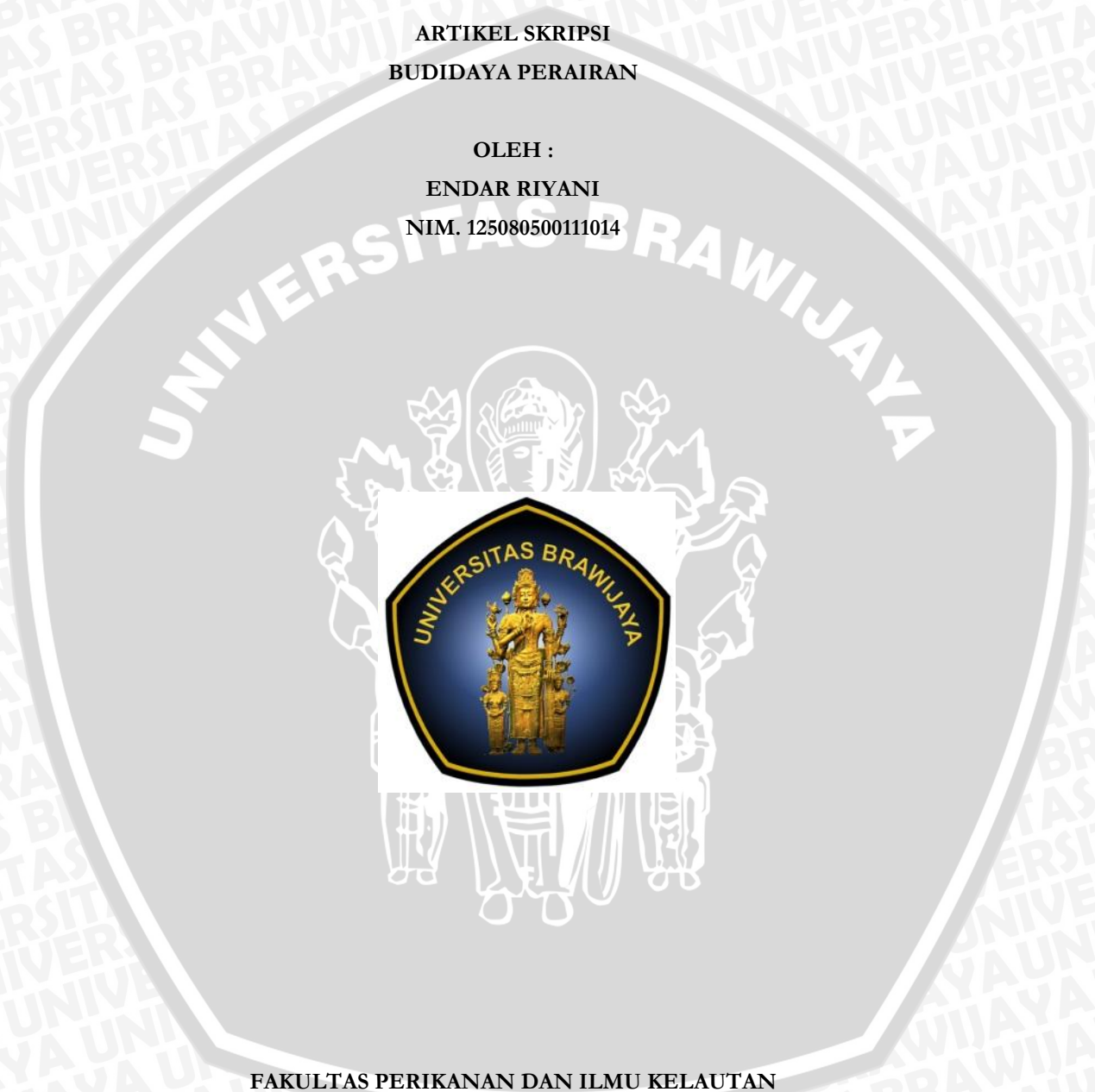


**PENGARUH FOTOPERIODE YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN,
PRODUKSI BIOMASSA, DAN KLOOROFIL a *Chlorella vulgaris***

**ARTIKEL SKRIPSI
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH :
ENDAR RIYANI
NIM. 125080500111014**



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

ARTIKEL SKRIPSI

PENGARUH FOTOPERIODE YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN,
PRODUKSI BIOMASSA, DAN KLOOROFIL *a Chlorella vulgaris*

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

OLEH :

ENDAR RIYANI

NIM. 125080500111014

Menyetujui,

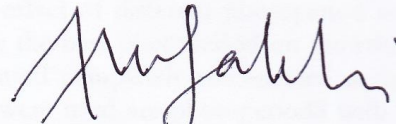
Dosen Pembimbing I



(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19622825/198603 2 001

Tanggal: 10 AUG 2016

Dosen Pembimbing II



(M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc)
NIP. 19860717 201504 1 001

Tanggal: 10 AUG 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19622825 198603 2 001

Tanggal: 10 AUG 2016

PENGARUH FOTOPERIODE YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN,**PROUKSI BIOMASSA, DAN KLOOROFIL a *Chlorella vulgaris*****Endar Riyani¹, Arning Wilujeng Ekawati², Muhammad Fakhri²****Abstrak**

Tujuan penelitian ini adalah untuk menjelaskan pengaruh fotoperiode yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a dan untuk menentukan fotoperiode yang terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a *C. vulgaris*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu fotoperiode dengan siklus terang:gelap 24:0, 18:6, 12:12, dan 6:18 jam/hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fotoperiode yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a *C. vulgaris*. Fotoperiode terbaik yaitu dengan siklus terang:gelap 24:0 jam/hari dengan laju pertumbuhan spesifik 0,79 hari⁻¹, biomassa sebesar 0,81 gram/liter, dan klorofil a sebesar 19,20 µg/mL. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fotoperiode dengan siklus terang:gelap 24:0 jam/hari meningkatkan pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a *C. vulgaris*.

Kata kunci: *Chlorella vulgaris*, fotoperiode, pertumbuhan, biomassa, klorofil a

¹ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

² Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

EFFECT OF DIFFERENT PHOTOPERIODS ON GROWTH, BIOMASS, AND**CHLOROPHYLL a PRODUCTION OF *Chlorella vulgaris*****Endar Riyani¹, Arning Wilujeng Ekawati², Muhammad Fakhri²****Abstract**

The purpose of this research was to explain the effect of different photoperiod on growth, biomass, and chlorophyll a production and to determine the best photoperiod on growth, biomass, and chlorophyll a production *C. vulgaris*. This research used completely randomized design (CRD) with 5 treatments and 3 replications. The treatments were used are photoperiods with light:dark cycle of 24:0, 18:6, 12:12 and 6:18 hours/day was investigated. The results showed that different photoperiod were significantly effect the growth, biomass and chlorophyll a production of *C. vulgaris*. In this research, the best photoperiod was in the light:dark cycle 24:0 hours/day with specific growth rate of 0,79 day⁻¹, the biomass of 0.81 gL⁻¹ and chlorophyll a of 19,20 µgmL⁻¹. The authors concluded that increasing light:dark photoperiod 24:0 hours/day resulted in increasing growth, biomass and chlorophyll a production of *C. vulgaris*.

