

Kandungan klorofil dan lipid *Nannochloropsis oculata* yang dikultur dalam media limbah cair karet

Sartika¹, Mukarlina¹, Tri Rima Setyawati¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak,
Email korespondensi: sartikavandeventer@yahoo.co.id

Abstract

The chlorophyll and lipid content in *N. oculata* can be influenced by the concentration of the culture medium. One of the substances, which has the potential to be an alternative culture medium, is rubber liquid waste. The purpose of this research was to understand the rubber liquid waste influence and its level of concentration as the alternative culture medium for *N. oculata* in terms of the chlorophyll and lipid content. The research was an experimental study with completely random design with six treatments are the control (sea water), the concentration 10%,20%,30%,40% and 50% of rubber waste liquid. The chlorophyll content was measured by using spectrophotometer method, while the lipid content was measured by using *Bligh and Dyer* method. The ANOVA results of chlorophyll a and lipid content were showed a significant effect on the content of *N. oculata* chlorophyll ($F_{5,12} = 9,194; p < 0,05$) and lipid ($F_{5,12} = 23,818; p < 0,05$). The result of the experiment demonstrated that the highest amount of chlorophyll and lipid was produced by the 10% concentration, 37.71 $\mu\text{g/ml}$ and 3.77 g/200 ml respectively. Furthermore, the 50% concentration produced the lowest amount of chlorophyll and lipid, 2.37 $\mu\text{g/ml}$ and 0.82 g/200 ml respectively.

Keywords: chlorophyll a, lipid, *N. oculata*, rubber liquid waste

PENDAHULUAN

Nannochloropsis oculata merupakan salah satu jenis mikroalga yang telah banyak dibudidayakan. Sel *N. oculata* mengandung karbohidrat, protein, beta karoten, lipid dan klorofil (Hu dan Gao, 2006). Kandungan lipid *Nannochloropsis* sp. berkisar antara 31-68% berat kering pada kondisi CO₂ tinggi. Kandungan sel *N. oculata* berpotensi dikembangkan sebagai sumber pakan, pangan, dan obat-obatan serta sebagai sumber energi alternatif untuk biodiesel (Chisti, 2007).

Kandungan klorofil dan lipid dapat menjadi parameter pertumbuhan dalam menentukan biomassa mikroalga. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi biomassa mikroalga adalah komposisi media kultur. Menurut Sriharti dan Carolina (1995), konsentrasi nitrogen dan fosfat yang terdapat dalam media dapat mempengaruhi kandungan lipid pada mikroalga, sedangkan konsentrasi besi (Fe) dan magnesium (Mg) dapat mempengaruhi pembentukan klorofil mikroalga. Kandungan nutrisi yang berbeda pada media

dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kandungan sel mikroalga tertentu.

Bahan alternatif yang dapat dikembangkan menjadi media kultur yaitu limbah cair organik. Penggunaan limbah sebagai media kultur mikroalga sudah dilakukan, yaitu dengan menggunakan limbah industri pengolahan rumput laut dan limbah industri pengolahan susu sebagai media kultur *Chlorella* sp. Hasil penelitian Komarawidjaja (2010) menunjukkan bahwa tingkat kepadatan sel dan laju pertumbuhan mikroalga pada limbah industri pengolahan rumput laut dan limbah industri pengolahan susu lebih baik dibandingkan dengan media standar.

Salah satu limbah organik lain yang dapat digunakan sebagai media kultur alternatif adalah limbah cair karet. Adanya kandungan unsur nitrogen total sebesar 2,6 mg/L, fosfor (P), besi (Fe) dan magnesium (Mg) yang terdapat dalam limbah cair karet, dapat menjadi sumber nutrisi bagi pertumbuhan *Chlorella* sp. sehingga dapat memenuhi syarat sebagai media kultur mikroalga (Dedi *et al.*, 2010).

