ISSN : 2621 - 1475

Pengaruh Variasi Dosis Pupuk Walne Terhadap Pertumbuhan Dan Kandungan Protein Pada Mikroalga *Chlorella* sp. HasliUHO1

The Effect of Different Doses of Walne Fertilizer on the Growth and Protein Content of the Microalga Chlorella sp. HasliUHO1

Iin Putri[1)], Haslianti[1*)], Wellem H. Muskita[2)]

[1)]Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Halu Oleo, Kendari, Sulawesi Tenggara

[2)]Jurusan Budidaya perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Halu Oleo, Kendari, Sulawesi Tenggara

Corresponding author[*)]: haslianti@uho.ac.id (081148001707/081341722917)

Cara sitasi: Putri, I., Haslianti, Muskita, W. H. (2026). Pengaruh Variasi Dosis Pupuk Walne terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Protein pada Mikroalga *Chlorella* sp. HasliUHO1. *Jurnal Fish Protech, 9*(2): 314-323.

ABSTRACT

This study evaluated the effect of different doses of Walne fertilizer on the growth and protein content of the microalga Chlorella sp. HasliUHO1, which has potential as an alternative protein source for aquafeed. A Completely Randomized Design (CRD) was applied with four Walne fertilizer doses (0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 mL/L), each in four replicates. Observed parameters included cell density, relative growth rate, biomass (dry weight/DW and ash-free dry weight/AFDW), biomass productivity, and protein content. The results showed that the 1.0 mL/L treatment produced the highest growth performance, indicated by maximum cell density (68.14 × 10^4 cells/mL), DW (0.0498 g), AFDW (0.00935 g), and biomass productivity (0.0102 g/L/day). The highest protein content (7.30%) was also observed at 1.0 mL/L; however, statistical analysis indicated no significant differences among treatments (P > 0.05). Both lower and higher fertilizer doses tended to reduce growth efficiency and biomass quality. Therefore, a Walne fertilizer dose of 1.0 mL/L is considered optimal for supporting the growth of Chlorella sp. HasliUHO1 and improving biomass characteristics for sustainable aquafeed development.

***Keywords**: Chlorella* sp.*, Walne fertilizer, Growth, Biomass, Protein.*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh variasi dosis pupuk Walne terhadap pertumbuhan dan kandungan protein mikroalga *Chlorella* sp. HasliUHO1 yang berpotensi sebagai sumber protein alternatif pakan ikan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat dosis pupuk Walne, yaitu 0,5; 1,0; 1,5; dan 2,0 mL/L, masing-masing dengan empat ulangan. Parameter yang diamati meliputi kepadatan sel, laju pertumbuhan relatif, biomassa (berat kering/DW dan berat kering bebas abu/AFDW), produktivitas biomassa, serta kandungan protein. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 1,0 mL/L menghasilkan kinerja pertumbuhan terbaik dengan kepadatan sel tertinggi (68,14 × 10^4 sel/mL), DW sebesar 0,0498 g, AFDW sebesar 0,00935 g, dan produktivitas biomassa 0,0102 g/L/hari. Kandungan protein tertinggi (7,30%) juga diperoleh pada dosis 1,0 mL/L, meskipun secara statistik tidak berbeda nyata antar perlakuan (P > 0,05). Dosis pupuk yang terlalu rendah maupun terlalu tinggi cenderung menurunkan efisiensi pertumbuhan dan kualitas biomassa. Dengan demikian, dosis pupuk Walne 1,0 mL/L dinilai optimal untuk mendukung pertumbuhan *Chlorella* sp. HasliUHO1 dan

ISSN : 2621 - 1475

peningkatan karakteristik biomassa dalam pengembangan pakan ikan berkelanjutan.

Kata kunci: *Chlorella* sp., Pupuk Walne, Pertumbuhan, Biomassa, Protein

PENDAHULUAN

Peningkatan kebutuhan protein hewani global mendorong perkembangan industri akuakultur yang semakin intensif (FAO, 2022). Pakan merupakan komponen utama dalam sistem akuakultur karena sangat menentukan laju pertumbuhan, efisiensi pakan, dan kesehatan ikan. Protein menjadi nutrien kunci dalam pakan ikan, namun hingga saat ini sumber protein masih didominasi oleh tepung ikan dan kedelai yang menghadapi keterbatasan pasokan, fluktuasi harga, serta isu keberlanjutan lingkungan (Tacon & Metian, 2015).

Mikroalga merupakan sumber protein alternatif yang menjanjikan karena memiliki kandungan nutrisi tinggi, laju pertumbuhan cepat, serta dapat dibudidayakan tanpa bersaing dengan lahan pangan (Hemaiswarya *et al.,* 2016; Ahmad *et al.,* 2023). Salah satu mikroalga potensial adalah *Chlorella* sp., yang diketahui memiliki kandungan protein tinggi serta mengandung asam amino esensial, vitamin, dan mineral yang mendukung pertumbuhan ikan (Becker, 2007; Guedes *et al.,* 2011). Namun, produksi biomassa dan kandungan protein *Chlorella* sp. sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrien dalam media kultur (Khoeyi *et al.,* 2015).

