



INJEKSI KARBON DIOKSIDA (CO₂) PADA MEDIA PEMELIHARAAN TERHADAP BIOMASSA DAN KANDUNGAN TOTAL LIPID MIKROALGA *Tetraselmis chuii*

Erma Nurmalitasari^{*}, Ali Ridlo, Sunaryo

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698

Email : Journalmarineresearch@gmail.com

Abstrak

Mikroalga *Tetraselmis chuii* dapat berfotosintesis dan mampu tumbuh dengan cepat. Karbon dioksida (CO₂) sangat penting peranannya dalam proses fotosintesis. Injeksi CO₂ diperlukan untuk digunakan dalam fotosintesis, sehingga diharapkan dapat diperoleh biomassa dan kandungan total lipid *T. chuii* optimum. Metode penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris, menggunakan 4 perlakuan yaitu injeksi CO₂ selama 2 menit, 4 menit, 6 menit, 8 menit dan tanpa injeksi CO₂ (kontrol) dengan 3 kali pengulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kepadatan sel tertinggi (1.944.000 sel/mL) dan laju pertumbuhan tertinggi sebesar 0,626 doubling/hari dicapai pada perlakuan injeksi CO₂ selama 4 menit. Kepadatan sel terendah (970.000 sel/mL) dan laju pertumbuhan terendah (0,481 doubling/hari) pada perlakuan dengan injeksi CO₂ selama 8 menit. Kandungan total lipid pada perlakuan injeksi CO₂ selama 2 menit; 4 menit; 6 menit; 8 menit dan kontrol masing-masing adalah 67,27±2,70; 58,29±2,63; 37,41±2,69; 7,89±2,92 dan 70,32±2,49 %-dw. Pertumbuhan *T. chuii* optimum dicapai pada perlakuan injeksi CO₂ selama 3 menit, biomassa *T. chuii* optimum dicapai pada 4,1 menit injeksi CO₂, sedangkan kandungan total lipid semakin menurun sebanding dengan lama injeksi CO₂ hingga titik optimum terendah pada menit ke 4,5 injeksi CO₂, kemudian mengalami peningkatan kembali pada perlakuan injeksi CO₂ selama 8 menit.

Kata kunci : *Tetraselmis chuii*, Injeksi CO₂, Biomassa, Total Lipid

Abstract

Microalgae *Tetraselmis chuii* is photosynthetic organisms and able to grow rapidly. Carbon dioxide (CO₂) is very important role in the process of photosynthesis. CO₂ injection is required for photosynthesis process, which is expected to be obtained optimum biomass of *T. chuii* and total lipid content. The research method was experimental laboratory, using 4 differences treatments was injection of CO₂ for 2 minutes, 4 minutes, 6 minutes, 8 minutes and without CO₂ injection (control) with 3 replications. The results showed that the highest density of cells (1,944,000 cells/mL) and the highest growth rate of 0.626 doublings/day were achieved in the treatment of CO₂ injection for 4 minutes. The lowest cell density (970,000 cells/mL) and the lowest growth rate (0.481 doublings/day) was treatment with the injection of CO₂ for 8 minutes. The content of total lipids in the treatment of CO₂ injection for 2 minutes; 4 minutes; 6 minutes; 8 minutes and control were 67.27± 2.70; 58.29±2.63; 37.41±2.69; 7.89±2.92 and 70.32±2.49%-dw. It was concluded that the optimum growth of *T. chuii* achieved CO₂ injection for 3 minutes, the optimum biomass of *T. chuii* in CO₂ injection 4,1 minutes, while the total lipid was decreased up to the lowest optimum in the minute 4,5 CO₂ injection, and then increased again until treatment injection of CO₂ for 8 minutes.

