

**PENGARUH PEMBERIAN BAKTERI *Bacillus pumilus* PADA RUMEN SAPI  
SEBAGAI PUPUK TERHADAP PERTUMBUHAN *Dunaliella salina***

**Endang Dewi Masithah, Nova Ariesma, dan Yudi Cahyoko**

*Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Kampus C UNAIR. Jl. Mulyorejo  
Surabaya Telp. (031) 5911451*

**ABSTRACT**

*Dunaliella salina is one type of natural food that can be used in the hatchery business. The growth of natural food can be supported with an abundance of macro and micro nutrients. The purpose of this study is to know pngaruh and best dose that can be used to enhance growth Dunaliella salina with cow rumen difermentasi mnggunakan Bacillus pumilus as organic fertilizer. Design research is Lengkap randomized design (CRD) followed by Duncan's Range Test. Treatment research Dunaliella salina was cultured at 3 different dose treatment, 2sebagai control (without fertilizer walne and rumen fermentation) and with 4 replications. The treatment dose of the bacteria Bacillus pumilus given are A (7.5%), B (10%), C (12.5%) as a control D (Fertilizer Walne) and E (rumen without fermentation). Results study to show that the addition of the bacteria Bacillus pumilus in rumen of cattle, mmbrikan significant effect trhadap Dunaliella salina growth. The addition of the bacteria Bacillus pumilus by 10% to mningkatkan growth of Dunaliella salina kpadatan 875,000 and is the culmination of the third day.*

**Keyword :** *Dunaliella salina, Cow Rumen, Bacillus pumilus*

**PENDAHULUAN**

Kegiatan pembenihan baik ikan air tawar, payau maupun laut sekarang ini berkembang dengan pesat. Tingkat keberhasilan dalam pemeliharaan larva ikan atau non ikan dipengaruhi oleh banyak faktor, salah satunya adalah pakan untuk larva. Hal ini disebabkan karena larva lebih menyukai pakan alami, karena pakan alami dapat bergerak di kolom air dan terlihat konstan tersedia bagi larva, dibandingkan pakan buatan yang umumnya cepat tenggelam ke dasar bak sehingga ketersediaannya di kolom air berkurang (Bengtso, 2003 dalam Satyantini dan Masithah, 2008). Salah satu jnis pakan alami yang banyak digunakan dalam

kegiatan pmbenihan adalah *Dunaliella salina*.

Kultur *Dunaliella salina* membutuhkan nutrien (pupuk) untuk memperkaya kandungan nutrisi (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Peningkatan nutrient tersebut adalah dengan pemberian pupuk organik, yaitu pemberian rumen sapi yang difermentasi dengan menggunakan bakteri *Bacillus pumilus*. Isi rumen berpotensi sebagai pupuk karena mengandung mikroorganisme sehingga mampu meningkatkan nutrient untuk pertumbuhan *Dunaliella salina*. Sedangkan bakteri *Bacillus pumilus*, memiliki enzim silanase dan selulase yang dapat mendegradasi serat kasar isi rumen sapi sehingga dapat memecah bahan an-organik menjadi bahan organik yang lebih sederhana dan dapat

digunakan untuk kebutuhan nutrisi *Dunaliella salina*.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan populasi *Dunaliella salina* akibat perbedaan dosis inokulasi isolat *Bacillus pumilus* pada isi rumen sapi yang digunakan sebagai pupuk media kultur dan juga untuk mengetahui dosis optimum inokulasi isolat *Bacillus pumilus* pada isi rumen sapi yang digunakan sebagai pupuk media kultur

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2010 di Laboratorium Pendidikan Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya.

### Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan terdiri atas bahan dan alat penelitian. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *Dunaliella salina*, pupuk komersial Walne, isi rumen sapi, isolat bakteri *Bacillus pumilus*, tetes tebu, aquades, alkohol, air laut, khlorin dan Na Thiosulfat, amonium sulfat, nutrient agar dan nutrient broth. Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah toples kaca, aerator set, selang aerator, plastik, pipet tetes, pipet volume, mikroskop, *Handtally Counter*, *autoclave*, *haemocytometer*, refraktometer, pH paper, termometer, timbangan digital Ohaus PA 2102, lampu neon, kapas, corong air, kasa, aluminium foil, *shaker inkubator* dan kertas saring.

