
**STUDI KARAKTERISTIK PERTUMBUHAN EMPAT JENIS SPECIES MIKROALGA
DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA**

**STUDY AND CHARACTERIZATION GROWTH OF FOUR MICROALGAE SPECIES
AND TEST ANTIMICROBIAL ACTIVITY**

Marniati Salim*, Abdi Dharma, Anggie Wahyulya Putri

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

*e-mail korespondensi: bundosalim@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini mempelajari karakteristik pertumbuhan mikroalga (*Dunaliella salina*, *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii* & *Chaetoceros calcitrans*), pada medium yang berbeda yaitu Bold's Basal Medium (BBM) dan modifikasi BBM air laut. Hasil yang didapat mikroalga (*N. oculata*, *T. chuii*, *C. calcitrans*) lebih baik tumbuh pada media BBM sedangkan mikrolaga *D. salina* baik tumbuh pada modifikasi BBM air laut. Biomassa mikroalga di ekstrak dengan metoda maserasi dalam pelarut heksana dan metanol. Bakteri uji digunakan gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Escherichia coli*). Hasil diameter zona hambat dibandingkan dengan uji sensitivitas antimikroba menurut *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Dari hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak heksana dan metanol mikroalga (*D. salina*, *N. oculata*, *T. chuii*, *C. calcitrans*) menunjukkan bahwa ekstrak tidak terlalu sensitif menghambat pertumbuhan bakteri

Kata kunci : mikroalga, medium, antimikroba

Abstract

In this study to the growth characteristics of microalgae (*Dunaliella salina*, *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii* & *Chaetoceros calcitrans*), in different mediums, namely Bold's Basal Medium (BBM) and BBM modification of sea water. The results obtained from microalgae (*N. oculata*, *T. chuii*, *C. calcitrans*) are better grown on BBM media while microlaga *D. salina* grows well on BBM modification of sea water. Microalgae biomass is extracted by maceration method in hexane and methanol solvents. Test bacteria used gram positive (*Staphylococcus aureus*) and gram negative (*Escherichia coli*). Inhibitory zone diameter results were compared with antimicrobial sensitivity tests according to *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. From the results of microalgae hexane and methanol extract antibacterial activity tests (*D. salina*, *N. oculata*, *T. chuii*, *C. calcitrans*) showed that the extract was not too sensitive to inhibit bacterial growth.

Keywords: microalgae, medium, antimicrobial

PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan mikroorganisme uni seluler fotosintetik yang dapat ditemukan dalam air laut dan air tawar, pada lokasi yang lembab dan mampu melakukan proses fotosintesis untuk membuat makanannya sendiri sehingga termasuk kedalam jenis fotoautotrof. Mikroalga pada saat ini adalah salah satu komoditi hasil perairan yang memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan seiring perkembangan bioteknologi mikroalga dengan sejumlah penelitian yang dapat menghasilkan produk bermanfaat dan bernilai tinggi diantara sebagai sumber bahan kimia yang dapat menghasilkan

produk seperti, gliserol, vitamin, protein, pigmen, enzim, dan bahan – bahan bioaktif lainnya yaitu antara lain sebagai antioksidan, bahan obat – obatan, bahan pangan, dan zat pengatur pertumbuhan (Kabinawa, 2001).

Mikroalga memiliki peranan penting dalam ekosistem perairan sebagai sumber makanan, pelindung fisik bagi organisme perairan karena dalam biomassa mikroalga mengandung komposisi kimia yang potensial. Secara umum, mikroalga mempunyai kandungan lipid sekitar 8 – 15% dan protein sebanyak 30 – 50%, selain itu mikroalga juga mempunyai kandungan karbohidrat yang mencapai 20-40%.

Dari jumlah total karbohidrat, 45-97% merupakan polisakarida (Cavallo, 2013 & Naviner, 1999).

Mikroalga mengandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, vitamin, mineral dan juga senyawa bioaktif. Potensi mikroalga sangat besar sebagai sumber berbagai produk, diantaranya sebagai sumber protein yang dapat diperoleh dari mikroalga *Chlorella* dan *Dunaliella*, produksi pigmen, sebagai bahan pewarna yang dapat diperoleh dari mikroalga *Spirulina*, *Haematococcus*, sebagai pakan larva ikan dan non ikan, dapat diperoleh dari mikroalga *Tetraselmis* dan *Chaetoceros* serta produksi antimikroba, dapat diperoleh dari mikroalga *Chlorella vulgaris*, *Chaetoceros gracilis* (Borowitzka, 1994).

