

Pengaruh Pemberian Jenis Pupuk yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan Populasi dan Kadar Lemak *Nannochloropsis oculata*

Amalia Solikhah Puspita Sari, Wisanti, Evie Ratnasari
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

ABSTRAK

Alga mikro *Nannochloropsis oculata* sering dibudidayakan untuk pakan alami. Namun, lemak nabati yang terkandung dalam alga mikro ini dapat digunakan sebagai bioenergi. Unsur hara yang berbeda dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap laju pertumbuhan populasi dan kadar lemak alga mikro ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan jenis pupuk terhadap pertumbuhan populasi dan kadar lemak alga mikro *N. oculata*. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan sasaran penelitian *N. oculata* dengan kepadatan 2×10^6 sel/ml yang dikultur dengan perlakuan pemberian jenis pupuk yang berbeda yaitu pupuk teknis BBAP Situbondo (TG), pupuk Walne, pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi F dan pupuk Allen-Miquel. Masing-masing pupuk dilakukan penyetaraan unsur hara Nitrogen pada hara makro yang terdapat dalam pupuk teknis (perlakuan kontrol). Nilai penyetaraannya ialah sebesar 0,01 mol/liter. Rancangan penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok dengan empat perlakuan dan enam kali ulangan, sehingga terdapat 24 unit sampel penelitian. Data dalam penelitian ini berupa data laju pertumbuhan populasi dan kadar lemak *N. oculata*. Data laju pertumbuhan populasi diuji kenormalannya menggunakan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji Analisis Varian Satu Arah dan dilanjutkan dengan uji BNT. Analisa tersebut dijabarkan secara deskriptif, sedangkan data kadar lemak *N. oculata* dianalisis dengan menggunakan analisis deskriptif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian jenis pupuk yang berbeda berpengaruh terhadap laju pertumbuhan populasi dan kadar lemak *N. oculata*. Perlakuan pemberian pupuk Allen-Miquel merupakan perlakuan yang terbaik dengan laju pertumbuhan rata-rata sebesar 0,393 dan kadar lemak rata-rata sebesar 45% dari 3 gram sampel yang diujikan atau sebesar 1,35 gram. Berdasarkan hasil di atas, dapat disimpulkan bahwa pupuk Allen-Miquel dapat digunakan sebagai pupuk untuk meningkatkan laju pertumbuhan populasi dan kadar lemak *N. oculata* yang digunakan untuk bioenergi.

Kata kunci: alga mikro *N. oculata*, jenis pupuk, laju pertumbuhan populasi, kadar lemak

ABSTRACT

Nannochloropsis oculata micro algae is often cultivated for natural food. However, vegetable fat which is contained in this micro algae can be used as bioenergy. Different nutrients can give different effects on population growth rate and fat contain of this micro algae. This experiment's aims are to know the effect of different types of fertilizer on population growth rate and fat contain of *N. oculata* micro algae. This is an experimental research with density of *N. oculata* is 2×10^6 cell/ml as the target of research which is cultured in different types of fertilizers treatment, these are technical fertilizer from BBAP Situbondo (TG), Walne, Guillard and Ryther Modified F and Allen-Miquel fertilizers. Each nutrient fertilizer was did a Nitrogen unsure equivalency with macro nutrient in technical fertilizer (control treatment). The equivalent is 0.01 mol / liter. The design of this research is is a *Randomized Completely Block Design* with four treatment and six replication, so there are 24 units research sample. The data in this research are the population growth rate and the fat contain of *N. oculata*. Population growth rate data is tested its normality by Kolmogorov-Smirnov Normality, then it is analyzed by One-Way Analisis of Variance test and continued by LSD. The analysis is described descriptively, while the data of *N. oculata*'s fat contain were analyzed by descriptive analysis. The results of this study indicate that the giving of different types of fertilizer effect on population growth rate and fat contain of *N. oculata*. Treatment of giving Allen-Miquel fertilizer is the best treatment with the average population growth rate is 0.393 and the average fat contain is 45% of 3 grams sample or 1.35 grams. Based on the results above, it can be concluded that Allen-Miquel fertilizer can raise the population growth rate and fat contain of *N. oculata* that used for bioenergy.