Penelitian mengenai pengaruh media limbah cair karet terhadap kandungan klorofil dan kandungan lipid pada *N. oculata* belum pernah dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan klorofil dan lipid *N. oculata* yang dikultur dalam media limbah cair karet.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan di Laboratorium Zoologi, Mikrobiologi Jurusan Biologi, dan Laboratorium Kimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta Laboratorium Teknologi Kayu Fakultas Kehutanan, Universitas Tanjungpura Pontianak. Biakan murni *N. oculata* diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) di Jepara. Analisis limbah cair karet dilakukan di Balai Riset Standardisasi Industri (BARISTAND) Pontianak.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam taraf konsentrasi. Media yang digunakan adalah limbah cair karet dan air laut dengan enam taraf konsentrasi yaitu 0% (kontrol), 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% limbah cair karet yang dibuat dalam volume 2,5 L.

Penanaman bibit

Bibit *N. oculata* dimasukkan ke dalam fotobioreaktor sebanyak 100 ml dengan kepadatan sel = 1×10^6 . Setelah semua bibit dimasukkan, kultur diaerasi dengan menggunakan aerator (Dedi *et al.*, 2010).

Pemeliharaan bibit

Pemeliharaan kultur *N. oculata* meliputi pengontrolan aerasi, pemberian pupuk dan pengadukan yang dilakukan satu kali sehari. Pemberian pupuk dilakukan setiap hari sekali sebanyak 2,5 ml yang terdiri dari 1,5 ml larutan A dan 1 ml larutan B. Pencahayaan pada media kultur menggunakan lampu TL 40W. Pengukuran pH, suhu, dan salinitas dilakukan pada setiap unit percobaan satu kali sehari selama 14 hari.

Pengukuran Kandungan Klorofil

Kandungan klorofil a diukur dengan menggunakan metode spektrofotometri. Kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus Strickland and Parsons:

$$\text{Klorofil a} = 11,6E_{665} - 1,31E_{645} - 0,14E_{630} \mu\text{g/ml}$$

(Riyono, 2006)

Pengukuran Kadar Lipid

Pengukuran kandungan lipid dilakukan dengan metode Bligh dan Dyer (Bligh dan Dyer, 1959).

Perhitungan kandungan lipid didasarkan pada rumus :

$$\text{Persentase Lipid} = \frac{Lw}{Bw} \times 100\%$$

Keterangan : Lw = berat lipid sampel (gram)

Bw = berat biomassa sampel (gram)

(Gunawan, 2010).

Analisis data

Data kandungan klorofil a dan lipid yang diperoleh pada hari ke-14 dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%. Jika hasil menunjukkan beda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Berdasarkan hasil uji, limbah cair karet mengandung persenyawaan nitrogen dan karbon serta mineral. Beberapa mineral yang terdapat dalam limbah cair karet meliputi besi (Fe), magnesium (Mg), mangan (Mn), natrium (Na) dan seng (Zn) (Tabel 1). Karakteristik fisik dan kimia termasuk kandungan mineral limbah cair karet terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Karakteristik Fisik Kimia Limbah Cair Karet

Karakteristik	Parameter Uji	Hasil Uji
Fisik	TDS (padatan terlarut) (mg/L)	97,0
	TSS (padatan tersuspensi) (mg/L)	170
Kimia	BOD (mg/L)	46,3
	TOC (mg/L)	3,23
	Amoniak (mg/L)	0,671
	Nitrogen Total (mg/L)	3,42
	Nitrogen Organik (mg/L)	2,61
	Nitrat (NO ₃ -N) (mg/L)	0,137
	Nitrit (NO ₂ -N) (mg/L)	0,002
	Besi (Fe) (mg/L)	3,36
	Tembaga (Cu) (mg/L)	<0,001
	Magnesium (Mg) (mg/L)	0,189
	Seng (Zn) (mg/L)	0,334
	Mangan (Mn) (mg/L)	0,058
	Natrium (Na) (mg/L)	23,0
Total fosfat (P) (mg/L)	0,010	

