

Kultur Skala Semi masal isolat *Nannochloropsis* sp dari Perairan Ekosistem Lampung Mangrove Center Sebagai Sebagai Pakan Hidup

Tugiyono¹, Agus Setiawan², Emy Rusyani³, Erlin¹

1. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung

2. Jurusan Managemen Hutan Fakultas Pertanian Universitas Lampung

3. Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung

ABSTRAK

Ketersediaan pakan hidup merupakan peranan penting dalam budidaya perairan, *Nannochloropsis* sp merupakan mikro algae yang dapat digunakan sebagai pakan hidup untuk budidaya larva udang, ikan, dan kerang. Kultur *nannochloropsis*, yang diisolasi dari perairan lokal dengan menggunakan pupuk pertanian sebagai gantinya pupuk pro analisis (Conwy). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kepadatan(sel/L), laju pertumbuhan, waktu generasi isolat *Nannochloropsis* sp dari perairan Lampung Mangrove Center, yang dikutur secara intermediate dan kultur dilakukan secara intermediate dengan volume kultur 100 L. Penelitian ini dirancangan secara acak lengkap, dengan perlakuan kombinasi pupuk pertanian (A: Urea 40 ppm, ZA 20 ppm, TSP 5 ppm, B: Urea 40 ppm, ZA 20 ppm, TSP 10 ppm, C: Urea 40 ppm, ZA 20 ppm, TSP 15 ppm, D: Urea 40 ppm, ZA 20 ppm, TSP 20 ppm dan E : Conwy dan vitamin B12 dosis 1 ppm (kontrol), dengan 4 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi pupuk pertanian perlakuan A, menghasilkan laju kepadatan sel dan laju pertumbuhan sepesifik tertinggi secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Disamping itu perlakuan A juga menunjukkan waktu generasi tercepat secara signifikan ($p<0,05$) dibandingkan perlakuan B, D dan E, namun tidak berbeda signifikan dengan perlakuan C ($p= 0,065$). Kepadatan populasi tertinggi pada kultur menggunakan kombinasi pupuk pertanian dicapai pada hari ke 5, sedang kultur menggunakan pupuk Conwy dicapai pada hari ke 6. Prosentasi protein tertinggi di dapat pada perlakuan A, dan sebaliknya prosentasi karbohidrat dan lemak terendah. Penelitian ini disimpulkan bahwa kombinasi pupuk pertanian Urea 40 ppm, ZA 20 ppm, TSP 5 ppm merupakan yang paling baik digunakan dalam kultur *Nannochloropsis* sp sekala semimasal.

Kata kunci: *Nannochloropsis* sp, kultur sekala semimasal, pupuk pertanian, Lampung Mangrove Center.

PENDAHULUAN

Ketersedian pakan alami (fitoplankton dan zooplankton) dalam kondisi normal pada ekosistem perairan alam tersedia secara cukup bahkan melimpah yang dapat dimanfaatkan oleh setiap trofik level secara efisien, terutama ikan yang menempati top trofik level. Permasalahan akan kebutuhan pakan alami biasanya baru muncul pada saat organisme berada dalam lingkungan budidaya. Mikroalga berperan penting dalam akuakultur, hal ini dikarenakan mikroalga awal dari rantai makanan (Lubián, 1982).

Mikroalga memiliki kemampuan tumbuh dengan cepat dan mensintesis dalam jumlah besar Makromolekul (misalnya: Karbohidrat, protein, dan lipid) dan bahan kimia (misalnya carotenoids, phycobilins, polyunsaturated fatty acids, and water-soluble polysaccharides). Kultur massa mikroalga pada Skala komersial dimulai sekitar lima puluh tahun yang lalu dan biomassa mikroalga dan produk turunan telah digunakan terutama sebagai makanan fungsional, nutraceuticals (Astaxanthin, Betacarotene, Poly unsaturated), dan pakan ternak tambahan, terutama untuk akuakultur (sumber protein and mineral) (Qiang Hu, 2014; Sivakumar and Rajendran, 2013)

Mikroalga diharapkan memainkan peran yang sangat penting dalam akuakultur karena dapat digunakan secara langsung sebagai pakan hidup untuk larva moluska dan krustasea atau secara tidak langsung sebagai pakan untuk spesies zooplankton, seperti rotifer Brachiomus plicatilis dan nauplii Artemia (Barclay dan Zeller, 1996). Mikroalga (fitoplankton) harus memenuhi berbagai kriteria agar bisa digunakan dalam akuakultur, seperti mudah dibudidaya , tidak bersifat toksisitas, nilai gizi tinggi sesuai dengan ukuran sel, dan dinding sel yang mudah dicerna untuk mendapatkan nutrisi tersedia (Hemaiswarya et al., 2010).

