

PENGARUH KONSENTRASI PUPUK *Azolla pinata* TERHADAP PERTUMBUHAN POPULASI *Spirulina platensis*

THE EFFECT OF *Azolla pinata* FERTILIZER CONCENTRATION IN *Spirulina platensis* POPULATION GROWTH

Faricha Risma Nurani, Endang Dewi Masithah dan A. Shofy Mubarak

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga
Kampus C Mulyorejo - Surabaya, 60115 Telp. 031-5911451

Abstract

Spirulina merupakan salah satu jenis alga yang sangat diminati oleh produsen pembenihan dan suplemen kesehatan. Hal yang dapat mendorong peningkatan produksi *Spirulina* adalah peningkatan pertumbuhan, yaitu meningkatkan jumlah sel. Salah satu cara untuk meningkatkan pertumbuhan fitoplankton adalah mengontrol kandungan nutrisi baik makro maupun mikro pada lingkungan budidaya. *Azolla pinata* memiliki berbagai unsur hara antara lain N, P, K, Ca, S, Mg, Mn, Fe, Zn, Co. Kandungan unsur kimia dalam *Azolla pinata* secara kualitatif dan kuantitatif dapat memenuhi kebutuhan unsur makro dan mikro pertumbuhan *Spirulina platensis*. *Azolla pinata* merupakan tanaman paku mini yang bersimbiosis dengan *cyanobacteria* pemfiksasi N₂ yaitu *Anabaena azollae*. Simbiosis ini menyebabkan *Azolla pinata* sebagai sumber N.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pupuk *Azolla pinata* terhadap pertumbuhan populasi *Spirulina platensis* dan untuk mengetahui konsentrasi optimal pupuk *Azolla pinata* yang dapat menghasilkan pertumbuhan tertinggi *Spirulina platensis*. Penelitian dilaksanakan di Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S. platensis* yang dikultur pada botol kaca 500 ml dengan lima perlakuan dan empat kali ulangan. Bahan pupuk yang digunakan adalah 500 gram *Azolla pinata* dan 2 liter aquades. Konsentrasi pupuk *Azolla pinata* yang diberikan pada perlakuan adalah A (3,5 ml), B (5,5 ml), C (7,5 ml), D (9,5 ml), E (kontrol Walne 1 ml). Parameter utama yang diamati adalah populasi, sedangkan parameter pendukung yang diamati adalah suhu, pH, dan salinitas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi pupuk *Azolla pinata* memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap pertumbuhan populasi *Spirulina platensis*. Penambahan pupuk *Azolla pinata* kedalam media kultur menggunakan konsentrasi 3,5 ml menghasilkan populasi *Spirulina platensis* tertinggi sebesar 1708,6 x 10³ unit/ml.

Keywords : *S. platensis*, *Azolla pinnata*, sumber Nitrogen

Pendahuluan

Spirulina merupakan jenis mikroalga golongan Cyanophyta atau alga hijau biru (*blue-green algae*) yang telah banyak digunakan sebagai pakan alami dalam usaha budidaya khususnya dalam pembenihan. Kultur *S. platensis* membutuhkan nutrisi (pupuk) untuk memperkaya kandungan nutrisi untuk menjaga kestabilan produksi. Nitrogen merupakan salah satu unsur makro nutrisi yang sangat berperan sebagai penyusun senyawa dalam sel, termasuk protein (Chrismadha dkk., 2006) dan klorofil (Corsini dan Karidys, 1990 dalam Prabowo, 2009) untuk fotosintesis.

S. platensis merupakan mikroalga yang tidak memiliki heterosis, sehingga spesies ini tidak mampu memfiksasi Nitrogen dari udara. Pemenuhan kebutuhan Nitrogennya sangat

bergantung pada ketersediaannya dalam medium (Kurniasih, 2001). Mahalnya harga pupuk sintetis (pupuk Walne) menjadi dasar pencarian sumber Nitrogen alternatif yang berasal dari alam, yaitu dengan menggunakan sisa hasil pertanian sehingga tidak perlu biaya yang banyak untuk menggunakannya. Salah satu contohnya adalah *Azolla pinnata*.

