

PENGGUNAAN SPEKTROFOTOMETER SEBAGAI PENDETEKSI KEPADATAN SEL MIKROALGA LAUT

SPECTROPHOTOMETER UTILIZATION AS MARINE MICROALGAE CELLS DETECTOR

Neviaty P Zamani¹⁾ dan Moh. Muhaemin²⁾

¹⁾Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, FPIK, IPB, Bogor, Indonesia
Email: np_zamani@yahoo.com

²⁾Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Indonesia
m_muhaemin@yahoo.com

Registrasi: 14 September 2015; Diterima setelah perbaikan: 16 Oktober 2015;
Disetujui terbit: 29 Desember 2015

ABSTRAK

Kemudahan penggunaan mikroskop untuk pengamatan kepadatan sel mikroalga tetap memiliki keterbatasan sehingga perlu dicari suatu metode alternatif yang mampu meminimalisir keterbatasan tersebut. Model regresi linier digunakan untuk memprediksi peluang penggunaan spektrofotometer pada Densitas Optik (*Optical Density*, OD) dengan panjang gelombang (λ) 550 nm, 650 nm, dan 750 nm sebagai alternatif pengganti mikroskop saat pengamatan kepadatan sel mikroalga. Hasilnya menunjukkan bahwa walaupun seluruh panjang gelombang dapat secara representatif menggambarkan kepadatan sel mikroalga, namun OD 650 nm menunjukkan hasil terbaik.

KATA KUNCI: Densitas optik, kepadatan sel, mikroalga laut, regresi linier.

ABSTRACT

An alternative method in microalgae density observation should be found to minimize microscope's optical bias. Spectrophotometer could be used to substitute microscope as a function of linier regression model by using Optical Density (OD) approach. Three different spectrophotometer Optical Densities (550 nm, 650 nm, dan 750 nm) showed that although all of wave length represented the high correllation to be used in describing the cell density of microalgae, the OD 650 nm was the best fit.

KEYWORDS: Cell density, linier regression, marine microalgae, optical density.

1. PENDAHULUAN

Mikroalga laut adalah sumber potensial beberapa produk senyawa kimiawi yang bernilai ekonomis tinggi antara lain PUFAs (*Poly-Unsaturated Fatty Acids*) (Belarbi *et al*, 2000; Muhaemin, 2011), asam amino (Muhaemin, 2010), pewarna alami (Lorenz and Cysewski, 2000), biopolimer, and therapeutics

(Borowitzka dan Borowitzka, 1999). Bahkan banyak diantaranya yang digunakan sebagai pakan alami kultur juvenil ikan dan krustase (Molina *et al*, 1999). Pada skala yang lebih besar, monokultur mikroalga dapat diaplikasikan pada kolam-kolam besar diluar ruangan (Tredici, 1999; Molina *et al*, 1999; Miron *et al*, 1999).

Lorenz and Cysewski (2000) menyatakan bahwa mikroalga laut memiliki kemampuan menyerap energi cahaya, foton, dan menyimpannya sebagai energi kimiawi melalui proses fotosintesis. Unit dasar perangkat fotosintesis adalah fotosistem. Energi cahaya diserap oleh pigmen carotenoid dan chlorofil pada kompleks fotosistem antenna. Keragaman kemampuan absorpsi bisa saja terjadi karena perbedaan rasio pigmen carotenoid dan chlorofil dalam sel mikroalga laut. Bahkan perbedaan divisi dapat dijadikan indikasi perbedaan komposisi pigmen secara spesifik. Kemampuan absorpsi optimal dilakukan oleh klorofil mikroalga laut pada panjang gelombang 650-700 nm, direntang sinar merah; sedangkan carotenoid pada panjang gelombang 400-500 nm, direntang sinar biru (Miron *et al*, 2002).