Beberapa strain mikroalga yang biasanya digunakan dalam akuakultur, tergantung pada kebutuhan gizi. Spesies Yang paling umumnya adalah *Nannochloropsis*, *Isochrysis*, *Scenedesmus*, *Dunaliella*, *Spirulina Phaeodactylum*, *Pavlova*, *Tetraselmis*, *Skeletonema*,

Chlorella dan *Thalassiosira* (Pulz and Gross, 2004). *Nannochloropsis* sp lebih dikenal dengan nama chlorella laut dikultur skala semi-massal atau massal untuk pakan zooplankton seperti *Barchionus plicatilis* atau Rotifer, atau untuk pakan langsung larva kerang atau teripang (Tawfiq, et al, 1999; Lubian et al.,2000).

Dalam usaha budidaya perikanan khusus pemberian ikan, kerang,teripang dan budi daya laut lainnya, teknik kultur mikroalga (fitoplankton dan zooplankton) merupakan aspek yang harus dikuasai untuk mendukung tersedianya stok pakan alami secara kontinyu. Teknik kultur plankton secara umum terdiri dari tiga tahapan, yaitu skala laboratorium, skala semi massal dan skala massal atau daerah terbuka (Borowitzka, 2005).

Nannochloropsis merupakan mikroalga laut yang mempunyai nilai nutrisi yang tinggi, yang digunakan secara luas sebagai makanan bagi industri hatchery aquakulture seperti larva dan juvenile bivalvia, rotifera dan larva ikan (Lubián, 1982; Tawfiq, et al, 1999). Bubuk mikroalga telah digunakan sebagai pakan pengganti untuk aquafeeds, contohnya *Nannochloropsis* sp telah digunakan untuk memperkaya aquafeed untuk *Octopus vulgaris* paralarvae (Fuentes et al., 2011). Hal yang sama ditunjukkan oleh tingkat kehidupan (survival) yang tinggi dari larvae *Sparus aurata* yang diberi pakan dengan makanan biomasa microalga dibandingkan dengan diberi pakan biasa (Robin dan Vincent, 2003).

Nannochloropsis sp mempunyai sifat mudah dikultur secara semimasal atau masal dan tidak menimbulkan racun dan kerusakan ekosistem di bak pemeliharaan larva, serta pertumbuhan relatif cepat dan memiliki kandungan antibiotik (Fulks dan Main, 1991). Pada kultur skala semi masal atau massal penggunaan pupuk proanalisis (Conway) menyebabkan biaya yang sangat tinggi, sehingga penggunaan berbagai macam pupuk pertanian digunakan sumber dari nitrogen, phosphat, dan micronutrient sebagai cara alternatif untuk mengurangi biaya dalam memproduksi mikroalga (Lam dan Lee, 2012). Penggunaan limbah perkotaan digunakan untuk kultur microalga *Oedogonium* sp dan sangat potensial dalam memproduksi biocrude (Neveux, 2016).

Penelitian ini bertujuan penggunaan kombinasi pupuk pertanian untuk kultur *Nannochloropsis* sp pada skala semi masal, sebagai upaya mencari kombinasi dosis pupuk pertanian yang tepat untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan konsentrasi pupuk pertanian dan digunakan pupuk Conway Teknis sebagai kontrol, masing-masing diulang 4 kali. Konsentrasi pupuk masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi pupuk yang digunakan dalam penelitian

Perlakuan	Konsentrasi Pupuk Pertanian (ppm)			Pupuk Conway Teknis sebagai kontrol (mL)
	Urea (Daefi, 2016)	Za*	TSP	
A	40	20	5	-
B	40	20	10	-
C	40	20	15	-
D	40	20	20	-
E (Kontrol)	-	-	-	80

