ISSN : 2621 - 1475

Optimalisasi Konsentrasi Pupuk Walne untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Kandungan Lipid *Chlorella* sp. sebagai Bahan Baku Alternatif Biofuel

Optimization of Fertilizer Concentration to Improve Growth and Lipid Content of Chlorella sp. *as an Alternative Raw Material Biofuel*

Wa Ode Reniyati[1*)], Haslianti[1)], Indriyani Nur[2)]
[1)]Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Halu Oleo Jalan H.E.A Mokodompit Kampus Bumi Thridarma, Anduonohu, Kendari, Indonesia
[2)]Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Halu Oleo, Jalan H.E.A Mokodompit Kampus Bumi Thridarma
Corresponding author : waodereniyati@gmail.com

Cara sitasi: Reniyati WO, Haslianti, Nur I. 2026. Optimalisasi Konsentrasi Pupuk Walne untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Kandungan Lipid *Chlorella* sp. sebagai Bahan Baku Alternatif Biofuel. *Jurnal Fish Protech, 9*(2): 183-191.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of varying concentrations of Walne fertilizer on the growth and lipid accumulation of *Chlorella* sp. as a potential alternative raw material for biofuel. A Completely Randomized Design (CRD) was used with four treatment levels (0.5 mL/L, 1 mL/L, 1.5 mL/L, and 2 mL/L) and three replications. Observed parameters included cell density, specific growth rate, biomass (*Dry Weight* and *Ash Free Dry Weight*), and lipid content. The results showed that the 1 mL/L treatment yielded the highest cell density (66.41×10^4 cells/mL) and lipid content (6.04%). Analisis Of Variance (ANNOVA) showed that Walne concentration significantly affected cell density, biomass productivity, and lipid content, while no significant effect was observed on specific growth rate. These findings indicate that Walne fertilizer concentration significantly affects the growth and lipid content of *Chlorella* sp., with 1 mL/L identified as the optimal concentration for microalgae-based biofuel production.

Keywords: *Biofuel, Biomass, Growth Nutrient, Lipid, Microalgae.*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh variasi konsentrasi pupuk Walne terhadap pertumbuhan dan akumulasi lipid mikroalga *Chlorella* sp. sebagai bahan baku alternatif biofuel. Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan konsentrasi mikroalga (0,5 mL/L, 1 mL/L, 1,5 mL/L, dan 2 mL/L) dengan tiga kali ulangan. Parameter yang diamati meliputi kepadatan sel, laju pertumbuhan, biomassa (berat kering dan berat kering bebas abu), serta kandungan lipid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan 1 mL/L memberikan hasil terbaik dengan kepadatan sel tertinggi sebesar $66{,}41\times10^4$ sel/mL dan kandungan lipid sebesar 6,04%. Uji statistik Analisis of varians (ANOVA) menunjukkan bahwa konsentrasi Walne secara signifikan memengaruhi kepadatan sel, produktivitas biomassa, dan kandungan lipid. Sementara tidak ada pengaruh signifikan yang diamati pada laju pertumbuhan spesifik. Temuan ini menunjukkan bahwa konsentrasi pupuk Walne berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan kandungan lipid *Chlorella* sp., dengan konsentrasi 1 mL/L sebagai konsentrasi optimal untuk produksi biofuel berbasis mikroalga.

Kata Kunci: *Biofuel, Biomassa, Lipid, Mikroalga, Nutrien Tumbuh*

ISSN : 2621 - 1475

PENDAHULUAN

Sumber energi dunia sudah mengalami beberapa kali perubahan, dari yang awalnya mayoritas menggunakan biomassa seperti kayu bakar untuk memenuhi kebutuhan energinya, berubah menjadi fosil seperti batu bara, minyak dan gas bumi yang dipicu revolusi industri pada tahun 1900-an. Penggunaan energi fosil yang semakin tinggi menyebabkan kenaikan emisi gas rumah kaca sehingga iklim menjadi tidak stabil serta meningkatnya suhu bumi dan permukaan air laut. Indonesia sangat konsen terhadap pengembangan penggunaan Energi Baru Terbarukan (EBT). Terbukti pada Peraturan Pemerintah No. 79 tahun 2014 tentang Kebijakan Energi Nasional (KEN) dan Peraturan Presiden No. 22 tahun 2017 tentang Rencana Umum Energi Nasional (RUEN) memiliki target penggunaan EBT pada tahun 2025 dan 2050 masing masing sebesar 23% dan 31% dari total kebutuhan energi nasional (Republik Indonesia, 2017). Akan tetapi sampai tahun 2020 realisasi pangsa EBT baru mencapai 11,31% (KESDM, 2021). Konsumsi energi nasional sampai tahun 2021 masih didominasi oleh minyak bumi, gas alam, dan batu bara, sedangkan pemanfaatan energi terbarukan masih sangat rendah. Hal ini menunjukkan urgensi dalam mencari sumber energi alternatif yang berkelanjutan dan ramah lingkungan.

