

## Pengaruh Penambahan Feri Klorida pada Media NPSi terhadap Biomassa dan Kandungan Protein Mikroalga *Chaetoceros calcitrans*

I Gusti Bagus Ananta Wijaya Putra<sup>1</sup>, Anak Agung Made Dewi Anggreni<sup>2</sup>, Ida Bagus Wayan Gunam<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, UNUD

<sup>2</sup>Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, UNUD

E-mail: anantawijaya170@gmail.com<sup>1</sup>

E-mail koresponden: dewianggreni@unud.ac.id<sup>2</sup>

### ABSTRACT

This study aims were to know the effect of ferric chloride ( $\text{FeCl}_3$ ) on biomass concentration and protein content of microalgae *Chaetoceros calcitrans* and determine the best concentration of ferric chloride for production of microalgae *Chaetoceros calcitrans* with highest protein content. This study was designed with randomized block design with single factor. The factor was different ferric chloride concentration consist of 4 concentration, i.e. 0  $\mu\text{M}$ , 12  $\mu\text{M}$ , 24  $\mu\text{M}$  and 36  $\mu\text{M}$ . Each treatment was grouped into 4 based on time of cultivation. The data obtained were analyzed by analyzed of variance followed by least significant difference test, if a treatment had significant effect. The result showed that addition of ferric chloride had very significant effect on the biomass concentration and protein content. The highest biomass concentration and protein content was obtained from the microalgae *Chaetoceros calcitrans* which was cultivated in 36  $\mu\text{M}$  ferric chloride amounted of  $4.1 \times 10^7$  cell/mL and 25.41%.

Keywords: biomass, *Chaetoceros calcitrans*, Ferric Chloride, NPSi, protein.

### PENDAHULUAN

Mikroalga adalah kelompok tumbuhan berukuran renik yang termasuk dalam kelas alga, diameternya antara 3-30  $\mu\text{m}$ , baik sel tunggal maupun koloni yang hidup di seluruh wilayah perairan tawar maupun laut, yang lazim disebut fitoplankton. Morfologi mikroalga berbentuk uniseluler. Salah satu mikroalga potensial adalah *Chaetoceros calcitrans*. Biomasa *Chaetoceros gracilis* yang dikultivasi di luar ruangan dengan media NPSi memiliki kandungan air sebesar 27%, abu sebesar 25%, lemak sebesar 12,1%, protein sebesar 20,27%, dan karbohidrat sebesar 15,63% (Ermayanti., 2011). Dilihat dari kandungan nutrisinya, *Chaetoceros calcitrans* merupakan mikroalga penghasil protein yang potensial. *Chaetoceros calcitrans* merupakan salah satu mikroalga yang paling umum digunakan pada pembenihan kerang (Tredici *et al.*, 2009). Seperti pakan untuk induk (Pronker *et al.*, 2008), *Juveniles* (Enright *et al.*, 1986) dan larva (Rico-Villa *et al.*, 2006) kerang-kerangan yang memiliki nilai jual yang tinggi.

Media NPSi merupakan media yang terdiri atas urea sebagai sumber nitrogen, *super phosphate* sebagai sumber fosfat dan natrium silikat sebagai sumber silika (Setyaningsih, 2014). Pada penelitian Trikuti *et al.* (2015), *Chaetoceros calcitrans* pada media NPSi memiliki kepadatan sel tertinggi sebesar  $2,4 \times 10^7$  sel/mL. Namun pada media NPSi *Chaetoceros calcitrans* memiliki kadar protein yang rendah

dibandingkan *Chaetoceros calcitrans* pada media Pertanian, Guillard dan Walne dengan nilai 20,65%. Hal ini disebabkan tidak terdapat kandungan  $\text{FeCl}_3$  yang terdapat di dalam media NPSi (Trikuti *et al.*, 2015).

