

OPTIMASI SALINITAS DAN pH AWAL MEDIA BG-11 TERHADAP KONSENTRASI BIOMASSA DAN KLOOROFIL *Tetraselmis chuii*

Ida Ayu Adi¹, A.A. Made Dewi Anggreni², I Wayan Arnata²

¹ Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian UNUD

² Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian UNUD

E-mail: adiidaayu@yahoo.com¹

E-mail koresponden: dewianggreni@unud.ac.id²

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the optimum points of salinity and pH on BG-11 medium to produce maximum yields of biomass and chlorophyll of *Tetraselmis chuii*. The optimization was performed using Response Surface Methodology (RSM), and Central Composite Design (CCD) was used to study the effects of the optimum salinity and pH on biomass and chlorophyll concentration of *Tetraselmis chuii*. The results showed that the optimum points of initial salinity and pH on BG-11 medium to produce maximum yields of biomass of 2.42×10^6 cell/mL were 42.06‰ and 8.23, respectively. The optimum points of initial salinity and pH on BG-11 medium to produce maximum concentration of chlorophyll of 7.28 mg/g were 40.45‰ and pH 8.34, respectively. The validation using T test showed there were no difference between the actual and model score with p score of 0.14 and 0.06 for biomass concentration and chlorophyll content on *Tetraselmis chuii*, respectively.

Keywords: BG-11, biomass, chlorophyll, pH, salinity, *Tetraselmis chuii*.

PENDAHULUAN

Mikroalga (fitoplankton) merupakan tumbuhan primitif berukuran renik yang hidup di wilayah perairan, baik air tawar maupun air laut. Mikroalga merupakan produsen primer di wilayah perairan dengan kemampuan fotosintesis layaknya tumbuhan tingkat tinggi yang berada di daratan. Salah satu contoh mikroalga adalah *Tetraselmis chuii*. *Tetraselmis chuii* merupakan mikroalga dari kelas *Prasinophyceae*, berwarna hijau dan bersifat motil dengan 4 buah flagela (Kawaroe *et al.*, 2010). Mikroalga ini mengandung protein (48,42%), karbohidrat (12,10%), lemak (9,70%), dan total klorofil (3,65-19,20 mg/g) (Sani *et al.*, 2014).

Mikroalga merupakan sumber biomassa yang mengandung beberapa komponen penting didalamnya, seperti pigmen, asam lemak, protein, dan karbohidrat yang bervariasi sesuai dengan media tumbuh, faktor lingkungan, teknik pemanenan, dan metode pengeringan yang digunakan (Handayani, *et al.*, 2012). Kandungan senyawa didalamnya menyebabkan biomassa *Tetraselmis chuii* berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku untuk memproduksi produk lain,

yang dapat digunakan dalam industri pangan, kosmetik, farmasi, bahan bakar, dan sebagai pakan biota laut (Balai Budidaya Laut Lampung, 2002).

Klorofil merupakan senyawa dalam kloroplas alga yang berperan sebagai katalisator dan menyerap energi cahaya dalam fotosintesis (Riyono, 2007). Produksi klorofil alga dipengaruhi oleh kandungan Fe, Mg, dan Na dalam media tumbuh (Pujiono, 2013). Menurut Putra (2014), *Tetraselmis chuii* dalam media *BG-11* menghasilkan kepadatan sel tertinggi ($2,9 \times 10^6$ sel/mL). Konsentrasi Fe dan Mg dalam media *BG-11* yang menghasilkan konsentrasi biomassa dan klorofil terbaik adalah 4 g/L ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dan 24 μM (FeCl_3) (Primaryadi, 2015).

