

PENGARUH INTENSITAS CAHAYA TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN KAROTENOID *Dunaliella* sp. PADA MEDIA EKSTRAK DAUN LAMTORO *Leucaena leucocephala*

DONI PUTRA PRADANA, BERTA PUTRI, SITI HUDAIDAH

Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

ABSTRACT

Dunaliella sp. is a green microalga commonly used as a live feed in the hatchery, especially in marine aquaculture. This microalga is capable of producing carotenoids and accumulate a significant amount of β -carotene under stressful conditions, for example, high light intensity during the culture process. The objective of this study was to determine the effect of light intensity on the growth of *Dunaliella* sp. culture and its carotenoid content. The *Dunaliella* sp. was cultivated for eight days at the Aquaculture Laboratory, Department of Fisheries and Marine Science, Faculty of Agriculture, University of Lampung. The study used a completely randomized design with three different light intensity as treatment, i.e., (A) 2500 lux, (B) 3500 lux, and (C) 4500 lux. All treatments were given three replicates, and the position of culture bottles was randomized with the assumption that all sample units received the equal amount of light intensity. The results showed the *Dunaliella* sp. culture illuminated with light intensity higher than 2500 lux have higher carotenoid content.

KEY WORDS: *Dunaliella* sp., light intensity, carotenoid, cell density

Corresponding author: Doni Putra Pradana | email: putrapradanadoni@gmail.com

Dikirim: 23-10-2017 | Diterima: 03-12-2017

PENDAHULUAN

Dunaliella sp. merupakan salah satu jenis mikroalga yang biasa dimanfaatkan sebagai pakan alami, karena mudah dicerna (Kurniastuty & Julinasari, 1995 dalam Tjokorde *et al.*, 2013). Kandungan nutrisi *Dunaliella* sp. yang ditunjukkan pada bahan kering adalah protein (57%), karbohidrat (32%) dan lemak (6%) (Becker, 2004). *Dunaliella* sp. merupakan mikroalga hijau yang dapat mengakumulasi β -karoten alami dalam jumlah sangat tinggi pada beberapa kondisi stres lingkungan seperti keterbatasan nitrogen, konsentrasi garam tinggi, dan terkena intensitas cahaya tinggi (El Baz *et al.*, 2002 dalam de Fretes *et al.*, 2012). Hasil penelitian Hasanudin (2012) pada *Scenedesmus* sp. yang dibudidayakan pada limbah cair tapioka dengan pemberian intensitas cahaya yang berbeda menunjukkan bahwa pemberian intensitas cahaya yang semakin tinggi, menunjukkan pola pertumbuhan *Scenedesmus* sp. semakin cepat dalam mencapai puncak pertumbuhan. Pertumbuhan yang cepat ini karena pemberian intensitas cahaya yang tinggi dapat menekan aktifitas fotosintesis *Scenedesmus* sp. sehingga mempercepat reproduksi selnya.

Daun lamtoro, *Leucaena leucocephala*, merupakan salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai media kultur mikroalga, karena memiliki kandungan nutrisi yang tinggi yaitu protein kasar 23,7%, serat kasar 18%, lemak kasar 5,8%, kalsium 1,4%, dan fosfor 0,21% (Hartadi *et al.*, 2005).

Penelitian Septiana (2016) tentang pertumbuhan dan kandungan karotenoid mikroalga *Dunaliella* sp. dalam media ekstrak daun lamtoro, *Leucaena leucocephala*, dengan konsentrasi ekstrak berbeda yaitu 4%, 8%, dan 12% dari total volume air yang digunakan didapatkan hasil kerapatan sel tertinggi terjadi pada konsentrasi 4%. Hasil penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa pertumbuhan *Dunaliella* sp. pada ekstrak daun lamtoro dengan konsentrasi 4%

