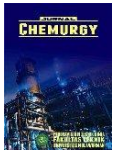
	<h1>JURNAL CHEMURGY</h1> <p>E-ISSN 2620-7435</p> <p>Available online at http://e-journals.unmul.ac.id/index.php/TK</p>	 <p>SINTA Accreditation No. 152/E/KPT/2023</p>
---	---	---

POTENSI LIPID MIKROALGA AURANTIOCHYTRIUM DARI HUTAN BAKAU INDONESIA SEBAGAI BAHAN BAKU PRODUKSI BIOFUEL

LIPID POTENTIAL OF AURANTIOCHYTRIUM MICROALGAE FROM INDONESIAN MANGROVE FOREST AS RAW MATERIALS FOR BIOFUEL PRODUCTION

Suhendra^{1,*}, Veranica¹, Nurliana Handayani¹, Andri Hutari²

¹Program Studi Teknik Kimia, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Jl. Ringroad Selatan, Kragilan, Tamanan, Kec. Banguntapan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta 55191

²Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Prof. Dr. HAMKA, Jakarta

*email : suhendra@che.uad.ac.id

(Received: 2022, 05, 17; Reviewed: 2022, 05, 17; Accepted: 2024, 05, 22)

Abstrak

Permintaan energi terus meningkat seiring dengan pertumbuhan industri, perkembangan teknologi, dan pertumbuhan penduduk. Saat ini, ada kebutuhan mendesak untuk menemukan sumber energi alternatif yang berkelanjutan, aman, dan ramah lingkungan sebagai pengganti energi fosil. Biofuel muncul sebagai alternatif yang menjanjikan untuk bahan bakar fosil. Mikroalga dianggap sebagai bahan baku alternatif untuk produksi biofuel karena memiliki kandungan lipid yang tinggi. Tulisan ini mengkaji potensi mikroalga *Aurantiochytrium* yang bersumber dari hutan bakau. Sebagai negara hutan bakau terluas dunia, Indonesia memiliki keanekaragaman hayati isolat mikroalga dari berbagai hutan bakau di Indonesia sebagai bahan baku untuk produksi biofuel. Mikroalga *Aurantiochytrium* diketahui memiliki kandungan lipid yang sangat tinggi, mencapai lebih dari 50% dari biomassa keringnya, yang membuatnya sangat cocok untuk produksi biodiesel. Tantangan produksi biofuel adalah keekonomisan. Keunggulan mikroalga *Aurantiochytrium* adalah mampu menghasilkan asam lemak tak jenuh ganda omega-3, seperti DHA, yang memiliki nilai ekonomi tinggi sehingga menarik sebagai produksi terpadu dengan produksi biofuel. Beberapa potensi produk biofuel dari mikroalga *Aurantiochytrium* seperti bioavtur dan biodiesel dikaji di tulisan ini. Proses produksi biofuel dari mikroalga ini melibatkan beberapa tahapan mulai dari isolasi dan kultivasi hingga ekstraksi lipid dan konversi menjadi biodiesel atau bioavtur melalui proses transesterifikasi dan hidroprosesing. Hasil kajian menunjukkan bahwa mikroalga *Aurantiochytrium* memiliki potensi besar sebagai sumber biofuel yang berkelanjutan. Tulisan ini menampilkan kajian awal metode isolasi mikroalga *Aurantiochytrium* dari hutan bakau Indonesia dan beberapa isolate yang dihasilkan. Diharapkan penelitian ini menjadi landasan pengembangan awal untuk produksi biofuel dari mikroalga *Aurantiochytrium* dari hutan bakau Indonesia.

Kata kunci: *Aurantiochytrium*, biofuel, lipid, microalgae

Abstract

Following the expansion of industry, technology, and population, there is an increasing demand for energy. To replace fossil fuels, it is currently imperative to create safe, environmentally acceptable, and sustainable alternative energy sources. As a possible replacement for fossil fuels, biofuels have gained popularity.

Microalgae's high lipid content makes them an alternative raw material for the generation of biofuel. This study investigates the potential of mangrove forest-sourced Aurantiochytrium microalgae. Indonesia boasts the world's largest mangrove forests and a wide variety of microalgal isolates from different mangrove forests that can be used as raw materials to produce biofuel. The economic viability of biofuel production is a challenge. The capacity to create omega-3 polyunsaturated fatty acids, such DHA, which have a high economic value, is one benefit of Aurantiochytrium microalgae and makes integrated production with biofuel production feasible. The possible biofuel products from Aurantiochytrium microalgae, including biodiesel and bioaviation fuel, are reviewed in this research. These microalgae go through multiple steps in the biofuel production process, including isolation, cultivation, lipid extraction, and hydroprocessing and transesterification to turn the algae into biodiesel or biojet fuel. According to the research, aurantiochytrium microalgae hold great promise as a long-term biofuel source. An initial investigation of the techniques used to separate Aurantiochytrium microalgae from Indonesian mangrove forests, as well as a few of the resulting isolates, are presented in this publication. The first steps toward producing biofuel from Aurantiochytrium microalgae obtained from Indonesian mangrove forests are expected to be laid by this research.

Key words: *Aurantiochytrium, biofuel, lipid, microalgae*

1. PENDAHULUAN

Permintaan energi terus meningkat seiring dengan pertumbuhan industri, perkembangan teknologi dan pertumbuhan penduduk (Mahmudul et al., 2017a). Sumber energi yang masih digunakan sampai saat ini adalah energi fosil yang merupakan jenis energi yang tidak terbarukan, yang menyebabkan peningkatan emisi polusi dan menyebabkan pemanasan global pada bumi, yang dapat merugikan (Mahmudul et al., 2017; Sajjadi et al., 2016). Ketergantungan pada penggunaan bahan bakar fosil dapat menyebabkan peningkatan emisi karbon dioksida (Xu et al., 2020). Konsumsi bahan bakar fosil mencapai 11 miliar ton per tahun. Namun ketersediaan bahan bakar semakin berkurang seiring dengan meningkatnya permintaan energi, salah satu solusi untuk masalah ini adalah menemukan sumber energi alternatif yang dapat diproduksi secara berkelanjutan, aman dan ramah lingkungan serta tidak membahayakan bumi (Chozhavendhan et al., 2020; Sajjadi et al., 2016b).

Biofuel merupakan alternatif yang menjanjikan untuk bahan bakar fosil yang dapat habis dan tidak ramah lingkungan. Biomassa alga dianggap sebagai bahan baku yang menarik untuk produksi biofuel. (Kralova & Sjöblom, 2010a). Biodiesel adalah bahan bakar alternatif terbarukan, bahan bakar yang bersifat biodegradable yang ramah lingkungan dan beremisi rendah sehingga tidak membahayakan bagi lingkungan. Bahan baku produksi biodiesel adalah campuran komponen mono-alkyl ester atau *Fatty Acid Methyl Ester (FAME)* dari asam lemak rantai panjang yang berasal dari minyak nabati dan hewani (Ma et al., 2021; Nurachman, 2011).

Ada beberapa bahan baku yang dapat menghasilkan biodiesel seperti jagung, minyak kelapa sawit, kedelai dan mikroalga. Bahan baku jagung dapat menghasilkan kandungan lipid sebanyak 44% bobot biomassa dan yield minyak 172 L/ha/tahun lalu pada bahan baku minyak sawit menghasilkan lipid sebesar 36% bobot biomassa dan yield minyak 5.366 L/ha/tahun lalu terdapat pada mikroalga yang menghasilkan lipid sebesar 70% bobot biomassa dan yield minyak 136.900 L/ha/tahun (Martins et al., 2010). Tetapi jagung dan minyak sawit merupakan bahan makanan yang pada saat ini semakin diperdebatkan karena persaingan lahan produksi pangan dengan lahan produksi biodiesel (H. Chen et al., 2020a).

Sehingga sumber energi terbarukan yang berpotensi menjadi bahan baku biodiesel adalah mikroalga karena memiliki kandungan lipid yang tinggi. Mikroalga merupakan mikroorganisme fotosintesis yang mampu memperbaiki karbondioksida dan mengubahnya menjadi biomassa dengan kandungan lipid yang tinggi, jika dibandingkan dengan tanaman darat penghasil lipid atau lemak, mikroalga mempunyai produktivitas lipid yang lebih tinggi. Selain itu, mikroalga dapat dibudidayakan di air laut, air tawar atau air limbah (Torres et al., 2017). Kajian relevansi mikroalga sebagai sumber bahan baku biodiesel telah dikaji oleh peneliti sebelumnya (J. Chen et al., 2018; Deshmukh et al., 2019; Halim et al., 2011; Q. Li et al., 2016; Sivaramakrishnan & Incharoensakdi, 2018).