Selain media tumbuh, pertumbuhan mikroalga juga dipengaruhi oleh salinitas dan pH lingkungan (Kawaroe *et al.*, 2010). Salinitas mempengaruhi perubahan tingkat metabolisme mikroalga, sedangkan pH mempengaruhi tingkat fotosintetik mikroalga (Supramaniam *et al.*, 2012), dan kinerja enzim dalam proses metabolisme sel (Isnadina *et al.*, 2013). Menurut Ghezlbash *et al.* (2008), pertumbuhan optimum *Tetraselmis* sp. dengan intensitas cahaya 4.500 lux dalam media Walne terjadi pada salinitas 40%. Lebih lanjut, menurut Khatoon *et al.* (2014) pH 8,5 menghasilkan densitas sel, kandungan lemak, protein, dan karbohidrat *Tetraselmis* sp. yang terbaik.

Tingkat pertumbuhan mikroalga dapat ditentukan dengan mengukur kandungan klorofil, karena tingkat pertumbuhan mikroalga sejalan dengan kandungan klorofil didalamnya (Ramaraj *et al.*, 2013). Menurut Sihombing *et al.* (2013), kandungan klorofil-a mikroalga meningkat seiring meningkatnya pH lingkungan. Lebih lanjut, kandungan klorofil terbaik mikroalga *Lyngbya* sp. terjadi pada salinitas 30% (Rosly *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian diatas, dilakukan penelitian untuk menentukan salinitas dan pH awal yang optimum untuk menghasilkan konsentrasi biomassa dan klorofil tertinggi dari mikroalga *Tetraselmis chuii*.

METODE PENELITIAN

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan, dan Laboratorium Analisis Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan April-Agustus 2015.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik (Ohaus Pioneer); *aerator* (Boyu S-4000 b); selang plastik; botol kaca; lampu neon (Panasonic); *haemocytometer* dan *cover glass* (Neubauer Improved); *hand counter* (Joyko); mikroskop (Cole Palmer); *lux meter* (Krisbow); *vortex* (Barnstead Thermolyne); *autoclave* (Tommy); oven (Ecocell); *waterbath* (P Selecta); *pH meter* (Hanna Instrument); *waterproof salt tester* (Oakton Instruments); *sentrifuge* (Hettich); *thermometer*; alat-alat gelas (Iwaki); batu aerasi; kapas; aluminium *foil* dan *cling wrap* (Klin Pak); dan spektrofotometer (Thermo Scientific Genesys 10s Uv-vis).

Penelitian ini menggunakan kultur mikroalga *Tetraselmis chuii* (Balai Budidaya Laut Gondol, Buleleng-Bali), air laut (Pantai Pandawa, Badung-Bali), bahan pembuatan media *BG-11*, HCl, NaOH, NaCl, *aquadest*, etanol 70%, $Al_2(SO_4)_3$, dan C_3H_6O 80%.

Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Optimasi salinitas (X) dan pH (Y) awal media kultur terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil (Z) *Tetraselmis chuii* dilaksanakan dengan *Central Composite Design* (CCD) pada RSM. Perlakuan dan kode perlakuan rancangan penelitian dengan CCD pada metode permukaan respon dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Perlakuan dan kode perlakuan

Perlakuan	Kode Perlakuan				
	-1,414	-1	0	1	1,414
Salinitas (‰)	9	15	30	45	51
pH	6,6	7	8	9	9,4

Setelah diperoleh nilai hasil pengamatan, data diolah menggunakan *software* Statistica 10 hingga diperoleh model persamaan regresi untuk menentukan salinitas dan pH awal optimum yang menghasilkan konsentrasi biomassa dan klorofil tertinggi. Validasi data dilakukan dengan uji T untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan nilai aktual dan permodelan secara nyata.

Tabel 2. Rancangan penelitian dengan *Central Composite Design*

No	Variabel Kode		Variabel Asli	
	X	Y	Salinitas (‰)	pH
1	-1	-1	15	7
2	-1	1	15	9
3	1	-1	45	7
4	1	1	45	9
5	0	0	30	8
6	0	0	30	8
7	0	0	30	8
8	0	0	30	8
9	-1,414	0	9	8
10	1,414	0	51	8
11	0	-1,414	30	6,6
12	0	1,414	30	9,4

Pelaksanaan penelitian

1. Persiapan dan sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi peralatan gelas, air laut, dan media dilakukan dengan *autoclave* pada suhu 121^oC selama 15 menit, dan sterilisasi peralatan dari plastik menggunakan *waterbath* pada suhu 100^oC (Kawaroe et al., 2010).

