

TEKNIK KULTUR *Tetraselmis chuii* DALAM SKALA LABORATORIUM DI PT. CENTRAL PERTIWI BAHARI, REMBANG, JAWA TENGAH

Culture Technique of *Tetraselmis chuii* in the Laboratory Scale at PT. Central Pertiwi Bahari, Rembang, Central Java

Febri Setyawati^{1*} Woro Hastuti Satyantini², Muhammad Arief² dan Kismiyati².

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya

²Departemen Manajemen Kesehatan Ikan dan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya

*febri.setyawati-2014@fpk.unair.ac.id

Abstrak

Pakan merupakan kunci keberhasilan dalam budidaya perikanan, karena berpengaruh terhadap ketahanan dan perkembangan larva. Jenis pakan yang dapat diberikan pada ikan ada dua jenis, yaitu pakan alami dan pakan buatan. Salah satu jenis pakan alami yang dapat dimanfaatkan sebagai pemenuhan kebutuhan pakan budidaya yaitu fitoplankton jenis *Tetraselmis chuii*. Mikroalga *Tetraselmis chuii* merupakan salah satu mikroalga yang mudah dibudidayakan dan memiliki nilai gizi tinggi yaitu, kandungan protein 74%, lemak 4%, dan karbohidrat sebanyak 21%. Praktek Kerja Lapangan ini bertujuan untuk mempelajari, memahami, serta mempraktekkan secara langsung tentang teknik kultur pakan alami *Tetraselmis chuii* skala laboratorium dan mengetahui kendala dalam teknik kultur pakan alami *Tetraselmis chuii* skala laboratorium. Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* dalam kultur skala laboratorium mengalami puncak populasi pada hari keenam mencapai 3.240.000 sel/ml. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan *Tetraselmis chuii* sangat lama. Didapatkan inokulasi awal 550.000 sel/ml dan mengalami peningkatan hingga hari keenam. Hal ini menunjukkan pertumbuhan *Tetraselmis chuii* mengalami fase eksponensial. Kemudian, pada hari ketujuh mengalami penurunan mencapai 209.000 sel/ml lalu pada hari kedelapan mengalami peningkatan mencapai 249.000 sel/ml diduga mengalami periode kriptik, yaitu sel-sel yang masih hidup memanfaatkan tambahan nutrisi dari sel-sel yang lisis. Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* hari kesembilan sampai hari keempatbelas mengalami penurunan hingga 186.000 sel/ml.

Kata kunci: *Tetraselmis chuii*, Teknik Kultur dan Skala Laboratorium

Abstract

Feed is the key to success in aquaculture, because it affects the resistance and development of larvae. Types of feed that can be given to fish there are two types, namely natural food and artificial feed. One type of natural feed that can be used as a feed needs cultivation of phytoplankton type *Tetraselmis chuii*. *Tetraselmis chuii* is one microalga that is easy to be cultivated and has high nutritional value that is, the content of protein 74%, fat 4%, and carbohydrates as much as 21%. The purpose of this Field Work Practice is to learn, understand, and practice directly about the techniques of natural food culture *Tetraselmis chuii* the laboratory scale and know the constraints in the natural feed culture techniques *Tetraselmis chuii* laboratory scale. The growth of *Tetraselmis chuii* in a laboratory-scale culture peaked on the sixth day reached 3.240.000 cells / ml. This shows that the growth of *Tetraselmis chuii* is very long. obtained initial inoculation of 550,000 cells / ml and increased until the sixth day. This achievement showed growth *Tetraselmis chuii* experienced an exponential phase. After that, on the seventh day decreased to 209,000 cells / ml and then on the eighth day increased to 249,000 cells / ml allegedly experiencing a cryptic period, ie living cells take advantage of additional nutrients from lysis cells. The growth of *Tetraselmis chuii* on the ninth day until the fourteenth day decreased to 186,000 cells / ml.

Keywords: *Tetraselmis chuii*, Culture Technique and Laboratory Scale

PENDAHULUAN

Pengembangan usaha perikanan budidaya sangat tergantung kepada keter-

sediaan induk unggul dan benih berkualitas serta ketersediaan pakan. Pakan yang dapat diberikan pada ikan terdapat dua

jenis, yakni pakan alami dan pakan buatan. Mikroalga *Tetraselmis* sp. merupakan salah satu mikroalga yang mudah dibudidayakan dan memiliki nilai gizi tinggi yaitu, kandungan protein 74%, lemak 4%, dan karbohidrat sebanyak 21%. Tingginya kandungan protein tersebut menjadikan *Tetraselmis* sp. sebagai pakan alami yang potensial bagi larva ikan dan udang. *Tetraselmis* sp. memiliki dinding sel yang tipis dan enzim autolysis sehingga mudah dicerna oleh larva ikan dan udang (Costa et al, 2004).