Salah satu sumber energi alternatif yang menjanjikan adalah biofuel berbasis mikroalga. Mikroalga merupakan organisme autotrofik yang memiliki potensi besar dalam menghasilkan senyawa lipid, yang dapat dikonversi menjadi biodiesel melalui proses transesterifikasi. Keunggulan mikroalga seperti laju pertumbuhan tinggi, kemampuan hidup di lingkungan ekstrim, dan tidak bersaing dengan lahan pertanian, menjadikannya sebagai kandidat ideal untuk produksi biofuel. Mikroalga merupakan salah satu jenis tumbuhan air tingkat rendah yang berukuran kecil atau biasa di sebut renik (tidak dapat dibedakan antara batang, akar dan daunnya). Mikroalga umumnya banyak dipakai sebagai pakan alami. Pada mikroalga terkandung biomassa berupa nutrient seperti lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat. Banyaknya kandungan nutrient tersebut tergantung dari jenis mikroalga itu sendiri. Sedangkan mikroalga juga mengandung minyak yang mencapai angka sebesar 70% dari total berat keringnya (Laigh *et al.,* 2019)

Mikroalga juga tidak bersaing dengan tanaman pangan, karena dapat dibudidayakan di media berbasis air laut atau hipersalin. Penelitian oleh Indrayani *et al*. (2021) menunjukkan bahwa *Nannochloropsis* sp. UHO3, yang diisolasi dari perairan Kendari, Sulawesi Tenggara, memiliki toleransi salinitas yang luas (2-7% NaCl) dengan produktivitas lipid tertinggi pada salinitas 3-4% NaCl. Kemampuan ini membuatnya ideal sebagai bahan baku biodiesel karena selain produktivitas lipid yang tinggi, mikroalga ini juga tahan terhadap kontaminasi dalam lingkungan hipersalin. *Chlorella* sp. merupakan salah satu spesies mikroalga hijau dari filum *Chlorophyta* yang dikenal memiliki kandungan lipid yang tinggi serta mampu tumbuh dalam berbagai kondisi lingkungan. Dalam proses budidayanya, media kultur memegang peran penting dalam menentukan produktivitas biomassa dan kandungan lipid mikroalga. Pupuk Walne merupakan salah satu media kultur sintetis yang mengandung unsur hara makro dan mikro lengkap, yang secara luas digunakan dalam budidaya mikroalga. Keberhasilan produksi biodiesel dari mikroalga tidak hanya bergantung pada spesies yang digunakan, tetapi juga pada media kultur yang optimal. Salah satu media yang sering digunakan adalah pupuk Walne. yang mengandung unsur hara mikro dan makro yang mendukung pertumbuhan mikroalga hijau seperti *Chlorella* sp. (Budiono *et al.,* 2018).

Pupuk Walne merupakan salah satu jenis media yang memiliki unsur makronutrien seperti N, P dan mikronutrien seperti Fe, Mn, Cl, Na, Bo dan lain lain. Beberapa penelitian telah menguji media ini pada kultur rumput laut. Amini & Parenrengi (1995) pertumbuhan *E. cottoni* tertinggi pada dosis 1 mL/L yaitu 13,5 %/hari, panjang tunas 6,50 mm dan jumlah tunas 4. Irawati *et al.* (2016) rata rata pertumbuhan mutlak terbaik *K. alvarezii* adalah 2,13 g dan pertumbuhan spesifik harian 0,54 %/hari dengan kadar dosis 2 mL/L. Nurazizah *et al.* (2020) pertumbuhan Gracilaria sp. pada perbedaan konsentrasi yang berbeda (0,5 mL; 1 mL; 1,5 mL) hasil terbaik pada perlakuan 0,5 mL/L dengan rata-rata 13,41 %. Dari beberapa penelitian terdahulu tersebut, dapat disimpulkan bahwa adanya peningkatan konsentrasi pupuk Walne dapat mempengaruhi pertumbuhan spesifik dari *Gracilaria* sp. Penggunaan pupuk Walne dinilai lebih baik untuk meningkatkan pertumbuhan mikroalga hijau dibandingkan dengan media pupuk lainya karena kandungan nutrisinya yang lebih baik (Putri & Alaa, 2019). Penelitian Wardani *et al.* (2022) menyatakan bahwa pemberian pupuk Walne dengan konsentrasi 1,5 mL/L menghasilkan laju pertumbuhan mikroalga jenis *T. chui* memiliki nilai paling tinggi jika dibandingkan dengan pemberian pupuk 1 mL/L yang memiliki nilai laju pertumbuhan terendah. Pupuk Walne mengandung N (NaNO3) sebanyak 100,09 g/L dan P (NaH2PO4) sebanyak 20 g/L Jati *et al*. (2012). Selain itu mikronutrien yang terkandung dalam pupuk Walne antara

ISSN : 2621 - 1475

lain Fe, Cu, Co, Zn dan Mn (Wardani *et al.,* 2022).

Musdalifah & Rinjani (2022), menyatakan bahwa penggunaan pupuk Walne dengan konsentrasi 1,5 mL/L menghasilkan laju pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* yang tertinggi yaitu 0,2244/hari, sedangkan dengan konsentrasi 2 mL/L menghasilkan laju pertumbuhan yaitu 0,1363/hari. Hasil penelitian dari Wardani et al. (2022), menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi pupuk Walne 1,5 mL/L dan 2 mL/L tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan laju pertumbuhan dan kandungan klorofil-a mikroalga *Chlorella* sp. Sementara penelitian Setyaningsih *et al.* (2020) menggunakan pupuk Guillard dapat meningkatkan biomassa Porphyridium sp. dan produksi ekstra seluler polisakarida. Kombinasi pupuk Walne dan pupuk Guillard diharapkan mampu melengkapi nutrisi terutama unsur vitamin ataupun unsur mikro yang tidak lengkap jika menggunakan salah satunya saja. Berdasarkan uraian di atas, maka perlunya dilakukan penelitian penggunaan pupuk Walne dan Guillard pada kultur fitoplankton *Chlorella* sp. Komposisi dan konsentrasi pupuk Walne dapat mempengaruhi akumulasi lipid dalam sel mikroalga, yang berperan penting dalam menentukan efisiensi konversi biodiesel.

