

KANDUNGAN PROTEIN, LIPID DAN KARBOHIDRAT SERTA TEKNIK
 PENYIMPANAN MIKROALGA PEKAT *Nannochloropsis* spp.

NURUL SYAHIDATUL AINI BINTI ABU BAKAR

DISERTASI INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN
DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS
DENGAN KEPUJIAN

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PROGRAM AKUAKULTUR
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

APRIL 2007



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: KANDUNGAN PROTEIN, LIPID DAN KARBOHIDRAT SERTA
TEKNIK PENYIMPANAN MIKROALGA PEKAT Nannochloropsis sp

Ijazah: Sarjana Muda Sains

SESI PENGAJIAN: 2004/2005

Saya NURUL SYAHIDATUL HINI BINTI ABU BAKAR. HS 2004-1878
 (HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/Sarjana/Doktor Falsafah)* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hak milik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sabaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. **Sila tandakan (/)

SULIT

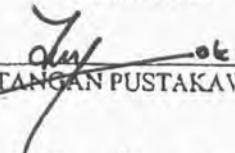
(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh



(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

(TANDATANGAN PENULIS)

Alamat Tetap: B-28kg Pak Ngah
Aziiz Bukit Goh, 26050, Kuantan
Pahang

Tarikh: 11 April 2005

Tarikh: _____

Dr Siti Rachanah M-Shaleh

Nama Penyelia

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

@ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

11 April 2007



Nurul Syahidatul Aini binti Abu Bakar

HS2004-1878



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DIPERAKUKAN OLEH

1. PENYELIA

DR. SITI RAEHANAH MD SHALEH

Tandatangan

2. PEMERIKSA 1

(.....**KENNEDY AARON AGUOL**.....)

Pensyarah
Institut Penyelidikan Marin Borneo
Universiti Malaysia Sabah

3. PEMERIKSA 2

(**DR. NORMAWATHY M. NOOR**.....)

4. DEKAN

(**SUPRIKS PROF MADYA DR SHARIFAH KOMANG**)



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGHARGAAN

Assalamualaikum. Pertama sekali saya ingin mengucapkan berbanyak-banyak terima kasih yang tidak terhingga kepada penyelia, Dr.Sitti Raehanah Muhammad Shaleh yang sentiasa memberi perhatian dan mengikuti setiap perkembangan semasa kajian ini dijalankan. Terima kasih juga atas setiap cadangan dan saranan berguna beliau untuk memastikan penghasilan kajian ini berjalan dengan lancar.

Terima kasih juga kepada Puan Rositta Shapawi yang memberi tunjuk ajar semasa analisis makmal, kepada pembantu makmal, En.Duasin Liman, En.Ashram, En. Ismail Tajul dan En.Junaidi.

Kepada kedua-dua orang yang paling saya sayangi iaitu kedua ibu bapa saya, Puan Selema binti Abdul Rahman dan En. Abu Bakar bin Abdul Rahman. Terima kasih diatas sokongan dan dorongan yang tidak jemu-jemu diberikan. Setiap nasihat akan dijadikan panduan dalam kehidupan yang mendatang. Setinggi-tinggi penghargaan juga kepada abang-abang dan adik-adik saya yang memahami setiap apa yang saya rasa selama ini.

Terakhir sekali, ucapan terima kasih yang tidak terhingga kepada kawan-kawan yang banyak memberikan sokongan moral iaitu Syahirah binti Yahaya, Nurshamimi bt. Md. Yazid, Norazliza bt. Aziz, Nurhazwani bt. Idrus dan Seri Haryani bt. Ahmad Kamil. Terima kasih kerana menjadi pencetus semangat selama kita bersahabat.

Wassalam....

ABSTRACT

Nannochloropsis spp., a microalgae marine has high potential as a live feed for rotifer and fish larvae because of the high eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n3), protein, lipid and carbohydrate. This study intended to determine whether the storing technique of concentrated *Nannochloropsis* spp. will affect the protein, lipid and carbohydrate content. This study also conducts to determine the best technique to store the concentrated *Nannochloropsis* spp. that can preserve the biochemicals content. Concentrated *Nannochloropsis* spp. was stored in two ways which is by shaking and non-shaking. The biochemical contents were also estimated at different shelf-life. The result show that the non-shaking concentrated *Nannochloropsis* spp. can preserve the biochemical content as well as can be kept longer compared to shaking concentrated *Nannochloropsis* spp. This maybe due to cell damage while shaking the product.

