

PEMANFAATAN HIDROLISAT TALAS (*Colocasia esculenta* L.) PADA KULTUR MIKSOTROFIK MIKROALGA *Tetraselmis chui*: PENGAMATAN PERTUMBUHAN DAN KADAR LIPIDA

Mohamad Agus Salim
UIN Sunan Gunung Djati Bandung
agus.salim@uinsgd.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati potensi penggunaan hidrolisat talas (*Colocasia esculenta* L.) sebagai sumber karbon organik kompleks untuk menghasilkan kerapatan sel, biomasa, kadar lipida dan klorofil yang optimum dari mikroalga *Tetraselmis chui* pada kondisi mikсотrofik. Kultur dilaksanakan pada botol yang berisi 400 mL medium basal bold. Hidrolisat talas diberikan dalam lima konsentrasi yaitu : 0, 5, 10, 15 dan 20 g/L. Hasilnya penelitian memperlihatkan mikroalga *T. chui* dapat tumbuh pada kondisi mikсотrofik dengan penambahan hidrolisat talas pada kisaran konsentrasi 5 sampai 20 g/L. Kerapatan sel dan berat kering maksimum pada penambahan hidrolisat talas 10 g/L yaitu masing masing $4,23 \times 10^5$ sel/ml dan 0,57 g/L. Sedangkan berat segar dan kadar lipida maksimum dicapai pada penambahan hidrolisat talas 15 g/L yaitu 4,85 g/L dan 67,4%. Kadar klorofil menurun sejalan dengan meningkatnya penambahan konsentrasi hidrolisat talas. Simpulan, penggunaan hidrolisat talas dapat meningkatkan kerapatan sel, berat segar dan berat kering, kadar lipida dan menurunkan kadar klorofil mikroalga *T.chui* pada kultur mikсотrofik.

Kata Kunci: Hidrolisat Talas, Lipida, Mikсотrofik, Pertumbuhan, *Tetraselmis chui*

ABSTRACT

*This study aims to observe the potential use of taro hydrolysate (*Colocasia esculenta* L.) as a source of complex organic carbon to produce optimum cell density, biomass, lipid and chlorophyll content from *T. chui* microalgae under myxotrophic conditions. The culture was carried out in a vial containing 400 mL of bold basal medium. Taro hydrolysate is given in five concentrations, namely: 0, 5, 10, 15 and 20 g/L. The results showed that *T. chui* microalgae could grow in myxotrophic conditions with the addition of taro hydrolysate in the concentration range of 5 to 20 g/L. The maximum cell density and dry weight in the addition of 10 g/L taro hydrolysate were 4.23×10^5 cells/ml and 0.57 g/L, respectively. Meanwhile, the maximum fresh weight and lipid content were achieved at the addition of 15 g/L taro hydrolysate, namely 4.85 g/L and 67.4%. Chlorophyll content decreased with increasing concentration of taro hydrolysate. In conclusion, the use of taro hydrolysate can increase cell density, fresh weight and dry weight, lipid content and decrease the chlorophyll content of *T.chui* microalgae in myxotrophic culture.*

Keywords: Taro Hydrolysate, Lipid, Mixotrophic, Growth, *Tetraselmis chui*

PENDAHULUAN

Saat ini, budidaya mikroalga mendapat banyak perhatian dari masyarakat ilmiah di seluruh dunia karena terdapat beberapa alasan seperti laju pertumbuhannya yang cepat, memiliki senyawa bioaktif yang berharga, termasuk pigmen alami dan lipida yang berguna untuk produksi bahan bakar hayati (Oliveira et al., 2021). Dengan demikian sangat penting untuk meningkatkan produksi biomassa dan produktivitas lipida serta senyawa organik lainnya dengan cepat dan untuk menurunkan biaya produksi mikroalga itu sendiri (Ananthi et al., 2021). Penelitian terbaru mengungkapkan bahwa biomassa dan kandungan lipida mikroalga dapat ditingkatkan dengan mengubah kondisi kultur seperti penambahan nutriennya (Aziz et al., 2020). Kelayakan penggunaan metode kultur miksotrofik telah diketahui sebagai alternatif dari kultur mikroalga fototrofik (Huang et al., 2021). Dalam kultur miksotrofik, mikroalga akan memperoleh energi dari karbon organik dan cahaya. Kondisi seperti ini cocok untuk spesies mikroalga yang tidak dapat tumbuh dalam kegelapan total tetapi membutuhkan sedikit cahaya (Roostaei et al., 2018). Selain itu, sintesis produk metabolisme seperti lipida dan pigmen dipengaruhi oleh keberadaan karbon organik (Daliry et al., 2017). Dalam hal ini, hidrolisat talas sangat menjanjikan sebagai sumber bahan organik yang murah untuk kultur mikroalga pada kondisi miksotrofik.