Senyawa bioaktif mikroalga memiliki potensi untuk digunakan sebagai obat-obatan karena diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri, virus, dan jamur. Senyawa seperti makrolida, peptida siklik, protein, poliketida, seskuiterpen, terpen, dan asam lemak. Senyawa ini dapat diekstraksi dari biomassa mikroalga salah satunya dengan cara maserasi secara bertingkat menggunakan beberapa pelarut seperti metanol, n-heksana dan diklorometan, hasilnya menunjukkan adanya zona hambat terhadap *E.coli* dan *S. aureus* pada *D.salina* (Cavallo, 2013 & Naviner, 1999).

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari karakteristik pertumbuhan mikroalga *D.salina*, *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans* pada medium BBM dan modifikasi BBM air laut dan menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak heksana dan metanol terhadap 4 jenis mikroalga.

METODE PENELITIAN

Mikroalga yang digunakan adalah *D.salina*, *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans* yang diperoleh dari laboratorium biokimia, jurusan kimia Universitas Andalas. Sampel ini di kultur pada Medium Bold's Basal (BBM) dan Medium Modifikasi BBM air laut dengan perbandingan tertentu.

Kultivasi mikroalga dengan variasi media *D.salina*, *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans*
Dilakukan dengan menambahkan 50 mL isolat ke dalam botol kaca yang berisi 500 mL BBM, begitu juga dengan BBM air laut. Kultur diaerasi pada suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) dengan

photoperiode terang dan gelap di bawah penyinaran lampu *fluorescent* 36 watt dengan siklus 12 jam terang-12 jam gelap. Aerasi dilakukan 24 jam dengan mengalirkan udara dari pompa menggunakan selang yang kecepataannya konstan (El-Baky, 2013).

Penentuan kurva pertumbuhan *D.salina*, *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans*

Dilakukan pengamatan terhadap nilai absorban kultur pada panjang gelombang secara berurut ; 750 nm, 680 nm, 540 nm dan 560 nm setiap hari hingga nilai absorban mengalami penurunan. Kurva pertumbuhan dibuat dengan cara memplotkan antara lama waktu kultivasi (hari) dengan nilai serapan (absorban). Karakteristik pertumbuhan mikroalga dianalisis dengan kurva pertumbuhan mikroalga yang dibuat berdasarkan data yang didapatkan per satuan waktu. Dari data tersebut dapat diperhitungkan waktu generasi (*generated/doubling time*) dan laju pertumbuhan relatif berbagai jenis mikroalga hasil kultur dengan rumus pendugaan waktu generasi adalah (Makridis dkk, 2006).

$$G = \frac{t \log 2}{\log N_t - \log N_0}$$

Nilai laju pertumbuhan relatif dihitung dengan menggunakan persamaan :

$$k = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}$$

dimana, G (waktu generasi), k(laju pertumbuhan relatif) , N_t (jumlah sel setelah periode waktu t), N_0 (jumlah sel yang diinokulasikan pada waktu t =0), t (waktu (hari)).

Penentuan Biomassa kering *D.salina*, *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans*

Biomassa ke empat mikroalga diperoleh pada awal kultur memasuki fasa stasioner. Mikroalga dipanen dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit pada suhu ruang, kemudian supernatan dikering-anginkan untuk memperoleh biomassa kering. Kemudian biomassa kering ditimbang dan dilakukan ekstraksi.

Ekstraksi metabolit sekunder

Biomassa kering diekstraksi dengan pelarut heksana dan metanol untuk selanjutnya dilakukan proses uji aktivitas antibakteri.

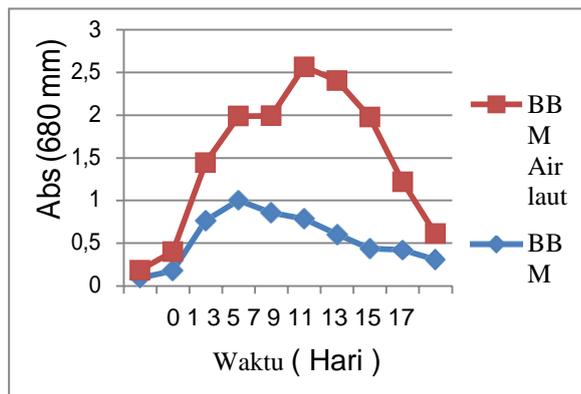
Metoda ekstraksi ditentukan berdasarkan (Chocote, 2014) dengan modifikasi. Ditimbang sebanyak 0,2 gram biomassa kering *D.salina*, *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans* lalu dimaserasi dengan 2 mL heksana selama 24 jam. Sebelumnya dilakukan sonikasi selama 480 detik. Larutan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 5 menit dan supernatan diambil. Ekstraksi dilanjutkan dengan menggunakan pelarut metanol dengan cara yang sama. Supernatan dikeringkan sehingga didapatkan ekstrak kering dan ditimbang.

