

Pengaruh Salinitas Berbeda Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Karotenoid *Dunaliella* sp. Dalam Media Ekstrak Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*)

*(Effect of Different Salinity on Growth and Carotenoid Content of *Dunaliella* sp. In Lamtoro Leaves Extract Media (*Leucaena leucocephala*)*

^{1*)} Dharta Mahardani, ¹⁾ Berta Putri dan ¹⁾ Siti Hudaidah

¹⁾ Jurusan Budidaya, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung
Jalan Prof. Sumantri Brojonegoro No. 1 Gedung Meneng, Bandar Lampung

^{*)} Korespondensi : dhartamahardani3@gmail.com

Diterima : 9 Juni 2017 / Disetujui : 30 Juli 2017

ABSTRAK

Dunaliella merupakan mikroalga hijau yang menghasilkan karotenoid, salah satu jenis karotenoid yang dihasilkan adalah β -karoten yang mampu diakumulasi dalam jumlah sangat tinggi pada beberapa kondisi stress seperti keterbatasan nitrogen, salinitas yang tinggi dan terkena intensitas cahaya tinggi. Daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) salah satu bahan alami yang berpotensi sebagai sumber nutrisi untuk memenuhi kebutuhan nutrisi *Dunaliella* sp. serta meningkatkan pertumbuhan. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh salinitas yang berbeda dalam media ekstrak Daun Lamtoro terhadap pertumbuhan dan kandungan karotenoid *Dunaliella* sp. Penelitian dilakukan di Laboratorium Budidaya Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung selama 8 hari waktu kultur. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu media ekstrak Daun Lamtoro dengan salinitas 30 ppt, 35 ppt, 40 ppt dan 45 ppt. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan media ekstrak Daun Lamtoro dengan salinitas berbeda berpengaruh terhadap kepadatan sel dan kandungan karotenoid *Dunaliella* sp. ($p < 0,05$). Kepadatan sel tertinggi terjadi pada perlakuan salinitas 30 ppt dengan kepadatan sel mencapai $5,09 \times 10^6$ sel/ml, sedangkan kandungan karotenoid tertinggi dihasilkan pada perlakuan salinitas 35 ppt yaitu sebanyak 1,0668 $\mu\text{g/ml}$.

Kata Kunci : *Dunaliella*, karotenoid, kepadatan sel, ekstrak daun lamtoro, salinitas.

ABSTRACT

Dunaliella is a green microalgae that produces carotenoids, one of the carotenoid types produced is β -carotene which accumulated in very high amounts in some stressful conditions such as nitrogen limitations, high salinity and exposure high light intensity. *Leucaena leucocephala* is one of the natural ingredients that potential as a source of nutrition of *Dunaliella* sp. growth. The aim of this study was to determine the effect of different salinity in Lamtoro Leaves Extract Media on growth and carotenoid content *Dunaliella* sp. The research was conducted in Aquaculture Laboratory, Agriculture Faculty, Lampung University. The design of research was used completely randomized design with 4 treatments and 3 repetitions. The treatments used was Lamtoro Leaves

extract media with salinity 30 ppt, 35 ppt, 40 ppt, and 45 ppt. The result showed that media of Lamtoro Leaves extract with different salinity gave significant effect on cell density and carotenoid content of Dunaliella sp. ($p < 0,05$). The results of this study showed that the best cell growth occurred in the treatment of salinity 30 ppt with cell density reached $5,09 \times 10^6$ cells/ml, while the highest carotenoid content was produced at 35 ppt salinity treatment of 1,0668 $\mu\text{g/ml}$

Keywords : *carotenoid, cell density, Dunaliella, lamtoro leaves extract, salinity*

PENDAHULUAN

Dunaliella sp. Merupakan salah satu jenis fitoplankton yang dimanfaatkan sebagai pakan alami. Mikroalga ini juga dapat digunakan sebagai pakan rotifera dan pakan *Artemia* pada budidaya *Artemia* (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Kandungan nutrisi *Dunaliella* sp. yang ditunjukkan dalam bahan kering adalah protein (57%), karbohidrat (32%) dan lemak (6%) (Bekker, 1994). *Dunaliella* sp. merupakan mikroalga yang menghasilkan karotenoid, salah satu jenis karotenoid yang dihasilkan adalah β -karoten yang mampu diakumulasi dalam jumlah sangat tinggi pada beberapa kondisi stress seperti keterbatasan nitrogen, terkena intensitas cahaya tinggi dan salinitas yang tinggi (El Baz *et al.*, 2002). Menurut Pital dan Lele (2005), menunjukkan bahwa peningkatan salinitas berpengaruh dalam meningkatkan kandungan karotenoid *Dunaliella salina* dari 2 pg/sel menjadi 5,5 pg/sel.

Daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) salah satu bahan alami yang mengandung 3,84% N, 0,20% P, 0,206% K, 1,31% Ca, 0,33% Mg (Palimbungan *et al.*, 2006), berpotensi sebagai sumber nutrisi untuk memenuhi kebutuhan nutrisi *Dunaliella* sp. serta meningkatkan pertumbuhan dan perkembangannya yaitu dengan memanfaatkan daun lamtoro sebagai media kultur alternatif yang memiliki unsur makro dan mikro yang dibutuhkan *Dunaliella* sp. Hasil penelitian Septiana (2016), pertumbuhan *Dunaliella* sp. pada Media Ekstrak Daun Lamtoro sebanyak 4% selama kultur memiliki kepadatan sel $59,25 \times 10^6$ sel/ml dan menghasilkan karotenoid 0,9576 $\mu\text{g/ml}$.

Berdasarkan uraian diatas dilaksanakan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh salinitas yang berbeda dalam media ekstrak daun lamtoro terhadap pertumbuhan dan kandungan karotenoid *Dunaliella* sp.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari – Februari 2017 di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Alat yang digunakan selama penelitian antara lain botol kultur berukuran 500 ml, gelas ukur, pipet tetes, *haemocytometer*, gelas penutup, kain kasa, kain satin, kapas, cuvet, *hand counter*, alat tulis, botol film, cuvet, blender dan instalasi aerasi. Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain air laut steril, ekstrak daun lamtoro, media Walne, alkohol 70%, etanol 96%, kertas label, akuades, dietil eter, dan *Dunaliella* sp.

Mikroalga Uji dan Media Kultur

Mikroalga uji yang digunakan dalam penelitian adalah mikroalga *Dunaliella* sp. yang diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Mikroalga *Dunaliella* sp. dikultur pada media Walne hingga mencapai kepadatan 10^6 sel/ml. Media kultur yang digunakan dalam penelitian berupa 350 ml air laut steril dengan salinitas berbeda dan 4% media ekstrak Daun Lamtoro setiap perlakuan (Septiana, 2016). Salinitas yang digunakan yaitu 30 ppt, 35 ppt, 40 ppt, dan 45 ppt.

Pembuatan Ekstrak Daun Lamtoro

Tahapan pembuatan ekstrak daun lamtoro yang akan dijadikan sebagai media adalah sebagai berikut :

1. Daun lamtoro dipisahkan dari tangkai kemudian dicuci menggunakan air tawar sampai bersih.
2. Daun lamtoro sebanyak 100 gram dan 500 ml akuades dihaluskan menggunakan blender. Kemudian, ekstrak daun lamtoro disaring menggunakan kain satin.
3. Hasil ekstrak yang telah disaring kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit, diendapkan selama 24 jam hingga terbentuk dua lapisan (supernatan dan endapan).
4. Ekstrak daun lamtoro (supernatan) digunakan sesuai volume yang ditentukan (14 ml).

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dengan masing-masing perlakuan 3 kali ulangan.

Penghitungan Kepadatan dan Penebaran Inokulum

Penghitungan kepadatan dilakukan setiap 6 jam sekali untuk mengetahui kepadatan sel *Dunaliella* sp. Kepadatan sel mikroalga *Dunaliella* sp. dihitung menggunakan *Haemocytometer* dengan rumus sebagai berikut :

- a. Rumus Penghitungan Kepadatan (BBPBAP Jepara, 2015)

$$N = \frac{A_1+A_2+A_3+A_4}{4} \times \text{faktor pengenceran} \times 10^4$$

Keterangan :

- N = Jumlah sel mikroalga yang terhitung (sel/ml)
 $A_1 - A_4$ = Jumlah sel mikroalga pada kotak ke-1 sampai 4
4 = Jumlah kotak dalam pengamatan *Dunaliella* sp.
 10^4 = Volume kerapatan sel kotak (*chamber*)

- b. Rumus Penebaran Inokulum (Chien, 1992)

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

Keterangan :

V_1 = Volume inokulum yang digunakan (ml)

N_1 = Kepadatan sel inokulum *Dunaliella* sp. yang terhitung (sel/ml)

V_2 = Volume media yang akan digunakan (ml)

N_2 = Kepadatan sel inokulum *Dunaliella* sp. yang dibutuhkan (sel/ml).