Keywords : *Tetraselmis chuii*, CO₂ Injection, Biomass, Total Lipids

*) Penulis penanggung jawab



1. Pendahuluan

Tetraselmis chuii merupakan mikroalga dari golongan alga hijau (*chlorophyceae*). Sel-sel *T. chuii* berupa sel tunggal atau uniseluler. Ukuran *T. chuii* berkisar 7-12 mikron dan mempunyai bentuk oval elips. Klorofil merupakan pigmen yang dominan sehingga alga ini berwarna hijau, memiliki 4 buah bulu cambuk (flagella) sehingga dapat bergerak secara lincah dan cepat seperti hewan bersel tunggal (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). *T. chuii* sering digunakan sebagai pakan alami. Menurut Widianingsih *et al.* (2010), *T. chuii* merupakan pakan alami yang mempunyai kandungan gizi yang cukup baik karena mengandung protein, lemak, dan total omega-3 HUFA (*Highly Unsaturated Fatty Acid*) yang tinggi.

T. chuii memerlukan 4 komponen penting untuk tumbuh, yaitu sinar matahari, karbon dioksida, air dan nutrisi untuk keperluan fotosintesis. *T. chuii* membutuhkan CO₂ cukup tinggi karena mampu berkembangbiak dengan cepat, akan tetapi ketersediaan CO₂ saat kultivasi dalam media pemeliharaan mikroalga tidak mencukupi karena udara biasa hanya mengandung 0,033% CO₂ (Panggabean, 2011), kadar CO₂ total dalam air laut hanya berkisar antara 18-30 mg/L (Horne, 1969), dan tingkat difusi CO₂ ke dalam media air kira-kira 10.000 kali lebih rendah dibanding di atmosfer (Jones, 1992 *dalam* Baba dan Shiraiwa, 2013).

Karbon merupakan elemen kunci kimia dari seluruh metabolisme (Andrews, 2008). Oleh karena itu, injeksi CO₂ diperlukan dengan tujuan untuk dapat langsung digunakan pada fotosintesis. Saat fotosintesis berlangsung, CO₂ harus di-berikan dengan cepat sehingga CO₂ dapat secara aktif difiksasi oleh enzim RUBISCO (ribulosa bisfosfat karboksilase) di dalam stroma kloroplas (Baba dan

Shiraiwa, 2013), sehingga kebutuhan karbon untuk fotosintesis tercukupi dan hasil fotosintesis tersebut digunakan mikroalga untuk pembentukan karbohidrat yang kemudian proses akumulasi lipid juga bisa ber-langsung. Diharapkan penambahan injeksi CO₂ ini dapat diperoleh pertumbuhan, biomassa dan kandungan total lipid yang optimum.

2. Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan biota uji mikroalga *T. chuii* yang diperoleh dari laboratorium mikroalga, Balai Besar Pengembangan Perikanan Air Payau (BBPPAP) Jepara sebanyak 0,5 Liter. *T. chuii* dipelihara dalam ruang kultur, dengan kepadatan sel awal 10x10⁴ sel/mL, kemudian diinkubasi pada suhu berkisar 18-20°C dan pencahayaan 2750 lux selama 24 jam/hari.

Media air laut yang digunakan salinitas 33 g/L yang ditempatkan pada erlenmeyer volume 1 liter dan diberi pupuk Walne (1mL/L).

Metode penelitian menggunakan eksperimental laboratoris, dengan rancangan acak lengkap 4 perlakuan, yaitu injeksi CO₂ selama 2 menit, 4 menit, 6 menit, 8 menit dan tanpa injeksi CO₂ (kontrol) dengan 3 kali pengulangan. Perlakuan injeksi CO₂ dilakukan setiap hari sekali pada pukul 09.00 WIB sampai panen (7 hari).

Parameter yang diamati adalah biomassa *T. chuii* yang ditentukan oleh besaran kepadatan sel dan laju pertumbuhan serta pemanenan *T. chuii* dan kandungan total lipid *T. chuii*. Sebagai parameter pendukung penelitian diamati pula kualitas media pemeliharaan (salinitas, DO, pH, CO₂ terlarut dan alkalinitas) setelah 10 menit perlakuan injeksi CO₂ selesai.

