

OPTIMIZATION SALINITY AND INITIAL pH ON THE BIOMASS PRODUCTION OF *Nannochloropsis* sp. K-4

Made Arif Sukmawan¹, Nyoman Semadi Antara², I Wayan Arnata²

¹ Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud ² Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

Email koresponden: semadi.antara@unud.ac.id²

ABSTRACT

This research intended to determine the optimum salinity and initial pH on the growth of *Nannochloropsis* sp. K-4. The optimization was performed using response surface method (RSM), and central composite design was used to study the effect of salinity and initial pH on the growth of *Nannochloropsis* sp. K-4. The result showed that the salinity and pH medium of 30.96 ‰ and 8.13 was the optimal condition to grow *Nannochloropsis* sp. K-4 with biomass yield of 0.41 g/l after 10 days cultivation. Biomass production of *Nannochloropsis* sp. K-4 was carried out at optimal salinity and initial pH to determine proximate content of the biomass. Proximate analysis of biomass showed that the content of protein, fat, and carbohydrate were 35.55%, 33.66%, and 21.19%, respectively.

Keywords: salinity, pH, *Nannochloropsis* sp. K-4

PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan tumbuhan uniseluler paling primitif yang umumnya dikenal dengan sebutan *phytoplankton*. Habitat hidupnya adalah wilayah perairan baik di air tawar maupun di air laut. *Nannochloropsis* sp. merupakan mikroalga dari golongan alga hijau. Selnya berbentuk bola dengan warna kehijauan, berukuran kecil dengan diameter 2-8 µm (Kawaroe *et al.*, 2010). Mikroorganisme fotosintetik ini telah banyak dimanfaatkan dalam produksi biomassa, produksi energi, produksi berbagai produk bermanfaat, bioakumulasi senyawa tertentu serta berbagai proses biotransformasi (Kurniawan dan Gunarto, 1999).

Faktor lingkungan merupakan faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. selain nutrisi. Salinitas dan pH merupakan parameter oseanografi yang penting dalam pertumbuhan mikroalga. Faktor salinitas sangat penting karena, berpengaruh terhadap tekanan osmotik tubuh. Produktivitas dan daya adaptasi berbagai jenis mikroalga diduga berkaitan erat dengan tingkat salinitas lingkungannya (Rudiyanti, 2011). Pal *et al.*, (2011) menyebutkan bahwa *Nannochloropsis* sp. dimungkinkan tumbuh pada berbagai tingkat salinitas. *Nannochloropsis* sp. dapat tumbuh pada kisaran salinitas 15-45‰ (Isnanstyo dan Kurniastuti, 1995). Vasquez-Duhalt dan Arredondo-Vega (1991) menyebutkan bahwa kisaran optimum salinitas pada media pemeliharaan 25-35‰.

Nilai pH merupakan salah satu faktor lingkungan perairan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan kehidupan organisme. Perubahan nilai pH yang drastis dapat mempengaruhi kerja enzim serta dapat menghambat proses fotosintesis dan pertumbuhan beberapa mikroalga. Dalam kehidupan laut, pH dapat menjadi faktor penting yang mengatur perubahan suhu, oksigen terlarut, dan kelimpahan serta distribusi mikroalga. Wang *et al.*, (2002) menyebutkan bahwa pertumbuhan tertinggi *Nannochloropsis* sp. terjadi pada pH 6,2-9,8. Kisaran pH untuk pertumbuhan mikroalga hijau ini adalah 7 – 9 (Kawaroe *et al.*, 2010).

Salinitas dan pH awal merupakan dua faktor penting dalam pertumbuhan mikroalga terutama mikroalga laut dan luasnya kisaran salinitas dan pH awal menyebabkan titik optimum salinitas dan pH awal belum diketahui, maka pada penelitian ini dilakukan optimasi salinitas dan pH awal terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh salinitas dan pH awal yang optimal terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4.

METODE PENELITIAN

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai dari bulan April 2012 - September 2012.

Biakan Mikroalga

Biakan mikroalga *Nannochloropsis* sp. K-4 diperoleh dari Laboratorium Bioindustri FTP, Universitas Udayana. *Nannochloropsis* sp. K-4 ini merupakan mikroalga hasil isolasi dari pesisir pantai Kedonganan, Badung, Bali.

