

THE EFFECT OF AMMONIUM SULPHATE (ZA) FERTILIZER CONCENTRATION ON THE GROWTH OF MICROALGA POPULATION (*Nannochloropsis oculata*)

Rony Andes Fery^{*1}, Syafruddin Nasution², Sofyan Husein Siregar²

¹Student of The Faculty of Fisheries and Marine Universitas Riau, Pekanbaru

²Lecturer at The Faculty of Fisheries and Marine Universitas Riau, Pekanbaru

*rafysyrony@gmail.com

ABSTRACT

This research was conducted from 24 June to 6 July 2019 in the Regional Technical Implementation Unit of the Seawater and Brackish Aquaculture Fisheries Center (UPTD BPBALP Teluk Buo), West Sumatra. This study aim to determine the effect of Ammonium Sulfate ((NH₄)₂SO₄) with different concentrations on the growth rate of *Nannochloropsis oculata* microalgae population. The method used in this study is an experimental method using a completely randomized design (CRD) one factor, namely ZA fertilizer concentration. There were 5 (five) levels concentration tested, namely 0 ml/L (control treatment), 30 ml/L (treatment A), 40 ml/L (treatment B), 50 ml/L (treatment C), and 60 ml/L (treatment D) total of 15 treatment units. The test organism in this study was *N. oculata*. The container used is a glass jar (2 liter capacity). The test parameters in this study are the maximum cell population density achieved during 5 days of maintenance (120 hours), relative growth, self-doubling time and specific growth rate during the exponential growth phase. The results of this study indicate that the best concentration of ZA fertilizer for cell population growth is 40 ml/L, followed by a concentration of 30 ml/L, a concentration of 50 ml/L, a concentration of 60 ml/L and the lowest at a concentration of 0 ml/L (control).

Keywords: ZA fertilizer, Concentration, Population growth, *Nannochloropsis oculata*.

I. PENDAHULUAN

Nannochloropsis oculata adalah salah satu mikroalga bersel satu yang termasuk dalam kelas Eustigmatophyceae dan umumnya dikultur pada pembenihan ikan sebagai pakan rotifer (zooplankton). Spesies ini mempunyai peranan penting dalam suatu kegiatan pembenihan karena kandungan nutrisinya yang tinggi. *N. oculata* memiliki sejumlah kandungan gizi dan pigmen seperti protein (52,11 %), karbohidrat (16%), lemak (27,64%), vitamin C (0,85%) dan klorofil A (0,89%) (Anon *et al.*, 2009).

Unsur hara yang dibutuhkan mikroalga terdiri dari mikronutrien dan makronutrien. Makronutrien antara lain C (Karbon), H (hidrogen), N (nitrogen), P (fosfor), K (kalium), S (sulfur), Mg (magnesium) dan Ca (Kalsium), sedangkan mikronutrien seperti Fe, Cu, Zn, Mn, B, dan Mo (Andersen, 2005). Setiap unsur hara makro dan mikro ini mempunyai fungsi pada pertumbuhan mikroalga. Unsur Nitrogen dalam medium kultur berfungsi untuk membentuk protein, lemak dan hijau daun (klorofil).

Produksi mikroalga sebagai pakan untuk organisme akuatik membutuhkan

biaya yang tinggi (Ceballos *et al.*, 2006). Salah satu faktor penyebab tingginya biaya produksi mikroalga adalah tingginya biaya media kultur terutama media yang mengandung senyawa murni yang dibuat khusus untuk kultur mikroalga. Solusinya yaitu penggunaan media tumbuh yang lebih murah seperti pupuk yang biasa digunakan oleh kegiatan pertanian dalam kultur mikroalga. Pupuk ZA adalah pupuk kimia buatan yang mengandung Amonium Sulfat yang dirancang untuk memberi tambahan hara nitrogen dan belerang bagi tanaman.

Nama ZA adalah singkatan dari istilah bahasa Belanda, *Zwavelzure Ammoniak*, yang mengandung belerang 24% (dalam bentuk Sulfat) dan Nitrogen 21% (dalam bentuk amonium). Pemilihan jenis pupuk ini didasari pertimbangan bahwa pupuk ini sangat mudah ditemukan di pasaran sehingga memiliki potensi sebagai pengganti pupuk komersial yang umum digunakan dalam skala laboratorium seperti pupuk Walne (Campaña-Torres *et al.*, 2012).