Key word : *Chlorella vulgaris*, photoperiod, growth, biomass, chlorophyll a

¹ Student of Fisheries and Marine Science Faculty, University of Brawijaya

² Lecturer of Fisheries and Marine Science Faculty, University of Brawijaya

1. PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan mikroba fotoautotrof yang memiliki diversitas yang sangat besar dan kisaran hidup yang luas (Susilaningsih *et al.*, 2014). Mikroalga banyak digunakan dalam berbagai bidang pakan, pangan, dan bahan kimia. Mikroalga adalah salah satu organisme akuatik yang penting dalam rantai makanan, dalam akuakultur mikroalga dimanfaatkan sebagai sumber protein dan pakan (Richmond, 2004).

Kitaya *et al.* (2008), menjelaskan bahwa parameter lingkungan yang mempengaruhi tingkat pertumbuhan sel mikroalga diantaranya intensitas cahaya, penyinaran, suhu, dan komposisi nutrisi dalam sistem budidaya. Fotoperiode merupakan salah satu faktor penting dalam keberhasilan fotosintesis mikroalga (Widianingsih *et al.*, 2012). Richardson *et al.* (1983), melaporkan jika mikroalga yang dibudidayakan pada berbagai fotoperiode mengalami perubahan dalam komposisi kimia, kandungan pigmen dan aktivitas fotosintesisnya. Salah satu mikroalga yang pertumbuhannya dipengaruhi oleh fotoperiode yaitu *Chlorella vulgaris*.

C. vulgaris termasuk dalam mikroalga fotosintetik. Kemampuan untuk tumbuh dan bereproduksi *C. vulgaris* terjadi secara cepat selama proses fotosintesis (Becker, 2004). Efisiensi fotosintesis *C. vulgaris* mencapai 8% dan kandungan klorofilnya mencapai 28,9 g/kg berat biomassa (Dianursanti *et al.*, 2006). *C. vulgaris* menunjukkan laju pertumbuhan spesifik maksimum (1,26/hari), biomassa (2,73 g/L) dan kandungan lemak sebesar (23,5%) pada intensitas cahaya biru dengan fotoperiode gelap

terang 12:12 selama 8 hari kultur (Khoeyi *et al.*, 2012).

Variasi produktivitas dan tingkat pertumbuhan spesies alga bergantung pada fotoperiode dan spesies spesifiknya (John *et al.*, 2002). Keberhasilan produksi menjadi faktor utama dalam teknologi kultur mikroalga (Bouterfas *et al.*, 2006). Oleh sebab itu, penelitian pengaruh fotoperiode yang berbeda menjadi sangat penting untuk menghasilkan pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil a *C. vulgaris* yang terbaik.

Penelitian ini bertujuan untuk (1) menjelaskan pengaruh fotoperiode yang berbeda terhadap pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *C. vulgaris* dan (2) menentukan fotoperiode terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa, dan klorofil-a *C. vulgaris*.

2. MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Workshop, Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Laboratorium Hidrobiologi, dan Laboratorium Parasit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada Bulan Januari-April 2016.

2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu meliputi wadah kultur (toples kaca 2,5 L), aerator, selang, lampu TL, botol *sprayer*, pH meter, DO meter, termometer, *haemocytometer* 0,1 mm (BOECO, Hamburg, Germany), nampan, mikroskop (Olympus CX21, Jepang), bola hisap *D&N*, pipet volume 10 ml dan 1 ml *pyrex lwaki*, pipet tetes, elenmeyer 500 ml *pyrex*

lwaki, autoklaf GEA, mikropipet *Eppendorf Research Plus*, gelas ukur 100 ml, beaker glass pyrex 250 ml, *handtally counter*, gayung, *washing bottle*, *cover glass*, *cuwet*, *sentrifuge*, *oven RedLine RE53*, timbangan analitik *Radwag AS2201X*, bak besar, refraktometer (*Master Refractometer*, Jepang), kalkulator, lux meter *Sunche*, spektrofotometer *Spectroquant pharo 300*, bunsen, *sprayer*, botol film, *petridish* dan *vaccum pump's VE115 Value*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu inokulum *C. vulgaris* berasal dari air tawar, klorin, Na-Thiosulfat, alkohol 70%, *tissue*, kapas, kain saring, kertas saring, vitamin, pupuk walne, kertas saring GF/C (diameter 90 mm), *aquadest*, *metanol absolute*, benang kasur, kertas koran, kertas label, dan *aluminium foil*.

2.2 Media Penelitian

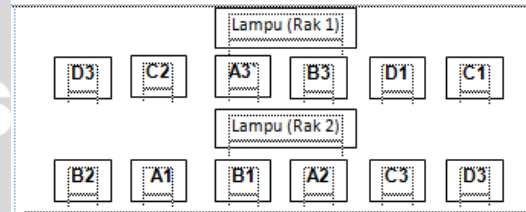
Media yang digunakan dalam penelitian ini yaitu air tawar. Air ditampung kemudian disterilisasi untuk selanjutnya digunakan sebagai media kultur pada toples kaca 2,5 L sebanyak 12 buah dan diaerasi untuk mensuplai kandungan oksigen terlarut. Nutrien yang ditambahkan dalam media kultur yaitu pupuk walne dan vitamin 1 ml L⁻¹ berasal dari Balai Perikanan Budidaya Air Payau, Situbondo.

2.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen. Hartanto (2003), menjelaskan bahwa dasar penelitian eksperimen adalah menguji hubungan satu sebab (*cause*) dan akibat (*effect*). Sistem yang digunakan dalam pengujian yaitu tertutup dengan kondisi terkontrol. Rancangan penelitian ini berguna untuk mendapatkan informasi yang relevan.

2.4 Rancangan Percobaan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Desain rancangan acak lengkap (Gambar 1) ini digunakan karena percobaan dilakukan di laboratorium dengan kondisi lingkungan yang dapat dikontrol (Nazir, 2003).