Mikroalga laut dapat menggunakan hasil fotosintesis dan mengkonversinya untuk pertumbuhan sel ataupun populasi. Pertumbuhan monokultur populasi mikroalga dapat diamati dengan menghitung jumlah sel per satuan volume media kultur yang digunakan atau disebut sebagai kepadatan sel. Metode perhitungan kepadatan sel cenderung beragam. Metode perhitungan kepadatan sel yang paling sering dilakukan adalah secara manual dengan menggunakan bantuan mikroskop (Ferianita *et al*, 2008). Walaupun metode perhitungan kepadatan tersebut sangat umum digunakan, namun masih mengandung kelemahan mendasar berupa kesalahan perhitungan kepadatan sel yang disebabkan oleh kesalahan preparasi sampel, bias optik (yang cenderung menurunkan tingkat akurasi hasil perhitungan), dan belum tersedianya kalibrasi/standarisasi hasil perhitungan untuk meminimalisir subjektivitas pengamat. Salah satu metode yang bisa digunakan sebagai alternatif pengganti

mikroskop untuk penghitungan kepadatan sel adalah menggunakan densitas optik dengan menggunakan spektrofotometer. Spektrofotometer adalah metode alternatif yang diharapkan lebih simpel dan relatif akurat jika dibandingkan dengan metode manual menggunakan mikroskop. Lebih simpel karena tidak memerlukan metode preparasi yang kompleks, dan lebih akurat karena menyertakan proses kalibrasi dan standarisasi hasil perhitungan sehingga mampu mengurangi efek bias. Walaupun penggunaan spektrofotometer telah dilakukan secara spesifik untuk perhitungan carotenoid (del Compo *et al*, 2000); chlorofil (Zonneveld, 1998); produktivitas primer, nutrien, sedimen (Triyati, 1985); dan logam berat (Franco *et al*, 2004; Muhaemin, 2009); namun tingkat kelayakan penggunaannya untuk perhitungan kepadatan sel mikroalga perlu ditinjau lebih lanjut.

Keragaman bentuk umum sel mikroalga yang tinggi pun cenderung menjadi pertimbangan penggunaan spektrofotometer untuk perhitungan kepadatan sel mikroalga laut. Fahrul *et al* (2008) menyatakan bahwa keragaman bentuk mikroalga laut yang tinggi menjadi alasan utama besarnya bias hasil pengukuran kepadatan sel hasil sampling di suatu perairan. Berdasarkan pertimbangan tersebut, maka analisis kepadatan sel mikroalga laut menggunakan spektrofotometer dibatasi hanya pada jenis-jenis mikroalga laut yang memiliki bentuk dasar dominan berupa bulatan (*spherical*) dan merupakan hasil budidaya monokultur. Pembatasan tersebut diharapkan dapat menghindarkan hasil analisis spektrofotometer dari bias yang tidak diharapkan. Dasar pertimbangan lainnya adalah keragaman senyawa pigmen dominan mikroalga dan penggunaan panjang gelombang menjadinya sebagai

fungsi sensitivitas spektrofotometer sebagai alat pendeteksi kepadatan mikroalga yang tepat dan akurat.

2. BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 2-15 Maret 2014 bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Alat dan Bahan Penelitian

Biota kultur

Biota kultur yang digunakan dalam penelitian adalah beberapa jenis mikroalga laut berupa *Nannochloropsis* sp, *Dunaliella* sp, *Tetraselmis* sp, *Nitzschia* sp, dan *Porphyridium* sp. yang dikultur pada skala laboratorium di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Media kultur

Media yang dipergunakan dalam kultur mikroalga berbentuk cair atau larutan yang tersusun dari senyawa-senyawa kimia (pupuk) yang digunakan sebagai satu-satunya sumber nutrisi bagi mikroalga tersebut dalam satu siklus kultur. Pupuk yang akan digunakan dalam penelitian adalah Conway. Komposisi pupuk Conway yang digunakan adalah komposisi pupuk standar (Tabel 1).

Tabel 1. Komposisi pupuk Conway skala laboratorium (Muhaemin, 2011)

No	Bahan Kimia	Takaran Per Liter
1	Aquabides	hingga 1 liter
2	EDTA	45 gram
3	FeCl ₃	1,5 gram
4	H ₃ BO ₃	33,6 gram
5	NaH ₂ PO ₄	20 gram
6	MnCl ₂	0,5 gram
7	NaNO ₃	100 gram
8	Trace metal solution	1 cc
9	ZnCl ₂	2,1 gram
10	CoCl ₂	2 gram
11	CuSO ₄	2 gram
12	(NH ₄)Mo ₇	0,9 gram
13	Distilled	100

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain Haemocytometer, mikroskop, spektrofotometer, pH meter, DO meter, refraktometer, termometer, akuarium, aerasi kit, botol film, pipet tetes, gelas ukur, lampu TL 36 Watt, lampu UV, Ozoniser, rak kultur, dan kertas saring. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah air laut steril dan pupuk Conway, alkohol, asam sulfat, natrium hidroksida, sodium arsenit, dan brucine.

