

REVIEW SINTESIS RNA *PERIDININ CHLOROPHYLL PROTEIN* (PCP)

PADA MIKROALGA LAUT *Nannochloropsis oculata* DENGAN SISTEM

KULTUR IN VIVO

ARTIKEL SKRIPSI

PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

Oleh:

NICO RAHMAN CAESAR

NIM. 125080101111030



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

REVIEW SINTESIS RNA *PERIDININ CHLOROPHYLL PROTEIN* (PCP)

PADA MIKROALGA LAUT *Nannochloropsis oculata* DENGAN SISTEM

KULTUR IN VIVO

ARTIKEL SKRIPSI

PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan

di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Universitas Brawijaya

Oleh:

NICO RAHMAN CAESAR

NIM. 125080101111030



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016



ARTIKEL SKRIPSI

REVIEW SINTESIS RNA PERIDININ CHLOROPHYLL PROTEIN (PCP)
PADA MIKROALGA LAUT *Nannochloropsis oculata* DENGAN SISTEM
KULTUR IN VIVO

PROGRAM STUDI SUMBER DAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal : 04 Agustus 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Oleh :

NICO RAHMAN CAESAR
NIM. 1250801011111030

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II



(Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si)
NIP. 19730404 200212 2 001



Dr. Agus Maizar S.H., S.Pi., MP
NIP. 19720529 200312 2 001

Tanggal :

16 AUG 2016

Tanggal :

16 AUG 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



(Dr. H. Armita Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19620804 198603 2 001
Tanggal : 16 AUG 2016

SINTESIS RNA PERIDININ CHLOROPHYLL PROTEIN (PCP) PADA MIKROALGA LAUT *Nannochloropsis oculata* DENGAN SISTEM KULTUR IN VIVO

SYNTHESIS OF RNA PERIDININ CHLOROPHYLL PROTEIN (PCP) ON MARINE MICROALGAE *Nannochloropsis oculata* WITH IN VIVO CULTURE SYSTEM

Nico Rahman Caesar¹, Uun Yanuhar², Asus Maizar S.H²

Program Studi Manajemen Sumber Daya Perairan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Pemanfaatan mikroalga jenis *N. oculata* yang masih rendah dikalangan masyarakat memerlukan upaya eksplorasi agar *N. oculata* bisa digunakan secara optimal. *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) yang terdapat pada *N. oculata* dapat digunakan sebagai zat antioksidan yang bisa diaplikasikan pada organisme budidaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui proses dan cara pembuatan sintesis cDNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) pada *N. oculata*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret - Juni 2016 menggunakan metode deskriptif eksploratif. Sintesis protein didapatkan dengan menggunakan teknik **Reverse Transcription** PCR serta didukung dengan pengukuran kualitas air yang dilakukan pada kultur in vivo *N. oculata*. Hasil pengukuran kualitas air pada kultur skala laboratorium menunjukkan nilai suhu yaitu 22 °C, pH yaitu 8, dan salinitas yaitu 33 ppt sedangkan pada kultur skala intermediet menunjukkan nilai suhu sebesar 26-29°C, pH 8-8,5 dan salinitas 34-35 ppt. Hasil kepadatan tertinggi *N. Oculata* dari masing-masing kultur toples, carboy dan intermediate yaitu 728 x 10⁴ sel/ml, x 10⁴ sel/ml dan 260 x 10⁴ sel/ml. Berdasarkan hasil pengukuran total RNA hasil isolasi diperoleh hasil 23,6 µg/ml. Pengukuran menunjukkan hasil yang baik, hal ini dikarenakan adanya penggunaan kit. Hasil sintesis cDNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) melalui visualisasi gel elektroforesis menunjukkan hasil fragmen DNA sepanjang 310 bp. Berdasarkan hal tersebut maka diketahui bahwa sintesis RNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) pada *N. oculata* menggunakan teknik RT-PCR berhasil dilakukan yang ditunjukkan dengan panjang pita DNA sebesar 310 bp.