Variasi konsentrasi pupuk Walne berpotensi memengaruhi proses metabolisme mikroalga, termasuk akumulasi lipid. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa peningkatan atau pengurangan unsur hara seperti nitrogen dan fosfor dalam media dapat meningkatkan sintesis lipid sebagai respons terhadap kondisi stres nutrien. Namun, konsentrasi optimal yang mendukung pertumbuhan dan akumulasi lipid tertinggi pada *Chlorella* sp. masih memerlukan pengkajian lebih lanjut. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh variasi konsentrasi pupuk Walne terhadap akumulasi lipid *Chlorella* sp., serta menentukan konsentrasi optimal yang dapat digunakan dalam produksi biofuel berbasis mikroalga.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik merk Cheetah FA2204B, labu erlenmeyer, gelas ukur, kamera hp (iphone), mikroskop cahaya (Leica DM500), *hand counter* (Joyko), *autoclave* (Wiseclave), *hand refractometer* (Itago), tanur, rak tabung reaksi, mikropipet (Boeco sp series), *blue tip* (Axegen), oven, *haemocytometer* (Aquatic), *vacum pum* merk (Lab Boro.3.3), lampu, kertas label, aluminium foil, galon, kapas. Bahan yang digunakan yaitu pupuk Walne, *Chlorella* sp., air laut steril, chlorofom, aquades, kertas saring whatman gf/a, alkohol 70%, dan methanol.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang telah di siapkan kemudian dilakukan proses sterilisasi dengan menggunakan autoclave dengan suhu 121ºC selama 15-20 menit. Tujuan proses sterilisasi ini yaitu agar mematikan mikroorganisme yang hidup pada alat tersebut.

Persiapan Media Kultur

Media kultur berbasis pupuk Walne disiapkan dengan variasi konsentrasi berbeda (misalnya konsentrasi pupuk Walne 0.5 mL/L kultur mikroalga *Chlorella* sp. konsentrasi pupuk Walne 1mL/L kultur mikroalga *Chlorella* sp., konsentrasi pupuk Walne 1.5 mL/L kultur mikroalga *Chlorella* sp., konsentrasi pupuk Walne dan 2 mL/L kultur mikroalga *Chlorella* sp.)

Kultur Mikroalga

Tahap kultur mikroalga diawali dengan tahapan kultivasi. Kultivasi mikroalga merupakan teknik perbanyakan untuk memenuhi kebutuhan stok mikroalga (Widiyanto *et al.,* 2014). Mikroalga *Chlorella* sp. dengan kepadatan 105 sel.mL^{-1} dimasukan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi media dan air laut steril dengan volume awal 100 mL per perlakuan Sistem kultur batch digunakan dalam wadah steril. Tahap selanjutnya yaitu tahapan variasi perlakuan, Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari empat perlakuan kultur mikroalga dengan tiga ulangan. Variasi perlakuan adalah variasi konsentrasi pupuk Walne. yaitu: P1: 0,5 mL/L konsentrasi pupuk Walne standar, P2: 1 mL/L konsentrasi pupuk Walne standar, P3: 1,5 mL/L konsentrasi pupuk Walne standar, P4: 2 mL/L konsentrasi pupuk Walne standar. Tahapan yang terakhir yaitu tahap menjaga kondisi kultur, yang meliputi menjaga kestabilan suhu ruangan yang dipertahankan pada (25–30°C)

Penghitungan dan Pemanenan

Setelah melakukan tahapan diatas, kultur kemudian dilakukan penghitungan pertumbuhan dimana pada perhitungan ini dilakukan penghitungan jumlah sel dengan mengambil 1 mL menggunakan mikropipet dan diteteskan pada haemocytometer. Kemudian kepadatan sel diukur setiap 2 hari sekali selama 7 hari menggunakan haemocytometer dan mikroskop cahaya dengan

ISSN : 2621 - 1475

pembesaran 40x yang dimulai pada hari pertama sampai mencapai fase stasioner awal. Penghitungan kepadatan dengan menggunakan hand counter, dan dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{n}{5} \; \frac{x}{100.000}$$

Keterangan:
n = Total sel hasil perhitungan
5 = Jumlah kotak dalam Haemocytometer
100.000 = Volume kerapatan sel kotak

Proses selanjutnya yaitu proses pemanenan yang dilakukan pada hari ke-6 kemudian dilanjutkan dengan filrasi dan pengeringan biomassa. Laju pertumbuhan spesifik dilakukan pada fase perrtumbuhan logaritmik atau *log phase* yang menggunakan rumus persamaan menurut Iba *et al.* (2019) sebagai berikut:

$$\mu = \frac{Ln\left(\frac{Nt}{No}\right)}{T2 - T1}$$

Keterangan :
μ = Laju Pertumbuhan relatif (sel.hari^{-1})
Nt = Kepadatan sel akhir (sel.mL^{-1})
No = Kepadatan sel awal (sel.mL^{-1})

Produktivitas Biomassa

Produktivitas biomassa dihitung berdasarkan nilai berat kering biomassa bebas abu atau biasa disebut *Ash Free Dry Weight* (AFDW). AFDW diperoleh setelah pengabuan biomassa kering atau biasa disebut *Dry Weight* (DW). Sampel kultur diambil sebanyak 10 mL setiap akhir perlakuan, setelah itu kertas Whatman GF/C difiltrasi, kemudian berat kering (*Dry Weight*, DW) ditimbang dan dikeringkan dalam tanur pada suhu 450°C selama 3-4 jam. Kertas yang telah dikeringkan tersebut dipindahkan kedalam desikator selama 24 jam untuk menstabilkan hasil penimbangan biomassa. Kemudian biomassa ditimbang menggunakan timbangan analitik kemudian dikurangi dengan berat kertas saring yang telah ditimbang sebelumnya.

