

---

# MONITORING DENSITAS OPTIK *Dunaliella salina* DENGAN OPTICAL DENSITOMETER SEDERHANA SERTA UJI KANDUNGAN KLOOROFIL

Dispanstiani Abidin<sup>1</sup> dan Suryasatriya Trihandaru<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Magister Biologi Universitas Kristen Satya Wacana

<sup>2</sup>Dosen Magister Biologi Universitas Kristen Satya Wacana

<sup>1</sup>E-mail: deespant\_humaira@yahoo.co.id

**Abstrak.** Pengembangan sistem monitoring penting dalam penentuan waktu optimal untuk panen mikroalga. Sehubungan dengan itu, perhitungan kepadatan mikroalga sangat dibutuhkan karena sebagai kontrol hasil output produksi yang dibandingkan dengan input produksi. Perhitungan kepadatan mikroalga biasanya menggunakan *haemocytometer* dan spektrofotometer Uv-Vis yang relatif lebih mahal. *Optical densitometer* sederhana ini digunakan untuk menghitung dan mengestimasi biomassa *Dunaliella salina* dengan teknik pengukuran yang mudah dan biaya yang murah. Perhitungan dengan alat sederhana ini merupakan hasil dari konversi perhitungan manual dengan menggunakan *haemocytometer* yang penggunaannya lebih sulit. Alat ini hanya dilengkapi dengan *speaker* aktif yang pada dasarnya merupakan pembangkit tegangan. Dilakukan pembagian tegangan output dari *soundcard* dengan cara dirangkai dengan sebuah hambatan dan LDR. Serta digunakan laser pointer (LED) sebagai pemicu bagi LDR. Perubahan nilai hambatan LDR oleh karena perubahan intensitas cahaya yang dihasilkan pointer (LED) akan mengakibatkan perubahan tegangan keluar yang selanjutnya menggunakan *software* Matlab. Sedangkan uji kandungan klorofil *D.salina* dilakukan setelah monitoring densitas optik mencapai optimal yaitu pada fase eksponensial.

**Kata kunci:** Densitas optik, mikroalga, *D.salina*, *Optical densitometer*, klorofil.

## 1. Pendahuluan

Pengontrolan pertumbuhan mikroalga dalam budidaya diperlukan untuk mengetahui laju produksi. Pengembangan sistem monitoring tersebut penting untuk viabilitas, fertilisasi, pemanenan dan juga perekonomian dalam budidaya [6, 7]. Pengontrolan kultur tersebut merupakan metode yang akurat untuk menghitung dan mengestimasi biomassa. Salah satu tujuan kultur mikroalga adalah untuk mendapatkan kepadatan sel yang tertinggi didalam periode waktu yang singkat [6]. Sel mikroalga di dalam kultur bisa juga terjadi perubahan-perubahan bentuk, jumlah, adanya perbedaan-perbedaan pada bagian tahapan siklus hidupnya atau karena kondisi kultur [11]. Dengan adanya kemungkinan terjadinya perubahan ini, maka diperlukan

pengetahuan tentang bagaimana mengontrol produksi mikroalga. Oleh karena itu, dilakukan monitoring pertumbuhan dan penghitungan kepadatan mikroalga secara langsung.

Perhitungan kepadatan mikroalga dibagi menjadi 2 yaitu perhitungan langsung dan tidak langsung. Sel alga tumbuh sangat cepat di dalam suatu kultur, dan ketika pertumbuhannya berhenti beberapa proses metabolisme yang terhambat mungkin disebabkan karena kurangnya kualitas nutrisi dan adanya kontaminasi [12, 23, 24]. Untuk memaksimalkan jumlah dan kualitas mikroalga, penentuan waktu optimal untuk panen adalah sangat esensial untuk pertumbuhan populasi sel mikroalga. Sehubungan dengan itu, perhitungan kepadatan mikroalga sangat dibutuhkan karena sebagai kontrol hasil output produksi yang dibandingkan dengan input produksi.

Perhitungan secara langsung adalah suatu teknik yang digunakan untuk menghitung jumlah sel alga pada saat itu per satuan unit volume (jumlah sel/ ml air media kultur) [11, 23]. Perhitungan sel mikroalga biasanya dengan menggunakan *haemocytometer*. Alat lain yang sering digunakan adalah spektrofotometer Uv-Vis. Pada spektrofotometer ini sampel dideteksi dengan pencahayaan dengan cahaya yang mempunyai range gelombang cahaya 350-750 nm. Hasil perhitungan dalam spektrofotometer ini disebut kepadatan optik atau densitas optik (*Optical Density* = OD) [1, 16, 18, 23].

