

Inovasi Pemanfaatan Limbah Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) sebagai Media Pertumbuhan *Nitzschia* sp.

Innovative Utilization of Blood Cockle Shell Waste (*Anadara granosa*) as a Growth Medium for *Nitzschia* sp.

Diva Adinda Purnamasari¹, Ayu Lana Nafisyah², dan Luthfiana Aprilianita Sari²

¹Program Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

²Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

Article Info

Received: 2024-07-11

Revised: 2024-09-02

Accepted: 2024-09-27

Online: 2024-09-27

Koresponding:

Ayu Lana Nafisyah,
Departemen Akuakultur,
Fakultas Perikanan dan
Kelautan Universitas
Airlangga, Surabaya, Jawa
Timur, Indonesia

E-mail:

ayulana@fpk.unair.ac.id

Abstrak

Kerang merupakan komoditas perikanan Indonesia dengan kenaikan produksi setiap tahunnya termasuk proyeksi di tahun 2024 sebesar 137 ribu ton. Di antara berbagai jenis kerang, kerang darah salah satu yang paling diminati masyarakat. Bagian tubuh kerang darah yang dapat dikonsumsi hanya 11-16%, sedangkan sebagian besar tubuhnya merupakan cangkang yang berakhir menjadi limbah. Limbah perikanan ini umumnya hanya diolah menjadi kerajinan atau pakan ternak. Limbah cangkang kerang diketahui memiliki kandungan nitrogen (N) dan fosfor (P) yang merupakan komponen nutrisi bagi tumbuhan tingkat tinggi maupun rendah. Studi ini dilakukan untuk mengetahui potensi limbah cangkang kerang darah pada media pertumbuhan mikroalga *Nitzschia* sp. Pengurangan rasio N dan P pada studi ini dilakukan sebagai upaya meningkatkan kepadatan populasi melalui pembatasan nutrisi pada media kultur *Nitzschia* sp. Terdapat lima perlakuan dan empat ulangan yaitu P1 sebagai kontrol positif (media pupuk f/2; N/P 8:1), P2 (media pupuk cangkang kerang/PCK; N/P 1,3:1), P3 (PCK+NaNO₃; N/P 0,1:1), P4 (PCK+NaNO₃; N/P 0,121:1), dan P5 (PCK+NaNO₃ rasio N/P 0,144:1). Hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dari populasi *Nitzschia* sp. pada P3 dengan kepadatan tertinggi sebesar 862.500 sel/ml dan pertumbuhan rata-rata harian sebesar 275.000 sel/hari. Berdasarkan hal tersebut, pembatasan N dengan rasio N/P terendah menunjukkan pertumbuhan yang terbaik pada *Nitzschia* sp. Rasio yang rendah mengindikasikan pencegahan toksisitas pada media kultur. Pembatasan N pada penelitian ini juga menunjukkan optimalisasi pemanfaatan N dalam proses metabolisme *Nitzschia* sp. Pembatasan N merupakan strategi dalam peningkatan akumulasi kandungan nutrisi pada sebagian mikroalga, termasuk *Nitzschia* sp. pada penelitian ini.

Kata kunci: Blood cockle, Cell density, Microalgae, Nutrient limitation, Sustainable fisheries