Penyediaan *Tetraselmis* sp. secara terus menerus sangat sukar jika hanya mengumpulkan dari alam sehingga, memproduksi masal pakan alami ini harus dilakukan secara baik tanpa mengesampingkan faktor pendukung seperti nutrient dan cahaya (Pujiono, 2013). Ketersediaan kultur *Tetraselmis* sp. sebagai pakan alami bagi biota budidaya dapat diperbanyak menggunakan teknik kultur skala laboratorium.

Kultur skala laboratorium adalah pengembangan plankton dalam ruangan terkontrol dan terjaga dengan tujuan untuk pemeliharaan dan produksi plankton. Kultur *Tetraselmis chuii* diawali dengan mempersiapkan air laut yang sudah steril dengan salinitas 25-35 ppt (Adi dkk, 2002). Air laut tersebut kemudian dimasukkan dalam botol-botol kultur. Pupuk walne sebanyak 1 ml per liter, dimasukkan kedalam media kultur kemudian diberikan aerasi ke dalam media kultur tersebut. Tunggu \pm 5 menit supaya pupuk tercampur merata, setelah pupuk tercampur merata, *Tetraselmis chuii* dimasukkan sebanyak 20–30 % dari media kultur. Mencegah terjadinya kontaminasi udara, botol-botol kultur ditutup dengan kapas atau styrofoam yang telah diberi selang aerasi, supaya kultur *Tetraselmis chuii* dapat tumbuh dengan baik. Penempatan wadah kultur harus cukup mendapat cahaya untuk membantu proses fotosintesis. Empat hari masa pemeliharaan, fitoplankton dapat dipanen (Pujiastuti, 2010).

Menurut Adi dkk. (2002), *Tetraselmis chuii* umumnya tumbuh pada kisaran pH 7-8 tetapi *Tetraselmis chuii* masih menunjukkan pertumbuhan yang cukup baik pada nilai pH yang paling rendah mendekati 7 dan paling tinggi mendekati 11,3. Suhu dan intensitas cahaya optimum masing masing adalah 32-35°C dan 4500-8000 lux. *Tetraselmis chuii* tumbuh dengan kondisi salinitas optimal antara 25-35 ppt. Reproduksi *Tetraselmis chuii* dengan cara membelah diri dan dapat berkembang secara vegetative dan generative. Perkembangbiakan secara vegetative dilakukan dengan cara membelah diri. Sedangkan perkembangbiakan secara generative diawali dengan membentuk sel gamet (Ghezlbash et al, 2008).

Tujuan pelaksanaan praktek kerja lapang adalah mempelajari, memahami, dan mempraktekkan secara langsung serta mengetahui kendala dalam teknik kultur pakan alami *Tetraselmis chuii* skala laboratorium di PT. Central Pertiwi Bahari, Rembang, Jawa Tengah.

METODOLOGI

Waktu dan Tempat

Kegiatan Praktek Kerja Lapangan ini dilaksanakan di pada tanggal 23 Januari - 18 Februari 2017 di PT. Central Pertiwi Bahari, Desa Sumur Tawang, Kecamatan Kragan, Kabupaten Rembang, Jawa Tengah.

Metode Penelitian

Metode pengambilan data dilakukan dengan proses wawancara dan observasi. Menurut Kristanto (2008), metode wawancara merupakan cara mengumpulkan data dengan cara tanya jawab antara dua pihak yang dikerjakan secara sistematis dan berdasarkan pada suatu tujuan. Observasi adalah suatu proses pengamatan dan pencatatan secara sistematis, logis, objektif dan rasional mengenai berbagai fenomena yang terjadi di lapangan untuk mencapai tujuan tertentu (Arifin, 2011). Data yang terkumpul antara lain struktur organisasi, tenaga kerja, permodalan, per-

masalah, serta hambatan yang dihadapi dalam melakukan pengembangan dan mengenai proses-proses yang berkaitan dengan proses kultur *Tetraselmis* sp. skala laboratorium.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahapan dalam Kultur *Tetraselmis chuii*

Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat menggunakan Autoklaf meliputi petridish, ampul, flask, botol 1 liter serta selang aerasi dan mikrotube. Menurut Lansing et al (2005), Autoclave merupakan alat untuk mensterilkan alat dan bahan menggunakan uap air panas bertekanan. Pemanasan dilakukan hingga air mendidih dengan suhu 121°C. Setelah disterilisasi menggunakan autoclave, alat-alat dibiarkan terlebih dahulu kemudian ditata di dalam lemari penyimpanan alat.