Faktor lingkungan yang diukur selama masa kultur *N. oculata* meliputi pH, suhu dan salinitas. Nilai kisaran pH, suhu dan salinitas selama 14 hari masa kultur dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Nilai pH, Suhu dan Salinitas pada Media Perlakuan

Perlakuan	Parameter		
	pH	Suhu (°C)	Salinitas (‰)
Kontrol	8,27 - 8,48	22 - 24	23 - 25
10%	7,40 - 7,61	21 - 24	21 - 24
20%	7,24 - 7,33	21 - 23	20 - 22
30%	7,67 - 7,79	21 - 24	19 - 20
40%	7,46 - 7,63	21 - 24	15 - 18
50%	8,12 - 8,18	21 - 23	14 - 15

Hasil ANAVA kadar klorofil a ($F_{5,12} = 9,194$; $p < 0,05$) menunjukkan bahwa penggunaan media limbah cair karet berpengaruh nyata terhadap kandungan klorofil a *N. oculata*. Hasil ANAVA menunjukkan bahwa perlakuan limbah cair karet berpengaruh terhadap kadar lipid *N. oculata* ($F_{5,12} = 23,818$; $p < 0,05$) dan persen lipid ($F_{5,12} = 37,854$; $p < 0,05$). Nilai rerata kandungan klorofil a, lipid dan persen lipid untuk semua perlakuan terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Rerata Nilai Kandungan Klorofil a, Lipid dan Persen Lipid *N. oculata* yang Dikultur dalam Media Limbah Cair Karet

Perlakuan	Klorofil a (µg/ml)	Lipid (g/200 ml)	Lipid (%)
Kontrol	20,87 ^b	2,14 ^b	41,12 ^b
10%	37,71 ^c	3,77 ^c	63,23 ^d
20%	5,66 ^a	2,11 ^b	40,34 ^b
30%	10,23 ^{ab}	2,06 ^b	49,26 ^c
40%	15,90 ^{ab}	1,31 ^a	35,04 ^b
50%	2,37 ^a	0,82 ^a	25,50 ^a

Keterangan : angka yang ditandai dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang sama atau memiliki nilai yang tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95%.

Konsentrasi 10% memiliki rerata klorofil dan lipid yang berbeda nyata dengan kontrol, konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50%. Konsentrasi limbah cair karet sebesar 10% menghasilkan kandungan klorofil a, lipid dan persen lipid tertinggi masing-masing sebesar 37,71 µg/ml, 3,77 g/200 ml dan 63,23%. Konsentrasi limbah cair karet 50% menghasilkan kandungan klorofil a, lipid, dan persen lipid terendah masing-masing sebesar 2,37 µg/ml, 0,82 g/200 ml dan 25,50% (Tabel 3).

Pembahasan

Hasil uji menunjukkan bahwa limbah cair karet mengandung unsur nitrogen (N), besi (Fe), magnesium (Mg), seng (Zn), mangan (Mn), natrium (Na), fosfor (P) dan karbon (C) (Tabel 1). Komposisi limbah cair karet yang dapat mempengaruhi sintesis klorofil adalah nitrogen (N), besi (Fe), magnesium (Mg), dan belerang (S). Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi limbah cair karet 10% menghasilkan rerata kandungan klorofil a *N. oculata* tertinggi yaitu sebesar 37,71 µg/ml (Tabel 3). Limbah cair karet 10% mengandung unsur-unsur dengan kadar yang sesuai untuk pertumbuhan *N. oculata* dalam membentuk klorofil a secara optimal.

