

# Pengaruh Cekaman Nitrogen dan Fotoperiode terhadap Kurva pertumbuhan Kultur *Nannochloropsis* sp.

S. Dwirejeki dan D. Ermavitalini

Departemen Biologi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

e-mail: dinierma@bio.its.ac.id

**Abstrak**—Konsumsi energi meningkat dari tahun ke tahun dan 95% terpenuhi dari bahan fosil yang jumlahnya terbatas. Biodiesel sebagai alternatif sumber energi dari tanaman jarak (*Jatropha curcas*) dan kelapa sawit memiliki kemampuan oksidasi yang rendah pada suhu dingin, produksi lipid membutuhkan waktu lama serta kandungan lipid yang berkisar 35% dan 75,6%. Di sisi lain, *Nannochloropsis* sp. dapat memproduksi lipid mencapai 90% dari berat kering biomassa pada kondisi tercekam, panen lebih cepat, mudah dibudidayakan. Waktu panen kultur *Nannochloropsis* sp. dapat direkayasa berdasarkan nutrisi, suhu, aerasi, salinitas, fotoperiode. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh cekaman nitrogen dan fotoperiode terhadap lama waktu panen kultur. *Nannochloropsis* sp., dikultur pada kondisi normal untuk mendapatkan masa starter (setengah eksponensial kultur). Kultur *Nannochloropsis* sp. pada masa starter diberikan perlakuan kombinasi nitrogen pada pupuk Conway terdiri dari 0%, 25%, 50%, 75% dan 100%  $\text{NaNO}_3$  dengan fotoperiode (terang:gelap) 12:12, 16:8 dan 24:0. Kultur *Nannochloropsis* sp. dengan nitrogen terbatas memiliki fase eksponensial yang lebih singkat sedangkan pada perlakuan fotoperiode dengan terang lebih lama, kultur memiliki nilai OD yang paling tinggi. Waktu panen paling cepat yaitu perlakuan dengan nitrogen 0%, nilai OD paling tinggi pada pemberian nitrogen 100% pada berbagai fotoperiode.

**Kata Kunci**—Eksponensial, Fotoperiode, *Nannochloropsis* sp., Nitrogen, Starter.

## I. PENDAHULUAN

INDONESIA merupakan negara kepulauan yang memiliki kekayaan alam yang melimpah namun ketersediaan energi dari tahun ke tahun mengalami penurunan/krisis. Krisis energi tersebut terjadi karena tingginya konsumsi energi oleh penduduk meliputi sektor industri (50%), transportasi (34%), rumah tangga (12%) dan komersial (4%). Konsumsi energi Indonesia yang cukup tinggi tersebut hampir 95% dipenuhi dari bahan bakar fosil. Dari total tersebut, hampir 50% merupakan Bahan Bakar Minyak (BBM). Sebagai sumber energi tidak terbarukan, cadangan BBM Indonesia sangat terbatas [1] sehingga diperlukan sumber energi alternatif untuk menggantikan fungsi BBM, salah satunya memanfaatkan sumber daya hayati baik dari lemak hewani maupun nabati [1] sebagai biodiesel. Namun, sumber lemak nabati (lemak dari tanaman jarak (*Jatropha curcas*), kelapa sawit/palm) dan lemak hewani masih memiliki kekurangan untuk dijadikan sebagai biodiesel karena memiliki kemampuan oksidasi yang rendah pada suhu dingin [2] laju pertumbuhan rendah sehingga produksi lipid memerlukan waktu yang lama [3]. Untuk mengatasi kekurangan tersebut dapat memanfaatkan mikroalga atau fitoplankton [4] sebagai alternatif biodiesel.

Mikroalga laut, *Nannochloropsis* sp. memiliki kandungan lemak yang cukup tinggi yakni sebesar 12,0-53,0% berat kering biomassa tetapi jika di bawah kondisi tercekam kandungan lemak mencapai 90% dari berat keringnya [4][5] yang lebih tinggi daripada lipid jarak pagar sebesar 35% berat kering [6] dan kelapa sawit sebesar 75,6% [7]. *Nannochloropsis* sp juga memiliki laju pertumbuhan yang tinggi [3], memiliki kinerja lebih baik pada cuaca dingin karena mengandung PUFA dengan titik cair yang lebih rendah jika dibandingkan dengan asam lemak jenuh [2]. Kandungan lipid serta keunggulan *Nannochloropsis* tersebut berpotensi sebagai alternatif bahan biodiesel melalui proses kimia transesterifikasi [8].