ABSTRAK

Nannochloropsis spp., sejenis mikroalga marin mempunyai potensi yang tinggi sebagai makanan hidup kepada rotifer dan larva ikan kerana kaya dengan asid eikosapentanoik (EPA, C20:5n3), protein, lipid, dan karbohidrat. Kajian ini dilakukan untuk mengetahui samada teknik dan hayat-penyimpanan *Nannochloropsis* spp. Pekat mempengaruhi kandungan protein, lipid dan karbohidrat *Nannochloropsis* spp. Pekat dan untuk mengetahui teknik penyimpanan *Nannochloropsis* spp. Pekat terbaik yang dapat memelihara kualiti kandungan biokimianya. *Nannochloropsis* spp. Pekat disimpan dengan menggunakan dua teknik penyimpanan iaitu digoncang dan tidak digoncang. Kandungan biokimia diukur bagi hayat-penyimpanan yang berbeza. Didapati bahawa *Nannochloropsis* spp. Pekat yang tidak digoncang dapat mengekalkan mutu serta mempunyai hayat-penyimpanan yang lebih lama berbanding *Nannochloropsis* spp. Pekat yang digoncang. Ini mungkin disebabkan kerosakan sel *Nannochloropsis* spp. daripada kocakan yang dilakukan.

KANDUNGAN

	Muka surat
PENGAKUAN	i
PENGESAHAN	ii
PENGHARGAAN	iii
ABSTRACT	iv
ABSTRAK	v
SENARAI KANDUNGAN	vi
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI RAJAH	x
SENARAI GAMBAR	xi
SENARAI SINGKATAN	xii
SENARAI SIMBOL	xiii
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif kajian	4
 BAB 2 ULASAN RUJUKAN	 5
2.1 Kepentingan makanan hidup dalam industri akuakultur.	5
2.2 <i>Nannochloropsis</i> spp.	6
2.2.1 Pengkelasan	6
2.2.2 Taburan	7
2.2.3 Kepentingan <i>Nannochloropsis</i> spp. dalam industri akuakultur	7
2.2.4 Masalah pengkulturan <i>Nannochloropsis</i> spp.	8
2.2.5 <i>Nannochloropsis</i> spp. Pekat	9
2.3 Teknik-teknik Penyimpanan.	10
2.4 Potensi <i>Nannochloropsis</i> spp. dalam membantu perkembangan pengkulturan rotifer.	12

2.5 Kandungan biokimia	13
2.5.1 Protein	14
2.5.2 Lipid	15
2.5.3 Karbohidrat	16
BAB 3 KAE DAH KAJIAN	17
3.1 Ringkasan kaedah kajian	17
3.2 Pengkulturan <i>Nannochloropsis</i> spp.	18
3.3 Kaedah pemekatan mikroalga (<i>Nannochloropsis</i> spp.)	19
3.4 Persampelan <i>Nannochloropsis</i> spp.	21
3.5 Analisis kandungan biokimia	21
3.5.1 Analisis kandungan protein	22
3.5.2 Analisis kandungan lipid	23
3.5.3 Analisis kandungan karbohidrat.	24
3.6 Analisis statistik	25
BAB 4 KEPUTUSAN KAJIAN	26
4.1 Keputusan analisis data	26
4.2 Kandungan Protein	27
4.3 Kandungan Lipid	29
4.4 Kandungan Karbohidrat.	31
BAB 5 PERBINCANGAN	34
BAB 6 KESIMPULAN KAJIAN	38
6.1 Kesimpulan kajian.	38
6.2 Cadangan	40

RUJUKAN	41
LAMPIRAN A	44
LAMPIRAN B	45
LAMPIRAN C	46
LAMPIRAN D	47
LAMPIRAN E	48
LAMPIRAN F	49
LAMPIRAN G	50
LAMPIRAN H	51

SENARAI JADUAL

No.Jadual	Muka Surat
1.1 Contoh-contoh spesies mikroalga yang dikulturkan dalam di Mediterranean.	2
2.1 Kandungan biokimia mikroalga yang digunakan dalam industri akuakultur.	13
3.1 Nilai parameter yang air digunakan dalam pengkulturan mikroalga	18