Key words: micro algae *N. oculata*, types of fertilizer, population growth rate, fat contain

PENDAHULUAN

Kebutuhan produksi yang meningkat seiring menipisnya bahan bakar menyebabkan terjadinya kelangkaan Bahan Bakar Minyak (BBM) yang

selama ini hanya bergantung pada bahan bakar fosil. Berbagai upaya dilakukan untuk mengatasi krisis energi akibat kelangkaan BBM, yaitu melakukan diversifikasi energi. Bioenergi

merupakan suatu upaya yang diharapkan dapat menggantikan peran bahan bakar fosil yang semakin menipis ke depannya. Berbagai bioenergi tersebut dapat diperoleh dari konversi biomassa (tanaman, hewan, dan mikroorganisme).

Alga merupakan organisme yang tersedia melimpah di alam dan dibedakan menjadi 1.800 marga dan 21.000 spesies. Alga mikro mempunyai tingkat pertumbuhan lebih cepat dibandingkan dengan tanaman terestrial. Menurut Inansetyo dan Kurniastuty (1995), terdapat beberapa alga mikro yang berpotensi untuk dibudidayakan baik sebagai pakan alami di bidang perikanan maupun sebagai sumber energi alternatif baru, diantaranya yaitu *Chlorella*, *Nannochloropsis*, *Skeletonema costatum*, *Tetraselmis*, *Dunaliella*, *Scenedesmus*, dan *Spirulina*.

Alga mikro *N. oculata* termasuk dalam divisi Chromophyta atau Chrysophyta (Sze, 1998). Peningkatan kandungan *fatty acids* dalam *Nannochloropsis* sangat perlu dilakukan untuk meningkatkan stok sumber energi. Menurut Chisti (2007), kandungan minyak *Nannochloropsis* mencapai 31-68%. Kandungan lemak total *N. oculata* berkisar antara 36-37% dari berat biomassa kering (Harsanto, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Amini dan Sugiyono (2008) menyatakan bahwa spesies alga mikro yang memiliki komponen *fatty acids* tinggi dapat diekstraksi dan diubah menjadi bioenergi, misalnya biodiesel dan bioethanol.

Budidaya *N. oculata* dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis pupuk anorganik. Menurut Cahyaningsih, dkk (2009), budidaya *N. oculata* pada skala semi massal di BBAP Situbondo menggunakan pupuk teknis (TG), sedangkan menurut Kurniati (2009), pupuk Walne dapat digunakan sebagai medium berbasis pupuk komersial untuk kultur *Nannochloropsis* sp. yang mampu menghasilkan berat biomassa kering tertinggi yaitu sebesar 6,78 gram dari kepadatan awal inokulum sebanyak 10^6 sel/ml. Pada penelitian yang dilakukan oleh Chilmawati dan Suminto (2008) dengan penggunaan media kultur yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* diperoleh kepadatan populasi *Chlorella* yang tertinggi dalam media Guillard dan Ryther Modifikasi F yaitu mencapai $8,53 \times 10^7$ sel/ml pada hari keenam. Menurut Mudjiman (2004) dan Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), budidaya *Chlorella* dapat dilakukan dengan menggunakan pupuk Allen-Miquel.

Masing-masing pupuk tersusun atas berbagai senyawa yang berbeda yang mengandung unsur hara makro, unsur hara mikro, dan vitamin. Konsentrasi nitrogen dalam penelitian dilakukan

penyetaraan, sehingga diharapkan dapat mengetahui pengaruh signifikan unsur-unsur hara yang lain dalam masing-masing pupuk terhadap laju pertumbuhan populasi dan kadar lemak *N. oculata*.

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan untuk mengetahui waktu yang optimal untuk pertumbuhan *N. oculata*, didapatkan bahwa *N. oculata* mencapai puncak populasi dengan perlakuan pemberian berbagai jenis pupuk adalah pada hari kelima. Oleh karena itu, akan diteliti tentang pengaruh pemberian jenis pupuk yang berbeda terhadap laju pertumbuhan populasi *N. oculata* melalui kultur pada skala semi massal selama lima hari, sehingga dapat digunakan sebagai stok bahan baku alternatif untuk sumber energi baru yang dapat diperoleh dalam waktu singkat (laju pertumbuhan populasi yang tinggi) dan mempunyai kadar lemak tinggi

