

PENGARUH MEDIA HIPOSALIN DAN HIPERSALIN TERHADAP RESPON PERTUMBUHAN DAN BIOPIGMENT *Dunaliella salina*

Oleh

Muhammad Zainuddin, Noor Hamid, Luky Mudiarti, Nurcahyo Kursistyanto, Budi Aryono

Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Islam Nahdlatul Ulama, Jepara

Email : zain_mz86@yahoo.com

Received January 2017 Accepted March 2017

ABSTRAK

Dunaliella salina merupakan kelompok alga hijau yang menghasilkan pigmen (klorofil, karotenoid, β -karoten). Klorofil dan karotenoid dapat digunakan sebagai zat pewarna aditif, antioksidan, antikanker, anti-aging, dan Immunostimulan. Faktor lingkungan yang diduga mempengaruhi pertumbuhan sel dan kandungan pigmen *D. salina* adalah salinitas. Oleh karena itu perlu adanya penelitian mengenai pengaruh salinitas terhadap kandungan pigmen (klorofil a, b dan karotenoid), biomassa dan pertumbuhan sel pada *D. salina*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen laboratoris di Laboratorium Prodi Budidaya Perairan UNISNU - Jepara. Perlakuan perbedaan salinitas (hiposalin dan hipersalin) memberikan pengaruh secara signifikan ($p < 0,05$) terhadap pola pertumbuhan *D. salina*. Secara berurutan salinitas 20 ppt memiliki puncak pertumbuhan pada hari ke 10 dengan kepadatan 603×10^4 sel/ml, salinitas 25 ppt pada hari ke 10 sebesar 1081×10^4 sel/ml, salinitas 30 ppt hari ke 11 sebesar 1160×10^4 sel/ml, salinitas 35 ppt hari ke 11 sebesar 675×10^4 sel/ml, dan salinitas 40 ppt pada hari ke 12 sebesar 857×10^4 sel/ml. Berdasarkan data laju pertumbuhan menunjukkan nilai tertinggi pada salinitas 30 ppt ($p < 0,05$) yaitu $0,163^d \text{ jam}^{-1}$. Berdasarkan data konsentrasi pigmen menunjukkan salinitas 30 ppt memiliki nilai tertinggi ($p < 0,05$) yaitu klorofil a sebesar $10,961^c \text{ mg/l}$, klorofil b sebesar $3,636^b \text{ mg/ml}$, dan karotenoid sebesar $4,954^c \text{ mg/l}$.

Kata kunci : mikroalga, salinitas, pertumbuhan, pigmen, antioksidan.

ABSTRACT

Dunaliella salina is a group of green algae that produce pigments (chlorophyll, carotenoids, β -carotene). Chlorophyll and carotenoids can be used as additive, antioxidant, anticancer, anti-aging, and Immunostimulan. The environmental factor suspected to affect cell growth and pigment content of *D. salina* is salinity. Therefore, it is necessary to study the effect of salinity on pigment content (chlorophyll a, b and carotenoid), biomass and *D. salina* growth. This research was conducted by using laboratory experimental method in Laboratory of Cultivation Study Program of UNISNU - Jepara. Treatment of salinity differences (hyposaline and hypersaline) had significant effect ($p < 0.05$) on growth pattern of *D. salina*. The 20 ppt salinity has a growth peak on day 10 with a density of 603×10^4 cells / ml, salinity 25 ppt on day 10 of 1081×10^4 cells / ml, salinity 30 ppt day 11 is 1160×10^4 cells / ml, Salinity 35 ppt day 11 is 675×10^4 cells / ml, and salinity 40 ppt on day 12 is 857×10^4 cells / ml. Based on data growth rate showed the highest value at salinity 30 ppt ($p < 0,05$) that

is 0,163d hour-1. Based on the data of pigment concentration showed that salinity 30 ppt have the highest value ($p < 0,05$) that is chlorophyll a of 10,961c mg / l, chlorophyll b equal to 3,636b mg / ml, and carotenoid 4,954c mg / l.

Keywords: microalgae, salinity, growth, pigment, antioxidant.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Dunaliella salina merupakan kelompok alga hijau yang menghasilkan pigmen (klorofil, karotenoid, β -karoten). Klorofil dan karotenoid dapat digunakan sebagai zat pewarna aditif, antioksidan, antikanker, anti-aging, dan Immunostimulan. Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal yaitu jenis mikroalga, ukuran dan bentuk sel, dan fisiologi sel, sedangkan faktor eksternal yaitu suhu, pH intensitas cahaya, kimia-fisika dan salinitas. Setiap mikroalga memiliki bentuk penyesuaian yang berbeda terhadap faktor internal dan eksternal sesuai dengan kemampuan toleran mikroalga (Huang *et al.*, 2011).