Menurut para ahli, metabolisme miksotrofik dapat ditemukan pada beberapa mikroalga. Organisme miksotrofik dapat memanfaatkan sumber karbon anorganik seperti gas CO₂ dan bahan organik secara bersamaan pada saat ada cahaya. Ternyata banyak spesies mikroalga yang mampu melaksanakan proses metabolisme baik autotrofik maupun heterotrofik untuk pertumbuhannya, yang artinya mampu berfotosintesis sekaligus memanfaatkan bahan organik secara bersamaan (Kallarakkal et al., 2021). Mengingat keterbatasan pengetahuan tentang potensi pertumbuhan miksotrofik dari mikroalga *T. chui*, maka penelitian ini bertujuan untuk mengamati sumber karbon organik yaitu hidrolisat talas (*C. esculenta* L.) dan menganalisis pengaruh variasi konsentrasinya terhadap kepadatan sel, berat basah dan kering serta kandungan klorofil. Mikroalga *T. chui* dikultur pada kondisi miksotrofik agar mampu mengakumulasi lipida yang akan digunakan dalam produksi biodiesel. Berdasarkan pemaparan latar belakang tersebut maka tujuan penelitiannya yaitu untuk mempelajari pertumbuhan miksotrofik mikroalga *T. chui*, menggunakan hidrolisat talas sebagai pendekatan alternatif dari kultur fotoautotrofik.

METODE PENELITIAN

Kultur Mikroalga *T. chui*

Biakan mikroalga *T. chui* merupakan koleksi milik Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, UIN Bandung, Indonesia. Kultur dilakukan pada tabung erlenmeyer yang berisi 400 mL media basal bold (MBB) yang dilengkapi dengan hidrolisat talas sebagai sumber karbon organik. Hidrolisat talas disiapkan dalam empat konsentrasi: 5, 10, 15 dan 20 g/L dan 0 g/L sebagai kontrol (fotoautotropik). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak lima kali. Kultur dilakukan di ruang dengan suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$ di bawah penerangan terus menerus dengan lampu fluoresen ($10,8 \mu\text{moles/m}^2/\text{s}$). Kepadatan sel dihitung setiap hari pada ruang hitung menggunakan haemocytometer di bawah mikroskop majemuk (Olympus Normaski). Setelah tujuh hari kultur, sel dipanen dengan

sentrifugasi dan pengeringan selama 24 jam pada oven dengan suhu 60°C. Berat segar dan kering sel *T. chui* diukur pada akhir percobaan.

Pembuatan Hidrolisat Talas

Tepung talas diencerkan dengan aquades dalam perbandingan 1 : 3 (b/v). Pada larutan tepung talas tersebut ditambahkan 0,1% α -amilase dan diinkubasi selama 25 menit pada suhu 82°C. Selanjutnya campuran tersebut dipanaskan pada suhu 100°C selama 60 menit dan suhu dibiarkan turun hingga 55°C. Selanjutnya ke dalam campuran ditambahkan 0,06% glucoamylase dan didiamkan selama 60 menit pada suhu 60°C.

Pengukuran Biomassa dan Ekstraksi Lipida *T. chui*

Pengukuran biomasa mikroalga dilaksanakan pada akhir percobaan. Sebanyak 20 mL kultur *T. chui* disaring dengan kertas saring (Whatman no.1) dan dikeringkan pada oven 60°C sampai beratnya konstan. Biomasa yang diperoleh dinyatakan dalam gram per liter (g/L). Kandungan lipida mikroalga dianalisis menggunakan prosedur *Screening and Comparative Metabolic Profiling*. Biomasa kering dari *T. chui* sebanyak 0,1 g direndam di dalam kloroform : methanol (2:1 v/v) pada suhu ruang sehari-hari. Selanjutnya larutan tersebut disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 10 menit dan sel yang mati dibuang. Pada larutan tersebut ditambahkan 5 mL larutan NaCl 0,9% dan dibiarkan beberapa menit dan fase organik diperoleh. Pelarut organik yang tersisa diuapkan, maka yang tertinggal adalah lipida kasar yang dikeringkan pada suhu 50°C dan ditimbang lipida yang diperoleh dinyatakan dalam persen biomasa kering.

Ekstraksi dan Pengukuran Kadar Klorofil

Medium kultur mikroalga sebanyak 10 ml disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 8 menit dan dibilas dua kali pada air suling untuk mendapatkan biomasanya. Selanjutnya biomasa diekstraksi dengan menambahkan 10 ml etanol 90% (v/v) hingga warna dari biomasanya memudar. Kemudian larutan tersebut disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 8 menit dan supernatan dipisahkan untuk digunakan dalam pengukuran kadar klorofil. Kandungan klorofil a dan b dalam sel mikroalga diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