Pupuk Walne merupakan media yang umum digunakan dalam kultivasi mikroalga karena mengandung unsur hara makro dan mikro esensial seperti nitrogen, fosfor, dan mikronutrien yang mendukung pertumbuhan sel (Walne, 1970). Meskipun demikian, dosis pupuk Walne yang tidak tepat dapat menyebabkan pertumbuhan yang tidak optimal atau menurunkan efisiensi akumulasi biomassa dan protein. Beberapa penelitian melaporkan bahwa dosis sedang pupuk Walne mampu meningkatkan pertumbuhan *Chlorella* sp., sedangkan dosis yang terlalu rendah atau tinggi justru menurunkan kinerja pertumbuhan (Wardani *et al.,* 2020; Widiyaningrum *et al.,* 2020). Namun, informasi mengenai dosis optimal pupuk Walne terhadap pertumbuhan dan kandungan protein *Chlorella* sp. isolat lokal HasliUHO1 masih terbatas.

Meskipun penelitian mengenai penggunaan pupuk Walne pada kultur mikroalga telah banyak dilakukan, informasi mengenai respons pertumbuhan dan kandungan protein pada isolat lokal *Chlorella* sp. HasliUHO1 masih belum banyak dikaji. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa strain *Chlorella* yang berbeda memiliki produktivitas dan komposisi biokimia yang berbeda pada kondisi nutrien yang sama (Touloupakis *et al*., 2015), serta adanya variasi respons pertumbuhan dan akumulasi protein antar strain lokal dan strain koleksi terhadap konsentrasi nitrogen (Bosnajkovic *et al.,* 2022). Setiap strain mikroalga memiliki kemampuan adaptasi, efisiensi pemanfaatan nutrien, serta pola akumulasi biomassa dan protein yang spesifik (Touloupakis *et al.,* 2015).

Oleh karena itu, penelitian ini memiliki kebaruan pada penggunaan isolat lokal *Chlorella* sp. HasliUHO1 sebagai objek kajian untuk mengetahui pengaruh variasi dosis pupuk Walne terhadap pertumbuhan dan kandungan protein. Selain menganalisis kepadatan sel, penelitian ini juga mengevaluasi parameter biomassa (DW dan AFDW), produktivitas biomassa, serta kandungan protein sehingga dapat memberikan informasi yang lebih komprehensif mengenai karakteristik fisiologis isolat lokal tersebut. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan kultur *Chlorella* sp. HasliUHO1 sebagai sumber biomassa mikroalga yang berpotensi dimanfaatkan dalam bidang Teknologi Hasil Perikanan, khususnya sebagai bahan baku alternatif pakan.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh variasi dosis pupuk Walne terhadap pertumbuhan dan kandungan protein mikroalga *Chlorella* sp. HasliUHO1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah dalam penentuan dosis pupuk yang optimal untuk mendukung produksi biomassa mikroalga sebagai bahan baku pakan ikan berkelanjutan.

ISSN : 2621 - 1475

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September–Desember 2024. Isolat mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat HasliUHO1 yang berasal dari Perairan Waworaha, Kabupaten Konawe, Sulawesi Tenggara. Isolat tersebut telah diidentifikasi secara molekuler menggunakan metode DNA barcoding oleh PT Oceanogen Baruga Indonesia dan teridentifikasi sebagai *Chlorella* sp. Pembuatan media dan kultur mikroalga dilakukan di Laboratorium Unit Produktivitas dan Lingkungan Perairan FPIK UHO. Selanjutnya analisis protein dan biomassa dilakukan di Laboratorium Unit Produktivitas dan Lingkungan Perairan FPIK UHO, Kendari, Sulawesi Tenggara.

Media kultur menggunakan air laut steril yang diperkaya pupuk Walne dengan empat variasi dosis, yaitu 0,5 mL/L (P1), 1,0 mL/L (P2), 1,5 mL/L (P3), dan 2,0 mL/L (P4). Kultur *Chlorella* sp. HasliUHO1 dipelihara selama tujuh hari dengan kondisi pemeliharaan yang sama pada setiap perlakuan yaitu dengan menjaga suhu ruangan agar teta stabil (25-30˚C). Parameter yang diamati meliputi kepadatan sel, laju pertumbuhan relatif, biomassa (*Dry Weight*/DW dan *Ash Free Dry Weight*/AFDW), produktivitas biomassa, dan kadar protein.

Pengamatan kepadatan sel dilakukan setiap dua hari menggunakan *haemositometer* di bawah mikroskop. Data kepadatan sel digunakan untuk menghitung laju pertumbuhan relatif pada masing-masing perlakuan.

Analisis biomassa dilakukan melalui pengukuran *Dry Weight* (DW**)** *dan Ash Free Dry Weight (AFDW)* menggunakan kertas saring Whatman. Biomassa mikroalga disaring menggunakan kertas saring Whatman, kemudian dikeringkan hingga diperoleh bobot kering (DW). Selanjutnya sampel diabukan menggunakan tanur pada suhu 450°C selama 3–4 jam untuk memperoleh bobot abu. Nilai AFDW dihitung berdasarkan selisih antara bobot kering (DW) dan bobot abu.

