

**Pengaruh Jenis Mikroorganisme yang Diisolasi dari Hutan Bakau Kota Banda Aceh Terhadap Perolehan Biomassa dan Minyak**  
(*Influence of Microorganism Types Isolated from Mangrove Area in Banda Aceh Toward Biomass and Lipid Production*)

**Erika Rozana<sup>1</sup>, Muhammad Ikhsan Sulaiman<sup>1</sup>, Sri Haryani<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

**Abstrak.** Produktivitas biomassa dan minyak yang dihasilkan oleh mikroorganisme dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti teknik pertumbuhan, teknik pemanenan biomassa dan juga metode ekstraksi yang digunakan. Perbedaan hasil produktivitas minyak juga dapat terjadi akibat adanya perbedaan spesies mikroorganisme yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis mikroorganisme yang ditumbuhkan pada media cair dengan kondisi pertumbuhan yang sama terhadap perolehan jumlah biomassa dan *yield* minyak yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroalga dan *yeast* yang telah diisolasi dari perairan hutan bakau kota Banda Aceh yang telah teridentifikasi secara genetik sebagai *T. multirudimentale* (mikroalga) dan *Rhodotorula mucilaginosa* (*yeast*). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa mikroalga dapat memproduksi biomassa lebih tinggi (8,90 g/L) daripada *yeast* (4,20 g/L). Mikroalga memiliki densitas optis kultur lebih tinggi dibandingkan *yeast*. Namun perolehan tertinggi *yield* minyak dihasilkan oleh *yeast* yaitu sebesar 1,70 % sedangkan pada mikroalga hanya 0,45%. Jenis mikroorganisme berpengaruh sangat nyata ( $P \leq 0.01$ ) terhadap *yield* minyak mikroorganisme yang dihasilkan.

**Kata kunci :** Mikroorganisme, biomassa, minyak, mikroalga, *yeast*.

**Abstract.** Oil and biomass production by microorganisms influenced by several factors such as growth conditions, biomass harvesting techniques and also the extraction methods used. Differences in oil productivity can be obtained because of varieties of the microorganisms. This study aimed to determine the effect of the microorganisms' types which were grown with the same conditions toward the amount of biomass and oil produced. Microorganisms in this study isolated previously from mangrove area in Banda Aceh which is genetically identified as *Thraustochytrids multirudimentale* (microalgae) and *Rhodotorula mucilaginosa* (*yeast*). The results showed that microalgae produced the highest yield of biomass (8.90 g/L) than yeast (4.20 g/L). Microalgae had a higher culture optical density than yeast. However the yield of oil produced by yeast was higher 1.70% than microalga which produced the amount of oil only 0.45%. The type of microorganism affect the yield of oil produced significantly ( $P \leq 0.01$ ).

**Keywords:** Microorganism, biomass, lipid, microalgae, *yeast*.

## PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai negara dengan kekayaan sumber daya alam yang berlimpah, terutama wilayah perairannya. Eksplorasi terhadap sumber daya perairan terus dikembangkan, beberapa diantaranya adalah mikroorganisme seperti mikroalga, kapang dan khamir. Mikroorganisme tersebut ditemukan tumbuh dengan baik di perairan Indonesia dan merupakan salah satu sumber daya paling potensial yang diperkirakan memiliki prospek cerah dimasa depan.

Sejauh ini, mikroorganisme umumnya hanya dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan kosmetik, farmasi dan alternatif biodiesel. Padahal, mikroorganisme juga memiliki beberapa komponen penting seperti karbohidrat, protein, pigmen, vitamin dan asam lemak tak jenuh (Ohse *et al.* 2015). Salah satu komponen tersebut, yaitu asam lemak tak jenuh merupakan asam lemak yang memiliki peranan penting bagi tubuh manusia. Dalam perkembangannya mikroorganisme telah diketahui memiliki beberapa keunggulan sebagai penghasil asam lemak esensial yang sangat potensial.

