



**KAJIAN LITERATUR: POTENSI DAN PEMANFAATAN MIKROALGA  
SEBAGAI PANGAN FUNGSIONAL**

**SKRIPSI**

Oleh:

**FREDY PRIYATMOKO**

**NIM. 175080300111017**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2021**



**KAJIAN LITERATUR: POTENSI DAN PEMANFAATAN MIKROALGA  
SEBAGAI PANGAN FUNGSIONAL**

**SKRIPSI**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan**

**Universitas Brawijaya**

Oleh:

**FREDY PRIYATMOKO**

**NIM. 175080300111017**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

**JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2021**

## SKRIPSI

### KAJIAN LITERATUR: POTENSI DAN PEMANFAATAN MIKROALGA SEBAGAI PANGAN FUNGSIONAL

Oleh:

**FREDY PRIYATMOKO**

**NIM. 175080300111017**

Telah dipertahankan didepan penguji  
Pada tanggal 1 Desember 2021  
dan telah dinyatakan memenuhi syarat



**Dr. Ir. Mahamad Firdaus, MP**

**NIP. 19680919 200501 1 001**

**Tanggal: 14 / 12 / 2021**

Menyetujui,

**Dosen Pembimbing I**

**Dr. Sc. Asep Awaludin Prihanto, S.Pi., MP.**

**NIP. 19810602 200604 1 001**

**Tanggal: 14 / 12 / 2021**



## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fredy Priyatmoko

NIM : 175080300111017

Judul PKL : Kajian Literatur: Potensi dan Pemanfaatan Mikroalga sebagai Pangan Fungsional

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penulisan Review sebagai pengganti skripsi ini berdasarkan hasil kajian, analisa, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri yang berasal dari telaah berbagai sumber pustaka. Sedangkan baik untuk naskah, tabel, gambar maupun ilustrasi lainnya yang tercantum sebagai bagian dari skripsi ini yang berasal dari sumber pustaka atau dari karya/ pendapat/ penelitian dari orang lain, maka saya telah mencantumkan sumber yang jelas dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Brawijaya, Malang. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa adanya paksaan dari pihak manapun.

Malang, 30 Maret 2021

Fredy Priyatmoko

NIM.175080300111017



**IDENTITAS TIM PENGUJI**

Judul : Kajian Literatur: Potensi dan Pemanfaatan Mikroalga sebagai Pangan Fungsional

Nama Mahasiswa : Fredy Priyatmoko

NIM : 175080300111017

Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

**PENGUJI PEMBIMBING:**

Pembimbing 1 : Dr. Sc. Asep Awaludin Prihanto, S.Pi., MP.

**PENGUJI BUKAN PEMBIMBING**

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Anies Chamidah, MP

Dosen Penguji 2 : Ahmad Syihab Fahmil Qowim, S.TP, M.Si

Tanggal Ujian : 1 Desember 2021

## UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas karunia dan kesehatan yang diberikan selama ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Orang tua dan keluarga yang selalu memberi dukungan baik materil, rohani dan psikologis, sehingga saya mampu memberikan yang terbaik diperguruan serta memotivasi saya agar cepat menyelesaikan kuliah.
3. Bapak Dr. Sc. Asep Awaludin Prihanto, S.Pi., MP selaku dosen pembimbing yang senantiasa memberi gagasan, ide, dukungan, dan motivasi kepada penulis untuk terus belajar dan belajar, disamping masukan-masukan yang diberikan untuk penulis.
4. teman-teman tim bimbingan yang saling mendukung satu sama lain serta keluarga besar Teknologi Hasil Perikanan 2017.
5. Kepada teman bukiarsari dan sekte agri yang selalu memberi semangat saya dalam menyelesaikan kuliah.
6. Kepada penyemangat hidup yang selalu membuat saya termotivasi untuk segera lulus dan sukses.

Malang, 30 Maret 2021

Penulis



## RINGKASAN

**Fredy Priyatmoko.** Kajian Literatur: Potensi dan Pemanfaatan Mikroalga sebagai Pangan Fungsional (di bawah bimbingan **Dr. Sc. Asep Awaludin Prihanto, S.Pi., MP.**)

---

Krisis pangan diperkirakan akan melanda dunia dalam 50 tahun ke depan. ada 135 juta orang di 55 negara mengalami krisis pangan akut. Hal ini menyebabkan 75 juta pertumbuhan anak terganggu dan 17 juta lainnya terdampak malnutrisi pada tahun 2019. Mikroalga bisa digunakan sebagai alternatif stok pangan karena produktivitas tinggi dan memiliki sifat nutrisi serta fungsional. Oleh karena itu perlu dilakukannya Kajian Literatur: Potensi dan Pemanfaatan Mikroalga sebagai Pangan Fungsional untuk mengetahui metode ekstraksi mikroalga, ragam sifat nutrisi dan fungsional dari mikroalga, serta pemanfaatannya dalam produk pangan

Metode yang digunakan dalam penulisan kajian literatur ini yaitu meliputi beberapa tahap pertama penentuan topik, pencarian pustaka dengan sumber portal seperti Google scholar, sciencedirect, dan researchgate dengan rentang waktu tahun 2011-2021 pustaka nasional maupun internasional. Tahap selanjutnya yaitu pemilihan Pustaka kemudian menganalisis Pustaka yang sudah dikumpulkan untuk mencari pustaka sesuai kriteria untuk mendapatkan informasi penting terkait topik yang diambil. Setelah itu menyusun hasil analisis dari setiap sumber pustaka ke dalam sebuah narasi yang terstruktur dengan hubungan antar pustaka serta agar tiap pustaka dapat saling membangun

Berdasarkan hasil kajian literatur, tahapan analisis Potensi dan Pemanfaatan Mikroalga sebagai Pangan Fungsional dilakukan mulai dari definisi dan jenis pangan fungsional, karakteristik dan klasifikasi mikroalga, ekstraksi mikroalga yaitu Soxhlet, PLE, UAE dan MAE. Kandungan nutrisi pada mikroalga berupa protein dan asam amino, lipid dan asam lemak, Karbohidrat serta vitamin. Senyawa bioaktif dari mikroalga adalah pigmen, Sterol dan beberapa metabolit lain. Bioaktif mikroalga dapat dimanfaatkan di bidang Kesehatan karena mengandung beberapa senyawa seperti antioksidan dan antiinflamasi. Mikroalga dimanfaatkan dalam produk pangan seperti biscuit, pasta, kue dan yogurt. Produktivitas dari mikroalga sangat tinggi dan mengandung sifat nutrisi dan fungsional sehingga dapat menjadi prospek pangan di masa depan khususnya pangan fungsional.

## SUMMARY

**Fredy Priyatmoko.** Literature Review: Potential and Utilization of Microalgae as Functional Food (di bawah bimbingan **Dr. Sc. Asep Awaludin Prihanto, S.Pi., MP.**)

---

The food crisis is expected to hit the world in the next 50 years. There are 135 million people in 55 countries experiencing acute food crises. This caused 75 million children's growth to be stunted and another 17 million affected by malnutrition in 2019. Microalgae can be used as an alternative to food stocks because of their high productivity and nutritional and functional properties. Therefore, it is necessary to conduct a Literature Study: Potential and Utilization of Microalgae as Functional Foods to determine the extraction method of microalgae, various nutritional and functional properties of microalgae, and their use in food products.

The method used in writing this literature review includes the first several stages of topic determination, library search with portal sources such as Google scholar, sciencedirect, and researchgate with a time span of 2011-2021 national and international libraries. The next stage is library selection and then analyzing the libraries that have been collected to find libraries according to the criteria to get important information related to the topics taken. After that, compile the results of the analysis from each library source into a structured narrative with relationships between libraries and so that each library can build on each other.

Based on the results of the literature review, the stages of analysis of the Potential and Utilization of Microalgae as Functional Foods were carried out starting from the definition and types of functional foods, characteristics and classification of microalgae, extraction of microalgae namely Soxhlet, PLE, UAE and MAE. The nutritional content of microalgae is in the form of protein and amino acids, lipids and fatty acids, carbohydrates and vitamins. The bioactive compounds of microalgae are pigments, sterols and several other metabolites. Microalgae bioactives can be used in the health sector because they contain several compounds such as antioxidants and anti-inflammatory agents. Microalgae are used in food products such as biscuits, pasta, cakes and yogurt. The productivity of microalgae is very high and contains nutritional and functional properties so that it can be a food prospect in the future, especially functional food



## KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala anugerah dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“KAJIAN LITERATUR: POTENSI DAN PEMANFAATAN MIKROALGA SEBAGAI PANGAN FUNGSIONAL”**. Penulis menyusunnya dengan banyak mengambil dari literatur-literatur yang bersumber dari buku, artikel maupun jurnal untuk dijadikan Pustaka pendukung dalam pembuatan skripsi ini. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Tuhan yang maha esa karena telah memberikan kemudahan dalam menyusun Skripsi ini.
2. Orang tua yang selalu memberikan dukungan berupa material dan do'a.
3. Dr. Sc. Asep Awaludin Prihanto, S.Pi, MP selaku Dosen Pembimbing, yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama penyusunan sampai dengan selesainya Skripsi ini.
4. Teman-teman seperjuangan, sahabat, dan saudara-saudara yang selalu membantu, menemani, memberikan semangat dan dorongan dari awal pengerjaan hingga selesai.

Penulis menyadari skripsi ini jauh dari kesempurnaan. Untuk itu saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan dalam penyempurnaannya. Terakhir penulis berharap, semoga skripsi ini dapat memberikan hal yang bermanfaat dan menambah wawasan bagi pembaca dan khususnya bagi penulis.

Malang, 30 Maret 2021

Penulis



## DAFTAR ISI

|  |             |
|--|-------------|
| <b>PERNYATAAN ORISINALITAS.....</b>                        | <b>iv</b>   |
| <b>IDENTITAS TIM PENGUJI.....</b>                          | <b>v</b>    |
| <b>UCAPAN TERIMAKASIH.....</b>                             | <b>vi</b>   |
| <b>RINGKASAN.....</b>                                      | <b>vii</b>  |
| <b>SUMMARY.....</b>  | <b>viii</b> |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>                                 | <b>ix</b>   |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                     | <b>x</b>    |
| <b>DAFTAR TABEL.....</b>                                   | <b>xii</b>  |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                                  | <b>xiii</b> |
| <b>1. PENDAHULUAN.....</b>                                 | <b>14</b>   |
| 1.1 Latar Belakang.....                                    | 14          |
| 1.2 Tujuan.....  | 15          |
| <b>2. METODEDE REVIEW.....</b>                             | <b>16</b>   |
| 2.1 Konsep Dasar Literature <i>Review</i> .....            | 16          |
| 2.2 Kerangka Umum Pembuatan <i>Literature Review</i> ..... | 17          |
| 2.2.1 Penentuan Topik.....                                 | 18          |
| 2.2.2 Pencarian Pustaka.....                               | 18          |
| 2.2.3 Pemilihan Pustaka.....                               | 19          |
| 2.2.4 Analisa Artikel.....                                 | 22          |
| 2.2.5 Penyusunan review.....                               | 22          |
| <b>3. HASIL REVIEW.....</b>                                | <b>24</b>   |
| 3.1 Pangan Fungsional.....                                 | 24          |
| 3.1.1 Definisi Pangan Fungsional.....                      | 24          |
| 3.1.2 Jenis Pangan Fungsional.....                         | 26          |
| 3.2 Mikroalga.....   | 27          |
| 3.2.1 Karakteristik Mikroalga.....                         | 29          |
| 3.2.2 Klasifikasi Mikroalga.....                           | 31          |
| 3.3 Isolasi Mikroalga.....                                 | 41          |
| 3.3.1 Faktor Pertumbuhan Mikroalga.....                    | 41          |
| 3.3.2 Media Pertumbuhan Mikroalga.....                     | 42          |
| 3.3.2 Teknik Isolasi.....                                  | 47          |
| 3.4 Purifikasi Mikroalga.....                              | 57          |



|                                  |   |                                  |
|----------------------------------|---|----------------------------------|
| Repository Universitas Brawijaya | Repository Universitas Brawijaya                  | Repository Universitas Brawijaya |
| Repository Universitas Brawijaya | Repository Universitas Brawijaya                  | Repository Universitas Brawijaya |
| Repository Universitas Brawijaya | Repository Universitas Brawijaya                  | Repository Universitas Brawijaya |
| 3.4.1                            | Setrifugasi .....                                 | 57                               |
| 3.4.2                            | Filtrasi .....                                    | 58                               |
| 3.4.3                            | Flokulasi .....                                   | 59                               |
| 3.5                              | Ekstraksi Mikroalga .....                         | 62                               |
| 3.5.1                            | Ekstraksi Soxhlet .....                           | 62                               |
| 3.5.2                            | <i>Pressurized Liquid Extraction</i> (PLE) .....  | 66                               |
| 3.5.3                            | <i>Ultrasound Assisted Extraction</i> (UAE) ..... | 68                               |
| 3.5.4                            | <i>Microwave Assisted Extraction</i> (MAE) .....  | 73                               |
| 3.6                              | Kandungan Nutrisi .....                           | 80                               |
| 3.6.1                            | Protein .....                                     | 82                               |
| 3.6.2                            | Asam Amino .....                                  | 83                               |
| 3.6.2                            | Lipid .....                                       | 88                               |
| 3.6.2                            | Asam Lemak .....                                  | 89                               |
| 3.6.3                            | Karbohidrat .....                                 | 91                               |
| 3.7                              | Senyawa Bioaktif Mikroalga .....                  | 93                               |
| 3.7.1                            | Pigmen .....                                      | 95                               |
| 3.7.2                            | Sterol .....                                      | 96                               |
| 3.7.3                            | Vitamin .....                                     | 98                               |
| 3.7.3                            | Peptida .....                                     | 101                              |
| 3.7.3                            | Fenolik .....                                     | 101                              |
| 3.8                              | Pemanfaatan Mikroalga dalam Produk Pangan .....   | 103                              |
| 3.8.1                            | Biskuit .....                                     | 106                              |
| 3.8.2                            | Pasta .....                                       | 108                              |
| 3.8.3                            | Yogurt .....                                      | 110                              |
| 4.                               | <b>KESIMPULAN</b> .....                           | <b>114</b>                       |
| 5.                               | <b>SARAN</b> .....                                | <b>115</b>                       |
|                                  | <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....                       | <b>116</b>                       |



## DAFTAR TABEL

| Tabel   | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 1. Kata kunci dan basis data yang digunakan dalam pencarian Pustaka                             | 19      |
| Tabel 2. Hasil Pencarian Pustaka.....   | 20      |
| Tabel 3. Hasil Seleksi Pustaka.....   | 21      |
| Tabel 4. Pembagian mikroalga air laut dan air tawar.....  | 28      |
| Tabel 5. Perbandingan karakteristik mikroalga dengan organisme lain.....                              | 29      |
| Tabel 6. Klasifikasi mikroalga.....   | 33      |
| Tabel 7. Morfologi spesies penting dari mikroalga yang digunakan sebagai bahan pangan fungsional..... | 39      |
| Tabel 8. Komposisi Media BG-11.....   | 43      |
| Tabel 9. Komposisi Trace Metal BG-11.....   | 44      |
| Tabel 10. Komposisi media BBM.....  | 44      |
| Tabel 11. Komposisi Trace Metal BBM.....  | 45      |
| Tabel 12. Komposisi media Walne.....  | 45      |
| Tabel 13. Komposisi Trace Metal Walne.....  | 46      |
| Tabel 14. Komposisi media Guillard f/2.....   | 46      |
| Tabel 15. Komposisi Trace Metal Guillard f/2.....   | 47      |
| Tabel 16. Kelebihan dan kekurangan beberapa metode isolasi mikroalga....                              | 56      |
| Tabel 17. Kelebihan dan kekurangan beberapa metode purifikasi mikroalga                               | 61      |
| Tabel 18. Kelebihan dan kekurangan beberapa metode ekstraksi mikroalga                                | 77      |
| Tabel 19. Kandungan Proksimat Mikroalga.....  | 81      |
| Tabel 20. Kandungan Asam Amino dari mikroalga dan sumber pangan lain                                  | 85      |
| Tabel 21. Komposisi PUFA (Polyunsaturated fatty acids) dari mikroalga.....                            | 90      |
| Tabel 22. Senyawa bioaktif dari mikroalga dan potensi manfaatnya.....                                 | 94      |
| Tabel 19. Kandungan Vitamin Mikroalga.....  | 99      |
| Tabel 19. Kandungan Vitamin Mikroalga.....  | 100     |
| Tabel 23. Mikroalga dalam Produk Pangan.....  | 105     |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar  | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 1. Langkah – langkah <i>review</i> artikel.....  | 17      |
| Gambar 2. Teknik goresan dengan media BG-11 .....   | 48      |
| Gambar 3. Skema Kerja Teknik Goresan (Putri <i>et al.</i> , 2019).....  | 49      |
| Gambar 4. Isolasi sel tunggal dengan menggunakan mikropipet dan mikroskop terbalik (Martinez-Goss <i>et al.</i> , 2020).....  | 50      |
| Gambar 5. Skema Kerja Teknik Mikropipet (Martinez-Goss <i>et al.</i> , 2020).....   | 51      |
| Gambar 6. Pengenceran berurutan untuk mengurangi jumlah sel alga (Martinez-Goss <i>et al.</i> , 2020).....  | 53      |
| Gambar 7. Skematik sistem filtrasi aliran tangensial (Ariyanti dan Handayani, 2012).....  | 59      |
| Gambar 8. Skema alat ekstraksi dengan metode soxhlet .....  | 64      |
| Gambar 9. Skema Kerja Ekstraksi Menggunakan Metode Soxhlet.....   | 65      |
| Gambar 10. Skema alat ekstraksi dengan metode PLE .....   | 67      |
| Gambar 11. Skema Kerja Ekstraksi Menggunakan Metode <i>Pressurized Liquid Extraction</i> (PLE) .....  | 68      |
| Gambar 12. Skema alat ekstraksi dengan metode UAE .....   | 70      |
| Gambar 13. Skema ekstraksi dengan metode <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i> (UAE).....   | 72      |
| Gambar 14. Skema alat ekstraksi dengan metode MAE (Barqi., 2015).....   | 75      |
| Gambar 15. Skema kerja ekstraksi MAE ( <i>Microwave Assisted Extraction</i> ).....  | 76      |
| Gambar 16. Skema kerja pembuatan biskuit dengan penambahan mikroalga .....  | 106     |
| Gambar 17. Pembuatan pasta segar yang diperkaya dengan biomassa mikroalga <i>Isochrysis galbana</i> dan <i>Diacronema vikianum</i> pada kenampakan pasta segar (Fradique <i>et al.</i> , 2013)..... | 108     |
| Gambar 18. Skema kerja pembuatan pasta dengan penambahan mikroalga .....  | 109     |
| Gambar 19. Yogurt dengan penambahan mikroalga (Paulo <i>et al.</i> , 2020).....   | 110     |
| Gambar 20. Skema kerja pembuatan yogurt dengan penambahan mikroalga .....   | 111     |



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pada 50 tahun kedepan dunia diperkirakan akan mengalami Krisis pangan. Hal ini dikarenakan kondisi perubahan iklim dan pasca pandemi Covid-19. Menurut Global Network Against Food Crisis (GRFC) dan Food and Agriculture Organization (FAO) pada akhir 2019 lalu, terdapat 135 juta orang pada 55 negara telah mengalami krisis pangan akut. Sehingga 75 juta pertumbuhan anak terganggu dan 17 juta lainnya terdampak malnutrisi. Data tersebut menunjukkan angka tertinggi dampak malnutrisi dan krisis pangan sejak laporan pertama pada tahun 2017 (Lasminingrat dan Efriza, 2020).

Di Indonesia krisis pangan sudah lama dirasakan oleh masyarakat, produk pertanian, peternakan hingga industri lokal mengalami kenaikan harga setiap tahun. Pada awal tahun 2016, pemerintah mengakui kemerosotan pangan di Indonesia, dengan melambungnya harga pangan di pasaran. Hari ini, isu ketahanan pangan menjadi isu krusial dalam mencari penanganan tepat mengenai krisis ini di Indonesia. Swasembada pangan sudah mulai digalakkan pemerintah sejak pertengahan tahun 1980-an. Pada kenyataannya Indonesia belum mampu mencukupi kebutuhan pangan dalam negeri sehingga harus impor dari negara lain (Niko dan Atem, 2020).

Mikroalga bisa digunakan sebagai alternatif stok pangan yang sebenarnya mikroalga sudah lama digunakan oleh bangsa China. Mikroalga yang digunakan umumnya adalah Nostoc, Arthospira, dan Aphanizamenon. Sudah lebih dari 2000 tahun yang lalu bahwa bangsa Aztec telah mengkonsumsi *Spirulina* pada abad ke 14 -16. Produksi mikroalga sebagai stok pangan mulai digalakkan secara masif ketika perang dunia yang kedua, dimana Amerika, Jepang, dan Jerman yang pada saat itu sedang menghadapi krisis (Potvin dan Zhang, 2010).



Mikroalga adalah mikroorganisme fotosintetik yang telah memanfaatkan karbondioksida serta sinar matahari untuk digunakan dalam membentuk biomassa dan menghasilkan sekitar 50 persen oksigen di atmosfer. Jenis mikroalga ada empat macam, yaitu Chlorophyceae (alga hijau), Bacillariophyceae (diatom), Cyanophyceae (alga biru) dan Chrysophyceae (alga emas). Meskipun di Indonesia memiliki keanekaragaman dari mikroalga yang sangat tinggi, namun potensinya masih belum bisa dimanfaatkan secara maksimal (Yanuhar, 2016).

Sampai sekarang mikroalga masih tetap digunakan oleh masyarakat sebagai sumber protein, vitamin, dan mineral, dan lebih dikenal sebagai pangan fungsional. Dibandingkan dengan sumber lain seperti yeast maupun fungi, mikroalga memiliki keunggulan di aspek keamanannya. Jika dibandingkan protein bersel tunggal yang bersumber mamalia, mikroalga masih lebih unggul pada bidang efisiensi serta kemudahan dalam produksinya (Fathurohman *et al.*, 2021).

Oleh karena itu kajian literatur ini akan memberikan penjelasan dan gambaran mengenai potensi dan pemanfaatan mikroalga sebagai pangan fungsional

## 1.2 Tujuan

Tujuan dari dilakukannya *Literature Review* ini yaitu :

- a. Mempelajari berbagai publikasi ilmiah pemanfaatan mikroalga mengenai potensi dalam pangan fungsional
- b. Memberikan informasi pengaruh biomassa mikroalga dalam produk pangan fungsional

## 2. METODE REVIEW

### 2.1 Konsep Dasar Literature Review

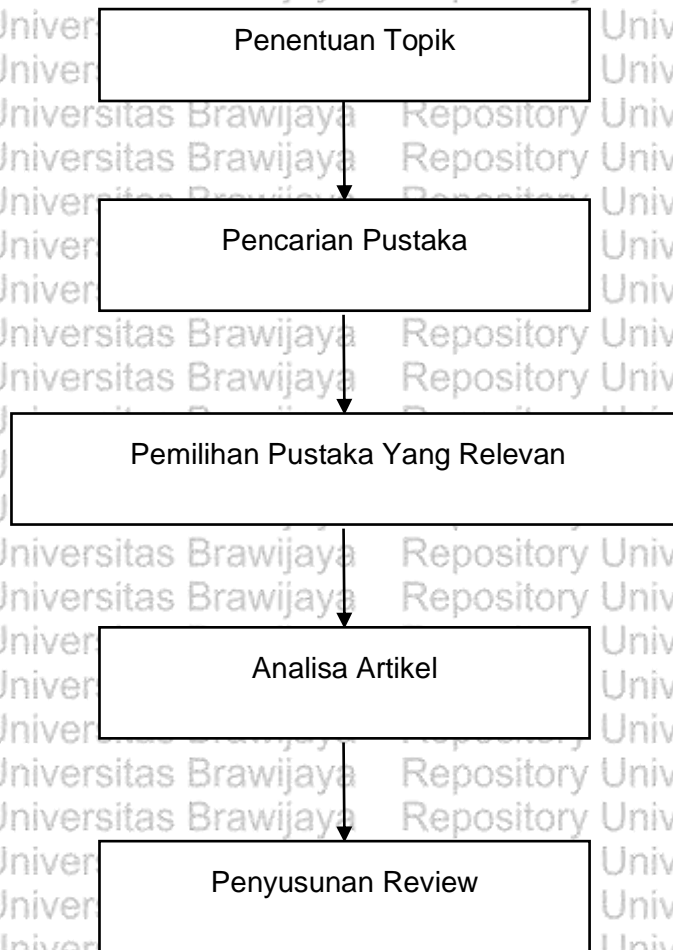
*Literature review* atau bisa disebut sebagai tinjauan pustaka merupakan sebuah evaluasi yang mendalam dan kritis tentang sebuah penelitian yang sudah dilakukan pada topik – topik tertentu. Proses pembuatan *literature review* tidak hanya membaca sebuah penelitian ilmiah, namun perlu adanya observasi mendalam dari sebuah hasil penelitian berupa *paper* ilmiah untuk dijadikan sebuah *literature review*. Terdapat empat jenis model *literature review* adalah yang pertama *traditional review* yaitu metode tinjauan pustaka yang selama ini umum dilakukan oleh para peneliti, dan hasilnya banyak kita temukan pada survey paper yang ada. Paper-paper ilmiah yang direview dipilih sendiri oleh para peneliti pada satu topik penelitian, dan dipilih berdasarkan pengetahuan dan pengalaman yang dimiliki oleh seorang peneliti (Li, S., dan Wang, H., 2018). Kemudian yang kedua *systematic mapping study* yaitu metode yang sistematis dengan menggunakan tahapan yang ditetapkan sebelumnya. Pemilihan referensi juga tidak dilakukan secara subyektif oleh peneliti, namun menggunakan filter dan protokol yang telah ditetapkan di depan (Snyder, 2019). Selanjutnya yang ketiga *systematic literature review* yaitu atau disingkat SLR yang dalam bahasa Indonesia disebut tinjauan pustaka sistematis yaitu metode yang mengidentifikasi, menilai, dan menginterpretasi seluruh temuan-temuan suatu topik penelitian, untuk kemudian menjawab pertanyaan penelitian yang telah ditetapkan sebelumnya (Triandini *et al.*, 2019). Dan yang terakhir *tertiary study* yang hampir sama dengan *systematic literature review* tetapi, *tertiary study* lebih luas, dikarenakan membahas pada satu bidang penelitian (Cruzes dan Dybå, 2011). Manfaat yang dapat diperoleh dari *literature review* ini dapat memperdalam pengetahuan tentang topik yang diteliti, mengetahui hasil dari penelitian yang



sudah pernah dilaksanakan, mengetahui perkembangan ilmu saat ini, memperjelas masalah penelitian yang diangkat dan mengetahui metode terbaru yang digunakan saat ini.

## 2.2 Kerangka Umum Pembuatan *Literature Review*

Pada *literature review* terdapat beberapa tahapan dalam penyusunannya. Tahapan penulisan *review* adalah sebagai berikut.



Gambar 1. Langkah – langkah *review* artikel



### 2.2.1 Penentuan Topik

Topik yang digunakan dalam *literature review* ini yaitu Potensi dan pemanfaatan mikroalga sebagai sumber pangan fungsional. Topik tersebut dipilih karena masih terbatasnya penelitian yang menguji potensi mikroalga yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber pangan fungsional dan ketersediaan dari mikroalga sangat berlimpah serta memiliki kandungan nutrisi yang sangat tinggi. Ekstraksi mikroalga, kandungan nutrisi mikroalga dan aplikasi mikroalga sebagai fungsional merupakan parameter utama pada topik ini. Atas beberapa pertimbangan tersebut topik Potensi dan pemanfaatan mikroalga sebagai sumber pangan fungsional dijadikan kajian utama dalam *literature review* ini.

### 2.2.2 Pencarian Pustaka

Pencarian sebuah sumber pustaka yang dilakukan oleh penulis yaitu mengandalkan pencarian pustaka secara *online* atau daring. Kemudian pustaka yang dianalisis berasal dari hasil pencarian dengan menggunakan beberapa mesin pencari dan basis data utama dengan beberapa kata kunci. Basis data tersebut adalah Google Scholar, Science Direct, dan ResearchGate. Tidak ada batasan tahun yang dilakukan terhadap publikasi yang ditemukan dari pencarian pustaka ini. Prioritas sumber pustaka yang akan digunakan adalah jurnal internasional, maka dari itu kata kunci yang digunakan dalam mencari jurnal menggunakan Bahasa Inggris untuk mendapatkan jurnal yang sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan. Kata kunci beserta *database* yang digunakan dapat dilihat pada tabel berikut.



Tabel 1. Kata kunci dan basis data yang digunakan dalam pencarian Pustaka

| No. | Kata Kunci                             | Database/search engine   |
|-----|--|--------------------------|
| 1   | <i>Microalgae</i>                      |                          |
| 2   | <i>Microalgae Species</i>              |                          |
| 3   | <i>Microalgae Variety</i>              |                          |
| 4   | <i>Functional Food</i>                 | Google Scholar, Science  |
| 5   | <i>Microalgae Functional Food</i>      | Direct, dan ResearchGate |
| 6   | <i>Microalgae Extraction</i>           |                          |
| 7   | <i>Microalgae Nutrition</i>            |                          |
| 8   | <i>Microalgae applications in food</i> |                          |

### 2.2.3 Pemilihan Pustaka

Hasil pencarian pustaka yang telah dilakukan menggunakan kata kunci dan basis data diperoleh artikel nasional dan internasional. Artikel tersebut dipublikasikan dalam rentang waktu tahun 2011 sampai dengan 2020. Hasil pencarian pustaka tersebut disajikan dalam tabel sebagai berikut.



Tabel 2. Hasil Pencarian Pustaka

| No.          | Kata Kunci Pencarian                   | Search engine/penerbit | Jumlah artikel |
|--------------|--|------------------------|----------------|
| 1            | <i>Microalgae</i>                      | ResearchGate           | 5              |
| 2            | <i>Microalgae Species</i>              | ResearchGate           | 5              |
| 3            | <i>Microalgae Variety</i>              | Google Scholar         | 5              |
| 4            | <i>Functional Food</i>                 | Google Scholar         | 5              |
| 5            | <i>Microalgae Functional Food</i>      | ScienceDirect          | 10             |
| 6            | <i>Microalgae Extraction</i>           | ScienceDirect          | 10             |
| 7            | <i>Microalgae Nutrition</i>            | ResearchGate           | 10             |
| 8            | <i>Microalgae applications in food</i> | ResearchGate           | 5              |
| <b>Total</b> |  |                        |                |

Pada tabel diatas, terdapat jumlah total 55 artikel yang didapat dari hasil pencarian. Tetapi setelah dilakukan pendalaman hanya terdapat 25 artikel yang telah sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan. Daftar artikel yang akan dikaji dapat dilihat pada tabel sebagai berikut.



Tabel 3. Hasil Seleksi Pustaka

| No | Tahun Terbit | Judul  | Penulis                     |
|----|--------------|--|-----------------------------|
| 1  | 2021         | Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture                              | Alvarez <i>et al.</i>       |
| 2  | 2021         | Microalgae Biomolecules: Extraction, Separation and Purification Methods   | Corrêa <i>et al.</i>        |
| 3  | 2020         | Nutritional quality and bioactive properties of proteins and peptides from microalgae  | Acquah <i>et al.</i>        |
| 4  | 2020         | Microalgae as a future food source   | Torres-Tiji <i>et al.</i>   |
| 5  | 2020         | Agricultural Research for Sustainable Food Systems in Sri Lanka  | De Silva <i>et al.</i>      |
| 6  | 2020         | Exploratory data of the microalgae compounds for food purposes   | Do Nascimento <i>et al.</i> |
| 7  | 2019         | Potential industrial applications and commercialization of microalgae in the functional food and feed industries: A short review | Camacho <i>et al.</i>       |
| 8  | 2019         | Microalgae for high-value products towards human health and nutrition  | Barkia <i>et al.</i>        |
| 9  | 2019         | Microalgae as healthy ingredients for functional foods   | Pina-Pérez <i>et al.</i>    |
| 10 | 2019         | Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans.  | Koyande <i>et al.</i>       |
| 11 | 2019         | Potential industrial applications and commercialization of microalgae in the functional food and feed industries: A short review | Camacho <i>et al.</i>       |
| 12 | 2019         | Commercially important bioproducts from microalgae and their current applications—A review                                       | Mobin <i>et al.</i>         |
| 13 | 2018         | A comprehensive review on <i>Chlorella</i> -its composition, health benefits, market and regulatory scenario                     | Rani <i>et al.</i>          |
| 14 | 2017         | Microalgae as healthy ingredients for functional food: a review.   | Matos <i>et al.</i>         |
| 15 | 2017         | Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production  | Bleakley dan Hayes          |
| 16 | 2017         | Microalgae, old sustainable food and fashion <i>nutraceuticals</i>   | García <i>et al.</i>        |
| 17 | 2017         | A prominent superfood: <i>Spirulina platensis</i>  | Seyidoglu <i>et al.</i>     |
| 18 | 2017         | Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding.  | Wells <i>et al.</i>         |



|    |      |  |                         |
|----|------|--|-------------------------|
| 19 | 2017 | Extraction of value-added compounds from microalgae.                                       | Ventura <i>et al.</i>   |
| 20 | 2015 | Marine bioactive compounds and their health benefits: a review                             | Hamed <i>et al.</i>     |
| 21 | 2014 | Potency of microalgae as source of functional food in Indonesia (overview)                 | Nur                     |
| 22 | 2013 | Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products | Batista <i>et al.</i>   |
| 23 | 2012 | Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan  | Azim                    |
| 24 | 2012 | Evaluation of microalgae for use as <i>nutraceuticals</i> and nutritional supplements.     | Bishop dan Zubeck       |
| 25 | 2011 | Microalgae: a novel ingredient in nutrition  | Christaki <i>et al.</i> |

#### 2.2.4 Analisa Artikel

Pada tahap analisa artikel penulis akan membaca artikel yang telah sesuai kriteria untuk mendapatkan sebuah informasi penting yang akan digunakan. Selama membaca, penulis tidak lupa untuk memilah, menulis lalu highlight hal-hal yang penting dalam artikel untuk menunjang penulisan kajian literatur. Selanjutnya, informasi akan dikelompokkan yang disesuaikan dengan topik bahasan yang akan digunakan dalam hasil kajian. Metode analisis yang digunakan adalah metode deskriptif, dengan cara mengumpulkan informasi berupa data yang relevan dengan topik. Metode analisis secara deskriptif dilakukan dengan membandingkan penelitian yang dilakukan oleh beberapa peneliti.

#### 2.2.5 Penyusunan review

Penyusunan review merupakan tahapan akhir dalam pembuatan literature review. Dalam penyusunan review dilakukan pengumpulan hasil analisis dari setiap sumber pustaka ke dalam sebuah narasi yang terstruktur. Kemudian membuat susunan *literature review* sesuai dengan pola dan format sehingga dapat mengetahui hubungan antar pustaka dan agar tiap pustaka dapat saling



membangun. Selanjutnya menulis review dengan bahasa yang mudah dimengerti.