Rancangan penlitian yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan dikondisikan sama kecuali prlakuan dosis penambahan bakteri

*Bacillus pumilus* (Kusriningrum, 2008). Penelitian ini menggunakan rumen yang difermentasi dengan penambahan dosis bakteri *Bacillus pumilus*, pada perlakuan A (7,5%), B(10%), C (12,5%), D (pupuk walne sebagai kontrol) dan E (Rumen tanpa fermentasi sebagai kontrol). Setiap perlakuan mendapat ulangan sebanyak 4 kali.

## Prosedur Kerja

### A. Persiapan Penelitian

Air laut yang digunakan sebagai media kultur bersalinitas 33 ppt. Sterilisasi air laut dilakukan dengan menggunakan larutan klorin. Air laut terlebih dahulu disaring dengan kapas yang diletakkan dalam corong air lalu disterilkan dengan memberikan klorin sebanyak 60 ppm dan diaerasi selama 24 jam lalu Na Thiosulfat 20 ppm diberikan untuk menghilangkan sisa-sisa klorin (Ekawati, 2005).

Peralatan yang akan digunakan dicuci sampai bersih kemudian dibilas dengan air tawar. Peralatan berukuran besar yang sudah bersih direndam dengan larutan klorin 150 ppm selama 24 jam. Setelah itu, peralatan dikeringkan di bawah sinar matahari. Peralatan berukuran kecil dan terbuat dari kaca tahan panas yang akan digunakan untuk kultur disterilkan dengan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Peralatan ini harus ditutup dengan kapas dan kasa kemudian dibungkus dengan aluminium foil (Ekawati, 2005).

### B. Persiapan Rumen

Rumen sapi di dapat dari Rumah Potong Hewan (RPH) Pegirikan, Surabaya. Rumen yang akan digunakan dikeringkan terlebih dahulu di bawah sinar matahari selama beberapa hari sampai kering. Setelah kering

kemudian digiling dan dinalisis kadar N dan P.

#### C. Persiapan Bakteri *Bacillus pumilus*.

Sediaan isolat pada media agar bakteri *Bacillus pumilus* diremajakan terlebih dahulu dan diinkubasi selama 24 jam. Isolat bakteri yang digunakan berasal dari rumen sapi yang diisolasi pada nutrient agar, setelah dikultur pada media agar, kemudian dikultur pada media cair (nutrient broth). Selanjutnya diinkubasi pada *shaker incubator* dengan kecepatan 250 Rpm, suhu 40°C selama 24 jam (Lamid, dkk, 2006). Kepadatan bakteri sebesar  $3 \times 10^8$  berdasarkan metode McFarland.

#### D. Fermentasi Rumen dengan menggunakan bakteri *Bacillus pumilus*.

Isi rumen sapi yang telah kering dan sudah digiling ditimbang sebanyak 5 gram kemudian difermentasi menggunakan isolat *Bacillus pumilus*. Sebagai aktivator adalah tetes tebu dan air. Proses ini diawali dengan mencampur 4 % tetes; 1,5 mL air dan isolat *Bacillus pumilus* dengan dosis sesuai perlakuan, kemudian diaduk. Selanjutnya dimasukkan dalam plastik hitam dan diinkubasi selama 7 hari, pada suhu 27 – 32°C. Kemudian dikeringkan dan siap dipakai.

#### E. Pembuatan Media / Pupuk dari Rumen Sapi Yang Difermentasikan

Isi rumen sapi yang sudah kering dan telah difermentasi dengan isolat *Bacillus pumilus* ditimbang sebanyak 5000 mg, kemudian rumen sapi tersebut dilarutkan dalam 500 mL aquadest. Konsentrasi larutan rumen sapi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 ppm dengan volume penggunaan 1 mL/L (Satyantini dan

Masithah, 2008). Kemudian larutan rumen sapi dimasukkan ke dalam erlenmeyer sambil disaring dengan menggunakan kertas saring. Erlenmeyer yang berisi larutan kotoran sapi ditutup dengan gause (kapas yang dibalut dengan kasa) dan dibalut dengan aluminium foil lalu disterilkan menggunakan *autoclave*. Pembuatan larutan rumen sapi terfermentasi isolat *Bacillus pumilus* untuk kultur *Dunaliella salina* menggunakan rumus:

$$Q = \frac{V}{P} \times K$$

Keterangan:

Q = berat bahan yang dilarutkan (mg, gram)

V = volume pelarut/ aquadest (ml, L)

P = volume penggunaan dalam media kultur (ml/L)

K = konsentrasi pupuk yang diketahui (ppm, mg/L)