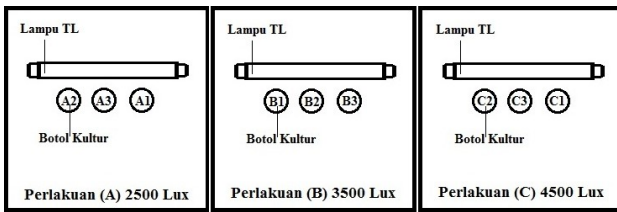
mendapatkan kepadatan kultur $59,25 \times 10^6$ sel/mL dengan kandungan karotenoid $0,9576 \mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka diperlukan suatu penelitian tentang kultur *Dunaliella* sp. pada media pertumbuhan diperkaya ekstrak daun lamtoro konsentrasi 4% dengan intensitas cahaya berbeda. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh intensitas cahaya yang berbeda terhadap pertumbuhan dan kandungan karotenoid *Dunaliella* sp. yang dikultur dengan media ekstrak daun lamtoro konsentrasi 4%.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Februari 2017 di Laboratorium Budidaya Perikanan, Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kultur berukuran 500 mL, gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, haemocytometer, gelas penutup, gelas objek, kain kasa, kain satin, plastik tahan panas, tisu, kapas, hand counter, cuvet, aluminium foil, termometer, timbangan digital, kertas pH, luxmeter, alat sentrifugasi, mikroskop binokuler, botol film, refraktometer, derigen, sarung tangan, lampu TL 10 dan 18 watt, autoklaf, kertas label, terminal listrik, alat tulis, blender dan instalasi aerasi. Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain air laut steril, ekstrak daun lamtoro, media *Walne*, alkohol 70%, etanol 96%, dietil eter, akuades dan starter *Dunaliella* sp.

Mikroalga uji yang digunakan dalam penelitian adalah mikroalga *Dunaliella* sp. yang didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Mikroalga *Dunaliella* sp. dikultur dalam Media *Walne* hingga mencapai kepadatan 10^6 sel/mL. Media kultur yang digunakan berupa 350 mL air laut steril dengan salinitas awal 28 ppt dan setiap perlakuan mengandung 14 mL media ekstrak daun lamtoro 4% (Septiana, 2016). Tata letak wadah penelitian yang digunakan disajikan pada Gambar 1.