Rancangan penelitian

Waktu pengambilan contoh kepadatan mikroalga dilakukan pada jam kultur ke- 0, 2, 4, 6, 8, 10, dan 12. Peletakan wadah kultur dilakukan secara acak untuk memastikan bahwa setiap unit sampel mendapatkan peluang yang sama memperoleh perlakuan.

Tahapan penelitian

Tahap awal yang dilakukan adalah mempersiapkan seluruh alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian. Alat dan bahan yang digunakan untuk kultur mikroalga harus dalam keadaan steril agar tidak terjadi kontaminasi biologis yang berasal dari organisme lain yang bisa menjadi predator atau kompetitor; ataupun kontaminasi fisik.

Penelitian dilakukan untuk memperoleh data dari masing-masing perlakuan yang akan diteliti. Prosedur kultur yang dilakukan dengan menyusun akuarium kultur pada rak kultur secara acak dan diberi pencahayaan lampu TL 36 watt merk Philips dengan rasio gelap:terang=0:24. Setiap unit percobaan berisi air laut steril bervolume 4 liter, beraerasi kuat, diberi pupuk Conway sebanyak 1 ml/liter, diberi bibit awal dengan kepadatan rata-rata 15.10⁶ sel/ml bervolume 3 liter, dan pengamatan kepadatan tiap biota uji dilakukan menggunakan haemocytometer beserta

mikroskop dan spektrofotometer dengan *optical density* (OD) 550nm, 650 nm, dan 750 nm.

Variabel yang diamati

Hubungan regresi linier dibuat dengan menggunakan diagram pencar antara kepadatan sel mikroalga dengan menggunakan mikroskop dan absorbansi spektrofotometer. Kurva regresi linier dibuat dengan memetakan titik-titik hasil perhitungan kepadatan sel tiap jenis mikroalga dengan hasil pembacaan nilai absorbansi pada spektrofotometer.

Total volume sampel yang disiapkan sebanyak 20 ml untuk setiap pengamatan. Volume sampel tersebut terdiri dari sampel mikroalga dan aquabides. Pengenceran terhadap sampel mikroalga dilakukan dengan menambahkan aquades dengan selang sampel yang digunakan adalah 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, dan 20 ml. Setelah diencerkan sampel mikroalga tersebut dimasukkan ke dalam spektrofotometer dan dicatat nilai absorbansinya. Pengamatan nilai absorbansi sampel tiap jenis mikroalga tersebut dilakukan pada panjang gelombang (λ) 550 A°, 650 A°, dan 750 A°. Pengamatan pada tiap panjang gelombang diulang sebanyak 5 kali. Pengamatan kepadatan pada sampel yang sama juga dilakukan dengan menghitung kepepadatannya menggunakan haemocytometer dan mikroskop. Masing-masing hasil perhitungan kepadatan sel pada tiap jenis mikroalga dan nilai absorbansi yang didapat selanjutnya dipetakan secara dua dimensi dengan kurva regresi linier.

Pengukuran pH, dan suhu media menggunakan pH meter dan termometer. Pengukuran parameter tersebut dilakukan diawal dan diakhir pengamatan selama masa kultur mikroalga dan digunakan sebagai data pendukung.

2.2. Analisis Data

Hubungan antara kepadatan sel mikroalga dan nilai absorbansi spektrofotometer dianalisis menggunakan :

a. model persamaan regresi linier

$$Y = aX + b$$

(Supangat, 2007).

b. Koefisien korelasi dihitung dengan menggunakan koefisien korelasi (r) (Steel dan Torrie, 1993)

$$r = \frac{(n \sum xy) - (\sum x \sum y)}{\sqrt{[(n \sum x^2) - (\sum x)^2][n \sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

dan koefisien deterministik (R^2)

$$R^2 = (r)^2$$

Keterangan:

a = *slope* atau gradien

b = *intercept*

c = konstanta

n = banyaknya sampel

X = variabel independen

Y = variabel dependen

Uji lanjut dilakukan dengan menggunakan uji-t pada taraf nyata 5% dengan membandingkan kombinasi semua nilai koefisien korelasi (r) pada setiap jenis mikroalga. Pengujian lanjut tersebut tidak dilakukan untuk membandingkan nilai koefisien korelasi (r) antar jenis mikroalga.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