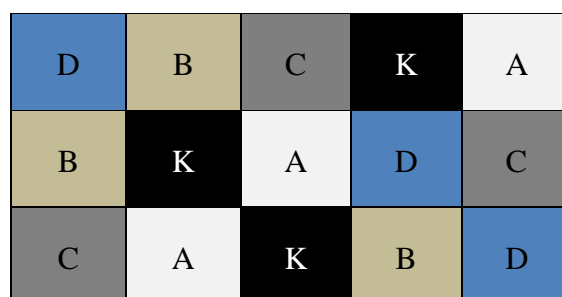
Balai Perikanan Budidaya Air Laut dan Payau (BPBALP) Teluk Buo, telah mengembangkan usaha budidaya ikan dan udang dengan sistem tambak beton sehingga membutuhkan pakan alami bagi larva ikan dan udang yang memiliki kualitas baik dan jumlah yang tersedia secara kontinyu.

Masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh konsentrasi Ammonium Sulfat ((NH₄)₂SO₄) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan populasi *N. oculata*?. Penelitian ini terinspirasi dari penelitian yang sudah dilakukan oleh (Muklis *et al.*, 2017) bahwa kepadatan populasi sel maksimum *N. oculata* tertinggi dicapai pada konsentrasi pupuk ZA 40 mg/L dengan tingkat kepadatan populasi sel sebesar 12.950 x 10³sel/mL yang dicapai pada jam ke -72 setelah penebaran.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Agustus 2018 yang bertempat di sekitar perairan Meral, Kabupaten Karimun Provinsi Kepulauan Riau. Analisis sampel diatom dilakukan di Laboratorium Biologi Laut sedangkan analisis nitrat, fosfat dan silikat dilakukan di Laboratorium Kimia Laut, Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survey, pengambilan sampel dilakukan pada saat air laut pasang. Penentuan titik lokasi penelitian dengan menggunakan purposive sampling dengan memperhatikan aktivitas yang berada disekitar perairan Meral, Lokasi penelitian dibagi atas empat stasiun dengan jarak stasiun kurang lebih 200 (Gambar 1).



Gambar 1. Letak unit percobaan setelah dilakukan pengacakan

Keterangan:

- a) Perlakuan A: 30 ml/L c) Perlakuan C: 50 ml/L e) Perlakuan K: 0 ml/L
b) Perlakuan B: 40 ml/L d) Perlakuan D: 60 ml/L

Kepadatan Populasi Sel

Menurut Mukhlis *et al.* (2017) kepadatan populasi sel dapat dihitung dengan rumus:

$$P = N \times 10^4 \text{ sel/ml}$$

Keterangan:

- P = Kepadatan Populasi sel (sel/ml)
N = Jumlah total sel pada bidang haemocytometer seluas 1 mm²

Laju Pertumbuhan Relatif (*Relative Growth Rate*)

Laju pertumbuhan relatif adalah peningkatan jumlah sel per unit sel yang ada per lama waktu. Menurut Mukhlis *et al.* (2017) laju pertumbuhan relatif dapat dihitung dengan rumus:

$$RGR = ((C_t - C_0) / C_0) \times 100\%$$

Keterangan:

- RGR = *Relative growth rate* (%)
C₀ = Kepadatan populasi sel/ml pada awal periode pengamatan
C_t = Kepadatan populasi sel/ml pada akhir periode pengamatan

Laju Pertumbuhan Spesifik (*Specific Growth Rate*)

Laju pertumbuhan spesifik adalah perubahan jumlah sel seiring perubahan waktu. Menurut Mukhlis *et al.* (2017) laju pertumbuhan spesifik dapat dihitung dengan rumus:

$$SGR = ((C_t / C_0)^{1/t} - 1) \times 100\%$$

Keterangan:

- SGR = *Specific growth rate* (% per jam)
C₀ = Kepadatan populasi sel /ml pada awal periode pengamatan
C_t = Kepadatan populasi sel /ml pada akhir periode pengamatan
T = Lama periode pengamatan (jam)

Waktu penggandaan diri (*double time*)