Mikroalga merupakan suatu sumber mikro nutrisi, vitamin, minyak dan elemen mikro lainnya. Selain itu, mikroalga kaya akan sumber makro nutrisi seperti protein, karbohidrat dan khususnya asam lemak esensial [7]. Mikroalga juga mempunyai kandungan pigmen esensial seperti klorofil, astaksanthin, zeaksanthin, fikosianin dimana akan memperkaya pewarnaan dan kesehatan baik untuk manusia maupun untuk ikan dan invertebrata [23]. Kandungan pigmen tiap spesies mikroalga berbeda-beda. Pigmen-pigmen tersebut menyerap energi cahaya dan mengubahnya menjadi biomassa melalui proses fotosintesis [18]. *Dunaliella salina* merupakan mikroalga uniseluler berwarna hijau motil, lebar 5-8  $\mu\text{m}$ , panjang 7-12  $\mu\text{m}$ , dan terdapat kloroplas yang mengisi 2/3 bagian selnya. *D. salina* memiliki kandungan klorofil dan beberapa karotenoid serta turunannya [10].

Sejauh ini, pemanfaatan mikroalga sebagai komoditi perdagangan atau bahan baku industri masih relatif kecil jika dibandingkan dengan keanekaragaman jenis mikroalga yang ada di Indonesia. Padahal komponen kimiawi yang terdapat dalam mikroalga sangat bermanfaat bagi bahan baku industri makanan, kosmetik, farmasi, penghasil bioetanol, biodiesel ataupun sebagai pupuk organik dan lain-lain [8, 23]. Oleh karena itu, dengan keterbatasan tersebut dibutuhkan beberapa pengelolaan sehingga dapat dimanfaatkan lebih luas.

Mini riset ini membahas tentang monitoring densitas optik mikroalga dengan alat *optical densitometer* sederhana, sehingga dapat memberikan informasi waktu yang tepat untuk panen dan ekstraksi pigmen untuk mengetahui kadar klorofil.

## 2. Alat, Bahan, dan Metode

### 2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam percobaan ini adalah sentrifuse, vorteks, Spektrofotometer Ultra-Violet Visible Varian Carry 50, *haemocytometer*, mikroskop, serta *Optical Densitometer* yang terdiri dari LDR sebagai sensor cahaya, LED *super bright* sebagai sumber cahaya, IC XR2206, dan resistor (R) 10 k $\Omega$  [3, 4, 5, 20]. Sementara itu, bahan yang digunakan yaitu biota uji *Dunaliella salina*, aseton, dan metanol.

### 2.2 Metode Penelitian

#### Kultivasi Mikroalga *Dunaliella salina*

Kultur mikroalga *Dunaliella salina* ditanam pada botol ukuran 1 lt, dengan pH awal 7, serta intensitas cahaya sebesar 2500 lux dan sistem aerasi yang dialirkan secara terus menerus. Fase eksponensial pada hari ke-6.

#### Perhitungan Kepadatan Sel *Dunaliella salina*

- Kepadatan sel mikroalga *Dunaliella salina* dihitung secara manual dengan menggunakan *haemocytometer* di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x. Perhitungan dilakukan dari hari ke-1 hingga hari ke-8.
- Pengukuran densitas optik dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis Varian Carry 50.

#### Ekstraksi Pigmen *Dunaliella salina*

Mikroalga *D. salina* diambil sebanyak 10ml. Kemudian, mikroalga tersebut disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Kemudian, biomassa diekstraksi dengan menggunakan aseton 90%. Ekstraksi pigmen klorofil menggunakan pelarut aseton: metanol dengan perbandingan 3:7 (v/v). Lalu kemudian, campuran dihomogenkan dengan menggunakan vorteks. Kemudian, sel mikroalga dipecah menggunakan alat sonikator selama 10 menit. Kemudian, disentrifuse kembali dengan kecepatan 3500 rpm untuk mendapatkan supernatannya yang kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan alat spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 662 nm, 647 nm, 630 nm. Kadar klorofil ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) dapat dihitung dengan menggunakan persamaan [18]. Apabila A merupakan panjang gelombang cahaya untuk klorofil, maka model perhitungannya:

$$\text{Klorofil } a \text{ } (\mu\text{g ml}^{-1}) = 11,85 \times A_{664} - 1,54 \times A_{647} - 0,08 \times A_{630}$$