Data diolah dengan bantuan program Microsoft Office Excel 2007 dan SPSS 16.0.

Analisis statistik dilakukan dengan uji Anova (*Analysis of Variance*) satu jalur atau Oneway Anova untuk menganalisis adanya perbedaan pengaruh antar perlakuan yang diuji, selanjutnya dilakukan Uji Tukey untuk melihat letak perbedaan yang signifikan antar perlakuan (Stell dan Torrie, 1980 dalam Srigandono, 1989) dan perhitungan nilai optimal biomassa dan kandungan total lipid *T. chuii* dengan analisis polinomial orthogonal.

3. Hasil

3.1 Biomassa *T. chuii*

Hasil pengamatan pertumbuhan *T. chuii* selama kultivasi bervariasi pada tiap perlakuan (Gambar 1). Pertumbuhan *T. chuii* pada perlakuan dengan injeksi CO₂ selama 2 menit, 6 menit, 8 menit dan kontrol mengalami penurunan pertumbuhan pada hari ke 5 dan ke 7, sedangkan perlakuan injeksi CO₂ selama 4 menit menunjukkan peningkatan pertumbuhan sampai hari ke 7. Pertumbuhan dan laju pertumbuhan *T. chuii* selama penelitian diperoleh dari hasil perhitungan kepadatan sel. Populasi biomassa *T. chuii* sangat ditentukan oleh besarnya pertumbuhan dan laju pertumbuhan serta proses pemanenan *T. chuii*.

Kepadatan sel rata-rata hari ke-7 dan laju pertumbuhan rata-rata *T. chuii* ditampilkan pada Tabel 1. Kepadatan sel rata-rata tertinggi (1.944.000sel/mL) dan laju pertumbuhan tertinggi sebesar 0,626 doubling/hari dicapai pada perlakuan injeksi CO₂ selama 4 menit. Kepadatan sel rata-rata hari ke-7 terendah (970.000sel/mL) dan laju pertumbuhan terendah (0,481 doubling/ hari) yaitu perlakuan injeksi CO₂ 8 menit.

Hasil dari grafik regresi kepadatan sel rata-rata *T. chuii* (Gambar 2) diperoleh persamaan non linier kuadratik yaitu $Y = -3,488x^2 + 21,25x + 139,5$ dengan nilai $r = 0,732$, yang menunjukkan hubungan antara injeksi CO₂ terhadap kepadatan sel rata-

rata *T. chuii* optimum pada 3 menit injeksi CO₂. Hasil dari grafik regresi laju pertumbuhan rata-rata *T. chuii* (Gambar 3) diperoleh persamaan non linier kuadratik yaitu $Y = -0,005x^2 + 0,029x + 0,557$ dengan nilai $r = 0,796$ yang menunjukkan hubungan antara injeksi CO₂ terhadap laju pertumbuhan rata-rata *T. chuii* optimum pada 3 menit injeksi CO₂.

Hasil grafik regresi biomassa yang menunjukkan hubungan antara injeksi CO₂ dengan biomassa *T. chuii* (Gambar 4) diperoleh persamaan non linier kuadratik yaitu $y = -1,67x^2 + 13,87x + 138,53$; dengan nilai $r = 0,617$ yang menunjukkan bahwa nilai paling optimum pada injeksi CO₂ dengan titik xy (4,15;167,35).

Hasil biomassa perlakuan injeksi CO₂ selama 2 menit, 4 menit, 6 menit, 8 menit dan kontrol masing-masing yaitu 181,27 mg; 152,26 mg; 160,33 mg; 145,6 mg dan 130,41 mg. Hasil uji Tukey biomassa *T. chuii* menunjukkan bahwa biomassa kontrol berbeda nyata dengan 2 menit dan 6 menit.