Unsur N memiliki peran penting dalam mempengaruhi proses sintesis klorofil, protein dan enzim. Unsur Fe berperan sebagai kofaktor pada pembentukan klorofil, sehingga secara tidak langsung, unsur besi dapat mempengaruhi sintesis

klorofil (Chrismadha *et al.*, 2006; Lakitan, 2011). Unsur Mg merupakan unsur penyusun klorofil sehingga unsur ini sangat berpengaruh terhadap pembentukan klorofil (Minowa *et al.*, 1995 dalam Astuti *et al.*, 2011). Menurut Ai dan Banyo (2011) belerang merupakan salah satu unsur yang dapat mempengaruhi sintesis klorofil.

Konsentrasi media limbah cair karet 50% menghasilkan kandungan klorofil terendah yaitu sebesar 2,37 µg/ml (Tabel 3). Unsur-unsur yang terdapat dalam media 50% terlalu tinggi sehingga menyebabkan sintesis klorofil dan proses fotosintesis terhambat. Menurut Arinto (2013), media yang memiliki kandungan unsur hara yang terlalu tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan mikroalga terhambat. Komarawidjaja (2010) juga menyatakan bahwa mikroalga tidak dapat hidup dalam media limbah cair organik dengan konsentrasi > 40%.

Pembentukan klorofil dipengaruhi pula oleh faktor lingkungan, yaitu pH, suhu dan salinitas. Penambahan limbah cair karet pada media perlakuan menyebabkan kondisi lingkungan pada masing-masing perlakuan media mengalami perubahan. Hasil penelitian menunjukkan rerata klorofil a tertinggi diperoleh pada media dengan kisaran pH 7,40-7,61; sedangkan rerata klorofil a terendah dicapai pada media dengan kisaran pH 8,12-8,18 (Tabel 2 dan 3). Hickling (1971) dalam Aryawati (2007) menyatakan bahwa mikroalga yang hidup pada air yang bersifat basa dan netral cenderung lebih produktif dibandingkan dengan air yang bersifat asam. Media yang sangat asam akan mengganggu proses biokimia sel. pH optimal untuk pembentukan klorofil berkisar antara 7-9 (Ai dan Banyo, 2011).

Suhu merupakan salah satu faktor yang penting dalam mendukung pembentukan klorofil a mikroalga. Suhu pada media berkisar 21-24°C termasuk dalam kisaran suhu optimum sehingga mampu mendukung proses sintesis klorofil a (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Rerata kandungan klorofil a tertinggi diperoleh pada media 10% dengan kisaran salinitas sebesar 21-24‰, sedangkan rerata kandungan klorofil a terendah pada media yang memiliki kisaran salinitas sebesar 14-15‰ (Tabel 2 dan 3). Semakin besar konsentrasi limbah cair karet yang digunakan maka salinitas akan turun. Kisaran salinitas optimal untuk pertumbuhan mikroalga yaitu 20-24‰ (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Salinitas pada media konsentrasi 50% merupakan salinitas yang terlalu rendah sehingga kandungan klorofil a yang dihasilkan tidak optimal. Hal ini dikarenakan naik turunnya salinitas berpengaruh terhadap tekanan osmotik dan mekanisme osmoregulasi yang akan mempengaruhi proses metabolisme sel (Rudiyanti, 2011).

Kandungan lipid dan persen lipid pada *N. oculata* berbeda pada masing-masing konsentrasi limbah (Tabel 3). Adanya perbedaan unsur yang terdapat dalam limbah cair karet dapat mempengaruhi kandungan lipid dan persen lipid. Hasil penelitian menunjukkan kandungan lipid dan persen lipid *N. oculata* tertinggi dihasilkan pada media yang mengandung limbah dengan konsentrasi 10% masing-masing sebesar 3,77 g/200 ml dan 63,23% (Tabel 3). Media dengan limbah cair karet 10% memiliki unsur-unsur dengan kadar yang sesuai untuk pembentukan lipid *N. oculata*.