2. Pembuatan media *BG-11*

Pembuatan media *BG-11* terdiri dari pembuatan larutan *trace element* (Kawaroe et al., 2010), media *BG-11* (Kawaroe et al., 2010; Primaryadi, 2015), dan *vitamin mix* (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Larutan *trace element* menggunakan H₃BO₃ (1,43 g), MnCl₂.4H₂O (0,905 g), Na₂MoO₄.2H₂O (0,195 g), ZnSO₄.7H₂O (0,111 g), CoCl₂.6H₂O (0,1 g), CuSO₄.5H₂O (0,0395 g) yang dilarutkan dengan *aquadest* hingga 500 mL. Pembuatan media *BG-11* menggunakan Na₂EDTA (0,0005 g), NaNO₃ (0,75 g), Na₂CO₃ (0,01 g), CaCl₂.2H₂O (0,018 g), MgSO₄.7H₂O (2 g), K₂HPO₄ (0,02 g), FeCl₃ (12 μM), C₆H₈O₇ (0,003 g), larutan *trace element* (0,5 mL), dan dilarutkan dengan *aquadest* hingga 500 mL. *Vitamin mix* menggunakan vitamin B1 (0,05 g) dan vitamin B12 (0,1 g) dilarutkan dengan *aquadest* (37-38^oC) hingga 500 mL.

3. Pembuatan starter *Tetraselmis chuii*

Pada pembuatan *starter*, media *BG-11* dan *vitamin mix* masing-masing 1 mL/L dimasukkan ke dalam 700 mL air laut steril yang pH dan salinitasnya telah diatur sesuai perlakuan. Kemudian ditambahkan 300 mL bibit kultur *Tetraselmis chuii* dan dikulturisasi selama 7 hari (Putra, 2014) menggunakan intensitas cahaya 5.000 lux dan suhu 30^oC dengan aerasi secara terus-menerus.

4. Produksi biomassa *Tetraselmis chuii*

Produksi biomassa *Tetraselmis chuii* dilakukan menggunakan cara yang sama dengan pembuatan starter, namun dalam volume 2 liter. Biomassa *Tetraselmis chuii* dipanen pada akhir masa eksponensial dan dibilas hingga salinitas 0‰. Biomassa basah yang diperoleh dikeringkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, tekanan 80 Mbar, dan kecepatan 200 rpm. Biomassa kering yang diperoleh kemudian dianalisis kadar klorofil didalamnya.

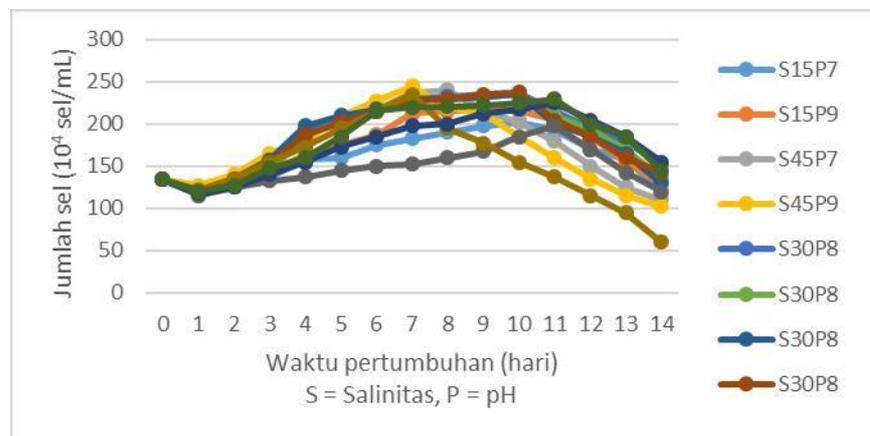
Variabel yang diamati

Variabel yang diamati adalah konsentrasi biomassa mikroalga *Tetraselmis chuii* untuk mengetahui kurva pertumbuhan dan kepadatan sel mikroalga pada akhir masa kultivasi, serta konsentrasi klorofil *Tetraselmis chuii*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva pertumbuhan dan penentuan waktu panen terbaik *Tetraselmis chuii*