Produksi lipid dan waktu panen *Nannochloropsis* dapat direkayasa berdasarkan kondisi kultur, seperti mengubah konsentrasi nutrisi dari media, pengaturan suhu, aerasi  $\text{CO}_2$ , salinitas, intensitas cahaya dan fotoperiode [8] karena pada kondisi yang tidak menguntungkan mikroalga mengubah jalur biosintesis lipid menuju pembentukan dan akumulasi lipid netral dalam bentuk triasilgliserol sebagai pertahanan [9]. Kondisi cekaman lingkungan tersebut juga dapat menurunkan kecepatan pembelahan sel, sel akan merangkai asam lemak menjadi lipid simpanan berupa triasilgliserol untuk mengisi ketersediaan  $\text{NADP}^+$  karena saat nutrisi atau lingkungan tercekam,  $\text{NADP}^+$  mengalami penurunan sehingga  $\text{NADPH}$  yang dihasilkan dari fotosintesis dikonsumsi untuk pembentukan asam lemak [10]. Perlakuan cekaman nitrogen dapat meningkatkan produksi lipid yang lebih tinggi [11][12] karena protein dari mikroalga terpecah menjadi Asetil-KoA. Cekaman fotoperiode dapat meningkatkan panen lipid mikroalga serta mempengaruhi fotosintesis untuk produksi biomassa, kondisi terang dibutuhkan dalam fase fotokimia pembentukan ATP dan  $\text{NADPH}$  sedangkan kondisi gelap mempengaruhi sintesis biokimia molekul untuk pertumbuhan meliputi pembentukan protein, karohidrat dan lemak [8]. Dalam penelitian ini akan dilakukan uji pengaruh kombinasi perlakuan pemberian berbagai konsentrasi nitrogen dan fotoperiode terhadap waktu panen *Nannochloropsis* sp.

## II. URAIAN PENELITIAN

### A. Persiapan Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, spektrofotometer Uv-Vis, autoklaf, oven, pH-meter, lux-meter, *hand refraktometer*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi air laut, vitamin B, unsur maro dan mikro pupuk Conway, kultur murni *Nannochloropsis* sp., alkohol 96%, aquades, aquabides, kertas tisu.

**B. Persiapan Sampel dan Media Kultur**

Sampel yang digunakan adalah mikroalga jenis *Nannochloropsis* sp. yang diperoleh dari stok murni Laboratorium Pakan Alami Balai Perikanan dan Budidaya Air Payau (BBPAP) Situbondo dengan kepadatan stok awal 10<sup>6</sup> sel/ml. Selanjutnya dilakukan kultur untuk penentuan masa starter dan masa panen dengan presentase 10% mikroalga dalam air laut steril. Air laut diperoleh dari penyedia komersil. Media yang digunakan untuk kultur mikroalga *Nannochloropsis* sp. adalah air laut [13]. Air laut disaring dengan membran filter, kemudian diukur salinitas pada 30-32 ppt [14][15] pH 7-8, intensitas cahaya terang 900-1000 lux, gelap 0-10 lux, suhu 25-27 °C [15].

**C. Pembuatan Pupuk Conway**

Pupuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah pupuk Conway yang terdiri dari 5 jenis konsentrasi NaNO<sub>3</sub> sebagai variasi perlakuan cekaman nutrisi nitrogen [16] yang terdiri dari 100%, 75%, 50%, 25% dan 0%. Komposisi 100% pupuk Conway terdiri 100 gram NaNO<sub>3</sub> dilarutkan dalam 1 L aquades [12]. Tabel 1 adalah komposisi pupuk Conway dalam 1 L aquades steril [12]:

Tabel 1.  
Komposisi Pupuk Conway

Komposisi	Konsentrasi
Na <sub>2</sub> EDTA	45 g/L
FeCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	1,3 g/L
H <sub>3</sub> BO <sub>7</sub>	33,6 g/L
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	20 g/L
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,36 g/L
NaNO <sub>3</sub>	100 g/L
Trace metal solution	1 ml
1. ZnCl <sub>2</sub>	2,1 g/L
2. CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	2 g/L
3. (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,9 g/L
4. CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	2 g/L
5. Aquades (Sousa et al, 2014)	1 L
Vitamin	1 ml
1. Vitamin B12	10 mg
2. Vitamin B1	200 mg
3. Aquabides	200 ml

Media kultur pada penelitian ini menggunakan pupuk Conway dengan konsentrasi 1 ml per 1 L komposisi kultur.