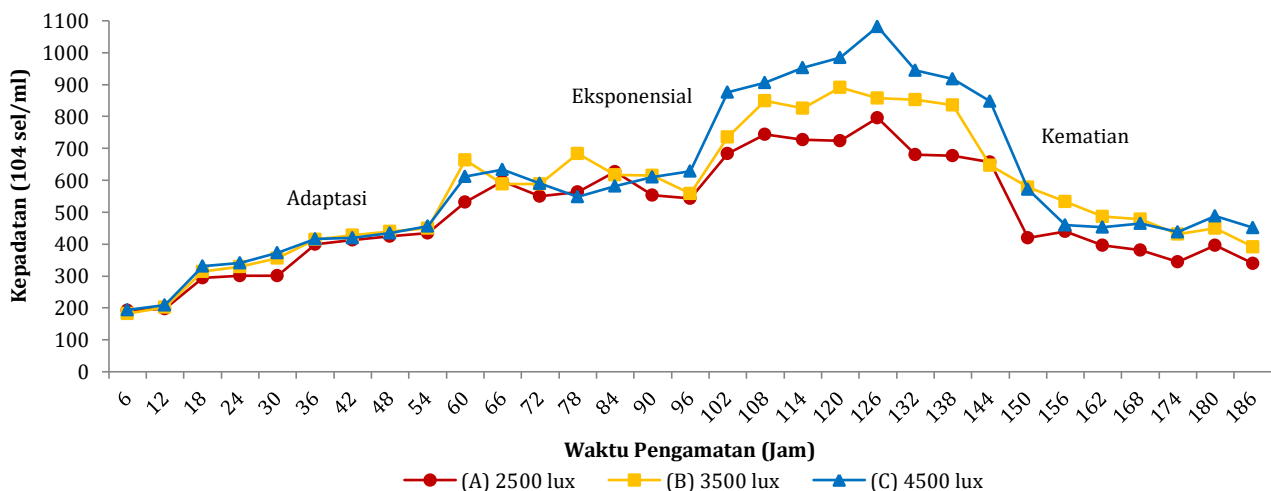
Gambar 1. Tata letak wadah penelitian

Tahapan pembuatan ekstrak daun lamtoro yang akan dijadikan sebagai media tumbuh mikroalga adalah; (1) daun lamtoro dipisahkan dari tangkainya kemudian dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih, (2) setelah bersih dan ditiriskan dari air, kemudian daun lamtoro ditimbang sebanyak 100 gram dan ditambahkan 500 mL akuades. Kemudian dihaluskan menggunakan *blender*. Setelah halus, kemudian disaring menggunakan kain satin, (3) hasil ekstrak daun lamtoro yang telah disaring kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit, setelah itu diendapkan selama 24 jam hingga terbentuk dua lapisan (*supernatan* dan *endapan*), dan (4) ekstrak daun lamtoro yang digunakan adalah bagian *supernatan*, dan digunakan sesuai dengan volume yang ditentukan yaitu 14 mL.

Kepadatan sel awal *Dunaliella* sp. dihitung menggunakan *Haemocytometer* dengan tiga kali ulangan. Tahapan perhitungan adalah (1) *haemocytometer* yang akan digunakan dibersihkan menggunakan alkohol 70% dan dikeringkan dengan menggunakan tisu, kemudian dipasang gelas penutup, (2) sebanyak 1 mL sel *Dunaliella* sp. diambil menggunakan mikropipet, kemudian diteteskan pada bagian parit melintang hingga penuh dan mikroalga tersebar merata. Selanjutnya kepadatan sel diamati dan dihitung menggunakan *hand counter*, (3) mikroalga *Dunaliella* sp. yang terdapat pada kotak bujur sangkar yang memiliki sisi 1 mm dihitung sebanyak 4 kotak menggunakan bantuan mikroskop dengan perbesaran 10 sebanyak 3 kali ulangan, (4) kepadatan sel dihitung menggunakan rumus:

$$N = \frac{A_1 + \dots + A_n}{4} \times \text{faktor pengencer} \times 10^n$$

Keterangan: N = Jumlah sel mikroalga yang terhitung (sel/mL), $A_1 - A_n$ = Jumlah sel mikroalga pada kotak ke-1 sampai ke-n, 4 = Jumlah kotak dalam pengamatan *Dunaliella* sp., Faktor Pengencer = Banyaknya pengenceran yang dilakukan, 10^n = Volume kerapatan sel kotak (*chamber*)



Gambar 2. Grafik pertumbuhan kultur *Dunaliella* sp.

(5) volume inokulum yang dibutuhkan untuk penebaran dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan: V_1 = Volume inokulum yang digunakan (mL), N_1 = Kepadatan inokulum *Dunaliella* sp. yang terhitung (sel/mL), V_2 = Volume media yang akan digunakan (mL), N_2 = Kepadatan inokulum *Dunaliella* sp. yang diinginkan (sel/mL) (Chien, 1992).

Pengukuran diameter sel *Dunaliella* sp. dilakukan setiap 6 jam, diukur menggunakan mikrometer objektif. Metode pengukuran diameter sel dilakukan dengan cara 1 mL sampel diteteskan pada mikrometer objektif dengan tingkat ketelitian 0,01 mm kemudian diamati dengan mikroskop pada perbesaran 40x sebanyak 3 kali ulangan, setelah itu hasil pengukuran diameter sel direratakan.

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):

$$\text{Konsentrasi karotenoid } (\mu\text{g/mL}) = 25,2 \times A450$$

Keterangan: 25.2 = nilai konstanta pengukuran karotenoid, A450 = serapan pada panjang gelombang 450 nm

Analisis data penelitian yaitu dengan 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. Data parameter lingkungan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

