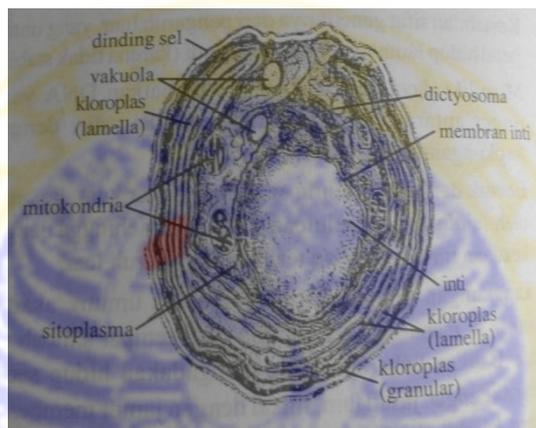
Divisio	: Chlorophyta
Kelas	: Chlorophyceae
Ordo	: Chlorococcales
Sub-ordo	: Autosporinaceae
Familia	: Chlorellaceae
Genus	: <i>Chlorella</i>
Spesies	: <i>Chlorella</i> sp.



Gambar 2. *Chlorella* sp. (Vashishta, 1978 dalam Rostini 2007)

Chlorella sp. merupakan alga bersel tunggal (*uniselular*), berukuran mikroskopis, diameter selnya berukuran 2-8 mikrometer, berbentuk bulat seperti bola dan bulat telur (Suriawiria, 1987). *Chlorella* sp. berwarna hijau disebabkan karena selnya mengandung klorofil dalam jumlah yang besar, di samping karoten dan xantofil. Sel *Chlorella* sp. mempunyai protoplasma yang berbentuk cawan tidak mempunyai flagella sehingga tidak dapat bergerak aktif, dinding selnya terdiri dari selulosa dan pektin, tiap-tiap selnya terdapat satu buah inti sel dan satu kloroplas (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Setiap sel *Chlorella* sp. terdapat inti dan kloroplas yang dilapisi membran. Kloroplas ini memiliki stigma yang sensitif terhadap cahaya (Djarajah, 1995). *Chlorella* sp. termasuk jenis alga yang dapat melakukan fotosintesis karena memiliki beberapa pigmen klorofil-a, klorofil-b, klorofil-c, karoten dan xantofil. (Gambar 2).



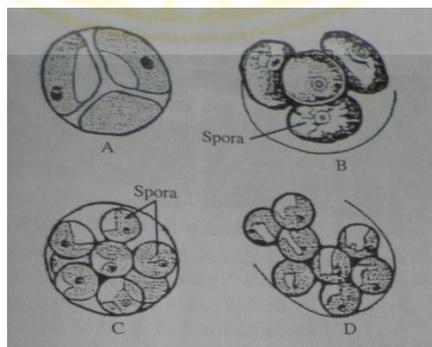
Gambar 3. Sel *Chlorella* sp. (Suriawiria, 2005)

2.1.2 Habitat *Chlorella* sp.

Chlorella sp. bersifat kosmopolitan dan dapat tumbuh dimana-mana, kecuali pada tempat yang sangat kritis bagi kehidupan *Chlorella* sp. *Chlorella* sp. dapat tumbuh pada salinitas 0-35 ppt. Salinitas 10-20 ppt merupakan salinitas optimum untuk pertumbuhan *Chlorella* sp. *Chlorella* sp. tumbuh optimum pada suhu 25°-30° C (Djarajah, 1995). *Chlorella* sp. masih dapat bertahan hidup pada suhu 40°C tetapi tidak tumbuh (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Menurut Hirata (1980) dalam Balai Budidaya Laut Lampung (2002) bahwa *Chlorella* sp. dapat tumbuh baik pada kisaran pH 8-9,5 dan intensitas cahaya sebesar 1000-10.000 lux.

2.1.3 Siklus Hidup *Chlorella* sp.

Menurut Prescott (1987) bahwa *Chlorella* sp. berkembang biak dengan membelah diri membentuk autospora. *Chlorella* sp. memiliki empat fase siklus dalam hidupnya, yaitu fase pertumbuhan (*growth*), fase pematangan awal (*early revening*), fase pematangan akhir (*late revening*) dan fase autospora (*autospora liberation*). Fase pertumbuhan (*growth*) adalah fase awal dimana autospora mengalami periode perkembangan aktif sel massa yaitu autospora menjadi besar. Pada saat autospora mencapai maksimal maka autospora akan masuk pada fase pematangan awal (*early revening*) dimana autospora yang telah tumbuh menjadi besar mengalami peningkatan sintesa untuk persiapan membagi selnya menjadi sel-sel baru. Pada akhir fase pematangan (*late revening*) sel-sel yang baru mengadakan pembelahan menjadi 2, 4, 8 hingga 16. Pada tahap sel sel induk akan pecah dan akhirnya terlepas menjadi sel-sel baru yang merupakan fase terakhir (*autospora liberation*). Tahapan pembentukan autospora *Chlorella* sp. dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 4. Tahapan *Chlorella* sp. Membentuk Autospora (Suriawiria,2005)

Keterangan :

- A. Sel induk yang siap membentuk spora
- B. dan C. Pembentukan spora, mulai dari 4,8 sampai 16

D. Spora keluar dari sel induk

2.1.4 Pertumbuhan Plankton

Pertumbuhan fitoplankton dalam kultur dapat ditandai dengan bertambah besarnya ukuran sel atau bertambah banyaknya jumlah sel yang secara langsung akan berpengaruh terhadap kepadatan fitoplankton (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), menjelaskan bahwa pertumbuhan fitoplankton terdiri atas empat fase dan grafik pola pertumbuhan fitoplankton dapat dilihat pada Gambar 4 (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

a. Fase Adaptasi

Fase dimana sel beradaptasi dengan lingkungan baru. Populasi tidak mengalami perubahan, tetapi ukuran sel pada fase ini umumnya meningkat. Fotosintesis masih aktif berlangsung dan organisme mengalami metabolisme tetapi belum terjadi pembelahan sel sehingga kepadatannya belum meningkat.

b. Fase Logaritmik (pertumbuhan eksponensial)

Fase ini diawali dengan pembelahan sel. Pada kondisi kultur yang optimal, laju pertumbuhan akan terus meningkat dan pada fase ini mencapai maksimal.

c. Fase Penurunan Pertumbuhan

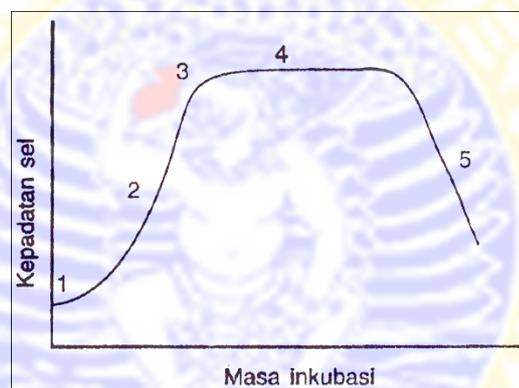
Fase ini dimana pertumbuhan mulai mengalami penurunan. Hal ini disebabkan jumlah nutrisi dalam medium sudah semakin berkurang, tetapi walaupun demikian sel-selnya masih dapat membelah tetapi jumlahnya tidak sebanyak pada fase eksponensial.

d. Fase Stasioner (pertumbuhan stabil)

Pada fase ini dimana kecepatan pertumbuhan sudah mulai menurun secara bertahap. Laju pembelahan sel sama dengan laju kematian dalam arti penambahan dan pengurangan plankton relatif sama sehingga kepadatan plankton cenderung tetap.

e. Fase Deklinasi (Kematian)

Fase dimana terjadi penurunan jumlah/kepadatan plankton, pada fase ini laju kematian lebih cepat dibandingkan laju pertumbuhan. Laju kematian plankton dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi dan umur plankton itu sendiri.



Gambar 5. Pola Pertumbuhan Fitoplankton (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995)

Keterangan :

1. Fase istirahat
2. Fase eksponensial/logaritma
3. Fase penurunan relatif
4. Fase stasioner
5. Fase kematian

2.1.5 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan *Chlorella* sp.

Faktor-faktor yang dapat mendukung keberhasilan kultur alga terdiri atas, faktor biologi, kimia dan fisika (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Faktor biologi meliputi penyediaan bibit yang bermutu (termasuk kemurnian) dan jumlahnya yang mencukupi. Faktor fisika yang mempengaruhi antara lain suhu, salinitas, dan

intensitas cahaya. Faktor kimia disini adalah unsur hara dalam media pemeliharaan harus sesuai dengan kebutuhan jenis fitoplankton yang akan dikultur. Faktor-faktor lain yang perlu diperhatikan, yaitu kebersihan dari alat-alat kultur agar tidak terkontaminasi dengan organisme lain yang akan mengganggu pertumbuhan.

Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *Chlorella* sp. adalah sebagai berikut :

1. Suhu

Suhu sangat berpengaruh dalam kultur alga di laboratorium karena sangat mempengaruhi aktivitas enzim dalam metabolisme sel. Kultur bibit alga dipertahankan pada suhu (19-21°C). Suhu dibawah 30°C merupakan suhu optimal pada kultur bertahap bagi kebanyakan jenis alga (Martosudarmo, 1990 dalam Mahendra, 2004). Suhu optimal pada kultur *Chlorella* sp. berkisar 25-30°C (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

2. pH

Derajat keasaman (pH) adalah gambaran jumlah atau aktivitas ion hydrogen dalam perairan. pH merupakan salah satu faktor yang berpengaruh secara langsung terhadap produksi dan pertumbuhan fitoplankton. Kecepatan pertumbuhan alga akan menurun pada saat pH melampaui batas optimum (Pescod, 1978 dalam Handayani, 2003). Alga laut pada umumnya memerlukan pH antara 7,5-8,5 (Taw, 1990), sedangkan menurut Ohama dan Miyachi (1992) bahwa *Chlorella* sp. dapat tumbuh baik pada kisaran pH 6,6-7,3.

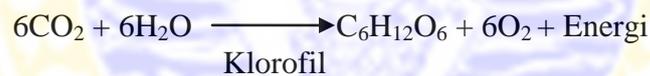
3. Salinitas

Salinitas adalah jumlah atau konsentrasi ion-ion terlarut dalam air. Salinitas dapat mempengaruhi kehidupan organisme air. Salinitas berhubungan erat dengan tekanan osmotik air. Semakin tinggi salinitas perairan maka semakin tinggi pula tekanan osmotik. Tekanan osmotik yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan *Chlorella* sp. Salinitas optimum *Chlorella* sp. adalah 30 ppt (Sutomo, 2005).

4. Intensitas Cahaya

Wetzel (1975) dalam Edhy (2003) menyatakan bahwa kelimpahan fitoplankton dipengaruhi oleh intensitas cahaya. Cahaya digunakan fitoplankton untuk melakukan proses fotosintesis. Proses fotosintesis pada fitoplankton dapat dituliskan dalam persamaan reaksi sebagai berikut :

cahaya



Laju pertumbuhan fitoplankton sangat tergantung pada ketersediaan cahaya. Menurut Nyabakken (1988) dalam Edhy (2003) bahwa laju pertumbuhan maksimum fitoplankton akan mengalami penurunan bila berada dalam kondisi ketersediaan cahaya yang rendah. Budidaya fitoplankton di dalam laboratorium cahaya matahari dapat diganti dengan sinar lampu TL dengan intensitas cahaya antara 5000-10000 lux. Proses fotosintesis *Chlorella* sp. membutuhkan intensitas cahaya dengan rata-rata 3000-4000 lux (Ohama dan Miyachi, 1988). Lampu TL 40 watt ±10 cm diatas permukaan air/media kultur dan photoperiod 24 jam (Prabowo, 2009).

5. Nutrien

Menurut Eyster (1978) bahwa kandungan makronutrien yang dibutuhkan *Chlorella* sp. antara lain N, P, Ca, K dan S dimana masing-masing berperan penting dalam pertumbuhan *Chlorella* sp. Mikronutrien yang dibutuhkan dalam jumlah kecil antara lain Fe, Mg, Cu, Zn dan Mn.

2.2 Klorofil

Klorofil adalah pigmen alami pemberi warna hijau pada tumbuhan, alga dan bakteri fotosintetik. Senyawa ini mempunyai peranan yang penting dalam proses fotosintesis yang merupakan dasar dari produksi zat-zat organik dalam alam. Menurut Lawlor (1993), komponen utama penyusun klorofil adalah nitrogen(N). Nitrogen diperlukan sebagai bahan dasar penyusun protein dan pembentukan klorofil dalam proses fotosintesis. Kekurangan N akan berpengaruh terhadap penurunan jumlah pigmen dan sel dan satu satunya atom Mg pada pusat reaksi (Richmond, 1986).

Chlorella sp. merupakan fitoplankton yang memiliki kandungan klorofil dan mampu melakukan fotosintesis. Fotosintesis yaitu proses pembentukan glukosa dari senyawa anorganik dengan bantuan energi cahaya. Pembentukan molekul glukosa memerlukan bahan anorganik (H_2O dan CO_2) dan energi. Selain bahan anorganik (CO_2 dan H_2O) diperlukan alat (antena) yang digunakan untuk menangkap energi cahaya disebut pigmen. Pigmen *Chlorella* sp. berupa klorofil yang merupakan pusat penyerap energi cahaya, fikosianin dan karotenoid yang membantu penyerapan energi cahaya tersebut. (Strickland 1960).

Proses fotosintesis terjadi pada kloroplas yang memiliki tumpukan kantung tipis disebut grana. Setiap kantung tipis pada satu grana disebut tilakoid. Tilakoid dikelilingi oleh membran yang merupakan tempat untuk menyimpan klorofil. Didalam kloroplas terdapat pula matriks seperti gel yang disebut stroma. Grana dan stroma yang berperan dalam proses fotosintesis.

2.2.1 Kandungan Klorofil *Chlorella* sp.

Pigmen atau zat warna pada tumbuhan tingkat tinggi umumnya terdapat dalam sel-sel jaringan meristem yang dalam perkembangannya membentuk *chloroplast* ataupun *chromoplast*. *Chloroplast* pada alga umumnya memiliki bentuk dan ukuran yang sangat beragam, sedangkan tumbuhan tingkat tinggi umumnya seragam. Klorofil merupakan zat pembawa warna hijau tumbuhan termasuk fitoplankton (Carter, 1996). Sedangkan menurut Lawlor (1993), komponen utama penyusun klorofil adalah nitrogen (N). Nitrogen diperlukan sebagai bahan dasar penyusun protein dan pembentukan klorofil dalam proses fotosintesis. Kekurangan N akan berpengaruh terhadap penurunan jumlah pigmen dan sel (Richmond, 1986). Sedangkan komponen penyusun klorofil lainnya adalah C, H, O dan suatu atom Mg (Smith, 2002).

Chlorella sp. merupakan fitoplankton yang memiliki kandungan klorofil yang mampu melakukan fotosintesis. Proses fotosintesis ini terjadi proses penyerapan energy cahaya dan karbondioksida serta pelepasan oksigen yang berupa salah satu hasil dari fotosintesis tersebut (Barus, 2004).

Chlorella sp. mampu membentuk ikatan organik yang kompleks (glukosa) dari ikatan anorganik sederhana, karbondioksida dan air. Energi sinar matahari

diabsorpsi oleh klorofil untuk membantu berlangsungnya reaksi kimia yang terjadi dalam proses fotosintesa (Hutabarat, 2000).

Chlorella sp. mengandung klorofil *a* dan *b*, dari kandungan klorofil tersebut yang terpenting adalah klorofil *a*. Bagi tumbuhan terrestrial klorofil *b* memegang peranan penting, akan tetapi bagi fitoplankton laut tidaklah demikian. Klorofil *a* merupakan suatu pigmen aktif fitoplankton yang melakukan fotosintesa. Pada klorofil *a* merupakan gugus fungsi metal sedangkan pada klorofil *b* pada cincin pirol terdapat gugus fungsi aldehyd (Kusnawidjaya, 1983).

Besarnya kandungan klorofil berpengaruh besar dalam menentukan laju fotosintesis. Kloroplas mengandung dua golongan pigmen yaitu klorofil dan karotenoid. Kloroplas mengandung beberapa pigmen, sebagai contoh ; klorofil-*a* menyerap cahaya biru violet dan merah, sedangkan klorofil-*b* menyerap cahaya biru dan orange serta memantulkan cahaya kuning-hijau (Sutrian, 2004).