Analisis kadar protein dilakukan menggunakan metode Kjeldahl, yang meliputi tahapan destruksi, destilasi, dan titrasi untuk menentukan kadar nitrogen total sebelum dikonversi menjadi kadar protein. Kadar protein dihitung berdasarkan kadar nitrogen total yang diperoleh dari analisis Kjeldahl. Nilai nitrogen yang diperoleh dikonversi menjadi kadar protein menggunakan faktor konversi (Fk) sebesar 5,95, sesuai dengan faktor konversi yang digunakan untuk *Chlorella* sp. menurut Lopes *et al.* (2010). Perhitungan kadar protein dilakukan menggunakan persamaan:

Kadar protein (%) = $[(V_1 - V_2) \times N \times 0{,}014 \times Fk \times 100] / W$

Keterangan:

W = bobot cuplikan (g);

V_1 = volume HCl N yang digunakan pada penitaran contoh (mL);

V_2 = volume HCl N yang digunakan pada penitaran blanko (mL);

N = normalitas HCl;

Fk = faktor konversi protein sebesar 5,95.

Penggunaan faktor konversi 5,95 didasarkan pada karakteristik kandungan nitrogen pada protein *Chlorella* sp., sehingga faktor tersebut digunakan untuk mengonversi nitrogen total hasil analisis Kjeldahl menjadi kadar protein.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor berupa variasi dosis pupuk Walne yang terdiri atas empat taraf perlakuan, yaitu 0,5 mL/L (P1), 1,0 mL/L (P2), 1,5 mL/L (P3), dan 2,0 mL/L (P4), dengan empat kali ulangan sehingga diperoleh 16 satuan percobaan. Model matematis RAL yang digunakan adalah:

$$Yij = \mu + \tau i + \varepsilon ij$$

dengan keterangan:

- Yij = nilai pengamatan pada perlakuan ke-*i* ulangan ke-*j*;
- μ = nilai tengah umum;
- τi = pengaruh perlakuan dosis pupuk Walne ke-*i*;
- εij = galat percobaan.

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% (α = 0,05). Apabila hasil analisis menunjukkan pengaruh yang nyata (P < 0,05), maka dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan. Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan IBM SPSS Statistics.

ISSN : 2621 - 1475

HASIL DAN PEMBAHASAN

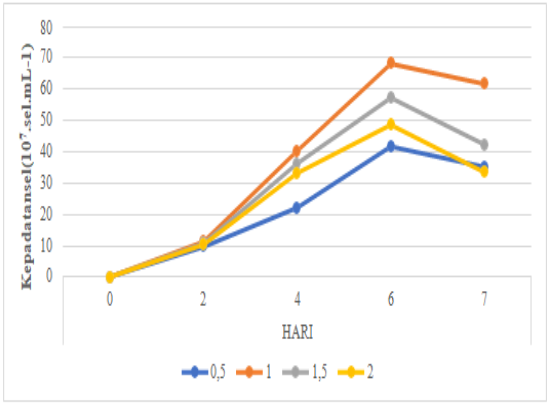
Hasil Penelitian

Penelitian ini menghasilkan data mengenai pengaruh variasi dosis pupuk Walne terhadap pertumbuhan dan kandungan protein *Chlorella* sp. melalui beberapa parameter pengamatan, yaitu kepadatan sel, laju pertumbuhan spesifik, biomassa (DW dan AFDW), produktivitas biomassa, dan kandungan protein.

Kepadatan Sel *Chlorella* sp.

Pertumbuhan *Chlorella* sp. dipantau secara berkala setiap dua hari sekali selama satu minggu untuk mengetahui bagaimana fase-fase pertumbuhan *Chlorella* sp. berubah dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Kepadatan sel *Chlorella* sp. menunjukkan peningkatan selama masa kultivasi. Perlakuan dengan dosis pupuk Walne 1,0 mL/L (P2) menghasilkan kepadatan sel tertinggi pada hari ke-6, yaitu 68,14 x 10^4 sel/mL. Perlakuan dengan dosis 2,0 mL/L menunjukkan kepadatan yang cenderung menurun setelah hari ke-6.

Kepadatan sel yang lebih tinggi pada perlakuan P2 menunjukkan bahwa dosis pupuk Walne 1,0 mL/L memberikan ketersediaan nutrien yang lebih sesuai untuk mendukung pertumbuhan *Chlorella* sp. Nitrogen dan fosfor merupakan nutrien penting yang berperan dalam pertumbuhan dan pembentukan biomassa mikroalga. Keseimbangan dan konsentrasi kedua nutrien tersebut dapat memengaruhi laju pertumbuhan dan biomassa *Chlorella* sp. Alketife *et al.* (2017) melaporkan bahwa konsentrasi serta rasio nitrogen dan fosfor berpengaruh terhadap pertumbuhan dan pembentukan biomassa *Chlorella vulgaris*. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa perubahan kondisi nutrien N dan P dapat memengaruhi biomassa kering dan karakteristik fisiologis *C. vulgaris* (Huang *et al.,* 2021). Hasil penelitian ini sejalan dengan Trinh (2023) yang melaporkan bahwa perbedaan konsentrasi media Walne memengaruhi pertumbuhan dan produktivitas biomassa *Chlorella vulgaris*, menunjukkan bahwa ketersediaan nutrien dalam media kultur merupakan faktor penting yang menentukan perkembangan mikroalga. Dengan demikian, kecenderungan penurunan kepadatan sel pada perlakuan P4 setelah hari ke-6 diduga berkaitan dengan kondisi nutrien yang kurang optimal bagi pertumbuhan sel. Namun, mekanisme tersebut tidak dapat dipastikan hanya berdasarkan kepadatan sel karena penelitian ini tidak mengukur secara langsung konsumsi atau konsentrasi nutrien selama masa kultur.



Gambar 1. Grafik perubahan kepadatan sel *Chlorella* sp. selama tujuh hari pengamatan dengan konsentrasi yang berbeda.



