



PENINGKATAN PRODUKSI BIOMASSA SEBAGAI STRATEGI JITU DALAM MEMPERCEPAT PRODUKSI BIODIESEL BERBASIS MIKROALGA DI INDONESIA

Enhancing Microalgae Biomass Production as an Excellent Strategy to Accelerate Microalgae-Based Biodiesel Production in Indonesia

Swastika Praharyawan

Pusat Riset Bioteknologi IPH, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Indonesia, Jl. Raya Bogor
Km 46, Cibinong, Jawa Barat 16911
Email: swastika.praharyawan@gmail.com

ABSTRACT

Microalgae have been widely known possessing excellent characteristics to be used as biodiesel feedstock on the commercial-scale production level. However, microalgal biodiesel is still not economically feasible to be mass-scale produced due to its high price compared to the fossil-based diesel. Therefore, many efforts have to be conducted in order to increase its feasibility. One of accurate ways to solve its constraint is maximizing the production of microalgal biomass which will increase its lipid and biodiesel productivity. The optimization of microalgal biomass production process could be conducted against the four main cultivation parameters, namely carbon dioxide (CO₂) supplementation, growth medium composition, cultivation environmental condition, and growth factors/hormones addition. The operational of microalgal cultivation by applying the optimum value will maximize its biomass production which will eventually increase its biodiesel productivity. This review specifically discusses the aforementioned parameters, including its essential role and the way on how to optimize those parameters in gaining maximum microalgal biomass production.

Keywords: *biomass productivity, CO₂ fixation, cultivation optimizations, growth conditions, microalgal growth*

ABSTRAK

Mikroalga diketahui memiliki karakteristik unggul sebagai bahan baku potensial dalam produksi biodiesel skala komersial. Namun, hal itu masih terbentur oleh tingginya harga produksi bila dibandingkan dengan bahan bakar diesel berbasis fosil. Oleh karena itu, berbagai upaya untuk meningkatkan kelayakan ekonominya harus dilakukan. Salah satu langkah jitu dalam memecahkan permasalahan tersebut adalah memaksimalkan produksi biomassa mikroalga, sehingga produktivitas lipid dan produktivitas biodiesel dapat meningkat. Optimasi produksi biomassa mikroalga dilakukan terhadap empat parameter utama kultivasi, seperti suplementasi karbon dioksida (CO₂), komposisi media pertumbuhan, optimasi kondisi lingkungan dan penambahan faktor/hormon pertumbuhan. Operasional kultivasi mikroalga pada kondisi optimal akan memaksimalkan produksi biomasanya hingga akhirnya dapat mencapai produktivitas biodiesel yang maksimal. Artikel tinjauan ini secara khusus membahas keempat parameter tersebut di atas, termasuk perannya dalam kultivasi mikroalga serta bagaimana mengoptimalkannya agar dapat menghasilkan biomassa yang maksimal.

Kata Kunci: *fiksasi CO₂, kondisi pertumbuhan, optimasi kultivasi, pertumbuhan mikroalga, produktivitas biomassa*

PENDAHULUAN

Menipisnya ketersediaan cadangan energi berbasis fosil di Indonesia mendorong terciptanya upaya penelusuran sumber-sumber bahan baku energi yang baru dan terbarukan. Berdasarkan atas Peraturan Presiden Republik Indonesia No. 5 tahun 2006 tentang kebijakan energi nasional, bauran energi nasional tahun 2025 menetapkan target sebesar 17% untuk energi terbarukan dimana biomassa termasuk salah satu di dalamnya. Peningkatan bauran energi non-fosil meningkat menjadi 15% yang terdiri atas biofuel, geotermal, energi berbasis biomassa, nuklir, energi hidro, energi solar, dan angin (Mujiyanto dan Tiess 2013). Salah satu sumber energi terbarukan yang kini sudah banyak diaplikasikan di Indonesia adalah biodiesel yang bersumber dari minyak kelapa sawit, mengingat Indonesia merupakan negara penghasil minyak kelapa sawit terbesar di dunia. Kelapa sawit sendiri pada mulanya banyak diaplikasikan terutama di dunia pangan, dan tidak diperuntukkan sebagai bahan baku energi (Harahap et al. 2019). Namun, saat ini aplikasinya sebagai bahan baku energi justru menjadi andalan dalam pemenuhan kebutuhan energi nasional yang berasal dari biodiesel. Penggunaan kelapa sawit sebagai bahan baku energi terbarukan dikhawatirkan akan menciptakan masalah baru, yaitu terjadinya krisis pangan versus energi, dimana harga kedua produk tersebut saling bersaing sebagai akibat dari penggunaan sumber bahan baku yang sama (Lam et al. 2009). Oleh karena itu, sumber lain bahan baku biodiesel harus ditemukan demi keberlangsungan dan kewajaran harga produksi biodiesel di Indonesia.

Menurut Lim dan Teong (2010), 75% dari total biaya produksi biodiesel berasal dari bahan bakunya. Oleh karena itu, agar harga biodiesel tetap kompetitif jika dibandingkan dengan diesel berbasis fosil, maka pemilihan bahan baku biodiesel menjadi sangat krusial. Beberapa hal yang patut dipertimbangkan dalam memilih bahan baku biodiesel, antara lain ketersediaannya harus melimpah dan dapat diperoleh dengan harga yang rendah, demi menjaga harga biodiesel se-kompetitif mungkin. Selain kedua hal utama tersebut, beberapa parameter yang juga harus dimiliki oleh bahan baku biodiesel adalah kandungan lipid yang tinggi, profil asam lemak yang sesuai untuk peruntukkan biodiesel, input agrikultur (pupuk, air, area) yang rendah, pertumbuhan yang baik, pemanenan yang mudah, ketersediaan bibit yang stabil, serta tersedianya pasar untuk produk sampingannya (Moser 2009). Salah satu sumber bahan baku yang memenuhi semua kriteria yang telah ditetapkan tersebut adalah mikroalga (Chisti 2008).

Mikroalga adalah mikroorganisme fotosintetik yang dapat tumbuh dengan cepat dan mampu hidup di berbagai lingkungan yang ekstrim. Mikroalga memiliki struktur uniselular atau multiselular sederhana, contohnya antara lain *Spirulina*, *Chlorella*, *Nannochloropsis* dan lain-lain (Islam et al. 2017). Dibandingkan dengan organisme fotosintetik lain yang menjadi bahan baku biodiesel, proses fotosintesis pada mikroalga lebih efisien, sehingga laju pertumbuhan dan produksi biomasnya lebih tinggi (Chisti 2008). Tabel 1 menunjukkan perbandingan produktivitas biodiesel antara berbagai jenis bahan baku, termasuk mikroalga dengan kandungan lipid rendah, menengah dan tinggi. Dari Tabel 1 tersebut dapat dilihat

Tabel 1. Perbandingan produktivitas beberapa bahan baku biodiesel (Mata et al. 2010)

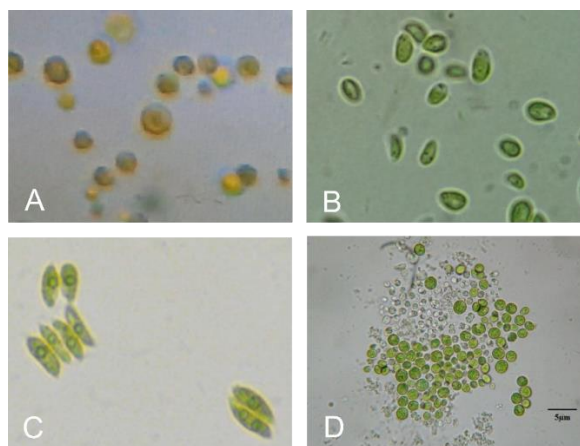
Jenis Organisme	Produktivitas Minyak (L/ha/tahun)	Lahan Yang Dibutuhkan (m ² tahun/kg biodiesel)	Produktivitas Biodiesel (kg biodiesel/ha/tahun)
Jagung	172	66	152
Kedelai	636	18	562
Jarak Pagar	741	15	656
Kanola	974	12	862
Bunga Matahari	1.070	11	946
Jarak	1.307	9	1.156
Kelapa Sawit	5.366	2	4.747
Mikroalga (rendah minyak)	58.700	0.2	51.927
Mikroalga (menengah)	97.800	0.1	86.515
Mikroalga (tinggi minyak)	136.900	0.1	121.104

bahwa penggunaan mikroalga sebagai bahan baku biodiesel akan menghasilkan produktivitas biodiesel yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan bahan baku lainnya, termasuk kelapa sawit, bahkan hingga mencapai 10 sampai 25 kali lipat (Mata et al. 2010). Atas dasar pertimbangan tersebut maka mikroalga kini menjadi salah satu biomassa potensial penghasil lipid yang dapat digunakan sebagai bahan baku dalam produksi biodiesel skala komersial (Chen et al. 2018). Beberapa contoh mikroalga yang berpotensi untuk dijadikan bahan baku biodiesel dapat dilihat pada Gambar 1, mikroalga A dan B merupakan mikroalga yang diisolasi dari alam Indonesia yang menunjukkan potensi sebagai penghasil biodiesel.

Ada banyak faktor yang menjadi kunci keberhasilan terwujudnya produksi biodiesel berbasis mikroalga pada skala komersial. Salah satu faktor utama adalah tingginya produksi biomassa mikroalga yang dapat dihasilkan (Griffiths dan Harrison 2009). Produksi biomassa mikroalga yang tinggi, paling tidak, erat terkait pada 2 hal, yaitu jenis mikroalga yang digunakan serta kondisi lingkungan kultivasi mikroalga. Untuk mencari jenis mikroalga yang sesuai, maka penelusuran alam Indonesia untuk mengisolasi berbagai jenis mikroalga merupakan suatu keharusan. Selanjutnya, penapisan mikroalga yang dilakukan harus menggunakan metode yang tepat, sehingga penilaian atas mikroalga potensial yang memiliki kemampuan produksi biomassa dan lipid yang tinggi dapat ditegakkan dengan sempurna. Di sisi lain, kondisi lingkungan dimana mikroalga dikultivasi harus dapat mendukung proses perbanyakan sel serta proses akumulasi lipid dalam batas waktu yang relatif cepat. Menurut lasimone et al. (2018), kondisi lingkungan kultivasi mikroalga meliputi beberapa faktor, yaitu nutrisi dalam media pertumbuhan, intensitas dan kualitas cahaya, serta suplementasi gas karbondioksida (CO₂).

Pemanfaatan mikroalga sebagai bahan baku biodiesel hingga kini masih belum dapat memenuhi kelayakan ekonominya (Branco-Vieira et al. 2020). Terdapat beberapa parameter yang masih harus dipenuhi agar produksi biodiesel dari mikroalga dapat dikatakan layak secara tekno-ekonomi. Parameter utama tersebut adalah

produktivitas mikroalga yang mencakup produktivitas lipid dan produktivitas biomassa, sementara parameter lainnya adalah biaya panen mikroalga dan biaya tenaga kerja (Borowitzka 1992, Griffiths dan Harrison 2009). Di sisi lain, produksi biodiesel dari mikroalga melalui pendekatan biorefineri memberi peluang akan terwujudnya produksi biodiesel dari mikroalga pada skala komersial, karena pemanfaatan residu mikroalga lebih lanjut masih memiliki nilai ekonomi yang mampu mendorong kelayakan prosesnya (Kim et al. 2015). Meski begitu, selama parameter produktivitas biomassa seperti yang disebut di atas masih belum memenuhi taraf yang diinginkan, maka produksi biodiesel dari mikroalga pada skala komersial akan sangat sulit untuk terwujud. Perlu upaya intensif lebih lanjut agar dapat menemukan kondisi spesifik yang tepat sehingga biomassa mikroalga dalam jumlah yang melimpah dapat dihasilkan. Tinjauan ini akan secara spesifik membahas empat faktor esensial terkait kultivasi mikroalga yang dapat dioptimalkan untuk memaksimalkan produksi biomasanya, yaitu suplementasi CO₂, optimasi media pertumbuhan, kondisi lingkungan kultivasi dan penambahan faktor atau hormon pertumbuhan, serta penerapan keempat faktor tersebut di Indonesia dalam proses kultivasi mikroalga. Sistem kultivasi yang tepat untuk produksi biodiesel berbasis mikroalga pada skala komersial juga akan



Gambar 1. Foto mikroskopis beberapa mikroalga potensial penghasil biodiesel: A). *Chlorella vulgaris* (perbesaran 400 kali) (Koleksi Kelti MTDP); B). *Choricystis* sp. (perbesaran 1000 kali) (Praharyawan et al. 2018); C). *Scenedesmus obliquus* (Perbesaran 1200 kali) (Qu et al. 2020); D). *Nannochloropsis oculata* (Perbesaran 400 kali) (Jafari et al. 2021)

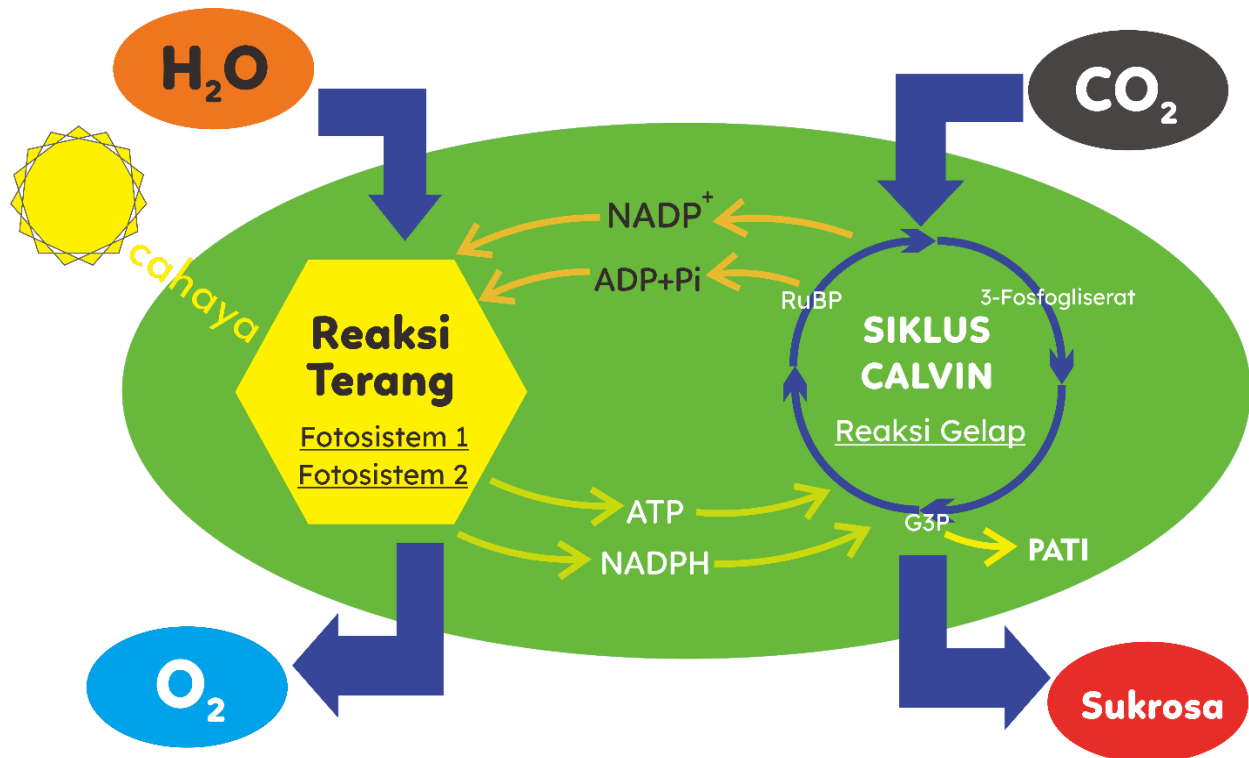
ikut dibahas pada tinjauan ini, begitu juga dengan gambaran singkat terkait analisa ekonomi produksi biodiesel di Indonesia.