**D. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Pupuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah pupuk Conway yang terdiri dari 5 jenis konsentrasi NaNO<sub>3</sub> sebagai variasi perlakuan cekaman nutrisi nitrogen (Yarti dkk, 2014), yang terdiri dari 100%, 75%, 50%, 25% dan 0%. Komposisi 100% pupuk Conway terdiri 100 gram NaNO<sub>3</sub> dilarutkan dalam 1 L aquades [12]. Berikut adalah komposisi pupuk Conway dalam 1 L aquades steril [12]: Sterilisasi alat yang dilakukan meliputi sterilisasi botol kultur, pipet tetes, pipet volume, gelas ukur, erlenmeyer. Sterilisasi alat tersebut dilakukan dengan perendaman chlorin selama 24 jam dan dicuci dengan pembersih/detergen kemudian dibilas dengan air mengalir, dikeringkan, kemudian dibungkus dengan plastik tahan panas dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit pada tekanan 15 pt [17].

Sterilisasi bahan meliputi tisu, karet, air laut, aquadest, aquabidest. Air laut, aquabidest, aquadest dimasukkan ke dalam botol kultur sedangkan tisu dan karet dibungkus dengan plastic tahan panas, kemudian disterilisasi dengan

autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit pada tekanan 15 pt [17].

**E. Penentuan Starter Kultur *Nannochloropsis* sp.**

Penentuan waktu panen dilakukan dengan membuat kultur 10% mikroalga dalam 200 ml kultur. Kultur *Nannochloropsis* sp. diukur setiap 24 jam hingga mencapai fase kematian dengan menggunakan spektrofotoneter UV-Vis pada panjang gelombang 680 nm [18] sehingga membentuk kurva pertumbuhan dengan koordinat dimana x adalah hari kultur dan y adalah nilai OD. Masa starter merupakan masa setengah eksponensial dari kultur *Nannochloropsis* sp. [18][19].

**F. Penentuan Waktu Panen *Nannochloropsis* sp.**

Penentuan waktu panen dilakukan dengan membuat kurva pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. pada kultur mikroalga yang diberikan perlakuan cekaman. Perlakuan Fotoperiode dilakukan dengan memberikan cahaya pada kultur dengan terang:gelap meliputi 24:0 (kontinyu), 16:8, 12:12. Perlakuan cekaman nitrogen terbagi menjadi 5 variasi yaitu pemberian pupuk Conway 100% NaNO<sub>3</sub>, 75% NaNO<sub>3</sub>, 50% NaNO<sub>3</sub>, 25% NaNO<sub>3</sub> dan 0% NaNO<sub>3</sub>. Kombinasi perlakuan kultur berjumlah 15 diukur setiap 24 jam hingga mencapai fase kematian dengan menggunakan spektrofotoneter UV-Vis pada panjang gelombang 680 nm [18][19] sehingga membentuk kurva pertumbuhan dengan koordinat dimana x adalah hari kultur dan y adalah nilai OD. Fase akhir eksponensial ditetapkan sebagai waktu panen kultur *Nannochloropsis* sp. [20][21], dan [22].

**G. Perlakuan**

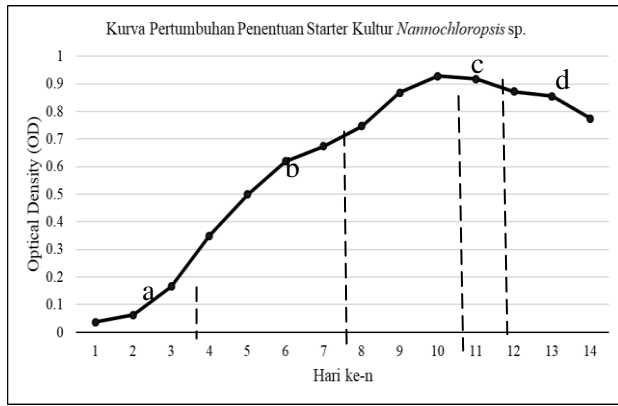
Perlakuan dilakukan dengan memasukkan 50 ml mikroalga dalam 450 ml air laut steril dan pupuk Conway 0,5 ml [13][17] hingga masa starter dengan salinitas 30 ppt, pH 7-8 [12], intensitas cahaya terang 900-1000 lux, gelap 0-10 lux, suhu 25-27 °C [23]. Kultur dari masa starter diambil 50 ml untuk dikultur kembali dalam 450 ml air laut steril dengan kondisi tercekam fotoperiode dan nitrogen hingga masa panen. Tabel 2 merupakan kombinasi perlakuan pada penelitian ini:

Tabel 2.  
Kombinasi Perlakuan

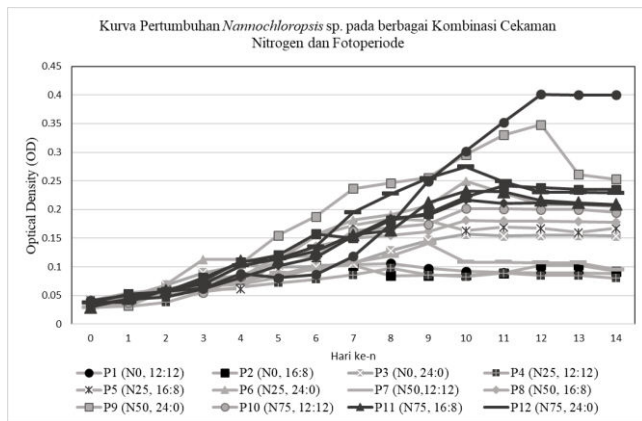
Variasi Nutrisi Nitrogen	Variasi Fotoperiode		
	12:12	16:08	24:0
0%	P1	P2	P3
25%	P4	P5	P6
50%	P7	P8	P9
75%	P10	P11	P12
100%	P13	P14	P15

Keterangan:

- P1 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 0% dengan fotoperiode 12:12
- P2 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 0% dengan fotoperiode 16:8
- P3 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 0% dengan fotoperiode 24:0
- P4 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 25% dengan fotoperiode 12:12
- P5 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 25% dengan fotoperiode 16:8
- P6 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 25% dengan fotoperiode 24:0



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. Keterangan: a.Fase Lag, b. Fase Eksponensial, c. Fase Stasioner, d. Fase Death.



Gambar 2. Panen Kultur pada Berbagai Perlakuan.

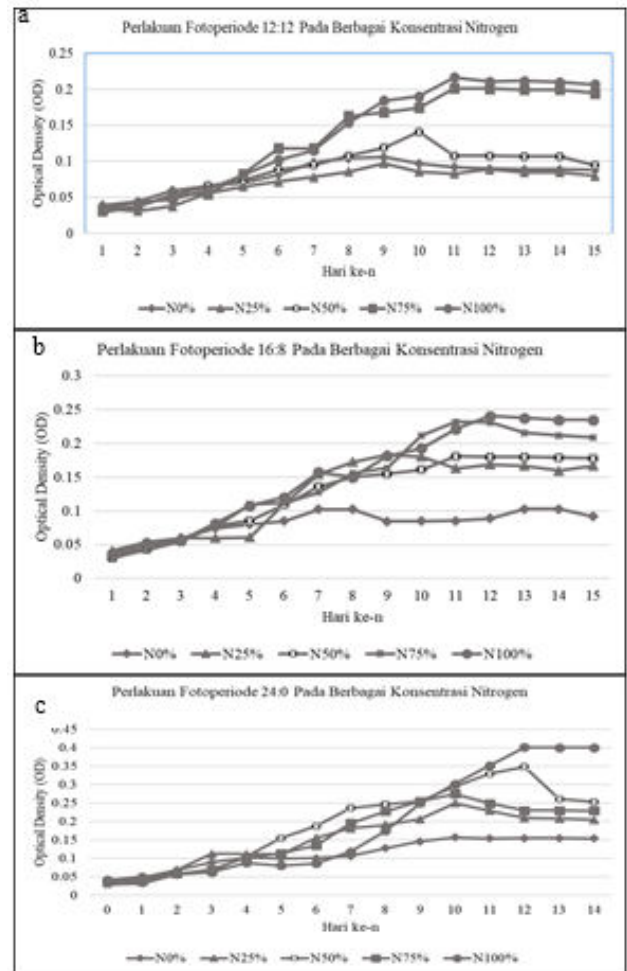
- P7 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 50% dengan fotoperiode 12:12
- P8 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 50% dengan fotoperiode 16:8
- P9 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 50% dengan fotoperiode 24:0
- P10 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 75% dengan fotoperiode 12:12
- P11 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 75% dengan fotoperiode 16:8
- P12 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 75% dengan fotoperiode 24:0
- P13 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 100% dengan fotoperiode 12:12
- P14 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 100% dengan fotoperiode 16:8
- P15 = Kombinasi Kultur pada nutrisi N 100% dengan fotoperiode 24:0

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Kurva Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

Hasil kurva pertumbuhan dan penentuan waktu starter *Nannochloropsis* sp. disajikan pada Gambar 1.