Azolla pinata merupakan tanaman paku mini yang bersimbiosis dengan *cyanobacteria* pemfiksasi N₂ yaitu *Anabaena azollae*. Simbiosis ini menyebabkan *Azolla pinata* mempunyai kualitas nutrisi yang baik sebagai sumber N Ratna (2007). Fiksasi nitrogen yang dilakukan oleh *Anabaena azolla* yang tergolong bakteri prokariotik ini dengan memanfaatkan gas nitrogen yang ada di atmosfer yang berupa N₂ yang dirubah menjadi

ammonia NH_3 . Sumber nitrogen dapat berupa senyawa nitrat (NO_3^-), nitrit (NO_2^-) dan ammonium (NH_4^+). Kaplan *et al.*, (1986) menyatakan bahwa nitrat (NO_3^-) tereduksi menjadi nitrit (NO_2^-), kemudian nitrit (NO_2^-) tereduksi menjadi ammonium (NH_4^+). Proses tersebut dapat terjadi karena adanya kerja enzim nitrat reduktase dan besi (FeCl_3). Proses ini disebut nitrifikasi (pembentukan amonia dari pemecahan protein) yang dapat dilakukan oleh *Anabaena azollae* yang bersimbiosis dengan *Azolla pinnata* yang menjadikan nitrogen tersedia.

Metodologi

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah toples kaca, aerator, selang aerator, gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, pipet volume, mikroskop, *Sedgewick Rafter*, *handtally counter*, refraktometer, pH paper, termometer, lampu TL 40 watt, kapas, corong air, dan kertas saring. Bahan penelitian yang digunakan adalah *S. platensis*, rendaman bintil akar kacang tanah, pupuk Walne, air tawar dan air laut, aquades, alkohol, khlorin dan Na Thiosulfat.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), sebab dalam penelitian ini semua dikondisikan sama kecuali perlakuan penambahan pupuk *Azolla pinnata* (Kusriningrum, 2008). Perlakuan pada penelitian sebanyak 5 perlakuan dengan ulangan sebanyak 4 kali yaitu pupuk *Azolla pinnata* sebanyak 3,5 mL (A), 5,5 mL (B), 7,5 mL (C), 9,5 mL (D), dan kontrol dengan menggunakan pupuk Walne (E).

Persiapan penelitian meliputi sterilisasi air laut dan sterilisasi alat. Sterilisasi air laut dilakukan dengan menggunakan khlorin 60 ppm dan Na Thiosulfat (untuk menetralsir kadar khlorin), diberi aerasi selama 24 jam. Air laut yang sudah steril disimpan dalam wadah tidak tembus cahaya dan tertutup (Rusyani dkk., 2007). Sterilisasi alat dilakukan dengan dua cara berbeda. Untuk peralatan yang terbuat dari kaca tahan panas, semua peralatan dicuci bersih kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan peralatan yang tidak tahan panas disterilkan dengan larutan khlorin 150 ppm selama 24 jam. Kemudian dibilas dengan air tawar hingga bersih dan bau khlorin hilang.

Pupuk yang digunakan sebagai media kultur dan kontrol adalah pupuk Walne yang didapatkan dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara. Pupuk yang berasal dari *Azolla pinnata* dibuat dengan cara mengeringkan *Azolla pinnata* kemudian dikeringkan. Setelah kering, *Azolla pinnata* diambil dan digiling. Hasil gilingan *Azolla pinnata* ditimbang sebanyak 500 gram lalu direndam dalam 2 L aquades selama empat minggu (dilakukan pengocokan setiap hari), dengan suhu ruangan (32°C) dan berada dalam keadaan anaerob. Setelah empat minggu, rendaman *Azolla pinnata* diperas dengan menggunakan kain untuk diambil hasil perasannya (Hutagalung, 2008).