Gambar 2. Perubahan penampakan kultur *Chlorella* sp. HasliUHO1 pada hari ke-0, ke-2, ke-4, ke-6 dan ke-7 selama proses kultivasi.

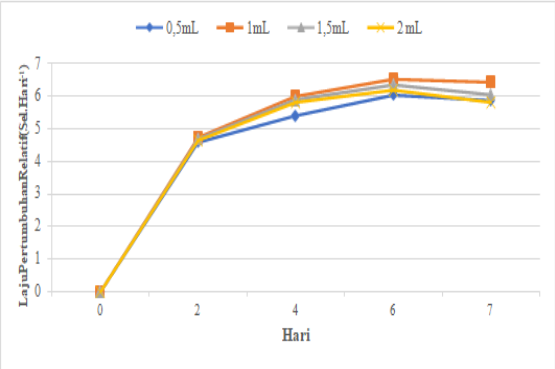
Laju Pertumbuhan Relatif

Laju pertumbuhan relatif tertinggi tercatat pada perlakuan P2 (1,0 mL/L) dengan nilai 1,0873 sel.hari^{-1}, sedangkan perlakuan P1 (0,5 mL/L) menunjukkan nilai terendah yaitu 1,0056 sel.hari^{-1}. Berdasarkan hasil uji ANOVA, diperoleh nilai P > 0,05 yang menunjukkan bahwa variasi dosis pupuk Walne tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap laju pertumbuhan relatif *Chlorella* sp. HasliUHO1. Dengan demikian, meskipun terdapat perbedaan nilai rata-rata laju pertumbuhan relatif antarperlakuan, perbedaan

ISSN : 2621 - 1475

tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang nyata secara statistik.

Meskipun perlakuan P2 menghasilkan nilai laju pertumbuhan relatif tertinggi, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perbedaan dosis pupuk Walne yang diberikan belum mampu menghasilkan perbedaan pertumbuhan yang nyata antarperlakuan. Kondisi ini menunjukkan bahwa seluruh dosis yang digunakan masih dapat mendukung pertumbuhan *Chlorella* sp. HasliUHO1 dalam kisaran yang relatif serupa. Trinh (2023) melaporkan bahwa respons pertumbuhan *Chlorella vulgaris* terhadap media Walne dipengaruhi oleh konsentrasi nutrien yang tersedia, namun peningkatan dosis media tidak selalu menghasilkan peningkatan pertumbuhan yang signifikan. Selain itu, Alketife *et al.* (2017) menjelaskan bahwa pemanfaatan nitrogen dan fosfor oleh mikroalga dipengaruhi oleh kemampuan adaptasi sel terhadap kondisi media, sehingga respons pertumbuhan yang dihasilkan tidak selalu berbeda nyata meskipun konsentrasi nutrien meningkat.



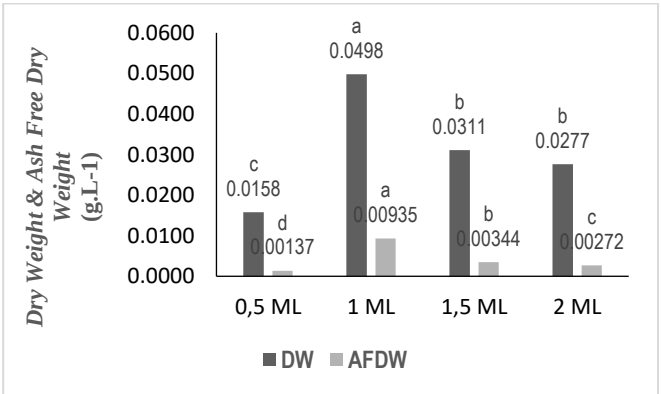
Gambar 3. Grafik laju pertumbuhan relatif *Chlorella* sp. HasliUHO1 pada berbagai dosis pupuk Walne.

Biomassa Berat Kering (DW) dan Berat Kering Bebas Abu (AFDW)

Berdasarkan hasil uji ANOVA pada Berat Kering menunjukan bahwa P < 0,05 yang artinya ada pengaruh nyata antara P1, P2, P3 dan P4 terhadap Berat Kering *Chlorella* sp., sedangkan hasil analisis ANOVA pada berat kering bebas abu menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara rata-rata AFDW pada perlakuan P1, P2, P3, dan P4, dengan nilai P < 0,05, yang berarti perlakuan memiliki pengaruh nyata pada berat kering bebas abu *Chlorella* sp.

Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa perlakuan P2 (1,0 mL/L) memiliki nilai DW tertinggi dan berbeda nyata dengan P1, P3, dan P4. Sementara itu, P3 dan P4 tidak menunjukkan perbedaan nyata karena memiliki notasi huruf yang sama. Pola yang sama terlihat pada AFDW, di mana P2 berbeda nyata dengan seluruh perlakuan lainnya, sedangkan P3 dan P4 tidak berbeda nyata. Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata antarperlakuan berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Tingginya nilai DW dan AFDW pada perlakuan P2 (1,0 mL/L) menunjukkan bahwa dosis tersebut memberikan kondisi nutrien yang lebih sesuai untuk pembentukan biomassa *Chlorella* sp. Ketersediaan nitrogen dan fosfor dalam media kultur berperan penting dalam pembentukan komponen sel dan peningkatan biomassa mikroalga. Alketife *et al.* (2017) menunjukkan bahwa konsentrasi nitrogen dan fosfor dapat memengaruhi pertumbuhan serta produksi biomassa *Chlorella vulgaris*. Hasil penelitian Trinh (2023) juga menunjukkan bahwa penggunaan media Walne dengan konsentrasi yang berbeda dapat menghasilkan respons biomassa yang berbeda pada *Chlorella vulgaris*. Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis pupuk Walne tidak selalu diikuti dengan peningkatan biomassa, karena pertumbuhan dan pembentukan biomassa mikroalga dipengaruhi oleh ketersediaan nutrien pada tingkat yang sesuai.