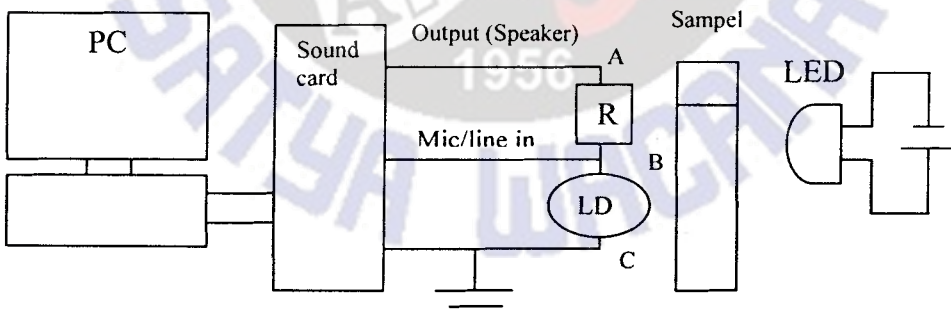
$$\text{Klorofil } b \text{ } (\mu\text{g ml}^{-1}) = -5,43 \times A_{664} + 21,03 \times A_{647} - 2,66 \times A_{630}$$



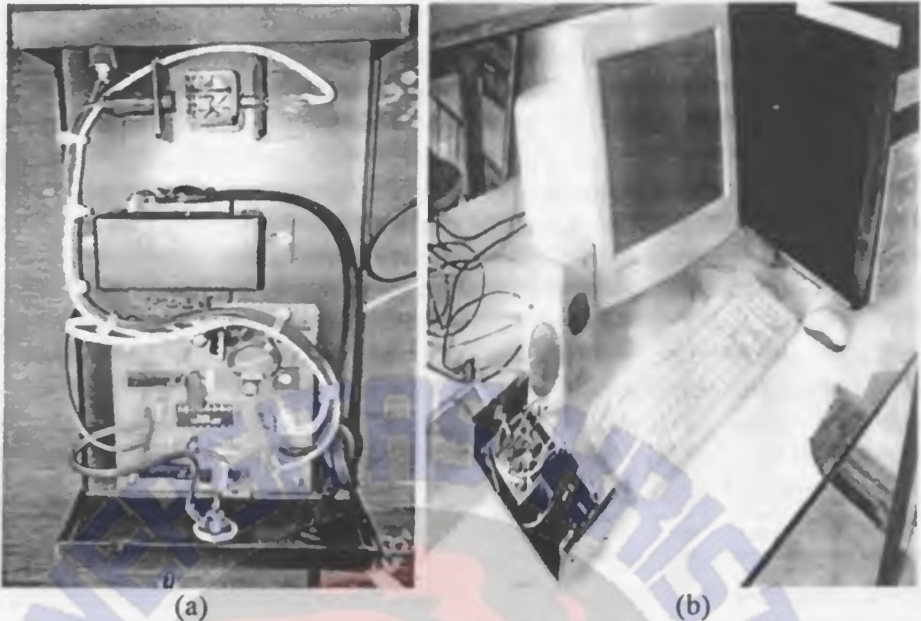
### Pengukuran *Optical Densitometer* Sederhana

*Optical Densitometer* terdiri dari beberapa komponen yaitu LDR, LED *super bright*, dan sinus generator dengan menggunakan IC XR2206 [3, 4, 20]. Output dari sinus generator berupa tegangan AC karena *soundcard* hanya dapat menerima tegangan AC [20]. Prinsip dasar dari alat ini yaitu pemanfaatan *speaker* aktif yang pada dasarnya merupakan pembangkit tegangan. Dilakukan pembagian tegangan output dari *soundcard* dengan cara dirangkai dengan sebuah hambatan (R) dan LDR, serta digunakan LED sebagai pemicu bagi LDR. Perubahan nilai hambatan LDR oleh karena perubahan intensitas cahaya yang dihasilkan LED akan mengakibatkan perubahan tegangan keluar yang selanjutnya menggunakan *software Matlab* [15]. Besarnya tegangan yang dihasilkan dari LDR harus diatur agar tidak melebihi 500 mV, dengan maksud agar tidak merusak *soundcard*. Hal ini dapat dilakukan dengan mengatur besarnya hambatan yang dipakai dan pengaturan volume *speaker*. Pengaturan PC yang harus dilakukan adalah pengaturan input *sound record* pada *volume control*, kemudian dipilih pada *microphone* atau *line in*.

