

Pertumbuhan dan Kadar Pigmen *Dunaliella salina* (Chlorophyta) pada Media dengan Penambahan Konsentrasi Tembaga (Cu) yang Berbeda

Faiz Naida Salimah, Gunawan Widi Santosa*, Ali Ridlo

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia
Email: gunawan.ws60@gmail.com

Abstrak

Dunaliella salina merupakan mikroalga hijau yang memiliki peran penting dalam rantai makanan di lingkungan perairan dan kandungan pigmennya telah banyak dimanfaatkan. Pertumbuhan dan kandungan biomolekul *D. salina* dipengaruhi oleh kondisi lingkungan hidupnya, salah satunya mikronutrien tembaga (Cu). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi Cu dalam media terhadap pertumbuhan dan kandungan pigmen *D. salina*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 1 perlakuan dengan 4 taraf perlakuan (3 kali ulangan). Perlakuan yang diberikan adalah penambahan Cu dengan konsentrasi 1, 3, dan 5 ppm kedalam media kultur *D. salina* dan tanpa penambahan atau kontrol. Analisis kadar pigmen klorofil-a,b dan total karotenoid dilakukan menggunakan metode spektroskopi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi Cu yang berbeda pada media memberikan pengaruh nyata ($p \leq 0,05$) terhadap laju pertumbuhan mikroalga dan kadar pigmen *D. salina*. Laju pertumbuhan tertinggi dicapai pada perlakuan B (penambahan 1 ppm) sebesar $0,44 \pm 0,03$ sel/hari dan terendah pada perlakuan D (penambahan 5 ppm) sebesar $0,26 \pm 0,04$ sel/hari. Kadar pigmen tertinggi diperoleh pada perlakuan A (kontrol/tanpa penambahan) dengan klorofil-a sebesar $18,04 \pm 1,80$ $\mu\text{g/mL}$, klorofil-b sebesar $9,03 \pm 0,87$ $\mu\text{g/mL}$, serta total karotenoid $5,66 \pm 0,80$ $\mu\text{g/mL}$ dan terendah pada perlakuan D (penambahan 5 ppm) dengan klorofil-a sebesar $7,56 \pm 1,30$ $\mu\text{g/mL}$, klorofil-b $3,91 \pm 0,90$ $\mu\text{g/mL}$ serta total karotenoid $2,12 \pm 0,37$ $\mu\text{g/mL}$. Semakin tinggi konsentrasi Cu yang ditambahkan maka laju pertumbuhan dan kadar pigmen *D. salina* semakin menurun. Efek toksik Cu terhadap laju pertumbuhan dan kadar pigmen secara signifikan mulai terjadi dari penambahan 3 ppm Cu ke dalam media.

Kata kunci : *Dunaliella salina*, Pigmen, Pertumbuhan, Tembaga (Cu)

Abstract

Growth and Pigment Levels of Dunaliella salina (Chlorophyte) on Media with the Addition of Different Copper (Cu) Concentration

Dunaliella salina is a green microalga that has an important role in the food chain in aquatic environments and its pigment content has been widely utilized. The growth and content of biomolecules *D. salina* are influenced by environmental conditions, one of which is the micronutrient copper (Cu). This study used an experimental method with a completely randomized design (CRD) using 1 treatment with 4 levels of treatment (3 replications). The treatment given was the addition of Cu with a concentration of 1, 3, and 5 ppm into the *D. salina* culture media and without addition or control. Analysis of the levels of chlorophyll-a, b, and total carotenoid pigments was carried out using a spectroscopic method. The results showed that the addition of different Cu concentrations in the media had a significant effect ($p \leq 0,05$) on the growth rate of microalgae and the pigment levels of *D. salina*. The highest growth rate was achieved in treatment B (addition of 1 ppm) of $0,44 \pm 0,03$ cell/day and the lowest was in treatment D (addition of 5 ppm) of $0,26 \pm 0,04$ cell/day. The highest pigment content was obtained in treatment A (control) with chlorophyll-a of $18,04 \pm 1,80$ $\mu\text{g/mL}$, chlorophyll-b of $9,03 \pm 0,87$ $\mu\text{g/mL}$, and total carotenoids $5,66 \pm 0,80$ $\mu\text{g/mL}$ and the lowest in treatment D (addition of 5 ppm) with chlorophyll-a of $7,56 \pm 1,30$ $\mu\text{g/mL}$,

chlorophyll-b $3,91 \pm 0,90 \mu\text{g/mL}$ and total carotenoids $2,12 \pm 0,37 \mu\text{g/mL}$. The higher the Cu concentration was added, the lower the growth rate and pigment levels of *D. salina*. The toxic effect of Cu on the growth rate and pigment levels was significant from the addition of 3 ppm Cu into the media.