Ferri klorida memiliki peranan penting dalam komposisi biokimia seluler karena memiliki redoks dan implikasi dalam proses-proses penting seperti fotosintesis, respirasi, fiksasi nitrogen dan sintesis DNA. Keterbatasan zat besi dapat menurunkan kandungan protein (Vassiliev *et al.*, 1995). Besi termasuk unsur yang esensial bagi makhluk hidup. Pada tumbuhan termasuk algae, Fe berperan sebagai penyusun sitokrom dan klorofil. Selain itu, Fe juga berperan dalam sistem enzim dan transfer elektron pada proses fotosintesis (Effendi, 2003). Menurut Masitah *et al.* (2009), penambahan  $\text{FeCl}_3$  sebesar 12  $\mu\text{M}$  dapat meningkatkan pertumbuhan dan populasi *Spirulina platensis* sebesar  $4,6 \times 10^4$  sel/ml dengan berat biomassa 1,22 g/L pada hari ke-6. Pada penelitian Primaryadi *et al.* (2015), mikroalga *Tetraselmis chuii* pada media BG-11 dengan penambahan Fe berupa  $\text{FeCl}_3$  sebanyak 24  $\mu\text{M}$  menghasilkan konsentrasi biomassa tertinggi sebesar  $4,3 \times 10^6$  sel/ml namun belum dilakukan pengujian kadar protein. Penelitian Vassiliev *et al.* (1995), mikroalga *Dunaliella tertiolecta* pada media air laut dengan penambahan Fe sebanyak 0,25  $\mu\text{M}$  menghasilkan kandungan protein lebih tinggi dibandingkan tanpa Fe. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan penambahan  $\text{FeCl}_3$  terbaik pada media NPSi untuk menghasilkan konsentrasi biomassa *Chaetoceros calcitrans* dengan kandungan protein tertinggi.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan, Laboratorium Mikrobiologi, dan Laboratorium Analisis Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. Waktu Pelaksanaan penelitian dimulai dari Juli – Oktober 2016.

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroalga *Chaetoceros calcitrans* yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut Gondol. Air laut dari Pantai Pandawa dikarenakan memiliki salinitas 30-35 ppt. Bahan yang digunakan untuk media tumbuh adalah Urea, TSP, Trace Element,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  (silikat), Vitamin Mix dan Aquades. Bahan untuk analisis kadar protein adalah Tablet kjeldahl,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, NaOH 50%, PP, asam borat 3% dan HCl 0,1 N.

## Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik (*Ohaus Pioneer*), toples plastik, plastik, botol sampel, toples kaca, jerigen, batang pengaduk, aerator (Boyu S-4000 b), selang, botol heksan, lampu neon (*Phillips*), kertas saring, hemacytometer (*Neubauer Improved*), *cover glass* (*Matsumita Glass*), *hand counter* (*Joyco*), mikroskop (*Cole Parmer*), lux meter, corong plastik, autoklaf (*Tommy*), oven (*Ecocell*), *waterbath*, lemari pendingin (*Sharp*), pH meter, thermometer, *Erlenmeyer* (*Pyrex*), *Beaker glass* (*Pyrex*), pipet tetes (*Iwaki*), *labu kjedahl*, pipet titrasi, kompor, kapas, *tissue*, *aluminium foil*.

## Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan satu faktor yaitu penambahan  $\text{FeCl}_3$  yang terdiri atas 4 taraf, yaitu: F0 = 0  $\mu\text{M}$ , F1 = 12  $\mu\text{M}$ , F2 = 24  $\mu\text{M}$  dan F3 = 36  $\mu\text{M}$ . Masing-masing unit percobaan dikelompokkan menjadi 4 (K1, K2, K3 dan K4) berdasarkan waktu kultivasi sehingga diperoleh 16 unit percobaan. Data yang diperoleh dari masing-masing perlakuan dianalisis dengan sidik ragam, apabila perlakuan berpengaruh nyata terhadap parameter yang diamati maka dilanjutkan dengan uji BNT (Steel dan Torrie, 1993).

## Pelaksanaan Penelitian

### Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan proses yang bertujuan untuk membersihkan alat, media serta tempat yang akan digunakan untuk kultivasi mikroalga dari mikroorganisme serta bahan kimia yang dapat menjadi kontaminan. Air laut disterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu 115°C selama 30 menit (BBPPBL, 2015). Alat-alat kaca yang digunakan seperti *Erlenmeyer*, *Beaker glass* dan pipet volume disterilisasi menggunakan oven dengan suhu 121°C selama 15 menit. Peralatan plastik seperti selang aerasi dan tutup botol disterilisasi menggunakan air panas.