SENARAI RAJAH

No.Rajah	Muka Surat
4.1 Kandungan Protein <i>Nannochloropsis</i> spp. Pekat yang digoncang	27
4.2 Kandungan Protein <i>Nannochloropsis</i> spp. Pekat yang tidak digoncang	28
4.3 Kandungan Lipid <i>Nannochloropsis</i> spp. Pekat yang digoncang	29
4.4 Kandungan Lipid <i>Nannochloropsis</i> spp. Pekat yang tidak digoncang	30
4.5 Kandungan Karbohidrat <i>Nannochloropsis</i> spp. Pekat yang digoncang	31
4.6 Kandungan Karbohidrat <i>Nannochloropsis</i> spp. Pekat yang tidak digoncang	32

**UMS**
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

SENARAI GAMBAR

No.Gambar		Muka Surat
3.1	Tangki yang digunakan untuk pengkulturan <i>Nannochloropsis</i> spp.	19
3.2	Sterapo™	20
3.3	Spektrofotometer UNICO SERIES 2100	23

SENARAI SINGKATAN

ATP	Adenosina Trifosfat
C	Karbon
CO ₂	Karbon Dioksida
-COOH	Kumpulan Karboksil
DHA	Asid Dokosaheksainoik
EPA	Asid Eikosapentanoik
H	Hidrogen
H ₂ SO ₄	Hidrogen Sulfat
HCl	Hidrogen Klorida
HgI ₂	Merkuri Iodat
HUFA	High Unsaturated Fatty Acid
K	Kalium
K ₂ S ₂ O	Kalium Sulfat
KI	Kalium Iodat
L	Liter
N	Nitrogen
NaCl	Natrium Klorida
NaOH	Natrium Hidroksida
-NH ₂	Kumpulan Amino
O	Oksigen
P	Fosfat
pH	$-\log_{10} [H^+]$
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acid
S	Sulfat

SENARAI SIMBOL

μ	mikro
μm	micrometer
μl	mikroliter
mg	milligram
mL	milliliter
$\mu\text{g/mL}$	mirogram per milliliter
mg/mL	miligram per milliliter
mg/L	milligram per Liter
%	peratus
° C	darjah celcius
sel/mL	sel per milliliter
v:v:v	isipadu:isipadu:isipadu

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Di persekitaran akuatik semulajadi, sama ada di air tawar atau air masin, rangkaian rantai makanan selalunya bermula dengan organisma planktonik. Mikroalga merupakan alga planktonik yang bersifat unisel dan mempunyai beberapa taksonomi yang berlainan. Dalam industri akuakultur, mikroalga digunakan sebagai makanan hidup kepada larva molluska, krustasea serta zooplankton seperti rotifer (Bernabe, 1994).

Antara kriteria-kriteria yang menjadikan mikroalga penting dalam industri akuakultur adalah ia mempunyai nilai nutrien yang tinggi seperti protein, lipid, karbohidrat, asid eikosapentanoik (EPA) dan asid dokosaheksaenoik (DHA). Nilai nutrien yang tinggi amat berguna kepada rotifer dan larva ikan. Sifat mikroalga yang mudah dicernakan menjadikan ia sebagai pilihan utama rotifer sebagai makanan serta mempunyai kadar pembiakan yang tinggi.



Penggunaan mikroalga dalam industri akuakultur telah lama bermula. Antara tempat yang menjadi perintis kepada pengkulturan mikroalga untuk tujuan akuakultur adalah di Jepun dan Mediterranean. Di Jepun, pengkulturan mikroalga seperti *Nannochloropsis* spp. telah bermula seawal 1960-an sebagai makanan kepada rotifer (Hagiwara, 2001). Jadual 1.1 menunjukkan beberapa spesies mikroalga yang dikultur di Mediterranean.

Jadual 1.1 Contoh-contoh spesies mikroalga yang dikulturkan di Mediterranean (Alessandro, 1999).