BAHAN DAN METODE

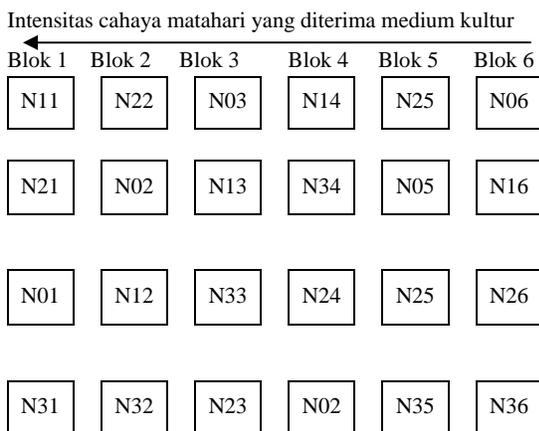
Penelitian ini bersifat eksperimental karena adanya variabel manipulasi berupa pemberian jenis pupuk yang berbeda yaitu pupuk teknis TG dari BBAP Situbondo, pupuk Walne, pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi F dan pupuk Allen-Miquel, terdapat variabel kontrol dan pengulangan untuk masing-masing perlakuan. Penelitian ini dilaksanakan di Balai Budidaya Air Payau Situbondo, Jalan Raya Pecaron PO BOX 5 Panarukan Situbondo pada tanggal 17-25 Agustus dan 5-15 September 2011 di Jurusan Biologi FMIPA UNESA. Sasaran penelitian ini adalah *N. oculata* dengan kepadatan awal 2×10^6 sel/ml.

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (*Randomized Completely Block Design*), karena penelitian ini dilaksanakan di dalam ruangan semi *outdoor* dengan bantuan cahaya matahari secara tidak langsung, sehingga kondisi setiap unit eksperimen bersifat heterogen dipengaruhi oleh banyak sedikitnya intensitas cahaya matahari. Besar intensitas awal cahaya sebesar 6000-8000 lux dengan besar intensitas yang semakin rendah sampai blok keenam. Setiap unit eksperimen dengan perlakuan perbedaan jenis pupuk diletakkan secara acak dengan cara pengundian dalam satu blok dengan kondisi yang sama. Hal yang sama juga dilakukan pada masing-masing blok lain, sehingga semua perlakuan mendapatkan kondisi yang merata.

Perlakuan terdiri dari pemberian 4 jenis pupuk yang berbeda, yaitu pupuk TG (kontrol), pupuk Walne, pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi F, dan pupuk Allen-Miquel. Volume pemberian pupuk TG ialah 30ml/30L air media,

pupuk Walne sebesar 36,15ml/30L air media, pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi F sebesar 29,69ml/30L air media, pupuk Allen-Miquel sebesar 118,8ml/30L air media untuk larutan A dan 30ml/30L air media untuk larutan B.

Penempatan masing-masing unit perlakuan dapat dilihat pada *lay out* berikut:



Gambar 1. Tata letak penelitian

Keterangan:

N0 : pemberian pupuk teknis (TG) BBAP Situbondo (kontrol)

N1 : pemberian pupuk Walne

N2 : pemberian pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi F

N3 : pemberian pupuk Allen-Miquel

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bak fiber 35L, selang elastis, *filter bag*, seperangkat alat aerasi, Haemocytometer, mikroskop elektrik binokuler Merk LEICA CME, Thermometer, pH meter, refraktometer, pompa celup, Loyang dan neraca analitik.

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah air laut, bibit kultur murni *N. oculata*, air tawar, detergen, kaporit, natrium thiosulfat, NaOH, pupuk teknis (TG) dari BBAP Situbondo, pupuk Walne, pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi F, pupuk Allen-Miquel dan kertas label.

Prosedur Kerja meliputi persiapan media, kultur dan pemeliharaan, pemanenan dan pengendapan *N. oculata*, pengeringan, pengambilan dan pengujian sampel *N. oculata* kering.