Salah satu mikroalga yang memiliki kandungan lipid yang tinggi yaitu mikroalga *Aurantiochytrium* (Perez et al., 2019a). *Aurantiochytrium* telah lama dikenal sebagai mikroalga oleaginous yang identik sebagai mikroba penghasil lipid tinggi karena lebih dari 50% biomassa kering adalah lipid dan asam lemak tak jenuh ganda omega-3 (Hong et al., 2012). Karena lipid mikroalga ini dapat dijadikan bahan baku yang cocok untuk menggantikan fossil fuel pada produksi biodiesel (K. H. Kim et al., 2016). Salah satu strain *Aurantiochytrium* mengandung DHA 40-60% dari total asam lemak (Nazir et al., 2020a).

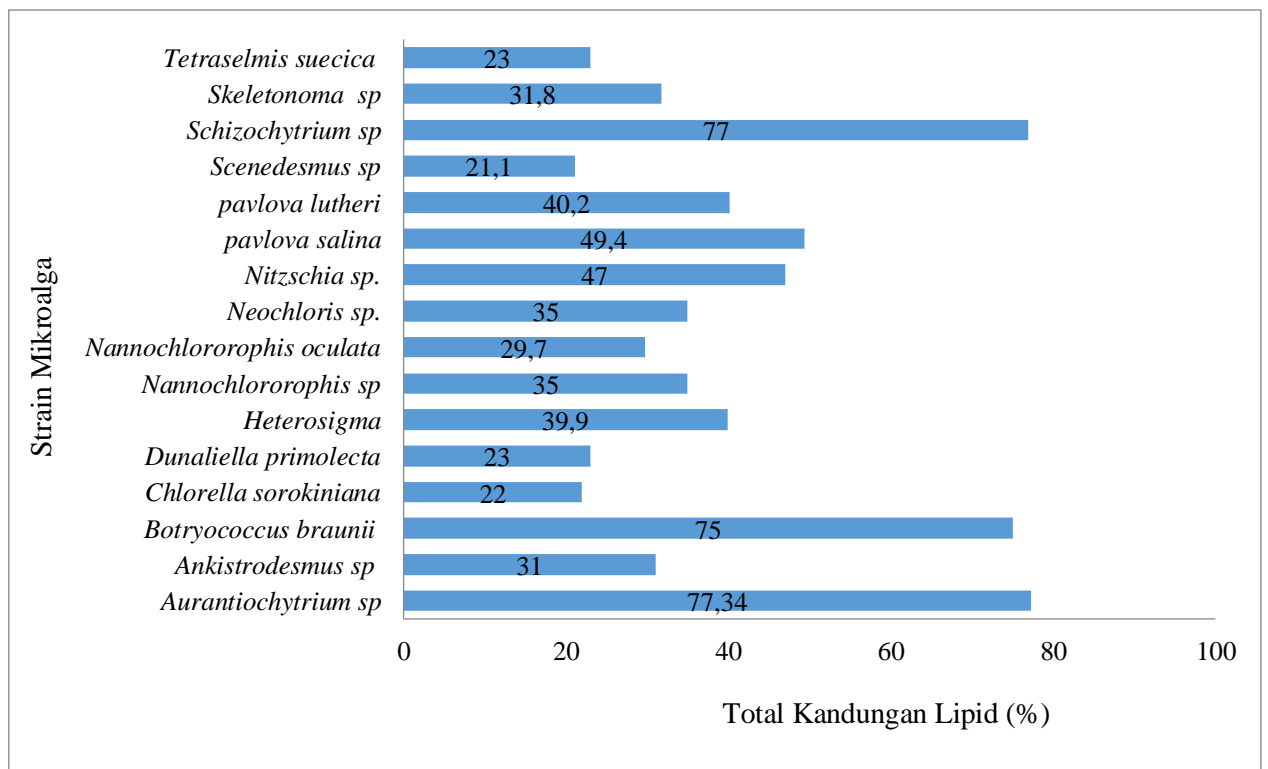
2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Biofuel dari Mikroalga

Kandungan lipid

Mikroalga memiliki kemampuan produksi biomassa mengandung lipid tinggi sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku biodiesel, baik yang dibudidayakan di kolam terbuka (open pond) maupun tertutup sehingga dapat menghemat lahan (H. Chen et al., 2020b). Gambar 1 menampilkan grafik perbandingan berbagai strain mikroalga yang menunjukkan variasi kemampuan masing-masing strain untuk menghasilkan lipid. Berdasarkan Grafik 1 tersebut, dibandingkan dengan mikroalga species *Botryococcus braunii*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana*, *Monoraphidium*, *Rhodotorula glutinis*, *Tetraselmis suecica*, *Scenedesmus quadricauda*, *Nannochlorophis sp.*, *Nannochlorophis oculata* dan *Aurantiochytrium sp.* Data ini penting dalam menentukan strain mana yang menarik untuk digunakan dalam produksi biodiesel dan aplikasi industri lainnya yang membutuhkan sumber lipid yang tinggi.

Aurantiochytrium sp. dan *Schizochytrium sp.* menonjol sebagai strain dengan kandungan lipid tertinggi, masing-masing sebesar 77.34% dan 77% (Park et al., 2017). Kandungan lipid yang sangat tinggi ini menjadikan kedua strain ini sebagai kandidat utama untuk aplikasi industri yang memerlukan sumber lipid yang tinggi, seperti produksi biodiesel dan asam lemak omega-3. Kemampuan mereka untuk menghasilkan lipid dalam jumlah besar dapat memberikan keuntungan ekonomi yang signifikan, terutama dalam skala produksi besar.



Grafik 1. Mikroalga Penghasil Lipid Tinggi (>20%)

Botryococcus braunii juga menunjukkan kandungan lipid yang tinggi, mencapai 75%. Strain ini terkenal dengan kemampuannya menghasilkan hidrokarbon, menjadikannya salah satu strain yang sangat menjanjikan untuk produksi bahan bakar hayati. Kandungan lipid yang tinggi ini memperkuat potensi *B. braunii* sebagai sumber bahan baku yang efisien dan berkelanjutan untuk industri energi terbarukan.

Strain mikroalga lainnya seperti *Nitzschia sp.*, *Pavlova salina*, dan *Heterosigma sp.* menunjukkan kandungan lipid yang bervariasi antara 39.9% hingga 49.4%. Meskipun kandungan lipid mereka tidak setinggi *Aurantiochytrium sp.* dan *Schizochytrium sp.*, mereka masih memiliki potensi yang signifikan untuk digunakan dalam berbagai aplikasi industri, terutama dalam konteks produksi yang memerlukan diversifikasi sumber lipid.

Chlorella sorokiniana, *Dunaliella primolecta*, dan *Tetraselmis suecica* memiliki kandungan lipid yang lebih rendah, berkisar antara 22% hingga 35%. Meskipun demikian, strain-strain tersebut tetap relevan dalam penelitian dan aplikasi yang mengeksplorasi sumber-sumber lipid alternatif, terutama dalam produksi pangan dan pakan yang memerlukan kandungan lipid tertentu.

Secara keseluruhan, analisis grafik ini menunjukkan bahwa pemilihan strain mikroalga yang tepat sangat penting untuk mengoptimalkan produksi lipid sesuai dengan kebutuhan industri. Strain dengan kandungan lipid tinggi seperti *Aurantiochytrium sp.*, *Schizochytrium sp.*, dan *B. braunii* menawarkan potensi terbesar untuk aplikasi komersial, sementara strain lain dengan kandungan lipid sehingga memiliki potensi penting dalam diversifikasi dan penelitian berikutnya di bidang ini.

Berdasar keunggulan tersebut, karenanya tulisan ini mengkaji dan mempresentasikan gambaran potensi mikroalga *Aurantiochytrium* yang memiliki habitat di hutan bakau sebagai alternatif sumber produksi biofuel. Dengan strategi optimasi bahan baku rendah biaya, mikroalga jenis *Aurantiochytrium* berpotensi sebagai bahan baku pembuatan biodiesel, karena bahan baku yang digunakan untuk pertumbuhan mikroalga *Aurantiochytrium* memungkinkan berasal dari limbah organik yang relatif mudah diperoleh dan terjangkau (Ryu et al., 2013). Diharapkan, kajian ini menjadi dasar untuk pertimbangan meningkatkan perhatian para peneliti untuk mengkaji potensi *Aurantiochytrium* untuk produksi biodiesel di masa depan.