SUPLEMENTASI GAS CO₂

Suplementasi gas karbon dioksida (CO₂) murni atau dalam bentuk campuran ke dalam kultur mikroalga merupakan suatu keharusan dengan tujuan untuk meningkatkan produksi biomassa mikroalga. Sel-sel mikroalga memiliki mekanisme pengonsentrasian karbon dimana salah satu struktur dalam sel, seperti pirenoid, berperan dalam mengonsentrasikan molekul CO₂ di sekitar enzim ribulose 1,5-bisfosfat karboksilase oksigenase (RuBisCo) sehingga proses fotosintesisnya dapat berlangsung dengan efisien (Price 2011). Di dalam siklus terang, mikroalga dapat menangkap energi yang berasal dari sumber cahaya untuk kemudian disimpan dan akan digunakan dalam proses konversi ADP dan NADP menjadi ATP dan NADPH, secara berturut-turut (Gambar 2). Selanjutnya, di dalam siklus gelap, molekul energi yang dihasilkan dari siklus terang tersebut akan dimanfaatkan untuk memfiksasi molekul CO₂ menjadi senyawa-senyawa organik melalui siklus Calvin-Benson (Zhao dan Su 2014). Proses asimilasi karbon inorganik pada semua

sianobakteria dan mikroalga eukariotik bergantung pada RuBisCo dan juga pada siklus Calvin-Benson. Untuk proses fiksasi satu molekul CO₂ dibutuhkan paling tidak dua molekul NADPH dan tiga molekul ATP yang berasal dari siklus terang (Ruiz-Ruiz et al. 2020). Biokonversi 1,83 kg CO₂ dapat menghasilkan 1 kg biomassa mikroalga (Jiang et al. 2013).

Ada banyak faktor yang memengaruhi kemampuan mikroalga dalam memfiksasi gas CO₂ dalam suatu sistem kultivasi. Faktor-faktor tersebut di antaranya adalah spesies mikroalga, medium pertumbuhan (nutrisi, komposisi), kondisi lingkungan saat kultivasi (intensitas cahaya, pH, temperatur), serta desain foto-bioreaktor yang digunakan. Fiksasi gas CO₂ oleh mikroalga sangat ditentukan oleh spesies mikroalga yang digunakan. Tabel 2 menunjukkan beberapa spesies mikroalga serta kemampuannya dalam memfiksasi gas CO₂ sekaligus memproduksi biomassa. *C. vulgaris* merupakan spesies mikroalga yang dalam beberapa penelitian telah menunjukkan kehandalannya dalam memfiksasi gas CO₂ (Anjos et al. 2013, Lababpour 2018, Barahoei et al. 2020, Dasan et al. 2020, Zheng et al. 2020). Spesies lainnya yang juga masih dalam genus *Chlorella* dan telah banyak digunakan dalam memfiksasi CO₂, yaitu *C.*



Gambar 2. Konsep fotosintesis pada mikroalga (reaksi terang dan gelap) (diadaptasi dari Lee et al. 2013)

Tabel 2. Fiksasi gas CO₂ dan produksi biomassa berbagai spesies mikroalga

Spesies Mikroalga	Konsentrasi CO ₂ (%)	Kecepatan Fiksasi CO ₂ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	Produksi Biomassa (g L ⁻¹)	Produktivitas Biomassa (g L ⁻¹ d ⁻¹)	Fotobioreaktor	Referensi
<i>C. vulgaris</i>	6.5	2.22	10.00	1.30	Fotobioreaktor kolom gelembung	Anjos et al. 2013
<i>C. sorokiniana</i>	3	–	0.652	0.081	Fotobioreaktor beraerasi	Kobayashi et al. 2015
<i>Botryococcus braunii</i>	10	–	0.410	–	–	Rodas-Zuluaga et al. 2021
<i>C. pyrenoidosa</i>	3	0.025	0.142	0.020	Fotobioreaktor biofilm	Zhang et al. 2018
<i>Scenedesmus</i> sp.	20	–	1.95	–	–	Rodas-Zuluaga et al. 2021
<i>S. vacuolatus</i>	–	1.15	4.41	0.63	–	García-Cubero et al. 2017
<i>Nannochloropsis</i> sp	11	0.221	1.23	–	–	Banerjee et al. 2019
<i>Neochloris oleoabundans</i>	6	–	0,8	0,1	Fotobioreaktor skala lab	Razzak 2019
<i>Ettlia</i> sp. YC001	5	0,56	3,10	0,19	Labu Erlenmeyer	Yoo et al. 2013
<i>S. obtusiusculus</i>	5	0,97	6	0,5	Fotobioreaktor bubble-column	Toledo-Cervantes et al. 2013

sorokiniana (Kumar et al. 2014, Kobayashi et al. 2015, Varshney et al. 2018) dan *C. pyrenoidosa* (Zhang et al. 2018). Selain dari genus *Chlorella*, mikroalga yang termasuk ke dalam genus *Scenedesmus* juga banyak digunakan untuk keperluan fiksasi gas CO₂. Penelitian yang dilakukan Maryshamy et al. (2019) mengungkap potensi mikroalga *Scenedesmus quadricauda* dalam memfiksasi CO₂ yang kemampuannya melebihi dua mikroalga lainnya yang juga digunakan dalam penelitian tersebut, yaitu *Chlorococcum humicola* dan *C. vulgaris*. Spesies *Scenedesmus* lainnya, *S. dimorphus*, juga menunjukkan kemampuan dalam memfiksasi gas CO₂ yang berasal dari simulasi gas buangan campuran yang komposisinya terdiri dari 15% CO₂, 400 ppm SO₂, 300 ppm NO dan gas N₂. Mikroalga *S. dimorphus* tersebut dapat bertoleransi dan tumbuh dengan baik di bawah pengaruh aliran gas dengan konsentrasi CO₂ yang berkisar antara 2–20% dengan produksi biomassa maksimum yang mencapai 5,17 g.L⁻¹ (Jiang et al. 2013). Mikroalga lainnya yang juga kerap digunakan dalam memfiksasi gas CO₂ adalah mikroalga yang berasal dari genus *Chlorococcum*, *Euglena* (Guldhe et al. 2015), dan *Dunaliella* (Jeon et al. 2013).

Medium pertumbuhan mikroalga merupakan faktor esensial lainnya pada

proses fiksasi CO₂, terutama dalam hal komposisi dan konsentrasi nutrisi, seperti nitrogen, fosfor, sulfur serta mikronutrien lain yang dibutuhkan selama memfiksasi CO₂ dan memproduksi biomassa (Mandalam dan Palsson 1998, Wang et al. 2008, Juneja et al. 2013, Choix et al. 2017). Kebutuhan nutrisi oleh mikroalga tergantung dari spesies mikroalga yang digunakan serta tujuan kultivasinya (Grobbelaar 2013). Nitrogen merupakan nutrisi esensial yang dibutuhkan oleh mikroalga dalam struktur molekul pigmen klorofilnya, khususnya untuk menghasilkan NADPH dan ATP pada reaksi terang fotosintesis. Produk reaksi terang tersebut diperlukan dalam proses fiksasi CO₂ yang terjadi pada siklus Calvin-Benson (Wang et al. 2008, Ruiz-Ruiz et al. 2020). Sementara itu, fosfor dibutuhkan dalam metabolisme mikroalga dalam bentuk fosfat anorganik (H₂PO₄⁻ dan HPO₄²⁻) untuk menyusun molekul DNA, RNA, ATP, membran sel, dan lain-lain. Fosfor merupakan unsur esensial penyusun ATP yang terlibat dalam proses selular yang berhubungan dengan transfer energi (fotofosforilasi) yang selanjutnya dimanfaatkan dalam proses fiksasi CO₂ (Gauthier dan Turpin 1997, Ruiz-Ruiz et al. 2020, Wu et al. 2021). Nutrisi medium lainnya yang juga berperan dalam mendukung fiksasi

CO₂ oleh mikroalga adalah sulfur, zat besi, magnesium dan unsur-unsur lainnya (Wang et al. 2008).

Kondisi lingkungan kultivasi juga memiliki peran esensial dalam proses fiksasi CO₂ oleh mikroalga (Wang et al. 2008). Ketersediaan cahaya sangat memengaruhi aktivitas fotosintesis mikroalga, karena cahaya berperan dalam penyediaan energi (ATP) dan juga pendonor elektron (NADPH) yang dibutuhkan dalam proses fiksasi molekul CO₂ (Ruiz-Ruiz et al. 2020). Ada dua parameter penting terkait suplai cahaya pada proses kultivasi mikroalga, yaitu intensitas dan kualitas cahaya. Dari perspektif cahaya sebagai gelombang, intensitas cahaya merupakan ukuran amplitudo dari gelombang cahaya yang memapar kultur mikroalga, sedangkan kualitas cahaya merupakan ukuran frekuensi atau panjang gelombang dari cahaya yang digunakan. Secara visual, kualitas cahaya dipahami sebagai jenis warna cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu yang akan beresonansi dengan pigmen fotosintesis yang dimiliki oleh mikroalga (Lehmuskero et al. 2018). Kesesuaian panjang gelombang atau frekuensi cahaya dengan jenis pigmen yang terkandung dalam mikroalga akan menentukan performa fotosintesis dan kemampuan fiksasi CO₂-nya (Ramanna et al. 2017, Seo et al. 2017). Penggunaan cahaya dengan panjang gelombang yang tidak tepat justru malah akan memberikan dampak yang tidak diinginkan pada pertumbuhan mikroalga. Sebagai contoh, penggunaan cahaya merah pada kultivasi mikroalga pada fase awal pertumbuhan memberikan efek yang berbeda dengan efek yang diberikan oleh CO₂. Cahaya merah lebih memiliki peran dalam produksi lipid ketimbang peningkatan pertumbuhan mikroalga (Yang dan Weathers 2015). Berbeda dengan cahaya merah, cahaya biru memberikan efek positif pada fase-fase awal pertumbuhan mikroalga (Ra et al. 2018). Oleh karena itu, suplementasi CO₂ dapat disinergikan dengan pencahayaan pada kultivasi mikroalga untuk memaksimalkan produksi biomassa sekaligus metabolit yang diinginkan (Yang dan Weathers 2015, Lehmuskero et al. 2018). Selain intensitas cahaya, kondisi lingkungan lain yang juga menentukan performa mikroalga dalam memfiksasi CO₂ adalah pH, karena nilai pH pada kultur mikroalga

memengaruhi kelarutan CO₂ yang berada dalam bentuk karbon inorganik (Acién et al. 2016). Preferensi pH mikroalga ada pada kisaran nilai pH alkali atau 7–10, karena pada nilai pH tersebut kelarutan CO₂ di dalam kultur akan meningkat (Morales et al. 2018). Faktor lingkungan lain yang juga memiliki peran esensial dalam penyediaan CO₂ bagi mikroalga di dalam kultur adalah temperatur. Secara umum, temperatur yang semakin meningkat akan mengurangi ketersediaan CO₂ bagi mikroalga, sehingga akan menghambat pertumbuhan mikroalga dan produksi biomasanya (Acién et al. 2016, Morales et al. 2018). Hal tersebut tentu harus menjadi perhatian manakala ingin memanfaatkan gas buangan sebagai sumber CO₂ bagi mikroalga, karena pada umumnya gas buangan memiliki temperatur yang cukup tinggi, yaitu berkisar 60–95 °C, sedangkan mikroalga biasanya tumbuh dengan baik pada temperatur 25–35 °C (Pires et al. 2012, Thomas et al. 2016).

Selain ketiga faktor di atas, desain reaktor juga merupakan faktor penting yang memiliki pengaruh signifikan bagi mikroalga dalam memfiksasi gas CO₂ dan memproduksi biomasanya. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Aghaalipour et al. (2020) menunjukkan bahwa fotobioreaktor (PBR) dengan desain silinder vertikal (d=5 cm; t=90 cm; vol=1,3 L) memberikan kondisi yang lebih baik bagi mikroalga untuk memfiksasi gas CO₂ ketimbang PBR botol (d=16,5 cm; t=31 cm; vol=4 L). Hal tersebut dapat terjadi diduga karena mikroalga yang dikultivasi dengan PBR silinder vertikal dimana ukuran diameternya lebih kecil serta permukaan paparan cahayanya lebih luas menerima lebih banyak energi cahaya dibandingkan dengan yang dikultivasi di dalam PBR botol. Paparan cahaya yang lebih banyak akan menyediakan pasokan energi yang lebih banyak pula untuk dapat digunakan dalam proses fiksasi CO₂ oleh mikroalga (Zhao dan Su 2014). Fotobioreaktor dengan mekanisme suplementasi gas CO₂ melalui aerasi *airlift* terbukti mampu memberikan kondisi optimum bagi mikroalga dalam memfiksasi gas CO₂. Beberapa spesies mikroalga, seperti *C. vulgaris*, *S. obliquus*, *Monoraphidium contortum*, *Psammothidium* sp. (Aghaalipour et al. 2020), *Coelastrum* sp. (Mousavi et al. 2018) dan *Spongiochloris* sp. (Abid et al. 2017), menunjukkan kemampuannya dalam

memfiksasi CO₂ secara optimal pada fotobioreaktor *airlift*.

Indonesia sebagai salah satu negara dengan jumlah PLTU terbanyak di dunia turut berperan serta dalam menyumbang emisi CO₂ ke atmosfer bumi. Diperkirakan, PLTU di dunia yang berbahan bakar batubara ini menghasilkan rata-rata emisi CO₂ tahunan hingga mencapai sekitar 6.463 juta ton (endcoal.org, <https://endcoal.org/global-coal-plant-tracker/>). Selain PLTU, pabrik semen juga disebut sebagai salah satu penyumbang CO₂ terbesar. PLTU dan pabrik semen di Indonesia merupakan sumber emisi gas CO₂ ke atmosfer bumi dan berpotensi untuk menjadi salah satu penyebab terjadinya perubahan iklim. Mikroalga dapat dimanfaatkan dalam mereduksi emisi CO₂ yang berasal dari kedua sumber tersebut. Hal tersebut melahirkan upaya simultan dalam mengatasi buangan gas CO₂ ke atmosfer bumi sekaligus dalam menghasilkan biomassa mikroalga tinggi lipid yang dapat dijadikan bahan baku dalam produksi biodiesel. Namun, pemanfaatan mikroalga dalam memitigasi gas CO₂ tersebut masih terhalang oleh beberapa persoalan yang dapat menghambat pertumbuhan mikroalga. Beberapa persoalan tersebut di antaranya adalah tingginya kandungan gas CO₂ di dalam gas buangan, tingginya kandungan gas polutan lain yang masih terkandung dalam gas buangan PLTU ataupun pabrik semen, seperti gas NO_x dan SO_x, dan tingginya temperatur gas buangan yang berasal dari kedua pabrik (Pires et al. 2012, Thomas et al. 2016). Solusi atas ketiga persoalan tersebut harus ditemukan agar mitigasi gas CO₂ yang berasal dari gas buangan PLTU dan pabrik semen oleh mikroalga dapat terwujud.