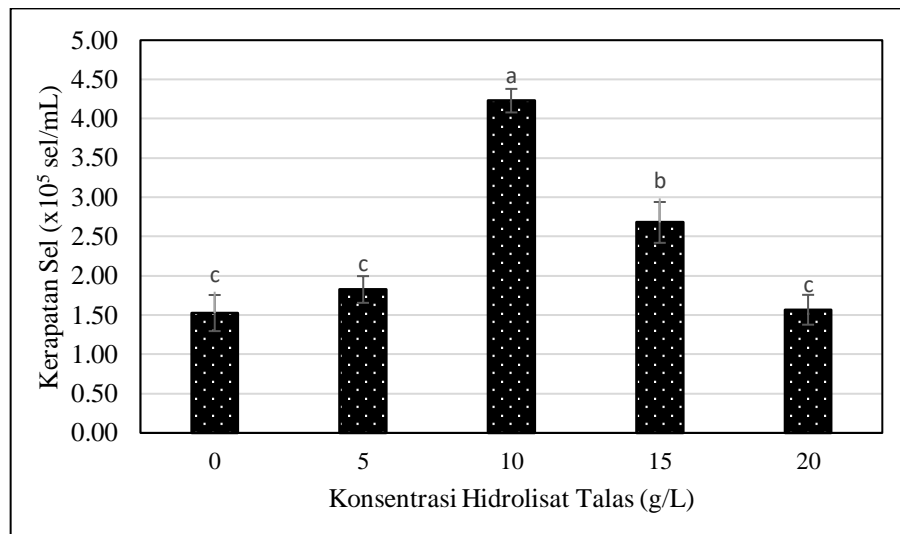
Analisis Statistik

Data dinyatakan dalam bentuk rata-rata \pm standar error dari lima pengulangan. Perbandingan statistik antara kelompok perlakuan dikerjakan dengan analisis varian (ANAVA) satu arah dan perbedaan yang signifikan di antara perlakuan dianalisis lanjut dengan uji Duncan. Pengolahan data menggunakan SPSS untuk Windows versi 20.0. Nilai p yang kurang dari 0,05 berarti berbeda nyata.

HASIL PENELITIAN

Kerapatan Sel *T. chui*

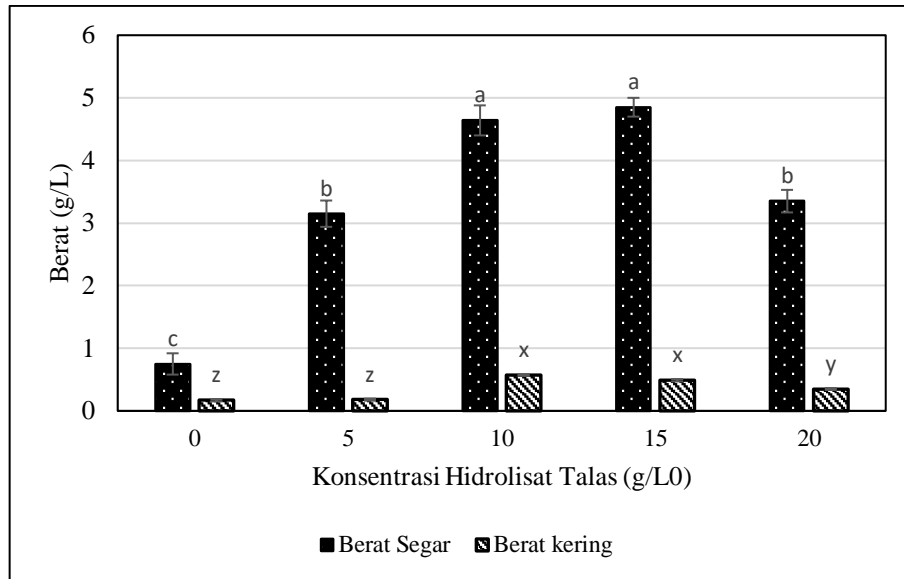
Data yang diperoleh menunjukkan bahwa kerapatan sel *T. chui* berbeda nyata ($P < 0,05$) di antara variasi perlakuan hidrolisat talas di akhir percobaan (Gambar 1). Kerapatan sel *T. chui* secara signifikan lebih tinggi pada penambahan hidrolisat talas (kultur mikсотrofik) dibandingkan dengan kontrol (kultur fotoautotrofik). Kerapatan sel maksimum ($4,23 \times 10^5$ sel / mL) terjadi pada kultur mikсотrofik dengan penambahan 10 g/L hidrolisat talas, sedangkan penambahan 15 g/L hidrolisat talas pada media kultur *T. chui* mulai menghambat pertumbuhan hal ini ditunjukkan oleh kerapatan sel yang menurun.