Keywords : *Dunaliella salina*, Pigment, Growth, Copper (Cu)

PENDAHULUAN

Dunaliella salina merupakan mikroalga hijau yang memiliki peran penting dalam rantai makanan dan sebagai produktivitas primer di laut (Purbonegoro, 2008). Mikroalga ini telah banyak dimanfaatkan dalam dunia perikanan sebagai pakan alami larva serta sebagai produk suplemen makanan, industri pangan, dan farmasi (Bawias *et al.*, 2018). Pemanfaatan *D. salina* tidak lepas dari kandungan biokimianya seperti pigmen. Menurut Erlania (2009), *D. salina* mengandung β -karoten sebanyak 14% dari bobot keringnya sehingga dijadikan bahan fortifikasi pangan di Eropa.

Klorofil merupakan pigmen hijau yang memiliki peran sebagai penangkap cahaya, konversi cahaya dan transfer energi dalam proses fotosintesis dan menyerap gelombang maksimum antara 400 – 700 nm (Pratiwi *et al.*, 2015). Terdapat dua jenis klorofil pada *D. salina* yaitu klorofil-a yang merupakan suatu pigmen aktif dalam fotosintesis dan klorofil-b yang memiliki peran penting dalam mekanisme fotosistem selama adaptasi terhadap intensitas cahaya. Klorofil-b disintesis dari klorofil-a dengan bantuan enzim *Chlorophyll-a oxidase* (Song dan Banyo, 2011). Peran karotenoid dalam sel *D. salina* adalah membantu klorofil untuk menyerap cahaya dalam proses fotosintesis (Fretes *et al.*, 2012). Karotenoid juga dapat menjadi fotoprotektor dengan mencegah terbentuknya triplet oksigen (klorofil berikatan dengan oksigen) sehingga oksigen tunggal tidak dihasilkan (Maleta *et al.*, 2018). Menurut Fauziah *et al.* (2019), pigmen klorofil dan karotenoid menjadi komponen penting di perairan karena digunakan sebagai biomarker kuantitatif untuk mengetahui komposisi dan kepadatan mikroalga di laut. Secara tidak langsung, hal tersebut dapat menjadi suatu ukuran dari pertumbuhan sel serta menjadi parameter yang digunakan untuk memeriksa kualitas suatu perairan.

Pertumbuhan dan kandungan pigmen yang disintesis oleh *D. salina* dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan tempat hidupnya. Tembaga (Cu) merupakan logam esensial sebagai mikronutrien *D. salina* yang berperan dalam

aktivitas beberapa enzim pada sel, serta penyusun komponen rantai transport elektron dalam kloroplas dan mitokondria (Nikookar *et al.*, 2005). Komponen dalam sel yang disusun atas Cu adalah *plastocyanin* dan beberapa enzim diantaranya *polyphenol oxidase*, *superoxide dismutase*, *ascorbate oxidase*, *cytochrome oxidase*, *lysyl oxidase*, and *diamine oxidase* (Nugroho dan Frank, 2011). Konsentrasi Cu yang berlebih dapat menyebabkan terganggunya proses metabolisme sel *D. Salina* dalam proses fotosintesis dan kemampuan sel untuk memperbanyak diri (Purbonegoro, 2008). Menurut Nugroho dan Frank (2011), selain mereduksi pertumbuhan dan kepadatan, Cu juga dapat mereduksi kandungan pigmen klorofil dan karotenoid karena terjadi kerusakan pada kloroplas.

Pesisir merupakan tempat yang rentan terhadap pencemaran di perairan karena menjadi tempat berkumpulnya zat-zat pencemar seperti limbah logam berat yang terbawa oleh aliran sungai. Limbah logam berat merupakan zat yang berbahaya karena sulit terdegradasi (Setiawan, 2014). Sumber Cu di perairan dapat berasal dari limbah buangan industri dan aktivitas pelabuhan. Semakin tinggi aktivitas pabrik dan kendaraan pelabuhan maka kadar Cu di perairan akan meningkat pula (Puryanti dan Anggraini, 2019). Menurut Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2014, bahwa baku mutu air limbah dengan konsentrasi Cu adalah 2 – 3 ppm. Berdasarkan penelitian sebelumnya, pada kisaran konsentrasi 1 – 5 ppm Cu dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga *Spirulina plantesis* (Budi *et al.*, 2018), dan menurunkan kadar pigmen pada mikroalga *Phorpyridium cruentum* (Pranajaya *et al.*, 2014), dan *Chaetoceros* sp. (Puspitasari *et al.*, 2017).

