

EFFECT OF NITRATE AND PHOSPATE CONCENTRATION ON *Spirulina platensis* WITH INDOOR SCALE

Safira Mutia^{1*}, Syahril Nedi¹, Elizal¹

¹Department of Marine Science, Faculty of Fisheries and Marine Universitas Riau, Pekanbaru
*smutialatief@gmail.com

ABSTRACT

One of the microalgae that are widely used in the industrial world is *Spirulina platensis* which has high nutritional content of protein, fatty acids, vitamins and antioxidants. In its growth, this microalgae requires media and the addition of macronutrients nitrate and phosphate which greatly affect the growth and productivity of *S. platensis* biomass. This study aims to determine the effect of nitrate and phosphate concentrations on *S. platensis* biomass on an indoor scale and to determine the optimal nitrate and phosphate concentrations to achieve maximum biomass. This research was conducted in August 2020 as an experimental method, with culturing *S. platensis* with the addition of different concentrations of nitrate and phosphate. The design used in this study was a Completely Randomized Design consisting of 5 treatments that are 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, and 40 ppm, each treatment with 3 repetitions. The source of nitrate and phosphate used is NPK. Water quality parameters during culture with temperatures ranging from 29-30°C, salinity 25-26 ppt, and pH 8. The optimal concentrations of nitrate and phosphate to achieve the maximum biomass is in treatment C (30 ppm) with a total of biomass 0,43 g. Whereas in treatment D (40 ppm) the biomass did not show a significant increase because the dose was too high with a total of biomass only 0,299 g

Keywords: *Spirulina platensis*, Nitrate, Phosphate, Biomass, Indoor

I. PENDAHULUAN

Pemanfaatan mikroalga khususnya *Spirulina platensis* selama ini secara komersial banyak digunakan untuk memproduksi suplemen makanan karena memiliki kandungan protein yang cukup tinggi dan sudah banyak digunakan sebagai sumber pakan alami untuk pembenihan larva ikan dan udang karena memiliki nutrisi yang tinggi. Kandungan proteinnya yang tinggi, dapat dicerna dengan baik, dan lemaknya yang cukup rendah juga menjadi kelebihan mikroalga ini [1]. Selain sebagai pakan alami mikroalga ini banyak digunakan sebagai imunostimulan, obat-obatan, kosmetik dan pewarna alami maupun makanan.

Biomassa merupakan salah satu sumber energi yang bersumber pada bahan biologis dari organisme yang belum lama mati (dibandingkan dengan bahan bakar fosil). [2] menjelaskan bahwa nutrisi (karbon, nitrogen dan fosfor) merupakan faktor utama yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan kandungan biomassa mikroalga. Nitrogen merupakan salah satu elemen penting untuk pertumbuhan, perkembangan, reproduksi, dan kegiatan fisiologis *Spirulina*. Sumber nitrogen mempengaruhi kegiatan fotosintesis sehingga peningkatan proses fotosintesis akan berpengaruh terhadap peningkatan biomassa mikroalga [3]. Sedangkan fosfat sangat diperlukan sebagai transfer energi

dari luar ke dalam sel organisme, sehingga fosfat merupakan salah satu unsur utama yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroalga maupun meningkatkan biomassa mikroalga [4-5].

Sedangkan kalium merupakan unsur terpenting ketiga bagi biomassa mikroalga setelah nitrat dan fosfat yang berfungsi memperkuat organ mikroalga, unsur K juga berfungsi dalam metabolisme karbohidrat dan sebagai kofaktor untuk beberapa koenzim [6]. Fungsi kalium tidak terlalu berpengaruh terhadap biomassa mikroalga apabila dibandingkan dengan fungsi nitrat dan fosfat.

Kultur dilakukan pada skala indoor yaitu di dalam ruangan tertutup dan diatur suhu serta dijaga parameter kualitas airnya agar sesuai dengan standar kualitas air yang baik bagi pertumbuhan mikroalga. Kelimpahannya di alam di sebagian besar perairan Indonesia terbatas namun penggunaannya cukup luas maka perlu dilakukan kultur secara berkesinambungan. Kegunaannya yang beragam menjadikan mikroalga ini berpotensi untuk dikembangkan. Kegiatan kultur mikroalga merupakan salah satu upaya pengembangan dan pemenuhan kebutuhan dari *S. platensis* sehingga pasokannya tidak hanya bergantung pada alam.