Berdasarkan kurva pertumbuhan pada gambar 4.1 aktivitas pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis berupa nilai OD mengalami peningkatan hingga hari ke-10 kultivasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rodrigues *et al*, 2011 bahwa Optical Density (OD) pada spektrofotometer dapat memonitoring jumlah sel secara tidak langsung. Sel



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Perlakuan Cekaman Nitrogen dengan berbagai Konsentrasi dan Fotoperiode  
Keterangan: a. Fotoperiode 12:12, b. Fotoperiode 16:8, c. Fotoperiode 24:0

mikroalga yang teramati pada saat kultivasi, mengalami fase lag pada hari ke-1 hingga hari ke-3, kemudian mengalami fase eksponensial pada hari ke-3 hingga hari ke-9, kemudian sel mengalami pertumbuhan yang tetap /stasioner pada hari ke-9 hingga hari ke-10, kemudian sel mengalami penurunan pertumbuhan, memasuki fase kematian pada hari ke-10 hingga hari ke-14. Pada fase stasioner, penambahan kepadatan populasi seimbang dengan laju kematian sehingga pertumbuhan populasi yang terjadi kecil. Jumlah sel cenderung tetap karena telah mencapai titik jenuh. Pada fase death, jumlah sel mengalami penurunan. Penurunan kepadatan sel fitoplankton dapat disebabkan oleh perurangan nutrisi sehingga mikroalga tidak tumbuh [24].

Berdasarkan kurva pertumbuhan tersebut, masa starter ditentukan pada hari ke-6, yaitu pada setengah masa eksponensial kultur *Nannochloropsis* sp. tersebut karena sel masih aktif membelah serta dapat melakukan metabolisme secara maksimal sebelum memasuki fase stasioner maupun kematian sel [18][19]. Starter digunakan sebagai bibit untuk pembuatan kultur baru atau untuk produksi massal mikroalga [25].

#### B. Waktu Panen Kultur pada Berbagai Perlakuan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kurva pertumbuhan kultur *Nannochloropsis* sp. pada berbagai kombinasi perlakuan yang disajikan pada Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2 waktu panen mikroalga *Nannochloropsis* sp. dengan berbagai kombinasi perlakuan cekaman nitrogen dan fotoperiode memiliki waktu panen yang berbeda. Waktu panen ditentukan berdasarkan fase akhir eksponensial kultur [20] karena pada fase akhir eksponensial mikroalga berada dalam kondisi yang paling optimal, sehingga kandungan nutrisi dalam selnya sangat tinggi. Waktu panen kultur hari ke-6 yaitu pada perlakuan P1 (N0, 12:12), P2 (P0, 16:8). Waktu panen kultur hari ke-8 yaitu pada perlakuan P4 (N25, 12:12), P5 (N25, 16:8). Waktu panen kultur hari ke-9 yaitu pada perlakuan P7 (N50, 12:12), P13 (N100, 12:12). Waktu panen kultur hari ke-10 yaitu pada perlakuan P3 (N0, 24:0), P6 (N25, 24:0), P8 (N50, 16:8), P10 (N75, 12:12), P11 (N75, 16:8), P12 (N75, 24:0). Waktu panen kultur hari ke-11 yaitu pada perlakuan P14 (N100, 16:8). Waktu panen kultur hari ke-12 yaitu pada perlakuan P9 (N50, 24:0), P15 (N100, 24:0).

Berdasarkan jumlah selnya, mikroalga pada perlakuan pemberian nitrogen 100% memiliki nilai OD (pertumbuhan) yang paling tinggi dibandingkan dengan kultur dengan nitrogen dalam pupuk 75%, 50%, 25% dan 0%. Hal ini berkaitan dengan ketersediaan nutrisi untuk tumbuh serta ketersediaan cahaya untuk fotosintesis dan metabolisme sel lainnya. Pada nitrogen yang terpenuhi, sel mikroalga memiliki laju reproduksi yang tinggi sehingga sel yang terbentuk lebih [21] yang ditunjukkan dengan nilai OD pada spektrofotometer yang lebih tinggi.

Gambar 3 adalah kurva pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. pada berbagai konsentrasi nitrogen dan fotoperiode :

Berdasarkan hasil pengamatan tersebut, pemberian nitrogen mempengaruhi pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dimana tanpa pemberian nitrogen dengan fotoperiode gelap yang lebih panjang, kultur *Nannochloropsis* sp. memiliki waktu panen yang singkat. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa, kekurangan nitrogen pada alga dapat mempersingkat fase eksponensial alga tersebut [26] sedangkan pemberian nitrogen yang sesuai dan fotoperiode dengan siklus terang yang panjang, kultur *Nannochloropsis* sp. memiliki waktu panen yang lebih lama serta jumlah sel yang lebih banyak karena nutrisi untuk tumbuh sel terpenuhi, sehingga sel dapat membelah sehingga ukuran serta jumlahnya bertambah.