Sebagai sumber bahan baku terbarukan, mikroorganisme dibandingkan sumber lainnya seperti tumbuhan dan hewan memiliki beberapa keunggulan. Berbeda dengan tumbuhan, mikroorganisme tidak bergantung pada musim ataupun luas lahan yang subur untuk pertumbuhannya. Produksi minyak hewani sebagai sumber asam lemak esensial juga dapat dijumpai pada beberapa jenis ikan. Pada umumnya ikan-ikan tersebut dikonsumsi sebagai sumber protein. Namun, selama ini ikan juga merupakan sumber asam lemak esensial utama yang menyebabkan beralih fungsinya ikan sebagai sumber protein. Persaingan pasar untuk menjadikan ikan sebagai sumber asam lemak esensial memungkinkan ikan semakin langka sehingga harga minyak ikan menjadi lebih mahal. Produksi minyak mikroorganisme merupakan langkah solutif untuk mengatasi permasalahan tersebut. Penelitian sebelumnya telah berhasil mengisolasi mikroorganisme sumber penghasil asam lemak yang lebih unggul dibandingkan tumbuhan dan ikan beberapa diantaranya adalah mikroalga dan *yeast*.

Mikroalga *Schizochytrium* berdasarkan penelitian (Scott *et al.*, 2007), dapat menghasilkan minyak untuk dikonsumsi oleh kelompok vegetarian dengan kandungan *docosahexaenoic acid* (DHA) yang tinggi yaitu sebesar 34%, kandungan *eicosapentaenoic acid* (EPA) sebesar 2,8% dan *arachidonic acid* (AA) sebesar 1,0%. Mendukung penelitian sebelumnya, Yang *et al.* (2010) juga menyebutkan bahwa minyak mikroalga dari famili *Thraustochytriaceae* mengandung EPA berkisar antara 0,02 sampai 2,61 mg/L dan DHA sebanyak 0,8 sampai 18,0 mg/L. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Lian *et al.* (2013) melaporkan bahwa beberapa mikroorganisme dari strain *yeast* seperti *Rhodotorula glutinis* juga memiliki minyak dengan kandungan asam linoleat sebesar 6,8% dan asam linolenat 1,1%.

Produktivitas minyak yang dihasilkan oleh mikroorganisme juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti teknik pertumbuhan, teknik pemanenan biomassa dan juga metode ekstraksi yang digunakan. Lebih lanjut dijelaskan bahwa setiap mikroorganisme memiliki performa tumbuh yang berbeda-beda sehingga akan berpengaruh pada struktur yang memungkinkan terjadinya perbedaan kandungan komponen penyusunnya. Perbedaan hasil rendemen minyak juga dapat pula terjadi akibat adanya perbedaan spesies mikroorganisme yang digunakan.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Analisis Pangan dan Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian, Laboratorium Pemuliaan Tanaman Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian, Laboratorium Instrumentasi dan Proses Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik, dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni - Desember 2019.

## MATERI DAN METODE

### Materi

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah kultur mikroalga *Thraustochyrid multirudimentale* dan *yeast Rhodotorula mucilaginoso* dari perairan hutan bakau kota Banda Aceh, air laut alami, air destilasi, antibiotik (*Penicilin G* dan *Streptomycin*), *peptone*, glukosa, *agar powder*, Heksan (p.a), kain kasa, kapas, *aluminium foil*, *plastic wrap*, *tissue*, kertas label, parafilm, kertas saring, sarung tangan, dan plastik. Sedangkan alat yang digunakan meliputi

gelas ukur, pipet ukur, erlenmeyer, ose, spatula, timbangan analitik, *autoclave*, *incubator*, *shaker incubator*, *rotary vacuum evaporator*, *sentrifuse*, *biosafety cabinet*, refraktometer, spektrofotometer, rangkaian alat sokhlet.

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non-faktorial dengan 1 faktor yaitu jenis mikroorganisme (M). Faktor jenis mikroorganisme (M) terdiri dari 2 taraf, yaitu M1 (Mikroalga) dan M2 (*Yeast*) dengan 2 kali ulangan. Pada penelitian ini dilakukan penelitian pendahuluan yaitu persiapan kultur mikroorganisme. Selanjutnya dilakukan penelitian utama berupa pemanenan biomassa dan ekstraksi minyak mikroorganisme. Kemudian dilakukan analisis terhadap densitas optis, perolehan biomassa dan *yield* minyak mikroorganisme.