Kadar klorofil dalam suatu volume air tertentu merupakan suatu ukuran bagi biomassa fitoplankton yang terdapat dalam air tersebut. klorofil dapat diukur dengan memanfaatkan sifat klorofil yang berpijar bila dirangsang dengan panjang gelombang cahaya tertentu dan mengekstraksi klorofil dari fitoplankton dengan menggunakan aseton dan kemudian mengukur dengan jumlah ekstrak warna yang dihasilkan spektrofotometer. Banyaknya klorofil yang terdapat dalam fitoplankton tergantung pada waktu dan intensitas cahaya matahari (Ferguson, 1956).

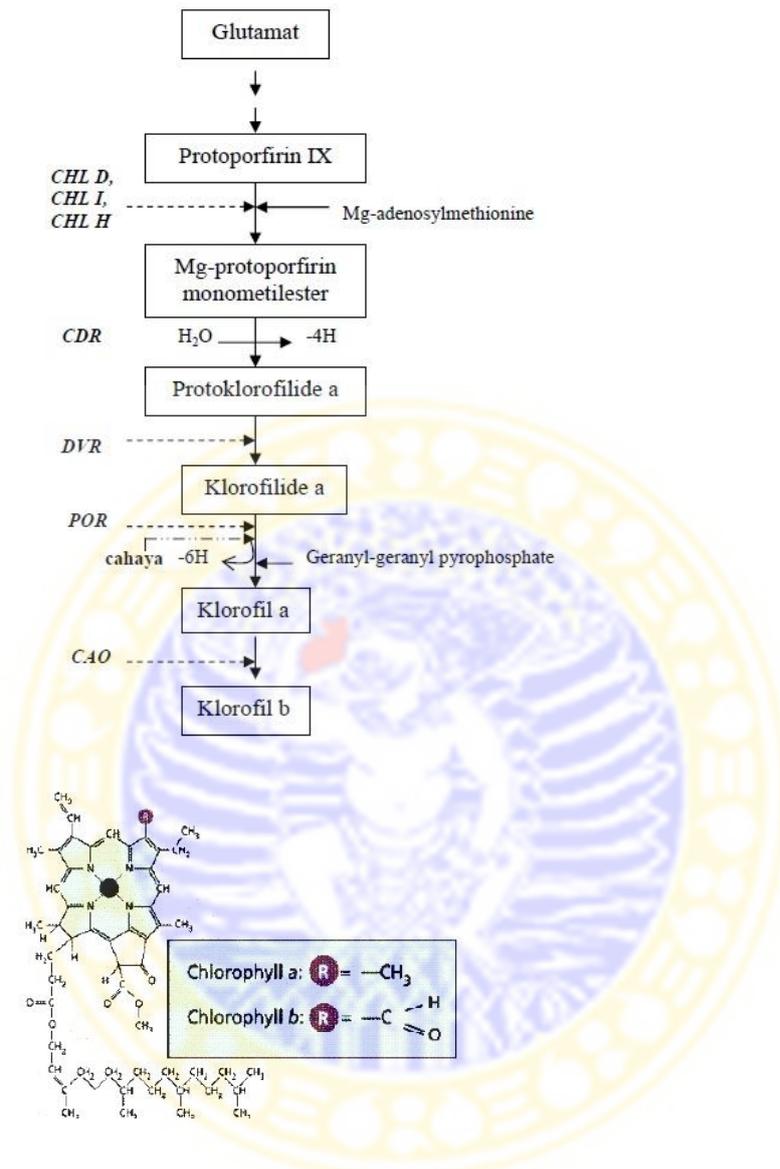
Pentingnya pengukuran kandungan klorofil pada fitoplankton dikarenakan klorofil yang terdapat pada *Chlorella* sp. dapat dijadikan ukuran kuantitas total

Chlorella sp. yang nantinya akan digunakan sebagai pakan alami larva ikan (Menzel, 1960).

2.2.2 Pembentukan Klorofil

Klorofil dihasilkan di dalam kloroplas pada jaringan fotosintesis. Prekursor dalam pembentukan senyawa pigmen klorofil adalah glutamat yang mengalami deaminasi menghasilkan α -ketoglutarat, kemudian direduksi menjadi $\gamma\delta$ -dioxoalate dan mengalami transaminasi menjadi asam amino *laevulinat* (ALA), sintesis ini memerlukan ATP dan NADPH (Malkin dan Niyogi 2000).

Pelepasan air dari asam amino-*laevulinat* menghasilkan porphobilinogen yang mengandung struktur cincin pyrrole. Selanjutnya terjadi reaksi pelepasan NH_3 dan CO_2 kemudian membentuk protophyrinogen. Penambahan Mg^{2+} dan adenosylmethionine pada protophyrin menghasilkan Mg-protophyrin monomethylester. Mg pada klorofil berfungsi sebagai pengatur penyerapan cahaya. Mg-protophyrin monomethylester mengalami dehidrasi dan reduksi menghasilkan protochlorophyllide. Penambahan H^+ menghasilkan chlorophyllide a menjadi klorofil a, proses ini sangat dipengaruhi oleh cahaya (Lowlor 1993), sintesis klorofil dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 6. Sintesis Klorofil (Prasetiyo, 2008)

Klorofil-b merupakan bentuk khusus dari klorofil-a. Pembentukan klorofil-b membutuhkan O₂ dan NADPH₂ dengan bantuan enzim *chlorophyll a oxygenase*. pigmen klorofil menyusun sekitar 4% bobot kering kloroplas, dan klorofil-b berjumlah 1/3 dari klorofil-a (Hall dan Rao 1999). Klorofil-a berperan penting untuk menyerap dan menyalurkan energi cahaya ke pusat reaksi untuk

mengeksitasi elektron. Klorofil b sebagai pigmen antena. Cahaya ditangkap oleh klorofil-b yang tergabung dalam kompleks pemanen cahaya kemudian segera ditransfer ke klorofil-a dan pigmen antena lain yang berdekatan dengan pusat reaksi.

Dalam pembentukan klorofil terdapat 3 lintasan reaksi yang dikendalikan oleh gen-gen inti yaitu: lintasan reaksi antara protoporfirin dan protoklorofilide menjadi klorofilide yang melibatkan gen-gen *CHLD*, *CHLI*, *CHLH*, *CDR*, perubahan protoklorofilide menjadi klorofilide yang melibatkan gen-gen seperti *VDR*, *POR*, dan lintasan sintesis klorofil-b yang melibatkan gen *CAO*. (Malkin dan Niyogi, 2000).

Klorofil a ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) dan klorofil b ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$) dapat dibedakan dengan adanya gugus metil (CH_3) pada klorofil-a dan gugus aldehyd (CHO) pada klorofil-b. Klorofil a berfungsi meneruskan cahaya ke pusat reaksi yang merubah energi cahaya menjadi energi kimia. Sedangkan klorofil-b berfungsi sebagai pemanen cahaya dan meneruskan energi dari karotenoid ke klorofil-a (Salisbury dan Ross 1992)

Klorofil terdapat pada membran tilakoid pada kloroplas. Pigmen yang menyerap cahaya pada membran tilakoid tersusun di dalam suatu fungsional yang disebut fotosistem. Fotosistem ini mengandung 200-300 molekul klorofil dan sekitar 40 molekul karotenoid dan semua molekul pigmen pada fotosistem disebut pigmen tetap cahaya atau 'antena' (Salisbury dan Ross 1992).

2.2.3 Faktor yang Mempengaruhi Pembentukan Klorofil

Faktor utama yang dibutuhkan untuk pembentukan klorofil adalah nutrisi dan cahaya. Pertumbuhan dan perkembangan mikroalga membutuhkan kualitas cahaya serta nutrisi yang cukup. Nitrat dan fosfat diperlukan sebagai bahan dasar penyusunan protein dan pembentukan dalam proses fotosintesis. Semakin banyak pembentukan klorofil maka proses fotosintesis semakin optimal (Aslan, 1998).

A. Faktor Genetik

Faktor genetik tertentu adalah sifat penurunan warna (pigmen), kemampuan adaptasi terhadap lingkungan dan lainnya diperlukan untuk memungkinkan terjadinya sintesis klorofil. Faktor genetik tersebut tidak sama untuk semua jenis plankton artinya setiap jenis fitoplankton memiliki komposisi pigmen dan kemampuan adaptasi yang berbeda (Riyono, 2007).

B. Cahaya

Cahaya dibutuhkan untuk pembentukan klorofil pada tumbuhan tingkat tinggi. Pada alga dan berbagai jenis tumbuhan lainnya sintesis klorofil dapat terjadi baik dalam keadaan gelap maupun terang. Menurut Riyono, 2007 klorofil yang dihasilkan dalam keadaan terang dan gelap adalah identik. Untuk sintesis klorofil yang efektif umumnya diperlukan intensitas cahaya yang relatif rendah. Cahaya dengan intensitas terlalu kuat akan merusak klorofil dalam reaksi yang disebut *photo oxidation*.

C. Nitrogen

Nitrogen merupakan bagian dari molekul klorofil, definisi unsur ini akan menghambat pembentukan klorofil. Nitrogen merupakan kebutuhan pokok bagi

seluruh organisme terutama fitoplankton untuk tumbuh dan berkembang. Nitrogen yang terdapat dalam organisme yang telah mati diuraikan oleh bakteri menjadi bentuk nitrogen organik siap pakai (nitrat). Senyawa ini merupakan salah satu senyawa sel nutrisi yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan, sehingga secara langsung dapat mengontrol produksi primer (Riyono, 2007).

D. Magnesium

Magnesium (Mg) adalah satu-satunya unsur logam yang merupakan komponen utama, karena merupakan atom pusat dari klorofil dan defisiensinya akan menghambat. Magnesium dengan karbonat akan membentuk persenyawaan magnesium-carbonate ($MgCO_3$) yang berfungsi untuk mencegah terjadinya pengasaman, sehingga dapat memecahkan klorofil dengan pembentukan *phaeophytin*.

E. Besi

Unsur besi (Fe) merupakan unsur yang esensial untuk pembentukan klorofil meskipun besi sendiri tidak merupakan bagian dari molekul klorofil, fungsinya ialah sebagai katalisator. Semua organisme perairan membutuhkan nutrisi dalam jumlah yang berbeda untuk pertumbuhan dan reproduksinya. Fitoplankton membutuhkan nutrisi untuk melakukan aktivitas fotosintesis, terutama nitrat dan fosfat serta silikat sebagai makro nutrisi dan nutrisi lain dalam jumlah yang relatif kecil (mikro nutrisi) seperti Fe, Mn, Cu, Zn, Ba, Na, Mo, Cl dan Co (Parsons *et al.*, 1984 dalam Riyono, 2007).

F. Suhu

Batas suhu dapat memungkinkan pembentukan klorofil tergantung terhadap jenis tumbuhan. Suhu dapat mempengaruhi fotosintesis dilaut baik secara langsung maupun tidak langsung. Pengaruh suhu secara langsung dapat berupa reaksi kimia enzimatik dalam sintesa klorofil serta dalam proses fotosintesi yang terkontrol, sedangkan untuk pengaruh suhu secara tidak langsung yaitu merubah struktur hidrologi kolom perairan yang dapat mempengaruhi distribusi plankton (Tomascik *et al.*, 1997 dalam Riyono, 2007). suhu yang tinggi dapat meningkatkan laju fotosintesis. Secara umum laju fotosintesis phytoplankton meningkat dengan meningkatnya suhu perairan, akan tetapi menurun secara drastis setelah mencapai suatu titik suhu tertentu. Hal ini disebabkan setiap spesies phytoplankton selalu beradaptasi terhadap kisaran suhu tertentu.

G. Air

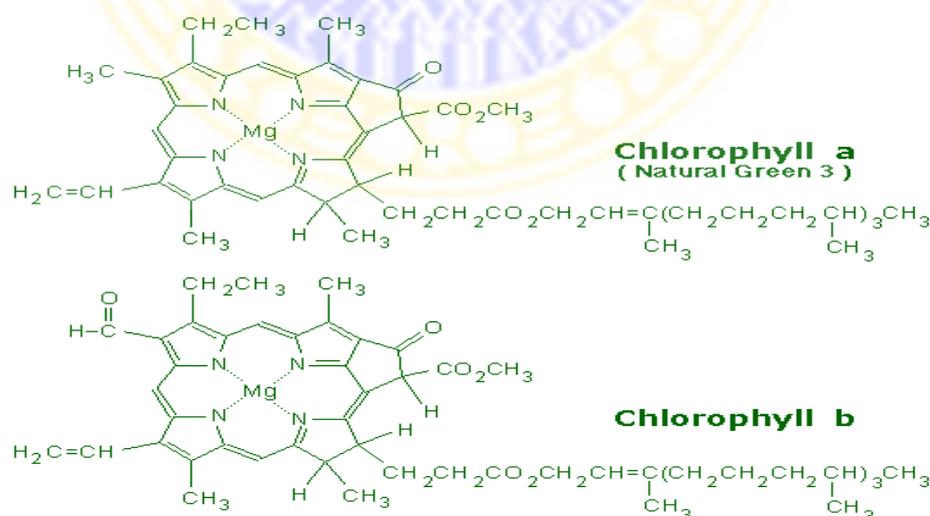
Berkurangnya kadar air dalam tumbuhan tingkat tinggi akan menghambat pembentukan klorofil, juga akan mempercepat perombakan (dekomposisi) klorofil yang telah ada, misalnya daun berubah menjadi kuning. Dalam proses fotosintesis yang dilakukan fitoplankton, unsur air merupakan unsur utama selain karbon dioksida maupun cahaya. Ketiadaan unsur air, fitoplankton tidak dapat hidup, karena untuk melakukan proses fotosintesis diperlukan adanya unsur air (Nontji, 1973 dalam Riyono, 2007).

2.2.4 Sifat Klorofil *Chlorella sp.*

A. Sifat Kimia

Klorofil-*a*, klorofil-*b* dan klorofil-*c* tidak dapat larut dalam air, tetapi dapat larut dalam berbagai pelarut organik. Klorofil-*a* mudah larut dalam *ethyl*-alkohol, *ethyl*-ether, acetone, chloroform dan *carbon*-biosulfide. Sedangkan klorofil-*b* dapat larut dalam pelarut yang sama tetapi tidak semudah klorofil-*a* (Riyono, 2007).

Klorofil-*a* dan klorofil-*b* apabila terhidrolisa, maka akan didapat alkohol yang disebut phytol. Gugus phytol membentuk sepertiga dari molekul klorofil dan mempunyai afinitas yang kuat terhadap oksigen. Bila diabukan klorofil murni akan meninggalkan residu yang hanya tersusun dari magnesium-*oxyde*. Meskipun unsure besi (Fe) dan mineral lainnya essential dalam sel hidup, namun magnesium (Mg) adalah satu-satunya logam yang menyusun komponen klorofil (Riyono, 2007). Struktur kimia penyusun klorofil-*a* dan-*b* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 7. Struktur kimia penyusun klorofil-*a* dan klorofil-*b*
(Meyer and Anderson, 1952 dalam Riyono, 2007)

B. Sifat Fisika

Semua klorofil memiliki sifat dapat berfluorescence, yaitu apabila mendapat penyinaran dengan spektrum cahaya tertentu (*excitation spectrum*), maka cahaya yang diteruskannya (*emission spectrum*) adalah cahaya spektrum yang berlainan. Contohnya klorofil-*a* yang dilarutkan dalam acetone 85% mempunyai *maximum excitation* antara panjang gelombang 430–450 nm (biru-ungu) dan akan memberikan *maximum emission* antara panjang gelombang 650 - 675 nm (merah-tua) (Yentsch and Menzel, 1963 dalam Riyono, 2007).

Apabila klorofil dalam larutan acetone disinari dengan berbagai spektrum cahaya tampak (*visible light*) dalam spektrofotometer maka panjang gelombang cahaya tertentu dapat lebih diserap dari pada yang lainnya. Sifat-sifat spektrum tersebut digunakan untuk memberikan ciri-ciri perbedaan klorofil-*a*, klorofil-*b* dan klorofil-*c* (Riyono, 2007).

C. Sifat *in-vivo*

Klorofil memiliki banyak sifat-sifat protein, sedangkan molekul-molekul klorofil memiliki asosiasi tertentu dengan protein tersebut (Meyer and Anderson, 1952 dalam Riyono, 2007). Hal tersebut diduga terdapat senyawaan klorofil-protein dengan komposisi yang tetap didalam tumbuhan, analog dengan haemoglobin (hemin-globin) pada darah.