Mikroalga heterotropik vs fototropik

Mikroalga fototropik menggunakan fotosintesis untuk memproduksi makanan dengan mengubah energi cahaya menjadi energi kimia melalui klorofil yang menangkap sinar matahari. Sebaliknya, mikroalga heterotropik mengandalkan sumber karbon organik untuk mendapatkan energi. Untuk memberikan gambaran perbandingan mikroalga fototropik dan heterotropik, tabel 2 memberikan perbandingan mikroalga heterotropik (dari spesies *Aurantiochytrium*) dengan mikroalga fototropik (dari spesies *Spirulina*) beserta media tumbuh, dan biomassa yang dihasilkan. Spesies mikroalga heterotropik dari spesies *Aurantiochytrium* menunjukkan hasil yang signifikan dalam produksi biomassa. Strain yang berbeda menunjukkan tingkat efisiensi yang berbeda dalam mengkonversi media tumbuh menjadi biomassa kering, yang penting dalam aplikasi industri bioteknologi dan penelitian lebih lanjut.

Aurantiochytrium sp. ATCC PRA-276 menghasilkan 93 g/L biomassa kering dalam waktu 5 hari menggunakan media yang terdiri dari glukosa, MSG, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dan ekstrak yeast. Hasil ini menunjukkan bahwa media yang kaya nutrisi dan bahan tambahan seperti MSG dapat mempercepat pertumbuhan dan produksi biomassa dalam waktu yang relatif singkat. Namun, *Aurantiochytrium sp. SW1* menunjukkan hasil yang lebih tinggi yaitu 148 g/L dalam 4 hari. Media tumbuh yang digunakan lebih kompleks, termasuk agar nutrisi dan air laut buatan, yang memberikan lingkungan optimal bagi strain ini untuk tumbuh dengan cepat dan efisien.

Strain yang paling menonjol dalam tabel ini adalah *Aurantiochytrium sp. KRS101*, yang menghasilkan yield biomassa tertinggi yaitu 2211 g/L dalam 7 hari. Penggunaan media dengan konsentrasi glukosa yang tinggi, bersama dengan tambahan seperti KH_2PO_4 dan garam laut dalam reaktor batch, menunjukkan betapa pentingnya media yang kaya nutrisi dan kondisi kontrol yang tepat dalam meningkatkan produksi biomassa. Yield biomassa yang sangat tinggi ini menunjukkan potensi besar untuk aplikasi komersial di mana produksi biomassa dalam jumlah besar diperlukan.

Di sisi lain, strain *Spirulina platensis* menunjukkan variasi hasil yang signifikan tergantung pada kondisi kultivasi. Ketika dibudidayakan dalam photobioreaktor dengan kontrol intensitas cahaya dan agitasi, yield biomassa mencapai 0.24 g/L dalam 12 hari. Namun, ketika dibudidayakan

dalam kolam raceway di bawah kondisi lingkungan alami, yield meningkat menjadi 42 g/L dalam 30 hari. Hal ini menunjukkan bahwa metode kultivasi dan kondisi lingkungan memainkan peran penting dalam efisiensi produksi biomassa.

Terakhir, *Spirulina sp. LEB 18* yang dibudidayakan dengan sistem terbuka menggunakan fotobioreaktor raceway menghasilkan 15 g/L biomassa dalam 30 hari. Yield ini lebih rendah dibandingkan dengan beberapa strain lain, namun metode kultivasi yang lebih sederhana dan kurang kontrol mungkin menjadi faktor penyebabnya. Ini menunjukkan bahwa meskipun metode terbuka mungkin lebih ekonomis, efisiensi produksinya bisa lebih rendah dibandingkan dengan sistem yang lebih terkontrol.

Tabel 2. Perbandingan yield, waktu kultivasi dan produksi biomassa dari strain mikroalga *Aurantiocytrium sp.* dan *Spirulina sp.*

Strain	Media tumbuh	Yield Biomassa Kering	Durasi kultivasi (hari)	Referensi
<i>Aurantiocytrium sp. ATCC PRA-276</i>	Glukosa, MSG (Monosodium Glutamat), $(NH_4)_2SO_4$, ekstrak yeast.	9,3 g/L	5 hari	(Furlan et al., 2017)
<i>Aurantiocytrium sp. SWI</i>	28 g/L nutrient agar, 17,5 g/L artificial seawater accounting untuk 50% (w/w) salinity, 60 g/L glukosa, 2 g/L ekstrak yeast, 8 g/L monosodium glutamate (MSG) dan 6 g/L artificial sea salt (ASW).	14,8 g/L	4 hari	(Nazir et al., 2020b)
<i>Aurantiocytrium sp. KRS101</i>	Dalam reaktor batch: 9 g/L KH_2PO_4 , 15 g/L garam laut, dan 10 mg/L tetrasiklin), yang mengandung 80 g/L glukosa 2, 6 dan 10 g/L ekstrak ragi	22,11 g/L	7 hari	(K. Kim et al., 2013)
<i>Spirulina platentis</i>	Dibudidayakan didalam photobioreaktor (PBR) dengan ukuran inokulum 0,08-0,24 g/L. Media yang digunakan untuk regangan kultur di PBR adalah media Zarrouk. PBR dioperasikan pada suhu 28°C, pH 9.0, dan tingkat agitasi 400 rpm di bawah intensitas cahaya sekitar 75-450 mol/m ² /s	0,24 g/L	12 hari	(Xie et al., 2015)
<i>Spirulina platensis</i>	Dibudidayakan didalam kolam raceway dibawah sinar matahari dan kondisi lingkungan menggunakan media Zarrouk sebagai media kultur dan sumber CO ₂ Na ₂ CO ₃	4,2 g/L	30 hari	(Sumprasit et al., 2017)
<i>Spirulina platensis</i>	Dibudidayakan dalam photobioreaktor dengan cahaya dari lingkungan sekitar	0,6 g/L	10 hari	(L. Zhang et al., 2015)
<i>Spirulina sp. LEB 18</i>	Dibudidayakan dengan open sistem menggunakan fotobioreaktor raceway dengan sinar matahari tanpa kontrol suhu	1,5 g/L	30 hari	(Mata et al., 2020)

2.2. Mikroalga *Aurantiocytrium*

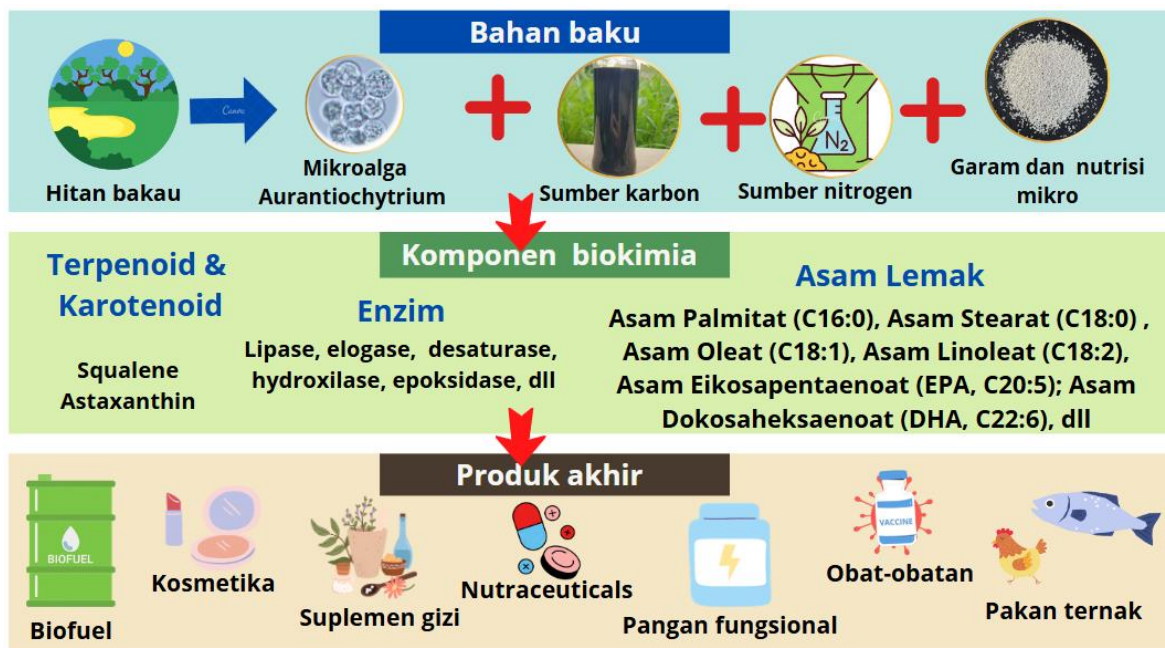
Potensi

Mikroalga berspesies *Aurantiocytrium* telah banyak dikaji oleh peneliti internasional salah satunya adalah (Fan et al., 2002). Mikroalga *Aurantiocytrium* banyak ditemukan pada habitat hutan bakau (Honda et al., 1998; P. Singh et al., 2014). Sayangnya, meskipun Indonesia adalah negara yang mempunyai hutan bakau terluas di dunia, tetapi belum banyak peneliti Indonesia yang mengkaji potensi mikroalga *Aurantiocytrium*. Keunggulan mikroalga spesies *Aurantiocytrium* adalah