Hal pertama yang harus dilakukan adalah menemukan jenis mikroalga yang tepat yang dapat memenuhi beberapa kriteria, yaitu mampu bertahan pada lingkungan dengan kadar CO₂ tinggi, mampu memanfaatkan senyawa nitrat dan sulfat yang berasal dari gas NO_x dan SO_x terlarut, serta mampu beradaptasi pada lingkungan bertemperatur tinggi. Ketiga kriteria tersebut mutlak dimiliki oleh kandidat jenis mikroalga yang akan digunakan sebagai agen mitigasi CO₂ sekaligus sebagai bahan baku biodiesel. Menemukan jenis mikroalga yang memenuhi semua kriteria di atas amat sulit, karena

menemukan lingkungan di alam yang memiliki kondisi yang serupa dengan kriteria tersebut hampir tidak mungkin. Oleh karena itu, metode tertentu perlu dilakukan untuk 'memaksa' mikroalga terpilih memiliki semua kriteria yang dipersyaratkan. Salah satu metode yang menjanjikan untuk dilakukan adalah evolusi adaptif, yaitu pengkondisian mikroalga pada lingkungan artifisial yang diinginkan sehingga mendorong terjadinya akumulasi mutasi secara paralel (pada waktu yang sama dan saling terkoneksi) pada berbagai gen (Portnoy et al. 2011). Akumulasi mutasi yang terjadi pada mikroalga hingga memiliki karakteristik yang diinginkan akan tercapai setelah beberapa generasi (Cheng et al. 2017). Metode evolusi adaptif telah berhasil diaplikasikan pada beberapa mikroalga untuk tujuan yang bervariasi, seperti pada mikroalga *Chlorella*, *Haematococcus* dan *Spirulina* (Li et al. 2015, Cheng et al. 2016, Cheng et al. 2017). Oleh karena itu, aplikasi metode evolusi adaptif yang ditargetkan untuk mendapatkan mikroalga dengan karakteristik yang mampu secara maksimal memitigasi gas CO₂ yang berasal dari gas buangan PLTU dan pabrik semen dapat dilakukan dalam rangka mempercepat terwujudnya pemanfaatan biomassa mikroalga sebagai bahan baku dalam produksi biodiesel di Indonesia.

OPTIMASI MEDIA PERTUMBUHAN

Dalam suatu media pertumbuhan mikroalga, beberapa nutrisi esensial diperlukan untuk menyokong berlangsungnya fotosintesis dan perbanyakan sel mikroalga. Nutrisi esensial tersebut di antaranya adalah sumber karbon, sumber nitrogen, ion kalium, magnesium, natrium, kalsium sulfat, klorida, mikroelemen, vitamin dan agen pengkelat (Vonshak 1986). Menurut Grobbelaar (2013), setidaknya ada 3 nutrisi yang paling esensial dibutuhkan oleh mikroalga, yaitu karbon (C), nitrogen (N) dan fosfor (P). Rasio ketiga elemen tersebut dalam biomassa mikroalga kira-kira sebesar 106:16:1 (C:N:P), yang dikenal sebagai rasio Redfield (Daneshvar et al. 2021). Sumber karbon merupakan komponen utama yang harus disuplai ke dalam kultur mikroalga, baik itu dalam bentuk senyawa organik (heterotrof) ataupun inorganik (autotrof). Setelah karbon, nitrogen merupakan elemen esensial yang

berkontribusi signifikan dalam fotosintesis untuk menghasilkan biomassa mikroalga. Kandungan nitrogen di dalam biomassa mikroalga berkisar antara 1 hingga lebih dari 10%, bervariasi tergantung spesies, suplai dan ketersediaannya (Becker 1994). Komponen makronutrien ketiga adalah fosfor yang memiliki peran dalam transfer energi, serta biosintesis asam-asam nukleat (DNA dan RNA). Meski biomassa mikroalga mengandung kurang dari 1% elemen fosfor (P), namun perannya sangat penting dan bisa menjadi faktor pembatas pertumbuhan mikroalga (Grobelaar 2013).

Ketiga nutrisi esensial di atas harus terkandung di dalam media pertumbuhan dalam jumlah yang optimal. Namun, beberapa eksperimen optimasi harus dilakukan terlebih dahulu untuk bisa mendapatkan konsentrasi nutrisi yang optimal. Pendekatan statistika dapat digunakan untuk mencari konsentrasi optimal untuk setiap nutrisi esensial (C, N dan P), seperti metode permukaan respons atau *response surface methods (RSM)* (Ahuja et al. 2020). RSM merupakan kumpulan teknik statistika dan matematika untuk mendesain eksperimen, membuat model, menilai pengaruh variabel dan untuk menelusuri nilai atau kondisi optimal (Skorupskaite et al. 2015). Pendekatan menggunakan RSM dalam rangka menelusuri nilai optimum merupakan salah satu metode yang telah banyak digunakan untuk berbagai macam tujuan, termasuk dalam menelusuri konsentrasi optimal untuk nutrisi esensial yang digunakan di dalam media pertumbuhan mikroalga (Anjos et al. 2013, Dani et al. 2021). Tidak hanya itu, RSM juga dapat digunakan dalam menemukan kondisi optimum kultivasi mikroalga dalam menghasilkan biomassa ataupun memproduksi metabolit-metabolitnya, serta dalam menemukan kondisi optimum dalam proses panen dan pasca-panen biomassa mikroalga untuk mendapatkan skema produksi yang layak secara tekno-ekonomi (Chen et al. 2010, Kim et al. 2013, Fekrat et al. 2019). Pada Tabel 3 dapat dilihat aplikasi metode RSM pada kultivasi berbagai spesies mikroalga untuk mendapatkan nilai optimal faktor-faktor yang diuji, sehingga kondisi optimal akan didapat dan penerapannya akan meningkatkan respons yang diinginkan. RSM merupakan metode serba-guna yang dapat

diaplikasikan dalam berbagai proses yang terkait dengan bioproses mikroalga (Kirrolia et al. 2014).

Pendekatan statistika menggunakan RSM dalam menelusuri konsentrasi optimal nutrisi yang dibutuhkan mikroalga telah terbukti berhasil mendapatkan komposisi media yang dapat mendukung pertumbuhan dan produksi biomassa mikroalga. Penelitian oleh Ahuja et al. (2020) menunjukkan bahwa metode RSM, yaitu Box-Behnken, mampu dimanfaatkan untuk menemukan konsentrasi optimal dari kalium nitrat, glukosa dan natrium klorida untuk produksi biomassa serta pigmen beta-karoten mikroalga *D. salina*. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Skorupskaite et al. (2015) berhasil mengaplikasikan RSM untuk menemukan konsentrasi optimal nitrogen dan gliserol teknis (sumber karbon) untuk produksi biomassa mikroalga *Chlorella* sp. Dani et al. (2021) juga berhasil menelusuri konsentrasi optimal fosfor untuk meningkatkan produktivitas lipid (produksi biomassa dan kandungan lipid) mikroalga *C. vulgaris* dengan memanfaatkan pendekatan statistika RSM.

Dalam rangka mencapai maksimalisasi produksi biomassa mikroalga di Indonesia, maka langkah optimasi nutrisi (media) pertumbuhan wajib dilakukan pada saat menginisiasi riset dan pengembangan pemanfaatan spesies mikroalga terpilih sebagai kandidat bahan baku biodiesel. Penggunaan media dengan komposisi nutrisi optimum pada tahap awal produksi biodiesel berbasis biomassa mikroalga akan memastikan kelancaran menuju ke tahap-tahap selanjutnya. Hal tersebut juga berlaku ketika menggunakan limbah sebagai komponen media pertumbuhan mikroalga. Demi mencapai tahap optimum, maka komposisi limbah juga harus dioptimasi dengan cara disuplementasi menggunakan nutrisi lain (sintetis) sehingga sesuai dengan kebutuhan optimum mikroalga terpilih. Oleh karena itu, pengetahuan akan optimasi proses wajib dimiliki oleh para peneliti yang meneliti dan mengembangkan mikroalga sebagai bahan baku produksi biodiesel skala komersial. Pemanfaatan limbah sebagai komponen media pertumbuhan mikroalga pada tahap komersial akan meningkatkan nilai kelayakan ekonomi proses konversi biomassa mikroalga menjadi biodiesel. Hal

Tabel 3. Aplikasi RSM dalam meningkatkan produksi biomassa dan metabolit mikroalga

Jenis Mikroalga	Desain Eksperimen	Faktor yang Dioptimasi	Respons yang Dioptimasi	Persentase Peningkatan (%)	Referensi
<i>Chlorella</i> sp.	Central Composite Design (CCD)	pH; Konsentrasi sumber nitrogen; Konsentrasi fosfat	Produksi biomassa (Produktivitas biomassa)	20	Kim et al. 2012
<i>Dunaliella salina</i> DCCBC2	CCD	pH; Konsentrasi sumber nitrogen; Konsentrasi fosfat	Produksi biomassa (Produktivitas biomassa)	16	Kim et al. 2012
<i>C. vulgaris</i>	RSM	Intensitas cahaya; temperatur; pH; periode terang-gelap; kecepatan aerasi	Berat kering biomassa	152	Barahoei et al. 2020
<i>D. salina</i>	Box-Behnken	Komposisi media (konsentrasi glukosa; KNO ₃ ; NaCl)	Produktivitas biomassa; pigmen beta-karoten; dan lipid	117; 45; 57	Ahuja et al. 2020
<i>C. kessleri</i>	CCD	Temperatur; pH; interval waktu kultivasi mikroalga	Yield CaCO ₃ (biosemen) via kultivasi mikroalga	279	Irfan et al. 2019
<i>Scenedesmus</i> sp.	RSM	Temperatur; fotoperiode	Biomassa dan metabolit-metabolit primer	-	Yaakob et al. 2019
<i>Nannochloropsis</i> sp.	Box-Behnken	Konsentrasi CO ₂ ; konsentrasi sel awal; kecepatan alir gas	Produksi biomassa dan lipid	-	Thawechai et al. 2016
<i>Chlorella</i> spp.	Box-Behnken	pH; konsentrasi nitrat; fosfat dan glukosa	Biomassa; kandungan lipid, karbohidrat, klorofil dan protein	-	Kirrolia et al. 2014
<i>C. vulgaris</i> ISC23	CCD	Konsentrasi nitrat; fosfor; fotoperiode	Produksi lipid	100	Dani et al. 2021
<i>S. obliquus</i>	CCD	Konsentrasi NaNO ₃ ; K ₂ HPO ₄ ; NaCl; pH	Produktivitas biomassa; kandungan lipid	350; 50	Anuradha et al. 2021

tersebut didukung oleh ketersediaan limbah di Indonesia yang sangat bervariasi dan relatif mudah didapatkan. Mikroalga sendiri merupakan mikroorganisme yang dapat memanfaatkan beragam komponen organik dan anorganik yang melimpah terkandung pada berbagai jenis limbah, baik itu limbah agrikultur maupun limbah perkotaan (Shin et al. 2015).

OPTIMASI KONDISI KULTIVASI

Kultivasi mikroalga harus dilakukan dalam kondisi optimal sedemikian rupa sehingga proses fotosintesis yang meliputi reaksi terang dan reaksi gelap dapat berlangsung secara maksimal. Sejatinya, fotosintesis merupakan serangkaian tahapan yang bertujuan untuk menghasilkan karbohidrat melalui reduksi molekul CO₂

(reaksi gelap) dengan memanfaatkan NADPH dan ATP yang dihasilkan dari interaksi biofisika-kimia antara pigmen mikroalga dengan cahaya (reaksi terang) (Masojidek et al. 2013). Kondisi optimal kultivasi mikroalga diharapkan dapat memfasilitasi terjadinya reaksi terang dan reaksi gelap secara maksimal. Kondisi optimal untuk setiap spesies mikroalga tidaklah sama, tergantung dari karakteristik lingkungan pada lokasi pengambilan sampel mikroalga. Selain itu, kondisi optimal kultivasi mikroalga juga berbeda-beda tergantung dari tujuan kultivasi dilakukan, baik itu untuk memproduksi biomassa ataupun memproduksi metabolit tertentu. Oleh karena itu, proses optimasi kondisi kultivasi mikroalga harus selalu dilakukan pada suatu rangkaian proses produksi tertentu, dan dapat berubah serta harus dilakukan lagi manakala terdapat

perubahan pada kondisi yang telah berlaku sebelumnya. Kondisi kultivasi mikroalga meliputi beberapa faktor, antara lain cahaya, temperatur, pH, serta teknik pencampuran atau *mixing* (Richmond 2013).

Dalam kultivasi mikroalga secara autotrof ataupun miksotrof, suplai cahaya merupakan hal terpenting yang harus diperhatikan. Besaran intensitas dan kualitas cahaya yang diaplikasikan pada kultur mikroalga harus sesuai dengan spesies yang digunakan dimana setiap spesies mikroalga memiliki karakteristik dan kebutuhan yang berbeda terhadap energi cahaya. Sebagai contoh, biomassa mikroalga spesies *Nannochloropsis* sp. diproduksi secara optimal pada kultivasi dengan intensitas cahaya yang lebih tinggi ($700 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dibandingkan dengan mikroalga *Trachydiscus minutus* ($470 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Pal et al. 2011, Cepák et al. 2014). Selain itu, mikroalga juga menunjukkan kecenderungan terhadap kualitas cahaya tertentu dalam proses kultivasinya, yaitu terhadap kualitas cahaya perpaduan biru dan merah. Beberapa mikroalga menunjukkan pertumbuhan dan produksi biomassa dengan hasil yang baik saat dikultivasi di bawah paparan perpaduan cahaya biru:merah, seperti *S. obliquus* ataupun *Arthrospira platensis* (Zhang et al. 2015, Mao dan Guo 2018, Pagels et al. 2021). Penggunaan sumber cahaya perpaduan biru:merah pada kultivasi kultur mikroalga didasarkan atas karakteristik spektrum serapan (absorbansi) dari pigmen yang bertanggung jawab atas berjalannya proses fotosintesis, yaitu pigmen klorofil-a yang memiliki serapan maksimum pada area panjang gelombang cahaya biru dan merah pada spektrum cahaya tampak (Mao dan Guo 2018). Aplikasi paparan cahaya campuran biru:merah pada kultur mikroalga merupakan langkah jitu dalam meningkatkan produksi biomassa mikroalga, termasuk dalam kultivasi di luar ruangan (*outdoor*). Penyediaan cahaya biru:merah dapat dilakukan dengan mengombinasikan lampu LED yang memancarkan cahaya pada panjang gelombang tersebut, atau jika pada kultivasi *outdoor* yang memanfaatkan cahaya matahari, maka filter cahaya dapat digunakan untuk mendapatkan spektrum cahaya biru:merah yang diinginkan (Michael et al. 2015, Seo et al. 2015, Mao dan Guo 2018, Sharmila et al. 2018).