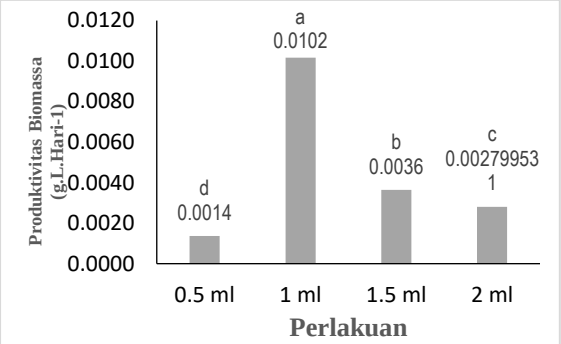


Gambar 4. Histogram *Dry Weight* (DW) dan *Ash Free Dry Weight* (AFDW) *Chlorella* sp. HasliUHO1 pada berbagai dosis pupuk Walne.

ISSN : 2621 - 1475

Produktivitas Biomassa

Produktivitas biomassa *Chlorella* sp. HasliUHO1 menunjukkan respons yang berbeda terhadap variasi dosis pupuk Walne (Gambar 5). Produktivitas biomassa tertinggi diperoleh pada perlakuan dosis Walne 1 mL/L, yaitu sebesar 0,0102 g/L/hari, sedangkan produktivitas terendah terdapat pada dosis 0,5 mL/L, yaitu sebesar 0,0014 g/L/hari. Produktivitas pada dosis 1,5 dan 2 mL/L masing-masing sebesar 0,0036 dan 0,0028 g/L/hari. Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa variasi dosis pupuk Walne berpengaruh nyata terhadap produktivitas biomassa (P<0,05). Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa seluruh perlakuan memiliki notasi yang berbeda, yaitu d, a, b, dan c, sehingga setiap dosis menghasilkan produktivitas biomassa yang berbeda nyata.

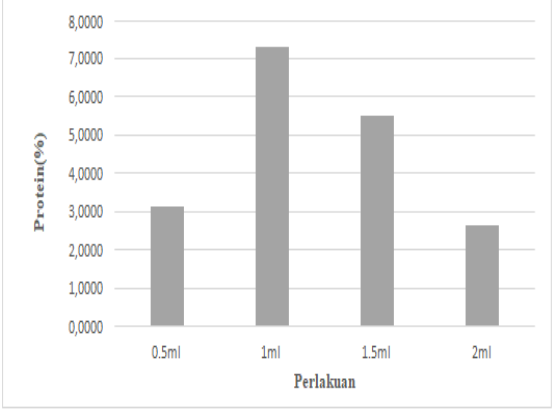


Gambar 5. Produktivitas biomassa *Chlorella* sp. HasliUHO1 pada berbagai dosis pupuk Walne. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata antarperlakuan berdasarkan uji DMRT (P<0,05).

Kandungan Protein Mikroalga *Chlorella* sp.

Kandungan protein tertinggi (7,30%) diperoleh pada perlakuan dosis 1,0 mL/L, namun secara statistik tidak berbeda nyata antar perlakuan (P > 0,05). Hasil ini menunjukkan bahwa variasi dosis pupuk Walne dalam kisaran penelitian belum memberikan pengaruh signifikan terhadap akumulasi protein *Chlorella* sp. secara statistik. Meskipun demikian, tren peningkatan protein pada dosis 1,0 mL/L mengindikasikan bahwa keseimbangan nutrien berperan penting dalam mendukung sintesis protein.

Nilai protein yang relatif rendah dibandingkan laporan literatur kemungkinan dipengaruhi oleh rasio nutrien media, waktu panen, karakteristik strain lokal, serta kondisi lingkungan selama kultur. Faktor-faktor tersebut perlu diperhatikan dalam pengembangan penelitian lanjutan untuk meningkatkan kandungan protein biomassa mikroalga.



Gambar 6. Histogram kadar protein pada *Chlorella* sp.

Tabel 1. Nilai rata-rata parameter pertumbuhan, biomassa, produktivitas biomassa, dan kandungan protein *Chlorella* sp. HasliUHO1 pada berbagai dosis pupuk Walne

Dosis (mL/L)	RGR (hari^{-1})	DW (g)	AFDW (g)	Biomassa (g/L/hari)	Protein (%)
0,5	1,0056	0,0158	0,00137	0,0014	3,15
1,0	1,0873	0,0498	0,00935	0,0102	7,30
1,5	1,0583	0,0311	0,00344	0,0036	5,51
2,0	1,0311	0,0277	0,00272	0,0028	2,65