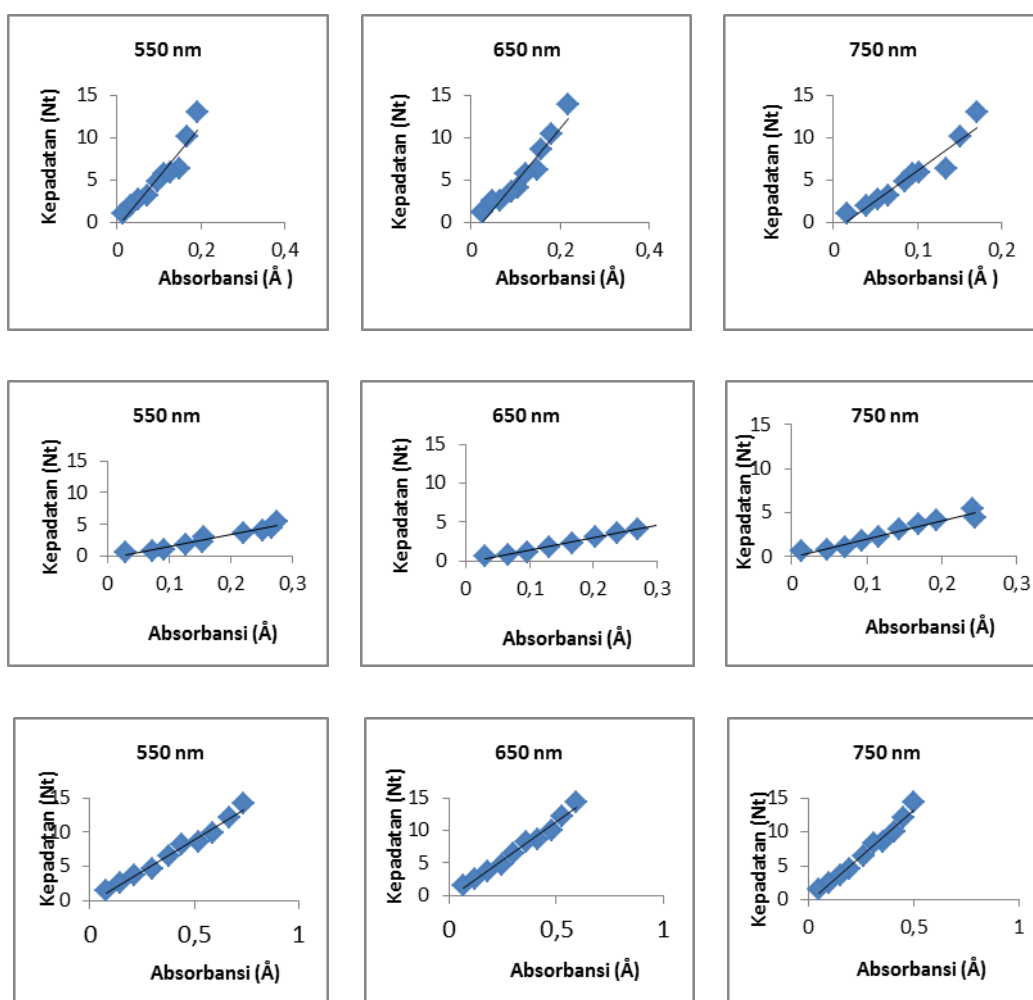
Perubahan kepadatan sel merupakan indikasi awal pertumbuhan fitoplankton. Kepadatan sel beberapa jenis fitoplankton laut pada beberapa panjang gelombang spektrofotometer disajikan pada Gambar 1. Nilai absorbansi dan kepadatan sel fitoplankton dapat digambarkan dalam bentuk diagram pencar sederhana dengan menganggap nilai absorbansi sebagai variabel independen (X) penduga kepadatan sel sebagai variabel dependen (Y). Kelinearan hubungan tersebut tampak dari kecenderungan pola garis lurus hasil

interpolasi yang terbentuk sebagai hasil diagram pencar antara nilai absorbansi dan kepadatan sel. Perubahan nilai absorbansi dapat digunakan untuk memprediksi pertambahan kepadatan sel fitoplankton sesuai dengan fungsi linier yang terbentuk. Kepadatan sel yang panjang gelombang spektrofotometer yang digunakan.