Berdasarkan hal itu dilakukan penelitian pengaruh konsentrasi nitrat dan fosfat terhadap biomassa *S. platensis* pada skala indoor.

2. METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit *Spirulina platensis* yang didatangkan dari Surabaya, dan untuk mendukung pertumbuhannya digunakan media Zarrouk [7], pupuk NPK (Nitrat, Posfat, Kalium) sebagai sumber nutrisi nitrat dan sumber nutrisi fosfat pada kultur, alkohol, klorin, dan kertas saring GF/C (mesh size 1,2 μm) untuk menyaring *S. platensis*.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah termometer, hand refractometer, botol plastik 1 liter, aerator, oven, timbangan, gelas ukur, pipet tetes, dan vacuum pump.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Terdiri dari 4 perlakuan penambahan nitrat dan fosfat dalam bentuk NPK yang mengandung 16% N (Nitrogen), 16% P_2O_5 (Phosphate), dan 16% K_2O (Kalium) dengan konsentrasi berbeda yaitu A (10 ppm), B (20 ppm), C (30 ppm), D (40 ppm), dan 1 kontrol dengan masing masing 3 kali pengulangan.

Prosedur Penelitian

Sterilisasi Alat dan Media

Sterilisasi alat digunakan untuk menghindari terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme lain yang tidak diinginkan tumbuh dalam kultivasi. Sebelum proses sterilisasi, peralatan berupa botol kultur 1000 ml, selang aerasi, dan batu aerasi dicuci bersih menggunakan deterjen dan air mengalir, kemudian alat – alat tersebut disterilisasi menggunakan alkohol. Alkohol yang umum dipakai untuk sterilisasi adalah alkohol konsentrasi 70% karena efektif memecah protein yang ada dalam mikroorganisme [8]. Adapun keunggulan alkohol ini adalah sifatnya yang stabil, tidak merusak material, dan dapat dibiodegradasi [9].

Sterilisasi media air laut dilakukan untuk menghindari terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme lain yang tidak diinginkan yang berasal dari air laut. Sterilisasi dilakukan dengan memanaskan air laut sampai dengan suhu 100°C untuk mematikan mikroorganisme yang dapat mengganggu proses kultur *Spirulina*. Air laut terlebih dahulu disterilisasi menggunakan klorin. Setelah sterilisasi menggunakan klorin, air laut kemudian

dipanaskan sampai dengan suhu 100°C selama 15 menit, lalu air laut didinginkan hingga menjadi suhu ruangan setelah itu dapat digunakan [10].

Pembuatan Media

Air laut yang telah disterilisasi dimasukkan ke dalam wadah kultur 1000 ml dan diatur salinitasnya menggunakan handrefractometer menjadi 25‰, sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa kadar salinitas *S. platensis* yang baik adalah 25‰ [11]. Media Zarrouk dimasukkan sebanyak 1 ml (dosis 1ml/L). Lalu dilakukan perlakuan penambahan sumber nutrisi nitrat dan fosfat dengan konsentrasi 0 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, dan 40 ppm yang diberikan dalam bentuk pupuk NPK ke dalam media. Masing – masing perlakuan mempunyai tiga kali ulangan.

Persiapan Inokulasi

Penebaran bibit pada media kultur sebanyak 100 ml dalam media 1 liter (maksimal 10-20% dari volume media). Bibit yang dalam kondisi bagus dilihat dari segi warna dan juga kepadatannya. Inokulasi sampel dilakukan dengan kepadatan kultur awal sekitar 0,05 g/L. Penebaran bibit dilakukan dengan cara memasukkan secara langsung bibit dengan volume 100 ml ke dalam botol kultur dengan menggunakan pipet tetes. Wadah berisi alga ini diletakkan pada kondisi ruangan, diaerasi lemah suhu ruang diatur pada kisaran 19-23°C

Penyaringan dan Pengukuran Biomassa *S. platensis*

Konsentrasi biomassa sel *S. platensis* dianalisis menggunakan metode [5]. Sampel mikroalga yang digunakan diambil pada H₀, H₂, H₄, H₆, H₈ dan H₁₀. Kertas saring GF/C (mesh size 1,2 µm) dikeringkan pada suhu 105°C selama 2 jam hingga beratnya konstan [A]. Sampel mikroalga 50 ml difilter menggunakan vacuum pump melalui kertas saring dan

dicuci dengan air tawar untuk menghindari kontaminasi garam yang tidak larut pada media. Kemudian kertas saring diletakkan di oven pada suhu 105°C selama 2 jam hingga beratnya konstan. Setelah dingin, beratnya ditimbang kembali [B].