Salinitas merupakan faktor yang penting dalam pembentukan pigmen, produksi biomassa dan pertumbuhan sel (Adenan, 2013). Penelitian mengenai pengaruh salinitas terhadap mikroalga telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Yudiati *et al.* (2010) melakukan penelitian mengenai pengaruh salinitas terhadap kandungan lipid mikroalga *Nannochloropsis* sp. Zhila *et al.* (2010) melakukan penelitian mengenai pengaruh salinitas terhadap kandungan biokimia mikroalga *Botryococcus braunii*. Gu *et al.* (2012) melakukan penelitian mengenai pengaruh salinitas terhadap pertumbuhan sel dan produksi lipid *Nannochloropsis oculata*.

Di perairan laut *D. salina* kelihatan berwarna hijau, tetapi pada kondisi dengan salinitas dan intensitas pencahayaan yang tinggi, mikroalga ini bisa berubah warna menjadi merah dan melindungi karotenoid pada selnya (Dhanam, 2013). Berdasarkan pentingnya pengaruh salinitas terhadap mikroalga dalam pertumbuhan, kepadatan, dan senyawa bioaktif (protein, lemak, karbohidrat, dan pigmen) maka perlu dikaji penelitian mengenai pengaruh salinitas yang berbeda terhadap pigmen dan biomassa pada *D. salina*.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah mikroalga *D. salina* dan menggunakan pupuk *Walne* yang didapatkan dari Laboratorium Pakan Hidup, BBPBAP – Jepara.

Metode Penelitian

Penelitian terdiri dari 6 tahap yaitu : (1). Pembuatan media kultur mengacu pada Gunawan (2004), (2). Kultivasi *D. salina* dalam eksperimen, (3). Penghitungan kepadatan sel mengacu pada metode Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), (4). Penghitungan laju pertumbuhan menurut Hirata *et al.* (1981), (5). Pemanenan

biomassa *D. salina* mengacu pada (Amini, 2010). (6). Analisis pigmen klorofil a, b dan karotenoid mengacu pada metode Vo (2014) dan Pital (2005).

Pembuatan Media Kultur

Stok air laut steril dengan salinitas 32 ppt kemudian diencerkan dengan salinitas yang diinginkan sesuai perlakuan. Pembuatan media air laut dengan salinitas yang diinginkan dalam kultur skala laboratorium (20 ppt, 25 ppt, 30 ppt, 35 ppt, 40 ppt). Media kultur yang digunakan adalah dengan menyediakan media 15 botol kultur masing – masing berkapasitas 500 ml yang berisi air laut 300 mL yang sudah diukur salinitas menggunakan refraktometer sebesar 20 ppt, 25 ppt, 30 ppt, 35, ppt, 40 ppt. Setiap perlakuan ada 3 pengulangan. Media air laut sebelumnya telah ditambahkan 1 ml/L pupuk Walne dan 0,1 ml/L Vitamin disetiap perlakuan dan diberi aerasi.

Kultivasi *Dunaliella salina* pada Salinitas yang Berbeda

Kepadatan awal *D. salina* adalah 118×10^4 sel/mL. Starter *D. salina* diinokulasikan kedalam masing – masing botol kultur sehingga mencapai kepadatan 10^5 sel/mL. botol kultur yang sudah diinokulasikan starter *D. salina* ditutup dengan kain kasa yang berisi kapas untuk menghindari media kultur dari kontaminasi udara luar yang berada disekitar kultivan. Pengukuran parameter kualitas media dilakukan setiap hari sekali pada sore hari pukul 15.00 WIB, yaitu pH, DO, dan salinitas agar mengetahui perkembangan dan tidak terjadi kontaminan terhadap mikroalga *D. salina* yang telah dikultivasi.

Perhitungan Kepadatan Sel

Perhitungan kepadatan (jumlah sel/mL) *D. salina* diamati dengan cara mengambil sampel setiap hari menggunakan pipet tetes, kemudian dimasukkan kedalam chamber haemocytometer. Selanjutnya dihitung jumlah sel secara langsung menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dan alat bantu handy counter. Teknik pengenceran dilakukan saat kepadatan *D. salina* sudah tinggi, rumus perhitungannya diadaptasi metode Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) sebagai berikut :

$$\text{Kepadatan} = \frac{N \text{ dalam 4 blok}}{\text{Jumlah blok (4)}} \times 10^4 \left(\frac{\text{sel}}{\text{mL}} \right)$$

Keterangan :

N : Jumlah sel mikroalga yang teramati

Laju Pertumbuhan *Dunaliella salina*

Laju pertumbuhan didapat dari jumlah kepadatan sel selama kultivasi mikroalga. Menurut Hirata *et al.* (1981) rumus laju pertumbuhan mikroalga adalah sebagai berikut :

$$K = 3,22 \frac{\log\left(\frac{N_t}{N_0}\right)}{t_i - t_0}$$

Keterangan :

- K : laju tumbuh (pembelahan sel/hari)
 Nt : kepadatan sel pada hari t (sel/ml)
 No : kepadatan awal hari (sel/ml)
 Ti : waktu ke-t (hari)
 to : waktu awal (hari)

Pemanenan Biomassa *Dunaliella salina*

Pemanenan dilakukan pada fase stasioner dengan menggunakan modifikasi flokulan yaitu metode pengendapan dengan menggunakan bahan kimia NaOH dengan masing – masing perlakuan diberi sebanyak 0,3 gram. Pengendapan dilakukan selama 24 jam, kemudian dilakukan pemisahan biomassa dan cairan jernihnya. Selanjutnya biomassa dicuci dengan aquades untuk menghilangkan kandungan garamnya, kemudian disaring dengan menggunakan kain satin dan dilakukan ekstraksi.