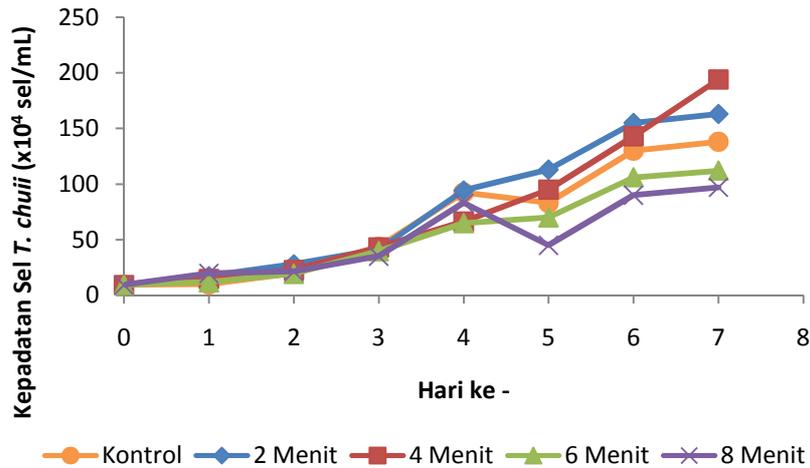
Tabel 1. Data Kepadatan Sel Rata-Rata *T. chuii* Hari ke-7 dan Laju Pertumbuhan Rata-Rata dengan Perbedaan Lama Injeksi CO₂

Injeksi CO ₂ (menit)	Kepadatan Sel Rata-Rata (sel/mL)	Laju Pertumbuhan Rata-Rata (doubling/hari)
Kontrol	1.377.000 ± 18 ^{b c}	0,554 ± 0,027 ^{b c}
2	1.630.000 ± 11 ^{c d}	0,590 ± 0,013 ^{c d}
4	1.944.000 ± 13 ^d	0,626 ± 0,013 ^d
6	1.123.000 ± 10 ^{a b}	0,513 ± 0,017 ^{a b}
8	966.000 ± 12 ^a	0,481 ± 0,026 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji Tukey dengan taraf uji $\alpha = 0,05$.

3.2 Kandungan Total Lipid *T. chuii*

Hasil kandungan total lipid *T. chuii* ditampilkan pada Gambar 5. Kandungan total lipid pada perlakuan injeksi CO₂ selama 2 menit; 4 menit; 6 menit; 8 menit



Gambar 1. Pertumbuhan *T. chuii* dengan Perbedaan Lama Injeksi CO₂.

Keterangan:

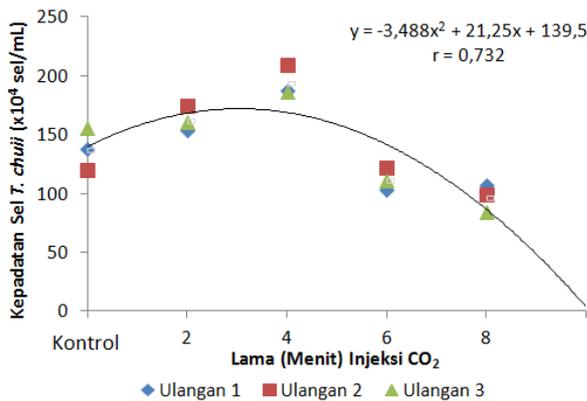
Kontrol : tanpa injeksi CO₂

2 : injeksi CO₂ selama 2 menit/ 24 jam

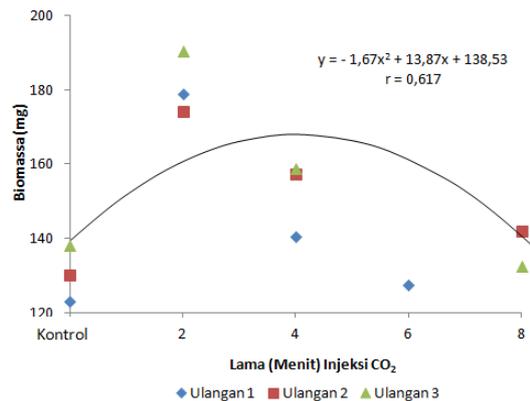
4 : injeksi CO₂ selama 4 menit/ 24 jam

6 : injeksi CO₂ selama 6 menit/ 24 jam

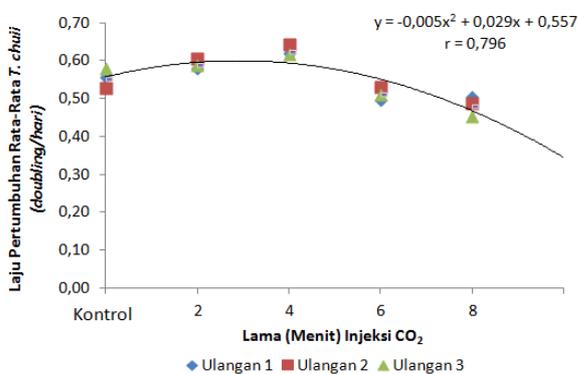
8 : injeksi CO₂ selama 8 menit/ 24 jam



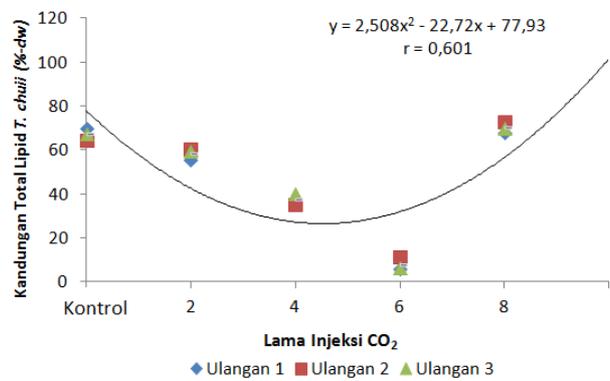
Gambar 2. Grafik Regresi Kepadatan Sel Rata-Rata *T. chuii* Hari ke-7 dengan Perbedaan Lama Injeksi CO₂.



Gambar 4. Grafik Regresi Biomassa Rata-Rata *T. chuii* dengan Perbedaan Lama Injeksi CO₂.



Gambar 3. Grafik Regresi Laju Pertumbuhan Rata-Rata *T. chuii* dengan Perbedaan Lama Injeksi CO₂.



Gambar 5. Grafik Regresi Kandungan Total Lipid *T. chuii* dengan Perbedaan Lama Injeksi CO₂.

dan kontrol masing-masing adalah $67,27 \pm 2,70$; $58,29 \pm 2,63$; $37,41 \pm 2,69$; $7,89 \pm 2,92$ dan $70,32 \pm 2,49\%$ -dw. Hasil uji Tukey kandungan total lipid menunjukkan bahwa kontrol berbeda nyata dengan injeksi CO₂ selama 2 menit, 4 menit dan 6 menit. kontrol tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan 8 menit.

Grafik regresi kandungan total lipid *T. chuii* (Gambar 5) diperoleh persamaan non linier kuadratik yaitu $Y = 2,508x^2 - 22,72x + 77,93$, dengan nilai $r = 0,601$ yang menunjukkan hubungan antara injeksi CO₂ terhadap kandungan total lipid *T. chuii* menunjukkan bahwa kandungan total lipid *T. chuii* semakin menurun hingga titik optimum terendah yaitu menit ke-4,5 injeksi CO₂, kemudian mengalami peningkatan kembali pada perlakuan injeksi 8 menit.