Data dalam penelitian ini berupa data laju pertumbuhan populasi dan kadar lemak *N. oculata*. Data laju pertumbuhan populasi *N. oculata* diuji kenormalannya dengan menggunakan uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov. Setelah

mengetahui bahwa data laju pertumbuhan populasi *N. oculata* terdistribusi normal, selanjutnya data dianalisis dengan Analisis Varian (Anava) Satu Arah untuk mengetahui pengaruh penggunaan jenis pupuk yang berbeda terhadap perbanyakan *N. oculata* dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui jenis pupuk yang memberikan pengaruh terbaik terhadap perbanyakan *N. oculata*. Setelah itu, analisa tersebut dijabarkan secara deskriptif. Sedangkan data kadar lemak *N. oculata* direkapitulasi dalam bentuk grafik dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Laju pertumbuhan populasi *N. oculata* merupakan hasil penghitungan menggunakan rumus laju pertumbuhan populasi pada saat kepadatan populasi *N. oculata* mencapai puncak yaitu pada hari ke-5.

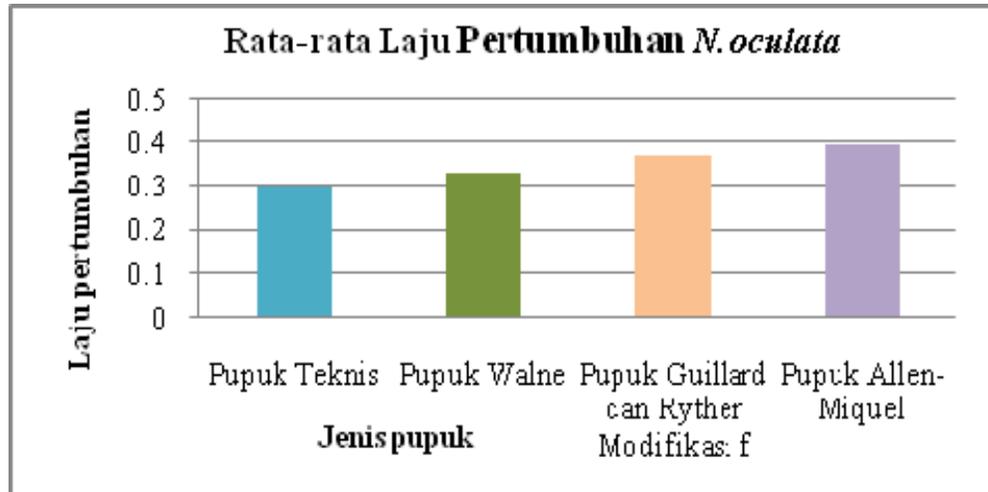
Gambar 1 menunjukkan pemberian jenis pupuk yang berbeda berpengaruh terhadap laju pertumbuhan populasi *N. oculata*. Perlakuan menggunakan pupuk teknis (perlakuan N0) memiliki laju pertumbuhan populasi *N. oculata* sebesar 0,295-0,306 dengan rata-rata pertumbuhan populasi sebesar 0,3. Perlakuan menggunakan pupuk Walne (perlakuan N1) memiliki laju pertumbuhan populasi *N. oculata* sebesar 0,322-0,356 dengan rata-rata pertumbuhan populasi sebesar 0,331. Perlakuan menggunakan pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi f (perlakuan N2) memiliki laju pertumbuhan populasi *N. oculata* sebesar 0,366-0,374 dengan rata-rata pertumbuhan populasi sebesar 0,368. Perlakuan menggunakan pupuk Allen-Miquel (perlakuan N3) memiliki laju pertumbuhan populasi *N. oculata* sebesar 0,391-0,399 dengan rata-rata pertumbuhan populasi sebesar 0,393.

Tabel 1 menunjukkan terdapat pengaruh pemberian jenis pupuk yang berbeda terhadap laju pertumbuhan populasi *N. oculata*. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh pemberian jenis pupuk yang memberikan hasil laju pertumbuhan *N. oculata* yang terbaik perlu dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) atau *Least Significant Difference* (LSD).

Tabel 2 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan. Perlakuan dengan pemberian pupuk Allen-Miquel berbeda nyata dengan perlakuan pemberian pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi f, pupuk Walne dan pupuk Teknis (TG). Pupuk Allen-Miquel merupakan perlakuan yang memiliki pengaruh terbaik terhadap laju pertumbuhan *N. oculata*.