Abstract

Shellfish are a fishery commodity in Indonesia with increasing production annually, including a projected 137 thousand tons in 2024. Among the various types of shellfish, blood cockle is one of the most popular among citizens. Only 11-16% of their body is consumable, while the majority of it consists of shells that end up as waste. This waste is generally processed into crafts or animal feed. Blood cockle shell waste contains nitrogen (N) and phosphorus (P), which are necessary for higher and lower plants. This study was conducted to explore the potential of blood cockle shell waste as a growth medium for the microalgae *Nitzschia* sp. Reduction of the N and P ratio in this study was carried out to increase cell density by limiting nutrients of *Nitzschia* sp. There were five treatments with four replications in this study: P1 as a positive control (f/2 medium; N/P 8:1), P2 (cockle shell fertilizer medium/CSF; N/P 1,3:1), P3 (CSF+NaNO₃; N/P 0,1:1), P4 (CSF+NaNO₃; N/P 0,121:1), and P5 (CSF+NaNO₃; N/P ratio 0,144:1). The results showed a significant difference ($p < 0.05$) in the population of *Nitzschia* sp. in P3 with the highest density of 862.500 cells/ml and average daily growth of 275.000 cells/day. Based on this, the lowest N/P ratio limitation showed the best growth in *Nitzschia* sp. The low ratio indicates the prevention of toxicity in the culture medium. N limitation in this study also showed optimization of N utilization in the metabolic process of *Nitzschia* sp. N limitation is a strategy to increase the accumulation of nutrients in some microalgae, including *Nitzschia* sp., as observed in this study.

Keywords: Blood cockle, Cell density, Microalgae, Nutrient limitation, Sustainable fisheries

1. Pendahuluan

Kerang termasuk komoditas unggulan di Indonesia, meskipun nilai dan volume produksinya tidak setinggi komoditas utama seperti tuna atau udang. Berdasarkan Antara (2020), produksi kerang di Indonesia secara umum mengalami kenaikan setiap tahun dimana pada tahun 2024 diprediksikan mencapai 137 ribu ton. Laporan WWF-Indonesia (Hamka *et al.*, 2015) mendukung fakta dimana pada tahun 2011 volume produksi kerang kurang dari 55 ribu ton. Salah satu jenis yang banyak diminati masyarakat Indonesia adalah kerang darah (*Anadara granosa*). Secara umum, hanya 11-16% bagian tubuh kerang darah dapat dikonsumsi sedangkan sisanya merupakan cangkang kerang (Agusnia *et al.*, 2021; Inthe *et al.*, 2023). Di Indonesia pengolahan limbah perikanan ini hanya sebatas menjadi suatu kerajinan atau pakan ternak (Kurniasih *et al.*, 2017). Umami and Suprijanto (2013) melaporkan penelitian tentang pupuk cair berbahan baku kerang darah dan rumput laut ternyata memiliki kandungan nitrogen (N) yang hampir sama dengan pupuk komersial. Potensi cangkang kerang *A. granosa* sebagai sumber nutrisi N dan P bagi tumbuhan tingkat tinggi hingga mikroalga cukup tinggi. Studi Fazrina and Yursilla (2019) serta Handayani *et al.* (2024) menunjukkan potensi limbah pupuk cangkang kerang (PCK) dalam

meningkatkan pertumbuhan tanaman sawi. Berdasarkan hal ini, PCK dapat diterapkan pada kultur mikroalga seperti *Nitzschia* sp. untuk meningkatkan pertumbuhan. *Nitzschia* sp. merupakan diatom yang banyak dimanfaatkan sebagai pakan alami dalam kegiatan budidaya perikanan karena kandungan protein yang tinggi. Safitri (2022) melaporkan kandungan protein pada *Nitzschia* sp. sebesar 35%.

Pupuk cangkang kerang darah diketahui memiliki rasio N:P sebesar 1,3:1 berdasarkan penelitian ini. Pembatasan nitrogen pada media kultur mikroalga pada penelitian ini bertujuan untuk menghindari toksisitas dari penggunaan limbah cangkang kerang. Manipulasi nitrogen diketahui dapat meningkatkan kandungan lipid pada mikroalga yang memengaruhi biomassa (Lai *et al.*, 2019). Hasil penelitian Qian *et al.* (2024) menunjukkan bahwa rasio N dan P yang rendah menghasilkan pertumbuhan optimal pada mikroalga. Pada penelitian Prihardianto *et al.* (2023), juga disebutkan bahwa perlakuan dengan rasio N:P terendah menghasilkan laju pertumbuhan tertinggi. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi PCK sebagai media kultur *Nitzschia* sp. dengan prinsip pembatasan nutrisi sehingga diketahui rasio N/P yang optimal dari PCK *A. granosa* terhadap kepadatan sel dan laju pertumbuhan *Nitzschia* sp.