4. Pembahasan

Pertumbuhan mencapai titik optimum pada perlakuan injeksi CO₂ selama 3 menit. Injeksi CO₂ selama 3 menit paling mendukung untuk peningkatan pertumbuhan *T. chuii*, hal ini sesuai dengan pendapat Chrismadha dan Nofdianto (1994), yang menyatakan bahwa mikroalga mencapai pertumbuhan maksimum karena adanya suatu konsentrasi CO₂ yang optimum. Apabila dilihat dari faktor pembatas pertumbuhan lainnya nilai pH media pemeliharaan, menunjukkan bahwa nilai pH pada perlakuan injeksi CO₂ selama 2 menit sampai 4 menit, masih dalam kisaran batas optimum, sehingga nilai pH tersebut sesuai untuk penyerapan nutrisi oleh sel dan kelangsungan aktivitas enzim yang optimum. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Olaizola (2003), pH 7,5 adalah yang optimum untuk fotosintesis dibanding perlakuan pH lainnya 6,5 dan 8,5.

Konsentrasi CO₂ terlarut pada perlakuan 8 menit meningkat yaitu mencapai kisaran 43,3-219,7 mg/L sehingga mengakibatkan penurunan pH

media pemeliharaan menjadi berkisar 4,8-6,3 setelah adanya perlakuan injeksi CO₂, yang mana nilai kisaran pH ini, tidak sesuai dengan pH optimum pertumbuhan, sehingga kepadatan sel dan laju pertumbuhan *T. chuii* pada injeksi CO₂ selama 8 menit juga menunjukkan nilai yang rendah. Chiu *et al.* (2008) menjelaskan bahwa pemberian aerasi karbondioksida yang terlalu banyak dapat menghambat pertumbuhan *N. oculata*, karena kondisi pH yang terlalu rendah. Selanjutnya Taw (1990) juga menyatakan bahwa kadar CO₂ yang berlebih dapat menyebabkan pH kurang dari batas optimum (7-8), ini akan berpengaruh terhadap metabolisme dan pertumbuhan *T. chuii*, antara lain mengubah keseimbangan karbon anorganik, fisiologi sel, dan ketersediaan nutrisi dalam media pemeliharaan.

Perubahan nilai pH yang drastis dapat mempengaruhi kerja enzim serta dapat menghambat pertumbuhan *T. chuii*, sehingga pada perlakuan 8 menit dihasilkan kepadatan sel paling rendah. Pendapat lain dari Sharma *et al.* (2012) yang menyatakan perlambatan pertumbuhan beberapa mikroalga dan ketiadaan bahan untuk sintesis senyawa membran baru, mengakibatkan pengalihan dan menyimpan asam lemak menjadi TAG (Triasilgliserol) oleh sel, dengan kondisi tersebut produksi TAG bisa berfungsi sebagai mekanisme pelindung.

Biomassa dan Kandungan Total Lipid *T. chuii*

Biomassa populasi *T. chuii* optimum dicapai pada injeksi CO₂ selama 4,1 menit yaitu 167,35 mg sedangkan biomassa yang paling rendah pada kontrol 130,41 mg. Kandungan total lipid pada kontrol ($67,27\%$ -dw) dan 8 menit ($70,32\%$ -dw) cukup tinggi daripada perlakuan yang lain. Hal ini menunjukkan hubungan biomassa dan kandungan total lipid yang saling

berbanding terbalik. Kandungan total lipid pada perlakuan 8 menit ini berbanding terbalik dengan kepadatan sel dan laju pertumbuhannya. Kepadatan sel dan laju pertumbuhan perlakuan 8 menit paling rendah di antara perlakuan yang lain dengan kondisi pH pada media pemeliharaan paling rendah. Perbedaan tersebut diduga berkaitan dengan stres oleh pH yang rendah yang berkisar 4,8-5,8. Hal ini sesuai Schenk *et al.* (2008), yang menyatakan mikroalga di alam mengakumulasi lipid saat terjadi tekanan pada lingkungan, seperti nutrisi stres (misalnya nitrogen, fosfat yang terbatas), osmotik stres, radiasi, pH, suhu, logam berat dan bahan kimia lainnya. Sheehan *et al.* (1998) juga menyebutkan bahwa pada kondisi tekanan lingkungan, produksi semua komponen sel menurun, namun produksi minyak tetap tinggi, sehingga terjadi pengakumulasi minyak dalam sel.

