

RESEARCH ARTICLE

Analysis of Nanobubbles (NBs) Technology and Foliar Fertilization on the Growth of *Phalaenopsis* sp. Orchid

(Analisis Teknologi *Nanobubbles* (NBs) dan Pupuk Daun terhadap Pertumbuhan Anggrek *Phalaenopsis* sp.)

Andria Puspa^{*}, Tintrim Rahayu, Gatra Ervi Jayanti

Program Studi Biologi, Universitas Islam Malang, Jalan Mayjen Haryono 193, Dinoyo, Malang, Jawa Timur, 65144, Indonesia

ABSTRACT

Plants need nutrients which are then provided through fertilizers, but this can cause long-term problems due to limited absorption by plants so recently implemented NBs technology that can help reduce environmental pollution. This study aimed to determine the effect of NBsO₂, NBsH₂, NBsCO₂, NBsN₂ and, NBsO₃ on the growth of *Phalaenopsis* sp. orchid plants. The research method was a complete randomized design (RAL) with 7 treatments (control without application of fertilizer and NBs, foliar fertilizer, NBsO₂, NBsH₂, NBsCO₂, NBsN₂, NBsO₃) and 4 repeats. NBs were made using a nanogenerator with a flow of 5 liters/ minute and induced for 15 minutes. The data analysis used is the *Multivariate Analysis of Variance* (MANNOVA) test. The control and NBs treatments were given by dropping 5 ml on each orchid plant. The results showed that leaf length, number of leaves, plant weight and number of plant roots NBsN₂ treatment had the best effect, while on root length, NBsO₂ treatment had a better effect than other treatments. The application of foliar fertilizer is less effective to meet plant growth needs. At the same time, NBs are more effective because they are very small making it easier for plants to absorb.

Nutrisi tanaman dapat diberikan dengan menambahkan pupuk, penyerapan pupuk yang terbatas oleh tanaman dapat dapat menyebabkan masalah jangka panjang. Teknologi *Nanobubbles* (NBs) mulai di terapkan di berbagai bidang, contoh mengatasi permasalahan dalam bidang lingkungan, yaitu mengurangi pencemaran. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian NBsO₂, NBsH₂, NBsCO₂, NBsN₂ dan NBsO₃ terhadap pertumbuhan tanaman anggrek *Phalaenopsis* sp. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan (kontrol tanpa pemberian pupuk dan NBs, pupuk daun, NBsO₂, NBsH₂, NBsCO₂, NBsN₂, NBsO₃) dan 4 kali ulangan. Analisis data yang digunakan yaitu uji *Multivariate Analysis of Variance* (MANNOVA). Kontrol dan perlakuan NBs diberikan dengan cara meneteskan sebanyak 5 ml pada setiap tanaman anggrek. Hasil penelitian pada pengamatan panjang daun, jumlah daun, berat tanaman dan jumlah akar tanaman pada perlakuan NBsN₂ memberikan pengaruh paling baik. Pada parameter panjang akar, pemberian perlakuan NBsO₂ memberikan pengaruh lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pemberian pupuk daun selama penelitian kurang memberikan pengaruh dibandingkan dengan pemberian NBs. Hal ini karena NBs dapat diserap oleh akar tanaman lebih efektif, masuk ke dalam sistem tanaman dan meningkatkan pertumbuhan bagi tanaman.

Keywords: *Phalaenopsis* sp., *Nanobubbles* (NBsO₂, NBsH₂, NBsCO₂, NBsN₂, and NBsO₃), Foliar fertilizer, Growth.