kandungan lipid yang tinggi, yaitu sebanyak 56,3% dari berat sel kering (Gao et al., 2013). Oleh karena itu, dengan potensi memiliki kandungan lipid yang tinggi dapat menjadi bahan bakar alternatif yaitu biodiesel (H. Chen et al., 2020a).

Mikroalga *Aurantiochytrium* adalah bagian dari kingdom *Thraustochytrid*, sekelompok mikroorganisme heterotrophic (Nishitani & Yoshida, 2018) yang ditemukan di lingkungan laut. Keunggulan dari mikroalga *Aurantiochytrium* adalah kemampuannya mengakumulasi lipid bernilai ekonomi tinggi, seperti asam lemak tak jenuh ganda atau Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA), serta squalene dan karotenoid (Nishitani & Yoshida, 2018; Watanabe et al., 2018). Mikroalga *Aurantiochytrium* ini sebelumnya dikenal sebagai *Schizochytrium*, spesies yang berasal dari mangrove dan pertumbuhan organisme ini bersifat heterotrophic (Perez et al., 2019b; Tran et al., 2020). Kajian awal tentang potensi mikroalga *Aurantiochytrium* untuk bahan baku biokimia bernilai tinggi telah dilakukan sebelumnya, seperti kajian produksi omega-3 (Suhendra et al., 2019), produksi squalene (Suhendra et al., 2020) dan produksi astaxanthin (Suhendra et al., 2021).

Gambar 1 memberikan ilustrasi tentang proses produksi dan aplikasi produk dari mikroalga *Aurantiochytrium*. Teknik isolasi mikroalga *Aurantiochytrium* dari hutan bakau Indonesia telah dipublikasikan sebelumnya. Proses dimulai dengan isolasi sel mikroalga dari hutan bahan baku. Selanjutnya, isolat mikroalga *Aurantiochytrium* yang dibudidayakan di dalam media mengandung sumber karbon, sumber nitrogen, garam, dan nutrisi mikro. Contoh sumber nutrisi umum yang digunakan adalah glukosa dan ekstrak ragi (Ryu et al., 2013). Untuk mengurangi biaya produksi, mikroalga heterotrophic diproduksi menggunakan substrat berbiaya rendah seperti limbah organik (da Silva et al., 2019).



Gambar 1. Ilustrasi tahap produksi lipid dari mikroalga *Aurantiochytrium* untuk biofuel

Mikroalga *Aurantiochytrium* menghasilkan berbagai komponen biokimia penting yang dapat dikelompokkan ke dalam beberapa kategori utama, yaitu terpenoid dan karotenoid, enzim, dan asam lemak (Aasen et al., 2016; Patel et al., 2020; Suhendra et al., 2021). Terpenoid dan karotenoid, seperti squalene dan astaxanthin, dikenal memiliki manfaat kesehatan dan digunakan secara luas dalam industri kosmetik dan farmasi karena sifat antioksidan dan anti-inflamasi dari squalene (Le Cheng et al., 2024). Mikroalga ini juga menghasilkan berbagai enzim seperti lipase, elongase, desaturase, hidroksilase, epoksidase, dan lain-lain, yang memiliki aplikasi dalam berbagai proses bioteknologi (Devasia & Muraleedharan, 2012; Xiao et al., 2018; J. Zhang et al., 2021).

Selain itu, mikroalga *Aurantiochytrium* juga merupakan sumber kaya asam lemak esensial, termasuk asam palmitat (C16:0), asam stearat (C18:0), asam oleat (C18:1), asam linoleat (C18:2), asam eikosapentaenoat (EPA, C20:5), dan asam dokosaheksaenoat (DHA, C22:6). Asam lemak ini

memiliki manfaat kesehatan yang luas dan digunakan dalam berbagai produk akhir (Aasen, Ertesvåg, Marita, et al., 2016).

Produk akhir dari komponen biokimia ini mencakup berbagai sektor industri. Biofuel yang dihasilkan dari mikroalga dapat digunakan sebagai sumber energi yang berkelanjutan. Dalam industri kosmetik, squalene dan astaxanthin digunakan dalam produk perawatan kulit dan anti-penuaan. Suplemen gizi dan nutraceuticals yang mengandung asam lemak esensial seperti DHA dan EPA bermanfaat untuk kesehatan jantung dan otak. Selain itu, mikroalga juga digunakan dalam produksi pangan fungsional dan obat-obatan, termasuk vaksin dan suplemen kesehatan (Suhendra, 2022; Suhendra, Septianingsih, et al., 2022). Produk mikroalga ini juga dimanfaatkan sebagai pakan ternak karena memberikan sumber nutrisi yang diperlukan untuk hewan ternak (Barta et al., 2021; Oliver et al., 2020).

Komposisi Lipid

Istilah *oleiginous microalgae* yang disematkan pada spesies mikroalga *Aurantiochytrium* karena mikroalga ini mengandung kandungan lipid yang tinggi. Pada strain *Aurantiochytrium limanicum* CCAP-4062 tiga komponen lipid terbesar yang dikandung adalah 54% asam dokosaheksanoat (DHA/ mega-3, C22:6), 28% asam palmitat (C16) dan 8% asam pentadekanoat (C15). Sementara pada strain *Aurantiochytrium* Sp. S0116 tiga komponen lipid terbesar yang dikandung adalah 46% (DHA/ mega-3, C22:6), 26% asam palmitat (C:16) dan 9% asam dokosapentanoat (DPA, C22:5) (Morabito, et.al., 2019). Dengan demikian, dua komponen penting yang dikandung oleh mikroalga *Aurantiochytrium* adalah asam palmitat dan omega-3, dimana asam palmitat umumnya digunakan untuk bahan baku biodiesel sementara omega-3 digunakan untuk nutrisi, suplemen maupun bahan baku industri farmasi lainnya.

Oleh karena itu, konsep produksi biomassa dari mikroalga *Aurantiochytrium* dapat berupa produksi terpadu bahan baku biofuel dan bahan biokimia bernilai tinggi. Beberapa penelitian sebelumnya telah menyinggung konsep terpadu ini misalkan pada (Kim et.al. (2019)). Dengan konsep ini, produksi terpadu biofuel juga memiliki produk lainnya yang bernilai ekonomis tinggi sehingga akan lebih menarik dari sisi ekomis secara total (Russo et al., 2022).

Kultivasi Biomssa Mikroalga Aurantiochytrium

Mikroalga species *Aurantiochytrium* ini tumbuh secara heterotrophic, yaitu sistem kultivasi secara tertutup biasanya menggunakan fermentor stainless steel (Lee Chang et al., 2013). Komponen nutrisi yang umum digunakan untuk pembiakan skala laboratorium adalah glukosa, asam organik dan yeast ekstrak. Isolasi mikroalga *Auratiochytrium* menggunakan media agar dengan komposisi 2% glukosa, 1% polipepton, ekstrak ragi 0,5% dan garam laut 20%. Strain diinokulasi ke dalam labu 500 mL yang berisi 300mL medium Glukosa, Pepton dan Yeast ekstrak pada suhu 28 °C dengan pH 7,5 selama 2 hari (Yu et al., 2016). Yield yang dihasilkan pada kondisi tersebut 22,11 g/L dengan durasi kultivasi 7 hari.