Gambar 1 menjelaskan pengaruh keragaman jenis fitoplankton terhadap nilai absorbansi. Pada panjang gelombang (λ) yang sama dan jenis fitoplankton yang

diukur dengan menggunakan spektrofotometer cenderung menunjukkan nilai absorbansi yang berbeda. Perbedaan tersebut diindikasikan merupakan sinergi fungsi keragaman jenis dan

berbeda, fungsi keragaman jenis diindikasikan dengan mengamati perbedaan kelandaian (gradien) garis yang terbentuk dari hasil interpolasi nilai absorbansi kepadatan sel fitoplankton.



Gambar 1. Diagram pencar kepadatan sel ($\times 10^6$) berdasarkan hasil pengukuran spektrofotometer (absorbansi, Å) pada panjang gelombang yang berbeda (550, 650, dan 750 nm). Baris ke-1 *Nannochloropsis sp.*, baris ke-2 *Dunaliella sp.*, baris ke-3 *Nitzschia*.

Pelandaian suatu garis, gradien garis yang terbentuk; atau makin menunjukkan makin kecilnya nilai menegak suatu garis maka makin besar

nilai gradien garis yang terbentuk. Fungsi keragaman jenis tersebut diduga berkaitan erat dengan diameter sel sampel yang digunakan. Makin besar diameter sel maka peluang untuk mengabsorpsi dan atau memendarkan cahaya makin besar.

Gambar 1 menggambarkan pula bahwa respon spektral merupakan fungsi panjang gelombang (λ) yang digunakan. Pada panjang gelombang (λ) yang berbeda dan jenis fitoplankton yang sama, nilai absorbansi menunjukkan kecenderungan adanya perbedaan. Proses pelandaian garis hasil interpolasi dapat menindikasikan hal tersebut. Penambahan panjang gelombang (λ) akan cenderung menyebabkan penegakan atau pelandaian garis hasil interpolasi tersebut. Somathilake and Wedagedera (2012) menyatakan bahwa respon spektral fitoplankton secara spesifik dapat menggambarkan tingkat kesesuaian penggunaan panjang gelombang (λ) tertentu. Pelandaian garis hasil interpolasi menunjukkan bahwa hubungan linier yang terbentuk cenderung melemah karena perubahan kepadatan sel tidak sebesar perubahan nilai absorbansi. Penegakan garis interpolasi menunjukkan bahwa hubungan linier yang terbentuk cenderung menguat karena perubahan kepadatan sel lebih besar dibandingkan perubahan pada nilai absorbansinya. Lebih lanjut Cervino et al (2003) menyatakan bahwa proses penegakan garis hasil interpolasi tersebut bisa saja disebabkan oleh ketidaksesuaian karakteristik spektral alat yang digunakan untuk mengukur sampel.

Secara umum Steel and Torrie (1993) menyatakan bahwa hubungan dua variabel (dependen dan independen) dapat dinyatakan dengan menganalisis koefisien korelasi (r) dan koefisien deterministik (R^2), dan gradien garis beserta intersepnya. Koefisien korelasi (r) dapat digunakan untuk menggambarkan keeratan hubungan variabel tersebut.

Kisaran nilai koefisien korelasi adalah $-1 < r < 1$. Makin mendekati 1, maka hubungan antara kedua variabel makin erat dan berkorelasi positif atau bersesuaian (X membesar, maka Y membesar). Makin mendekati -1, maka hubungan antara kedua variabel makin erat namun berkorelasi negatif atau berkebalikan (X membesar, maka Y mengecil). Makin mendekati 0, maka hubungan antara kedua variabel makin melemah atau bahkan cenderung tidak berkorelasi positif. Koefisien deterministik (R^2) dapat digunakan untuk memprediksi kesesuaian penggunaan model dugaan yang digunakan terhadap variasi data yang tersedia. Kisaran nilai koefisien deterministik adalah $0 < R^2 < 1$. Makin mendekati 1, maka model yang digunakan makin sesuai untuk menjelaskan keragaman data. Makin mendekati 0, maka model dugaan tersebut makin tidak sesuai untuk menggambarkan keragaman data.

Kecenderungan perubahan nilai kepadatan pada setiap perubahan nilai absorbansi dapat digambarkan dengan menganalisis nilai intersep dan gradien garis pada model linier sederhana yang terbentuk. Tabel 2 menggambarkan secara detail nilai gradien garis, intersep, koefisien korelasi (r), deterministik (R^2), dan *intersep* hasil interpolasi data kepadatan sel dan absorbansi spektrofotometer.