Persiapan Media

Pada penelitian ini media yang digunakan untuk menumbuhkan *Nannochloropsis* sp. K-4 adalah media standar *walne*. Pembuatan media standar *walne* dilakukan dengan terlebih dahulu dibuat stock media cair. Bahan-bahan kimia yang akan digunakan ditimbang dan dilarutkan satu-persatu secara berurutan ke dalam erlenmeyer 1 l yang sudah berisikan air steril (Tabel 1).

Kultivasi *Nannochloropsis* sp. K-4

Mikroalga *Nannochloropsis* sp. K-4 dikultivasi dengan perbandingan media kultur air laut dan bibit *Nannochloropsis* sp. K-4 adalah 70 : 30. Kultivasi dilakukan dalam botol 1 l yang sudah steril pada suhu 28-30°C, intensitas cahaya 3800-4500 lux, salinitas 30‰, pH 8-8,4 dan diberikan media standar *walne*. Aerasi diberikan secara

terus-menerus selama proses kultivasi. Selama proses kultivasi dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 14 hari dengan menggunakan *haemocytometer* di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 x 10. Hasil pengamatan digunakan sebagai kurva pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dan digunakan untuk menentukan waktu pemanenan.

Tabel 1. Komposisi media media standar *walne*

No	Solution	Bahan Kimia	Berat	Keterangan
1.	Solution A	<ul style="list-style-type: none"> • FeCl₃ • MnCl₂.5H₂O • H₃BO₃ • EDTA • NaH₂PO₄.2H₂O • NaNO₃ 	0,8 g 0,4 g 33,6 g 45 g 20 g 100 g	Ditambahkan dengan 1 ml Solution B, kemudian dilarutkan dalam 1 l air tawar
2.	Solution B	<ul style="list-style-type: none"> • ZnCl₂ • CoCl₂.6H₂O • (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O • CuSO₄.5H₂O • Concentrated HCl 	2,1 g 2 g 0,9 g 2 g 10 ml	Dilarutkan dengan 100 ml air tawar
3.	Solution C	Vitamin B ₁ Vitamin B ₁₂	0,2 g 25 ml	Dilarutkan dengan air tawar sebanyak 200 ml

Sumber : (Andersen, 2005)

Optimasi Salinitas dan pH awal Terhadap Produksi Biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4

Optimasi salinitas dan pH awal terhadap produksi biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 dilaksanakan dengan menggunakan *Central Composite Design* pada metode respon permukaan. Metode respon permukaan digunakan untuk menganalisis dan melihat pengaruh perlakuan salinitas dan pH awal terhadap produksi biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4. Rancangan percobaan dengan sistem pengkodean metode respon permukaan dapat dilihat pada Tabel 2.

Model yang diperoleh selanjutnya dipergunakan untuk menentukan kondisi optimum salinitas dan pH terhadap respon pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4. Setelah diperoleh model optimasi, selanjutnya dilakukan validasi model dengan menggunakan uji t-test yang membandingkan bobot biomassa yang diperoleh dari model dengan bobot biomassa yang diperoleh dari percobaan (aktual). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan software *Statistica 10* (Sudjana, 1989).

Optimasi salinitas dan pH awal diatur sesuai dengan perlakuan. Selain itu, optimasi juga dilakukan pada kondisi nitrat dan fosfor yang optimum sesuai dengan penelitian Loberto (2012).

Tabel 2. Rancangan percobaan dengan sistim pengkodean

No	Kode salinitas	Kode pH	Salinitas (%)	pH
1	-1	-1	25	7
2	1	-1	35	7
3	-1	1	25	9
4	1	1	35	9
5	-1,414	0	22,93	8
6	1,414	0	37,07	8
7	0	-1,414	30	6,589
8	0	1,414	30	9,414
9	0	0	30	8
10	0	0	30	8
11	0	0	30	8
12	0	0	30	8

Sumber : (Sudjana, 1989)

Produksi Biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4

Produksi biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 dilakukan sesuai pada tahapan sebelumnya pada optimasi salinitas dan pH awal terhadap produksi biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4. *Nannochloropsis* sp. K-4 dikultivasi sebanyak 25 l dengan menggunakan plastik bag 30 l. Kultivasi dilakukan pada suhu 28-30°C, intensitas cahaya 3800-4500 lux, dan diberikan aerasi selama proses kultivasi. Biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 80°C selama 24 jam. Biomassa kering *Nannochloropsis* sp. K-4 tersebut dianalisis kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein, dan kadar karbohidrat.