Uji Antimikroba

Suspensi bakteri uji yang telah dipersiapkan dipipet sebanyak 200 µL lalu disebar ke dalam media MHA (Mueller Hinton Agar) steril. Ditunggu hingga kering ± 5 menit. Kertas cakram Whatman No.1 steril dengan diameter ± 6 mm, diletakkan pada media padat dengan menggunakan pinset steril, kemudian ditetaskan masing-masing ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif masing-masingnya sebanyak 20 µL. Masing-masing cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil inkubasi berupa daerah bening di sekitar cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva pertumbuhan mikroalga *D. salina*, *N.oculata*, *T. chuii*, *C. calcitrans* ditentukan dengan nilai absorban (y) dengan waktu (hari), kultivasi (x) pada panjang gelombang masing – masing 680 nm, 540 nm, 560 nm dan 750 nm Kurva pertumbuhan mikroalga *D. salina*, *N.oculata*, *T. chuii*, *C. calcitrans* dapat dilihat pada gambar 2 dibawah ini

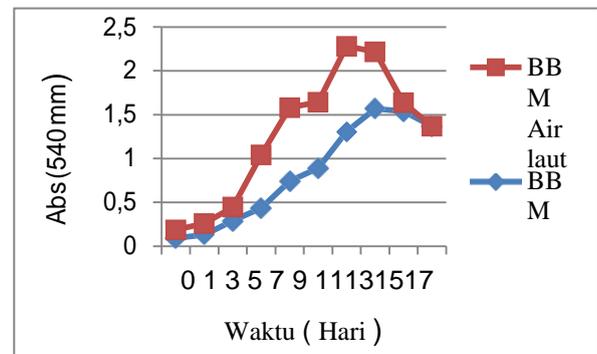


Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *D.salina* (BBM dan BBM Air Laut)

Dari Gmbar 1 dapat dilihat bahwa pada medium BBM fase lag sudah terjadi pada hari pertama dan dilanjutkan fase logaritma sampai hari

kelima, lebih dari 5 hari masuk pada fase stasioner dan diikuti dengan fase penurunan atau kematian, sedangkan kurva pertumbuhan untuk medium BBM air laut fase logaritma terjadi hingga hari kesembilan diikuti fase stasioner sampai hari kesebelas dan diikuti penurunan kurva pertumbuhan lewat hari kesebelas menuju fase kematian. Dari data diatas dapat dilihat waktu generasi mikroalga *D.Salina* dengan medium BBM lebih cepat dibandingkan dengan BBM air laut yaitu 0,545 hari pada medium BBM dan 0,781 hari pada BBM air laut, sementara laju pertumbuhan relatif lebih besar BBMair laut dibandingkan BBM yaitu masing – masing 0,888 dan 0,702. Hal ini disebabkan karena *D.Salina* lebih baik tumbuh pada BBM air laut.

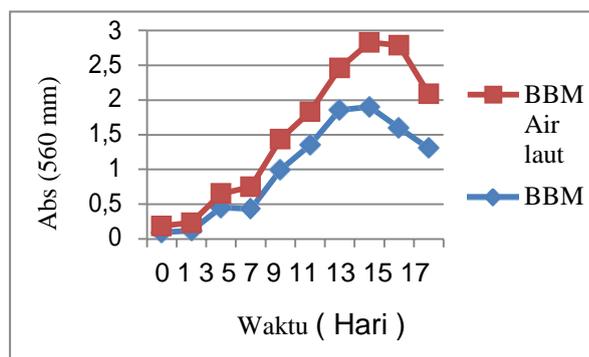
Kurva pertumbuhan *N.oculata* dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan *N.oculata* pada Medium BBM dan BBM Air Laut