D. salina termasuk spesies mikroalga yang memiliki habitat dengan kisaran salinitas, suhu, dan pH yang luas serta memiliki toleransi tinggi terhadap perubahan kondisi lingkungan (Kutlu dan Mutlu, 2017). Sendra *et al.* (2018), melaporkan bahwa spesies ini lebih toleran terhadap logam perak (Ag) dibandingkan dengan *Chlorella autotrophica*. Menurut Ghazaei dan

Shariati (2019), *D. Salina* juga lebih toleran terhadap titanium (Ti) daripada *D. tertiolecta*. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui bagaimana pengaruh Cu terhadap pertumbuhan dan kadar pigmen *D. salina*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi Cu yang berbeda terhadap laju pertumbuhan dan kadar pigmen (klorofil-a, klorofil-b dan total karotenoid) mikroalga *D. salina*.

MATERI DAN METODE

Biota uji yang digunakan adalah biakan murni mikroalga *D. salina* yang diperoleh dari Laboratorium Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara sebanyak 1,5 liter.

D. salina dikultur ke dalam 12 botol kaca steril berkapasitas 1 liter menggunakan kultur 500 mL. Media kultur yang digunakan adalah air laut steril bersalinitas 30 ppt yang diperkaya dengan pupuk Walne 1 mL/L dan vitamin 0,5 mL/L dan ditambahkan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ p.a Merck dengan konsentrasi Cu mengacu pada penelitian Budi *et al.* (2018), yakni A (kontrol/tanpa penambahan), B (penambahan 1 ppm), C (penambahan 3 ppm) dan D (penambahan 5 ppm). Selanjutnya biakan murni *D. salina* diinokulasikan kedalam masing-masing botol kaca dengan kepadatan awal 1×10^6 sel/mL dengan terus diaerasi dan diinkubasi pada suhu 23 – 25 °C. Pencahayaan menggunakan lampu TL Philips 36 Watt dengan intensitas 2.000 lux menggunakan manipulasi durasi gelap:terang masing-masing 12 jam. Inkubasi dilakukan selama 8 hari.

Kepadatan sel dihitung menggunakan haemocytometer dengan rumus menurut Gunawan dan Wianto (2016):

$$D = N \times 10^4$$

Keterangan : D = kepadatan mikroalga (sel/mL); N = jumlah keseluruhan sel mikroalga terhitung dibagi oleh jumlah blok terhitung.

Laju pertumbuhan dihitung selama fase eksponensial dengan rumus menurut Fakhri *et al.* (2020):

$$\mu = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{t_2 - t_1}$$

Keterangan : μ = laju pertumbuhan spesifik per unit kepadatan (sel/hari); x_1 = kepadatan pada waktu ke-1; x_2 = kepadatan pada waktu ke-2; t_1 = waktu ke-1; t_2 = waktu ke-2.

Analisis Kadar Pigmen

Analisis kadar pigmen dilakukan pada akhir fase awal stasioner menggunakan metode Pital dan Lele (2005). Ekstraksi dilakukan dengan mengambil 5 mL alikuot dari suspensi *D. salina*, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan endapan mikroalga dimaserasi menggunakan 5 mL larutan aseton 80% (v/v) p.a Merck selama 12 jam. Setelah itu disentrifugasi kembali untuk mendapatkan supernatan yang kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 470 nm, 646,8 nm, dan 663,2 nm. Kadar pigmen dihitung menggunakan rumus Lichtenthaler dan Buchmann (2001):

$$\begin{aligned} C_a &= 12,25A_{663,2} - 2,79A_{646,8} \\ C_b &= 21,50A_{646,8} - 5,10A_{663,2} \\ C_{x+c} &= \frac{1000A_{470} - 1,82C_a - 85,02C_b}{198} \end{aligned}$$

Keterangan : C_a = kadar klorofil a ($\mu\text{g/mL}$); C_b = kadar klorofil b ($\mu\text{g/mL}$); C_{x+c} = kadar total karotenoid ($\mu\text{g/mL}$).

Analisis Data

Data laju pertumbuhan dan kadar pigmen klorofil-a, klorofil-b dan total karotenoid diolah menggunakan Microsoft Excel dan SPSS 16.0. Uji Anova satu arah dan Uji Tukey dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh nyata dari satu variabel dan melihat letak perbedaan signifikan antar perlakuan. Besarnya pengaruh perlakuan diuji dengan Regresi Linier Sederhana.