Keterangan:

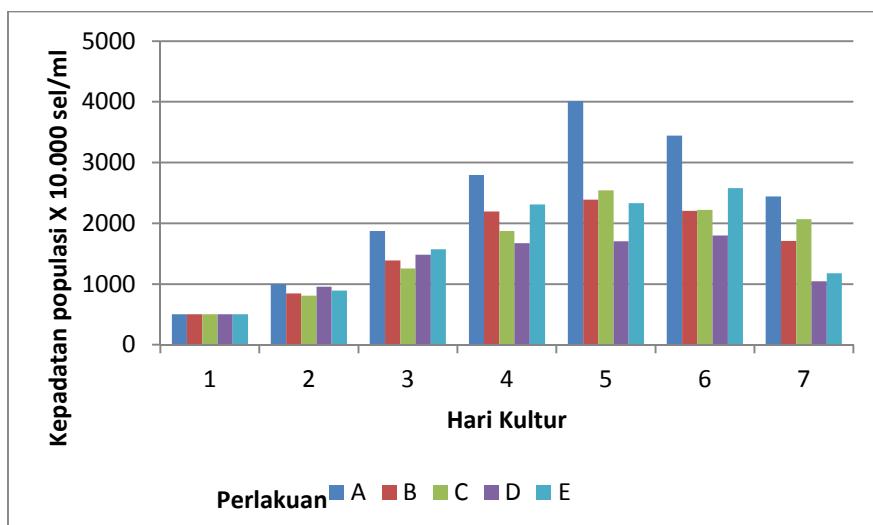
*: Balai Besar Budidaya Perikanan Laut, 2015.

Inokulum *Nannochloropsis* sp. didapatkan hasil isolasi dari perairan *Lampung Mangrove Centre* (Daefi,2016), kemudian diperbanyak secara skala laboratorium untuk mendapat stock inokulum *Nannochloropsis* sp. untuk kultur skala intermediate. Pada kultur skala intermediate menggunakan kepadatan awal inokulum *Nannochloropsis* sp 500×10^4 sel/mL dengan volume kultur 80 L yang ditempatkan pada aquarium bervolume 100 L (Balai Besar Budidaya Perikanan Laut, 2015; Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017). Setiap inokulum *Nannochloropsis* sp diberi perlakuan A, B, C, D, dan E, setiap perlakuan diulangan sebanyak 4 X dan kultur dilaksanakan selama 7 hari. Pengamatan dalam penelitian ini meliputi: pertumbuhan *Nannochloropsis* sp dengan menghitung kepadatan populasi (Fatuchri (1985), laju pertumbuhan (Campos et al., 2014), waktu generasi (doubling time) (Pelezar et al., 1986), analisis proksimat mengetahui kandungan gizi

(karbohidrat, protein dan lemak) (Ranggana, 1979) dan analisis kualitas air meliputi (DO, pH, temperatur, salinitas, nitrat, nitrit, amoniak, dan phospat.) dilakukan pada awal dan akhir kultur. Perbedaan dari setiap perlakuan dianalisis menggunakan *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0.05$ dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (Zar,1996).

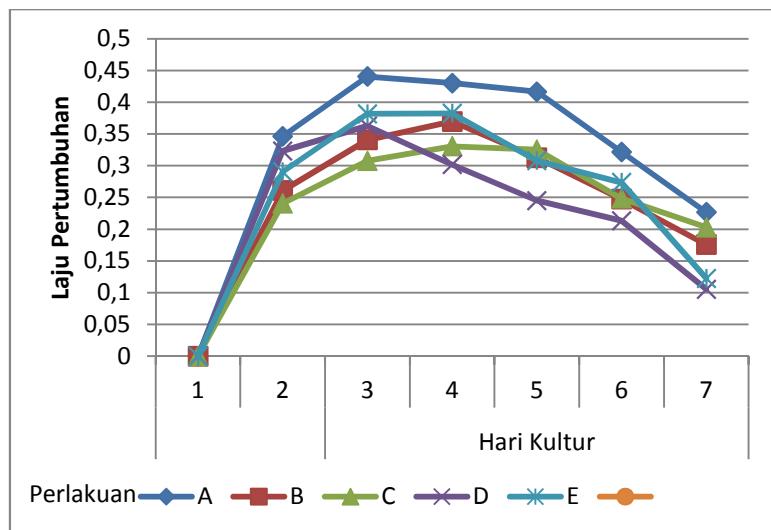
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Puncak pertumbuhan populasi *Nannochloropsis sp* terjadi pada hari ke-lima, dan perlakuan A dengan kepadatan tertinggi secara signifikan ($p< 0,005$) dibandingkan dengan perlakuan lain dengan kepadatan $4011,5 \times 10^4$ sel/mL (gambar 1).