Pengukuran Diameter Sel *Dunaliella* sp.

Pengukuran diameter sel *Dunaliella* sp. dilakukan setiap 6 jam (Septiana, 2016). Metode pengukuran diameter sel dilakukan dengan cara 1 ml sampel diteteskan pada mikrometer objektif dengan tingkat ketelitian 0,01 mm dengan bantuan mikroskop pada perbesaran 40× sebanyak 3 kali ulangan, kemudian hasil pengukuran diameter sel direratakan.

Analisis Karotenoid

Pengukuran kandungan pigmen karotenoid *Dunaliella* sp. dilakukan pada awal dan akhir kultur. Total karotenoid dihitung menggunakan rumus (Shaish *et al.*, 1992; Prieto *et al.*, 2011) :

$$\text{Konsentrasi karotenoid } (\mu\text{g/ml}) = 25,2 \times A_{450}$$

Keterangan :

25.2 = nilai konstanta pengukuran karotenoid

A_{450} = serapan pada panjang gelombang 450 nm

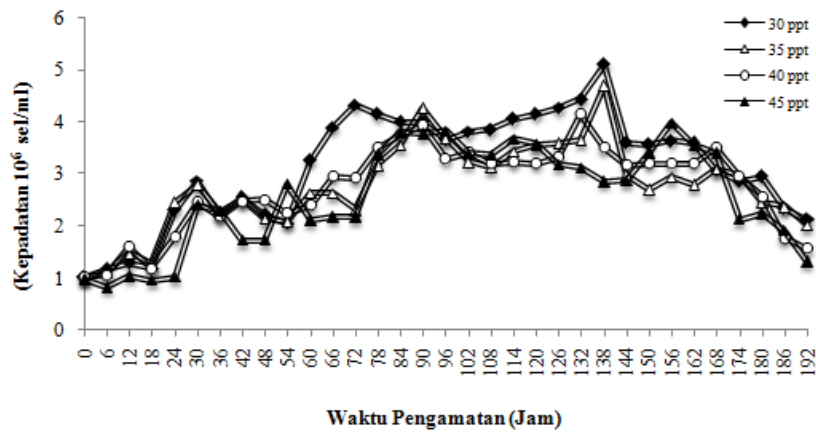
Analisis Data

Dilakukan pengujian normalitas dan homogenitas data kepadatan sel pada fase eksponensial (*peak*), diameter sel serta kandungan karotenoid *Dunaliella* sp. Selanjutnya dilakukan uji analisis sidik ragam (ANOVA) dengan $\alpha = 0.05$. Setelah data diketahui berpengaruh nyata, maka analisis data dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Steel and Torie, 1981). Data parameter lingkungan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fase Pertumbuhan *Dunaliella* sp. Selama Kultur

Pertumbuhan populasi diketahui melalui pengamatan kepadatan sel setiap 6 jam selama 192 jam waktu kultur. Fase pertumbuhan *Dunaliella* sp. selama kultur disajikan pada Gambar 1. Kepadatan sel awal yang digunakan selama penelitian adalah 10^6 sel/ml. Selama kultur terdapat beberapa fase yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, dan fase kematian. Fase adaptasi perlakuan salinitas 30 ppt terjadi selama 54 jam dengan kepadatan sel $2,04 \times 10^6$ sel/ml, pada perlakuan salinitas 35 ppt terjadi selama 72 jam dengan kepadatan sel $2,31 \times 10^6$ sel/ml, perlakuan salinitas 40 ppt fase adaptasi terjadi hingga 72 jam dengan kepadatan sel $2,92 \times 10^6$ sel/ml, pada perlakuan salinitas 45 ppt terjadi selama 72 jam dengan kepadatan sel $2,17 \times 10^6$ sel/ml (Gambar 1).