Kandungan lipid yang tertinggi terdapat pada media dengan konsentrasi limbah 10% yaitu sebesar 3,77 g/200 ml dengan kandungan klorofil a yang tinggi pula sebesar 37,71 µg/ml (Tabel 3). Pembentukan lipid juga dipengaruhi oleh proses fotosintesis, sehingga jika klorofil a yang mengandung senyawa lemak terbentuk semakin tinggi maka kandungan lipid yang terbentuk juga akan semakin tinggi (Sobari *et al.*, 2013). Hasil fotosintesis berupa karbohidrat dapat dipecah menjadi asam piruvat pada tahapan glikolisis. Asam piruvat disintesis menjadi asetil-koA yang dapat menghasilkan asam lemak dan gliserol. Asam lemak dan gliserol merupakan komponen penyusun lipid (Colby, 1988).

Kandungan lipid terendah dihasilkan pada media dengan konsentrasi 50% yaitu sebesar 0,82 g/200 ml (Tabel 3). Hal ini dikarenakan konsentrasi 50% memiliki unsur-unsur dengan kadar terlalu tinggi sehingga dapat menurunkan kandungan lipid. Hal ini sesuai dengan pernyataan Widianingsih *et al.*, (2011) bahwa kandungan unsur C dan N yang terlalu tinggi dapat menurunkan kadar lipid sel mikroalga.

Konsentrasi nutrisi di dalam media kultur merupakan salah satu faktor penting yang menentukan reaksi biokimia dan komposisi sel mikroalga. Menurut Harahap *et al.*, (2013), unsur hara yang dapat mempengaruhi kandungan lipid yaitu belerang (S), karbon (C) dan nitrogen (N). Media limbah cair karet mengandung unsur N, P dan C yang dapat mempengaruhi kandungan lipid pada sel mikroalga (Tabel 1). Nitrogen dan fosfat

berperan penting dalam sintesis protein. Hasil penelitian Hu dan Gao (2006) menyatakan bahwa semakin rendah konsentrasi nitrat maka kandungan lipid total pada *Nannochloropsis* sp. semakin besar dan dapat mencapai $62 \pm 2,8\%$ dw pada kondisi CO₂ tinggi. Kadar nitrogen dan fosfat yang terlalu rendah dapat menyebabkan protein terpecah menjadi asam amino yang kemudian membentuk asetil-koA sehingga dapat menyebabkan meningkatnya kadar lipid (Colby, 1988; Widianingsih *et al.*, 2008).

Penggunaan limbah cair sebagai media kultur mikroalga telah banyak dilakukan. Penelitian Arinto *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa limbah cair tahu yang digunakan sebagai media kultur *Chlorella* sp. dapat menghasilkan lipid tertinggi 1,08 g/L (0,2 g/200 ml). Apabila dibandingkan dengan penelitian ini maka limbah cair karet mampu menghasilkan kadar lipid yang lebih tinggi yaitu 3,77 g/200 ml (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa limbah cair karet dapat menjadi media kultur alternatif mikroalga karena dapat mendukung sintesis klorofil dan lipid.

Hasil penelitian menunjukkan kandungan lipid yang tertinggi diperoleh pada media yang memiliki kisaran pH 7,40-7,61 (Tabel 2 dan 3). Hal ini sesuai dengan pernyataan Hickling (1971) dalam Aryawati (2007), mikroalga yang hidup pada air yang bersifat basa dan netral cenderung lebih produktif dibandingkan dengan air yang bersifat asam.

Salinitas merupakan faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi kandungan lipid mikroalga. Kisaran salinitas yang optimum untuk kehidupan mikroalga berkisar antara 20-24‰ (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Konsentrasi limbah cair karet 10% yang menghasilkan kandungan lipid tertinggi memiliki kisaran salinitas sebesar 21-24‰, sedangkan konsentrasi limbah cair karet 50% yang menghasilkan kandungan lipid terendah memiliki kisaran salinitas sebesar 14-15‰ (Tabel 2 dan 3). Konsentrasi 50% memiliki kisaran salinitas yang terlalu rendah sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kandungan lipid mikroalga *N. oculata*. Salinitas pada media 10% merupakan salinitas optimal dikarenakan dapat menghasilkan kandungan klorofil a tertinggi. Klorofil a yang tinggi dapat meningkatkan laju fotosintesis sehingga dapat menghasilkan kandungan lipid yang tinggi (Sobari *et al.*, 2013).