Dari Gambar 2, kurva pertumbuhan *N.oculata* pada medium BBM dapat dilihat bahwa fase lag sudah terjadi pada hari ketiga diikuti fase logaritma terjadi sampai hari ketiga belas, diikuti fase stasioner sampai hari kelima belas dan fase penurunan menuju kematian lewat hari kelima belas, sedangkan pada medium BBM air laut fase lag sampai hari keempat diikuti fase logaritma hingga hari kesepuluh dan langsung menuju fase kematian lewat dari sepuluh hari. Dari data ini laju pertumbuhan relatif dan waktu generasi masing – masing pada *N.oculata* waktu generasi pada medium BBM dan BBM air laut adalah sama yaitu 0,307 hari, sedangkan laju pertumbuhan relatif kultur masing – masing 0,378 dan 0,375 hari. Pada mikroalga *N.oculata* tidak terdeteksi fase stasioner karena waktu hidupnya lebih singkat jika dibandingkan *D.salina* yang mempunyai fase stasioner.Kurva

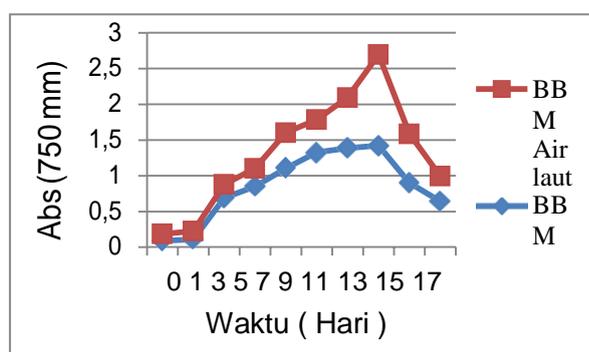
pertumbuhan *T. chuii* dapat dilihat pada kurva dibawah ini



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan *T. chuii* pada Medium BBM dan BBM Air Laut

Pada Gambar 3, dapat dilihat bahwa pertumbuhan mikroalga *T. chuii* fase lag terjadi sampai hari kelima, fase logaritma terjadi hingga hari kesembilan yang diikuti fase stasioner sampai hari keempat belas, pada medium BBM air laut fase lag pada hari ketiga dilanjutkan fase logaritma terjadi dan fase stasioner lewat dari hari kesebelas diikuti fase kematian lewat dari hari ketiga belas. Dari data diatas dapat dilihat laju pertumbuhan relatif dan waktu generasi masing – masing mikrolaga *T. chuii* pada BBM lebih cepat dibandingkan BBM air laut yaitu 1,315 dan 1,242 hari, demikian juga dengan dibandingkan laju pertumbuhan BBM dan BBM air laut lebih besar yaitu 2,678 dan 0,558 hari, ini menunjukkan bahwa kultivasi mikroalga *T. chuii* lebih efektif pada medium BBM.

Kurva pertumbuhan *C. calcitrans* dapat dilihat pada kurva dibawah ini



Gambar 4. Kurva Pertumbuhan *C. calcitrans* pada Medium BBM dan BBM Air Laut

Dari gambar 4 dapat dilihat bahwa fase lag untuk medium BBM mulai terjadi hari kedua, fase logaritma terjadi hingga hari

kesembilan diikuti fase stasioner hingga hari ketiga belas dan menuju fase kematian lebih dari hari ketiga belas, sedangkan pada medium BBM air laut fase lag sampai hari kelima diikuti fase logaritma hingga hari kedua belas, langsung terjadi penurunan laju pertumbuhan hingga hari ketujuh belas. Pada medium BBM air laut tidak ada fase stasioner untuk mikroalga *C. calcitrans*. dari data diatas diduga laju pertumbuhan relatif dan waktu generasi masing – masing mikroalga pada *C. calcitrans* laju pertumbuhan relatif BBMnya adalah 0,688 hari sedangkan untuk BBM air laut 0,236 hari, begitu juga waktu generasinya kultur BBM lebih cepat dibandingkan dengan BBM air laut masing – masing yaitu selama 1,037 hari dan 2,941 hari.

Dari kurva pertumbuhan 1, 2, 3, 4, bahwa mikroalga *D. salina* lebih efektif tumbuh pada medium BBM air laut (Salim dk, 2016) jika dibandingkan dengan mikroalga *N. oculata*, *T. chuii*, *C. calcitrans* yang lebih efektif pada medium BBM.