Sterilisasi Galon pada saat pencucian menggunakan campuran iodine dan deterjen. Hal ini bertujuan untuk mensterilkan bagian dalam serta membunuh mikroorganisme yang tidak diinginkan seperti bakteri pada bagian dalam galon tersebut. Sedangkan, sterilisasi pada ruangan menggunakan lampu UV. Menurut Lukas (2006), Sinar UV digunakan untuk sterilisasi ruangan secara aseptik.

Sterilisasi Media untuk Kultur

Air laut sebagai media kultur diperoleh dari perairan laut Jawa yang terdapat pada arah utara PT Central Pertiwi Bahari, Rembang. Air laut yang digunakan sebagai media kultur, harus disterilisasi. Proses sterilisasi media air laut menggunakan Autoclave dan ozon. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lansing et al (2005), Autoclave merupakan alat untuk mensterilkan alat dan bahan menggunakan uap air panas bertekanan. Pemanasan dilakukan hingga air mendidih dengan suhu 121°C, sedangkan Ozon merupakan zat desinfektan yang ramah lingkungan. ozon dapat merusak mekanisme dari mikroba sehingga sel protein pada mikroba mengalami oksidasi yang mengakibatkan perubahan fungsi dan

kematian pada mikroba, (Sururi dkk, 2008).

Pembuatan Pupuk

Kultur *Tetraselmis chuii* menggunakan jenis pupuk guillard untuk kultur pada petridish, ampul, dan Erlenmeyer sebanyak 1 ml pupuk untuk 1 liter volume kultur. Bahan-bahan penyusun pupuk guillard untuk kultur *Tetraselmis chuii* pada skala petridish, ampul dan erlenmeyer adalah natrium pospat, trace metal, vitamin B1, B12, Biotin dan silikat. Menurut Matthews (1990) Vitamin B12 berperan untuk meregenerasi methionin yang merupakan asam amino esensial digunakan untuk sintesis protein. Vitamin B1 berfungsi sebagai kofaktor untuk beberapa enzim yang terlibat dalam metabolisme. Natrium Phosphat merupakan larutan fisiologis membantu sel dalam mempertahankan konsistensi pH dan mengandung nutrisi seperti glukosa dan garam-garam organik. Trace Metal digunakan untuk memenuhi kebutuhan mineral dalam pertumbuhannya (Lavens and Sorgeloos, 1995).

Pupuk *Tetraselmis chuii* pada kultur botol dan galon menggunakan NaNO₃, EDTA dan AGP. Pupuk *Tetraselmis chuii* pada kultur botol dan galon menggunakan NaNO₃, EDTA dan AGP. Unsur nutrisi nitrogen (N) yang terdapat dalam NaNO₃ merupakan komponen utama protein sel sebagai bagian dasar kehidupan organisme (Swandewi dkk, 2016). AGP merupakan pupuk yang digunakan dalam media botol dan galon sebagai pengganti pupuk Natrium Phosphat dan Trace Metal.

Kultur pada Petridish

Pembuatan media agar diawali dengan pemberian air laut sebanyak 250 ml kedalam Erlenmeyer lalu tambahkan silikat sebanyak 3 ml, Natrium Phosphat sebanyak 2 ml, Trace Metal sebanyak 2 ml, vitamin sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan bacto agar sebanyak 4.5 gram lalu dipanaskan menggunakan hot plate

hingga mendidih. Setelah mendidih, larutan media tersebut dituang ke dalam petridish sebanyak 20 ml lalu tutup petridish tersebut kemudian berikan paraffin lalu inkubasi selama 24 jam.

Kultur petridish, pertama-tama siapkan bibit *Tetraselmis chuii* yang akan digunakan lalu buka paraffin yang ada pada tutup petridish kemudian ambil bibit *Tetraselmis chuii* menggunakan mikropipet lalu teteskan kedalam media agar lalu, ambil jarum ose kemudian sterilkan terlebih dahulu menggunakan api bunsen tunggu beberapa saat, kemudian lakukan metode streak plating dengan pola tertentu pada media agar. Tutup kembali petridish menggunakan paraffin dan letakkan petridish pada saat inkubasi dengan posisi terbalik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Satyantini, dkk (2016) Cawan petri diletakkan dalam keadaan terbalik untuk mencegah terjadinya penetasan embun dari bagian tutup cawan petri ke media agar. Beri label pada petridish dan lakukan inkubasi selama 7 hari, hingga koloni tumbuh pada permukaan agar. Media petridish dapat bertahan selama 3 minggu.