Gambar 1. Denah Percobaan Penelitian

Keterangan: (A-D) = Perlakuan, (1-3) = Ulangan

Perlakuan yang digunakan untuk fotoperiode dengan siklus terang : gelap yang berbeda dengan interval 6 jam yaitu terdiri dari empat perlakuan dengan tiga kali ulangan:

- A: fotoperiode 24:0 per hari
- B: fotoperiode 18:6 per hari
- C: fotoperiode 12:12 per hari
- D: fotoperiode 6 :18 per hari

2.5 Parameter Uji

2.5.1 Parameter Utama

a. Pertumbuhan *C. vulgaris*

Perhitungan kepadatan *C. vulgaris* dilakukan setiap hari dengan menggunakan metode penghitungan konsentrasi sel menggunakan *haemocytometer* 0,1 mm dan alat bantu mikroskop dengan menggunakan rumus perhitungan menurut Cresswell (2010), yaitu:

$$\text{Jumlah (sel/mL)} = \frac{n}{\text{jumlah bidang pandang}} \times 25 \times 10^4$$

Apabila kepadatannya tinggi maka menggunakan perhitungan yaitu sebagai berikut:

$$\text{Jumlah (sel/mL)} = \frac{n}{\text{jumlah bidang pandang}} \times 25 \times 10^4 \times \text{faktor pengenceran}$$

$$\text{Berat kering/biomassa (g/L)} = (B - A) \times 1,000/\text{Volume sampel}$$

- Laju Pertumbuhan Spesifik

Laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan menggunakan rumus Ak *et al.* (2011), yaitu:

$$\mu = \frac{\ln(x_2) - \ln(x_1)}{t_2 - t_1}$$

keterangan:

- μ : merupakan laju pertumbuhan per unit konsentrasi sel,
- x_1 dan x_2 : konsentrasi sel pada waktu ke-1 (t_1) dan waktu ke-2 (t_2), berturut-turut.

- Doubling Time

Doubling time ialah waktu pengandaan dari sel *C. vulgaris*. *Doubling Time* (hari) dihitung dari laju pertumbuhan dengan menggunakan rumus menurut Ak *et al.* (2011), sebagai berikut:

$$dt = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,693}{\mu}$$

b. Biomassa

Janssen *et al.* (1999), menjelaskan bahwa sampel mikroalga yang digunakan untuk analisa biomassa dianalisa pada saat akhir fase stasioner. Kertas saring GF/C (diameter 90 mm) dioven pada suhu 105°C selama 2 jam (A). Sampel suspensimikroalga 25 mL difilter melalui kertas saring GF/C dan dicuci dengan 25 mL akuades untuk menghindari kontaminasi garam yang tidak larut pada media. Kemudian kertas saring dioven pada suhu 105°C selama 2 jam. Setelah dingin, kertas saring diletakkan di desikator selama 30-60 menit, kemudian beratnya ditimbang kembali (B).

Perhitungan:

- Berat kertas saring = A
- Berat kertas saring + mikroalga = B

c. Klorofil-a

Analisis klorofil-a menggunakan metode modifikasi dari Bennet dan Bogarad, (1973) dan Lichtenthaler (1987). Sampel diambil 5 mL dan dituang ke dalam tabung/falcon dan dibungkus aluminium foil tertutup rapat, disentrifugasi pada 5.000 rpm selama 20 menit dan dibuang supernatannya. Kemudian dilakukan proses *freezing-thawing* masing-masing 15 menit (hingga membeku dan mencair) selama 3 siklus dan diulang 3 kali. Sampel lalu ditambahkan 5 mL *methanol absolute* dan divortex selama 15 detik. Campuran (endapan dan pelarut) diletakkan pada *hot plate* dengan suhu 70°C selama 30 menit. Sampel diinkubasi pada suhu 4°C dan keadaan gelap selama 24 jam. Setelah 24 jam, dilakukan sentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit. Sampel kemudian diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 665 nm dan 652 nm. Perhitungan klorofil-a menurut Ritchie (2006), yakni:

$$\text{Chl a (mg L}^{-1}\text{)} = 16,5169 \times \text{OD}_{665} - 8,0962 \times \text{OD}_{652}$$

2.5 Parameter Penunjang

a. Suhu

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer yang dicelupkan ke dalam media kultur *C. vulgaris*, kemudian dicatat hasilnya. Pengukuran dilakukan satu kali sehari setiap 24 jam pada pukul 12:00 WIB.

b. pH

Kandungan pH (derajat keasaman) pada percobaan diukur menggunakan pH meter yang dicelupkan ke dalam media kultur *C. vulgaris* dan dicatat hasilnya. Pengamatan pH dilakukan satu

kali sehari setiap 24 jam pada pukul 12:00 WIB.

c. DO

Pengukuran DO pada media kultur dilakukan sebanyak satu kali sehari setiap 24 jam pada pukul 12:00 WIB. Pengukuran DO dilakukan dengan menggunakan DO meter yang dicelupkan ke dalam media kultur *C. vulgaris* dan dicatat hasilnya.

d. Pengukuran Kadar Nitrat

Pengukuran kadar nitrat dilakukan pada awal tebar, fase stasioner, dan fase kematian (hari terakhir kultur). Air sampel dituang sebanyak 12,5 ml kemudian disentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit, selanjutnya air sampel dimasukkan ke dalam cawan porselen dan dipanaskan sampai membentuk kerak dan didinginkan. Kemudian ditambahkan 0,25 ml asam venol disulfonik (6-7 tetes). Selanjutnya ditambahkan sedikit H₂O dan dikerik sampai kerak larut. Sampel ditambahkan NH₄OH 1:1 sampai berwarna kuning dan jika sudah 6 ml tapi tidak berwarna kuning maka dihentikan, lalu ditambahkan H₂O sampai volume 12,5 ml. Sampel dimasukkan ke dalam cuvet untuk diukur pada spektrofotometer panjang gelombang 410 nm (Boyd, 1979).

e. Pengukuran Kadar Fosfat

Pengukuran kadar fosfat dilakukan pada awal tebar, fase stasioner, dan fase kematian (hari terakhir kultur). Air sampel yang diambil yaitu 25 ml kemudian disentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit. Selanjutnya ditambahkan 1 ml ammonium molybdate. Lalu ditetesi dengan 5 tetes SnCl₂ dan dihomogenkan, ditunggu sampai 10 menit hingga warna biru terbentuk. Kemudian, dimasukkan ke dalam cuvet. Kadar

fosfat diukur dengan spektrofotometer panjang gelombang 690 nm (Boyd, 1979).