Kata Kunci : *N. Oculata*, PCP, RT-PCR, sintesis cDNA

ABSTRAK

Utilization of microalgae *N. oculata* still low among people so require exploration efforts to make *N. oculata* can be used optimally. *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) contained in *N. oculata* can be used as antioxidants which can be applied in cultivation of the aquatic organism. This study aims to determine the process and way of making cDNA synthesis *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) on *N. oculata*. The research was conducted in March - June 2016 using exploratory descriptive method. Protein synthesis can be obtained using *Reverse Transcription* PCR technic and supported by water quality measurements were performed on culture in vivo *N. oculata*. Water quality measurements result in culture laboratory scale showed temperature value is 22 °C, pH is 8, and salinity is 33 ppt, while the intermediate scale culture showed temperature value ranged from 26-29 °C, pH ranged from 8 - 8.5 and salinity ranged from 34-35 ppt. The highest density result of each *N. Oculata* culture in topless, carboy and intermediate is 728 x 10⁴ cells/ml, x 10⁴ cells/ml and 260 x 10⁴ cells/ml. The measurement of total RNA Isolated on *N. Oculata* results value of 23.6 ug/ml. total RNA Isolated showed good results cause support by kit use. Synthesis of cDNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) through the visualization of electrophoresis gel showed DNA fragment along 310 bp. Under these conditions, it is known that synthesis of RNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) on *N. oculata* using RT-PCR technique successfully done that shown DNA ribbon length 310 bp.

Keywords: *N. Oculata*, PCP, RT-PCR, cDNA synthesis

¹ Mahasiswa Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan

² Dosen Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroalga adalah tumbuhan air yang memiliki ukuran mikroskopik, mempunyai berbagai potensi yang dapat dikembangkan sebagai sumber pakan, pangan, dan telah dimanfaatkan untuk berbagai macam keperluan mulai dari bidang perikanan sebagai pakan larva ikan, organisme penyaring, industri farmasi, dan makanan suplemen dengan kandungan protein, karbohidrat, lipid, serta berbagai macam mineral (Cresswell *et al.*, 1989).

N. oculata termasuk mikroalga bersel tunggal yang mempunyai berbagai macam pigmen yang berpotensi sebagai antivirus dan antibakteri, seperti chlorophyll a, β -karoten, violaxanthin, dan vaucheroxanthin (Cohen, 1999; Cao *et al.*, 2013). Peridinin chlorophyll protein (PCP) merupakan pigmen yang berfungsi sebagai pemanen cahaya dalam proses fotosintesis. Pada organisme eukariotik, peridinin mempunyai peran yang sangat penting pada saat proses fotosintesis dan terlibat pada proses transfer energi. Peran peridinin yang sangat penting yaitu sebagai zat antioksidan yang melindungi sel dari dampak bahaya radikal bebas.

Mengingat banyaknya manfaat dari *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) ini, perlu dilakukannya eksplorasi melalui sintesis dari *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) dari mikroalga laut *Nannochloropsis oculata* melalui teknik RT PCR. Hal ini dikarenakan PCP itu sendiri berbentuk RNA di dalam sel mikroalga. Pada teknik RT PCR, RNA tidak dapat digunakan sebagai cetakan, sehingga perlu dilakukan proses transkripsi balik

terhadap molekul mRNA agar diperoleh molekul cDNA (complementary DNA).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui proses dan cara pembuatan sintesis cDNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) pada *N. oculata* dengan teknik RT PCR

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini sebagai landasan penelitian lanjutan untuk mengeksplorasi potensi *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) pada *N. oculata* dan sebagai referensi untuk penelitian lebih lanjut

1.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Juni 2016 di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Laboratorium Genetik dan Biomolekul Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang, Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya, dan Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo.

2. MATERI DAN METODE

2.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah sintesis RNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) mikroalga laut *N. oculata*. Sebagai data pendukung dalam penelitian ini juga dilakukan pengamatan kepadatan sel dan pengamatan parameter kualitas air kultur *N. oculata*.

2.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dan eksploratif. Pengambilan data yang

dilakukan adalah data primer dan data sekunder.