$$\text{Dw} = \left(\frac{\mu g}{mL}\right) \frac{Berat\ filter\ dengan\ biomassa - Berat\ filter}{Volume\ Sampel}$$

$$\text{AFDW} = \frac{Berat\ filter\ dan\ mikroalga - Berat\ sudah\ pengabuan}{Volume\ Sampel}$$

Produktivitas biomassa mikroalga dihitung dengan persamaan yang mengacu pada penelitian menurut Iba *et al.* (2018) sebagai berikut:

Produktivitas biomassa = Berat kering bebas abu × μ

Ekstraksi dan Analisis Lipid

Lipid hasil penelitian ini kemudian diekstraksi menggunakan metode *Bligh and dyer* yang dimodifikasi. Metode *Bligh and dyer* dilakukan dengan cara menyaring sampel dengan kertas saring sebanyak 10 mL kemudian disimpan kedalam freezer. Sampel yang disimpan kedalam freezer kemudian dihancurkan atau ditumbuk dan dimasukkan 1 mL campuran methanol : chloroform : water dengan perbandingan 2 : 1 : 0,8 ke dalam tabung sentrifugasi. Setelah itu, ditambahkan 3,7 mL campuran kemudian disentrifugasi 5000 rpm selama 8 menit, tambahkan 5,7 mL campuran kemudian divortex dan disentrifugasi kembali. Sampel dituang kedalam tabung reaksi besar dan ditambahkan 3 mL air dan 3 mL clorofom dan simpan sampel di kulkas. Tahap terakhir yaitu menyiapkan botol ampul nacl kemudian di timbang beratnya dan pipet sampel yang sudah dikulkas. Sampel dipanaskan dengan suhu 40-50ºC dan timbang berat sampel akhir
Lipid dihitung menggunakan rumus berdasarkan Devita *et al.* (2018) sebagai berikut:

$$\%\ Yield = \frac{Massa\ lipid\ yang\ diperoleh}{Massa\ mikroalga\ kering\ yang\ digunakan} \times 100$$

Analisis Data

Analisis yang digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan Repeated Measure Analysis of variance (ANOVA). Apabila hasil penelitian menunjukan berbeda nyata (P< 0,05), maka dilakukan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*).

HASIL DAN BAHASAN

Kepadatan Sel

Kepadatan sel merupakan indikator pertumbuhan mikroalga yang menunjukkan jumlah sel per satuan volume media kultur. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kepadatan sel tertinggi dicapai pada hari ke-6 kultur dengan perlakuan pupuk Walne 1 mL/L, yaitu sebesar 66,41 × 10^4

ISSN : 2621 - 1475

sel/mL. Peningkatan kepadatan sel yang signifikan terjadi selama fase eksponensial, terutama pada hari ke-2 hingga ke-6. Setelah itu, terjadi penurunan kepadatan pada hari ke-7.

Berdasarkan hasil penelitian pertumbuhan *Chlorella* sp. pada penelitian ini, fase lag pada semua perlakuan variasi konsentrasi pupuk Walne (0.5 mL/L, 1 mL/L, 1.5 mL/L, dan 2 mL/L) terjadi pada rentan waktu yang sama yaitu pada hari ke-0 sampai hari ke-2. Fase ini dinamakan fase lag karena pada fase ini mikroalga *Chlorella* sp. melakukan penyesuaian sel dirinya terhadap lingkungan baru. Hal ini membuat mikroalga *Chlorella* sp. membutuhkan waktu untuk menyesuaikan diri karena pada fase ini lingkungan inokulum (bibit) cenderung berbeda dari lingkungan sebelumnya sehingga mikroalga harus menyesuaikan dirinya dengan lingkungan baru atau biasa disebut dengan aklimatisasi. Peristiwa ini ditunjukkan oleh gambar grafik kepadatan sel, dimana sel belum mengalami kenaikan yang signifikan. Setelah mengalami fase lag, mikroalga kemudian memasuki fase eksponensial. Fase eksponensial terjadi pada hari ke 2 hingga hari ke 6 yang ditandai dengan terjadinya peningkatan jumlah sel *Chlorella* sp. yang sangat cepat. Peningkatan jumlah sel yang sangat cepat disebabkan oleh senyawa organik dan anorganik dalam media kultur yang mempengaruhi kemampuan adaptasi mikroalga yang menjadi sumber nutrisi bagi pertumbuhannya. Setelah fase eksponensial selesai, mikroalga *Chlorella* sp. biasanya akan mengalami fase stationer yang terjadi sekitar hari ke-6 hingga ke-7 (H6–H7) ketika jumlah sel mulai stabil atau tidak mengalami peningkatan tajam lagi meskipun waktu masih berjalan.

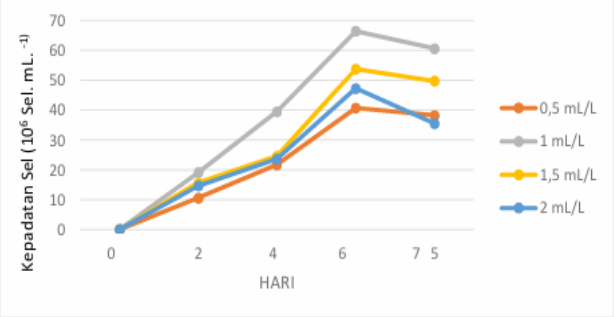
Fase stationer terjadi pada hari ke-6 untuk semua perlakuan variasi konsentrasi pupuk Walne. Pada hari ke-7 kepadatan sel *Chlorella* sp. langsung mengalami penurunan. Hal ini diduga karena fase stationer memiliki tingkat nutrisi dalam medium yang rendah sehingga akan mempengaruhi laju reproduksi sel. Hal ini sesuai dengan Setyawati *et al.* (2017) yang menyebutkan bahwa pada hari ke-4 dan ke-6 mikroalga *C. vulgaris*, *Nannochloropsis* sp. dan *T. chui* mengalami fase eksponensial dimana sel membelah dengan cepat, sel-sel dalam keadaaan stabil dan jumlah sel bertambah. Pembelahan sel terjadi pada fase ini dikarenakan nutrien pada media Walne dan lingkungan kultivasi pertumbuhan mikroalga masih mendukung.