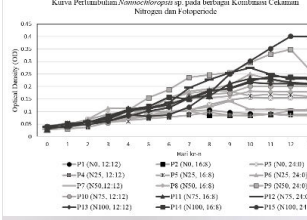




Fotoperiode yang berkaitan dengan intensitas dan lama pencahayaan berperan dalam proses fotosintesis dimana terjadi perubahan bahan anorganik menjadi gula sederhana sebagai sumber energi untuk metabolisme sel. Apabila metabolisme sel berjalan maka sel mikroalga dapat tumbuh lebih lama [27]. Hal ini sesuai dengan hasil pengamatan. Selain itu, mikroalga membutuhkan fotoperiodisme yang terdiri dari terang dan gelap yang berbeda-beda. Cahaya terang digunakan pada waktu proses fotokimia untuk menghasilkan ATP, NADPH dan kondisi gelap untuk reaksi biokimia dalam sintesis molekul esensial untuk pertumbuhan [8].

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pada nitrogen yang terbatas, fase eksponensial kultur lebih singkat sedangkan pada nitrogen yang tercukupi fase eksponensial kultur lebih panjang. Pada nitrogen 100% pada semua

fotoperiode menghasilkan nilai OD yang tertinggi. Waktu panen tersebut dapat dijadikan informasi untuk produksi biodiesel dengan melakukan uji lanjutan pada kandungan lipid pada setiap perlakuan dengan waktu panen yang telah didapatkan.

Tabel 3. Perlakuan Kultur

Gambar	Keterangan
	<i>Nannochloropsis</i> sp. dikultur dalam air laut steril.
	pH kultur diukur dengan menggunakan pH meter.
	Salinitas diukur pada 900-1000 lux (terang) dan 0-10 lux (gelap)
	Kultur diberikan pupuk dengan nitrogen 0%, 25%, 50%, 75% dan 100% pada FP 12:12, 16:8 dan 24:0
	Kultur diaerasi dan diukur OD setiap 24 jam dengan spektrofotometer UV Vis 680 nm.
	Nilai OD dibuat menjadi kurva pertumbuhan dari fase lag hingga death.
	Hasil panen kultur pada fotoperiode 12:12
	Hasil panen fotoperiode 16:8
	Hasil panen kultur dengan berbagai konsentrasi Nitrogen pada fotoperiode 24:0

Tabel 4.  
Nilai OD Penentuan Masa Kultur

No	Hari	OD			pH			Suhu (°C)
		I	II	Rerata	B	I	II	
1	2/20/18	0.037	0.0355	0.03625	7	7	7	24.5
2	2/21/18	0.064	0.061	0.0625	7	8	8	24.5
3	2/22/18	0.184	0.148	0.166	7	8	8	24.5
4	2/23/18	0.331	0.368	0.3495	7	8	8	24.5
5	2/24/18	0.469	0.531	0.5	7	8	8	24.5
6	2/25/18	0.609	0.63	0.61975	7	8	8	24.5
7	2/26/18	0.633	0.714	0.674	8	8	8	24.5
8	2/27/18	0.696	0.798	0.7472	8	8	8	24.5
9	2/28/18	0.821	0.914	0.86775	8	9	9	24.5
10	3/1/18	0.868	0.989	0.9285	8	9	9	24.5
11	3/2/18	0.824	1.011	0.9175	8	9	9	24.5
12	3/3/18	0.717	1.027	0.87225	9	9	9	24.5
13	3/4/18	0.673	1.038	0.85575	9	9	9	23
14	3/5/18	0.523	1.025	0.77425	10	9	9	24.7

Tabel 5.  
Nilai OD Kultur Fotoperiode 12:12

Hari	N0%	N25%	N50%	N75%	N100%
0	0.039	0.034	0.0295	0.0315	0.0335
1	0.044	0.031	0.0375	0.0375	0.043
2	0.06	0.038	0.053	0.0545	0.047
3	0.066	0.056	0.066	0.0545	0.061
4	0.07	0.065	0.0735	0.0825	0.0815
5	0.0815	0.072	0.0885	0.118	0.102
6	0.099	0.078	0.095	0.118	0.1155
7	0.104	0.086	0.108	0.163	0.154
8	0.106	0.0975	0.119	0.1685	0.1845

DAFTAR PUSTAKA

[1] S. Setiadji, T. B. Nila, S. Tety, P. Eko, and W. N. Bebeh., "Alternatif Pembuatan Biodiesel Melalui Transesterifikasi Minyak Castor (*Ricinus communis*) Menggunakan Katalis Campuran Cangkang Telur Ayam dan Kaolin," *J. Penelit. dan Pengemb. Ilmu Kim.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–10, 2017.

[2] T. Prakoso, P. Udomsap, A. Tanaka, T. Hirotsu, and S. Goto, "Characteristics of Oxidative Storage Stability of Canola Fatty Acid Methyl Ester Stabilised with Antioxidant," *J. Eng. Sci. ITB*, vol. 4, pp. 303–318, 2012.