^{*}Corresponding author:

Andria Puspa

E-mail: 21901061063@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Kecepatan tumbuh anggrek cukup lambat dan perbanyakannya secara konvensional dari biji tidak mampu memenuhi permintaan pasar sehingga petani menggunakan teknik kultur jaringan [1]. Kebutuhan produksi tanaman anggrek semakin meningkat, sehingga penggunaan pupuk dalam produksi tanaman pertanian semakin intensif [2]. Peningkatan efisiensi penyerapan pupuk oleh tanaman merupakan salah

satu cara pengurangan penggunaan pupuk kimia yang berlebihan dan dapat menjaga lingkungan [3]. Penyerapan pupuk yang efisien dapat menggunakan teknologi *Nanobubbles* (NBs). NBs merupakan gelembung berukuran 1-100 nm. NBs banyak digunakan dalam teknik lingkungan karena karakteristik fisik, biologi dan kimianya yang unik [4].

Menurut Wang [2] peningkatan tinggi tanaman dan panjang akar bibit padi ditunjukkan secara signifikan setelah pemberian NBsO₂. NBs dapat merangsang

sintesis hormon pertumbuhan giberelin dan meningkatkan regulasi gen penyerapan nutrisi tanaman. Nitrogen dan Karbon Dioksida adalah kunci pertumbuhan biomassa, memiliki pengaruh terhadap perkecambahan dan pertumbuhan tanaman. NBsN₂ meningkatkan efisiensi fiksasi nitrogen molekuler oleh diazotrof atau organisme pengikat nitrogen, yang mengubah N₂ untuk amonia oleh nitrogenase sehingga mendorong perkecambahan biji atau pertumbuhan tanaman [5]. Pemupukan tanaman dengan CO₂ dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi, karena CO₂ dapat mengefisiensikan fotosintesis dengan cara meningkatkan laju asimilasi di dalam daun dan mengefisiensikan penggunaan air [6].

NBsO₃ meningkatkan kelarutan, stabilitas dan kemajuan ozon dalam sistem akuakultur [7]. Menurut Liu [8], teknologi baru yang menggabungkan teknologi NBs dan air hidrogen digunakan untuk mengatasi masalah kelarutan hidrogen yang rendah dan telah diterapkan di berbagai bidang. Kapasitas antioksidan air hidrogen NBs pada eksperimen *in vitro* secara signifikan lebih tinggi daripada air hidrogen tanpa NBs di bawah konsentrasi hidrogen terlarut yang serupa. Sementara itu, air hidrogen NBs secara signifikan dapat menurunkan ROS biji jelai selama perkecambahan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian NBsO₂, NBsH₂, NBsCO₂, NBsN₂ dan NBsO₃ terhadap pertumbuhan anggrek *Phalaenopsis* sp.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit anggrek *Phalaenopsis* sp. hasil kultur jaringan yang telah diaklimatisasi selama 1 bulan menggunakan media moss putih. Pupuk Daun Gaviota (Phosphoric acid 21%: Potash 21% dan Nitrogen 21%), dan cairan NBsO₂, NBsH₂, NBsCO₂, NBsN₂ dan NBsO₃. Pembuatan cairan NBs menggunakan alat Nanogenerator (Yixing Holly Technology Co., Ltd, China) yang diinduksi selama 15 menit dengan *flow* 5L/ menit.

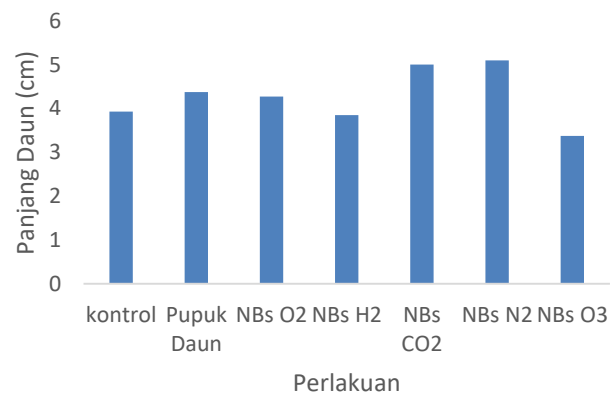
Penelitian ini dilakukan secara eksperimen lapangan dalam *green house* Laboratorium Orchidology dan Nursery, FMIPA, Universitas Islam Malang. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 dan 4 kali ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah kontrol, pupuk daun, NBsO₂, NBsH₂, NBsCO₂, NBsN₂, dan NBsO₃.