Famili	Spesies
Bacillariophyceae	<i>Chatoceros calcitrans</i>
	<i>Skeletonema costatum</i>
Haptophyceae	<i>Isochrysis galbana</i>
	<i>Isochrysis</i> sp. (Tahitian strain)
	<i>Pavlova</i> (<i>Monochrysis</i>) <i>lutheri</i>
Chrysophyceae	<i>Tetraselmis</i> (<i>Platymonas</i>) <i>suecica</i>
	<i>Tetraselmis</i> (<i>Platymonas</i>) <i>chuui</i>
	<i>Tetraselmis</i> (<i>Platymonas</i>) <i>tetrathele</i>
Chlorophyceae	<i>Dunaliella tertiolecta</i>
	<i>Chlorella</i> sp.
Eustigmatophyceae	<i>Nannochloropsis gaditana</i>
	<i>Nannochloropsis oculata</i>

Nannochloropsis spp. adalah salah satu spesies mikroalga yang dikulturkan di hatceri Universiti Malaysia Sabah sebagai makanan hidup terutamanya kepada rotifer dan larva ikan. Spesies ini mempunyai kandungan nutrien yang tinggi berbanding *Artemia*

dan yis. Penggunaan produk *Nannochloropsis* spp. Pekat atau ‘concentrated *Nannochloropsis* spp.’ telah lama diamalkan di hatcheri-hatcheri kerana dapat membantu mengurangkan ruang pengkulturan dan kos pengkulturan yang tinggi.

Hayat-penyimpanan *Nannochloropsis* spp. Pekat yang lama serta keadaan bagaimana ia disimpan mungkin akan menurunkan kualiti kandungan biokimianya. Melalui kajian ini, *Nannochloropsis* spp. Pekat yang disimpan diuji menggunakan teknik penyimpanan yang berlainan untuk melihat sejauh manakah teknik-teknik tersebut dapat membantu untuk memelihara kualiti kandungan biokimianya iaitu protein, lipid dan karbohidrat. Teknik yang sesuai akan digunakan dalam industri akuakultur serta menggalakkan pengusaha hatcheri menghasilkan *Nannochloropsis* spp. Pekat sendiri tanpa perlu membelinya dari sumber yang lain. Di pasaran Malaysia hari ini, harga bagi sebotol *Nannochloropsis* spp. Pekat yang diimport dari USA boleh mencapai sehingga RM 300/L.

1.2 Objektif kajian

Matlamat utama kajian ini dilakukan adalah untuk mengetahui teknik penyimpanan yang terbaik bagi *Nannochloropsis* spp. Pekat supaya dapat digunakan dalam tempoh masa yang lama dan mengekalkan kualiti kandungan biokimianya. Antara objektif khusus kajian ini adalah :

1. Mengukur kandungan protein, lipid dan karbohidrat dalam *Nannochloropsis* spp. Pekat yang dihasilkan di hatcheri Universiti Malaysia Sabah.
2. Menentukan teknik penyimpanan terbaik serta hayat-penyimpanan *Nannochloropsis* spp. Pekat.

BAB 2

ULASAN RUJUKAN

2.1 Kepentingan makanan hidup dalam industri akuakultur.

Sumber makanan hidup yang tergolong dalam kumpulan fitoplankton seperti *Nannochloropsis* spp., *Isochrysis galbana* dan kumpulan zooplankton seperti rotifer mempunyai kepentingannya tersendiri dalam industri akuakultur. Kandungan nutrien terpenting seperti protein, lipid, EPA dan DHA yang tinggi dalam makanan hidup berperanan untuk proses tumbesaran bagi larva (Bernabe, 1994).

Fitoplankton seperti *Nannochloropsis* spp. boleh digunakan untuk proses pengkayaan rotifer bagi memastikan larva ikan yang diberikan rotifer memperoleh nutrien yang mencukupi. Ini secara tidak langsung membantu tumbesaran larva ikan. Kajian Lubzens *et al.* (1989) menunjukkan bahawa makanan hidup seperti rotifer bukan sahaja boleh digunakan sebagai sumber natrium malah digunakan sebagai biokapsul yang memindahkan agen terapeutik kepada larva ikan.

Kajian Verpraet *et al.* (1992) menunjukkan rotifer mampu menjadi medium pemindahan bakteria probiotik terhadap larva ikan. Selain rotifer, *Artemia* juga menjadi makanan hidup bagi larva yang diternak di hatcheri-hatcheri. Telur *Artemia* boleh disimpan dalam jangka masa yang panjang dan boleh digunakan apabila diperlukan . Makanan hidup yang diberikan kepada larva ikan tidak mengganggu kualiti air serta tidak menghasilkan toksik kepada air (Xing dan Li, 1991).

2.2 *Nannochloropsis* spp.