#### F. Media Kultur *Dunaliella salina*

*Dunaliella salina* murni diperoleh dari Balai Besar Budidaya Air Payau Situbondo. Bibit *Dunaliella salina* dimasukkan ke dalam toples kaca dengan salinitas 30 ppt sebanyak 0,5 liter, selanjutnya ditambahkan 0,5 ml larutan rumen sapi yang telah difermentasi dengan *Bacillus pumilus* sesuai dengan dosis perlakuan. Kemudian media kultur diletakkan di rak kultur lalu diberi aerasi dan siap dimasukkan bibit *Dunaliella salina* dengan kepadatan yang diinginkan, yaitu  $5 \times 10^5$  sel/ml (Rositasari, 2010). Lingkungan kultur dapat mempengaruhi pertumbuhan *Dunaliella salina*, oleh karena itu lingkungan dikondisikan sama untuk setiap perlakuan

Lingkungan kultur *Dunaliella salina* meliputi suhu 28-30°C, salinitas 30-33 ppt, pH 7-9, intensitas cahaya 1900 – 2000

lux yaitu dengan meletakkan lampu TL 40 watt ±10 cm diatas permukaan air / media kultur dan photoperiod 18 jam dalam keadaan terang dan 6 jam dalam keadaan gelap.

Penghitungan jumlah bibit *Dunaliella salina* yang diperlukan untuk kultur menggunakan rumus,

$$V1 = \frac{N2 \times V2}{N1}$$

Keterangan:

V1: Volume bibit untuk penebaran awal (ml)

N1: Kepadatan bibit/ stock *Dunaliella salina* (unit/ ml)

V2: Volume media kultur yang dikehendaki (L)

N2: Kepadatan bibit *Dunaliella salina* yang dikehendaki (unit/ ml)

#### G. Perhitungan pertumbuhan populasi *Dunaliella salina*

Pertumbuhan populasi dihitung dengan cara menghitung jumlah sel *Dunaliella salina*. Penghitungan kepadatan dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer* dan untuk memudahkan penghitungan digunakan *handcounter*. Penghitungan menggunakan metode “Big Block”

#### Parameter utama

Parameter utama dalam penelitian ini adalah populasi *Dunaliella salina*. Perhitungan populasi *Dunaliella salina* dilakukan setiap hari sampai populasinya menurun. Pertumbuhan populasi dihitung dengan menggunakan *Sedgewich Rafter* dengan bantuan mikroskop dan *Handtally Counter*.

#### Parameter pendukung

Parameter pendukung dalam penelitian adalah suhu, pH dan salinitas. Pengukuran suhu menggunakan termometer, pengukuran pH menggunakan pH paper dan pengukuran salinitas menggunakan refraktometer. Parameter pendukung digunakan untuk melengkapi data dari parameter utama.

#### Analisis Data

Pengaruh lama fermentasi rumen dengan bakteri *Bacillus pumilus* yang berbeda pada media kultur terhadap populasi *Dunaliella salina* dapat dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA), bila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji jarak berganda DUNCAN (Kusriningrum, 2008). Berdasarkan hasil penelitian terdapat pengaruh dosis *Bacillus pumilus* pada media kultur terhadap pertumbuhan *Dunaliella salina*, sehingga dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji Tukey dengan Beda Nyata Jujur (BNJ 5%)

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Data pertumbuhan dan hasil Analisis Varian (ANOVA) pada hari ketiga dan kelima yang ditunjukkan pada tabel 1 menunjukkan bahwa masing – masing perlakuan memberi pengaruh yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap pertumbuhan populasi *Dunaliella salina* dari hari ke – 0 sampai hari ketiga pertumbuhan semakin meningkat dan mengalami kepuncakan pada hari ketiga, namun pada hari keempat pertumbuhan mengalami penurunan. Puncak yang terjadi pada hari ketiga diperoleh pada perlakuan B yaitu penambahan dosis bakteri *Bacillus pumilus* sebanyak 10%.

Table 1. Rata –rata populasi *Dunaliella salina* (sel/ml) setelah penambahan rumen sapi yang difermentasi oleh bakteri *Bacillus pumilus* pada hari ke – 1 sampai hari ke-8.