HASIL DAN PEMBAHASAN

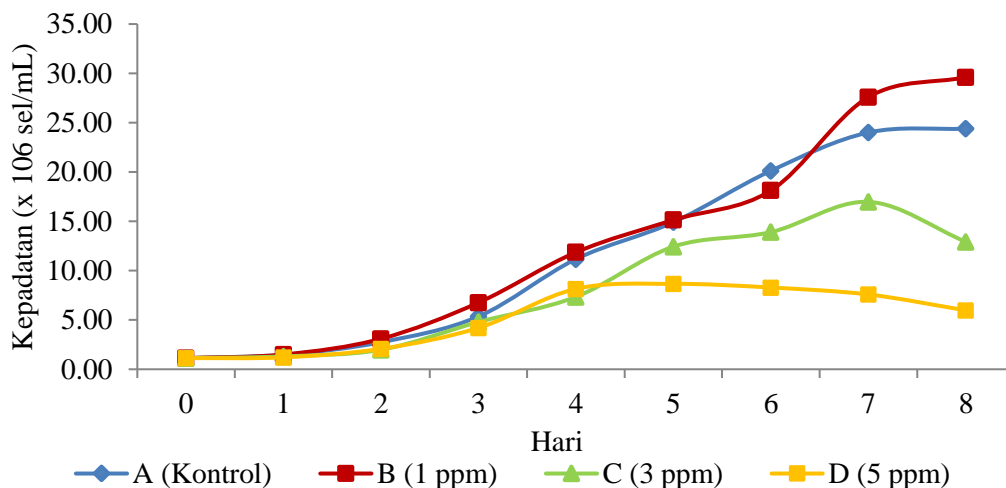
Mikroalga *D. salina* dapat tumbuh di semua kondisi perlakuan penambahan Cu, namun terjadi perbedaan pada pola pertumbuhan dan kepadatan sel yang dihasilkan. Hasil pengamatan terhadap pencapaian kepadatan *D. salina* selama 8 hari diperoleh kepadatan sel seperti yang disajikan pada Gambar 1. Nilai kepadatan puncak tertinggi pada hari ke-8 perlakuan B (penambahan 1 ppm) sebesar $29,61 \times 10^6 \pm 0,75$ sel/mL, sedangkan kepadatan puncak terendah pada hari ke-4 perlakuan D (penambahan 5 ppm) sebesar $8,15 \times 10^6 \pm 0,57$ sel/mL.

Pertumbuhan sel mikroalga berbanding lurus dengan kepadatan sel. Laju pertumbuhan *D. salina* tertinggi dicapai oleh perlakuan B (penambahan 1 ppm) sebesar $0,44 \pm 0,03$ sel/hari dan terendah pada perlakuan D (penambahan 5

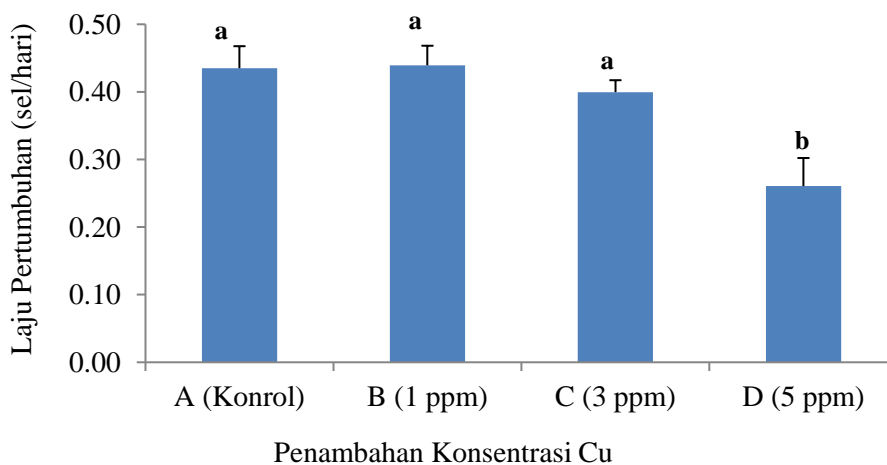
ppm) sebesar $0,26 \pm 0,04$ sel/hari. Besarnya nilai laju pertumbuhan dapat menggambarkan tingkat keberhasilan mikroalga dalam beradaptasi terhadap lingkungannya (Regista *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil tersebut diduga bahwa penambahan Cu dengan konsentrasi 1 ppm dibutuhkan oleh mikroalga *D. salina* sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya. Menurut Akbarnezhad *et al.* (2017), Cu pada konsentrasi rendah dapat menstimulasi IAA (*Indole Acetic Acid*), suatu hormon yang mampu untuk merangsang pertumbuhan.