### 3. HASIL REVIEW

#### 3.1 Pangan Fungsional

##### 3.1.1 Definisi Pangan Fungsional

Penemuan hubungan antara makanan dan kesehatan membuka area penelitian baru untuk mengetahui pentingnya komponen fungsional yang secara alami ada dalam makanan untuk meningkatkan kesehatan dan kualitas hidup. Dengan pengetahuan ini, konsumen mulai melihat makanan dari sudut pandang baru, di mana diet telah diidentifikasi sebagai pertahanan dalam pencegahan berbagai penyakit kronis yaitu menggunakan konsep "pangan fungsional". Pangan fungsional diartikan sebagai makanan yang ada komponen aktif secara fisiologis dan memberikan manfaat Kesehatan melebihi nutrisi dasar. Namun demikian, beberapa definisi dari pangan fungsional lebih kompleks: "Pangan dapat dianggap 'fungsional' jika dibuktikan mempengaruhi satu atau lebih fungsi yang menguntungkan di dalam tubuh, melebihi efek nutrisi, dengan cara yang relevan dengan kondisi kesehatan dan pengurangan risiko penyakit. Pangan fungsional harus menunjukkan pengaruhnya dalam jumlah yang biasanya diharapkan dikonsumsi dalam makanan bagian dari makanan normal Konsep makanan fungsional berasal dari Jepang pada 1980-an (Kaur dan Das 2011).

*Designer foods, functional foods, fortified foods, and nutraceuticals* adalah istilah terkenal yang muncul dalam literatur terkait nutrisi dalam makanan.

*Designer foods* mengacu pada makanan yang dirancang untuk memberikan beberapa manfaat Kesehatan selain nilai gizi tradisionalnya (Rajasekaran dan Kalaivani 2013). Makanan fungsional diartikan sebagai makanan yang penampilannya mirip hingga makanan konvensional yang dikonsumsi sebagai bagian dari diet biasa yang mengandung komponen aktif dengan manfaat fisiologis yang ditunjukkan dan menawarkan potensi mengurangi risiko penyakit kronis di





luar fungsi nutrisi dasar. Dalam literatur, *nutraceuticals* diartikan sebagai substansi yang dapat dianggap sebagai makanan atau bagian dari makanan dan memberikan manfaat medis atau kesehatan, termasuk pencegahan dan pengobatan penyakit. Produk-produk itu beragam dari nutrisi yang terisolasi, suplemen makanan, hingga rekayasa genetika Makanan, produk herbal, dan makanan olahan seperti sereal dan sup (Domínguez Díaz et al., 2020).



### 3.1.2 Jenis Pangan Fungsional

Jenis-jenis pangan fungsional pada umumnya terbagi berdasarkan 2 hal, yaitu sumber pangan dan cara pengolahannya (Suter, 2013).

#### a. Berdasarkan sumber pangan

Pangan fungsional digolongkan menjadi dua, yaitu pangan fungsional nabati dan hewani. pangan fungsional nabati adalah pangan fungsional bersumber dari bahan tumbuhan (contohnya tomat, anggur, kedelai, beras merah, dan bawang putih) dan pangan fungsional hewani merupakan pangan fungsional bersumber dari bahan hewan (contohnya daging, ikan dan susu).

#### b. berdasarkan cara pengolahannya

Pangan fungsional berdasarkan cara pengolahannya digolongkan menjadi tiga kelompok yaitu Pangan 1) fungsional alami merupakan pangan fungsional yang sudah tersedia di alam tanpa perlu pengolahan sama sekali.

Contohnya buah-buahan dan sayur-sayuran segar yang bisa langsung dimakan.

2) Pangan fungsional tradisional merupakan pangan fungsional yang diolah secara tradisional mengikuti cara pengolahan yang diturunkan dari satu generasi ke generasi berikutnya. beberapa contoh pangan tradisional Indonesia yang memenuhi persyaratan pangan fungsional adalah: minuman beras kencur, temulawak, kunyit-asam, *dadih* (fermentasi susu khas Sumatera Barat), *dali* (fermentasi susu kerbau khas Sumatera Utara), sekoteng atau bandrek, tempe, tape dan jamu. 3) Pangan fungsional modern merupakan pangan fungsional yang

dibuat khusus menggunakan resep-resep baru. Beberapa contoh pangan fungsional modern adalah a) Pangan tanpa lemak, rendah kolesterol dan rendah trigliserida. b) *Breakfast cereals* dan biskuit yang diperkaya serat pangan. c) Mi instan yang diperkaya dengan berbagai vitamin dan mineral. d) Permen yang mengandung zat besi, vitamin, dan fruktooligosakarida. e) Pasta yang diperkaya serat pangan. f) Sosis yang diperkaya dengan oligosakarida, serat atau kalsium

kulit telur. g) Minuman yang mengandung suplemen serat pangan, mineral dan vitamin. h) Cola rendah kalori dan cola tanpa kafein. i) *Sport drink* yang diperkaya protein. j) Minuman isotonik dengan keseimbangan mineral. k) Minuman untuk pencernaan. l) Minuman pemulih energi secara kilat. m) Teh yang diperkaya dengan kalsium.

### 3.2 Mikroalga

Mikroalga adalah kelompok organisme yang sangat beragam, yang mencakup prokariota dan eukariota dan mencakup 14 filum dengan contoh-contoh yang dijelaskan dari hampir setiap habitat yang memungkinkan. Perkiraan 200.000 – 800.000 spesies mikroalga ditemukan secara luas, yang hanya sekitar 35.000 yang dijelaskan. LIPI telah melakukan eksplorasi dan mengkolleksi mikroalga dari beberapa daerah di Indonesia. Terdapat 170 koleksi (terpublikasi dan atau tersimpan di Indonesian Culture Collection), yang tersebar di lima pulau diantaranya Jawa (22), Sumatera (42), Nusa Tenggara (42), Kalimantan (31), Sulawesi (12), dan Papua (21). Dari jenis Sianobakteria (67), klorofita (117), rodofita (46), diatom (23) dan strain lainnya (123), jumlah total 376. (Dwi, 2020).

*Spirulina* sp. merupakan mikroalga yang banyak digunakan sebagai bahan baku industri dikarenakan memiliki kandungan nutrisi seperti protein, asam lemak, vitamin, dan antioksidan yang tinggi. Selain digunakan dalam dunia industri, *Spirulina* sp. juga dapat dikonsumsi langsung oleh manusia (Hadiyanto dan Azim, 2012). Indonesia adalah negara yang terletak di daerah lintang tropis dengan suhu relatif tinggi kisaran 27-34°C serta intensitas cahaya matahari yang relatif merata serta tersedia sepanjang tahun. Kondisi tersebut memungkinkan bagi pengembangan untuk *Spirulina* (Christwardana *et al.*, 2013).



Berdasarkan sejarah Alga telah dikonsumsi selama ribuan tahun dalam budaya yang berbeda. Penggunaan tertua yang diketahui dari Alga sebagai sumber makanan berasal dari Chili, dalam catatan arkeolog menunjukkan konsumsi alga berasal dari 14.000 tahun yang lalu. Selain itu, ada banyak catatan tertulis yang menunjukkan penggunaan alga sebagai sumber makanan di seluruh dunia selama beberapa abad terakhir. Bahkan ada catatan dari penjajah Spanyol yang ditampilkan bahwa suku Aztec memanen *Spirulina* dari Danau Texcoco (Wells *et al.*, 2017).

Mikroalga sebagai stok pangan sebenarnya juga sudah lama digunakan oleh bangsa China. Mikroalga yang digunakan umumnya adalah *Arthospira*, *Nostoc*, dan *Aphanizomenon*. Produksi mikroalga sebagai stok pangan mulai digalakkan secara masif ketika perang dunia kedua, di mana Jepang, Amerika, dan Jerman waktu itu sedang menghadapi krisis (Hadiyanto *et al.*, 2012).

Mikroalga terbagi menjadi 2 asal lingkungan hidup yaitu mikroalga air laut dan mikroalga air tawar

Tabel 4. Pembagian mikroalga air laut dan air tawar

| Spesies                        | Asal Lingkungan Hidup | Referensi                          |
|--------------------------------|-----------------------|------------------------------------|
| <i>Dunaliella salina</i>       | Air laut              | Chae <i>et al.</i> (2019)          |
| <i>Scenedesmus obliquus</i>    | Air tawar             | Lee <i>et al.</i> (2020)           |
| <i>Haematococcus pluvialis</i> | Air tawar             | Baroni <i>et al.</i> (2019)        |
| <i>Tetraselmis chuii</i>       | Air laut              | Prata <i>et al.</i> (2018)         |
| <i>Spirulina maxima</i>        | Air laut              | Chandrarathna <i>et al.</i> (2020) |
| <i>Spirulina plantensis</i>    | Air laut              | Pakravan <i>et al.</i> (2017)      |
| <i>Porphyridium cruentum</i>   | Air tawar             | Kim <i>et al.</i> (2017)           |
| <i>Isochrysis galbana</i>      | Air laut              |                                    |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i>   | Air laut              | Xiong <i>et al.</i> (2020)         |
| <i>Chlorella vulgaris</i>      | Air laut              | Oukarroum <i>et al.</i> (2017)     |



### 3.2.1 Karakteristik Mikroalga

Istilah "alga" terdiri dari kelompok organisme yang kompleks dan heterogen yang memiliki karakteristik berdasarkan sifat fotosintesisnya dan memiliki struktur reproduksi sederhana. Kelompok alga dapat dibagi menjadi organisme pluriseluler, yang dikenal sebagai makroalga atau rumput laut, dan organisme uniseluler, yang dikenal sebagai mikroalga yang ukurannya dari 1  $\mu\text{m}$  hingga beberapa *centimeter*. Mikroalga adalah organisme mikroskopis, tumbuh dalam suspensi, beberapa di antaranya memiliki sifat yang setara terhadap bakteri (Anbuhezhan *et al.*, 2015). Mikroalga ini hidup di air laut, tepatnya di perairan daerah dengan praktis tidak ada penetrasi cahaya (zona intertidal), pada kedalaman mendekati 200 m. Kelompok ini menghasilkan hampir 50% dari total oksigen fotosintesis di Bumi (Vuppaladadiyam *et al.*, 2018).

Keragaman mikroalga di dunia diperkirakan berada dalam kisaran jutaan spesies, sebagian besar belum dikenali dan belum bisa dikultivasi atau dibiakkan sendiri. Diperkirakan 200,000-800,000 spesies hidup di alam, 35,000 spesies dapat dikenali, dan 15,000 komponen kimia penyusun biomas nya telah diketahui. Sebagian besar mikroalga menghasilkan produk tertentu seperti karotenoid, antioksidan, enzim, polimer, peptida, asam lemak, hingga racun yang mematikan (Hadiyanto dan Azim, 2012).

Tabel 5. Perbandingan karakteristik mikroalga dengan organisme lain

| No. | Organisme | Karakteristik  | Referensi                  |
|-----|-----------|--|----------------------------|
| 1   | Bakteri   | uniseluler, pada umumnya tidak berklorofil, ada beberapa yang fotosintetik dan produksi aseksualnya secara pembelahan dan bakteri mempunyai ukuran sel kecil dimana setiap selnya hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Bakteri pada umumnya mempunyai ukuran sel 0,5-1,0 $\mu\text{m}$ kali 2,0-5,0 $\mu\text{m}$ , dan terdiri dari tiga | Vidal <i>et al.</i> (2021) |



|    |        |  |                |
|----|--------|--|----------------|
|    |        | <p>bentuk dasar yaitu bentuk bulat atau kokus, bentuk batang atau Bacillus, bentuk spiral.</p>   |                |
| 2  | Virus  | <p>Struktur utama virus adalah asam nukleat yang dapat berupa RNA atau DNA. Asam nukleat ini dikelilingi oleh mantel protein (protein sub unit) yang disebut kapsomer. Susunan kapsomer tersebut dinamakan kapsid. Ukuran virus lebih kecil dibandingkan dengan ukuran sel. Ukurannya berkisar antara 0,02 – 0,3µm. Unit pengukuran virus biasanya dinyatakan dalam nanometer (nm). 1 nm adalah 1000 µm dan 1000.000 mm. Virus cacar merupakan salah satu virus yang ukurannya terbesar yaitu berdiameter 200 nm, dan virus polio merupakan virus terkecil yang hanya berukuran 28 nm.</p> | Hafsan (2011). |
| 3. | Khamir | <p>Khamir merupakan fungi uniseluler dan kebanyakan dari mereka termasuk dalam divisio Ascomycotina. Sel khamir dapat berbentuk bola, oval atau silindris dengan ukuran diameter bervariasi antara 3-5 nm. Sel khamir dapat sangat bervariasi baik dalam hal bentuk atau ukurannya. Hal ini bergantung dari umur dan lingkungannya. Khamir tidak dilengkapi flagel atau organ-organ penggerak lainnya.</p>   | Hafsan (2011). |
| 4  | Kapang | <p>Kapang merupakan fungi multiseluler berbentuk koloni dari suatu filamen atau benang. Koloni tersebut dibangun oleh suatu struktur dasar berupa tubulus berbentuk silinder yang bercabang-cabang dengan diameter bervariasi antara 2 sampai 10 µm dan disebut hifa.</p>  | Hafsan (2011). |



|    |           |  |                              |
|----|-----------|--|------------------------------|
| 5. | Makroalga | Makroalga merupakan nama kelompok untuk populasi alga yang multiselular, memiliki makrotalus berukuran makroskopik.  | Aziz dan Chasani (2020).     |
| 6. | Mikroalga | Mikroalga merupakan mikroorganisme akuatik fotosintetik berukuran mikroskopik, makhluk hidup fotoautotrof. Mikroalga merupakan jenis sel tunggal yang terpisah menyendiri atau berkelompok. Tergantung pada jenisnya, ukuran mereka dapat terbentang beberapa mikrometer ( $\mu\text{m}$ ) hingga beberapa ratus mikrometer. | Winahyu <i>et al.</i> (2013) |

### 3.2.2 Klasifikasi Mikroalga

Mikroalga telah diklasifikasikan menurut pigmen fotosintetiknya. Namun sistem klasifikasi yang ada saat ini memperhatikan kriteria lain, di antaranya karakter sitologi dan morfologi, penyusun dinding sel, dan sifat kimiawi produk penyimpanan. Berdasarkan fitur-fitur ini, beberapa metode biasanya digunakan untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan spesies alga termasuk pengamatan morfologi di bawah mikroskop. Terlepas dari pendekatan yang digunakan untuk mengidentifikasi spesies alga, sistem klasifikasi telah berubah berkali-kali selama bertahun-tahun. Saat ini, tidak ada konsensus di antara ahli taksonomi di seluruh dunia untuk menggunakan satu klasifikasi di atas yang lain (Levasseur *et al.*, 2020)

Jumlah spesies alga diperkirakan mendekati sepuluh juta dan menjadikan alga yang paling beragam secara genetik. Dalam klasifikasi alga dapat secara luas ditetapkan ke sebelas filum utama: *Cyanophyta*, *Chlorophyta*, *Rhodophyta*, *Glaucophyta*, *Euglenophyta*, *Chlorarachniophyta*, *Charophyta*, *Cryptophyta*, *Haptophyta*, *Heterokontophyta*, dan *Dinophyta* (Ines Barkia *et al.*, 2019).



Kelompok utama alga eukariotik muncul melalui berbagai peristiwa endosimbiotik yang menghasilkan garis keturunan yang tersebar luas dan sangat beragam. *Glucophyta*, *Rhodophyta*, dan *Chlorophyta* berevolusi melalui endosimbiosis primer dari *cyanobacterium* fotosintetik (*Cyanophyta*), yang memunculkan kloroplas. Endosimbiosis sekunder alga hijau menyebabkan dua kelompok besar, yaitu *Euglenophyta* dan *Rhizaria* fotosintetik, yang *Chlorarachniophyta* (Leliaert *et al.*, 2012) Begitu pula dengan sekunder endosimbiosis alga merah memunculkan *Cryptophyta*, *Heterokontophyta*, *Haptophyta*, dan *Dinophyta*. Ada peristiwa endosimbiosis tersier dan mungkin kuaterner diantaranya *Dinophyta* dan *Haptophyta*, menghasilkan genom yang lebih besar dari 500 Gbps (Adl *et al.*, 2012).



Tabel 6. Klasifikasi mikroalga

| No. | Kelas              | Spesies                        | Referensi                             |
|-----|--------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| 1   | Chlorophyceae      | <i>Dunaliella salina</i>       | Becker (2007)                         |
|     |                    | <i>Scenedesmus obliquus</i>    | Wang <i>et al.</i> (2019)             |
|     |                    | <i>Haematococcus pluvialis</i> | Bleakley and Hayes (2017)             |
|     |                    | <i>Tetraselmis chuii</i>       | Villarruel-López <i>et al.</i> (2017) |
| 2   | Cyanophyceae       | <i>Spirulina maxima</i>        | EI-Belely <i>et al.</i> (2021)        |
|     |                    | <i>Spirulina plantensis</i>    | EI-Belely <i>et al.</i> (2021)        |
| 3.  | Porphyridiophyceae | <i>Porphyridium cruentum</i>   | Di Lena <i>et al.</i> (2019)          |
| 4.  | Prymnesiophyceae   | <i>Isochrysis galbana</i>      | Milledge (2011)                       |
| 5.  | Trebouxiophyceae   | <i>Chlorella pyrenoidosa</i>   | Wolkers <i>et al.</i> (2011)          |
|     |                    | <i>Chlorella vulgaris</i>      |                                       |

Menurut Matos *et al.* (2017), Mikroalga adalah salah satu sumber bahan dan senyawa bioaktif untuk produk pangan baru yang paling menjanjikan, yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan nilai gizi makanan karena komposisi kimianya yang seimbang. Sebenarnya penambahan biomassa mikroalga pada produk pangan merupakan alat yang menarik untuk memberikan suplementasi nutrisi dengan senyawa aktif biologis. Terdapat 10 spesies penting dari mikroalga yang digunakan sebagai bahan pangan fungsional.

a. *Chlorella vulgaris*

*Chlorella vulgaris* adalah mikroalga hijau uniseluler yang ditemukan di banyak perairan. Karena kelimpahannya dan efek kesehatan yang positif, *Chlorella* dianggap sebagai makanan fungsional yang penting dan berharga sumber zat gizi di banyak daerah, banyak dijual sebagai makanan sehat, pelengkap makanan, dan *nutraceutical* (Bishop dan Zubeck, 2012). Protein *Chlorella* mengandung semua amino esensial asam yang dibutuhkan untuk organisme heterotrofik. Itu juga merupakan penghasil lutein yang besar terbukti mencegah dan mengobati degenerasi makula dan mengandung sifat anti-katarak (De Morais *et al.*, 2015).



*Chlorella vulgaris* mengandung 10% mineral dan vitamin, 5% serat, 20% karbohidrat, 20% lemak, dan 45% protein (b / b, basa kering). Polisakarida alga memiliki banyak aplikasi di bidang pertanian, biomedis, dan farmasi. Polisakarida sebagai biopolimer alami mudah dimodifikasi, biokompatibel, stabil biodegradable, tidak beracun dan sangat aman. sehingga memiliki peran penting dalam pemberian obat. Polisakarida ekstraseluler yang diproduksi oleh *Chlorella vulgaris* menyebabkan efek antitusif yang signifikan, anti inflamasi dan bronkodilator. Polisakarida ekstraseluler *Chlorella* tampaknya menjadi agen yang efektif untuk mencegah peradangan kronis pada saluran napas, yang merupakan gejala utama dari penyakit pernapasan tertentu, termasuk. Kandungan polisakarida dari biomassa mikroalga semakin penting sebagai bahan baku untuk produksi bioethanol (El-Naggar *et al*, 2020)

Ekstrak *Chlorella* terbukti memiliki beragam antitumor, antioksidan, antiradang, dan sifat antimikroba. Mikroalga ini juga mampu menurunkan tekanan darah dan tingkat kolesterol, mempercepat penyembuhan luka, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, dan memiliki efek positif dalam mengurangi, sembelit, anemia, hipertensi dan diabetes (Matos *et al.*, 2017).

b. *Chlorella pyrenoidosa*

*Chlorella* telah menjadi sumber makanan manusia selama berabad-abad, dan dianggap aman. *Chlorella vulgaris* dan *Chlorella pyrenoidosa* dianggap bukan hal baru (Klaczynska dan Mooney, 2017). Kemajuan dalam teknik budidaya mikroalga ditambah dengan perbaikan strain buatan akan semakin mempromosikan mikroalga sebagai platform makanan fungsional yang menarik (Song *et al*, 2018)

*Chlorella pyrenoidosa* memiliki sifat anti alergi. Ekstrak air dari mikroalga ini menurunkan atau menekan produksi IgE pada tikus. Selain aktivitas anti alergi atau antiinflamasi, sifat alergen yang ditemukan dalam mikroalga yang dikonsumsi

manusia juga dibahas. Di Cina, Jepang, dan Korea, *Chlorella* digunakan sebagai makanan. Di Amerika Serikat, mikroalga ini terutama dikonsumsi sebagai suplemen makanan (Song *et al.*, 2018)

c. *Dunaliella salina*

*Dunaliella salina* adalah MA yang paling cocok untuk produksi massal  $\beta$ -karoten, karena bisa menghasilkan hingga 14% dari berat keringnya (Matos *et al.*, 2017). Ini juga menghasilkan gliserol, protein dan sejumlah kecil  $\alpha$ -karoten, seperti lutein dan likopen. Karotenoidnya kuat yang mengurangi tingkat peroksidasi lipid dan inaktivasi enzim membantu memulihkan aktivitas enzim. Memiliki  $\beta$ -karoten yang berefek positif pada respon imun dan perlindungan terhadap berbagai jenis neoplasma (Bishop dan Zubeck, 2012). Sejak *D. salina* ditemukan sebagai salah satu sumber alami terkaya  $\beta$ -karoten dan mengakumulasi kandungan lipid dan triasilgliserida yang tinggi di bawah konsentrasi garam yang tinggi, ia telah menjadi sumber biomassa yang semakin menarik, mampu menghasilkan aliran nilai tambah berganda. Properti tersebut membuat mikroalga ini sangat cocok untuk skala industri (Cho *et al.*, 2015).

d. *Haematococcus pluvialis*

*Haematococcus pluvialis* adalah sumber alami astaxanthin terbesar (hingga 1,5-3% dari selnya, berat kering), dimana pigmen ini memiliki antioksidan, antikanker, anti inflamasi, dan sifat antibakteri. (Matos *et al.*, 2017). *Haematococcus* mengandung asam lemak rantai pendek dengan aktivitas antimikroba (Hamed *et al.*, 2015).

e. *Isochrysis galbana*

*Isochrysis galbana* berpotensi menjanjikan bagi industri makanan karena kandungan lemaknya yang sangat tinggi yaitu sebesar 24%. Lemak mikroalga ini mewakili sumber berharga yaitu PUFA, terutama asam eicosapentaenoic (EPA, C20: 5  $\omega$ -3) dan DHA (masing-masing 4875 mg/100 g dan 1156 mg/100 g). Oleh



karena itu *Isochrysis galbana* menjadi alternatif yang layak untuk minyak ikan. Ini juga memasok sterol, tokoferol, pigmen pewarna, dan *nutraceuticals* lainnya (Batista *et al.*, 2013)

f. *Porphyridium cruentum*

Mengandung serat makanan dan polisakarida tersulfasi yang memiliki efek positif pada fisiologi gastrointestinal dan metabolisme lipid. Salah satu Mikroalga yang paling menjanjikan untuk tujuan komersial adalah alga merah uniseluler *Porphyridium cruentum* yang dapat menghasilkan galactan exopolysaccharide (EPS) sulfat yang dapat menggantikan carrageenans dalam banyak aplikasi (Matos *et al.*, 2017). Hamed *et al.* (2015) melaporkan mengisolasi fraksi sulphoglycolipidic dari *Porphyridium cruentum* menunjukkan bahwa fraksi ini menampilkan efek antiinflamasi. Asam arakidonat yang diperoleh dari *Porphyridium* digunakan dalam susu formula untuk bayi dan sebagai suplemen nutrisi.

g. *Scenedesmus obliquus*

Mikroalga hijau air tawar *Scenedesmus obliquus* dibudidayakan untuk meningkatkan kandungan protein, karbohidrat dan lemak. Analisis asam amino dan asam lemak biomassa *S. obliquus* menunjukkan adanya asam amino esensial dan asam lemak esensial dalam jumlah yang signifikan. Selanjutnya, chocolate crispy bar dikembangkan melalui fortifikasi dengan *S. obliquus* kering beku yang dienkapsulasi dan dievaluasi stabilitas oksidatif dan analisis sensorisnya. Cokelat yang diperkaya dengan mikroalga dapat menjadi sumber potensial asam lemak esensial dan asam amino selain senyawa bioaktif lainnya (Hlaing., 2020)

h. *Spirulina Maxima*

*Spirulina* adalah *cyanobacterium* prokariotik yang telah diproduksi secara komersial untuk pakan ikan, suplemen vitamin, pewarna makanan, budidaya, farmasi, dan *nutraceutical* (Bishop dan Zubeck, 2012). *Spirulina* merupakan



sumber yang kaya vitamin B (terutama vitamin B12), phyco cyanin, klorofil, vitamin E,  $\omega$ -6 asam lemak, dan banyak mineral. Kandungan proteinnya berkisar antara 50-70% dari berat keringnya termasuk banyak asam amino, terutama asam amino esensial, seperti leusin, valin, dan isoleusin (de Morais *et al.*, 2015) dan memiliki  $\beta$ -karoten hingga 10 kali lebih banyak daripada wortel per satuan massa (Bishop dan Zubeck, 2012). Mikroalga ini secara alami menghasilkan antioksidan seperti karoten dan xantofil serta senyawa antimikroba (Matos *et al.*, 2017).

*Spirulina* adalah sumber asam lemak aktif yang berharga dan positif efek pada metabolisme kolesterol dengan meningkatkan kadar HDL, yang dapat memberikan kontribusi yang lebih sehat terhadap fungsi sistem kardiovaskular (Bishop dan Zubeck, 2012). *Spirulina* terbukti memiliki efek kesehatan yang positif pada penurunan berat badan, diabetes, tekanan darah tinggi, dan hipertensi.

Selanjutnya MA ini juga punya antivirus, antijamur, antibakteri, antikanker, anti-HIV, antiradang dan antioksidan khasiat (de Morais *et al.*, 2015). *Spirulina* juga dapat menghasilkan antibodi antigen-spesifik untuk membantu mengobati depresi (Bishop dan Zubeck, 2012).

#### i. *Spirulina platensis*

*Spirulina* adalah mikroalga yang mengandung protein yang tinggi sekitar 55% sampai dengan 70% serta sumber dari mikro nutrisi. Pada tahun 1976 *Spirulina platensis* sengaja dipilih sebagai sumber makanan masa depan oleh International Association of Applied Microbiology. Beberapa sumber bahan pangan seperti jamur dan bakteri mikroorganisme mempunyai kadar protein yang sangat tinggi sehingga disebut sebagai protein sel tunggal (PST).

*Spirulina* adalah jenis *cyanobacteria* atau bakteri yang mengandung klorofil dan dapat bertindak sebagai organisme yang bisa melakukan fotosintesis untuk membuat makanan sendiri. Mengandung fikosianin tinggi sehingga warna cenderung hijau biru. *Spirulina* dapat tumbuh dengan baik di



danau, air tawar, air laut, dan media tanah. Spirulina juga memiliki kemampuan untuk tumbuh di media yang mempunyai alkalinitas tinggi (pH 8,5–11) dimana mikroorganismenya lainnya tidak bisa tumbuh dengan baik dalam kondisi ini. Suhu terendah untuk Spirulina platensis untuk hidup adalah 15°C, dan pertumbuhan yang optimal adalah 35–40°C (Christwardana *et al.*, 2013)

j. *Tetraselmis chuii*

*Tetraselmis chuii* merupakan alga bersel tunggal, mempunyai 4 buah flagel berwarna hijau (*green flagella*). *Tetraselmis chuii* bisa digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol karena sangat mudah dikembangbiakan, tidak membutuhkan lahan yang luas dan tidak bersinggungan dengan bahan pangan.

Pemanfaatan *Tetraselmis chuii* sebagai bahan baku pembuatan bioetanol.

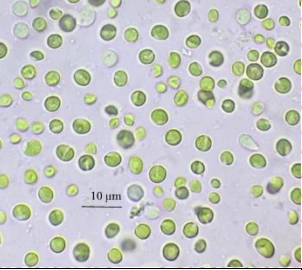

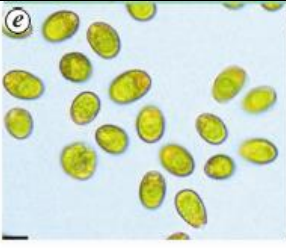
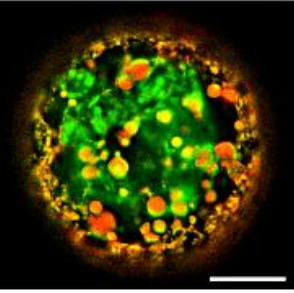
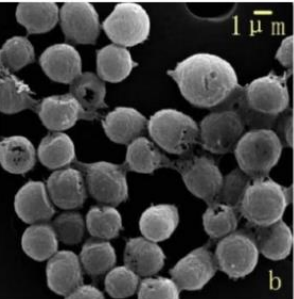
Beberapa penelitian sebelumnya tidak melakukan proses fermentasi untuk menghasilkan bioetanol, sehingga penelitian ini dilakukan untuk memperoleh

bioetanol dari *Tetraselmis chuii* melalui proses fermentasi. Tujuan dari penelitian adalah untuk memperoleh volume bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi

*Tetraselmis chuii*. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai ilmu pengetahuan dan pengembangan energi alternatif.

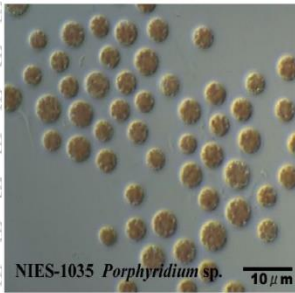


Tabel 7. Morfologi spesies penting dari mikroalga yang digunakan sebagai bahan pangan fungsional.

| No. | Spesies                        | Morfologi   | Deskripsi                                   | Referensi                    |
|-----|--------------------------------|---|---|------------------------------|
| 1.  | <i>Chlorella vulgaris</i>      |    | Bentuk bulat, warna hijau, kuning, 10 μm    | Ramaraj <i>et al.</i> (2016) |
| 2.  | <i>Chlorella pyrenoidosa</i>   |    | Bentuk bulat, warna hijau, 2-10 μm          | Bock <i>et al.</i> (2016)    |
| 3.  | <i>Dunaliella salina</i>       |   | Bentuk lonjong, warna hijau, ukuran 9-11 μm | Keerthi <i>et al.</i> (2016) |
| 4.  | <i>Haematococcus pluvialis</i> |  | Bentuk bulat, warna hijau, ukuran 20 μm     | Wayama <i>et al.</i> (2013)  |
| 5.  | <i>Isochrysis galbana</i>      |  | Bentuk bulat, warna abu-abu, ukuran 1 μm    | Liu <i>et al.</i> (2014)     |



6. *Porphyridium cruentum*



Bentuk bulat, warna coklat, ukuran 10 μm. Lu et al. (2020).

7. *Scenedesmus obliquus*



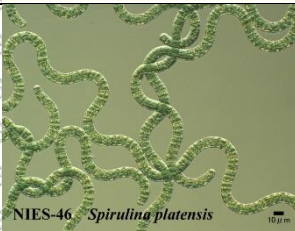
Bentuk lonjong, warna hijau, ukuran 10 μm. Chen et al. (2011).

8. *Spirulina maxima*



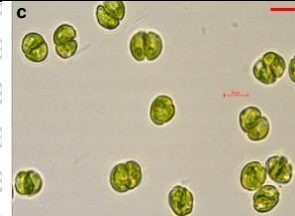
Bentuk spiral, warna hijau tua, ukuran 1-10 μm. Koru (2012).

9. *Spirulina platensis*



Bentuk seperti benang, warna hijau, ukuran 6-8 μm. Setiawan et al. (2014).

10. *Tetraselmis Chuii*



Bentuk oval, warna hijau, ukuran 7-12 μm. Park et al. (2018).





### 3.3 Isolasi Mikroalga

Isolasi mikroalga yaitu untuk mendapatkan jenis alga yang cocok untuk dikultivasi dan dikembangkan dalam skala massal. Bibit baru harus diisolasi dalam berbagai kondisi lingkungan sehingga memiliki metabolisme yang fleksibel terhadap berbagai media. Alga dapat diisolasi dari berbagai jenis perairan di alam mulai dari air tawar sampai air payau, perairan pantai hingga air laut dengan salinitas tinggi dan bahkan di tanah lembab (Hadiyanto dan Azim, 2012)

#### 3.3.1 Faktor Pertumbuhan Mikroalga

Faktor pertumbuhan mikroalga mempengaruhi hasil biomassa dan jenis produk yang diinginkan. Terkadang biomassa dalam jumlah kecil menghasilkan produk yang diinginkan dalam jumlah besar, sehingga perlu dilakukan optimalisasi komposisi keseimbangan antara kualitas biomassa dan jumlah produk dalam biomassa mikroalga. Beberapa faktor pertumbuhan mikroalga yang dapat meningkatkan laju pertumbuhan biomassa antara lain intensitas cahaya, suhu, pH, dan salinitas (Hadiyanto dan Azim, 2012).

##### a. Intensitas Cahaya

Cahaya merupakan faktor penting bagi pertumbuhan mikroalga karena dibutuhkan untuk proses fotosintesis. Intensitas cahaya biasanya dinyatakan dalam satuan mikro-Einstein/m<sup>2</sup>s atau setara dengan satu mol foton. Beberapa satuan lain juga digunakan, seperti mikromol/meter persegi, lux, dan W/meter persegi. Aktivitas fotosintesis meningkat dengan meningkatnya intensitas cahaya. Hal ini menjadi penting jika mikroalga ditumbuhkan pada kedalaman tertentu, semakin dalam media mikroalga maka semakin tinggi intensitas cahaya yang dibutuhkan (Hadiyanto dan Azim, 2012).

Intensitas cahaya yang diperlukan tiap – tiap alga untuk dapat tumbuh secara maksimum berbeda – beda. Intensitas cahaya yang diperlukan bergantung pada volume dan densitas sel mikroalga. Semakin tinggi densitas dan volume



kultivasi semakin tinggi pula intensitas cahaya yang diperlukan. Selain intensitas cahaya, fotoperiode (lama cahaya bersinar) juga memegang peranan penting sebagai pendukung pertumbuhan alga. *Nannochloropsis oculata* dapat hidup pada intensitas cahaya 2000-4000 lux. *Nannochloropsis oculata* tumbuh secara optimum pada intensitas cahaya 4000 lux (Arihanda *et al.*, 2019). *Chlorella* sp dapat tumbuh dalam keadaan maksimum pada kondisi intensitas cahaya 5000 lux.

Sebagian besar mikroalga tidak dapat tumbuh dengan baik dalam keadaan pencahayaan yang konstan, karena membutuhkan waktu istirahat untuk menyimpan makanan (Hadiyanto dan Azim, 2012).

#### b. Suhu

Suhu merupakan parameter penting untuk pertumbuhan mikroalga karena tergantung di mana ia tumbuh di iklim tropis dan subtropis. Kebanyakan alga dapat tumbuh antara 15 dan 400 derajat Celcius. Beberapa mikroalga dapat tumbuh subur pada kondisi suhu 24-260 derajat Celcius. Pada suhu di bawah 160°C, mikroalga masih dapat tumbuh lambat. Namun, pada suhu di atas 350 derajat Celcius, beberapa mikroalga mati atau lisis (meledak). Peningkatan suhu dalam kisaran tertentu dapat meningkatkan laju pertumbuhan mikroalga (Hadiyanto dan Azim, 2012).