Kultur pada Botol 55 ml

Pembuatan media pada wadah botol 55 ml dilakukan dengan pemberian pupuk guillard sebanyak 50 ml lalu diberikan bibit koloni dari petridish. Pengambilan bibit *Tetraselmis chuii* pada petridish menggunakan jarum ose yang telah steril dengan api bunsen lalu ditunggu beberapa saat kemudian ambil bibit *Tetraselmis chuii* pada petridish dan dimasukkan kedalam botol kemudian ditutup. Lalu diinkubasi selama \pm 2 minggu. Kultur pada wadah botol 55 ml perlu dilakukan pengocokan setiap hari supaya tidak terjadi pengendapan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Setoaji dan Hermana (2013), kultur tanpa menggunakan aerasi harus dilakukan pengocokan setiap hari, supaya tidak adanya pengendapan.

Kultur pada Erlenmeyer 250 ml

Pembuatan media pada wadah Erlenmeyer dilakukan pemberian pupuk Guilard sebanyak 150 ml lalu berikan bibit dari media ampul sebanyak 100 ml. Kemudian, tutup Erlenmeyer dengan aluminium foil supaya tidak terjadi kontaminasi. Letakkan Erlenmeyer tersebut kedalam rak kultur dengan suhu 20°C dan Intensitas cahaya 4200 lux. Inkubasi selama \pm 7 hari untuk memperoleh hasil maksimal. Hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Adi dkk (2002), Suhu dan intensitas cahaya optimum masing masing adalah 32-35°C dan 4500-8000 lux. *Tetraselmis chuii* tumbuh dengan kondisi salinitas optimal antara 25-35 ppt. Setiap harinya dilakukan pengocokan supaya tidak adanya pengendapan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Setoaji dan Hermana (2013), kultur tanpa menggunakan aerasi harus dilakukan pengocokan setiap hari, supaya tidak adanya pengendapan.

Kultur pada Botol 900 ml

Kultur pada wadah botol 900 ml diawali dengan pembuatan media sebanyak 800 ml yang telah diautoclave selama 60 menit lalu berikan bibit dari kultur wadah Erlenmeyer sebanyak 100 ml. Kemudian, tutup botol dengan aluminium foil supaya tidak terjadi kontaminasi lalu, beri aerasi. Letakkan botol tersebut kedalam rak kultur dengan suhu 20°C dan intensitas cahaya 4200 lux. Inkubasi dalam wadah botol membutuhkan waktu \pm 4 hari. Hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Hermawan (2016), budidaya *Tetraselmis chuii* kebutuhan suhu antara 23-25°C dan kebutuhan intensitas cahaya yaitu 3000-10.000 lux.

Kultur pada Galon 19 Liter

Kultur pada wadah Galon diawali dengan menggunakan air laut yang telah di dengan kaporit 10 ppm yang telah disaring menggunakan cartridge dan filter bag. Air laut tersebut dimasukan kedalam galon sebanyak 10 liter lalu berikan aerasi, tunggu hingga 24 jam. Setelah 24 jam

galon diberikan Thiosulfat 5 ppm sebanyak 10 ml. Tujuan diberikan Thiosulfat untuk menetralkan kaporit lalu, tambahkan NaNO_3 sebanyak 50 ml dan AGP murni sebanyak 5 ml kemudian, tambahkan bibit *Tetraselmis chuii* sebanyak 1800 ml lalu beri aerasi. Letakkan galon tersebut kedalam rak kultur dengan suhu 20°C dan intensitas cahaya 4200 lux. Hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Adi dkk (2002), Suhu dan intensitas cahaya optimum masing masing adalah $32\text{-}35^\circ\text{C}$ dan 4500-8000 lux. *Tetraselmis chuii* tumbuh dengan kondisi salinitas optimal antara 25-35 ppt. Kultur galon dipanen ± 4 hari.