Berdasarkan Uji ANOVA satu arah konsentrasi penambahan Cu yang berbeda pada media memberikan pengaruh nyata ($p \leq 0,05$)

terhadap laju pertumbuhan *D. salina*. Hasil Uji Tukey pada perlakuan B (penambahan 1 ppm) dan C (penambahan 3 ppm) memiliki nilai yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan A (kontrol/tanpa penambahan), namun berbeda nyata terhadap perlakuan D (penambahan 5 ppm). Hal ini menunjukkan bahwa efek toksik Cu mulai terjadi pada penambahan 5 ppm dengan menyebabkan penurunannya laju pertumbuhan *D. salina* secara signifikan. Semakin tinggi konsentrasi Cu yang ditambahkan pada media maka laju pertumbuhan *D. salina* semakin menurun ($y = -0,056x + 0,524; R^2 = 0,667$). Pengaruh Cu terhadap laju pertumbuhan sebesar 66,7%.



Gambar 1. Kepadatan *D. salina* pada Media dengan Penambahan Konsentrasi Cu yang Berbeda



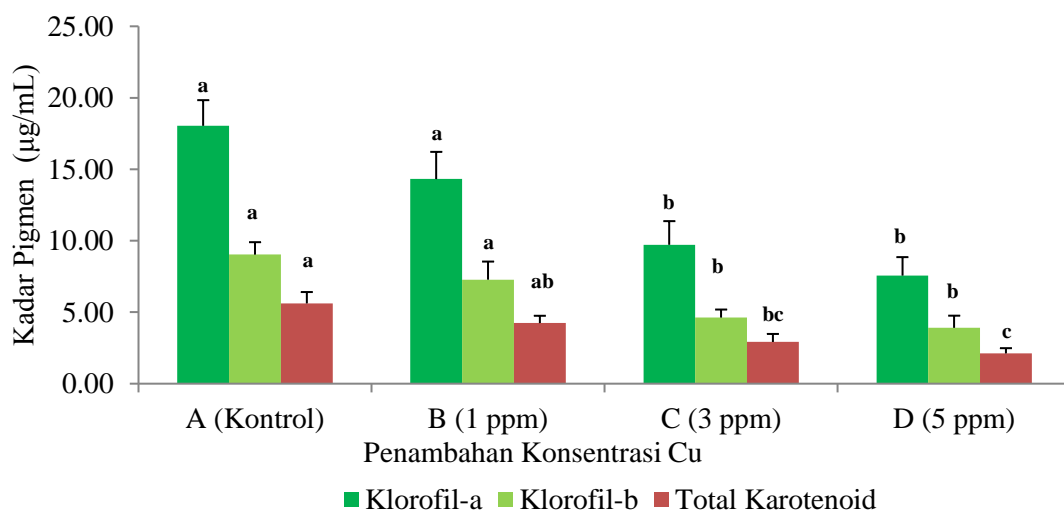
Gambar 2. Pengaruh Perbedaan penambahan konsentrasi Cu yang berbeda terhadap laju pertumbuhan *D. salina* (Ket : Penambahan Huruf yang Berbeda Menunjukkan Nilai Berbeda Nyata pada $\alpha = 0,05$)

Interaksi Cu dengan mikroalga berawal dari pengikatan ion Cu^{2+} pada dinding sel yang memiliki lapisan eksternal dengan muatan negatif seperti ion OH^- . Mikroalga *D. salina* memiliki kemampuan pertukaran dan pengikatan ion Cu^{2+} karena pada membran selnya yang mengandung berbagai macam variasi polisakarida dan protein yang memiliki sisi aktif (Purnamawati *et al.*, 2013). Ion Cu^{2+} akan bermigrasi melalui membran plasma lalu masuk ke dalam sel dengan proses difusi atau penyerapan aktif. Ketika Cu^{2+} berada di dalam sitoplasma akan menyebabkan terganggunya transport elektron pada bagian feredoksin dari fotosistem, sehingga mempengaruhi proses fotosintesis dan pembelahan sel (Kumar dan Shin, 2017). Menurut Gunawan dan Wianto (2016), kematian sel mikroalga berawal dari kerusakan struktur kloroplas, lalu menghambat proses fotosintesis sehingga menurunkan kemampuan sel mikroalga untuk memperbanyak diri.