Gambar 1. Kerapatan sel mikroalga *T. chui* pada perlakuan beberapa konsentrasi hidrolisat talas selama 7 hari pengamatan

Berat Segar dan Berat Kering *T. chui*

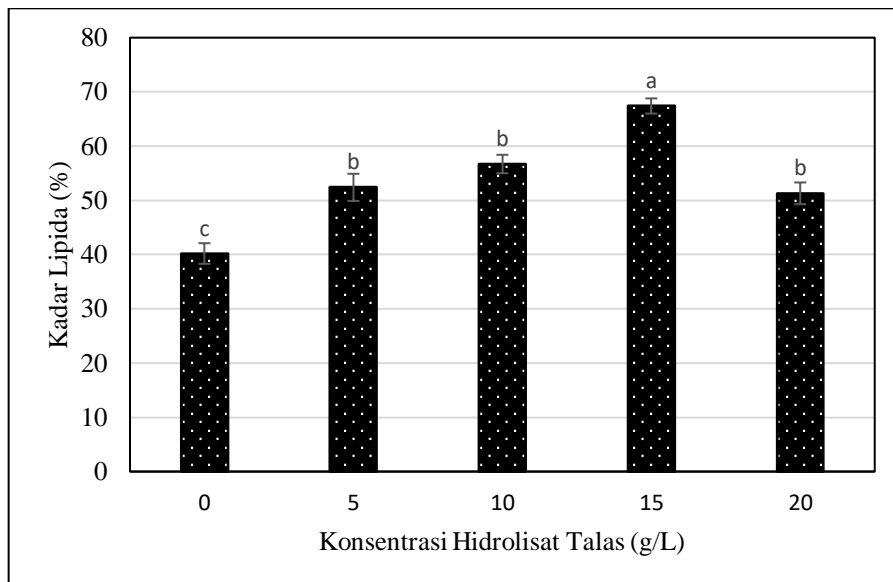
Berat basah dan berat kering biomasa *T. chui* pada kondisi kultur fotoautotrofik berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan kondisi kultur mikсотrofik pada penambahan hidrolisat talas sebagai sumber karbon organik (Gambar 2). Penambahan hidrolisat talas terlihat jelas mampu meningkatkan biomasanya. Berat segar tertinggi terlihat pada pemberian 15 g/L hidrolisat talas, diikuti oleh 10 g/L, 20 g/L, 5 g/L dan 0 g/L (fotoautotrofik / kontrol). Berat segar tertinggi 4,85 g/L terjadi pada penambahan hidrolisat talas 15 g/L dan lebih dari 6 kali lipat lebih banyak dari pada kontrol. Sedangkan berat kering tertinggi terjadi pada penambahan 10 g/L hidrolisat talas, disusul dengan 15 g/L, 20 g/L, 5 g/L dan kontrol. Berat kering tertinggi 0,57 g/L terjadi pada pemberian hidrolisat talas 10 g/L dan lebih dari 3 kali lipat lebih banyak dari kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa *T. chui* dapat dikultur dengan penambahan hidrolisat talas hingga 15 g/L. Selain itu, perlu dicatat bahwa pemberian hidrolisat talas yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan *T. chui* dalam hal penambahan biomasanya. Begitupun *T. chui* yang dikultur tanpa penambahan hidrolisat talas menghasilkan berat segar dan berat kering terendah.



Gambar 2. Berat segar dan berat kering *T. chui* pada perlakuan beberapa konsentrasi hidrolisat talas di akhir pengamatan (hari ke-7)

Kadar Lipida *T. chui*

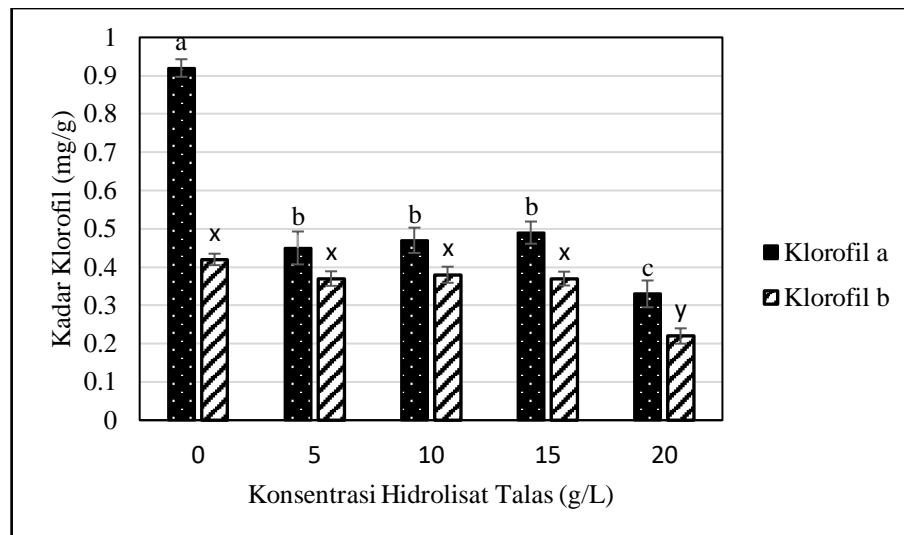
Data pengukuran kadar lipida menunjukkan bahwa hidrolisat talas dapat memicu produksi lipida oleh mikroalga *T. chui* pada kondisi mikсотrofik (Gambar 3). Kandungan lipida pada kisaran 40,2% hingga 67,4% (dari berat kering), terlihat berbeda nyata ($P < 0,05$) antara perlakuan hidrolisat talas dengan kontrol. Produktivitas lipida tertinggi 67,4% dicapai pada kultur dengan perlakuan 15 g/l hidrolisat talas dan paling rendah pada kontrol sebesar 40,2%.