2.2.1 Kultur *Nannochloropsis oculata*

Kultur *N. oculata* meliputi kultur laboratorium dan intermediate yang dilakukan di Laboratorium Pakan Alami, BPBAP Situbondo. Kultur dimulai pada skala toples 5 liter dan carboy 10 liter, kemudian skala bak fiber 500 liter. Media yang digunakan berupa air laut yang sudah steril dan penambahan pupuk Walne sebagai asupan nutrisi bagi *N. oculata*. Peralatan yang digunakan pada proses kultur ini harus steril, hal ini bertujuan untuk menghindari kontaminan yang dapat mengganggu pertumbuhan mikroalga selama proses kultur berlangsung. Selama proses kultur juga dilakukan pengukuran parameter kualitas air meliputi suhu, pH, dan salinitas.

2.2.2 Isolasi RNA *Peridinin Chlorophyll Protein (PCP)*

Hasil panen dari proses kultur kemudian di saring dan diambil endapannya. Endapan *N. oculata* selanjutnya di haluskan menggunakan mortar dan alu serta pemberian nitrogen cair untuk menghancurkan dinding sel dari mikroalga. Jumlah yang digunakan untuk proses isolasi RNA adalah sebesar 1 gram. Isolasi RNA dilakukan dengan menggunakan *Total RNA mini kit (Plant) GeneAid*. Tahapan isolasi RNA sesuai dengan prosedur yang terdapat di dalam kit, meliputi pemecahan sel, pengikatan RNA, pencucian dan pemurnian RNA.

2.2.3 Reverse Transcription PCR (RT-PCR)

Total RNA yang diperoleh dari isolasi selanjutnya ditranskripsi balik menjadi cDNA (komplemen DNA). Metode yang

digunakan dalam proses ini adalah Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). cDNA tersebut kemudian mengalami proses amplifikasi.

Komposisi RNA mix yang digunakan pada proses sintesis RNA adalah 5 µl oligo(dt) dan 50 µl sampel isolasi RNA. Tahap selanjutnya adalah pembuatan cDNA sintesis mix dengan komposisi 10 µl dNTP 10 mM, 20 µl buffer first strand, dan 10 µl DTT 0.1 M. Selanjutnya dilakukan pencampuran dengan RNA mix sebagai sampel cDNA yang digunakan sebagai cetakan dalam proses RT PCR.

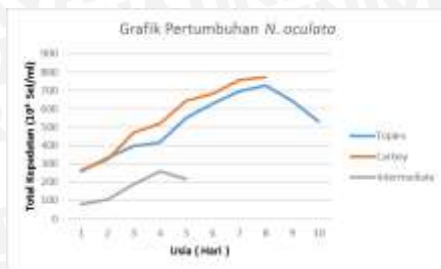
Primer yang digunakan dalam proses RT PCR ini adalah, Initiated primer (5'-GCATGAAGCCACTTCGAAAC-3'), RNA adapter primer (5'-CTCGTTGCTGGCTTTGATG - 3'), dan Nested primer (5'-TAACGCTGGGATGCTTTGAC-3').

Prosedur amplifikasi PCR dilakukan sesuai dengan Maxime PCR PreMix Kit, dimana dilakukan running sampel dengan menggunakan primer Initiated dan primer RNA adapter terlebih dahulu sebanyak 40 siklus. Kemudian setelah proses running pertama selesai, dilakukan running Nested PCR dengan menggunakan primer Nested sebanyak 40 siklus.

Untuk melihat hasil RT – PCR dapat dilakukan dengan cara Elektroforesis dilakukan dengan menggunakan media gel agarosa 1,5%. Elektroforesis dilakukan dengan tegangan 65 Volt selama kurang lebih 50 menit. Setelah *running* elektroforesis selesai, gel agarosa kemudian direndam dalam etilium bromida (EtBr) selama 10 menit untuk mewarnai gel. Gel kemudian divisualisasi dengan menggunakan alat UV transiluminator.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Perhitungan Kepadatan *N. oculata*