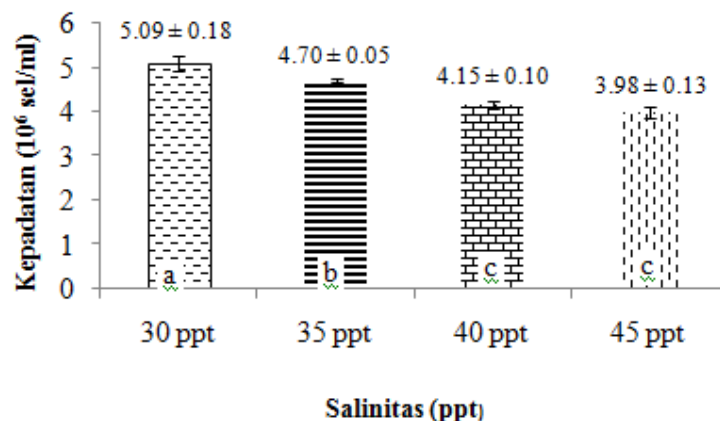
Gambar 1. Pertumbuhan populasi *Dunaliella* sp. selama kultur

Fase eksponensial untuk perlakuan salinitas 30 ppt terjadi selama 84 jam dengan kepadatan $5,09 \times 10^6$ sel/ml, pada perlakuan salinitas 35 ppt terjadi selama 66 jam dengan kepadatan $4,70 \times 10^6$ sel/ml, pada perlakuan salinitas 40 ppt terjadi selama 60 jam dengan kepadatan $4,15 \times 10^6$ sel/ml, pada perlakuan 45 ppt terjadi selama 84 jam dengan kepadatan $3,98 \times 10^6$ sel/ml (Gambar 1). Fase eksponensial pada kultur mikroalga berada pada kisaran jam ke 5-120 dimana fase tersebut ditandai dengan meningkatnya jumlah sel mikroalga (Muhaemin, 2005).

Fase selanjutnya yaitu fase kematian, pada fase ini perlakuan salinitas 30 ppt terjadi selama 54 jam dengan kepadatan sel $1,69 \times 10^6$ sel/ml, pada perlakuan salinitas 35 ppt terjadi selama 54 jam dengan kepadatan sel $1,12 \times 10^6$ sel/ml, perlakuan salinitas 40 ppt fase kematian terjadi hingga 60 jam dengan kepadatan sel $1,72 \times 10^6$ sel/ml, pada perlakuan salinitas 45 ppt terjadi selama 36 jam dengan kepadatan sel $2,17 \times 10^6$ sel/ml (Gambar 1). Menurut Widianingsih (2011), kemampuan setiap mikroalga dalam melakukan adaptasi berbeda-beda tergantung jenis dan perubahan salinitas dari habitat asalnya.

Kepadatan Sel *Dunaliella* sp.

Kepadatan sel *Dunaliella* sp. diketahui melalui perhitungan sel yang dilakukan setiap 6 jam selama 192 jam waktu kultur. Kepadatan sel *Dunaliella* sp. pada fase puncak dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kepadatan sel *Dunaliella* sp. pada fase puncak