Analisis Pigmen

Menurut Vo (2014) dan Pital (2005) untuk analisis pigmen karotenoid menggunakan volume kultur basah. Kultur basah sampel *D. salina* sebesar 0,5 gram disaring menggunakan kertas filter milipore, kemudian dilarutkan pelarut aseton 10 mL hancurkan dengan vortex hingga homogen. Setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 menit. Supernatan dilakukan spektrofotometer. Setelah mendapatkan nilai absorbansinya maka kadar pigmen dapat diketahui melalui perhitungan :

$$\text{Kandungan karotenoid (mg/L)} = \frac{(1000 \times A_{470} - 2,770(11,75 \times A_{662} - 2,350 \times A_{645}) - 81,4(18,61 \times A_{645} - 3,960 \times A_{662}))}{227}$$

$$\text{Kandungan Klorofil a (mg/L)} = \frac{(11.85 \times A_{664}) - (1.54 \times A_{647}) - (0.08 \times A_{630})}{V_s \times d} \times V_e$$

$$\text{Kandungan Klorofil b (mg/L)} = \frac{(21.03 \times A_{647}) - (5.43 \times A_{664}) - (2.66 \times A_{630})}{V_s \times d} \times V_e$$

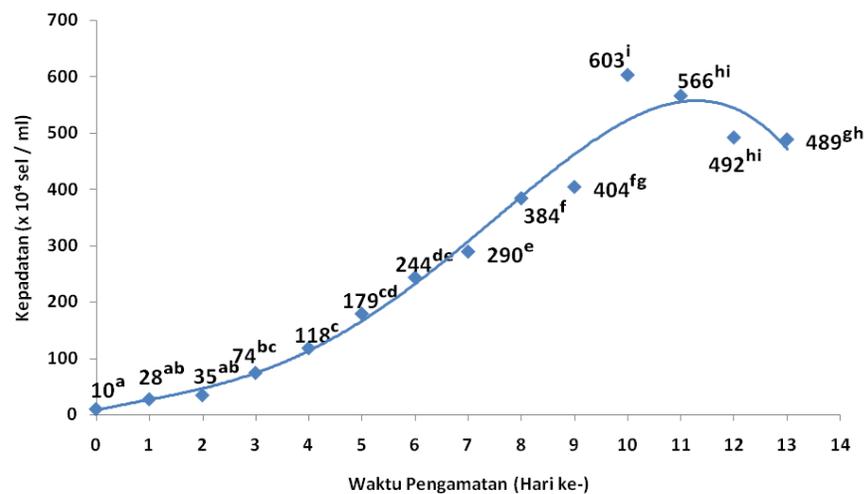
Keterangan :

- A470 : Nilai absorbansi pada 470 nm
 A662 : Nilai absorbansi pada 662 nm
 A645 : Nilai absorbansi pada 645 nm
 A664 : Nilai absorbansi pada 664 nm
 A647 : Nilai absorbansi pada 647 nm
 A630 : Nilai absorbansi pada 630 nm
 Ve : Volume ekstrak aseton (ml)
 Vs : Volume contoh air yang disaring (liter)
 D : Lebar diameter cuvet (1cm)