D. Sifat Sintesa

Untuk memungkinkan terjadinya sintesa klorofil dibutuhkan beberapa faktor tertentu, yaitu faktor genetik, cahaya, nitrogen, magnesium, besi, suhu, air dan unsur-unsur lainnya (Mn, Cu, dan Zn). Tiadanya salah satu faktor tersebut

akan mencegah terjadinya sintesa klorofil yang disebut *chlorosis* (Nontji, 1973 dalam Riyono, 2007).

2.2.5 Faktor-faktor yang Dapat Mempengaruhi Jumlah Klorofil *Chlorella* sp.

Faktor lingkungan yang berpengaruh dalam pertumbuhan *Chlorella* sp. antara lain cahaya, suhu, pH dan salinitas. Oleh karena itu *Chlorella* sp. sangat tergantung pada kondisi lingkungan dan nutrient yang mendukung untuk mendapatkan jumlah kandungan klorofil dan pertumbuhan populasi yang tinggi (Ekawati, 2005).

A. Cahaya

Cahaya berpengaruh pada pertumbuhan *Chlorella* sp. karena digunakan untuk kegiatan fotosintesis. Ekawati (2005) mengatakan bahwa cahaya merupakan sumber energi pada proses fotosintesis, oleh karena itu intensitas, kualitas dan periode penyinaran perlu diperhatikan. Intensitas cahaya berperan sangat penting, kebutuhan cahaya sangat besar bergantung pada kedalaman dan kepadatan kultur (korelasi positif) yaitu semakin tinggi kedalaman dan kepadatan kultur maka intensitas cahaya yang dibutuhkan semakin tinggi.

Namun menurut Foog (1980) intensitas cahaya yang terlalu tinggi akan mengakibatkan foto inhibisi atau penghambat bagi laju fotosintesis pada kultur *Chlorella* sp. Cahaya dapat berasal dari alam atau berasal dari lampu. Lama penyinaran minimum dalam media kultur adalah 18 jam terang per hari.

B. Suhu

Suhu adalah salah satu faktor yang amat penting bagi kehidupan organisme perairan. Setiap spesies mikroalga mempunyai suhu optimum yang khas untuk pertumbuhannya. Namun pada umumnya berkisar antara 20 °C sampai 25°C. (Fogg, 1963 dalam Rachmawati, 2002). Pada suhu yang mengalami kenaikan pada batas tertentu dapat mempercepat proses metabolisme. Tetapi pada suhu yang melewati batas maksimal akan mengakibatkan kerusakan permanen enzim sehingga terjadi koagulasi asam amino yang dapat menyebabkan proses metabolisme sel terhenti. Suhu optimal untuk pertumbuhan *Chlorella* sp. adalah 20°-40° C (Ekawati,2005).

C. Derajat Keasaman (pH)

Derajat Keasaman (pH) merupakan konsentrasi ion hidrogen yang terdapat dalam larutan dan menggambarkan suasana air, yang bersifat basa atau asam (Wasis, 2009).

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor yang sangat penting bagi kehidupan organisme termasuk fitoplankton. Nilai pH juga merupakan faktor pembatas bagi pertumbuhan fitoplankton yakni apabila pH berada pada ambang batas normalnya (7-9) maka fitoplankton akan tumbuh dengan baik. Derajat keasaman optimal *Chlorella* sp. adalah 8-9 (Fogg, 1963 dalam Rachmawati, 2002).

D. Salinitas

Salinitas merupakan konsentrasi semua ion yang terlarut dalam air dan dinyatakan pada ppt (*part per thousand*). Pada media kultur *Chlorella* sp.

salinitas merupakan faktor yang sangat penting untuk mengatur keseimbangan kepekatan cairan atau tekanan osmotik dalam sel (Richmond, 1986).

Kondisi salinitas lingkungan yang tinggi dapat menyebabkan isi sel keluar, hal ini dikarenakan konsentrasi ion terlarut dalam lingkungan lebih pekat dari pada dalam sel sehingga sel akan mengkerut. Hal ini akan terjadi sebaliknya bila salinitas lingkungan lebih rendah (Jemiati, 2002).

Fitoplankton laut umumnya akan hidup pada salinitas 25–35 ppt. akan tetapi salinitas optimal untuk pertumbuhan *Chlorella* sp. adalah 30ppt (Redjeki dan Ismail, 1993 dalam Tjahjo dkk., 2002).

2.3 Karotenoid

Menurut Anggarwulan dan Solichatun (2007) karotenoid merupakan pigmen organik yang terdapat secara alami pada khromoplast dari tanaman, organisme fotosintesis seperti alga (*Spirulina plantesis*, *Dunaliella* sp.) serta beberapa tipe dari jamur dan bakteri. Karotenoid merupakan salah satu jenis pewarna pada makanan dan merupakan kelompok pigmen terbesar yang diproduksi di alam dengan produksi tahunan diperkirakan mencapai 100.000.000 ton. Sebagian besar merupakan fucoxantin yang diproduksi dari alga yang hidup di lautan dan juga tiga pigmen utama yaitu lutein, violaxanthin, dan neoxanthin pada daun hijau. Karotenoid memegang dua peranan penting pada tanaman dan alga yaitu untuk menyerap energi cahaya yang akan digunakan dalam proses fotosintesis dan melindungi klorofil dari fotodamage (Armstrong G.A., Hearst J.E., 1996).

2.3.1 Sifat–Sifat Karotenoid

Karotenoid mempunyai sifat yang tidak dimiliki oleh zat kimia yang lain. Fungsi dari karotenoid tergantung dari sifat khusus ini. Sifat ini ditentukan oleh struktur molekulnya (Button *,et.,al,* 2008). Ciri –ciri struktural merupakan hal yang sangat penting dalam menentukan peran biologis dari karotenoid. Secara keseluruhan geometri molekul (ukuran, pola tiga dimensi, dan adanya fungsional group) adalah sangat penting untuk memastikan bahwa karotenoid sesuai dengan cellular, sub-cellular, struktur molekul pada lokasi yang tepat dan orientasinya untuk memungkinkan ini sesuai dengan fungsinya. Kemudian sistem ikatan rangkap konjugasi menentukan sifat absorpsi cahaya dan kereaktifannya (Day dan Underwood, 1992).

2.3.2 Faktor–Faktor Pembentuk Karotenoid

A. Cahaya

Cahaya yang dipancarkan oleh sinar matahari berfungsi dalam proses fotosintesis, tetapi hanya panjang gelombang tertentu yang dimanfaatkan untuk proses fotosintesis tersebut, masing-masing jenis cahaya berbeda pengaruhnya terhadap proses fotosintesis terkait dengan jenis pigmen penangkap cahaya.

Semakin banyak cahaya yang diserap pada saat fotosintesis maka spektrum karotenoid semakin terlihat yaitu peningkatan dan penampakan warna merah.

B. Kandungan Makronutrien

Nutrien sangat dibutuhkan oleh fitoplankton dalam perkembangannya dalam jumlah besar maupun dalam jumlah yang relatif kecil. Setiap unsur hara mempunyai fungsi khusus pada pertumbuhan dan kepadatan tanpa

mengesampingkan pengaruh kondisi lingkungan. Unsur N, P, K, dan S, sangat penting untuk pembentukan protein dan K berfungsi dalam metabolisme karbohidrat. Fe dan Na berperan dalam pembentukan Klorofil sedangkan Si dan Ca merupakan bahan untuk dinding sel atau cangkang.

C. Fosfor

Fosfor ada dua bentuk organik dan anorganik. Fosfor inorganik diantaranya adalah orthofosfat (PO_4), monofosfat (HPO_4), dihidrogen fosfat (H_2PO_4) sedangkan fosfor organik terlarut (DOP) didominasi oleh asam-asam nukleat (DNA, RNA). Fosfor organik terlarut digunakan untuk proses fotosintesis. Di dalam fotosintesis terdapat pembentukan senyawa salah satunya adalah zat karotenoid.

Fosfor merupakan unsur esensial yang fungsinya tidak dapat digantikan unsur hara lain. Miller (2004) menyatakan bahwa, peran unsur P adalah dalam hal penyimpanan dan pemindahan energi serta reaksi biokimia seperti pemindahan ion, kerja osmotik, reaksi fotosintesis, dan glikolisis. Fitoplankton menyerap fosfor dalam bentuk ion ortofosfat (H_2PO_4^- , HPO_4^-). Konsentrasi ion ortofosfat sangat tergantung pada tingkat keasaman (pH).

Kekurangan fosfor menyebabkan sel-sel alga mengalami penurunan kandungan protein diikuti degradasi berbagai komponen sel yang berkaitan dengan sintesa protein termasuk karotenoid. Di dalam sel terdapat organel yang bernama ribosom yang tugasnya adalah mensintesis protein, serta DNA yang membentuk gen yang berfungsi untuk menghidupkan dan mematikan respon

terhadap cahaya atau penyimpanan dan pelepasan energi dalam bentuk Adenin Trifosfat (ATP).

2.3.3 Fungsi Karotenoid

Karotenoid berperan membantu mengabsorpsi cahaya sehingga spektrum matahari dapat dimanfaatkan dengan lebih baik. Energi yang diserap karotenoid diteruskan kepada klorofil-a untuk diserap digunakan dalam proses fotosintesis, demikian pula dengan klorofil-b (Panjaitan,dkk, 2008). Karotenoid juga berperan untuk melindungi klorofil dari kerusakan oksidatif oleh O₂, jika intensitas cahaya sangat tinggi. (Pratama, 2009).

Menurut Panjaitan, dkk (2008) karotenoid, seperti beta karoten dan alpha karoten, dan fucosanthin, dikenal sebagai pemadam radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel yang bersifat karsinogenik. Maka karotenoid yang memiliki aktivitas antioksidan sangat dibutuhkan untuk memadamkan radikal bebas tersebut, karena secara tidak langsung berfungsi sebagai anti karsinogenik, anti mutagenik, pencegahan dan pengurangan penyakit seperti kronarriasis, inflamantori, penurunan fungsi otak, pada kulit, serta peningkatan sistem kekebalan tubuh.

2.3.4 Betakaroten

Betakaroten merupakan salah satu karotenoid pada tanamam yang banyak ditemukan pada plastid berwarna (kromoplas) di akar, batang, daun, bunga, dan buah berbagai tumbuhan. Betakaroten dikenal sebagai provitamin A, karena betakaroten merupakan salah satu prekursor utama vitamin A pada tubuh.

Betakaroten memiliki rumus kimia $C_{40}H_{56}$, tersusun dari 8 unit isoprene dimana pada masing-masing ujungnya membentuk lingkaran betakaroten.

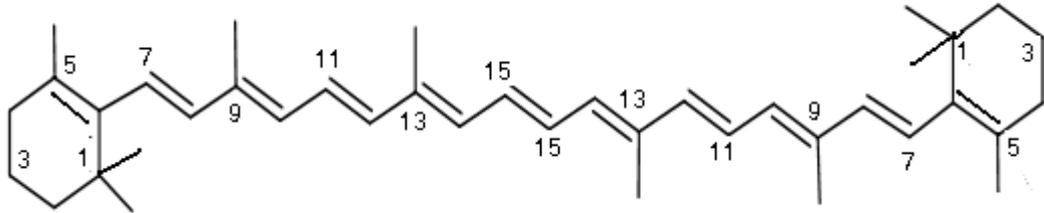
Betakaroten merupakan senyawa organik yang tidak larut dalam air dan pelarut organik yang bersifat polar seperti metanol dan etanol, tetapi larut dalam lemak. Betakaroten merupakan provitamin A yang paling potensial, betakaroten ekuivalen dengan 2 buah molekul vitamin A. Menurut Almatsier (2001), mengatakan bahwa betakaroten adalah bentuk provitamin A paling aktif, yang terdiri atas dua molekul retinol yang saling berikatan.

2.3.5 Peran Betakaroten

Betakaroten adalah salah satu dari 600 komponen karotenoid yang banyak ditemukan dalam tanaman. Salah satu peran betakaroten adalah meningkatkan efikasi kemoterapi dan radiasi pada kultur sel kanker manusia maupun hewan percobaan. Hasil penelitian epideminologis menyatakan bahwa subjek yang banyak mengonsumsi buah-buahan dan sayuran dengan kandungan betakaroten tinggi memiliki risiko rendah terkena berbagai jenis kanker (Buring & Hennekens, 1993 dikutip oleh Winarsi, 2007).

2.3.6 Struktur Karotenoid

Pigmen karotenoid mempunyai struktur alifatik atau alisiklik yang pada umumnya disusun oleh delapan unit isoprena, dimana kedua gugus metil yang dekat pada molekul pusat terletak pada posisi C1 dan C6, sedangkan gugus metil lainnya terletak pada posisi C1 dan C5 serta diantaranya terdapat ikatan ganda terkonjugasi. Rumus struktur β -karoten dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 8. Rumus struktur β -karoten
Sumber: Rao A.V. dan Rao L.G. (2007)

Parameter yang digunakan sebagai perbandingan dalam ekstraksi pigmen karotenoid ini adalah temperature operasi, jenis solven yang digunakan dalam ekstraksi serta lama waktu operasi ekstraksi. Analisa secara kuantitatif hasil ekstraksi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer (Fraser and Bramley, 2005). Kebutuhan akan antioksidan (karotenoid), terus meningkat. Sehingga semakin banyak dilakukan penelitian untuk mencari sumber-sumber yang mampu memproduksi karotenoid dalam jumlah banyak. Salah satu sumber karotenoid adalah dari mikroalga *Chlorella* sp.

2.4 Klasifikasi dan Morfologi Turi Putih

Menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991) sistematika turi putih dapat digolongkan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Subdivisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Rosales
Family	: Papilionaceae
Genus	: <i>Sesbania</i>
Species	: <i>Sesbania grandiflora</i> Pers.



Gambar 9. *S. grandiflora* (Turi Putih) (Gutteridge and Shelton, 1994)

Karuppasamy et al., (2011) menjelaskan bahwa *S. grandiflora* merupakan salah satu tanaman legum. Dalimartha (2009) mengemukakan bahwa tanaman legum biasanya dikenal dengan tanaman pagar atau tanaman pelindung yang banyak ditemukan di pekarangan. *S. grandiflora* adalah tanaman yang dikenal dengan nama Turi. Turi mempunyai tinggi 5-12 m, mempunyai banyak ranting, mempunyai kulit batang bagian luar berwarna kelabu hingga kecokelatan, permukaannya tidak rata, dengan alur membujur dan melintang tidak beraturan, serta memiliki lapisan gabus yang mudah terkelupas. Daun *S. grandiflora* merupakan daun majemuk yang letaknya tersebar dengan daun penumpu yang panjangnya 0,5-1 cm dan panjang ranting daun 20-30 cm. Daun *S. grandiflora* mempunyai panjang 3-4 cm, dan lebar 0,8-1,5 cm. *S. grandiflora* memiliki bunga yang tumbuh pada ketiak daun, letaknya menggantung dengan jumlah bunga 2-4 dan berbentuk menyerupai kupu-kupu. *S. grandiflora* memiliki buah berbentuk polong yang menggantung dengan panjang 20-55 cm, dan lebar 7-8 mm, morfologi *S. grandiflora* dapat dilihat pada Gambar 6. Menurut Dalimartha (2009) bahwa akar *S. grandiflora* berbintil-bintil yang merupakan sumber nitrogen serta berisi bakteri yang dapat menyuburkan tanah. Selain itu turi juga digunakan sebagai pupuk hijau.

2.4.1 Habitat Turi Putih (*S. grandiflora*)

Turi banyak terdapat di dataran rendah dan dataran tinggi seperti pegunungan. Turi putih merupakan tanaman yang tidak memiliki toleransi pada suhu dingin (-10°C). Turi banyak di tanam di sawah, dan daun merupakan pupuk hijau yang sangat baik. Selain bunganya dapat dimakan, daun turi merupakan pupuk hijau (Abadi, 1990).

2.4.2 Kandungan Unsur Makro dan Mikro *S. grandiflora*

S. grandiflora mengandung nutrisi yang lengkap dan memiliki kandungan nitrogen yang cukup tinggi dibandingkan dengan tanaman yang lain. Menurut Dalimartha (2009) bahwa daun *S. grandiflora* juga memiliki beberapa komposisi antara lain saponin, tannin, glikoside, peroksidase, vitamin A dan vitamin B. Kandungan daun *S. grandiflora* seperti yang ditunjukkan pada Tabel.

Tabel 1. Kandungan Unsur Makro dan Mikro *S. grandiflora* per 100 gram.