Konsentrasi pupuk yang digunakan yaitu 1 g/ L, jumlah pupuk dan NBs yang digunakan untuk tanaman sebanyak 5 mL. Penelitian dilakukan selama 8 minggu, dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali. Parameter pengamatan meliputi panjang daun, jumlah daun, berat basah tanaman, panjang akar dan jumlah akar. Data hasil penelitian dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan uji *Multivariate Analysis of Variance* (MANNOVA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Panjang daun anggrek *Phalaenopsis*

Panjang daun tanaman anggrek menunjukkan bahwa tanaman anggrek yang diberikan NBsN₂ mengalami pertambahan yang cukup signifikan. Panjang daun sebelum perlakuan 5,4 cm dan menjadi 7 cm pada pengamatan minggu ke-8. Gambar 1 menunjukkan rerata panjang daun tanaman anggrek. Pemberian NBsN₂ memberikan respon yang paling baik daripada perlakuan kontrol dan pupuk daun. NBsN₂ memberikan pertambahan panjang daun dengan rata-rata 5,1 cm sedangkan pada pupuk daun yaitu 4,3 cm dan kontrol 4 cm.



Gambar 1. Rerata panjang daun *Phalaenopsis* sp hasil uji NBs

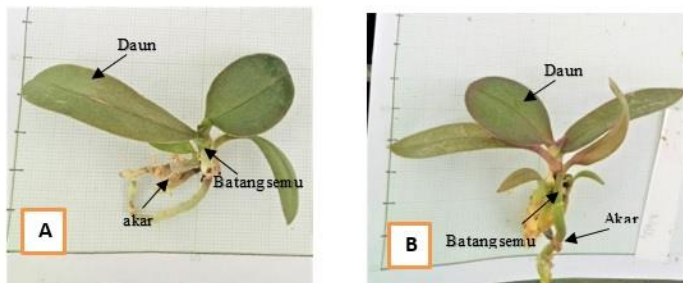
Unsur hara yang diberikan ke dalam tanaman dapat berpengaruh terhadap panjang daun. Nitrogen merupakan salah satu elemen kunci dari pertumbuhan tanaman dan memiliki efek pada tingkat perkecambahan dan pertumbuhan tanaman. Pemberian NBsN₂ dapat memberikan banyak akses atau lokasi jangkauan ke N₂ dan meningkatkan efisiensi fiksasi nitrogen molekuler oleh organisme pengikat nitrogen. Organisme ini kemudian mengubah N₂ untuk amonia oleh nitrogenase dan

dengan demikian dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman. NBsN₂ memberikan pengaruh lebih baik dari pupuk daun pada pertumbuhan tanaman karena NBs mudah diserap oleh akar tanaman, lebih efektif dan langsung masuk ke dalam sistem tanaman sehingga dapat membantu meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi tanaman.

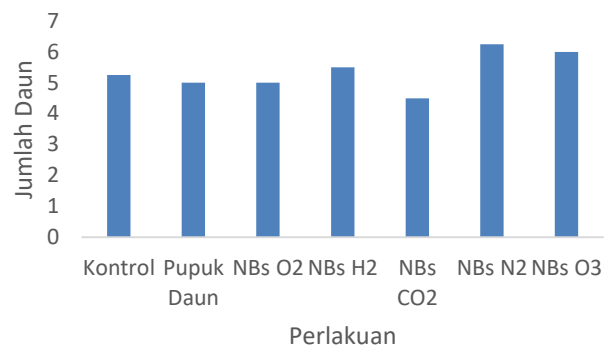
Hal ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Kohno [9] yang menyatakan bahwa pemberian NBsN₂ dapat meningkatkan produksi tanaman jagung yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian pupuk. Ahmed [5] juga menambahkan bahwa ROS merupakan salah satu agen aktivasi yang terlibat dalam pelebaran dinding sel dan pemanjangan, pasokan ROS yang diberikan NBs secara terus menerus dapat mempertahankan stimulasi jangka panjang organisme hidup dan dengan demikian dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Jumlah daun anggrek *Phalaenopsis*