DAFTAR PUSTAKA

- Ai NS & Banyo Y, 2011, 'Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air Pada Tanaman' *Ilmiah Sains* vol. 11, no. 2, hal. 166-173, diakses tanggal 30 Januari 2013 <<http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/JIS/article/viewFile/202/153>>
- Arinto, DJ, Pradipta HP, & Soetrisnanto D, 2013, Potensi Air Dadih (Whey) Tahu Sebagai Nutrien Dalam Kultivasi *Chlorella* sp. Untuk Bahan Baku Pembuatan Biodiesel, *Teknologi Kimia dan Industri* vol. 2, no. 4, hal 233-242, diakses tanggal 10 Mei 2014 <<http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jtki/article/view/4059/3951>>
- Aryawati, R, 2007, *Kelimpahan dan Sebaran Fitoplankton di Perairan Berau Kalimantan Timur*, Tesis, Sekolah Pasca Sarjana, IPB, Bogor
- Astuti, JT, Sriwuryandari, L, & Sembiring, T, 2011, 'Pengaruh Penambahan Mg²⁺ Terhadap Produktifitas dan Komposisi Asam Lemak Microalgae *Scenedesmus* sebagai Bahan Biodiesel' *Riset Industri* vol. 3, hal. 265-274, diakses tanggal 7 Januari 2014 <http://www.kemenerin.go.id%2Fdownload%2F4720%2FPengaruh-Penambahan-Mg2%2B-Terhadap-Produktifitas-dan-Komposisi-Asam-Lemak-Microalgae-Scenedesmus-Sebagai-Bahan-Biodiesel&ei=QSk7VNW7Li2uAS4oIHgCg&usg=AFQjCNEZhaDyODjS_gtZQj8SdpXWVCxQ&sig2=kDcWHQTu9JxxP_njLzJnqg&bv=77161500,d.c2E>
- Bligh, EG & Dyer WJ, 1959, 'A Rapid Method for Total Lipid Extraction and Purification' *Biochem Physiol* vol.37, hal. 911-917, diakses tanggal 21 Januari 2013 <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/o59-099#.VDsq91d493c>>
- Chisti, Y, 2007, Biodiesel from Microalgae, *Biotechnology Advances* vol. 25, hal. 294- 306, diakses tanggal 16 Januari 2013 <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975007000262>>
- Chrimadha, T, Panggabean, LM, & Mardiaty, Y, 2006, Pengaruh Konsentrasi Nitrogen dan Fosfor Terhadap Pertumbuhan, Kandungan Protein, Karbohidrat dan Fikosianin pada Kultur *Spirulina fusiformis*, *Berita Biologi* vol. 8, no. 3, hal. 163-169
- Colby, DS, 1988, *Biokimia*, Alih Bahasa: Adji Dharma, EGC, Jakarta
- Dedi, F, Hendra, H, Maliana, Y, Ningsih, RL & Hadi, RP, 2010, 'Pemanfaatan Limbah Cair Karet sebagai Media Alternatif Budidaya *Chlorella* sp.' *Ilmiah Mahasiswa Universitas Tanjungpura* vol. 1, no. 1
- Gunawan, 2010, *Keragaman dan Karakterisasi Mikroalga dari Sumber Air Panas di Jawa Barat yang Berpotensi Sebagai Sumber Biodiesel*, Tesis, Sekolah Pasca Sarjana, IPB, Bogor
- Harahap, PS, Susanto, AB, Susilaningsih, D, & Delicia, YR, 2013, 'Pengaruh Substitusi Limbah Cair Tahu untuk Menstimulasi Pembentukan Lipida pada *Chlorella* sp.' *Marine Research* vol. 2, no.1, hal. 80-86, diakses tanggal 9 April 2013 <<http://download.portalgaruda.org/article.php?article=74579&val=4716>>