#### c. pH

pH merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan umur panjang organisme di lingkungan perairan. Perubahan pH yang parah dapat mempengaruhi kerja enzim dan dapat menghambat proses fotosintesis dan pertumbuhan beberapa mikroalga. Pada organisme laut, pH merupakan faktor penting yang mengatur perubahan suhu, oksigen terlarut, dan kelimpahan dan distribusi mikroalga (Sukmawan *et al.*, 2012). Kebanyakan alga tumbuh dalam kondisi pH normal antara 6 dan 8. Namun, beberapa ganggang cyanobacterial seperti *Spirulina* hanya dapat tumbuh dalam kondisi basa. Meskipun secara umum



Chlorella dapat bertahan hidup pada kondisi pH antara 7-8 (Hadiyanto dan Azim, 2012). Meskipun Nannochloropsis memiliki pH antara pH 7-9 (Sukmawan et al., 2012).

### 3.3.2 Media Pertumbuhan Mikroalga

Ada beberapa list medium yang digunakan untuk pertumbuhan mikroalga sesuai habitat dan jenisnya. Beberapa medium yang umum terbagi menjadi 2 yaitu untuk mikroalga Freshwater dan mikroalga laut.

#### a. Media Pertumbuhan Mikroalga *Freshwater*

##### 1). Media *Allen's Blue-Green Algal (BG-11)*

Media *BG-11* merupakan salah satu media terbaik untuk produksi biomassa mikroalga *Freshwater* seperti *Tetraselmis chuii*. Konsentrasi Fe dan Mg yang terkandung dalam media *BG-11* menghasilkan konsentrasi biomassa dan klorofil terbaik yaitu 4 g/l ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) dan 24  $\mu M$  ( $FeCl_3$ ). Selain nutrisi yang berasal dari media tumbuh yang digunakan, pertumbuhan mikroalga juga dipengaruhi oleh faktor salinitas dan pH lingkungan. Salinitas dan pH awal yang optimum pada media *BG-11* untuk mendapatkan kandungan klorofil tertinggi pada mikroalga adalah salinitas 40‰ dan pH 8 (Puspita dan Anggreni, 2017). Berikut ini adalah komposisi media *BG-11*.

Tabel 8. Komposisi Media *BG-11*

| Nutrien              | Kadar Penggunaan |
|----------------------|------------------|
| $(NH_4)_2SO_4$       | 1.320 g          |
| $KH_2PO_4$           | 0.272 g          |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.247 g          |
| $CaCl_2$             | 0.055 g          |
| Larutan Trace Metal  | 1 mL             |

Sumber : Andersen, R. A., & Culturing, A. (2005)



Tabel 9. Komposisi Trace Metal BG-11

| Nutrien  | Kadar Penggunaan |
|--|------------------|
| Fe-Na-EDTA 3H <sub>2</sub> O                             | 30.16 g          |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                           | 2.86 g           |
| MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O                    | 1.79 g           |
| NH <sub>4</sub> )6Mo7O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O | 0.13 g           |
| ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O                    | 0.22 g           |
| CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O                    | 0.079 g          |
| NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>                          | 0.023 g          |

Sumber : Andersen, R. A., & Culturing, A. (2005).

## 2). *Bold's Basal Medium* (BBM)

BBM merupakan media selektif bagi pertumbuhan mikroalga khususnya dari divisi *Chlorophyta* atau alga hijau atau mikroalga jenis air tawar (Putra *et al.*, 2014). Media kultur dan kondisi lingkungan yang digunakan kemungkinan berpengaruh terhadap lama fase adaptasi. Penggunaan *Bold's Basal Medium* (BBM) dan kondisi lingkungan yang sama seperti pemeliharaan kultur sebelumnya memungkinkan sel-sel mikroalga yang diinokulasikan mampu bertahan hidup dan berada dalam kondisi siap untuk melakukan pembelahan sel. Kebutuhan nutrisi mikroalga juga dapat terpenuhi menggunakan *Bold's Basal Medium* (BBM) (Jati *et al.*, 2012). Berikut ini adalah komposisi media BBM.

Tabel 10. Komposisi media BBM

| Nutrien                              | Kadar Penggunaan |
|--------------------------------------|------------------|
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>      | 8,75 g           |
| CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O  | 1,25 g           |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O | 3,75 g           |
| NaNO <sub>3</sub>                    | 12,5 g           |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      | 3,75 g           |
| NaCl                                 | 1,25 g           |
| KOH                                  | 10 g             |
| FeSO <sub>4</sub> 7.H <sub>2</sub> O | 4,98 g           |
| Larutan Trace Metal                  |                  |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>       | 5,75 g           |

Sumber : Hadiyanto, H., dan M Azim. (2012).



Tabel 11. Komposisi Trace Metal BBM

| Nutrien   | Kadar Penggunaan |
|---|------------------|
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                        | 2,86 g           |
| MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O                  | 1,81 g           |
| ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                  | 0,222 g          |
| NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O                 | 0,390 g          |
| CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O                  | 0,079 g          |
| Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6.H <sub>2</sub> O | 0,0494 g         |

Sumber : Hadiyanto, H., dan M Azim. (2012).

b. Media Pertumbuhan Mikroalga Laut

1). Media Walne

Media walne merupakan media umum yang digunakan dalam proses kultur mikroalga. Media ini mengandung N(NaNO<sub>3</sub>) sebanyak 100,009 g/l dan P(NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O) sebanyak 20 g/l. (Jati et al.,2012). Suhu kultivasi mikroalga dengan media walne berkisar 30-34<sup>0</sup>C dengan PH yaitu 7-8. Media Walne termasuk dalam media komersil sehingga harganya tergolong mahal (Addini *et al.*, 2017). Media Walne memiliki dua sumber nitrogen dalam komposisinya yaitu ion amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) dan ion nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Selama ini media pertumbuhan Spirulina banyak menggunakan media walne (Sirait *et al.*, 2019). Berikut ini adalah komposisi media Walne.

Tabel 12. Komposisi media Walne

| Nutrien   | Kadar Penggunaan |
|---|------------------|
| NaNO <sub>3</sub>                                   | 100 g            |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                      | 33,6 g           |
| Na <sub>2</sub> EDTA                                | 45,0 g           |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O | 20,0 g           |
| FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O               | 1,3 g            |
| MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O               | 0,36 g           |
| Larutan Trace Metal                                 |                  |

Sumber : Andersen, R. A., & Culturing, A. (2005).



Tabel 13 Komposisi Trace Metal Walne

| Nutrien   | Kadar Penggunaan |
|---|------------------|
| ZnCl <sub>2</sub>   | 21 g             |
| CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O   | 20 g             |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> · 4H <sub>2</sub> O | 9 g              |
| CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O   | 20 g             |

Sumber : Andersen, R. A., & Culturing, A. (2005).

## 2). Media Guillard f/2

Media F/2 atau juga disebut media Guillard F/2 adalah media air laut yang diperkaya dan banyak digunakan untuk menumbuhkan alga laut terutama diatom.

Unsur yang terkandung dalam media Guillard's f/2 berkomposisi lebih kompleks sehingga sel dari *Chlorella* sp. bertumbuh dengan cepat. Fe, Mn, Cl, dan Zn lebih

banyak tersedia dari pada media yang lainnya. Unsur tersebut yang digunakan

*Chlorella* sp. dalam proses fotosintesis, dimana hasilnya untuk pertumbuhan.

Pada media ini juga mengandung vitamin yang lengkap sebagai pemacu pertumbuhan terutama vitamin B12, dimana pada perlakuan B unsur lebih

lengkap (Yulina *et al.*, 2019). Berikut ini adalah komposisi media Guillard f/2

Tabel 14. Komposisi media Guillard f/2

| Nutrien  | Kadar Penggunaan |
|--|------------------|
| NaNO <sub>3</sub>                                    | 75 g             |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O  | 5 g              |
| Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> · 9H <sub>2</sub> O | 30 g             |
| Larutan Trace Metal                                  | 1 mL             |

Sumber : Andersen, R. A., & Culturing, A. (2005).

Tabel 15. Komposisi Trace Metal Guillard f/2

| Nutrien  | Kadar Penggunaan |
|--|------------------|
| FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O                | 3.15 g           |
| Na <sub>2</sub> EDTA · 2H <sub>2</sub> O             | 4.36 g           |
| MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O                | 1 mL             |
| ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O                | 1 mL             |
| CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O                | 1 mL             |
| CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O                | 1 mL             |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O | 1 mL             |

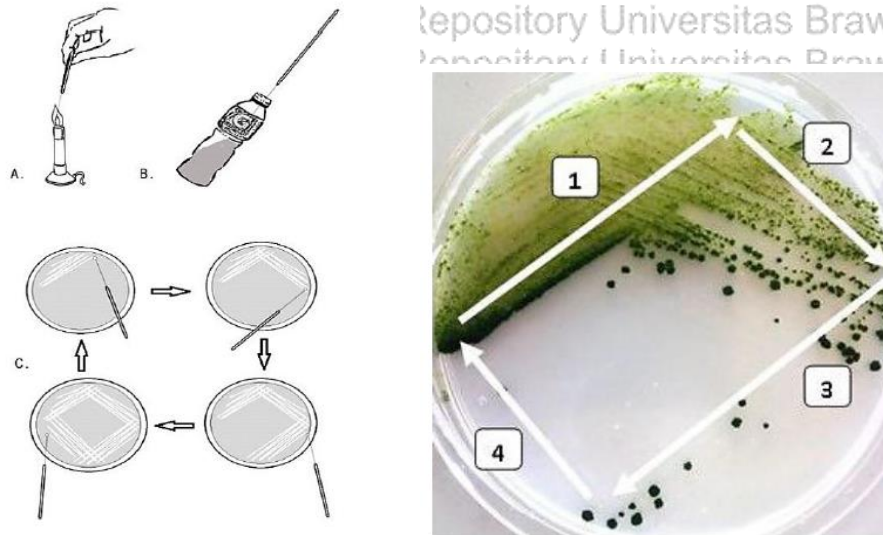
Sumber : Andersen, R. A., & Culturing, A. (2005).

### 3.3.2 Teknik Isolasi

#### a. Teknik Goresan

Metode streak plate adalah teknik dasar tetapi salah satu teknik yang paling penting di bidang mikrobiologi, terutama untuk isolasi koloni terpisah pada pelat agar-agar. Menurut Andersen (2005), teknik khusus ini adalah metode isolasi mikroalga yang paling disukai baik dari sampel tanah maupun air. Ini juga sangat sederhana dan juga dapat digunakan untuk membangun kultur alga aksenik tanpa perawatan tambahan. Namun, ada beberapa spesies mikroalga yang tidak menunjukkan pertumbuhan yang baik pada agar-agar padat. Misalnya *flagelata Peridinium sp.*, *Heterosigma sp.*, dan *Aureococcus sp.* tidak mampu mempertahankan pertumbuhan pada agar-agar padat karena mereka lebih menyukai media cair atau agar-agar lunak / semi-padat (0,3 hingga 0,6%), sedangkan sebagian besar mikroalga menyukai agar-agar padat dengan konsentrasi mulai dari 0,8% hingga 2,0%. Untuk mendapatkan koloni yang terisolasi dengan baik, teknik lempeng kuadran bergaris sering digunakan. Metode khusus ini memiliki prinsip yang sama dengan pengenceran serial sedangkan sampel air asli yang dimasukkan ke loop logam diencerkan dengan goresan berturut-turut di agar-agar. Akibatnya, terjadi pengurangan yang cukup besar dalam jumlah mikroorganisme dari goresan awal hingga goresan terakhir. Goresan ketiga dan keempat biasanya mengandung mikroorganisme yang lebih kecil, dan

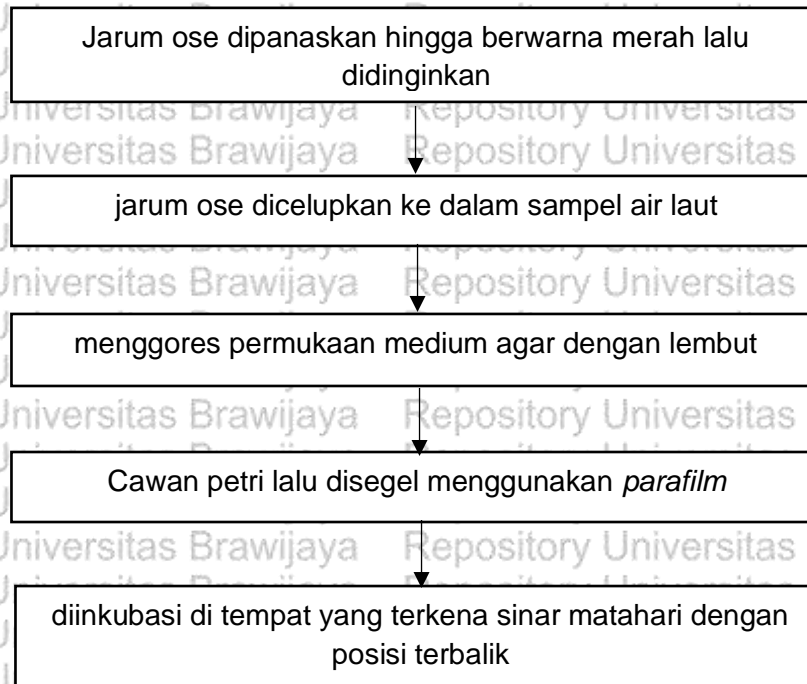
dengan demikian menghasilkan koloni terisolasi pada permukaan agar-agar setelah inkubasi pada suhu 20 hingga 28 ° C selama 7 hingga 20 hari (Martinez-Goss *et al.*, 2020).



Gambar 2. Teknik goresan dengan media BG-11

Metode Teknik goresan pertama mikroalga yang telah dicuci akan dibiarkan menembus lingkaran pada pelat dalam kondisi aksenik dan disimpan setidaknya selama tujuh hari untuk menumbuhkan mikroalga. Pelapisan goresan berulang akan dilakukan untuk membuat koloni tunggal dari lempeng bergaris sebelumnya dan agar terbebas dari bakteri. Dari lempeng bergaris terakhir, koloni tunggal akan diambil secara melingkar dan dibiarkan tumbuh dalam tabung dan botol. Sebelum dimasukkan ke dalam tabung dan vial, pertumbuhan sel tunggal dan kemurnian spesies tunggal akan dipastikan setelah diamati di bawah mikroskop. Kemudian, kultur murni mikroalga yang telah diisolasi akan disimpan dalam dalam tabung, vial dan labu ukur di laboratorium untuk digunakan dan dipelajari lebih lanjut. Mengikuti prosedur di atas, mikroalga penting akan diisolasi, dibiarkan tumbuh dan dipelihara di laboratorium (Hamli *et al.*, 2020).





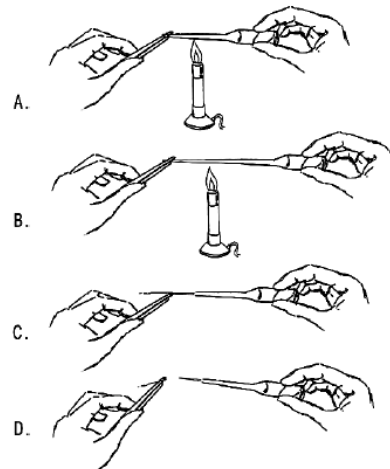
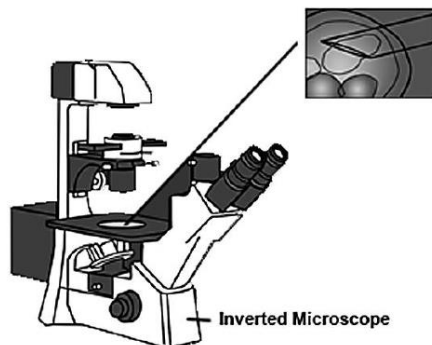
Gambar 3. Skema Kerja Teknik Goresan (Putri *et al.*, 2019)

Skema kerja dari teknik goresan adalah Jarum ose dipanaskan sampai berwarna merah kemudian didinginkan. Setelah itu, jarum ose dicelupkan sebentar ke dalam sampel air laut. Jarum ose kemudian diangkat lalu dilakukan proses plating pada cawan petri dengan cara menggores permukaan medium agar dengan lembut. Cawan petri lalu disegel menggunakan parafilm dan diinkubasi di tempat yang terkena sinar matahari dengan posisi terbalik. Proses plating ini dilakukan dalam kondisi aseptik (steril) (Putri *et al.*, 2019).

#### b. Teknik Mikropipet

Teknik isolasi tradisional termasuk penggunaan mikropipet untuk isolasi di bawah mikroskop atau pengenceran sel diikuti dengan budidaya di media cair atau piring agar. Isolasi sel tunggal, berdasarkan metode tradisional dari sampel memakan waktu dan membutuhkan media serta peralatan yang disterilkan, tetapi hasil dari proses yang rumit ini selalu berupa kultur murni yang biasanya mudah diidentifikasi (Sudha *et al.*, 2020). Selain itu, teknik mikropipet membutuhkan

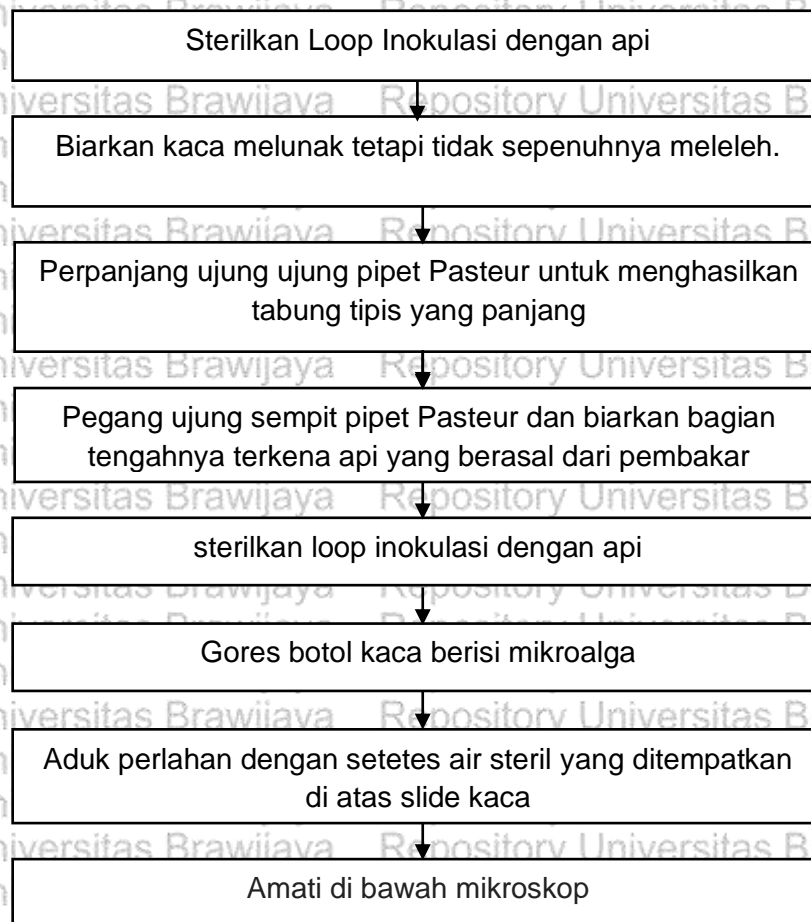
operator yang sangat terampil karena padatan dan ujung yang tajam menyebabkan tegangan geser serta berpotensi merusak sel (Kim *et al.*, 2021).



Gambar 4. Isolasi sel tunggal dengan menggunakan mikropipet dan mikroskop terbalik (Martinez-Goss *et al.*, 2020).

Teknik mikropipet adalah metode konvensional lain yang digunakan untuk isolasi, tetapi memerlukan banyak latihan dan pengalaman langsung. Metode ini biasanya digunakan untuk isolasi sel tunggal menggunakan pipet Pasteur atau tabung kapiler kaca, yang akan dicetak ulang menjadi "mikropipet" atau "pipet kapiler" dengan ujung yang sangat halus. Ini dibuat dengan memegang ujung dengan tang steril sambil dipanaskan dengan api kecil. Jika pipet Pasteur terkena panas tinggi, pipet tidak akan meregang ke bentuk dan panjang yang diinginkan, dan ada kecenderungan besar bahwa pipet akan langsung putus. Perhatikan bahwa forsep harus diletakkan kira-kira 1 cm dari ujung. Diameter ujung yang ditarik halus dapat divariasikan juga dengan mengubah kecepatan penarikan: (a) ujung yang ditarik perlahan akan membuat lubang bor yang lebih besar, sedangkan (b) ujung yang ditarik dengan cepat akan mengarah ke ujung yang sempit. Pastikan diameter ujung mikropipet sesuai dengan ukuran sel alga yang diinginkan untuk menjamin isolasi sel tunggal. Disarankan bahwa diameter

ujung harus kurang lebih dua kali ukuran sel alga untuk memastikan manipulasi mikro yang halus dan untuk menghindari “gaya geser fluida” yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel. Dalam melakukan teknik ini, bahan yang dibutuhkan adalah pipet Pasteur, lampu alkohol, korek api, mikroskop terbalik, kaca geser, tang, inokulasi loop, gelas kimia, botol kaca, dan media kultur cair dasar untuk mikroalga. (Martinez-Goss *et al.*, 2020).



Gambar 5. Skema Kerja Teknik Mikropipet (Martinez-Goss *et al.*, 2020).

Dengan menggunakan tang steril, pegang ujung pipet Pasteur dan nyalakan area yang berdekatan hingga agak lunak (jangan sampai benar-benar meleleh). Tarik menjauh dari api dan segera rentangkan ujungnya ke arah horizontal dengan menggunakan penjepit. Jangan memanaskan pipet Pasteur terlalu lama agar tidak pecah. Regangkan ujung kaca yang dipanaskan dengan

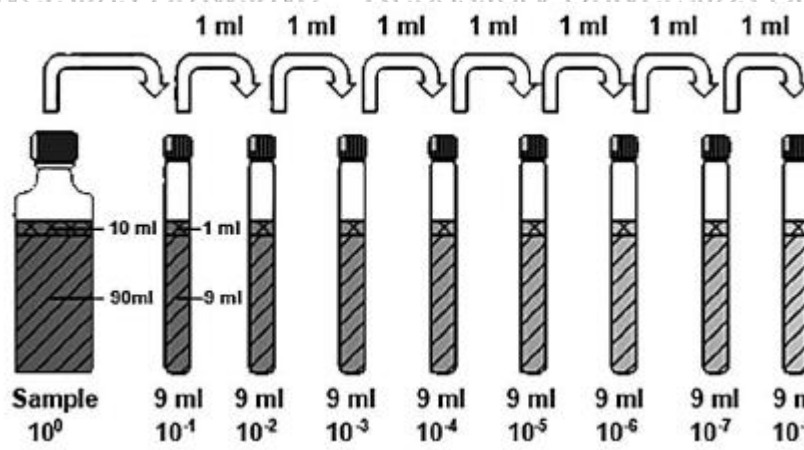


panjang 4 hingga 6 cm. Pastikan diameter lubang tabung harus lebih besar dari sel mikroalga yang diinginkan. Ini akan menghindari pemotongan sel saat masuk ke mikropipet. Ujung mikropipet yang dihasilkan bisa lurus atau melengkung. Untuk mendapatkan ujung lurus, cukup putus sebagian kecil dari ujung ujung setelah diperpanjang ke panjang yang diinginkan, sementara ujung melengkung dihasilkan dengan menekuk ujung ujung mikropipet tepat setelah ditarik halus. Ujung melengkung berguna saat sel ditempatkan di wadah yang dalam, tetapi ujung lurus lebih mudah untuk dimanipulasi terutama di bawah mikroskop. Keuntungan lain dari ujung lurus adalah membutuhkan sedikit usaha untuk melepaskan sel alga di dalam ujung. Setelah ujung mikropipet dibuat, sterilkan loop inokulasi dengan api dan gores bagian bawah botol kaca yang berisi sel mikroalga. Aduk perlahan dengan setetes air steril yang ditempatkan di atas slide kaca. Amati di bawah mikroskop dan cari sel individu dari spesies mikroalga yang diinginkan. Temukan ujung pipet yang diperpanjang di bawah mikroskop, posisikan di atas mikroalga target, lalu ketuk sel atau kelompok sel dengan lembut menggunakan ujungnya. Biarkan kapiler menarik sel ke atas dan masuk ke ujung mikropipet. Pindahkan ke kaca objek lain yang berisi setetes air steril atau media kultur cair alga dengan meniup ujung pipet secara perlahan. Siapkan kapas bersih di dalam ujung ujung untuk menyaring udara yang digunakan untuk mengeluarkan mikroalga. Periksa apakah sel target diperoleh dengan mengamati di bawah mikroskop terbalik. Ulangi prosedur ini hingga setidaknya 10 hingga 20 sel mikroalga yang diinginkan diisolasi. Pindahkan sel dari kaca objek ke dalam botol kaca steril yang berisi 50 mL kaldu kultur alga. Inkubasi selama 7 hingga 20 hari pada suhu 20 hingga 28 ° C dengan fotoperiode 12 jam cahaya dan 12 jam kegelapan (kondisi dapat bervariasi). Aerasi berkelanjutan dapat diterapkan, atau sebagai alternatif, kocok botol secara manual 6-8x per hari untuk menghindari penggumpalan sel yang dapat menyebabkan alga, dan untuk memastikan

distribusi nutrisi yang sama dalam kaldu kultur. Setiap 3 sampai 5 hari, periksa kultur melalui mikroskop untuk melihat apakah terdapat mikroorganisme lain. Jika budidaya terkontaminasi oleh spesies mikroalga lain, ulangi semua langkah yang disebutkan di atas hingga budidaya unialga tercapai (Martinez-Goss *et al.*, 2020).

c. Teknik pengenceran berseri

Teknik pengenceran berseri dikembangkan untuk menganalisa hasil analisis klinis bakteri didasarkan pada pengenceran kultur dan digunakan untuk fitoplankton sudah lebih dari satu abad. Pengujian ini didasarkan pada penilaian adanya sel yang layak melalui ada atau tidaknya pertumbuhan. Karena itu, kemungkinan sel tunggal hidup yang tersisa dalam kultur berkurang. Dengan demikian, probabilitas mendeteksi pertumbuhan dalam sampel. Penentuan Teknik pengenceran berseri sel dalam sampel murni dapat dihitung secara statistik dari jumlah sampel di mana ada bukti pertumbuhan dalam satu set mereplikasi pengenceran (Elisabeth *et al.*, 2021).

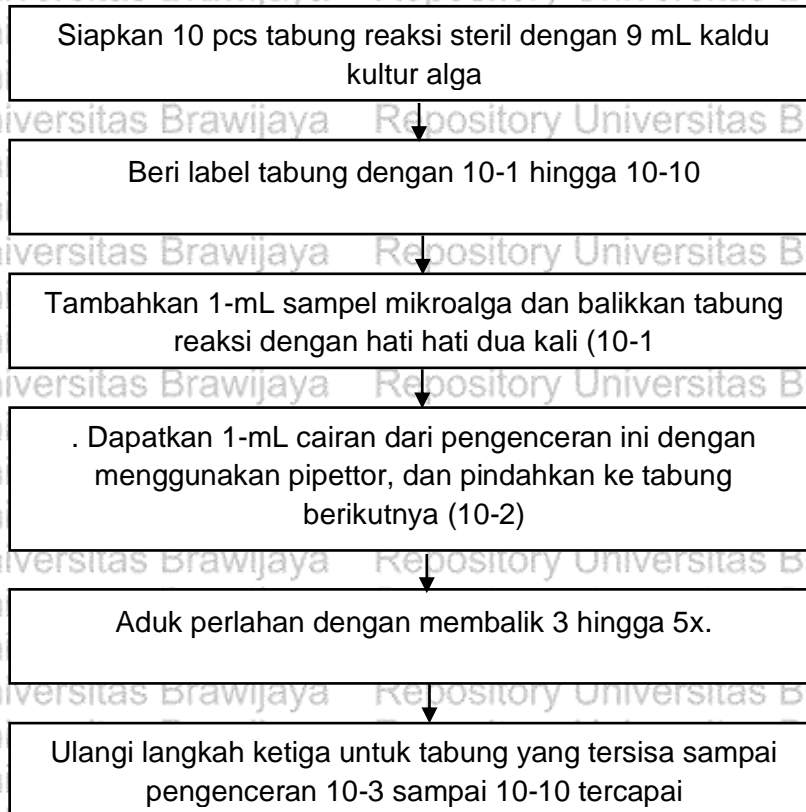


Gambar 6. Pengenceran berurutan untuk mengurangi jumlah sel alga (Martinez-Goss *et al.*, 2020).

Teknik pengenceran serial paling sering digunakan saat mencoba membudidayakan spesies mikroalga secara acak. Itu juga dapat secara efektif



mengisolasi mikroalga yang hadir dalam jumlah melimpah dalam sampel air. Tujuan utama dari metode ini adalah untuk mengurangi kultur sel yang padat saat pengenceran meningkat. Bahan yang dibutuhkan untuk teknik ini adalah tabung reaksi tertutup ulir steril, rak tabung reaksi, kaldu kultur alga, pipettor 10 mL dan 1 mL, lampu alkohol dan vortex mixer (Martinez-Goss *et al.*, 2020).



Gambar. Skema Kerja Teknik Teknik pengenceran berseri (Martinez-Goss *et al.*, 2020).

Siapkan 10 pcs tabung reaksi steril dengan 9 mL kaldu kultur alga. Beri label tabung dengan 10-1 hingga 10-10 yang menunjukkan pengenceran. Tambahkan 1-mL sampel mikroalga yang diperkaya ke dalam tabung pertama (10-1) dan balikkan tabung reaksi dengan hati-hati dua kali. Dapatkan 1-mL cairan dari pengenceran ini dengan menggunakan pipettor, dan pindahkan ke tabung berikutnya (10-2). Aduk perlahan dengan membalik 3 hingga 5x. Ulangi langkah ketiga untuk tabung yang tersisa sampai pengenceran 10-3 sampai 10-10 tercapai.



Tempatkan tabung reaksi dengan inokulum alga di dalam inkubator pengocok atau kocok tabung secara manual 6-8x per hari jika akan ditempatkan di dalam ruang pertumbuhan. Inkubasi pada suhu 20 hingga 28 ° C di bawah cahaya 12-jam dan kegelapan selama 12 jam selama 7 hingga 20 hari. Intensitas cahaya, fotoperiode dan waktu inkubasi akan tergantung pada spesies mikroalga yang diisolasi. Periksa setiap 3 hari dengan mengambil sedikit sampel air secara aseptik dari setiap tabung pengenceran dan amati di bawah mikroskop. Prosedur ini diperlukan untuk memeriksa berapa banyak spesies mikroalga yang ada dalam sampel. Satu spesies mikroalga diharapkan berkembang dalam pengenceran yang lebih tinggi. Namun, jika masih mengandung 2-3 spesies mikroalga, putaran mikrodilusi lain direkomendasikan untuk mencapai kultur dengan hanya satu spesies mikroalga.



Tabel 16. Kelebihan dan kekurangan beberapa metode isolasi mikroalga

| Metode Isolasi          | Kelebihan  | Kekurangan   | Referensi  |
|-------------------------|--|--|--|
| Teknik Goresan          | Relatif Mudah; kebutuhan perangkat tidak banyak, bakteri yang kontaminan mudah dibedakan, dan dapat membuat goresan dengan pola tertentu                         | Membutuhkan banyak waktu, Melelahkan, spesies terbatas karena hanya mampu tumbuh pada substrat padat | Hamli <i>et al.</i> (2020), Dahlia <i>et al.</i> (2017), Alam & Wang (2019). |
| Teknik Mikropipet       | Dapat memilih satu sel tunggal.  | Metode yang melelahkan dan memakan waktu lama, membutuhkan keterampilan yang cukup. Kurang praktis   | Martinez-Goss <i>et al.</i> (2020), Alam & Wang (2019)                       |
| Teknik Pengenceran Seri | Relatif Mudah; kebutuhan perangkat tidak banyak, Sejumlah bakteri tertentu berkurang dengan setiap pengenceran, dapat menghasilkan satu koloni mikroalga tunggal | Tidak berhasil jika rasio numerik antara alga dan bakteri tidak menguntungkan,                       | Martinez-Goss <i>et al.</i> (2020), Handra <i>et al.</i> (2019)              |





### 3.4 Purifikasi Mikroalga

Tujuan dari metode pemurnian adalah untuk mendapatkan kultur yang layak dari satu spesies, bebas dari semua spesies lain ("kontaminan") baik eukariota, prokariota, atau virus. Ide tentang kultur murni tidak diragukan lagi dimulai pada masa Koch dan Pasteur yang mengacu pada bakteri. Diperluas di sebelah eukariota, pertama kali menghasilkan istilah unialgal untuk kultur spesies tunggal alga, dan jika biakan tidak memiliki kontaminan yang dapat dideteksi, maka mereka disebut murni atau aksenik. Istilah gnotobiotik biasanya digunakan untuk individu dari spesies yang lebih besar yang dibesarkan bebas dari mikroorganisme atau parasit. Karena beberapa alga bergizi sebagian atau seluruhnya organo-heterotrofik, bactivora, planktivora, atau bahkan karnivora, mungkin perlu untuk memasok makanan sebagai kultur bakteri, alga lain, atau protista yang hidup atau mati. Budaya makan seperti itu kadang-kadang disebut bixenic. Budaya lain berada di luar definisi sederhana. Misalnya, bagaimana seharusnya kultur *Pinnularia* dengan bakteri endosimbiotik dipertimbangkan (Miyawaki *et al.*, 2021)

#### 3.4.1 Setrifugasi

Sentrifugasi adalah proses pemisahan yang menggunakan gaya sentrifugal untuk memisahkan padatan dan cairan. Proses pemisahan ini didasarkan pada perbedaan ukuran dan densitas partikel. (Noer dan Dessy, 2012). Peralatan centrifuge dibagi menjadi hydrocyclone dan centrifuge sedimentasi. Prinsip pemisahan sentrifugal adalah benda diputar mendatar untuk jarak tertentu. Apabila objek berotasi di dalam tabung atau silinder yang berisi campuran cairan dan partikel, maka campuran tersebut dapat bergerak menuju pusat rotasi, namun hal tersebut tidak terjadi karena adanya gaya yang berlawanan yang menuju kearah dinding luar silinder atau tabung, gaya tersebut adalah gaya sentrifugasi. Gaya inilah yang menyebabkan partikelpartikel menuju



dinding tanbung dan terakumulasi membentuk endapan (Hadiyanto dan Azim, 2012).

Proses sentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm secara efektif dapat memisahkan mikroalga dari cairan medianya (Rafaelina *et al.*, 2015). Tes laboratorium pada 500-1000 gr hasil kultivasi mikroalga dalam *pond* menunjukkan 80-90% mikroalga dapat dipisahkan dalam waktu 2-5 menit. Walaupun proses sentrifugasi efektif digunakan secara teknis, proses ini juga memiliki kelemahan terutama pada investasi alat yang tinggi dan biaya operasional yang tinggi (Ariyanti dan Handayani, 2012).