Kadar Pigmen *D. salina*

Pemberian konsentrasi Cu yang berbeda juga memberikan pengaruh nyata ($p \leq 0,05$)

terhadap kadar pigmen klorofil-a, klorofil-b dan total karotenoid *D. salina*. Kadar pigmen tertinggi diperoleh pada perlakuan A (kontrol/tanpa penambahan) (Gambar 4). Mikroalga *D. salina* pada perlakuan kontrol tanpa penambahan Cu dalam media dapat tumbuh secara normal. Pupuk Walne memiliki kandungan Cu sebagai *trace metal* dalam konsentrasi yang rendah sehingga diasumsikan bahwa Cu dari pupuk Walne sudah mencukupi nutrisi yang diperlukan oleh *D. salina*. Perlakuan kontrol tanpa penambahan Cu menunjukkan pertumbuhan yang optimal dengan kadar pigmen yang dihasilkan nilai yang paling tinggi. Konsentrasi Cu dari pupuk Walne pada media kontrol tanpa penambahan adalah 0,005 ppm. Penurunan kadar pigmen secara signifikan mulai terjadi pada penambahan konsentrasi 3 ppm Cu. Hal tersebut dibuktikan dari uji lanjutan Tukey pada perlakuan A (kontrol/tanpa penambahan) dan B (penambahan 1 ppm) yang memiliki nilai yang berbeda nyata ($p \leq 0,05$) terhadap perlakuan C (penambahan 3 ppm) dan D (penambahan 5 ppm). Logam Cu akan menjadi toksik ketika dalam konsentrasi berlebih (Parales-Vela *et al.*, 2006).



Gambar 3. Pengaruh Penambahan Konsentrasi Cu yang berbeda terhadap Kadar Pigmen *D. salina* (Ket. : Penambahan Huruf yang Berbeda Menunjukkan Nilai Berbeda Nyata pada $\alpha=0,05$)

Tabel 1. Pengaruh Konsentrasi Penambahan Cu yang Berbeda Terhadap Kadar Pigmen *D. salina* ($\mu\text{g/mL} \pm \text{SD}$, $n=3$)

Kadar Pigmen	A	B	C	D	Regresi
Klorofil-a	18,04 ± 1,80	14,32 ± 1,90	9,76 ± 1,66	7,56 ± 1,30	$y = -3,604x + 21,417$; $R^2 = 0,882$
Klorofil-b	9,03 ± 0,87	7,28 ± 1,27	4,62 ± 0,56	3,91 ± 0,90	$y = -1,845x + 10,795$; $R^2 = 0,864$
Total Karotenoid	5,62 ± 0,80	4,25 ± 0,51	2,29 ± 0,53	2,12 ± 0,37	$y = -1,182x + 6,677$; $R^2 = 0,876$

Semakin tinggi konsentrasi Cu yang diberikan maka semakin rendah kadar pigmen yang dihasilkan (Tabel 1). Hasil penelitian tersebut diduga karena terdapat sensitivitas kloroplas pada *D. salina* terhadap Cu yang mengakibatkan penurunan kadar pigmen. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Pranajaya *et al.* (2014), bahwa Cu dapat menghambat proses biosintesis pigmen, mempercepat dekomposisi pigmen dan merusak struktur fungsi kloroplas. Menurut Rai *et al.* (2016), kelebihan Cu dapat menyebabkan peroksidasi lipid dalam membran fotosintetik yang mempengaruhi sintesis dan degradasi pigmen fotosintesis. Selain itu, Cu juga mengganggu susunan membran tilakoid dan mengubah ultrastruktur kloroplas secara keseluruhan, menghambat transpor elektron fotosintetik dari PS I dan PS II, dan menghambat aktivitas RuBP karboksilase.

Hasil penelitian menunjukkan juga bahwa kepadatan sel yang tinggi tidak diikuti dengan kadar pigmen yang tinggi, diduga karena mikroalga mempertahankan diri dari efek toksik Cu dengan cara memperbanyak jumlah sel. Menurut Parales-Vela (2006), mikroalga menjaga integritas sel dengan mengaktifkan proses metabolisme yang berkaitan dengan pertumbuhan sel untuk menghindari efek toksik Cu.

Pigmen karotenoid berguna untuk melindungi sel mikroalga dari reaksi oksidatif serta sebagai pertahanan diri pada kondisi stress (Fretes *et al.*, 2012). Keberadaan Cu berlebih akan meningkatkan toksisitas di lingkungan sehingga menyebabkan stress pada *D. Salina*, namun pada penelitian ini peningkatan konsentrasi Cu tidak diikuti dengan peningkatan total karotenoid sebagai pertahanan diri dari Cu. Hal tersebut dapat diduga karena *D. salina* menghasilkan beberapa enzim sebagai pereda reaksi oksidatif. Efek toksik Cu sebagian terkait dengan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*), di antaranya adalah radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$) (Adams *et al.*, 2016). Enzim antioksidan seperti *Superoksida Dismutase* (SOD) dan katalase (CAT) memainkan peran kunci dalam penghilangan spesies oksigen reaktif yang diproduksi dalam sel mikroalga selama berbagai respon stres fisik-kimiawi. Sistem SOD-CAT memberikan pertahanan pertama terhadap toksisitas oksigen (El-Din, 2016). Selain itu terdapat enzim APX (*Ascorbate Peroxidase*) yang juga terlibat dalam pertahanan diri ini (Nikookar *et al.*, 2005).