Gambar 1. Grafik Pertumbuhan *N. oculata*

Berdasarkan gambar 1. di atas, pertumbuhan *N. oculata* skala toples 5 liter dan carboy 10 liter serta pada skala intermediate 500 liter mengalami fase lag pada hari ke 1 dan 2. Pada hari ke 3 sampai 7 memasuki fase ekponensial, dengan puncaknya pada hari ke 7 dengan jumlah kepadatan 696×10^4 sel/ml untuk skala toples 5 liter dan 756×10^4 sel/ml untuk skala carboy 10 liter. Sementara pada skala intermediate 500 liter mengalami fase eksponensial pada hari ke 2 – 4 dengan puncak pertumbuhan terjadi pada hari ke 4 dengan jumlah kepadatan 260×10^4 sel/ml. Hal ini juga didukung oleh pernyataan Anggraeni (2009), menyatakan bahwa Selama fase eksponensial sel *N. oculata* membelah dengan cepat, selain itu sel-sel berada dalam keadaan stabil dengan jumlah sel yang bertambah dengan kecepatan konstan, bahan sel baru terbentuk dengan laju tetap akan tetapi bahan-bahan tersebut bersifat katalitik massa bertambah secara eksponensial.

Selanjutnya pada hari ke 8 memasuki fase stasioner untuk kultur skala toples 5 liter dan carboy 10 liter, sedangkan skala intermediate mengalami fase stasioner dan hari ke 5. Hal ini ditunjukkan dengan

penurunan laju pertumbuhan. Penurunan ini dapat disebabkan oleh persaingan dalam memperoleh nutrisi yang ketersediaannya sudah mulai menurun pada media kultur. Menurut Wibowo (2011), mengatakan bahwa saat nutrisi berkurang akan terjadi akumulasi dari beberapa produk metabolisme yang bertindak sebagai inhibitor.

3.2 Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air meliputi suhu, pH dan salinitas. Hasil pengukuran kualitas air tersaji pada table 1 di bawah ini.

	Parameter Kualitas Air		
	Suhu	pH	Salinitas
Toples 5 liter	22 °C	8	33
Carboy 10 liter	22 °C	8	33
Intermediate 500 liter	24 °C	8,5	34

Berdasarkan pengukuran parameter kualitas air di atas meliputi suhu, pH, dan salinitas masih tergolong masih baik untuk menunjang pertumbuhan *N. oculata*. Menurut Schenk *et al*, (2008), mikroalga dapat tumbuh optimal pada suhu 20-30°C. Suhu tinggi membuat mikroalga cenderung untuk mempertahankan kelangsungan hidup daripada dengan memperbanyak sel. Nilai pH yang optimal bagi pertumbuhan *N. oculata* berkisar antara 8 – 8.5 (Tjahjo, 2002). Menurut Fulks dan Main (1991), kisaran salinitas yang optimum alga adalah 25 ppt- 35 ppt.

3.3 Isolasi RNA

Isolasi RNA merupakan teknik untuk memperoleh RNA yang diharapkan bebas dari kontaminan. Pada penelitian ini isolasi RNA

dilakukan untuk menghasilkan RNA murni dari *N. oculata*. Isolasi RNA *Peridinin Chlorophyll Protein*(PCP)dilakukan menggunakan *RNA mini kit PlantGeneAid*. Berdasarkan RNA kit di atas, ada 3 tahapan isolasi yaitu pemecahan dinding sel (*lysis*), pengikatan RNA, pencucian RNA dan pemurnian RNA.

Tahapan awal dari proses isolasi RNA berdasarkan kit di atas adalah pemecahan dinding sel dan pengikatan RNA penambahan lysis buffer (RB buffer) dan β -mercaptoethanol kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 5 menit. *lysis buffer* memiliki kandungan zat guanidine tiosianat yang berperan sebagai garam, dimana garam ini dapat memecahkan sampel sekaligus menonaktifkan RNase (Fermentas, 2011). Selanjutnya adalah dengan penambahan *wash buffer* ke dalam RB kolom, penambahan ini berfungsi agar dapat menghilangkan sisa kotoran protein yang masih terikat pada RNA. Kemudian tahap pencucian, dengan penambahan *RNAse*-bebas yang berfungsi untuk mengelusi RNA sehingga didapat hasil isolate murni RNA. Untuk membersihkan zat kontaminan yang masih tersisa pada membran kolom dibersihkan dengan serangkaian pencucian dan sentrifugasi menggunakan larutan wash buffer. Molekul RNA kemudian dielusi dengan menggunakan nuclease-free water (Fermentas, 2011).