$$\text{Biomassa (g/l)} = \frac{[B] - [A] \times 1000}{\text{volume sampel}}$$

Pengukuran biomassa *S. platensis* dilakukan dua hari sekali selama 10 hari untuk melihat pengaruh konsentrasi nitrat dan fosfat terhadap biomassa *S. platensis*

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Parameter Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air dilakukan setiap hari dengan 3 kali pengulangan, rata – rata dari pengukuran parameter kualitas air dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata – rata Pengukuran Parameter Kualitas Air

Perlakuan	Parameter		
	Suhu (°C)	pH	Salinitas (ppt)
Kontrol	29.5	8	25
A	29.9	8	26
B	30.1	8	26.1
C	29.9	8	25.8
D	29.7	8	25.5

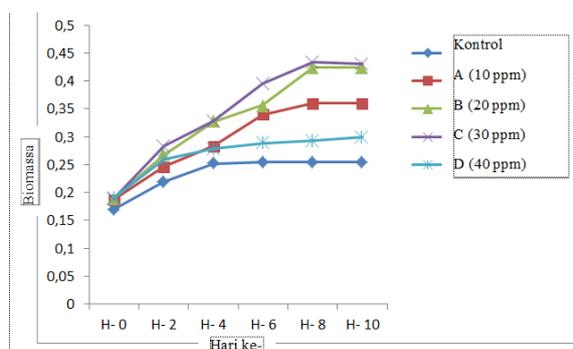
Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa suhu selama proses kultur berkisar antara 29,5 – 30,1°C yang berarti suhu perairan tersebut dalam kondisi yang baik bagi pertumbuhan *S. platensis* sesuai dengan [12] yang mengatakan kisaran temperatur optimal bagi pertumbuhan *Spirulina platensis* yaitu antara 20°C - 30°C. Dari hasil pengukuran pH diperoleh nilai pH 8. Nilai pH yang diperoleh pada penelitian ini merupakan pH optimal untuk pertumbuhan *S. platensis*. [13] mengatakan sebagian besar sel, termasuk fitoplankton sangat peka terhadap derajat keasaman cairan yang mengelilinginya. Nilai pH

optimal untuk *Spirulina* adalah 7,2 – 9,5 dan maksimal pada pH 11.

Pengukuran salinitas juga dilakukan selama proses kultur dan salinitas diatur pada saat awal kultur yaitu 25 ‰ dan didapatkan hasil salinitas yang diukur per hari berkisar 25 – 26,1 ‰. Hal ini mendukung pendapat dari [14] yang mengatakan umumnya fitoplankton air laut hidup normal pada salinitas optimum 25 – 35 ‰.

Pengukuran Biomassa *S. platensis* pada Skala Indoor

Perhitungan biomassa *S. platensis* dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan *S. platensis* dalam bentuk berat keringnya pada skala indoor dan dihitung setiap dua hari sekali agar terlihat perbedaannya yang lebih jelas. Hasil rata – rata perhitungannya pada hari ke-0, hari ke-2, hari ke-4, hari ke-6, hari ke-8 dan hari ke-10 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengukuran Biomassa *S. platensis* pada Skala Indoor

Gambar 1 dapat dilihat bahwa pada perlakuan Kontrol yang tidak diberi tambahan nitrat dan fosfat mengalami pertumbuhan biomassa dimulai dari 0,17 g menjadi 0,255. Perubahan yang terjadi sangat sedikit apabila dibandingkan dengan sampel yang diberi tambahan nitrat dan fosfat. Lalu pada perlakuan A yang diberi tambahan nitrat dan fosfat dengan konsentrasi 10 ppm jumlah biomassa pada hari ke-0 yaitu 0,187 g dan bertambah pada hari ke-10 menjadi 0,361 g. Akan tetapi