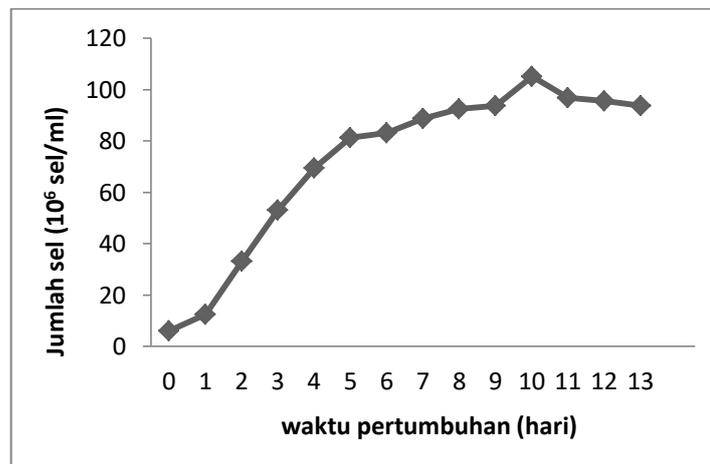
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultivasi *Nannochloropsis* sp. K-4

Hasil kultivasi menunjukkan bahwa fase lag (adaptasi) tidak terlihat pada kultur *Nannochloropsis* sp. K-4, hal ini diduga karena jenis media yang digunakan dan biomassa atau kepadatan sel yang sangat tinggi pada saat dikultivasi dapat mempercepat proses adaptasi mikroalga sehingga fase lag tidak terlihat pada saat kultivasi (Andersen, 2005). Fase eksponensial terjadi pada hari ke-0 hingga hari ke-10 kultivasi, dengan biomassa atau jumlah sel tertinggi sebesar $1,05 \times 10^8$ sel/ml. Sedangkan setelah hari ke-10 hingga hari ke-13 kultur *Nannochloropsis* sp. K-4 mengalami fase stationer (Gambar 1).

Waktu pemanenan kultur *Nannochloropsis* sp. K-4 ditentukan pada hari ke-10, yaitu di saat kultur *Nannochloropsis* sp. K-4 mengalami puncak pertumbuhan dan berada pada akhir fase eksponensial. Isnanstyo dan Kurniastuti (1995) dan Kawaroe *et al.*, (2010) menyatakan bahwa akhir fase eksponensial merupakan waktu yang terbaik untuk melakukan pemanenan kultur mikroalga karena pada fase ini struktur sel masih berada

pada kondisi normal dan secara nutrisi terjadi keseimbangan antara nutrisi dalam media dan nutrisi dalam sel. Selain itu, umumnya pada fase akhir eksponensial, kandungan nutrisi dalam sel sangat tinggi, sehingga kondisi mikroalga berada pada kondisi yang paling optimal.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4

Optimasi Salinitas dan pH awal Terhadap Produksi Biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4

Menurut Montgomery (1991), pada dasarnya analisis respon permukaan adalah serupa dengan analisis regresi yaitu menggunakan prosedur pendugaan variabel fungsi respon berdasarkan metode kuadrat terkecil, hanya saja dalam analisis permukaan respons diperluas dengan menerapkan teknik-teknik matematika untuk menentukan titik-titik optimum agar dapat ditemukan respons yang optimum.

Salinitas dan pH merupakan parameter oseanografi yang penting. Kadar salinitas pada media kultur memang sangat mempengaruhi kepadatan mikroalga. Besar kecilnya kadar salinitas berpengaruh terhadap tekanan osmose dan mekanisme osmoregulasi yang secara langsung akan mempengaruhi proses metabolisme, proses respirasi serta menghambat proses pembiakan sel vegetatif selanjutnya secara bertahap akan mempengaruhi kepadatan populasi mikroalga (Vasquez-Duhalt dan Arredondo-Vega, 1991).