Kandungan	Jumlah
Nitrogen	10,3 gr
Posfor	258 mg
Kalium	2005 mg
Besi	3,9 mg
Kalsium	1684 mg
Natrium	21 mg
Magnesium	2,2 mg
Tembaga	5,0 mg
Seng	30,0 mg
Molibdenum	15,3 mg
Kobal	1,6 mg
Mangan	99 mg

Sumber : (Duke, 1983; Evans & Rotar, 1987; Serra et al, 1996)

2.4.3 Simbiosis *S. grandiflora* dengan *Rhizobium*

S. grandiflora mempunyai daya adaptasi pada tanah yang rendah unsur hara dengan didukung oleh kemampuannya bersimbiosis secara mutualistik dengan bakteri *Rhizobium sp.* yang tumbuh di daerah perakarannya (Burdas, 2002). Menurut Yuwono (2006) bahwa *Rhizobium* merupakan bakteri bersifat aerob, tidak membentuk spora, berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0,5 – 0,9 μm . Asosiasi *Rhizobium* dengan tanaman legum menyebabkan terbentuknya nodul atau bintil akar yang mampu memfiksasi Nitrogen bebas dari udara sehingga dapat mensuplai kebutuhan tanaman akan unsur N tersedia. Kemampuan untuk memfiksasi Nitrogen dapat mengurangi biaya pembelian pupuk N buatan (Fuskhah, dkk., 2007). Palm et al., (1988) mengemukakan bahwa kandungan N, P, K terbesar terdapat pada daun *Sesbania grandiflora* karena daun merupakan tempat penyimpanan Nitrogen. *Rhizobium leguminosorum* merupakan bakteri yang bersimbiosis dengan *S. grandiflora* untuk dapat menghisap Nitrogen bebas dari udara.

2.4.4 *Sesbania grandiflora* sebagai Pupuk *Chlorella sp.*

S. grandiflora memiliki kandungan makronutrien dan mikronutrien yang lengkap untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan *Chlorella sp.* sehingga cocok digunakan sebagai pupuk *Chlorella sp.* Turi putih atau *S. grandiflora* merupakan tanaman legum yang bersimbiosis dengan bakteri *Rhizobium* sehingga dapat memfiksasi nitrogen bebas dari udara dan mensuplai kebutuhan tanaman akan unsur N tersedia. Daun muda berwarna hijau digunakan sebagai pupuk *S.*

grandiflora. Hal ini dapat mengurangi biaya pembelian pupuk N buatan (Fuskhah, dkk., 2007).

Pertumbuhan *Chlorella* sp. dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi. Nutrisi yang dibutuhkan oleh *Chlorella* sp. berupa makronutrisi dan mikronutrisi. Makronutrisi terdiri dari N, P, K, Si dan Ca sedangkan mikronutrisi terdiri dari Fe, Mo, Cu, Mn, Zn, dan Co (Widyaningsih, dkk., 2008). Setiap unsur hara mempunyai fungsi-fungsi khusus yang terdapat pada pertumbuhan dan kepadatan yang dicapai, tanpa mengesampingkan pengaruh kondisi lingkungan. Unsur N, P, S penting untuk pembentukan protein, dan K berfungsi dalam metabolisme karbohidrat. Fe dan Na berperan untuk pembentukan klorofil, sedangkan Si dan Ca merupakan bahan untuk pembentukan dinding sel (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Penggunaan pupuk *S. grandiflora* diharapkan dapat meningkatkan populasi *Chlorella* sp. karena kandungan N daun *S. grandiflora* tinggi (10,3 gram) yang merupakan unsur terbanyak yang dibutuhkan oleh *Chlorella* sp. disamping itu kelengkapan makronutrisi dan mikronutrisi *S. grandiflora* sesuai dengan kebutuhan *Chlorella* sp. sehingga dapat memenuhi pakan alami dalam kegiatan budidaya dan kebutuhan manusia.

III KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual

Seiring berkembangnya teknologi, *Chlorella* sp. tidak hanya digunakan untuk memenuhi kebutuhan budidaya. Meningkatnya permintaan akan *Chlorella* sp. merupakan peluang dilakukannya peningkatan kultur *Chlorella* sp. Menurut Basmi (1995) dalam Sumarlinah (2000) bahwa pertumbuhan dan perkembangan fitoplankton sangat membutuhkan nutrisi. Nutrisi yang dibutuhkan meliputi makro dan mikro nutrisi. Menurut Eyster (1978) bahwa nutrisi *Chlorella* sp. yang dibutuhkan adalah N, P, K, S, Fe, Ca, Mg, Mn, Zn dan Cu. *Chlorella* sp. dalam pertumbuhannya juga membutuhkan nutrisi yang optimal.

Kultur *Chlorella* sp. pada umumnya menggunakan pupuk teknis (pupuk Walne), dimana konsentrasi unsur makronutrisi pupuk teknis belum mencukupi batas optimal kebutuhan *Chlorella* sp. (Eyster, 1978). Pupuk Walne memiliki resiko kontaminasi bahan kimia serta harganya yang mahal, sehingga perlu adanya pupuk alternatif sebagai pengganti pupuk Walne, salah satunya adalah menggunakan bahan alam.

S. grandiflora merupakan merupakan tanaman legum yang memiliki konsentrasi N tinggi (10,3 g) (Atmojo, 2007). Hal ini karena *S. grandiflora* bersimbiosis dengan bakteri penambat N₂ dari udara yang di perlukan tanaman. *S. grandiflora* mengandung nitrogen lebih tinggi dibandingkan tanaman lain. Daun tanaman *S. grandiflora* dapat digunakan sebagai pupuk hijau atau diproses menjadi

kompos. *Rhizobium leguminosorum* merupakan bakteri yang bersimbiosis dengan *S. grandiflora* untuk dapat menghisap Nitrogen bebas dari udara.

Berdasarkan hal tersebut diatas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian pupuk *S. grandiflora* terhadap kandungan klorofil dan Karotenoid *Chlorella* sp. sebagai alternatif pakan alami untuk larva ikan. Berikut bagan kerangka konsep penelitian.

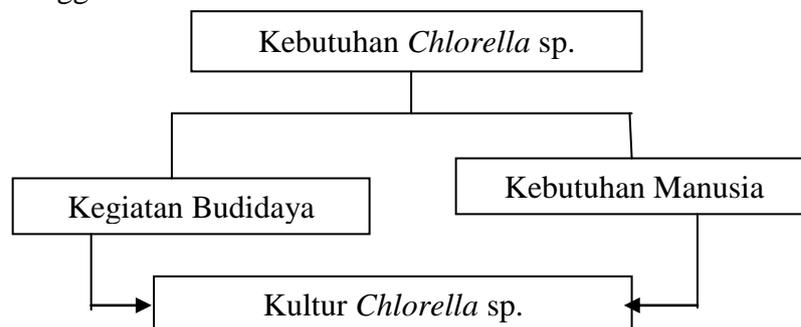
3.2 Hipotesis Penelitian

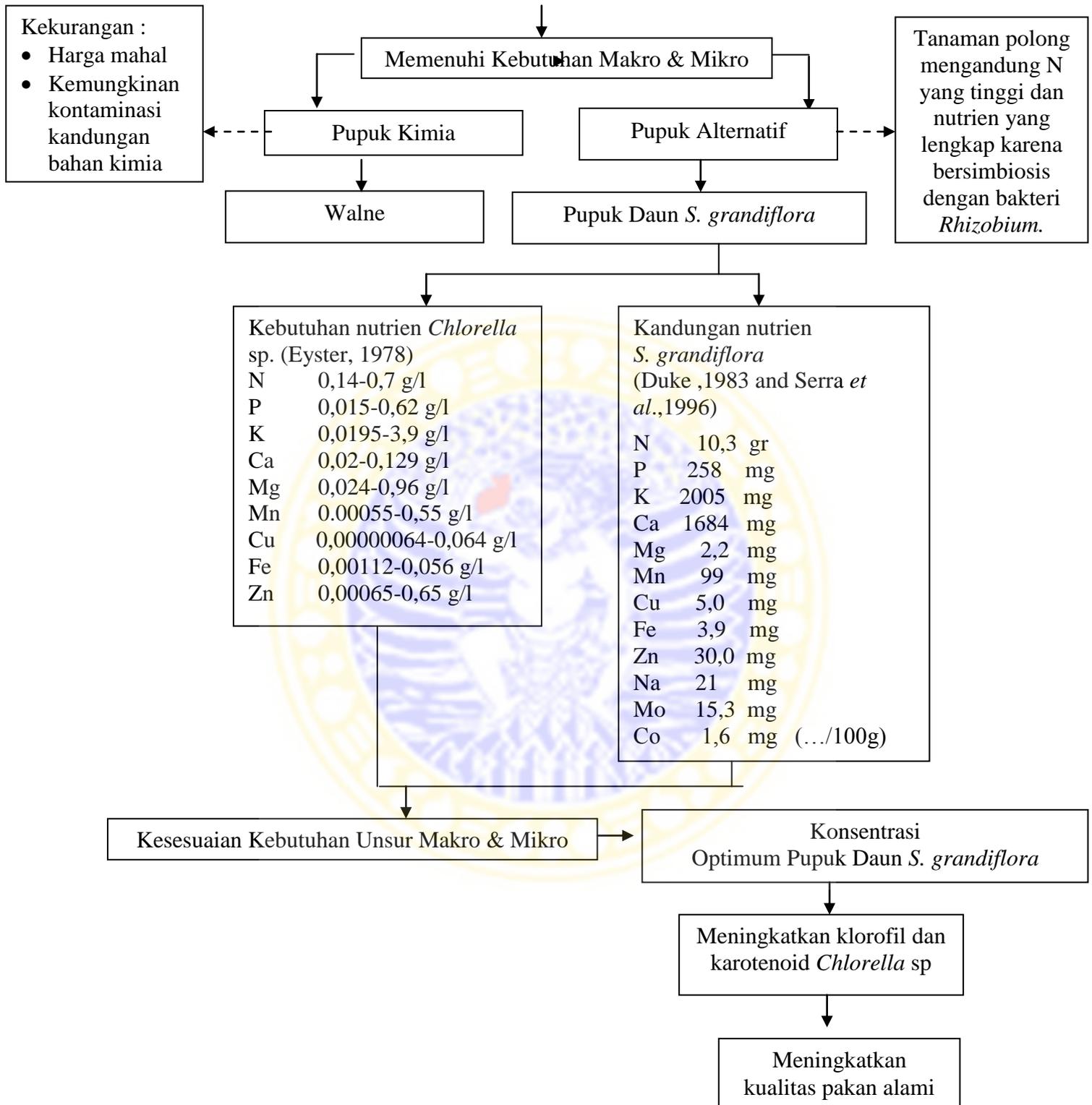
H₀ : Pupuk cair daun Turi Putih (*S. grandiflora*) dengan konsentrasi yang berbeda tidak meningkatkan kandungan klorofil dan karotenoid *Chlorella* sp.

: Tidak diperoleh konsentrasi optimal pupuk cair daun Turi Putih (*S. grandiflora*) untuk mendapatkan kandungan klorofil dan karotenoid *Chlorella* sp. tertinggi.

H₁ : Terdapat peningkatan kandungan klorofil dan karotenoid *Chlorella* sp. dengan penambahan pupuk daun Turi Putih (*S. grandiflora*) dengan konsentrasi yang berbeda.

: Diperoleh konsentrasi optimal pupuk daun Turi Putih (*S. grandiflora*) untuk mendapatkan kandungan klorofil dan karotenoid *Chlorella* sp. tertinggi





Gambar 10. Bagan Kerangka Konseptual Penelitian

IV METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan November 2013 di Laboratorium Pendidikan Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya.

4.2 Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan terdiri atas bahan dan alat penelitian. Bahan penelitian yang digunakan adalah *Chlorella* sp. yang berasal dari BBPBAP Jepara, pupuk *S. grandiflora*, pupuk Walne, akuades, alkohol, air tawar, air laut, khlorin dan Na Thiosulfat, dietil eter, metanol KOH, alkohol, MgCO₃, aceton 90% dan khlorin. Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah toples kaca (sebagai wadah penelitian), aerator, selang aerator, sterofom, oven, plastik, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, Termometer mikroskop, jerigen 2 liter (2 buah), *haemocytometer*, *sentrifuge*, *handtally counter*, *shaker incubator autoclave*, refraktometer, pH *paper*, termometer, timbangan digital, lampu TL 40 watt, kapas, corong air, erlenmeyer, kasa, aluminium foil dan kertas saring.

4.3 Metode Penelitian

4.3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), sebab dalam penelitian ini semua dikondisikan sama kecuali perlakuan (Kusriningrum, 2008). Perlakuan pada penelitian sebanyak 4 perlakuan dengan 5 kali ulangan. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan penelitian

yang sudah pernah dilakukan oleh (Umainana, 2012) yaitu tentang Pengaruh Konsentrasi Pupuk Daun Turi Putih (*S. grandiflora*) terhadap Populasi *Chlorella* sp. dan didapatkan dosis optimal 2 mL/L, sehingga diperoleh konsentrasi perlakuan pupuk *S. grandiflora* sebagai berikut:

Perlakuan A : pemberian pupuk *S. grandiflora* dengan konsentrasi 1 mL/L

Perlakuan B : pemberian pupuk *S. grandiflora* dengan konsentrasi 2 mL/L

Perlakuan C : pemberian pupuk *S. grandiflora* dengan konsentrasi 3 mL/L

Perlakuan D : kontrol pemberian pupuk Walne konsentrasi 1 mL/L

Denah penempatan perlakuan pada penelitian dibawah ini adalah sebagai berikut:

B3	D3	B2	D5
A1	C1	A4	A5
B4	D1	A2	B5
B1	CG	D2	C2
C4	A3	D4	C5

Gambar 11. Denah Penempatan Perlakuan

4.3.2 Prosedur Kerja

A. Persiapan penelitian

Tahap awal kultur dalam penelitian ini adalah proses sterilisasi yang merupakan suatu proses untuk menjaga kondisi aseptik dengan cara menghilangkan atau membunuh organisme yang tidak dikehendaki. Sterilisasi dalam kultur fitoplankton skala laboratorium terdiri atas sterilisasi ruang, peralatan dan bahan penelitian. Ekawati (2005) mengemukakan, sterilisasi

merupakan suatu proses untuk menjaga kondisi aseptik dengan cara menghilangkan atau membunuh mikroorganisme.

Air laut yang akan digunakan untuk kultur disterilisasi menggunakan larutan klorin. Air laut terlebih dahulu disaring dengan kapas yang diletakkan dalam corong air, kemudian disterilkan dengan klorin 60 ppm selama 24 jam dan diberi aerasi. Kadar klorin dapat dinetralkan dengan ditambahkan Na Thiosulfat 20 ppm. Air laut yang sudah steril disimpan dalam wadah yang tidak tembus cahaya dan tertutup. (Ekawati, 2005).

Peralatan kultur yang akan digunakan dicuci sampai bersih kemudian dibilas air tawar dan dikeringkan. Untuk peralatan yang terbuat dari kaca tahan panas harus ditutup dengan kapas dan kasa, kemudian dibungkus dengan aluminium foil. Sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Peralatan yang tidak tahan panas disterilkan dengan larutan klorin 150 ppm selama 24 jam. Kemudian dibilas dengan air tawar hingga bersih dan bau klorin hilang (Sari, 2009). Sterilisasi laboran dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70% pada kedua tangan untuk menghindari kontaminasi pada mikroalga ketika laboran berinteraksi dengan kultivan.

B. Persiapan Pupuk Kontrol Walne Sebagai Media Kontrol

Pupuk teknis skala laboratorium yang digunakan sebagai media kultur dan kontrol adalah pupuk Walne yang didapatkan dari BBPBAP Jepara. Menurut BBPBAP Jepara (2005) dalam Diahsari (2011), komposisi pupuk Walne adalah Na₂EDTA 45 g, NaH₂PO₄ · H₂O 20 g, FeCl₃·6H₂O 1,5 g, H₃BO₃ 33,6 g, MnCl₂ 0,36 g, NaNO₃ 100 g, *trace metal solution* 1 ml, vitamin 1 ml dan akuades 1000

ml. Larutan pupuk yang telah siap disimpan dalam wadah yang tidak tembus cahaya. Larutan pupuk ini kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave*.

C. Persiapan Pupuk *S. grandiflora*

S. grandiflora yang akan digunakan sebagai pupuk untuk penelitian diperoleh di daerah Tanggulangin Kabupaten Sidoarjo. *S. grandiflora* yang di ambil adalah bagian daunnya, setelah itu di jemur dibawah terik matahari selama 1 minggu.