2.6 Analisis Data

Semua analisis dihitung pada masing-masing perlakuan dan diuji secara statistik dengan menggunakan analysis of variance (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95,5% ($\alpha = 0,05$) dan 99% ($\alpha = 0,01$). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh nyata atau berbeda sangat nyata ($F_{hitung} > F_{tabel}$) maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT), dari uji ini dilanjutkan dengan uji polynomial orthogonal untuk menentukan dan mengetahui respon perlakuan dengan parameter yang diukur.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Fotoperiode (terang:gelap) merupakan faktor kontrol dalam lingkungan hidup mikroalga yang mempengaruhi proses metabolisme sel serta proses fotosintesisnya. Berdasarkan pengamatan pertumbuhan *C. vulgaris* pada fotoperiode yang berbeda diperoleh data laju pertumbuhan spesifik, biomassa, dan kandungan klorofil a *C. vulgaris* seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Parameter Uji Selama Penelitian

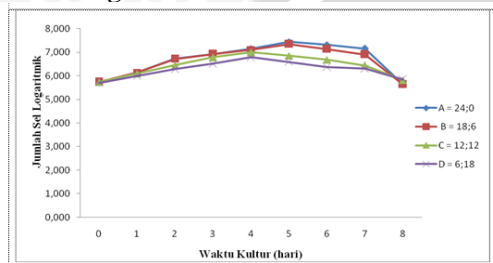
Parameter	Perlakuan Fotoperiode (jam)			
	6:18	12:12	18:6	24:0
Laju Pertumbuhan Spesifik (Hari ⁻¹)	0,633±0,00 ^a	0,735±0,01 ^b	0,743±0,01 ^b	0,793±0,03 ^c
Produksi Biomassa (g/L)	0,11±0,00 ^a	0,17±0,02 ^b	0,49±0,01 ^c	0,81±0,05 ^d
Klorofil a (µg/mL)	2,42±0,03 ^a	6,46±0,10 ^b	13,65±0,62 ^c	19,2±1,05 ^d

Keterangan: notasi yang berbeda menunjukkan adanya pengaruh, notasi yang sama

menunjukkan tidak adanya pengaruh; tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan 99% ($\alpha = 0,01$)

Berdasarkan Tabel 1 di atas, fotoperiode yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *C. vulgaris*.

3.1 Pengaruh Fotoperiode yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *C. vulgaris*



Gambar 2. Rata-rata Pertumbuhan *C. vulgaris*

Pertumbuhan *C. vulgaris* meningkat sesuai dengan pertambahan hari dimulai dari awal tebar dengan konsentrasi 5×10^5 sel/mL. Fase adaptasi tidak terjadi selama pengamatan pertumbuhan *C. vulgaris* yang dapat disebabkan sel yang ditebar merupakan kultur dari fase eksponensial. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Spencer (1954), sel mikroalga yang dikultur pada fase eksponensial tidak akan mengalami fase adaptasi pada kultur berikutnya dengan perlakuan suhu, cahaya, maupun salinitas.

Sel *C. vulgaris* mengalami fase eksponensial pada waktu pertumbuhan *C. vulgaris* tinggi karena pada fase logaritmik sel memiliki kemampuan untuk membelah dengan kecepatan maksimum (Weeks, 2011). Fase eksponensial terjadi sampai hari kelima untuk fotoperiode 24:0 dan 18:6 dan keempat untuk fotoperiode 12:12 dan 6:18 selama kultur. Selain itu, mikroalga mengalami fase eksponensial ketika nutrisi pH dan cahaya pada medium dapat

memenuhi kebutuhan fisiologisnya (Suantika dan Hendrawandi, 2009).

Perlakuan fotoperiode 24:0 mempunyai kepadatan sel yang lebih tinggi daripada perlakuan 18:6, 12:12, dan 6:18 pada puncak pertumbuhan. Hasil penelitian Toro (1989), menyatakan bahwa fotoperiode 0:24 dan 2:22 (gelap:terang) memiliki kepadatan sel maksimum. Berdasarkan tingkat pertumbuhan volumetrik dan densitas sel maksimum dari durasi siklus terang menunjukkan penurunan konsentrasi sel secara proporsional pada perlakuan dengan pencahayaan intermiten dibandingkan pada kondisi pencahayaan terus-menerus.

Konsentrasi sel maksimum *C. vulgaris* mencapai puncak tertinggi pada hari kelima untuk perlakuan 24:0 dan perlakuan 18:6, sedangkan perlakuan 12:12 dan 6:18 terjadi pada hari keempat. Konsentrasi sel maksimum 24:0 tertinggi yaitu sebesar $2,75 \times 10^7$ sel/ml, kemudian diikuti oleh perlakuan fotoperiode 18:6 sebesar $2,23 \times 10^7$ sel/ml, selanjutnya perlakuan 12:12 sebesar $9,87 \times 10^6$ sel/ml, dan terendah pada perlakuan 6:18 sebesar $6,12 \times 10^6$ sel/ml.

Sel *C. vulgaris* selanjutnya akan mengalami fase stasioner. Pertumbuhan sel pada fase ini terjadi dan menunjukkan pertambahan yang konstan. Menurut Purvitasari *et al.* (2012), rasio reproduksi dan kematian sel akan sama pada fase stasioner. Hal tersebut menyebabkan populasi menjadi tetap untuk sementara waktu.

Sel yang telah mencapai fase stasioner, apabila nutrisi dan lingkungannya kurang mendukung akan menyebabkan kematian. Fase kematian sel terjadi pada hari kelima untuk

fotoperiode 12:12 (terang:gelap) dan 6:18 (terang:gelap) dan keenam untuk fotoperiode 24:0 (terang:gelap) dan 18:6 (terang:gelap) selama masa kultur. Ketersediaan nutrisi yang berkurang dan parameter lingkungan yang tidak memenuhi kelangsungan hidup mikroalga dapat menyebabkan pertumbuhan terhambat dan sel *C. vulgaris* mulai mengalami lisis. Menurut Suantika dan Hendrawandi (2009), sel mikroalga akan berkurang pada fase kematian. Ketersediaan nutrisi yang kurang, parameter kualitas air yang menurun, dan akumulasi metabolit (NO_2^- dan NH_4^+) menjadi penyebab pertumbuhan sel tidak optimal, sehingga sel tidak mampu untuk tumbuh dan berkembang.

Pertumbuhan *C. vulgaris* yang tinggi pada pencahayaan yang lebih meningkatkan laju pertumbuhan spesifiknya. Yuehua *et al.* (2006), menjelaskan bahwa dalam penentuan pertumbuhan terbaik, diperlukan perbandingan antara laju pertumbuhan spesifik dan waktu penggandaan selnya. Laju pertumbuhan spesifik merupakan cara terbaik untuk menjelaskan keberhasilan ekologi atau adaptasi spesies kaitannya dengan kondisi lingkungan.