Jumlah daun tanaman anggrek menunjukkan bahwa perlakuan NBs memberikan pengaruh lebih baik jika dibandingkan dengan pemberian pupuk dan perlakuan kontrol. Selama penelitian, pemberian NBsN₂ menunjukkan pertumbuhan yang baik yaitu daun tanaman tampak jauh lebih banyak dan berwarna hijau kemerahan serta tampak segar. Sedangkan pada perlakuan pupuk dan kontrol pertumbuhan panjang daun tidak secepat pemberian NBs (Gambar 2). Pertumbuhan jumlah daun dengan rata-rata tertinggi terdapat pada pemberian NBsN₂ dengan nilai rata-rata 6,25 buah, sedangkan pada pemberian pupuk daun sebesar 5 buah dan kontrol 5,25 buah. Rata-rata jumlah daun pada setiap perlakuan ditunjukkan dalam Gambar 3.



Gambar 2. Jumlah daun sebelum perlakuan (A) dan setelah perlakuan 8 minggu (B) pada pemberian NBsN₂



Gambar 3. Rerata jumlah daun *Phalaenopsis* sp. hasil uji NBs

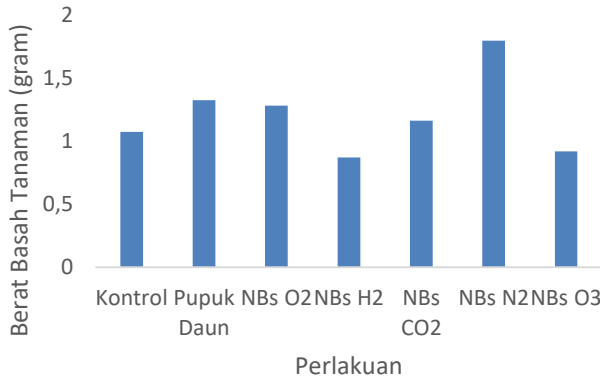
Daun merupakan organ tanaman tempat mensintesis makanan untuk kebutuhan tanaman maupun sebagai cadangan makanan. Daun memiliki klorofil yang berperan dalam melakukan fotosintesis. Semakin banyak jumlah daun, maka tempat untuk melakukan fotosintesis juga lebih banyak [10]. Ahmed [5] menunjukkan bahwa pemberian NBsN₂ dapat menyebabkan peningkatan jumlah daun tomat secara signifikan jika dibandingkan dengan pemberian air ledeng. Hal ini juga berlaku pada tanaman kacang yang diberikan perlakuan NBs yang menunjukkan kecepatan tumbuh terutama pada bagian daun yang tumbuh dari tunasnya.

NBs dapat menyediakan mekanisme transportasi gas ke membran sel yang kemudian dapat mempengaruhi struktur dan konformasi protein peka redoks, sehingga dapat mempengaruhi asupan polutan logam berat, NBs juga dapat menyiapkan mekanisme transportasi untuk pengiriman gas ke membran dan dengan demikian dapat mempengaruhi protein transmembran atau struktur membran [8] ini menjadikan pemberian NBs dapat mempercepat pertumbuhan tanaman karena nutrisi yang diberikan lebih cepat terserap. Hal ini didukung oleh pendapat Rahayu [11] dalam penelitiannya yang menyatakan bahwa induksi NBs terbukti efektif terhadap pertumbuhan tanaman, dimana ukurannya yang termasuk nano menyebabkan penyerapan gas yang dibawa menjadi lebih cepat terserap dan salah satu efeknya yaitu dapat menginduksi hormon dan gen.