[3] T. Maharsyah, L. Musthofa, and A.N. Wahyunato, "Efektivitas Penambahan Plant Promoting Bacteria (*Azospirillum* sp) dalam Meningkatkan Pertumbuhan Mikroalga (*Chlorella* sp) Pada Media Limbah Cair Tahu Setelah Proses Anaerob," *J. Keteknikan Pertan. Trop. dan Biosist.*, vol. 1, no. 3, pp. 258–264, 2013.

[4] R. Kwangdinata, R. Indah, and M. Zakir, "Produksi Biodiesel dari Lipid Fitoplankton *Nannochloropsis* sp. Melalui Metode Ultrasonik," *J. Mar. Chim. Acta*, vol. 14, no. 2, pp. 29–36, 2013.

[5] M. Mata, A. A. Martins, and N.S. Caetano, "Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review, Renew," *Sustain. Energy Rev*, vol. 14, pp. 217–232, 2010.

[6] R. Alamsyah, H. L. Enny, and N.C. Siregar, "Esterifikasi- Transesterifikasi Dan Karakterisasi Mutu Biodiesel Dari Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn)," *J. Kim. Kemasan*, vol. 33, no. 1, pp. 124–130, 2011.

[7] S. Arita, K. Attaso, and S. Rangga, "Pembuatan Biodiesel Dari Minyak Kelapa Sawit dengan katalis CaO Disinari Dengan Gelombang Mikro," *J. Tek. Kim.*, vol. 19, no. 4, pp. 45–52, 2013.

[8] M. Gammanpila and S. C.P. Rupasinghe, "Light Intensity and Photoperiode Effect On Growth And Lipid Accumulation Of

9	0.097	0.086	0.141	0.1745	0.1905
10	0.092	0.083	0.108	0.2015	0.217
11	0.09	0.089	0.108	0.201	0.211
12	0.089	0.085	0.107	0.2	0.212
13	0.089	0.085	0.107	0.2	0.21
14	0.088	0.08	0.095	0.195	0.207

Tabel 6.  
Nilai OD Fotoperiode 16:8

Hari	N0%	N25%	N50%	N75%	N100%
0	0.036	0.041	0.0305	0.0295	0.037
1	0.0455	0.054	0.0425	0.044	0.0525
2	0.06	0.06	0.0545	0.0585	0.0565
3	0.0745	0.06	0.078	0.076	0.0815
4	0.0805	0.061	0.0855	0.11	0.108
5	0.085	0.111	0.109	0.112	0.1205
6	0.1025	0.1545	0.136	0.1275	0.1575
7	0.1025	0.173	0.15	0.156	0.15
8	0.0845	0.1835	0.155	0.1635	0.1815
9	0.085	0.1805	0.1615	0.212	0.193
10	0.0855	0.163	0.181	0.232	0.2215
11	0.089	0.169	0.18	0.231	0.241
12	0.103	0.167	0.18	0.216	0.238
13	0.103	0.16	0.179	0.212	0.235
14	0.092	0.167	0.178	0.209	0.235

Tabel 7.  
Nilai OD Fotoperiode 24:0

Hari	N0%	N25%	N50%	N75%	N100%
0	0.0325	0.0425	0.029	0.0375	0.041
1	0.0485	0.037	0.032	0.038	0.0505
2	0.068	0.069	0.057	0.059	0.0575
3	0.0895	0.1125	0.066	0.07	0.062
4	0.1025	0.1125	0.106	0.102	0.088
5	0.1	0.1115	0.155	0.114	0.0805
6	0.1005	0.156	0.1875	0.135	0.0865
7	0.1065	0.1815	0.2365	0.195	0.1185
8	0.128	0.191	0.2465	0.2275	0.1745
9	0.146	0.206	0.2555	0.2545	0.2495
10	0.157	0.2495	0.2955	0.2745	0.302
11	0.154	0.229	0.33	0.249	0.352
12	0.155	0.209	0.348	0.23	0.401
13	0.155	0.208	0.261	0.23	0.4
14	0.154	0.205	0.253	0.229	0.4

Microalgae *Chlorella Vulgaris* And *Nannochloropsis* sp. For Biodiesel Production," in *Proceedings of 12th ISERD International Conference*, 2015, pp. 51–55.

[9] H. Schuhman, D. K. Y. Lim, and P.M. Scen, "Perspektive on Metabolic Engineering for Increased Lipid Contents In Microalgae," *J. Biofuels*, vol. 3, pp. 71–86, 2011.