Bibit *S. platensis* dengan kepadatan 10.000 unit/mL (Swantika, 2009). dimasukkan dalam toples kaca yang telah diisi air laut dan media kultur, yaitu pupuk Walne dan pupuk *Azolla pinnata* sesuai dengan konsentrasi perlakuan.

Perhitungan Pertumbuhan Populasi *S. platensis*

Pertumbuhan populasi dihitung dengan cara menghitung jumlah unit (sinusoid) *S. platensis*. Penghitungan dilakukan dengan menggunakan *Sedgewick Rafter* dan *Handtally Counter* untuk memudahkan perhitungan. Pengamatan pertumbuhan *S. platensis* dilakukan setelah 24 jam penebaran awal setiap hari. Perhitungan dilakukan dengan rumus (Isnasetyo dan Kurniastuti, 1995) :

$$\text{Sinusoid/ml} = \frac{\text{Jumlah} \times 1000 \times P}{3,14 \times 10}$$

Keterangan:

1000 = Jumlah bidang pandang yang terdapat pada lekukan *sedwigh rafter*

3,14 = Diameter bidang pandang (mm)

10 = 10 kali pengamatan

P = Pengenceran

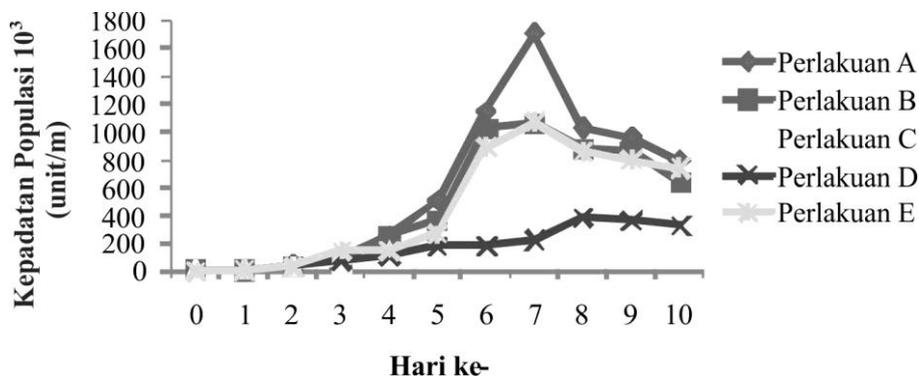
Parameter Penelitian

Parameter utama dalam penelitian ini adalah populasi *S. platensis*. Parameter pendukung dalam penelitian adalah suhu air, suhu ruang, pH, dan salinitas. Pengukuran suhu menggunakan termometer, pengukuran pH menggunakan pH paper, dan pengukuran salinitas menggunakan refraktometer.

Tabel 1. Rata-rata Pertumbuhan Populasi *Spirulina platensis* Yang Dikultur Menggunakan Pupuk *Azolla pinata* Pada Hari Ke-0 Sampai Hari Ke-10

Hari ke-	Kepadatan Populasi <i>Spirulina platensis</i> 10 ³ (unit/ml)				
	Perlakuan A	Perlakuan B	Perlakuan C	Perlakuan D	Perlakuan E
0	10	10	10	10	10
1	16,4 ^a	15,3 ^a	15,9 ^a	15,3 ^a	12,3 ^a
2	50,5 ^a	38,4 ^{ab}	34,8 ^{ab}	30,2 ^b	33,9 ^{ab}
3	96,3 ^a	72,1 ^a	64,8 ^a	79,8 ^a	149,2 ^a
4	258,6 ^a	255,1 ^a	144,8 ^{ab}	111,3 ^b	149,2 ^{ab}
5	509,2 ^a	357,5 ^{ab}	219,7 ^b	179,9 ^b	269,7 ^b
6	1148,1 ^a	1031,8 ^{ab}	227,2 ^c	184,5 ^c	889,9 ^b
7	1708,6 ^a	1064,5 ^b	241,1 ^c	224,8 ^c	1071,1 ^b
8	1030,6 ^a	879,3 ^a	561,8 ^b	383,3 ^b	857,3 ^a
9	962,6 ^a	867,9 ^a	517,9 ^b	360,7 ^b	797,3 ^a
10	796,3 ^a	648,6 ^{ab}	458,4 ^{bc}	328,1 ^c	744,1 ^a