Pembahasan

Kepadatan Sel dan Laju Pertumbuhan Relatif

Kepadatan sel *Chlorella* sp. HasliUHO1 meningkat selama periode kultur pada seluruh perlakuan dan mencapai nilai maksimum pada hari ke-6. Perlakuan dosis pupuk Walne 1,0 mL/L menghasilkan kepadatan sel tertinggi (68,14 × 10^4 sel/mL), sedangkan dosis 0,5 mL/L dan 2,0 mL/L menunjukkan kepadatan yang lebih rendah. Pola tersebut mengindikasikan bahwa ketersediaan nutrien pada dosis 1,0 mL/L berada pada kondisi optimum untuk mendukung pembelahan sel. Hal ini didukung oleh Alketife *et al*. (2017) yang melaporkan bahwa konsentrasi

ISSN : 2621 - 1475

serta rasio nitrogen dan fosfor berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan pembentukan biomassa *Chlorella vulgaris*. Hasil penelitian ini sejalan dengan Wardani *et al.* (2020) dan Widiyaningrum *et al.* (2020) yang menunjukkan bahwa dosis sedang pupuk Walne mampu meningkatkan kepadatan sel *Chlorella* sp., sedangkan dosis yang terlalu rendah menyebabkan keterbatasan nutrien dan dosis yang terlalu tinggi justru menurunkan efisiensi pertumbuhan karena ketidakseimbangan nutrien.

Trinh (2023) juga melaporkan bahwa perbedaan konsentrasi media Walne menghasilkan respons pertumbuhan dan produktivitas biomassa yang berbeda pada *Chlorella vulgaris*, yang menegaskan bahwa ketersediaan nutrien merupakan faktor penentu perkembangan mikroalga.Penurunan kepadatan sel pada perlakuan dosis 2,0 mL/L setelah hari ke-6 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi nutrien tidak selalu berkorelasi positif dengan pertumbuhan sel. Ketersediaan unsur hara yang berlebihan dapat menyebabkan stres fisiologis pada sel mikroalga karena meningkatnya kebutuhan energi untuk mengatur proses penyerapan dan pemanfaatan nutrien. Penurunan kepadatan sel pada fase akhir kultur dapat disebabkan oleh kompetisi terhadap faktor pembatas pertumbuhan, terutama cahaya dan nutrien. Pada kepadatan sel yang tinggi, fenomena self-shading terjadi ketika sel saling menutupi sehingga penetrasi cahaya berkurang dan menghambat fotosintesis (Khoeyi *et al.,* 2015). Selain itu, akumulasi metabolit selama kultur berlangsung dapat memberikan efek penghambatan terhadap aktivitas fisiologis mikroalga (Touloupakis *et al.,* 2015).

Laju pertumbuhan relatif tertinggi tercatat pada perlakuan P2 (1,0 mL/L) dengan nilai 1,0873 sel.hari^{-1}, sedangkan P1 (0,5 mL/L) terendah yaitu 1,0056 sel.hari^{-1}. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai P > 0,05 yang berarti variasi dosis pupuk Walne tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap laju pertumbuhan relatif. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa seluruh dosis yang digunakan masih dapat mendukung pertumbuhan dalam kisaran yang relatif serupa. Trinh (2023) menjelaskan bahwa respons pertumbuhan *Chlorella vulgaris* terhadap media Walne dipengaruhi oleh konsentrasi nutrien, namun peningkatan dosis tidak selalu menghasilkan peningkatan pertumbuhan yang signifikan. Hal tersebut diperkuat oleh Alketife *et al.* (2017) dan Huang *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa pemanfaatan nitrogen dan fosfor dipengaruhi oleh kemampuan adaptasi sel terhadap kondisi media, sehingga respons pertumbuhan tidak selalu berbeda nyata meskipun konsentrasi nutrien meningkat.

Biomassa (DW dan AFDW) dan Produktivitas Biomassa

Perlakuan dosis pupuk Walne memberikan pengaruh nyata terhadap biomassa *Chlorella* sp. (P < 0,05). Nilai DW dan AFDW tertinggi diperoleh pada dosis 1,0 mL/L, sedangkan dosis terendah diperoleh pada perlakuan 0,5 mL/L. Hal ini menunjukkan bahwa ketersediaan nutrien yang seimbang berperan penting dalam meningkatkan akumulasi bahan organik sel.

Produktivitas biomassa tertinggi juga dihasilkan pada dosis 1,0 mL/L, yang sejalan dengan tingginya kepadatan sel dan biomassa pada perlakuan tersebut. Dosis pupuk yang terlalu rendah menyebabkan keterbatasan nutrien, sedangkan dosis yang terlalu tinggi berpotensi menimbulkan stres fisiologis atau ketidakseimbangan nutrien, sehingga menurunkan efisiensi pertumbuhan.

Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Trinh (2023) yang menunjukkan bahwa konsentrasi media Walne yang berbeda dapat menghasilkan respons pertumbuhan dan produktivitas biomassa yang berbeda pada *Chlorella vulgaris*. Alketife *et al.* (2017) juga menunjukkan bahwa ketersediaan nitrogen dan fosfor pada konsentrasi tertentu dapat memengaruhi pertumbuhan dan pembentukan biomassa *Chlorella vulgaris*. Kondisi nutrien yang tidak sesuai, baik karena kekurangan maupun kelebihan, dapat menyebabkan perubahan dalam metabolisme sel sehingga tidak selalu menghasilkan peningkatan biomassa. Oleh karena itu, dosis 1,0 mL/L pada penelitian ini diduga merupakan kondisi yang lebih sesuai untuk mendukung pembentukan biomassa dan produktivitas *Chlorella* sp. HasliUHO1 dibandingkan dosis lainnya.