Gambar 3. Kadar lipida *T. chui* pada perlakuan beberapa konsentrasi hidrolisat talas di akhir pengamatan (hari ke-7)

Kadar Klorofil *T. chui*

Data yang diperoleh memperlihatkan bahwa pada kondisi mikсотrofik, kandungan klorofil *T. chui* menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi hidrolisat talas (Gambar 4). Selanjutnya, pada penelitian ini ditunjukkan bahwa pengaruh perlakuan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap kandungan klorofil pada kultur dengan kondisi mikсотrofik. Kandungan klorofil *T. chui* yang diberi perlakuan hidrolisat talas menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol (kondisi fotoautotrofik).



Gambar 4. Kadar klorofil *T. chui* pada perlakuan beberapa konsentrasi hidrolisat talas di akhir pengamatan (hari ke-7)

PEMBAHASAN

Kerapatan Sel *T. chui*

Karakteristik pertumbuhan *T. chui* menunjukkan bahwa kerapatan sel pada kondisi mikсотrofik lebih baik daripada kondisi fotoautotrofik. Dibandingkan dengan kontrol/fotoautotrofik, kerapatan sel pada kultur mikсотrofik menunjukkan berbeda secara nyata. Begitupun, pengaruh karbon organik terhadap kerapatan sel *T. chui* lebih tinggi daripada sumber karbon anorganik. Hal tersebut dimungkinkan karena cahaya dan karbon organik (hidrolisat talas) yang disuplai secara bersamaan ke kultur mikсотrofik. Sebenarnya, sumber karbon organik pada konsentrasi yang bervariasi dapat menyebabkan meningkat atau menurunnya pertumbuhan sel mikroalga. Bahkan pada konsentrasi yang lebih tinggi dari sumber karbon tersebut dapat menjadi racun bagi sel mikroalga (Ma et al., 2021). Alasan lain mungkin terjadi seperti dilaporkan oleh Cai et al., (2021) yang menyatakan bahwa pada kerapatan sel yang tinggi, cahaya menjadi terbatas dan pertumbuhan fotoautotrofik sangat rendah dibandingkan dengan pertumbuhan mikсотrofik. Hasilnya, kerapatan sel diharapkan jauh lebih tinggi jika hidrolisat talas dan intensitas cahaya ditingkatkan.

Pertumbuhan mikroalga pada kondisi mikсотrofik ada dua proses berbeda yang terjadi di dalam sel; fotosintesis dan respirasi aerobik. Fotosintesis dipengaruhi oleh intensitas cahaya dan respirasi aerob terkait dengan sumber karbon organik (hidrolisat talas). ATP yang terbentuk dari reaksi fotokimia seharusnya mempercepat anabolisme dari sumber karbon organik pada kultur

miksotrofik *T. chui* dan ini menjadi alasan untuk terjadinya peningkatan pertumbuhan pada kultur tersebut. Choix et al., (2021) menunjukkan bahwa kultur pada kondisi heterotrofik dan fotoautotrofik memiliki laju pertumbuhan sel yang lebih rendah dibandingkan pada kondisi miksotrofik. Pada kajian ini terlihat jelas bahwa *T. chui* berasimilasi dan tumbuh dengan adanya sumber karbon anorganik (CO₂) dan organik (hidrolisat talas) dengan hadirnya cahaya (kondisi miksotrofik).

Berat Basah dan Berat Kering *T. chui*

Hasil ini serupa dengan data pengamatan sebelumnya, yang mengungkapkan bahwa pertumbuhan miksotrofik *T. chui* pada sumber karbon organik menghasilkan kandungan biomassa yang lebih tinggi daripada sel yang tumbuh dalam kondisi fotoautotrofik (Nguyen et al., 2021). Kultur sel miksotrofik yang memanfaatkan cahaya dan sumber karbon organik telah dianggap sebagai proses yang paling efisien untuk produksi biomassa mikroalga (Smith et al., 2021). Meskipun energi cahaya yang digunakan untuk fiksasi CO₂ menurun dalam kultur miksotrofik, jumlah energi yang hilang minimal, sehingga miksotrofik memberikan efisiensi energi yang lebih tinggi daripada model kultur lainnya (Baldisserotto al., 2021). Selain itu, sumber karbon organik berperan penting dalam meningkatkan akumulasi biomassa *T. chui* selama kultur mikroalga. Penambahan ke dalam media kultur dengan hidrolisat talas menyebabkan konsentrasi biomassa lebih tinggi daripada kontrol. Efek stimulasi hidrolisat talas pada produksi biomassa mungkin terkait dengan adanya beberapa nutrisi dalam komposisi dari hidrolisat talas itu sendiri.