2. Material dan Metode

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Januari-Maret 2024 di Laboratorium Anatomi dan Budidaya Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga (UNAIR). Analisis nitrogen dan fosfor pupuk cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dilakukan di Laboratorium Fakultas Kesehatan Masyarakat UNAIR.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu toples kaca, set aerator, mikropipet, rak kultur mikroalga, mikroskop binokuler (Optika, Italia), haemocytometer, *hand counter*, autoclave, termometer, refraktometer, lux meter, lampu TL 40 watt, dan *chiller*.

Bahan yang digunakan yaitu bibit *Nitzschia* sp., pupuk cangkang kerang darah (*A. granosa*) (PCK), EM4 (PT Songgolangit Persada, Indonesia), gula pasir, media Guillard (*f/2*), NaNO₃, alkohol 70%, air tawar, air laut, khlorin, Natrium Thiosulfat, kapas, kasa, aluminium foil, cover glass, plastik wrap, dan kertas saring.

Metode

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) lima perlakuan dan empat ulangan. Perlakuan yang digunakan mengacu pada Qian *et al.* (2024) dan Prihardianto *et al.* (2023). Perlakuan yang diterapkan pada penelitian ini terdiri dari P1 hingga P5 secara berurutan adalah:

P1: penggunaan pupuk *f/2* 0,25 ml dengan rasio N:P 8:1,

P2: 8,75 ml PCK dengan rasio N:P 1,3:1,

P3: 1,25 ml PCK + 119,63 mg NaNO₃ dengan rasio N:P 0,1:1,

P4: 1 ml PCK + 146,7785 mg NaNO₃ dengan rasio N:P 0,121:1, dan

P5: 0,75 ml PCK + 176,685 mg NaNO₃ dengan rasio N:P 0,144:1.

Prosedur kerja penelitian meliputi tahap persiapan alat dan bahan termasuk sterilisasi, pembuatan PCK hingga pengujian N dan P untuk menentukan rasio N:P, penebaran inokulan *Nitzschia*

sp., pemeliharaan *Nitzschia* sp. dengan media yang berbeda, dan pengamatan pertumbuhan sel setiap hari. Analisis data menggunakan *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji lanjut yaitu *Duncan's Multiple Ranges Test* (DMRT).

Sterilisasi alat dan bahan terlebih dahulu dilakukan untuk menghindari kontaminasi pada perlakuan. Cangkang kerang darah (*A. granosa*) dikoleksi dari kawasan pesisir Surabaya di Desa Nambangan Cumpat. Proses pembuatan pupuk cair mengacu pada Fazrina and Yursilla (2019) dengan terlebih dahulu dilakukan pencucian dan penjemuran cangkang kerang darah selama empat hari hingga kering sempurna. Proses fermentasi PCK dilakukan dengan penambahan mikroorganisme dalam kemasan EM4 selama 15 hari. Perlakuan P3-P5 menggunakan NaNO₃ sebagai komponen tambahan dengan konsentrasi nitrogen total yang ditambahkan pada P1-P5 sebesar 915.216, 913.040, 13.000, 12.760, dan 11.520 µM.