Fase yang terakhir adalah fase kematian. Jika dilihat pada hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada hari ke 7 mikroalga *Chlorella* sp. mengalami nilai penurunan kepadatan dibandingkan dengan nilai kepadatan pada hari ke 6. Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke 7 mikroalga *Chlorella* sp. telah berada pada tahap kematian, dimana *Chlorella* sp. mengalami penurunan populasi yang berujung pada kematian yang terjadi pada hari ke-7 untuk semua perlakuan. Fase ini adalah fase dimana *Chlorella* sp. lebih banyak mengalami kematian dibanding pertumbuhannya, sehingga berakibat berkurangnya kepadatan sel. Fase ini ditandai dengan penurunan kepadatan sel setiap harinya akibat dari berkurangnya nutrien pada media pupuk Walne, yang mengakibatkan terjadinya kompetisi dalam menyerap nutrien sehingga tidak dapat lagi menunjang pertumbuhannya. Penambahan media pupuk Walne dengan variasi konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh terhadap kepadatan sel *Chlorella* sp. Faktor utamanya disebabkan karena adanya pertambahan kepadatan sel selama sampel dikultur dikarenakan perbedaan jumlah nutrien yang terdapat pada pupuk Walne.

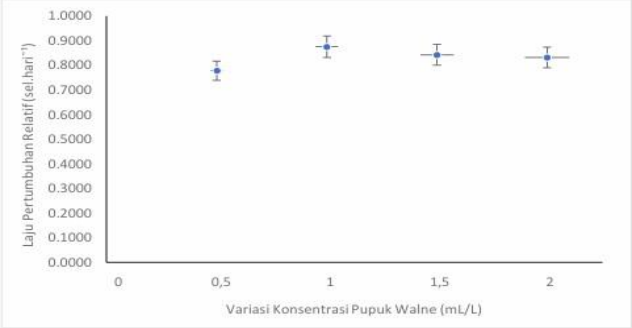
Nilai kepadatan sel tertinggi ke terendah secara berturut turut yaitu terdapat pada perlakuan pupuk Walne dengan variasi konsentrasi 1 mL sebesar 66.406×10^4 sel.mL^{-1}, variasi konsentrasi 1.5 mL sebesar 53.773×10^4 sel.mL^{-1}, kemudian variasi konsentrasi 2 mL sebesar 47.320×10^4 sel.mL^{-1} dan yang terendah yaitu variasi konsentrasi 0.5 mL sebesar 40.720×10^4 sel.mL^{-1}. Tingginya nilai kepadatan *Chlorella* sp. pada konsentrasi pupuk Walne 1 mL ini diduga pada konsentrasi tersebut memiliki kandungan nutrien yang paling efektif untuk meningkatkan pertumbuhan *Chlorella* sp. Kekurangan nutrien dapat menyebabkan terhambatnya metabolisme mikroalga bahkan dapat menyebabkan stres pada mikroalga.

Pertumbuhan *Chlorella* sp. juga dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi yang ada pada media yang digunakan dan faktor lingkungan pada media kultur. Penggunaan pupuk Walne sebagai media pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp.baik untuk pertumbuhan dan perkembangan metabolisme mikroalga karena mengandung nitrogen, fosfor, magnesium dan kalium. Faktor pendukung lain pada pertumbuhan *Chlorella* sp. selain nutrien, yaitu dipengaruhi oleh kondisi lingkungan atau kualitas air seperti salinitas, suhu, pH dan intensitas cahaya (Samara *et al.,* 2025).

ISSN : 2621 - 1475



Gambar 1. Grafik Kepadatan Sel *Chlorella* sp. selama penelitian



Gambar 2. Histogram Laju Pertumbuhan Relatif Sel *Chlorella* sp.

Laju Pertumbuhan Relatif

Berdasarkan hasil uji Repeated Measure Analysis of variance (ANOVA) pada Gambar 2 menunjukan P>0,05 yang artinya tidak adanya perbedaan antar perlakuan (0,5 mL/L, 1 mL/L, 1,5 mL/L dan 2 mL/L) terhadap parameter laju pertumbuhan relatif *Chlorella* sp. Laju pertumbuhan relatif sebesar 0,77 sel.hari^{-1} pada perlakuan 1 mL/L juga mendukung asumsi bahwa kondisi nutrien cukup namun tidak berlebihan. Perlakuan dengan konsentrasi lebih tinggi (1,5 mL/L dan 2 mL/L) menunjukkan penurunan laju pertumbuhan yang mungkin disebabkan oleh ketidakseimbangan rasio N:P yang menyebabkan gangguan metabolisme sel (Jati *et al.,* 2012).