Keempat jenis pupuk yang digunakan merupakan pupuk kimia yang tersusun atas berbagai komposisi senyawa yang berbeda-beda. Berbagai komposisi senyawa tersebut merupakan unsur-unsur hara yang dibutuhkan oleh *N. oculata*. Unsur-unsur hara tersebut meliputi unsur

hara makro, unsur hara mikro, dan vitamin. Masing-masing pupuk memiliki kadar unsur hara tertentu dalam setiap komposisinya sehingga memberikan pengaruh yang berbeda terhadap laju pertumbuhan populasi *N. oculata*.



Gambar 1. Grafik rata-rata laju pertumbuhan *N. oculata*

Tabel 1. Analisis varian satu arah pengaruh pemberian jenis pupuk yang berbeda terhadap perbanyakkan *N. oculata*

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.030	3	.010	154.011	.000
Within Groups	.001	20	.000		
Total	.031	23			

Tabel 2. Hasil uji BNT pengaruh pemberian jenis pupuk yang berbeda terhadap laju pertumbuhan populasi *N. oculata*

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
Pupuk teknis (TG)	0,300 ± 0,004099	a
Pupuk Walne	0,331 ± 0,014142	b
Pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi f	0,368 ± 0,004446	c
Pupuk Allen-Miquel	0,393 ± 0,004792	d*

Keterangan: d* → berbeda nyata terhadap perlakuan yang lain dan merupakan perlakuan terbaik

Pertumbuhan populasi *N. oculata* dipengaruhi oleh kadar unsur hara yang terkandung dalam media. Media Allen-Miquel mengandung berbagai unsur hara makro yang dibutuhkan untuk menunjang pertumbuhan populasi *N. oculata*. Unsur hara makro yang terdapat dalam pupuk Allen-Miquel ialah unsur K, N, Na, P, dan Ca. Unsur-unsur hara tersebut

diperlukan oleh *N. oculata* yang digunakan sebagai pemacu pertumbuhan.

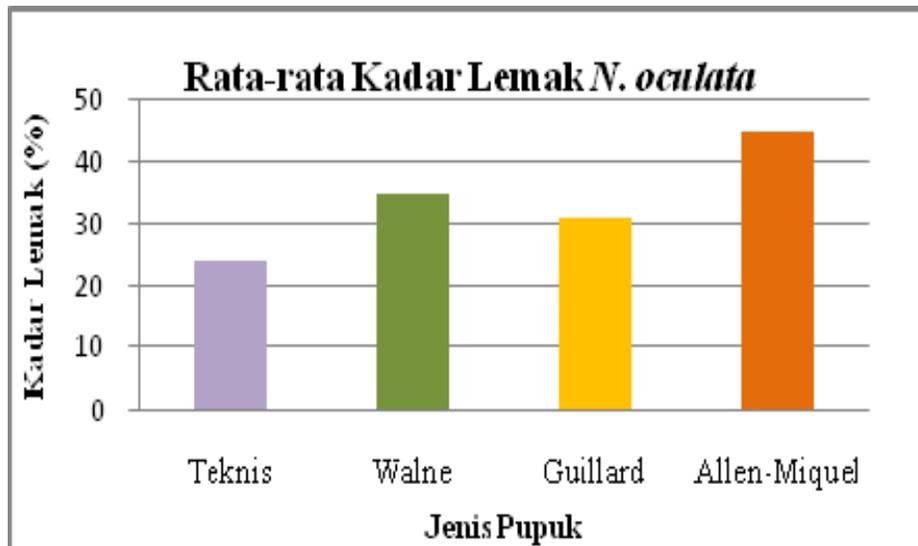
Faktor lingkungan seperti faktor kualitas air cahaya, suhu, pH air, dan salinitas air juga berpengaruh terhadap pertumbuhan alga mikro *N. oculata*.

Pupuk Allen-Miquel memiliki kadar unsur hara makro meliputi unsure hara N, P dan K yang

sesuai dengan kebutuhan pertumbuhan *N. oculata*. Oleh karena itu, pupuk ini memberikan pengaruh yang terbaik terhadap laju pertumbuhan populasi *N. oculata* dibandingkan dengan pupuk yang lain.