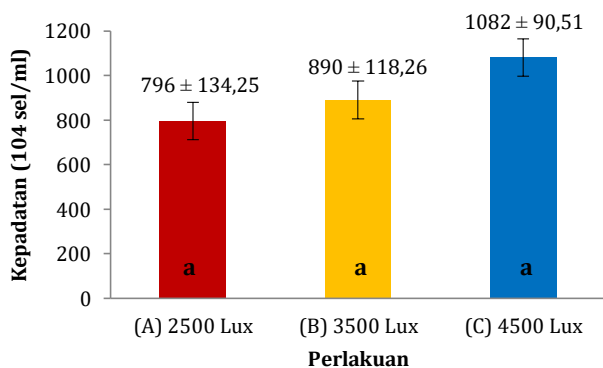
Pertumbuhan *Dunaliella* sp. diketahui melalui pengamatan kepadatan sel yang dilakukan setiap 6 jam sekali selama 186 jam waktu kultur. Pertumbuhan populasi *Dunaliella* sp. selama kultur disajikan pada Gambar 2.

Kepadatan awal sel yang digunakan selama penelitian adalah 10^6 sel/mL. Selama kultur terdapat beberapa fase yaitu fase adaptasi, fase eksponensial dan fase kematian. Fase adaptasi terjadi selama 96 jam (jam ke-0 hingga jam ke-96) pada semua perlakuan yang diberikan dengan kepadatan perlakuan (A) $5,4 \times 10^6$ sel/mL, perlakuan (B) $5,4 \times 10^6$ sel/mL dan perlakuan (C) $6,3 \times 10^6$ sel/mL (Gambar 2). Fase adaptasi pada kultur *Dunaliella* sp. terjadi karena adanya respon pemanfaatan nutrisi dan faktor lingkungan pada media serta perlakuan yang diberikan (Lavens & Sorgeloos, 1996).

Fase eksponensial yang terjadi pada perlakuan (A) terjadi selama 30 jam (jam ke-102 hingga jam ke-126), puncak tertinggi terjadi pada jam ke-126 dengan kepadatan sel $7,96 \times 10^6$ sel/mL, perlakuan (B) terjadi selama 42 jam (jam ke-102 hingga jam ke-138) dengan kepadatan sel $8,36 \times 10^6$ sel/mL tetapi puncak pertumbuhan tertinggi terjadi pada jam ke-120 dengan kepadatan sel $8,91 \times 10^6$ sel/mL. Pada perlakuan (C) terjadi selama 30 jam (jam ke-102 hingga jam ke-126) puncak tertinggi terjadi pada jam ke-126 dengan kepadatan sel $1,08 \times 10^7$ sel/mL (Gambar 2). Fase eksponensial merupakan fase yang diawali pada pembelahan sel dengan laju pertumbuhan yang terus menerus, laju pertumbuhan pada fase ini mencapai maksimal (Fogg & Thake, 1987).

Fase selanjutnya adalah fase kematian, fase tersebut ditandai dengan adanya penurunan laju pertumbuhan sel. Mikroalga *Dunaliella* sp. pada perlakuan (A) mengalami penurunan laju pertumbuhan sel pada jam ke-132, perlakuan (B) mengalami penurunan laju pertumbuhan sel pada jam ke-144 dan pada perlakuan (C) mengalami penurunan laju pertumbuhan sel pada jam ke-132. Menurut Lavens & Sorgeloos (1996), fase kematian terjadi akibat laju kematian lebih cepat dibandingkan dengan laju pertumbuhan sehingga terjadi penurunan jumlah sel pada saat kultur.

Kepadatan sel *Dunaliella* sp. diketahui melalui perhitungan jumlah sel yang dilakukan setiap 6 jam sekali selama 186 jam waktu kultur. Adapun jumlah kepadatan sel *Dunaliella* sp. pada penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.