### **Persiapan Kultur Mikroorganisme**

Mikroorganisme yaitu mikroalga dan *yeast* pada penelitian sebelumnya ditumbuhkan kembali pada media padat YEPGA (*yeast extract peptone glucose agar*) kemudian diinkubasi pada suhu 25°C. Setelah berumur 48 jam, kultur mikroorganisme pada media padat diambil sebanyak 2 gores koloni lalu diinokulasikan ke dalam media cair YEPG di dalam erlenmeyer berukuran 250 ml. Selanjutnya media kultur diinkubasi menggunakan *shaker* pada suhu ruang selama 48 jam. Hasil pertumbuhan pada media cair YEPG merupakan starter mikroorganisme pada tahap selanjutnya.

### **Pertumbuhan Pada Media Pertumbuhan Optimum**

Starter mikroorganisme diinokulasikan ke dalam media cair YEPG di dalam erlenmeyer berukuran 250 ml. Selanjutnya media kultur diinkubasi menggunakan *shaker incubator* selama 8 hari.

### **Pemanenan Biomassa**

Pemanenan biomassa dilakukan pada hari ke-8 dengan menggunakan teknik pemanenan sentrifugasi. Media kultur disentrifugasikan pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya dipisahkan supernatan, lalu dibilas padatan menggunakan 50 ml aquadest dan kembali disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Perolehan padatan pada hasil sentrifugasi merupakan biomassa basah. Biomassa basah kemudian dikeringkan di dalam oven pengering menggunakan suhu 50°C selama 12 jam.

### **Ekstraksi Minyak Mikroorganisme**

Ditimbang sebanyak 10 gram biomassa kering lalu diekstraksi menggunakan 100 ml pelarut n-heksana. Sokhletasi dilakukan pada suhu 70°C selama 6 jam. Setelah 6 jam, hasil ekstraksi dan pelarut dipisahkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 70°C dan kecepatan 60 rpm sampai tidak ada lagi pelarut yang menetes.

### **Prosedur Pengujian di Laboratorium**

#### **Densitas Optis Kultur**

Analisis densitas optis kultur dilakukan setiap 2 hari selama 8 hari masa pertumbuhan. Pengukuran densitas optis kultur dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ml sampel (1000µl)

menggunakan mikropipet. Dimasukkan sampel ke dalam kuvet lalu hitung absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm. Catat hasil pengukuran sebagai OD<sub>undil</sub>. Jika hasil pengukuran OD > 0,4 maka sampel harus diencerkan dan diukur kembali sebagai OD<sub>dil</sub>. Diukur sampel sebanyak 2 kali pengulangan (Duplo). Hasil pengukuran OD<sub>dil</sub> dibagi dengan faktor pengenceran dan menjadi OD<sub>corr</sub>. Nilai yang dipakai sebagai data akhir adalah rata-rata OD<sub>corr</sub> (Li *et al.*, 2008)

### **Biomassa Basah**

Dilakukan penimbangan terhadap cawan kosong terlebih dahulu. Selanjutnya biomassa basah yang telah dipanen diletakkan di atas cawan kemudian cawan yang telah berisi kultur ditimbang menggunakan timbangan analitik. Dicatat hasil akhir penimbangan, selisih berat cawan kosong dan berat akhir cawan adalah berat biomassa basah. Perolehan biomassa kemudian dikonversikan dalam gram/L (Harzaki, 2015).

### **Biomassa Kering**

Dilakukan penimbangan terhadap cawan kosong terlebih dahulu. Selanjutnya biomassa basah ditambahkan ke dalam cawan kosong lalu ditimbang kembali sebagai berat awal. Biomassa selanjutnya dikeringkan menggunakan oven pengering selama 12 jam dengan suhu 50°C. Setelah pengeringan selanjutnya cawan dan biomassa ditimbang kembali sebagai berat akhir. Dicatat selisih berat akhir dan berat awal sebagai berat biomassa kering. Perolehan biomassa kemudian dikonversikan dalam gram/L (Harzaki, 2015).