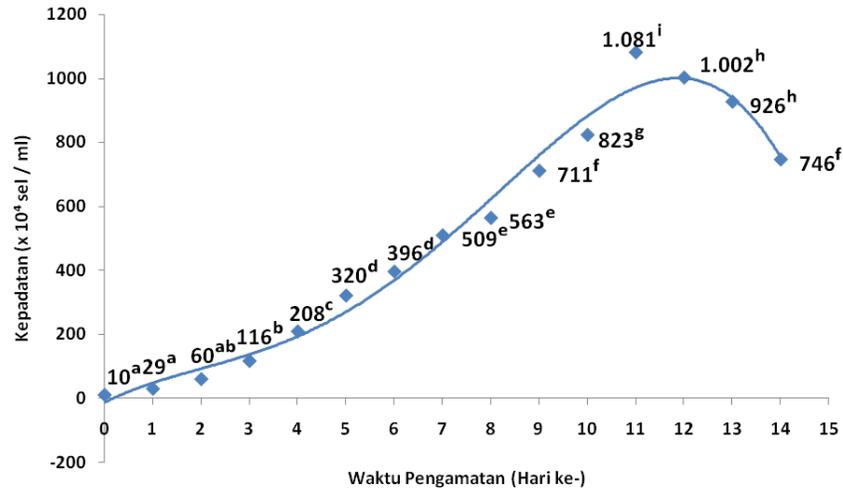
HASIL DAN PEMBAHASAN

Mikroalga *D. salina* didapatkan dari BBPBAP Jepara. Selanjutnya digunakan sebagai stater dalam penelitian ini. Kultur *D. salina* dengan menggunakan pupuk walne pada perlakuan perbedaan salinitas yaitu 20 ppt, 25 ppt, 30 ppt, 35 ppt dan 40 ppt. Berdasarkan hasil pengamatan kepadatan *D. salina* pada perlakuan salinitas 20 ppt (gambar 1) menunjukkan bahwa terjadi fase lag atau penyesuaian dari awal penelitian sampai dengan pengamatan hari ke 3 dengan nilai kepadatan 10×10^4 – 74×10^4 sel/ml. Fase penyesuaian ditunjukkan dengan nilai kepadatan yang tidak berbeda secara signifikan ($p > 0,05$). Selanjutnya terjadi peningkatan kepadatan pada pengamatan hari ke 4 sampai dengan hari ke 10 dengan nilai 118×10^4 sel/ml hingga 603×10^4 sel/ml yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dan disebut fase eksponensial. Pada pengamatan hari ke 11 hingga akhir penelitian hari ke 13 menunjukkan terjadi penurunan kepadatan sel dari 566×10^4 sel/ml hingga 489×10^4 sel/ml yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dan disebut fase kematian.

Berdasarkan hasil pengamatan kepadatan *D. salina* pada perlakuan salinitas 25 ppt (gambar 2) menunjukkan bahwa terjadi fase lag atau penyesuaian dari awal penelitian sampai dengan pengamatan hari ke 2 dengan nilai kepadatan 10×10^4 – 60×10^4 sel/ml yang tidak berbeda secara signifikan ($p > 0,05$). Selanjutnya terjadi peningkatan kepadatan pada pengamatan hari ke 3 sampai dengan hari ke 11 dengan nilai 116×10^4 sel/ml hingga 1081×10^4 sel/ml yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dan disebut fase eksponensial. Pada pengamatan hari ke 12 hingga akhir penelitian hari ke 14 menunjukkan terjadi penurunan kepadatan sel dari 1002×10^4 sel/ml hingga 746×10^4 sel/ml yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dan disebut fase kematian.

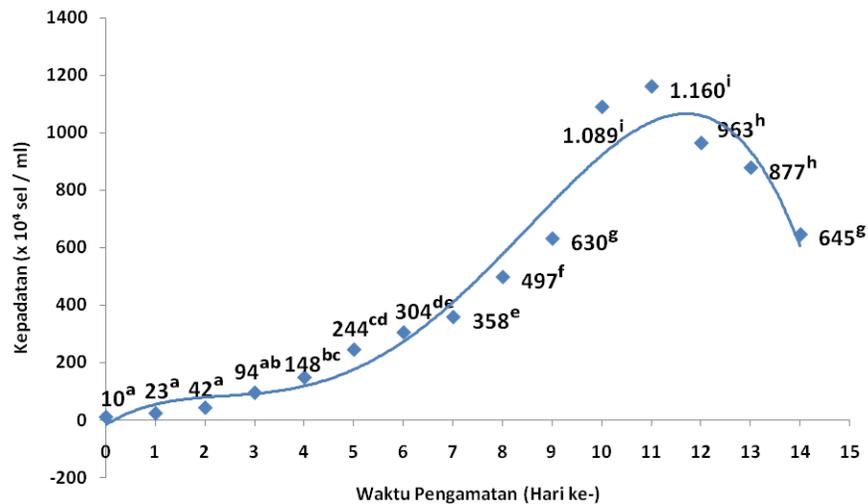


Gambar 1. Pertumbuhan *D. salina* pada perlakuan salinitas 20 ppt.

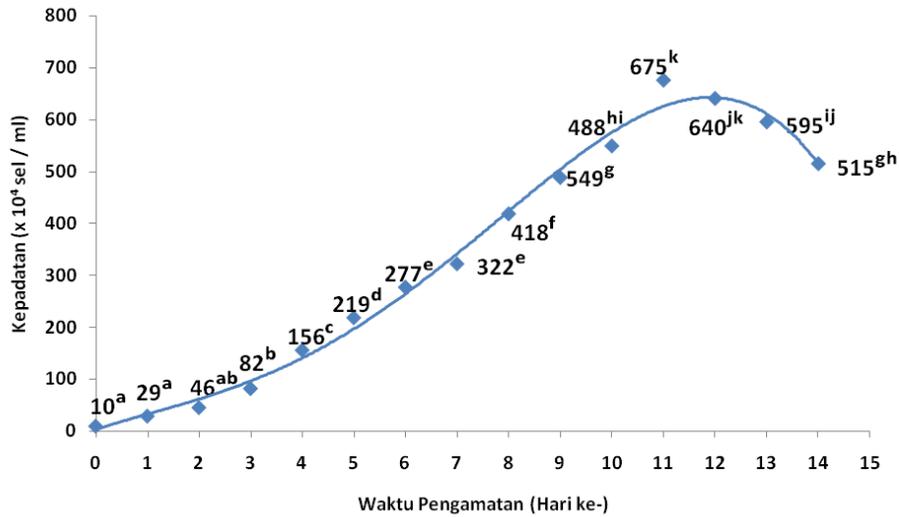


Gambar 2. Pertumbuhan *D. salina* pada perlakuan salinitas 25 ppt.