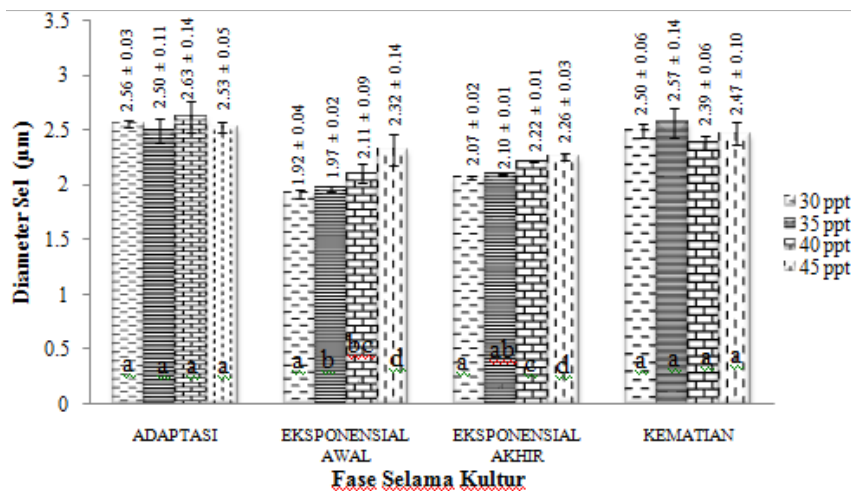
Hasil penelitian menunjukkan kepadatan populasi *Dunaliella* sp. mengalami populasi tertinggi masing-masing salinitas 30 ppt ($5,09 \times 10^6$ sel/ml) dan 35 ppt ($4,70 \times 10^6$ sel/ml) pada jam 138 sedangkan salinitas 40 ppt ($4,15 \times 10^6$ sel/ml) pada jam 132 diikuti salinitas 45 ppt ($3,98 \times 10^6$ sel/ml) pada jam 156 (Gambar 2). Rerata kepadatan populasi *Dunaliella* sp. tertinggi terjadi pada salinitas 30 ppt, kemudian diikuti pada salinitas 35 ppt, 40 ppt, dan 45 ppt. Perbedaan kepadatan sel *Dunaliella* sp. antar perlakuan tersebut dikarenakan adanya perbedaan salinitas di dalam media kultur. Berdasarkan hasil penelitian Sukmawan *et al.*, (2012) kadar salinitas pada media kultur berpengaruh terhadap kepadatan mikroalga.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pada fase puncak salinitas berpengaruh terhadap kepadatan sel *Dunaliella* sp. ($\alpha=0,05$). Hasil uji BNT ($p<0,05$) menunjukkan bahwa perlakuan salinitas 30 ppt berbeda dengan perlakuan salinitas 35 ppt, 40 ppt, dan 45 ppt, sedangkan hanya perlakuan salinitas 40 ppt yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan salinitas 45 ppt.

Diameter Sel *Dunaliella* sp.

Pengukuran diameter sel dilakukan pada fase adaptasi, fase eksponensial awal, fase eksponensial akhir dan fase kematian. Pengukuran diameter sel *Dunaliella* sp. dilakukan setiap 6 jam selama 192 jam waktu kultur.

Hasil penelitian menunjukkan rerata diameter sel pada fase adaptasi yaitu berkisar 2,50 μm – 2,63 μm (Gambar 3). Kemudian pada fase eksponensial awal rerata diameter sel *Dunaliella* sp. mengalami penurunan yaitu perlakuan 30 ppt 1,92 μm , perlakuan 35 ppt 1,97 μm , perlakuan 40 ppt 2,11 μm , sedangkan perlakuan salinitas 45 ppt 2,32 μm . Selanjutnya rerata diameter pada fase eksponensial akhir yaitu perlakuan 30 ppt 2,07 μm , perlakuan 35 ppt 2,10 μm , perlakuan 40 ppt 2,22 μm , sedangkan perlakuan salinitas 45 ppt 2,26 μm . Rerata diameter pada fase kematian berkisar 2,39 μm –2,57 μm (Gambar 3). Kepadatan tertinggi yaitu perlakuan salinitas 30 ppt memiliki diameter sel yang lebih rendah dibandingkan perlakuan lain nya pada saat fase eksponensial 1,92 μm – 2,07 μm , sedangkan kepadatan terendah yaitu pada perlakuan 45 ppt yang memiliki diameter sel lebih besar saat fase eksponensial dibandingkan perlakuan lain nya yaitu 2,32 μm – 2,26 μm (Gambar 3).