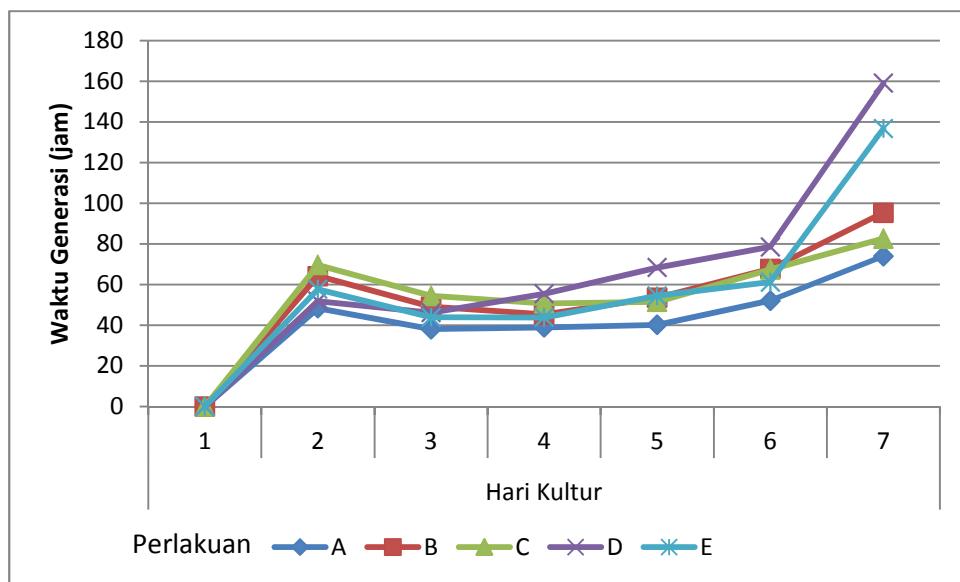
Gambar 1. Kepadatan populasi *Nannochloropsis sp.*

Laju pertumbuhan sepesifik pada semua perlakuan menunjukkan pada hari ke-3 laju pertumbuhan mulai menurun dan pada hari ke 4 dan hari ke-5 merupakan fase stasioner dan fase kematian pada hari ke-6. Perlakuan A menunjukkan laju pertumbuhan spesifik tercepat secara signifikan ($p<0,050$) dibandingkan perlakuan lainnya (Gambar 2.)



Gambar 2. Laju pertumbuhan spesifik *Nannochloropsis* sp.

Waktu generasi tercepat terjadi pada hari ke -3 sampai dengan hari ke -4 dan mulai melambat pada hari ke-5, dan perlakuan A memperlihatkan waktu generasi (doubling time) tercepat secara signifikan ($p<0,050$) terhadap perlakuan B,D dan E,namun tidak berbeda secara signifikan dengan perlakuan C ($p=0,065$) (Gambar 3).



Gambar 3. Laju waktu generasi *Nannochloropsis* sp.