KESIMPULAN

Penambahan konsentrasi Cu yang berbeda pada media memberikan pengaruh nyata ($p \leq 0,05$) terhadap laju pertumbuhan dan kadar pigmen *D. salina*. Semakin tinggi konsentrasi Cu yang ditambahkan maka laju pertumbuhan dan kadar pigmen *D. salina* semakin menurun. Efek toksik Cu terhadap laju pertumbuhan dan kadar pigmen secara signifikan mulai terjadi dari penambahan 3 ppm Cu ke dalam media.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbarnezhad, Mehrgan, M., Kamali, S.A. & Baboli, J. 2017. Effect of Microelements (Fe, Cu, Zn) on Growth and Pigment Contents of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 19(2):653-668. doi: 10.22092/ijfs.2019.120614
- Bawias, M., Kemer, K., Mantiri, D.M.H., Kumampung, D.R., Paransa, D.S.J., & Mantiri, R. 2018. Isolasi Pigmen Karotenoid pada Mikroalga *Nannochloropsis* sp. dengan Menggunakan Beda Pelarut. *Jurnal Pesisir Laut Tropis*, 2(1):1-8. doi: 10.35800/jplt.6.2.2018.20641.
- Budi, M.R.S., Rahardja, B.S. & Masithah, E.D. 2018. Potensi Penurunan Konsentrasi Logam Berat Tembaga (Cu) dan Pertumbuhan Mikroalga *Spirulina plantesis* pada Media Kultur. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 6(1):83-93. doi: 10.36706/jari.v6i1.7152
- El-Din, S.M.M. 2016. Effect of Heavy Metals (Copper, Cobalt and Lead) on Growth of Photosynthetic Pigments of the Green Alga *Chlorella pyrenoidosa* H. Chick. *Catrina: The International Journal of Environmental Sciences*, 15(1):1-10.
- Erlania. 2009. Prospek Pemanfaatan Mikroalga sebagai Sumber Pangan Alternatif dan Bahan Fortifikasi Pangan. *Media Akuakultur*, 4(1):59-66. doi: 10.15578/ma.4.1.2009.59-66
- Fakhri, M., Antika, P.W., Ekawati, A.W. & Arifin, N.B. 2020. Pertumbuhan, Kandungan Pigmen, dan Protein *Spirulina plantesis* yang dikultur pada $Ca(NO_3)$ dengan Dosis yang Berbeda. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 9(1):38-47. DOI: 10.20473/jafh.v9i1
- Fauziah, A., Bengen, D.G., Kawaroe, M., Effendi, H. & Krisanti, M. 2019. Hubungan Antara Ketersediaan Cahaya Matahari dan Konsentrasi Pigmen Fotosintetik di Perairan