Pembuatan kurva pertumbuhan dan penentuan waktu panen dilakukan dengan kepadatan awal $1,34 \times 10^6$ sel/mL. Pengamatan terhadap kepadatan sel dilakukan selama 14 hari secara konsisten. Pengamatan dihentikan jika kepadatan sel telah mengalami penurunan di seluruh perlakuan. Kurva pertumbuhan hasil pengamatan *Tetraselmis chuii* pada media *BG-11* dengan salinitas dan pH yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Tetraselmis chuii* pada media *BG-11* dengan pH dan salinitas yang berbeda

Kepadatan sel mikroalga memiliki perbedaan antar perlakuan yang disebabkan oleh perbedaan kondisi pertumbuhan kultur mikroalga. Menurut Rosly *et al.* (2013) dan Tamam *et al.* (2011), pertumbuhan mikroalga meningkat seiring

dengan meningkatnya salinitas kultur hingga batas tertentu yang dapat ditoleransi oleh sel mikroalga.

Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* pada salinitas tinggi (45‰ dan 51‰) lebih dahulu mengalami penurunan jumlah sel (hari ke 8 dan 9) jika dibandingkan dengan perlakuan pada salinitas yang lebih rendah (9‰ pada hari ke 12). *Tetraselmis chuii* yang dikultivasi dengan salinitas 15-30‰ mengalami pertumbuhan yang serupa dengan penelitian sebelumnya, dimana penurunan jumlah sel terjadi pada hari ke 11 dengan media *BG-11* (Putra, 2014). Fase eksponensial *Tetraselmis chuii* terjadi pada hari yang berbeda, sehingga waktu pemanenan yang digunakan juga berbeda. Pemanenan dimulai dari hari ke 7 hingga hari ke 11 dengan jumlah sel tertinggi pada $2,45 \times 10^6$ sel/mL.

Konsentrasi biomassa sel *Tetraselmis chuii* dengan perlakuan salinitas dan pH awal

Pertumbuhan mikroalga ditandai dengan meningkatnya konsentrasi biomassa sel yang dipengaruhi beberapa faktor, diantaranya pH dan salinitas kultur. Salinitas berpengaruh pada tekanan osmosis dan mekanisme osmoregulasi yang secara langsung akan mempengaruhi metabolisme, respirasi, dan proses pembiakan sel vegetatif, yang secara bertahap akan mempengaruhi kepadatan populasi mikroalga (Vasquez-Duhalt *et al.*, 1991). Kadar pH mempengaruhi tingkat fotosintetik mikroalga (Supramaniam *et al.*, 2012), dan kinerja enzim dalam proses metabolisme sel (Isnadina *et al.*, 2013). Derajat keasaman (pH) media menentukan kelarutan dan ketersediaan ion mineral, sehingga mempengaruhi penyerapan nutrisi oleh sel (Nattasya, 2009).

Optimasi salinitas dan pH awal menggunakan *Response surface methodology* (RSM). Data hasil pengamatan salinitas dan pH awal terhadap konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii* dapat dilihat pada Tabel 3.