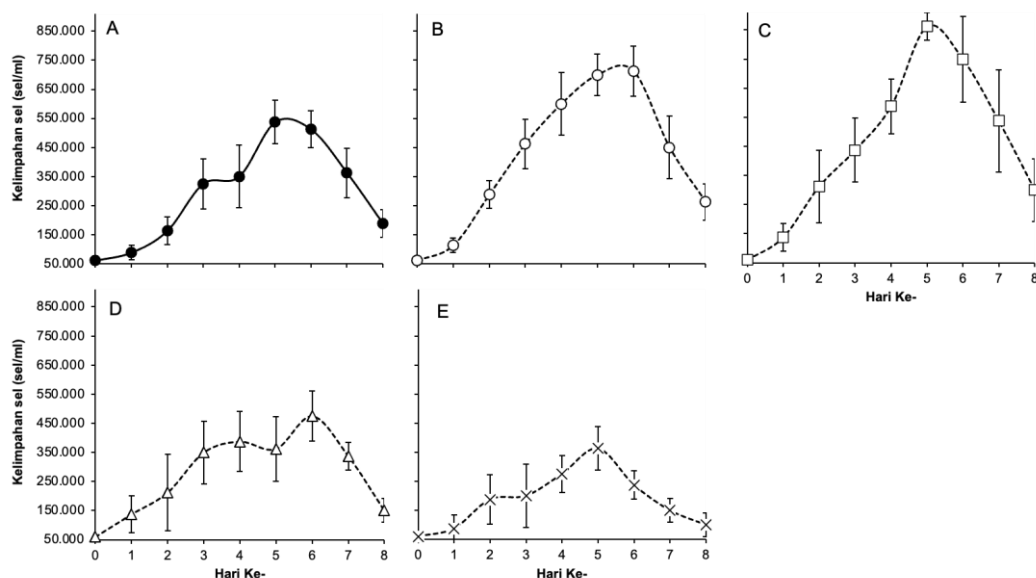
Sebelum inokulasi *Nitzschia* sp. dilakukan persiapan rak dan media kultur dengan penyesuaian parameter kualitas air sebagai berikut; suhu 21-28°C, salinitas 28-35 ppt (Rovira *et al.*, 2015), intensitas cahaya 18,5-111 µmol photons/m²/s (Cai *et al.*, 2013). Pupuk yang telah siap ditambahkan ke dalam air laut salinitas 29 ppt dengan volume akhir 100 ml pada semua perlakuan dan ulangan. Bibit *Nitzschia* sp. diperoleh dari Balai Perikanan Budidaya Air Payau Situbondo. Penebaran bibit *Nitzschia* sp. dilakukan dengan kepadatan awal (hari ke-0) sebanyak 60.000 sel/ml. Kultur *Nitzschia* sp. dipelihara selama sembilan hari (hari ke-0 hingga hari ke-8). Kepadatan sel *Nitzschia* sp. dihitung setiap hari selama pemeliharaan kultur. Perhitungan sel dilakukan dengan pengambilan sub-sampel sebanyak 1 ml pada setiap perlakuan dan ulangan menggunakan mikropipet dan diteteskan ke atas haemocytometer di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x. Perhitungan jumlah sel menggunakan metode *small block* (sel/ml), sedangkan laju pertumbuhan sel dihitung berdasarkan Paes *et al.* (2016) dengan

satuan sel/hari.

3. Hasil dan Pembahasan

Lima perlakuan yang diberikan pada kultur mikroalga *Nitzschia* sp. menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Pemanfaatan pupuk cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) sebagai media

kultur mikroalga menghasilkan kelimpahan sel yang tinggi terutama pada P2 (Gambar 1B) dan P3 (Gambar 1C). *Nitzschia* sp. pada semua perlakuan mengalami fase adaptasi, eksponensial, dan penurunan laju pertumbuhan. Fase adaptasi terjadi saat penebaran inokulan di hari ke-0.



Gambar 1. Kelimpahan sel *Nitzschia* sp. pada media kultur yang berbeda; (A) P1=media f/2 rasio N:P 8:1, (B) P2=PCK rasio N:P 1,3:1, (C) P3=PCK+NaNO₃ rasio N:P 0,1:1, (D) P4=PCK+NaNO₃ rasio N:P 0,121:1, (E) P5=PCK+NaNO₃ rasio N:P 0,144:1