2.2.1 Pengkelasan

Nannochloropsis spp. adalah sejenis mikroalga yang tergolong di dalam filum Eustigmatophyta dan kelas Eustigmatophyceae (Kuparinen dan Kuosa, 1993). *Nannochloropsis* spp. mempunyai beberapa spesies seperti *Nannochloropsis oculata*, *Nannochloropsis gaditana*, *Nannochloropsis limnetica*, *Nannochloropsis salina* dan *Nannochloropsis granulata*. *Nannochloropsis* spp. atau lebih dikenali sebagai *Chlorella* marin (Liliana *et al.*, 2003) mempunyai saiz 2-4 μm (diameter). Ia tergolong dalam organisma eukaryot dan berbentuk sfera serta bujur Selain itu, mikroalga ini juga mempunyai kloroplas untuk fotosintesis dan pigmen karotenoid (Luisa, 2004).

2.2.2 Taburan

Walaupun mikroalga kelas Eustigmatophyceae lain didapati tertabur di persekitaran air tawar dan di dalam tanah, *Nannochloropsis* spp. pula hidup di persekitaran air masin. Pengkulturan *Nannochloropsis* spp. telah berkembang dengan meluas di negara Jepun. Malah, *Nannochloropsis* spp. juga banyak didapati di Mediterranean dan Denmark (Gelin, 1999)

2.2.3 Kepentingan *Nannochloropsis* spp. Dalam Industri Akuakultur.

Penggunaan mikroalga seperti *Nannochloropsis* spp. dalam industri akuakultur di Jepun telah lama berkembang dan dikultur secara meluas di hatceri. *Nannochloropsis* spp. adalah unik dari organisma uniselular lain kerana kaya dengan kandungan asid lemak, asid eikosapentanoik (EPA, C₂₀:5n3), protein, lipid, karbohidrat dan vitamin B₁₂ (Lubzens *et al.*, 1995). Vitamin B₁₂ membantu peningkatan populasi rotifer dengan cepat (Scott, 1981) dan EPA meningkatkan nilai nutrien rotifer untuk diberikan kepada larva ikan (Masanori, 1991). Selain menjadi makanan asas dalam rantai makanan, ia membantu meningkatkan penghasilan rotifer dan pertumbuhan larva ikan. Teknik air hijau atau ‘green water’ dihasilkan dengan mikroalga ini. Teknik ‘green water’ terbukti berkesan meningkatkan kadar persaingan antara larva ikan dan meningkatkan kualiti larva (Olsen *et al.*, 2004).

2.2.4 Masalah Pengkulturan *Nannochloropsis* spp.

Perubahan persekitaran seperti cahaya, cuaca, suhu dan saliniti mempengaruhi penghasilan *Nannochloropsis* spp.. Menurut Hagiwara *et al.* (2001), pengkulturan *Chlorella*, sejenis mikroalga air tawar di Jepun lebih meluas berbanding *Nannochloropsis* spp.. Kajian yang dilakukan menunjukkan bahawa kadar pembiakan *Chlorella* lebih cepat iaitu selama 3 jam manakala *Nannochloropsis* spp. memerlukan kira-kira 16 jam. Ini kerana *Nannochloropsis* spp. memerlukan cahaya yang banyak untuk melakukan proses fotosintesis berbanding *Chlorella* yang tidak bergantung pada cahaya untuk membiak (Hagiwara *et al.* , 2001). *Chlorella* memperolehi sumber karbon yang terdapat di persekitarannya sebagai medium alternatif untuk membiak. Secara tidak langsung, pengkulturan *Chlorella* menjadi lebih berkesan serta dapat menjimatkan kos dan masa. Kekurangan cahaya akan menyebabkan *Nannochloropsis* spp. tidak dapat mengimbangkan penyerapan tenaga dan mengurangkan tenaga kimia (ATP) yang digunakan untuk proses pertumbuhan dan kestabilan sel (Avigad dan Giuseppe, 2004).

Selain itu, pengkulturan *Nannochloropsis* spp. dalam kadar yang banyak akan membebankan pengusaha hatceri kerana ia memerlukan ruang yang luas, cahaya mencukupi untuk fotosintesis serta penjagaan yang rapi. Pengkulturan *Nannochloropsis* spp. di kawasan terbuka terdedah kepada pencemaran oleh spesies alga lain, bakteria protozoa dan jangkitan dari organisme patogenik (Oded dan Amos, 2004). Kehadiran organisma asing menyebabkan berlakunya persaingan dengan mikroalga yang dikultur

untuk mendominasi persekitaran tersebut. Oleh itu, amat sukar untuk menyeimbangkan dan meningkatkan penghasilan *Nannochloropsis* spp.