Prinsip kerja *optical densitometer* sederhana adalah sebagai berikut. Titik A dan C diberi tegangan bolak-balik dari keluaran *speaker* yang bisa diatur frekuensinya. Rangkaian seri antara R dan LDR merupakan pembagi tegangan sederhana. LDR merupakan resistor yang dapat berubah-ubah nilai resistansinya jika permukaannya terkena cahaya. Kondisinya jika terkena cahaya nilai resistansinya kecil, sedangkan jika tidak terkena cahaya (kondisi gelap) maka nilai resistansinya besar, sehingga tegangan BC menjadi lebih kecil daripada jika LDR tidak dikenai cahaya. Akibatnya sinyal sinusoidal yang masuk ke AC akan dibagi secara proporsional oleh R dan LDR yang berubah nilainya terhadap cahaya. Tegangan dari LDR dapat dimasukkan kembali kekomputer melalui jalur *microphone*. Amplitudo sinyal yang masuk akan berubah terhadap intensitas cahaya di LDR. Efek perubahan tegangan inilah yang dipakai untuk mengukur *optical density*.



Gambar 1: Skema *Optical Densitometer* Sederhana.

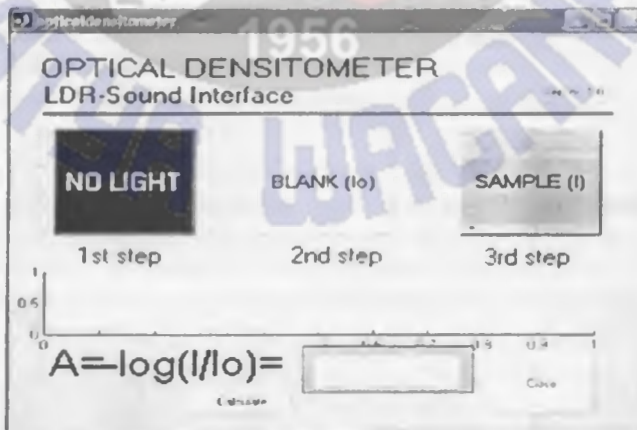


Gambar 2: (a) Alat *optical densitometer* sederhana, (b) *optical densitometer* dihubungkan dengan PC.

Prinsip analisisnya adalah dengan langkah sebagai berikut:

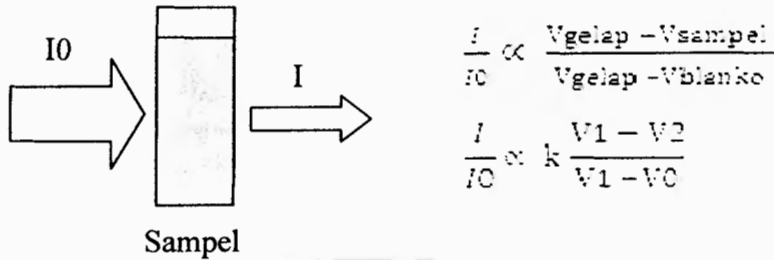
1. Ukur amplitudo rata-rata sinyal masukan pada kondisi LDR tidak menerima cahaya (V gelap).
2. Masukkan kuvet yang berisi pelarut sampel sebagai blanko. Ukur absorbansinya, LDR menerima cahaya dari LED (V blanko).
3. Masukkan kuvet yang berisi sampel. Ukur absorbansi sampel dengan sumber cahaya yang sama terhadap LDR (V sampel).

Pengukuran tersebut dengan menggunakan *software* Matlab pada Gambar 2.



Gambar 3: Program pengukuran *optical densitometer* sederhana.

Diasumsikan bahwa rasio intensitas cahaya sesudah dan sebelum masuknya sampel sebanding dengan rasio selisih amplitudo seperti Gambar 4.