Perlakuan	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Hari ke-5
A	500.000 <sup>a</sup>	862.500 <sup>a</sup>	700.000 <sup>a</sup>	712.500 <sup>b</sup>	412.500 <sup>a</sup>	75.000 <sup>bc</sup>
B	500.000 <sup>a</sup>	600.000 <sup>a</sup>	687.500 <sup>a</sup>	875.000 <sup>a</sup>	225.000 <sup>a</sup>	162.500 <sup>a</sup>
C	500.000 <sup>a</sup>	637.500 <sup>a</sup>	637.500 <sup>a</sup>	575.000 <sup>c</sup>	150.000 <sup>a</sup>	100.000 <sup>abc</sup>
D	500.000 <sup>a</sup>	500.000 <sup>a</sup>	587.500 <sup>a</sup>	575.000 <sup>c</sup>	375.000 <sup>a</sup>	62.500 <sup>c</sup>
E	500.000 <sup>a</sup>	700.000 <sup>a</sup>	725.000 <sup>a</sup>	762.500 <sup>ab</sup>	325.000 <sup>a</sup>	137.500 <sup>ab</sup>

Keterangan : Superskrip berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata (p < 0,05)

**Kandungan nutrient N dan P pada rumen sapi**

Hasil uji laboratorium kadar nitrogen dan phosphor sebelum fermentasi adalah 1,5413 dan 1,22. Kadar unsur nitrogen rumen sapi setelah fermentasi menggunakan bakteri *Bacillus pumilus* terjadi peningkatan menjadi 1,5415 sedangkan kadar unsur phosphor mengalami penurunan menjadi 0,345. Data kandungan bahan organik dapat dilihat pada table 2.

Tabel 2. Rasio N dan P rumen sapi sebelum dan sesudah fermentasi

	Nitrogen (ppm)	Phospor (ppm)	Rasio N:P
<b>Sebelum</b>	1,5413	1,22	1,26 : 1
<b>Sesudah</b>	1,5415	0,345	4,47 : 1

**Kualitas Air**

Hasil analisis kualitas air meliputi pH, suhu dan salinitas yang memberikan pengaruh terhadap populasi *Dunaliella salina*. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari selama kegiatan penelitian.

Pengukuran suhu air selama penelitian berkisar antara 26 – 28°C, salinitas berkisar antara 36 – 45 ‰ dan pH berkisar antara 6 – 8.

**B. Pembahasan**

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa penggunaan rumen sapi kering yang difermentasi dengan menggunakan isolat bakteri *Bacillus pumilus* menghasilkan populasi yang berbeda nyata pada masing – masing perlakuan (p<0,05). Data tabel pertumbuhan populasi *Dunaliella salina* terjadi peningkatan populasi pada hari ketiga. Peningkatan tersebut diduga karena adanya pengaruh yang nyata dari pemberian pupuk rumen sapi yang telah difermentasi dengan menggunakan isolate bakteri *Bacillus pumilus*. Dalam meningkatkan jumlah populasi *Dunaliella salina* diperlukan adanya kandungan nutrient makro seperti nitrogen dan phosphor.

Isi rumen sapi memiliki kandungan nutrient cukup tinggi karena belum terserap oleh usus halus sehingga nutriennya tidak berbeda dengan bahan bakunya, bahkan mengandung asam amino essensial dari protein mikroba. Untuk meningkatkan kandungan nutrient tersedia pada rumen sapi, perlu dilakukan fermentasi dengan cara penambahan bakteri *Bacillus pumilus* sebagai fermentor. Dalam pengujian kandungan nutrient yang terkandung pada rumen sapi, dilakukan uji laboratorium untuk menguji nitrogen dan phosphor, dimana pengujian tersebut dilakukan 2 tahap yaitu sebelum fermentasi dan sesudah fermentasi.

Kandungan nitrogen dan phosphor sebelum dilakukan fermentasi sebesar 1,5413 dan 1,22 dan setelah dilakukan fermentasi dengan penambahan bakteri *Bacillus pumilus* kandungan nitrogen dan

phosphor sebesar 1,5415 dan 0,345, ini menunjukkan adanya pengaruh pada nitrogen dan phosphor setelah dilakukan fermentasi. Nitrogen merupakan nutrisi yang dibutuhkan paling banyak untuk pertumbuhan fitoplankton yaitu sebagai unsur penting dalam pembentukan protein (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995), sedangkan unsur fosfor juga dibutuhkan dalam proses metabolisme sel, pembelahan sel dan transfer energi (Richmond, 1986).