ISSN : 2621 - 1475

Kandungan Protein *Chlorella* sp. HasliUHO1

Kandungan protein tertinggi *Chlorella* sp. HasliUHO1 diperoleh pada perlakuan pupuk Walne dosis 1,0 mL/L dengan nilai sebesar 7,30%. Tingginya kandungan protein pada perlakuan tersebut menunjukkan bahwa dosis nutrien yang diberikan mampu mendukung aktivitas metabolisme sel, terutama dalam proses pembentukan asam amino dan sintesis protein. Unsur nitrogen yang terdapat dalam pupuk Walne merupakan komponen penting dalam pembentukan protein karena berperan sebagai penyusun utama asam amino dan senyawa nitrogen organik dalam sel mikroalga.

Nilai kandungan protein yang diperoleh pada penelitian ini masih lebih rendah dibandingkan dengan kandungan protein *Chlorella* sp. yang umum dilaporkan dalam literatur, dimana Becker (2007) menyatakan bahwa biomassa kering *Chlorella* sp. dapat memiliki kandungan protein sekitar 50–60% berat kering. Perbedaan nilai tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti karakteristik strain yang digunakan, kondisi kultur, fase pertumbuhan saat pemanenan, serta metode analisis protein yang diterapkan.

Rendahnya kandungan protein pada penelitian ini kemungkinan terutama dipengaruhi oleh waktu panen yang dilakukan pada hari ke-7 ketika kultur mulai memasuki fase akhir pertumbuhan. Pada fase ini sebagian nitrogen seluler dapat dialihkan untuk sintesis senyawa cadangan seperti lipid dan karbohidrat sehingga proporsi protein menurun. Selain itu, kondisi kultur yang belum dioptimalkan, seperti intensitas cahaya, ketersediaan karbon anorganik, dan rasio nitrogen-fosfor media, dapat membatasi akumulasi protein. Faktor metodologis juga perlu diperhatikan karena metode Kjeldahl mengukur nitrogen total sehingga hasil dapat dipengaruhi oleh faktor konversi yang digunakan. Penelitian selanjutnya perlu mengevaluasi waktu panen yang berbeda, optimasi rasio nutrien, serta membandingkan metode Kjeldahl dengan metode Bradford atau Lowry untuk memperoleh estimasi kandungan protein yang lebih komprehensif.

Variasi kandungan protein antarstrain juga telah dilaporkan dalam penelitian terbaru. Xu *et al.* (2021) membandingkan lima strain *Chlorella* dan menemukan kandungan protein sebesar 21,0–28,1%, dengan perbedaan kandungan protein antarstrain. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kandungan protein tidak hanya dipengaruhi oleh kondisi kultivasi, tetapi juga dapat berbeda berdasarkan karakteristik strain yang digunakan. Penelitian Yuan *et al.* (2025) yang membandingkan empat strain *Chlorella* juga menunjukkan perbedaan kemampuan akumulasi protein antarstrain, dengan kandungan protein strain LZ-29 mencapai 51,99%, lebih tinggi dibandingkan FACHB-5 dan FACHB-11 pada kondisi nitrogen amonia tinggi. Perbedaan tersebut memperkuat dugaan bahwa karakteristik genetik dan fisiologis strain dapat berkontribusi terhadap variasi kandungan protein pada *Chlorella*.

Penggunaan isolat lokal *Chlorella* sp. HasliUHO1 pada penelitian ini dapat menjadi salah satu faktor yang menyebabkan perbedaan kandungan protein dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Setiap strain mikroalga memiliki kemampuan fisiologis yang berbeda dalam memanfaatkan nutrien dan mengakumulasi komponen biokimia. Perbedaan genetik antarstrain dapat menyebabkan variasi dalam laju pertumbuhan, efisiensi penyerapan nitrogen, serta kemampuan pembentukan protein sel.

Selain faktor strain, fase pertumbuhan saat pemanenan juga berpengaruh terhadap kandungan protein mikroalga. Biomassa yang dipanen pada fase eksponensial umumnya memiliki kandungan protein lebih tinggi karena aktivitas pembelahan sel dan sintesis komponen sel berlangsung secara aktif. Sebaliknya, pada fase akhir pertumbuhan, ketersediaan nutrien mulai berkurang sehingga metabolisme sel dapat mengalami perubahan dari pembentukan protein menuju akumulasi senyawa cadangan seperti lipid dan karbohidrat.

Rendahnya kandungan protein yang diperoleh juga dapat berkaitan dengan kondisi kultur selama penelitian, meliputi ketersediaan nutrien, intensitas cahaya, aerasi, kepadatan sel, dan lama pemeliharaan. Walne menyediakan unsur nitrogen dan fosfor yang berperan dalam pertumbuhan mikroalga, namun peningkatan dosis nutrien tidak selalu meningkatkan kandungan protein karena

ISSN : 2621 - 1475

mikroalga membutuhkan keseimbangan nutrisi untuk mengoptimalkan proses metabolisme.