Hubungan perlakuan fotoperiode yang berbeda terhadap laju pertumbuhan spesifik *C. vulgaris* menunjukkan persamaan linier $Y = 0,604 + 0,008x$ dengan nilai R^2 (koefisien determinasi) yaitu 0,94. Laju pertumbuhan spesifik tertinggi yaitu terjadi pada perlakuan fotoperiode 24:0 sebesar 0,79 hari⁻¹ dengan waktu *doubling time* selama 0,875 hari, kemudian dilanjutkan perlakuan 18:6 sebesar 0,74 hari⁻¹ dengan waktu *doubling time* 0,932 hari diikuti perlakuan 12:12 sebesar 0,74 hari⁻¹ dengan waktu *doubling time* 0,941 hari dan terendah pada perlakuan 6:18

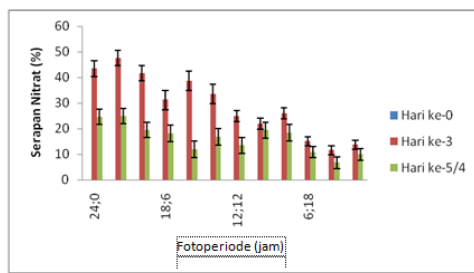
dengan nilai sebesar 0,63 hari⁻¹ dengan waktu *doubling time* selama 1,094 hari.

Laju pertumbuhan spesifik *C. vulgaris* yang terbaik diperoleh pada kondisi pencahayaan 24 jam terang dan 0 jam gelap. Berdasarkan penelitian Seyfabadi *et al.* (2011), menunjukkan bahwa laju pertumbuhan spesifik maksimum *C. vulgaris* juga terjadi pada siklus terang yang lebih lama yaitu 16:8 dibandingkan 12:12 dan 8:16 meskipun dengan intensitas cahaya yang berbeda. Siklus fotoperiode 16:8 dengan intensitas cahaya 62,5 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ menghasilkan laju pertumbuhan maksimum sebesar $1,00 \pm 0,02$ hari⁻¹, sedangkan laju pertumbuhan spesifik terendah pada fotoperiode 6:18 hanya mencapai $0,70 \pm 0,04$ hari⁻¹, laju pertumbuhan spesifik dengan siklus 16:8 juga menunjukkan nilai maksimum sebesar $0,81 \pm 0,04$ hari⁻¹ pada intensitas cahaya 37,5 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dibandingkan perlakuan 6:18 yaitu sebesar $0,60 \pm 0,02$ hari⁻¹.

Kultur di bawah fotoperiode yang berbeda secara signifikan mempengaruhi laju pertumbuhan *C. vulgaris*. Pertumbuhan pada sebagian besar mikroalga meningkat pada kondisi cahaya yang tinggi (Bouterfas *et al.*, 2006). Pertumbuhan yang tinggi pada pencahayaan 24 jam terang akan mendukung besarnya laju pertumbuhan spesifik *C. vulgaris*. *C. vulgaris* mampu tumbuh dan bereproduksi secara cepat selama proses fotosintesis, sehingga sel-sel baru akan terus bertambah. Qian *et al.* (2010), menambahkan bahwa pertumbuhan mikroalga yang berbeda memiliki hubungan dengan tingkat metabolismenya. Laju pertumbuhan spesifik yang besar menunjukkan bahwa proses pembelahan sel *C. vulgaris* terjadi

secara cepat, sehingga penambahan sel satuan waktu lebih besar daripada penambahan waktu itu sendiri. Kawaroe *et al.* (2009), menambahkan bahwa pengaruh fotoperiode terhadap mikroalga ditentukan dengan laju pertumbuhan spesifik mikroalga yang diketahui dari penambahan kepadatan mikroalga.

Perubahan fase pertumbuhan dan laju pertumbuhan spesifik mikroalga tersebut juga berbanding lurus dengan serapan nutrisi penting yang dibutuhkan meliputi unsur nitrat dan fosfat. Dominic *et al.* (2009), menyatakan bahwa *C. vulgaris* mampu menurunkan nilai fosfat sebesar 63,23% dan nitrat sebesar 84% pada media kultur air limbah industri. *C. vulgaris* juga dapat mengabsorpsi 52,8% nitrat dalam waktu lima hari. Serapan nitrat (Gambar 3.) secara berurutan pada fase eksponensial dan fase stasioner pada 24:0 yaitu 43,42%-41,63% dan 24,56-19,59%, perlakuan 18:6 yaitu 38,68-31,25% dan 18,20-11,99% , perlakuan 12:12 yaitu 26,02-21,95 % dan 19,35-13,48%, sedangkan perlakuan 6:18 yaitu 15,04-11,57% dan 10,88-6,65%.

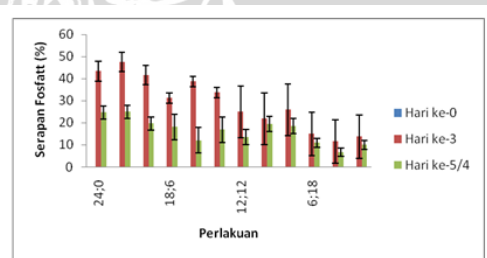


Gambar 3. Serapan Nitrat pada Fotoperiode yang Berbeda

Suantika dan Hendrawandi (2004), bahwa senyawa nitrogen utama yaitu nitrat diserap oleh mikroalga untuk mendukung pertumbuhannya. Nitrogen adalah salah satu unsur paling penting

untuk mikroalga karena merupakan komponen utama dalam kebutuhan biologis makromolekul seperti protein, klorofil, dan DNA. Pembatasan nitrogen dapat menyebabkan penurunan laju pertumbuhan, sintesis protein, fotosintesis, ukuran sel, dan peningkatan lipid serta karbohidrat (Li *et al.*, 2012).

Serapan fosfat oleh *C. vulgaris* pada medium kultur menurun sejalan dengan lamanya hari kultur dan fase pertumbuhan yang dicapai serta kepadatan sel seperti pada unsur nitrat (Gambar 4.). Serapan fosfat pada fase eksponensial dan fase stasioner yaitu pada perlakuan 24:0 sebesar 69,95-61,06% dan 8,93-2,94%, perlakuan 18:6 yaitu 63,64-59,37% dan 16,47-5,48%, perlakuan 12:12 yaitu 38,71-15,43 % dan 10,53-3,62%, sedangkan perlakuan 6:18 yaitu 34,07-14,39% dan 9,61-5,68%.