Rasio kandungan N dan P rumen sapi setelah mengalami fermentasi, mengalami peningkatan. Sebelum dilakukan fermentasi, rasio N:P rumen sapi adalah 1,26:1 dan setelah mengalami fermentasi adalah 4,46:1. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi nutrisi rumen sapi menjadi lebih sesuai untuk pertumbuhan *Dunaliella salina* dibanding sebelum fermentasi, walaupun belum mencapai ideal. Menurut Shoni (2006), rasio N:P perairan yang optimal untuk pertumbuhan Chlorophyceae adalah 10-20:1. Beberapa penelitian fermentasi bahan organik oleh bakteri, memberikan hasil peningkatan rasio N:P. Prasajo (2010) melakukan fermentasi kotoran ayam menggunakan probiotik EM4 untuk kultur *Dunaliella salina* dan mendapatkan rasio N:P berubah dari 2,69:1 menjadi 3,11. Rositasari (2010) juga mendapatkan peningkatan rasio N:P setelah fermentasi kotoran ayam menggunakan probiotik EM4 untuk kultur *Spirulina* sp dari 2,7:1 menjadi 3,6:1. Dengan peningkatan rasio N:P setelah fermentasi, menjadi lebih mendekati nilai optimal, maka pertumbuhan *Dunaliella salina* menjadi lebih tinggi. Hal ini dapat dibuktikan dari hasil pengamatan, bahwa perlakuan dengan pemberian bakteri memberikan hasil kepadatan *Dunaliella salina* lebih tinggi dibandingkan perlakuan tanpa pemberian bakteri fermentasi.

Pertumbuhan *Dunaliella salina* terdiri dari 4 fase, menurut Isnansetyo dan Kurniastuty (1995), tahap pertumbuhan *Dunaliella salina* terdiri dari 4 fase, yaitu fase adaptasi, fase eksponensial, fase stationer dan fase kematian. Fase adaptasi terjadi pada H0, dimana masih dengan kepadatan yang sama yaitu kurang dari 24 jam setelah penambahan inokulum ke dalam media kultur, fase eksponensial terjadi pada hari ketiga, dimana terjadi puncak kepadatan pada perlakuan B, yaitu rumen sapi kering yang ditambahkan bakteri sebanyak 10%, fase eksponensial merupakan fase dimana ketersediaan nutrisi yang cukup dan kondisi lingkungan kultur yang sesuai. Sedangkan pada fase stationer, merupakan fase terjadinya penurunan kepadatan. Fase stationer terjadi pada hari keempat, dimana populasi *Dunaliella salina* sudah mengalami penurunan pada semua perlakuan, terakhir adalah fase kematian dimana populasi *Dunaliella salina* mengalami penurunan.

Kualitas air merupakan salah satu faktor yang mendukung keberhasilan kultur *Dunaliella salina*. Parameter yang mendukung pertumbuhan populasi *Dunaliella salina* meliputi suhu, salinitas dan pH. Menurut Redjeki dan Ismail (1993) dalam Tjahjo, dkk. (2002), salinitas yang sesuai untuk kultur *Dunaliella salina* berkisar antara 30 – 38 ppt, tetapi salinitas selama penelitian berkisar antara 32 – 48,6 ppt. Hal ini diduga karena sisa nutrisi yang tidak dimanfaatkan oleh *Dunaliella salina* sehingga membuat salinitas pada media kultur meningkat. Pada dasarnya secara biologis *Dunaliella salina* mampu hidup dan tumbuh pada rentang kadar garam yang sangat luas karena komposisi dinding sel yang didominasi oleh gliserol yang menyebabkan mudahnya proses adaptasi

(Ben-amotz, 1999). Hal ini terbukti pada penelitian Siska dkk., (2006) bahwa *Dunaliella salina* masih dapat tumbuh optimal dengan media air laut bersalinitas 140 ppt.

Menurut Ekawati (2005) suhu air yang baik untuk *Dunaliella salina* berkisar antara 20 – 40° C, sedangkan suhu selama penelitian berkisar antara 25 – 33° C. Suhu air akan mempengaruhi proses pertukaran zat, kadar oksigen dan laju reaksi kimia. Suhu air dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang berasal dari lampu dan juga radiasi sinar matahari selain itu juga disebabkan karena ruangan yang digunakan untuk kultur merupakan ruangan yang berada di luar, dimana suhu tidak terkontrol. Derajat Keasaman (pH) medium pemeliharaan berkisar antara 6 – 8. Menurut Loeblich (1982) dalam Borowitzka (1990), pH yang baik untuk kultur *Dunaliella salina* berkisar 9.

### KESIMPULAN

Penggunaan rumen sapi yang difermentasi dengan menggunakan bakteri *Bacillus pumilus* sebagai pupuk organik untuk pertumbuhan populasi *Dunaliella salina* berpengaruh nyata terhadap populasi *Dunaliella salina* dengan dosis bakteri *Bacillus pumilus* 10% dan mengalami kepuncakan pada hari ketiga.