Perubahan cuaca menyukarkan penghasilan *Nannochloropsis* spp. yang seragam sepanjang tahun. Pengkulturan *Nannochloropsis* spp. di kawasan terbuka menyebabkan *Nannochloropsis* spp. terdedah kepada hujan dan panas yang keterlaluan. Hujan yang banyak menyebabkan *Nannochloropsis* spp. yang dihasilkan di kawasan terbuka lemas dan kekurangan cahaya matahari. Suhu tinggi pada hari yang panas juga menyebabkan kematian sel-sel *Nannochloropsis* spp. akibat proses pengoksidaan berlebihan (Oded dan Amos, 2004). Nilai pH yang tidak sekata akan menyebabkan penghasilan *Nannochloropsis* spp. terganggu di mana nilai pH yang terlampau tinggi atau rendah melambatkan pertumbuhan alga dan mengganggu proses sel-sel *Nannochloropsis* spp. (Tsuneo, 1991).

Untuk mengatasi masalah-masalah ini, *Nannochloropsis* spp. Pekat atau ‘concentrated’ *Nannochloropsis* spp. telah diperkenalkan.

2.2.5 *Nannochloropsis* spp. Pekat

Nannochloropsis spp. Pekat adalah hasil dari proses pengasingan sel-sel *Nannochloropsis* spp. daripada medium kultur. Pengasingan sel-sel *Nannochloropsis* spp. dilakukan dalam pelbagai kaedah seperti pengemparan, mikrofilter atau ultrafilter (Molina *et al.*, 2004). *Nannochloropsis* spp. Pekat yang kaya dengan nutrien dapat membantu penghasilan

RUJUKAN

- Alessandro, M., Fernandez-Criado, M. P., Cittolin, G. dan Guidastri, R., 1999. *Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Arnaud, M. F., Jeanna, M. dan Raymond, K., 2003. The Microalgae of Aquaculture. Dlm: Josianna, G. S. dan Lesley, A. M. (pnyt.). *Live Feeds In Marine Aquaculture*. Blackwell Publishing, Britain.
- Avigad, V. dan Giuseppe, T., 2004. Environmental Stress Physiology. Dlm: Amos, R. (pnyt.). *Handbook of Microalgal Culture-Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing, India.
- Bernabe, G., 1994. The Production of Aquatic Organisms. Dlm: Bernabe, G. (pnyt.). *Aquaculture, Biology and ecology of cultured species*. Ellis Horwood, Britain.
- Cañavate, J. dan Fernández-Díaz, C., 2001. Pilot evaluation of freeze-dried microalgae in the mass rearing of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* **193** (3-4), 257-269.
- Folch, J., Lees, M., Soane, G. H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Biology Chemistry* **226**, 497-509.
- Gelin, F., Volkman, J. K., Largeau, C., Derenne, S., Sinninghe, J. S. D, De Leeuw, J. W., 1999. Distribution of aliphatic, nonhydrolyzable biopolymers in marine microalgae. *Organic Geochemistry* **30**, 147-159.
- Hagiwara, A., Gallardo, W. G., Assavaaree, M., Kotani, T. dan De Araujo, A. B., 2001. Live food production in Japan: Recent progress and future aspects. *Aquaculture* **200** (1-2), 111-127.
- Jobling, M., 2004. On-Growing to Market Size. Dlm: Mokness, E., Kjørsvik, E. dan Olsen, Y. (pnyt.). *Culture of Cold-Water Marine Fish*. Blackwell Publishing, Britain.
- King, J. M. dan Liang, X. M., 2002. Nutritional properties of the marine rotifer *Brachionus plicatilis* fed the freshwater microalgae *Selenastrum capricornutum*. *Journal of the World Aquaculture Society* **33** (4), 478-488.