Waktu penggandaan diri adalah waktu yang dibutuhkan untuk membuat jumlah sel menjadi 2 kali lipat. Menurut Mukhlis *et al.* (2017) waktu penggandaan diri (*double time*) dapat dihitung dengan rumus:

$$DT = \log(2) \times \Delta t / (\log C_t - \log C_0)$$

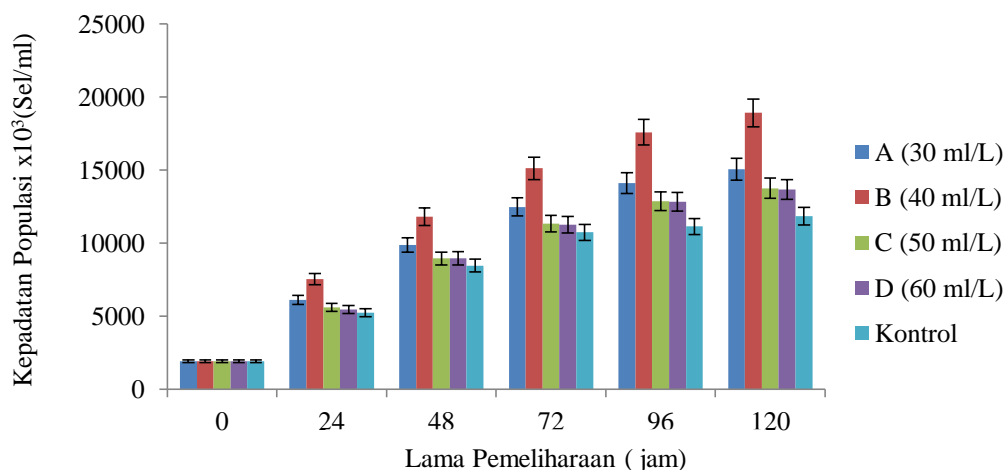
Keterangan:

- DT = *Double time* (jam)
C₀ = Kepadatan populasi sel/ml pada awal periode pengamatan
C_t = Kepadatan populasi sel/ml pada akhir periode pengamatan
Δt = Lama waktu dalam satu periode pengamatan (jam)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN**Pertumbuhan Populasi *N. oculata***

Pertumbuhan populasi *N. oculata* tertinggi dengan perlakuan konsentrasi pupuk Ammonium sulfat 40 ml/L yaitu pada hari ke 5 sebanyak 18.910 x 10³ sel/ml dan pertumbuhan populasi sel yang terendah pada perlakuan konsentrasi 0 ml/L (kontrol) yaitu sebanyak 11.840 x 10³ sel/ml. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pemberian pupuk Ammonium Sulfat (pupuk ZA) dengan konsentrasi berbeda-beda memberikan pengaruh tingkat pertumbuhan populasi sel maksimum yang beragam.

Hari pertama didapati hasil pertumbuhan populasi tertinggi dicapai pada perlakuan B yaitu sebesar 7.540 x 10³ sel/ml dan pertumbuhan populasi yang terendah terdapat pada perlakuan kontrol yaitu sebesar 5.250 x 10³ sel/ml karena pada perlakuan kontrol tidak terdapat sumber hara untuk pertumbuhan *N. oculata*.



Gambar 2. Pertumbuhan populasi *N. oculata* berdasarkan lama pemeliharaan

Menurut Riduan *et al.* (2015) menyatakan bahwa nutrisi yang larut dalam badan air langsung dimanfaatkan oleh fitoplankton untuk pertumbuhannya sehingga populasi dan kelimpahannya meningkat. Hari kedua, pertumbuhan populasi masih terus meningkat dan tertinggi masih diperoleh perlakuan B sebesar 11.810×10^3 sel/ml dan yang terendah terdapat pada perlakuan kontrol sebesar 8.470×10^3 sel/ml.

Hari ke-3 dan ke-4, pertumbuhan populasi tertinggi masih dicapai oleh perlakuan B, sedangkan pertumbuhan populasi terendah masih didapat pada perlakuan kontrol. Pada hari tersebut, perlakuan C dan D masih memiliki hasil pertumbuhan populasi yang hampir sama atau tidak berbeda nyata. Ketika hari terakhir (hari ke-5), pertumbuhan populasi sel maksimum dari urutan tertinggi secara berurutan dicapai oleh konsentrasi perlakuan B 40 ml/L (18.910×10^3 sel/ml), perlakuan A 30 ml/L (15.050×10^3 sel/ml), perlakuan C 50 ml/L (13.750×10^3 sel/ml), perlakuan D 60 ml/L (13.670×10^3 sel/ml), dan kontrol 0 ml/L (11.840×10^3 sel/ml).