Selain faktor cahaya, temperatur merupakan faktor kondisi lingkungan lainnya yang juga memiliki peran esensial dalam kultivasi dan produksi biomassa mikroalga. Peningkatan temperatur di dalam kultur mikroalga melebihi temperatur optimumnya akan berdampak pada rusaknya sistem enzim sehingga proses fotosintesis tidak akan berlangsung dengan baik sebagai akibat adanya stres panas (Allakhverdiev et al. 2008, Bernard dan Rémond 2012). Stres panas tersebut dapat mengakibatkan berkurangnya afinitas sistem enzim RuBisCO terhadap CO_2 , serta menurunnya kelarutan CO_2 di dalam kultur mikroalga (Kumar et al. 2010). Spesies mikroalga yang memiliki karakter toleran terhadap temperatur tinggi biasanya diisolasi dari lingkungan dengan kondisi yang serupa, seperti dari sumber air panas (Ono dan Cuello 2007). Setiap spesies mikroalga memiliki temperatur optimum tertentu untuk dapat tumbuh secara maksimal dalam suatu sistem kultivasi (Barten et al. 2020). Ketahanan mikroalga terhadap stres temperatur tinggi merupakan karakteristik penting yang harus dimiliki manakala ingin dikultivasi secara *outdoor*, karena toleransi terhadap temperatur hingga mencapai 45°C dapat menekan biaya produksi secara signifikan hingga sebesar 31% (Ruiz et al. 2016). Toleransi mikroalga terhadap temperatur tinggi juga diperlukan ketika kultivasi dilakukan dengan melibatkan penggunaan gas buangan sebagai sumber CO_2 yang umumnya bertemperatur tinggi (Morales et al. 2018).

Faktor kondisi lainnya yang juga memegang peran penting dalam keberhasilan kultivasi mikroalga adalah derajat kemasaman atau kerap disebut nilai pH. Nilai pH memengaruhi aktivitas sistem enzim yang terlibat dalam proses pertumbuhan mikroalga (Zhang et al. 2016). Selain itu, nilai pH di dalam medium pertumbuhan juga akan memengaruhi interaksi permukaan sel mikroalga dengan permukaan fotobioreaktor yang digunakan. Interaksi tersebut dapat mengakibatkan menempelnya sel-sel mikroalga pada permukaan fotobioreaktor yang akan berakibat pada menurunnya pertumbuhan mikroalga. Oleh karena itu, nilai pH di dalam kultur mikroalga harus tepat dengan tujuan untuk mencegah terjadinya interaksi antara sel mikroalga dengan permukaan

fotobioreaktor yang akan mengakibatkan menempelnya sel mikroalga pada permukaan fotobioreaktor (Yuan et al. 2019). Namun, nilai pH di dalam kultur mikroalga merupakan faktor dependen yang menjadi konsekuensi atas perlakuan yang diaplikasikan pada sistem kultivasi, sehingga nilai pH dapat dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti suplementasi CO₂, suplai gas buangan maupun komposisi media. Oleh karena itu, nilai pH di dalam kultur mikroalga dapat dikontrol pada taraf yang optimal dengan cara mengoptimasi faktor-faktor kultivasi yang memengaruhinya (Duarte-santos et al. 2016, Morales et al. 2018). Nilai pH optimal untuk pertumbuhan mikroalga ada pada kisaran pH alkali, yaitu 6 hingga 8,3 (Rai dan Rajashekhar 2014, Ying et al. 2014, Morales et al. 2018).

Semua faktor kondisi lingkungan kultivasi mikroalga tersebut di atas sebaiknya diaplikasikan pada nilai yang optimal dan spesifik untuk spesies mikroalga tertentu, dengan tujuan agar dapat memproduksi biomassa dalam jumlah yang maksimal. Secara tekno-ekonomi, maksimalisasi produksi biomassa mikroalga akan meningkatkan kelayakan produksinya pada skala komersial (Banu et al. 2020). Oleh karena itu, faktor-faktor kondisi lingkungan tersebut harus dioptimasi, baik itu secara simultan maupun satu persatu dalam suatu waktu tertentu. Metode permukaan respons atau RSM dapat digunakan untuk menemukan nilai optimal untuk 2 atau lebih faktor secara simultan, baik menggunakan desain eksperimen CCD (*central composite design*) ataupun Box-Behnken (Chen et al. 2010, Kirrolia et al. 2014, Ahuja et al. 2020). Sementara itu, optimasi faktor kondisi lingkungan yang dilakukan secara bergantian atau satu persatu dalam suatu waktu tertentu dapat dilakukan dengan menggunakan metode OFAT (*one factor at a time*) atau desain eksperimen faktor tunggal (Irfan et al. 2019).

Produksi biodiesel dengan menggunakan mikroalga sebagai bahan baku hendaknya dilakukan dengan memegang prinsip bahwa semua faktor kultivasi mikroalga harus dioperasikan pada level yang optimal. Tak ubahnya di Indonesia, percepatan produksi biodiesel pada skala komersial hanya akan terwujud ketika semua komponen yang terlibat dalam produksi biomassa mikroalga dijalankan pada level

yang mendukung maksimalisasi output, termasuk faktor kondisi lingkungan. Oleh karena itu, optimasi kondisi lingkungan kultivasi juga harus dilakukan layaknya optimasi komposisi nutrisi, baik itu secara simultan maupun satu persatu bergantian. Optimasi kondisi lingkungan kultivasi mikroalga hendaknya dilakukan dengan berdasar atas kondisi lingkungan tempat mikroalga tersebut diisolasi dari alam. Optimasi wajib dilakukan pada setiap tahap skala kultivasi hingga mencapai tahap skala komersial. Pada tahap skala produksi komersial, kondisi optimum untuk kultivasi mikroalga sudah harus ditegakkan, karena kondisi optimum tersebut akan dijadikan acuan dalam menentukan lokasi kultivasi mikroalga untuk produksi biodiesel. Pada tahap kultivasi skala komersial, penggunaan kolam terbuka akan menjadi metode kultivasi mikroalga terpilih mengingat biaya produksi dan operasionalnya lebih murah ketimbang jika menggunakan fotobioreaktor (Ravikumar 2014). Sebelum mencapai tahap skala komersial, optimasi kondisi lingkungan kultivasi mikroalga harus dilakukan dengan menggunakan sistem yang sama dengan yang akan digunakan pada tahap komersial. Oleh karena itu, optimasi kondisi lingkungan kultivasi mikroalga pada skala laboratorium hingga skala pilot dan komersial harus dilakukan pada sistem kultivasi kolam terbuka dengan menggunakan mikroalga terpilih. Hal tersebut akan mempercepat terciptanya sistem optimum untuk produksi biodiesel berbasis biomassa mikroalga di Indonesia.

PENAMBAHAN HORMON PERTUMBUHAN

Salah satu metode yang banyak digunakan untuk meningkatkan produktivitas biomassa mikroalga adalah penambahan fitohormon ke dalam kultur mikroalga. Fitohormon sendiri merupakan komponen kimia yang secara alami terdapat dalam tanaman yang berfungsi dalam menstimulasi proses pertumbuhan dan perkembangan sel-sel tanaman, contohnya adalah auksin, sitokinin, gibberellin dan asam absisat. Di dalam tanaman, fitohormon auksin berperan dalam proses elongasi sel-sel batang, pembelahan sel, diferensiasi elemen floem, inisiasi pembentukan akar dan penundaan pengguguran daun (Salama et al. 2014), sedangkan sitokinin berperan dalam proses

pengendalian senesens, perkembangan kloroplas dan pembelahan sel (Tarakhovskaya et al. 2007). Auksin dan sitokinin merupakan dua jenis fitohormon yang juga terkandung di dalam sel mikroalga yang secara filogenetik memiliki hubungan dengan tanaman. Oleh karena itu, kehadiran fitohormon tersebut di dalam kultur mikroalga diharapkan dapat memberikan aktivitas yang homolog sebagaimana aktivitasnya pada tanaman (Raposo dan de Morais 2013). Pengaruh berbagai fitohormon dan senyawa analognya terhadap pertumbuhan sel mikroalga dan produksi metabolit-metabolitnya (seperti pigmen karotenoid, lipid, protein, dan karbohidrat) telah dilaporkan (Hunt et al. 2011, Salama et al. 2014, Kozlova et al. 2017, Yu et al. 2018).

Aplikasi fitohormon auksin (10^{-5} M), seperti asam indole-3-asetat (AIA), pada kultur *S. obliquus* terbukti dapat meningkatkan pertumbuhannya hingga 1,9 kali lipat dibandingkan dengan kontrol (Salama et al. 2014). Jauh sebelum itu, Pratt (1938) juga melaporkan bahwa mikroalga *C. vulgaris* yang disuplementasi oleh hormon AIA menunjukkan terjadinya peningkatan jumlah sel per unit volume hingga 11–19 kali lipat pada hari ke-26 kultivasinya. Menurut Dao et al. (2018) serta Piotrowska-Niczyporuk dan Bajguz (2014), mekanisme auksin dalam menstimulasi pertumbuhan mikroalga adalah melalui peningkatan produksi pigmen fotosintesis (klorofil) dan melalui aktivasi sistem redoks selular. Sementara itu, fitohormon sitokinin menstimulasi pertumbuhan mikroalga melalui mekanisme yang mirip dengan auksin, yaitu dengan cara akumulasi pigmen fotosintesis yang akan mengarahkan pada peningkatan pertumbuhan mikroalga, seperti pada *C. vulgaris* (Piotrowska dan Czerpak 2009) dan *D. salina* (Mousavi et al. 2016). Namun, pengaruh yang berlawanan teramati manakala senyawa sitokinin sintesis digunakan pada mikroalga *Chlamydomonas reinhardtii*, kandungan pigmen klorofil tidak terpengaruh namun pertumbuhan tetap dapat meningkat (Tian et al. 2006). Sinergi kedua fitohormon, auksin dan sitokinin, telah dilaporkan dapat meningkatkan produksi biomassa dan kandungan lipid mikroalga *Desmodesmus* sp. Peningkatan tersebut diduga terjadi

sebagai akibat dari adanya aktivitas peningkatan enzim antioksidan (superoksida dismutase, katalase dan askorbat peroksidase) oleh fitohormon auksin dan sitokinin, sehingga konsentrasi radikal bebas yang bisa mengganggu proses pertumbuhan mikroalga akan berkurang secara signifikan (Singh et al. 2020).

Selain kedua fitohormon di atas, fitohormon gibberellin juga dilaporkan dihasilkan oleh mikroalga, seperti *C. reinhardtii*, *C. minutissima*, *Scenedesmus* sp. dan mikroalga lainnya (Stirk et al. 2013, Stirk et al. 2019, Dao et al. 2020). Fungsi gibberellin pada mikroalga secara fisiologi diketahui menyerupai fungsinya pada tumbuhan tingkat tinggi. Oleh karena itu, aplikasinya secara eksternal pada kultur mikroalga dilaporkan dapat mempersingkat fase lag (adaptasi) mikroalga, mengaktifasi pembelahan dan pertumbuhan sel mikroalga di fase log (eksponensial), serta mengakumulasi pigmen dan protein (Romanenko et al. 2016). Ada berbagai jenis fitohormon gibberellin yang ditemukan pada mikroalga (Stirk et al. 2013), dan setiap jenisnya memiliki fungsi yang saling berbeda. Studi yang dilakukan oleh Stirk et al. (2019) menunjukkan bahwa antara gibberellin GA_3 dan GA_4 memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan mikroalga *C. minutissima*. Fitohormon gibberellin GA_3 menstimulasi pertumbuhan mikroalga *C. minutissima*, sementara GA_4 menunjukkan efek yang sebaliknya. Pengaruh positif GA_3 juga terlihat signifikan pada pertumbuhan dan produksi biomassa mikroalga *Monodopsis subterranea* (Arora dan Mishra 2021) dan *Scenedesmus* sp. (Dao et al. 2020) bila dibandingkan dengan kontrol.

Selain menstimulasi produksi biomassa, berbagai fitohormon tersebut, auksin, sitokinin dan gibberellin, juga diketahui dapat memengaruhi peningkatan produksi berbagai senyawa biokimia yang diproduksi oleh mikroalga, terutama asam lemak dan pigmen. Studi yang dilakukan Arora dan Mishra (2021) menunjukkan bahwa pemberian fitohormon gibberellin eksternal ke dalam kultur mikroalga *M. subterranea* dapat meningkatkan produktivitas asam lemak total dan juga profilnya. Pemberian dua tipe auksin pada

mikroalga *Scenedesmus* sp. juga dapat memengaruhi akumulasi asam lemak metil ester (FAME) serta profilnya dimana kandungan asam lemak tidak jenuh tunggal (MUFA) dapat meningkat (Dao et al. 2018). Pemberian berbagai fitohormon, seperti kinetin dan IAA, pada mikroalga *D. salina* juga dapat meningkatkan produksi pigmen beta-karoten (Mousavi et al. 2016). Pengaruh peningkatan produksi pigmen juga terlihat pada kandungan pigmen klorofil-a, klorofil-b dan karotenoid mikroalga *C. minutissima*. Kandungan pigmen klorofil-a *C. minutissima* di bawah pengaruh fitohormon gibberellin GA₃ lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, sedangkan di bawah pengaruh gibberellin GA₄ tidak menunjukkan perbedaan yang berarti (Stirk et al. 2019). Dengan demikian, pemberian fitohormon eksternal pada kultur mikroalga dapat dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan produktivitas metabolit tertentu yang diinginkan, seperti asam lemak dan pigmen. Dalam hal ini, peran fitohormon dalam meningkatkan produktivitas biomassa mikroalga merupakan fungsi vital yang dapat menunjang kelayakan suatu proses produksi mikroalga pada skala komersial (Park et al. 2013, Stirk dan van Staden 2020, Zhang et al. 2021).

Demi mengejar percepatan produksi biodiesel berbasis mikroalga di Indonesia, maka pemanfaatan faktor atau hormon pertumbuhan dalam perolehan biomassa mikroalga patut dipertimbangkan. Peningkatan produksi biomassa mikroalga ketika melibatkan penambahan faktor pertumbuhan bisa mencapai beberapa kali lipat dalam waktu yang relatif singkat (Praharyawan et al. 2020). Hal tersebut tentu akan meningkatkan produktivitas biomassa mikroalga sekaligus produktivitas biodiesel yang pada akhirnya akan meningkatkan kelayakan tekno-ekonominya, sehingga percepatan produksi biodiesel di Indonesia dapat terwujud. Fitohormon yang digunakan dapat berasal dari mikroalga itu sendiri seperti yang telah disebutkan di atas ataupun dari sumber lainnya, seperti dari tanaman. Jika menggunakan mikroalga sebagai sumber fitohormon, maka produksinya dapat dilakukan pada lokasi kultivasi yang sama, terlebih jika menggunakan mikroalga galur

yang sama dengan yang digunakan sebagai bahan baku biodiesel. Oleh karena itu, integrasi fasilitas kultivasi mikroalga dan fasilitas pendukungnya perlu dilakukan dengan mempertimbangkan aspek biologis, praktis dan ekonomis. Dalam hal ini, perolehan fitohormon diharapkan tidak menambah beban biaya pada skema produksi biodiesel di Indonesia.