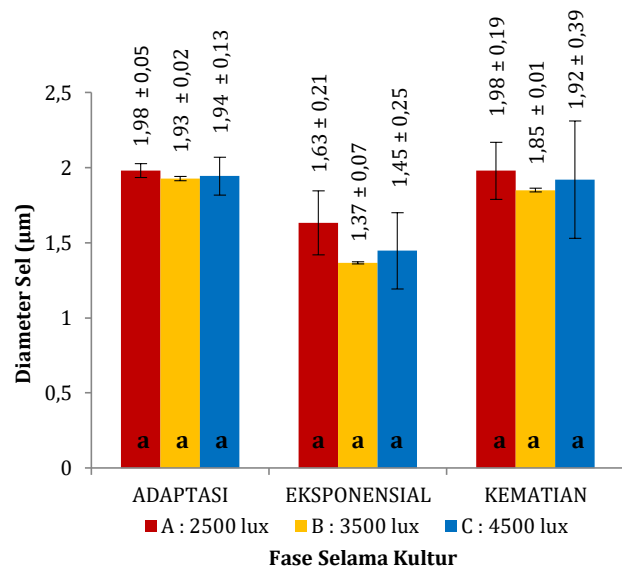


Gambar 3. Kepadatan sel *Dunaliella* sp. pada fase puncak. Keterangan: uruf yang sama pada histogram menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan pada tingkat kepercayaan 95%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kepadatan tertinggi *Dunaliella* sp. berbeda tiap perlakuannya. Perlakuan (A) dengan kepadatan $7,96 \times 10^6$ dan perlakuan (C) dengan kepadatan $1,08 \times 10^7$ sel/mL mengalami puncak kepadatan populasi pada jam ke-126 sedangkan perlakuan (B) dengan kepadatan $8,91 \times 10^6$ sel/mL mengalami puncak kepadatan populasi pada jam ke-120 (Gambar 1). Rerata kepadatan populasi *Dunaliella* sp. tertinggi terjadi pada perlakuan (C) kemudian perlakuan (B) diikuti perlakuan (A) (Gambar 3). Perbedaan kepadatan sel *Dunaliella* sp. antar perlakuan tersebut dikarenakan adanya perbedaan intensitas cahaya yang diterima oleh mikroalga *Dunaliella* sp.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kepadatan mikroalga *Dunaliella* sp. selama kultur menunjukkan tidak adanya pengaruh perlakuan intensitas cahaya pada media ekstrak daun lamtoro yang digunakan. Hasil uji statistik pada fase adaptasi dan fase kematian tidak adanya pengaruh, tetapi pada fase eksponensial menunjukkan adanya pengaruh perlakuan intensitas cahaya yang diberikan, hasil uji BNT ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa fase eksponensial selama kultur perlakuan (A), perlakuan (B) dan perlakuan (C) saling berbeda.

Pengukuran diameter sel *Dunaliella* sp. yang dikultur pada perlakuan (A), perlakuan (B) dan perlakuan (C) mengalami perbedaan yang tidak signifikan. Pengukuran diameter sel dilakukan pada fase adaptasi, fase eksponensial dan fase kematian. Ukuran rerata diameter sel *Dunaliella* sp. selama kultur disajikan (Gambar 4).



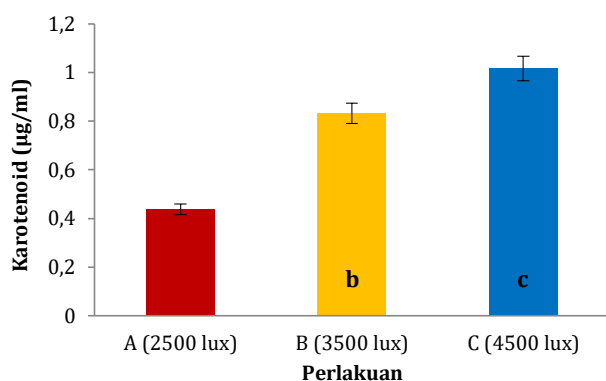
Gambar 4. Rerata diameter sel *Dunaliella* sp. selama kultur. Keterangan: Huruf yang sama pada histogram menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan pada tingkat kepercayaan 95%

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata diameter sel pada fase adaptasi yaitu perlakuan (A) sebesar 1,98 µm, perlakuan (B) sebesar 1,93 µm dan pada perlakuan (C) sebesar 1,93 µm. Kemudian pada fase eksponensial rata-rata diameter pada perlakuan (A) sebesar 1,63 µm, perlakuan (B) sebesar 1,37 µm dan perlakuan (C) sebesar 1,45 µm, dan pada fase

kematian rata-rata diameter pada perlakuan (A) sebesar 1,98 μm , perlakuan (B) sebesar 1,85 μm dan perlakuan (C) 1,92 μm (Gambar 4).