Gambar 4. Serapan Fosfat pada Fotoperiode yang Berbeda

Fosfat anorganik memainkan peran penting dalam transduksi energi terutama pada aspek metabolisme. Fosfat akan dimanfaatkan oleh mikroalga untuk transfer energi sel. Keseimbangan proses asimilasi C dan N akan terganggu apabila kandungan fosfat medium rendah, selain itu fosfat menjadi faktor yang mutlak dibutuhkan dalam transformasi energi pada fotosintesis (Berdall *et al.*, 1998; Kuhl, 1974).

3.2 Pengaruh Fotoperiode yang Berbeda terhadap Produksi Biomassa *C. vulgaris*

Secara individu spesies mikroalga memiliki perbedaan dalam hal kebutuhan nutrisi, persyaratan cahaya, siklus hidup, dan cara reproduksi. Oleh karena itu, kondisi budidaya memiliki efek besar terhadap tingkat proliferasi mikroalga dan produksi biomassa (Krzeminska *et al.*, 2014).

Hasil analisis menunjukkan perlakuan yang terbaik untuk produksi biomassa *C. vulgaris* yaitu dengan pencahayaan jam 24 terang dan 0 jam gelap. Persamaan linier yang diperoleh dari hubungan perlakuan fotoperiode yang berbeda terhadap produksi biomassa *C. vulgaris* yaitu $Y = -0,217 + 0,040x$ yang memiliki nilai R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,99. Produksi biomassa tertinggi pada perlakuan 24:0 yaitu sebesar 0,81 gram/l, kemudian diikuti oleh perlakuan fotoperiode 18:6 sebesar 0,44 gram/l, selanjutnya perlakuan 12:12 sebesar 0,17 gram/l dan terendah pada perlakuan 6:18 sebesar 0,11 gram/l. Perlakuan fotoperiode 24:0 mempunyai biomassa yang lebih tinggi daripada perlakuan 18:6, 12:12, dan 6:18. Berdasarkan penelitian Khoeyi *et al.* (2012), biomassa *C. vulgaris* bahkan dapat mencapai maksimum pada perlakuan fotoperiode 12:12 (terang:gelap) sebesar 2,37 g/l pada kultur selama 8 hari.

Perbedaan biomassa setiap perlakuan juga sesuai dengan lama atau tidaknya pencahayaannya. Semakin lama pencahayaan maka biomassa yang dihasilkan semakin tinggi, sebaliknya semakin sedikit pencahayaan biomassa semakin rendah. Secara linier produksi biomassa menurun dengan adanya pengurangan

durasi pencahayaan (Jacob-lopés *et al.*, 2009). Tingginya biomassa yang dihasilkan juga sejalan dengan konsentrasi sel maksimum setiap perlakuan. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Danesi *et al.* (2004), yaitu pada kondisi dengan cahaya yang tinggi, reproduksi mikroalga akan mengalami peningkatan. Meseck *et al.* (2005), menambahkan bahwa fotoperiode yang lebih tinggi mengakibatkan produksi biomassa lebih tinggi. Hal tersebut karena terjadinya peningkatan penyerapan nitrat dan fosfat oleh mikroalga.

Proses menghasilkan biomassa oleh mikroalga tersebut yaitu dengan menggabungkan karbon anorganik dalam bentuk karbondioksida terlarut (CO_2) dan bikarbonat (HCO_3^-) dengan memanfaatkan energi cahaya serta menghasilkan O_2 (Sousa, 2013). Proses tersebut akan terjadi dengan adanya pencahayaan, sedangkan pada kondisi gelap proses sintesa biomassa mikroalga tidak akan terjadi. Sebaliknya mikroalga akan melakukan pertahanan hidup melalui respirasi sel. Hasil dari proses tersebut mengakibatkan media kultur menjadi jenuh oleh senyawa karbonat yang tidak dimanfaatkan oleh mikroalga (Rostika 2015).

Perlakuan cahaya secara kontinyu mendukung *C. vulgaris* untuk merubah CO_2 medium lebih banyak, pertumbuhan sel lebih cepat sehingga produksi biomassa tinggi. Kemampuan fiksasi CO_2 oleh mikroalga tersebut didukung oleh pernyataan Jacob-Lopes *et al.* (2009), berdasarkan analisis diagram pemutusan durasi penyinaran akan menurunkan fiksasi CO_2 antara 2,0 dan 99,69% menunjukkan pentingnya fase terang pada reaksi karbon berikutnya setelah fotosintesis. Selain fiksasi

CO₂, perbedaan komposisi biokimia biomassa juga menentukan pembentukan biomassa mikroalga pada setiap kondisi peninaran. Komposisi biomassa mempunyai ketergantungan terhadap ketersediaannya cahaya baik dalam kondisi cahaya terbatas maupun jenuh. Hal tersebut dibuktikan dengan aktivitas sel mikroalga yang dikultur pada kondisi photoautotropik. Dalam kondisi cahaya terbatas sel mempunyai keistimewaan dalam mengasimilasi karbon untuk sintesis asam amino dan konstituen sel penting lainnya, sedangkan pada kondisi cahaya jenuh, gula dan pati akan terbentuk melalui jalur fosfat dan mengurangi pentosa.

3.3 Pengaruh Fotoperiode yang Berbeda terhadap Produksi Klorofil-a *C. vulgaris*

Kandungan klorofil a *C. vulgaris* ditunjukkan dengan warna sel yang hijau. Hubungan perlakuan fotoperiode yang berbeda terhadap klorofil a *C. vulgaris* didapatkan persamaan linier $Y = -3,953 + 0,959 x$ dan didapatkan nilai R² (koefisien determinasi) yaitu sebesar 0,99. Produksi klorofil a yang maksimum dalam kultur *C. vulgaris* yaitu dengan pencahayaan 24 jam terang dan 0 gelap yaitu sebesar 19,20 µg/mL, kemudian diikuti oleh perlakuan fotoperiode 18:6 sebesar 13,65 µg/mL, selanjutnya perlakuan 12:12 sebesar 6,46 µg/mL dan terendah pada perlakuan 6:18 sebesar 2,42 µg/mL.

Berdasarkan hasil penelitian produksi klorofil a tinggi pada pencahayaan yang lebih daripada pada pencahayaan yang kurang. Tamiyata *et al.* (1964), menambahkan bahwa

sintesis klorofil dan karatenoid *Chlorella* akan terjadi karena adanya pencahayaan. Pigmen klorofil tersebut berperan dalam penyerapan cahaya untuk proses fotosintesis mikroalga (Spolaore *et al.*, 2006).