PEMBAHASAN

Microalga memerlukan major dan micro nutrien untuk pertumbuhan. Nutrien major yang utama adalah Carbon, Nitrogen, Phosphor dan Potassium. Sodium bicarbonate atau carbon dioksida merupakan sumber carbon dan komersial NPK sebagai sumber NPK. Disamping itu untuk pertumbuhan microalga juga memerlukan sinar matahari yang cukup, temperatur yang cocok dan kombinasi NPK yang optimal (Sivakumar and Rajendran, 2013)

Parameter terpenting yang mempengaruhi pertumbuhan alga, aktivitas physiologi, dan komposisi biokimia meliputi jumlah dan kualitas nutrien, cahaya, pH, turbulensi, salinitas dan temperatur, beberapa parameter saling tergantungan dan satu parameter dalam suatu kondisi tertentu merupakan faktor penentu sedangkan yang lain kurang dibutuhkan. Pengkayaan media telah digunakan dalam pertumbuhan sebagian besar alga seperti media Walne, Guillard dan Conway (Renaud and Parry, 1994; Coêlho et al., 2013). Tahapan pertumbuhan dan manipulasi kondisi fisika dan kimia pada kultur menghasilkan perbedaan komposisi sel seperti variasi kandungan protein, lemak, karbohidrat dan komponen sel lain (Lourenco, 2006). Ekosistem perairan mempunyai variasi sangat besar secara alami untuk unsur carbon (C), nitrogen (N) dan phosphor (P), yang komposisinya diperkaya oleh aktivitas manusia, dan produktivitas primer merupakan ciri dari reaksi rasio dari sumber unsur tersebut (GOLZ, et al., 2014). Alga mempunyai kemampuan penggunaan CO₂ sebagai sumber karbon dalam proses photosynthesis yang sangat melimpah pada perairan laut (Sirin, et al. , 2013; Karemire et al., 2013; Dineshkumar et al., 2015)

Variasi stoichiometric komposisi C:N:P berpengaruh terhadap kesediaan ratio nutrisi C terhadap produksen utama sperti phytoplankton (Persson et al., 2010). Pertumbuhan produksen utama *Nannochloropsis* sp memperlihat perbedaan signifikan dalam ketergantungan komposisi elemennya dalam suplai nutrien di media cultur (Golz et al., 2014). C merupakan elemen yang penting organik macromolekul (carbohydrate, protein, and lipid), N dan P merupakan komponen penting makromolekul spesifik. P komponen penting dalam pembentukan blok RNA, phopholipids dan DNA, sedangkan N merupakan unsur penting dalam pembentukan protein (amino acids) dan asam nukleat/nucleic acids (Anderson, 2008). Silika digunakan secara khusus untuk pertumbuhan diatoma yang digunakan dalam pembentukan cangkang ekternal (Hu, 2014; Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017).

Penggunaan pupuk pertanian dalam kultur alga pada out door kolam merupakan usaha untuk menekan biaya produksi alga jika dibandingkan menggunakan laboratory-grade reagents (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017). Konsentrasi nitrogen dan phospor dalam media kultur harus dioptimalisasi, karena nitrogen dan phosphos merupakan nutrien kunci dalam pertumbuhan microalga (Lin and Lin, 2011). Kombinasi pupuk pertanian yang berbeda digunakan sebagai sumber nitrogen, phosphor dan mikronutrien sebagai alternatif yang potensial untuk mengurangi biaya produksi microalga *Nannochloropsis* sp (Lubián, 1982). Beberapa studi telah dilakukan untuk optimalisasi komposisi media cultur untuk produksi biomassa dan kandungan produk yang menarik untuk ditingkatkan pada *Nannochloropsis* (Breuer et al., 2012; Griffiths et al., 2012).

Nannochloropsis sp. memperlihatkan penurunan yang jelas dalam pertumbuhan, kandungan chlorophyll a, berat kering, dikarenakan diperlihara dalam kondisi nitrogen yang terbatas dan kondisi yang starvasi nitrogen, demikian juga seperti *Nannochloropsis* sp dikultur dalam kondisi perlakuan 12:12 jam terang: gelap (Alsull and Omar, 2012). *Nannochloropsis* sp dapat tumbuh pada air tanah payau bahkan pada salinitas 2 ppt, serta dapat digunakan air limbah perkotaan sebagai sumber nutrien tunggal dalam kultur *Nannochloropsis* sp, dan *Nannochloropsis* mempunyai nilai ekonomi karena kemampuannya menghasilkan jumlah lemak yang tinggi yang dapat digunakan untuk produksi biodiesel atau keperluan lain sebagai pakan binatang dan aquaculture, makanan manusia, biochemicals and pharmaceuticals (Carlsson, 2007; de Sousa, et al., 2014).