Berat basah anggrek *Phalaenopsis*

Berat basah tanaman anggrek menunjukkan bahwa perlakuan NBs memberikan pengaruh lebih baik jika dibandingkan dengan pemberian pupuk dan

perlakuan kontrol. Selama penelitian, pemberian NBsN₂ menunjukkan pertumbuhan yang baik yaitu tanaman tampak jauh lebih besar dan segar serta daun tampak jauh lebih besar dan panjang. Sedangkan pada perlakuan pupuk dan kontrol tampak beberapa daun yang menguning dan kemudian rontok. Berdasarkan nilai rata-rata berat basah tanaman, nilai tertinggi terdapat pada pemberian NBsN₂ (1,80 g), pupuk daun (1,33 g) dan kontrol (1 g). Rata-rata berat basah tanaman anggrek ditunjukkan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Rerata berat basah *Phalaenopsis* sp hasil uji NBs

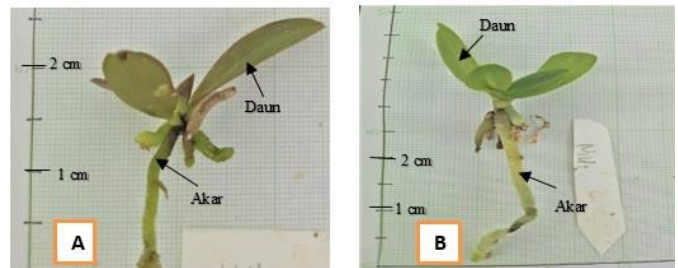
Pada berat basah tanaman dapat dilihat bahwa dibandingkan dengan pemberian pupuk dan perlakuan kontrol, pemberian NBsN₂ menunjukkan respon yang lebih cepat (Gambar 3). Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Ebina [12] yang menyatakan bahwa NBs secara signifikan dapat meningkatkan tinggi, panjang daun dan berat segar tanaman. NBs juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, ikan dan juga tikus. Peningkatan berat basah tanaman terjadi karena sel tanaman mengalami pembelahan sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan massa sel dan ketika massa sel pada tanaman meningkat maka berat basah tanaman juga akan meningkat. Pendapat ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Ahmed [6] yang menyatakan bahwa NBs terbukti dapat menginduksi ekspresi gen yang terkait dengan pembelahan sel dan ekspansi sel.

NBs berpengaruh terhadap pertumbuhan anggrek *Dendrobium Imelda Marina Masagung x Bumi Menangis* yang dapat memperbesar batang anggrek, menambah tinggi tanaman serta menumbuhkan tunas baru dan juga akar baru. Hal ini menguatkan

pendapat bahwa pemberian NBs dapat menambah berat basah tanaman dengan adanya indikator pertumbuhan tanaman anggrek [12]. Tercapainya berat basah tanaman yang tinggi pada pemberian NBsN₂ disebabkan karena peranan dari N yang dapat merangsang pertumbuhan secara keseluruhan yang kemudian dapat mengindikasikan bahwa proses fotosintesis berjalan dengan baik.

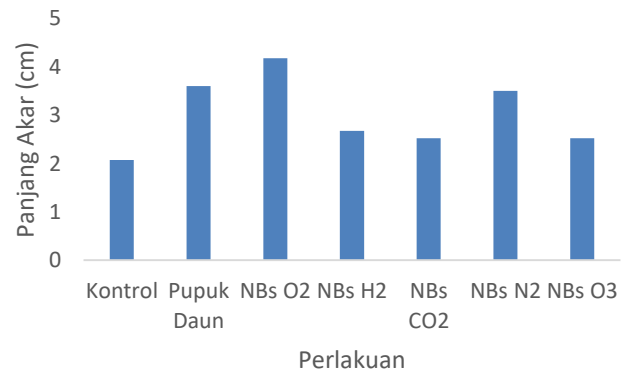
Panjang akar anggrek *Phalaenopsis*

Panjang akar tanaman anggrek menunjukkan bahwa perlakuan NBs memberikan pengaruh lebih baik jika dibandingkan dengan pemberian pupuk dan perlakuan kontrol. Selama penelitian, pemberian NBsO₂ menunjukkan pertumbuhan yang baik yaitu akar tanaman tampak jauh lebih panjang dan berwarna hijau serta tampak berdaging (Gambar 5).