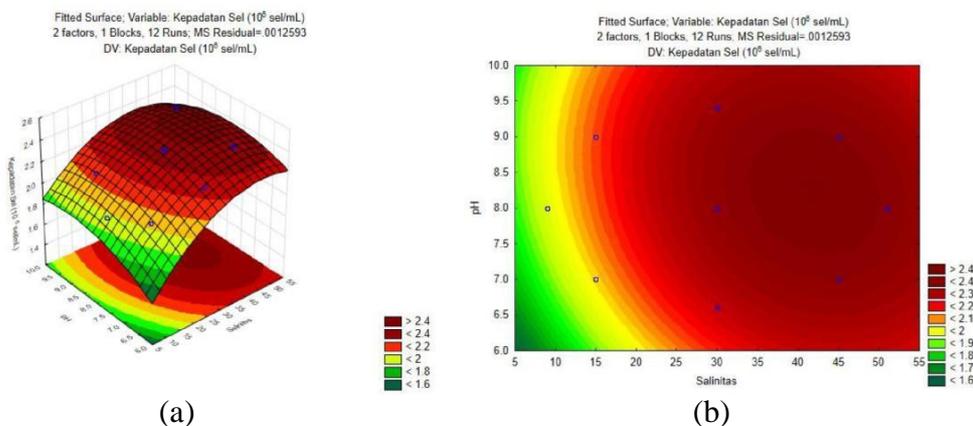
Hasil analisis menunjukkan bahwa titik optimum salinitas dan pH awal yang menghasilkan konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii* berada pada salinitas 42,06‰ dan pH 8,23 dengan konsentrasi biomassa sebesar $2,42 \times 10^6$ sel/mL. Model persamaan regresi yang diperoleh adalah $Z = -1,039 + 0,045X - 0,0004X^2 + 0,614Y - 0,034 Y^2 - 0,001XY + 0$, dengan koefisien determinasi (R) = 0,97005 sehingga salinitas dan pH awal memiliki pengaruh sebesar 97,005% terhadap pertumbuhan *Tetraselmis chuii*, sedangkan sisanya (2,995%) dipengaruhi oleh

faktor lain (media tumbuh, intensitas cahaya, suhu, aerasi, dan spesies). Hal ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya, dimana mikroalga *Tetraselmis* sp. tumbuh secara maksimum pada pH 8,5 (Khatoon *et al.*, 2014), dan salinitas 40‰ dengan intensitas cahaya 4.500 lux pada media Walne (Ghezlbash *et al.*, 2008). Menurut Bai *et al.* (2013) *Tetraselmis suecica* tumbuh secara maksimum pada suhu 25^oC dengan salinitas 40‰ dan pH 9,0.

Tabel 3. Data hasil pengamatan salinitas dan pH awal terhadap konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii*

No.	Salinitas Awal (%)	pH Awal	Konsentrasi Biomassa (sel/mL)
1	15	7	2,03 x 10 ⁶
2	15	9	2,15 x 10 ⁶
3	45	7	2,40 x 10 ⁶
4	45	9	2,45 x 10 ⁶
5	30	8	2,38 x 10 ⁶
6	30	8	2,35 x 10 ⁶
7	30	8	2,35 x 10 ⁶
8	30	8	2,38 x 10 ⁶
9	9	8	1,98 x 10 ⁶
10	51	8	2,35 x 10 ⁶
11	30	6,6	2,25 x 10 ⁶
12	30	9,4	2,30 x 10 ⁶

Grafik respon permukaan dan *scatter plot* memiliki perbedaan warna untuk menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi biomassa dengan kombinasi salinitas dan pH awal (Gambar 2). Warna merah tua pada grafik menunjukkan konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii* lebih dari 2,4 x 10⁶ sel/mL, sedangkan warna hijau tua menunjukkan konsentrasi biomassa kurang dari 1,6 x 10⁶ sel/mL.



Gambar 2. Grafik respon permukaan (a) dan *scatter plot* (b) konsentrasi biomassa sel *Tetraselmis chuii*.