KULTIVASI MIKROALGA

Kultivasi mikroalga pada dasarnya bertujuan untuk memproduksi biomassa mikroalga dengan hasil yang maksimum. Sistem kultivasi mikroalga dibedakan atas 2 jenis, yaitu sistem kultivasi tertutup dan kultivasi terbuka. Sistem kultivasi tertutup mikroalga dilakukan dengan menggunakan fotobioreaktor. Fotobioreaktor merupakan wadah pertumbuhan mikroalga yang dilengkapi dengan sistem pencahayaan dan berbagai macam sensor serta pengaturan untuk menyediakan lingkungan tumbuh yang optimal bagi mikroalga. Ada beberapa tipe fotobioreaktor yang telah dikembangkan sesuai dengan tujuan aplikasinya (Tabel 4). Kultivasi dengan fotobioreaktor memungkinkan adanya pengontrolan penuh terhadap lingkungan tumbuh mikroalga, seperti penyediaan nutrisi, pengaturan temperatur, pH dan pencahayaan, serta dapat meminimalisasi risiko kemungkinan terjadinya kontaminasi (Chisti 2008, Chang et al. (2017). Fotobioreaktor juga dapat didesain agar distribusi cahaya dapat merata ke seluruh area permukaan reaktor, dengan begitu dapat mencegah terjadinya fotoinhibisi dan fotooksidasi (Schenk et al. 2008, Gupta et al. 2015). Kultivasi dengan menggunakan fotobioreaktor sangat sesuai untuk digunakan dalam produksi metabolit tertentu yang berasal dari mikroalga, baik itu untuk industri kosmetik maupun farmasi. Terkait isu keselamatan dan keamanan lingkungan, penggunaan fotobioreaktor dalam kultivasi mikroalga merupakan pilihan yang tepat. Salah satu contoh pemakaian fotobioreaktor adalah produksi metabolit yang berkhasiat antitumor dan antijamur dari mikroalga dinoflagellata (diatom) (Garcia-Camacho et al. 2007, Gallardo-Rodriguez et al. 2012, Assuncao et al. 2017).

Tabel 4. Perbandingan karakteristik beberapa tipe fotobioreaktor yang digunakan untuk kultivasi mikroalga (diadaptasi dari Dasgupta et al. 2010, Chang et al. 2017, Placzek et al. 2017)

Tipe Fotobioreaktor	Keunggulan	Kekurangan	Aplikasi
<i>Flat-plate</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Rasio luas terhadap permukaan yang tinggi - Luas permukaan yang teriluminasi tinggi - Jalan paparan cahaya yang bagus - Biomassa yang dihasilkan sedang 	<ul style="list-style-type: none"> - Bahan konstruksinya mahal - Kultur mikroalga mudah mengalami foto-inhibisi - Tegangan geser (<i>shear stress</i>) yang tinggi dari aerasi - Sulit mengatur temperatur - Kultur mikroalga mudah mengalami pelekatan pada dinding reaktor - Kendala dalam peningkatan skala kultivasi 	<ul style="list-style-type: none"> - Cocok untuk aplikasi indoor dan outdoor - Kultivasi mikroalga lipid tinggi di bawah kondisi stres nutrisi - Tidak sesuai untuk kultivasi mikroalga yang foto-sensitif
<i>Tubular-horizontal</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Rasio area per volume yang tinggi - Efektif dalam menangkap paparan cahaya matahari - Mudah diatur agar dapat disesuaikan dengan posisi matahari - Membutuhkan biaya yang relatif rendah untuk membuatnya 	<ul style="list-style-type: none"> - Transfer massa kurang baik - Membutuhkan unit <i>degassing</i> terpisah - pH kultur cenderung fluktuatif dan O₂ cenderung terakumulasi - Risiko tinggi mengalami foto-inhibisi atau foto-oksidasi - Mudah terjadi <i>bio-fouling</i> - Risiko tinggi terjadi <i>overheat</i> - Membutuhkan area luas dan energi tinggi 	<ul style="list-style-type: none"> - Cocok untuk kultivasi outdoor - Sejauh ini, cocok digunakan untuk kultivasi berbagai spesies mikroalga skala industri
Kolom Tank Pengaduk (Vertikal)	<ul style="list-style-type: none"> - Dapat mengamati dengan tepat setiap parameter kultur mikroalga - Dapat digunakan untuk studi optimasi - Murah dan kompak - Biaya pemeliharaan rendah - Transfer massa baik - Proses pencampuran baik 	<ul style="list-style-type: none"> - Terbatas hanya untuk skala laboratorium - Rasio area per volume rendah - Efisiensi konversi cahaya rendah - Produktivitas rendah 	<ul style="list-style-type: none"> - Ideal untuk produksi produk bernilai tinggi - Kultivasi biomassa mikroalga untuk penanganan limbah - Dapat digunakan untuk kultivasi heterotropis mikroalga
Kolom Ter-aerasi	<ul style="list-style-type: none"> - Suplai CO₂ dan pemindahan O₂ dapat berlangsung efisien - Efisiensi fotoeintesis baik - Risiko rendah mengalami <i>fouling</i> - Kebutuhan lahan yang rendah 	<ul style="list-style-type: none"> - Risiko tinggi kultur mengalami <i>shear-stress</i> - Area yang terpapar cahaya rendah - Cenderung mengalami foto-inhibisi - Tidak efisien untuk ditingkatkan skalanya 	<ul style="list-style-type: none"> - Tidak stabil untuk mikroalga yang cenderung mengalami floatasi dan tegangan geser, seperti dinoflagelata
Kolom Ter-aerasi	<ul style="list-style-type: none"> - Suplai CO₂ dan pemindahan O₂ dapat berlangsung efisien - Efisiensi fotoeintesis baik - Risiko rendah mengalami <i>fouling</i> - Kebutuhan lahan yang rendah 	<ul style="list-style-type: none"> - Risiko tinggi kultur mengalami <i>shear-stress</i> - Area yang terpapar cahaya rendah - Cenderung mengalami foto-inhibisi - Tidak efisien untuk ditingkatkan skalanya 	<ul style="list-style-type: none"> - Tidak stabil untuk mikroalga yang cenderung mengalami floatasi dan tegangan geser, seperti dinoflagelata

Dalam banyak hal, sistem kultivasi mikroalga secara tertutup memang memiliki keunggulan dibandingkan dengan sistem kultivasi terbuka. Namun, biaya yang dibutuhkan dalam kultivasi tertutup jauh lebih mahal dibandingkan dengan kultivasi terbuka. Pada tahun 2008, Benemann membandingkan biaya yang dibutuhkan antara sistem kultivasi tertutup

(fotobioreaktor) dan sistem kultivasi terbuka (kolam terbuka). Kultivasi mikroalga di dalam fotobioreaktor menghasilkan *yield* biomassa yang tinggi (0,5–8 g L⁻¹), rendah risiko kontaminasi, namun membutuhkan biaya yang mahal (\$250.000–1.000.000/ha). Sistem kultivasi terbuka menawarkan keunggulan ekonomi, yaitu biaya pembuatan dan operasionalnya yang lebih rendah

(\$100.000/ha) dibandingkan sistem kultivasi tertutup. Namun, *yield* biomassa yang dihasilkan dari sistem kultivasi terbuka relatif lebih rendah ($0,1-0,5 \text{ g L}^{-1}$), ditambah lagi dengan besarnya risiko terjadinya kontaminasi (Pulz 2001, Alabi et al. 2009). Meski begitu, sistem kultivasi terbuka merupakan sistem kultivasi yang paling tepat untuk mikroalga yang aplikasinya ditujukan untuk produksi bioenergi, seperti biodiesel. Faktor utama yang mendasari hal tersebut adalah biodiesel termasuk komoditas dengan harga jual yang relatif rendah, sehingga biaya produksinya sedapat mungkin harus disesuaikan sedemikian rupa sehingga syarat kelayakan ekonominya dapat terpenuhi (Davis et al. 2011). Sistem kultivasi terbuka dengan menggunakan kolam-terbuka merupakan teknik kultivasi yang efektif dari sisi biaya (Ashokkumar dan Rengasamy 2012), sehingga dapat diaplikasikan pada produksi biodiesel berbasis mikroalga, termasuk di Indonesia. Sistem kultivasi terbuka merupakan teknik kultivasi yang paling sesuai untuk diaplikasikan di Indonesia dengan alasan biaya yang murah dan keberlimpahan sinar matahari di sepanjang tahun mengingat Indonesia merupakan negara beriklim tropis.

Aplikasi sistem kultivasi terbuka

Aplikasi sistem kultivasi terbuka untuk produksi biomassa mikroalga dilakukan dengan menggunakan kolam *raceway* (lintas balap) yang umumnya berbentuk sirkular dan dapat terbuat dari berbagai jenis bahan, seperti cor-coran, fiberglass, tanah liat, dan akrilik. Ukuran kolam *raceway* juga bervariasi tergantung dari skala produksi yang digunakan, ada yang berukuran kecil, sedang hingga berukuran besar (Gambar 3). Ukuran kolam juga ikut menentukan ukuran dan jumlah pengaduk *paddle-wheel* (kincir air) yang dipasang pada kolam *raceway*. Untuk kolam berukuran kecil hingga sedang pada umumnya jumlah *paddle-wheel* yang digunakan adalah 1 unit pada salah satu ujung lintasannya, sedangkan untuk kolam berukuran besar jumlah pengaduk yang diinstall bisa mencapai 2, yaitu 1 pengaduk pada ujung salah satu lintasan, sementara 1 pengaduk lainnya dipasang pada ujung kolam lainnya di lintasan yang berbeda (Ravikumar 2014).

Kultivasi mikroalga menggunakan kolam *raceway* terbuka dilakukan dalam beberapa tahap skala yang berbeda dimana keberhasilan di setiap tahapnya ditentukan oleh proses pemantauan yang ketat. Peningkatan skala kultivasi mikroalga pada kolam *raceway* melibatkan proses pemantauan abnormalitas sel mikroalga dan kontaminasi yang ketat. Pemantauan kultur mikroalga yang ketat dalam setiap peningkatan skala kultivasi mikroalga pada kolam *raceway* terbuka bertujuan untuk menjamin agar kualitas mikroalga yang digunakan tetap terjaga. Tidak hanya itu, kuantitas mikroalga pada setiap skala kultivasinya pun juga dimonitor dengan ketat agar dapat memproduksi biomassa secara maksimum. Oleh karena itu, berbagai macam faktor kultivasi harus tetap dioptimasi dan dijaga pada level optimal agar sistem kultivasi terbuka yang diadaptasi mampu memberikan produktivitas biodiesel yang tinggi.

Kedalaman kultur merupakan salah satu faktor yang berperan dalam performa fotosintesis mikroalga pada kolam *raceway*. Kultur mikroalga di dalam kolam *raceway* pada umumnya memiliki kedalaman yang berkisar antara 0,2 hingga 0,3 m. Jika kedalaman kultur terlalu dangkal atau kurang dari 0,1 m, maka pH kultur dapat berubah secara mendadak dan konsentrasi CO_2 di dalam kultur juga dapat berkurang, sehingga akan memengaruhi proses fotosintesis yang pada akhirnya akan berdampak negatif terhadap produksi biomassa mikroalga. Namun, jika kedalaman kultur melebihi 0,3 m maka dikhawatirkan terjadi efek bayangan cahaya (*photoshading*). Hal tersebut akan sangat memengaruhi efisiensi fotosintesis mikroalga di dalam kolam *raceway* terbuka. Faktor lainnya yang juga memengaruhi performa fotosintesis mikroalga di dalam kolam terbuka adalah suplai dan komposisi media, penyediaan dan pengelolaan cahaya, serta temperatur air. Media kultivasi yang digunakan dalam kolam terbuka merupakan media optimum untuk mendukung proses fotosintesis mikroalga yang pada umumnya disuplai menggunakan sistem *batch* pada sistem kultivasi dengan kolam *raceway* terbuka (Ravikumar 2014). Penyediaan cahaya merupakan faktor esensial lainnya yang ditentukan oleh lokasi kultivasi. Keberlimpahan cahaya matahari sebagai sumber energi dalam kultivasi mikroalga

harus dikelola sedemikian rupa sehingga paparannya ke sel-sel mikroalga dapat terjadi secara maksimal, baik dari segi kualitatif maupun kuantitatif. Temperatur air juga termasuk faktor penting yang memengaruhi pertumbuhan mikroalga (Converti et al. 2009). Fluktuasi temperatur air sedapat mungkin harus dihindari demi menjaga keseimbangan ion, pH, O₂ dan kelarutan CO₂ di dalam sistem kultivasi mikroalga (Huesemann et al. 2016). Sistem kultivasi dengan menggunakan kolam *raceway* terbuka telah berhasil diaplikasikan pada beberapa spesies mikroalga, seperti *Spirulina platensis*, *N. galditana*, *Botryococcus braunii*, *Scenedesmus* sp. (Ashokkumar dan Rengasamy 2012, Ravikumar 2014, San Pedro et al. 2014).

Penggunaan kolam *raceway* terbuka dalam rangka produksi biodiesel di Indonesia merupakan pilihan tepat demi menjaga keberlanjutan prosesnya. Apalagi, Indonesia sebagai negara beriklim tropis memiliki keberlimpahan cahaya matahari yang tidak terbatas, sehingga sumber energi untuk

kultivasi mikroalga dapat diperoleh secara cuma-cuma (Assuncao dan Malcata 2020). Di sisi lain, Indonesia sebagai negara dengan garis pantai terpanjang kedua di dunia semakin memperbesar peluang untuk memproduksi biomassa mikroalga, terutama mikroalga laut, yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan produksi produk-produk metabolit, termasuk biodiesel. Dalam hal ini, penentuan lokasi kultivasi mikroalga merupakan faktor krusial yang menentukan keberhasilan produksi biomassa mikroalga untuk biodiesel. Hal lain yang menjadi pertimbangan selanjutnya adalah lokasi kultivasi mikroalga sebaiknya dekat dengan sumber CO₂ agar maksimalisasi produksi biomassa mikroalga dapat tercapai (Ou et al. 2021). Apabila semua keuntungan tersebut dapat diintegrasikan dengan tepat dalam suatu sistem kultivasi mikroalga, maka produktivitas biomassa dan produktivitas biodiesel yang maksimum dapat tercapai. Dengan segala keuntungan yang dimiliki itu, maka mengaplikasikan sistem kultivasi terbuka di Indonesia memiliki peluang besar



Gambar 3. Kolam *raceway* terbuka: A). 3 × 1 m; B). 15 × 1,6 m; C). 122 × 14 m (Ravikumar 2014)

untuk bisa berhasil membangun keberlanjutan produksi bioenergi berbasis mikroalga, terutama biodiesel.

ANALISA EKONOMI

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa mikroalga merupakan bahan baku yang paling unggul dalam hal produktivitas biodiesel dibandingkan dengan bahan baku lainnya. Namun, apakah keunggulan mikroalga tersebut menjamin bahwa harga biodiesel yang diperoleh dari mikroalga menjadi yang paling murah? Tentu saja tidak, karena produktivitas biodiesel bukanlah satu-satunya faktor yang menentukan harga biodiesel. Masih ada faktor lainnya seperti media pertumbuhan, teknik kultivasi, proses panen biomassa, sumber daya manusia, proses konversi lipid menjadi biodiesel, dan lain-lain. Meski begitu, menurut Chisti (2008), mikroalga merupakan bahan baku biodiesel yang sepenuhnya dapat menggantikan bahan bakar diesel berbasis fosil. Hampir senada dengan Chisti (2008), Mata (2010) juga menyatakan bahwa dengan upaya pengembangan yang sungguh-sungguh maka biodiesel berbasis mikroalga dapat menggantikan diesel berbasis fosil secara bertahap. Berdasarkan analisa tahun 2002 yang dilakukan oleh US National Renewable Energy Laboratory (NREL) mengindikasikan bahwa harga biodiesel per liter nya ada pada kisaran 0,53–0,85 US dollar (kurs tahun 2012) atau jika dikonversikan ke kurs 2021 maka ada di kisaran 0,63–1,01 US dollar per liter nya, atau jika dirupiahkan berkisar antara Rp. 8.820 hingga 14.160 (Nagarajan et al. 2013). Angka tersebut tentu masih bisa ditekan lagi lewat berbagai cara sebagai dampak dari semakin majunya teknologi yang ada saat ini. Berdasarkan perhitungan yang dilakukan oleh Nagarajan et al. (2013) sepuluh tahun setelah studi NREL, biodiesel dari mikroalga dapat dijual dengan harga yang berkisar antara Rp. 7.000 hingga 16.160 per liter nya. Meski terlihat layak secara tekno-ekonomi dari segi harga, namun kenyataannya saat ini pemakaian biodiesel dalam menggantikan diesel berbasis fosil belum dilaksanakan hingga ke taraf komersial. Hal tersebut sangat mungkin disebabkan oleh ketiadaan kebijakan yang dapat mempercepat program produksi biodiesel berbasis mikroalga.