- Kochert , G., 1978. Carbohydrate determination by phenol-sulfuric acid method. Dlm : Hellbus, J. A. C. (pnyt.). *Handbook of Physiological and Biochemical Methods.* (eds). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Kuparinen, J. dan Kuosa, H., 1993. Autotrophic and Heterotrophic Picoplankton in the Baltic Sea. *Advances in Marine Biology* **29**, 73-128.
- Liliana R., G. C. Z., L. B., G. R. dan Mario, R. T., 2003. Growth medium recycling in *Nannochloropsis* sp. mass cultivation. *Biomolecular Engineering* **20**, 243-248.
- Lubzens, E., Tandler, A. dan Minkoff, G., 1989. Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia* (186-187), 387-400.
- Lubzens, E., Gibson, O., Zmora, O. dan Sukenik, A., 1995. Potential advantages of frozen algae (*Nannochloropsis* sp.) for rotifer (*Brachionus plicatilis*) culture. *Aquaculture* **133**, 295-309.
- Luisa, T., 2004. The microalgal cell. Dlm: Amos, R. (pnyt.). *Handbook of Microalgal Culture-Biotechnology and Applied Phycology.* Blackwell Publishing, Britain.
- Masanori, O., 1991. The status of phytoplankton productions as food organisms in Japan. Dlm: Wendy, F. dan Kevan, L. M. (pnyt.). *Rotifer and Microalgae Culture Systems-Proceedings of a U.S –Asia Workshop.* The Oceanic Institute, Hawaii.
- Molina, E. G., Fernandez, F. G. A., Medina, A. R., 2004. Downstream Processing of Cell-mass and Production. Dlm: Amos, R. (pnyt.). *Handbook of Microalgal Culture- Biotechnology and Applied Phycology.* Blackwell Publishing, Britain.
- Oded, Z. dan Amos, R., 2004. Microalgal for Aquaculture- Microalgae Production for Aquaculture. Dlm: Amos, R. (pnyt.). *Handbook of Microalgal Culture- Biotechnology and Applied Phycology.* Blackwell Publishing, Britain.
- Olsen, Y., Meeren, T. V. D. dan Reitan, K. I., 2004. First Feeding Technology. Dlm: Mokness, E., Kjørsvik, E. dan Olsen, Y. (pnyt.). *Culture of Cold-Water Marine Fish.* Blackwell Publishing, Britain.
- Qiang, H., 2004. Environmental Effects On Cell Composition. : Amos, R. (pnyt.). *Handbook of Microalgal Culture-Biotechnology and Applied Phycology.* Blackwell Publishing, Britain.

- Renaud, S. M., Luong-Van, T., Parry, D. L., 1999. The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture. *Aquaculture* **170**, 147-159.
- Rick, P., 1995. *Aquaculture Science*. Delmar Publisher, London.
- Robert, P. W., 1989. Amino acid and proteins. Dlm: John, E. H. (pnyt.). *Fish Nutrition* Ed. Ke-2. Academic Press, Inc, Washington.
- Scott, J. M, 1981. The Vitamin B12 Requirements of the Marine Rotifer *Brachionus Plicatilis*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* **61**, 983-994.
- Stickney, R. R., 2005. *Aquaculture an Introductory Text*. CABI Publishing, London.
- Thisbe, K. L., 2003. *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. Ed Ke-2.WILEY-VCH, Jerman.
- Tsuneo, M., 1991. A review of automation and mechanization used in the production of rotifers in Japan. Dlm: Wendy, F. dan Kevan, L. M. (pnyt.). *Rotifer and Microalgae Culture Systems- Proceedings of a U.S -Asia Workshop*. The Oceanic Institute, Hawaii.
- Verpraet, R., Chair, M., Leger, P., Nelis, H., Sorgeloos, P. dan De-Leenheer, A., 1992. Live-food mediated drug delivery as a tool for disease treatment in larviculture. The enrichment of therapeutics in rotifers and Artemia Nauplii. *Aquaculture Engineering* **11**, 133-139.
- Wendy, F. dan Kevan, L. M., 1991. *Rotifer and Microalgae Culture Systems*. The Oceanic Institute, Hawaii.
- Wolfgang, B., 2004. Microalgae in Human and Animal Nutrition. Dlm: Amos, R. (pnyt.). *Handbook of Microalgal Culture-Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing, India.
- Xing, Q. C. dan Li, J. L., 1991. Research and Production of Live Feeds in China. Dlm: Wendy, F. dan Kevan, L. M. (pnyt.). *Rotifer and Microalgae Culture Systems- Proceedings of a U.S -Asia Workshop*. The Oceanic Institute, Hawaii.