### Pembuatan Media

Pada penelitian ini *Chaetoceros calcitrans* dikultivasi menggunakan media NPSi yang ditambahkan  $\text{FeCl}_3$ . Tahapan dalam pembuatan media yaitu: menyiapkan bahan-bahan, kemudian ditimbang sesuai dengan komposisinya, selanjutnya semua bahan yang telah ditimbang dilarutkan dengan aquades, campuran larutan tersebut diaduk hingga homogen. Larutan dimasukkan ke botol kaca untuk selanjutnya disterilisasi dengan menggunakan autoclave dengan suhu 120°C selama 15 menit

(Trikuti *et al.*, 2015). Bila tidak langsung digunakan media dapat disimpan di lemari pendingin. Komposisi media NPSi dan komposisi vitamin mix dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

**Tabel 1.** Komposisi Media NPSi

Bahan	Jumlah
<b>Urea (N)</b>	2,17 g
Aquades	sampai 100 mL
<b>TSP (P)</b>	0,3125 g
Aquades	sampai 100 mL
<b>Silikat (Si)</b>	0,2941 g
Aquades	sampai 100 mL
<b>Trace Metal A</b>	
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	1,95 g
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	4,4 g
Aquadest	sampai 100 mL
<b>Trace Metal B</b>	
NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	1,26 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> .Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	6,43 g
Aquadest	sampai 100 mL
<b>Trace Metal C</b>	
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	3,6 g
Aquades	sampai 100 mL
<b>Trace Metal D</b>	
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	2 g
Aquades	sampai 100 mL

Sumber : Setyaningsih, *et al.* (2014)

**Tabel 2.** Komposisi Vitamin Mix

Nutrisi	Jumlah
Vitamin B1	0.2 g
Aquades	250 mL
Vitamin B12	0.1 g
Aquades	250 mL

Sumber: BBPPBL (2015)

Tahapan pembuatan larutan Vitamin Mix yaitu: a) mensterilisasi alat-alat dan bahan yang digunakan seperti lumpang, Erlenmeyer, sendok dan aquades b) tablet vitamin B1 dan B12 dihancurkan menggunakan lumpang yang sudah steril c) vitamin kemudian ditimbang sesuai komposisi pada Tabel 2 d) larutkan vitamin menggunakan aquades steril sebanyak 250 mL. Jika tidak segera digunakan, larutan vitamin mix dapat disimpan di lemari pendingin (5°C). Kebutuhan FeCl<sub>3</sub> pada penelitian ini adalah 1 mL/L. Kebutuhan vitamin pada penelitian ini adalah 1 mL/L kultur.

Menurut Masitah *et al.* (2009), dari perhitungan didapat bahwa setiap 1 µM FeCl<sub>3</sub> berisi 0,1625 mg/L. Larutan FeCl<sub>3</sub> dibuat sebagai perlakuan dengan tahapan yaitu: a) menimbang FeCl<sub>3</sub> sesuai konsentrasi perlakuan yaitu 12 µM, 24 µM dan 36 µM b) FeCl<sub>3</sub> dimasukkan ke dalam labu takar dan

dilarutkan dengan aquades hingga 100 mL c) Larutan  $\text{FeCl}_3$  disterilisasi di dalam autoclave. Jika tidak segera digunakan,  $\text{FeCl}_3$  dapat disimpan di lemari pendingin ( $5^\circ\text{C}$ ). Kebutuhan  $\text{FeCl}_3$  pada penelitian ini adalah 1 mL/L. Kebutuhan  $\text{FeCl}_3$  pada penelitian ini adalah 1 mL/L kultur.