Kemampuan hidup pada kondisi fotoautotrofik obligat untuk dapat tumbuh secara miksotrofik merupakan fenomena yang terjadi pada sejumlah marga dan spesies dari mikroalga (Zhang et al., 2021). Untuk alasan ini, *T. chui* dapat memanfaatkan hidrolisat talas sebagai sumber karbon dalam kondisi miksotrofik. Lie et al., (2017) mengungkapkan bahwa pertumbuhan akan jauh lebih jelas terjadi pada kehadiran cahaya daripada dalam kondisi gelap dan dengan adanya penambahan sumber karbon. Selain itu, terbukti bahwa adanya kemampuan *T. chui* untuk memanfaatkan sumber karbon yang beragam. Pada konsentrasi yang berbeda, penambahan hidrolisat talas sebagai sumber karbon organik dalam kondisi miksotrofik meningkatkan berat segar dan berat kering serta meningkatkan kandungan biomassa saat pemanenan secara luar biasa. Sedangkan sumber karbon anorganik dapat merangsang sintesis pigmen melalui peningkatan fotosintesis yang terlihat dengan meningkatnya kandungan klorofil. Hasil di atas menunjukkan bahwa pada kultur miksotrofik *T. chui* dengan pemberian sumber karbon organik dan pencahayaan adalah pendekatan yang diinginkan untuk produktivitas biomassa yang lebih tinggi.

Kadar Lipida *T. chui*

Respons bervariasinya kadar lipida sesuai dengan konsentrasi hidrolisat talas yang diberikan. Pada kondisi miksotrofik, hidrolisat talas yang diberikan dapat menginduksi peningkatan yang signifikan terhadap kandungan lipida *T. chui*. Dalam hal ini, Piasecka et al., (2020) mendeteksi bahwa kandungan lipida dari sel mikroalga yang tumbuh secara miksotrofik dapat meningkat atau menurun tergantung pada spesies mikroalga yang digunakan. Lebih lanjut, hasil ini

menunjukkan bahwa hidrolisat talas dapat secara efektif meningkatkan produksi lipida mikroalga, dan aplikasinya dapat mengurangi biaya produksi biodiesel dari mikroalga. Selain itu, hasil ini menunjukkan bahwa produksi lipida bergantung dari spesies mikroalganya, kondisi kultur, dan sumber karbon dari bahan organik.

Perlakuan hidrolisat talas dapat meningkatkan kadar lipida secara signifikan. Kultur mikroalga pada kondisi mikсотrofik tidak hanya mampu meningkatkan produksi biomassa, tetapi juga kandungan lipida yang sangat penting untuk produksi biodiesel berbasis mikroalga (Fuentes-Grünewald et al., 2021). Mayoritas penelitian mengenai kultur mikroalga pada kondisi mikсотrofik yang menggunakan sumber karbon dalam jumlah terbatas telah membuktikan bahwa metode ini efektif untuk mendapatkan kandungan lipida mikroalga yang tinggi (Jeong et al., 2021). Genus *Tetraselmis* ini telah menjadi organisme model untuk mengembangkan produksi lipida mikroalga yang hemat biaya pada kondisi kultur mikсотrofik. Banyak mikroalga dapat mengakumulasi lipida karena fotosintesis berlebih dan sumber karbon yang disuplainya (Lee et al., 2021).

Kadar Klorofil

Kandungan klorofil a dan b dari sel *T. chui* bervariasi sesuai dengan konsentrasi hidrolisat talas yang berbeda. Pengaruh dari hidrolisat talas pada produksi klorofil sel *T. chui* lebih lemah daripada karbon anorganik (CO₂). Walaupun demikian, biosintesis klorofil sebenarnya dipicu juga oleh kehadiran sumber karbon anorganik dan organik. Dalam hal ini, kehadiran hidrolisat talas dalam medium kultur akan mempengaruhi fotosintesis dan biosintesis pigmen. Namun, pengaruh sumber karbon organik pada biosintesis klorofil *T. chui* cukup menarik. Sumber karbon yang lebih tinggi (> 5 g/L) dapat menghambat produksi klorofil.

Kandungan klorofil *T. chui* menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi hidrolisat talas. Penurunan kandungan pigmen pada kondisi mikсотrofik dapat dikaitkan dengan penurunan jumlah kloroplas (Ayed et al., 2017). Hilangnya kandungan pigmen mikroalga selama pertumbuhan mikсотrofik disebabkan oleh perubahan protein membran fotosintetik (Mohan & Devi, 2015). Selanjutnya, biosintesis klorofil a diselesaikan melalui reaksi bergantung cahaya. Melalui reaksi ini, *protochlorophyll* dapat direduksi menjadi klorofil a (Rupaedah & Takahashi (2017). Beberapa laporan mengungkapkan bahwa sumber karbon dapat mengurangi efisiensi fotokimia dari fotosistem II (PS II) dan tingkat protein pusat reaksi PS II (Marudhupadi et al., 2016).