Derajat keasaman atau pH digambarkan sebagai keberadaan ion hidrogen. Variasi pH dapat mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan kultur mikroalga antara lain mengubah keseimbangan karbon anorganik, mengubah ketersediaan nutrisi dan mempengaruhi fisiologi sel (Cotteau, 1996). Hasil data pengujian pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4 dengan kombinasi salinitas, dan pH dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data pengujian salinitas dan pH awal terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4

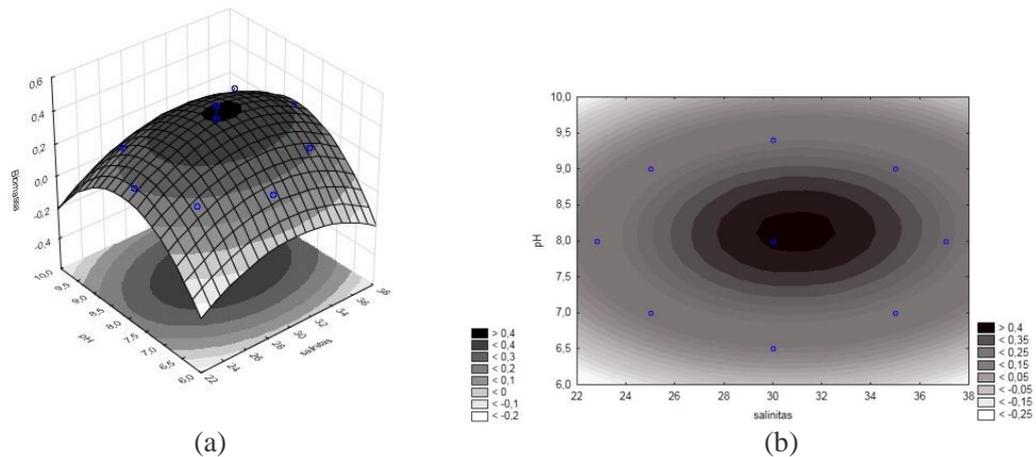
Salinitas ‰	pH	Pertumbuhan <i>Nannochloropsis</i> sp. K-4 (g/l)
25	7	0,17 ± 0,01
35	7	0,23 ± 0,01
25	9	0,22 ± 0,01
35	9	0,31 ± 0,01
22,93	8	0,20 ± 0,02
37,07	8	0,28 ± 0,02
30	6,589	0,22 ± 0,04
30	9,414	0,16 ± 0,02
30	8	0,38 ± 0,04
30	8	0,36 ± 0,04
30	8	0,48 ± 0,01
30	8	0,40 ± 0,02

Keterangan: pengujian salinitas dan pH awal terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp K-4 dilakukan sebanyak 2 kali ulangan. (± = standar deviasi)

Hasil regresi untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4 pada konsentrasi salinitas dan pH, menunjukkan model persamaan regresi pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4 sebagai berikut : $Z = -8,724 + 0,181 X - 0,003 X^2 + 1,555 Y - 0,098 Y^2 + 0,001 XY$, dengan koefisien determinasi (r^2) = 0,9119 , yang diartikan bahwa salinitas dan pH memiliki pengaruh sebesar 91,19% terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4, dan sisanya dengan nilai 8,81% dipengaruhi oleh faktor lain, seperti intensitas cahaya, dan suhu. Berdasarkan persamaan tersebut, maka diperoleh kombinasi salinitas 30,96‰ dan pH 8,13 yang memberikan pengaruh yang optimal terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4, yaitu sebesar 0,41 g/l Hal ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa salinitas dan pH optimum untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. adalah 31‰ (Hu dan Gao, 2006; James *et al.*, 1989; Chini *et al.*, 1999) dan pH 8,4 (Kawaroe *et al.*, 2010; Spolaore *et al.*, 2006) dengan biomassa sebesar 0,31 g/l. Perubahan warna yang terdapat pada grafik respon permukaan, dan *counter plot* menunjukkan adanya perbedaan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4 dengan kombinasi salinitas dan pH yang berbeda (Gambar 2).

Kondisi optimum pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4 pada Tabel 4. (salinitas 30 dan pH 8) sedikit berbeda dengan hasil analisis regresi polinomial kuadratik (kombinasi salinitas 30,96‰ dan pH 8,13), data yang diperoleh bersifat diskrit yang diartikan bahwa penentuan kondisi optimum hanya dengan membandingkan nilai tertinggi, tanpa melihat pola perubahan peningkatan maupun penurunan data hasil dari masing-masing kombinasi perlakuan. Analisis dengan persamaan regresi polinomial kuadratik, data yang dihasilkan bersifat sebagai sesuatu yang kontinyu, sehingga pola perubahan data hasil dari masing-masing kombinasi perlakuan diperhitungkan dalam

penentuan kondisi yang optimum. Berkenaan dengan hal tersebut, penentuan kondisi optimum pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4 didasarkan atas hasil dari persamaan regresi, karena lebih mewakili kondisi yang sebenarnya.