**Gambar 4:** Mekanisme penerapan hukum Lambert-Beer.

Karena itu Hukum Lambert-Beer menjadi

$$A = -\log \left( \frac{V_{gelap} - V_{sampel}}{V_{gelap} - V_{blanko}} \right) - \log(k) \quad (1)$$

dengan  $A$  adalah absorbansi spektrofotometer Uv-Vis dan *optical densitometer*. Konstanta  $\log(k)$  dapat diketahui dari persamaan linear grafik yang diperoleh:

$$Y = -0,050x + 1,136 \text{ (spektrofotometer Uv-Vis),}$$

$$Y = -0,050x + 0,930 \text{ (optical densitometer sederhana)}$$

Dimana

$$x = \frac{\text{volume aquades}}{\text{volume sampel}}$$

### Analisa Data

Data hasil percobaan dianalisa secara statistik deskriptif. Data masing-masing hasil absorbansi antara spektrofotometer Uv-Vis dan *optical densitometer* sederhana diolah dengan menggunakan Microsoft Excel. Data absorbansi spektrofotometer Uv-Vis selanjutnya diolah dengan menggunakan *software* Origin 6.1, sehingga diperoleh pola spektra klorofil.

## 3. Hasil dan Bahasan

### 3.1 Perhitungan *Optical Density* (OD) *Dunaliella salina*

Hasil perhitungan *optical density* dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dan *optical densitometer* disajikan dalam Tabel 1.

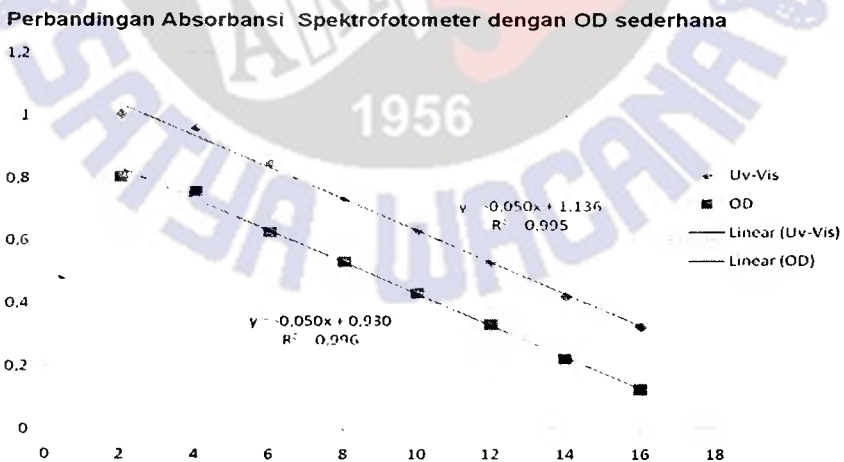
Berdasarkan hasil pengukuran yang diperoleh bahwa grafik absorbansi antara spektrofotometer Uv-Vis dan *optical densitometer* memiliki pola *trendline* yang hampir sama, sehingga dapat disimpulkan bahwa pengukuran *optical densitometer* memiliki potensi yang hampir sama dengan pengukuran spektrofotometer Uv-Vis. Informasi yang dapat diketahui dengan menggunakan alat sederhana ini yaitu jika absorbansi yang tinggi akan menghasilkan jumlah sel yang tinggi pula, sehingga



dapat menentukan waktu yang tepat untuk panen mikroalga dan uji kadar klorofil. Oleh karena itu, informasi tersebut dapat diaplikasikan dalam perhitungan kepadatan mikroalga selama kultivasi, yang selanjutnya tetap dilakukan dengan kalibrasi ke model perhitungan secara langsung. Perhitungan langsung dengan menggunakan *haemocytometer* tetap perlu dilakukan, tetapi hanya dilakukan pada kultivasi hari ke-1 dan hari kultivasi selanjutnya dengan pengukuran *optical densitometer* sederhana. Hasil pengukuran dengan *haemocytometer* ini digunakan sebagai data awal kalibrasi untuk pengukuran *optical densitometer* sederhana. Dari persamaan linear grafik diperoleh konstanta  $\log(k)$  yang selanjutnya absorbansi pengukuran *optical densitometer* dikalibrasi dengan menggunakan rumus (1), sehingga diperoleh nilai absorbansi yang sebanding dengan absorbansi spektrofotometer Uv-Vis.