Meskipun pada konsentrasi 0 ml/L tidak dilakukan penambahan pupuk ZA sebagai sumber nitrogen namun pertumbuhan populasi sel tetap berlangsung dan diduga karena mikroalga memanfaatkan unsur nitrogen yang tersedia

secara alami dalam media air laut sebagai media kultur meskipun tersedia dalam jumlah yang sangat terbatas. Ini sesuai dengan penjelasan Hu (2004) bahwa ketika kandungan nitrogen turun dibawah nilai ambang batas, fotosintesis masih dapat berlanjut, meskipun berada pada tingkat yang lebih rendah.

Peningkatan ketersediaan pupuk ZA dari 30 ml/L hingga 40 ml/L telah terbukti meningkatkan pertumbuhan, namun demikian konsentrasi yang terus ditingkatkan melebihi 40 ml/L akan memberikan respon sebaliknya. Menurut Mukhlis *et al.* (2017) mengatakan bahwa kepadatan populasi sel yang tertinggi dicapai oleh konsentrasi 40 ml/L (12.950×10^3 sel/ml) dan kepadatan populasi yang terendah didapati oleh konsentrasi 100 ml/L (6.397×10^3 sel/ml).

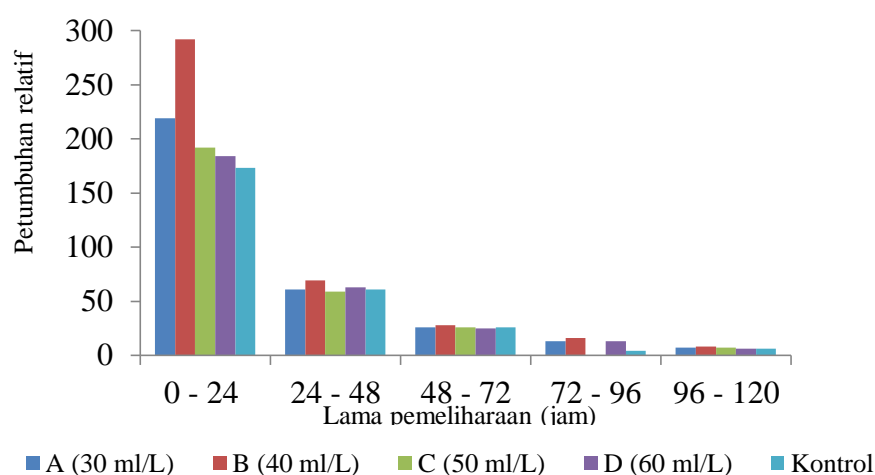
Berdasarkan hasil analisis variansi (ANOVA), mendapatkan hasil yang sangat berbeda nyata karena pada konsentrasi yang berbeda pada setiap perlakuan memiliki nilai signifikan sebesar $0,03 < 0,05$. Kemudian dilakukan uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD), dari output yang didapat ada beberapa perlakuan yang memiliki hasil hampir sama atau tidak berbeda nyata karena mendapatkan nilai signifikan $> 0,05$, antara lain perlakuan kontrol dengan perlakuan 60 ml/L (sig.

0,058), dan perlakuan 50 ml/L dengan perlakuan 60 ml/L (sig. 0,903).

Laju Pertumbuhan Relatif (RGR)

Pola pertumbuhan populasi sel *N. oculata* pada perlakuan konsentrasi B (40 ml/L) mendapatkan rata-rata pertumbuhan relatif harian yang tinggi dari awal sampai akhir periode pengkulturan daripada

perlakuan lainnya yaitu pada kisaran 7,56 – 292,71%. Dibandingkan dengan pola pertumbuhan populasi sel pada perlakuan konsentrasi A, C, D, dan kontrol memiliki nilai yang relatif hampir sama dari awal sampai akhir periode pengamatan yaitu pada kisaran 3,72 – 219,27% , disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Laju pertumbuhan relatif *N. oculata* berdasarkan lama pemeliharaan