Mikroalga ini lebih terjaga kandungan kemurnian yang ada didalamnya atau *high purity* (Morales-sa et al., 2015). Namun, penggunaan glukosa yang mahal dan hanya cocok untuk produksi produk bernilai tinggi seperti karotenoid dan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA). Masalah ini akan membatasi ruang lingkup untuk mikroalga ini. Oleh karena itu, beberapa peneliti menemukan upaya yang dapat dilakukan untuk penggunaan substrat yang berbeda pada strain *Aurantiochytrium*. Seperti ragi bekas dapat menjadi substrat ekonomis dan berkualitas tinggi untuk pertumbuhan mikroorganisme ini (Ryu et al., 2013), sumber limbah seperti gliserol mentah dari proses transesterifikasi (Wensel et al., 2014), limbah dari industri minyak kelapa sawit (POME) yang digunakan mikroalga untuk pertumbuhan sel dan produksi lipid (K. Kim et al., 2013).

2.3. Biofuel

Biofuels merupakan bahan bakar alternatif berupa cair, padat atau gas yang berasal dari bahan alami yang menawarkan banyak manfaat termasuk keberlanjutan, pengurangan emisi gas rumah kaca, dan keamanan pasokan (Reijnders, 2006). Secara keseluruhan, potensi mikroalga sebagai sumber

biofuel sangat besar karena efisiensi produksi biomassa yang tinggi, fleksibilitas lingkungan, dan diversitas produk biofuel yang dapat dihasilkan. Mikroalga juga memiliki kemampuan untuk tumbuh di berbagai lingkungan, termasuk air tawar, air laut, dan bahkan air limbah. Hal ini membuat mereka menjadi sumber biomassa yang sangat fleksibel dan tidak bersaing dengan tanaman pangan untuk lahan pertanian. Dengan kemampuan untuk tumbuh di air limbah, mikroalga juga dapat berkontribusi pada pengolahan limbah dan pemulihan nutrisi, menambah nilai lingkungan dari penggunaannya.

Lebih lanjut, mikroalga dapat menghasilkan berbagai jenis biofuel, termasuk biodiesel, bioetanol, biometana, dan biohidrogen. Banyak bahan bakar dapat diproduksi dari sumber daya biofuel, termasuk bahan bakar cair, seperti biodiesel, bioethanol, dan bioavtur. Dengan diversitas produk ini memungkinkan mikroalga untuk digunakan dalam berbagai aplikasi energi. Proses konversi yang inovatif seperti hidrotermal likuefaksi, pirolisis, dan gasifikasi juga telah dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi produksi biofuel dari mikroalga (Siddiki et al., 2022). Penelitian dan pengembangan lebih lanjut diperlukan untuk mengatasi tantangan teknis dan ekonomi, tetapi mikroalga menjanjikan sebagai solusi energi yang berkelanjutan di masa depan.

Biodiesel

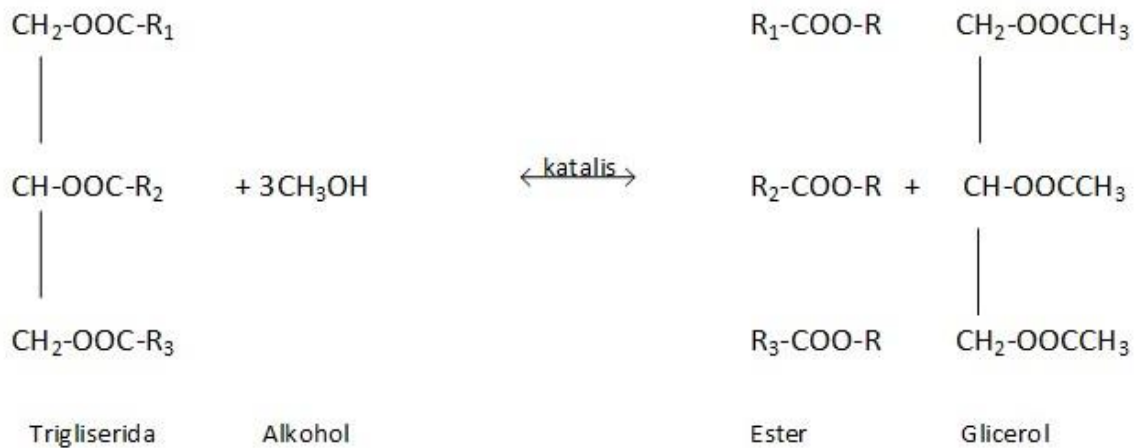
Salah satu keunggulan utama mikroalga adalah kandungan lipidnya yang tinggi, yang dapat diubah menjadi biodiesel melalui proses transesterifikasi. Kandungan lipid yang tinggi ini memungkinkan produksi biodiesel dengan efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan sumber biomassa lainnya, seperti tanaman darat. Biodiesel berbasis alga dianggap sebagai biodiesel generasi ketiga alternatif yang layak karena tidak memiliki pengaruh pada pasokan makanan, juga dapat dimanfaatkan sebagai energi biomassa untuk menghasilkan biodiesel (Mahmudul et al., 2017a; Yang et al., 2011). Tabel 1 merangkum semua potensi sumber bahan baku biodiesel, baik biodiesel generasi pertama, kedua maupun ketiga. Berdasar tabel 1, potensi mikroalga telah dipertimbangkan sebagai bahanbaku biodiesel masa depan. Dari sudut pandang etis muncul berbagai kritik dari penggunaan kedua generasi biodiesel ini karena bersinggungan dengan penggunaannya sebagai sumber pangan yang diperlukan penduduk bumi lainnya yang masih dilanda kelaparan.

Biodiesel merupakan bahan bakar alternatif yang terbuat dari campuran mono-alkyl ester asam lemak dari minyak nabati atau minyak hewani (Martins et al., 2010). Biodiesel diproduksi melalui proses kimia yang disebut reaksi transesterifikasi, yaitu reaksi trigliserida dari minyak dengan alkohol yang akan membentuk ester dan gliserol (Kralova & Sjöblom, 2010a). Gambar 2 menunjukkan reaksi transesterifikasi produksi biodiesel yang dikatalisis oleh metil asetat dan lipase. Reaksi ini membutuhkan katalis, seperti natrium untuk memisahkan molekul minyak dan alkohol yang terlibat dalam enzim dengan ester yang dipisahkan (Sajjadi et al., 2016a).

Tabel 1. Perbandingan Kandungan Lipid dari berbagai bahan baku biodiesel

Bahan baku	Kandungan Lipid (%) bobot biomassa	Yield Minyak (L/ha/tahun)
Jagung	44	172
Kedelai	18	636
Jarak	28	741
Canola	41	974
Bunga matahari	40	1.070
Castor	48	1.307
Kelapa sawit	36	5.366
Mikroalga (rendah lipid)	30	58.700
Mikroalga (medium lipid)	50	97.800
Mikroalga (tinggi lipid)	70	136.900

Sumber: Dikumpulkan dari beberapa sumber (Mahmudul et al., 2017; Yang et al., 2011)



Gambar 2. Reaksi transesterifikasi lipid trigliserida untuk produksi biodiesel

Mikroalga digunakan sebagai bahan baku pembuatan biodiesel karena memiliki banyak keunggulan dibandingkan lemak nabati lainnya (Q. Li et al., 2016). Keuntungan menggunakan mikroalga sebagai bahan baku biodiesel adalah lebih efisien dibandingkan minyak kelapa dan minyak kedelai serta menghasilkan minyak tiga kali lipat lebih banyak. Rendemen minyak mikroalga 700 galon/ha, minyak kelapa 285 galon/ha, dan minyak kedelai 62 galon/ha (Nadu, 2015; Susilaningsih et al., 2009). Salah satu pertimbangan penggunaan sebuah species mikroalga adalah kandungan lipid yang dihasilkan oleh mikroalga tersebut. Semakin tinggi kadar lipid dari mikroalga tersebut maka semakin berpotensi sebagai bahan baku biodiesel. Mengacu penelitian tentang penggunaan mikroalga untuk biodiesel sebelumnya, mikroalga yang berpotensi menghasilkan biodiesel, yaitu : *Botryococcus braunii* (Rinna et al., 2017) yang mengandung lipid 24% bobot kering, *Monoraphidium sp. P5-4* (Pikoli et al., 2019) yang mengandung lipid 66,72% bobot kering, dan *Rhodotorula glutinis* (Hernandez & French, 2014) memiliki kandungan lipid sekitar 72% bobot kering. Menurut penelitian (K. Kim et al., 2013; K. H. Kim et al., 2016) mikroalga *Aurantiochytrium sp.*, memiliki kandungan lipid yang tinggi yaitu 52 % menjadikannya bahan baku yang menjanjikan untuk produksi biodiesel. Resume parameter penting parameter produksi konversi mikroalga menjadi biodiesel ditampilkan dalam tabel 2.