Fotoperiode merupakan faktor penting untuk produksi klorofil a *C. vulgaris*. Berdasarkan penelitian Kendirlioglu *et al.* (2015), *C. vulgaris* yang dikultur pada rezim cahaya 16:8 menghasilkan produksi klorofil tertinggi mencapai 27,5 µg/mL selama 17 hari kultur. Dengan lebih lamanya siklus terang pada kultur menyebabkan klorofil menyerap cahaya lebih untuk fotosintesis dan meningkatkan pertumbuhan sel, sehingga pada konsentrasi sel maksimum kandungan klorofil a mikroalga semakin tinggi. Menurut Ponnuswamy *et al.* (2013), pada konsentrasi sel yang tinggi akan menghasilkan klorofil tertinggi pada fase puncak pertumbuhan mikroalga. Arifin dan Yudoyono (2011), menambahkan jika suplai kebutuhan cahaya secara optimal oleh kloroplas akan mendukung proses fotosintesis untuk berjalan secara terus menerus.

Penelitian Litman *et al.* (2003), menyatakan bahwa rasio klorofil a:b menurun secara signifikan pada pemeliharaan dengan kondisi terang yang rendah, sedangkan pada kondisi cahaya yang tinggi rasio klorofilnya meningkat. Perubahan pigmen disebabkan adaptasi mikroalga dengan cahaya. Apabila cahaya kurang yang disebabkan oleh sintesis unit fotosintesis yang lebih besar, maka daya serap cahaya akan tinggi, sedangkan pada cahaya yang berlebih sintesis unit fotosintesis lebih kecil untuk mengurangi kerusakan pada proses

fotosintesis (Sanchez-saafedra dan Voltolina, 2002).

Ketersediaan nutrisi baik makro maupun mikro juga sangat mendukung tingginya klorofil a *C. vulgaris*. Hal tersebut disebabkan nutrisi seperti nitrat dan fosfat berfungsi dalam pembentukan klorofil mikroalga. Lishman (1997), menjelaskan bahwa sel-sel mikroalga hidup membutuhkan nitrat dan fosfor dari lingkungan untuk sintesis asam amino, pigmen, asam nukleat, ATP, dan prekursor biokimia. Selain itu, beberapa mikronutrien yang berperan yaitu mangan berfungsi sebagai kofaktor pembentukan klorofil, besi digunakan dalam sintesis klorofil dan protein penyusun kloroplas, serta seng yang berguna dalam proses pembentukan klorofil dan sebagai pelindung dari kerusakan molekul klorofil (Amanatin dan Nurhidayati, 2013).

3.4 Kualitas Air

Kualitas air memiliki peran yang penting dalam kegiatan budidaya. Kisaran suhu media kultur harus terkontrol sehingga mikroalga dapat tumbuh dengan baik. Data hasil pengamatan menunjukkan kisaran suhu selama pemeliharaan berada antara 27,02-28°C. Kisaran suhu optimal untuk reproduksi *Chlorella* yaitu antara 25-30°C (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Hasil pengamatan nilai pH pada penelitian ini yaitu berkisar antara 7,23-8,74. Kisaran kandungan pH tersebut masih dapat ditoleransi oleh *C. vulgaris*. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Nielsen (1955), bahwa pH yang sesuai untuk reproduksi *Chlorella* yaitu pada kisaran 4,5-9,3.

Oksigen terlarut sangat dibutuhkan mikroalga untuk proses pertumbuhannya. Data hasil pengamatan kandungan oksigen terlarut selama pemeliharaan yaitu berkisar antara 6,05-7,56 ppm. Konsentrasi oksigen terlarut media pemeliharaan menunjukkan perubahan pada setiap perlakuannya. Lamanya siklus gelap terang dapat mempengaruhi terutama untuk proses fotosintesis *C. vulgaris*. Proses fotosintesis dan suplai oksigen dari aerasi menjadi sumber oksigen dalam kultur mikroalga.

4. Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

- Fotoperiode yang berbeda mempengaruhi pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *C. vulgaris*.
- Fotoperiode yang terbaik untuk pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *C. vulgaris* yaitu pada fotoperiode 24:0 (terang-gelap) dengan laju pertumbuhan spesifik sebesar 0,79 hari⁻¹, biomassa sebanyak 0,81 gram/liter, dan kandungan klorofil a sebesar 19,20 µg/mL.

Berdasarkan Penelitian ini dapat disarankan bahwa untuk memperoleh pertumbuhan, produksi biomassa dan klorofil-a *C. vulgaris* yang maksimum maka diperlukan fotoperiode terang selama 24 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Ak, I., S. Cirik, and T. Goksan. 2008. Effect of light intensity, salinity and temperature on growth in camalt strain of *Dunaliella viridis* teodoresco from Turkey. *Journal of Biological Sciences*. 8(8): 1356-1359.
- Amanatin, D. R. dan T. Nurhidayati. 2013. Pengaruh kombinasi konsentrasi media

- ekstrak tauge (MET) dengan pupuk urea terhadap kadar protein *Spirulina* sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **2**(2): 182-185.
- Arifin, A. C, dan G. Yudoyono. 2013. Fiksasi CO₂ oleh *Chlorella vulgaris* sebagai medium pengkonversi dalam *Bubble Column Reactors*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **1**(1): 1-4.
- Bennett, A. and L. Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *Journal of Cell Biology*. **58**(2): 419-435.
- Beardall, J., Johnson, A, and Raven, J. A. (1998). Environmental regulation of CO₂ concentrating mechanism in microalgae. *Canadian Journal of Botany*. **76**: 1010-1017.
- Boyd, C. E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish Pond. Agricultural Experiment Station, Auburn University. Auburn, Alabama, USA. 359 pp.
- Bouterfas, R., M. Belkoura, and A. Dauta. 2006. The effects of irradiance and photoperiod on the growth rate of three freshwater green algae isolated from a eutrophic lake. *Limnetica*. **25**(3): 647-656.
- Cresswel, L. 2010. Phytoplankton culture for aquaculture feed. Southern Regional Aquaculture Center. 5004 pp.
- Danesi, E. D. G., C. O. Rangel-Yagui, J. C. M. Carvalho, and S. Sato. 2004. Effect of reducing the light intensity on the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. *Biomass and Bioenergy*. **26**: 329-335.
- Dominic, V. J., S. Murali, and M. C. Wishe. 2009. Phycoreme diotome efficiency of three microalgae *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina* and *Cleocapsa gelatinosa*. SB Aceoseanic review. **16** (122): 138-146.
- Hartanto, R. 2003. Modul Metodologi Penelitian. Universitas Diponegoro: Semarang. 24 hlm.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton & Zooplankton Pakan Alami untuk Pembenuhan Organisme Laut. Kanisius: Yogyakarta. 116 hlm.
- Jacob-Lopes, E., Scoparo C., Lacerda L., Franco T. 2009. Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. *Chemical Eng Process*. **48**: 306–310.
- Janssen, M., T. C. Kuijpers, B. Veldhoen, M. B. Ternbach, J. Tramper, L. R. Mur, and R. H. Wijffels. 1999. Specific growth rates of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* under medium duration light/dark cycles: 13 -87s. *Journal Biotechnology*. **70**: 323-333.
- John, D. M., B. A. Whitton, and A. J. Brook. 2002. The Freshwater Alga Flora of the British Isles: an Identification Guide to Freshwater and Terrestrial Algae. Cambridge University Press. Cambridge. 702 pp.
- Kawaroe, M., T. Prartono, A. Sunuddin, D. S. Wulan, dan D. Augustine. 2010. Mikroalga : Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar. IPB Press. Bogor. 149 hlm.
- Kendirlioglu, A., N. Agirman, and A. K. Cetin. 2015. The effects of photoperiod on the growth, protein amount and pigment content of *Chlorella vulgaris*. *Turkish Journal of Science and Technology*. **10**(2): 7-10.
- Khoeyi, J. Seyfabadi, and Z. Ramezanpour. 2012. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Aquaculture International*. **20**:41–49.
- Kitaya Y., L. Xiao, A. Masuda, T. Ozawa, M. Tsuda, and K. Omasa. 2008. Effects of temperature, photosynthesis photon flux density, photoperiod and O₂ and CO₂ concentrations on growth rates of the symbiotic *dinoflagellate*, *Amphidinium* sp. *Journal of Applied Phycology*. **20**(5): 287-292.
- Krzeminska, I., B. Pawlik-Skowronska, M. Trzcinska, and J. Tys. 2014. Influence of photoperiod on the growth rate and biomass productivity of green microalgae. *Bioprocess Biosystem Eng*. **37**: 735-741.