Perlakuan salinitas 30 ppt (gambar 3) menunjukkan bahwa terjadi fase lag atau penyesuaian dari awal penelitian sampai dengan pengamatan hari ke 3 dengan nilai kepadatan $10 \times 10^4 - 94 \times 10^4$ sel/ml yang tidak berbeda secara signifikan ($p > 0,05$). Selanjutnya fase eksponensial terjadi peningkatan kepadatan secara signifikan ($p < 0,05$) pada pengamatan hari ke 3 sampai dengan hari ke 11 dengan nilai 148×10^4 sel/ml hingga 1160×10^4 sel/ml. Pada fase kematian terjadi penurunan kepadatan sel pada pengamatan hari ke 12 hingga akhir penelitian hari ke 14 sebesar 963×10^4 sel/ml hingga 645×10^4 sel/ml yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$).



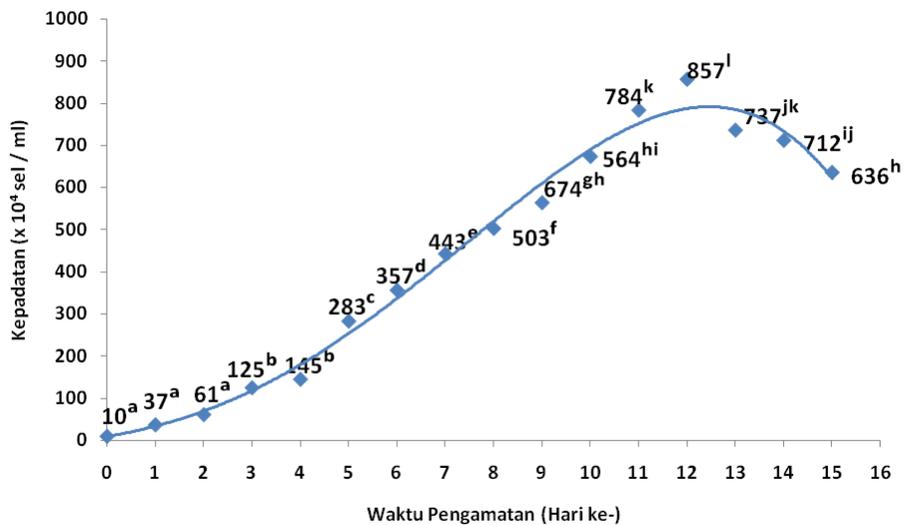
Gambar 3. Pertumbuhan *D. salina* pada perlakuan salinitas 30 ppt.



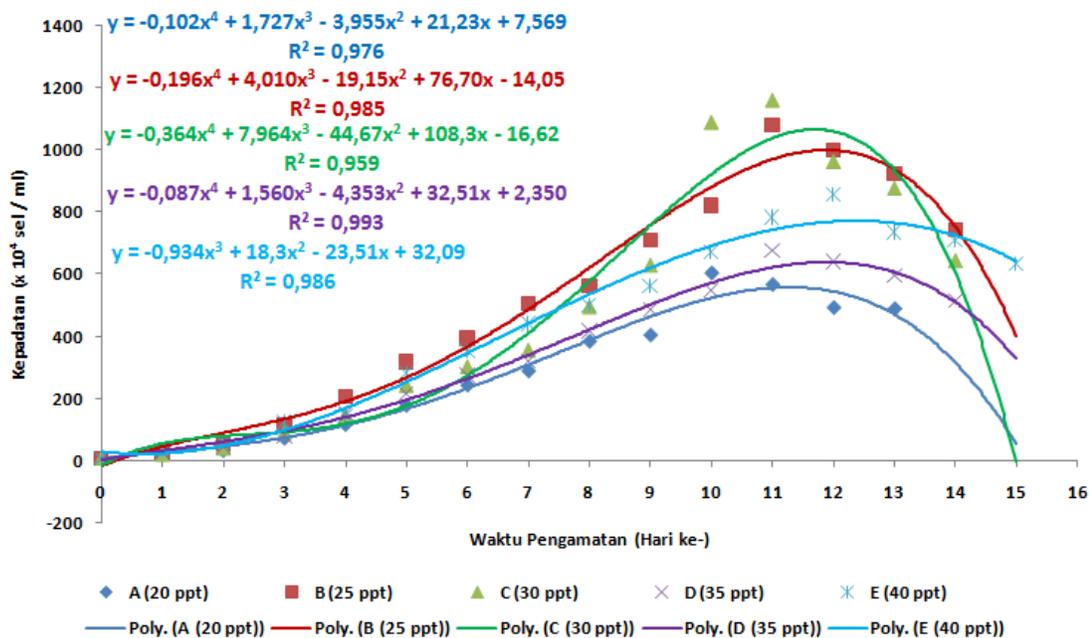
Gambar 4. Pertumbuhan *D. salina* pada perlakuan salinitas 35 ppt.