### **Yield Minyak Mikroorganisme**

Sampel ditimbang sebelum dilakukan ekstraksi untuk diketahui jumlah minyak yang dihasilkan dalam jumlah sampel tertentu. Nurmitasari (2017) melakukan analisis perolehan *yield* minyak menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Yield minyak (\%)} = \frac{W1 - W2}{W3} \times 100 \%$$

Keterangan :

- W1 : Berat botol + minyak (gram)  
W2 : Berat botol kosong (gram)  
W3 : Berat sampel awal (gram)

### **Analisa Statistik**

Untuk menguji pengaruh dari faktor dan data hasil penelitian yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan metode analisis regresi pola linear sederhana. Perolehan data regresi selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila perlakuan yang diberikan menunjukkan pengaruh terhadap parameter yang diuji, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji lanjut yaitu uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Morfologi Mikroorganisme**

Mikroorganisme yang ditumbuhkan pada penelitian ini adalah mikroalga dan *yeast* yang diisolasi dari perairan hutan bakau Kota Banda Aceh. Anwar *et al.* (2019) melaporkan hasil identifikasi bahwa mikroalga yang diisolasi merupakan *Thraustochytrid multirudimentale* dan *yeast* adalah *Rhodotorula mucilaginosa*. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa mikroalga

*Thrasutochytrid multirudimentale* memiliki bentuk koloni bulat dengan pinggiran rata dan berwarna putih. Warna koloni mikroalga berwarna putih dengan permukaan yang tampak licin. Koloni *Rhodotorula mucilaginosa* menunjukkan bahwa koloni berbentuk bulat tidak disertai adanya flagela dan berwarna oranye.

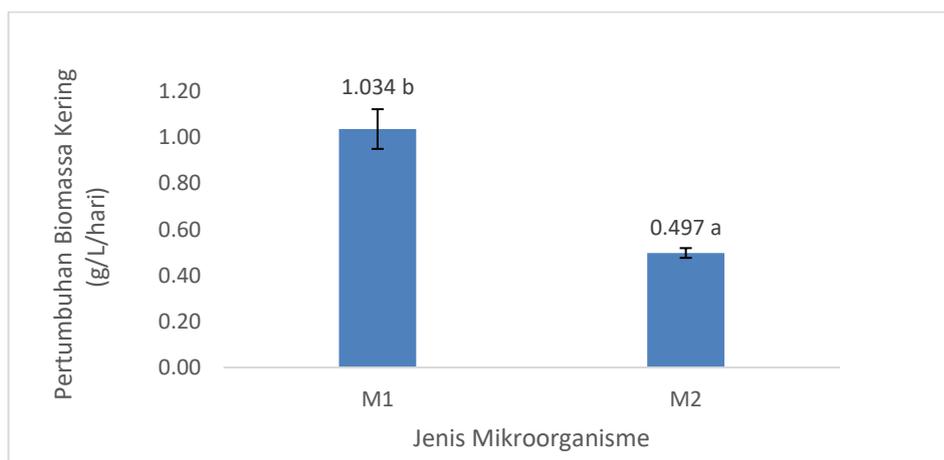
### Biomassa

Mikroorganisme memiliki berbagai kandungan penting salah satunya adalah minyak. Kandungan minyak dari mikroorganisme tersebut didapatkan melalui perolehan biomassa terlebih dahulu. Perolehan biomassa dari mikroalga dan *yeast* didapatkan dengan melakukan kultivasi pada media pertumbuhan optimum selama 8 hari dan dilakukan pengamatan setiap 2 hari sekali.