Fase eksponensial terjadi sejak hari ke-1 sampai ke-5 yang merupakan puncak populasi. Berdasarkan grafik pertumbuhan sel, peningkatan kelimpahan sel tertinggi dengan persentase 127% terjadi pada P3 (PCK+NaNO₃ rasio N:P 0,1:1) dengan kelimpahan sebesar 862.500 ± 47.871 sel/ml (p<0,05). Hal tersebut menunjukkan bahwa rasio N:P yang tinggi pada perlakuan P2 (PCK 1,3:1) tidak menjamin pertumbuhan sel yang optimal, karena nitrogen yang terkandung pada PCK belum diketahui bentuknya. Bentuk nitrogen dapat memengaruhi struktur komunitas mikroalga karena preferensi taksa tertentu (Bronk *et al.*, 2007). Latuconsina (2019) menyatakan bahwa senyawa nitrogen di alam mengalami proses fiksasi dengan perubahan molekul nitrogen menjadi senyawa nitrogen organik dan anorganik. Nitrogen organik terdiri dari protein, asam amino, dan urea. Sementara nitrogen

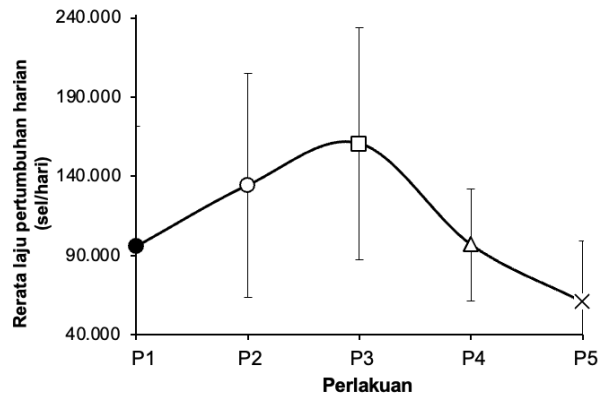
anorganik terdiri dari nitrat, nitrit, amonia, dan amonium (Martinez *et al.*, 2016). Pada P3 terdapat senyawa nitrat dalam NaNO₃ yang ditambahkan. Nitrat mudah larut dalam air dan menghasilkan kestabilan protein sebagai hasil akhir dari biosintesis. Susunan protein ini pada akhirnya memengaruhi biomassa mikroalga (Ladyba, 2017). Peranan ini menunjukkan bahwa kandungan nitrogen dalam bentuk nitrat mendukung pertumbuhan *Nitzschia* sp. pada penelitian ini sehingga menghasilkan kepadatan sel tertinggi pada P3.

Penambahan PCK terbukti meningkatkan kelimpahan (Gambar 1) dan laju pertumbuhan (Gambar 2) sel *Nitzschia* sp, meskipun bentuk nitrogen dari PCK belum diketahui. Hal ini terlihat dari kelimpahan sel perlakuan P4 (475.000 ± 86.603 sel/ml) dan P5 (362.500 ± 75.000 sel/ml), dimana kandungan PCK yang ditambahkan lebih

rendah dibandingkan P3. Kelimpahan dan laju pertumbuhan perlakuan P4 (1 ml PCK + 146,7785 mg NaNO_3) dan P5 (0,75 ml PCK + 176,685 mg NaNO_3) lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kontrol tanpa PCK yaitu P1 (537.500 ± 75.000 sel/ml). Feng *et al.* (2011) menyatakan bahwa pertumbuhan mikroalga akan menurun akibat kandungan nitrat yang berlebihan dalam media kultur. Menurut Collos and Berges (2002), mikroalga cenderung lebih mudah memproses nitrogen dalam bentuk amonium dibandingkan nitrat, walaupun di perairan sumber nitrat jauh lebih tinggi.

Pada penelitian ini, rasio nitrogen yang diberikan tergolong sangat rendah. Hal tersebut bertujuan untuk menghindari toksisitas akibat dari tingginya nitrogen.