### **Pembuatan Starter**

Starter *Chaetoceros calcitrans* dibuat masing-masing sebanyak 1 L (Trikuti *et al.*, 2015). Botol yang telah berisi air laut steril masing-masing ditambahkan media sesuai perlakuan. Media NPSi yang terdiri dari beberapa larutan ditambahkan dengan cara sebagai berikut : Larutan urea 3 mL, Larutan TSP 1 mL, Larutan silika 4 mL, Larutan *trace element* 1 mL dan vitamin mix sebanyak 1 mL. Masing-masing air laut yang telah berisikan media ditambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$  sesuai perlakuan. Masing-masing kultur diberikan aerasi selama proses kultivasi dengan tujuan untuk meratakan penyebaran nutrisi dan sirkulasi pada kultur sehingga proses fotosintesis terjadi secara optimal. Setelah mencapai kepadatan yang diinginkan, starter siap digunakan untuk proses produksi biomassa pada media dengan volume yang lebih besar.

### **Produksi Biomassa**

Proses produksi biomassa *Chaetoceros calcitrans* sama dengan proses pembuatan starter *Chaetoceros calcitrans* tetapi dalam volume 3 L dengan kepadatan awal starter yang digunakan sebesar  $2,5 \times 10^6$  sel/mL. Pada hari ke-6 dilakukan penghitungan kepadatan biomassa *Chaetoceros calcitrans* menggunakan *haemocytometer*. Pemanenan dapat dilakukan dengan cara menghentikan aerasi kemudian ditambahkan tawas sebanyak 0,15 g/L. Biomassa yang telah mengendap dipisahkan dengan air dan media kulturnya. Biomassa kemudian dicuci hingga salinitasnya 0 ppt (BBPPBL Gondol, 2015). Setelah mendapatkan biomassa murni biomassa dikeringkan dan dianalisis kandungan proteinnya.

### **Parameter yang diamati**

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah konsentrasi biomassa menggunakan *hemacytometer* (BBPPBL, 2015), kadar protein dengan metode mikro Kjeldahl (Sudarmadji *et al.*, 1997) dan kadar air *Chaetoceros calcitrans* dengan metode pemanasan menggunakan oven (Sudarmadji *et al.*, 1997).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Konsentrasi Biomassa Sel Mikroalga *Chaetoceros calcitrans* yang Dikultivasi pada Media NPSi

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan penambahan  $\text{FeCl}_3$  berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap konsentrasi biomassa sel *Chaetoceros calcitrans*. Hasil analisis konsentrasi biomassa *Chaetoceros calcitrans* dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Konsentrasi biomassa *Chaetoceros calcitrans* setelah kultivasi selama 6 hari.

Konsentrasi $\text{FeCl}_3$ ( $\mu\text{M}$ )	Konsentrasi Biomassa ( $10^7 \text{ sel/mL}$ )
0	$2,3 \pm 0,17$ d
12	$2,8 \pm 0,11$ c
24	$3,4 \pm 0,17$ b
36	$4,1 \pm 0,09$ a

Keterangan : Huruf yang berbeda dibelakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ )

Tabel 3 menunjukkan bahwa konsentrasi biomassa tertinggi pada perlakuan F3 yaitu penambahan  $\text{FeCl}_3$  sebanyak  $36 \mu\text{M}$  dengan nilai  $4,1 \times 10^7 \text{ sel/mL}$ . Konsentrasi biomassa terendah dihasilkan pada perlakuan F0 yaitu tanpa penambahan  $\text{FeCl}_3$  dengan nilai  $2,3 \times 10^7 \text{ sel/mL}$ . Hal ini dikarenakan Fe merupakan unsur yang berperan dalam proses pembentukan klorofil untuk proses fotosintesis yang hasilnya digunakan untuk pertumbuhan (Fogg, 1965). Nishio *et al.* (1985) menyatakan kepadatan yang tinggi juga disebabkan oleh Fe yang terdapat dalam  $\text{FeCl}_3$  mampu diserap dengan baik oleh mikroalga setelah starter dimasukkan ke dalam media kultur. Tabel 3 juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi  $\text{FeCl}_3$  yang ditambahkan, maka semakin tinggi pula konsentrasi biomassa mikroalga *Chaetoceros calcitrans*. Menurut Masitah *et al.* (2009), penambahan  $\text{FeCl}_3$  sebesar  $12 \mu\text{M}$  dapat meningkatkan pertumbuhan dan populasi *Spirulina platensis* sebesar  $4,6 \times 10^4 \text{ sel/mL}$  dengan berat biomassa  $1,22 \text{ g/L}$ . Hal ini dikarenakan Fe juga berperan penting dalam regulasi metabolisme sel sebagai unsur esensial pada mikroalga yang dapat meningkatkan pertumbuhan sel, sehingga jika kekurangan konsentrasi Fe akan menekan pertumbuhan sel yang mengakibatkan kepadatan sel menjadi lebih sedikit (Allen *et al.*, 2011).