Tabel 1. Perolehan biomassa basah selama masa pertumbuhan

Hari	Biomassa Basah (g/L)	
	Jenis Mikroorganisme	
	Mikroalga	<i>Yeast</i>
0	0,36±0,08	0,18±0,01
2	2,42±0,64	1,35±0,28
4	2,68±0,46	1,55±0,37
6	3,01±0,16	2,01±0,16
8	3,08±0,21	2,15±0,14

Tabel 1 menjelaskan bahwa perolehan biomassa basah pada masing-masing mikroorganisme mengalami peningkatan seiring dengan semakin lama waktu pertumbuhan. Perolehan biomassa basah pada mikroalga lebih tinggi dibandingkan dengan perolehan biomassa basah pada *yeast*. Selanjutnya biomassa basah dari mikroorganisme dikeringkan menggunakan oven sehingga diperoleh biomassa kering. Perolehan biomassa kering dari mikroalga dan *yeast* dapat dilihat pada Gambar 1.



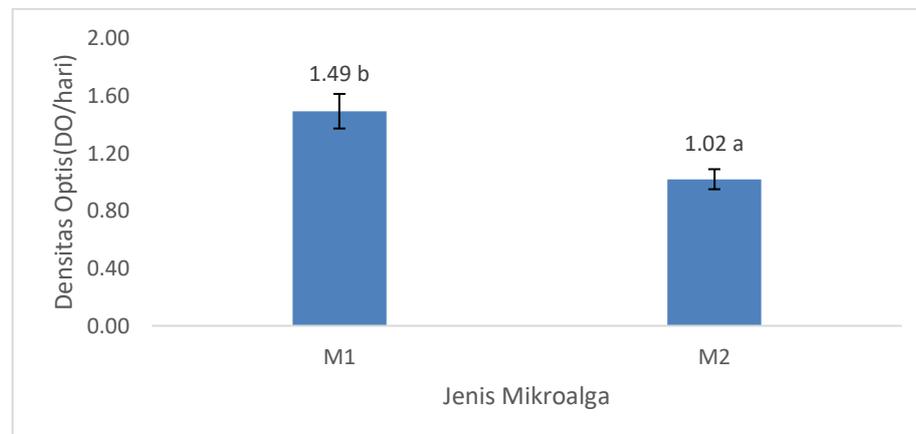
Gambar 1. Pengaruh jenis mikroorganisme pada kecepatan pertumbuhan biomassa kering (Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata,  $P \leq 0,05$ ;  $BNT_{0,05} = 0,269$ ;  $KK = 8,18\%$ )

Hasil uji lanjut  $BNT_{0,05}$  memperlihatkan adanya perbedaan jumlah biomassa kering yang dihasilkan oleh mikroalga jika dibandingkan dengan *yeast*. Biomassa kering yang dihasilkan oleh *yeast* jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan biomassa kering dari mikroalga. Perbedaan produktivitas biomassa kering pada kedua jenis mikroorganisme tersebut diduga akibat adanya mekanisme metabolisme yang berbeda. Biomassa yang dihasilkan oleh mikroalga lebih tinggi menunjukkan bahwa mikroalga lebih aktif memanfaatkan nutrisi dari medium untuk pertumbuhan (Ren *et al.*, 2013). Sedangkan pada *yeast* produktivitas biomassa cenderung rendah, hal tersebut juga dapat merefleksikan laju pertumbuhan yang lambat.

Laju pertumbuhan yang cenderung lambat diduga akibat adanya proses fermentasi glukosa yang dilakukan oleh *yeast* dalam kondisi anaerob. Proses perombakan glukosa oleh *yeast* telah menghasilkan senyawa hasil samping metabolisme yang sebagian bersifat sebagai inhibitor. Menurut Prabhu *et al.* (2019) kondisi ini dapat menyebabkan perubahan pada medium pertumbuhan sehingga menjadi pembatas untuk pertumbuhan *yeast* dan mempercepat *yeast* untuk memasuki fase stasioner. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa mikroalga merupakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan sebagai penghasil biomassa yang potensial.