Perlakuan salinitas 35 ppt (gambar 4) menunjukkan fase lag selama 2 hari dengan nilai kepadatan $10 \times 10^4 - 46 \times 10^4$ sel/ml yang tidak berbeda secara signifikan ($p > 0,05$). Selanjutnya fase eksponensial terjadi peningkatan signifikan ($p < 0,05$) pada pengamatan hari ke 3 sampai dengan hari ke 11 dengan nilai 82×10^4 sel/ml hingga 675×10^4 sel/ml. Fase kematian terjadi penurunan signifikan ($p < 0,05$) pada hari ke 12 hingga 14 sebesar 640×10^4 sel/ml hingga 515×10^4 sel/ml.

Perlakuan salinitas 40 ppt (gambar 5) menunjukkan fase lag selama 2 hari dengan nilai kepadatan $10 \times 10^4 - 61 \times 10^4$ sel/ml yang tidak berbeda secara signifikan ($p > 0,05$). Selanjutnya fase eksponensial terjadi peningkatan ($p < 0,05$) pada pengamatan hari ke 3 sampai dengan hari ke 12 dengan nilai 125×10^4 sel/ml hingga 857×10^4 sel/ml. Fase kematian terjadi penurunan ($p < 0,05$) pada hari ke 13 hingga 15 sebesar 737×10^4 sel/ml hingga 636×10^4 sel/ml.

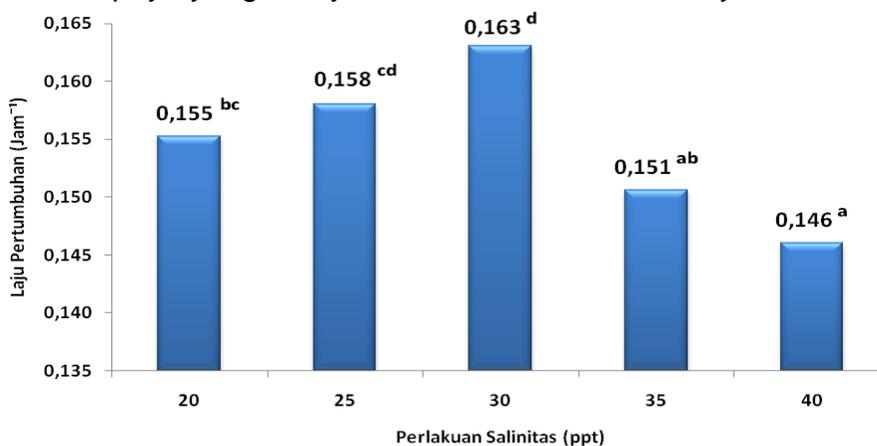


Gambar 5. Pertumbuhan *D. salina* pada perlakuan salinitas 40 ppt.



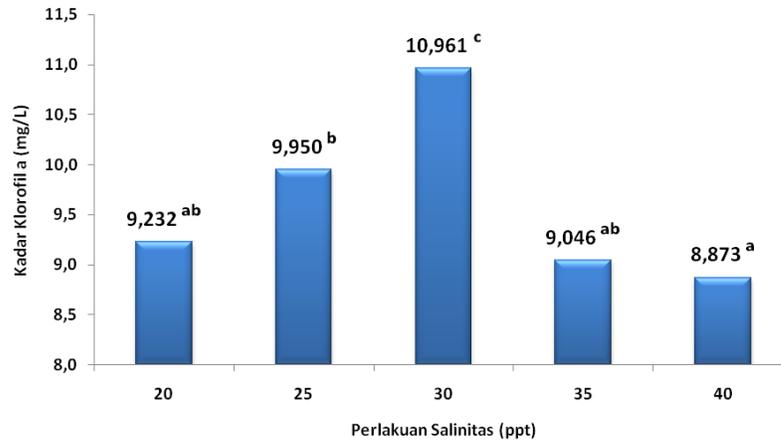
Gambar 6. Pertumbuhan *D. salina* pada perlakuan perbedaan salinitas.