Gambar 2. Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4 pada metode respon permukaan : a) Grafik respon permukaan pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4, b) Counter plot pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4

Validasi Model

Validasi model penting dilakukan dalam sebuah permodelan, hal itu dikarenakan sebuah model dapat diterima bila model tersebut telah berhasil melewati uji validasi (Harahap *et al.*, 2012). Perbandingan bobot biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 aktual, dan bobot biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 model dapat dilihat pada Tabel 4.

Berdasarkan dari hasil analisa yang dilakukan, maka diperoleh nilai t-test sebesar 0,5 dengan nilai $P > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa, tidak ada perbedaan yang nyata antara bobot biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 secara aktual dengan bobot biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 yang dihasilkan dari persamaan model optimum pada volume kultivasi 1 l. Validasi model juga dilakukan dengan cara kultivasi volume produksi kultur *Nannochloropsis* sp. K-4 25 l. Berdasarkan proses kultivasi yang dilakukan, diperoleh bobot biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 secara aktual sebesar $9,67 \pm 0,94$ g dan bobot biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 ini tidak berbeda nyata dengan respon bobot biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 pada model pada volume kultivasi 25 l yaitu sebesar 10,25 g.

Berdasarkan adanya perbedaan yang tidak nyata antara estimasi model dengan hasil bobot biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 secara aktual, maka dapat disimpulkan bahwa, model yang digunakan untuk mengestimasi produksi biomassa pada pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4 dapat diterapkan pada kondisi nyata.

Tabel 4. Perbandingan bobot biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 aktual, dan bobot biomassa *Nannochloropsis* sp. K-4 model

Salinitas	pH	Respon Bobot Biomassa <i>Nannochloropsis</i> sp. K-4 (g/l)	
		Aktual	Model
25	7	0,17	0,18
25	9	0,23	0,21
35	7	0,22	0,23
35	9	0,31	0,28
22,8	8	0,20	0,21
37,07	8	0,28	0,29
30	9,4	0,22	0,24
30	6,5	0,16	0,15
30	8	0,38	0,40
30	8	0,36	0,40
30	8	0,48	0,40
30	8	0,40	0,40

Analisis Proksimat *Nannochloropsis* sp. K-4

Pada penelitian ini analisis proksimat *Nannochloropsis* sp. K-4 dilakukan pada biomassa kering. Hasil analisis proksimat *Nannochloropsis* sp. K-4 dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil analisis proksimat *Nannochloropsis* sp. K-4

Komposisi	Kandungan (%)
Air	2,63±0,03
Abu	6,97±0,42
Lemak	33,66±0,32
Protein	35,55±1,59
Karbohidrat	21,19±1,03

Keterangan : analisis proksimat dilakukan sebanyak 2 kali ulangan (± : standar deviasi)

Kultur *Nannochloropsis* sp. K-4 di kultivasi dengan menggunakan salinitas 30,96‰ dan pH 8,13 memiliki kandungan lemak, protein, dan karbohidrat berturut-turut 33,66%, 35,55%, dan 21,19%. Kandungan nutrisi yang dihasilkan terlihat lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian terdahulu. Hu dan Gao, (2006) melaporkan bahwa *Nannochloropsis* sp. yang dikultivasi pada salinitas 31 g/l dan pH 8,4 memiliki kandungan protein 57%, kandungan lemak 11%, dan karbohidrat 5%. Loberto, (2012) melaporkan bahwa *Nannochloropsis* sp. yang dikultivasi pada salinitas 30 dan pH 5-6 memiliki kandungan protein sebesar 39,07%, kandungan lemak sebesar 12,44% dan kandungan karbohidrat sebesar 40,30%. Tingginya kandungan lemak pada *Nannochloropsis* sp. K-4 diduga karena salinitas yang digunakan berperan optimal pada peningkatan kandungan lemak biomassa. Sesuai dengan pernyataan Hu dan Gao, (2006) dan Yudiati *et al.*, (2010) bahwa kenaikan kandungan lemak seiring dengan peningkatan