Keterangan: Superskrip berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)
 Perlakuan A = Pemberian pupuk *Azolla pinata* dengan konsentrasi 3,5 ml/l
 Perlakuan B = Pemberian pupuk *Azolla pinata* dengan konsentrasi 5.5 ml/l
 Perlakuan C = Pemberian pupuk *Azolla pinata* dengan konsentrasi 7,5 ml/l
 Perlakuan D = Pemberian pupuk *Azolla pinata* dengan konsentrasi 9.5 ml/l
 Perlakuan E = Pemberian pupuk walne dengan konsentrasi 1ml/l (kontrol)



Gambar 1. Grafik Rata-Rata Pertumbuhan Populasi *Spirulina platensis* (unit/ml) Setelah Penambahan Pupuk *Azolla pinata* Yang Dikultur Selama Sepuluh Hari.

Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan konsentrasi pupuk *Azolla pinata* terhadap pertumbuhan populasi *Spirulina platensis* digunakan uji statistik ANAVA (UJI F dengan taraf kepercayaan 95%). Apabila nilai uji F berbeda nyata maka dilanjutkan dengan Uji jarak berganda Duncan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas (perlakuan) dan variabel tergantung (hasil) (Kusriningrum, 2008).

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan penelitian berupa penghitungan populasi *Spirulina platensis* yang dikultur selama sepuluh hari. Pertumbuhan *Spirulina platensis* selama sepuluh hari dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil Analisis varian (ANAVA) pengaruh konsentrasi pupuk *Azolla pinata* terhadap pertumbuhan populasi *Spirulina platensis* menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap pertumbuhan populasi

Spirulina platensis. Hal ini diduga karena adanya pengaruh yang nyata pada penggunaan pupuk *Azolla pinnata* sebagai sumber Nitrogen terhadap populasi *S. platensis*.

Pada Gambar 1. terlihat bahwa *Spirulina platensis* yang dikultur dengan menggunakan pupuk *Azolla pinnata* terlihat mengalami fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Fase adaptasi (istirahat) merupakan fase penyesuaian diri (adaptasi) terhadap lingkungannya. Pada semua perlakuan fase ini terjadi pada hari ke-0 (penebaran inokulum) sampai hari pertama. fase adaptasi yang pendek juga disebabkan media pada perlakuan sesuai dengan media pemeliharaan. Menurut Prihantini (2007) salah satu faktor yang menentukan lamanya fase adaptasi adalah umur kultur yang digunakan sebagai inokulan. Fase adaptasi akan mejadi lebih singkat atau bahkan tidak terlihat apabila sel-sel yang dinokulasikan berasal dari kultur yang berada dalam fase eksponensial. Fase adaptasi tidak terlihat jelas pada semua media perlakuan kemungkinan juga disebabkan sel-sel yang dinokulasikan cepat beradaptasi terhadap media kultur yang baru (Prihantini, 2007).

Fase eksponensial berlangsung pada hari kedua, hanya saja lama waktu yang berbeda. Pada fase eksponensial ini jumlah kepadatan populasi meningkat. Fase eksponensial ditandai dengan meningkatnya pembelahan sel sehingga populasi *Spirulina platensis* akan mengalami puncak pertumbuhan. Menurut Prihantini (2007) pada fase eksponensial ini ketersediaan unsur nitrogen dalam medium cukup besar sehingga memungkinkan biosintesis dan metabolisme sel cepat yang menyebabkan terjadi puncak pertumbuhan. Puncak pertumbuhan populasi tertinggi *Spirulina platensis* pada penelitian ini terjadi pada hari ketujuh dengan populasi tertinggi pada perlakuan pemberian pupuk *Azolla pinnata* 3,5 ml dengan kepadatan maksimal $1708,6 \times 10^3$ unit/ml dan populasi terendah pada perlakuan D dengan kepadatan minimal $224,8 \times 10^3$ unit/ml.