Produksi biomassa mikroalga sebagai bahan baku biodiesel dapat dilakukan dalam suatu skema biorefineri, dimana biomassa mikroalga yang dihasilkan akan dimanfaatkan secara simultan dalam suatu rangkaian proses untuk memproduksi berbagai jenis bio-produk, seperti pigmen, bahan pangan, pakan, pupuk, dan lain-lain. Dengan begitu, maka proses produksi biodiesel menggunakan mikroalga akan memiliki nilai ekonomi yang lebih tinggi ketimbang hanya memproduksi biodiesel. Carbajal et al. (2020) melakukan analisa tekno-ekonomi untuk mikroalga *S. dimorphus* yang digunakan sebagai bahan baku produksi biodiesel dengan menggunakan skenario biorefineri. Dari hasil analisa yang mereka peroleh menginformasikan bahwa produksi biodiesel berbahan baku biomassa mikroalga dengan skenario biorefineri dimana dalam satu rangkaian prosesnya juga dihasilkan DHA dan pakan ikan layak dilakukan secara tekno-ekonomi dan mampu memberikan keuntungan pada keseluruhan proses. Meski sudah dikatakan layak, namun berbagai perbaikan masih dapat dilakukan guna semakin meningkatkan kelayakan ekonominya, yaitu peningkatan dari sisi kultivasi mikroalganya dan proses panen biomasanya. Oleh karena itu, peningkatan produksi biomassa mikroalga pada sistem kultivasinya akan memberikan dampak yang signifikan terhadap nilai kelayakan proses produksi biodiesel berbasis mikroalga. Indonesia sebagai salah satu negara di dunia yang menghadapi urgensi penyediaan sumber energi terbarukan harus segera mengambil tindakan dalam menghadapi risiko terjadinya krisis energi di masa mendatang mengingat cadangan energi berbasis fosil yang kian menipis. Skema biorefineri merupakan skema produksi biodiesel yang paling relevan untuk diaplikasikan di Indonesia guna memaksimalkan potensi ekonomi yang dimiliki oleh mikroalga. Ketersediaan sinar matahari di sepanjang tahun menjadikan biaya atas total energi yang dibutuhkan dalam sistem produksi menjadi relatif lebih rendah. Begitu juga dengan sumber air yang dapat diperoleh dari laut di sepanjang garis pantai yang dapat dijadikan sebagai lokasi kultivasi dan produksi biodiesel berbasis mikroalga. Indonesia sebagai negara dengan garis pantai terpanjang kedua di dunia tentu

harus dapat memanfaatkan berbagai keuntungan yang dimiliki agar dapat semakin meningkatkan kelayakan tekno-ekonomi produksi biodiesel berbasis mikroalga pada taraf komersial. Meski begitu, dukungan kebijakan dari para pemegang kebijakan tentu menjadi faktor kunci dari terwujudnya produksi biodiesel berbasis mikroalga di Indonesia.

Produksi biodiesel berbasis mikroalga merupakan langkah tepat yang telah terbukti tidak hanya mampu menghasilkan sumber energi terbarukan, namun juga memiliki kelayakan tekno-ekonomi dalam proses produksinya berdasarkan atas berbagai analisa tekno-ekonomi yang telah dilakukan. Di sisi lain, produksi biodiesel dengan menggunakan biomassa mikroalga sebagai bahan baku juga turut memberikan kontribusi dalam mengurangi kadar gas CO₂ di atmosfer, dengan demikian produksi biodiesel berbasis mikroalga tidak hanya dapat mengatasi permasalahan krisis energi namun juga dapat membantu dalam mengatasi masalah lingkungan terkait perubahan iklim di Indonesia.

KESIMPULAN

Maksimalisasi produksi biomassa mikroalga merupakan cara yang tepat untuk mempercepat terwujudnya produksi biodiesel berbasis mikroalga yang akan menggantikan bahan bakar diesel berbasis fosil di Indonesia. Hal tersebut diwujudkan melalui optimasi empat faktor esensial yang memegang peranan penting dalam produksi biomassa mikroalga, yaitu suplementasi CO₂, media pertumbuhan, kondisi lingkungan kultivasi dan penambahan faktor pertumbuhan. Optimasi suplementasi CO₂ akan memastikan kultivasi mikroalga dapat memproduksi biomassa secara maksimal sekaligus berkontribusi dalam menurunkan kadar CO₂ di atmosfer bumi. Suplementasi gas CO₂ yang berasal dari berbagai sumber gas buangan, seperti PLTU dan pabrik semen, yang lokasinya tersebar di wilayah Indonesia harus diintegrasikan dengan fasilitas kultivasi mikroalga, sehingga dapat meminimalisir pelepasan gas CO₂ ke lingkungan sekaligus dapat memaksimalkan perbanyakan mikroalga. Optimasi media pertumbuhan untuk kultivasi mikroalga akan menjamin bahwa mikroalga hanya

mendapatkan nutrisi yang paling dibutuhkan untuk produksi biomassa, sekaligus dapat menekan biaya produksi karena tidak dihabiskan untuk nutrisi lain yang tidak atau kurang dibutuhkan di dalam perbanyakan mikroalga. Demi semakin meningkatkan kelayakan tekno-ekonominya, maka proses perbanyakan mikroalga dapat dilakukan dengan memanfaatkan berbagai jenis limbah yang tersedia di Indonesia dengan tetap menitik-beratkan pada penerapan komposisi optimum media pertumbuhan dalam kultivasi mikroalga. Sementara optimasi kondisi lingkungan kultivasi akan memberikan mikroalga keadaan yang paling kondusif untuk memperbanyak diri, sehingga terhindar dari stres yang dapat berpengaruh negatif pada pertumbuhannya. Oleh karena itu, optimasi kondisi lingkungan kultivasi mikroalga yang diisolasi dari alam Indonesia harus didasarkan atas kondisi alam pada lokasi tempat mikroalga tersebut diisolasi. Aplikasi kondisi optimum untuk ketiga faktor tersebut akan semakin dimaksimalisasi dengan mengombinasikan pemakaian faktor atau hormon pertumbuhan ke dalam kultur mikroalga dengan kualitas dan kuantitas optimal. Faktor atau hormon pertumbuhan tersebut dapat diperoleh dari kekayaan biodiversitas alam Indonesia, termasuk dari mikroalga itu sendiri. Dalam rangka penerapan produksi biodiesel berbasis mikroalga di Indonesia, maka keempat faktor tersebut harus diintegrasikan dalam suatu sistem kultivasi terbuka yang menggunakan kolam *raceway* untuk memastikan agar proses produksi yang berjalan dapat memenuhi syarat kelayakan tekno-ekonomi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abid A, Saidane F, Hamdi M (2017) Feasibility of carbon dioxide sequestration by *Spongiochloris* sp microalgae during petroleum wastewater treatment in airlift bioreactor. *Bioresour Technol* 234: 297–302. doi: 10.1016/j.biortech.2017.03.041
- Acién FG, Fernández-Sevilla JM, Grima EM (2016) Supply of CO₂ to closed and open photobioreactors. pp 225–252. In: Slocombe SP, Benemann JR (Eds). *Microalgal Production for Biomass and High-Value Products*. 1st edition. CRC

- Press, Florida
- Aghaalipour E, Akbulut A, Güllü G (2020) Carbon dioxide capture with microalgae species in continuous gas-supplied closed cultivation systems. *Biochem Eng J* 163: 107741. doi: 10.1016/j.bej.2020.107741
- Ahuja S, Roy A, Kumar L, Bharadvaja N (2020) Media optimization using Box Behnken design for enhanced production of biomass, beta-carotene and lipid from *Dunaliella salina*. *Int J Plant Res* 33: 31–39. doi: 10.1007/s42535-019-00079-4
- Alabi AO, Tampier M, Bibeau E (2009) Microalgae technologies and process for Biofuels/Bio energy production in British Columbia: Current technology, suitability and barriers to implementation. A report submitted to British Columbia innovation Council by Seed science. pp 1–88
- Allakhverdiev SI, Kreslavski VD, Klimov VV, Los DA, Carpentier R, Mohanty P (2008) Heat stress: An overview of molecular responses in photosynthesis. *Photosynth Res* 98: 541–550. doi: 10.1007/s11120-008-9331-0
- Anjos M, Fernandes BD, Vicente AA, Teixeira JA, Dragone G (2013) Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*. *Bioresour Technol* 139: 149–154. doi: 10.1016/j.biortech.2013.04.032
- Anuradha S, Thadikamala S, Harish BS, Gayathri G, Thulasidharan D, Uppuluri KB (2021) Open system for the autotrophic cultivation of *Scenedesmus obliquus* NCIM 5586: Multiobjective optimization for the tradeoff between biomass and lipid. *Biomass Conv Bioref Jan* 2021. doi: 10.1007/s13399-021-01283-6
- Arora S, Mishra G (2021) Effect of gibberellin, methyl jasmonate and myoinositol on biomass and eicosapentaenoic acid productivities in the eustigmatophyte *Monodopsis subterranea* CCALA 830. *J Appl Phycol* 33:287–299. doi: 10.1007/s10811-020-02317-8
- Ashokkumar V, Rengasamy R (2012) Mass culture of *Botryococcus braunii* Kutz. under open raceway pond for biofuel production. *Bioresour Technol* 104: 394–399. doi: 10.1016/j.biortech.2011.10.093
- Assunção J, Malcata FX (2020) Enclosed “non-conventional” photobioreactors for microalga production: A review. *Algal Res* 52: 102107. doi: 10.1016/j.algal.2020.102107
- Assunção J, Guedes AC, Malcata FX (2017) Biotechnological and pharmacological applications of biotoxins and other bioactive molecules from Dinoflagellates. *Mar Drugs* 15: 393. doi: 10.3390/md15120393
- Banerjee A, Guria C, Maiti SK, Banerjee C, Shukla P (2019) Carbon bio-fixation, effect of physicochemical factors and carbon supply strategies by *Nannochloropsis* sp. using flue gas and fertilizer. *Biomass and Bioenergy* 125: 95–104. doi: 10.1016/j.biombioe.2019.04.002
- Banu JR, Preethi, Kavitha S, Gunasekaran M, Kumar G (2020) Microalgae based biorefinery promoting circular bioeconomy-techno economic and life-cycle analysis. *Bioresour Technol* 302: 122822. doi: 10.1016/j.biortech.2020.122822
- Barahoei M, Hatamipour MS, Afsharzadeh S (2020) CO₂ capturing by *Chlorella vulgaris* in a bubble column photobioreactor: Effect of bubble size on CO₂ removal and growth rate. *J CO₂ Util* 37: 9–19. doi: 10.1016/j.jcou.2019.11.023
- Barten RJP, Wijffels RH, Barbosa MJ (2020) Bioprospecting and characterization of temperature tolerant microalgae from Bonaire. *Algal Res* 50: 102008. doi: 10.1016/j.algal.2020.102008
- Becker EW (1994) *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. 1st Edition. Cambridge University Press, Cambridge
- Benemann JR (2008) Open ponds and closed photobioreactors: Comparative economics [PowerPoint presentation]. 5th Annual World Congress on Industrial Biotechnology & Bioprocessing, 30 April 2008. Chicago, United States
- Bernard O, Rémond B (2012) Validation of a simple model accounting for light and temperature effect on microalgal growth. *Bioresour Technol* 123: 520–527. doi: 10.1016/j.biortech.2012.07.022
- Borowitzka MA (1992) *Algal biotechnology*

- products and processes — matching science and economics. *J Appl Phycol* 4: 267–279. doi: 10.1007/BF02161212
- Branco-Vieira M, Mata TM, Martins AA, Freitas MAV, Caetano NS (2020) Economic analysis of microalgae biodiesel production in a small-scale facility. *Energy Rep* 6: 325–332. doi: 10.1016/j.egy.2020.11.156
- Carbajal EMT, Hernandez EM, Linares LF, Maldonado EN, Ballesteros RL (2020) Techno-economic analysis of *Scenedesmus dimorphus* microalgae biorefinery scenarios for biodiesel production and glycerol valorization. *Bioresour Technol Rep* 12: 100605. doi: 10.1016/j.biteb.2020.100605
- Cepák V, Pribyl P, Kohoutková J, Kastanek P (2014) Optimization of cultivation conditions for fatty acid composition and EPA production in the eustigmatophycean microalga *Trachydiscus minutus*. *J Appl Phycol* 26: 181–190. doi: 10.1007/s10811-013-0119-z
- Chang JS, Show PL, Ling TC, Chen CY, Ho SH, Tan CH, Nagarajan D, Phong WN (2017) Photobioreactors, In: Larroche C, Sanromán MA, Du G, Pandey A (Eds.). *Current elopement in Biotechnology and Bioengineering: Bioprocesses: Bioreactors and Control*. Pp. 313–352. Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-444-63663-8.00011-2
- Chen G, Fan KW, Lu FP, Li Q, Aki T, Chen F, Jiang Y (2010) Optimization of nitrogen source for enhanced production of squalene from thraustochytrid *Aurantiochytrium* sp. *N Biotechnol* 27: 382–389. doi: 10.1016/j.nbt.2010.04.005
- Chen J, Li J, Dong W, Zhang X, Tyagi RD, Drogui P, Surampalli RY (2018) The potential of microalgae in biodiesel production. *Renew Sustain Energy Rev* 90: 336–346. doi: 10.1016/j.rser.2018.03.073
- Cheng J, Li K, Yang Z, Lu H, Zhou J, Cen K (2016) Gradient domestication of *Haematococcus pluvialis* mutant with 15% CO₂ to promote biomass growth and astaxanthin yield. *Bioresour Technol* 216: 340–344. doi: 10.1016/j.biortech.2016.05.095
- Cheng J, Lu H, He X, Yang W, Zhou J, Cen K (2017) Mutation of *Spirulina* sp. by nuclear irradiation to improve growth rate under 15% carbon dioxide in flue gas. *Bioresour Technol* 238: 650–656. doi: 10.1016/j.biortech.2017.04.107
- Chisti Y (2008) Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends Biotechnol* 26: 126–131. doi: 10.1016/j.tibtech.2007.12.002
- Choix FJ, Polster E, Corona-Gonzales RI, Snell-Castro R, Mendez-Acosta HO (2017) Nutrient composition of culture media induces different patterns of CO₂ fixation from biogas and biomass production by the microalga *Scenedesmus obliquus* U169. *Bioprocess Biosyst Eng* 40: 1733–1742. doi: 10.1007/s00449-017-1828-5
- Converti A, Casazza AA, Ortiz EY, Perego P, Del Borghi M (2009) Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chem Eng Process* 48: 1146–1151. doi: 10.1016/j.cep.2009.03.006
- Daneshvar E, Ok YS, Tavakoli S, Sarkar B, Shaheen SM, Hong H, Luo Y, Rinklebe J, Song H, Bhatnagar A (2021) Insights into upstream processing of microalgae: A review. *Bioresour Technol* 329: 124870. doi: 10.1016/j.biortech.2021.124870
- Dani N, Zare D, Assadi MM, Irani S, Soltani N (2021) Isolation, screening and medium optimization of native microalgae for lipid production using nutritional starvation strategy and statistical design. *Int J Environ Sci Technol* 18: 2997–3012. doi: 10.1007/s13762-020-03037-9
- Dao G, Wang S, Wang X, Chen Z, Wu Y, Wu G, Lu Y, Liu S, Hu H (2020) Enhanced *Scenedesmus* sp. growth in response to gibberellin secretion by symbiotic bacteria. *Sci Total Environ* 740: 140099. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140099
- Dao G, Wu G, Wang X, Zhuang L, Zhang T, Hu H (2018) Enhanced growth and fatty acid accumulation of microalgae *Scenedesmus* sp. LX1 by two types of auxin. *Bioresour Technol* 247: 561–567. doi: 10.1016/j.biortech.2017.09.079