Pada penelitian ini, validasi model dilakukan dengan membandingkan konsentrasi biomassa sel *Tetraselmis chuii* secara aktual dengan konsentrasi biomassa berdasarkan persamaan model optimum yang diperoleh. Perbandingan konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Perbandingan konsentrasi biomassa sel *Tetraselmis chuii* aktual dan model

No.	Salinitas Awal (%)	pH Awal	Respon Konsentrasi Biomassa <i>Tetraselmis chuii</i> (mg/L)	
			Aktual	Model
1	40	7,5	$2,35 \times 10^0$	$2,34 \times 10^0$
2	42	8,2	$2,45 \times 10^0$	$2,42 \times 10^0$
3	44	9,1	$2,35 \times 10^0$	$2,39 \times 10^0$

Berdasarkan hasil validasi data menggunakan uji T, diperoleh nilai p sebesar 0,144 dimana nilai ini lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antara konsentrasi biomassa *Tetraselmis chuii* secara aktual dengan konsentrasi biomassa dari persamaan model optimumnya, sehingga persamaan ini dapat digunakan pada kondisi nyata.

Kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* dengan perlakuan salinitas dan pH awal

Klorofil merupakan pigmen fotosintetik berwarna hijau yang terdapat pada kloroplas sel di seluruh makhluk hidup yang dapat melakukan fotosintesis. Kandungan klorofil mikroalga umum digunakan dalam menentukan densitas sel suatu kultur mikroalga karena densitas sel atau konsentrasi biomassa sel mikroalga sejalan dengan kandungan pigmen klorofil didalamnya. Seperti pada konsentrasi sel, kandungan klorofil mikroalga juga dipengaruhi oleh salinitas dan pH media kulturisasi yang digunakan.

Optimasi salinitas dan pH awal yang dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mencari salinitas dan pH awal yang optimal untuk menghasilkan kandungan klorofil tertinggi mikroalga *Tetraselmis chuii* menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Data hasil pengamatan salinitas dan pH awal terhadap kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* dapat dilihat pada Tabel 5.

Hasil analisis menunjukkan bahwa titik optimum pada salinitas 40,45% dan pH 8,34 dengan konsentrasi kandungan klorofil sebesar 7,28 mg/g. Model persamaan regresi yang diperoleh adalah $Z = -24,545 + 0,184X - 0,002X^2 + 6,742Y - 0,399Y^2 - 0,002XY + 0$, dengan koefisien determinasi (R) = 0,9656 sehingga salinitas dan pH awal memiliki pengaruh sebesar 96,56% terhadap

pertumbuhan *Tetraselmis chuii*, sedangkan sisanya (3,44%) dipengaruhi oleh faktor lain (media tumbuh, intensitas cahaya, suhu, aerasi, dan spesies). Menurut Sani *et al.* (2014), *Tetraselmis chuii* mengandung klorofil sebesar 3,65-19,20 mg/g, sesuai dengan hasil penelitian ini dimana kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* pada titik optimumnya sebesar 7,28 mg/g. Kandungan klorofil mikroalga *Lyngbya* sp. pada salinitas yang berbeda cenderung meningkat seiring dengan meningkatnya salinitas kultur (Rosly *et al.*, 2013), sedangkan menurut Sihombing *et al.* (2013), semakin tinggi pH lingkungan maka kandungan klorofil-a fitoplankton akan semakin tinggi.

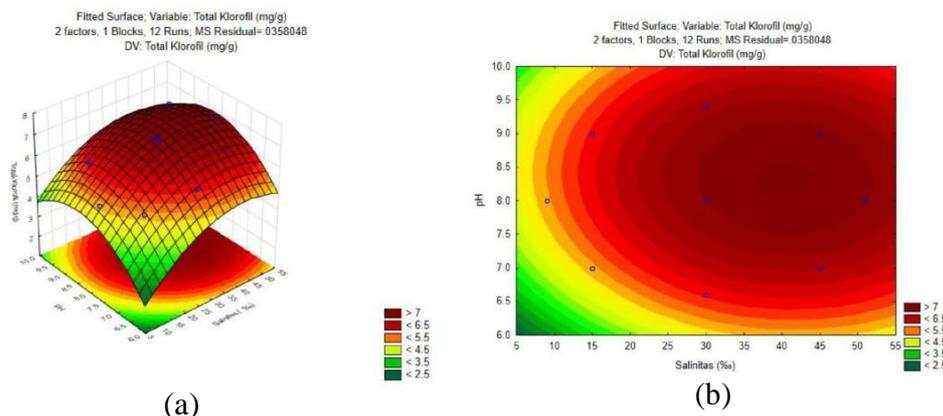
Tabel 5. Data hasil pengujian salinitas dan pH terhadap kandungan klorofil *Tetraselmis chuii*