- Kuhl, A. 1974. Phosphorus, In: Stewart, W. D (ed) Algal physiology and biochemistry. University of California Press. California. p 161-175.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology*. **148**: 350-382.
- Li, Y., X. Fei, X. Deng. 2012. Novel molecular insights into nitrogen starvation-induced triacylglycerol accumulation revealed by differential gene expression analysis in green alga *Microcystis aeruginosa*. *Biomass Bioenergy*. **42**: 199-211.
- Lishman, L. 1997. The influences of substrate and temperature on nitrogen removal in wastewater treatment systems. University of Waterloo. Canada.
- Meseck, S. L., J. H. Alix, and G. H. Wikfors. 2005. Photoperiod and light intensity effect on growth and utilization of nutrients by the aquaculture feed microalga, *Tetraselmis chuii* (PLY429). *Aquaculture*. **246**: 393-404.
- Nazir. 2003. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta: 70 hlm.
- Nielsen, E. S. 1955. Carbon dioxide as carbon source and narcotic in photosynthesis and growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *Physiologia Plantarum*. **8**: 317- 335.
- Ponnuswamy, I., S. Madhavan and S. Shabudeen. 2013. Isolation and characterization of green microalgae for carbon sequestration, waste water treatment and bio-fuel production. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*. **5**(2): 17-26.
- Qian, H., J. Li, X. Pan, H. Jiang, L. Sun, and Z. Fu. 2010. Photoperiod and temperature influence cadmium's effects on photosynthesis-related gene transcription in *Chlorella vulgaris*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **73**: 1202-1206.
- Richardson, K., J. Beradall, and J. A. Raven. 1983. Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies. *New Phytol.* **93**: 157-191.
- Richmond, A. 2004. Industrial Production of Microalgal Cell-Mass and Secondary Products Major Industrial Species, Handbook of Microalgal Culture. *Biotechnology and Applied Phycology*. p 47-48.
- Ritchie, R. J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*. **89**: 27-41.
- Rostika, R. N. 2015. Pengaruh Growth Rate, Kandungan Nitrat dan Intensitas Cahaya terhadap Produktivitas Biomassa oleh Mikroalga *Chlamydomonas* sp. Universitas Pandanaran. 13-17.
- Sánchez-Saavedra, M. P. And D. Voltolina. 2002. Effect of photon fluence rates of white and blue-green light on growth efficiency and pigment content of three diatom species in batch cultures. *Ciencias Marinas*. **28**(3): 273-279.
- Seyfabadi, J., Z. Ramezanpour, Z. A. Khoeyi. 2011. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal of Applied Phycology*. **23**: 721-726.
- Sousa, C. A. D. F. 2013. Oxygen Accumulation in Photobioreactors. Netherlands. Wageningen University. 138 pp.
- Spencer, C. P. 1954. Studies on the culture of marine diatom. *Journal Marine Biology Association*. **33**: 256-90.
- Spolaore, P., C. Joannis-Cassan, E. Duran and A. Isambert. 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **101**: 87-96.
- Suantika, G. dan D. Hendrawandi. 2009. Efektivitas teknik kultur menggunakan sistem kultur statis, semi-kontinyu, dan kontinyu terhadap produktivitas dan kualitas kultur *Spirulina* sp. *Jurnal Matematika dan Sains*. **14**(2): 48-49.

Susilaningsih, D., S. Lestari, Kusnandi, T. Hidayat, dan H. Susanti. 2014. Efikasi limbah sagu sebagai substrat kaya nutrisi untuk mikroalga isolat lipi11-2-al002. *Berita biologi*. **13**(3): 301-307.

Tamiyata, H. 1964. Growth and Cell Division in *Chlorella*. In: Synchrony in Cell Division and Growth (E. Zheuten, ed.). New York: Intersciences. 247-305 pp.

Toro, J. E. 1989. The growth rate of two species of microalgae used in shellfish hatcheries cultured under two light regimes. *Aquaculture Fisheries Management*. **20**:249–254.

Weeks, B. S. 2011. *Alcamo's Microbes and Society*. Jones & Bartlett Learning, LLC. USA.

Widianingsih., R. Hartati, H. Endrawati, dan V. R. Iriani. 2012. Kandungan lipid total *Nannochloropsis oculata* pada kultur dengan berbagai fotoperiod. *Ilmu Kelautan*. **17**(3): 119-124.

Widiyanto, A., B. Susilo, dan R. Yulianingsih. 2015. Studi kultur semi-massal mikroalga *Chlorella* sp pada area tambak dengan media air payau (di Desa Rayunggumuk, Kecamatan Glagah, Kabupaten Lamongan). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. **2**(1): 1-7.

Yuehua, C., J. Zhu, R. Wu. 2006) Functional mapping for genetic control of programmed cell death. *Physiol Genomics*. **25**:458–469.