- Dasan YK, Lam MK, Yusup S, Lim JW, Show PL, Tan IS, Lee KT (2020) Cultivation of *Chlorella vulgaris* using sequential-flow bubble column photobioreactor: A stress-inducing strategy for lipid accumulation and carbon dioxide fixation. *J CO₂ Util* 41: 101226. doi: 10.1016/j.jcou.2020.101226
- Dasgupta CN, Gilbert JJ, Lindblad P, Heidorn T, Borgvang SA, Skjanes K, Das D (2010) Recent trends on the development of photobiological processes and photobioreactors for the improvement of hydrogen production. *Int J Hydrog Energy* 35: 10218–10238. doi: 10.1016/j.ijhydene.2010.06.029
- Davis R, Aden A, Pienkos PT (2011) Techno-economic analysis of autotrophic microalgae for fuel production. *Appl Energy* 88: 3524–3531. doi: 10.1016/j.apenergy.2011.04.018
- Duarte-Santos T, Mendoza-Martín JL, Fernández FGA, Molina E, Vieira-Costa JA, Heaven S (2016) Optimization of carbon dioxide supply in raceway reactors: Influence of carbon dioxide molar fraction and gas flow rate. *Bioresour Technol* 212: 72–81. doi: 10.1016/j.biortech.2016.04.023
- Fekrat F, Nami B, Ghanavati H, Ghaffari A, Shahbazi M (2019) Optimization of chitosan/activated charcoal-based purification of *Arthrospira platensis* phycocyanin using response surface methodology. *J Appl Phycol* 31: 1095–1105. doi: 10.1007/s10811-018-1626-8
- Gallardo-Rodríguez J, Sanchez-Miron A, García-Camacho F, Lopez-Rosales L, Chisti Y, Molina-Grima E (2012) Bioactives from microalgal dinoflagellates. *Biotechnol. Adv* 30: 1673–1684. doi: [10.1016/j.biotechadv.2012.07.005](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.07.005)
- García-Camacho F, Gallardo-Rodríguez J, Sanchez-Miron A, García MCC, Belarbi EH, Chisti Y, Molina EM (2007) Biotechnological significance of toxic marine dinoflagellates. *Biotechnol Adv* 25: 176–194. doi: 10.1016/j.biotechadv.2006.11.008
- García-Cubero R, Moreno-Fernández J, García-González M (2017) Modelling growth and CO₂ fixation by *Scenedesmus vacuolatus* in continuous culture. *Algal Res* 24: 333–339. doi: 10.1016/j.algal.2017.04.018
- Gauthier DA, Turpin DH (1997) Interactions between inorganic phosphate (Pi) assimilation, photosynthesis and respiration in the Pi-limited green alga *Selenastrum minutum*. *Plant Cell Environ* 20: 12–24. doi: 10.1046/j.1365-3040.1997.d01-6.x
- Griffiths MJ, Harrison STL (2009) Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J Appl Phycol* 21: 493–507. doi: 10.1007/s10811-008-9392-7
- Grobbelaar JU (2013) Inorganic algal nutrition. Pp 123–133. In: Richmond A, Hu Q (Eds). *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Second Edition. Wiley-Blackwell Pub Ltd, New York. doi: 10.1002/9781118567166.ch8
- Guldhe A, Bhola V, Rawat I, Bux F (2015) Carbon dioxide sequestration by microalgae: Biorefinery approach for clean energy and environment. pp 147–154. In: Singh B, Baudh K, Bux F (Eds). *Algae and Environmental Sustainability*. Springer, New Delhi, doi: 10.1007/978-81-322-2641-3_12
- Gupta PL, Lee SM, Choi HJ (2015) A mini review: Photobioreactors for large scale algal cultivation. *World J Microbiol Biotechnol* 31: 1409–1417. doi: 10.1007/s11274-015-1892-4
- Harahap F, Silveira S, Khatiwada D (2019) Cost competitiveness of palm oil biodiesel production in Indonesia. *Energy J* 170: 62–72. doi: 10.1016/j.energy.2018.12.115
- Huesemann M, Crowe B, Waller P, Chavis A, Hobbs S, Edmundson S, Wigmosta M (2016) A validated model to predict microalgae growth in outdoor pond cultures subjected to fluctuating light intensities and water temperatures. *Algal Res* 13: 195–206. doi: 10.1016/j.algal.2015.11.008
- Hunt RW, Chinnasamy S, Das KC (2011) The Effect of naphthalene-acetic acid on biomass productivity and chlorophyll content of green algae, coccolithophore, diatom, and cyanobacterium cultures. *Appl Biochem Biotechnol* 164: 1350–1365. doi: 10.1007/s12010-011-9217-z
- lasimone F, Panico A, de Felice V, Fantasma

- F, Iorizzi M, Pirozzi F (2018) Effect of light intensity and nutrients supply on microalgae cultivated in urban wastewater: Biomass production, lipids accumulation and settleability characteristics. *J Environ Manage* 223: 1078–1085. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.07.024
- Irfan MF, Hossain SMZ, Khalid H, Sadaf F, Al-Thawadi S, Alshater A, Hossain MM, Razzak SA (2019) Optimization of bio-cement production from cement kiln dust using microalgae. *Biotechnol Rep* 23: e00356. doi: 10.1016/j.btre.2019.e00356
- Islam MA, Heimann K, Brown RJ (2017) Microalgae biodiesel: Current status and future needs for engine performance and emissions. *Renew Sustain Energy Rev* 79: 1160–1170. doi: 10.1016/j.rser.2017.05.041
- Jafari A, Esmailzadeh F, Mowla D, Sadatshojaei E, Heidari S, Wood DA (2021) New insights to direct conversion of wet microalgae impregnated with ethanol to biodiesel exploiting extraction with supercritical carbon dioxide. *Fuel* 285: 119199. doi: 10.1016/j.fuel.2020.119199
- Jeon H, Lee Y, Chang KS, Lee CG, Jin E (2013) Enhanced production of biomass and lipids by supplying CO₂ in marine microalga *Dunaliella* sp. *J Microbiol* 51: 773–776. doi: 10.1007/s12275-013-3256-9
- Jiang Y, Zhang W, Wang J, Chen Y, Shen S, Liu T (2013) Utilization of simulated flue gas for cultivation of *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresour Technol* 128: 359–364. doi: 10.1016/j.biortech.2012.10.119
- Juneja A, Ceballos RM, Murthy GS (2013) Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review. *Energies* 6: 4607–4638. doi:10.3390/en6094607
- Kim DG, Oh HM, Park YH, Kim HS, Lee HG, Ahn CY (2013) Optimization of flocculation conditions for *Botryococcus braunii* using response surface methodology. *J Appl Phycol* 25: 875–882. doi: 10.1007/s10811-012-9948-4
- Kim JK, Kottuparambil S, Moh SH, Lee TK, Kim YJ, Rhee JS, Choi EM, Kim BH, Yu YJ, Yarish C, Han T (2015) Potential applications of nuisance microalgae blooms. *J Appl Phycol* 27: 1223–1234. doi: 10.1007/s10811-014-0410-7
- Kim W, Park JM, Gim GH, Jeong SH, Kang CM, Kim DJ, Kim SW (2012) Optimization of culture conditions and comparison of biomass productivity of three green algae. *Bioprocess Biosyst Eng* 35: 19–27. doi: 10.1007/s00449-011-0612-1
- Kirrolia A, Bishnoi NR, Singh R (2014) Response surface methodology as a decision-making tool for optimization of culture conditions of green microalgae *Chlorella* spp. for biodiesel production. *Ann Microbiol* 64: 1133–1147. doi: 10.1007/s13213-013-0752-4
- Kobayashi N, Barnes A, Jensen T, Noel E, Andlay G, Rosenberg JN, Betenbaugh MJ, Guarnieri MT, Oyler GA (2015) Comparison of biomass and lipid production under ambient carbon dioxide vigorous aeration and 3% carbon dioxide condition among the lead candidate *Chlorella* strains screened by various photobioreactor scales. *Bioresour Technol* 198: 246–255. doi: 10.1016/j.biortech.2015.08.124
- Kozlova TA, Hardy BP, Krishna P, Levin DB (2017) Effect of phytohormones on growth and accumulation of pigments and fatty acids in the microalgae *Scenedesmus quadricauda*. *Algal Res* 27: 325–334. doi: 10.1016/j.algal.2017.09.020
- Kumar A, Ergas S, Yuan X, Sahu A, Zhang Q, Dewulf J, Malcata FX, van Langenhove H (2010) Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: Recent developments and future directions. *Trends Biotechnol* 28: 371–380. doi: 10.1016/j.tibtech.2010.04.004
- Kumar K, Banerjee D, Das D (2014) Carbon dioxide sequestration from industrial flue gas by *Chlorella sorokiniana*. *Bioresour Technol* 152: 225–233. doi: 10.1016/j.biortech.2013.10.098
- Labappour A (2018) A dynamic model for the prediction of flue gas carbon dioxide removal by the microalga *Chlorella vulgaris* in column photobioreactor. *Alexandria Eng J* 57: 3311–3320. doi: 10.1016/j.aej.2018.01.013

- Lam MK, Tan KT, Lee KT, Mohamed AR (2009) Malaysian palm oil: Surviving the food versus fuel dispute for a sustainable future. *Renew Sustain Energy Rev* 13: 1456–1464. doi: 10.1016/j.rser.2008.09.009
- Lee WH, Liao CH, Tsai MF, Huang CW, Wu JCS (2013) A novel twin reactor for CO₂ photoreduction to mimic artificial photosynthesis. *Appl Catal B Environ* 132–133: 445–451. doi: 10.1016/j.apcatb.2012.12.024
- Lehmuskero A, Chauton MS, Boström T (2018) Light and photosynthetic microalgae: A review of cellular- and molecular-scale optical processes. *Prog Oceanogr* 168: 43–56. doi: 10.1016/j.pocean.2018.09.002
- Li D, Wang L, Zhao Q, Wei W, Sun Y (2015) Improving high carbon dioxide tolerance and carbon dioxide fixation capability of *Chlorella* sp. by adaptive laboratory evolution. *Bioresour Technol* 185: 269–275. doi: 10.1016/j.biortech.2015.03.011
- Lim S, Teong LK (2010) Recent trends, opportunities and challenges of biodiesel in Malaysia: An overview. *Renew Sustain Energy Rev* 14: 938–954. doi: 10.1016/j.rser.2009.10.027
- Mandalam RK, Palsson BO (1998) Elemental balancing of biomass and medium composition enhances growth capacity in high-density *Chlorella vulgaris* cultures. *Biotechnol Bioeng* 59: 605–611. doi: 10.1002/(sici)1097-0290(19980905)59:5<605::aid-bit11>3.0.co;2-8
- Mao R, Guo S (2018) Performance of the mixed LED light quality on the growth and energy efficiency of *Arthrospira platensis*. *Appl Microbiol Biotechnol* 102: 5245–5254. doi: 10.1007/s00253-018-8923-7
- Maryshmya A, Rajasekar T, Rengasamy R (2019) Carbon sequestration potential of *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) and evaluation on zebra fish (*Danio rerio*). *Aquac Rep* 13: 100178. doi: 10.1016/j.aqrep.2018.100178
- Masojidek J, Torzillo G, Koblyzek M (2013) Photosynthesis in microalgae. pp 21–36. In: Richmond A, Hu Q (Eds). *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Second Edition. Wiley-Blackwell Pub Ltd, New York. doi: 10.1002/9781118567166.ch8
- Mata TM, Martins AA, Caetano NS (2010) Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew Sustain Energy Rev* 14: 217–232. doi: 10.1016/j.rser.2009.07.020
- Michael C, del Ninno M, Gross M, Wen Z (2015) Use of wavelength-selective optical light filters for enhanced microalgal growth in different algal cultivation systems. *Bioresour Technol* 179: 473–482. doi: 10.1016/j.biortech.2014.12.075
- Morales M, Sanchez L, Revah S (2018) The impact of environmental factors on carbon dioxide fixation by microalgae. *FEMS Microbiol Lett* 365: fnx262. doi: 10.1093/femsle/fnx262
- Moser BR (2009) Biodiesel production, properties, and feedstocks. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 45: 229–266. doi: 10.1007/s11627-009-9204-z
- Mousavi P, Morowvat MH, Montazeri-Najafabady N, Abolhassanzadeh Z, Mohagheghzadeh A, Hamidi M, Niazi A, Ghasemi Y (2016) Investigating the effects of phytohormones on growth and β-carotene production in a naturally isolates strain of *Dunaliella salina*. *J Appl Pharm Sci* 6: 164–171. doi: 10.7324/JAPS.2016.60826
- Mousavi S, Najafpour GD, Mohammadi M (2018) CO₂ bio-fixation and biofuel production in an airlift photobioreactor by an isolated strain of microalgae *Coelastrum* sp. SM under high CO₂ concentrations. *Environ Sci Pollut Res Int* 25: 30139–30150. doi: 10.1007/s11356-018-3037-4
- Mujiyanto S, Tiess G (2013) Secure energy supply in 2025: Indonesia's need for an energy policy strategy. *Energy Policy* 61: 31–41. doi: 10.1016/j.enpol.2013.05.119
- Nagarajan S, Chou SK, Cao S, Wu C, Zhou Z (2013) An updated comprehensive techno-economic analysis of algae biodiesel. *Bioresour Technol* 145: 150–156. doi: 10.1016/j.biortech.2012.11.108
- Ono E, Cuello JL (2007) Carbon dioxide mitigation using thermophilic cyanobacteria. *Biosyst Eng* 96: 129–