3.4 Kandungan RNA Total

Total RNA hasil isolasi diukur kemurnian dan konsentrasinya menggunakan NanoPhotometer™ [Implen] pada panjang gelombang 260, 280 dan 320 nm. Kemurnian RNA diukur pada nisbah A260/A280 karena protein diserap pada panjang gelombang 280 nm (Aranda et al. 2009).

Berdasarkan hasil pengukuran total RNA hasil isolasi diperoleh hasil 23,6 $\mu\text{g/ml}$. Ekstraksi RNA dengan kit komersialmengandalkan kerja membran silika untuk mengikat RNA total tanaman dan kemudian mencuci inhibitor-inhibitor melalui membran tersebut sehingga dihasilkan RNA dengan kemurnian yang tinggi (Adiputra *et al.*, 2012).

3.5 Reverse Transcription PCR (RT – PCR)

Reverse Transcription PCR (RT – PCR) memiliki 2 tahapan, yaitu sintesis dan amplifikasi *complementary* DNA (cDNA) dengan PCR. Hal ini dilakukan karena isolat RNA tidak bisa digunakan langsung sebagai cetakan dalam proses PCR, sehingga RNA harus ditranskripsikan balik menjadi komplemen cDNA. Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dapat digunakan untuk mengamplifikasi DNA atau RNA. Untuk mengamplifikasi RNA, sebelum proses PCR, molekul mRNA harus dilakukan proses reverse transcriptase sehingga diperoleh molekul *complementary* DNA (cDNA). Molekul cDNA tersebut yang digunakan sebagai cetakan dalam proses PCR. Proses PCR yang digunakan untuk mengamplifikasi RNA disebut dengan *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) (Hewajuli dan Dharmayanti, 2014).

Komplemen DNA yang terbentuk dari proses reverse transcription selanjutnya akan diamplifikasi menggunakan teknik PCR. cDNA digunakan sebagai cetakan dan akan dilipatgandakan. Proses PCR ini diawali dengan tahap denaturasi awal pada suhu 94°C selama 2 menit dan denaturasi akhir pada suhu 94°C selama 20 detik. Pada tahap ini, molekul

cDNA akan dipanaskan pada suhu 94°C sehingga terjadi pemisahan untai ganda cDNA menjadi untai tunggal. Untai tunggal inilah yang akan menjadi cetakan untuk DNA baru yang akan dibuat. Sambrook dan Russell (2001) menyatakan bahwa suhu denaturasi dapat mempengaruhi proses penempelan primer, denaturasi dapat dilakukan pada kisaran suhu 94-95°C.

Setelah denaturasi selesai tahap selanjutnya yaitu tahapan annealing atau penempelan. Tahap ini merupakan tahap dimana primer menempel pada sekuen target. Suhu annealing yang digunakan biasanya disesuaikan dengan nilai Temperature melting (T_m) dari primer yang digunakan. Menurut Sambrook dan Russel (2001), Suhu annealing yang terlalu rendah dapat menyebabkan primer menjadi berlekatan, sementara jika suhu terlalu tinggi penempelan primer pada cetakan menjadi kurang optimal. Pada tahap *annealing* ini waktu yang biasa digunakan berkisar antara 30-60 detik.

Tahap terakhir yaitu *extention*, pada tahap ini terjadi pemanjangan untai DNA. Enzim DNA polymerase akan memanjangkan sekaligus membentuk DNA baru dari gabungan antara cetakan, primer dan nukleotida. Tahap pemanjangan ini dilakukan pada suhu 72°C selama 1 menit, kemudian dilanjutkan dengan pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 3 menit.