### Densitas Optis Kultur

Hasil sidik ragam menunjukkan faktor jenis mikroorganisme berpengaruh nyata ( $P \leq 0,05$ ) terhadap hasil absorbansi pada uji densitas optis kultur kedua jenis mikroorganisme. Pengaruh jenis mikroorganisme terhadap densitas optis kultur dapat dilihat pada Gambar 2.

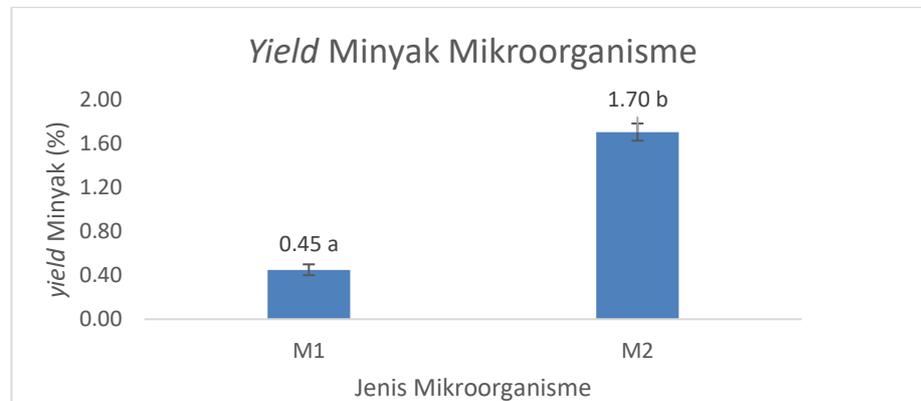


Gambar 2. Pengaruh jenis mikroorganisme terhadap densitas optis kultur (Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata,  $P \leq 0,05$ ;  $BNT_{0,05} = 0,422$ ;  $KK = 7,82159\%$ )

Hasil uji  $BNT_{0,05}$  menunjukkan bahwa densitas optis kultur pada mikroalga berbeda dengan densitas optis kultur pada *yeast*. Nilai absorbansi pada mikroalga jauh lebih tinggi dibandingkan pada *yeast*. Hal ini mengindikasikan adanya pertumbuhan pada sel yang memungkinkan diameter sel semakin membesar sehingga menyebabkan kemampuan sel untuk melakukan penyerapan cahaya semakin besar (Zamani dan Muhaemin, 2016). Selain itu, densitas optis kultur juga dapat merepresentasikan produktivitas biomassa pada medium pertumbuhan.

### Yield Minyak Mikroorganisme

Hasil sidik ragam menunjukkan faktor jenis mikroorganisme berpengaruh sangat nyata ( $P \leq 0,01$ ) terhadap hasil perolehan minyak yang diproduksi oleh keduanya. Pengaruh jenis mikroorganisme terhadap *yield* minyak yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh jenis mikroorganisme terhadap *yield* minyak mikroorganisme (Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata,  $P \leq 0,01$ ;  $BNT_{0,01} = 0,6486$ ;  $KK = 6,06973\%$ ).

Hasil uji  $BNT_{0,01}$  menunjukkan bahwa adanya perbedaan antara jenis mikroorganisme mikroalga dan *yeast* terhadap perolehan minyak mikroorganisme. Pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa minyak yang dihasilkan oleh *yeast* lebih tinggi jika dibandingkan dengan minyak dari mikroalga. Hal ini diduga dapat terjadi karena produktivitas minyak yang dihasilkan oleh mikroorganisme sangat bergantung pada nutrisi di dalam medium pertumbuhan khususnya sumber karbon dan sumber nitrogen. Substrat berupa nitrogen akan lebih dulu digunakan pada tahap awal pertumbuhan mikroorganisme sehingga menyebabkan terjadinya kondisi *nitrogen stress* atau penurunan ketersediaan nitrogen di dalam medium pertumbuhan (Hendrawan 2017).

