

Potensi Mikroalga *Anabaena* sp. Sebagai Bahan Utama Bioetanol

Potential of the Microalgae Anabaena sp. as Bioethanol Feedstock

Imam Mishbach^{1)*}, Nila Suci Permatasari²⁾, M Zainuri³⁾, Hermin Pancasakti Kusumaningrum²⁾, Endah Dwi Hastuti²⁾

1) Jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Cenderawasih, Indonesia

2) Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Indonesia

3) Oseanografi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Indonesia

*Corresponding author: imammishbach71@gmail.com

ABSTRAK

Bioetanol merupakan sumber energi yang dapat digunakan untuk mengurangi penggunaan bahan bakar fosil. Keunggulannya adalah *biodegradable*, tidak beracun karena bahan utamanya berasal dari biomassa dan menghasilkan polutan yang lebih sedikit. *Anabaena* sp. merupakan Cyanobacteria yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan utama bioetanol, keunggulannya adalah tidak bersaing dengan bahan pangan, pertumbuhannya cepat dan mempunyai kandungan karbohidrat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis kandungan karbohidrat *Anabaena* sp. Tahapan penelitian yang dilakukan yaitu *Anabaena* sp. dibudidayakan selama 30 hari di air tawar menggunakan media Walne, kemudian dilakukan pemanenan. Biomassa yang terkumpul selanjutnya diuji menggunakan analisis proksimat dengan dua kali ulangan. Pada penelitian ini, data yang diperoleh berupa pertumbuhan *Anabaena* sp. dan kandungan karbohidrat yang disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Hasilnya menunjukkan bahwa *Anabaena* sp. yang dibudidayakan selama 30 hari dan pemanenan biomassa dilakukan pada fase eksponensial (hari ke-14), memiliki kandungan karbohidrat 25.43 %, protein 53.70 % dan lipid 2.40 %. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa biomassa *Anabaena* sp. memiliki kadar karbohidrat sebesar 25.43 % dan berpotensi sebagai bahan utama bioetanol.

Kata Kunci: energi, cyanobacteria, karbohidrat, keanekaragaman hayati

ABSTRACT

Bioethanol is an energy source that can be used to reduce the use of fossil fuels. It has some advantages such as biodegradable, and non-toxic because the main ingredients come from biomass and produce fewer pollutants. Anabaena sp. is Cyanobacteria that can be used as the main ingredient of bioethanol, its advantages are that it does not compete with food, its growth is fast and it contains carbohydrates. The purpose of this study was to analyze the carbohydrate content of Anabaena sp. The stages of the research carried out were Anabaena sp. cultivated for 30 days in freshwater using Walne media, then harvested. The collected biomass was then tested using proximate analysis with two replications. In this study, the data obtained in the form of growth of Anabaena sp. and carbohydrate content was presented in the form of tables and graphs. The results showed that Anabaena sp. which was cultivated for 30 days and harvested biomass was carried out in an exponential phase (day 14), had a carbohydrate content of 25.43 %, protein of 53.70 %, and lipid of 2.40 %. Based on the results of the study, it can be concluded that the biomass of Anabaena sp. has a carbohydrate content of 25.43 % and has the potential as the main ingredient of bioethanol.

Keywords: biodiversity, carbohystrate, cyanobacteria, energy.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara maritim dengan wilayah perairan laut yang lebih luas dibandingkan daratan. Indonesia juga dijuluki sebagai negara *megabiodiversity* karena keanekaragaman hayati yang tinggi dan tersebar diberbagai wilayah. Organisme yang ada di wilayah tersebut sangat beranekaragam, mulai dari organisme sederhana bersel tunggal seperti alga hingga organisme paling kompleks. Alga sebagai salah satu organisme yang hidup di perairan memiliki banyak spesies, diantaranya adalah Cyanobacteria atau alga biru hijau yang merupakan alga primitif dan kelompok organisme prokariotik. Menurut Zahra *et al.* (2020), Cyanobacteria telah berkontribusi terhadap produksi oksigen di atmosfer bumi selama 3 miliar tahun terakhir dan dianggap sebagai mikroorganisme fotosintesis utama. Habitatnya dapat ditemukan diberbagai lingkungan termasuk air tawar, lautan maupun tanah.