Berdasarkan data laju pertumbuhan relatif pada periode pertama (jam ke-0 s/d jam ke-24) menunjukkan nilai diatas 100% yaitu antara 173,44% sampai 292,71% yang artinya bahwa peningkatan kepadatan populasi sel pada akhir periode ini mengalami peningkatan lebih dari satu kali lipat dari awal penebaran dan hal ini memenuhi kriteria sebagai fase pertumbuhan eksponensial. Data yang berbeda ditunjukkan oleh pertumbuhan relatif pada periode ke-2 (jam ke-24 s/d jam ke-48) perlakuan B yang tertinggi sedangkan perlakuan C yang terendah, dan periode ke-3 (jam ke-48 s/d jam ke-72) perlakuan B yang tertinggi sedangkan perlakuan D yang terendah dimana nilai rata-rata pertumbuhan relatif yang diperoleh berada dibawah nilai 100% dan hal terlihat disemua perlakuan yang hasilnya antara 25,78% sampai 69,89%. Periode ke-4 (jam ke-72 s/d jam ke-96) dan

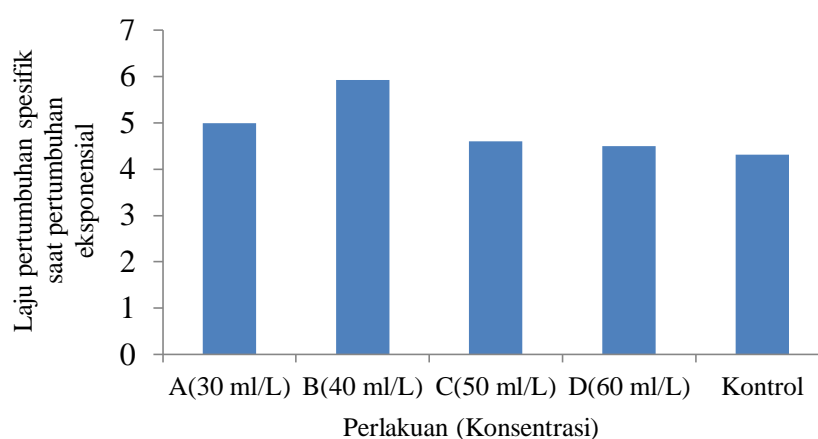
periode ke-5 (jam ke-96 s/d jam ke-120) perlakuan B yang tertinggi sedangkan perlakuan kontrol yang terendah, kedua fase ini sudah memasuki fase deklinasi (penurunan laju pertumbuhan) yang hasilnya berkisar antara 3,72% sampai 16,27%. fase ini ditandai dengan pembelahan sel tetap terjadi, namun tidak selaju pada fase sebelumnya sehingga laju pertumbuhannya pun menjadi menurun (Kartikasari, 2010).

Menurut Riesya (2013), menyatakan bahwa ketika unsur nitrogen diturunkan konsentrasinya maka pembentukan klorofil menjadi terhambat yang mengakibatkan proses fotosintesis terhambat sehingga mengakibatkan pertumbuhan terhambat pula. Menurut Mukhlis *et al.* (2017) mengatakan bahwa pada konsentrasi ZA 0 mg/L, 20 mg/L, 40 mg/L dan perlakuan kontrol yang terjadi hingga jam ke-72 menunjukkan

peningkatan pertumbuhan yang relatif stabil terlihat dari nilai pertumbuhan relatif pada periode terakhir yang cenderung lebih tinggi (14,75%-26,83%) dibandingkan dengan konsentrasi 60 mg/L, 80 mg/L dan 100 mg/L (-12,26% s/d 1,63%).