Fase stasioner pada penelitian berlangsung singkat. Hal ini disebabkan karena pada penelitian ini pengamatan dilakukan selama 24 jam sekali (Prihantini dkk, 2005). Fase ini akan tampak lebih jelas apabila dilakukan pengamatan penelitian setiap 6 jam/12 jam sekali (Surya, 2010). Fase stasioner terjadi pada perlakuan pemberian pupuk *Azolla pinnata* 7,5 ml dan 9,5 ml, sedangkan perlakuan yang lainnya tidak tampak mengalami fase stasioner. Pada beberapa perlakuan yang tidak mengalami fase stasioner hal ini disebabkan

karena pada kultur yang mempunyai kepadatan tinggi cenderung memiliki fase adaptasi lebih singkat dan fase eksponensial yang lebih cepat, kemudian cepat mengalami penurunan jumlah populasi. Hal ini disebabkan karena pada saat populasi dalam kepadatan tinggi dan mengalami proses metabolisme sel, terjadi akumulasi senyawa hasil metabolisme dalam konsentrasi tinggi sehingga dapat meningkatkan mortalitas *Spirulina platensis* (Prihantini, 2005).

Fase kematian pada perlakuan pemberian pupuk *Azolla pinnata* terjadi setelah *Spirulina platensis* mengalami puncak pertumbuhan populasi, kecuali pada beberapa perlakuan yang mengalami fase stasioner. Pengurangan populasi ini disebabkan karena ketersediaan unsur nitrogen sebagai makronutrien pada pertumbuhan *Spirulina platensis* sudah habis digunakan untuk proses metabolisme sel yang menyebabkan *Spirulina platensis* tidak mampu lagi mempertahankan kepadatannya dan cepat mengalami penurunan (Prihantini, 2007).

Konsentrasi pupuk *Azolla pinata* terhadap pertumbuhan populasi *Spirulina platensis* menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap pertumbuhan populasi *Spirulina platensis*. Hasil tersebut diduga disebabkan karena *Spirulina platensis* mampu memanfaatkan nutrient yang terkandung dalam pupuk *Azolla pinata* dengan baik untuk pertumbuhannya. Rahma (2007) menjelaskan bahwa *Azolla pinnata* mengandung unsur makronutrien dan mikronutrien yang sama dengan kebutuhan *Spirulina platensis*.

Hari pertama hingga hari kesepuluh populasi *Spirulina platensis* pada perlakuan pemberian pupuk *Azolla pinata* 7,5 ml dan pupuk *Azolla pinata* 9,5 ml lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan pemberian pupuk *Azolla pinata* 3,5 ml, pupuk *Azolla pinata* 5,5 ml. Hal tersebut disebabkan pada perlakuan pemberian pupuk *Azolla pinata* 7,5 ml dan 9,5 ml diduga pupuk *Azolla pinata* yang ditambahkan pada media melebihi kebutuhan nutrisi *Spirulina platensis* sehingga nutrien yang ada tidak mampu dimanfaatkan secara maksimal sehingga menyebabkan pertumbuhannya menjadi terhambat. Saptarini, dkk (2003) menyatakan bahwa jumlah nitrogen dan fosfor yang berlebihan bisa menjadi racun bagi fitoplankton.

Menurut Rostini (2007) faktor yang menentukan untuk mendapatkan efisiensi dan efektivitas pemberian pupuk terhadap fitoplankton adalah dengan memberikan konsentrasi yang sesuai. *Spirulina platensis*

pada perlakuan pemberian pupuk *Azolla pinata* 3,5 ml dan 5,5 ml dapat tumbuh lebih baik dan kepadatan populasinya tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Populasi *Spirulina platensis* tertinggi pada penelitian yaitu pada pemberian pupuk *Azolla pinata* 3,5 ml dengan jumlah kepadatan *Spirulina platensis* 1708,6 x 10³ unil/ml dan populasi terendah pada pemberian pupuk *Azolla pinata* 9,5 ml dengan jumlah kepadatan *Spirulina platensis* 224,8 x 10³ unit /ml. Hal ini disebabkan karena nitrogen dan fosfor yang terdapat dalam pupuk *Azolla pinata* mampu diserap dengan baik oleh *Spirulina platensis* setelah penebaran inokulan dalam media kultur, sehingga dapat memacu pertumbuhannya (Nishio *et.al.*, 1985 dalam Surya, 2010).