Cyanobacteria telah dipelajari untuk aplikasi bioteknologi. Produk kimia yang disintesis dari organisme tersebut memiliki banyak manfaat pada berbagai bidang seperti energi, makanan, kosmetik, maupun industri obat. Cyanobacteria juga cocok untuk bioremediasi air limbah agroindustri dan biodegradasi air limbah berminyak (Patel *et al.*, 2019).

Pemerintah Indonesia menghadapi tantangan untuk menemukan bahan bakar alternatif dalam mengurangi penggunaan fosil yang ketersediaannya semakin menipis. Sitther *et al.* (2020) menyatakan bahwa Cyanobacteria menunjukkan efisiensi fotosintesis yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman darat. Organisme ini dapat berperan sebagai agen *biofuel* yang sangat hemat biaya karena tingkat pertumbuhannya yang cepat dan kemampuan untuk berkembang di daerah marginal dengan kebutuhan nutrisi minimal, yang selanjutnya meningkatkan potensi produktivitas biomasnya.

Karbohidrat, sebagai produk fotosintesis utama Cyanobacteria, dapat menjadi sumber karbon utama untuk memproduksi bioetanol. Hossain *et al.* (2019) menyatakan bioetanol dianggap sebagai bioenergi yang populer, terutama untuk transportasi. Keunggulannya yaitu memiliki angka oktan yang tinggi, CO rendah dan menghasilkan polutan yang lebih sedikit dibandingkan fosil. Cyanobacteria seperti *Anabaena* dan *Spirulina*, telah digunakan dalam produksi bioetanol dalam beberapa tahun terakhir (Hernández *et al.*, 2015)

Anabaena sp. merupakan mikroalga yang dapat dikembangkan menjadi bioetanol (Gaurav & Kumar, 2018). Keuntungan dibandingkan tumbuhan tingkat tinggi adalah mikroalga ini mentolerir kandungan CO₂ yang lebih tinggi, kemudian gas tersebut diubah menjadi bahan organik. Karakteristik *Anabaena* dapat ditemukan di semua jenis air. Cyanobacteria berfilamen dengan trikoma lurus, melengkung, atau melingkar. Mikroalga ini terkenal karena kemampuannya dalam memfiksasi nitrogen. Sel mikroalga memiliki komposisi kimia yang berbeda, beberapa faktor yang mempengaruhi seperti kondisi kultivasi dan jenis spesies. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis kadar karbohidrat *Anabaena* sp.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah erlenmeyer 250 mL, aerator, lampu TL 36 watt, pipet tetes, mikroskop binokuler, *cover glass*, *object glass*, *autoclave*, gelas ukur, *haemocytometer*, bunsen, selang, *beaker glass*, kertas saring.

Bahan yang digunakan adalah mikroalga *Anabaena* sp. dari InaCC LIPI, pupuk Walne dari BBPBAP Jepara, aquades.

Cara Kerja

1. Preparasi Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian disterilisasi terlebih dahulu, tujuannya untuk membunuh mikroba yang tidak diinginkan. Sterilisasinya untuk alat-alat kaca menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C dan

tekanan 1 atm, setelah proses selesai kemudian semua alat disimpan pada wadah yang bersih.