Diameter sel kepadatan tertinggi perlakuan (C) pada fase eksponensial sebesar 1,45 μm lebih besar dibandingkan dengan perlakuan (B) pada fase eksponensial sebesar 1,37 μm . Sedangkan perlakuan (A) pada ketiga fase memiliki diameter sel yang lebih besar dibandingkan perlakuan yang lain, hal ini diduga karena lebih lambat dalam pembelahan sel nya sehingga sel masih dapat tumbuh berkembang dengan diameter yang besar sebelum membelah. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Dayanto *et al.* (2013), dimana mikroalga *Nannochloropsis* sp. dengan kepadatan sel dan pembelahan sel yang lambat memiliki diameter sel yang lebih besar (2,76-3,46 mm) dibandingkan dengan mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang telah mengalami pembelahan sel dengan ukuran sel yang lebih kecil (1,26-2,43 mm). Hasil uji statistik menunjukkan bahwa rata-rata diameter sel *Dunaliella* sp. selama kultur menunjukkan tidak adanya pengaruh perlakuan intensitas cahaya yang diberikan pada media ekstrak daun lamtoro.

Karotenoid merupakan pigmen yang paling umum terdapat di alam dan disintesis oleh semua organisme fotosintetik dan fungi (Vilchez *et al.*, 2011). Hasil penelitian menunjukkan perlakuan tertinggi mengandung karotenoid yaitu perlakuan (C) dengan kandungan karotenoid sebesar 1,0164 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian perlakuan (B) dengan kandungan karotenoid 0,8332 $\mu\text{g/mL}$, diikuti perlakuan (A) dengan kandungan karotenoid 0,4368 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 5).



Gambar 5. Kandungan karotenoid *Dunaliella* sp. pada akhir kultur. Keterangan: Huruf yang sama pada histogram menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan pada tingkat kepercayaan 95%

Perbedaan kandungan karotenoid yang dihasilkan antar perlakuan karena adanya perbedaan kepadatan sel selama kultur (Agustini, 2010). Menurut Mendoza *et al.* (2008), pembentukan karotenoid pada mikroalga dipengaruhi oleh beberapa parameter antara lain kecepatan pembelahan sel, kepadatan sel, produksi biomassa, perbandingan jumlah klorofil dan ukuran sel.

Hasil uji statistika menunjukkan bahwa perlakuan intensitas cahaya yang diberikan pada mikroalga *Dunaliella* sp. yang dikultur pada media ekstrak daun lamtoro berpengaruh nyata terhadap kandungan karotenoid ($\alpha=0,05$). Hasil BNT ($p<0,05$) menunjukkan antar perlakuan berbeda nyata

Faktor lingkungan merupakan salah satu yang dapat mempengaruhi laju pertumbuhan mikroalga *Dunaliella* sp. selama kultur. Faktor lingkungan tersebut antara lain suhu, pH dan salinitas. Pada penelitian yang telah dilakukan, faktor lingkungan dihitung setiap satu kali sehari. Data pengukuran faktor lingkungan selama kultur mikroalga *Dunaliella* sp. disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Faktor lingkungan selama kultur mikroalga *Dunaliella* sp.

Parameter	Perlakuan			Optimum
	(A) 2500	(B) 3500	(C) 4500	
Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	25–26	26–28	29–30	26–30 ^a
Ph	6–7	6–7	6–7	5,5–9,5 ^b
Salinitas (ppt)	28–34	28–37	28–37	30–38 ^c

Sumber: a (Tafreshi & Shariati, 2009); b (Shabana *et al.*, 2016); c (Kusdarwati *et al.*, 2011)

KESIMPULAN

Intensitas cahaya yang berbeda tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga *Dunaliella* sp., sedangkan intensitas cahaya lebih dari 2500 lux berpengaruh terhadap kandungan karotenoid pada mikroalga *Dunaliella* sp.