RT PCR dilakukan dengan menggunakan primer yang spesifik didesain untuk gen *Peridinin Chlorophyll Protein (PCP)* dari *N. oculata*, dimana perancangan primer dilakukan dengan merujuk pada data cDNA dari gen *Peridinin Chlorophyll Protein (PCP)* yang terdapat pada database GenBank dengan panjang pita 310 bp. Oleh karena itu primer

yang digunakan adalah spesifik untuk *Peridinin Chlorophyll Protein (PCP)* dari *N. oculata* maka identifikasi dilakukan cukup dengan melihat panjang fragmen RNA. Dari hasil visualisasi elektroforesis menggunakan UV Transluminator terlihat fragmen RNA sepanjang 310 bp (Gambar 13), sesuai dengan panjang gen *Peridinin Chlorophyll Protein (PCP)* yang dijadikan referensi (GenBank). Menurut Grunenwald (2003), menyatakan bahwa keberhasilan proses amplifikasi dalam RT PCR ditentukan oleh kesesuaian primer yang digunakan serta optimasi dan efisiensi dalam proses RT PCR.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa sintesis RNA *Peridinin Chlorophyll Protein (PCP)* pada *N. oculata* berhasil dilakukan dengan menggunakan teknik *Reverse Transcription PCR (RT – PCR)*. Hasil visualisasi gel elektroforesis menggunakan UV Transluminator menunjukkan bahwa cDNA yang berhasil disintesis memiliki panjang pita sebesar 310 bp.

4.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai kualitas dari sintesis RNA *Peridinin Chlorophyll Protein (PCP)* dan mengenai sequencing dan cloning cDNA *Peridinin Chlorophyll Protein (PCP)* *N. oculata* sehingga selanjutnya dapat dilakukan produksi *Peridinin Chlorophyll Protein (PCP)* sebagai imunostimulan yang dapat digunakan sebagai salah satu solusi pencegahan terhadap serangan penyakit pada ikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu dan bapak serta keluarga dan teman-teman. Terima Kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Terima kasih juga kepada Dr. Uun Yanuher S.Pi., M.Si dan Dr. Agus Maizar S.H., S.Pi., MP selaku dosen pembimbing yang telah berperan dalam penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Adiputra, J., Hidayat, S.H. dan Damayanti, T.A. 2012. Evaluasi Tiga Metode Preparasi RNA Total untuk Deteksi *Turnip mosaic potyvirus* dari Benih *Brassica rapa* dengan *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 8(2) : 44 – 49.
- Anggraeni, N. 2009. Penentuan Parameter Pertumbuhan *Chlorella vulgaris*. Disertasi. Fakultas Teknik. ITB.
- Cao, S., Zhang, X., Fan, X., Qiao, H., Liang, C., Xu, D., Mou, S., Wang, W. & Ye, N. 2013. Phylogeny and characterization of *Nannochloropsis oceanica* var. *sinensis* var. nov (Eustigmatophyceae), a new oleaginous alga from China. *Phycologia* 52(6): 573-577.
- Cresswell, R.C., Rees, T dan Shak, N. 1989. *Algae and Cyanobacterial Biotechnology*. McGraw Hill : London.
- Fermentas. 2011. GeneJet RNA purification kit. Fermentas Inc. New York : 17 hlm.
- Fulks, W. And K.L. Main. (Eds). 1991. *The Design An Operation Of Commercial Scale Live Feed Production Systems In Rotifer And Microalgae System*. The ceanic Institute Makapuu Point. Honolulu Hawai. P. 3-52.
- Grunenwald, H. 2003. Optimization of Polymerase Chain Reactions. Dalam Bartlett & Stirling (Eds.), *Method in Molecular Biology: PCR Protocols* Second Edition (hlm. 89 - 99). Humana Press.
- Hewajuli, D.A., Dharmayanti NLPi. 2014. Perkembangan Teknologi *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* dalam Mengidentifikasi Genom *Avian Influenza* dan *Newcastle Diseases*. *WARTAZOA* Vol. 24(1) : 16-29.
- Sambrook J, Russell DW. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd edition. New York: Laboratory Pr.
- Shcenk, P. M., R. Skye, R. Thomas Hall, E. Stephens, U. C. Marx, J. H. Mussnug, C. Posten, O. Kruse, and Ben Hankamer. 2008. Second Generation Biofuel : High Efficiency Microalgae for Biodesel Production. *Bioenerg*. 1 :20-43.
- Tjahjo, W. L. Erawati dan Hanung, S. 2002. *Biologi Fitoplankton dalam Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Balai Budidaya Laut, Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan. Bandar Lampung.
- Wibowo, M.S. 2011. "Pertumbuhan Mikroorganisme" Karya ilmiah. School of pharmacy ITB.