Tabel 2. Ringkasan parameter produksi biodiesel dari biomassa mikroalga

Parameter	Deskripsi	Nilai atau Kondisi Optimal
Jenis Lipid	Trigliserida yang diekstraksi dari mikroalga	Trigliserida dari mikroalga
Jenis Alkohol	Alkohol yang digunakan untuk reaksi transesterifikasi	Metanol atau etanol
Rasio Alkohol:Lipid	Rasio molar antara alkohol dan trigliserida	6:1
Jenis Katalis	Zat yang digunakan untuk mempercepat reaksi	NaOH (Natrium hidroksida) atau KOH (Kalium hidroksida)
Konsentrasi Katalis	Persentase berat katalis terhadap berat trigliserida	0,5% - 1%
Suhu Reaksi	Suhu pada saat reaksi transesterifikasi berlangsung	50°C - 60°C
Waktu Reaksi	Durasi reaksi transesterifikasi	1 - 2 jam
Pengadukan	Intensitas dan durasi pengadukan untuk memastikan campuran homogen	Kontinu selama reaksi
Pemisahan Fase	Metode pemisahan biodiesel dari gliserol setelah reaksi	Pemisahan gravitasi (densitas)
Pencucian Biodiesel	Proses pencucian untuk menghilangkan sisa-sisa katalis dan pengotor	Pencucian dengan air

Pengeringan Biodiesel	Proses untuk menghilangkan sisa air dari biodiesel	Pengeringan udara atau pemanasan ringan
Pemurnian Gliserol	Proses untuk memurnikan gliserol sebagai produk sampingan	Filtrasi dan pemurnian kimia
Kualitas Produk	Standar kualitas biodiesel yang dihasilkan	ASTM D6751 atau EN 14214
Keuntungan	Kelebihan dari proses transesterifikasi	Proses sederhana, menghasilkan biodiesel berkualitas tinggi
Tantangan	Tantangan yang dihadapi dalam proses transesterifikasi	Pencucian dan pemurnian ekstensif, sensitivitas terhadap air dan asam lemak bebas

Sumber: (Ebhodaghe et al., 2022; Kralova & Sjöblom, 2010b; Sajjadi et al., 2018; Siddiki et al., 2022; Vo et al., 2017)

Bioavtur

Pertimbangan mikroalga digunakan sebagai bioavtur karena mikroalga mengandung berbagai senyawa salah satunya yaitu lipid sehingga dapat menyimpan kandungan lemak tinggi. Pada awal 2010, para insinyur Airbus Group mengumumkan bahwa mereka dapat terbang dengan bahan bakar murni dari mikroalga. Sebagai bahan dasar bioavtur, alga memiliki banyak keunggulan: cepat tumbuh, tidak bersaing untuk produksi pangan, dan tidak memerlukan pestisida atau tanah yang subur. Proses produksi bioavtur yang efisien perlu dikembangkan, yang dapat secara signifikan mengurangi emisi per penerbangan dalam jangka panjang. Target pada tahun 2050 adalah mengurangi emisi gas rumah kaca sebesar 75% dibandingkan tahun 2005 (BDLI The German Aerospace Industries Association, 2021). Dengan beberapa proses kimia, bahan baku mikroalga dapat menghasilkan bioavtur. Sayangnya, hingga kini bioavtur lebih mahal dibandingkan minyak bumi. Untuk mengurangi biaya produksi, beberapa produk turunan yang dapat menambah keuntungan perlu diproduksi, misalkan membuat serat karbon dari alga (Klaus, 2021).

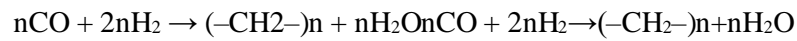
Produksi Sustainable Aviation Fuel (SAF) dari mikroalga melibatkan beberapa reaksi kimia kunci, salah satunya adalah hidroprosesing. Hidroprosesing merupakan proses yang mengubah minyak dan lemak menjadi hidrokarbon yang dapat digunakan sebagai bahan bakar, termasuk SAF. Proses ini melibatkan dua tahap utama: hidrogenasi dan deoksigenasi. Pada tahap hidrogenasi, hidrogen ditambahkan ke molekul lipid, sementara pada tahap deoksigenasi, atom oksigen dihilangkan dari molekul lipid. Reaksi ini menghasilkan hidrokarbon dan air sebagai produk sampingan. Hidroprosesing membutuhkan katalis seperti nikel-molibdenum (Ni-Mo) atau kobalt-molibdenum (Co-Mo) untuk mempercepat reaksi. Contoh reaksi hidredeoksigenasi pada trigliserida (TG):



Selain hidroprosesing, sintesis Fischer-Tropsch juga digunakan dalam produksi SAF dari mikroalga. Pada sintesis Fischer-Tropsch, syngas dikonversi menjadi hidrokarbon cair melalui reaksi kimia pada tekanan tinggi dan suhu sedang menggunakan katalis berbasis besi atau kobalt. Produk reaksi ini menghasilkan campuran hidrokarbon rantai panjang yang mendekati kualitas bahan bakar jet. Dengan proses pemurnian lebih lanjut akan memenuhi standar bahan bakar penerbangan internasional. Proses produksi SAF dari mikroalga tidak hanya efisien tetapi juga ramah lingkungan, karena menggunakan sumber daya yang dapat diperbarui dan memiliki jejak karbon di atmosfer yang lebih rendah dibandingkan bahan bakar fosil. Meski demikian, tantangan produksi SAF berbahan baku mikroalga terletak pada biaya produksi yang tinggi dan kemampuan peningkatan skala budidaya mikroalga. Karenanya, banyak penelitian dan pengembangan teknologi terus berlanjut dengan tujuan efisiensi produksi dan penurunan biaya. produksi SAF dari mikroalga. Bila tantangan ini terselesaikan, maka akan menjadi solusi energi yang berkelanjutan untuk masa depan industri penerbangan.

Selain hidroprosesing, sintesis Fischer-Tropsch juga digunakan dalam produksi SAF dari mikroalga. Proses ini mengubah syngas, campuran karbon monoksida dan hidrogen yang dihasilkan

dari gasifikasi biomassa mikroalga, menjadi hidrokarbon cair. Pada sintesis Fischer-Tropsch, syngas dikonversi menjadi hidrokarbon cair melalui reaksi kimia di bawah kondisi tekanan tinggi dan suhu sedang menggunakan katalis berbasis besi atau kobalt. Reaksi ini menghasilkan campuran hidrokarbon rantai panjang yang mirip dengan bahan bakar jet.



Produk dari reaksi tersebut kemudian dimurnikan lebih lanjut untuk memenuhi standar bahan bakar penerbangan internasional.

Proses produksi SAF dari mikroalga tidak hanya efisien tetapi juga ramah lingkungan, karena menggunakan sumber daya yang dapat diperbarui dan memiliki jejak karbon yang lebih rendah dibandingkan bahan bakar fosil. Tantangan utama dalam produksi SAF dari mikroalga adalah biaya produksi yang tinggi dan kebutuhan akan skala besar budidaya mikroalga. Namun, dengan penelitian dan pengembangan teknologi yang terus berlanjut, efisiensi produksi dan penurunan biaya diharapkan dapat tercapai, menjadikan SAF dari mikroalga sebagai solusi energi yang berkelanjutan untuk masa depan industri penerbangan.

Di masa depan, penggunaan bahan baku terbarukan untuk produksi SAF menjadi relevan. Karenanya, pemerintah Indonesia untuk mengembangkan sumber energi bersih terbarukan yaitu inovasi bioavtur dari bahan non-fosil. Bioavtur atau green avtur berasal dari sumber energi terbarukan yang tergolong Sustainable Aviation Fuel (SAF), seperti bahan hayati meliputi minyak tumbuhan, alga, dan lemak hewani (Millatie et al., 2023). Penggunaan bioavtur sendiri telah diatur dalam Peraturan Menteri Energi dan Sumber Daya Mineral Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2015 dengan tujuan menurunkan emisi karbon pada sektor penerbangan dengan mencampurkan biomaterial pada bahan bakar avtur (Putri Azmi Millatie et al., 2022). Dalam peraturan tersebut terdapat hal mengenai kewajiban pencampuran bahan bakar nabati (biofuel) ke dalam bahan bakar jenis avtur sebesar 3% pada tahun 2020 dan 5% pada tahun 2025 (Direktorat Jendral Energi Baru Terbarukan dan Konservasi Energi, 2023).