Pengamatan Pertumbuhan *Tetraselmis chuii*

Pengamatan pertumbuhan *Tetraselmis chuii* menggunakan kultur pada media botol yang dilakukan selama 14 hari. Pengamatan pertumbuhan *Tetraselmis chuii* dalam kultur skala laboratorium didapatkan inokulasi awal 550.000 sel/ml dan mengalami peningkatan hingga hari keenam mencapai 3.240.000 sel/ml, sedangkan pada pengamatan Ru'yatin dkk. (2015), bibit awal 300.000 sel/ml dan mengalami peningkatan hingga hari kedelapan mencapai 1.600.000 sel/ml kemudian mengalami penurunan. Hasil penelitian Pujiono (2013) juga memperlihatkan fase eksponensial yang berkisar antara hari keenam sampai hari kedelapan. Fase tersebut ditandai dengan naiknya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat beberapa kali lipat.

Pengamatan pertumbuhan *Tetraselmis chuii* pada hari ketujuh mengalami penurunan mencapai 209.000 sel/ml lalu pada hari kedelapan mengalami peningkatan mencapai 249.000 sel/ml. Peningkatan kepadatan sel terjadi setelah mengalami fase stasioner diduga mengalami periode kriptik, yakni sel-sel yang masih hidup memanfaatkan tambahan nutrisi dari sel-sel yang lisis untuk pertumbuhannya (Suantika dan Hendrawandi, 2008). Pertumbuhan *Tetraselmis chuii* pada hari kesembilan mencapai 241.000 sel/ml

hingga hari ke-14 mengalami penurunan kepadatan sel mencapai 186.000 sel/ml, hal ini diduga karena semakin melimpahnya zat padatan tersuspensi di dalam media sehingga menghambat cahaya yang masuk kedalam medium yang menyebabkan sel-sel tidak mampu menyerap cahaya dengan baik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Matakupan (2009), terjadinya penurunan kepadatan sel fitoplankton dapat disebabkan oleh beberapa faktor yakni penipisan nutrisi sehingga tidak lagi mampu bertumbuh dan terbatasnya sumber cahaya yang menyebabkan keredupan karena padatnya pertumbuhan.

Pemanenan

Pemanenan kultur *Tetraselmis chuii* di PT. Central Pertiwi Bahari, Rembang, Jawa Tengah, dilakukan dengan pengamatan menggunakan mikroskop, sehingga dapat diketahui pertumbuhan *Tetraselmis chuii* yang telah mencapai puncak populasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pujiono (2013), Pemanenan kultur *Tetraselmis chuii* harus dilakukan pada saat fitoplankton mencapai puncak populasi. Apabila puncak populasi belum tercapai, maka sisa-sisa zat hara masih ada dan membahayakan organisme yang mengkonsumsinya. Sedangkan apabila pemanenan terlambat maka terjadi kematian sehingga kualitas fitoplankton tersebut mengalami penurunan.

Pemanenan *Tetraselmis chuii* di PT. Central Pertiwi Bahari, Rembang, Jawa Tengah, dilakukan dengan memindahkan kultur media petridish kedalam media ampul, media ampul kedalam Erlenmeyer volume 250 ml, media Erlenmeyer kedalam botol volume 900 ml dan media botol volume 900 ml kedalam media galon lalu kultur pada media galon dilanjutkan kedalam media bak filber yaitu skala intermediet kemudian dilanjutkan kedalam kultur massal. Teknik pemanenan kultur *Tetraselmis chuii* dilakukan secara total. Menurut Pujiastuti (2010), pemanenan total yaitu mengambil hasil kultur secara keseluruhan.

KESIMPULAN DAN SARAN**Kesimpulan**

Kesimpulan dari hasil Praktek Kerja Lapang di PT. Central Pertiwi Bahari Rembang adalah Teknik kultur *Tetraselmis chuii* skala labolatorium diawali dengan sterilisasi kemudian dilanjutkan dengan pembuatan pupuk, pemilihan bibit dan kultur *Tetraselmis chuii* yang dimulai dari media petridish, ampul, Erlenmeyer bervolume 250 ml, botol dan galon. Puncak populasi kultur *Tetraselmis chuii* skala laboratorium terjadi pada hari keenam dengan jumlah kepadatan 3.240.000 sel/ml. Kendala yang dihadapi pada saat kultur adalah kontaminasi, sehingga penanganannya yaitu dilakukan menerapkan biosecurity.