salinitas. Pada salinitas tinggi nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhan tidak dipergunakan dengan optimum. Oleh karenanya *Nannochloropsis* sp. K-4 dapat beradaptasi dengan baik dengan melakukan proses osmosis sehingga tidak banyak mengeluarkan energi, namun energi tersebut tersimpan dalam bentuk lemak.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Hasil optimasi salinitas dan pH awal terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4 dianalisis dengan menggunakan regresi polinomial memperoleh pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. K-4 yang optimal sebesar 0,41 g/l dengan salinitas sebesar 30,96‰ dan pH sebesar 8,13 dengan koefisien determinasi (r^2) = 0,9119.
2. *Nannochloropsis* sp. K-4 memiliki potensi kandungan protein dan lemak yang tinggi, yaitu 35,55% dan 33,66 %.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemanfaatan kandungan protein dan lemak pada *Nannochloropsis* sp. K-4

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, R.A. 2005. Algal Culturing Techniques. Elsevier Academic Press. America
- Chini, Z.G., Lavista, F., Bastianini, A., Rodolfi, L., Vincenzini, M., Tredici M.R. 1999 Production Of Eicosapentaenoic Acid by *Nannochloropsis* sp. Cultures In Outdoor Tubular Photobioreactors. J Biotech 70:299–312
- Cotteau, P. 1996. Microalgae: Manual On Production and Use Of Live Food For Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. Roma: Sorgeloos Edition.
- Harahap, Y., Suryadi, H., Wardatun, S. 2012. Optimasi Dan Validasi Metode Analisis Asam Nikotinat Serta Stabilitas Inositol Heksanikotinat. Fakultas Farmasi Universitas Indonesia. Jakarta
- Hu, H., Gao, K. 2006. Optimization Of Growth And Fatty Acid Composition Of A Unicellular Marine Picoplankton, *Nannochloropsis* sp. With Enriched Carbon Sources. Biotechnology Letters. 25(5):421-425.
- Isnanstyo, A., Kurniastuti. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Kansius. Jogjakarta.
- James, C.M., Al-Hinty, S., Salman, A. 1989. Growth And Fatty Acid And Amino Acid Composition Of Microalgae Under Different Temperature Regimes. Aquaculture 77:337–351
- Kawaroe, M., Prariono, T., Sunuddin, A., Sari D.W., Augustine, D. 2010. Mikroalga : Potensi Dan Pemanfaatannya Untuk Produksi Bio Bahan Bakar. IPB Press. Bogor.

- Kurniawan, H., Lukman, G. 1999. Aspek Industri Sistem Kultivasi Sel Mikroalga Imobil. *Jurnal Tinjauan Ilmiah Riset Biologi dan Bioteknologi Pertanian*. 2 (2): 1-8
- Loberto, P.M. 2012. Optimasi Konsentrasi Nitrat dan Phospat Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. [Skripsi] : tidak dipublikasikan. Universitas Udayana. Bali
- Montgomery, D.C. 1991. Design and Analysis of Experiments. New York : John Willey & Sons.
- Pal, D., Goldberg, I., Cohen, Z., Boussiba, S. 2011. The Effect Of Light, Salinity, And Nitrogen Availability On Lipid Production by *Nannochloropsis* sp. *Appl Microbiol Biotechnol* 90: 1429–1441
- Rudiyanti, S. 2011. Pertumbuhan *Skeletonema costatum* Pada Berbagai Tingkat Salinitas Media. *Jurnal Saintek Perikanan* Vol. 6, No. 2 : 69 -76
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A. 2006. Optimization Of *Nannochloropsis oculata* Growth Using The Response Surface Method. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 81: 1049–1056
- Sudjana. 1989. Desain dan Analisis Eksperimen. Tarsito. Bandung.
- Vasquez-Duhalt, R., Arredondo-Vega B.Q. 1991. Oil Production From Microalgae Under Saline Stress. *Biomassa For Energy and Industry 5 th E.C. Conference*, vol 1: Policy, Environment, Production and Harvesting, 1:547-551.
- Yudiati, E., Widianingsih, Hartati, R., Endarwati, H., Fahmi, R. 2010. Pengaruh Salinitas Terhadap Kandungan Total Lipid Mikroalga *Nannochloropsis* sp. *Prosiding Seminar Nasional : Biodiversitas dan Bioteknologi Sumberdaya Aquatik* hal 541-545.
- Wang, X.L., Liu, C.L., Zang, X.C. 2002. Effect Of pH On The Growth, Total Lipid Content And Fatty Acid Composition Of The Marine Microalga *Nannochloropsis oculata*. *Marine Science* 05: 23-31