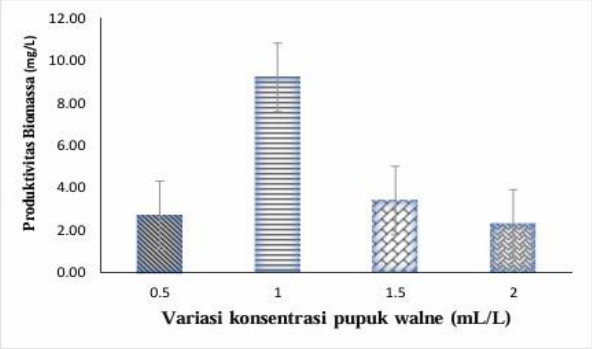
Perbedaan laju pertumbuhan relatif pada setiap perlakuan menandakan proses pembelahan sel pada setiap perlakuan berbeda-beda, semakin tinggi nilai LPR yang dihasilkan maka semakin cepat pula mikroalga melakukan penggandaan dirinya. Pada penelitian ini laju pertumbuhan relatif berbanding lurus dengan pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hasanudin (2012), laju pertumbuhan relatif berbanding lurus dengan kepadatan sel, semakin tinggi kepadatan sel mikroalga maka laju pertumbuhannya semakin meningkat sehingga dikatakan bahwa Laju pertumbuhan sel mikroalga pada suatu kultur sebanding dengan ketersediaan nutriennya. Pertumbuhan mikroalga selain dipengaruhi oleh perbedaan jenis mikroalga, juga dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu nutrien pada media kultur. Secara garis besar nutrien dapat dibedakan menjadi 2 yaitu, makronutrien dan mikronutrien. Unsur hara dapat yang tersedia pada media tumbuh dapat berperan aktif dalam proses cepatnya pembelahan sel mikroalga. Nutrien atau unsur hara merupakan parameter penting yang mendukung pertumbuhan mikroalga (Regista *et al.,* 2017).

Produktivitas Biomassa *Chlorella* sp.

Perlakuan dengan penambahan pupuk Walne sebanyak 1 mL/L memiliki nilai produktivitas biomassa tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain, hal ini dikarenakan pada penambahan pupuk Walne dengan konsentrasi 1 mL/L memiliki kepadatan sel yang tinggi. Tingginya nilai produktivitas biomassa tidak sejalur dengan laju pertumbuhan relatif yang terjadi pada konsentrasi pupuk 1 mL/L. Hal ini menunjukkan bahwa kultur mikroalga telah memasuki fase stasioner, dimana pada fase ini, keterbatasan nutrient dan meningkatnya kepadatan sel menyebabkan penurunan laju pembelahan sel, mesrkipun nilai biomassa tetap tinggi sebagai akibat dari akumulasi dari lipid. Adanya nilai produktivitas biomassa yang dihasilkan pada penelitian ini salah satunya dipengaruhi oleh pupuk yang digunakan sebagai media tumbuh dari mikroalga yaitu pupuk Walne. Pupuk Walne mengandung unsur hara makro (nitrogen, fosfor) dan mikro (besi, seng, mangan) yang penting untuk pertumbuhan mikroalga. Hal ini sejalur dengan penelitian yang dilakukan oleh Notonegoro *et al.* (2018) yang mengemukakan bahwa media Walne diketahui memilki kandungan N dan P yang tinggi dibandingkan dengan media yang lain sehingga konsentrasi biomassanya menjadi lebih tinggi.

Nilai produktivitas biomassa yang dihasilkan pada penelitian ini salah satunya dipengaruhi oleh metode yang digunakan sebagai media tumbuh dari mikroalga yaitu metode Bligh dan dyer. Prosedur tersebut mengikuti metode Bligh dan dyer dimana biomassa yang digunakan berasal dari ekstraksi pigmen. Dalam hal ini, pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah kloroform dan metanol dengan rasio 1:2 v/v (15 mL).

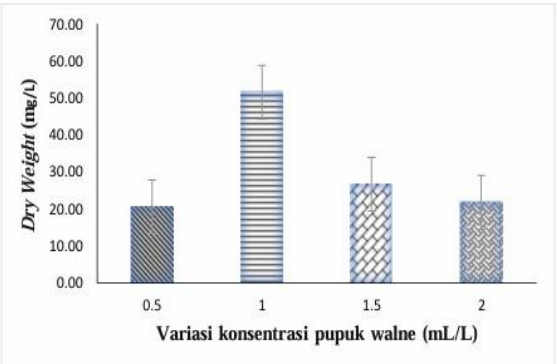
ISSN : 2621 - 1475



Gambar 3. Histogram Produktivitas Biomassa *Chlorella* sp. (rata-rata ± SE) selama penelitian.

Dry Weight (DW) dan *Ash Fry Dry Weight* (AFDW)

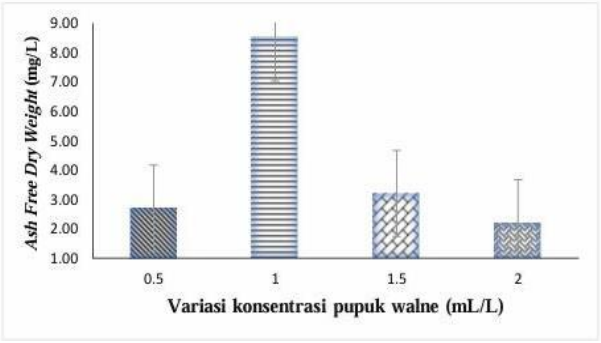
Nilai rata-rata *Dry Weight* (DW) *Chlorella* sp. dari tertinggi ke terendah pada masing-masing perlakuan berturut-turut yaitu variasi konsentrasi pupuk Walne 1 mL/L dengan nilai rata-rata 51,6 mg.L^{-1}, konsentrasi pupuk Walne 1,5 mL/L dengan nilai rata rata 26,7 mg.L^{-1}, selanjutnya konsentrasi pupuk Walne 2 mL/L dengan nilai rata-rata 21,8 mg.L^{-1} dan terendah pada konsentrasi pupuk 0,5 mL/L dengan nilai 20,6 mg.L^{-1}. Hal ini menujukkan bahwa *Dry Weight* (DW) mikroalga dipengaruhi oleh proses pemanenan dan faktor lain yang dapat mempengaruhi *Dry Weight* (DW) selain nutrisi, aerasi, salinitas, pH dan suhu adalah jenis mikroalga. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Sarifah, (2023) yang melakukan penelitian menggunakan jenis mikroalga yang berbeda yaitu *C. vulgaris, Nannochloropsis* sp. dan *T. chui* dengan ukuran selnya tidak sama. Pemanenan mikroalga *Chlorella* sp. pada penelitian ini dilakukan pada hari ke-7 kultivasi dengan menggunakan kertas saring GF/F whattman *microfiber filter* yang dikeringkan pada oven 75^{o}C selama 3-4 jam dengan tujuan untuk mendapatkan nilai berat kering atau biasa disebut dengan *Dry Weight* (DW).