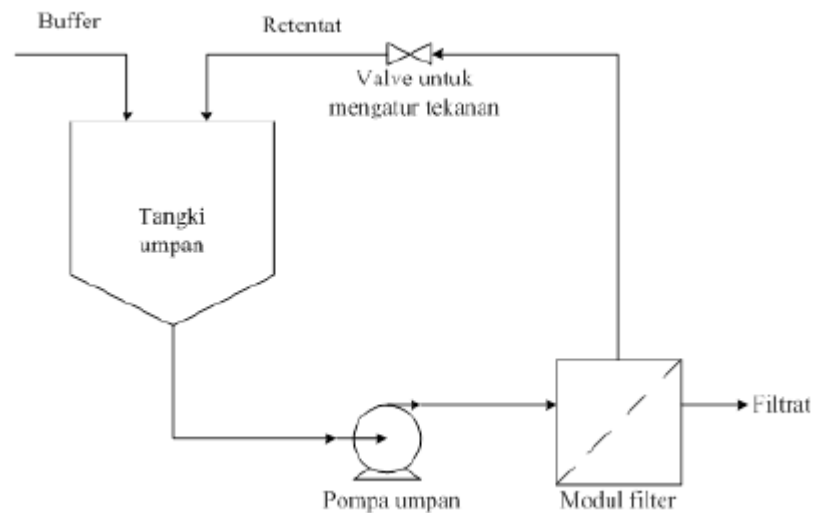
### 3.4.2 Filtrasi

Untuk alga tersuspensi yang lebih kecil, filtrasi aliran tangensial harus dipertimbangkan karena lebih mudah ditangani daripada filtrasi sistem deadlock, tetapi adanya penyumbatan menyebabkan penggantian membran yang sering, yang berdampak besar pada biaya (Uduman *et al.*, 2010). Penyaringan Prinsip dasar penyaringan adalah melewatkan partikel melalui saringan berlubang dengan ukuran tertentu. Partikel yang melewati harus sesuai dengan ukuran saringan. Metode ini umumnya digunakan untuk pemisahan padat-padat, tetapi dalam perkembangannya juga diterapkan pada pemisahan padat-cair. Untuk memanen mikroalga, peralatan yang digunakan meliputi dua alat utama, yaitu saringan mikro (microsieves) dan saluran getar. Filtrasi adalah proses yang menggunakan perbedaan tekanan untuk mendorong cairan melalui media filter (Hadiyanto dan Azim, 2012).

Metode pemisahan ini melibatkan media permeabel untuk memungkinkan cairan melewati sambil menahan padatan sehingga kedua komponen dipisahkan.

Proses filtrasi membutuhkan penurunan tekanan untuk mendorong cairan melalui media filter. Depressurization yang umum digunakan adalah gravitasi, vakum,

tekanan atau sentrifugal. Proses filtrasi yang paling efisien diterapkan untuk memanen mikroalga dengan ukuran sel besar adalah filtrasi tekanan atau filtrasi vakum. Namun, filtrasi tidak cocok untuk operasi pemanenan mikroalga dengan ukuran sel kecil seperti spesies *Dunaliella* (Ariyanti dan Handayani, 2012).



Gambar 7. Skematik sistem filtrasi aliran tangensial (Ariyanti dan Handayani, 2012).

Gambar 7. menunjukkan skematik sistem filtrasi aliran tangensial. Kultur mikroalga dan retentat hasil proses filtrasi dipompakan ke modul filter. Filtrat dialirkan ke proses selanjutnya, sedangkan retentat dikembalikan lagi ke tangki umpan sehingga lama kelamaan mikroalga dalam tangki akan semakin terkonsentrasi.

### 3.4.3 Flokulasi

Flokulasi adalah metode pemanenan dimana mikroalga akan saling terkumpul hingga membentuk suatu gumpalan massa yang lebih besar, yang disebut flok. Flokulasi dapat disebut pula sebagai proses agregasi partikel kecil menjadi partikel yang berukuran lebih besar akibat dari adanya ketidakstabilan



fisik atau kimiawi. Prinsip kerja flokulasi adalah kumpulan mikroalga yang membentuk massa akibat penambahan bahan kimia atau zat organik (Hidayati dan Nawansih, 2015).

Dalam beberapa literatur, disebutkan bahwa flokulasi sama dengan koagulasi, dikarenakan mekanisme operasinya hampir sama. Namun, bagi sebagian peneliti, kedua metode tersebut berbeda, dimana flokulasi membentuk agregat akibat polimer, sedangkan koagulasi akibat dari elektrolit. Metode ini biasanya merupakan langkah awal bagi metode pemanenan selanjutnya. Agregat yang terbentuk disebabkan oleh perubahan pH atau penambahan elektrolit sebagai flokulan atau koagulan. Pemanenan sel mikroalga dengan flokulasi dianggap lebih baik daripada metode konvensional seperti sentrifugasi atau filtrasi, karena dapat menghasilkan biomassa yang lebih besar secara kuantitas. Metode ini juga mudah untuk dilakukan dan dengan sedikit menggunakan energi.

Walaupun demikian, metode ini memiliki beberapa kekurangan secara teknis dan ekonomi, seperti biaya flokulan yang mahal (Hadiyanto dan Nais, 2018).

Proses flokulasi terjadi saat partikel zat terlarut saling bertumbukan dan menempel satu sama lain. Bahan kimia yang biasa disebut flokulan ditambahkan ke dalam sistem untuk membantu proses flokulasi. Sel mikroalga umumnya berukuran 5-50  $\mu\text{m}$ . Sel mikroalga dapat membentuk suspensi cukup stabil dengan bahan kimia yang memiliki muatan negatif pada permukaannya. Terdapat 2 tipe flokulan yang digunakan yaitu: flokulan inorganik dan flokulan polimer organik/ polielektrolit. Flokulan yang dinilai paling efektif digunakan untuk proses pemanenan mikroalga adalah aluminium sulfat serta beberapa jenis polimer kationik (Ariyanti dan Handayani, 2012).



Tabel 17. Perbandingan beberapa metode purifikasi mikroalga

| Metode Purifikasi   | Konsentrasi padatan setelah pemanenan | Recoveri | Kelebihan   | Kekurangan  | Referensi  |
|---------------------|---------------------------------------|----------|---|---|--|
| Sentrifugasi        | 12-22%                                | >90%     | Waktu singkat, Menggunakan peralatan Modern, Dapat menyaring partikel padatan yang sangat kecil | Energi besar, biaya perawatan besar, Butuh waktu yang cukup lama saat pengendapan   | Ariyanti dan Handayani (2012), Hidayah <i>et al.</i> (2014), Noer & Dessy (2012), Hadiyanto dan Azim (2012). |
| Filtrasi Tangensial | 5-27%                                 | 70-90%   | Energi kecil, mudah dilakukan, biaya murah  | Banyak faktor yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan filter, seperti ukuran dan morfologi sel, volume reaktor, dan lain-lain. | Hadiyanto dan Azim (2012), Djunaedi, A. (2016).  |
| Flokulasi           | 0,5-3%                                | 10-90%   | Energi kecil, Mudah dilakukan, biomassa yang lebih besar secara kuantitas                       | Menggunakan bahan kimia dan sulit untuk dihilangkan dari mikroalga  | Julianti <i>et al.</i> (2019), Noer & Dessy (2012), Hadiyanto dan Azim (2012).                               |

Berdasarkan semua metode purifikasi diatas metode yang memberikan hasil tertinggi adalah sentrifugasi sebesar >90%. Hal ini menunjukkan bahwa, metode sentrifugasi memberikan hasil yang terbaik. Sentrifugasi mungkin adalah metode yang paling sering digunakan untuk proses recovery alga yang tersuspensi. Tenaga sentrifugal dimanfaatkan untuk pemisahan berdasarkan perbedaan massa jenis. Jenis pipa sentrifugal mudah dibersihkan dan disterilisasi



dan cocok untuk semua jenis mikroalga, tetapi harus dipertimbangkan investasi awal serta biaya operasi yang tinggi (Hadiyanto dan Azim., 2012).

### 3.5 Ekstraksi Mikroalga

Sel mikroalga mungkin mengandung banyak senyawa yang menarik dan bernilai serta fungsional. Oleh sebab itu harus dipisahkan dari komponen lain yang kurang berharga. Dalam ekstraksi ada beberapa metode yang dapat digunakan misalnya ekstraksi pelarut, menggunakan pelarut organik, cairan ionik, eutektik dalam pelarut, cairan superkritik, dan lain sebagainya (Corrêa *et al.*, 2021)

#### 3.5.1 Ekstraksi Soxhlet

Ekstraksi Soxhlet adalah metode ekstraksi yang menggunakan alat Soxhlet (Firyanto *et al.*, 2020). Prinsip kerjanya adalah pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping soxhlet maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Handoyo, 2020). Pada ekstraksi Soxhlet terdapat perlakuan panas yang dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawa yang tidak larut di dalam suhu kamar. Perlakuan panas ini juga dapat menarik senyawa lebih maksimal sehingga dapat meningkatkan rendemen yang dihasilkan (Kadji *et al.*, 2013). Metode soxhlet pada dasarnya memerlukan pelarut yang biasa disebut solvent. Karena penggunaan bahan tersebut ekstraksi Soxhlet sering disebut *solvent extraction* (Ramluckan *et al.*, 2014). Berikut data dari beberapa ekstraksi soxhlet dengan pelarut berbeda.



Tabel 18. Perbandingan beberapa pelarut metode ekstraksi soxhlet mikroalga

| Mikroalga                      | Pelarut          | Suhu dan Lama Ekstraksi | Hasil Rendemen | Referensi                  |
|--------------------------------|------------------|-------------------------|----------------|----------------------------|
| <i>Chlorella sp</i>            | metanol          | 70°C dan 6 jam          | 17,98%         | Mirzayanti et al. (2020)   |
| <i>Nannochloropsis Sp.</i>     | n-heksan         | 50°C dan 2 jam          | 5,28%          | Habibi et al. (2010)       |
| <i>Spirulina platensis</i>     | Aseton           | 56°C dan 4 jam          | 4,11%          | Anam dan Agustini. (2014). |
| <i>Spirulina platensis</i>     | Etil Asetat      | 77°C dan 4 jam          | 3,46%          | Anam dan Agustini (2014).  |
| <i>Botryococcus Braunii</i>    | Kloroform        | 60°C dan 8 Jam          | 5.02%          | Saputro et al. (2015)      |
| <i>Nannachloropsis oculata</i> | Dichlorom ethane | 40°C dan 18 Jam         | 9%             | Liau et al. (2010)         |
| <i>Synechocystis</i>           | Ethanol          | 40°C dan 18 Jam         | 48%            | Sheng et al. (2011)        |

Dari hasil berbagai mikroalga dengan metode soxhlet diatas. hasil tertinggi didapatkan oleh mikroalga *Synechocytis* dengan pelarut Ethanol memperoleh hasil rendemen sebesar 48%, tumbuhan renik ini merupakan mikroalga liar dan merupakan cyanobacteria uniseluler yang hidup di air tawar (Sheng et al., 2011).

Untuk hasil terendah didapatkan mikroalga *Spirulina platensis* yang menggunakan pelarut Etil Asetat dengan hasil rendemen sebesar 3,46%. Hal tersebut menandakan bahwa pelarut Ethanol merupakan pelarut paling baik.

Kelebihan metode ekstraksi bahan alam dengan alat soxhletasi yaitu Pelarut organik dapat menarik senyawa organik dalam bahan alam secara berulang kali, Waktu yang digunakan lebih efisien, Proses ekstraksi berjalan terus-menerus sesuai dengan keperluan tanpa menambah volume pelarut. Hal ini sangat menguntungkan karena selain ekonomis, akan diperoleh ekstrak yang lebih pekat. Dengan kata lain, pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Sedangkan kekurangannya adalah



Larutan dipanaskan terus-menerus sehingga kurang sesuai untuk zat aktif yang tidak tahan panas. Hal ini dapat diperbaiki dengan menambah peralatan yang dapat mengurangi tekanan udara. Serta, Cairan penyari dididihkan terus-menerus, sehingga cairan penyari harus murni atau campuran azeotrope (Azmir *et al.*, 2013)

Ekstraksi soxhlet dipengaruhi oleh kondisi tempetatur, volume, massa dan polaritas dari bahan *solvent* yang digunakan, karakteristik tersebut diperlukan untuk menyesuaikan antara bahan pelarut atau *solvent* serta sampel yang digunakan untuk membuat ekstraksi yang berlangsung optimal (Ramluckman *et al.*, 2014). Karakteristik yang ditunjukkan pada tabel dibedakan berdasarkan dari *polarity index unit* (tingkat kepolaran), *boiling point* (titik didih) dan *density* (kekentalan). Perbedaan ini juga akan menghasilkan rendemen tersendiri apabila digunakan sebagai pelarut dalam sebuah ekstraksi. Semakin polar suatu bahan pelarut dan memiliki titik didih yang rendah akan menghasilkan persen rendemen yang lebih banyak dibandingkan dengan pelarut lain (Azis *et al.*, 2014).



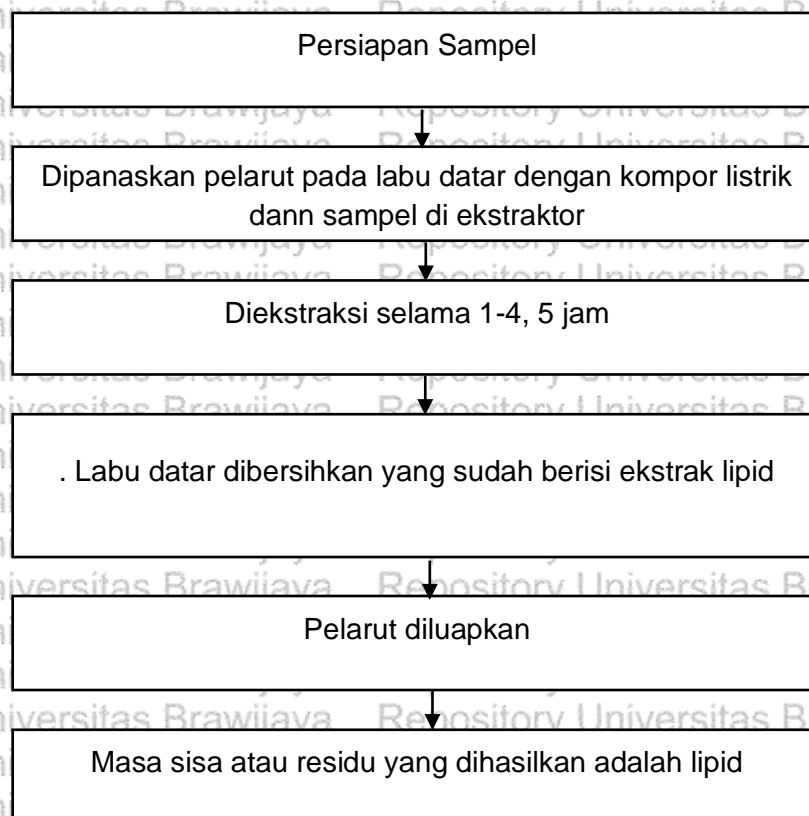
Sumber : Sanchez *et al.* (2014)

Gambar 8. Skema alat ekstraksi dengan metode soxhlet

Proses ekstraksi Soxhlet terdiri dari siklus penguapan dan kondensasi pelarut, komponen alat Soxhlet akan terus mengisi biomassa dengan pelarut



organik (Halim *et al.*, 2012). Peralatan utama yang digunakan dalam ekstraksi soxhlet terdiri dari tiga kompartemen utama yaitu, labu dasar pipih untuk proses pemanasan, ekstraktor soxhlet sebagai tempat mikroalga serta kondensor untuk pendinginan (Mubarak *et al.*, 2015). Gambaran komponen ekstraksi Soxhlet dapat dilihat pada Gambar 8. berdasarkan tiga komponen utama tersebut perusahaan membuat sistem otomatis pada ekstraksi Soxhlet. Pada penelitian Mnichol *et al.* (2011), menggunakan ekstraktor Soxhlet tipe 2050 yang bekerja secara otomatis dengan mengatur beberapa perintah program. Sementara Ramluckan *et al.* (2014), menggunakan Buchi B 811 produksi Swiss yang memiliki 4 mode ekstraksi yaitu: standar, hangat, panas dan ekstraksi Soxhlet terus menerus. Skema kerja pengestraksian menggunakan Metode Soxhlet sebagai berikut.



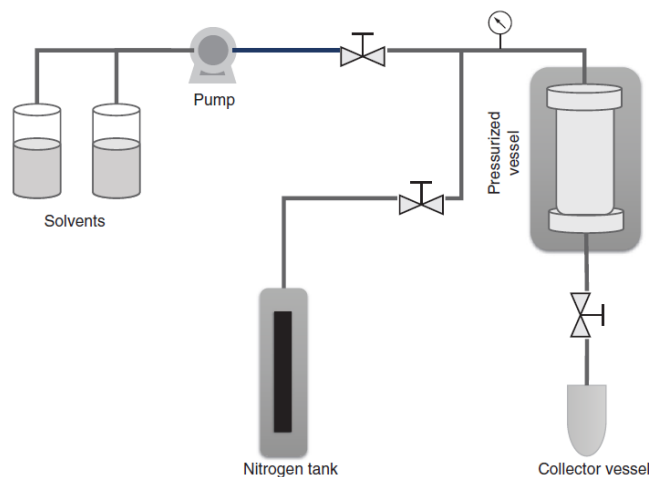
Gambar 9. Skema Kerja Ekstraksi Menggunakan Metode Soxhlet



### 3.5.2 **Pressurized Liquid Extraction (PLE)**

PLE (*pressurized liquid extraction*) merupakan sebuah kombinasi alat untuk ekstraksi senyawa bioaktif. Berdasarkan namanya PLE memanfaatkan tekanan untuk mengesktrak suatu zat atau bahan. Bentuk sederhana PLE terdapat pada alat presto (Rahmawati, 2018). Prinsipnya adalah memanfaatkan tekanan dan panas pada alat untuk melakukan ekstraksi dalam waktu singkat (Fayad et al., 2017).

PLE memiliki keunggulan dibandingkan dengan lainnya salah satunya memanfaatkan sedikit bahan kimia (Castejons and Senorans, 2019), memiliki waktu ekstraksi yang singkat dan terlindungi dari pengaruh oksigen dan cahaya (Koo et al., 2011). Waktu ekstraksi yang diperlukan pada ekstraksi PLE hanya sekitar 20 menit dan hanya menggunakan sebanyak 30 mL pelarut untuk analisis (Rahmawati, 2018). Waktu ekstraksi yang singkat tersebut diperoleh karena PLE diprogram secara otomatis untuk analisis berbagai sampel secara bersamaan (Hernandez et al., 2016). Keunggulan lain PLE dapat mengekstraksi sel tanaman sehingga komponen bioaktif dapat terlarut seluruhnya (Mustafa and Turner, 2011). Pada dasarnya ekstraksi PLE tidak seratus persen tanpa menggunakan pelarut atau solvent. Terkadang dalam beberapa proses ekstraksi ditambahkan pelarut atau solvent seperti etanol dan methanol untuk meningkatkan tekanan dan temperature pada sampel. Dibandingkan dengan metode ekstraksi Soxhlet tradisional penggunaan pelarut pada metode PLE lebih sedikit (Pan et al., 2014).

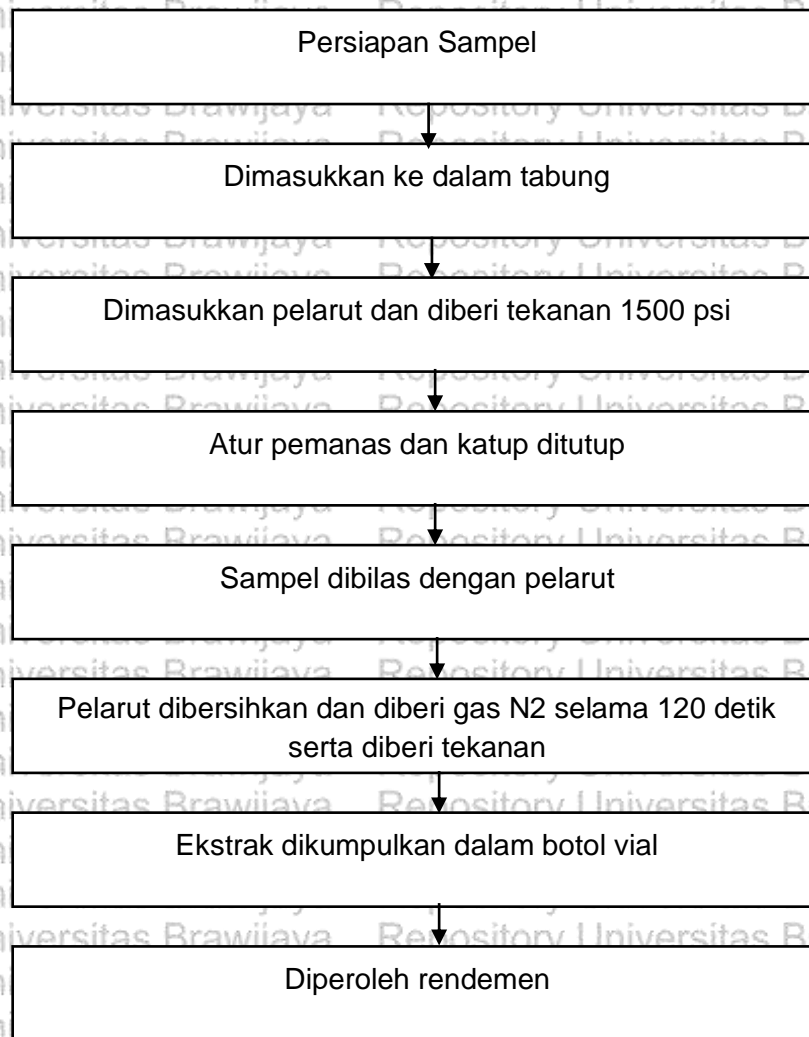


Sumber: Hernandez *et al.* (2016).

Gambar 10. Skema alat ekstraksi dengan metode PLE

Ekstraksi secara PLE umumnya dilakukan oleh alat otomatis yang terprogram seperti *Thermo Scientific dionex ASE 350 Accelerated Solvent Extractor system* (Rodriguez *et al.*, 2016), *ASE 200 dionex Sunnyvale* (Plaza *et al.*, 2012) dan *ASE 100 Dionex* (Fayad *et al.*, 2017). Komponen penyusun pada alat ekstraksi PLE terdiri dari pengukur tekanan, pengatur suhu, modul kontrol, pengontrol pompa, tempat sampel, dan tabung sampel (Rahmawati, 2018). Alat ekstraksi PLE tersebut memiliki kelemahan karena memiliki proses yang kompleks pada komponen alatnya sehingga menghasilkan proses ekstraksi tidak selektif (Hernandez *et al.*, 2016). Skema alat ekstraksi PLE dapat dilihat pada Gambar 11.

Skema kerja pengekstraksian menggunakan Metode PLE sebagai berikut.



Gambar 11. Skema Kerja Ekstraksi Menggunakan Metode *Pressurized Liquid*

*Extraction* (PLE)

### 3.5.3 *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)

*Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) merupakan sebuah proses pemisahan suatu senyawa yang di pengaruhi gelombang berfrekuensi rendah (Yan *et al.*, 2011). ekstraksi ini memiliki reproduktifitas tinggi dalam waktu yang lebih singkat, hasil senyawa bioaktif yang lebih tinggi, penurunan suhu selama pemrosesan, mengurangi konsumsi pelarut, dan input energi yang lebih rendah.

Efek ini dikaitkan terutama karena gangguan dinding sel dan pengurangan ukuran



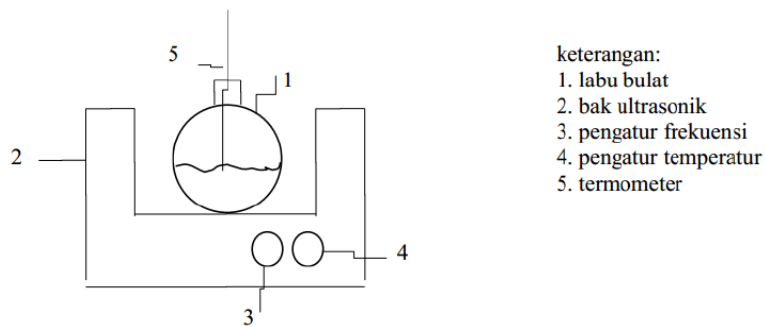
partikel (Rafiquzzaman *et al.*, 2017). proses ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan (kavitasi) dalam fase cair dibawah titik didihnya dan meningkatkan kerusakan pada sel (Andriani *et al.*, 2017). Ekstraksi ini menggunakan iradiasi ultrasonic pada frekuensi 20 – 100 kHz (Yan *et al.*, 2011). Ekstraksi UAE terbagi menjadi dua kategori menurut berdasarkan frekuensi dan intensitasnya, frekuensi tinggi dengan intensitas rendah dengan rentang ( $f > 100 \text{ kHz}$ ) dan frekuensi rendah intensitas tinggi dengan rentang (20 kHz,  $f < 100 \text{ kHz}$ ) (Plaza *et al.* 2012).

UEA terbukti meningkatkan laju ekstraksi dan dalam beberapa kasus mencapai yang lebih baik selektivitas Selain itu, UEA tertinggi dalam pengurangan waktu ekstraksi, suhu, dan konsumsi pelarut (Ventura *et al.*, 2017). UAE sangat ideal untuk industri lipid dari nabati karena efisiensi, kecepatan yang tinggi.

Kerusakan yang ditimbulkan oleh UAE ini juga sangat rendah karena menghindari penggunaan panas. Kecilnya kerusakan ini akan mempertahankan struktur dan molekul serta senyawa bioaktif yang diekstrak (Tian *et al.*, 2013). Efek mekanis gelombang ultrasonik ini dapat meningkatkan penetrasi dari pelarut ke dalam sel, mempercepat pelepasan komponen sel dan meningkatkan komponen sel yang berdifusi dalam pelarut (Hendriyani *et al.*, 2015).

Ekstraksi dengan bantuan ultrasonik merupakan alat untuk meningkatkan laju ekstraksi dalam mengekstrak komponen dari tipe sampel berbeda (Wati dan Motto, 2011). UEA dapat menjadi alternatif yang cocok untuk ekstraksi bioproduct dari mikroalga (Gerde *et al.*, 2012). Dibandingkan dengan ekstraksi konvensional, UEA lebih efisien dan cepat metode ekstraksi, karena gangguan kuat dari dinding sel yang dicapai. Juga, UEA tidak berpengaruh pada struktur kimia dan sifat biologis tanaman bioproduct. Selain itu, UEA dapat menjadi metode yang paling

ekonomis untuk ekstraksi senyawa seperti karotenoid dari mikroalga (Ventura et al., 2017).



Sumber: Wati dan Motto. (2011).

Gambar 12. Skema alat ekstraksi dengan metode UAE

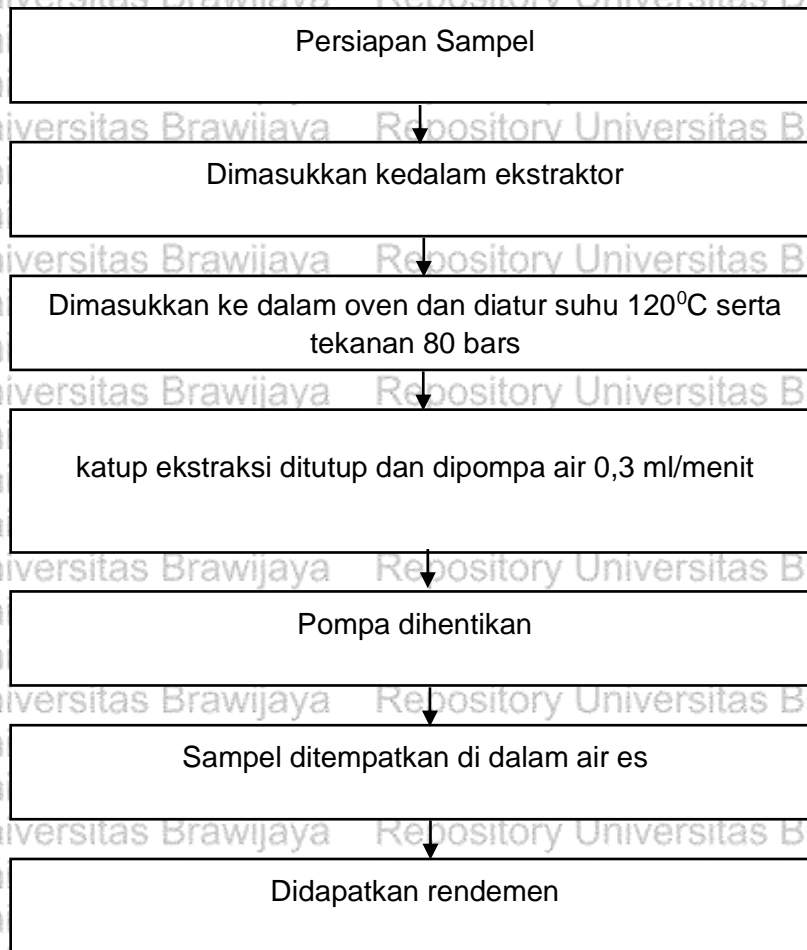
Pengekstraksian lipid menggunakan metode UAE dilakukan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wati dan Motto. (2011), yang menggunakan mikroalga jenis *Chlorella* sp. untuk diekstraksi lipidnya. Prosedur penggunaan UAE

sebagai metode ekstraksi dilakukan pertama kali yaitu menyiapkan alat ekstraksi ultrasonic dan sampel mikroalga. Secara umum terdapat beberapa langkah dalam ekstraksi mikroalga menggunakan metode UAE, langkah pertama membuat bubuk mikroalga, langkah kedua adalah mengekstraksi serbuk mikroalga menggunakan UAE dan terakhir diperoleh lipid mikroalga yang kemudian diidentifikasi karakteristiknya (Suarsini dan Subandi, 2011). Pada penelitian Wati dan Motto.

(2011), yang menggunakan sampel mikroalga kering, kemudian dimasukkan dalam labu bulat. Selanjutnya dicampur dengan n-hexane dan methanol, proses ekstraksi menggunakan suhu 50°C dan waktu selama 1 jam. Kemudian dilakukan proses destilasi. Untuk mendapatkan ekstrak lipid, selanjutnya dilakukan proses penyaringan. Rangkaian alat ekstraksi UAE dapat dilihat pada Gambar 12. Untuk mengoptimalkan hasil dari ekstraksi, dilakukan pengocokan dengan menggunakan *orbital shaker* berkecepatan 100 rpm selama 15 menit di suhu ruang. Kemudian ekstrak tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 100 rpm



selama 2 jam, sehingga terdapat endapan organik. Setelah itu dilakukan evaporasi untuk mendapatkan lipid yang diinginkan (Hadrich *et al.*, 2018). Skema kerja pengekstraksian menggunakan Metode UAE sebagai berikut.



Gambar 13. Skema ekstraksi dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)





### 3.5.4 Microwave Assisted Extraction (MAE)

MAE (*Microwave Assisted Extraction*) merupakan sebuah metode ekstraksi yang menggunakan bantuan gelombang mikro. Dalam MAE, energi gelombang mikro diterapkan ke dalam pelarut panas yang bersentuhan dengan sampel (terutama sampel padat) yang mencapai partisi senyawa target yang diinginkan dari sampel ke dalam pelarut. Ekstraksi dilakukan dalam wadah tertutup atau terbuka dan pelarut digabungkan kemudian terkena energi gelombang mikro (Llompart *et al.*, 2018).

Gelombang mikro adalah gelombang elektromagnetik yang terdiri dari dua medan berosilasi yaitu medan listrik dan medan magnet. Dua bidang beroperasi tegak lurus satu sama lain. Energi gelombang mikro adalah *non-ionizing* radiasi dengan rentang frekuensi antara 300 dan 300.000 MHz yang menyebabkan gerakan molekuler melalui dua mekanisme yaitu migrasi ion dan rotasi dipol.

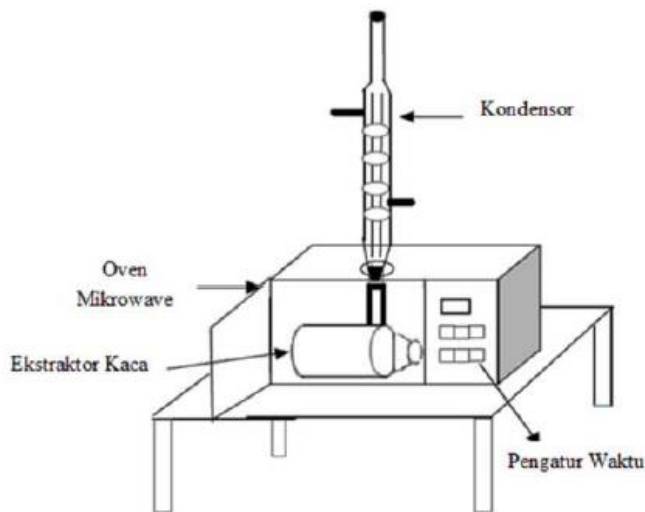
Medan magnet menghasilkan aksi langsung gelombang pada material, yang mampu menyerap sebagian energi elektromagnetik dan mengubahnya menjadi panas. Semua oven microwave, terlepas dari sumber atau penggunaan, beroperasi pada frekuensi tetap 2,45 GHz. Gelombang mikro memanaskan molekul dengan mekanisme ganda konduksi ionik dan rotasi dipol. Konduksi ionik dan rotasi dipol biasanya berlangsung secara bersamaan baik dalam pelarut maupun dalam sampel, yang secara efektif mengubah energi gelombang mikro menjadi energi termal. Konduksi ionik menghasilkan panas karena hambatan media terhadap aliran ion. (Llompart *et al.*, 2018).

Pada metode MAE ini menghasilkan rendemen yang tinggi dibandingkan dengan konvensional, terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi hasil rendemen pada ekstraksi menggunakan *microwave* diantaranya adalah jenis pelarut, rasio pelarut, jenis sampel, suhu, serta pemakaian energi (Maligan *et al.*,



2015). Selain itu, metode MAE termasuk metode ekstraksi ramah lingkungan (Bintari *et al.*, 2018).

Waktu ekstraksi berkurang secara signifikan karena saat menerapkan MAE dengan gelombang mikro campuran sampel atau pelarut langsung dipanaskan, sedangkan dengan teknik ekstraksi konvensional, diperlukan periode terbatas untuk memanaskan bejana sebelum panas ditransfer ke larutan. Meskipun teknik ekstraksi Soxhlet dan pelarut tradisional masih diterima secara luas, teknik ini memiliki keterbatasan dan masalah. Misalnya, ekstraksi Soxhlet membutuhkan 12-24 jam dalam banyak kasus dan menggunakan pelarut organik volume tinggi. Berbeda dengan metode konvensional, MAE dapat mengurangi waktu ekstraksi menjadi kurang dari 20 menit dan konsumsi pelarut di bawah 20 mL. MAE memungkinkan kemungkinan memproses beberapa sampel secara bersamaan (hingga 12, 24, atau bahkan 40 secara bersamaan) dan meningkatkan throughput sampel secara drastis. Selain itu, pemulihan yang diperoleh MAE sebagian besar sebanding atau lebih tinggi dari yang disediakan oleh metode alternatif. Oleh karena itu, MAE sebagian besar memenuhi kriteria minimum yang disyaratkan ekstraksi modern, dan memberikan alternatif yang sangat menarik untuk pendekatan konvensional (Llompert *et al.*, 2018).