Laju Pertumbuhan Spesifik pada Fase Pertumbuhan Eksponensial

Laju pertumbuhan spesifik *N. oculata* pada fase pertumbuhan eksponensial setiap perlakuan konsentrasi pupuk yang berbeda yang tertinggi yaitu pada konsentrasi pupuk 40 ml/L dengan nilai sebesar 5,92% per jam dan laju pertumbuhan spesifik yang terendah terdapat pada perlakuan kontrol yaitu sebesar 4,31% perjam, disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Laju pertumbuhan spesifik *N. oculata* berdasarkan konsentrasi pupuk ZA

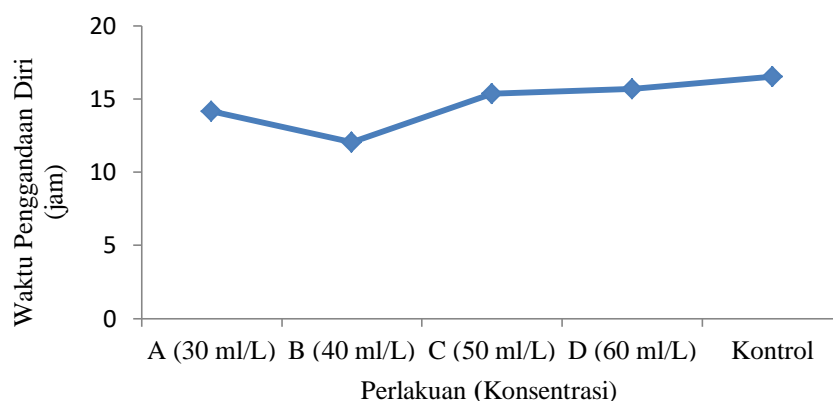
Laju pertumbuhan spesifik yang terjadi saat fase pertumbuhan eksponensial yang tertinggi yaitu terdapat pada konsentrasi pupuk 40 ml/L. Pada perlakuan ini pertumbuhan populasi sel *N. oculata* mengalami peningkatan dengan laju pertumbuhan sebesar 5,92% per jam. Laju pertumbuhan spesifik yang terjadi saat fase pertumbuhan eksponensial pada perlakuan C dan D hampir sama yang hasilnya yaitu 4,60% dan 4,50%. Sesuai dengan pernyataan Afriza *et al.* (2015) terkadang konsentrasi bahan yang terlalu tinggi membuat bahan sulit diserap oleh sel. Laju pertumbuhan spesifik yang terjadi saat fase pertumbuhan eksponensial yang terendah yaitu terdapat pada konsentrasi pupuk 0 ml/L (kontrol) hanya sebesar 4,31% per jam.

Nilai laju pertumbuhan dapat dijadikan sebagai tolak ukur untuk mengetahui daya dukung media terhadap pertumbuhan *N. oculata* semakin cepat laju

pertumbuhan maka semakin baik daya dukung media pupuk terhadap pertumbuhan populasi sel tersebut. Menurut Mukhlis *et al.* (2017) mengatakan bahwa laju pertumbuhan spesifik pada fase pertumbuhan eksponensial tertinggi dicapai oleh konsentrasi 40 ml/L dengan laju pertumbuhan rata-rata 5,69 % per jam dan yang terendah dicapai oleh konsentrasi 100 ml/L dengan laju pertumbuhan rata-rata 4,12 % per jam.

Waktu Penggandaan Diri (*Double Time*)

Waktu penggandaan diri yang dibutuhkan *N. oculata* tersingkat ditunjukkan oleh konsentrasi pupuk ZA 40 ml/L dengan nilai rata-rata sebesar 12,04 jam atau 12 jam 4 menit. Waktu penggandaan diri paling panjang ditunjukkan oleh perlakuan kontrol (tanpa pupuk ZA) dengan nilai rata-rata sebesar 16,53 jam atau 16 jam 53 menit, disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Waktu penggandaan diri *N. oculata* berdasarkan konsentrasi pupuk ZA

Double Time (waktu penggandaan diri) *N. oculata* tersingkat atau paling cepat ditunjukkan oleh konsentrasi pupuk ZA 40 ml/L dengan nilai rata-rata sebesar 12,04 jam atau 12 jam 4 menit. Perlakuan A (30 ml/L) memiliki waktu penggandaan diri selama 14,16 jam atau 14 jam 16 menit, dan sedangkan perlakuan C (50 ml/L) dan D (60 ml/L) memiliki waktu penggandaan yang hampir sama yaitu berada dikisaran 15,37 sampai 15,70 jam. Waktu penggandaan diri paling panjang atau paling lama ditunjukkan oleh perlakuan kontrol (tanpa pupuk ZA) dengan nilai rata-rata sebesar 16,53 jam atau 16 jam 52 menit. Ini sesuai pernyataan Afriza *et al.* (2015) waktu generasi yang lebih rendah berarti pertumbuhan jumlah populasi lebih cepat karena waktu yang diperlukan untuk pembelahan sel lebih singkat sehingga untuk mencapai kepadatan maksimum lebih cepat.