Gambar 5. Panjang akar pada pemberian NBsO₂ sebelum perlakuan (A) dan sesudah 8 minggu pengamatan (B)

Sedangkan pada perlakuan pupuk dan kontrol pertambahan panjang akar tidak secepat pemberian NBs. Berdasarkan nilai rata-rata panjang akar tanaman, nilai tertinggi terdapat pada pemberian NBs O₂ (4,18 cm), pupuk daun (3,6 cm) dan kontrol (2,08 cm). Rata-rata panjang akar tanaman anggrek ditunjukkan dalam Gambar 6.



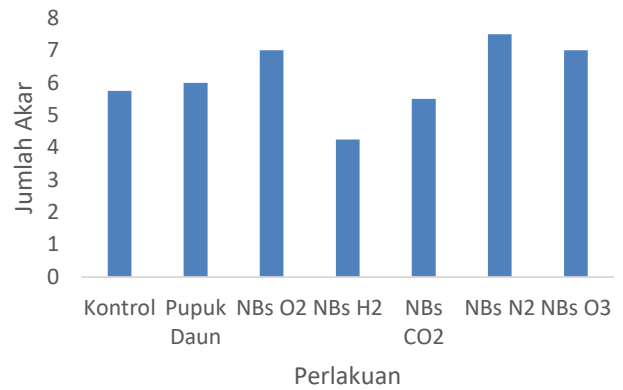
Gambar 6. Rerata panjang akar *Phalaenopsis* sp. hasil uji NBs

Panjang akar merupakan hasil perpanjangan sel-sel di belakang meristem ujung. Akar berfungsi sebagai penyerap unsur hara dan penguat berdirinya tanaman. Akar yang panjang diharapkan bidang penyerapan unsur hara semakin luas sehingga distribusi nutrisi dari media tanam ke tanaman dapat berjalan dengan lancar [13]. Berdasarkan Gambar 4 dapat dilihat bahwa pemberian NBs memberikan respon pertumbuhan panjang akar jauh lebih cepat dibandingkan dengan pemberian pupuk dan perlakuan kontrol. NBsO₂ secara signifikan dapat meningkatkan tinggi tanaman dan panjang akar pada bibit padi [2]. Akar tanaman perlu banyak oksigen untuk mempertahankan metabolisme sendiri dan seluruh pertumbuhan tanaman. Pemberian NBs dapat merangsang sintesis hormon pertumbuhan giberelin dan meningkatkan regulasi gen penyerapan nutrisi tanaman [5].

NBs dapat menempel pada akar tanaman dan menarik ion nutrisi bermuatan positif dalam hal ini contohnya kalium dan kalsium yang berasal dari lingkungan [14][15][16]. Tanaman menyerap unsur hara yang diberikan melalui pupuk dengan dengan mekanisme pergerakan unsur hara di dalam tanah menuju ke permukaan akar bersama dengan air. Sedangkan NBs memiliki sifat hidrofobik dan muatan permukaan sehingga dapat meningkatkan pelepasan dan penyerapan nutrisi tanah, selain itu keberadaan NBs dalam air dapat menurunkan tegangan permukaan yang dapat meningkatkan pelepasan unsur hara atau bahan organik dari tanah [10]. NBs menunjukkan potensi besar dalam meningkatkan penyerapan nutrisi oleh tanaman serta berakibat pengurangan jumlah kebutuhan pupuk.