DAFTAR REFERENSI

- Agustini NW. 2010. Kandungan pigmen dan asam lemak *Dunaliella salina* pada berbagai penambahan sumber karbon. Seminar Nasional Biologi XI Pendidikan Biologi FKIP UNS. p. 1024-1050.
- Becker EW. 2004. Microalgae for aquaculture. The nutritional value of microalgae for aquaculture. In A. Richmond, Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology (pp. 380-391). Oxford: Blackwell Publishing Ltd.
- Chien YH. 1992. Water quality requirement and management for marine shrimp culture. Water Quality Management. p. 144-151.
- Dayanto LB, Diantari R, Hudaidah S. 2013. Pemanfaatan pupuk cair TNF untuk budidaya *Nannochloropsis* sp. Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan. 2(1): 163-168.
- El-Baz FK, Aboul-Enein MA, El-Baroly GS, Youssef AM, Abd El-Baky HH. 2002. Accumulation of antioxidant vitamins in *Dunaliella salina*. Journal Biology Science. In: de Fretes H, Susanto AB, Prasetyo B, Limantara L. 2006. Karotenoid dari makroalga dan mikroalga: potensi kesehatan aplikasi dan bioteknologi. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 13 (2).
- Fogg GE, Thake B. 1987. Algal cultures and phytoplankton ecology. Univ of Wisconsin Press; 1987.
- Hartadi HS, Reksahadiprojo, Tilman AD. 2005. Tabel komposisi pakan untuk Indonesia. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Hasanudin M. 2012. Pengaruh perbedaan intensitas cahaya terhadap pertumbuhan dan kadar lipid mikroalga *Scenedesmus* sp. yang dibudidayakan pada limbah cair tapioka. [Skripsi]. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kurniastuty, Julinasari. 1995. Pertumbuhan alga *Dunaliella* sp. pada media kultur yang berbeda dalam skala masal (semi out door). Buletin Budidaya Laut pp. 11-67. Dalam Tjokorde, AS, Boedi SR, Dewi EM. 2013. Pengaruh konsentrasi pupuk lemmaminor terhadap populasi *Dunaliella* sp. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan. 5 (1).

- Kusdarwati, R., Mustofa, A., & Rahardja, B. S. 2011. Pengaruh penambahan vitamin B12 pada media blotong kering terhadap pertumbuhan populasi *Dunaliella salina*. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan. 3 (1): 73-77.
- Lavens P, Sorgeloos P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. p. 7-48.
- Mendoza H, Jara AD, Freijanes K, Carmona L, Ramos AA, Duarte VD. 2008. Characterization of *Dunaliella salina* strains by flow cytometry: a new approach to select carotenoid hyperproducing strains. Electronic Journal of Biotechnology. 11(4): 3-13.
- Septiana I. 2016. Pertumbuhan dan kandungan karotenoid mikroalga *Dunaliella* sp. dalam media ekstrak daun lamtoro. [skripsi]. Bandar Lampung: Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- Shabana EF, Snousy HH, Mohammad HY. 2016. Effect of some abiotic factors on growth, glycerol and B-carotene accumulation by *Dunaliella bardawil*. Egypt Journal. 56(3): 559-571.
- Shaish A, Ben-Amotz A, Avron M. 1992. Biosynthesis of B-carotene in *Dunaliella*. 439-444. Dalam Prieto A, Canavatea J P, Garzia-Gonzalez M. 2011. Assesment of carotenoid production by *Dunaliella salina* in different culture systems and its constituents. Bioresource Technology. 560-564.
- Tafreshi AH, Shariati. 2009. *Dunaliella* biotechnology: Methods and Applications. Journal of Applied Microbiology. 107(1): 14-35.
- Vilchez C, Forjan E, Cuaresma M, Bedmar F, Garbayo I, Vega JM. 2011. Marine carotenoids: Biological function and commercial applications. 9: 319-333.