2. Kultivasi *Anabaena* sp.

Sampel mikroalga *Anabaena* sp. dikultivasi dalam air tawar pada media Walne selama 30 hari. Kultivasi dilakukan dalam Erlenmeyer dengan perbandingan mikroalga: air tawar 3:7 untuk setiap 100 mL pengenceran. Pupuk Walne digunakan sebagai sumber nutrisi sebanyak 0.1 mL/100 mL sampel. Kultivasi dilakukan sebanyak 2 pengulangan. Kondisi kultivasi dipertahankan dengan cahaya lampu TL 36 watt, suhu 26°C dan aerasi dengan aerator secara terus menerus. Kepadatan sel diukur sebelum pada awal kultivasi menggunakan *haemocytometer*. Laju pertumbuhan sel selanjutnya diukur setiap hari dengan metode langsung. Sebanyak 1 mL sampel diletakkan pada *haemocytometer* untuk penghitungan kepadatan sel lalu diamati di bawah mikroskop. Rumus yang digunakan untuk menghitung kepadatan sel:

Kepadatan sel (sel/ml) $N = \text{Jumlah total sel}$

3. Pemanenan

Mikroalga dipanen pada saat fase eksponensial atau fase puncak pertumbuhan (hari ke-14), dengan menyaring biomassa secara langsung tanpa penambahan zat. Zat tersebut dapat berupa tawas agar memudahkan dalam pengendapan. Namun dalam pemanenan kali ini tidak memerlukan zat tersebut untuk pengendapan. Mikroalga dalam wadah disaring menggunakan kertas saring kering. Biomassa yang dihasilkan dikeringkan atau dianginkan sampai kering selama 14 jam kemudian ditimbang.

4. Analisis Karbohidrat, Protein

Analisis karbohidrat pada *Anabaena* sp. menggunakan analisis proksimat. Analisis dilakukan dengan menggunakan biomassa kering. dan kadar karbohidrat diuji menggunakan metode Hidrolisis Asam.

Analisis karbohidrat dilakukan dengan metode Hidrolisis Asam. Sebanyak 1 g sampel dalam *beaker glass* disaring menggunakan kertas saring dan dicuci menggunakan air

sampai volume filtrat 250 ml. Residu kemudian dipindahkan dari kertas saring ke dalam erlenmeyer, dengan cara mencuci menggunakan air 200 ml dan ditambahkan HCl 25 % sebanyak 20 ml. Campuran disaring kembali dengan kertas saring dan ditentukan kadar gula yang dinyatakan sebagai glukosa dari filtrat yang diperoleh. Penentuan glukosa pada penetapan gula pereduksi dan kadar pati ditentukan dengan cara kadar karbohidrat total dikurangi kadar gula total.

Kadar protein diuji menggunakan metode Kjeldahl, kadar lipid diuji menggunakan metode Soxhlet.

5. Analisis Data

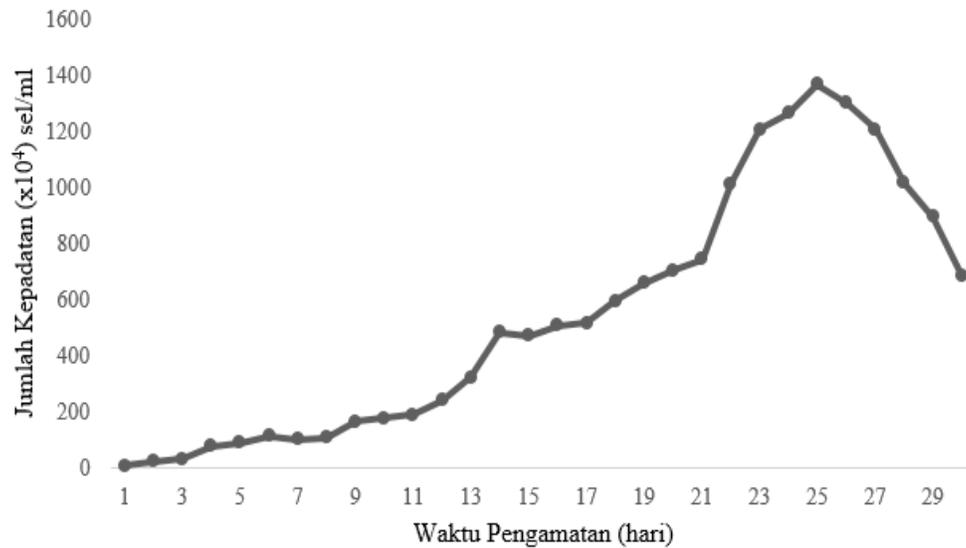
Pada penelitian ini, data deskriptif berupa pertumbuhan *Anabaena* sp. selama 30 hari disajikan menggunakan grafik, sedangkan hasil analisis proksimat disajikan dalam bentuk nilai rerata dalam sebuah tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pertumbuhan *Anabaena* sp.