Jumlah akar anggrek *Phalaenopsis*

Jumlah akar tanaman anggrek menunjukkan bahwa perlakuan NBs memberikan pengaruh lebih baik jika dibandingkan dengan pemberian pupuk dan perlakuan kontrol. Selama penelitian, pemberian NBsN₂ menunjukkan pertumbuhan yang baik yaitu akar tanaman mengalami pertambahan jumlah dan tampak berwarna hijau serta berdaging. Sedangkan pada perlakuan pupuk dan kontrol pertambahan akar tidak secepat pemberian NBs. Berdasarkan nilai rata-rata jumlah akar tanaman, nilai tertinggi terdapat pada pemberian NBsN₂ (7,6 buah), pupuk daun (6 buah) dan kontrol (5,75 buah). Rata-rata jumlah akar pada tanaman anggrek ditunjukkan dalam Gambar 7.



Gambar 7. Rerata jumlah akar *Phalaenopsis* sp hasil uji NBs

Pertambahan jumlah akar dipengaruhi oleh nutrisi yang diberikan selama masa pertumbuhan terutama unsur hara N, kandungan N yang tinggi dapat mempertahankan awal pertumbuhan yang bagus sehingga dapat berpengaruh pada peningkatan jumlah akar. Pupuk daun gaviota memiliki kandungan N, P, K dengan perbandingan 14: 30: 27 namun pengaruhnya terhadap jumlah akar tidak signifikan, hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Golub [17] yang menyatakan bahwa efektifitas pemberian pupuk daun dipengaruhi juga oleh konsentrasi pupuk, namun dampaknya cenderung lambat sehingga pengaruh terhadap pertumbuhan tanaman terlihat sama. Pemberian NBsN₂ memberikan efek yang lebih baik daripada pupuk daun pada pertumbuhan tanaman karena NBs dapat diserap oleh akar tanaman dengan lebih efektif dan langsung masuk ke dalam sistem tanaman serta dapat membantu meningkatkan ketersediaan nutrisi oleh tanaman.

NBsN₂ memiliki pengaruh yang cukup besar pada tingkat perkecambahan, mungkin karena pengiriman elemen nitrogen yang efektif atau faktor pertumbuhan lainnya yang disebabkan oleh NBs [5]. Hal ini didukung dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kohno [9] yang menunjukkan bahwa pemberian NBsN₂ dapat meningkatkan produksi tanaman jagung yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian pupuk daun. Potensi dari pengaplikasian NBs mungkin tidak terbatas pada pertumbuhan tanaman dan pertanian, tapi juga berlaku untuk proses kimia atau industri lainnya seperti fitoremediasi sebagai proses yang efisien, ramah lingkungan dan hemat biaya untuk

meningkatkan pertumbuhan tanaman atau menghilangkan dan mengurangi polusi yang disebabkan oleh pupuk kimia.

Perlakuan pada penelitian ini berpengaruh secara signifikan, yang ditunjukkan dengan hasil uji *Roy's Largest Root* pada *Multivariate Analysis of Variance* (MANNOVA) yaitu 0,003. Perbedaan ditunjukkan bahwa tanaman dengan pemberian NBs lebih baik dalam pertumbuhan dibandingkan perlakuan lain. NBs mempunyai ukuran yang kecil 1-100 nm sehingga mudah dalam penyerapan oleh tumbuhan.