Menurut Hutagulung (2008) pembuatan pupuk khususnya pupuk cair dapat dilakukan dengan perbandingan 1:4 (1 kg bahan kering dilarutkan dalam 4 liter air) dengan lama perendaman 3-4 minggu. *S. grandiflora* yang telah kering kemudian ditumbuk dengan penumbuk hingga menjadi serbuk, dan selanjutnya dilarutkan dalam akuades dengan perbandingan 1:4 yaitu 150 gram *S. grandiflora* yang telah ditumbuk dengan 600 ml akuades kemudian dilakukan proses perendaman secara anaerob selama 4 minggu dan dilakukan pengocokan setiap hari. Setelah perendaman selama 4 minggu, *S. grandiflora* yang sudah direndam diperas agar cairan di dalamnya dapat keluar dan ditempatkan pada wadah gelas kaca steril dan tertutup agar terhindar dari kontaminasi. Setelah itu dilakukan analisis nitrogen, fosfor, besi dan magnesium. Sebelum digunakan dalam kultur, pupuk harus disaring dengan secara berulang untuk dapat memisahkan cairan dan endapan *S. grandiflora* yang tersisa.

D. Lingkungan dan Media Kultur *Chlorella* sp.

Lingkungan kultur dapat mempengaruhi pertumbuhan *Chlorella* sp., oleh karena itu dikondisikan sama setiap perlakuan. Lingkungan kultur *Chlorella* sp.

yang diharapkan dalam penelitian adalah suhu 28° C (Sutomo, 2005), salinitas 30 ppt (Sutomo, 2005) dan pH 7 (Prihantini dkk., 2005). Intensitas cahaya yang digunakan 3000 lux yaitu dengan meletakkan lampu TL 40 watt ± 10 cm di atas permukaan air/media kultur dan *photoperiod* 16 jam terang dan 8 jam terang (Prabowo, 2009).

Media kultur yang digunakan dalam penelitian adalah air laut sebanyak 1000 ml yang dimasukkan dalam toples kaca dimana di dalamnya terdapat pupuk rendaman *S. grandiflora* sesuai dengan konsentrasi yang ditentukan (1ml, 2ml, 3ml, 4ml, 5ml dan 6ml). Selanjutnya media kultur diletakkan di rak kultur diberi aerasi dan siap dimasukkan bibit *Chlorella* sp. dengan kepadatan yang diinginkan.

E. Penebaran Bibit *Chlorella* sp.

Chlorella sp. diperoleh dari Balai Besar Budidaya Air Payau Jepara. Bibit *Chlorella* sp. dimasukkan ke dalam toples kaca yang telah diisi air laut dan media kultur yaitu pupuk Walne sebagai kontrol dan penambahan larutan pupuk daun *S. grandiflora*. penebaran stok bibit *Chlorella* sp. murni dimasukkan kedalam botol kultur sesuai dengan kepadatan yaitu 10⁵ sel/ml. Menurut Satyantini dan Masithah (2008), penghitungan jumlah bibit plankton yang diperlukan untuk kultur menggunakan rumus :

$$V1 = \frac{N2 \times V2}{N1}$$

Keterangan:

V1 = Volume bibit untuk penebaran awal (ml)

N1 = Kepadatan bibit plankton (unit/ ml)

V2 = Volume media kultur yang dikehendaki (ml)

N2 = Kepadatan bibit plankton yang dikehendaki (unit/ ml)

F. Metode Pengukuran Kandungan Klorofil

1. Sebanyak 10 mL hasil kultur *Chlorella* sp. *disentrifuge* pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
2. Hasil supernatan *sentrifuge* dibuang dan pellet *Chlorella* sp. yang berada didasar tube diekstraksi dengan 10 mL metanol absolut, didistrupsi dengan homogenezer dan diinkubasi pada suhu 70 °C selama 2 menit
3. Setelah itu campuran *disentrifuge* pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit, filtrat yang diperoleh diukur serapannya pada panjang gelombang 645 nm dan 663 nm
4. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang 645 nm dan 663 nm (dengan larutan standarnya adalah aseton.)

Kandungan klorofil-*a* dan klorofil-*b* (larutan aseton 90%) menurut Serman (1988) :

$$a) \text{ Klorofil-}a = 11,93 A_{664} - 1,93 A_{647}$$

$$b) \text{ Klorofil-}b = 20,63 A_{647} - 5,50 A_{664}$$

Menurut pendapat Serman (1988) bahwa setelah nilai absorban diketahui maka selanjutnya nilai absorban dimasukkan kedalam rumus dibawah ini :

$$\mu\text{g klorofil dalam ekstrak} = (\text{volume dalam ekstrak, mL}) \times (\mu\text{g klorofil mL}^{-1})$$

$$\mu\text{mol klorofil dalam ekstrak} = \frac{\mu\text{g klorofil dalam absorban}}{\text{berat molekul klorofil}}$$

G. Metode pengukuran kandungan Beta Karoten (karotenoid)

1. Sebanyak 10 ml kultur disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit kemudian supernatan dibuang.

2. Hasil supernatan *sentrifuge* dibuang dan pellet *Chlorella* sp. yang berada didasar tube diekstraksi dengan 5 ml metanol dan 5 ml dietil eter.
3. Gabungan fraksi eter disaponifikasi dengan 2 ml metanol-KOH m(konsentrasi akhir basa 5%), diinkubasi selama 12 sampai 16 jam pada suhu ruang
4. Akan diperoleh dua lapisan, yaitu lapisan bawah berwarna hijau dan lapisan atas berwarna kuning.
5. Supernatan yang berwarna kuning diukur serapan pada panjang gelombang maksimum 450 nm.
6. Masukkan data absorbansi ke dalam rumus (Porra,2002)

$$\text{Karotenoid (mg/dm}^3\text{)} = (1000A_{450} - 3.27[\text{Klorofil a}] - 104 [\text{klorofil b}]/227)$$

H. Perhitungan Populasi *Chlorella* sp.

Pengamatan pertumbuhan *Chlorella* sp. dilakukan selama >7 hari setelah penebaran awal. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kepadatan populasi *Chlorella* sp. Perhitungan kepadatan *Chlorella* sp. dilakukan setiap pagi sekali dalam sehari (Maulida,2012). Penghitungan dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer* dan untuk memudahkan penghitungan digunakan *handtally counter*. Menurut Aujero (1982) dalam Saputro (2010), penghitungan menggunakan metode “*Small Block*” sebagai berikut :

1. Menghitung sel fitoplankton mulai dari sisi kiri kotak ke arah kanan kotak dan menghitung sel yang berada di dalam garis atau yang mendekati garis batas bagian dalam kotak.
2. Menjumlahkan penghitungan pada blok A, B, C, D, E pada bidang penghitungan bagian atas dan bagian bawah pada *haemocytometer*.

3. Menghitung kepadatan fitoplankton (sel/mL) dengan menggunakan rumus penghitungan “*Small Block*”.

$$\text{Kepadatan fitoplankton (sel/mL)} = \frac{nA + nB + nC + nD + nE}{5 \times 4 \times 10^{-6}}$$

Keterangan :

nA, nB, nC, nD : jumlah sel fitoplankton pada blok A, B, C, D dan E
 5 : jumlah blok yang dihitung
 4×10^{-6} : luas kotak kecil (A, B, C, D atau E)

I. Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran kualitas air pada kultur *Chlorella* sp. dilakukan setiap hari. Parameter kualitas air yang diamati meliputi pH, suhu dan salinitas air. Pengukuran pH menggunakan pH meter, pengukuran suhu menggunakan termometer dan pengukuran salinitas menggunakan refraktometer. Pengukuran terhadap pH dan suhu dilakukan dua kali sehari pada pukul 06.00 dan 17.00 dan salinitas dilakukan sekali sehari selama masa pemeliharaan. Rak kultur ditutupi dengan plastik hitam, agar suhu ruang stabil dan untuk menghindari kontaminan

4.3.3 Parameter Pengamatan

A. Parameter Utama

Parameter utama dalam pada penelitian ini adalah *Chlorella* sp. pengukuran kandungan klorofil dan karotenoid yang dilakukan setelah panen (± 7 hari).

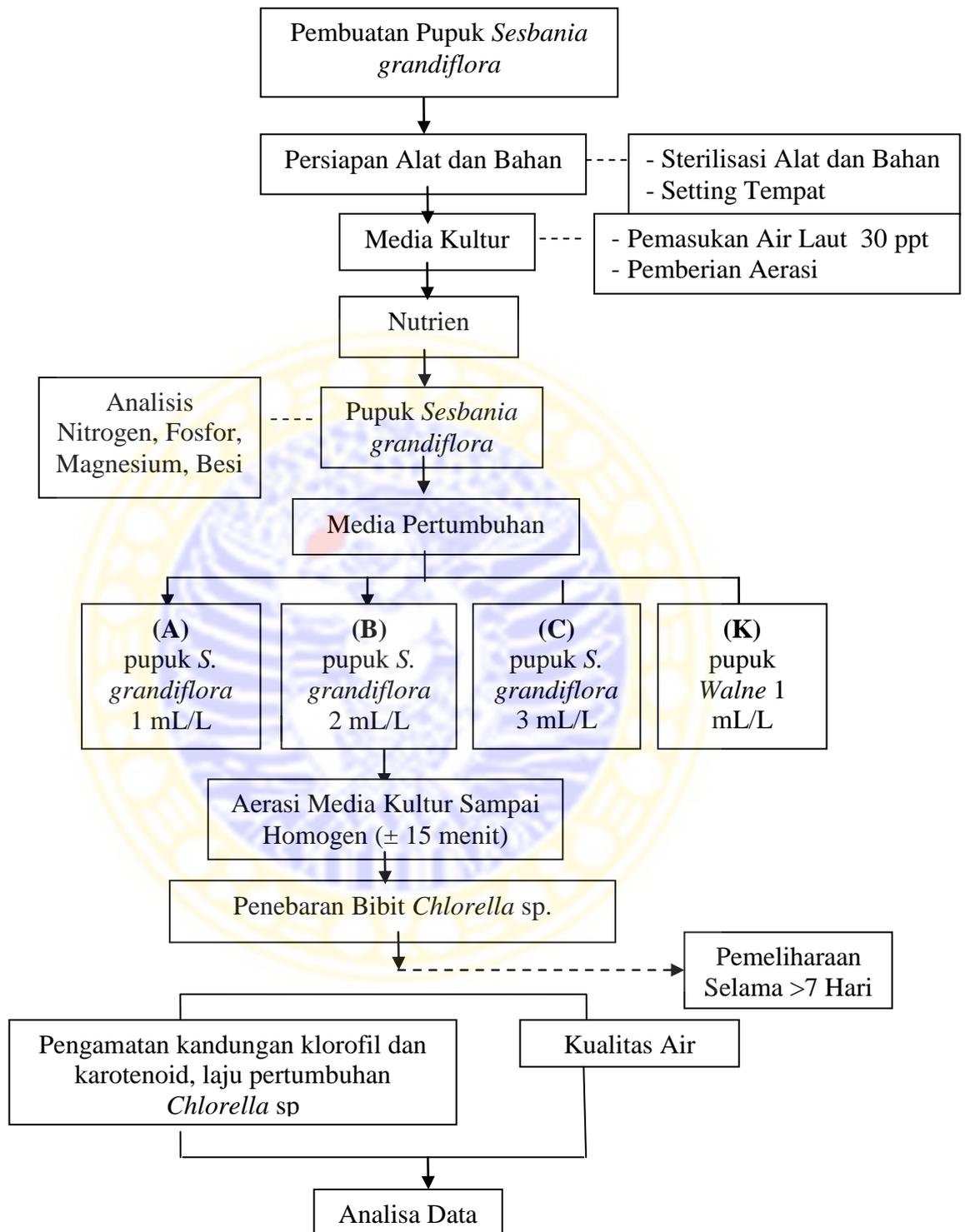
B. Parameter Pendukung

Parameter pendukung dalam penelitian ini adalah kepadatan *Chlorella* sp. dan juga parameter kualitas air yang terdiri dari pengamatan suhu, pH dan salinitas. Pengukuran suhu dilakukan tiga kali sehari menggunakan termometer,

pengukuran pH dilakukan tiga kali sehari menggunakan pH meter dan pengukuran salinitas dilakukan tiga kali sehari menggunakan refraktometer

4.3.4 Analisis Data

Penambahan pupuk cair daun turi (*S. grandiflora*) sebagai sumber nitrogen dan fosfor terhadap *Chlorella* sp. untuk meningkatkan kandungan klorofil dan karotenoid *Chlorella* sp. dianalisis dengan menggunakan analisis deskriptif yaitu metode yang menggambarkan keadaan atau kejadian pada obyek tertentu yang diteliti secara tepat. Azwar (1998) mengungkapkan bahwa metode deskriptif adalah metode untuk membuat pencandraan secara sistematis, faktual dan akurat mengenai fakta-fakta dan sifat-sifat populasi atau daerah tertentu.



Gambar 12. Bagan Rancangan Penelitian

V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

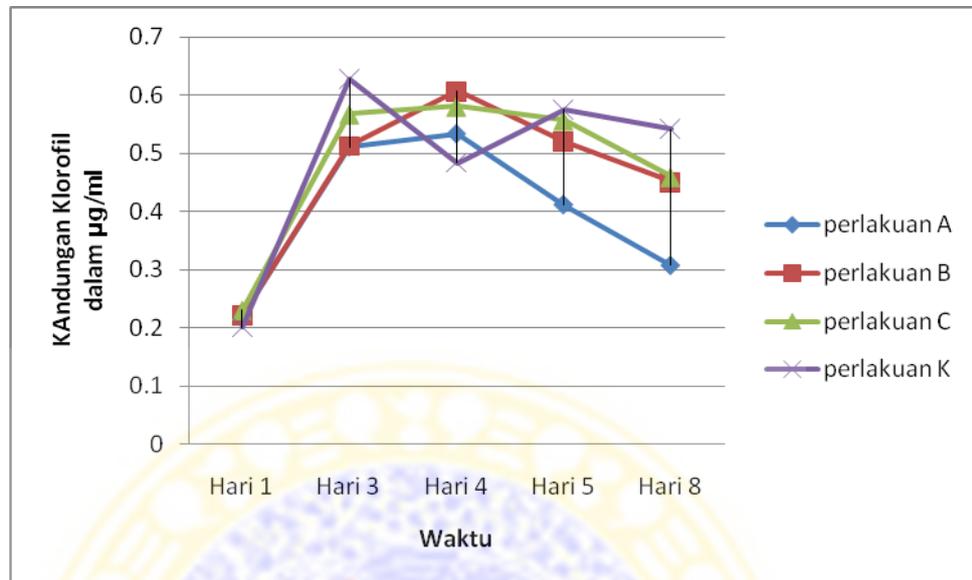
Hasil penelitian berupa data kandungan klorofil-a dan karotenoid sebagai data utama dan data pertumbuhan populasi *Chlorella* sp. sebagai data pendukung. Hasil penelitian tersebut digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian pupuk daun turi putih (*S. grandiflora*) terhadap kandungan klorofil dan karotenoid pada *Chlorella* sp. serta menentukan konsentrasi pupuk daun turi putih (*S. grandiflora*) yang optimum sehingga dapat menghasilkan kandungan klorofil dan karotenoid *Chlorella* sp. tertinggi yang dikultur dalam waktu 8 hari.

5.1.1 Kandungan klorofil *Chlorella* sp.

Klorofil-a *Chlorella* sp. diukur pada hari ke-satu (yang merupakan fase adaptasi), hari ke-tiga, hari ke-empat dan hari ke-lima (fase eksponensial) dan pada hari ke-delapan (fase penurunan) pertumbuhan populasi *Chlorella* sp. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif. Data kandungan klorofil setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. Sedangkan grafik kandungan klorofil dapat dilihat pada Gambar 13.

Tabel 2. Kandungan Klorofil *Chlorella* sp. Yang Dikultur Menggunakan Pupuk *S. grandiflora*

perlakuan	Kandungan Klorofil ($\mu\text{g/ml}$) Pada Perlakuan hari ke-				
	Hari 1	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 8
Perlakuan A (1ml/L)	0.2222	0.51126	0.53376	0.41166	0.30698
Perlakuan B (2ml/L)	0.22156	0.51284	0.60718	0.52058	0.45096
Perlakuan C (3ml/L)	0.2304	0.5674	0.58076	0.55698	0.45984
Perlakuan K (kontrol) (1ml/L)	0.20104	0.62808	0.48336	0.57518	0.54162



Gambar13. Grafik Rata-rata Kandungan Klorofil *Chlorella* sp. yang Dikultur Menggunakan Pupuk Daun Turi Putih (*S. grandiflora*) pada Hari Ke-satu, Ke-tiga, Ke-empat, Ke-lima dan Ke-delapan.