Selain itu, metode analisis protein menggunakan metode Kjeldahl juga dapat memengaruhi nilai protein yang diperoleh. Metode Kjeldahl menentukan kadar protein berdasarkan kandungan nitrogen total yang kemudian dikonversi menggunakan faktor konversi tertentu. Perbedaan metode analisis, faktor konversi, dan kondisi biomassa yang dianalisis dapat menyebabkan perbedaan nilai protein dibandingkan dengan penelitian lain. Oleh karena itu, nilai protein sebesar 7,30% pada penelitian ini menggambarkan karakteristik kandungan protein *Chlorella sp.* HasliUHO1 pada kondisi kultur dan perlakuan pupuk Walne yang digunakan.

KESIMPULAN

Dosis pupuk Walne 1,0 mL/L merupakan dosis optimal untuk mendukung pertumbuhan dan kualitas biomassa *Chlorella* sp. HasliUHO1, yang ditunjukkan dengan kinerja pertumbuhan terbaik meliputi kepadatan sel, biomassa, produktivitas biomassa, dan kandungan protein tertinggi dibandingkan dosis lainnya. Dosis pupuk Walne yang terlalu rendah menyebabkan keterbatasan nutrien sedangkan dosis yang terlalu tinggi cenderung menimbulkan ketidakseimbangan nutrien sehingga menurunkan efisiensi pertumbuhan dan kualitas biomassa. Oleh karena itu, optimasi dosis pupuk Walne berperan penting dalam meningkatkan produksi biomassa mikroalga sebagai bahan baku alternatif pakan ikan berkelanjutan, dan dosis 1,0 mL/L dapat direkomendasikan sebagai dosis awal untuk pengembangan kultur *Chlorella* sp. HasliUHO1 pada skala yang lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, I., Ahmed, S., Hwang, J. Y., & Kim, J. D. (2023). Microalgae as a sustainable alternative in aquafeed: A review of current status and future prospects. *Aquaculture Reports*, 29, 101514.

Alketife, A. M., Judd, S., & Znad, H. (2017). Synergistic effects and optimization of nitrogen and phosphorus concentrations on the growth and nutrient uptake of a freshwater *Chlorella vulgaris*. *Environmental Technology, 38*(1), 94–102.

Becker, W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207–210.

Bosnjakovic, D., et al. (2022). Comparative assessment of nitrogen concentration effect on microalgal growth and biochemical characteristics of two *Chlorella* strains cultivated in digestate. Molecules, 27(14).

FAO. (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Guedes, A. C., Amaro, H. M., & Malcata, F. X. (2011). Microalgae as sources of high added-value compounds: A brief review of recent work. *Biotechnology Progress*, 27(3), 597–613.

Huang, Y., Lou, C., Luo, L., & Wang, X. C. (2021). *Insight into nitrogen and phosphorus coupling effects on mixotrophic Chlorella vulgaris growth under stably controlled nutrient conditions*. Science of the Total Environment, 752, 141747.

Khoeyi, Z. A., Seyfabadi, J., & Ramezanpour, Z. (2015). Effect of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth and biochemical composition of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Applied Phycology*, 27(2), 557–566.

Magyar, T., Németh, B., Tamás, J., & Nagy, P. T. (2024). Improvement of N and P ratio for enhanced biomass productivity and sustainable cultivation of *Chlorella vulgaris* microalgae. *Heliyon, 10*(1), e23238.

Rahman, P. K. S. M. (2016). Microalgae for food and feed: A review of current applications and future perspectives. *Journal of Applied Phycology*, 28(5), 2665–2679.

Tacon, A. G. J., & Metian, M. (2015). Feed matters: Satisfying the feed demand of aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 23(1), 1–10.

ISSN : 2621 - 1475

Tavares, L., Nudi, M. H., Arroyo, P. A., Godoy, R. F. B., & Trevisan, E. (2023). Effect of different concentrations of phosphorus and nitrogen on the growth of the microalgae *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Energy and Environmental Engineering, 14*(4), 563–572.

Touloupakis, E., et al. (2015). *Chlorella* for protein and biofuels: from strain selection to outdoor cultivation in a Green Wall Panel photobioreactor. Biotechnology for Biofuels, 8, 133.

Trinh, K. S. (2023). Comparison of Growth of *Chlorella vulgaris* in Flat-Plate Photobioreactor Using Batch, Fed-Batch, and Repeated Fed-Batch Techniques with Various Concentrations of Walne Medium. *Journal of Technical Education Science*, 18(6), 9–15.

Walne, P. R. (1970). Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. *Fishery Investigations*, Series II, 26(5), 1–62.

Wardani, D., Pratiwi, R., & Setiawati, D. (2020). Pengaruh konsentrasi pupuk Walne terhadap pertumbuhan dan kandungan protein *Chlorella* sp. *Jurnal Akuatika*, 11(1), 45–52.

Widiyaningrum, D. N., Cahyono, E., & Iswanto, T. (2020). Pengaruh variasi konsentrasi nutrien terhadap pertumbuhan biomassa mikroalga *Chlorella* sp. *Jurnal Biosaintropis*, 7(2), 122–129.

Xu, Q., Hou, G., Chen, J., Wang, H., Yuan, L., Han, D., Hu, Q., & Jin, H. (2021). Heterotrophically ultrahigh-cell-density cultivation of a high protein-yielding unicellular alga *Chlorella* with a novel nitrogen-supply strategy. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 9*, 774854.

Yuan, F., Liao, M., Xie, X., Luo, Z., Lu, X., Qiu, H., & Fan, C. (2026). Exploration of the physiological response characteristics of four *Chlorella* strains to ammonia nitrogen concentration in the culture system. *Journal of Ecology and Rural Environment, 42*(7), 1003–1012.