Menurut Mukhlis *et al.* (2017) mengatakan bahwa waktu penggandaan diri *N. oculata* tersingkat ditunjukkan oleh konsentrasi 40 ml/L dengan nilai rata-rata sebesar 12,52 jam atau 12 jam 52 menit. Menurut Daefi (2016) pemberian dosis urea 50 ppm dalam media pupuk pertanian merupakan dosis yang paling efektif untuk meningkatkan pertumbuhan (kepadatan populasi, laju pertumbuhan spesifik dan waktu generasi) *Nannochloropsis* sp. Data pertumbuhan populasi sel yang diperoleh

didukung juga oleh faktor fisika, kimia, dan biologi. Suhu yang digunakan untuk pertumbuhan populasi pada penelitian ini yaitu antara 24°C dimana suhu ini sangat optimal bagi pertumbuhan *N. oculata*. Menurut Rostini (2007) beberapa spesies *Nannochloropsis* sp. air laut dapat mentoleril kondisi lingkungan yang relatif bervariasi. Spesies ini tumbuh baik pada suhu 20°C, tetapi tumbuh lambat pada suhu 32°C dan tumbuhan sangat baik sekitar 20-25°C.

Salinitas yang digunakan untuk seluruh perlakuan diatur pada tingkat 27 ppt. Salinitas optimal untuk pertumbuhan *N. oculata* adalah berkisar antara 33–35 ppt serta didukung oleh pendapat bahwa Speises ini dapat berkembang dengan baik pada salinitas 31 ppt dan dapat terus menerus berkembang pada kisaran salinitas 22–49 ppt (Hu dan Gao, 2006). Derajat keasaman (pH) dalam penelitian ini memiliki nilai yaitu 7 yang berarti bahwa *N. oculata* dapat tumbuh optimal dalam medium pertumbuhannya. Hasil pengukuran pH dalam penelitian ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Dominic *et al.* (2009) yaitu pH yang digunakan untuk pertumbuhan berkisar antara 6 - 9 dimana kondisi pH tersebut dapat tumbuh optimal.

Penelitian ini memiliki rata-rata intensitas cahaya yang digunakan yaitu 1000 lux sehingga populasi dapat tumbuh

optimal. Cahaya dengan karakteristik intensitas saturasi untuk spesies mikroalga tertentu harus didistribusikan secara homogen ke seluruh volume unit budidaya. Dalam praktiknya, ini tidak mungkin karena penyerapan cahaya oleh pigmen mikroalga dan hamburan cahaya karena sel dan partikel lain dalam larutan kultur (Ogbonna dan Tanaka, 2000; Pottier *et al.*, 2005).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa perlakuan media kultur antar konsentrasi pupuk ZA memperlihatkan pengaruh berbeda nyata antar perlakuan yang diberikan terhadap pertumbuhan populasi sel. Pertumbuhan populasi sel maksimum tertinggi didapatkan pada konsentrasi pupuk ZA 40 ml/L dengan nilai sebesar 18.910×10^3

sel/ml yang didapatkan pada jam ke-120 setelah penebaran. Fase pertumbuhan eksponensial populasi sel terjadi dalam selang waktu 24 jam setelah penebaran dengan laju pertumbuhan relatif tertinggi pada konsentrasi 40 ml/L pupuk ZA dengan nilai sebesar 292,71% dan menghasilkan waktu penggandaan diri paling singkat yaitu 12,04 jam dengan laju pertumbuhan spesifik sebesar 5,92% per jam.