Keterangan:

Perlakuan A = Pemberian pupuk *S. grandiflora* dengan konsentrasi 1 mL/L

Perlakuan B = Pemberian pupuk *S. grandiflora* dengan konsentrasi 2 mL/L

Perlakuan C = Pemberian pupuk *S. grandiflora* dengan konsentrasi 3 mL/L

Perlakuan K = Pemberian pupuk Walne dengan konsentrasi 1 mL/L (Kontrol)

Pada Gambar 13. terlihat bahwa pada hari pertama, nilai kandungan klorofil rata-rata pada semua perlakuan adalah hampir sama yaitu berkisar pada nilai 0,2 µg/mL. Nilai kandungan klorofil-a tertinggi pada hari ketiga adalah pada perlakuan K yaitu sebanyak 0,6281 µg/mL. Pada hari ke-empat, nilai kandungan klorofil tertinggi pada perlakuan B yaitu 0,6072 µg/Ll, sementara kandungan klorofil pada perlakuan K menurun. Pada hari ke-lima, nilai kandungan klorofil pada semua perlakuan menurun, sementara pada perlakuan K (kontrol) meningkat

kembali. Selanjutnya, pada hari ke-delapan, semua perlakuan mengalami penurunan kandungan klorofil.

5.1.2 Kandungan karotenoid *Chlorella Sp.*

Pengukuran kandungan karotenoid dilakukan pada hari ke-satu, ke-lima, ke-tujuh, dan ke-delapan. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Data kandungan karotenoid setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3, sedangkan grafik kandungan karotenoid dapat dilihat pada Gambar14.

Tabel 3. Kandungan Karotenoid *Chlorella sp.* Yang Dikultur Menggunakan Pupuk *S. grandiflora*

Perlakuan	Kandungan Karotenoid ($\mu\text{g/ml}$) hari ke-			
	Hari 1	Hari 5	Hari 7	Hari 8
Perlakuan A	0.0478	0.2064	0.2232	0.2628
Perlakuan B	0.072	0.2232	0.213	0.2474
Perlakuan C	0.0875	0.2278	0.2238	0.239
Perlakuan K	0.08526	0.2356	0.2396	0.233



Gambar14. Grafik Rata-rata Kandungan Karotenoid yang Dikultur Menggunakan Pupuk *Sesbania grandiflora* Pada Hari Ke ke-satu, ke-lima, ke-tujuh, dan ke-delapan

Pada Gambar 14, secara umum terlihat bahwa kandungan karotenoid mengalami peningkatan pada hari ke-lima dan selanjutnya mencapai puncak pada

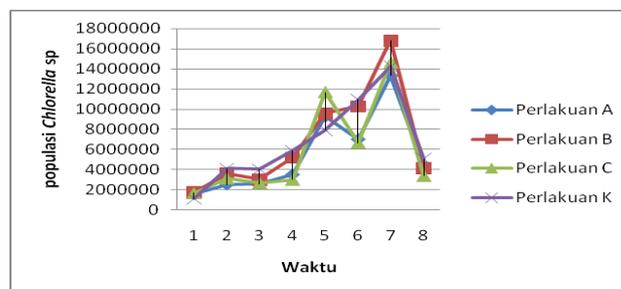
hari ke-delapan. Kandungan karotenoid tertinggi terjadi pada perlakuan A, pada hari ke-delapan, yaitu mencapai 0,2628 $\mu\text{g/ml}$.

5.1.3 Pertumbuhan Populasi *Chlorella* sp

Pertumbuhan populasi *Chlorella* sp. diukur dari hari ke-satu sampai ke-delapan. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Data populasi *Chlorella* sp. setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4, sedangkan grafik pertumbuhan populasi dapat dilihat pada Gambar 15.

Tabel 4. Data Rata-rata Kepadatan Populasi *Chlorella* sp. Setelah Dikultur Menggunakan Pupuk *Sesbania grandiflora* Pada Hari Pertama Hingga Hari Ke-delapan

Perlakuan	Populasi <i>Chlorella</i> sp. (10^4 sel/ml) Pada Hari Ke							
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 6	Hari 7	Hari 8
Perlakuan A	160	253	259	353	928	703	1333	439
Perlakuan B	176	363	303	521	956	1030	1682	416
Perlakuan C	170	314	271	303	1169	666,6	1460	341
Perlakuan K	114	412	405	589	793	1097	1427	507



Gambar 15. Grafik Rata-Rata Pertumbuhan Populasi *Chlorella* sp (sel/ml), Setelah Penambahan Pupuk *S. grandiflora* yang Dikultur Selama Delapan hari.

Berdasarkan Gambar 15. tampak bahwa secara umum, pola pertumbuhan populasi *Chlorella* sp. mengikuti pola pertumbuhan plankton pada umumnya, yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase spuncak dan fase penurunan pertumbuhan. Pada fase adaptasi, yaitu hari ke-0 sampai hari ke-satu, pertumbuhan populasi *Chlorella* sp. pada ketiga perlakuan (A, B dan C) relatif sama, sedangkan pada K (kontrol) relatif lebih rendah. Selanjutnya pada awal fase eksponensial (hari ke-tiga dan ke-empat), terjadi hal sebaliknya yaitu pertumbuhan *Chlorella* sp. pada K terjadi lebih tinggi dibanding pada ketiga perlakuan (A, B dan C). Pada hari ke-lima sampai hari ke-enam, perlakuan B dan K mengalami kenaikan pertumbuhan, sedangkan perlakuan A dan C mengalami penurunan. Pada hari ke-tujuh, semua perlakuan mengalami peningkatan pertumbuhan lagi dengan perlakuan B mencapai puncak pertumbuhan tertinggi yaitu $16,82 \times 10^6$ sel/ml. Pada hari ke-delapan, semua perlakuan mengalami penurunan pertumbuhan populasi *Chlorella* sp.

5.1.4 Kualitas Air

Pertumbuhan *Chlorella* sp. selain dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari selama penelitian. Hasil pengukuran rata-rata kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada lampiran. Pengukuran suhu air selama penelitian berkisar antara 30°C – 33°C . Salinitas berkisar antara 30-40 ppt, dan pH antara 7-8.

5.2 Pembahasan

Kandungan klorofil pada hari pertama pada semua perlakuan (A, B dan C) serta K rata-rata adalah hampir sama yaitu berkisar pada nilai 0,2 µg/ml. Hal ini diduga disebabkan karena pada umur satu hari perlakuan, perkembangan pembentukan klorofil belum menunjukkan peningkatan yang signifikan. Sesuai dengan pola pertumbuhan, bahwa pada hari pertama, umumnya plankton masih melakukan adaptasi, sehingga belum banyak hasil-hasil metabolisme yang diperoleh, termasuk peningkatan kandungan klorofil.

Selanjutnya, pada hari ke-tiga, kandungan klorofil-a mengalami peningkatan dengan nilai tertinggi adalah pada perlakuan K yaitu sebanyak 0,6281 µg/ml. Nilai kandungan klorofil tertinggi pada hari ke-tiga ini justru terjadi pada K, bukan pada perlakuan yang diberi pupuk *S. grandiflora*. Hal ini diduga disebabkan masih terdapat material ekstrak daun *S. grandiflora* yang belum mengalami degradasi secara sempurna sebelumnya. Dengan demikian, pada saat digunakan sebagai pupuk, maka proses dekomposisi terjadi dan hal ini mempengaruhi pembentukan klorofil. Walaupun pada penelitian ini, metode penyediaan pupuk *S. grandiflora* telah mengacu pada penelitian Umainana (2012) yang melakukan pemeraman selama 1 bulan, tetapi diduga karena perbedaan faktor lingkungan pemeraman, maka pada penelitian ini masih terdapat material *S. grandiflora* yang belum terdekomposisi dengan sempurna. Sedangkan pada K, ketersediaan nutrisi dari media air laut yang diberi Walne, mampu menyediakan nutrisi untuk pembentukan nutrisi. Hal ini sesuai dengan pendapat Menurut Nuriya, dkk.

(2010), ketersediaan nutrisi dan cahaya akan mempengaruhi pembentukan klorofil pada plankton.

Pada hari ke-empat, nilai kandungan klorofil tertinggi pada perlakuan B yaitu 0,6072 µg/ml, sementara kandungan klorofil pada perlakuan K menurun. Hal ini diduga, proses dekomposisi materi *S. grandiflora* pada perlakuan B (2 ml/L) telah terjadi sempurna dan menyediakan nutrisi untuk pembentukan klorofil. Sementara pada perlakuan K, nutrisi mulai menurun.

Pada hari ke-lima, nilai kandungan klorofil pada semua perlakuan menurun, sementara pada K meningkat kembali. Hal ini diduga, nutrisi pada semua perlakuan telah mengalami penurunan, sehingga mempengaruhi pembentukan klorofil. Sedangkan pada K, terjadi penyediaan nutrisi kembali sebagai hasil dekomposisi plankton yang mungkin mati pada hari sebelumnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Suantika dkk. (2009) yang mengatakan bahwa pada media pemeliharaan plankton dapat terjadi peningkatan nutrisi akibat plankton yang mati mengalami lisis.

Selanjutnya, pada hari ke-delapan, semua perlakuan mengalami penurunan kandungan klorofil. Hal ini diduga disebabkan nutrisi pada media tumbuh telah habis sehingga plankton mengalami fase penurunan, termasuk penurunan kandungan klorofil.

Kandungan karotenoid pada semua perlakuan (A, B dan C) serta K, secara umum mengalami peningkatan pada hari ke-lima. Hal ini sesuai dengan pertumbuhan populasi plankton yang mengalami peningkatan pada hari ke-lima. Namun selanjutnya, pada hari ke-delapan, dimana populasi *Chlorella* sp.

mengalami penurunan, kandungan karotenoid justru mengalami peningkatan. Hal ini sesuai dengan pendapat Tripanji dan Suharyanto (2001) yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan faktor-faktor yang lebih berperan terhadap kedua parameter tersebut. Rasio perbandingan N:P lebih berperan pada pertumbuhan plankton, sedangkan rasio perbandingan C:N:P:Mg lebih berperan pada pembentukan karotenoid. Pramushinta, dkk. (2012) juga mendapatkan hasil yang sejalan dengan penelitian ini

Secara umum, pola pertumbuhan populasi *Chlorella sp.* mengikuti pola pertumbuhan plankton pada umumnya, yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase puncak dan fase penurunan pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan pendapat Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), bahwa pola pertumbuhan plankton mengacu pada pola tertentu yang terdiri dari fase adaptasi, fase eksponensial, fase puncak, fase stasioner dan fase penurunan pertumbuhan. Pada penelitian ini, fase stasioner tidak tampak, diduga disebabkan karena fase stasioner pada penelitian ini terlalu pendek (tidak sampai 1 hari), sedangkan pengamatan kepadatan plankton dilakukan setiap 1 hari. Sehingga fase stasioner tidak tampak.

Pada fase adaptasi, yaitu hari ke-0 sampai hari ke-satu, pertumbuhan populasi *Chlorella sp* pada ketiga perlakuan (A, B dan C) relatif sama, sedangkan pada K (kontrol) relatif lebih rendah. Hal ini diduga karena *S. grandiflora* dapat menyediakan nutrisi yang lebih mendukung untuk pertumbuhan awal plankton. Selanjutnya pada awal fase eksponensial (hari ke-tiga dan ke-empat), terjadi hal sebaliknya yaitu pertumbuhan *Chlorella sp.* pada K terjadi lebih tinggi dibanding pada ketiga perlakuan (A, B dan C). Hal ini diduga berkaitan dengan masih

adanya sisa materi *S. grandiflora* yang menyebabkan terjadinya proses dekomposisi pada materi tersebut. Proses dekomposisi ini diduga mempengaruhi kualitas air dan pertumbuhan *Chlorella sp.*, yang berakibat pula terhadap kandungan klorofil (seperti dijelaskan pada pembahasan sebelumnya tentang klorofil).

Pada hari ke-lima menuju hari ke-enam, perlakuan B dan K mengalami kenaikan pertumbuhan, sedangkan perlakuan A dan C mengalami penurunan. Hal ini diduga, dosis perlakuan C (3 ml/L) terlalu tinggi, sehingga mempengaruhi kualitas air dan tidak mendukung pertumbuhan plankton. Sedangkan pada perlakuan A (1 ml/L) dosis perlakuan terlalu rendah, sehingga pada tahap ini, nutrisi telah berkurang. Perlakuan B tetap mengalami kenaikan pertumbuhan, diduga karena dosis pada perlakuan ini (2 ml/L) merupakan dosis paling optimum. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Umainana (2012) yang mendapatkan bahwa dosis perlakuan penggunaan pupuk *S. grandiflora* untuk pertumbuhan *Chlorella sp.* yang optimal adalah 2 ml/L.

Pada hari ke-tujuh, semua perlakuan mengalami peningkatan pertumbuhan kembali dengan perlakuan B mencapai puncak pertumbuhan tertinggi yaitu $16,82 \times 10^6$ sel/ml. Hal ini diduga karena ketersediaan nutrisi pada semua perlakuan mendukung untuk pertumbuhan populasi *Chlorella sp.*, baik yang tersedia sejak dari awal (perlakuan B dan K) maupun yang didukung oleh adanya dekomposisi lanjutan (perlakuan A dan C). Pada hari ke-delapan, semua perlakuan mengalami penurunan pertumbuhan populasi *Chlorella sp.* hal ini diduga disebabkan karena nutrisi yang tersedia telah habis.

Pembentukan klorofil *Chlorella* sp. dipengaruhi oleh kandungan nutrisi yang tersedia pada media kultur *Chlorella* sp. Salah satu unsur yang dibutuhkan oleh fitoplankton dalam proses pertumbuhan adalah nitrogen (N). Nitrogen merupakan bagian dari molekul klorofil, kekurangan unsur ini akan menghambat pembentukan klorofil. Menurut Lawlor (1993), nitrogen diperlukan sebagai bahan dasar penyusun protein dan pembentukan klorofil dalam proses fotosintesis. Kekurangan N akan berpengaruh terhadap penurunan jumlah pigmen (Richmond, 1986). Tidak tersedianya nutrisi akan mengakibatkan pertumbuhan *Chlorella* sp. terganggu. Oleh karena itu, dalam kultur dan peningkatan kandungan klorofil dan karotenoid *Chlorella* sp. sangat dibutuhkan bahan-bahan organik yang mengandung unsur nitrogen yang cukup (Brzezinski, 1985).

Perhitungan kandungan klorofil pada penelitian ini dilakukan pada hari pertama yang merupakan fase adaptasi *Chlorella* sp., hari ke-empat dan ke-lima yang merupakan fase eksponensial *Chlorella* sp. dan pada hari ke-delapan yang merupakan fase kematian *Chlorella* sp. Sedangkan perhitungan kandungan karotenoid pada penelitian ini dilakukan pada hari pertama yang merupakan fase adaptasi *Chlorella* sp., hari ke-lima dan ke-tujuh yang merupakan fase eksponensial *Chlorella* sp. dan pada hari ke-delapan yang merupakan fase kematian *Chlorella* sp.

Nitrogen dan fosfor berperan dalam pembentukan sel serta sebagai bahan dasar produksi klorofil yaitu asam amino glutamat. Glutamat selanjutnya mengalami reaksi deaminasi, reduksi dan transaminasi membentuk asam amino laevulinat (ALA). Pelepasan air dari asam amino-laevulinat menghasilkan

porphobilinogen, kemudian terjadi reaksi pelepasan NH_3 dan CO_2 dan membentuk protoporphyrinogen (Smith, 2002).

Menurut pendapat Arifin (2009) bahwa kandungan klorofil dalam fitoplankton tergantung ukuran individu fitoplankton, walaupun fitoplankton melimpah, tetapi bila ukuran kloroplasnya kecil maka butir klorofil yang terkandung dalam sel fitoplankton tersebut sedikit.