Gambar 14. Skema alat ekstraksi dengan metode MAE (Barqi., 2015)

Pengekstraksian lipid dengan menggunakan MAE dilakukan berdasarkan penelitian Barqi (2015), menggunakan sampel mikroalga *Chlorella* sp., diawali dengan preparasi. Preparasi dilakukan dengan memasukkan mikroalga *Chlorella* sp. sebanyak 50 g dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquadest sebanyak 200 mL.

Kemudian dihomogenasi dengan *shaker* selama 1 jam dengan kecepatan 30 rpm.

Setelah preparasi, *Chlorella* sp. dimasukkan dalam *microwave* kemudian dipanaskan dengan variabel daya antara 300 watt – 450 watt dengan variasi waktu antara 10 dan 20 menit. Setelah itu *Chlorella* sp. disaring dengan pompa vakum

dan corong Buchner. Filtrat hasil penyaringan dimasukkan ke dalam corong yang terpisah dan ditambahkan dengan pelarut heksan dengan perbandingan pelarut

dan filtrat 1:2. Kemudian campuran didekantasi selama 24 jam. Campuran hasil

filtrat dan heksan terpisah menjadi 2 bagian. Bagian atas merupakan heksan yang kemudian diambil. Heksan yang diambil mengandung lipid kemudian di-*recovery*

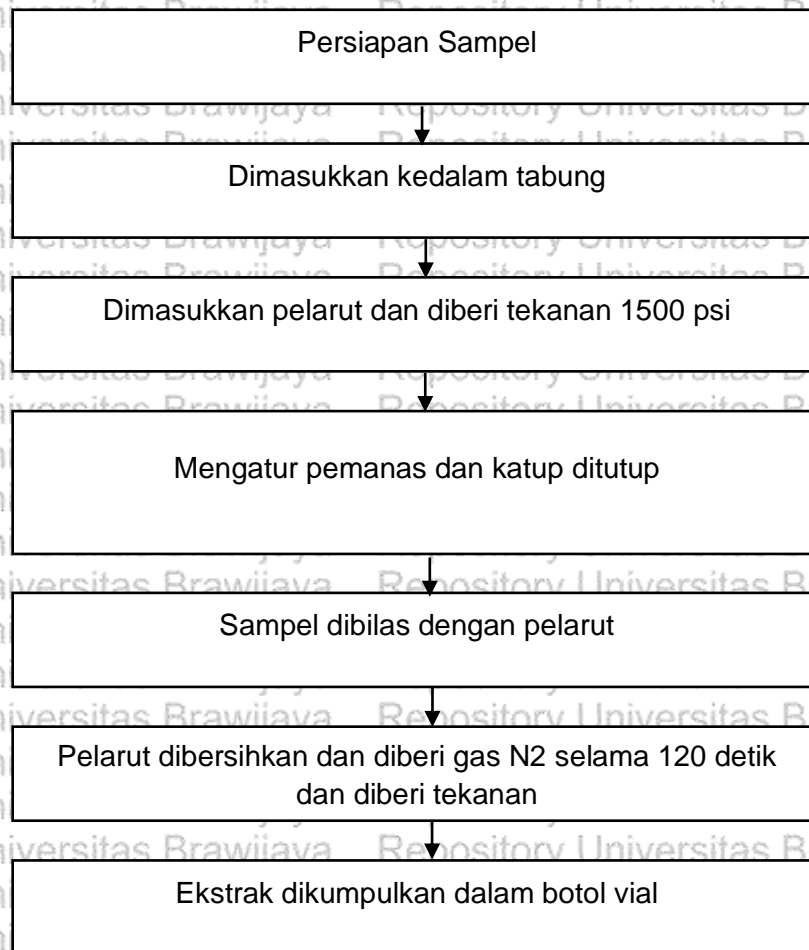
dengan suhu 70°C hingga pelarut tidak menetes. Kemudian dilakukan pengujian

dengan GCMS. Gambar rangkaian proses ekstraksi secara MAE berdasarkan

penelitian Barqi (2015), dapat dilihat pada Gambar 14. Proses ekstraksi secara *microwave* ini menggunakan gelombang mikro yang akan diserap oleh mikroalga.

Sehingga terjadi akumulasi energi yang menyebabkan peningkatan suhu dan membuat dinding sel pada mikroalga mengalami kerusakan (Dai *et al.*, 2014).

Skema kerja pengestraksian menggunakan Metode MAE dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Skema kerja ekstraksi MAE (*Microwave Assisted Extraction*)

Tabel 19. Perbandingan beberapa metode ekstraksi mikroalga

| Metode Ekstraksi                    | Mikroalga              | Pelarut | Rendemen | Kelebihan   | Kekurangan  | Referensi  |
|-------------------------------------|------------------------|---------|----------|---|---|--|
| Soxhlet Extraction                  | <i>Chlorella sp</i>    | Metanol | 17,98%   | Waktu yang digunakan lebih efisien, Proses ekstraksi berjalan terus-menerus sesuai dengan keperluan tanpa menambah volume pelarut   | Larutan dipanaskan terus-menerus sehingga kurang sesuai untuk zat aktif yang tidak tahan panas. Teknik dibatasi selektivitas pelarut dan tidak Otomatis | Azmir et al. (2013), Mirzayanti et al. (2020), Sheng et al. (2011) |
|                                     | <i>Synechocystis</i>   | Ethanol | 48%      |   |   |  |
| Pressurized Liquid Extraction (PLE) | <i>Nannochloropsis</i> | Metanol | 31,02%   | Memanfaatkan sedikit bahan kimia, memiliki waktu ekstraksi yang singkat dan terlindungi dari pengaruh oksigen dan cahaya, mengekstraksi sel tanaman sehingga komponen bioaktif dapat terlarut seluruhnya. | Menggunakan suhu yang sangat tinggi untuk ekstraksi, sehingga menghasilkan senyawa-senyawa yang tidak diinginkan  | Koo et al. (2011), Maleta et al. (2018), Purwanti, A. (2015).      |
|                                     | <i>sochrysis</i>       | Ethanol | 41.5%    |   |   |  |

|                                      |                     |          |        |  |  |   |
|--------------------------------------|---------------------|----------|--------|--|--|---|
| Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) | Tetraselmis chunii  | Ethanol  | 30.97% | Dapat meningkatkan hasil ekstraksi, waktu ekstraksi yang singkat, menggunakan suhu rendah, dan volume pelarut yang sedikit | metode ini adalah membutuhkan energi dan biaya yang besar. Rendemen yang dihasilkan  | Maleta et al. (2018), Sholihah et al. (2017) Sani et al. (2014), Wati dan Motto (2011)                                  |
| Microwave-assisted extraction        | Spirulina sp.       | n-hexane | 1,11%  | waktu ekstraksi dan kebutuhan pelarut yang relatif rendah  | pemanasan yang tidak merata, terlalu panas pada ekstrak karena perbedaan sifat dielektrik pelarut dan bahan tanaman yang dapat mengurangi efisiensi ekstraksi atau menyebabkan degradasi termal asam fenolat, dan akhirnya persyaratan untuk langkah filtrasi untuk memisahkan residu dari ekstrak cair. | Al Jitan et al. (2018), Setiawan, A., & Handayani, D. (2017). Djamaludin dan Chamidah (2021), Iqbal dan Theegala (2013) |
|                                      | Nannochloropsis sp. | Ethanol  | 45%    |  |  |   |



Berdasarkan semua metode ekstraksi diatas mikroalga jenis *Chlorella* sp. yang menggunakan metode UAE memberikan hasil rendemen yang tertinggi sebesar 75.35% dengan menggunakan pelarut n-hexane. Metode UAE memberikan hasil rendemen yang terbaik sehingga cocok digunakan sebagai metode pengekstraksian lipid mikroalga. Hasil rendemen tinggi pada metode UAE dikarenakan kerusakan pada rendemen yang ditimbulkan oleh UAE sangat rendah karena menghindari penggunaan energi panas berlebih, kecilnya kerusakan ini akan mempertahankan struktur dan molekul serta senyawa yang diekstrak (Tian et al., 2013).



### 3.6 Kandungan Nutrisi

Mikroalga dianggap sebagai sumber makanan baru yang potensial, salah satu faktor krusial yang menjadi alasan adalah komposisi dan kandungan nutrisinya. Komposisi nutrisi mikroalga sangat bervariasi dan bahkan dalam spesies yang sama kandungan nutrisi dapat berbeda secara signifikan pada lingkungan pertumbuhan, baik komposisi media maupun suhu. Komponen nutrisi penting untuk Pertimbangan kandungan protein dan lipid, serta kandungan vitamin dan mineral, yang semuanya diketahui berdampak positif bagi kesehatan manusia (Torres-Tiji *et al.*, 2020).

Mikroalga adalah harta karun dalam hal nutrisi, menyediakan hampir semua nutrisi yang dibutuhkan untuk ikan, hewan, dan juga manusia dalam jumlah yang signifikan. Setiap spesies mikroalga memiliki profil nutrisi masing-masing dan mikroalga dapat memenuhi segala jenis kebutuhan nutrisi. Komposisi nutrisi di beberapa strain mikroalga terpilih yang sangat penting dalam pengembangan makanan dan pakan. Namun, kandungan nutrisi dari masing-masing spesies mikroalga dapat berbeda dari literatur karena suhu, kualitas dan intensitas cahaya, fotoperiode, fase pertumbuhan dan metode panen. Nilai gizi spesies alga untuk organisme tertentu bergantung pada ukuran sel, daya cerna, produksi senyawa toksik, dan komposisi biokimia. Meskipun terdapat perbedaan mencolok dalam komposisi kelas dan spesies mikroalga, protein selalu merupakan penyusun organik utama, biasanya diikuti oleh lipid dan kemudian oleh karbohidrat. Dinyatakan sebagai persentase berat kering, kisaran kadar protein, lemak, dan karbohidrat masing-masing adalah 12-35%, 7,2-23%, dan 4,6-23%. (Dineshabu *et al.*, 2019).





Tabel 20. Kandungan Proksimat Mikroalga

| Sumber Pangan                  | Kandungan Protein<br>(% of dry matter) | Kandungan Lipid<br>(% of dry matter) | Kandungan karbohidrat<br>(% of dry matter) | Referensi                     |
|--------------------------------|--|--------------------------------------|--|-------------------------------|
| Telur                          | 47                                     | 4                                    | 41   | Rafay <i>et al.</i> (2020)    |
| Ayam                           | 12,1                                   | 11,1                                 | 1,2  | Soriano-Santos, J. (2010).    |
| Kedelai                        | 46,97                                  | 0,20                                 | 40-55                                      | Kumar <i>et al.</i> (2018)    |
| <i>Chlorella vulgaris</i>      | 51-58                                  | 14-22                                | 12-17                                      | Koyande <i>et al.</i> (2019)  |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i>   | 57                                     | 2                                    | 26   | Milledge <i>et al.</i> (2011) |
| <i>Dunaliella salina</i>       | 57                                     | 6                                    | 32   | Milledge <i>et al.</i> (2011) |
| <i>Haematococcus pluvialis</i> | 48                                     | 15                                   | 27   | Bleakley dan Hayes (2017)     |
| <i>Isochrysis galbana</i>      | 50-56                                  | 12-14                                | 10-17                                      | Milledge <i>et al.</i> (2011) |
| <i>Porphyridium cruentum</i>   | 28-39                                  | 9-14                                 | 40-57                                      | Chronakis dan Madsen (2011)   |
| <i>Scenedesmus obliquus</i>    | 50-56                                  | 12-14                                | 10-17                                      | Christaki (2011)              |
| <i>Spirulina maxima</i>        | 60-71                                  | 6-7                                  | 13-16                                      | Milledge <i>et al.</i> (2011) |
| <i>Spirulina platensis</i>     | 46-63                                  | 4-9                                  | 8-14                                       | Milledge <i>et al.</i> (2011) |
| <i>Tetraselmis chuii</i>       | 35-40                                  | 5-8                                  | 30-32                                      | Pereira <i>et al.</i> (2019)  |



### 3.6.1 Protein

Protein adalah makromolekul polipeptida yang tersusun dari sejumlah L-asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Protein dalam makanan nabati terlindung oleh dinding sel yang terdiri atas selulosa sehingga daya cerna sumber protein nabati pada umumnya lebih rendah dibandingkan dengan sumber protein hewani (Probosari, 2019). manusia yang berolahraga dengan aktivitas intensitas sedang, membutuhkan 1,3–1,7 g protein per kg berat badan per hari untuk memperbaiki dan menambah jaringan otot ke tubuh (Koyande *et al.*, 2019). Protein dibuat dari rantai panjang asam amino esensial dan non-esensial, dihubungkan oleh ikatan peptida (Wu., 2016).

Pada Tabel diatas kandungan protein mikroalga tertinggi dibandingkan sumber pangan lain seperti daging sapi, ayam, kacang, telur dan jagung. Terdapat pada mikroalga spesies *Spirulina maxima* yaitu sebesar 60-71% (Milledge *et al.*, 2011) dan terendah pada sumber pangan dari kacang yaitu sebesar 26% (Koyande *et al.*, 2019). Hal tersebut menunjukkan potensi ekstraksi protein dari mikroalga yang sangat tinggi. Mikroalga diidentifikasi sebagai sumber protein tinggi alternatif yang dapat memenuhi kebutuhan penduduk yang kekurangan gizi (Christaki *et al.*, 2011).

Nitrogen (N) merupakan unsur esensial yang berperan penting dalam pembentukan protein struktural dan fungsional seperti peptida, enzim, klorofil, transfer energi dan materi genetik pada sel. Nitrogen merupakan komponen utama untuk pembentukan protein dan perbanyakan sel. Mikroalga mampu melakukan proses fotosintesis dan menghasilkan energi yang dapat dibentuk menjadi protein. (Fakhri *et al.*, 2020).

Protein dapat mengatur proses-proses metabolisme dalam bentuk enzim dan hormon serta sebagai mekanisme pertahanan tubuh melawan berbagai mikroba dan zat toksik lain yang datang dari luar yang menyebabkan penyakit,

serta mampu memelihara sel dan jaringan tubuh. Protein terdiri atas rantai-rantai panjang asam amino yang terikat satu sama lain dalam ikatan peptida. Ada 20 jenis asam amino yang menyusun protein diantaranya asam amino esensial dan asam amino non esensial (Amrang *et al.*, 2020).

### 3.6.2 Asam Amino

Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein yang memiliki fungsi metabolisme dalam tubuh dan dibagi dua kelompok yaitu asam amino esensial dan non-esensial. Asam amino esensial merupakan asam amino yang tidak dapat dibuat oleh tubuh dan harus diperoleh dari makanan sumber protein.

Asam amino non esensial adalah asam amino yang dapat dibuat oleh tubuh manusia. Mutu protein dinilai dari perbandingan asam-asam amino yang terkandung dalam protein tersebut (Sari *et al.*, 2017).

Sumber umum dari Asam amino esensial ini adalah telur, daging unggas, daging merah, susu, kedelai, dan ikan. Makanan tersebut memiliki profil Asam amino esensial yang lengkap. Namun, untuk populasi yang mengikuti pola makan vegetarian dan vegan, terdapat sangat sedikit pilihan karena sebagian besar protein turunan nabati tidak memiliki profil Asam amino esensial yang lengkap.

Mikroalga di sisi lain adalah sumber Asam amino esensial yang sangat baik. Spesies *Chlorella* dan *Spirulina* dilaporkan mengandung sekitar 70% protein (Bleakley dan Hayes, 2017). Berdasarkan rekomendasi WHO / FAO / UNU, mikroalga seperti *Chlorella* sp. dan *Spirulina* sp. mengandung Asam amino esensial seimbang yang dibutuhkan untuk konsumsi manusia (Chronakis dan Madsen, 2011).



Mikroalga tidak hanya memiliki kandungan protein yang tinggi, tetapi komposisi proteinnya jauh lebih kaya asam amino esensial dibandingkan dengan protein nabati pada umumnya (Matsuda et al., 2011). Secara umum, kualitas sumber protein nabati lebih rendah dari protein hewani. Salah satu faktor utama yang menentukan kualitas adalah apakah suatu sumber protein mengandung semua asam amino esensial yang memadai secara jumlah, atau bisa disebut protein lengkap. Tanaman dari kelompok tertentu kekurangan beberapa asam amino esensial, seperti jagung kekurangan triptofan dan lisin, gandum kekurangan lisin dan kacang-kacangan kekurangan metionin. Berikut tabel perbandingan asam amino mikroalga dengan sumber pangan lain.



Tabel 21. Kandungan Asam Amino dari mikroalga dan sumber pangan lain

| Referensi                   | Koyande et al. (2019)          | Koyande et al. (2019) | Koyande et al. (2019) | Koyande et al. (2019).    | Cheng et al. (2020).         |
|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------|------------------------------|
| Sumber Pangan               | Telur                          | Ayam                  | Kedelai               | <i>Chlorella Vulgaris</i> | <i>Chlorella pyrenoidosa</i> |
|                             | <b>ASAM AMINO ESENSIAL</b>     |                       |                       |                           |                              |
| <b>Histidin</b>             | 2,4                            | 4,5                   | 2,6                   | 2,0                       | 0,82                         |
| <b>Isoleusin</b>            | 6,6                            | 3,24                  | 5,3                   | 3,8                       | 1,64                         |
| <b>Leusin</b>               | 8,8                            | 6,4                   | 7,7                   | 8,8                       | 3,33                         |
| <b>Lisin</b>                | 5,3                            | 7,9                   | 6,4                   | 8,4                       | 4,91                         |
| <b>Metionin</b>             | 3,2                            | 2,5                   | 1,3                   | 2,2                       | 1,14                         |
| <b>Fenilalanin</b>          | 5,8                            | 3,2                   | 5,0                   | 5,0                       | 1,16                         |
| <b>Threonin</b>             | 5,0                            | 3,7                   | 4,0                   | 4,8                       | 1,75                         |
| <b>Asam Amino Triptofan</b> | 1,7                            | -                     | 1,4                   | 2,1                       | -                            |
| <b>Valin</b>                | 7,2                            | 3,46                  | 5,3                   | 5,5                       | 3,21                         |
|                             | <b>ASAM AMINO NON-ESENSIAL</b> |                       |                       |                           |                              |
| <b>Tirosin</b>              | 4,2                            | 3,65                  | 3,7                   | 3,4                       | 1,65                         |
| <b>Alanin</b>               | -                              | 4,7                   | 5,0                   | 7,9                       | 3,63                         |
| <b>Arginin</b>              | 6,2                            | 5,8                   | 1,3                   | 6,4                       | 3,21                         |
| <b>Asparagin</b>            | 11,0                           | 7,8                   | 19,0                  | 9,0                       | 2,58                         |
| <b>Glutamin</b>             | 12,6                           | 19,0                  | 4,5                   | 11,8                      | 6,33                         |
| <b>Glisin</b>               | 4,2                            | 3,4                   | 4,5                   | 5,8                       | 3,19                         |
| <b>Prolin</b>               | 4,2                            | 3,2                   | 5,3                   | 4,8                       | 3,60                         |
| <b>Serin</b>                | 6,9                            | 3,4                   | 5,8                   | 4,1                       | 4,52                         |
| <b>Sistein</b>              | 2,3                            | 1,1                   | 1,9                   | 1,4                       | 0,54                         |

| Referensi                         | Koyande et al. (2019).    | Pereira et al. (2019)    | Harvey dan Ben-Amotz (2020) | Zhu et al. (2021).              | Chronakis dan Madsen (2011) |
|-----------------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| Sumber Pangan                     | <i>Isochrysis galbana</i> | <i>Tetraselmis chuii</i> | <i>Dunaliella salina</i>    | <i>Haematococcus pluviialis</i> | <i>Scenedesmus obliquus</i> |
| <b>ASAM AMINO ESENSIAL</b>        |                           |                          |                             |                                 |                             |
| Histidin                          | 1,8                       | 0,04                     | 2,6                         | 0,31                            | 2,1                         |
| Isoleusin                         | 6,0                       | 1,12                     | 5,7                         | 4,32                            | 3,6                         |
| Leusin                            | 8,0                       | 2,28                     | 7,3                         | 3,64                            | 7,3                         |
| Lisin                             | 4,6                       | 1,70                     | 2,1                         | 2,68                            | 5,6                         |
| Metionin                          | 1,4                       | 0,61                     | 2,1                         | 0,65                            | 1,5                         |
| Fenilalanin                       | 4,9                       | 1,44                     | 11,5                        | 1,4                             | 4,8                         |
| Threonin                          | 4,6                       | 1,27                     | 7,3                         | 5,47                            | 5,1                         |
| Asam Amino (g/100g of dry matter) | Triptofan                 | 1,4                      | 0,37                        | 2,6                             | 0,3                         |
|                                   | Valin                     | 6,5                      | 1,55                        | 6,3                             | 2,45                        |
| <b>ASAM AMINO NON-ESENSIAL</b>    |                           |                          |                             |                                 |                             |
|                                   | Tirosin                   | 3,9                      | 0,85                        | 1,0                             | 2,22                        |
|                                   | Alanin                    | 6,8                      | 2,04                        | 7,3                             | 5,6                         |
|                                   | Arginin                   | 6,5                      | 1,70                        | 2,6                             | 10,26                       |
|                                   | Asparagin                 | 8,6                      | 2,89                        | 18,2                            | -                           |
|                                   | Glutamin                  | 12,6                     | 3,64                        | 10,4                            | 10,41                       |
|                                   | Glisin                    | 4,8                      | 1,58                        | 9,4                             | 6,61                        |
|                                   | Prolin                    | 3,9                      | 1,26                        | 1,0                             | 1,24                        |
|                                   | Serin                     | 4,2                      | 1,19                        | 0,5                             | 3,34                        |
|                                   | Sistein                   | 0,4                      | -                           | 2,1                             | 0,25                        |

**Referensi**Safi *et al.*,  
(2013)Milledge *et al.*  
(2011)Milledge *et al.*  
(2011)**Sumber Pangan***Porphyridium  
cruentum**Spirulina maxima**Spirulina Platensis*

## ASAM AMINO ESENSIAL

|  |      |      |      |
|--|------|------|------|
| <b>Histidin</b>                                  | 1,11 | 2,0  | 2,2  |
| <b>Isoleusin</b>                                 | 5,25 | 5,8  | 6,7  |
| <b>Leusin</b>                                    | 5,83 | 9,0  | 9,8  |
| <b>Lisin</b>                                     | 5,50 | 5,1  | 4,8  |
| <b>Metionin</b>                                  | 2,78 | 2,9  | 2,5  |
| <b>Fenilalanin</b>                               | 5    | 4,8  | 5,3  |
| <b>Threonin</b>                                  | 6,25 | 5,1  | 6,2  |
| <b>Asam Amino<br/>(g/100g of dry<br/>matter)</b> |      |      |      |
| <b>Triptofan</b>                                 | 1,39 |      | 0,3  |
| <b>Valin</b>                                     | 2,50 | 6,4  | 7,1  |
| ASAM AMINO NON-ESENSIAL                          |      |      |      |
| <b>Tirosin</b>                                   | 4,43 | 4,8  | 5,3  |
| <b>Alanin</b>                                    | 6,67 | 7,4  | 9,5  |
| <b>Arginin</b>                                   | 7,78 | 7,4  | 9,5  |
| <b>Asparagin</b>                                 | -    | 7,6  | 7,3  |
| <b>Glutamin</b>                                  | 8,17 | 16,1 | 10,3 |
| <b>Glisin</b>                                    | 6,86 | 4,6  | 5,7  |
| <b>Prolin</b>                                    | 2,53 | 3,3  | 4,2  |
| <b>Serin</b>                                     | 8,11 | 4,8  | 5,1  |
| <b>Sistein</b>                                   | 0,33 | 0,3  | 0,9  |



Berdasarkan Hasil tabel diatas rata-rata nilai asam amino dari mikroalga lebih tinggi disbanding daging sapi, ayam, telur dan kedelai. Kandungan asam amino esensial didapatkan nilai tertinggi untuk histidin pada *Dunaliella salina* yaitu sebesar 2,6 g/100g of dry matter. (Harvey dan Ben-Amotz, 2020). Nilai tertinggi untuk Isoleusin pada *Spirulina Platensis* yaitu sebesar 6,7 g/100g of dry matter (Milledge et al., 2011). Nilai tertinggi untuk Leusin pada *Spirulina Platensis* yaitu sebesar 11,0 g/100g of dry matter (Milledge et al., (2011). Nilai tertinggi untuk Lisin pada *Chlorella Vulgaris* yaitu sebesar 8,9 g/100g of dry matter (Koyande et al., 2019). Nilai tertinggi untuk Metionin pada *Spirulina maxima* yaitu sebesar 2,9 g/100g of dry matter (Milledge et al., 2011). Nilai tertinggi untuk Fenilalanin pada *Dunaliella salina* yaitu sebesar 11,5 g/100g of dry matter Harvey dan Ben-Amotz, 2020). Nilai tertinggi untuk Threonin pada *Dunaliella salina* yaitu sebesar 7,3 g/100g of dry matter (Harvey dan Ben-Amotz, 2020). Nilai tertinggi untuk Triptofan pada *Dunaliella salina* yaitu sebesar 2,6 g/100g of dry matter (Harvey dan Ben-Amotz, 2020). Nilai tertinggi untuk Valin pada *Spirulina Platensis* yaitu sebesar 7,1 g/100g of dry matter (Milledge et al., 2011).

### 3.6.2. Lipid

Lipid atau lemak merupakan senyawa organik yang banyak ditemukan dalam sel jaringan, tidak larut dalam air, larut dalam zat pelarut non polar seperti (eter, kloroform, dan benzena). Fungsi lipid selain komponen membran juga sebagai sumber energi dan cadangan energi (Mamuaja, 2017). Lipid adalah unsur pangan yang penting tidak hanya karena nilai energinya yang tinggi tetapi juga karena vitamin yang larut dalam bentuk lemak esensial yang dikandung dalam lemak makanan alam (Siregar dan Makmur, 2020).

Lipid adalah senyawa makro molekul penyusun sel yang tersusun dari atom-atom hidrogen, karbon dan oksigen. Di dalam sel mikroalga, komposisi atom hidrogen lebih banyak dibandingkan atom karbon dan oksigen. Produksi lipid pada





mikroalgae sangatlah beragam tidak hanya berdasarkan strain namun juga karena kondisi lingkungan (Endrawati *et al.*, 2012). Beberapa alga dapat mengakumulasi lipid hingga sangat tinggi, misalnya *Chlorella* dapat menumpuk hingga 70% (berat kering) sebagai lipid (Torres-Tiji *et al.*, 2020). Pada tabel 19 kandungan lipid pada mikroalga mayoritas cukup tinggi dibandingkan bahan pangan lain seperti telur, ayam dan kedelai. Dan juga mikroalga *Porphyridium cruentum* memiliki kandungan lipid paling tinggi dibanding mikroalga lain (Chronakis dan Madsen, 2011).

### 3.6.2. Asam Lemak

Lemak dan minyak adalah suatu trigliserida atau triasilgliserol. Perbedaan antara suatu lemak dan minyak adalah lemak berbentuk padat dan minyak berbentuk cair pada suhu kamar. Lemak tersusun oleh asam lemak jenuh sedangkan minyak tersusun oleh asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh ganda atau polyunsaturated fatty acid yang disingkat PUFA, diantaranya DHA, ARA dan EPA dapat membantu proses tumbuh-kembangnya otak (kecerdasan), perkembangan indra penglihatan, dan sistem kekebalan tubuh bayi balita (Panagan *et al.*, 2013).

Mikroalga mengandung asam lemak tak jenuh omega-3 EPA (eicosapentaenoic acid) dan DHA (docosahexaenoic acid) (Ramdanawati *et al.*, 2018). Asam lemak esensial yang terdapat pada mikroalga adalah C18 linoleat dan turunan dari C20 seperti asam eikosapentanoat dan asam arachidoneat. Jenis-jenis asam lemak yang termasuk dalam komponen esensial dapat dimanfaatkan untuk membantu menurunkan berat badan pada manusia, disamping itu bisa juga dijadikan sebagai bahan aditif untuk pakan pertanian. Kandungan lipid dalam mikroalga biasanya dalam bentuk gliserol dan asam lemak dengan panjang rantai C14 sampai C22, dapat ditemukan dalam bentuk jenuh dan

tidak jenuh (Kurnia, 2018). Mikroalga tertentu seperti *Phaeodactylum tricornutum* dapat menumpuk hingga 30% hingga 40% dari total asam lemak yang diproduksi sebagai EPA, dan spesies lain seperti *Schizochytrium sp.* dapat mengakumulasi sekitar 50% dari total lipid sel sebagai DHA. Oleh karena itu, alga dapat menjadi obat yang efektif pengganti suplemen minyak ikan, menyediakan asam lemak bagi kebutuhan manusia (Katiyar dan Arora, 2020).

Tabel 22 Komposisi PUFA (Polyunsaturated fatty acids) dari mikroalga

| Sumber Pangan                  | PUFAs (% berat total asam lemak) |         |       |       | Referensi  |
|--------------------------------|----------------------------------|---------|-------|-------|--|
|                                | AA                               | ALA     | EPA   | DHA   |  |
| <i>Chlorella Vulgaris</i>      | -                                | 27      | 35.1  | 26,6  | Li <i>et al.</i> (2013), Freitas (2017), Sivaramakrishnan dan Incharoensakdi (2020). |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i>   | 0-15.37                          | 7.6     | -     | -     | Ambrozova <i>et al.</i> (2014), Ördög <i>et al.</i> (2013)                           |
| <i>Dunaliella salina</i>       | -                                | 17.65   | 19.85 | 60.31 | Chitranjali <i>et al.</i> (2014), Harvey dan Ben-Amotz (2020).                       |
| <i>Haematococcus pluvialis</i> | 0.9                              | 39.7    | 0.6   | -     | Kim <i>et al.</i> (2015)   |
| <i>Isochrysis galbana</i>      | -                                | 1.20    | -     | 3.92  | Ohse <i>et al.</i> (2015)  |
| <i>Scenedesmus obliquus</i>    | -                                | 28.2    | 4.85  | -     | Salama <i>et al.</i> (2013)  |
| <i>Porphyridium cruentum</i>   | 35.59                            | 13.72   | 14.04 | -     | Hu <i>et al.</i> (2018)  |
| <i>Spirulina Platensis</i>     | 12,7-17.5                        | 0-21,29 | -     | -     | Ambrozova <i>et al.</i> (2014),  |
| <i>Spirulina maxima</i>        | 3                                | 3       | 10-15 | 8-15  | Muga dan Chao, (2014)  |
| <i>Tetraselmis chuii</i>       | -                                | -       | -     | -     | Ohse <i>et al.</i> (2015)  |

Saat ini, Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), Food and Drug Administration (FDA) dan organisasi nutrisi lainnya telah merekomendasikan sekitar 0,2 hingga 0,3 g per hari tingkat asupan DHA dan EPA dan 1,4 g ALA / hari untuk individu yang sehat. Konsumsi ini tingkat lebih tinggi (hingga 1,0 hingga 4,0 g per hari) untuk orang yang menderita penyakit jantung koroner (Casal *et al.*, 2011).



EPA dan DHA memiliki efek positif pada kesehatan. Baru saja, EPA terbukti dapat mencegah penyakit jantung koroner, dan menurunkannya kolesterol darah.

DHA juga memiliki peran penting dalam perkembangan sistem saraf pusat bayi.

EPA banyak ditemukan di *Porphyridium cruentum*, dan *Monodus subterraneus*,

sedangkan sumber DHA terbaik berasal dari mikroalga dengan genus

*Schyzochytrium*. Saat ini, beberapa instansi pemerintah dan gizi organisasi

merekomendasikan tingkat asupan DHA harian dan EPA mulai dari 0,2-0,3 g / hari

untuk populasi umum dan 4,0 g / hari untuk penderita penyakit jantung koroner

(Abyor *et al.*, 2011).

### 3.6.3. Karbohidrat

Karbohidrat merupakan salah satu zat gizi yang diperlukan oleh manusia

yang berfungsi untuk menghasilkan energi bagi tubuh manusia. Karbohidrat

sebagai zat gizi merupakan nama kelompok zat-zat organik yang mempunyai

struktur molekul yang berbeda-beda, meski terdapat persamaan-persamaan dari

sudut kimia dan fungsinya. Semua karbohidrat terdiri atas unsur Carbon (C),

hidrogen (H), dan oksigen (O). Karbohidrat yang penting dalam ilmu gizi dibagi

menjadi dua golongan yaitu karbohidrat sederhana dan karbohidrat kompleks.

Karbohidrat sederhana terdiri atas monosakarida yang merupakan molekul dasar

dari karbohidrat, disakarida yang terbentuk dari dua monosa yang dapat saling

terikat, dan oligosakarida yaitu gula rantai pendek yang dibentuk oleh galaktosa,

glukosa dan fruktosa. Karbohidrat kompleks terdiri atas polisakarida yang terdiri

atas lebih dari dua ikatan monosakarida dan serat yang dinamakan juga

polisakarida nonpati (Siregar, 2014).

Mikroalga juga merupakan sumber karbohidrat yang bagus. Mereka hadir

di sitosol dan di dalam kloroplas mikroalga berupa selulosa, gula, pati, dan

polisakarida lainnya (Markou *et al.*, 2012). Karbohidrat memiliki beberapa fungsi

mikroalga, yang merupakan cadangan penyimpan energi dan sebagai komponen



struktural di dinding sel. Dengan efisiensi fotokonversi yang tinggi, mikroalga dapat terakumulasi kandungan karbohidrat tinggi hingga 50 wt / wt% berat kering.

Beberapa spesies alga memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi. Namun demikian, metabolisme dan komposisi karbohidrat di dalamnya alga bervariasi dari spesies ke spesies (Rismani-Yazdi et al., 2011). Oleh karena itu, perlu dilakukan pemilihan jenis alga yang memiliki kandungan karbohidrat tinggi produktivitas dan komposisi gula yang tepat untuk konsumsi manusia.

Produktivitas dan kandungan karbohidrat dalam alga dapat dimanipulasi melalui sistem budidaya dan parameter lingkungan, yaitu ketersediaan cahaya, garam, suhu, nutrisi, dan sebagainya (Markou et al., 2012). Selain itu, jenis sumber karbon dan proses metabolisme parameter utama yang mempengaruhi komposisi gula dalam mikroalga (Buono et al., 2014). Sebagai sumber energi utama proses fotosintesis, kecukupan ketersediaan cahaya selama budidaya alga sangat mempengaruhi pertumbuhan alga dan biomassa komposisi (Markou et al., 2012). Strategi seperti pembatasan nutrisi dapat dimanfaatkan untuk memanipulasi jalur metabolisme mikroalga dan mempromosikan akumulasi karbohidrat (Dragone et al., 2011).

Karbohidrat adalah kategori luas yang meliputi gula (monosakarida) dan polimernya (disakarida, oligosakarida, dan polisakarida). Kandungan Karbohidrat bergantung pada spesies. *cyanobacteria* mensintesis glikogen, alga merah mensintesis pati floridean (hibrida pati dan glikogen) dan alga hijau mensintesis polisakarida mirip amilopektin (pati). Karbohidrat yang paling melimpah adalah glukosa, rhamnosa, xylose, dan mannosa (Markou et al., 2012).