Saran

Pada pengkulturan *N. oculata* sebaiknya dilakukan dengan kombinasi kultur yang terbaik yaitu pada konsentrasi 40 ml/L agar hasil kultur lebih optimal. Pada penelitian selanjutnya diharapkan dapat menganalisis terhadap faktor-faktor lain seperti padat penebaran, intensitas cahaya, pupuk dan kualitas air yang dapat mempengaruhi pertumbuhan populasi sel tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

1. Afriza, Z., G. Diansyah, dan AI. Sunaryo. (2015). Pengaruh Pemberian Pupuk Urea ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) dengan Dosis Berbeda Terhadap Kepadatan Sel dan Laju Pertumbuhan *Porphyridium* sp. pada Kultur Fitoplankton Skala Laboratorium. *Maspuri Journal*, volume 7(2), pages 33-40.
2. Andersen, AR. (2005). *Alga Culturing Tehniques*. Elsevier Academic Press. USA.
3. Anon, SMAT., MT. Kocer, and H. Erbas. (2009). Studies on Growth Marine Microalgae In Batch Cultures: III. *Nannochloropsis oculata* (eustigmatophyta). Departement of Basic Aquatic Sciences, Faculty of Aquaculture, Firat University, Elazig, Turkey. *Asian Journal of Plant Sciences* volume 4(6), pages 642-644.
4. Campaña-Torres, A., LR. Martínez-Córdova, M. Martínez-Porchas, JA López-Elías dan MA. Porchas-Cornejo.(2012). Productive response of *Nannochloropsis oculata*, cultured in different media and their efficiency as food for the rotifer *Brachionus rotundiformis*. *PHYTON*. volume 8, pages 44-50
5. Daefi, T. (2016). Pertumbuhan dan Kandungan Gizi *Nannochloropsis* sp. Yang diisolasi dari Lampung Mangrove Center dengan Pemberian Dosis Urea Berbeda pada Kultur Skala Laboratorium. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Lampung
6. Dominic, V., JS. Murali, and MC. Nisha. (2009). Phycoremediation Efficiency of Mikro Algae *Chlorella vulgaris*, *Synechocystis salina*, and *Gloeocapsa gelatinosa*. Department of Botany, Center for PG studies and Research, Sacred Heart College, Thevara, Ernakulam (Dt.). Kerala.
7. Hu, H. dan K. Gao. (2006). Response of Growth and Fatty Acid Compositions of *Nannochloropsis* sp. to Environmental Factors under Elevated CO_2 Concentration. *Biotechnol Lett*. Volume 28, pages 987 – 992.

8. Hu, Q. (2004). Environmental Effects on cell Composition. in : *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and applied phycology* (Richmond, A., editor). Blackwell Publishing Ltd. : 83-93.
9. Ceballos, J., AH Llamas., TG. Galano dan H. Villarreal. (2006). Substitution of *Chaetoceros muelleri* by *Spirulina platensis* Meal in Diets for *Litopenaeus schmitti* larvae. *Aquaculture*, volume 260, pages 215 –220.
10. Kartikasari, D. (2010). Pengaruh Penggunaan Media yang Berbeda terhadap Kemampuan Penyerapan Logam Berat Pb Pada *Nannochloropsis* sp. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Lampung.
11. Mukhlis, A., Z. Abidin., dan I. Rahman. (2017). Pengaruh Konsentrasi Pupuk Ammonium Sulfat Terhadap Pertumbuhan Populasi Sel *Nannochloropsis* sp. *BioWallacea Jurnal Ilmiah Ilmu Biologi*, volume 3(3), pages 149 – 155.
12. Ogbonna, JC. and H. Tanaka. (2000). Light Requirement and Photosynthetic Cell Cultivation-Development of Process for Efficient Light Utilization in Photobioreactors. *Jurnal Appl Phycol*, volume (12), pages 207-218.
13. Pottier, L., J. Pruvost, J. Deremetz, JF. Cornet, J. Legrand, and CG. Dussap. (2005). A Fully Predictive Model For One-Dimensional Light Attenuation By *Chlamydomonas reinhardtii* in a Torus Photobioreactor. *Biotechnol Bioeng*. volume (91), pages 569-582.
14. Riduan., S. Hasibuan, dan NA. Pamukas. (2015). The effect of Urea Manuring Addition with Different Doses on the Abundance of Density *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Online Mahasiswa*, volume 2(2).
15. Riesya, DA. dan T. Nurhidayati. (2013). Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Media Ekstrak Tauge (MET) dengan Pupuk Urea Terhadap Kadar Protein *Spirulina* sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, volume 2(2), pages 2337 – 3520.
16. Rostini, I. (2007). Kultur Fitoplankton (*Chlorella* sp. dan *Tetraselmis chuii*) pada Skala Laboratorium. *Skripsi*. Jatinagor: Universitas Padjajaran.