Penggunaan rumen sapi yang difermentasi dengan bakteri *Bacillus pumilus* 10% sebagai pupuk organik dapat meningkatkan pertumbuhan kepadatan *Dunaliella salina* dengan rata – rata tertinggi sebanyak 875.000 pada hari ketiga.

Pertumbuhan populasi *Dunaliella salina* dapat ditingkatkan dengan menggunakan rumen sapi yang difermentasi dengan pemberian bakteri *Bacillus pumilus*

sebanyak 10%. Namun masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut kandungan nutrisi *Dunaliella salina* dengan menggunakan pupuk organik rumen sapi yang difermentasi dengan menggunakan bakteri *Bacillus pumilus*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ali, U. 2005. Pengaruh Penggunaan Onggok dan Isi Rumen Sapi dalam Pakan Komplit Terhadap Penampilan Kambing Peranakan Etawah. Dalam : Jurnal Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Airlangga.
- Anggoroadi, R. 1985. Kemajuan Mutakhir Dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas. U-I press. Jakarta. Hal. 3 – 280.
- Beker. E. W. 1994. Microalgae Biotechnology and Microbiology. Cambrige University Press
- Borowitzka, M. A. 1990. The Mass Culture of *Dunaliella salina*. <http://www.fao.org>. 09/08/2009. 16 hal.
- Chrimada, T., Rosidah, Y. Mardiaty dan T. Mutiana. 1999. Pertumbuhan dan Komposisi Biokimia Alga *Tetraselmis sp.* Pada Konsentrasi Nitrogen Tinggi. LIPI. Edisi November. 6 hal
- Edhy,. W. A., J. Pribadi dan Kurniawan. 2003. Plankton. PT. Central Pertiwi Bahari. Kalimantan Barat. Hal. 1 – 29.
- Ekawati, A. W. 2005. Diktat Kuliah Budidaya Pakan Alami. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. Hal. 3 – 48.
- El Bas, F. K., Ahmed M, Aboul E, Gamal S. 2002. Accumulation of Antioxidant Vitamins in *Dunaliella*

- salina*. www.sciencedirect.com. 10/08/2009. 4pp.
- Hasan, F. 2009. Production of Antibacterial Compounds by Free and Immobilized *Bacillus pumilus*. Islamabad, Pakistan
- Holt, J. G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9nd Ed. William & Wilkins. 377-390p
- Hosei. 2008. *Dunaliella salina*. [http://protist.i.hosei.ac.jp/Dunaliella/salina\\_1.jpg](http://protist.i.hosei.ac.jp/Dunaliella/salina_1.jpg). 10/11/2009. 1 hal.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Ateknik Kultur Fitoplankton dan Zooplanton. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. hal. 46 – 85.
- Jemiati. 2002. Pengaruh Perbedaan Salinitas Terhadap Pertumbuhan *Chlorella sp.* pada Media yang Diperkaya Dengan Limbah Pabrik Gula. Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. hal. 1 – 46.
- Kunkel, D. 2008. *Image Bacillus pumilus*. Dennis Kunkel Microscopy, Inc./Visuals Unlimited, Inc.
- Kusriani dan E. Yuli. 2005. Buku Ajar Planktonologi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. hal. 1 – 41.
- Kusriningrum, R. S. 2008. Perancangan Percobaan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal. 165 – 173.
- Lamid, M., Siti Chuzaemi, Ni Nyoman Tri Puspaningsih dan Kusmartono. 2006. Inokulasi Bakteri Xilanolitik Asal Rumen sebagai Upaya Peningkatan Nilai Nutrisi Jerami Padi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. <http://www.mirnilamid@yahoo.com>. 11/03/2010. 7 hal
- Rositasari, C. 2010. Pengaruh Lama Fermentasi Kotoran Ayam Dengan EM4 Sebagai Pupuk Terhadap Populasi *Spirulina platensis*
- Satyantini, W. H. dan E. D. Masithah. 2008. Diktat Penuntun Praktikum Budidaya Pakan Alami. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya. hal. 28 – 49.
- Suriawiria, Unus. 2002. Omega 3 Ikan Mengurangi Ancaman Sakit Jantung.ITB. <http://www.gizi.net/cgi-bin/berita/fullnews.cgi?newside1022821996,69729>. Tanggal akses 23 Agustus 2009.
- Suzuki, Taneko. 1981. *Fish and Krill Protein : Processing Technology*. Applied Science Publishers Ltd. London.