Tabel 1: Hasil absorbansi Spektrofotometer Uv-Vis dan *Optical densitometer* sederhana

Pengenceran (mL) (aquades:sampel)	Spektrofotometer Uv-Vis	<i>Optical</i> <i>Densitometer</i>
2:1	1,0051	0,8051
4:1	0,9587	0,7587
6:1	0,8475	0,6275
8:1	0,7322	0,5322
10:1	0,6328	0,4328
12:1	0,5324	0,3324
14:1	0,4226	0,2226
16:1	0,3262	0,1262

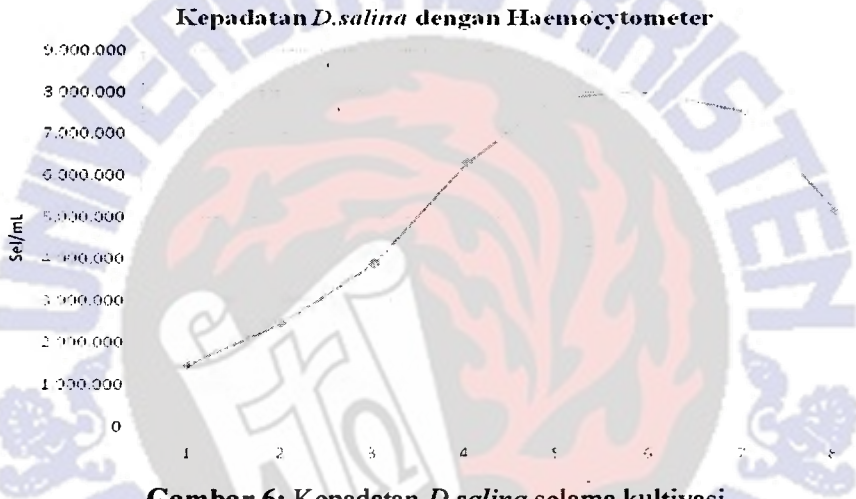


Gambar 5: Perbandingan absorbansi Spektrofotometer Uv-Vis dan OD yang cenderung memiliki *trendline* yang hampir sama.

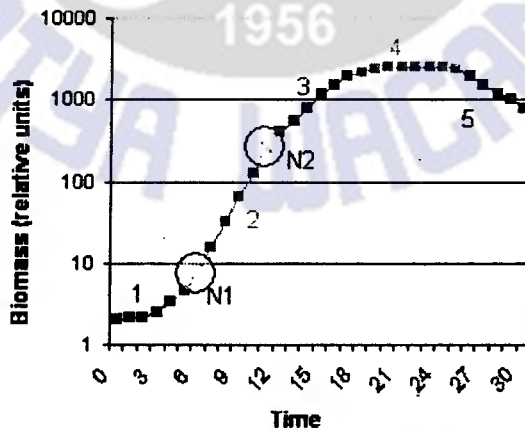
Hasil perhitungan kepadatan *Dunaliella salina* dengan menggunakan haemocytometer selama kultivasi disajikan seperti dalam Tabel 2.

Tabel 2: Kepadatan *Dunaliella salina* selama kultivasi 8 hari.

Hari ke-	Kepadatan (sel/mL)
1	1.480.000
2	2.460.000
3	3.900.000
4	6.330.000
5	7.880.000
6	7.980.000
7	7.530.000
8	5.180.000



Gambar 6: Kepadatan *D.salina* selama kultivasi.



Gambar 7: Pola pertumbuhan mikroalga menurut [2].



Data yang diperoleh dari perhitungan dengan *haemocytometer* tersebut digunakan sebagai acuan dalam penggunaan *optical densitometer*. Kultivasi hari ke-1 dengan kepekatan sampel yang rendah hanya mencapai kepadatan 1.480.000 sel/mL. Sedangkan kultivasi hari ke-2 sampai hari ke-6 meningkat mengikuti pola pertumbuhan mikroalga secara umum. Peningkatan kepadatan tersebut seiring dengan kondisi sampel yang semakin pekat. Informasi ini memberikan acuan dalam pengukuran dengan *optical densitometer* sederhana. Sampel dengan kepekatan yang rendah memiliki absorbansi yang rendah dan sebaliknya sampel dengan kepekatan yang tinggi memiliki absorbansi yang tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa sampel yang kepekatan rendah memiliki kepadatan sel yang rendah dan sebaliknya.