Berdasarkan gambar 6 menunjukkan bahwa perbedaan salinitas mempengaruhi pola pertumbuhan mikroalga *D. salina*. Garis polynomial terbawah adalah perlakuan 20 ppt menunjukkan bahwa nilai kepadatan dari hari ke 1 sampai akhir penelitian hari ke 15 adalah yang terkecil dari pada perlakuan salinitas yang lain. Sedangkan pada perlakuan 25 ppt pada hari ke 1 hingga hari ke 9 memiliki nilai kepadatan tertinggi tetapi pada hari ke 9 hingga 13 posisi kepadatan tertinggi pada perlakuan 30 ppt. Menurut Erlina (2007), kadar garam yang berubah-ubah dalam air dapat menimbulkan hambatan bagi kultur mikroalga. Salinitas yang terlalu tinggi menyebabkan terganggunya tekanan osmotik kulturan. Menurut Erdmann and Hagemann (2001) dalam Imron *et al.* (2016) menambahkan bahwa tingginya konsentrasi garam pada media yang didominasi oleh ion Na^+ dan Cl^- dapat menyebabkan terganggunya keseimbangan osmotik yaitu antara bagian dalam sel dengan media hidupnya yang menyebabkan air dalam sel banyak keluar.

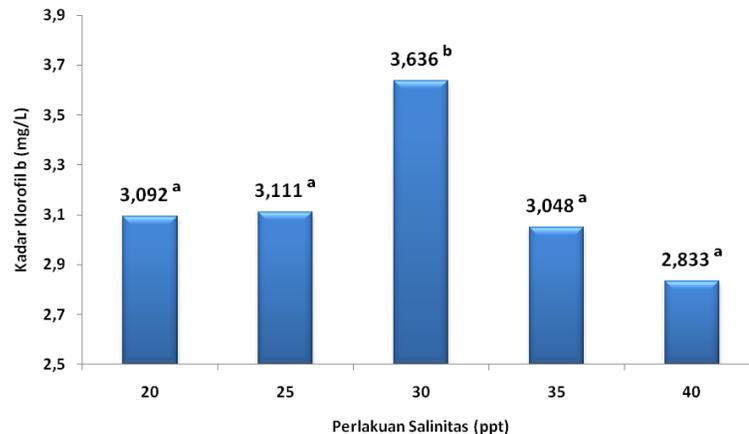


Gambar 7. Laju pertumbuhan *D. salina* pada perlakuan perbedaan salinitas.

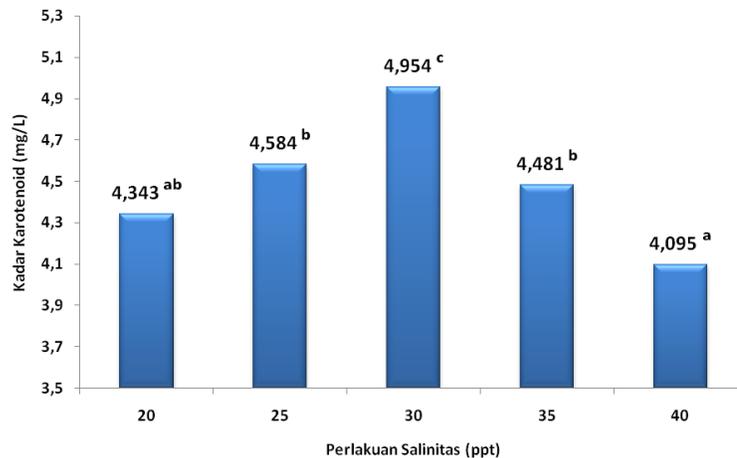
Berdasarkan data laju pertumbuhan gambar 7 menunjukkan bahwa perlakuan media hiposalin dan hipersalin memberikan pengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroalga *D. salina* secara signifikan ($p < 0,05$). Secara berurutan perlakuan dengan laju pertumbuhan terendah ke tertinggi adalah perlakuan 40 ppt, 35 ppt, 20 ppt, 25 ppt dan 30 ppt sebesar $0,146^a$; $0,151^{ab}$; $0,155^{bc}$; $0,158^{cd}$ jam^{-1} . Berdasarkan gambar 7 menunjukkan bahwa perlakuan salinitas optimal pada 30 ppt, semakin rendah salinitas dan semakin tinggi salinitas dari salinitas optimal maka laju pertumbuhan semakin rendah. Faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan spesifik (μ) adalah kandungan unsur hara yang terdapat dalam media kultur. Menurut Rusyani (2001), terjadi penurunan jumlah sel karena kandungan nutrisi pada media kultur berada dalam jumlah yang terbatas. Kandungan nutrisi pada awal kultur yang masih tinggi, dimanfaatkan oleh masing-masing sel untuk melakukan pertumbuhan. Peningkatan jumlah sel akan berhenti pada satu titik puncak populasi (fase eksponensial), pada fase ini kebutuhan nutrisi akan semakin besar, sedangkan tidak adanya penambahan nutrisi selama masa kultur berlangsung sehingga menyebabkan penurunan jumlah sel dalam waktu yang lebih cepat.



Gambar 8. Kadar klorofil a mikroalga *D. salina* pada perlakuan perbedaan salinitas.



Gambar 9. Kadar klorofil b mikroalga *D. salina* pada perlakuan perbedaan salinitas.



Gambar 10. Kadar karotenoid mikroalga *D. salina* pada perlakuan perbedaan salinitas.