Tabel 2 menggambarkan bahwa kisaran nilai gradien garis adalah 2.10^7 - 7.10^7 . Walaupun nilai gradien garis bervariasi, namun masih menunjukkan nilai positif. Hal tersebut mengindikasikan bahwa setiap perubahan pada nilai absorbansi akan direspon dengan kecenderungan perubahan kepadatan sel yang bersesuaian. Sedangkan nilai intersep dapat dinyatakan sebagai nilai koreksi ataupun bias data kepadatan terhadap nilai absorbansi yang terukur.

Nilai koefisien deterministik (R^2) bervariasi pada selang 0,904 – 0,985 atau

secara umum berada diatas 0,900 dan mendekati 1. Nilai koefisien deterministik (R^2) yang tinggi tersebut menggambarkan bahwa model linier yang digunakan dinilai Walaupun masih dijumpai sejumlah keragaman yang belum dapat dijelaskan secara lebih baik oleh model linier yang digunakan. Nilai koefisien deterministik (R^2) tertinggi dijumpai pada semua pengamatan kepadatan sel fitoplankton dengan menggunakan panjang gelombang

representatif untuk menggambarkan variasi data kedua variable yang digunakan.

(λ) 650 nm. Sehingga dapat diduga bahwa pengukuran kepadatan sel secara lebih baik dapat dilakukan dengan menggunakan panjang gelombang (λ) sepktofotometer 650 nm.

Tabel 2. Nilai gradien, intersep, koefisien deterministik (R^2), dan korelasi (r). Huruf kecil superscrip yang berbeda pada nilai koefisien korelasi (r) menunjukkan hasil uji lanjut yang berbeda nyata.

Jenis Mikroalga	OD	Model Linier	R^2	r
<i>Nannochloropsis sp.</i>	$\lambda = 550$	$Y = 6.10^7X - 63115$	0,904	0,951 ^a
	$\lambda = 650$	$Y = 6.10^7X - 1.10^6$	0,930	0,964^b
	$\lambda = 750$	$Y = 7.10^7X - 1.10^6$	0,924	0,961 ^b
<i>Dunaliella sp.</i>	$\lambda = 550$	$Y = 2.10^7X - 37880$	0,951	0,975 ^a
	$\lambda = 650$	$Y = 2.10^7X - 23706$	0,983	0,991^b
	$\lambda = 750$	$Y = 2.10^7X - 27607$	0,962	0,981 ^c
<i>Nitzschia sp.</i>	$\lambda = 550$	$Y = 2.10^7X - 42803$	0,983	0,991 ^a
	$\lambda = 650$	$Y = 2.10^7X - 58900$	0,985	0,992^a
	$\lambda = 750$	$Y = 3.10^7X - 49103$	0,982	0,991 ^a

Nilai koefisien korelasi (r) berada pada kisaran 0,951- 0,992 atau secara umum bernilai positif dan mendekati 1. Hal tersebut menunjukkan bahwa tingginya keeratan hubungan antar variabel kepadatan sel dan nilai absorbansi. Perubahan nilai absorbansi per satuan pengukuran akan direspon positif dengan perubahan kepadatan sel per satuan pengukuran yang digunakan. Nilai koefisien korelasi (r) tertinggi dijumpai pada semua pengamatan kepadatan sel fitoplankton dengan menggunakan panjang gelombang (λ) 650 nm. Sehingga dapat diduga bahwa keeratan hubungan antara kepadatan sel dan nilai absorbansi secara lebih baik dapat digambarkan dengan menggunakan panjang gelombang (λ) sepktofotometer 650 nm.

4. KESIMPULAN

Model linier sederhana dapat menggambarkan keeratan hubungan antara kepadatan sel dan nilai absorbansi merupakan fungsi sinergis keragaman jenis dan panjang gelombang spektrofotometer yang digunakan;

Spektrofotometer dengan *Optical Density* (OD) 650 nm dapat digunakan sebagai perangkat praktis penduga kepadatan sel pada fitoplankton laut berbentuk bulat pejal (*spherical*).

DAFTAR PUSTAKA

Ajah P. 2010. Mass culture of Rotifera (*Brachionus quadridentatus* [Hermann, 1783]) using three different algal species. *African Journal of Food Science*. 4(3):80-85.