Pertumbuhan *Anabaena* sp. pada kultur dapat ditandai dengan jumlah sel yang bertambah, perubahan warna kultur merupakan salah satu parameter untuk mengetahui pertumbuhan kepadatan sel. Perubahan warna kultur teramati pada penelitian ini, dengan warna hijau muda pada tahap awal dan perubahan intensitas warna menjadi lebih hijau gelap pada hari-hari berikutnya. Hal ini menunjukkan bahwa kepadatan selnya telah mengalami peningkatan. Grafik pertumbuhan *Anabaena* sp. (Gambar 1).

Berdasarkan (Gambar 1) pertumbuhan *Anabaena* sp. menunjukkan pola umum pertumbuhan mikroalga yang dibagi menjadi empat tahap diantaranya fase *lag*, eksponensial, stasioner dan kematian. Fase *lag* merupakan fase saat sel belum membelah dan kepadatan sel belum meningkat. Tahap ini terjadi dari hari pertama sampai ketiga dan berlangsung lama. Hal ini diduga mikroalga membutuhkan waktu untuk beradaptasi dengan media baru dan cenderung berbeda dari lingkungan sebelumnya.



Gambar 1. Grafik Pertumbuhan Mikroalga *Anabaena* sp.

Rai *et al.* (2015) menyebutkan bahwa fase lag mikroalga *Tetraselmis chuii* terjadi selama 6 hari yang dikultur menggunakan media Walne. Kurniawan *et al.* (2017) menyatakan bahwa durasi fase lag tergantung dari kemampuan individu. Pada tahap ini, alokasi energi difokuskan pada adaptasi terhadap lingkungan dan pemeliharaan sel, sehingga energi yang digunakan untuk pertumbuhan hanya sedikit atau tidak ada.

Fase eksponensial terjadi pada hari ke-4 hingga hari ke-14, pembelahan sel dimulai dan pertumbuhan meningkat lebih dari sebelumnya. Pada fase ini, *Anabaena* sp. aktif berkembang biak karena mampu beradaptasi dan nutrisi dalam media yang masih melimpah.

Fase eksponensial ditandai dengan tingginya aktivitas fotosintesis, fungsinya untuk membentuk komponen penyusun plasma sel dan protein yang dibutuhkan saat pertumbuhan. Gao *et al.*, (2016) menyatakan bahwa nutrisi yang sesuai berperan penting sebagai sumber energi karena dapat mempengaruhi pertumbuhan sel. Puncak pertumbuhan terjadi saat fase eksponensial karena adanya unsur nitrogen yang tercukupi sehingga proses metabolisme dan biosintesis sel berlangsung cepat.