- Selat Bali. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 11(1):37-48. doi: 10.29244/jitkt.v11i1.23108
- Fretes, H., Susanto, AB., Prasetyo, B. & Limantara, L. 2012. Karetoid dari Mikroalga dan Mikroalga: Potensi Kesehatan, Aplikasi dan Bioteknologi. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 23(2):221-228. doi: 10.6066/jtip.2012.23.2.221
- Ghazaei, F. & Shariati, M. 2019. Effects of Titanium Nanoparticles on the Photosynthesis, Respiration, and Physiological Parameters in *Dunaliella salina* and *Dunaliella tertiolecta*. *Protoplasma*, 257(1):75-88. doi: 10.1007/s00709-019-01420-z
- Gunawan & Wianto, T. 2016. Respon Pertumbuhan Mikroalga indigenous *Synechococcus* sp. dan Penurunan Konsentrasi Logam Berat Fe pada Media Kultur. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Basah*, 1:244-249.
- Maleta, M.S., Indrawati, R., Limantara, L. & Brotosudarmo, T.H.P. 2018. Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid dari Sumber Tumbuhan dalam Dekade Terakhir. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*, 13(1):40-50. doi: 10.23955/rkl.v13i1.10008
- Kumar, K.S. & Shin, K.H. 2017. Effect of Copper on Marine Microalga *Tetraselmis suecica* and its Influence on Intra- and Extracellular Iron and Zinc Content. *Korean Journal of Ecology and Environment*, 50(1):16-28. doi: 10.11614/KSL.2017.50.1.016
- Kutlu, B. & Mutlu, M. 2017. Growth and Bioaccumulation of Cadmium, Zinc, Lead, Copper in *Dunaliella* sp. Isolated from Homa Lagoon, Eastern Aegean Sea. *Indian Journal of Geo Marine Science*, 46(6):1162-1169.
- Lichtenthaler, H.K. & Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1(1):F4.3.1–F4.3.8. doi: 10.1002/0471142913.faf0403s01
- Nikookar, K., Moradshahi, A. & Hosseini, L. 2005. Physiological Responses of *Dunaliella tertiolecta* to Copper Toxicity. *Biomolecular Engineering*, 22(4): 141-146. doi: 10.1016/j.bioeng.2005.07.001.
- Nugroho, A.P. & Frank, H. 2011. Producing Cu-loaded Algae for Feeding Experiment: Effect of Copper on *Parachlorella kessleri*. *Toxicology and Environmental Chemistry*, 93(3):537-548. doi:10.1080/02772248.2010.537859
- Parales-Vela, H.V., Gonzalez-Moreno, S. C., Montez-ecasitas, & Canizarez-Villanueva, R. O. 2006. Growth, Photosynthetic and Respiratory Responses to Sub-lethal Copper Concentrations in *Scenedesmus incrustatus* (Chlorophyceae). *Chemosphere*, 67(11): 2274-2281. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.11.036
- Pisal, D.S. & Lele, S.S. 2005. Carotenoid Production from Microalgae *Dunaliella salina*. *Indian Journal of Biotechnology*, 4:476-483.
- Pranajaya, R.H., Djunaedi, A. & Yulianto, B. 2014. Pengaruh Tembaga Terhadap Kandungan Pigmen dan Pertumbuhan Mikroalga Merah *Porphyridium cruentum*. *Ilmu Kelautan*, 19(2):97-104. doi: 10.14710/ik.ijms.19.2.97-104
- Pratiwi, R., Wahyuni, N. & Alimuddin, A.H. 2015. Uji Fotostabilitas TiO₂-Klorofil dari Mikroalga (*Chlorella* sp.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(3):56-64.
- Purbonegoro, T. 2008. Pengaruh Logam Kadmium (Cd) terhadap Metabolisme dan Fotosintesis di Laut. *Oseana*, 33(1):25-31.
- Purnamawati, F.S., Soeprabwati, T.R., & Izzati, M. 2013. Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* Beijerinck dalam Medium yang Mengandung Logam Berat Cd Dan Pb Skala Laboratorium. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. Semarang. 14 September 2013.
- Puryanti, D. & Angraini, W. 2019. Identifikasi Pencemaran Logam Berat Tembaga (Cu), Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) Air Laut di Sekitar Pelabuhan Teluk Bayur Kota Padang. *Jurnal Ilmu Fisika*, 11(2):95-101. doi: 10.25077/jif.11.2.95-101.2019
- Puspitasari, R., Suratno, S., Purbonegoro, T., & Agustin, A.T. 2017. Cu Toxicity on Growth and Chlorophyll-a of *Chaetoceros* sp. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 118*. Bandung. 19 Oktober 2017. doi: 10.1088/1755-1315/118/1/012061
- Rai, R., Agrawal, M., & Agrawal, S.B. 2016. Impact of Heavy Metals on Physiological Processes of Plants: With Special Reference to Photosynthetic System. *Plant Responses to Xenobiotics*, 127-140. doi:10.1007/978-981-10-2860-1_6
- Regista, R., Ambeng, A., Litaay, M., & Umar, M.R. 2017. Pengaruh Pemberian Vermikompos Cair *Lumbricus rubellus* Hoffmeister pada Pertumbuhan *Chlorella* sp. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 2(1):1-8.

- Sendra, M., J. Blasco and C.V.M. Araujo. 2018. Is the Cell Wall of Marine Phytoplankton a Protective Barrier or a Nanoparticle Interaction Site? Toxicological Responses of *Chlorella autotrophica* and *Dunaliella salina* to Ag and CeO₂ Nanoparticles. *Ecological Indicator*, 95(2):1053-1067. doi: 10.1016/j.ecolind.2017.08.050
- Setiawan, H. 2014. Pencemaran Logam Berat di Perairan Pesisir Kota Makassar dan Upaya Penanggulangannya. *Info Teknis Eboni*, 11(1):1-13.
- Song, A.N. & Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*, 11(2):166-172. doi: 10.35799/jis.11.2.2011.202