KESIMPULAN

Pemberian NBsN₂ memberikan pengaruh lebih baik pada jumlah daun (6,25 buah), panjang daun (5,1 cm), berat basah tanaman (1,80 g) dan jumlah akar (7,6 buah) dibanding dengan perlakuan lainnya. Sedangkan pada panjang akar, pemberian NBsO₂ memberikan pengaruh lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu 4,18 cm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada program Matching Fund DIKTI tahun 2022 yang telah memberikan pendanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] T. Rahayu, G. E. Jayanti and D. Agisimanto, "Indole-3-butyric acid induced adventitious root of dendrobium milla nayla x dendrobium striaenopsis planted on coco-husk and wood charcoal during acclimatization stage," *Berkala Penelitian Hayati*, vol. 28, no. 1, pp. 2337-389x, 2022.
- [2] Y. Wang, S. Wang, J. Sun, H. Dai, B. Zhang, W. Xiang, Z. U, P. Li, J. Yang and W. Zhang, "Nanobubbles promote nutrient utilization and plant growth in rice by upregulating nutrient uptake genes and stimulating growth hormone production," *Science of The Total Environment*, p. 800, 2021.
- [3] L. Lei, Z. Xiuying, X. Wen, J. L. Xue, L. Yi, W. Jing, G. Meng, B. Jian, L. Xuehe, W. Zhen and W. Xiaodi, "Challenges for global sustainable nitrogen management in agricultural system," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 68, no. 11, pp. 3354-3361, 2020.
- [4] L. Tao, W. Shubiao, J. M. Robert and G. Pan, "Nanobubbles technology in environmental engineering: revolutionization potential and challenges," *Sci. Technology environmental*, vol. 53, no. 13, pp. 7157-7176, 2019.
- [5] C. A. A. Ahmed, S. Xiaonan, H. Likun, M. Leidy, Q. Weihua, M. Taha and Z. Wen, "Influences of air, oxygen, nitrogen, and carbon dioxide nanobubbles on seed germination and plant growth," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 66, no. 20, pp. 5117-5124, 2018.
- [6] Sutoyo, "Masalah dan peranan CO₂ pada produksi tanaman," *Buana Sains*, vol. 11, pp. 83-90, 2011.
- [7] D. L. Thanh, N. Linh, S. P, S. S, S.-H. S, R. C and D. HT, "Ozon nanobubbles treatments improve survivability of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged with a pathogenic multi-drug-resistant *aeromonas hydrophilia*," *J Fish Dis*, vol. 44, no. 9, pp. 1435-1447, 2021.
- [8] S. Liu, L. Jiayao, O. Seichi, K. Mohammad, C. Minming and W. H. Fan, "Formation of a hydrogen radical in hydrogen nanobubble water and its effect on copper toxicity in chlorella," *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, vol. 9, no. 33, pp. 11100-11109, 2021.
- [9] J. Kohno, T. Arakawa and H. Tsuge, "Stable nanobubbles and their application," *Journal of Physics*, vol. 726, no. 1, p. 012016, 2016.
- [10] P. Ayu, Ratnawati, A. Suyitno, S. Lili and S. M. Ixora, "Optimasi media kultur in vitro anggrek dendrobium nobile berbasis pupuk," *Jurnal Penelitian Saintek*, vol. 25, no. 2, pp. 157-172, 2020.
- [11] T. Rahayu, G. E. Jayanti and A. Hayati, "Induksi nanobubbles (NBs) untuk pertumbuhan anggrek dendrobium imelda mariana masagus x bumi menangis," *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, vol. 10, no. 1, pp. 126-132, 2023.
- [12] E. Kosuke, S. Kenrin, H. Makoto and H. Jun, "Oxygen and air nanobubble water solution promote the growth of plants, fishes, and mice," *Plos One*, vol. 8, no. 6, 2013.
- [13] R. D. A. Intan, Fiksasi N Biologis pada Ekosistem Tropis, Bandung: UNPAD, 2007.
- [14] T. Masayoshi, "Potential of microbubble in aqueous solution: electrical properties of the gas-water interface," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 109, no. 46, pp. 21858-21864, 2005.
- [15] P. Jong-Seok and K. Kenji, "Application of microbubble to hydroponis solution promotes lettuce growth," *Hortechology*, vol. 19, no. 1, pp. 212-215, 2009.
- [16] N. Neelkanth, W. P. Andrzej and M. Barigou, "On the existence and stability of bulk nanobubbles," *Langmuir*, vol. 34, pp. 10964-10973, 2018.
- [17] N. Golub, M. Tsvetkovych, I. Levturn and V. Maksyn, "Nanostructured ferric citrate effect on chlorella

Puspa, Analysis of Nanobubbles (NBs) ...

vulgaris development,” *Biotechnologia Acta*, vol. 11, no. 6, pp. 47-54, 2018.