Fase stasioner terjadi pada hari ke 15-18. Pada fase ini jumlah sel yang tumbuh semakin meningkat sehingga terbatasnya ketersediaan

nutrisi pada media dan terjadinya kompetisi antar mikroalga. Fase stasioner adalah fase dimana laju pertumbuhan berbanding lurus dengan laju kematian, sehingga dapat digambarkan pada grafik pertumbuhan yang konstan. Reyimu & Özçimen (2017) menyatakan meningkatnya kepadatan sel menyebabkan penetrasi cahaya terhalangi. Akibatnya, bagian media tidak menerima cahaya yang cukup. Sel mikroalga yang berada pada lebih sedikit cahaya menyebabkan fotosintesis kurang optimal, sehingga pertumbuhannya terganggu

Amalo *et al.*, (2019) menyebutkan bahwa meningkatnya jumlah kepadatan sel, menyebabkan penetrasi cahaya terhalangi sehingga proses fotosintesis terganggu. Adanya kompetisi antara mikroalga untuk bertahan hidup dan jumlah nutrisi yang ada pada media semakin terbatas. Terjadinya kompetisi ini menyebabkan terbentuknya zat toksik yang dapat meracuni mikroalga itu sendiri.

Pada penelitian ini pengkayaan nutrisi dilakukan seminggu sekali, hal ini dimaksudkan agar mikroalga terpenuhi akan nutrisinya. Selain itu metode pemupukan susulan ini dapat mempercepat tumbuhnya mikroalga (Kemdikbud, 2013). Grafik kepadatan mikroalga *Anabaena* sp. menunjukkan peningkatan kembali pada hari ke-19,

kemungkinan karena adanya nutrisi yang masih mendukung kehidupan sel mikroalga. Faktor lingkungan seperti pH, intensitas cahaya dan suhu dapat meningkatkan kepadatan sel. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Setyawati *et al.* (2018) pertumbuhan *T. chuii* menurun pada hari ketujuh, kemudian meningkat pada hari kedelapan. Peningkatan kepadatan sel terjadi setelah fase stasioner, diduga mengalami periode kriptik. Amalo *et al.* (2019) menyatakan bahwa mikroalga mengalami peningkatan kembali karena periode kriptik, yaitu nutrisi dari sel yang sudah lisis dimanfaatkan oleh sel yang masih hidup.

Fase kematian terjadi pada hari ke 26-30, fase ini merupakan fase akhir setelah fase stasioner dan ditandai dengan penurunan kepadatan sel karena kematian lebih cepat dari pertumbuhan. Laju kematian meningkat disebabkan karena jumlah nutrisi di dalam media telah habis, sehingga tidak dapat menunjang pertumbuhan sel selanjutnya. Pada fase ini, warna kultur berubah menjadi pucat dan di dasar erlenmeyer terdapat endapan gumpalan mikroalga.

Selvika *et al.* (2016), menyatakan bahwa fase kematian terjadi ketika sel mulai mati yang ditandai dengan jumlah kepadatan sel menurun. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan kematian sel antara lain kondisi lingkungan yang tidak kondusif untuk kelangsungan hidupnya, umur kultur yang terlalu lama, nutrisi yang semakin terbatas, jumlah sel bertambah pada volume yang konstan menyebabkan terjadinya kompetisi untuk mendapatkan tempat hidup.

2. Analisis Karbohidrat

Berdasarkan kurva pertumbuhan mikroalga yang dibuat, maka dapat menentukan waktu panen. Pada penelitian ini, waktu panen dilakukan pada akhir fase eksponensial yaitu hari ke-14, diduga jumlah kepadatan sel pada media masih melimpah. Rai *et al.* (2015) menyatakan bahwa akhir fase eksponensial merupakan waktu terbaik untuk pemanenan mikroalga, karena sel masih dalam kondisi normal dan terdapat keseimbangan nutrisi di dalam media maupun sel.

Biomassa adalah berat kering mikroalga setelah pemanenan. Okryreza *et al.* (2013) menyatakan bahwa kepadatan mikroalga berpengaruh terhadap hasil biomassa, semakin tinggi kepadatannya maka semakin optimal biomassa yang dihasilkan. Langkah selanjutnya setelah biomassa diperoleh adalah analisis proksimat untuk menentukan kadar karbohidrat, protein dan lipid (Tabel 1).