Manipulasi konsentrasi nitrogen dapat meningkatkan kandungan lipid pada mikroalga sehingga berpengaruh terhadap biomassa (Lai *et al.*, 2019). Costa *et al.* (2018) juga melaporkan pembatasan nitrogen pada mikroalga menunjukkan optimalisasi penggunaan nitrogen dalam proses metabolisme, sehingga nilai lipid, karbohidrat, dan karotenoid meningkat pada penelitian tersebut. Dampak positif lainnya adalah produksi polihidroksialkanoat (PHA) yang merupakan poliester semi kristal yang disintesis dan disimpan dalam sel sebagai bahan penyimpan karbon dan energi intraseluler. Berdasarkan hal tersebut, pembatasan nitrogen dapat dijadikan strategi untuk meningkatkan akumulasi kandungan gizi pada fitoplankton.



Gambar 2. Rerata laju pertumbuhan harian sel *Nitzschia* sp. pada media kultur yang berbeda; P1=media *f/2* rasio N:P 8:1, P2=PCK rasio N:P 1,3:1, P3=PCK+ NaNO_3 rasio N:P 0,1:1, P4=PCK+ NaNO_3 rasio N:P 0,121:1, P5=PCK+ NaNO_3 rasio N:P 0,144:1

Rerata laju pertumbuhan tertinggi pada kultur perlakuan P3 ($p < 0,05$) dengan nilai 160.500 ± 73.451 sel/hari (Gambar 2). Hal tersebut sesuai dengan hasil perhitungan kelimpahan sel (Gambar 1) yang menunjukkan bahwa nilai rata-rata tertinggi juga terjadi pada P3 (1,25 ml PCK + 119,63 mg NaNO_3). Sedangkan rerata laju pertumbuhan sel pada perlakuan kontrol (P1) bernilai 95.500 ± 75.775 sel/hari. Hal tersebut menunjukkan terdapat keterkaitan antara kedua parameter (kelimpahan dan laju pertumbuhan sel). Tingginya laju pertumbuhan didukung oleh proses penyerapan nutrisi yang terjadi secara optimal. Optimalisasi tersebut berkaitan

dengan kondisi nutrisi pada media kultur dimana nutrisi pada PCK dan NaNO_3 telah terdekomposisi secara sempurna sehingga tidak meninggalkan sisa materi pada media kultur. Hal tersebut tentu menjaga kestabilan kualitas air pada media kultur (Torstensson *et al.*, 2019). Terbukti berdasarkan pengukuran parameter kualitas air setiap hari pada media kultur menunjukkan nilai yang stabil yaitu $27,2-28,9^\circ\text{C}$ untuk suhu air, 28-29 ppt untuk salinitas, $31,67-36,38 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ untuk intensitas cahaya. Ditambahkan oleh Villaró *et al.* (2022) bahwa faktor lain yang mendukung tingginya laju pertumbuhan yaitu belum adanya kompetitor. Tidak adanya

kompetitor lain selama penelitian ini menghasilkan ketersediaan ruang gerak yang luas sehingga laju pertumbuhan dapat meningkat.

Fase penurunan laju pertumbuhan terjadi pada hari ke-6 dan 7. Ketersediaan nutrisi yang semakin berkurang menjadi faktor penurunan laju pertumbuhan. Persaingan antar-sel juga menjadi faktor penurunan laju pertumbuhan. Sel-sel tersebut akan bersaing dalam memenuhi kebutuhan nutrisi, cahaya, dan ruang gerak (Xia *et al.*, 2015). Penelitian ini menjadi inovasi baru bagi pemanfaatan limbah cangkang kerang darah (*A. granosa*) yang melimpah di Indonesia. Selain lebih ramah lingkungan karena bahan dan rasio penggunaan yang tidak berlebihan, penambahan PCK dan NaNO_3 dengan rasio 0,1:1 meningkatkan kemampuan pembelahan sel *Nitzschia* sp. berdasarkan parameter kelimpahan dan laju pertumbuhan sel. Pembatasan atau limitasi nitrogen pada media kultur mikroalga *Nitzschia* sp. pada penelitian ini berpengaruh terhadap keseimbangan rasio N dan P sehingga memengaruhi pertumbuhannya.