[10] Q. Hu, S. Milton, J. Maria, P. Matthew, S. Michael, and A. Darzins, "Microalgal Trycylglycerols as Feedstock for Biofuel Production: Perspectives and Advances," *Plant J.*, vol. 54, pp. 621–639, 2008.

[11] A. Nur, "Potensi Mikroalga sebagai Sumber Pangan Fungsional di Indonesia," *J. Eksergi*, vol. 11, no. 2, pp. 1–6, 2014.

[12] H. Widianingsih, Retno, E. Hadi, and M. Jane, "Fatty Acid Composition of Marine Microalgae in Indonesia," *J. Trop. Biol. Conserv.*, vol. 10, pp. 75–82, 2013.

[13] K. Nisak, B. S. Raharja, and E.D. Masithah, "Studi Perbandingan Kemampuan *Nannochloropsis* sp. Dan *Chlorella* sp. Sebagai Agen Bioremediasi Terhadap Logam Berat Timbal (Pb)," *J. Ilm. Perikan. dan Kelaut.*, vol. 5, no. 2, pp. 175–180, 2013.

[14] E. Fogg, *Algal Cultured and Phytoplankton Ecology*. Wisconsin: The University of Wisconsin Press, 1975.

[15] H. Endrawati and I. Riniatsih, "Kadar Total Lipid Mikroalga *Nannochloropsis oculata* yang Dikultur Dengan Suhu yang Berbeda," *Bul. Oseanografi Mar. Januari*, vol. 1, pp. 25–33, 2013.

[16] Yarti, M. Muhaemin, and S. Hudaidah, "Pengaruh Salinitas Dan Nitrogen Terhadap Kandungan Protein Total *Nannochloropsis* sp.," *J. Rekayasa Dan Teknol. Budid. Perair.*, vol. 2, no. 2, pp. 273–278, 2014.

[17] S. Arifah, B. S. Rahardja, and E.D. Masithah, "Studi Kemampuan *Nannochloropsis* sp. Dan *Chlorella* sp. Sebagai

- Agen Bioremediasi Logam Berat Merkuri (Hg) Dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Plankton,” *J. Mar. Coast. Sci.*, vol. 6, no. 3, pp. 137–147, 2017.
- [18] W. S. Agustin, M. Afriastini, and M. Yoana, “Potential of Fatty Acid from Microalgae *Nannochloropsis* sp as Antioxidant and Antibacterial,” Institut Sains Teknologi Nasional, 2012.
- [19] Widayat and Hadiyanto, “Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu Untuk Produksi Biomassa Mikroalga *Nannochloropsis* sp Sebagai Bahan Baku Biodiesel,” *J. Reakt.*, vol. 15, no. 4, pp. 253–260, 2015.
- [20] V. T. Duong, Y. Li, E. Nowak, and M. Scienk, “Microalgae Isolation and Selection for Prospective Biodiesel Production,” *Energies*, vol. 5, pp. 1835–1849, 2012.
- [21] L. Panggabean, Sutomo, N. Radini, and Afdal, “Mikroalga Laut Sebagai Produsen Biodiesel,” 2010.
- [22] E. Safitri, R. Diantari, and M. Muhaemin, “Kandungan Lemak Total *Nannochloropsis* sp Pada Fotoperiode Yang Berbeda,” *J. Rekayasa dan Teknol. Budid. Perair.*, vol. 1, no. 2, pp. 127–134, 2013.
- [23] H. Suryanto, Sukarni, and Yanuhar, “Studi Eksplorasi Potensi Mikroalga Laut Sebagai Sumber Energi Terbarukan,” in *Seminar Nasional Teknik Mesin IV*, 2009.
- [24] Ru’yatin, S. R. Immy, and L. Ali, “Pertumbuhan Tetraselmi dan *Nannochloropsis* pada Skala Laboratorium,” in *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 2015, pp. 296–299.
- [25] P. Perumal, B. B. Prasath, P. Santhanam, S. Ananth, A. S. Devi, and S.D. Kumar, “Isolation and Culture of Microalgae : Workshop on Advances in Aquaculture Technology,” Tamil Nadu, 2012.
- [26] M. Muhaemin, F. Practica, D. S. Rosi, and A. Tri, “Starvasi Nitrogen dan Pengaruhnya Terhadap Biomassa dan Protein Total *Nannochloropsis* sp,” *J. Maspri*, vol. 6, no. 2, pp. 98–103, 2014.
- [27] A. Alqadi, S. M. Taib, M. F. Din, and H. Kamyab, “Effect Of Photoperiod On The Growth of *Chlamydomonas Incerta* And Pollutant Removal,” *Malaysian J. Civ. Eng.*, vol. 29, no. 1, pp. 69–78, 2017.