No.	Salinitas (%)	pH	Klorofil (mg/g)
1	15	7	5,18
2	15	9	6,01
3	45	7	6,48
4	45	9	7,19
5	30	8	7,09
6	30	8	7,08
7	30	8	6,75
8	30	8	7,11
9	9	8	5,07
10	51	8	7,00
11	30	6,6	5,88
12	30	9,4	6,42

Perubahan warna pada grafik respon permukaan dan *scatter plot* menunjukkan adanya perbedaan kandungan klorofil dengan kombinasi salinitas dan pH yang berbeda (Gambar 3). Warna merah tua pada grafik menunjukkan kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* lebih dari 7 mg/g, sedangkan warna hijau tua menunjukkan kandungan klorofil kurang dari 2,5 mg/g.

Validasi model dilakukan dengan membandingkan kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* hasil pengamatan dengan kandungan klorofil dari persamaan model optimum (Tabel 6). Berdasarkan hasil validasi data menggunakan uji T, diperoleh nilai p sebesar 0,06 dimana nilai ini lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antara kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* secara aktual dengan kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* yang

dihasilkan dari persamaan model optimumnya, sehingga model yang digunakan dapat diterapkan pada kondisi nyata.



Gambar 3. Grafik respon permukaan (a) dan *scatter plot* (b) kadar klorofil *Tetraselmis chuii*

Tabel 6. Perbandingan kandungan klorofil *Tetraselmis chuii* aktual dan model

No.	Salinitas (%)	pH	Respon Kandungan Klorofil <i>Tetraselmis chuii</i> (mg/g)	
			Aktual	Model
1	39	7,3	6,56	6,77
2	40	8,3	6,84	7,28
3	41	9,3	6,59	6,83

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka salinitas dan pH awal yang optimum pada media *BG-11* untuk menghasilkan biomassa sel *Tetraselmis chuii* tertinggi adalah salinitas 42,06‰ dan pH 8,23 dengan konsentrasi biomassa sebesar $2,42 \times 10^6$ sel/mL. Salinitas dan pH awal yang optimum pada media *BG-11* untuk mendapatkan kandungan klorofil mikroalga *Tetraselmis chuii* tertinggi adalah salinitas 40,45‰ dan pH 8,34 dengan kandungan klorofil sebesar 7,28 mg/g. Hasil validasi menggunakan uji T menunjukkan tidak terdapat perbedaan antara nilai berdasarkan permodelan dan nilai aktual, dengan nilai p sebesar 0,14 untuk konsentrasi biomassa, dan 0,06 untuk kandungan klorofil mikroalga *Tetraselmis chuii*.

Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa yang terkandung di dalam mikroalga *Tetraselmis chuii*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bai, V. D. M., S. Krishnakumar, 2013. Evaluation of Antimicrobial Metabolites from Marine Microalgae *Tetraselmis suecica* Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Analysis. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 5 (3): 17-23.
- Balai Budidaya Laut Lampung, 2002. Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. Balai Budidaya Laut Lampung. Bandar Lampung.
- Ghezelbash, F., T. Farboodnia, R. Heindari, N. Agh, 2008. Effects of Different Salinities and Luminance on Growth Rate of The Green Microalgae *Tetraselmis chuii*. Research Journal of Biological Sciences 3 (3): 311-314.
- Handayani, N. A., D. Ariyanti, 2012. Potensi Mikroalga Sebagai Sumber Biomassa dan Pengembangan Produk Turunannya. Teknik 3 (2): 58-65.
- Isnadina, D. R. M., J. Hermana, 2013. Pengaruh Konsentrasi Bahan Organik, Salinitas, dan pH Terhadap Laju Pertumbuhan Alga. Modul. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.
- Isnansetyo, A., Kurniastuty, 1995. Teknik Kultur PhytoMikroalga dan ZooMikroalga Pakan 2 Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Kanisius. Yogyakarta.
- Kawaroe, M., T. Prartono, A. Sunuddin, D. W. Sari, D. Augustine, 2010. Mikroalga: Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar. IPB Press. Bogor.
- Khatoon, H., N. A. Rahman, S. Banerjee, N. Harun, S. S. Suleiman, N. H. Zakaria, F. Lananan, S. H. A Hamid, A. Endut, 2014. Effect of Different Salinities and pH on The Growth and Proximate Composition of *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. Isolated From South China Sea Cultured Under Control and Natural Condition. International Biodeterioration and Biodegradation 95 (A): 11-18.
- Nattasya, G. Y., 2009. Pengaruh Sedimen Berminyak Terhadap Pertumbuhan Mikroalga *Isochrysis* sp. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Primaryadi, I N. B., 2015. Pengaruh Penambahan Magnesium Sulfat Heptahidrat dan Feri Klorida Pada *Blue Green Medium* Terhadap Konsentrasi Biomassa dan Kandungan Klorofil Mikroalga *Tetraselmis chuii*. Skripsi. Universitas Udayana. Denpasar.
- Pujiono, A. E., 2013. Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* Pada Medium Air Laut dengan Intensitas Cahaya, Lama Penyinaran, dan Jumlah Inokulan yang Berbeda Pada Skala Laboratorium. Skripsi. Universitas Jember. Jember.

- Putra, I K. R. W., 2014. Pengaruh Jenis Media Terhadap Konsentrasi Biomassa, Klorofil, dan β -Karoten Mikroalga *Tetraselmis chuii*. Skripsi. Universitas Udayana. Denpasar.
- Ramaraj, R., D. W. Tsai, P. H. Chen., 2013. Chlorophyll is Not Accurate Measurement for Algal Biomass. *Chiang Mai Journal of Science* 40 (4): 547-555.
- Riyono, S. H., 2007. Beberapa Sifat Umum dari Klorofil Fitoplankton. *Oseana* 32 (1): 23-31.
- Rosly, N.F., R. A. A. Razak, P. Kuppusamy, M. M. Yusoff, N. Govindan, 2013. Induction of Bioactive Compound Composition From Marine Microalgae (*Lyngbya sp.*) by Using Different Stress Condition. *Journal of Coastal Life Medicine* 1 (3): 205-209.
- Sani, R. N., F. C. Nisa, R. D. Andriani, J. M. Maligan, 2014. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. *Pangan dan Agroindustri* 2 (2): 121-126.
- Sihombing, R. F., R. Aryawati, Hartoni, 2013. Kandungan Klorofil-a Fitoplankton di Sekitar Perairan Desa Sungsang Kabupaten Banyuasin Provinsi Sumatera Utara. *Maspari Journal* 5(1): 34-39.
- Supramaniam, J., K. Palanisamy, S. M. Nomanbhay, 2012. Study of The pH Changes of Microalgae (*Tetraselmis chuii*) Cultivated in Newly Developed Closed Photobioreactors Using Natural Sunlight and Artificial Light. *Journal of Energy and Environment* 4 (1): 18-20.
- Tammam, A. A., E. M. Fakhry, M. El-Sheekh, 2011. Effect of Salt on Antioxidant System and The Metabolism of The Reactive Oxygen Species in *Dunaliella salina* and *Dunaliella tertiolecta*. *African Journal of Biotechnology* 10 (19): 3795-3808.
- Vasquez-Duhalt R., B. O. Arredondo-Vega, 1991. Haloadaptation of The Green Alga *Botryococcus braunii* (race A). *Phytochemistry* 30: 2919-2925