- Hu, H & Gao, K, 2006, Response of Growth and Fatty Acid Compositions of *Nannochloropsis* sp. to Environmental Factors Under Elevated CO₂ Concentration, *Biotechnology Letters*, vol. 28, hal. 987-992, diakses tanggal 16 Januari 2013 <www.researchgate.net%2Fpublication%2F6992181_Response_of_growth_and_fatty_acid_compositions_of_Nannochloropsis_sp._to_environmental_factors_under_elevated_CO2_concentration%2Flinks%2F00b4952d73a7e932b2000000&ei=QS47VNbWCMqQuATThYEw&usg=AFQjCNEzLBIDoqEKEKLXkABk1BRhZJ85bw&sig2=VWGMF8UqW_jajumIxC6w>
- Isnansetyo, A & Kurniastuty, 1995, *Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton*, Kanisius, Yogyakarta
- Komarawidjaja, W, 2010, Optimalisasi Pemanfaatan Limbah Organik Sebagai Substitusi Media Kultur Mikroalga dalam Upaya Mereduksi CO₂, Laporan Akhir Program Insentif Riset DIKTI-DIKNAS, Pusat Teknologi Lingkungan, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi
- Lakitan, B, 2011, *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*, Rajawali Pers, Jakarta
- Nontji, A, 2008, *Plankton Laut*, LIPI Press, Jakarta
- Riyono, SH, 2006, 'Beberapa Metode Pengukuran Klorofil Fitoplankton di Laut' *Oseana*, vol. XXXI, no. 3, hal. 33-44, diakses tanggal 21 Januari 2013 <http://www.oseanografi.lipi.go.id/sites/default/files/oseana_xxxi%283%2933-44.pdf>
- Rudiyanti, S, 2011, 'Pertumbuhan *Skeletonema costatum* pada Berbagai Tingkat Salinitas Media' *Saintek Perikanan*, vol. 6, no. 2, hal. 69-76.
- Sobari, R, AB, Susanto, Susilaningsih D, & Delicia YR, 2013, Kandungan Lipid Beberapa Jenis Sianobakteria Laut Sebagai Bahan Sumber Penghasil Biodiesel, *Marine Research*, vol. 2, no. 1, hal. 112-119, diakses tanggal 9 April 2013 <<http://download.portalgaruda.org/article.php?article=74545&val=4716>>
- Sriharti & Carolina, 1995, Kualitas Algae Bersel Tunggal *Chlorella* sp. pada Berbagai Media, Balai Pengembangan Teknologi Tepat Guna, Puslitbang Fisika Terapan-LIPI, Subang, Seminar Ilmiah Hasil Penelitian dan Pengembangan Bidang Fisika Terapan
- Widianingsih, Ridho A, Hartati R & Harmoko, 2008, 'Kandungan Nutrisi *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Media yang Berbeda' *Ilmu*

Protobiont

2014

Vol. 3 (3) : 25 - 30

Kelautan, vol. 13, no. 3, hal. 167-170, diakses tanggal 7 Februari 2013 <<http://core.kmi.open.ac.uk/download/pdf/11702772.pdf>>

Widianingsih, Hartati R, H Endrawati, Yudiati E & Iriani VR, 2011, 'Pengaruh Pengurangan Konsentrasi Nutrien Fosfat dan Nitrat Terhadap Kandungan Lipid Total *Nannochloropsis oculata*' Ilmu Kelautan, vol. 16, no. 1, hal. 24-29, diakses tanggal 3 Agustus 2012 <<http://ejournal.undip.ac.id/index.php/ijms/article/viewFile/1841/1604>>