Berdasarkan Tabel 1 kandungan protein lebih tinggi dibandingkan lipid dan karbohidrat, karena media Walne mengandung nitrogen. Unsur hara nitrogen ini dapat mempengaruhi peningkatan protein, merupakan komponen utama untuk perbanyakan sel. Apabila konsentrasinya terlalu rendah, klorofil pada sel mikroalga berkurang dan mempengaruhi proses fotosintesis, jika konsentrasinya terlalu tinggi maka akan menghambat pertumbuhan. Primaryadi *et al.* (2015) menyatakan bahwa unsur hara yang berperan dalam penyusunan protein di dalam sel yaitu Nitrogen (N) dan Fosfor (P). Kekurangan kedua komponen ini dapat mengakibatkan penurunan protein dalam sel mikroalga, yang diikuti penurunan komponen sel yang terkait dengan sintesis protein. Faktor yang dapat menghambat sintesis protein dan karbohidrat adalah rendahnya konsentrasi N dan P.

Pada media Walne, kandungan N dan P lebih tinggi dibanding dengan Erdschreiber, sehingga biomassa yang dihasilkan konsentrasinya lebih tinggi (Regista *et al.*, 2017). Adanya kandungan unsur hara Boron, berfungsi untuk ketahanan pigmen pada mikroalga merupakan keunggulan dari media Walne. Unsur hara seperti Mn, Fe, Cl dan Zn pada media Walne lebih banyak dibandingkan media lainnya, berfungsi dalam fotosintesis yang digunakan untuk fase pertumbuhan. Unsur hara mikronutrien berperan penting dalam laju pertumbuhan, bersama dengan makronutrien dalam melakukan proses metabolisme dan respirasi (Fu *et al.*, 2019; Sirait *et al.*, 2019).

Tabel 1. Hasil Analisis Protein, Karbohidrat dan Lipid *Anabaena* sp.

mikroalga	Analisis	Persentase analisis (%)		Rerata kandungan analisis (%)
		1	2	
<i>Anabaena</i> sp.	Protein	53,65	53,76	53,70
	Karbohidrat	25,32	25,53	25,43
	Lipid	2,39	2,41	25,43

Faktor lain yang dapat mempengaruhi komposisi biokimia mikroalga adalah cahaya, suhu, pH, ketersediaan CO₂ dan media pertumbuhan. Energi yang diperoleh selama fotosintesis dapat berupa karbohidrat untuk cadangan makanan, protein untuk pertumbuhan dan lipid untuk pertahanan. Han *et al.* (2016) menyatakan bahwa ketika mikroalga mengalami kondisi optimal, mereka melakukan lebih banyak sintesis protein, yang digunakan untuk sintesis DNA dan digunakan sebagai proses pembelahan sel. Ketika terjadi tekanan lingkungan, mikroalga lebih banyak mengakumulasi lipid. Pada kondisi yang tidak optimal, fotosintesis tetap berlangsung, mikroalga mengakumulasi energi dalam bentuk karbohidrat dan lipid. Karbohidrat yang berlebih, akan diubah menjadi lipid di dalam sel mikroalga.

Wu *et al.* (2017) menyatakan protein, karbohidrat dan lipid dapat dipecah menjadi monomer penyusunnya. Pada tahap glikolisis, glukosa yang merupakan monomer karbohidrat akan diubah menjadi 2 piruvat. Hasil dari 2 asam piruvat tersebut diubah menjadi asetildehid dengan cara membebaskan karbondioksida. Asetildehid ini merupakan zat yang akan diubah menjadi etanol, sedangkan NADH akan diubah menjadi NAD⁺, dan digunakan kembali dalam proses glikolisis sebagai penerima elektron. Produksi etanol dapat berjalan maksimal apabila dalam keadaan tanpa oksigen (anaerob).

Bioetanol merupakan produk dari hasil proses fermentasi yang berasal dari karbohidrat dengan bantuan mikroorganisme, contohnya *Zymomonas mobilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*. Mikroorganisme tersebut dipilih karena memiliki kemampuan

untuk mengubah gula sederhana menjadi etanol (Kumar *et al.*, 2016).