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut diperoleh kepadatan *D.salina* yang mengikuti pola pertumbuhan mikroalga secara umum yaitu

1. *Lag phase*

Pertumbuhan fase awal dimana penambahan kepadatan sel yang terjadi jumlahnya sedikit. Fase ini mudah diobservasi ketika suatu kultur mikroalga ditransfer dari suatu tempat ke suatu media kultur. Pada fase ini biasanya terjadi *stressing* fisiologi karena terjadi perubahan kondisi lingkungan media hidup dari satu media awal ke media yang baru [8, 23]. Di lain pihak, kelarutan mineral dan nutrisi mungkin lebih banyak daripada sebelumnya, sehingga akan mempengaruhi sintesis metabolik dari konsentrasi rendah ke konsentrasi yang tinggi. Dari perubahan-perubahan inilah maka sel mikroalga mengalami proses penyesuaian.

2. *Ekspansional phase*

Setelah fase lag, mikroalga akan mengalami pertumbuhan secara cepat, atau yang disebut fase pertumbuhan ekspansional. Hal ini ditandai dengan penambahan jumlah sel yang sangat cepat melalui pembelahan sel mikroalga dan apabila dihitung secara matematis membentuk fungsi logaritma [1, 23]. Untuk kepentingan budidaya sebaiknya sel mikroalga dipanen pada akhir fase ekspansional. Karena pada fase ini struktur sel masih normal secara nutrisi terjadi keseimbangan antara nutrisi dalam media dan kandungan nutrisi dalam sel. Selain itu, berdasarkan hasil penelitian, pada fase akhir ekspansional didapatkan kandungan protein dalam sel sangat tinggi, sehingga kualitas sel mikroalga benar-benar terjaga untuk kepentingan kultivan budidaya lebih lanjut.

3. *Declining growth phase*

Pada tahapan pola pertumbuhan terjadi pengurangan kecepatan pertumbuhan sampai mencapai fase awal pertumbuhan yang stagnan. Fase ini disebut *Declining Growth Phase* [21, 25]. Pada fase ini ditandai dengan berkurangnya nutrisi dalam media sehingga mempengaruhi kemampuan pembelahan sel sehingga hasil produksi sel semakin berkurang. Walaupun kepadatan sel masih terjadi penambahan namun nilai nutrisi dalam sel mengalami penurunan, maka untuk kepentingan budidaya perikanan pada fase ini adalah alternatif kedua untuk dilakukan pemanenan.

hanya dapat diperoleh dari hasil pengukuran spektrofotometer Uv-Vis sedangkan *optical densitometer* sederhana tidak dapat menunjukkan pola spektra. Hal ini disebabkan oleh karena *optical densitometer* sederhana mengukur semua luasan setiap panjang gelombang yang dilaluinya, sedangkan spektrofotometer Ultra-Violet Visible (Varian Carry 50) dapat mengukur pada beberapa panjang gelombang tertentu. Pola spektra klorofil *a D.salina* dapat dilihat pada Gambar 8.

#### 4. Kesimpulan dan Saran

Untuk mengetahui dan monitoring kepadatan *D.salina* dapat dilakukan dengan menggunakan *optical densitometer* sederhana. Informasi yang dapat diketahui dengan menggunakan alat sederhana tersebut yaitu jika absorban yang tinggi akan menghasilkan jumlah sel yang tinggi pula, sehingga dapat menentukan waktu yang tepat untuk panen mikroalga dan uji kadar klorofil. Kelemahan dari alat *optical densitometer* sederhana ini adalah tidak dapat mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dan tidak dapat memberikan informasi pola spektra seperti halnya spektrofotometer Uv-Vis Varian Carry 50.

*Optical densitometer* sederhana ini memiliki potensi yang hampir sama dengan spektrofotometer Uv-Vis, tetapi akurasi data masih harus tetap dilakukan dengan kalibrasi ke model perhitungan secara langsung. Dengan keterbatasan alat tersebut sehingga dibutuhkan penyempurnaan lebih lanjut.

#### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Depdiknas RI atas Beasiswa Unggulan yang diberikan melalui program Beasiswa Unggulan (BU) pada Program Studi Magister Biologi UKSW.