- Allen G. 1981. *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*. New York: Elsevier/North-Holland Biomedical Press.
- Barsanti L, Gualtieri P. 2006. *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. United States of America: CRC Press. 301 hal.
- Borowitzka GA, Borowitzka LJ. 1988. *Microalgal Biotechnology*. New York: Cambridge Univ. Press.
- Cervino JM, Hayes RL, Honovich M, Goreau TJ, Jones S, Rubec PJ. 2003. Changes in zooxanthellae density, morphology, and mitotic index in hermatypic corals and anemones exposed to cyanide. *Mar Poll Bull.* 46:573-586.
- Del Campo JA, José M, Herminia R, Vargas MA, Joaquín R, Guerrero MG. 2000. Carotenoid content of chlorophycean microalgae: factors determining lutein accumulation in *Muriellopsis* sp. (Chlorophyta). *Journal of Biotechnology.* 76:51-59.
- Dhert P, Rombaut G, Suantika G, Sorgeloos P. 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture.* 200:129-146.
- Fachrul MF, Ediyono SH, Wulandari M. 2008. Komposisi dan Model Kemelimpahan Fitoplankton di Perairan Sungai Ciliwung, Jakarta. *Biodiversitas.* 4:296-300.
- Franco LO, Maia RCC, Porto ALF, Messias S, Fukushima K, Takaki GMC. 2004. Heavy metal biosorption by chitin and chitosan isolated from *Cunninghamella elegans* (IFM 46109). *Brazilian Journal of Microbiology.* 35:243-247.
- Goh LP, Loh SP, Fatimah MY, Perumal K. 2009. Bioaccessibility of carotenoids and tocopherols in marine microalgae, *Nannochloropsis* sp. and *Chaetoceros* sp. *Malaysian Journal of Nutrition.* 15(1):77-86.
- Hu H, Gao K. 2006. Response of growth and fatty acid compositions of *Nannochloropsis* sp. to environmental factors under elevated CO₂ concentration. *Biotechnol Lett.* 28:987-992.
- Hudaidah S, Muhaemin M, Agustina T. 2013. Strategy of *Nannochloropsis* against environment starvation: population density and crude lipid contents. *Maspari Journal: Marine Science Research.* 5(2):64-68.
- Lavens P, Sorgeloos P. 1996. *Manual On The Production and Use of Live Food for Aquaculture*. Belgium: FAO Fisheries Technical Paper.
- Mirón AS, García MC, Camacho FG, Grima EM, Chisti Y. 2002. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. *Enzyme and Microbial Technology.* 31:1015-1023.
- Muhaemin, M. 2009. Cadmium peptides complexes in *Dunaliella salina* cells. *Journal of Coastal Development.* 13(1): 56-60.
- Muhaemin M. 2010. Biomass nutrient profiles of marine microalgae *Dunaliella salina*. *Jurnal Penelitian Sains.* 13(3):64-67.
- Muhaemin M. 2011. Lipid production of *Nannochloropsis* under environment stress. *Jurnal Penelitian Sains.* 14(3):61-62.
- Muhaemin M. 2011. Dynamic response of ultra violet absorbing in *Dunaliella* sp. *Maspari Journal: Marine Science Research.* 3(2):20-23.
- Resmawati MB, Masithah ED, Sulmartiwi L. 2012. Pengaruh pemberian pupuk cair limbah ikan Lemuru (*Sardinella* sp.) terhadap kepadatan populasi *Spirulina platensis*. *Journal of Marine and Coastal Science.* 1(1):22-33.
- Sari IP, Manan A. 2012. Pola pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* pada kultur

- skala laboratorium, intermediet, dan masal. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4(2):123-127.
- Somathilake LW, Wedagedera JR. 2012. On the stability of a mathematical model for coral growth in a tank. *British Journal of mathematics & computer science*. 2(4):255-280.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Supangat A. 2007. *Statistika*. Jakarta: Prenada Media Group. Hal 334-350.
- Triyati E. 1985. Spektrofotometer ultra-violet dan sinar tampak serta aplikasinya dalam oseanologi. *Oseana*. 10(1): 39-47
- Yanuaris LM, Kusdarwati R, Kismiyati. 2012. Pengaruh fermentasi *Actinobacillus* sp. pada kotoran sapi sebagai pupuk terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4(1):21-26.
- Zoneveld C. 1998. Light-limited microalgal growth: a comparison of modelling approaches. *Ecological Modelling*. 113:41-54.