Saccharomyces cerevisiae dapat mengubah glukosa menjadi etanol karena mengandung enzim invertase dan zimase. Enzim invertase memecah disakarida menjadi monosakarida, sedangkan enzim zimase mengubah monosakarida menjadi etanol dan CO₂ (Hajar *et al.*, 2017). *S. cerevisiae* menggunakan jalur *Embden-Meyerhof Parnas* (EMP) dalam memfermentasi glukosa menjadi etanol pada kondisi netral atau sedikit asam dan dalam kondisi anaerob (Papagianni, 2012).

Biomassa pada mikroalga menguntungkan untuk digunakan sebagai bahan baku *biofuel*. Beberapa studi telah dilakukan untuk meningkatkan sintesis biomolekul penting yang menghasilkan biomassa berkualitas tinggi seperti karbohidrat untuk bioetanol. Upaya memaksimalkan beberapa variabel seperti cahaya, salinitas dan nutrisi mampu meningkatkan optimalitas pertumbuhan *Anabaena variabilis*. Perlakuan ini mampu meningkatkan produksi bioetanol 2.5 kali lipat dibandingkan kontrol (Deb *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa *Anabaena* sp. memiliki kadar karbohidrat 24.53 % yang dikultivasi selama 30 hari pada air tawar dengan media Walne. Biomassa *Anabaena* sp. berpotensi sebagai bahan utama bioetanol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Universitas Diponegoro, Universitas Cenderawasih dan seluruh pihak yang

memberikan bantuan dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalo, D., Gaol, M. L., & Beribe, H. D. (2019). Pengaruh Konsentrasi Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Mikroalga *Chlorella vulgaris*. *Biotropikal Sains*, 16, 28–39.
- Deb, D., Mallick, N., & Bhadoria, P. B. S. (2021). Engineering culture medium for enhanced carbohydrate accumulation in *Anabaena variabilis* to stimulate production of bioethanol and other high-value co-products under cyanobacterial refinery approach. *Renewable Energy*, 163, 1786–1801.
- Fu, J., Huang, Y., Liao, Q., Xia, A., Fu, Q., & Zhu, X. (2019). Photo-bioreactor design for microalgae: A review from the aspect of CO₂ transfer and conversion. *Bioresource Technology*, 292, 121947.
- Gao, F., Li, C., Yang, Z. H., Zeng, G. M., Feng, L. J., Liu, J. zhi, Liu, M., & Cai, H. wen. (2016). Continuous microalgae cultivation in aquaculture wastewater by a membrane photobioreactor for biomass production and nutrients removal. *Ecological Engineering*, 92, 55–61.
- Gaurav, N., & Kumar, A. (2018). Morphology & Ecology of Selected Bga (Aulosira, Tolypothrix, Nostoc). *International Journal of General Medicine and Pharmacy*, 5, 37–46.
- Hajar, S., Azhar, M., Abdulla, R., Jambo, S. A., Marbawi, H., Azlan, J., Azifa, A., Faik, M., & Francis, K. (2017). Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 10, 52–61.
- Han, F., Pei, H., Hu, W., Jiang, L., Cheng, J., & Zhang, L. (2016). Beneficial changes in biomass and lipid of microalgae *Anabaena variabilis* facing the ultrasonic stress environment. *Bioresource Technology*, 209, 16–22.
- Hernández, D., Riaño, B., Coca, M., & García-gonzález, M. C. (2015). Saccharification of carbohydrates in microalgal biomass by physical, chemical and enzymatic pre-treatments as a previous step for bioethanol production. *Chemical Engineering Journal*, 262, 939–945.
- Hossain, N., Mahlia, T. M. I., Zaini, J., & Saidur, R. (2019). Techno-economics and Sensitivity Analysis of Microalgae as Commercial Feedstock for Bioethanol Production. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 38, 1–14.
- Kemendikbud. (2013). Produksi Pakan Alami Buku ajar Kelas X.
- Kumar, K., Ghosh, S., Angelidaki, I., Holdt, S. L., Karakashev, D. B., Alvarado, M., & Das, D. (2016). Recent developments on biofuels production from microalgae and macroalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 65, 235–249.
- Kurniawan, M. H., Sriati, M. untung kurnia agung, & Mulyani, Y. (2017). Pemanfaatan *Skeletonema* sp. Dalam Mereduksi Limbah Minyak Solar di Perairan. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 8, 68–75.
- Okryreza, A., Meitiandari, M., & Luqman, B. (2013). Pengikatan Karbon Dioksida dengan Mikroalga (*Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas* sp., *Spirulina* sp.) Dalam Upaya Untuk Meningkatkan Kemurnian Biogas. *Jurnal Teknologi Kimia Dan Industri*, 2, 212–216.
- Papagianni, M. (2012). Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of industrially important compounds. *Computational and Structural Biotechnology*, 3, 1–8.
- Patel, A., Matsakas, L., Rova, U., & Christakopoulos, P. (2019). A perspective on biotechnological applications of thermophilic microalgae and cyanobacteria. *Bioresource Technology*, 278, 424–434.
- Primaryadi, I. N. B., Anggreni, A. A. M. D., & Wartini, N. M. (2015). Pengaruh Penambahan Magnesium Sulfat Heptahidrat dan Feri Klorida Pada Blue