134. doi: 10.1016/j.biosystemseng.2006.09.010
- Ou L, Banerjee S, Xu H, Coleman AM, Cai H, Lee U, Wigmosta MS, Hawkins TR (2021) Utilizing high-purity carbon dioxide sources for algae cultivation and biofuel production in the United States: Opportunities and challenges. *J Clean Prod* 321: 128779. doi: 10.1016/j.jclepro.2021.128779
- Pagels F, Amaro HM, Tavares TG, Casal S, Malcata FX, Sousa-Pinto I, Guedes AC (2021) Effects of irradiance of red and blue:red LEDs on *Scenedesmus obliquus* M2-1 optimization of biomass and high added-value compounds. *J Appl Phycol* 33: 1379–1388. doi: 10.1007/s10811-021-02412-4
- Pal D, Khozin-Goldberg I, Cohen Z, Boussiba S (2011) The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis* sp. *Appl Microbiol Biotechnol* 90: 1429–1441. doi: 10.1007/s00253-011-3170-1
- Park WK, Yoo G, Moon M, Kim CW, Choi YE, Yang JW (2013) Phytohormone supplementation significantly increases growth of *Chlamydomonas reinhardtii* cultivated for biodiesel production. *Appl Biochem Biotechnol* 171: 1128–1142. doi: 10.1007/s12010-013-0386-9
- Peraturan Presiden Republik Indonesia No. 5/2006 tentang Kebijakan Energi Nasional
- Piotrowska-Niczyporuk A, Bajguz A (2014) The effect of natural and synthetic auxins on the growth, metabolite content and antioxidant response of green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). *Plant Growth Regul* 73: 57–66. doi: 10.1007/s10725-013-9867-7
- Piotrowska A, Czerpak R (2009) Cellular response of light/dark-grown green alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck (Chlorophyceae) to exogenous adenine- and phenylurea-type cytokinins. *Acta Physiol Plant* 31: 573–585. doi: 10.1007/s11738-008-0267-y
- Pires JCM, Alvim-Ferraz MCM, Martins FG, Simões M (2012) Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. *Renew Sustain Energy Rev* 16: 3043–3053. doi: 10.1016/j.rser.2012.02.055
- Płaczek M, Patyna A, Witczak S (2017) Technical evaluation of photobioreactors for microalgae cultivation. *E3S Web Conf.* 19: 02032. doi: 10.1051/e3sconf/20171902032
- Portnoy VA, Bezdán D, Zengler K, (2011) Adaptive laboratory evolution – harnessing the power of biology for metabolic engineering. *Curr Opin Biotechnol* 22: 590–594. doi: 10.1016/j.copbio.2011.03.007
- Praharyawan S, Rahman DY, Susilaningsih D (2018) Influence of light intensity on lipid productivity and fatty acids profile of *Choricystis* sp. LBB13-AL045 for biodiesel production. *Res J Life Sci* 5: 128–139. doi: 10.21776/ub.rjls.2018.005.02.7
- Praharyawan S, Rahman DY, Susilaningsih D (2020) The enhancement of growth, biomass production and lipid productivity of microalgae *Choricystis* sp. LBB13-AL045 by the addition of hot water extract of its dried biomass. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci* 457: 012071. doi: 10.1088/1755-1315/457/1/012071
- Pratt R (1938) Influence of auxins on the growth of *Chlorella vulgaris*. *Am J Bot* 25: 498–501. doi: 10.2307/2436677
- Price GD (2011) Inorganic carbon transporters of the cyanobacterial CO₂ concentrating mechanism. *Photosynth Res* 109: 47–57. doi: 10.1007/s11120-010-9608-y
- Pulz O (2001) Photobioreactors: Production systems for phototrophic microorganisms. *App Microbiol Biotechnol* 57: 287–293. doi: 10.1007/s002530100702
- Qu F, Jin W, Zhou X, Wang M, Chen C, Tu R, Han S, He Z, Li S (2020) Nitrogen ion beam implantation for enhanced lipid accumulation of *Scenedesmus obliquus* in municipal wastewater. *Biomass and Bioenergy* 134: 105483. doi: 10.1016/j.biombioe.2020.105483
- Ra CH, Sirisuk P, Jung JH, Jeong GT, Kim SK (2018) Effects of light-emitting diode (LED) with a mixture of wavelengths on the growth and lipid content of microalgae. *Bioprocess Biosyst Eng* 41: 457–465. doi: 10.1007/s00449-017-1880-1

- Rai SV, Rajashekhar M (2014) Effect of pH, salinity and temperature on the growth of six species of marine phytoplankton. *J Algal Biomass Util* 5: 55–59. Corpus ID: 86060506
- Ramanna L, Rawat I, Bux F (2017) Light enhancement strategies improve microalgal biomass productivity. *Renew Sustain Energy Rev* 80: 765–773. doi: 10.1016/j.rser.2017.05.202
- Raposo MF de J, de Morais RMSC (2013) Influence of the growth regulators kinetin and 2,4-D on the growth of two chlorophyte microalgae, *Haematococcus pluvialis* and *Dunaliella salina*. *J Basic Appl Sci* 9: 302–308. doi: 10.6000/1927-5129.2013.09.40
- Ravikumar R (2014) Micro algae in open raceways. pp 127–146. In: Bajpai R, Prokop A, Zappi M (Eds). *Algal Biorefineries*. Springer, Dordrecht. doi: 10.1007/978-94-007-7494-0_5
- Razzak SA (2019) In situ biological CO₂ fixation and wastewater nutrient removal with *Neochloris oleoabundans* in batch photobioreactor. *Bioprocess Biosyst Eng* 42: 93–105. doi: 10.1007/s00449-018-2017-x
- Richmond A (2013) Biological principles of mass cultivation of photoautotrophic microalgae. Pp 171–204. In: Richmond A, Hu Q (Eds). *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Second Edition. Wiley-Blackwell Pub Ltd, New York. doi: 10.1002/9781118567166.ch11
- Rodas-Zuluaga LI, Castaneda-Hernandez L, Castillo-Vacas EI, Gradiz-Menjivar A, López-Pacheco IY, Castillo-Zacarias C, Bouilly L, Iqbal HMN, Parra-Saldívar R (2021) Bio-capture and influence of CO₂ on the growth rate and biomass composition of the microalgae *Botryococcus braunii* and *Scenedesmus* sp. *J CO₂ Util* 43: 101371. doi: 10.1016/j.jcou.2020.101371
- Romanenko KO, Kosakovskaya IV, Romanenko PO (2016) Phytohormones of microalgae: Biological role and involvement in the regulation of physiological processes. *Int J Algae* 18: 179–201. doi: 10.1615/InterJAlgae.v18.i2.70
- Ruiz-Ruiz P, Estrada A, Morales M (2020) Carbon dioxide capture and utilization using microalgae. Pp 185–206. In: Jacob-Lopes E, Maroneze MM, Queiroz MI, Zepka LQ (Eds). *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*. 1st Edition. Elsevier, Amsterdam. doi:10.1016/B978-0-12-818536-0.00008-7
- Ruiz J, Olivieri G, de Vree J, Bosma R, Willems P, Reith JH, Eppink MHM, Kleinegris DMM, Wijffels RH, Barbosa MJ (2016) Towards industrial products from microalgae. *Energy Environ Sci* 9: 3036–3043. doi:10.1039/c6ee01493c
- Salama E, Kabra AN, Ji M, Rae J, Min B, Jeon B (2014) Enhancement of microalgae growth and fatty acid content under the influence of phytohormones. *Bioresour Technol* 172: 97–103. doi: 10.1016/j.biortech.2014.09.002
- San Pedro A, Gonzalez-Lopez CV, Acien FG, Molina-Grima E (2014) Outdoor pilot-scale production of *Nannochloropsis gaditana*: Influence of culture parameters and lipid production rates in tubular photobioreactors. *Bioresour Technol* 169: 667–676. doi: 10.1016/j.biortech.2014.07.052
- Schenk PM, Thomas-Hall SR, Stephens E, Marx UC, Mussgnug JH, Posten C, Kruse O, Hankamer B (2008) Second generation biofuels: High-efficiency microalgae for biodiesel production. *BioEnergy Res* 1: 20–43. doi: 10.1007/s12155-008-9008-8
- Seo SH, Ha JS, Yoo C, Srivastava A, Ahn CY, Cho DH, La HJ, Han MS, Oh HM (2017) Light intensity as major factor to maximize biomass and lipid productivity of *Ettlia* sp. in CO₂-controlled photoautotrophic chemostat. *Bioresour Technol* 244: 621–628. doi: 10.1016/j.biortech.2017.08.020
- Seo YH, Lee Y, Jeon DY, Han JI (2015) Enhancing the light utilization efficiency of microalgae using organic dyes. *Bioresour Technol* 181: 355–359. doi: 10.1016/j.biortech.2015.01.031
- Sharmila D, Suresh A, Indhumathi J, Gowtham K, Velmurugan N (2018) Impact of various color filtered LED lights on microalgae growth, pigments and lipid production. *Eur J Biotechnol Biosci* 6: 1–7

- Shin DY, Cho HU, Utomo JC, Choi YN, Xu X, Park JM (2015) Biodiesel production from *Scenedesmus bijuga* grown in anaerobically digested food wastewater effluent. *Bioresour Technol* 184: 215–221. doi: 10.1016/j.biortech.2014.10.090
- Singh J, Jain D, Agarwal P, Singh RP (2020) Auxin and cytokinin synergism augmenting biomass and lipid production in microalgae *Desmodesmus* sp. JS07. *Process Biochem* 95: 223–234. doi: 10.1016/j.procbio.2020.02.012
- Skorupskaite V, Makareviciene V, Levisauskas D (2015) Optimization of mixotrophic cultivation of microalgae *Chlorella* sp. for biofuel production using response surface methodology. *Algal Res* 7: 45–50. doi: 10.1016/j.algal.2014.12.001
- Stirk WA, van Staden J (2020) Potential of phytohormones as a strategy to improve microalgae productivity for biotechnological applications. *Biotechnol Adv* 44: 107612. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107612
- Stirk WA, Balint P, Tarkowska D, Novak O, Strnad M, van Staden J (2013) Hormone profiles in microalgae: Gibberellins and brassinosteroids. *Plant Physiol Biochem* 70: 348–353. doi: 10.1016/j.plaphy.2013.05.037
- Stirk WA, Tarkowská D, Gruz J, Strnad M, Ördög V, van Staden J (2019) Effect of gibberellins on growth and biochemical constituents in *Chlorella minutissima* (Trebouxiophyceae). *S Afr J Bot* 126: 92–98. doi: 10.1016/j.sajb.2019.05.001
- Tarakhovskaya ER, Maslov YI, Shishova MF (2007) Phytohormones in algae. *Russ J Plant Physiol* 54: 163–170. doi: 10.1134/S1021443707020021
- Thawechai T, Cheirsilp B, Louhasakul Y, Boonsawang P, Prasertsan P (2016) Mitigation of carbon dioxide by oleaginous microalgae for lipids and pigments production: Effect of light illumination and carbon dioxide feeding strategies. *Bioresour Technol* 219: 139–149. doi: 10.1016/j.biortech.2016.07.109
- Thomas DM, Mechery J, Paulose SV (2016) Carbon dioxide capture strategies from flue gas using microalgae: A review. *Environ Sci Pollut Res Int* 23: 16926–16940. doi: 10.1007/s11356-016-7158-3
- Tian B, Wang Y, Zhu Y, Lu X, Huang K, Shao N, Beck CF (2006) Synthesis of the photorespiratory key enzyme serine: Glyoxylate aminotransferase in *C. reinhardtii* is modulated by the light regime and cytokinin. *Physiol Plant* 127: 571–582. doi: 10.1111/j.1399-3054.2006.00691.x
- Toledo-Cervantes A, Morales M, Novelo E, Revah S (2013) Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresour Technol* 130: 652–658. doi: 10.1016/j.biortech.2012.12.081
- Varshney P, Beardall J, Bhattacharya S, Wangikar PP (2018) Isolation and biochemical characterisation of two thermophilic green algal species- *Asterarcys quadricellulare* and *Chlorella sorokiniana*, which are tolerant to high levels of carbon dioxide and nitric oxide. *Algal Res* 30: 28–37. doi: 10.1016/j.algal.2017.12.006
- Vonshak A (1986) Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. pp 117–145. In: Richmond A (Ed). *Handbook of Microalgal Mass Culture*. 1st Edition. CRC Press, Boca Raton
- Wang B, Li Y, Wu N, Lan CQ (2008) CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Appl Microbiol Biotechnol* 79: 707–718. doi: 10.1007/s00253-008-1518-y
- Wu Q, Guo L, Wang Y, Zhao Y, Jin C, Gao M, She Z (2021) Phosphorus uptake, distribution and transformation with *Chlorella vulgaris* under different trophic modes. *Chemosphere* 285: 131366. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131366
- Yaakob MA, Mohamed RMSR, Al-gheethi A, Tiew A, Kassim AHM (2019) Optimising of *Scenedesmus* sp. biomass production in chicken slaughterhouse wastewater using response surface methodology and potential utilisation as fish feeds. *Environ Sci Pollut Res Int* 26: 12089–12108. doi: 10.1007/s11356-019-04633-0
- Yang Y, Weathers P (2015) Red light and carbon dioxide differentially affect growth, lipid production, and quality in the microalga, *Ettlia oleoabundans*. *Appl Microbiol Biotechnol* 99: 489–499.

- doi: 10.1007/s00253-014-6137-1
- Ying K, Gilmour DJ, Zimmerman WB (2014) Effects of CO₂ and pH on growth of the microalga *Dunaliella salina*. *J Microb Biochem Technol* 6: 167–173. doi: 10.4172/1948-5948.1000138
- Yoo C, Choi G, Kim S, Oh H (2013) *Ettlia* sp. YC001 showing high growth rate and lipid content under high CO₂. *Bioresour Technol* 127: 482–488. doi: 10.1016/j.biortech.2012.09.046
- Yu Z, Pei H, Jiang L, Hou Q, Nie C, Zhang L (2018) Phytohormone addition coupled with nitrogen depletion almost tripled the lipid productivities in two algae. *Bioresour Technol* 247: 904–914. doi: 10.1016/j.biortech.2017.09.192
- Yuan H, Zhang X, Jiang Z, Wang X, Chen X, Cao L, Zhang X (2019) Analyzing the effect of pH on microalgae adhesion by identifying the dominant interaction between cell and surface. *Colloids Surf B Biointerfaces* 177: 479–486. doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.02.023
- Zhang H, Yin W, Ma D, Liu X, Xu K, Liu J (2021) Phytohormone supplementation significantly increases fatty acid content of *Phaeodactylum tricornutum* in two-phase culture. *J Appl Phycol* 33: 13–23. doi: 10.1007/s10811-020-02074-8
- Zhang H, Zeng R, Chen D, Liu J (2016) A pivotal role of vacuolar H⁺ - ATPase in regulation of lipid production in *Phaeodactylum tricornutum*. *Sci Rep* 6: 31319. doi: 10.1038/srep31319
- Zhang L, Wang YZ, Wang S, Ding K (2018) Effect of carbon dioxide on biomass and lipid production of *Chlorella pyrenoidosa* in a membrane bioreactor with gas-liquid separation. *Algal Res* 31: 70–76. doi: 10.1016/j.algal.2018.01.014
- Zhang S, Kim TH, Han TH, Hwang SJ (2015) Influence of light conditions of a mixture of red and blue light sources on nitrogen and phosphorus removal in advanced wastewater treatment using *Scenedesmus dimorphus*. *Biotechnol Bioprocess Eng* 20: 760–765. doi: 10.1007/s12257-015-0066-4
- Zhao B, Su Y (2014) Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: A review. *Renew Sustain Energy Rev* 31: 121–132. doi: 10.1016/j.rser.2013.11.054
- Zheng M, Ji X, He Y, Li Z, Wang M, Chen B, Huang J (2020) Simultaneous fixation of carbon dioxide and purification of undiluted swine slurry by culturing *Chlorella vulgaris* MBFJNU-1. *Algal Res* 47: 101866. doi: 10.1016/j.algal.2020.101866