Nitrogen merupakan nutrien yang dibutuhkan paling banyak untuk pertumbuhan fitoplankton (Wijaya, 2006). Nitrogen sebagai unsur penting dalam pembentukan klorofil a dan protein (Isnasetyo dan Kurniastuti, 1995). Unsur fosfor ini juga sangat dibutuhkan dalam proses metabolisme sel, pembelahan sel dan transfer energi (Richmond, 1986). *Spirulina platensis* yang dikultur dengan menggunakan pupuk *Azolla pinata* dapat tumbuh dengan baik selama penelitian. Hasil analisis kimia pupuk *Azolla pinata* mempunyai kandungan nitrogen sebesar 2,8 mg (0,28%) dan fosfor 4 mg (0,04%) (Lampiran 1). Rasio N:P pupuk *Azolla pinata* adalah 7:1 dimana nilai rasio N:P *Azolla pinata* ini sesuai dengan rasio N:P *Blue Green Alga* yaitu < 10:1. Hal ini sesuai dengan pendapat Edhy, dkk (2003) yang menyatakan bahwa rasio N:P untuk *Blue Green Alga* adalah <10:1. Rasio N:P berpengaruh terhadap pertumbuhan fitoplankton karena apabila rasio jumlah nitrogen dan fosfor berlebih bisa menjadi toksik bagi fitoplakton itu sendiri dan dapat menghambat pertumbuhannya. Sebaliknya apabila jumlah nitrogen dan fosfor kurang maka fitoplankton akan mati.

Pertumbuhan *Spirulina platensis* yang baik selain dipengaruhi oleh kandungan nutrisi juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan di dalam media pemeliharaan. Dalam penelitian ini faktor lingkungan seperti suhu, pH dan salinitas masih dalam kondisi yang optimal, sehingga tidak nampak pengaruhnya terhadap pertumbuhan *Spirulina platensis* (Vonshak, 1997). Faktor lingkungan yang mendukung pertumbuhan *Spirulina platensis* adalah suhu air, suhu ruangan, salinitas dan pH (Vonshak, 1997).

Hasil pengukuran suhu air pagi hari selama penelitian berkisar antara 27 - 29°C, suhu air siang hari berkisar antara 29-31°C, dan

suhu air pada sore hari berkisar antara 27-30°C suhu ruangan berkisar antara 32-34°C. Suhu air dan suhu ruangan dalam media pemeliharaan *Spirulina platensis* ini masih dalam kondisi baik untuk pertumbuhannya karena menurut dengan pernyataan Isnansetyo dan Kurniastuty (1995) menyatakan, suhu optimal untuk *Spirulina* skala laboratorium adalah 25 - 35°C.

Salinitas pada media pemeliharaan *Spirulina platensis* berkisar antara 28-48 ppt. Richmond (1986) bahwa salinitas yang optimal untuk pertumbuhan *Spirulina platensis* adalah berkisar antara 20 - 70 ppt. Darley (1982) menyatakan, salinitas sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan sebab berhubungan dengan aktifitas osmosis sel. Hasil pengukuran pH pada media pemeliharaan *Spirulina platensis* selama penelitian adalah 8. Suryati (2002) menyebutkan bahwa pH yang baik untuk pertumbuhan *Spirulina* berkisar antara 8,5-9,5.