Hasil pengamatan pada perlakuan A (1 ml/L), B (2 ml/L), C (3 ml/L) dan K (Walne dengan dosis 1 ml/L) dengan fotoperiod 16 jam terang dan 8 jam gelap diperoleh kandungan klorofil tertinggi sebanyak 0.62808 $\mu\text{g/ml}$ pada perlakuan K (Walne 1 ml/L) pada hari ketiga. Sedangkan kandungan karotenoid tertinggi sebanyak 0.2628 $\mu\text{g/ml}$ pada perlakuan A (1 ml/L) pada hari kedelapan. Untuk mendapatkan kepadatan *Chlorella* sp tertinggi adalah perlakuan B (2 ml/L) pada hari ke-tujuh yaitu dengan kepadatan $16,82 \times 10^6$ sel/mL. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Umainana (2012) bahwa konsentrasi optimum pupuk daun turi untuk meningkatkan pertumbuhan *Chlorella* sp. adalah 2 ml/L. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi pupuk daun turi yang terlalu rendah atau terlalu tinggi menghasilkan klorofil dan pertumbuhan yang lebih rendah dibanding konsentrasi optimum. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi yang rendah, jumlah nutrisi juga rendah sehingga *Chlorella* sp. kekurangan nutrisi untuk berfotosintesis dan melakukan proses pertumbuhan. Sedangkan pada konsentrasi yang terlalu tinggi, efektivitas pemanfaatan nutrisi semakin rendah serta adanya perbedaan biovolume pada masing-masing individu fitoplankton (Mamduh, 2012).

Nutrien yang diberikan pada media kultur dalam jumlah berlebih dapat bersifat racun sehingga dapat menghambat pertumbuhan fitoplankton. Tingkat efektivitas pemanfaatan nutrisi dapat juga disebabkan kondisi media kultur yang semakin keruh akibat penumpukan pupuk organik. Semakin tingginya konsentrasi pupuk *Sesbania grandiflora* yang diberikan maka tingkat kekeruhan juga semakin tinggi, menyebabkan pemanfaatan cahaya oleh fitoplankton untuk fotosintesis semakin berkurang (Barus, 2004).

Pertumbuhan *Chlorella* sp. yang baik selain dipengaruhi oleh kandungan nutrisi juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan di dalam media pemeliharaan. Faktor lingkungan yang mendukung pertumbuhan *Chlorella* sp. adalah suhu, pH dan salinitas.

Suhu selama penelitian berkisar antara 30-33°C. Isnansetyo dan Kurniatuty (1995) menyatakan bahwa suhu optimal kultur *Chlorella* sp. skala laboratorium adalah 20-40 OC. Menurut Fachrullah (2011), perubahan suhu berpengaruh terhadap proses kimia, biologi dan fisika, peningkatan suhu dapat menurunkan suatu kelarutan bahan dan dapat menyebabkan peningkatan kecepatan metabolisme dan respirasi mikroalga di perairan.

pH pada media kultur *Chlorella* sp. Selama penelitian berkisar 7-9 artinya masih dalam batas normal bagi pertumbuhan *Chlorella* sp. Nilai pH merupakan faktor pembatas bagi pertumbuhan fitoplankton yakni apabila pH berada pada ambang batas normalnya (7-9) maka fitoplankton akan tumbuh dengan baik. Menurut (Fogg, 1963 dalam Rachmawati, 2002) Derajat keasaman optimal bagi pertumbuhan *chlorella* sp. adalah 8-9.

Salinitas pada media kultur *Chlorella* sp. berkisar antara 30-65 ppt. Pada kultur *Chlorella* sp. salinitas merupakan faktor yang sangat penting untuk mengatur keseimbangan kepekatan cairan atau tekanan osmotik dalam sel (Richmond, 1986). Kualitas air media kultur *Chlorella* sp. selama penelitian dapat disimpulkan sesuai dengan kebutuhan hidup *Chlorella* sp.



VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

- a. Penambahan pupuk cair *S.grandiflora* ke dalam media kultur *Chlorella* sp. tidak dapat meningkatkan kandungan klorofil. Sedangkan Penambahan pupuk cair *S.grandiflora* ke dalam media kultur *Chlorella* sp. dapat meningkatkan kandungan Karotenoid.
- b. Produksi klorofil tertinggi diperoleh pada perlakuan K sebanyak 0.62808 $\mu\text{g/mL}$ (Walne 1 mL/L) pada hari ke-tiga, produksi karotenoid tertinggi diperoleh pada perlakuan A sebanyak 0.2628 $\mu\text{g/mL}$ (1 mL/L) pada hari ke-delapan

6.2 Saran

Pupuk *S. grandiflora* dengan konsentrasi 2 ml/L disarankan untuk memproduksi *Chlorella* sp. yang memiliki kandungan karotenoid tertinggi. Perlu penelitian lebih lanjut dalam metode pembuatan pupuk *S. grandiflora* terutama tentang faktor-faktor yang mempengaruhi waktu pemeraman/fermentasi agar dekomposisi berjalan sempurna.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, S. L. M. 1990. Mengenal Apotik Hidup (Obat Asli Indonesia). Bahagia. Pekalongan. 50 hal
- Abu-Rezq TS, Al-Hooti S, Jacob D, Al-Shamali M, Ahmed A, and Ahmed N. Induction and extraction of β -Carotene from the Locally Isolated *Dunaliella salina*. *J. Algal Biomass Utiln.* 2010,1(4): 58-83
- Ahmad dan Ahmad, B. M. 1994. Ekologi Air Tawar. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur. 107-123.
- Andayani, T.R. 2009. Analisis Asam Lemak Mikroalga *Tetraselmis chuii*. Thesis. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Teknologi Sepuluh November.
- Anonymous. 1985. Budidaya Phytoplankton Seri Kesembilan. Sebuah Kerjasama Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Sub Balai Penelitian Budidaya Pantai Bojonegoro dengan Japan International Cooperation Agency (JICA). Serang. Banten
- Anggarwulan, E. dan Solichatun. 2007. Kajian Klorofil dan Karotenoid *Plantago major* L. dan *Phaseolus vulgaris* L. sebagai Bioindikator Kualitas Udara. Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta
- Arifin, R. 2009. Distribusi Spasial Dan Temporal Biomassa Fitoplankton (Klorofil-a) Dan Keterkaitannya Dengan Kesuburan Perairan Estuari Sungai Brantas, Jawa Timur. Skripsi. IPB. Bogor
- Armstrong, G.A. & Hearst, J.E. 1996. Carotenoids 2. Genetics and Molecular Biology of Carotenoid Pigment Biosynthesis. *FASEB Journal* 10, 228–237.
- Ashari, S. 1995. Hortikultura Aspek Budidaya. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. hal 89-102
- Aslan L.M. 1998. Budidaya Rumput Laut. Kanisius. Yogyakarta
- Atmojo, S. W. 2007. Mencari Sumber Pupuk Organik. Solo Pos. Fakultas Pertanian Universitas Negeri Solo. Solo. 5 hal.
- Balai Budidaya Laut Lampung. 2002. Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. Balai Budidaya Laut Lampung. 135 hal.
- Barus, T. A. 1996. Metode Ekologis Untuk Menilai Kualitas Suatu Perairan Lentik. Program Studi Biologi. Fakultas MIPA USU, Medan.

- Brautovic, I. 2000. The Influence of Light Intensity on Growth of the Marine Planktonic Alga *Chlorella* sp. Under Laboratory Conditions. Institute of Oceanography and fisheries. Dubrovnik, Croatia. 2 p.
- Brzezinski, M. A. 1985. The Si-C-N Ratio of Marine Diatoms: Interspecific Variability and The Effect of Some Environmental Variables. *J. Phycol.* 21:347–57.
- Button, G., Liaaen-Jensen, S., and Fanden, H.P. 2008. Carotenoids. volume 4, Birkhauser, Berlin.
- Carter, J.A. 1996. Introductory Course on Integrated Coastal Zone Management (Training Manual). Pusat Penelitian Sumber Daya Alam dan Lingkungan Universitas Sumatera Utara, Medan dan Pusat Penelitian Sumber Daya Manusia dan Lingkungan Universitas Indonesia, Jakarta; Dalhousie University, Environmental Studies Centers Development in Indonesia Project.
- Chowdhury, S. A., K. S. Huque and M. Khatun. 2001. Algae in Animal Production. Animal Production research Division, Bangladesh Livestock Research Institute. Bangladesh. Pp 1-13.
- Dalimartha. S. 2009. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 6. Pustaka Bunda. Jakarta. hal 163-164
- Day, R.A dan Underwood, A.L., 1992, Analisis Kimia Kuantitatif, edisi 5, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Davies, B.H. 1976. Carotenoids. Di dalam: T. W. Goodwin (Ed). Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Vol. 2. London: Academic Press.
- Diahsari, A. R. 2011. Teknik Kultur *Chlorella* sp. di Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara. PKL. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. 56 hal.
- Djarajah, A.S. 1995. Pakan Ikan Alami. Kanisius. Yogyakarta.
- Duke, J. A. 1983. Handbook of Energy Crops. (*unpublished*)
- Edhy, W. A., J. Pribadi, dan Kurniawan. 2003. Plankton di Lingkungan PT. Centralpertiwi Bahari Suatu Pendekatan Biologi dan Manajemen Plankton Dalam Budidaya Udang. Laboratorium Central Department Aquaculture Division PT. Centralpertiwi Bahari.

- Edhy, W. A. 2003. Plankton di Lingkungan PT. Central Pertiwi Bahari. Lab. Central Departement Aquacultur Division PT. Central Pertiwi Bahari
- Ekawati, A. W. 2005. Diktat Kuliah Budidaya Pakan Alami. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. hal. 3-48.
- Erliza, H. 2006. Jarak Pagar Tanaman Penghasil Biodiesel. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Evans, D. O., and P. P. Rotar. 1987. Sesbania in Agriculture. Westriew Press. London. Pp 192.
- Eyster, C. 1978. Nutrient Concentration Requirements for *Chlorella sorokiniana*.
- Fachrullah, M. R. 2011. Laju Pertumbuhan Mikroalga Penghasil Biofuel Jenis *Chlorella* sp. dan *Nannochloropsis* sp. yang Dikultivasi Menggunakan Air Limbah Hasil Penambangan Timah di Pulau Bangka. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. <http://www.repository.ipb.ac.id>. 25 September 2013. 103 hal
- Ferguson, M. N. 1956. A Text Book of Parnacognasy. The Macmillan Company, New York.
- Foog, C. E. 1980. Phytoplankton Primary Production in R.S.K Barnes and K.H Manned Fundamental of Aquatic Ecosystems. Blackwell Scientific Publication, Oxford
- Fraser, Paul D., Bramley, and Peter M., 2005 , Methodologies for the Analysis of Fungal Carotenoids”,DOI, Vol. 18, pp. 273-282.
- Fuskhah, E., S. Anwar., E. D. Purbajanti., R. D. Soetrisno., S. P. S. Budhi., and A. Maas. 2007. Eksplorasi dan Seleksi Ketahanan *Rhizobium* terhadap Salinitas dan Kemampuan Berasosiasi dengan Leguminosa Pakan. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro dan Fakultas Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta 32 (3) : 179-185
- Gutteridge, R. C., and H. M. Shelton. 1998. Forage Tree Legumes In Tropical Agriculture. Departement of Agriculture the University of Queensland. Australia. pp 1-2.
- Hall, D.O., and K.K. Rao. 1999. Photosynthesis. Sixth edition. Cambridge University Press
- Handayani, L. 2003. Pertumbuhan *Spirulina platensis* yang Dipupuk Dengan Pupuk Komersil dan Kotoran Puyuh Pada Konsentrasi Berbeda. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.

- Huang, G., Chen, F., Wei, D., Zhang, X., Chen, G., Biodiesel Production by Microalgae. Biotechnology, Elsevier, 2010, Vol. 87, 38 – 46.
- Hutabarat, S. 2000. Produktivitas Perairan dan Plankton. Telaah Terhadap Ilmu Perikanan dan Kelautan. Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang.
- Hutagulung, I. 2008. Pembuatan Pupuk Cair. Heifer International Indonesia. 2 hal
- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Kanisius. Yogyakarta. hal. 34-85.
- Jemiati. 2002. Pengaruh Perbedaan Salinitas Terhadap Pertumbuhan *Chlorella sp.* pada Media yang Diperkaya Dengan Limbah Pabrik Gula. Skripsi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang. Hal 1-46.
- Karuppasamy, K., S. Nagaraj., and K. Kathiresan. 2011. Stress Tolerant *Rhizobium* Enhances the Growth of *Samanea Saman* (JECQ) Merr. Madurai Kamaraj University. India 3 (6) : 278-284.
- Kurniawan, H dan Gunarto, L. 1999. Aspek Industri Sistem Kultivasi Sel Mikroalga Imobil. Buletin Agro Bio. BPBTP. Bogor.
- Kusnawidjaya, K. 1983. Peranan Cahaya Matahari Dalam Pendidikan IPA Terhadap Lingkungan Hidup. C.V. Genap jaya Baru, Jakarta:87.
- Kusriningrum, R. 2008. Perancangan Percobaan. Universitas Airlangga. Surabaya. hal. 43-51
- Lavens, P and P. Sorgelous. 1996. Manual on The Production of Use of Live Food for Aquaculture. Food and Agriculture Organization of The United Nation. FAO Fisheries Technical Paper 361.
- Leema, J. T. M., Kirubakaran, R., Vinithkumar, N. V., Dheenan, P. S., and Karthikayulu, S., 2010, High Value Pigment Production from *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* Cultured in Seawater, India.
- Lawlor, D. W. 1993. Photosynthesis. 2nd Edition. Longman Group UK Limited. London. P.9-23
- Mahendra, A. 2004. Teknik Kultur Diatom (*Coscinidicus sp.*) dalam Berbagai Media. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Airlangga. Surabaya

- Malkin, R. and Niyogi, K. 2000. Photosynthesis. In: Buchanan, B. B., Gruissem, W., and Jones, R., eds. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, pp. 575-577.
- Mamduh, A. 2012. Pengaruh Pemberian Pupuk *Azolla pinnata* Terhadap Kandungan Klorofil *Dunaliella salina*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga
- Menzel, D. W. and J. H. Ryther. 1960. The Annual Cycle of Primary Production in The Seagrass Sea of Bermuda. *Dep Se. Res.* 6:351-367.
- Miller, C.B. 2004. *Biological Oceanography*. United Kingdom. Blackwell Publishing
- Muthukannan P, Jayapriyan K, and Rengasamy, R. 2010, In Vitro Evaluation of β -Carotene Production in Two Different Strains of *Dunaliella Salina* Teodoresco (Chlorophyta) . *Biosci. Res.*, 1(2):83-87
- Nonomura, A. M., 1987. United States Patent: Process For Producing A Naturally Derived Carotene Oil Composition By Direct Extreaction From Algae, Patent Number 4,680,314.
- Nurachman, Z., Hartati., Syahfitri A., Anward, E.E., Novirani G., Mangindaan, B., Gandasasmita, S., Syah, Y.M., Panggabean, L.M.G., Suantika, G. 2012, Oil Productivity of The Tropical Marine Diatom *Thalassiosira* sp. *Bioresource Technology*, 108, 240 – 244.
- Nuriya, H., Hidayah, Z., Nugraha, W.A. 2010. Pengukuran Konsentrasi Klorofil-a dengan Pengolahan Citra Landsat ETM-7 dan Uji Laboratorium di Perairan Selat Madura Bagian Barat. *Jurnal Kelautan* 3 (1) : 60-65.
- Oh-Hama, T., Miyachi, S. 1988. *Chlorella*. In M. A. Borowitzka and L. J. Borowitzka (eds.). *Microalgal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge. pp.3-26.
- Palm, O., W. L. Weerakoon., M. A. P. D. Silva and Thomas. 1988. Nitrogen mineralization of *Sesbania sesban* used as green manure for lowland rice in Sri Lanka. *Plant and Soil*. Sri Lanka. 108 : 201-209.
- Panjaitan, T.D, B. Prasetyo, L. Limantara. 2008. Peranan Karotenoid Alami dalam Menangkal Radikal Bebas Di dalam Tubuh. Program Magister Biologi. Universitas Kristen Satya Wacana. Malang
- Panggabean, L. dan Sutomo. 1995. Pengaruh Limbah Budidaya Ikan terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. *Puslit Oseanografi*. LIPI. Hal 183-188.
- Parson TR. 1984. *Biological Oceanographic Processes*. Oxford : Pergamon Press.