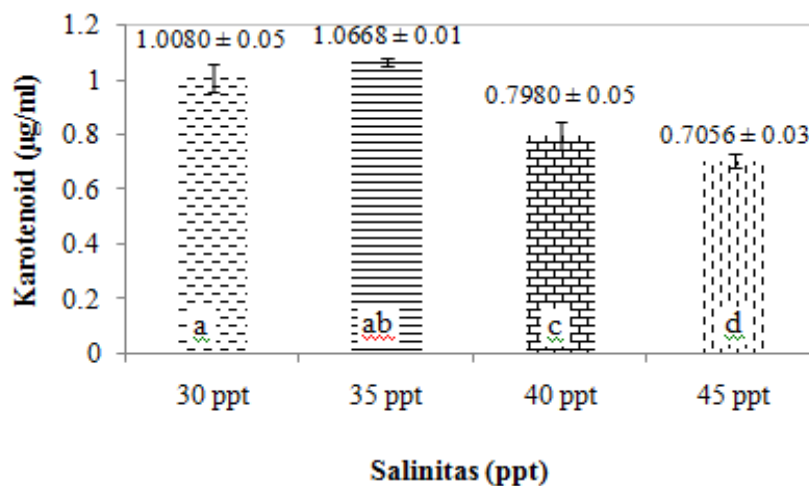
Gambar 3. Rerata diameter sel *Dunaliella* sp. selama kultur (μm)

Dalam setiap perlakuan pada fase adaptasi dan fase kematian memiliki diameter yang lebih besar dibandingkan pada fase eksponensial, hal tersebut diduga karena lambatnya proses pembelahan sel yang terjadi. Hasil penelitian Septiana pada tahun 2016, kepadatan sel mikroalga *Dunaliella* sp. tertinggi yang dikultur dalam media ekstrak daun lamtoro tidak berbanding lurus terhadap ukuran diameter sel, selain salinitas yang menjadi faktor pembatas pertumbuhan sel *Dunaliella* sp. Menurut Pisal dan Lele (2005), konsentrasi garam yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan sel dan penyusutan sel *Dunaliella salina*.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa rerata diameter sel *Dunaliella* sp. selama kultur menunjukkan adanya pengaruh perlakuan salinitas yang digunakan terhadap diameter sel *Dunaliella* sp. ($\alpha=0,05$).

Kandungan Karotenoid

Dunaliella sp. merupakan salah satu mikroalga yang mampu menghasilkan karotenoid. Pengukuran kandungan karotenoid dilakukan pada awal dan akhir kultur. Rerata kandungan karotenoid yang dihasilkan pada awal kultur yaitu sebanyak 1,3860 $\mu\text{g/ml}$. Rerata kandungan karotenoid pada akhir kultur disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kandungan karotenoid *Dunaliella* sp. pada akhir kultur

Hasil penelitian menunjukkan kandungan karotenoid tertinggi yang dihasilkan oleh *Dunaliella* sp. yaitu pada perlakuan salinitas 35 ppt yang mengakumulasi karotenoid sebanyak 1,0668 $\mu\text{g/ml}$. Selanjutnya perlakuan dengan menggunakan perlakuan salinitas 30 ppt dengan kandungan karotenoid sebanyak 1,0080 $\mu\text{g/ml}$. Kandungan karotenoid pada perlakuan 40 ppt yang mengakumulasi karotenoid sebanyak 0,7980 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan kandungan karotenoid *Dunaliella* sp. yang dikultur dengan menggunakan perlakuan salinitas 45 ppt mengakumulasi karotenoid sebanyak 0,7056 $\mu\text{g/ml}$ (Gambar 4). Menurut penelitian Pisal dan Lele (2005), peningkatan salinitas dapat meningkatkan kandungan karotenoid mikroalga *Dunaliella salina* dari 2 pg/sel menjadi 5,5 pg/sel.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa penggunaan media ekstrak Daun Lamtoro dengan salinitas berbeda pada kultur *Dunaliella* sp. berpengaruh terhadap kandungan karotenoid ($\alpha=0,05$). Hasil BNT ($p<0,05$), menunjukkan

perlakuan 35 ppt tidak berbeda nyata terhadap perlakuan salinitas 30 ppt, tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan salinitas 40 ppt dan 45 ppt.

Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan pada penelitian ini adalah suhu, pH, salinitas dan intensitas cahaya yang dilakukan setiap hari sekali. Data pengukuran parameter lingkungan selama kultur *Dunaliella* sp. dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter lingkungan selama kultur *Dunaliella* sp.