dosis ini tidak menunjukkan perbedaan signifikan jika dibandingkan dengan perlakuan B dengan dosis nitrat fosfat 20 ppm jumlah biomassa di hari ke-0 yaitu 0,189 g dan hari ke-10 yaitu 0,425 dan perlakuan C dengan dosis nitrat fosfat 30 ppm pada hari ke-0 jumlah biomassa nya 0,189 g lalu pada hari ke-10 jumlah biomasanya meningkat menjadi 0,43 g. Sedangkan perlakuan D dengan dosis nitrat fosfat 40 ppm jumlah biomassa pada hari ke-0 yaitu 0,191 g menjadi 0,299 g pada hari ke-10, pada dosis ini tidak menunjukkan perbedaan signifikan apabila dibandingkan dengan perlakuan A, B, dan C. Hasil data yang didapatkan selama penelitian menunjukkan bahwa puncak kepadatan populasi *S. platensis* dari masing-masing perlakuan berada pada hari ke empat (Gambar 1). Fase pertumbuhan pada *Spirulina* sp. terdiri atas fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian [15]. Laju pertumbuhan spesifik tertinggi dan konsentrasi biomassa tertinggi 0,43 g diperoleh pada dosis nitrat dan fosfat 30 ppm, yaitu perlakuan C.

Hasil ini sesuai dengan studi [16] yang menemukan bahwa peningkatan dosis sodium nitrat dari 0,01 M ke 0,03 M mampu meningkatkan laju pertumbuhan spesifik sebesar 23,8% dan biomassa *S. platensis* sebesar 21,7%. Hasil yang sama juga dijelaskan oleh [17] menyatakan bahwa peningkatan dosis kalium nitrat dari 0,2 mM ke 3,2 mM mampu meningkatkan biomassa *Spirulina* sebesar 2 kali lipat. [18] menambahkan bahwa pemberian sodium nitrat pada dosis 2,5 g/l mampu meningkatkan produksi biomassa *S. platensis* sebesar 2,626 g/l.

Maka dapat diketahui bahwa jumlah biomassa *S. platensis* semakin hari semakin bertambah seiring dengan adanya penambahan konsentrasi nitrat dan fosfat yang berbeda, hal ini sesuai dengan [19] menyatakan bahwa peningkatan biomassa mikroalga bertambah seiring dengan penambahan konsentrasi nitrat dan fosfat.

Penambahan nitrat dan fosfat pada kultur mikroalga yang telah dikondisikan akan menunjukkan peningkatan jumlah biomassa yang signifikan pada hari ke-6, hari ke-8, dan hari ke-10.

Pengaruh Konsentrasi Nitrat, Fosfat yang Berbeda terhadap Biomassa *S. platensis*

Gambar 1 dapat dilihat pada grafik bahwa pada perlakuan Kontrol yang tidak diberi tambahan nitrat dan fosfat biomassa pada hari ke-0 yaitu 0,17 g dan hanya meningkat menjadi 0,191 g pada hari ke-10. Hal ini dikarenakan fungsi nitrat yang sangat penting bagi pertumbuhan *Spirulina* sesuai dengan pernyataan [3] nitrogen merupakan salah satu elemen penting untuk pertumbuhan, perkembangan, reproduksi, dan kegiatan fisiologis *Spirulina*. Sumber nitrogen mempengaruhi kegiatan fotosintesis sehingga peningkatan proses fotosintesis akan berpengaruh terhadap peningkatan biomassa mikroalga, ia juga menambahkan bahwa pemanfaatan sumber nitrogen dalam bentuk nitrat mampu meningkatkan biomassa *Spirulina*.

Konsentrasi nitrat fosfat yang rendah tidak dapat mendukung pertumbuhan yang optimal bagi *Spirulina*. Meskipun mengalami pertumbuhan biomassa yang tidak signifikan, *Spirulina* masih tetap dapat tumbuh. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan masih berlangsungnya pertumbuhan biomassa kultur *Spirulina* hingga 40 jam setelah ditransfer ke media bebas nitrogen, dengan kompensasi peningkatan nilai rasio C/N pada biomasanya [20]. [21] mengaitkan kemampuan terus tumbuh dengan adanya kumpulan pigmen fikosianin yang berfungsi sebagai cadangan nitrogen pada sel-sel *Spirulina*.