Saran

Kultur *Tetraselmis chuii* di PT. Central Pertiwi Bahari Rembang harus menjaga kesterilan alat dan bahan. Hal ini sangat penting supaya bibit tidak terkontaminasi dengan mikroorganisme lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi, A. I., A. A. M. D. Anggreni dan I. W. Arnata. 2002. Optimasi Salinitas dan pH Awal Media BG-11 terhadap Konsentrasi Biomassa *Tetraselmis chuii*. Tesis. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana. Denpasar. 11 hal.
- Arifin, Z. 2011. Evaluasi Pembelajaran Prinsip, Teknik, Prosedur. PT Remaja Rosdakarya. Bandung 24-25 hal.
- Costa, M. A., L. Marisa., and J. Silvio. 2004. Urban Secondary Sewage: an Alternative Medium for the Culture of *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae) and *Dunaliella viridis* (Chlorophyceae). Brazilian Archives Of Biology And Technology. Brazil. 11 p.
- Ghezalbash, F., T. Farboodnia., R. Heidari and N. Agh. 2008. Effects of different Salinities and Luminance on Growth Rate of the Green Microalgae *Tetraselmis chuii*. Journal of Biological Sciences. 3 (3): 311- 314.
- Hermawan, L. S. 2016. Pertumbuhan dan Kandungan Nutrisi *Tetraselmis* sp. yang Diisolasi dari Lampung Mangrove Center pada Kultur Skala Labolatorium dengan Pupuk Pro Analisis dan Pupuk Urea dengan Dosis Berbeda. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Lampung. 57 hal.
- Kristanto, A. 2008. Perancangan Sistem Informasi dan Aplikasinya. Gaya Media. Yogyakarta.
- Lansing, M. P., J. P. Harley. and D. A. Kleien. 2005. Microbiology Sixth Edition. The Mc Graw-Hill Company. New York. 12 p.
- Lavens, P and P. Sorgeloos. 1995. Manual on The Production of Use of Live Food for Aquaculture, Food and Agriculture Organization of The United Nations. FAO Fisheries Technical. Rome. 361 p.
- Lukas, S. 2006. Formulasi Steril. Penerbit Andi. Yogyakarta. 16 hal.
- Matakupan, J. 2009. Studi Kepadatan *Tetraselmis chuii* yang dikultur pada Intensitas Cahaya yang Berbeda. Jurnal Triton. 5 (2): 32-35.
- Matthews, R. G and R. V. Banerjee. 1990. Cobalamin-Dependent Methionine Synthase. Biophysics Research Division and Department of Biological Chemistry, The University of Michigan, Ann Arbor. USA. 1450-1459 p.
- Pujiastuti, A. 2010. Pengaruh Penggunaan Media yang Berbeda Terhadap Kemampuan Penyerapan Logam Berat Pb (Timbal) oleh *Tetraselmis* sp. Skripsi. Jurusan Budidaya Perairan. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 55 hal.
- 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. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Jember. Jember. 57 hal.
- Ru'yatin., I. S. Rohyani dan L. Ali. 2015. Pertumbuhan *Tetraselmis* sp. dan *Nannochloropsis* sp. pada skala laboratorium. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon. 1 (2): 296-299.
- Satyantini, W. H., E. D. Masithah., M. A. Alamsjah., S. Andriono., L. A. Sari dan D. D. Nindarwi. 2016. Penuntun Praktikum Budidaya Pakan Alami. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. 20 hal.
- Setoaji, L dan J. Hermana. 2013. Pengaruh Aerasi dan Sumber Nutrien terhadap Kemampuan Alga Filum Chlorophyta dalam Menyerap Karbon (Carbon Sink) untuk Mengurangi Emisi CO₂ di Kawasan Perkotaan. Jurnal Teknik Pomits. 2 (2): 2301-9271
- Suantika, G. dan D. Hendrawandi. 2008. Efektivitas Teknik Kultur Menggunakan Sistem Kultur Statis, Semi-Kontinyu dan Kontinyu terhadap Produk dan Kualitas Kultur *Tetraselmis* sp. Jurnal Matematika dan Sains. 4 (2).
- Sururi, R. M., S. D. Rachmawati, dan M. Sholichah. 2008. Perbandingan Efektifitas Klor dan Ozon sebagai Desinfektan pada Sampel Air dari Unit Filtrasi Instalasi PDAM Kota Bandung. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II. Lampung. Universitas Lampung.
- Swandewi, I. G. A. P. A. S., A. A. M. D. Anggreni dan A. H. Bambang. 2016. Pengaruh Penambahan NaNO₃ dan K₂HPO₄ pada Media BG-11 Terhadap Konsentrasi Biomassa dan Klorofil *Tetraselmis chuii*. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri. 4 (4): 70-80.