4. Kesimpulan

Limbah cangkang kerang darah (*A. granosa*) dapat dimanfaatkan sebagai media pemeliharaan mikroalga berprotein tinggi *Nitzschia* sp. Pembatasan nitrogen ditunjukkan pada aplikasi pemberian media dengan rasio N dan P yang rendah pada semua perlakuan. Pada kultur *Nitzschia* sp. perlakuan P3 (PCK+ NaNO_3 rasio N:P 0,1:1) menghasilkan kelimpahan sel tertinggi sebesar 862.500 sel/ml dengan laju pertumbuhan tertinggi sebesar 275.000 sel/hari.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih pada semua pihak yang telah membantu proses penelitian hingga penulisan manuskrip ini.

Kontribusi Penulis

Semua penulis telah berkontribusi pada naskah akhir. Kontribusi seluruh penulis: Ayu Lana Nafisyah, dan Diva

Adinda Purnamasari: konseptualisasi, metodologi, analisis format, penyusunan *draft* asli, penulisan *review* dan *editing*. Luthfiana Aprilianita Sari: menulis *review* dan mengedit. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan.

Konflik Kepentingan

Penulis tidak memiliki konflik kepentingan terkait penelitian ini.

Pendanaan

Penelitian ini menggunakan dana mandiri.

Daftar Pustaka

- Agusnia, H., Fatmawati, K. & Suhandana, M. (2021). Efek penambahan ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii* pada pembuatan es batu terhadap kemunduran mutu kerang loka (*Geloina erosa*) dan kerang darah (*Anadara granosa*). *Marinade*, 4(1):51-62.
- Antara. (2020). KKP dorong pemanfaatan kerang sebagai komoditas berdaya saing tinggi. <https://www.antaraneews.com/b erita/1772609/kkp-dorong-pemanfaatan-kerang-sebagai-komoditas-berdaya-saing-tinggi>. Diakses pada 17 Agustus 2024.
- Bronk, D. A., See, J. H., Bradley, P., & Killberg, L. (2007). DON as a source of bioavailable nitrogen for phytoplankton. *Biogeosciences*, 4:283-296.
- Cai, T., Park, S. Y., & Li, Y. (2013). Nutrient recovery from waste water streams by microalgae: Status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19:360-369.
- Collos, Y. & Berges, J. (2002). Nitrogen metabolism in phytoplankton. EOLSS Publishers (UNESCO). pp. 1-18.
- Costa, S. S., Miranda, A. L., Andrade, B.