Polisakarida merupakan kelompok senyawa biokimia yang terkait dengan beberapa sifat fungsional penting dalam kesehatan manusia, seperti antikoagulan, antitrombotik, kemampuan imunomodulator, antitumor dan efek pencegahan kanker, antilipidemia dan potensi hipoglikemik, antibiotik dan antiinflamasi. dan



antioksidan, menjadikannya molekul bioaktif dan biomaterial yang menjanjikan dengan beberapa aplikasi berharga dalam farmasi, formulasi makanan, dan obat-obatan. Polisakarida yang dihasilkan oleh mikroalga umumnya heteropolimer terstruktur sebagai campuran xilosa, galaktosa, dan glukosa dalam proporsi yang berbeda (Pina-Pérez *et al.*, 2019).

### 3.7 Senyawa Bioaktif Mikroalga

Mikroalga adalah sekelompok organisme fotosintetik mikroskopis yang mampu mengubah matahari energi menjadi biomassa, yang telah berevolusi dari waktu ke waktu untuk berkembang paling keras di bumi lingkungan dengan secara alami menghasilkan rangkaian senyawa dan nutrisi yang luar biasa. Mengingat fakta bahwa produksi Mikroalga dari senyawa target secara langsung terkait dengan kondisi eksternal yang diterapkan, MA merespons variasi lingkungan dengan perubahan lingkungan intraseluler mereka. Oleh karena itu manipulasi parameter budidaya, seperti ada atau tidaknya nutrisi tertentu, sistem kultur, suhu, intensitas cahaya, fotoperiode, dan fase pertumbuhan, merangsang biosintesis senyawa tertentu, seperti enzim dan beberapa antioksidan alami yang tinggi nilai komersial (Matos *et al.*, 2017).

Potensi besar mikroalga yang diaplikasikan sebagai ekstrak di daerah yang sangat beragam seperti nutrisi manusia, pakan dalam budidaya, pupuk hayati dan dalam pengobatan limbah serta dapat dimanfaatkan sebagai anti-inflamasi, anti alergi dan agen analgesic (Raposo *et al.*, 2013). Beberapa mikroalga baik *in vivo* atau *in vitro* serta dapat digunakan sebagai *nutraceutical*. Namun, masih banyak senyawa lain yang dihasilkan oleh mikroalga yang telah ditemukan atau mungkin memiliki manfaat di bidang Kesehatan. Misalnya sterol, pigmen, dan beberapa lainnya zat lain yang dapat diberikan saat mengonsumsi mikroalga secara keseluruhan.

Tabel 23. Senyawa bioaktif dari mikroalga dan potensi manfaatnya

| No.          | Senyawa bioaktif          | Studi Kasus  | Sumber                                  | Manfaat   | Referensi   |
|--------------|---------------------------|--|---|---|---|
| 1.           | Pigment                   | In Vivo  | <i>Scenedesmus sp.</i>                  | Anti bakteri, pewarna makanan, anti oksidan                     | Figueroa <i>et al.</i> (2013), Galasso <i>et al.</i> (2019) |
|              |                           |  | <i>Chlorella sp</i>                     |   |   |
|              | Karotenoid                | In Vivo  | <i>Spirulina</i>                        | Antioksidan, Imunomodulator                                     | Grover <i>et al.</i> (2021)                                 |
|              |                           |  | <i>Arthrospira platensis</i>            | Anticancer  | Braune <i>et al.</i> (2021)                                 |
|              |                           |  | <i>Dunaliella salina</i>                | Antiinflamasi, anticancer anticancer                            | Badr <i>et al.</i> (2014)                                   |
| β-Carotene   | In Vitro<br>In Vitro      | <i>Dunaliella salina</i>                                     | Antidiabetes                            | El-baz <i>et al.</i> (2016)<br>Ambati <i>et al.</i> (2014)      |   |
|              |                           | <i>Dunaliella salina</i>                                     | Antioksidan, Antidiabetes antiinflamasi |   |   |
| Astaxanthin  | Rats<br>In vitro, In Vivo | <i>Haematococcus pluvialis</i>                               | Antihipertensi, Antikanker              | Sanjeewa <i>et al.</i> (2013), Wang <i>et al.</i> (2020)        |   |
|              |                           | <i>Haematococcus pluvialis</i>                               |   |   |   |
| 2. Sterol    | In Vitro, In Vivo         | <i>Spirogyra sp.</i>   | Prekursor Metabolisme, Antioksidan      | Del Mondo <i>et al.</i> (2020), Samarakoon <i>et al.</i> (2013) |   |
|              |                           | <i>Nannochloropsis oculata</i>                               |   |   |   |
| 3. Vitamin   | In Vitro, In Vivo         | <i>Spirulina maxima</i>                                      | AntiHipertensi, Antikanker              | Fan <i>et al.</i> (2014)<br>Fan <i>et al.</i> (2014)            |   |
|              |                           | <i>Chlorella vulgaris</i>                                    |   |   |   |
| 4. Peptides  | In Vitro<br>In Vitro      | <i>Chlorella Vulgaris</i>                                    | Antioksidan                             | Abd El-Baky <i>et al.</i> (2009)<br>Simic <i>et al.</i> (2012)  |   |
|              |                           | <i>Nannochloropsis oculata,</i><br><i>Chlorella Vulgaris</i> |   |   |   |
| 5. Phenolics | In Vitro<br>In Vitro      | <i>Chlorella Vulgaris, Spirulina maxima</i>                  | Antioksidan                             | Abd El-Baky <i>et al.</i> (2009)<br>Simic <i>et al.</i> (2012)  |   |
|              |                           | <i>Spirulina maxima</i><br><i>Trentepohlia umbrina</i>       |   |   |   |



### 3.7.1 Pigmen

Setiap tumbuhan mengandung berbagai jenis pigmen diantaranya pigmen klorofil dan karotenoid. Pembentukan pigmen dalam tumbuhan dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, intensitas cahaya dan pH tanah (Hasidah & Rousdy, 2017).

#### a. Klorofil

Klorofil adalah senyawa penting dalam banyak produk sehari-hari. Ini digunakan tidak hanya sebagai aditif dalam produk farmasi dan kosmetik tetapi juga sebagai zat pewarna makanan alami. Selain itu, ia memiliki sifat antioksidan dan antimutagenik. Klorofil memiliki berbagai aplikasi. Dengan sifatnya yang selektif menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu yang menghasilkan warna hijau, berpotensi digunakan sebagai pewarna makanan. Klorofil dan turunannya juga digunakan secara luas dalam produk farmasi. Dalam terapi tumor atau kanker, klorofil atau turunan klorofil juga dapat dimanfaatkan sebagai agen fotodinamik (Galasso *et al.*, 2019).

Metode ekstraksi klorofil yang berbeda dan teknik pemurnian klorofil dievaluasi. Analisis awal kami menunjukkan ekstraksi cairan superkritis lebih unggul dari ekstraksi pelarut organik. Jika dibandingkan dengan teknik spektroskopi, kromatografi cair kinerja tinggi terbukti lebih akurat dan sensitif untuk analisis klorofil. Akhirnya, melalui penangkapan dan pengolahan air limbah, proses budidaya mikroalga terbukti memiliki potensi yang kuat untuk mitigasi dampak lingkungan (Figuroa *et al.*, 2013),

#### b. Karotenoid

Karotenoid adalah pigmen alami, terdiri dari delapan unit lima karbon, memiliki ikatan tunggal dan rangkap bergantian. Rantai karotenoid dapat diakhiri dengan gugus siklik (karoten, seperti  $\beta$ -karoten) atau mengandung kelompok fungsional oksigen (oxycarotenoids atau xanthophylls, seperti astaxanthin). Potensi



antioksidan karotenoid memiliki kemampuan mencegah kanker, penuaan, aterosklerosis, jantung koroner dan penyakit degeneratif. (Barkia et al., 2019).

Phycocyanin Mikroalga mengandung senyawa kimia yang mampu merangsang pembentukan sel darah merah dan darah putih yang berperan penting pada sistem kekebalan tubuh. Senyawa kimia tersebut diketahui berupa pigmen biru gelap, yakni phycocyanin. Dari hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa phycocyanin mempunyai fungsi penting dalam perawatan kanker. Phycocyanin mempunyai kandungan yang cukup signifikan sebagai antioksidan, melindungi fungsi hati, dan membuang senyawa radikal. Oleh karena itu phycocyanin sangat luas digunakan dalam bidang pewarnaan makanan dan kosmetik (Prayudi *et al.*, 2013).

Beta karoten adalah golongan dari karotenoid. Beta karoten merupakan pigmen organik berwarna kuning, oranye, atau merah oranye yang dapat terjadi secara alamiah dalam tumbuhan yang berfotosintesis, ganggang, beberapa jenis jamur dan bakteri. Beta karoten dapat larut dalam lemak, tidak larut dalam air, mudah rusak karena teroksidasi pada suhu tinggi. Beta karoten dapat dipercaya dapat menurunkan risiko penyakit jantung dan kanker (Hanani *et al.*, 2020).

### 3.7.2 Sterol

Sintesis sterol dapat berbeda setiap mikroalga, karena satu kelas ada yang menjadi ciri setiap filum. Selain itu, modifikasi lingkungannya juga bisa mengarah pada tanggapan dan komposisi sterol yang berbeda. Variasi lingkungan mempengaruhi produksi sterol mikroalga secara signifikan, seperti suhu dan nutrisi. Mikroalga dapat menghadirkan berbagai macam sterol, dari kolesterol hingga  $\beta$ -sitosterol, sebagai yang utama senyawa (Fagundes *et al.*, 2019). Oleh karena itu, modifikasi kondisi lingkungan juga bisa mengubah profil sterol. sterol dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antioksidan, *anticarcinogenic*, dan antiinflamasi (Volkman, 2016). Sterol diindikasikan sebagai senyawa dengan





bioaktivitas tinggi dan sudah ada beberapa efek pada manusia termasuk antiinflamasi, antioksidan, antikanker, bertindak dalam imunomodulasi untuk mengurangi efek penyakit neurologis seperti Parkinson, Alzheimer, antihiperkolesterolemia, dan antidiabetik (Fagundes *et al.*, 2020). Menurut de Jesus Raposo *et al.* (2013), Mikroalga *I. galbana* dan *P. lutheri* mengandung sterol seperti brassicasterol, campesterol, stigmasterol dan sitosterol. sterol dari mikroalga laut mungkin memiliki beberapa manfaat kesehatan manusia, sebagai sifat hipokolesterolemik dari fitosterol.

Ada sterol dan prekursor sterol lain dengan nilai komersial yang saat ini tidak bersumber dari tumbuhan tingkat tinggi. Misalnya, ergosterol, sterol utama dalam jamur dan merupakan prekursor Vitamin D2 yang kemudian dapat diubah menjadi vitamin D dan digunakan sebagai suplemen makanan. Ergosterol juga menunjukkan sifat penurunan kolesterol. Squalene prekursor dari semua sterol, sangat penting secara komersial karena menunjukkan sifat antioksidan dan dikenal untuk meningkatkan hidrasi kulit, yang menghasilkan penggabungannya ke dalam berbagai kosmetik dan produk perawatan kulit. Squalene terhidrogenasi juga digunakan untuk berbagai vaksin dan emulsi pengiriman obat (Randhir *et al.*, 2020). Squalene adalah triterpen alami dan perantara penting biosintesis sterol dan hopanoid dalam berbagai jenis sel dari bakteri hingga manusia. Sintesis dan konversi lebih lanjut dari squalene adalah langkah kunci dalam metabolisme sterol. Sintesis squalene sedikit berbeda pada mikroorganisme, tumbuhan, dan sel mamalia. Juga konversi metabolik lebih lanjut dari squalene bervariasi dalam sistem sel yang berbeda. Sifat squalene yang Sebagian besar dapat dianggap bermanfaat untuk penggunaan dalam nutrisi, farmasi, kosmetik, dan obat-obatan.

Sumber squalene lain seperti mikroorganisme juga menjadi penting. Untuk isolasi squalene skala besar, berbagai metode bioteknologi proses dikembangkan dan diterapkan. Tantangan untuk proses ini adalah efisiensi, terutama ketika sampel

dengan konsentrasi squalene rendah harus digunakan. Perkembangan terakhir menunjukkan bahwa squalene dapat menjadi komponen yang berguna dalam nutrisi, perawatan kesehatan, dan kosmetik. Sebagai suplemen biologis untuk diet dan sebagai aditif untuk obat-obatan tampaknya memiliki khasiat yang bermanfaat. Singkatnya, squalene dapat dianggap sebagai molekul serbaguna yang mungkin menjadi lebih berguna untuk masa depan (Spanova dan Daum, 2011).

### 3.7.3 Vitamin

Selain menjanjikan sebagai sumber pangan, mikroalga juga dapat digunakan sebagai sumber vitamin yang baik digunakan sebagai asupan tambahan yang diperlukan oleh tubuh. Salah satu mikroalga yang dapat mensintesis senyawa alami menjadi sumber vitamin adalah jenis Spirulina, Nanochloropsis, Chlorella, dan beberapa jenis mikroalga lainnya (Nur, 2014).

Kelas vitamin mencakup keragaman senyawa organik yang mewakili mikronutrien esensial bagi kehidupan. Molekul-molekul ini mencakup sejumlah besar fungsi biologis, seperti koenzim, hormon, antioksidan, mediator pensinyalan sel dan pengatur pertumbuhan atau diferensiasi sel dan jaringan. Vitamin dapat dibagi dalam dua kelompok besar, yaitu senyawa yang larut dalam air dan yang larut dalam lemak. Vitamin A, D, E dan K adalah empat molekul yang larut dalam lemak, sedangkan vitamin C dan vitamin B [B1 (thiamin), B2 (riboflavin), B3 (niacin = nicotinic acid), B5 (pantothenic acid), B6 (piridoksin), B7 (biotin), B9 (asam folat) dan B12 (cobalamin)] larut dalam air. Sebagian besar vitamin disintesis oleh organisme fotosintetik, sementara yang lain (beberapa vitamin B dan vitamin K) terbioakumulasi melalui makanan dan terutama diproduksi oleh bakteri.



Tabel 24. Kandungan Vitamin Mikroalga

| Sumber Pangan                  | Vitamin A | Vitamin C | Vitamin E | Vitamin D | Vitamin K1 | Referensi  |
|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|--|
| <i>Chlorella vulgaris</i>      | 0.01–0.65 | 0.10–15   | 0.01–2    | 0.004     | 0.73       | Del Mondo <i>et al.</i> (2020), Safafar <i>et al.</i> (2015), Tarento <i>et al.</i> , (2018) |
| <i>Dunaliella salina</i>       | 0.01–0.63 | 0.16–2.2  | 0.12–1.9  | -         | 0.1        | Del Mondo <i>et al.</i> (2020), Safafar <i>et al.</i> (2015), Tarento <i>et al.</i> , (2018) |
| <i>Haematococcus pluvialis</i> | -         | -         | 0.27–0.88 | -         | -          | Del Mondo <i>et al.</i> (2020)   |
| <i>Isochrysis galbana</i>      | 0.01–0.27 | 0.12–4.45 | 0.06–0.12 | 5         | 8          | Del Mondo <i>et al.</i> (2020),  |
| <i>Porphyridium cruentum</i>   | 0.75      | -         | 0.02–1.30 | -         | -          | Mudimu <i>et al.</i> (2017)  |
| <i>Scenedesmus obliquus</i>    | -         | 2.00      | 0.08–1    | -         | -          | Mudimu <i>et al.</i> (2017)  |
| <i>Spirulina maxima</i>        | 0,057     | 0,01      | 0.05-0,19 | -         | -          | Sharoba, A. M. (2017), Li <i>et al.</i> (2012)   |
| <i>Tetraselmis chunii</i>      | 0.05–4.28 | 0.19–3    | 0.04–6.32 | 0.35      | 28         | Del Mondo <i>et al.</i> (2020)   |



Tabel 25. Kandungan Vitamin Mikroalga

| Sumber Pangan                  | Vitamin B1 | Vitamin B2 | Vitamin B3 | Vitamin B5 | Vitamin B6 | Vitamin B7 | Vitamin B9 | Vitamin B12 | Referensi                       |
|--------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|---------------------------------|
| <i>Chlorella vulgaris</i>      | 18–23      | 20–68      | 0.15–250   | 21.4–190   | 1.9–25     | 0.45–1.1   | 3.1–34     | 0.08–2.5    | Bito <i>et al.</i> (2020).      |
| <i>Dunaliella salina</i>       | 9–29       | 9–31.2     | 10         | 5–13.2     | 2.2–4      | 0.9        | 0.4–53.7   | 0.04–0.7    | Tang dan Suter (2011).          |
| <i>Haematococcus pluvialis</i> | 4.7        | 17         | 66         | 14         | 3.6        |            | 2.9        | 1.2         | Bishop dan Zubeck, (2012).      |
| <i>Isochrysis galbana</i>      | 14–462     | 14–30      | -          | 9.1        | 1.8–183    | 1          | 3          | 0.6–89      | Del Mondo <i>et al.</i> (2020)  |
| <i>Porphyridium cruentum</i>   |            |            |            |            |            |            | 5.39       |             | Woortman <i>et al.</i> , (2020) |
| <i>Scenedesmus obliquus</i>    |            | 46         |            |            |            |            | 6          |             | Del Mondo <i>et al.</i> (2020)  |
| <i>Spirulina maxima</i>        | 0,5        | 4,5        | -          | -          | 0,96       | -          | -          | 0,16        | Tang & Suter. (2011).           |
| <i>Tetraselmis chunii</i>      | 32.3–627   | 19.1–42    | -          | 37.7       | 2.8–155    | 0.8–1.3    | 3–20       | 1.95–9      | Pereira <i>et al.</i> (2019)    |



### 3.7.3 Peptida

Mikroalga juga memiliki metabolit lain seperti peptida. Bioaktif peptida telah meningkat secara signifikan dalam dekade terakhir. Peptida kurang memiliki efek samping jika dibandingkan dengan suplemen sintetis yang dapat mengganggu aktivitas sistem kekebalan. Bioaktif peptida telah dipercepat untuk dapat dimanfaatkan sebagai potensi perawatan untuk beragam kondisi patologis seperti hipertensi, peradangan, diabetes, dan stres oksidatif (Sanchez dan Vázquez, 2017). Sumber peptida bioaktif saat ini berasal dari tumbuhan dan protein hewani (Ngo *et al.*, 2012). Senyawa fenolik adalah metabolit sekunder yang biasa ditemukan di semua tumbuhan termasuk pula mikroalga dan cyanobacteria. Fenolat biasanya disintesis untuk melindungi sel patogen dan iradiasi ultraviolet serta mereka memiliki aktivitas biologis yang sangat beragam termasuk sifat antioksidan.

Bioaktif Peptida yang diturunkan dari makanan telah menunjukkan sifat antihipertensi mereka melalui penghambatan enzim dalam tekanan darah mamalia, misalnya, ACE dan renin (Norris dan FitzGerald, 2013). Peptida lain juga berkontribusi untuk menurunkan tekanan darah. Namun, aktivitas penghambatan ACE adalah jalur metabolisme yang paling banyak dipelajari untuk perkembangan peptida antihipertensi (Fernández-Musoles *et al.*, 2013).

### 3.7.3 Fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Senyawa fenolik memiliki cincin aromatis, satu atau lebih gugus hidroksil (OH-) dan gugus lain penyertanya seperti gugus karboksilat dan gugus aldehid. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan sebagai respon terhadap stres lingkungan. Senyawa fenolik berfungsi sebagai pelindung terhadap sinar UV-B dan kematian sel untuk melindungi DNA dari dimerisasi dan kerusakan (Tasman *et al.*, 2020).



Fenolik alga adalah senyawa yang menjadi kandidat potensial untuk memerangi radikal bebas, yang berbahaya bagi tubuh kita dan sistem pangan.

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki gugus hidroksil dan paling banyak terdapat dalam tanaman. Senyawa ini memiliki keragaman struktural mulai dari fenol sederhana hingga kompleks maupun komponen yang terpolimerisasi (Diniyah dan Lee, 2020).

Senyawa fenolik memiliki aktivitas biologik yang beraneka ragam dan banyak digunakan dalam reaksi enzimatik oksidasi kopling sebagai substrat donor H. Reaksi oksidasi kopling, selain membutuhkan suatu oksidator juga memerlukan adanya suatu senyawa yang dapat mendonorkan H. Senyawa fenolik dengan demikian berpotensi sebagai senyawa antioksidan (Putra, 2020).



### 3.8 Pemanfaatan Mikroalga dalam Produk Pangan

Beberapa tahun terakhir, masalah kesehatan telah meningkat dan ada peningkatan minat dalam mengonsumsi makanan sehat atau *superfood*. *superfood* adalah makanan fungsional padat nutrisi yang didalamnya telah ditambah manfaat kesehatan dan dapat mencegah ataupun menyembuhkan beberapa penyakit kronis. Hal ini telah mendorong peluang penelitian baru untuk mengevaluasi berbagai sumber untuk produksi makanan fungsional yang sehat (Seyidoglu *et al.*, 2017). Menurut BPOM pangan fungsional adalah Pangan Olahan yang mengandung satu atau lebih komponen pangan yang berdasarkan kajian ilmiah mempunyai fungsi fisiologis tertentu diluar fungsi dasarnya, terbukti tidak membahayakan dan bermanfaat bagi kesehatan. Berikut adalah persyaratan pangan fungsional berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Tahun 2011 Tentang Pengawasan Klaim dalam Label dan Iklan Pangan Olahan.

- a. mengandung jenis komponen pangan dalam jumlah yang sesuai dengan batasan yang ditetapkan
- b. memiliki karakteristik sensori seperti penampakan, warna, tekstur atau konsistensi dan cita rasa yang dapat diterima konsumen; dan
- c. disajikan dan dikonsumsi sebagaimana layaknya makanan atau minuman.

Di antara produk mikroalga, produksi *Spirulina sp.* yang dikeringkan merupakan yang tertinggi dengan sekitar 12.000 ton per tahun, diikuti oleh *Chlorella spp.*, *Dunaliella salina*, *A. flosaquae*, *Haematococcus plu-valis*, *C. cohnii* dan *Shizochytrium* dengan masing-masing 5.000, 3000, 1500, 700, 500 dan 20 ton per tahun (García *et al.*, 2017). Namun, nilai tersebut sangat rendah dibandingkan dengan tanaman seperti kelapa sawit yang produksi per tahun mencapai 40 juta ton. Tingkat Pertumbuhan Tahunan Gabungan atau Compound Annual Growth Rate (CAGR) dari produk berbasis mikroalga diperkirakan akan



melampaui 5,2% dan nilai pasar akan mencapai US \$ 44,6 miliar pada tahun 2023. Pasar global untuk sumber alami astaxanthin dalam kosmetik, makanan dan minuman serta *nutraceuticals* juga menunjukkan potensi pemanfaatan mikroalga untuk memenuhi kebutuhan masyarakat dan permintaan pasar masing-masing (Koyande *et al.*, 2019).





Tabel 26. Mikroalga dalam Produk Pangan

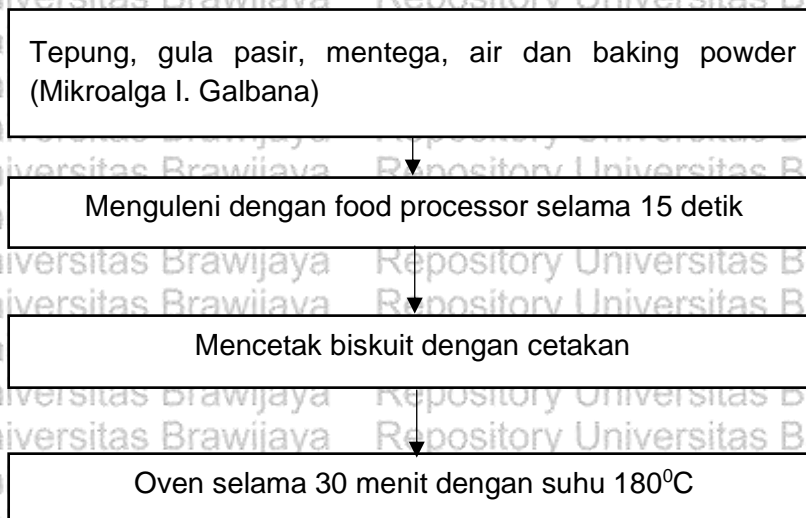
| No. | Tipe Produk | Spesies Mikroalga   | Tambahan                                | Hasil  | Manfaat   | Referensi                      |
|-----|-------------|---|---|--|---|--------------------------------|
| 1   | Biskuit     | <i>C. vulgaris</i> ,<br><i>T. suecica</i> ,<br><i>P. tricornutum</i> ,<br><i>S. platensis</i> | 2 g/100g dan 6 g/100 g                  | Setelah penambahan mikroalga kandungan proksimat meningkat 2-3% dan Nilai TPC Meningkat 0,4% | Sifat nutrisi dan Properties fungsional (aktivitas antioksidan) | Batista <i>at al.</i> (2017)   |
| 2   | Pasta       | <i>Spirulina platensis</i>  | 2.5%, 5.0 %, 7.5% dan 10 % berat kering | Setelah penambahan mikroalga kandungan proksimat meningkat 2-7% dan Nilai TPC meningkat 2-3% | Sifat nutrisi dan fungsional (aktivitas antioksidan)            | Hussein <i>at al.</i> (2021)   |
| 3   | Yogurt      | <i>Spirulina platensis</i>  | 0.25, 0.50, 0.75 dan 1 %                | Setelah penambahan mikroalga kandungan proksimat dan Nilai TPC bertambah 9%                  | Sifat nutrisi dan fungsional (aktivitas antioksidan)            | Barkallah <i>at al.</i> (2017) |



### 3.8.1 Biskuit



Menurut Koyande *at al.* (2019), Spesies mikroalga yang digunakan dalam bahan tambahan pangan produk biskuit adalah *A. platensis*. Berat Jumlah tambahan mikroalga yang digunakan pada biskuit sebesar 1,63,3,5,7,8,36% w/w. manfaat dari produk ini adalah sifat nutrisi dan Properties fungsional (protein, serat dan kandungan antioksidan). Biskuit dari mikroalga sangat penting sebagai produk fungsional karena dapat menambah kesan menarik untuk produk dari mikroalga. Kandungan yang terdapat pada mikroalga sangat kaya manfaat.



Gambar 16. Skema kerja pembuatan biskuit dengan penambahan mikroalga

Biskuit dibuat dengan menggunakan 46,5% tepung, 23% gula pasir, 20% mentega, 10% air dan 0,5% baking powder. Biomassa *I. galbana* ditambahkan pada konsentrasi 1,0% dan 3,0% (b / b), dan biskuit kontrol tanpa penambahan

alga disiapkan. Biskuit dipanggang dalam oven (Freibol, Model FB) pada suhu



180°C selama 30 menit. Setelah didinginkan, biskuit disimpan di dalam kantong plastik, dalam toples kaca tertutup, pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya.

Biskuit, makanan tradisional dan bergizi, bisa menyehatkan dan sangat menarik bila disiapkan dengan tambahan biomassa mikroalga alami *Isochrysis galbana* (kaya PUFA, khususnya EPA). Peningkatan sifat tekstur, stabilitas warna dan tekstur yang tinggi serta profil asam lemak tak jenuh ganda yang baik, dengan penekanan pada EPA dan DHA, dari biskuit yang diperoleh, mengungkapkan pasar makanan khusus yang baru (Gouveia *et al.*, 2008).

Penambahan biomassa mikroalga sebagai bahan alami menghasilkan biskuit dengan tampilan yang menarik dan inovatif. Warna hijau yang inovatif dan stabil bervariasi, tergantung pada mikroalga yang digunakan, dari hijau kebiruan (*A. platensis*) hingga hijau kecoklatan (*P. tricornutum*). *A. platensis* memberikan efek penataan yang signifikan, dalam hal tekstur biskuit. Secara umum, peningkatan kandungan mikroalga dari 2% menjadi 6% menghasilkan peningkatan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) pada total kandungan fenolik dan kapasitas antioksidan cookie, sedangkan mengenai pencernaan tidak ditemukan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan biskuit kontrol. biskuit *A. platensis* menyajikan skor sensorik tertinggi, serta kandungan protein dan fenolik yang tinggi. Studi ini menunjukkan bahwa biskuit berbasis mikroalga dapat menjadi makanan fungsional yang diapresiasi secara luas dan dikonsumsi di masa depan (Koyande *et al.*, 2019).

### 3.8.2 Pasta



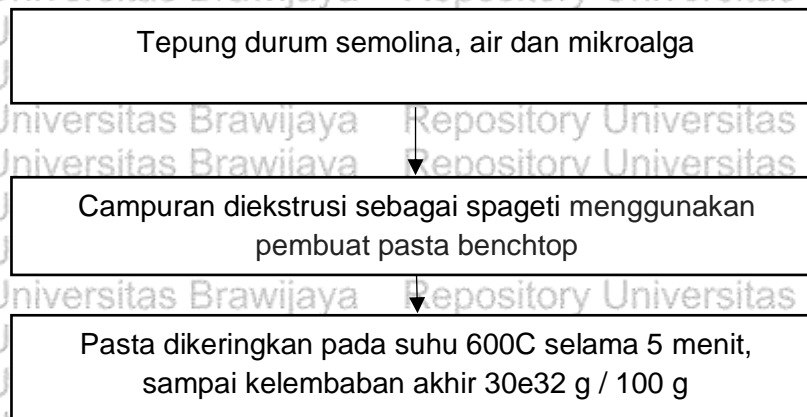
Gambar 17. Pembuatan pasta segar yang diperkaya dengan biomassa mikroalga *Isochrysis galbana* dan *Diacronema vikianum* pada kenampakan pasta segar (Fradique *et al.*, 2013).

Faktor-faktor seperti populasi yang menua, peningkatan biaya perawatan kesehatan dan kemajuan pesat dalam ilmu pengetahuan dan teknologi cenderung mendorong peningkatan minat di antara konsumen dalam mencapai kesehatan melalui diet dan minat pada makanan fungsional. profil asam lemak pasta yang dibuat dari *Isochrysis galbana* dan *Diacronema* memperoleh ketahanan tinggi terhadap perlakuan termal yang diterapkan selama prosedur memasak.

Peningkatan jumlah alga menyebabkan peningkatan EPA (Eicosapentaenoic Asam) dan DHA (Docosahexaenoic Acid) baik dalam pasta mentah maupun matang (Fradique *et al.*, 2013) Spesies mikroalga yang digunakan dalam bahan tambahan pangan produk pasta adalah *S. platensis*. Berat Jumlah tambahan mikroalga yang digunakan pada biskuit sebesar 5 dan 10% w/w pada tepung. manfaat dari produk ini adalah Sifat nutrisi dan fungsional (protein enrichment dan aktivitas antioksidan) (Parmar dan Singh, 2018).



Pasta adalah makanan yang sangat populer dan seimbang. pasta dapat ditingkatkan dengan asam lemak PUFA, dengan penggabungan biomassa mikroalga, seperti *I. galbana* dan *D. vlkianum*. Penggabungan mikroalga dalam makanan tradisional untuk memperkaya nilai gizi dengan molekul bioaktif. Evaluasi sensorik menunjukkan ikan yang sedikit mengalami depresiasi rasa pasta dengan kandungan biomassa mikroalga lebih tinggi (2 g / 100 gram). Oleh sebab itu, olahan kuliner berbasis ikan bisa memanfaatkan mikroalga (Fradique *et al.*, 2013).



Gambar 18. Skema kerja pembuatan pasta dengan penambahan mikroalga

Pasta segar diproduksi dari tepung durum semolina, air dan biomassa mikroalga 0,5, 1,0 dan 2,0 g / 100 g DW. Campuran diekstrusi sebagai spageti (diameter 1,5 mm, panjang 200 mm) menggunakan pembuat pasta benchtop (Biffinet, Verona, Italia). Pasta dikeringkan pada suhu 60°C selama 5 menit, sampai kelembaban akhir 30e32 g / 100 g, Pasta, makanan bergizi yang sangat populer, nyaman dan seimbang, dapat ditingkatkan dengan asam lemak PUFA, dengan memasukkan biomassa mikroalga, seperti *I. galbana* dan *D. vlkianum*. Asam palmitat (16: 0), asam oleat (18: 1u9) dan asam linoleat (18: 2 u6) masing-masing adalah asam lemak jenuh, mono dan tak jenuh ganda, di kedua pasta yang dibuat oleh biomassa mikroalga yang ditambahkan. Pengayaan pasta segar kontrol mentah dengan biomassa menyebabkan peningkatan signifikan asam

eicosapentaenoic (20: 5u3, EPA) dan asam docosaheptaenoic (22: 6u3, DHA) yang tidak ada dalam pasta kontrol mentah. Hasil ini menegaskan pentingnya penggabungan mikroalga dalam makanan tradisional untuk memperkaya nilai gizinya dengan molekul bioaktif. Evaluasi sensorik menunjukkan sedikit rasa ikan yang menurun untuk pasta dengan kandungan biomassa mikroalga yang lebih tinggi (2 g / 100 g). Meski demikian, olahan kuliner berbasis ikan bisa memanfaatkan poin ini. (Fradique *et al.*, 2013). Spirulina benar-benar aman dan dapat digunakan dalam persiapan makanan fungsional. Pasta yang diperkaya spirulina adalah sumber yang kaya protein dan antioksidan. Namun, Pengayaan pasta juga menyebabkan penurunan skor sensorik (Hussein *et al.*, 2021).

### 3.8.3 Yogurt

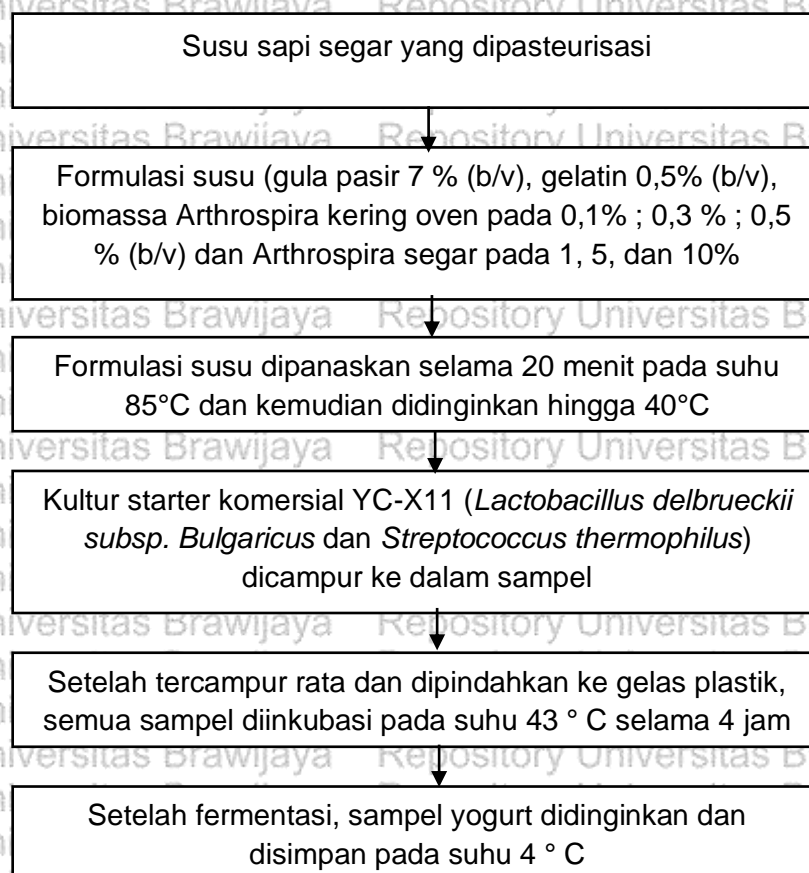


Gambar 19. Yogurt dengan penambahan mikroalga (Paulo *et al.*, 2020)

Sejak mikroalga *Aurantiochytrium sp.* kaya akan asam docosaheptaenoic, makanan fungsional berdasarkan yogurt tanpa lemak dan mikroalga ini telah banyak diuji. Berdasarkan profil asam lemak saja, yogurt *Aurantiochytrium* dalam jumlah 158,7 g dalam istilah berat basah akan diperlukan untuk memastikan asupan asam lemak sehat yang sesuai. Resep makanan yang masuk akal adalah konsumsi harian yogurt *Aurantiochytrium* 125 ml (Paulo *et al.*, 2020). Spesies mikroalga yang digunakan dalam bahan tambahan pangan produk yogurt adalah *Chlorella sp.* Berat Jumlah tambahan mikroalga yang digunakan pada kue sebesar Ekstrak bubuk adalah 0,25% w / w sedangkan Ekstrak cair adalah 2.5-10%.

manfaat dari produk ini adalah Sifat nutrisi dan fungsional (Antikanker, antioksidan dan antiinflamasi) (Koyande *et al.*, 2019).