Perlakuan	Parameter lingkungan		
	pH	Intensitas cahaya (Lux)	Suhu (°C)
30 ppt	6-7	3375 - 4430	26
35 ppt	6-7	3730 - 4420	26
40 ppt	6-7	3380 - 4470	26
45 ppt	7	3350 - 4405	26
Optimum	6 - 9 ^a	1500 - 4500 ^b	26°C - 30 °C ^c

Sumber: a : Celekli and Donmez (2006);

b : Facta *dkk.* (2006);

c : Yudha (2008);

KESIMPULAN

Penggunaan media ekstrak daun lamtoro dengan salinitas berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan sel dan kandungan karotenoid mikroalga *Dunaliella* sp. dengan kepadatan sel tertinggi pada salinitas 30 ppt ($5,09 \times 10^6$ sel/ml) dan terendah pada salinitas 45 ppt ($3,98 \times 10^6$ sel/ml). Rerata kandungan karotenoid tertinggi *Dunaliella* sp. terjadi pada salinitas 35 ppt sebanyak 1,0668 µg/ml dan terendah terjadi pada salinitas 45 ppt 0,7056 g/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Barrow C, Shahidi F. 2008. *Marine nutraceuticals and functionl food*. Boca Raton (NY) : CRC Press.
- BBPBAP. 2015. *Laporan Penelitian Tahunan Laboratorium Pakan Hidup*. Jepara. Jawa Tengah.
- Bekker E.W. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. USA : Cambridge University Press.
- Celekli, A. and Donmez, G. 2006. Effect of pH, Light Intensity, Salt and Nitrogen Concentrations on Growth and β-carotene Accumulation by a New Isolate of *Dunaliella* sp. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 22, 183–189.

- Chien, Y. H. 1992. Water Quality Requirement and Management for Marine Shrimp Cultur. Review. *Water Quality Management*. 144-151.
- El- Baz FK, Aboul-Enein MA, El-Baroty GS, Youssef AM, Abd El-Baky HH. 2002. Accumulation of antioxidant vitamins in *Dunaliella salina*. *J Biol Sci* : 220-223
- Facta, M., Zainuri, M., Sudjadi, dan Sakti, P. E. 2006. Pengaruh Pengaturan Intensitas Cahaya yang Berbeda terhadap Kelimpahan *Dunaliella* sp. dan Oksigen Terlarut dengan Simulator TRIAC dan Mikrokontroler AT89S52. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 11 (2), 67-71.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton Dan Zooplankton*. Kanisius, Jakarta.
- Muhaemin, M. 2005. Kemampuan Pengikatan Metaloprotein Asam Amino Methionin Terhadap Pb pada *D. salina*. Tesis. Institut Pertanian Bogor
- Palimbangan, N., Labatar, R., dan Hamzah, F. 2006. Pengaruh Ekstrak Daun Lamtoro sebagai Pupuk Organik Cair terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Sawi. *Jurnal Agrisistem*. 2 (2), 96-101.
- Pisal, S.D., and S, Lele. 2005. *Carotenoid from Microalga Dunaliella salina*. Biotechnology. Pp 476-483.
- Prieto, A., Canavatea, J. P., and Garzia-Gonzalez, M. 2011. Assessment of Carotenoid Production by *Dunaliella salina* in Different Culture Systems and Operation Regimes. *Journal of Biotechnology*. 151, 180-185.
- Septiana, I. 2016. Pertumbuhan dan Kandungan Karotenoid Mikroalga *Dunaliella* sp. dalam Media Ekstrak Daun Lamtoro (*Skripsi*). Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. Lampung.
- Shaish A, Ben-Amotz A, and Avron M. 1992. *Biosynthesis of β -carotene in Dunaliella*. *Methods Enzymol* 213: 439-444.
- Steel, R.G.D. & J.H. Torie. 1981. *Principles and Procedures of Statistics, a Biometrical Approach, Second Edition*. McGraw-Hill International Book Company, Kugakusha, Tokyo, Japan. 633p.
- Sukmawan, A. M., Antara, S. N., dan Arnata, W. I. 2012. Optimization Salinity and Initial pH On The Biomass Production of *Nannochloropsis* sp. K-4. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana Bali. Bali.
- Widianingsih., R. Hartati., E.H. Endrawati., M. Hilal. 2011. *Kajian Kadar Total Lipid dan Kepadatan Nitzschia sp. yang Dikultur dengan Salinitas Berbeda*. Undip E-Journal 4030-8655-1.
- Yudha, A. P. 2008. Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Dunaliella* sp. pada Umur Panen yang Berbeda. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