### Kadar Protein dan Kadar Air Mikroalga *Chaetoceros calcitrans* pada Media NPSi dengan Konsentrasi $\text{FeCl}_3$ yang Berbeda

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan penambahan  $\text{FeCl}_3$  yang berbeda berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kandungan protein *Chaetoceros calcitrans* dan tidak

berpengaruh ( $P > 0,05$ ) terhadap kadar air *Chaetoceros calcitrans*. Data hasil analisis konsentrasi biomassa *Chaetoceros calcitrans* dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Kandungan Protein dan Kadar Air *Chaetoceros calcitrans* setelah kultivasi selama 6 hari.

Konsentrasi FeCl <sub>3</sub> ( $\mu\text{M}$ )	Kandungan Protein (%BK)	Kadar Air (%)
0	18,44 $\pm$ 1,17 d	14,84 $\pm$ 0,74 a
12	20,22 $\pm$ 0,47 c	14,54 $\pm$ 0,36 a
24	22,86 $\pm$ 0,79 b	15,17 $\pm$ 0,88 a
36	25,41 $\pm$ 0,83 a	15,49 $\pm$ 0,50 a

Keterangan : Huruf yang berbeda dibelakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ )

Tabel 4 menunjukkan bahwa kandungan protein *Chaetoceros calcitrans* yang dikultur pada media NPSi dengan penambahan FeCl<sub>3</sub> yang berbeda. Pada penambahan FeCl<sub>3</sub> sebanyak 12  $\mu\text{M}$ , 24  $\mu\text{M}$  dan 36  $\mu\text{M}$  memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan tanpa FeCl<sub>3</sub>. Hal ini sejalan dengan penelitian Vassiliev *et al.* (1995) yang menyatakan mikroalga *Dunaliella tertiolecta* pada media air laut dengan penambahan Fe sebanyak 0,25  $\mu\text{M}$  menghasilkan kandungan protein lebih tinggi dibandingkan tanpa Fe. Kandungan protein terendah berturut-turut yaitu, F0 sebesar 18,44%, F1 sebesar 20,22%, F2 sebesar 22,86% dan F3 sebesar 25,41%. Peningkatan kandungan protein dari masing-masing perlakuan terjadi dikarenakan Fe bekerja sama dengan enzim nitrat reduktase dalam mereduksi nitrat menjadi nitrit, kemudian nitrit menjadi ammonium (Kaplan *et al.*, 1986). Amonium merupakan sumber nitrogen yang mampu diserap oleh mikroalga. Nitrogen merupakan nutrisi yang dibutuhkan paling banyak untuk pertumbuhan mikroalga (Wijaya, 2006), yaitu sebagai unsur penting dalam pembentukan protein (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Tabel 5 juga menunjukkan bahwa kadar air *Chaetoceros calcitrans* yang dikultur pada media NPSi dengan penambahan FeCl<sub>3</sub> dengan beberapa konsentrasi. Perlakuan penambahan FeCl<sub>3</sub> tidak berpengaruh terhadap kadar air biomassa mikroalga *Chaetoceros calcitrans*.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan:

1. Penambahan feri klorida pada media NPSi berpengaruh sangat nyata terhadap konsentrasi biomassa dan kandungan protein mikroalga *Chaetoceros calcitrans*.
2. Konsentrasi feri klorida dalam media NPSi sebesar 36  $\mu\text{M}$  merupakan perlakuan terbaik dalam menghasilkan konsentrasi biomassa *Chaetoceros calcitrans* sebesar  $4,1 \times 10^7$  sel/mL dan kandungan protein sebesar 25,41%.

## Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai modifikasi media kultur untuk meningkatkan kandungan protein dan dapat mengetahui ambang batas penambahan  $\text{FeCl}_3$  terhadap mikroalga *Chaetoceros calcitrans*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Allen, J. F., de Paula, B. M. W., Puthiyaveetil, S. and Nield, J. 2011. A structural phylogenetic map for chloroplast photosynthesis. *Trends in Plant Science*. 16 : 645-655.
- Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut, Gondol. 2015. Teknik Budidaya Mikroalga. Provinsi Bali.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan. Kanisius. Yogyakarta.
- Ermayanti, E. 2011. Komponen Kimia *Chaetoceros gracilis* yang Dikultivasi di Outdoor Menggunakan Media Pupuk NPSi. Skripsi (tidak dipublikasikan). Departemen Teknologi Hasil Perairan. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Enright, C. T., Newkirk G. F., Craigie J. S., Castell J. D. 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 96 : 1-13.
- Fogg, G.E. 1965. *Algae Culture and Phytoplankton Ecology*. The University of Wisconsin Press. Madison. Milk Wauhe.
- Kaplan, D., A. E. Richmond, Z. Dubinsky and S. Aaronson. 1986. Alga Nutrition. In : A. Richmond (Eds). *CRC Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC Press, Inc. Florida. 147-198.
- Masitah, E. D., Sari, L. A., Satyaniti, W. H., dan Mukti, A. T. 2009. Pengaruh penambahan  $\text{FeCl}_3$  terhadap pertumbuhan *Spirulina platensis* yang dikultur pada media asal blotong kering. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Nishio, J. N., J. Abadia and N. Terry. 1985. Chlorophyll proteins and electron transport during iron nutrition mediated chloroplast. *Plant Physiology*. 78 (2): 296-299.
- Primaryadi, I. N. B., Anggreni A. A. M. D dan Wartini N. M. 2015. Pengaruh penambahan magnesium sulfat heptahidrat dan feri klorida pada blue green medium-11 terhadap konsentrasi biomassa dan kandungan klorofil mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 3 (2): 92-100.
- Pronker, A. E., Nevejan N. M., Peene F., Geijsen P., Sorgeloos P. 2008. Hatchery broodstock conditioning of the blue mussel *Mytilus edulis* (Linnaeus 1758). *Aquaculture International*. 16 (4): 297-307.



- Rico-Villa, B., Coz J. R. L., Mingant C., Robert R. 2006. Influence of phytoplankton diet mixture on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Journal Aquaculture*. 256 (1-4) : 377–388.
- Rosmarkam, A. dan Nasih W. Y. 2002. *Ilmu Kesuburan Tanah*. Kanisius. Yogyakarta.
- Setyaningsih, I., Tati N dan Uzainah A. 2014. Pengaruh media kultivasi *Chaetoceros gracilis* terhadap kandungan kimiawi dan potensi inhibitor protease. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 24 (2): 222-227.
- Steel, R. G. D dan J. H. Torrie. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. Terjemahan: M. Syah. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. Setyaningsih, I., T. Nurhayati dan U. Aremhas. 2014. Pengaruh Media Kultivasi *Chaetoceros gracilis* Terhadap Kandungan Kimiawi dan Potensi Inhibitor Protease. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sudarmadji, S. B. H dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Tredici, M. R., Biondi N., Ponis E., Rodolfi L., Chini Z. G. 2009. Advances in microalgal culture for aquaculture feed and other uses. *Journal Biofuels*. 1 : 143-162.
- Trikuti, I. K., Anggreni A. A. M. D dan Gunam I. B. W. 2015. Pengaruh jenis media terhadap konsentrasi biomassa dan kandungan protein mikroalga *Chaetoceros calcitrans*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 4 (2): 13-22.
- Vassiliev, I. R., Kolber Z., Wyman K. D., Mauzerall D., S. Hukla V. K. dan Falkowski P. G. 1995. Effects of iron limitation on photosystem ii composition and light utilization in *Dunaliella tertiolecta*. *Plant Physiology*. 109 (3): 963-972.