Gambar 4. Histogram *Dry Weight* (DW) *Chlorella* sp. (rata-rata ± SE) selama penelitian.

Nilai kadar abu/*Ash Free Dry Weight* (AFDW) yang tertinggi diperoleh pada mikroalga *Chlorella* sp. dengan penambahan variasi konsentrasi pupuk Walne sebanyak 1 mL. Hal ini disebabkan karena tingginya nilai berat kering *Chlorella* sp. sebelum diabukan (mengacu pada nilai DW). Selain itu, kadar abu memiliki hubungan dengan mineral suatu bahan dan mineral tersebut dapat berupa garam. Tingginya kadar abu yang diperoleh pada penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber mineral (makro nutrien).

Perhitungan *Ash Free Dry Weight* (AFDW) atau yang biasa disebut dengan kadar abu pada penelitian ini dilakukan dengan memanen mikroalga *Chlorella* sp. pada hari ke 7 dengan menggunakan alat *vacum pump* dan dimasukkan ke dalam tanur pada suhu 450ºC selama 3-4 jam kemudian melakukan penimbangan zat yang tertinggal berupa mineral pada sampel yang diuji kadar abunya.



Gambar 5. Histogram *Ash Free Dry Weight* (AFDW) *Chlorella* sp. (rata-rata ± SE) selama penelitian.

Kandungan Lipid Mikroalga *Chlorella* sp.

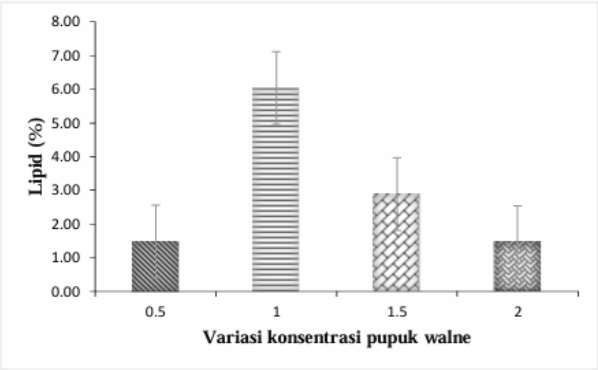
Kadar lipid tertinggi diperoleh pada perlakuan variasi konsentrasi pupuk Walne 1 mL/L sebesar 6,04% dan terendah pada perlakuan variasi konsentrasi pupuk Walne 2 mL/L yaitu sebesar 1,46%. Hal ini dikatakan karena penggunaan Pupuk Walne mengandung unsur makro dan mikro seperti nitrogen (N), fosfor (P), besi (Fe), vitamin B12, dan unsur mikro lainnya yang penting untuk pertumbuhan dan metabolisme mikroalga. Pada variasi konsentrasi pupuk Walne 1 mL/L konsentrasi nutrien berada pada tingkat optimal atau dapat dikatakan cukup untuk mendukung aktivitas metabolisme lipid dan tidak berlebihan sehingga tidak menimbulkan stres pada *Chlorella* sp.

Ekstraksi lipid dilakukan dengan metode *Bligh dan dyer* yang dimodifikasi. Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi kimia dan pelarut yang digunakan adalah pelarut

ISSN : 2621 - 1475

campuran yaitu metanol, kloroform dan air. Hal ini sesuai dengan pendapat Cooney *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi lipid yaitu pelarut tunggal atau pelarut campuran. Maksud dari metode *Bligh and dyer* modifikasi yaitu adalah modifikasi perbandingan perlarut lipid yang ditambahkan bervariasi, sehingga dapat diperoleh lipid yang lebih banyak dan modifikasi dalam proses perusakan membran sel, sehingga lipid dalam sel dapat diekstraksi.

Konsentrasi pupuk Walne sebesar 1 mL/L merupakan konsentrasi optimal yang mampu mendukung pertumbuhan dan akumulasi lipid secara seimbang. Konsentrasi yang terlalu rendah menyebabkan pertumbuhan lambat, sedangkan konsentrasi yang terlalu tinggi justru menekan produksi lipid karena nitrogen lebih diarahkan untuk sintesis protein daripada lemak. Dengan kata lain, ketidaksejajaran antara pertumbuhan dan akumulasi lipid pada mikroalga adalah hasil dari strategi metabolik adaptif yang mengorbankan laju pertumbuhan demi kelangsungan hidup dalam kondisi stres.



Gambar 6. Histogram Lipid *Chlorella* sp. (rata-rata ± SE) selama penelitian

KESIMPULAN

Pemberian variasi konsentrasi pupuk Walne yang berbeda memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. variasi konsentrasi 1 mL/L menghasilkan kepadatan sel, laju pertumbuhan relatif, produktivitas biomassa dan akumulasi lipid tertinggi dengan nilai rata-rata berturut-turut adalah 66,41 × 10^4 sel.mL^{-1}, 0,77 sel.$hari^{-1}$, 9,2 mg/hari dan 6,04%. Konsentrasi 1 mL/L pupuk Walne merupakan konsentrasi optimal untuk mendukung pertumbuhan dan akumulasi lipid *Chlorella* sp. secara seimbang. Konsentrasi yang terlalu rendah menyebabkan pertumbuhan lambat, sedangkan konsentrasi yang terlalu tinggi justru menekan produksi lipid karena nitrogen lebih diarahkan untuk sintesis protein daripada lemak.