KESIMPULAN

Kepadatan sel *Nannochloropsis* sp dari isolat perairan Lampung Mangrove Center pada kultur skala intermidiate tertinggi dicapai pada hari ke-5 dan kombinasi pupuk pertanian urea 40 ppm, Za 20 ppm dan TSP 5 ppm merupakan yang terbaik untuk kultur *Nannochloropsis* sp pada kultur skala intermidiate.

UCAPKAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Kementerian Riset, Teknologi dan Perguruan Tinggi untuk penyediaan dana penelitian melalui skema hibah Penelitian

Produk Terapan tahun anggaran 2017. Peneliti juga mengucapkan Pimpinan Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung, yang telah menizinkan untuk melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, T. R., Hessen, D. O., Elser, J. J. et al. (2005) Metabolic stoichiometry and the fate of excess carbon and nutrients in consumers. Am.Nat., 165, 1–15.
- Alsull, M., and Omar, W.M.W. 2012. Responses of *Tetraselmis* sp. and *Nannochloropsis* sp. Isolated from Penang National Park Coastal Waters, Malaysia, to the Combined Influences of Salinity, Light and Nitrogen Limitation. International Conference on Chemical, Ecology and Environmental Sciences (ICEES'2012) march 17-18, 2012 Bangkok. 142-145.
- Barclay, W., Zeller, S. 1996. Nutritional enhancement of n-3 and n-6 fatty acids in rotifers and *Artemia nauplii* by feeding spray-dried *Schizochytrium* sp. J. World Aquacult. Soc. 27 (3), 314 – 322 University Press. New York.
- Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J., 1988. Microalgae Biotechnology. Cambridge.
- Breuer, G., Lamers, P. P., Martens, D. E., Draisma, R. B., Wijffels, R. H. 2012. The impact of nitrogen starvation on the dynamics of triacylglycerol accumulation in nine microalgae strains. Bioresource Technol. 124, 217 – 226.
- Carlsson, A, S 2007 Micro-and Macro-Algae: Utility For Industrial Applications, Outputs from the EPOBIO project September (2007)
- Daefi, T., Tugiyono, Rusyani E., Murwani S., 2017. The Growth and Nutritrion Content of *Nannochloropsis* sp Isolated From Lampung Mangrove Center By Giving Different Doses of Urea on Laboratory Scale Culture. Jurnal Biologi dan Keanekaragaman Hayati 4 (1): 39-46.
- Dineshkumar, R., Dhanarajan, G., Dash, S.K., Sen, R. 2015. An advanced hybrid medium optimization strategy for the enhanced productivity of lutein in *Chlorella minutissima*, Algal Research. 7: 24–32.
- de Sousa Louise Lins, Dominique Silveira da Hora; Emerson Andrade Sales; Louisa Wessels Perelo,2014. Cultivation of *Nannochloropsis* sp. in brackish groundwater supplemented with municipal wastewater as a nutrient source. Braz. arch. Biotechnol. vol.57 no.2 Curitiba Mar./Apr. 2014
- Fuentes, L., Sánchez, F. J., Lago, M. J., Iglesias, J., Pazos, G., Linares, F. 2011. Growth and survival of *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) paralarvae fed on three *Artemia*-based diets complemented with frozen fish flakes, crushed zooplankton and marine microalgae. Sci. Mar. 75 (4), 771 – 777.

Fatuchri, M. 1985, Budidaya Rotifera (*Brachionus plicatilis* O.F. Muller) Proyek Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut, 192:9-16

Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017

Fulk and Main. 1991. Rotifer and Microalgae Culture System. Proceeding of a U.S. – Asia Workshop. Honolulu. Hawai.

Golz Anna-Lea, Alfred Burian And Monikawinder, 2015
J. Plankton Res.37(2): 293–305. First published online January 8, 2015
doi:10.1093/plankt/fbu109

Griffiths, M. J., Van Hille, R. P., Harrison, S. T. L. 2012. Lipid productivity, settling potential and fatty acid profile of 11 microalgal species grown under nitrogen replete and limited conditions. *J. Appl. Phycol.* 24, 989 – 1001.

Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravi Kumar, R., Ganesan, V., Anbazhagan, C. 2011.
Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1737 – 1746.

Hu,Qiang, 2014. Progress and perspectives on microalgal mass culture, *Algal Research* 4:1-45

Karemore, R.Pal, R. Sen, 2013. Strategic enhancement of algal biomass and lipid in *Chlorococcum infusionum* as bioenergy feedstock. *Algal Research*. 2: 113–121.

Lam, M. K., Lee, K. T. 2012. Potential of using organic fertilizer to cultivate *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Appl. Energ.* 94, 303 – 308.

Lin, Q., Lin, J. 2011. Effects of nitrogen source and concentration on biomass and oil production of a *Scenedesmus rubescens* like microalga. *Bioresource Technol.* 102, 1615 – 1621.

Lourenço, S. O. Barbarino, E., Mancini-Filho, J., Schinke, K. P., Aidar, E. 2002. Effects of different nitrogen sources on the growth and biochemical profile of 10 marine microalgae in batch culture: an evaluation for aquaculture. *Phycologia*. 41 (2), 158 – 168.

Lubián, L. M. 1982. *Nannochloropsis gaditana* sp. Nov., a new marine Eustigmatophyceae, Cadiz Bay. *Lazaroa*. 4, 278 – 293

Lubian, L. M.. 2000. *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae) as source of commercially valuable pigments. *Journal of Applied Phycology* 12: 249–255.

Neveux, N., Magnussona, M., Mata,L., Whelan,A., de Nys,R., Paul, N.A., 2016. The treatment of municipal wastewater by the macroalga *Oedogonium*

sp. and its potential for the production of biocrude. Algal Research 13:284–292) Algal Research 13 (2016) 284–292

Persson, J., Fink, P., Goto, A. et al. (2010) To be or not to be what you eat: regulation of stoichiometric homeostasis among autotrophs and heterotrophs. Oikos, 119, 741–751.

Pulz, O., Gross, W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae.

Renaud S, Parry D (1994) Microalgae for use in tropical aquaculture, effect of salinity on growth, gross chemical-composition and fatty-acid composition of 3 species of marine microalgae. J Appl Phycol 6:347–356

Rocha, J.M.S., Garcia, J. E.C., Henriques, M.H.F., 2003. Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. Biomolecular Engineering 20: 237-242.

Rusyani, E., Sapta, A.I.M., Firdaus, M., 2007. Budidaya Phytoplankton dan Zooplankton Skala Laboratorium. Seri Budidaya Laut No. 9 Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut. Departemen Kelautan dan Perikanan.

- Appl. Microbiol. Biotechnol. 65, 635 – 648.
- Robin, J. H., Vincent, B. 2003. Microparticulate diets as first food for gilthead sea bream larva (*Sparus aurata*): study of fatty acid incorporation. Aquaculture. 225, 463 – 474.
- Renaud S, Parry D (1994) Microalgae for use in tropical aquaculture, effect of salinity on growth, gross chemical-composition and fatty-acid composition of 3 species of marine microalgae. J Appl Phycol 6:347–356
- Rusyani,E., A.I.M. Septa, M. Firdaus, 2007. Budidaya Phytoplankton dan Zooplankton Skala Laboratorium. Seri Budidaya Laut No. 9. Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Laut. Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Shene, Yusuf Chisti, Mariela Bustamante, Mónica Rubilar. 2016. Carol Effect of CO₂ in the aeration gas on cultivation of the microalga *Nannochloropsis oculata*: Experimental study and mathematical modeling of CO₂ assimilationina. Algal Research 13:16–29
- Sirin Sema, Clavero Ester, Salvado Joan, 2013. Potential pre-concentration methods for *Nannochloropsis gaditana* and a comparative study of pre-concentrated sample properties. Bioresource Technology 132: 293–304
- Sivakumar R.and Rajendran S. 2013. Role of Algae in Commercial Environment. Int. Res. J. Environment Sci: Vol. 2(12): 81-83.
- Tawfiq A. S., Al-musallam L., Al- shimmari J and Dias P. (1999) Optimum production conditions for different high-quality marine algae. Hydrobiologia 403, 97-107