Hasil Penentuan biomassa kering 4 jenis mikroalga (*D. salina*, *N. oculata*, *T. chuii*, *C. calcitrans*)

Biomassa sel dari keempat mikrolaga dilakukan setelah pemanenan fase awal stasioner, dilakukan pemisahan dengan filtrat menggunakan sentrifugal untuk memisahkan komponen air. Menurut Vonshak A (1990), teknik pemisahan biomassa dengan filtrat menggunakan sentrifugal merupakan salah satu cara yang sangat efisien.

Hasil berat biomassa kering yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1. Hasil Biomassa Kering *D. salina*, *N. oculata*, *T. chuii*, *C. calcitrans*

| Jenis Mikroalga | Vol (L) | Berat kering (gram) |
|----------------------|---------|---------------------|
| <i>D. salina</i> | 3 | 0,2901 |
| <i>N. oculata</i> | 3 | 0,2950 |
| <i>T. chuii</i> | 3 | 0,3884 |
| <i>C. calcitrans</i> | 3 | 0,3536 |

Dari Tabel 1 dapat dilihat biomassa berat kering diperoleh paling banyak berturut – turut pada *T. chuii*, *C. calcitrans*, *N. oculata*, *D. salina* masing- masing adalah 0, 3884, 0,3536, 0,2950 dan 0,2901 gram.

Hasil ekstraksi senyawa metabolik sekunder 4 jenis mikroalga (*D.salina*, *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans*)

Ekstraksi senyawa ini digunakan pelarut yang berbeda – beda heksana (pelarut non polar) dan pelarut metanol (pelarut olar) dilakukan dengan dua pelarut agar zat aktif yang terkandung dan belum diketahui sifatnya dapat terekstrak secara optimal sesuai kepolarannya. Berat ekstraksi senyawa metabolik sekunder keempat mikroalga dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Esktraksi Keempat Jenis Mikroalga (*D.salina*, *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans*)

| Jenis Mikroalga | Jenis pelarut | Berat ekstraksi (gram) | Rendemen Ekstrak Kering (%) |
|---------------------|---------------|------------------------|-----------------------------|
| <i>D.salina</i> | Heksana | 0,0054 | 2,7 |
| | Metanol | 0,0364 | 18,2 |
| <i>N.oculata</i> | Heksana | 0,0107 | 5,35 |
| | Metanol | 0,0017 | 10,85 |
| <i>T.chuii</i> | Heksana | 0,0051 | 2,55 |
| | Metanol | 0,0315 | 15,75 |
| <i>C.calcitrans</i> | Heksana | 0,0088 | 4,4 |
| | Metanol | 0,0342 | 17,1 |

Dari Tabel 2, dapat dilihat bawah rendemen ekstrak kering yang diperoleh dari ekstraksi dengan pelarut metanol menghasilkan rendemen yang lebih besar dibandingkan dengan pelarut heksana. Hal ini menunjukkan bahwa keempat senyawa mikroalga ini lebih banyak mengandung senyawa aktif yang mudah larut dengan pelarut polar.

Hasil pengujian aktivitas uji antibakteri

Untuk pengujian aktivitas antibakteri dilakukan uji terhadap bakteri gram positif adalah *staph ylococcus aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *escherichia coli*.

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak heksana dan metanol, sedangkan untuk kontrol positif digunakan amoxilin, kontrol negatif dimetil sulfoksida (DMSO). Kemudian hasil – hasil ekstrak diteteskan pada kertas cakram 25 µg/µL sebanyak 20 µL. Uji aktviitas antibakteri ditunjukkan oleh diameter zona hambat atau zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram. Pada tabel 3 dibawah ini.

Tabel 3. Hasil Uji Aktvitas Antibakteri Mikroalga yaitu *D.salina*, *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans* Terhadap Bakteri Gram Positif dan Negatif

| Jenis Mikroalga | Ekstrak | Diameter Zona Hambat Rata – rata (mm) | |
|----------------------------|---------|---------------------------------------|----------------|
| | | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> |
| <i>D. salina</i> | Heksana | 10 | 10,75 |
| | Metanol | 8,5 | 8,5 |
| <i>N.oculata</i> | Heksana | 9,25 | 9,00 |
| | Metanol | 11,25 | 8,75 |
| <i>T.chuii</i> | Heksana | 8,5 | 9,50 |
| | Metanol | 9,00 | 10,25 |
| <i>C.calcitrans</i> | Heksana | 10,5 | 9,25 |
| | Metanol | 11,5 | 9,50 |
| Amoxilin (Kontrol positif) | | 19,75 | 20 |
| DMSO (Kontrol negatif) | | 0 | 0 |