- B., Assis, D. D., Souza, C. O., Morais, M. G., Costa, J. A., & Druzian, J. I. (2018). Influence of nitrogen on growth, biomass composition, production, and properties of polyhydroxyalkanoates (PHAs) by microalgae. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116:552-562.
- Fazrina, F., & Yursilla, W. (2019). Pemanfaatan limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) sebagai pupuk organik terhadap pertumbuhan tanaman sawi (*Brassica juncea*). *JESBIO: Jurnal Edukasi dan Sains Biologi*, 8(2).
- Feng, D., Chen, Z., Xue, S., & Zhang, W. (2011). Increased lipid production of the marine oleaginous microalgae *Isochrysis zhangjiangensis* (Chrysophyta) by nitrogen supplement. *Bioresource Technology*, 102(12):6710-6716.
- Hamka, E., Nono, D. R., Rizki, W., Tamanyira, M. M., Mustofa, A., Habibi, A. (2015). Perikanan kerang. Panduan penangkapan dan penanganan. Edisi 1. WWF-Indonesia.
- Handayani, V. P., Ayujuwita, F., Qamary, F. A. (2024). NPK-GRANOSA: Pemanfaatan limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) sebagai pupuk organik tanaman sawih (*Brassica juncea*). PKM Kewirausahaan. Surabaya: Universitas Muhammadiyah Surabaya. 16 hal.
- Inthe, M. G., Rusli, A., Rahmaniari. (2023). Perubahan komposisi gizi kerang darah (*Anadara granosa*) karena proses perebusan. *Jurnal Fish Protech*, 6(1):25-30.
- Kurniasih, D., Rahmat, M. B., Handoko, C. R., & Zuhri, A. (2017). Pembuatan pakan ternak dari limbah cangkang kerang di Desa Bulak Kenjeran Surabaya. *Seminar MASTER*, 159-163.
- Ladyba, T. (2017). Pengaruh pemberian pupuk N dan P dengan rasio N/P yang berbeda terhadap pertumbuhan dan kandungan protein *Chlorella* sp. Tesis. Malang: Program Studi Teknologi Bioproses. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Lai, Y. C., Karam, A. L., Sederoff, H. W., Ducoste, J. J., & Reyes, F. L. (2019). Relating nitrogen concentration and light intensity to the growth and lipid accumulation of *Dunaliella viridis* in a photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*, 31:3397-3409. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01897-4>.
- Latuconsina, H. (2019). Ekologi perairan tropis: Prinsip dasar pengelolaan sumber daya hayati perairan. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Martinez, A. G., Calderon, K., & Lopez, J. G. (2016). New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal: effect of protein and amino acids degradation. *Amino Acids*, 48:1123-1130.
- Paes, C. R. P. S., Faria, G. R., Tinoco, N. A. B., Castro, D. J. F. A., Barbarino, E., & Lourenço, S. O. (2016). Growth, nutrient uptake and chemical composition of *Chlorella* sp. and *Nannochloropsis oculata* under nitrogen starvation. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(2):275-292.
- Prihardianto, M. K., Chilmawati, D., &

- Subandiyono. (2023). Pola pertumbuhan *Thalassiosira* sp. pada media Walne dengan rasio N/P berbeda. *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 2:196-206.
- Qian, W., Yang, Y., Chou, S., Ge, S., Li, P., Wang, X., Zhuang, L-L., & Zhang, J. (2024). Effect of N/P ratio on attached microalgae growth and the differentiated metabolism along the depth of biofilm. *Environmental Research*, 240(2):117428. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117428>.
- Rovira, L., Trobajo, R., Sato, S., Ibanez, C., & Mann, D. G. (2015). Genetic and physiological diversity in the diatom *Nitzschia inconspicua*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 62(6):815-832.
- Safitri, N. (2022). Analisis kandungan protein dalam mikroalgae *Nitzschia* sp. dari hutan mangrove Lampung Timur. Skripsi. Bandar Lampung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Torstensson, A., Jimenez, C., Nilsson, A. K., & Wulff, A. (2019). Elevated temperature and decreased salinity both affect the biochemical composition of The Antarctic Sea-Ice diatom *Nitzschia lecointei*, but not increased CO₂. *Polar Biology*, 42:2149-2164.
- Umami, A. & Suprijanto, J. (2013, Agustus). Pemanfaatan limbah rumput laut dan cangkang kerang sebagai pupuk organik cair. *Seminar Nasional Tahunan X Hasil Penelitian Kelautan dan Perikanan UGM*, 1-7.
- Villaró, S., Sánchez-Zurano, A., Ciardi, M., Alarcón, F. J., Clagnan, E., Adani, F., Morillas-España, A., Álvarez, C., & Lafarga, T. (2022). Production of microalgae using pilot-scale thin-layer cascade photobioreactor: Effect of water type on biomass composition. *Biomass and Bioenergy*, 163(106534).
- Xia, B., Chen, B., Sun, X., Qu, K., Ma, F., & Du, M. (2015). Interaction of TiO₂ nanoparticles with the marine microalga *Nitzschia closterium*: Growth inhibition, oxidative stress, and internalization. *Science of the Total Environment*, 508:525-533.