Kesimpulan

Konsentrasi pupuk *Azolla pinata* memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap pertumbuhan populasi *Spirulina platensis*. Penambahan pupuk *Azolla pinata* kedalam media kultur menggunakan konsentrasi 3,5 ml menghasilkan populasi *Spirulina platensis* tertinggi sebesar 1708,6 x 10³ unit/ml pada hari ke-7.

Pertumbuhan populasi *Spirulina platensis* dapat ditingkatkan dengan penambahan Pupuk *Azolla pinata* (500 g *Azolla pinata* dan 2 liter aquades) menggunakan konsentrasi 3,5 ml dalam media kultur.

Daftar Pustaka

- Chrismadha, T., M Panggabean, dan Yayah Mardiaty. 2006. Pengaruh Konsentrasi Nitrogen dan Fosfor Terhadap Pertumbuhan, Kandungan Protein, Karbohidrat dan Fikosianin Pada Kultur *Spirulina fusiformis*. Jurnal Penelitian Limnologi - LIPI : 163-169.
- Darley, W.M. 1982. Algal Biology: a Physiological Approach. Departement of Bontany. The Univercity of Georgia. Blackwell Scientific Publications. Oxford London. Edinburgh Boston Melbourne. p. 97-98.
- Hutagalung, I. 2008. Pembuatan Pupuk Cair. Heifer International Indonesia. 2 hal.
- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Kanisius. Yogyakarta. hal. 34-85.
- Kurniasih. 2001. Komposisi Nutrisi dan Pigmen *Spirulina platensis* Galur Lokal INK

- pada Berbagai Konsentrasi Nitrogen. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 47 hal.
- Kusriningrum, R. 2008. Perancangan Percobaan. Universitas Airlangga. Surabaya. hal. 44 – 50.
- Prabowo., D. A. 2009. *Optimasi Pengembangan Media untuk Pertumbuhan Chlorella sp. pada Skala Laboratorium*. Skripsi. Program Studi Ilmu dan Teknologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. hal. 11-12.
- Prihantini, B. N. 2007. Pertumbuhan *Chlorella* spp. Dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) Dengan Variasi pH Awal. Departemen Biologi Fakultas MIPA. Universitas Indonesia. Jakarta. 7 hal.
- Rahma, S.C. 2007. Pengaruh *Azolla pinata* Terhadap Sifat Kimia Kualitas Air di Daerah Hilir Sungai Bengawan Solo. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang. 76 hal.
- Ratna Intan D. A. 2007. Fiksasi N Biologis Pada Ekosistem Tropis. Program Pascasarjana. Universitas Padjajaran. Bandung. 68 hal.
- Richmond, A. 1986. CRC Handbook Microalgal Mass Culture. CRC Press, Inc. Florida. p. 199-244.
- Rostini I. S. Pi. 2001. Kultur Fithoplankton *Chlorella* sp. Pada Skala Laboratorium. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Padjajaran. Bandung. Hal 33-36
- Rusyani, E., Sapta A.I.M. dan Lydia E., 2007. Budidaya Fitoplankton Skala Laboratorium dalam Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. Balai Budidaya Laut Lampung. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. Departemen Kelautan dan Perikanan: 9. Lampung. hal. 48-59.
- Saptarini., D. Aunurohim dan Devie., Y. 2008. Fitoplankton Penyebab Harmful Algae Blooms (HABs) di Perairan Sidoarjo. Biologi FMIPA. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya
- Surya, A. A. 2010. Pemanfaatan Limbah Kotoran Ayam Kering Sebagai Pupuk Untuk Pertumbuhan Populasi *Spirulina platensis*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal. 35-40
- Suryati, 2002. Pemanfaatan Limbah Cair Pabrik Gula (LCPG) untuk Pertumbuhan *Spirulina* sp.. Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 74 hal.
- Vonshak , A. 2004. Mixotropic Growth Modifies the response of *Spirulina* cell to light. J. Phycol., 36 (4): 675-679
- Wijaya. S. A. 2006. Pengaruh Pemberian Konsentrasi Urea yang Berbeda Terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*. Skripsi. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 2-3 hal.