DAFTAR PUSTAKA

Budiono, B., Suharto, & Triyastuti, S. (2018). Pengaruh variasi konsentrasi pupuk Walne terhadap akumulasi lipid *Chlorella* sp. Jurnal Biologi Tropis, 18(2), 95-104.

Cooney, M., Young, G., & Nagle, N. (2009). Separation & Purification Reviews Extraction of Bio - oils from Microalgae. Separation & Purification Reveiws, 38(June 2013), 291–325.

Devita, I., Isnaini, & Gusti, D. (2018). Kultivasi mikroalga *Chaetoceros* sp. dan *Spirulina* sp. untuk potensi biodiesel. Maspari Jurnal, 10 (2): 123-130.

Hasanudin, M. (2012). Pengaruh Perbedaan Intensitas Cahaya terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Scenedesmus* sp. yang Dibudidayakan pada Limbah Cair Tapioka. Skripsi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Iba, W., Rice, M.A., Maranda, L., & Wikfors, G. H. (2018). Growth Characteristic of Newly Isolated Indonesian Microalgae Under Different Salinity, Indonesian Aquaculture Journal, 13 (2), 71-81.

Iba, W., Abidin, L. O. B., & Indrayan. (2019). Bimbingan Teknis Kultur Mikroalga Bagi Teknisi Balai Benih Perikanan Kendari Sulawesi Tenggara. Jurnal Adi Mas TPB Unram, 1 (1), 91-96.

Indrayani, I., Haslianti, H., Asmariani, A., Muskita, W. H., Ardiansyah, & Hidayat, H. (2021). Growth and Lipid Production of a Newly Isolated Microalga *Nannochloropsis* sp. UHO3 at increasing Salinity. AACL Bioflux, 14(3), 1126 1137.

Jati, F. J. Hutabarat, & V.E Herawati. (2012). Pengaruh Penggunaan Dua Jenis Media Kultur Teknis yang Berbeda Terhadap Pola Pertumbuhan Kandungan Protein dan Asam Lemak Omega 3 EPA (*Chaetoceros gracilis*). Journal of Aquaculture Management and Technology. 1(1): 221-235.

Laigh, I. & Helm., M. M. (1981). Factor Affacting The Semicontinues Production of *Tetraselmis chuii* Butcher in 200-1 Vesseles. Aquaculture 22 pp. 137-148.

Musdalifah, Rinjani. (2022). Pengaruh Pemberian Pupuk Anorganik (Guillard dan Walne) terhadap Laju Pertumbuhan *Nannochloropis oculata* Skala Laboratorium.

Notonegoro, H., Setyaningsih, I., & Tarman, K. (2018). Kandungan Senyawa Aktif *Spirulina platensis*

ISSN : 2621 - 1475

yang Ditumbuhkan pada Media Walne dengan Konsentrasi $NaNO_3$ Berbeda. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 13(2), 111.

Nurazizah., Syukria, M., Yasir, M., Tuwo, A., Caronga, S. R., & Arbit, N. I. S. (2020). Respon Pertumbuhan Rumput Laut *Gracilaria* sp. Terhadap Perbedaan Konsentrasi Pupuk Conwy. Journal of Fisheries and Marine Science Vol 2. No. 1.

Putri, D. S. & Alaa, S. (2019). The Growth Comparison of *Haematococcus pluvialis* in Two Different Medium. Biota, 12(2):90–97.

Regista, Ambeng, M. Litaay dan M. R. Umar. (2017). Pengaruh Pemberian Vermikompos Cair Lumbricus rubellus hoffmeister pada Pertumbuhan *Chlorella* sp. Jurnal Biologi Makassar, 2(1): 1 8.

Samara, A., Liubana, D.V., & Alfarizi, S. (2025). Teknik Kultur Massal Secara Intensif *Chlorella* Sp. Sebagai Pakan Alami *Rotifera* Sp. dan Larva Ikan Kerapu Cantang Di BPBAP Situbondo. Jurnal vokasi ilmu-ilmu perikanan, 5 (2) : 121 - 126

Sarifah, Iba, W., & Zaeni, A. (2023). Pertumbuhan dan Kandungan Lipid Mikroalga yang Dikultur Menggunakan Pupuk Walne dan Ekstraksi Menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* sebagai Bahan Baku Biofuel yang Berkelanjutan. TheJournalish: Social and Government, Vol. 4 No. 5, Hal. 138 153.

Setyaningsih, I., Prasetyo, H., Agung priyono, D. R.,Tarman, K. (2020). Antihyperglycemic Activity of *Porphyridium cruentum* Biomass and Extracellular Polysaccharide in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. International Journal of Biological Macromolecules, 15 (6) :1381-1386.

Wardani, N. K., Supriyantini, E. & Santosa, G. W. (2022). Pengaruh Konsentrasi Pupuk Walne Terhadap Laju Pertumbuhan dan Kandungan Klorofil-a *Tetraselmis chuii*. Journal of Marine Research Vol 11, No.1 Februari 2022, pp. 77-85

Widiyanto, A., Susilo, B., & Yulianingsih, R. (2014). Studi Kultur Semi-Massal Mikroalga *Chlorella* sp. pada Area Tambak dengan Media Air Payau (Di Desa Rayunggumuk, Kec. Glagah, Kab. Lamongan) Study on Cultivation Semi Mass of Microalgae *Chlorella* sp. on Ponds Area with Brackish Water Media in District. 2 (1), 2-8