Pengujian kadar lemak dilakukan dengan analisis duplo dengan membagi dua setiap alga

mikro *N. oculata* kering menjadi dua bagian sampel sebesar masing-masing 3 gram. Masing-masing sampel tersebut diuji dengan metode ekstraksi-destilasi di Laboratorium Afilasi dan Konsultasi Industri Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Industri ITS Surabaya.



Gambar 3. Kadar lemak *N. oculata*

Berdasarkan hasil uji kadar lemak tersebut dapat diketahui bahwa rata-rata kadar lemak tertinggi terdapat pada perlakuan dengan pemberian pupuk Allen-Miquel yaitu sebesar 45% dari 3 gram sampel yang diujikan atau sebesar 1,35 gram. Selanjutnya rata-rata kadar lemak dari 3 gram sampel yang diujikan secara berurutan ialah pada perlakuan pemberian pupuk Walne sebesar 34,5% atau sebesar 1,035 gram, pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi f sebesar 31% sebesar 0,93 gram dan yang terendah ialah pupuk Teknis (IG) sebesar 23,93% sebesar 0,7179 gram.

Jenis dan kadar unsur yang terkandung di dalam pupuk sangat berpengaruh terhadap kadar lemak *N. oculata*. Berbagai jenis unsur tertentu dibutuhkan *N. oculata* dalam jumlah tertentu untuk menyusun lemak dalam tubuhnya. Unsur hara seperti nitrogen dibutuhkan *N. oculata* untuk biosintesis protein dalam tubuhnya. Namun keberadaan unsur ini sudah dijadikan sebagai kontrol terhadap keempat jenis pupuk yang digunakan yaitu pada konsentrasi sebesar 0,001 Molar, sehingga terdapat unsur-unsur hara lain yang memiliki pengaruh terhadap biosintesis lemak alga mikro *N. oculata* ini.

Pupuk Allen-Miquel mengandung kadar unsur hara makro yang cukup lengkap yaitu unsur K, N, Na, P, dan Ca. Namun, pupuk

tersebut tidak mengandung unsur hara S dan C atau dapat dikatakan media kultur mengalami defisiensi unsur hara S dan C. Menurut Deng *et. al.* (2011), media kultur yang kekurangan unsur hara S dan C dapat meningkatkan kadar lemak total.

Unsur S merupakan komponen essensial yang digunakan untuk sintesis protein, sehingga kekurangan unsur ini akan menurunkan kadar sintesis protein. Hal tersebut menyebabkan kadar protein dalam sel menjadi berkurang. Selain itu, proses sintesis asam amino menjadi terganggu, karena sejumlah metabolit antara dalam pembentukan karbohidrat yang dihasilkan oleh asimilasi asetat lebih banyak digunakan untuk sintesis asam lemak dibandingkan untuk sintesis asam amino.

Kultur pada skala semi massal yang dilakukan di tempat yang semi *outdoor* menyebabkan media mendapatkan intensitas cahaya matahari secara berkala yaitu selama 12 jam (pagi sampai sore hari), sedangkan 12 jam kemudian tidak mendapatkan penyinaran (kondisi gelap). Menurut Cohen (1999), *ligh-dark cycle* dapat meningkatkan kadar lemak seluler *Nannochloropsis*. Proses metabolisme dalam sel alga terjadi secara simultan. Pembelahan sel terjadi selama periode gelap, sedangkan proses

metabolisme seperti pembentukan pigmen, sintesis lemak dan asam lemak terjadi selama periode terang.

Kultur pada skala semi massal yang dilakukan di tempat yang semi *outdoor* menyebabkan media mendapatkan intensitas cahaya matahari secara berkala yaitu selama 12 jam (pagi sampai sore hari), sedangkan 12 jam kemudian tidak mendapatkan penyinaran (kondisi gelap). Menurut Cohen (1999), *ligh-dark cycle* dapat meningkatkan kadar lemak seluler *Nannochloropsis*. Proses metabolisme dalam sel alga terjadi secara simultan. Pembelahan sel terjadi selama periode gelap, sedangkan proses metabolisme seperti pembentukan pigmen, sintesis lemak dan asam lemak terjadi selama periode terang.