Kondisi ini memicu sel agar dapat tetap bertahan hidup dengan cara mengkonversikan glukosa menjadi lipid untuk membantu pertumbuhan sel. Dalam hal ini, adanya produktivitas biomassa *yeast* yang rendah mengindikasikan bahwa *yeast* mengalami pertumbuhan yang lebih lambat karena sumber nitrogen mulai menurun. Penurunan nitrogen dalam medium pertumbuhan menyebabkan *yeast* lebih aktif mengkonversikan gula dan mengakumulasikannya sebagai lipid. Berbeda dengan mikroalga, perolehan biomassa dan densitas kultur masih terus meningkat bahkan hingga hari ke-8. Pertumbuhan mikroalga yang sangat signifikan mengindikasikan bahwa ketersediaan nitrogen masih tinggi sehingga menunda terjadinya kondisi *nitrogen stress* yang berdampak pada produktivitas minyak mikroalga yang rendah.

### KESIMPULAN DAN SARAN

Perbedaan mikroorganisme berpengaruh nyata ( $P \leq 0,05$ ) terhadap densitas optis kultur. Mikroalga memiliki densitas optis kultur lebih tinggi dibandingkan *yeast*. Perolehan biomassa kering mikroalga lebih tinggi dibandingkan dengan *yeast* yaitu sebesar 8,90 gr/L sedangkan

yeast hanya berhasil memproduksi biomassa kering sebesar 4,20 g/L. Berdasarkan hasil penelitian maka saran yang dapat diberikan yaitu diperlukan optimasi pertumbuhan pada kedua jenis mikroorganismenya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar SH, Tristia R, Ramadhani R. 2019. Phylogeny analysis of omega-3 fatty acids producing microalgae isolated from mangrove area in Banda Aceh Indonesia based on 18S rDNA gene. The 10<sup>th</sup> International Seminar on Indonesia Society for Microbiology, Solo.
- Harzaki S. 2015. Pengaruh Berbagai Sumber Nitrogen Terhadap Pertumbuhan Mikroalga yang Diisolasi dari Hutan Bakau Kota Banda Aceh. Skripsi. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Hendrawan Y. 2017. Pengaruh Fotoperiode dan variasi kandungan nitrogen (NaNO<sub>3</sub>) terhadap laju pertumbuhan dan kandungan lipid. Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem. 5(1): 9–18.
- Li Y, Horsman M, Wang B, Wu N. 2008. Effect of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. University of Ottawa, Ottawa.
- Lian J, Perez MG, Chen S. 2013. Fermentation of levoglucosan with oleaginous yeasts for lipid production. Bioresource Technology. 133: 183–189.
- Nurmitasari, Y. 2017. Ekstraksi Minyak dari Mikroalga (*Chlorella sp.*) dengan *Microwave Assisted Extraction* sebagai Pembuat Biodiesel. Skripsi. Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya.
- Ohse S, Derner RB, Ozório RA, Corrêa RG, Furlong EB, Cunha PCR. 2015. Lipid content and fatty acid profiles in ten species of microalgae. Idesia. 33(1): 93–101
- Prabhu AA, Gadela R, Bharali B, Deshavath NN, Dasu VV. 2019. Development of high biomass and lipid yielding medium for newly isolated *Rhodotorula mucilaginosa*. Fuel. 239: 874–885.
- Ren HY, Liu BF, Ma C, Zhao L, Ren NQ. 2013. A new lipid-rich microalga *Scenedesmus sp.* strain R-16 isolated using Nile red staining: effects of carbon and nitrogen sources and initial pH on the biomass and lipid production. Biotechnol Biofuels. 6(1): 143–153.
- Scott D, Doughman S, Krupanidhi, Sanjeevi CB. 2007. Omega-3 fatty acids for nutrition and medicine: considering microalgae oil as a vegetarian source of EPA and DHA. CDR. 3(3): 198–203.
- Yang HL, Lu CK, Chen SF, Chen MY, Chen YM. 2010. Isolation and characterization of Taiwanese heterotrophic Microalgae: screening of strains for docosahexaenoic acid (DHA) production. Mar Biotechnol. 12(2): 173–185.
- Zamani NP, Muhaemin M. 2016. Penggunaan spektrofotometer sebagai pendeteksi kepadatan sel mikroalga laut. Maspari Journal. 8(1): 39–48.