Pelaksanaan di awal kultur, sel-sel mikroalga menjalani kondisi kultur secara fotoautotrofik dan mensintesis pigmen fotosintesis, namun kemudian beralih ke kondisi kultur mikсотrofik dengan mengonsumsi hidrolisat talas yang ada di dalam medium. Pembentukan organel fotosintesis pada mikroalga akan terganggu dengan kehadiran sumber karbon organik (Subhash et al., 2014). Kondisi kultur mikсотrofik akan mengakibatkan penurunan produksi pigmen fotosintesis jika dibandingkan dengan yang diperoleh pada kondisi fotoautotrofik. Kandungan klorofil yang lebih tinggi yang diperoleh pada kultur fotoautotrofik bila dibandingkan dengan kultur mikсотrofik menegaskan pengamatan tersebut. Di sisi lain, Chandra et al., (2014) melaporkan bahwa kandungan klorofil yang rendah pada sel mikсотrofik menurunkan ketergantungan pada cahaya sehingga pengurangan jumlah klorofil di dalam sel mikroalga dapat meredakan fotoinhibisi.

Hasil ini konsisten dengan Show et al., (2017) yang menemukan jumlah klorofil yang lebih rendah pada kondisi mikсотrofik jika dibandingkan dengan sel yang tumbuh pada kondisi fotoautotrofik.

SIMPULAN

Kultur mikroalga *T. chui* dengan penambahan hidrolisat talas pada mediumnya sebagai sumber karbon organik dapat meningkatkan pertumbuhan dan kandungan lipida mikroalga tersebut. Disamping itu, pemanfaatan hidrolisat talas dapat memicu peningkatan kepadatan sel, berat segar, berat kering dan kandungan lipida. Begitu juga mampu menurunkan produksi pigmen fotosintesis yaitu klorofil. Dengan demikian kultur ini menawarkan cara yang layak untuk menurunkan biaya produksi biomassa mikroalga *T. chui* dengan pemanfaatan hidrolisat talas pada kondisi mikсотrofik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ananthi, V., Raja, R., Carvalho, I. S., Brindhadevi, K., Pugazhendhi, A., & Arun, A. (2021). A Realistic Scenario on Microalgae Based Biodiesel Production: Third Generation Biofuel. *Fuel*, 284, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118965>
- Ayed, H. B. A. B., Taidi, B., Ayadi, H., Pareau, D., & Stambouli, M. (2017). The Use of *Chlorella vulgaris* to Accumulate Magnesium Under Different Culture Conditions. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 2(5), 180-185. <https://doi.org/10.15406/jabb.2017.02.00043>
- Aziz, M. M. A., Kassim, K. A., Shokravi, Z., Jakarni, F. M., Liu, H. Y., Zaini, N., & Shokravi, H. (2020). Two-Stage Cultivation Strategy for Simultaneous Increases in Growth Rate and Lipid Content of Microalgae: A Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 119, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109621>
- Baldisserotto, C., Sabia, A., Guerrini, A., Demaria, S., Maglie, M., Ferroni, L., & Pancaldi, S. (2021). Mixotrophic Cultivation of *Thalassiosira pseudonana* with Pure and Crude Glycerol: Impact on Lipid Profile. *Algal Research*, 54(9). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102194>
- Cai, Y., Liu, Y., Liu, T., Gao, K., Zhang, Q., Cao, L & Ruan, R. (2021). Heterotrophic Cultivation of *Chlorella vulgaris* Using Broken Rice Hydrolysate as Carbon Source for Biomass and Pigment Production. *Bioresour Technol*, 323. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124607>
- Chandra, R., Rohit, M. V., Swamy, Y. V., & Mohan, S. V. (2014). Regulatory Function of Organic Carbon Supplementation on Biodiesel Production during Growth and Nutrient Stress Phases of Mixotrophic Microalgae Cultivation. *Bioresour Technol*, 165, 279-287. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.102>
- Choix, F. J., Ramos-Ibarra, J. R., Mondragón-Cortez, P., Lara-González, M. A., Juárez-Carrillo, E., Becerril-Espinosa, A., & Torres, J. R. (2021). Mixotrophic Growth Regime as a Strategy to Develop Microalgal Bioprocess from Nutritional Composition of Tequila vinasses. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02512>