Dari jumlah biomassa yang dihasilkan tersebut diketahui bahwa konsentrasi nitrat dan fosfat yang baik dalam bentuk pupuk NPK untuk peningkatan jumlah biomassa *S. platensis*

terjadi pada perlakuan C, yaitu dengan penambahan konsentrasi nitrat dan fosfat sebanyak 30 ppm, hal ini terlihat dari jumlah biomassa yang tertinggi terjadi pada perlakuan C yaitu 0,43 g, [3] menambahkan bahwa nitrogen merupakan salah satu elemen penting untuk pertumbuhan, perkembangan, reproduksi, dan kegiatan fisiologis *Spirulina*. Sumber nitrogen mempengaruhi kegiatan fotosintesis sehingga peningkatan proses fotosintesis akan berpengaruh terhadap peningkatan biomassa mikroalga.

Nitrat adalah sumber nitrogen utama yang diasimilasi oleh *Spirulina* sp. untuk mendukung pertumbuhan selnya. Pemanfaatan sumber nitrogen dalam bentuk nitrat mampu meningkatkan biomassa *Spirulina*. Sedangkan fosfat sangat diperlukan sebagai transfer energi dari luar ke dalam sel organisme, sehingga fosfat merupakan salah satu unsur utama yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroalga maupun meningkatkan biomassa mikroalga [22].

Namun, pada perlakuan D dengan konsentrasi nitrat dan fosfat 40 ppm, jumlah biomassa nya pada hari ke-0 yaitu 0,191 g dan hanya meningkat menjadi 0,299 g. Terjadi penurunan jumlah biomassa *Spirulina* dibandingkan dengan perlakuan A, B, dan C. Hal ini dapat disebabkan oleh dosis nitrat dan fosfat yang terlalu tinggi. Nitrogen dalam keadaan berlebih maupun rendah pada mikroalga dapat menghambat pertumbuhan sel mikroalga. Penambahan nitrogen yang sesuai serta faktor lingkungan yang mendukung menghasilkan proses fotosintesis yang optimal sehingga dapat meningkatkan laju pertumbuhan dan menghasilkan konsentrasi biomassa yang tinggi [23]. Pemberian dosis pupuk harus disesuaikan dengan skala kultur *Spirulina* sp. Kandungan pupuk yang terlalu sedikit ataupun berlebih akan menghambat pertumbuhan *Spirulina* sp. Menurut [24], pemberian nutrisi pada media dalam

jumlah berlebih maka akan bersifat racun yang dapat menghambat pertumbuhan. [25] menambahkan semakin tinggi dosis pemberian pupuk pada media kultur mikroalga maka tingkat kekeruhan juga semakin tinggi, dimungkinkan fosfat dalam media tidak termanfaatkan. Tingkat kekeruhan yang tinggi dapat menyebabkan rendahnya penetrasi cahaya dan menyebabkan terganggunya proses fotoautotrofik dari mikroalga.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penambahan konsentrasi nitrat dan fosfat yang berbeda berpengaruh terhadap biomassa *S. platensis*. Semakin besar konsentrasi nitrat dan fosfat yang ditambahkan maka semakin besar jumlah biomassa yang dihasilkan, namun konsentrasi nitrat dan fosfat yang terlalu

tinggi dapat menghambat pertumbuhan serta peningkatan biomasanya. Jumlah biomassa tertinggi dicapai oleh masing masing perlakuan pada hari ke-8. Konsentrasi nitrat fosfat yang baik dalam bentuk NPK untuk pertumbuhan biomassa *S. platensis* berada pada perlakuan C dengan konsentrasi nitrat dan fosfat 30 ppm dan biomassa yang dihasilkan merupakan jumlah tertinggi yaitu 0,43 g. Pada perlakuan D dengan konsentrasi 40 ppm, pertumbuhan biomassa *S. platensis* tidak meningkat dengan baik dikarenakan dosis yang terlalu tinggi.