#### Daftar Pustaka

- [1] Anjar, S. I. M., 2002, *Budidaya Fitoplankton Skala Laboratorium dalam Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*, Balai Budidaya Laut Lampung Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan.
- [2] Anonim, 2009, <http://www.marine.csiro.au/microalgae/index.htm>, diakses pada tanggal 25 Maret 2009 pukul 14.30 WIB.
- [3] Anonim, 2009, <http://www.mekatronik-teknologi.com/LED-superbright>, diakses pada tanggal 27 Mei 2009 pukul 14.30 WIB.
- [4] Anonim, 2009, [http://img.alibaba.com/Photoresistor\\_LDR](http://img.alibaba.com/Photoresistor_LDR), diakses pada tanggal 27 Mei 2009 pukul 15.00 WIB.
- [5] Anonim, 2009, <http://www.byexamples.com/resistor>, diakses pada tanggal 27 Mei 2009 pukul 15.20 WIB.
- [6] Bold, C. H. & M. J. Wynne, 1985, *In Introduction to The Algae*, second edition, Prentice Hall, New Jersey.

- [7] Borowitzka, M. A. & L. J. Borowitzka, 1988, *Mikroalgae Biotechnology*, Cambridge University Press.
- [8] Borowitzka, M. A., 1992, Algae Biotechnology Products and Processes - Matching Science and Economics, *J. Appl. Phycol*; 4:267-279.
- [9] Day, R. A. & A. L. Underwood, 1986, *Analisis Kimia Kuantitatif*, edisi ke-5, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- [10] Drew, K.B.M. & R. Ross, 1965, Some Generic Names in The Bangiophycidae, *Taxon*; 14:93-99 .
- [11] Fogg, G.B.E., 1979, *Algae Culture and Phytoplankton Ecology*, second edition, The University of Winconsin Press.
- [12] Gitelson, A., Y.B.A. Grits, D. Etzion, Z. Ning, 2000, Optical Properties of *Nannochloropsis sp.* and Their Application to Remote Estimation of Cell Mass, *Biotechnol. Bioeng* **69**; 5:516-525.
- [13] Gross, J., 1987, *Pigment in Fruits*, Academic Press Inc. London.
- [14] Gross, J., 1991, *Pigment in Vegetables: Chlorophylls and Carotenoids*, Van Nostrand Reinhold, New York.
- [15] Hanselman & Duane, 2000, *Matlab Bahasa Komputasi Teknis*, Penerbit ANDI, Yogyakarta.
- [16] Hejazi, M. A. & R. H. Wijffels, 2004, Milking of Microalgae, *Trends Biotechnol*; 22:189-194.
- [17] Isnansetyo, A. & Kurniastuty, 1995, *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton: Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut*, Kanisius, Yogyakarta.
- [18] Jeffrey, S. W. & G. F. Hamphrey, 1975, New Spectrophotometric Equations for Determining Chlorophylls a, b, c1 and c2 in Higher Plants, Algae, and Natural Phytoplankton, *Biochem. Physiol. Pflanzen*; 167:191-194.
- [19] Limantara, L. & R. Rahayu, 2008, *Sains dan Teknologi Pigmen Alami*, Prosiding Seminar Nasional Pigmen 2008 Magister Biologi UKSW, Salatiga.
- [20] Malvino, 1986, *Prinsip-prinsip Elektronika*, Penerbit Erlangga.
- [21] Mc Vey, J. P., 1983, *Handbook of Mariculture Volume 1: Alga Food Culture at The Centre Oceanologique Du Pasifique*.
- [22] Pinchetti, L. J. Z., A. Ramazahoy, Fontes, G. G. Reina, 1992, Photosynthetic Characteristic of *Dunaliella salina*, *J. Appl. Phycol.*; 4:11-15.
- [23] Richmond, A., 2004, In: Richmond, A. (Ed.), *Handbook of Microalgae Culture: Biotechnology and Applied Phycology*, Blackwell Science Ltd..
- [24] Sandnes, J. M., 2005, *Real-time Monitoring and Automatic Density Control of Large-scale Microalgal Cultures Using Near Infrared (NIR) Optical Density Sensors*. Norwegian Institute for Water Research (NIVA), P.B. 173, Kjels'as, 0411 Oslo, Norway.
- [25] Sudjiharno, 2002, *Persyaratan Budidaya Fitoplankton*. Balai Budidaya Laut Lampung, Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Departemen Kelautan dan Perikanan, Bandar Lampung.
- [26] Taw, N., 1990, *Algae Culturist. United Nations Development Programme Food and Agriculture Organization*, United Nations.