- Daliry S., Hallajisani, A., Roshandeh J. M., Nouri, H., & Golzary, A. (2017). Investigation of Optimal Condition for *Tetraselmis chui* Microalgae Growth. *Global J. Environ. Sci. Manage.*, 3(2), 217-230. <https://doi.org/10.22034/gjesm.2017.03.02.010>
- Fuentes-Grünewald, C., Gayo-Peláez, J. I., Ndovela, V., Wood, E., Kapoore, R. V., & Llewellyn, C. A. (2021). Towards a Circular Economy: A Novel Microalgal Two-Step Growth Approach to Treat Excess Nutrients from Digestate and to Produce Biomass for Animal Feed. *Bioresource Technology*, 320. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124349>
- Huang, Y., Lou, C., Luo, L., & Wang, X. C. (2021). Insight into Nitrogen and Phosphorus Coupling Effects on Mixotrophic *Chlorella vulgaris* Growth Under Stably Controlled Nutrient Conditions. *Science of the Total Environment*, 752, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141747>
- Jeong, H. J., Kang, H. C., Lim, A. S., Jang, S. H., Lee, K., Lee, S. Y., & Kim, K. Y. (2021). Feeding Diverse Prey as an Excellent Strategy of Mixotrophic Dinoflagellates for Global Dominance. *Science Advances*, 7(2). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abe4214>
- Kallarakkal, K. P., Muthukumar, K., Alagarsamy, A., Pugazhendhi, A., & Mohamed, S. N. (2021). Enhancement of Biobutanol Production Using Mixotrophic Culture of *Oscillatoria* sp. in Cheese Whey Water. *Fuel*, 284, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119008>
- Lee, S. A., Lee, N., Oh, H. M., & Ahn, C. Y. (2021). Stepwise Treatment of Undiluted Raw Piggery Wastewater, Using Three Microalgal Species Adapted to High Ammonia. *Chemosphere*, 263, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127934>
- Lie, A. A., Liu, Z., Terrado, R., Tatters, A. O., Heidelberg, K. B., & Caron, D. A. (2017). Effect of Light and Prey Availability on Gene Expression of the Mixotrophic Chrysophyte, *Ochromonas* sp. *BMC Genomics*, 18(1), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3549-1>
- Ma, X., Zhang, M., Gao, Z., Gao, M., Wu, C., & Wang, Q. (2021). Microbial Lipid Production from Banana Straw Hydrolysate and Ethanol Stillage. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12644-z>
- Marudhupandi, T., Sathishkumar, R., & Kumar, T. T. A. (2016). Heterotrophic cultivation of *Nannochloropsis salina* for Enhancing Biomass and Lipid Production. *Biotechnology Reports*, 10, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.02.001>
- Mohan, S. V., & Devi, M. P. (2014). Salinity Stress Induced Lipid Synthesis to Harness Biodiesel During Dual Mode Cultivation of Mixotrophic Microalgae. *Bioresource Technology*, 165, 288-294. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.103>
- Nguyen, M. K., Kim, M. K., Moon, J. Y., Van Tran, V., & Lee, Y. C. (2021). Influence of Chitosan-Based Carbon Dots Added in Mgac-Containing Culture Medium on Green Alga *Tetraselmis* sp. *Journal of Applied Phycology*, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02368-5>
- Oliveira, C. Y. B., D'Alessandro, E. B., Antoniosi Filho, N. R., Lopes, R. G., & Derner, R. B. (2021). Synergistic Effect of Growth Conditions and Organic Carbon Sources for Improving Biomass Production and Biodiesel Quality

- by The Microalga *Choricystis minor* var. *minor*. *Science of the Total Environment*, 759. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143476>
- Piasecka, A., Nawrocka, A., Wiącek, D., & Krzemińska, I. (2020). Agro-Industrial by-Product in Photoheterotrophic and Mixotrophic Culture of *Tetrademus obliquus*: Production of ω 3 and ω 6 Essential Fatty Acids with Biotechnological Importance. *Scientific Reports*, 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63184-4>
- Roostaei, J., Zhang, Y., Gopalakrishnan, K., & Ochocki, A. J. (2018). Mixotrophic Microalgae Biofilm: A Novel Algae Cultivation Strategy for Improved Productivity and Cost-Efficiency of Biofuel Feedstock Production. *Scientific Reports*, 8(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31016-1>
- Rupaedah, B., & Takahashi, Y. (2017). Effect of Nitrogen Supply in Culture Media and Light Intensity on Photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 4(2), 64-69. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v4i2.15>
- Show, P. L., Tang, M. S., Nagarajan, D., Ling, T. C., Ooi, C. W., & Chang, J. S. (2017). A Holistic Approach to Managing Microalgae for Biofuel Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 215. <https://doi.org/10.3390/ijms18010215>
- Smith, J. P., Hughes, A. D., McEvoy, L., Thornton, B., & Day, J. G. (2021). The Carbon Partitioning of Glucose and DIC in Mixotrophic, Heterotrophic and Photoautotrophic Cultures of *Tetraselmis suecica*. *Biotechnology Letters*, 43(3), 729-743. <https://doi.org/10.1007/s10529-020-03073-y>
- Subhash, G. V., Rohit, M. V., Devi, M. P., Swamy, Y. V., & Mohan, S. V. (2014). Temperature Induced Stress Influence on Biodiesel Productivity During Mixotrophic Microalgae Cultivation with Wastewater. *Bioresour Technol*, 169, 789-793. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.019>
- Zhang, Z., Sun, D., Cheng, K. W., & Chen, F. (2021). Investigation of Carbon and Energy Metabolic Mechanism of Mixotrophy in *Chromochloris zofingiensis*. *Biotechnology for Biofuels*, 14(1), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01890-5>