- Green Medium-11 Terhadap Konsentrasi Biomassa Mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal REKAYASA DAN MANAJEMEN AGROINDUSTRI*, 3, 92–100.
- Rai, I. K., Putra, W., Dewi, A. A., & Arnata, I. W. (2015). Pengaruh Jenis Media Terhadap Konsentrasi Biomassa Dan Klorofil Mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 3, 40–46.
- Regista, Ambeng, Litaay, M., & Umar, M. R. (2017). Pengaruh Pemberian Vermikompos Cair *Lumbricus rubellus* Hoffmeister Pada Pertumbuhan *Chlorella* sp. *BIOMA: JURNAL BIOLOGI MAKASSAR*, 2, 1–8.
- Reyimu, Z., & Özçimen, D. (2017). Batch cultivation of marine microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis suecica* in treated municipal wastewater toward bioethanol production. *Journal of Cleaner Production*, 150, 40–46.
- Selvika, Z., Kusuma, A. B., Herliany, N. E., & Negara, B. F. S. (2016). The growth rate of the *Chlorella* sp. at different concentrations of coal waste water. *Depik*, 5, 107–112.
- Setyawati, F., Satyantini, W. H., Arief, M., & Pujiastuti, K. K. (2018). Teknik Kultur *Tetraselmis chuii* Dalam Skala Laboratorium di PT. Central Pertiwi Bahari, Rembang, Jawa Tengah. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 7, 63.
- Sirait, P. S., Setyaningsih, I., & Tarman, K. (2019). Aktivitas Antikanker Ekstrak Spirulina yang Dikultur Pada Media Walne dan Media Organik. *JPHPI*, 22, 50–59.
- Sitther, V., Tabatabai, B., Fathabad, S. G., Gichuki, S., Chen, H., & Arumanayagam, A. C. S. (2020). Cyanobacteria as a biofuel source: advances and applications. In *Advances in Cyanobacterial Biology*, 14214, 269–289.
- Wu, J. Y., Lay, C. H., Chen, C. C., & Wu, S. Y. (2017). Lipid accumulating microalgae cultivation in textile wastewater: Environmental parameters optimization. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 79, 1–6.
- Zahra, Z., Choo, D. H., Lee, H., & Parveen, A. (2020). Cyanobacteria: Review of current potentials and applications. *Environments - MDPI*, 7, 13.