Hasil uji aktivitas antimikroba dapat dilihat bahwa masing – masing ekstrak memiliki aktivitas yang kecil dibandingkan dengan kontrol positif (Amoxilin), bila dilihat dari kategori (CLSI) termasuk kategori resisten, bila dibandingkan amoxilin yang cukup besar termasuk kategori intermediet sensitif, kontrol positif mempunyai daya hambat yang luas, sedangkan kontrol negatif DMSO tidak memberikan zona hambat, ini juga membuktikan bahwa diameter hambat ekstrak bukan pengaruh dari pelarut, tetapi murni dari senyawa aktif dalam keempat ekstrak mikroalga *D.salina*, *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans*.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dari keempat mikrolaga yaitu *N.oculata*, *T.chuii*, *C.calcitrans* lebih baik tumbuh pada medium BBM sedangkan *D.salina* lebih baik tumbuh pada BBM air laut. Uji aktivitas antibakteri bila dilihat berdasarkan CLSI, uji sensitivitas antimikrobanya diperoleh *D.salina* untuk hasil ekstrak heksana memiliki zona hambat tertinggi pada bakteri *E.coli* yaitu 10,75 mm dan hasil ekstrak metanol *N.Oculata* menunjukkan zona hambat 11,25 mm untuk bakteri *S.aureus* lebih tinggi dibandingkan dengan mikroalga lainnya tetapi secara keseluruhan memiliki potensi sebagai antibakteri yang tidak terlalu sensitif.

DAFTAR PUSTAKA

- Barsanti, L., and Gualtieri, P., *Algae Anatomy, Biochemistry and Biotechnology* Second Edition. Taylor & Francis Group, the academic division of T&F Informa plc. 2014.
- Borowitzka M. A., *Microalgae as Source of Pharmaceuticals and Other Biologically Active Compounds*, *Algal Biotech Lab*, School of Biological & Environmental Sciences, Murdoch University, Perth, W.A., 1994.
- Cavallo, R.A., Acquaviva, M.I., Stabili, L., Cecere, E., Petrocelli, A., and Naracci, M. Antibacterial Activity of Marine Macroalgae Against Fish Pathogenic Vibrio Species, *Cent. Eur. J. Biol*, 2013, 8; 646-653.
- Choocote, Weena, Linchong, S., and Duangjai, O., Evaluation Of Antioxidant Capacities Of Green Microalgae, *Int. J. Applied Phycology*, 2014, 26; 43-48.
- El-Baky, A.H.H., and El-Baroty, S.G., Healthy Benefit of Microalgal Bioactive Substances, *J. of Aquatic Sciences*, 2013, 1(1); 11-23 El-Baky, A.H.H., and El-Baroty, S.G., Healthy Benefit of Microalgal Bioactive Substances, *J. of Aquatic Sciences*, 2013, 1(1); 11-23
- Franklin, R., *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, *Approved Standard*, CLSI USA, 2012, 32(11); 18.
- Kabinawa, *Mikroalga sebagai Sumber Daya Hayati Perairan dalam Perspektif Bioteknologi*, *Puslitbang-Biotek LIPI*, Bogor, 2001.
- Makridis, Poulos, Rita, Alves, Costa, Maria, Teresa, and Dinis. Microbial Conditions and Antimicrobial Activity in Cultures of Two Microalgae Species, *Tetraselmis chuii* and *Chlorella minutissima*, Effect on Bacterial Load of Enriched *Artemia* Metanauplii. *J. Of Aquaculture*, 2006, 255; 76-81.
- Salim, M., Yulia Ekanasti, R., and Chaidir, Z., Efek Nitrogen Terhadap Media Pertumbuhan Mikroalga *Dunaliella salina* Untuk Produksi Lipid Sebagai Bahan Baku Biodiesel. Seminar Nasional Kimia FMIPA Universitas Mataram. 2016
- Naviner, M., Berge, J.P., Duran, P., and Le Bris, H., Antibacterial Activity of the Marine Diatom *Skeletonema Costatum* Against Aquacultural Pathogens, *J. Aquaculture*, 1999, 174; 15-24.
- Vonshak, A., *Recent Advances in Microalgal Biotechnology*, *Biotechnology adv*, Britain Pergamon Press, 1990, 8.