Perlakuan pemberian pupuk Walne tidak jauh berbeda dengan perlakuan pemberian pupuk Guillard dan Ryther Modifikasi F. Pupuk ini memiliki kelengkapan unsur hara makro dan mikro yang hampir serupa, hanya saja dalam pupuk ini tidak terdapat biotin. Hal tersebut membuktikan bahwa kelengkapan unsur hara dan vitamin menyebabkan alga mikro cenderung untuk mensintesis molekul organik lain, misalnya protein dalam selnya. Ketika kondisi media kultur kekurangan unsur hara makro tertentu, sel alga mikro cenderung membentuk molekul lemak yang digunakan untuk cadangan energi bagi selnya

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik simpulan sebagai berikut. (1). Pemberian jenis pupuk yang berbeda memberikan pengaruh terhadap laju pertumbuhan populasi *N. oculata*. Pemberian pupuk Allen-Miquell menunjukkan hasil laju pertumbuhan populasi rata-rata *N. oculata* tertinggi yaitu sebesar 0,393. (2). Pemberian jenis pupuk yang berbeda memberikan pengaruh terhadap kadar lemak *N. oculata*. Pemberian pupuk Allen-Miquel menunjukkan hasil kadar lemak rata-rata *N. oculata* yang tertinggi yaitu sebesar 45% dari 3 gram sampel yang diujikan atau sebesar 1,35 gram.

DAFTAR PUSTAKA

Abdulgani, Nurlita, M. F., Aguk Zuhdi dan Sukesi. 2008. Potensi Mikroalga *Skeletonema costatum*, *Chlorella vulgaris*, dan *Spirulina platensis* sebagai Bahan Baku Biodiesel. *Paper*. (Online) <http://digilib.its.ac.id/public/IIS-Research-10983-131879378-Paper.pdf>. Diakses pada tanggal 27 September 2010.

- Amini, Sri dan Sugiyono. 2008. Penelitian Mikroalga Laut Jenis *Spirulina platensis* dan *Nannochloropsis* sebagai Sumber Biodiesel. *Jurnal Penelitian Balai Besar Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan Perikanan Jakarta*. (Online) <http://www.bbrp2b.dkp.go.id/publikasi/prosiding/2008/brawijaya/01.%20PENELITIAN%20MIKROALGAE%20LAUT%20JENIS%20Spirulina%20platensis%20DAN%20Nan.pdf>. Diakses pada tanggal 27 september 2010.
- Becker, E.W. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. USA: Cambridge University Press.
- Bold, Harold C. dan Wynne, Michael J. 1978. *Introduction to The Algae*. New Jersey: Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs.
- Cahyaningsih, Sri, Achmad Nur Mei Muchtar, Sugeng Joko Purnomo, Indah Kusumaningrum, Pujiati, Akhmad Haryono, Slamet, Fitriana Yulaeni, Faizal Ramadhan, dan Bagus. 2009. *Produksi Pakan Alami*. Situbondo: Departemen Kelautan dan Perikanan Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Balai Budidaya Air Payau Situbondo.
- Chilmawati, Diana dan Suminto. 2008. Penggunaan Media Kultur Yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. *Jurnal Saintek Perikanan Vol. 4, No. 1, 2008 : 42 – 49*.
- Chisti, Yusuf. 2007. Biodiesel From Microalgae. *Research review paper*. (Online) <http://www.tamu.edu/faculty/tpd8/BICH407/AlgaeBiodiesel.pdf>. Diakses pada tanggal 31 Januari 2011.
- Chiu, Sheng-Yi, Chien-Ya Kao, Ming-Ta Tsai, Seow-Chin Ong, Chiun-Hsun Chen dan Chin-Sheng Ling. 2008. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Journal Biosource Technology* 100 (2009) 833-838, Taiwan.
- Cohen, Zvi. 1999. *Chemicals from Microalgae*. Israel: Ben Gurion University of The Negev.
- Davies, P. J. 1990. *Plant Hormone and Their Lore in Plant Growth and Development*. London: Kluwer Academic.
- Deng, Xiaodong, Xiaowen Fei dan Yajun Li. 2011. The Effects Nutritional Restriction on Neutral Lipid Accumulation in *Chlamydomonas* and *Chlorella*. *African Journal of Microbiology research* Vol. 5(3) pp. 260-270. (Online) <http://www.academicjournals.org/ajmr/PDF/pdf2011/4Feb/Deng%20et%20al.pdf> .Diakses pada tanggal 28 Juni 2011.
- Fogg, G. E. 1953. *The Metabolism of Algae*. London: Methuen & CO. LTD.
- Fogg, G. E. dan Thake, Brenda. 1987. *Algal Culture and Phytoplankton Ecology*. London: The University of Wisconsin Press, Ltd.