Produk biofuel lainnya

Selain produk biodiesel dan bioavtur, beberapa produk lainnya yang berpotensi diproduksi berbahan baku biomassa mikroalga antara lain bioetanol, biometana, syngas dan bio-oil/biochar (Almomani et al., 2022; Chowdhury & Loganathan, 2019; Dharumadurai et al., 2017; Ebhodaghe et al., 2022; Gouveia & Oliveira, 2009; Hosseini, 2019; Ilham, 2021; Jeon et al., 2017; Kralova & Sjöblom, 2010b; *Microalgae Biotechnologies Possible Frameworks from Biofuel to Biobased Products*, 2020; Siddiki et al., 2022; J. Singh & Gu, 2010; Wang et al., 2023) (Ebhodaghe et al., 2022; Sajjadi et al., 2018)

Biomassa mikroalga dianggap sebagai salah satu alternatif produksi bioetanol dimana penerapannya untuk bahan bakar hijau telah meningkat secara global (Bibi et al., 2021). Beberapa metode dapat dipakai untuk memulihkan mikroalga berdasarkan kultur menengah, yang mempunyai dampak secara langsung pada biaya dan kualitas produk, seperti sentrifugasi, filtrasi, flotasi, dan flokulasi. Pemilihan metode tergantung pada ciri mikroalga seperti ukuran, kepadatan dan nilai target produk (Maia et al., 2020).

Bio-metana dari biomassa mikroalga diproduksi melalui proses anaerobik, di mana mikroalga difermentasi tanpa oksigen untuk menghasilkan biogas yang kaya metana. Proses ini sering melibatkan co-digestion dengan bahan organik lainnya untuk meningkatkan stabilitas dan efisiensi produksi metana. Biomassa mikroalga *Aurantiochytrium* dapat digunakan sebagai co-substrat bersama limbah pertanian atau industri untuk memaksimalkan produksi bio-metana (Ebhodaghe et al., 2022).

Syngas adalah campuran karbon monoksida (CO) dan hidrogen (H₂) yang dapat dihasilkan dari gasifikasi biomassa mikroalga *Aurantiochytrium*. Proses gasifikasi melibatkan pemanasan biomassa pada suhu tinggi dengan oksigen atau uap air untuk mengubahnya menjadi syngas. Syngas dapat digunakan sebagai bahan bakar langsung atau diubah menjadi bahan bakar cair melalui proses Fischer-Tropsch (Ebhodaghe et al., 2022; Vo et al., 2017).

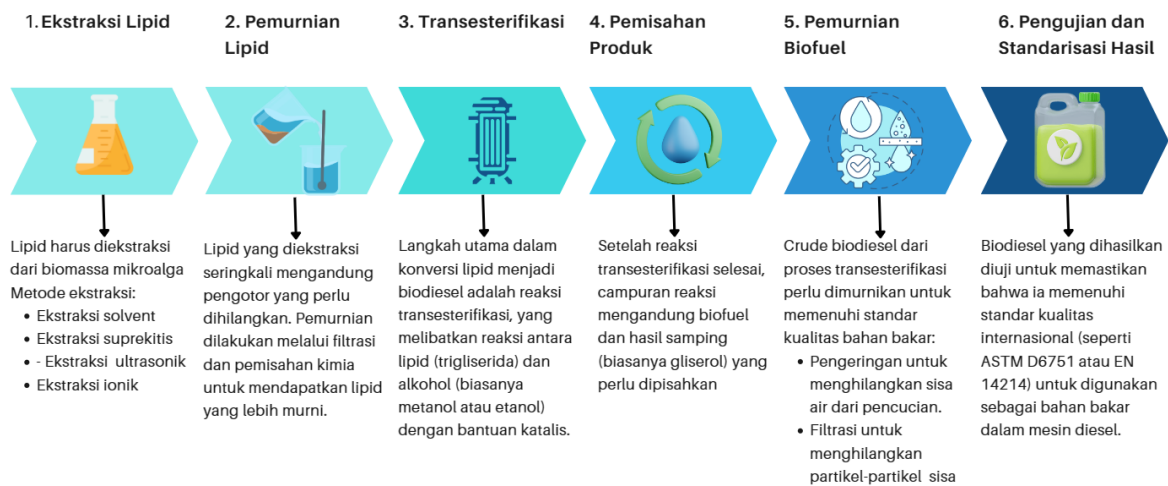
Bio-oil dan bio-char dihasilkan dari pirolisis mikroalga, proses termokimia yang memanaskan biomassa tanpa oksigen untuk memecahnya menjadi cairan organik (bio-oil) dan padatan karbon (bio-char). Bio-oil dapat dimurnikan lebih lanjut untuk digunakan sebagai bahan bakar, sedangkan bio-char dapat digunakan sebagai amandemen tanah atau untuk penyimpanan karbon. Melalui proses pirolisis, mikroalga *Aurantiochytrium* berpotensi menghasilkan kuantitas biochar/ bio-oilyang diinginkan (Vo et al., 2017).

Setiap jenis biofuel memiliki keunggulan dan aplikasi spesifik, menjadikan mikroalga sebagai sumber bioenergi yang sangat fleksibel dan potensial untuk berbagai keperluan energi terbarukan. Proses konversi ini terus ditingkatkan melalui penelitian dan pengembangan untuk meningkatkan efisiensi dan menurunkan biaya produksi, mendukung transisi ke sumber energi yang lebih berkelanjutan.

2.4. Tinjauan Bioproses

Gambaran Tahapan Produksi

Secara umum, pengembangan teknologi bioproses produksi biofuel berbahan baku mikroalga *Aurantiochytrium* terdapat beberapa tahapan, seperti dapat dilihat pada gambar 2. Bibit (*strain*) mikroalga didapat dari sampling dari habitat hutan bakau dilanjutkan dengan isolasi di laboratorium. Contoh eksperimen isolasi mikroalga *Aurantiochytrium* ditunjukkan pada isolasi mikroalga *Aurantiochytrium* dari hutan bakau Kulonprogo, Yogyakarta (Suhendra et.al., 2021). Setelah bibit mikroalga diperoleh kemudian dilakukan kultivasi mikroalga untuk menentukan nutrisi yang diberikan pada mikroalga, desain reaktor, serta kondisi optimum untuk berkembangbiak. Tahap ketiga adalah panen mikroalga dilanjutkan pada tahap pengeringan dengan menentukan teknologi bagaimana memperoleh biomassa yang dikehendaki (Perez-Garcia et al., 2011). Tahap keempat adalah penentuan teknologi ekstraksi untuk mendapatkan komponen yang ditargetkan. Selanjutnya, komponen yang diinginkan tersebut dilanjutkan pada tahapan produksi biofuel yang akan melalui proses transesterifikasi dan separasi, sebelum akhirnya menjadi biofuels.



Gambar 3. Ilustrasi tahap produksi lipid dari mikroalga *Aurantiochytrium* untuk biofuel

Ekstraksi Lipid

Ekstraksi merupakan langkah tengah dalam fisika proses kimia pada produksi biofuel. Ekstraksi ini pada dasarnya dibagi menjadi mekanik, fisik dan pendekatan kimia (P. Li et al., 2019). Ekstraksi lipid dilakukan bertujuan untuk mengambil komponen penting dari sel mikroalga dengan cara memecah sel. Jenis pelarut terdapat dua, yaitu pelarut polar dan non polar. Untuk pelarut polar yaitu etanol, methanol dan kloroform (polar lemah) lalu untuk pelarut non polar yaitu n-heksana. Disarankan untuk menggunakan mikroalga basah dikarenakan untuk menghemat energy metode

pengeringan dan juga ekstraksi penggunaan pelarut organik banyak digunakan pada biomassa mikroalga (Xia et al., 2020). Umumnya ekstraksi dapat dilakukan dengan menambahkan heksana sebagai pelarut organik atau solvent, agar sel mikroalga pecah dan komponen yang penting dapat keluar dan masuk ketahap berikutnya (Adarme-Vega et al., 2012). Di masa depan perlu dicari ekstraksi yang lebih ramah lingkungan dan murah pengganti *solvent extraction* yang umumnya digunakan saat ini.