Berdasarkan gambar 8, 9 dan 10 menunjukkan bahwa perlakuan salinitas 40 ppt memiliki kadar klorofil a, b dan karotenoid terendah dengan nilai 8,873^a; 2,833^a dan 4,095^a mg/l sedangkan perlakuan dengan kadar klorofil a, b dan karotenoid tertinggi adalah salinitas 30 ppt yaitu sebesar 10,961^c; 3,636^b dan 4,954^c mg/l. Naiknya salinitas akan menghambat proses fotosintesis Mironyuk dan Einer (1986), proses respirasi serta menghambat pembentukan sel anakan. Naiknya salinitas berpengaruh baik terhadap fotosintesis maupun respirasi, yang mana salinitas berpengaruh lebih besar terhadap fotosintesis daripada respirasi (Soeder and Stengel, 1974).

KESIMPULAN

Berdasarkan data laju pertumbuhan, kadar klorofil a, b dan karotenoid maka dapat diketahui bahwa salinitas 30 ppt yang paling optimal untuk melakukan kultur dalam usaha produksi biomassa dan biopigmen sebagai agen antioksidan

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada LPPM UNISNU Jepara yang telah memberikan biaya penelitian dalam program penelitian reguler universitas. Selain itu juga, mengucapkan terimakasih kepada Program Studi Budidaya Perairan UNISNU Jepara atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk dapat mengerjakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adenan, N.S., F. Md. Yusoff, M. Shariff. 2013. Effect of Salinity and Temperature on the Growth of Diatoms and Green Algae. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 8(2): 397-404.
- Amini, S. dan R. Susilowati. 2010. Produksi Biodiesel dari Mikroalga *Botryococcus braunii*. *Squalen*, 5(1).
- Dhanam, D. S., dan K. Dhandayuthapani. 2013. Optimization of β -Carotene Production by Marine Microalga *Dunaliella salina*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(3):37-43.
- Erlina, A. 2007. Produksi Pakan Hidup. (Pelatihan Pembenuhan Udang). Laboratorium Pakan Alami, Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara.
- Gu, Na., Q. Lin, G. Li, Y. Tan, L. Huang, J. Lin. 2012. Effect of Salinity on Growth, Biochemical Composition and Lipid Productivity of *Nannochloropsis oculata* CS 179. *Eng. Life Sci.*, 12(5):1-7.
- Gunawan dan Mulyani. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I. Jakarta : Penebar Swadaya. Hal 98-105.
- Hirata H, Andarias I, dan Yamasaki S. 1981. Effect of salinity temperature on the growth of the marine phytoplankton *Chlorella saccharophila*. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.* 30 : 257-262.
- Huang, W.W., B.Z. Dong, Z.P. Caidan S.S. Duan. 2011. Growth Effect on Mixed Culture of *Dunaliella salina* and *Phaeodactylum tricornutum* Under Different Inoculation Densities and Nitrogen Concentrations. *Afr. J. Biotechnol.*, 10:13164-13174.
- Imron, M.A., Sudarno dan E.D. Masithah. 2016. Pengaruh Salinitas Terhadap Kandungan Lutein pada Mikroalga *Botryococcus braunii*. *Journal of Marine and Coastal Science.*, 5(1).
- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton; Pakan Alami untuk Pembenuhan Organisme Laut. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Mironyuk VI, Einor LO. 1986. Oxygen Exchange and Pigment Content in Various Forms of *Dunaliella salina* Teod. Under Conditions of Increasing NaCl Content. *GidrobiolJ.*, 4:23-29.
- Pisal, S. Dipak and S. S. Lele. 2005. Carotenoid Production from Microalga, *Dunaliella Salina*. *Indian Journal of Biotechnology*, 10(4):476-483.
- Rusyani, E., 2001, Pengaruh Dosis Zeolit yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *Isochrysis galbana* Klon Tahiti Skala Laboratorium dalam Media Komersial. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 53 hlm.
- Soeder, C. and E. Stengel. 1974. Physicochemical Factors Affecting Metabolism and Growth Rate. In : "Algal Physiology and Biochemistry". (W.D.P. Stewart. Editor). Blackwell Scientific Publication. Oxford London Edinburgh Melbourne : 714-730.
- Vo, Trung and Duc Tran. 2014. Carotene and Antioxidant Capacity of *Dunaliella salina* Strains. *World Journal of Nutrition and Health*, 2 (2):21-23.

- Yudiati, E., Widianingsih, R. Hartati, H. Endrawati dan R. Fahmi. 2010. Pengaruh Salinitas terhadap Kandungan Total Lipid pada Mikroalga *Nanno chloropsis* sp. *Dalam*: Prosiding Biodiversitas dan Bioteknologi Sumberdaya Akuatik. UNSOED, Purwokerto, pp. 554-558
- Zhila, N.O., G.S. Kalacheva, and T. G. Volova. 2010. Effect of Salinity on The Biochemical Composition of The Alga *Botryococcus braunii* Kutz IPPAS H-252. *J Appl Phycol.*, Springer, DOI: 10.1007/s10811-010-9532-8.