- Graham, Linda E. and Wilcox, Lee W. 2000. *Algae*. USA: University of Wisconsin.
- Gupta, J. S. 1981. *Textbook of Algae*. New Delhi: Oxford & Publishing Co.
- Hambali, Erliza, Siti Mujdalipah, Armansyah Halomoan Tambunan, Abdul Waries Pattiwiri dan Roy Hendroko. 2008. *Teknologi Bioenergi*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Harsanto, Soni. 2009. Analisis Asam Lemak Mikroalga *Nannochloropsis oculata*. Thesis. Surabaya: Jurusan Kimia FMIPA ITS.
- Hepler, Peter K. 2005. Calcium: A Central Regulator of Plant Growth and Development. (Online) <http://www.plantcell.org/content/17/8/2142.full.pdf+html>. Diakses pada tanggal 16 Januari 2012.
- Herlina, Netti dan Ginting, M. Hendra S. 2002. *Lemak dan Minyak*. Medan: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sumatra Utara.
- Hu, Qiang, Milton Sommerfeld, Eric Jarvis, Maria Ghirardi, Matthew Posewitz, Michael Seibert dan Al Darzins. 2008. Microalgal Triacylglycerols as Feedstock for Biofuel Production: Persepective and Advances. *The plant Journal* (2008) 54, 621-639. (Online) <http://www.tamu.edu/faculty/tpd8/BICH407/algatriglycerides.pdf>. Diakses pada tanggal 28 Juni 2011.
- Inansetyo, Alim dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton*. Yogyakarta: Kanisius.
- Kurniati, Retna. 2009. Pengembangan Medium Berbasis Pupuk Komersial untuk Kultur *Nannochloropsis* sp. pada Sistem *Batch*. *Skripsi*. Bandung: Program Studi Sarjana Biologi SITH, ITB.
- Montoya, Erika Yuliana Ortiz, Joao Monteiro de Carvalho dan Attilio Converti. 2010. Effect of Temperature and Nitrogen Concentration on Growth and Lipid Content of *Nannochloropsis oculata* for Biodiesel Production. *Simposio Brasil-Japao* 2010. (Online) <http://japao.org.br/simposio2010/wp-content/uploads/2010/PA016.pdf>. Diakses pada tanggal 28 Juni 2011.
- Mudjiman, Ahmad. 2004. *Makanan Ikan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Palanichamy, S. dan Rani, V. 2004. Observation on The Long Term Preservation and Culture of Marine Microalga, *Nannochloropsis oculata*. *Journal mar. Biol. Ass. India*, 46 (1): 98-103, India.
- Richmond, Amos. 2004. *Handbook of Microalgal Culture Biotechnology and Applied Phycology*. India: Blackwell Publishing.
- Setyorini, Larasati. 2006. Pengaruh Pupuk Bokashi Berbahan Baku Jerami dan Daun Lamtoro terhadap Pertumbuhan Populasi *Chlorella* sp. *Laporan Penelitian DIPA*. Surabaya: Lembaga Penelitian Universitas Negeri Surabaya.
- Sudarmadji, Slamet, Haryono Bambang, dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sze, Philip. 1998. *A Biology of The Algae*. USA: Georgetown University.
- Verma, Narendra Mohan, Shakti Mehrotra, Amitesh Shukla dan Bhartendu Nath Mishra. 2010. Prospective of Biodiesel Production Utilizing Microalgae as The Cell Factories: A Comprehensive Discussion. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9, India. (Online) [http://www.academicjournals.org/AJB/PDF/pdf2010/8Mar/Verma et al.pdf](http://www.academicjournals.org/AJB/PDF/pdf2010/8Mar/Verma%20et%20al.pdf). Diakses pada tanggal 13 Februari 2011.
- Wiguna, Eka. 2009. *Nannochloropsis* sp. (Online) <http://ekawiguna.wordpress.com/2009/12/13/nannochloropsis-sp/>. Diakses pada tanggal 25 Maret 2011.