Panggabean (2011), juga menyatakan produksi lipid tertinggi (25%) diperoleh pada aerasi CO₂ kontinyu *N. oculata*, yang dipicu oleh kondisi stres pada pH rendah. *T. chuii* pada pH yang rendah, mengakibatkan perubahan komposisi biokimia sel. Hal ini sesuai Sharma *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa dalam kondisi tidak optimal tersebut, banyak mikroalga mengubah jalur biosintesis lipid mereka terhadap pembentukan dan akumulasi lipid netral, terutama dalam bentuk triasilgliserol (TAG) yang memungkinkan mikroalga untuk bertahan dengan kondisi yang merugikan. Khoo *et al.* (2011) menambahkan bahwa energi yang dihasilkan pada proses fotosintesis mikroalga, dapat digunakan sebagai pertumbuhan, cadangan makanan atau untuk mempertahankan diri saat terjadi tekanan pada lingkungan. Energi hasil proses fotosintesis perlakuan injeksi CO₂ selama 8 menit diduga tidak digunakan untuk pembelahan sel, melainkan disimpan atau dikonversi dalam bentuk lain sebagai cadangan makanan atau untuk mem-

pertahankan diri. Bahkan Sharma *et al.* (2012) menyatakan bahwa untuk memperoleh kandungan lipid yang tinggi, stres eksternal/ teknik induksi lipid perlu diterapkan.

Injeksi CO₂ selama 8 menit pada kondisi yang tidak optimum (pH rendah dan CO₂ terlarut terlalu tinggi) tersebut, menyebabkan penurunan pertumbuhan dan produksi biomassa *T. chuii* tetapi diiringi meningkatnya sintesis lipid. Hal ini didukung oleh Thompson (1996) dalam Sharma *et al.* (2012) yang menyatakan kondisi stres lingkungan ketika nutrisi terbatas menyebabkan tingkat pembelahan sel terus menurun, namun, biosintesis asam lemak secara aktif dipertahankan beberapa spesies mikroalga pada kondisi ada cukup cahaya dan tersedia CO₂ untuk fotosintesis. Pendapat lain dari Guschina dan Harwood (2006) yaitu pada dasarnya, biomassa mikroalga dan TAG bersaing untuk asimilasi fotosintesis dan pemrograman ulang jalur fisiologis yang diperlukan untuk merangsang biosintesis lipid, dalam kondisi lingkungan yang kurang baik atau stres yang tidak menguntungkan, banyak mikroalga mengubah jalur biosintesis lipid mereka terhadap pembentukan dan akumulasi netral lipid, terutama dalam bentuk TAG yang memungkinkan mikroalga untuk bertahan dalam kondisi yang kurang baik. Berbeda dengan injeksi CO₂ selama 4 menit, dalam kondisi optimum *T. chuii* lebih banyak melakukan sintesis protein yang digunakan untuk sintesis DNA yang selanjutnya digunakan sebagai proses pembelahan sel (Ehrenfeld dan Cousin, 1982).

Hal ini sesuai dengan Sharma *et al.* (2012) yang juga menyatakan dalam kondisi pertumbuhan yang optimal, mikroalga memproduksi sejumlah besar biomassa tetapi kandungan lipid relatif rendah, sementara spesies dengan kandungan lipid yang tinggi biasanya pertumbuhannya lambat.



5. Kesimpulan

Pertumbuhan dan biomassa mikroalga *T. chuii* optimum dicapai pada 3 menit injeksi CO₂, biomassa *T. chuii* optimum dicapai pada 4,1 menit injeksi CO₂, sedangkan kandungan total lipid semakin menurun sebanding dengan lama injeksi CO₂ hingga titik optimum terendah pada menit ke 4,5 injeksi CO₂, kemudian mengalami peningkatan kembali pada perlakuan injeksi 8 menit meningkat.