Saran

Diharapkan untuk penelitian selanjutnya mengenai pemeliharaan *S. platensis* menggunakan jenis pupuk yang berbahan alami.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cohen, Z., M. Reungjitchachawali, W. Siangdung, dan M. Tanticharoen. (1993). Production and partial purification of γ -linolenic acid and some pigments from *Spirulina platensis*. *Journal of Applied Phycology*, 5(1):109-115.
2. Juneja, A., R.M. Ceballos, dan G.S. Murthy. (2013). Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review, *Energies*, 6: 4607-4638.
3. Nyabuto, D.K., K. Cao, A.M. Mariga, G.W. Kibue, M. He, dan C. Wang. (2015). Growth performance and biochemical analysis of the genus *Spirulina* under different physical and chemical environmental factors. *African Journal of Agricultural Research*, 10(36), pp. 3614-3624.
4. Natalia., B. Amin, dan I. Effendi. (2019). Effect of Addition of Different Nitrate Concentration on *Spirulina platensis* Biomass with Semi Outdoor System. *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 2(1): 127-131
5. Nainggolan, J.G.M., A. Tanjung, dan I. Effendi. (2018). Growth of *Spirulina platensis* in Indoor and Semi Outdoor Culturing Systems. *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 1(1): 22-28
6. Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. (1995). *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut*. Kanisius. Yogyakarta
7. Borowitzka, M.A. (1994). *Products from Algae*. In S. M. Phang, L. Y. Kun, M. A. Borowitzka, and B. A. Whitton eds. In. Proc. 1st Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology. Kuala Lumpur. University of Malaya. Malaysia.
8. Margono. (2000). *Buku Panduan Teknologi Pangan*. Pusat Informasi Wanita dan Pembangunan PDII-LIPI Bekerjasama dengan *Swiss Development Cooperation* (1993). Jakarta

9. Risma. (2002). *Sanitasi dan desinfektan, langkah awal yang efektif mencegah penyakit*. Infomedia, Jakarta, 169 hlm.
10. Soedarto. (2015). Perbandingan Laju Pertumbuhan *Spirulina platensis* pada Temperatur yang Berbeda dalam Skala Laboratorium. *Journal of Maquares*, 4(1): 74-81.
11. Sintya, M. (2018). Pengaruh Perbedaan Salinitas terhadap Pertumbuhan Biomassa Kultivasi Mikroalga *Spirulina platensis* pada Skala Semi Outdoor di Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. *Skripsi*. Program Studi Sarjana. Universitas Riau.
12. Hariyati, R. (2008). Pertumbuhan dan Biomassa *Spirulina* sp. dalam Skala Laboratoris. *BIOMA*, 10(1): 19-22.
13. Edhy, W., A.J. Pribadi, dan Kurniawan. (2003). Plankton di Lingkungan PT. Central Pertiwi Bahari. Suatu Pendekatan Biologi dan Manajemen Plankton dalam budidaya Udang. Mitra Bahari. Lampung.
14. Rusyani, E. (2001). Pengaruh Dosis Zeolit yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *Isochrysis galbana* Klon Tahiti Skala Laboratorium dan Media Komersial. Skripsi. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
15. Sari, L.A., E.D. Masithah, W.H. Satyantini, dan A.T. Mukti. (2009). Pengaruh Penambahan FeCl₃ Terhadap Pertumbuhan *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Media Asal Blotong Kering. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya. Skripsi: 14 hlm
16. Costa, J.A.V., K.L. Cozza, L. Oliveira, and G. Magagnin. (2001). Different nitrogen sources and growth responses of *Spirulina platensis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(5): 439-442
17. Kumar, P., Shahi, S.K. and Sharma, P.K., (2012). Effect of various cultural factors on isolated *Spirulina* strain for lipid and biomass accumulation. *Current Discovery*, 1(1), pp. 13-18.
18. Çelekli, A. And M. Yavuzatmaca. (2009). Predictive modeling of biomass production by *Spirulina platensis* as function of nitrate and NaCl concentrations. *Bioresource Technology*, 100(5):1847–1851.
19. Viena, V. (2014). Kultivasi Mikroalga Hijau pada Sumber Nitrogen Berbeda untuk Ekstraksi Lipida. *Jurnal Purifikasi*, 14(2): 99 – 105
20. Tedesco, M.A., and E.O. Duerr. (1989). Light, temperature, and nitrogen starvation effects on the total lipid and fatty acid content and composition of *Spirulina platensis* UTEX 1928. *Journal of Applied Phycology* 1:201-209
21. Richmond, A. (2003). *Handbook of Microalgal Culture Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing.
22. Effendi, H. (2003). *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Kanisius. Yogyakarta. 185 hlm.
23. Becker, E.W. (1994). *Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press. New York.
24. Hastuti, D.S., dan H. Handajani. (2001). *Budidaya Pakan Alami*. Fakultas Peternakan-Perikanan. Malang: UMM
25. Subarijanti, H. (1990). *Kesuburan dan Pemupukan Perairan*. Malang: Universitas Brawijaya Fakultas Perikanan.