- Prabowo, D. A. 2009. Optimasi Pengembangan Media untuk Pertumbuhan dari Mikroalga *Chlorella* sp. Puslit Oseanografi. LIPI. Hal 183-188.
- Pramusinta, M. 2012. Pengaruh Pemberian Pupuk Cair Limbah Ikan Lemuru Terhadap Kandungan Karotenoid *Spirulina Platensis*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga
- Prasetyo, A.Y. 2008. Evaluasi Daya Hasil 29 Genotipe. Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L) dan Hubungannya dengan Kadar Klorofil Daun. Fakultas Pertanian .IPB. Bogor.
- Pratama, T.A. 2009. Pigmen Fotosintetik. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika an Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Andalas. Padang
- Prihantini, N. B., B. Putrid an R. Yuniati. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* spp. dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan Variasi pH Awal. Makara Sains IX (1) : 1-6.
- Prescott, G. W. 1978. How to Know The Freshwater Algae. Third Editioj. University of Montana. The Picture Key Nature Series.
- Promya, J. Traichaiyaporn and S. Deming , R. 2008. Phytoremediation of Kitchen Wastewater by *Spirulina platensis* (Nordestedt) Geiteler: Pigmen content, Production Variable Cost and Nutritional Value. Maejo International Journal of Science and Technology, <http://www.mijst.mju.ac>. 2 (02), 159- 171
- Rachmawati, D. 2002. Pertumbuhan *Chlorella* sp, *Dunaliella salina*, *Phaeodactylum tricornutum*, dan *Anabaenopsis circularis* Dalam Rasio N/P Yang Berbeda Dalam Skala Laboratorium. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Ramachandra, T. V. 2011. Renewable energy transition: perspective and challenges. Energy India 2020. 175-183.
- Rao A.V. dan L.G. Rao. 2007. Carotenoids and human health. Pharmacological Research Disease Journal of the American College of Nutrition 55: 207–216.
- Retnani, D. A. 2011. Struktur Komunitas Plankton di Perairan Mangrove Angke Kapuk, Jakarta Utara. 2001. Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 100 hal.
- Richmond A. 1990. Handbook of Microalgal Mass Culture. CRC Press, Boca Raton, FL. ISBN 0-8493-3240-0.

- Redjeki, S. dan A. Ismail. 1995. Kultur Rotifer Dengan Sistem Pnen Harian Pada Salinitas Berbeda. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Subalitikandita Bojonegara-Serang. Pros. No 01/Pros./03/95 : 171-182.
- Riyono, H.S. 2007. Beberapa Sifat Umum dari Klorofil Fitoplankton. Bidang Dinamika Laut. Pusat Penelitian Oseanografi – LIPI: Jakarta
- Rochdianto, A. 2008. Manfaat Tanaman *Azolla pinata*. [http:// far 71 . wordpress. Com/ 2011/ 05/15/manfaat-tanaman-azolla/](http://far71.wordpress.com/2011/05/15/manfaat-tanaman-azolla/). 14 desember 2011.
- Rostini, I. 2007. Kultur Fitoplankton *Chlorella* sp. dan *Tetraselmis chuii* pada skala laboratorium. Karya Ilmiah. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjajaran. Jatinangor. 27 hal.
- Salisbury FB and Ross CW. 1992. Fisiologi Tumbuhan. Bandung. Penerbit ITB
- Saputro, H. 2010. Pemanfaatan Blotong Kering sebagai Pupuk untuk Peningkatan Pertumbuhan Populasi *Dunaliella salina*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. 64 hal.
- Sari, L. A. 2009. Pengaruh Penambahan $FeCl_3$ terhadap Pertumbuhan *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Media Asal Blotong Kering. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 5-13.
- Strickland, J.D.H. 1960. Measuring The Production of Marine Phytoplankton. Fish. Res. Bd. Canada, Bull. 122: 1-172
- Satyantini, W. H. dan E. D. Masithah. 2008. Diktat Penuntun Praktikum Budidaya Pakan Alami. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya. hal. 28 – 49.
- Serra, S. D., A. B. Serra, T. Ichinohe, T. Harumoto and T. Fujihara. 1996. Amount and Distribution of Dietary Minerals in Selected Philippine Forages. Faculty of Agriculture, Shimane University, Matsue-shi, Shiname. Japan, 9 (2) : 139-147
- Sharma, O. P. 1986. Textbook of Algae. Tata Mc GrawHill Publishing. Co Ltd. New Delhi
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., Roessler, P. 1998. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae. Laboratory NRE., US Department of Energy.
- Smith. E. Y. 2002. Terapi Sayuran. Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta

- Sterman, T. N. 1988. Spectrophotometric and Fluorometric Chlorophyll Analysis. In Lobban, S. C., D. J. Chapman and B. P. Kremer. Experimental Phycology, A laboratory Manual Cambridge University Press. New York. P. 35-39.
- Strickland, J.D.H. 1960. Measuring The Production of Marine Phytoplankton. Fish. Res. Bd. Canada, Bull. 122: 1-172
- Suantika, G. 2009. Efektivitas teknik kultur menggunakan sistem kultur statis, semi-kontinyu dan kontinyu terhadap produktivitas dan kualitas kultur *Spirulina* sp. J. Matematika dan Sains 14(2):1-9
- Suharyanto. 2011. *Spirullina platensis*. <http://databasea.rtikel.com/pendidikan/201112977-Spirullina-sp-sebagai-pakan-alami.html>. il 1 hal. 29
Novem ber 2100
- Sumarlinah. 2000. Hubungan Komunitas Fitoplankton dan Unsur Hara N dan P di Danau Sunter Selatan, Jakarta Utara. Skripsi. Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 62 hal.
- Suriawiria, U. 1987. Biomassa Alga Peran dan Manfaat *Chlorella*, Bandung.
- Suryanto, A. M. 2006. Diktat Planktonologi (Peranan Unsur Hara Bagi Fitoplankton). Departemen Pendidikan Nasional Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 60 hal.
- Sutrian, Y. 2004. Pengantar Anatomi Tumbuh-Tumbuhan Tentang Sel dan Jaringan. PT. Rineka Cipta. Jakarta.
- Sutomo. 2005. Kultur Tiga Jenis Mikroalga (*Tertselmis* dp., *Chlorella* sp. dan *Chaetoceros gracilis*) dan Pengaruh Kepadatan Awal terhadap Pertumbuhan *C. gracilis* di Laboratorium. Oseanografi dan Limnologi di Indonesia. No. 37 : 43-58
- Syamsuhidayat, S. S. dan J. R. Hutapea. 1991. Investaris Tanaman Obat Indonesia. Departemen Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Batu
- Sylvester, B., D.D. Nelvy, dan Sudjiharno. 2002. Persyaratan Budidaya Fitoplankton. Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. Prosiding Proyek Pengembangan Perekayasaan Teknologi Balai Budidaya Laut Lampung Hal: 24-36.

- Tjahjo, W. Erawati, L. dan Hanung, S. 2002. Biologi Fitoplankton. *Dalam* Budidaya fitoplankton dan Zooplankton. Balai Budidaya Laut, Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan. Bandar Lampung. Hal. 3-23.
- Tripanji dan Suharyanto, 2001. Optimization Media from Low-COH Nutrient Sources for Growing *Spirulina plantesis* and Carotenoid Production”, Menara Perkebunan.
- Taw, N. 1990. Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murni dan Massal Mikroalga (Terjemahan oleh Budiono Martosudarmo dan Indah Wulani). Proyek Pengembangan Budidaya Udang FAO/UNDP.
- Tim Nasional Pengembangan BBN. 2007. BBN Bahan Bakar Nabati. Jakarta: Penebar Swadaya
- Umairan, M. R. 2012. Pengaruh Konsentrasi Pupuk Daun Turi Putih (*Sesbania grandiflora*) Terhadap Populasi *Chlorella* sp. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga.
- Vashista, B. R. 1979. Botany For Degree Students Part 1.algae.7thed. S. Chand & Company Ltd. Ram Nagar, New Delhi-110055. pp. 135-136.
- Wasis, M. 2009. Produksi Pakan Alami. <http://nutrakol.com>. 17 desember 2011. 3.p.
- Wiadnya, G. R. 1994. Analisis Laboratorium Tanah Dan Kualitas Air. Jurusan PTA, Fakultas Pasca Sarjana, Universitas Brawijaya. Malang. 78 hal.
- Widianingsih., A. Ridho., R. Hartati., dan Harmoko. 2008. Kandungan Nutrisi *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Media yang Berbeda. Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. Tembalang, 13 (3) : 167-170.
- Winarsi, Hery. 2007. Antioksidan alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Yogyakarta: Kanisius.
- Yuwono, T. 2006. Bioteknologi Pertanian. Yogyakarta: UGM press.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Pengujian Kimia Kandungan *Sesbania grandiflora*



Lampiran 2. Data Rata-rata Hasil Pengukuran Kualitas Air

DATA HASIL PENGUKURAN KUALITAS AIR						
Hari	Suhu		PH		Salinitas	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
1	30	31	8	8	31	33
2	30	32	7	8	30	32
3	31	33	8	7	35	39
4	30	32	8	9	32	37
5	31	31	7	8	34	37
6	30	32	7	8	32	38
7	31	33	8	9	33	36
8	30	32	7	8	34	40



Lampiran 3. Data Kandungan Klorofil *Chlorella* sp. dalam ($\mu\text{g/mL}$) Pada Hari Ke-1 Sampai Hari Ke-8.

Kandungan Klorofil a pada *Chlorella* sp.

Perlakuan dan Ulangan	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 6	Hari 7	Hari 8
A1	0.244	0.503	0.6331	0.6508	0.5073	0.874	0.3138	0.3138
A2	0.312	0.369	0.4216	0.5592	0.4115	0.4199	0.27386	0.2738
A3	0.165	0.453	0.572	0.5176	0.398	0.3337	0.2919	0.2919
A4	0.172	0.359	0.4219	0.3157	0.3219	0.3138	0.2758	0.2758
A5	0.218	0.2119	0.5077	0.6255	0.4196	0.3777	0.3796	0.3796
Jumlah	1.111	1.8959	2.5563	2.6688	2.0583	2.3191	1.53496	1.5349
Rata-Rata	0.2222	0.37918	0.51126	0.53376	0.4117	0.46382	0.30699	0.307
B1	0.253	0.5212	0.0338	0.7047	0.4754	0.502	0.3318	0.3318
B2	0.253	0.5988	0.5993	0.623	0.647	0.4792	0.3657	0.3715
B3	0.313	0.4645	0.5932	0.5255	0.4858	0.3777	0.3337	0.4576
B4	0.227	0.5293	0.9702	0.8489	0.597	0.5989	0.3357	0.6743
B5	0.0618	0.3119	0.3677	0.3338	0.3977	0.4873	0.4073	0.4196
Jumlah	1.1078	2.4257	2.5642	3.0359	2.6029	2.4451	1.7742	2.2548
Rata-Rata	0.22156	0.48514	0.51284	0.60718	0.5206	0.48902	0.35484	0.451
C1	0.335	0.5332	0.5035	0.5576	0.4491	0.4754	0.2919	0.5212
C2	0.118	0.3818	0.5796	0.4915	0.6131	0.4754	0.3258	0.4634
C3	0.207	0.4335	0.6631	0.7357	0.5207	0.4493	0.2819	0.3715
C4	0.171	0.8293	0.6012	0.4974	0.7943	0.9086	0.3257	0.4935
C5	0.321	0.3518	0.4896	0.6216	0.4077	0.4296	0.3557	0.4496
Jumlah	1.152	2.5296	2.837	2.9038	2.7849	2.7383	1.581	2.2992
Rata-Rata	0.2304	0.50592	0.5674	0.58076	0.557	0.54766	0.3162	0.4598
D1	0.191	0.4057	0.4897	0.3977	0.3738	0.2937	0.3138	0.3138
D2	0.411	0.4115	0.5511	0.4277	0.4038	0.43158	0.557	0.5273
D3	0.211	0.4974	0.9927	0.4491	0.8605	0.8218	0.3457	0.3958
D4	0.171	0.6793	0.5196	0.6469	0.7243	0.6566	0.3157	0.5093
D5	0.0212	0.0347	0.5873	0.4954	0.5135	0.597	0.4415	0.9619
Jumlah	1.0052	2.0286	3.1404	2.4168	2.8759	2.80068	1.9737	2.7081
Rata-Rata	0.20104	0.40572	0.62808	0.48336	0.5752	0.56014	0.39474	0.5416

Lampiran 4. Data Kandungan Karotenoid *Chlorella* sp. dalam ($\mu\text{g/mL}$) Pada Hari Ke-1, 5, 7 Sampai Hari Ke-8.

Karotenoid *Chlorella* dalam ($\mu\text{g/ml}$)

Perlakuan dan Ulangan	Hari 1	Hari 5	Hari 7	Hari 8
A1	0.0368	0.184	0.209	0.242
A2	0.0552	0.202	0.217	0.246
A3	0.0478	0.231	0.242	0.272
A4	0.0404	0.235	0.235	0.29
A5	0.0588	0.18	0.213	0.264
Jumlah	0.239	1.032	1.116	1.314
Rata-Rata	0.0478	0.2064	0.2232	0.2628
B1	0.077	0.209	0.209	0.25
B2	0.0625	0.22	0.217	0.246
B3	0.0699	0.213	0.239	0.246
B4	0.0736	0.272	0.198	0.253
B5	0.077	0.202	0.202	0.242
Jumlah	0.36	1.116	1.065	1.237
Rata-Rata	0.072	0.2232	0.213	0.2474
C1	0.077	0.224	0.22	0.246
C2	0.092	0.217	0.198	0.276
C3	0.0883	0.235	0.257	0.228
C4	0.0846	0.217	0.213	0.228
C5	0.0956	0.246	0.231	0.217
Jumlah	0.4375	1.139	1.119	1.195
Rata-Rata	0.0875	0.2278	0.2238	0.239
D1	0.103	0.224	0.29	0.224
D2	0.099	0.209	0.217	0.239
D3	0.0588	0.231	0.239	0.228
D4	0.0699	0.279	0.224	0.25
D5	0.0956	0.235	0.228	0.224
Jumlah	0.4263	1.178	1.198	1.165
Rata-Rata	0.08526	0.2356	0.2396	0.233

Lampiran 5. Data Kepadatan Populasi *Chlorella* sp. dalam ($\mu\text{g/mL}$) Pada Hari Ke-1 Sampai Hari Ke-8.
Kepadatan pada *chlorella* sp.

Perlakuan dan Ulangan	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 6	Hari 7	Hari 8
A1	2850000	2450000	1600000	3850000	11750000	9150000	18200000	3950000
A2	1750000	3100000	1100000	3800000	5000000	5350000	19350000	5250000
A3	1550000	4150000	3100000	3500000	5650000	7200000	11000000	7750000
A4	950000	1700000	3000000	4500000	19350000	5850000	11100000	3300000
A5	900000	1250000	4150000	2000000	4650000	7600000	7000000	1700000
Jumlah	8000000	12650000	12950000	17650000	46400000	35150000	66650000	21950000
Rata-Rata	1600000	2530000	2590000	3530000	9280000	7030000	13330000	4390000
B1	2100000	3100000	2950000	9200000	6200000	11200000	13450000	7000000
B2	1500000	4300000	1800000	4350000	17750000	11300000	10700000	3950000
B3	3000000	4100000	3500000	6250000	10450000	10000000	26750000	3600000
B4	1250000	4500000	3400000	4450000	7100000	12000000	11300000	4250000
B5	950000	2150000	3500000	1800000	6300000	7000000	21900000	2000000
Jumlah	8800000	18150000	15150000	26050000	47800000	51500000	84100000	20800000
Rata-Rata	1760000	3630000	3030000	5210000	9560000	10300000	16820000	4160000
C1	2000000	4050000	1500000	5850000	6900000	7800000	14800000	4050000

C2	1600000	1600000	2600000	2700000	3650000	5450000	12800000	3900000
C3	1900000	3750000	3900000	2650000	32500000	5580000	16200000	3350000
C4	1450000	4050000	3300000	2300000	8550000	6900000	14850000	3400000
C5	1550000	2250000	2250000	1650000	6850000	7600000	14350000	2350000
Jumlah	8500000	15700000	13550000	15150000	58450000	33330000	73000000	17050000
Rata-Rata	1700000	3140000	2710000	3030000	11690000	6666000	14600000	3410000
D1	1650000	5200000	2050000	6850000	13750000	12550000	18000000	7350000
D2	1450000	3750000	2400000	4950000	7400000	9100000	11650000	6650000
D3	750000	4000000	3000000	12150000	7150000	11150000	13750000	3850000
D4	1300000	4500000	10150000	2750000	7500000	13250000	14650000	4600000
D5	550000	3150000	2650000	2750000	3850000	8800000	13300000	2900000
Jumlah	5700000	20600000	20250000	29450000	39650000	54850000	71350000	25350000
Rata-Rata	1140000	4120000	4050000	5890000	7930000	10970000	14270000	5070000