*Arthrospira platensis* atau mikroalga biru-hijau, merupakan sumber nutrisi organik yang kaya. Konsumsi produk susu fermentasi seperti yogurt belakangan ini semakin meningkat. Baik biomassa *Arthrospira* yang dikeringkan dalam oven dan segar yang ditambahkan ke dalam yogurt pada konsentrasi yang berbeda yaitu 0,1, 0,3, dan 0,5% (w / v) dan 1, 5, dan 10% (v / v), masing-masing meningkatkan sifat fisikokimia. Susu difermentasi dengan penambahan *Arthrospira* dapat digunakan untuk mengembangkan produk yogurt baru yang sehat. Sulit untuk menilai secara optimal kondisi untuk tambahan *Arthrospira* ke yogurt. Namun, tambahan *Arthrospira* segar menjadi yogurt meningkatkan nutrisi dan fungsional properti dari produk akhir (Pan-utai *et al.*, 2020).



Gambar 20. Skema kerja pembuatan yogurt dengan penambahan mikroalga



Persiapan yogurt didasarkan pada susu sapi segar yang dipasteurisasi (CP-Meiji Co., Ltd., Thailand) sebagai bahan baku. Formulasi susu terdiri dari gula pasir 7% (b / v) dan gelatin sebagai pengental 0,5% (b / v). Mikroalga *Arthrospira* dilengkapi dengan biomassa *Arthrospira* kering oven pada 0,1, 0,3, dan 0,5% (b/v) dan *Arthrospira* segar pada 1, 5, dan 10% (v/v). Kandungan *Arthrospira* segar diperiksa dengan dasar berat kering dan dinyatakan sekitar 6,9% DW. Dengan demikian, konsentrasi *Arthrospira* segar yang ditambahkan ke dalam yogurt pada 1, 5 dan 10% (v / v) dalam hal dasar kering dinyatakan masing-masing sebagai 0,07, 0,35, dan 0,69% (b / v). Formulasi susu tanpa suplemen *Arthrospira* digunakan sebagai kontrol. Formulasi susu dipanaskan selama 20 menit pada suhu 85 ° C dan kemudian didinginkan hingga 40 ° C. Kultur starter komersial YC-X11 (*Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) dicampur sesuai dengan petunjuk pabrik (Chr. Hansen, Denmark) dan ditambahkan ke sampel. Setelah tercampur rata dan dipindahkan ke gelas plastik, semua sampel diinkubasi pada suhu 43°C selama 4 jam. PH dan keasaman ditentukan setiap jam selama fermentasi. Setelah fermentasi, sampel yogurt didinginkan dan disimpan pada suhu 4°C. Semua sampel dianalisis pH, keasaman yang dapat dititras, kapasitas menahan air, komposisi nutrisi, kandungan C-phycocyanin, dan warna setelah fermentasi. Selain itu, pH, keasaman yang dapat dititras, dan warna dianalisis selama penyimpanan pada 1, 2, 3, dan 4 minggu (Pan-utai *et al.*, 2020).

*Spirulina* terbukti efisien digunakan sebagai aditif inovatif dan menarik dalam pengolahan yogurt. Selain peran nutrisinya, *Spirulina* berfungsi sebagai sumber pewarna dan penyedap alami yang baik. Selain itu, *Spirulina*, kaya serat makanan dan protein, berperan sebagai penstabil fisik dalam pemeliharaan tekstur produk dengan meningkatkan rasa di mulut dan meningkatkan sineresis dan viskositas yang nyata. Penambahan 0,25% *Spirulina* secara signifikan cukup untuk





mempercepat akhir fermentasi dan melestarikan penerimaan sensorik dari produk susu akhir. Perlakuan ini tidak hanya meningkatkan kualitas nutrisi produk akhir tetapi juga meningkatkan sifat nutraceutical dengan meningkatkan aktivitas antioksidannya. Hasil ini dapat digunakan untuk mengembangkan yoghurt baru yang difortifikasi Spirulina sebagai sumber senyawa bioaktif, yang dapat menjadi alternatif fortifikasi. Pemilihan dan penggunaan Spirulina yang tepat sebagai bahan fortifikasi dalam yogurt tampaknya penting, karena menyediakan makanan yang membuat minat konsumen dan memberikan manfaat Kesehatan (Barkallah *et al.*, 2017)



#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan data-data yang diperoleh dari penelitian sebelumnya, dapat disimpulkan bahwa terdapat 200.000 – 800.000 spesies mikroalga ditemukan secara luas dan hanya sekitar 35.000 yang dapat dijelaskan. Mikroalga terdiri dari mikroalga freshwater dan mikroalga air laut, cara isolasi mikroalga menggunakan teknik goresan, mikropipet dan pengenceran berseri, dengan media BG-11, Bold Basal Medium, Walne dan Guilard f/2. Penggunaan metode Purifikasi mikroalga paling baik menggunakan metode sentrifugasi menghasilkan konsentrasi padatan 12-22% dan recovery lebih dari 90%. Penggunaan metode ekstraksi paling baik menggunakan metode UAE menghasilkan rendemen sebesar 75.35% menggunakan pelarut n-hexane. Mikroalga memiliki kandungan Protein, lipid dan karbohidrat yang lebih tinggi dibandingkan Daging sapi, Ayam, Telur dan kedelai.

*Spirulina maxima* memiliki nilai Protein paling tinggi dibandingkan mikroalga yang lain sebesar 60-71%. Mikroalga juga memiliki senyawa bioaktif seperti pigmen, sterol, vitamin, peptida dan fenolik yang dapat dimanfaatkan di bidang Kesehatan seperti antioksidan, antiinflamasi, antikanker dan antidiabetes. Mikroalga tidak dapat dikonsumsi secara langsung oleh karena itu diperlukan pengolahan agar kandungan nutrisi yang dimilikinya dapat diserap dan dimanfaatkan oleh manusia.

Penambahan biomassa mikroalga pada produk pangan memperoleh hasil Peningkatan pada kandungan Proksimat dan TPC secara signifikan. Oleh karena itu mikroalga berpotensi untuk dimanfaatkan dalam bidang pangan fungsional di masa depan dan *Spirulina maxima* menjadi mikroalga paling berpotensi karena banyak diteliti dan memiliki kandungan protein tertinggi sebesar 60-71% serta bisa digunakan dalam produk pangan fungsional.



5. **SARAN**

Sampai saat ini pemanfaatan mikroalga secara komersial masih terbatas. Oleh karena itu penelitian lebih lanjut tentang mikroalga sebagai sumber pangan fungsional sangat penting dilakukan untuk meningkatkan pemahaman kita tentang teknologi dan penerapannya.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abd El Baky, H. H., El Baroty, G. S., dan Ibrahim, E. A. (2015). Functional characters evaluation of biscuits sublimated with pure phycocyanin isolated from *Spirulina* and *Spirulina* biomass. *Nutricion Hospitalaria*, 32(1), 231-241.
- Abd El-Baky, H. H., El Baz, F. K., & El-Baroty, G. S. (2009). Production of phenolic compounds from *Spirulina maxima* microalgae and its protective effects in vitro toward hepatotoxicity model. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(4), 133-139.
- Abyor, N., Dessy, A., dan Hady, H. (2011). Potential production of polyunsaturated fatty acids from microalgae. *International Journal of Science and Engineering*, 2(1), 13-16.
- Acquah, C., Tibbetts, S. M., Pan, S., dan Udenigwe, C. (2020). Nutritional quality and bioactive properties of proteins and peptides from microalgae. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products* (pp. 493-531). Academic Press.
- Addini, I., Saputra, D., Ilhamdy, A. F., & Julianto, T. 2017. Pertumbuhan Mikroalga *Spirulina plantensis* yang Dikultur dengan Media Teknis. *Intek Akuakultur* 1(1) : 51-55.
- Al Jitan, S., Alkhoodi, S. A., dan Yousef, L. F. (2018). Phenolic acids from plants: extraction and application to human health. *Studies in Natural Products Chemistry*, 58, 389-417.
- Alam, M. A., & Wang, Z. (Eds.). (2019). *Microalgae biotechnology for development of biofuel and wastewater treatment*. Springer.
- Alvarez, A. L., Weyers, S. L., Goemann, H. M., Peyton, B. M., dan Gardner, R. D. (2021). Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. *Algal Research*, 54, 102200.
- Ambati, R. R., Phang, S. M., Ravi, S., & Aswathanarayana, R. G. (2014). Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—a review. *Marine drugs*, 12(1), 128-152.
- Ambrozova, J. V., Misurcova, L., Vicha, R., Machu, L., Samek, D., Baron, M., ... dan Jurikova, T. (2014). Influence of extractive solvents on lipid and fatty acids content of edible freshwater algal and seaweed products, the green microalga *Chlorella kessleri* and the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Molecules*, 19(2), 2344-2360.
- Amrang, M., Nurmadilla, N., Pramono, S. D., Ananda, F., & Rasfayanah, R. (2020). Hubungan Asupan Protein Ibu Hamil Trimester III Dengan BB Lahir Bayi RSIA Kota Makassar. *Wal'afiat Hospital Journal*, 1(2), 91-99.
- Anam, C., & Agustini, T. W. (2014). Pengaruh Pelarut Yang Berbeda Pada Ekstraksi *Spirulina Platensis* Serbuk Sebagai Antioksidan Dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(4), 106-112.
- Anbuechezian, R., Karuppiah, V., dan Li, Z. (2015). Prospect of marine algae for production of industrially important chemicals. In *Algal biorefinery: An integrated approach* (pp. 195-217). Springer, Cham.
- Andersen, R. A., & Culturing, A. (2005). ALGAL CULTURING TECHNIQUES. *J. Phycol*, 41, 906-908.
- Andriani, M., Permana, I. D. G. M., dan Widarta, I. W. R. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap



- Aktivitas Antioksidan dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(3), 330-340.
- Arif, M., Wang, L., Salama, E. S., Hussain, M. S., Li, X., Jalalah, M., ... dan Liu, P. (2020). Microalgae isolation for nutrient removal assessment and biodiesel production. *BioEnergy Research*, 13, 1247-1259.
- Arihanda, D. D. P., Suryono, S., & Santosa, G. W. (2019). Kadar Total Lipid Mikroalga *Nannochloropsis oculata* Hibberd, 1981 (Eustigmatophyceae: Eustigmatataceae) Berdasarkan Perbedaan Salinitas dan Intensitas Cahaya. *Journal of Marine Research*, 8(3), 229-236.
- Ariyanti, D., & Handayani, N. A. (2012). Mikroalga sebagai sumber biomasa terbarukan: Teknik kultivasi dan pemanenan. *METANA*, 6(02).
- Asavasanti, S, Ristenpart, W, Stroeve, P, Barrett, D, M. (2011). Permeabilization of plant tissues by monopolar pulsed electric fields: effect of frequency. *J. Food Sci.* 76(1):98–111
- Asgharpour, M., Rodgers, B., & Hestekin, J. A. (2015). Eicosapentaenoic acid from *Porphyridium cruentum*: Increasing growth and productivity of microalgae for pharmaceutical products. *Energies*, 8(9), 10487-10503.
- Azis, T., S. Febrizky dan A. D. Mario. (2014). Pengaruh jenis pelarut terhadap persen yield alkaloid dari daun salam india (*Murraya koenigii*). *Teknik Kimia*. 20(2): 1– 6.
- Aziz, L., dan Chasani, A. R. (2020). Perbandingan Struktur dan Komposisi Makroalga di Pantai Drini dan Pantai Krakal. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 13(2), 75-86.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... dan Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2011. *Pengawasan Klaim dalam Label dan Iklan Pangan Olahan*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Badaring, D. R., Sari, S. P. M., Nurhabiba, S., Wulan, W., dan Lembang, S. A. R. (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), 16-26.
- Badr, A. M., Shabana, E. F., Senousy, H. H., & Mohammad, H. Y. (2014). Anti-inflammatory and anti-cancer effects of  $\beta$ -carotene, extracted from *Dunaliella bardawil* by milking. *J. Food Agric. Environ*, 12(3), 24-31.
- Barkallah, M., Dammak, M., Louati, I., Hentati, F., Hadrich, B., Mechichi, T., ... & Abdelkafi, S. (2017). Effect of *Spirulina platensis* fortification on physicochemical, textural, antioxidant and sensory properties of yogurt during fermentation and storage. *LWT*, 84, 323-330.
- Barkia, I., Saari, N., dan Manning, S. R. (2019). Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Marine drugs*, 17(5), 304.
- Baroni, É. G., Yap, K. Y., Webley, P. A., Scales, P. J., & Martin, G. J. (2019). The effect of nitrogen depletion on the cell size, shape, density and gravitational settling of *Nannochloropsis salina*, *Chlorella* sp.(marine) and *Haematococcus pluvialis*. *Algal Research*, 39, 101454.
- Barqi, W. S. 2015. Pengambilan minyak mikroalga *Chlorella* sp dengan metode Microwave Assisted Extraction. *JBAT*. 4(1): 34 – 41.
- Batista, A. P., Gouveia, L., Bandarra, N. M., Franco, J. M., dan Raymundo, A. (2013). Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Research*, 2(2), 164-173.



- Batista, A. P., Niccolai, A., Fradinho, P., Fragoso, S., Bursic, I., Rodolfi, L., ... dan Raymundo, A. (2017). Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical and chemical properties, antioksidan activity and in vitro digestibility. *Algal Research*, 26, 161-171.
- Begum, H., Yusoff, F. M., Banerjee, S., Khatoon, H., dan Shariff, M. (2016). Availability and utilization of pigments from microalgae. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(13), 2209-2222.
- Bintari, Y. R., W. Haryadi dan T. J. Rahardjo. 2018. Ekstraksi lipida dengan metode Microwave Assisted Extraction dari mikroalga yang potensial sebagai biodiesel. *Jurnal Ketahanan Pangan*. 2(2): 180 – 189.
- Bishop, W. M., & Zubeck, H. M. (2012). Evaluation of microalgae for use as nutraceuticals and nutritional supplements. *J Nutr Food Sci*, 2(5), 1-6.
- Bito, T., Okumura, E., Fujishima, M., & Watanabe, F. (2020). Potential of Chlorella as a Dietary supplement to promote human health. *Nutrients*, 12(9), 2524.
- Bleakley, S., dan Hayes, M. (2017). Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 6(5), 33.
- Bock, C., Krienitz, L., dan Proeschold, T. (2011). Taxonomic reassessment of the genus Chlorella (Trebouxiophyceae) using molecular signatures (barcodes), including description of seven new species. *Fottea*, 11(2), 293-312.
- Braune, S., Krüger-Genge, A., Kammerer, S., Jung, F., & Küpper, J. H. (2021). Phycocyanin from *Arthrospira platensis* as Potential Anti-Cancer Drug: Review of In Vitro and In Vivo Studies. *Life*, 11(2), 91.
- Cai, T., Park, S. Y., dan Li, Y. (2013). Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19, 360-369.
- Cai, X., Huang, Q., & Wang, S. (2015). Isolation of a novel lutein–protein complex from *Chlorella vulgaris* and its functional properties. *Food & function*, 6(6), 1893-1899.
- Camacho, F., Macedo, A., dan Malcata, F. (2019). Potential industrial applications and commercialization of microalgae in the functional food and feed industries: A short review. *Marine drugs*, 17(6), 312.
- Casal, C., Cuaresma, M., Vega, J. M., dan Vilchez, C. (2011). Enhanced productivity of a lutein-enriched novel acidophile microalga grown on urea. *Marine drugs*, 9(1), 29-42.
- Castejon, N and F. J. Senorans. (2019). Simultaneous extraction and fractionation of eomega-3 acylglycerols and glycolipids from wet microalgal biomass of *nannochloropsis gaditana* using pressurized liquids. *Algal Research*. 37: 74 – 82.
- Chae, Y., Kim, D., & An, Y. J. (2019). Effects of micro-sized polyethylene spheres on the marine microalga *Dunaliella salina*: focusing on the algal cell to plastic particle size ratio. *Aquatic Toxicology*, 216, 105296.
- Chandrarathna, H. P. S. U., Liyanage, T. D., Edirisinghe, S. L., Dananjaya, S. H. S., Thulshan, E. H. T., Nikapitiya, C., ... & De Zoysa, M. (2020). Marine microalgae, *Spirulina maxima*-derived modified pectin and modified pectin nanoparticles modulate the gut microbiota and trigger immune responses in Mice. *Marine drugs*, 18(3), 175.
- Chen, M., Li, J., Dai, X., Sun, Y., dan Chen, F. (2011). Effect of phosphorus and temperature on chlorophyll a contents and cell sizes of *Scenedesmus obliquus* and *Microcystis aeruginosa*. *Limnology*, 12(2), 187-192.
- Cheng, P., Chu, R., Zhang, X., Song, L., Chen, D., Zhou, C., ... dan Ruan, R. (2020). Screening of the dominant *Chlorella pyrenoidosa* for biofilm



- attached culture and feed production while treating swine wastewater. *Bioresource Technology*, 318, 124054.
- Chitrantjari, T., Chandran, A., dan Kurup, M. (2014). Omega-3 fatty acid concentrate from *Dunaliella salina* possesses anti-inflammatory properties including blockade of NF- $\kappa$ B nuclear translocation. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 37(1), 81-89.
- Cho, K., Kim, K. N., Lim, N. L., Kim, M. S., Ha, J. C., Shin, H. H., ... dan Oda, T. (2015). Enhanced biomass and lipid production by supplement of myo-inositol with oceanic microalga *Dunaliella salina*. *Biomass and Bioenergy*, 72, 1-7.
- Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., dan Florou-Paneri, P. (2013). Functional properties of carotenoids originating from algae. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(1), 5-11.
- Christaki, E., Florou-Paneri, P., dan Bonos, E. (2011). Microalgae: a novel ingredient in nutrition. *International journal of food sciences and nutrition*, 62(8), 794-799.
- Christwardana, M., Nur, M. M. A., dan Hadiyanto, H. (2013). Spirulina platensis: Potensinya sebagai bahan pangan fungsional. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 2(1).
- Chronakis, I. S., dan Madsen, M. (2011). Algal proteins. In *Handbook of food proteins* (pp. 353-394). Woodhead Publishing.
- Ciccone, M. M., Cortese, F., Gesualdo, M., Carbonara, S., Zito, A., Ricci, G., ... dan Riccioni, G. (2013). Dietary intake of carotenoids and their antioksidan and antiinflamasi effects in cardiovascular care. *Mediators of inflammation*, 2013.
- Cordero, B. F., Obratsova, I., Couso, I., Leon, R., Vargas, M. A., dan Rodriguez, H. (2011). Enhancement of lutein production in *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyta) by improvement of culture conditions and random mutagenesis. *Marine drugs*, 9(9), 1607-1624.
- Corrêa, P. S., Morais Júnior, W. G., Martins, A. A., Caetano, N. S., & Mata, T. M. (2021). Microalgae biomolecules: Extraction, separation and purification methods. *Processes*, 9(1), 10.
- Cruzes, D. S., dan Dybå, T. (2011). Research synthesis in software engineering: A tertiary study. *Information and Software Technology*, 53(5), 440-455.
- da Silva, S. C., Fernandes, I. P., Barros, L., Fernandes, Â., Alves, M. J., Calhella, R. C., ... & Barreiro, M. F. (2019). Spray-dried *Spirulina platensis* as an effective ingredient to improve yogurt formulations: Testing different encapsulating solutions. *Journal of Functional Foods*, 60, 103427.
- da Silva, S. P., do Valle, A. F., & Perrone, D. (2021). Microencapsulated *Spirulina maxima* biomass as an ingredient for the production of nutritionally enriched and sensorially well-accepted vegan biscuits. *LWT*, 142, 110997.
- Dahlia, D., Suprpto, H., & Kusdarwati, R. (2017). Isolasi dan identifikasi bakteri pada benih ikan kerapu cantang (*Epinephelus* sp.) dari kolam pendederan Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo, Jawa Timur. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 6(2), 57-66.
- Dai, Y. M., K. T. Chen and C. C. Chen. 2014. Study of the microwave lipid extraction from microalgae for biodiesel production. *Chemical Engineering Journal*. 250: 267 – 273
- Dar, R. A., Arora, M., dan Phutela, U. G. (2019). Optimization of cultural factors of newly isolated microalga *Spirulina subsalsa* and its co-digestion with paddy straw for enhanced biogas production. *Bioresource Technology Reports*, 5, 185-198.



Davarpanah, E., & Guilhermino, L. (2015). Single and combined effects of microplastics and copper on the population growth of the marine microalgae *Tetraselmis chuii*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 167, 269-275.

De Jesus Raposo, M. F., de Morais, R. M. S. C., dan de Morais, A. M. M. B. (2013). Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. *Life sciences*, 93(15), 479-486.

De Mello-Sampayo, C., Corvo, M. L., Mendes, R., Duarte, D., Lucas, J., Pinto, R., ... dan Gouveia, L. (2013). Insights on the safety of carotenogenic *Chlorella vulgaris* in rodents. *Algal Research*, 2(4), 409-415.

De Morais, M. G., Vaz, B. D. S., de Morais, E. G., dan Costa, J. A. V. (2015). Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *BioMed research international*, 2015.

De Silva, R. P., Pushpakumara, G., Prasada, P., dan Weerahewa, J. (2020). *Agricultural Research for Sustainable Food Systems in Sri Lanka*. Springer Nature.

Del Mondo, A., Smerilli, A., Sané, E., Sansone, C., & Brunet, C. (2020). Challenging microalgal vitamins for human health. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 1-23.

Di Lena, G., Casini, I., Lucarini, M., dan Lombardi-Boccia, G. (2019). Carotenoid profiling of five microalgae species from large-scale production. *Food Research International*, 120, 810-818.

Dineshbabu, G., Goswami, G., Kumar, R., Sinha, A., dan Das, D. (2019). Microalgae–nutritious, sustainable aqua-and animal feed source. *Journal of Functional Foods*, 62, 103545.

Diniyah, N., & Lee, S. H. (2020). Komposisi Senyawa Fenol dan Potensi Antioksidan dari Kacang-Kacangan. *Jurnal Agroteknologi*, 14(01), 91-102.

Djamaludin, H., & Chamidah, A. (2021). Kualitas Ekstrak Minyak Mikroalga *Spirulina* sp. dengan Metode Ekstraksi Yang Berbeda. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan*, (8).

Djunaedi, A. (2016). Produksi Biomassa Mikroalga (*Tetraselmis chuii*) Dengan Sistem Pemanenan Berbeda. *Jurnal Kelautan Tropis*, 18(2).

Do Nascimento, T. C., Nass, P. P., Fernandes, A. S., Vieira, K. R., Wagner, R., Jacob-Lopes, E., dan Zepka, L. Q. (2020). Exploratory data of the microalgae compounds for food purposes. *Data in brief*, 29, 105182.

Domínguez Díaz, L., Fernández-Ruiz, V., dan Cámara, M. (2020). The frontier between nutrition and pharma: The international regulatory framework of functional foods, food supplements and *nutraceuticals*. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(10), 1738-1746.

Durmaz, Y., Kilicli, M., Toker, O. S., Konar, N., Palabiyik, I., & Tamtürk, F. (2020). Using spray-dried microalgae in ice cream formulation as a natural colorant: Effect on physicochemical and functional properties. *Algal Research*, 47, 101811.

Durmaz, Y., Kilicli, M., Toker, O. S., Konar, N., Palabiyik, I., & Tamtürk, F. (2020). Using spray-dried microalgae in ice cream formulation as a natural colorant: Effect on physicochemical and functional properties. *Algal Research*, 47, 101811.

Eing, C., Goettel, M., Straessner, R., Gusbeth, C., Frey, W. (2013) Pulsed electric field treatment of microalgae—benefits for microalgae biomass processing, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 41, 2901–2907.





El-Baz, F. H. F. Aly, S. M. Abdo, S. A. Saad. 2016. Healing Potency of Haematooccus Pluvialis Extract for Treating Type 2 Diabetes in Rats. *Int J Pharm Pharm Sci*, 9(1) : 192-198

El-Belely, E. F., Farag, M. M. S., Said, H. A., Amin, A. S., Azab, E., Gobouri, A. A., dan Fouda, A. (2021). Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs) Using *Arthrospira platensis* (Class: Cyanophyceae) and Evaluation of their Biomedical Activities. *Nanomaterials* 2021, 11, 95.

Elisabeth, B., Rayen, F., dan Behnam, T. (2021). Microalgae culture quality indicators: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1-27.

El-Naggar, N. E. A., Hussein, M. H., Shaaban-Dessuuki, S. A., dan Dalal, S. R. (2020). Production, extraction and characterization of *Chlorella vulgaris* soluble polysaccharides and their applications in AgNPs biosynthesis and biostimulation of plant growth. *Scientific reports*, 10(1), 1-19.

Endrawati, H., Manulang, C., & Widianingsih, W. 2012. Densitas dan Kadar Total Lipid Mikroalga *Spirulina platensis* yang Dikultur pada Fotoperioda yang Berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*, 1(3), 33-38.

Fagundes, M. B., Falk, R. B., Facchi, M. M. X., Vendruscolo, R. G., Maroneze, M. M., Zepka, L. Q., ... dan Wagner, R. (2019). Insights in cyanobacteria lipidomics: A sterols characterization from *Phormidium autumnale* biomass in heterotrophic cultivation. *Food Research International*, 119, 777-784.

Fagundes, M. B., Vendruscolo, R. G., dan Wagner, R. (2020). Sterols from microalgae. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products* (pp. 573-596). Academic Press.

Fakhri, M., Antika, P. W., Ekawati, A. W., & Arifin, N. B. (2020). Growth, Pigment and Protein Production of *Spirulina platensis* under different Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> concentrations. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 9(1), 38-47.

Fan, X., Bai, L., Zhu, L., Yang, L., & Zhang, X. (2014). Marine algae-derived bioactive peptides for human nutrition and health. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(38), 9211-9222.

Fathurohman, M., Pratita, A. T. K., Wardani, G. A., Setiawan, F., Lestari, T., Nofianti, T., ... & Nurdianti, L. (2021). PENINGKATAN KESEHATAN MASYARAKAT MELALUI PENGENALAN DIVERSIFIKASI PRODUK NUTRASETIKAL DI DESA BUNDER JAWA BARAT. *JMM (Jurnal Masyarakat Mandiri)*, 5(4), 1950-1958.

Fayad, S., R. Nehme., M. Tannoury., E. Lesellier., C. Pichon and P. Morin. 2017. Macroalga *Padina pavonica* water extracts obtained by pressurized liquid extraction and microwave-assisted extraction inhibit hyaluronidase activity as shown by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 1497: 19 – 27.

Fernández-Musoles, R., Manzanares, P., Burguete, M. C., Alborch, E., dan Salom, J. B. (2013). In vivo angiotensin I-converting enzyme inhibition by long-term intake of antihypertensive lactoferrin hydrolysate in spontaneously hypertensive rats. *Food Research International*, 54(1), 627-632.

Figuroa, F. L., Jerez, C. G., & Korbee, N. (2013). Use of in vivo chlorophyll fluorescence to estimate photosynthetic activity and biomass productivity in microalgae grown in different culture systems. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41(5), 801-819.

Firyanto, R., Kusumo, P., dan Yuliasari, I. E. (2020). Pengambilan Minyak Atsiri Dari Tanaman Sereh Menggunakan Metode Ekstraksi Soxhletasi. *CHEMTAG Journal of Chemical Engineering*, 1(1), 1-6.

Fradique, M., Batista, A. P., Nunes, M. C., Gouveia, L., Bandarra, N. M., dan Raymundo, A. (2013). *Isochrysis galbana* and *Diacronema vlkianum*



biomass incorporation in pasta products as PUFA's source. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 312-319.

Freitas, H. R. (2017). *Chlorella vulgaris* as a source of essential fatty acids and micronutrients: A brief commentary. *The Open Plant Science Journal*, 10(1).

Galasso, C., Gentile, A., Orefice, I., Ianora, A., Bruno, A., Noonan, D. M., ... & Brunet, C. (2019). Microalgal derivatives as potential nutraceutical and food supplements for human health: A focus on cancer prevention and interception. *Nutrients*, 11(6), 1226.

García, J. L., de Vicente, M., dan Galán, B. (2017). Microalgae, old sustainable food and fashion *nutraceuticals*. *Microbial biotechnology*, 10(5), 1017-1024.

Gerde, J.A., Montalbo-Lombay, M., Yao, L., Grewell, D., Tong Wanga, T., 2012. Evaluation of

Golmakani, M. T., Soleimani-Zad, S., Alavi, N., Nazari, E., dan Eskandari, M. H. (2019). Effect of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) powder on probiotic bacteriologically acidified feta-type cheese. *Journal of Applied Phycology*, 31(2), 1085-1094.

Gómez-Loredo, A., González-Valdez, J., dan Rito-Palomares, M. (2015). Insights on the downstream purification of fucoxanthin, a microalgal carotenoid, from an aqueous two-phase system stream exploiting ultrafiltration. *Journal of Applied Phycology*, 27(4), 1517-1523.

Gorji, N., Moeini, R., dan Memariani, Z. (2018). Almond, hazelnut and walnut, three nuts for neuroprotection in Alzheimer's disease: A neuropharmacological review of their bioactive constituents. *Pharmacological research*, 129, 115-127.

Gouveia, L., Coutinho, C., Mendonça, E., Batista, A. P., Sousa, I., Bandarra, N. M., & Raymundo, A. (2008). Functional biscuits with PUFA- $\omega$ 3 from *Isochrysis galbana*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(5), 891-896.

Grover, P., Bhatnagar, A., Kumari, N., Bhatt, A. N., Nishad, D. K., & Purkayastha, J. (2021). C-Phycocyanin-a novel protein from *Spirulina platensis*-In vivo toxicity, antioxidant and immunomodulatory studies. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1853-1859.

Guedes, A. C., Amaro, H. M., Barbosa, C. R., Pereira, R. D., dan Malcata, F. X. (2011). Fatty acid composition of several wild microalgae and cyanobacteria, with a focus on eicosapentaenoic, docosahexaenoic and  $\alpha$ -linolenic acids for eventual dietary uses. *Food Research International*, 44(9), 2721-2729.

Guedes, A. C., Sousa-Pinto, I., dan Malcata, F. X. (2015). Application of microalgae protein to aquafeed. In *Handbook of marine microalgae* (pp. 93-125). Academic Press.

Guo, S. L., Zhao, X. Q., Wan, C., Huang, Z. Y., Yang, Y. L., Alam, M. A., ... & Chang, J. S. (2013). Characterization of flocculating agent from the self-flocculating microalga *Scenedesmus obliquus* AS-6-1 for efficient biomass harvest. *Bioresource technology*, 145, 285-289.

Habibi, R., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2009). Sintesis Biodiesel dari Minyak Mikroalga *Nannochloropsis* Sp. Melalui Transesterifikasi Menggunakan Katalis Basa. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 13(1), 30-35.

Hadiyanto and Nais, P. Adetya. 2018. Biorefinery Mikroalga. 1, 1 (1). EF Press Digimedia, Semarang. ISBN 978-602-0962-53-5



- Hadiyanto, H., dan M Azim. (2012). Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan. UNDIP Press Semarang.
- Hadrich, B., I. Akremi., M. Dammak., M. Barkallah., I. Fendri and S. Abdelkafi. 2018. Optimization of lipids ultrasonic extraction and production from *Chlorella* sp. using response-surface methodology. *Lipids in Health and Diseases*. 17(87): 1 – 9.
- Hafsan, H. (2011). Mikrobiologi Umum. Alauddin University Press, Makassar.
- Halim, R., Gladman, B., Danquah, M. K., dan Webley, P. A. (2011). Oil extraction from microalgae for biodiesel production. *Bioresource technology*, 102(1), 178-185.
- Halim, R., M. K. Danquah and P. A. Webley. 2012. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: a review. *Biotechnol Adv*. 30: 709 – 732.
- Hamed, I., Özogul, F., Özogul, Y., dan Regenstein, J. M. (2015). Marine bioactive compounds and their health benefits: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 14(4), 446-465.
- Hamli, N. Hashim and Abdulla-Al- Asif. (2020). Isolation and Potential Culture of Phytoplankton Live Feed for Freshwater Mussels *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834). *Asian Journal of Animal Sciences*, 14: 127-136.
- Hanani, T., Widowati, I., & Susanto, A. B. (2020). Kandungan Senyawa Beta Karoten pada *Spirulina platensis* dengan Perlakuan Perbedaan Lama Waktu Pencahayaan. *Buletin Oseanografi Marina*, 9(1), 55-58.
- Handoyo, D. L. Y. (2020). Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34-41.
- Handra, I., Syafrizanti, S., & Chaidir, Z. (2019). Isolasi dan Identifikasi Mikroalga Sebagai Sumber Antioksidan dari Perairan Tirtasari Sonsang, Agam, Sumatera Barat. *Chimica et Natura Acta*, 7(1), 7-13.
- Harvey, P. J., dan Ben-Amotz, A. (2020). Towards a sustainable Dunaliella salina microalgal biorefinery for 9-cis  $\beta$ -carotene production. *Algal Research*, 50, 102002.
- Hasidah, M., & Rousdy, D. W. (2017). Kandungan pigmen klorofil, karotenoid dan antosianin daun *Caladium*. *Protobiont*, 6(2).
- Hejazian, M, Phan, D, T, Nguyen, N, T. (2016). Mass transport improvement in microscale using diluted ferrofluid and a non-uniform magnetic field. *RSC Advances*. 67
- Hendriyani, R., M. Lutfhi dan L. C. Hawa. (2015). Ekstraksi antioksidan daun sirih merah kering (piper crotatum) dengan metode pra perlakuan ultrasonic assisted extraction (kajian perbandingan jenis pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 3(2): 33 – 38.
- Hendriyani, R., M. Lutfhi dan L. C. Hawa. 2015. Ekstraksi antioksidan daun sirih merah kering (piper crotatum) dengan metode pra perlakuan ultrasonic assisted extraction (kajian perbandingan jenis pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 3(2): 33 – 38.
- Henrikson R. 2009. Earth Food *Spirulina*: How this remarkable blue-green algae can transform your health and our planet. Hawaii: Ronore Enterprises.
- Hernandez, D. A. E., I. P. I. Garza., J. R. Rodriguez., S. P. C. Bermundez., M. J. R. Alanis., G. S. A. Nava. S. G. Perez and R. P. Saldivar. (2016). Green extraction technologies for high-value metabolites from algae: a review. *Biofuels, Bioprod, Bioref*. 11(1): 215 – 231.
- Hidayah, N., Al-Baarri, A. N., & Budiarti, C. (2014). PERBEDAAN POLA PENGAMBILAN ENZIM LAKTOPEROKSIDASE DENGAN



MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 7(1).