Ucapan Terimakasih

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Ir. Ervia Yudiati, MSc. yang telah memberi bantuan dana untuk penelitian ini dan semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan jurnal ilmiah ini.

Daftar Pustaka

- Baba, M. and Y. Shiraiwa. 2012. High-CO₂ Response Mechanisms in Microalgae. *In*: Dr. M. Najafpour. Photosynthesis - Fundamental Aspects. InTech, China, pp. 299-320.
- Bligh, E.G. and W.J. Dryer. 1959. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37:911-917.
- Chiu, S.Y., Y.K. Chien, T.T. Ming, C.O. Seow, H.C. Chiun, and S.L. Chih. 2008. Lipid Accumulation and CO₂ Utilization of *Nannochloropsis oculata* in Response to CO₂ Aeration. *J. Bioresource Tech.*, 100:833-838.
- Chrimadha, T. dan Nofdianto. 1994. Pengaruh Konsentrasi Nutrien Terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas *Chlorella* sp. pada Kultur Semikontinyu. *LIMNOTEK*, 2(1):33-43.
- Ehrenfield, J. and J.L. Causin. 1982. Ionic regulation of the unicellular green alga *Dunaliella tertiolecta*. *J. Membr Biol.*, 70: 47-58.
- Guschina, I.A. and J.L. Harwood. 2006. Lipids and Lipid Metabolism in Eukaryotic Algae. *Progr. Lipid Res.*, 45:160-186.
- Horne, R.A. 1969. Marine Chemistry, The Structure of Water and The Chemistry of Hydrosphere. John Wiley and Sons, New York, 212p.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton; Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 106 hlm.
- Khoo, H.H., P.N. Sharratt, P. Das, R.K. Balasubramanian, P.K. Naraharisetti, S. Shaik. 2011. Life Cycle Energy and CO₂ Analysis of Microalgae to Biodiesel: Preliminary Results and Comparisons. *J. Bioresource Tech.*, 102:5800-5807.
- Olaizola, M. 2003. Microalgal Removal of CO₂ from Flue Gases: Changes in Medium pH and Flue Gas Composition Do not Appear to Affect The Photochemical Yield of Microalgal Cultures. *J. Biotech. Bioproc.*, 8:360-367.
- Panggabean, L.M.G. 2011. Fiksasi Karbondioksida pada Mikroalga *Chlorella* sp., Strain Ancol dan *Nannochloropsis oculata*. *Oseanologi dan Limnologi, Indonesia*, 37(2):309-321.
- Schenk, P.M., R. Skye., R.T. Hall, E. Stephens, U.C. Max, J.H. Mussgnug, C. Posten, O. Kruse, and B. Hankamer. 2008. Second Generation Biofuel: High Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. *J. Bioenergi*, 1: 20- 43.
- Sharma, K.K., H. Schuhmann and P.M. Schenk. 2012. High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production. *J. Energies*, 5:1532-1553.
- Sheehan, J., T. Dunahay, J. Benemann, P. Roessler. 1998. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program-Biodiesel from Algae. The National Renewable Energy Laboratory, A national laboratory of the U.S. Department of Energy.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometri. Edisi kedua. Alih bahasa : Bambang Sumantri. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, *dalam*: Srigandono, B. 1989. Rancangan Percobaan. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Taw, N.D.R. 1990. Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murni dan Massal Mikroalga. Proyek 37 Pengembangan Budidaya Udang: United Nations Development Programme Food and Agriculture Organization of the United Nations, US, 32 hlm. (diterjemahkan oleh: Budiono Martosudarmo dan Indah Wulani).
- Widianingsih, R. Hartati, H. Endrawati, E. Yudiarti, Subagiyo. 2010. Kandungan Fatty acid pada Mikroalga Laut. FPIK Universitas Diponegoro, Semarang.