Hidayati, S., & Nawansih, O. (2015). TEKNIK PEMANENAN MIKROALGA NANNOCHLOROPSIS sp. YANG DIKULTIVASI DALAM MEDIA LIMBAH CAIR KARET REMAH DENGAN FLOKULAN ALUMINIUM SULFAT [Harvesting Techniques Microalgae Nannochloropsis sp. Cultivated in Liquid Waste Rubber Crumb Media by Aluminium Sulphate Flocculant]. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, 20(2), 97-108.

Hlaing, S. A. A., Sadiq, M. B., dan Anal, A. K. (2020). Enhanced yield of *Scenedesmus obliquus* biomacromolecules through medium optimization and development of microalgae based functional chocolate. *Journal of food science and technology*, 57(3), 1090-1099.

Hu, H., Wang, H. F., Ma, L. L., Shen, X. F., dan Zeng, R. J. (2018). Effects of nitrogen and phosphorous stress on the formation of high value LC-PUFAs in *Porphyridium cruentum*. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(13), 5763-5773.

Hussein, A., Ibrahim, G., Kamil, M., El-Shamarka, M., Mostafa, S., & Mohamed, D. (2021). Spirulina-Enriched Pasta as Functional Food Rich in Protein and Antioxidant. *Biointerface Res. Appl. Chem*, 11, 14736-14750.

Innovationsfood. 2021. New-look microalgae: Bright future for light-coloured Chlorella. <https://innovationsfood.com/new-look-microalgae-bright-future-for-light-coloured-chlorella>. 20 Mei 2021

Iqbal, J dan C.Theegala. 2013. Microwave assisted lipid extraction from microalgae using biodiesel as co-solvent. *Algal Research*. 2: 34 – 42.

Jati, F., Hutabarat, J., & Herawati, V. E. (2012). Pengaruh Penggunaan Dua Jenis Media Kultur Teknis yang Berbeda Terhadap Pola Pertumbuhan, Kandungan Protein dan Asam Lemak Omega 3 EPA (*Chaetoceros gracilis*). *Journal Of Aquaculture Management and Technology*, 1(1), 221-235.

Julianti, E., Singgih, M., dan Mulyani, L. N. (2019). Optimization of extraction method and characterization of phycocyanin pigment from *Spirulina platensis*. *J. Math Fund. Sci*, 51, 168-176.

Kadji, M. H., M. R. J. Runtuwene dan G. Citraningtyas. (2013). Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun soyogik (*saurada bracteosa* DC). FMIPA UNSTRAT. Manado.

Katiyar, R., dan Arora, A. (2020). Health promoting functional lipids from microalgae pool: A review. *Algal Research*, 46, 101800.

Keerthi, S., Koduru, U. D., Venkata, S. R. D., dan Sarma, N. S. (2016). Cysted forms of halophilic microalga *Dunaliella salina* under different stress conditions. *Current Science*, 111(2), 261-262.

Kim, G. Y., Son, J., Han, J. I., dan Park, J. K. (2021). Inertial Microfluidics-Based Separation of Microalgae Using a Contraction–Expansion Array Microchannel. *Micromachines*, 12(1), 97.

Kim, H. M., Oh, C. H., & Bae, H. J. (2017). Comparison of red microalgae (*Porphyridium cruentum*) culture conditions for bioethanol production. *Bioresource technology*, 233, 44-50.

Kim, J. H., Affan, A., Jang, J., Kang, M. H., Ko, A. R., Jeon, S. M., ... dan Kang, D. H. (2015). Morphological, molecular, and biochemical characterization of astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus* sp. KORDI03 (*Haematococcaceae*, Chlorophyta) isolated from Korea. *Journal of microbiology and biotechnology*, 25(2), 238-246.



Klamczynska, B., dan Mooney, W. D. (2017). Heterotrophic microalgae: a scalable and sustainable protein source. In *Sustainable protein sources* (pp. 327-339). Academic Press.

Koo, S. Y., K. H. Cha., D. G. Song., D. Chung and C. H. Pan. (2012). Optimization of pressurized liquid extraction of zeaxanthin from *Chlorella ellipsoidea*. *J Appl Phycol*. 24: 725 – 730.

Koru, E. (2012). Earth food *Spirulina* (Arthrospira): production and quality standards. *Food additive*, 191-202.

Koyande, A. K., Chew, K. W., Rambabu, K., Tao, Y., Chu, D. T., dan Show, P. L. (2019). Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Science and Human Wellness*, 8(1), 16-24.

Kumar, M., Patel, A. B., Keer, N. R., Mandal, S. C., Biswas, P., & Das, S. (2018). Utilization of unconventional dietary energy source of local origin in aquaculture: Impact of replacement of dietary corn with tapioca on physical properties of extruded fish feed. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(2), 2324-2329.

Kurnia, D. (2018). Fatty acid analysis of marine microalgae chlorella sp. In modified medium used gas chromatography-mass spectrometry (gc-ms). *Journal of Pharmacopolium*, 1(1).

Lasminingrat, L., & Efriza, E. (2020). PEMBANGUNAN LUMBUNG PANGAN NASIONAL: STRATEGI ANTISIPASI KRISIS PANGAN INDONESIA. *Jurnal Pertahanan & Bela Negara*, 10(3), 243-260.

Lee, S. H., Xiong, J. Q., Ru, S., Patil, S. M., Kurade, M. B., Govindwar, S. P., ... & Jeon, B. H. (2020). Toxicity of benzophenone-3 and its biodegradation in a freshwater microalga *Scenedesmus obliquus*. *Journal of hazardous materials*, 389, 122149.

Leong, H. Y., Chang, C. K., Lim, J. W., Show, P. L., Lin, D. Q., dan Chang, J. S. (2019). Liquid Biphasic Systems for Oil-Rich Algae Bioproducts Processing. *Sustainability*, 11(17), 4682.

Levasseur, W., Perre, P., dan Pozzobon, V. (2020). A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. *Biotechnology advances*, 41, 107545.

Li, C., Yang, H., Xia, X., Li, Y., Chen, L., Zhang, M., ... dan Wang, W. (2013). High efficient treatment of citric acid effluent by *Chlorella vulgaris* and potential biomass utilization. *Bioresource technology*, 127, 248-255.

Li, L., Zhao, X., Wang, J., Muzhingi, T., Suter, P. M., Tang, G., & Yin, S. A. (2012). *Spirulina* can increase total-body vitamin A stores of Chinese school-age children as determined by a paired isotope dilution technique. *Journal of nutritional science*, 1.

Liau, B. C., C. T. Shen., F. P. Liang., S. E. Hong., S. L. Hsu., T. T. Jong and C. M. J. Chang. 2010. Supercritical fluids extraction and anti-solvent purification of carotenoids from microalgae and associated bioactivity. *J Supercrit Fluids*. 55: 169 – 175.

Liu, Q., Pang, T., Li, L., Liu, J., dan Lin, W. (2014). *Isochrysis* sp. IOAC724S, a newly isolated, lipid-enriched, marine microalga for lipid production, and optimized cultivation conditions. *Biomass and Bioenergy*, 60, 32-40.

Llompert, M., Garcia-Jares, C., Celeiro, M., dan Dagnac, T. (2018). Microwave-Assisted Extraction. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*.

Lu, X., Nan, F., Feng, J., Lv, J., Liu, Q., Liu, X., dan Xie, S. (2020). Effects of Different Environmental Factors on the Growth and Bioactive Substance



Accumulation of *Porphyridium purpureum*. *International journal of environmental research and public health*, 17(7), 2221.

Luengo, E., Álvarez, I., Raso, J. (2014) Improving carotenoid extraction from tomato waste by pulsed electric fields, *Front Nutr.*, 1, 12.

Maleta, H. S., Indrawati, R., Limantara, L., dan Brotosudarmo, T. H. P. (2018). Ragam metode ekstraksi karotenoid dari sumber tumbuhan dalam dekade terakhir (Telaah Literatur). *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*, 13(1), 40-50.

Maligan, J. M., A. P. Marditjan., W. D. R. Putri. (2015). Analisis senyawa bioaktif ekstrak mikroalga laut *Tetraselmis chuii* sebagai sumber antioksidan alami. *J.REKAPANGAN*. 9(2): 1 – 10.

Mamuaja, C. F. (2017). Lipida. Manado : Unsrat Press

Marantha, H. A., & Rustanti, N. (2014). KANDUNGAN ZAT GIZI, SIFAT FISIK, DAN TINGKAT PENERIMAAN ES KRIM KACANG HIJAU DENGAN PENAMBAHAN SPIRULINA (Doctoral dissertation, Diponegoro University).

Markou, G., Angelidaki, I., dan Georgakakis, D. (2012). Microalgal carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels. *Applied microbiology and biotechnology*, 96(3), 631-645.

Martinez-Goss, Milagrosa R. Windell L. Rivera, dan Nerissa K. Torreta. 2020. Methods in

Matos, J., Cardoso, C., Bandarra, N. M., dan Afonso, C. (2017). Microalgae as healthy ingredients for functional food: a review. *Food dan function*, 8(8), 2672-2685.

McNichol, J., K. M. MacDougall., J. E. Melanson and P. J. McGinn. (2012). Suitability of Soxhlet extraction to quantify microalgal fatty acids as determined y comparison with in situ transesterification. *Lipids*. 47: 195 – 207.

Milledge, J. J. (2011). Commercial application of microalgae other than as biofuels: a brief review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 10(1), 31-41.

Mirzayanti, Y. W., Purwaningsih, D. Y., Faida, S. N., & Istifara, N. (2020). Proses Ekstraksi Minyak Alga Chlorella. Sp menggunakan Metode Sokhletasi. *Reka Buana: Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, 5(1), 12-19.

Miyawaki, B., Mariano, A. B., Vargas, J. V. C., Balmant, W., Defrancheschi, A. C., Corrêa, D. O., ... dan Kava, V. M. (2021). Microalgae derived biomass and bioenergy production enhancement through biogas purification and wastewater treatment. *Renewable Energy*, 163, 1153-1165.

Mobin, S. M., Chowdhury, H., dan Alam, F. (2019). Commercially important bioproducts from microalgae and their current applications—A review. *Energy Procedia*, 160, 752-760.

Mubarak, M., A. Shaija and T. V. Suchithra. (2015). A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production. *Algal Research*. 7: 117 – 123.

Mudimu, O., Koopmann, I. K., Rybalka, N., Friedl, T., Schulz, R., & Bilger, W. (2017). Screening of microalgae and cyanobacteria strains for  $\alpha$ -tocopherol content at different growth phases and the influence of nitrate reduction on  $\alpha$ -tocopherol production. *Journal of Applied Phycology*, 29(6), 2867-2875.

Muga, M. A., dan Chao, J. C. (2014). Effects of fish oil and spirulina on oxidative stress and inflammation in hypercholesterolemic hamsters. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 1-10.



Mustafa, A and C. Turner. 2011. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Anal Chim Acta*. 703(1): 8 – 18.

Mutanda, T., Ramesh, D., Karthikeyan, S., Kumari, S., Anandraj, A., dan Bux, F. (2011). Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. *Bioresource technology*, 102(1), 57-70.

Ngo, D. H., Vo, T. S., Ngo, D. N., Wijesekara, I., dan Kim, S. K. (2012). Biological activities and potential health benefits of bioactive peptides derived from marine organisms. *International journal of biological macromolecules*, 51(4), 378-383.

Niko, N., & Atem, A. (2020). Persoalan Kerawanan Pangan pada Masyarakat Miskin di Wilayah Perbatasan Entikong (Indonesia-Malaysia) Kalimantan Barat. *Jurnal Surya Masyarakat*, 2(2), 94-104.

Noer, A. H., & Dessy, A. (2012). Potensi mikroalga sebagai sumber biomasa dan pengembangan produk turunannya. *Teknik*, 33(2), 58-66.

Norris, R., dan FitzGerald, R. J. (2013). Antihypertensive peptides from food proteins. In *Bioactive food peptides in health and disease* (pp. 45-72). InTech Publishers.

Nur, M. A. (2014). Potensi mikroalga sebagai sumber pangan fungsional di Indonesia. *Eksergi*, 11(2), 1-6.

Ohse, S., Derner, R. B., Ozório, R. Á., Corrêa, R. G., Furlong, E. B., dan Cunha, P. C. R. (2015). Lipid content and fatty acid profiles in ten species of microalgae. *Idesia*, 33(1), 93-101.

Ördög, V., Stirk, W. A., Bálint, P., Lovász, C., Pulz, O., dan van Staden, J. (2013). Lipid productivity and fatty acid composition in *Chlorella* and *Scenedesmus* strains grown in nitrogen-stressed conditions. *Journal of applied phycology*, 25(1), 233-243.

Oukarroum, A., Zaidi, W., Samadani, M., & Dewez, D. (2017). Toxicity of nickel oxide nanoparticles on a freshwater green algal strain of *Chlorella vulgaris*. *BioMed research international*, 2017.

Pakravan, S., Akbarzadeh, A., Sajjadi, M. M., Hajimoradloo, A., & Noori, F. (2017). Partial and total replacement of fish meal by marine microalga *Spirulina platensis* in the diet of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Growth, digestive enzyme activities, fatty acid composition and responses to ammonia and hypoxia stress. *Aquaculture Research*, 48(11), 5576-5586.

Pan, J., C. Zhang., Z. Zhang and G. Li. (2014). Review of online coupling of sample preparation techniques with liquid chromatography. *Anal Chim Acta*. 815: 1 – 15.

Panagan, A. T., Yohandini, H., & Wulandari, M. (2013). Analisis kualitatif dan kuantitatif asam lemak tak jenuh omega-3, omega-6 dan karakterisasi minyak ikan patin (*Pangasius pangasius*). *Jurnal Penelitian Sains (JPS)*, 15(3).

Pan-utai, W., Atkonghan, J., Onsamark, T., & Imthalay, W. (2020). Effect of *Arthrospira* Microalga Fortification on Physicochemical Properties of Yogurt. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 8(2), 531-540.

Pan-utai, W., Atkonghan, J., Onsamark, T., dan Imthalay, W. (2020). Effect of *Arthrospira* Microalga Fortification on Physicochemical Properties of Yogurt. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 8(2), 531-540.

Park, H., Jung, D., Lee, J., Kim, P., Cho, Y., Jung, I., ... dan Lee, C. G. (2018). Improvement of biomass and fatty acid productivity in ocean cultivation of



Tetraselmis sp. using hypersaline medium. *Journal of applied phycology*, 30(5), 2725-2735.

Parmar, R. S., dan Singh, C. (2018). A comprehensive study of eco-friendly natural pigment and its applications. *Biochemistry and biophysics reports*, 13, 22-26.

Paulo, M. C., Marques, J., Cardoso, C., Coutinho, J., Gomes, R., Gomes-Bispo, A., ... dan Bandarra, N. M. (2020). The development of a novel functional food: bioactive lipids in yogurts enriched with *Aurantiochytrium* sp. biomass. *Food dan Function*, 11(11), 9721-9728.

Paulo, M. C., Marques, J., Cardoso, C., Coutinho, J., Gomes, R., Gomes-Bispo, A., ... & Bandarra, N. M. (2020). The development of a novel functional food: bioactive lipids in yogurts enriched with *Aurantiochytrium* sp. biomass. *Food & Function*, 11(11), 9721-9728.

Pereira, H., Silva, J., Santos, T., Gangadhar, K. N., Raposo, A., Nunes, C., ... dan Varela, J. (2019). Nutritional potential and toxicological evaluation of *Tetraselmis* sp. CTP4 microalgal biomass produced in industrial photobioreactors. *Molecules*, 24(17), 3192.

Perez-Garcia, O., Escalante, F. M., De-Bashan, L. E., dan Bashan, Y. (2011). Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. *Water research*, 45(1), 11-36.

Pina-Pérez, M. C., Brück, W., Brück, T., dan Beyrer, M. (2019). Microalgae as healthy ingredients for functional foods (No. CHAPTER). Elsevier/Academic Press.

Plaza, M., S. Santoyo., L. Jaime., B. Avalo., A. Cifuentes., G. Reglero., G. G. B. Reina., F. J. Senorans and E. Ibanez. (2012). Comprehensive characterization of the functional activities of pressurized liquid and ultrasound-assisted extracts from *Chlorella vulgaris*. *LWT-Food Science and Technology*. 46(1): 245 – 253.

Potvin, G., & Zhang, Z. (2010). Strategies for high-level recombinant protein expression in transgenic microalgae: a review. *Biotechnology advances*, 28(6), 910-918.

Prata, J. C., Lavorante, B. R., Maria da Conceição, B. S. M., & Guilhermino, L. (2018). Influence of microplastics on the toxicity of the pharmaceuticals procainamide and doxycycline on the marine microalgae *Tetraselmis chuii*. *Aquatic toxicology*, 197, 143-152.

Prayudi Eko, S., Yudha, S., & Bakti, J. (2013). Optimalisasi ekstraksi dan uji stabilitas phyocyanin dari mikroalga *Spirulina platensis*. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 2(2), 61-67.

Prinanda, A. D., Istirokhatun, T., & Praharyawan, S. (2017). Pemanfaatan Air Lindi Tpa Jatibarang Sebagai Media Alternatif Kultivasi Mikroalga Untuk Perolehan Lipid (Doctoral dissertation, Diponegoro University).

Probosari, E. (2019). Pengaruh protein diet terhadap indeks glikemik. *JNH (Journal of Nutrition and Health)*, 7(1), 33-9.

Purwanti, A. (2015). Pengaruh Proses Ekstraksi Bertekanan Dalam Pengambilan Lipid Dari Mikroalga Jenis *Nannochloropsis* Sp. Dengan Pelarut Metanol. *JURNAL TEKNOLOGI TECHNOSCIENTIA*, 112-117.

Puspita, I. G. A. P. A., & Anggreni, A. M. D. (2017). Pengaruh penambahan  $\text{NaNO}_3$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  pada media BG-11 terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 5(1), 1-11.





- Putra, I. K. R. W., Anggreni, A. A. M. D., & Arnata, I. W. (2014). Pengaruh jenis media terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 3(2), 40-46.
- Putra, R. T. (2020). Kajian Manfaat Senyawa Aktif dalam Ekstrak Kulit Buah Coklat (*Theobroma Cacao*). *Jurnal Ilmiah Poli Rekayasa*, 15(2), 13-19.
- Putri, D. S., Marianah, M., & Ihromi, S. (2019). Isolasi Mikroalga Laut dari Pantai Mapak Pulau Lombok. *Jurnal Agrotek Ummat*, 5(2), 91-96.
- Rachana, C. R., dan Lyju Jose, V. (2014). Three phase partitioning-a novel protein purification method. *Int. J. Chem. Tech. Res*, 6(7), 3467-3472.
- Rachana, C. R., dan Lyju Jose, V. (2014). Three phase partitioning-a novel protein purification method. *Int. J. Chem. Tech. Res*, 6(7), 3467-3472.
- Rafaelina, M., Rustam, Y., & Amini, S. (2015). Pertumbuhan Dan Aktivitas Antioksidan Dari Mikroalga. *Bioma*, 11(1), 12-21.
- Rafay, R., Uratani, J. M., Hernandez, H. H., & Rodríguez, J. (2020). Growth and nitrate uptake in *Nannochloropsis gaditana* and *Tetraselmis chuii* cultures grown in sequential batch reactors. *Frontiers in Marine Science*, 7, 77.
- Rafiquzzaman, S. M., Rahman, M. A., dan Kong, I. S. (2017). Ultrasonic-Assisted Extraction of Carrageenan. In *Seaweed Polysaccharides* (pp. 75-81)
- Rahmawati, S. I. (2018). Teknik ekstraksi tanaman obat menggunakan pressurized liquid extraction. *Biotrends*. 9(1): 20 – 25.
- Ramaraj, R., Unpaprom, Y., dan Dussadee, N. (2016). Cultivation of green microalga, *Chlorella vulgaris* for biogas purification. *IJNTR*, 3, 117-122.
- Ramdanawati, L., Kurnia, D., Tyas, V. A. K., & Nurachman, Z. (2018). Analisis Komposisi Asam Lemak dari Mikroalga Laut *Navicula salinicola*. *Al-Kimia*, 6(2), 141-149.
- Ramluckan, K., K. G. Moodley and F. Bux. (2014). An evaluation of the efficacy of using selected solvents for the extraction of lipids from algal biomass by the Soxhlet extraction method. *Fuel*. 116: 103 – 108.
- Randhir, A., Laird, D. W., Maker, G., Trengove, R., dan Moheimani, N. R. (2020). Microalgae: a potential sustainable commercial source of sterols. *Algal Research*, 46, 101772.
- Rani, K., Sandal, N., dan Sahoo, P. K. (2018). A comprehensive review on *Chlorella*-its composition, health benefits, market and regulatory scenario. *The Pharma Innovation Journal*, 7(7), 584-589.
- Raso-Pueyo, J., Heinz, V. (eds.) (2010) *Pulsed electric fields technology for the food industry: fundamentals and applications*, Springer Science dan Business Media, New York.
- Rodriguez, E. T., M. A. Pardal, N. S. Gonzalez., S. M. Lorenzo and M. F. Alpendurada. (2016). A single-step pesticide extraction and clean-up multi-residue analytical method by selective pressurized liquid extraction followed by on-line solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for complex matrices. *Journal of Chromatography A*. 1452: 1 – 31.
- Ryckebosch, E., Bruneel, C., Muylaert, K., dan Foubert, I. (2012). Microalgae as an alternative source of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids. *Lipid Technology*, 24(6), 128-130.
- Safafar, H., Van Wagenen, J., Møller, P., & Jacobsen, C. (2015). Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to the antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. *Marine drugs*, 13(12), 7339-7356.



Safi, C., Charton, M., Pignolet, O., Pontalier, P. Y., dan Vaca-Garcia, C. (2013). Evaluation of the protein quality of *Porphyridium cruentum*. *Journal of applied phycology*, 25(2), 497-501.

Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y., dan Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265-278.

Salama, E. S., Kim, H. C., Abou-Shanab, R. A., Ji, M. K., Oh, Y. K., Kim, S. H., dan Jeon, B. H. (2013). Biomass, lipid content, and fatty acid composition of freshwater *Chlamydomonas mexicana* and *Scenedesmus obliquus* grown under salt stress. *Bioprocess and biosystems engineering*, 36(6), 827-833.

Samarakoon, K. W., Kwon, O. N., Ko, J. Y., Lee, J. H., Kang, M. C., Kim, D., ... dan Jeon, Y. J. (2013). Purification and identification of novel angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from cultured marine microalgae (*Nannochloropsis oculata*) protein hydrolysate. *Journal of applied phycology*, 25(5), 1595-1606.

Sanchez, A., A. Cancela., R. Maceiras and V. Alfonsin. (2014). Lipids extraction from microalgae for biodiesel production. *International Renewable and Sustainable Energy Conference (IRSEC)*. 7: 921 – 924.

Sánchez, A., dan Vázquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. *Food Qual Saf* 1 (1): 29–46.

Sani, R. N., Nisa, F. C., Andriani, R. D., & Maligan, J. M. (2013). Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut *Tetraselmis chuii* [in press april 2014]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), 121-126.

Sanjeewa, K. K. A., Fernando, I. P. S., Samarakoon, K. W., Lakmal, H. H. C., Kim, E. A., Kwon, O. N., ... & Jeon, Y. J. (2016). Anti-inflammatory and anti-cancer activities of sterol rich fraction of cultured marine microalga *Nannochloropsis oculata*. *Algae*, 31(3), 277-287.

Saputro, B. R., E. Kusdiyantini dan H. P. Kusumaningrum. 2015. Pertumbuhan mikroalga *botryococcus braunii* sebagai penghasil lipid pada medium campuran antara air kelapa dan air laut. *Jurnal Biologi*. 4(4): 20 – 27.

Sari, E. M., Nurilmala, M., Abdullah, A., Dramaga, K. I. P. B., Agatis, J., & Barat, B. J. (2017). Profil asam amino dan senyawa bioaktif kuda laut *Hippocampus comes*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 9(2), 605-617.

Setiawan, A., & Handayani, D. (2017). PENGEMBANGAN TEKNOLOGI MICROWAVE ASSITED EXTRACTION (MAE) SEBAGAI ALTERNATIF PENINGKATAN KADAR ZINGIBEREN GINGER OIL DARI LIMBAH AMPAS JAHE INDUSTRI JAMU. *CENDEKIA EKSAKTA*, 1(2).

Setiawan, Y., Surachman, A., & Asthary, P. B. (2014). Pemanfaatan emisi gas CO2 untuk budidaya *Spirulina platensis* dalam upaya penurunan Gas Rumah Kaca (GRK). *Journal of Industrial Research (Jurnal Riset Industri)*, 8(2).

Seyidoglu, N., Inan, S., dan Aydin, C. (2017). A prominent superfood: *Spirulina platensis*. *Superfood and Functional Food The Development of Superfoods and Their Roles as Medicine*, 1-27.

Sharoba, A. M. (2017). *Spirulina: Functional Compounds and Health Benefits*. In *Plant Secondary Metabolites, Volume One* (pp. 263-306). Apple Academic Press.

Sheng, J., R. Vannela and B. E. Rittman. 2011. Evaluation of methods to extract and quantify lipids from *Synechocystis* PCC 6803. *Bioresource Technology*. 102: 1697 – 1703



- Sholihah, M. A., Ahmad, U., & Budiastara, I. W. (2017). Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksidan Kulit Manggis. *Jurnal keteknik pertanian*, 5(2).
- Silve, A, Leray, I, Poignard, C, Mir, L, M. (2016). Impact of external medium conductivity on cell membrane electroporation by microsecond and nanosecond electric pulses. *Nature Scientific Reports*. 6:19957
- Simic, S., Kosanic, M., & Rankovic, B. (2012). Evaluation of in vitro antioxidant and antimicrobial activities of green microalgae *Trentepohlia umbrina*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40(2), 86-91.
- Sirait, P. S., Setyaningsih, I., & Tarman, K. (2019). AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK Spirulina YANG DIKULTUR PADA MEDIA WALNE DAN MEDIA ORGANIK. *JPHPI*. 22(1) : 50-59.
- Siregar, F. A., & Makmur, T. (2020). Metabolisme lipid dalam tubuh. *Jurnal Inovasi Kesehatan Masyarakat*, 1(2), 60-66.
- Siregar, N. S. (2014). Karbohidrat. *Jurnal Ilmu Keolahragaan*, 13(02), 38-44.
- Sivaramkrishnan, R., dan Incharoensakdi, A. (2020). Plant hormone induced enrichment of *Chlorella* sp. omega-3 fatty acids. *Biotechnology for biofuels*, 13(1), 1-14.
- Song, X., Wang, J., Wang, Y., Feng, Y., Cui, Q., dan Lu, Y. (2018). Artificial creation of *Chlorella pyrenoidosa* mutants for economic sustainable food production. *Bioresource technology*, 268, 340-345.
- Soriano-Santos, J. (2010). Chemical composition and nutritional content of raw poultry meat. *Guerrero-Legarreta, I*, 467-491.
- Spanova, M., dan Daum, G. (2011). Squalene—biochemistry, molecular biology, process biotechnology, and applications. *European journal of lipid science and technology*, 113(11), 1299-1320.
- Suarsini, E dan Subandi. (2011). Utilization ultrasonic to increase the efficiency of oil extraction for microalgae indigenous isolates from pond Gresik, East Java. *IEEE First Conference on Clean Energy and Technology CET*.
- Sudha, P. N., Vijayalakshmi, K., Hemapriya, D., Saranya, M., dan Kim, S. K. (2020). Microalgal Efficiency for Wastewater Treatment. *Encyclopedia of Marine Biotechnology*, 1, 459-495.
- Sukmawan, I. M. A., Antara, N. S., & Amata, I. W. (2012). Optimization Salinity and Initial pH On The Biomass Production of *Nannochloropsis* sp. K-4. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 2(1), 19-28.
- Suter, I. K. (2013). Pangan fungsional dan prospek pengembangannya. In *Teknologi Pangan. Seminar Sehari dengan tema "Seminar Sehari dengan tema" Pentingnya Makanan Alamiah (Natural Food) Untuk Kesehatan Jangka Panjang* (pp. 1-17).
- Swanson, D., Block, R., dan Mousa, S. A. (2012). Omega-3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life. *Advances in nutrition*, 3(1), 1-7.
- Tang, G., & Suter, P. M. (2011). Vitamin A, nutrition, and health values of algae: *Spirulina*, *Chlorella*, and *Dunaliella*. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*, 1(2), 111-118.
- Tarento, T. D., McClure, D. D., Vasiljevski, E., Schindeler, A., Dehghani, F., & Kavanagh, J. M. (2018). Microalgae as a source of vitamin K1. *Algal research*, 36, 77-87.
- Tasman, A. M., Dharma, A., & Syafrizayanti, S. (2020). Isolasi dan identifikasi spesies mikroalga air tawar sebagai antioksidan dan antihiperlipidemik. *Jurnal Litbang Industri*, 10(1), 61-71.



- Tian, Y., Z. Xu., B. Zheng dan Y. M. Lo. (2013). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum*L.) seed oil. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20(2013): 202 – 208.
- Tork, M. B., Khalilzadeh, R., & Kouchakzadeh, H. (2017). Efficient harvesting of marine *Chlorella vulgaris* microalgae utilizing cationic starch nanoparticles by response surface methodology. *Bioresource technology*, 243, 583-588.
- Torres-Tiji, Y., Fields, F. J., dan Mayfield, S. P. (2020). Microalgae as a future food source. *Biotechnology advances*, 41, 107536.
- Triandini, E., Jayanatha, S., Indrawan, A., Putra, G. W., dan Iswara, B. (2019). Metode Systematic Literature Review untuk Identifikasi Platform dan Metode Pengembangan Sistem Informasi di Indonesia. *Indonesian Journal of Information Systems*, 1(2), 63-77.
- Uduman N, Qi Y, Danquah MK, Forde GM, Hoadley A. 2010. Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels. *J Renew Sustain Energy*. 2
- Ventura, S. P. M., Nobre, B. P., Ertekin, F., Hayes, M., Garcíá-Vaquero, M., Vieira, F., ... dan Palavra, A. M. F. (2017). Extraction of value-added compounds from microalgae. In *Microalgae-based biofuels and bioproducts* (pp. 461-483). Woodhead Publishing.
- Vidal, L., Ballot, A., Azevedo, S. M., Padiśák, J., dan Welker, M. (2021). Introduction to cyanobacteria. *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*, 163.
- Villarruel-López, A., Ascencio, F., dan Nuño, K. (2017). Microalgae, a potential natural functional food source—a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(4), 251-264.
- Volkman, J. K. (2016). Sterols in microalgae. *The physiology of microalgae*, 485-505.
- Vuppaladadiyam, A. K., Prinsen, P., Raheem, A., Luque, R., dan Zhao, M. (2018). Microalgae cultivation and metabolites production: a comprehensive review. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 12(2), 304-324.
- Wan, X., Li, T., Liu, D., Chen, Y., Liu, Y., Liu, B., .. & Zhao, C. (2018). Effect of marine microalga *Chlorella pyrenoidosa* ethanol extract on lipid metabolism and gut microbiota composition in high-fat diet-fed rats. *Marine drugs*, 16(12), 498.
- Wang, L., Jeon, Y. J., & Kim, J. I. (2020). In vitro and in vivo anti-inflammatory activities of a sterol-enriched fraction from freshwater green alga, *Spirogyra* sp. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(1), 1-9.
- Wang, S., Sirbu, D., Thomsen, L., Kuhnert, N., Ullrich, M. S., dan Thomsen, C. (2019). Comparative lipidomic studies of *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) and *Cylindrotheca closterium* (Bacillariophyceae) reveal their differences in lipid production under nitrogen starvation. *Journal of phycology*, 55(6), 1246-1257.
- Wati, A dan S. A. Motto. (2011). Ekstraksi minyak dari mikroalga jenis *Chlorella sp* berbantuan ultrasonic. *Prosiding Seminar Nasional Fundamental dan Aplikasi*. 1: 1 – 7.
- Wayama, M., Ota, S., Matsuura, H., Nango, N., Hirata, A., dan Kawano, S. (2013). Three-dimensional ultrastructural study of oil and astaxanthin accumulation during encystment in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *PLoS one*, 8(1), e53618.
- Wells, M. L., Potin, P., Craigie, J. S., Raven, J. A., Merchant, S. S., Helliwell, K. E., ... dan Brawley, S. H. (2017). Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *Journal of applied phycology*, 29(2), 949-982.



Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N. (2012) Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Research International*, 46, 505 – 513.

Winahyu, D. A., Anggraini, Y., Rustiati, E. L., Master, J., dan Setiawan, A. (2013). Studi Pendahuluan Mengenai Keanekaragaman Mikroalga di Pusat Konservasi Gajah, Taman Nasional Way Kambas. *Prosiding SEMIRATA 2013*, 1(1).

Woortman, D. V., Fuchs, T., Striegel, L., Fuchs, M., Weber, N., Brück, T. B., & Rychlik, M. (2020). Microalgae a superior source of folates: quantification of folates in halophile microalgae by stable isotope dilution assay. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, 481.

Wu, G. (2016). Dietary protein intake and human health. *Food dan function*, 7(3), 1251-1265.

Wu, Y. H., Hu, H. Y., Yu, Y., Zhang, T. Y., Zhu, S. F., Zhuang, L. L., ... dan Lu, Y. (2014). Microalgal species for sustainable biomass/lipid production using wastewater as resource: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 33, 675-688.

Xiong, Q., Liu, Y. S., Hu, L. X., Shi, Z. Q., Cai, W. W., He, L. Y., & Ying, G. G. (2020). Co-metabolism of sulfamethoxazole by a freshwater microalga *Chlorella pyrenoidosa*. *Water research*, 175, 115656.

Yan, Y. L., C. H. Yu., J. Chen., X. X. Li., W. Wang and S. Q. Li. (2011). Ultrasonic assisted extraction optimized by response surface methodology, chemical composition and antioksidan activity of polysaccharides from *Tremella mesenterica*. *Carbohydrate Polymers*. 83 (2011): 217 – 224.

Yanuhar, U. (2016). *Mikroalga Laut Nannochloropsis oculata*. Universitas Brawijaya Press.

Yulina, Y., Iba, W., & Hamzah, M. 2019. Pengaruh Konsentrasi Pupuk Organik Cair Dari Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) Yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Dan Kandungan Protein *Chlorella vulgaris*. *Jurnal Media Akuatika*, 5(1).

Zhu, Y., Zhao, X., Zhang, X., Liu, H., dan Ao, Q. (2021). Amino acid, structure and antioxidant properties of *Haematococcus pluvialis* protein hydrolysates produced by different proteases. *International Journal of Food Science dan Technology*, 56(1), 185-195.

Zouari, N., Abid, M., Fakhfakh, N., Ayadi, M. A., Zorgui, L., Ayadi, M., & Attia, H. (2011). Blue-green algae (*Arthrospira platensis*) as an ingredient in pasta: free radical scavenging activity, sensory and cooking characteristics evaluation. *International journal of food sciences and nutrition*, 62(8), 811-813.