Transesterifikasi

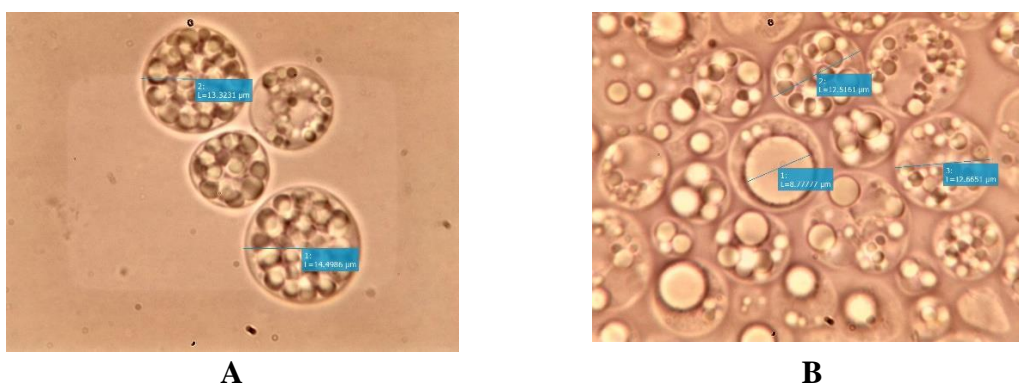
Proses transesterifikasi biodiesel pada umumnya dihasilkan dari minyak nabati, lemak hewani dan bahan baku alga. Beberapa metode untuk melakukan reaksi transesterifikasi yaitu metode batch kolektif, metode superkritis, metode ultrasonik, dan metode gelombang mikro. Secara kimia, transesterifikasi biodiesel terdiri dari campuran ester mono-alkil dari asam lemak rantai panjang. Pelarut yang banyak digunakan yaitu methanol yang akan dikonversi menjadi natrium metoksida yang dapat menghasilkan metil ester atau dapat disebut FAME (*Fatty Acid Methyl Esther*) (Paul Abishek et al., 2014).

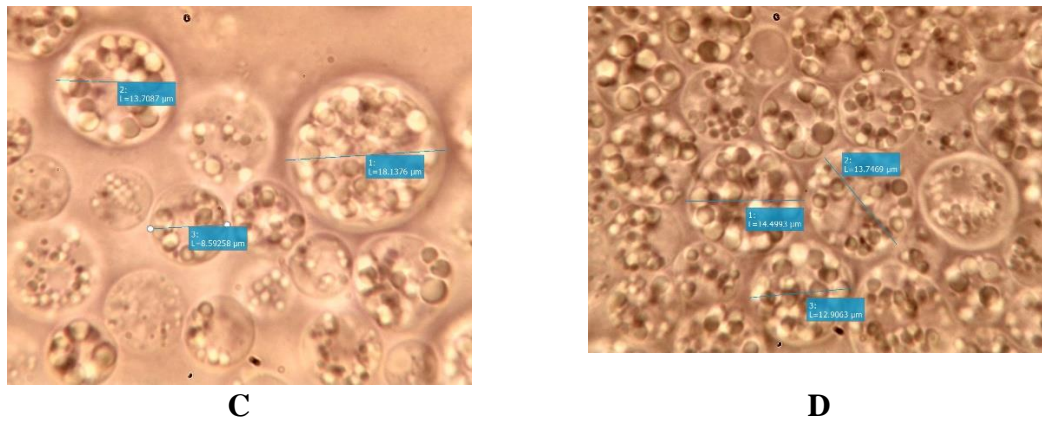
Separasi atau Pemurnian

Pemurnian biodiesel bertujuan untuk menghilangkan gliserol bebas dan sisa katalis. Pengeringan alkil ester ini diperlukan untuk mencapai batasan spesifikasi biodiesel pada jumlah kadar air dalam produk biodiesel yang dimurnikan (Chozhavendhan et al., 2020). Pada proses ini biodiesel dimasukkan dalam pengocok orbital pada 200 rpm selama 2 jam untuk menghilangkan gliserin bebas yang ada di dalamnya. Kemudian, ester yang dimurnikan mengalami penguapan putar untuk menghilangkan kelebihan etanol (Rocha et al., 2019).

3. EKSPERIMEN AWAL

Kajian awal telah dilakukan oleh tim Teknik Kimia Universitas Ahmad Dahlan. Metode isolasi mikroalga menggunakan metode direct plating (Dellero et al., 2018; Honda, D.; Yokochi, T.; Nakahara, T.; Erata, M.; Higashihara, 1998) . Kajian awal telah berhasil dilakukan untuk validasi metode tersebut pada hutan bakau Kulonprogo, Yogyakarta dan Kepulauan Seribu (Hutari et al., 2022; Suhendra et al., 2023). Selanjutnya, beberapa aktivitas isolasi mikroalga dari beberapa hutan bakau di Indonesia telah dilakukan dan dipublikasikan dalam beberapa media edukasi (Suhendra, Chuzaimah, et al., 2022a, 2022c, 2022b). Gambar 4 menampilkan koleksi beberapa mikrograf sel mikroalga *Aurantiochytrium* dari beberapa hutan bakau Indonesia.





Gambar 4. Mikrograf sel isolat mikroalga *Aurantiochytrium* dari hutan bakau Mantehage/ Bunaken Sulawesi (A), Pulau Pari/ Kepulauan Seribu (B), Raja Ampat, Papua (C) dan Lasiana, NTT (D).

Mikrograf yang ditampilkan menunjukkan sel-sel isolat mikroalga *Aurantiochytrium* yang diambil dari berbagai hutan bakau di Indonesia. Gambar A menampilkan isolat dari hutan bakau di Mantehage/Bunaken, Sulawesi, dengan diameter sel berkisar antara 13 hingga 15 mikrometer. Gambar B berasal dari isolat di Pulau Pari, Kepulauan Seribu, dengan diameter sel antara 9 hingga 13 mikrometer. Gambar C menampilkan isolat dari Raja Ampat, Papua, yang menunjukkan diameter sel yang bervariasi antara 9 hingga 19 mikrometer. Terakhir, Gambar D menunjukkan isolat dari Lasiana, Nusa Tenggara Timur (NTT), dengan diameter sel antara 13 hingga 15 mikrometer.

Isolat mikroalga *Aurantiochytrium* dari berbagai lokasi ini menunjukkan variasi dalam ukuran dan bentuk sel yang mungkin terkait dengan kondisi lingkungan spesifik dari masing-masing habitat hutan bakau. Diameter sel yang bervariasi ini memberikan wawasan penting tentang keanekaragaman dan potensi mikroalga sebagai sumber biofuel serta aplikasi bioteknologi lainnya.

Setiap isolat mikroalga ini menunjukkan adaptasi morfologis yang mungkin terkait dengan kondisi lingkungan spesifik dari masing-masing habitat hutan bakau. Diameter sel mikroalga dari keempat lokasi ini secara umum bervariasi antara 4 hingga 10 mikrometer, tergantung pada kondisi pertumbuhan dan faktor lingkungan lainnya. Variasi ini memberikan wawasan penting tentang keanekaragaman dan potensi mikroalga sebagai sumber biofuel serta aplikasi bioteknologi lainnya

4. KESIMPULAN

Kebutuhan akan sumber energi terbarukan semakin meningkat dengan meningkatnya kesadaran pembangunan berkelanjutan (sustainable development). Salah satu sumber bahan baku energi terbarukan masa depan adalah mikroalga *Aurantiochytrium*. Habitat asal *Aurantiochytrium* umumnya berada di perairan hutan bakau. Indonesia berpotensi memiliki kekayaan terbesar dunia sumber daya hayati mikroalga *Aurantiochytrium*. Dari kajian kami, mikroalga strain *Aurantiochytrium* memiliki keunggulan produktivitas dan kandungan lipid tinggi dengan waktu kultivasi singkat. Mikroalga *Aurantiochytrium* tumbuh secara heterotropik, sehingga variable yang berpengaruh pada pertumbuhan sel adalah nutrisi dan kondisi operasi. Oleh karena itu, lipid mikroalga ini dapat digunakan sebagai alternatif yang layak untuk bahan bakar fosil dalam produksi biodiesel. Keuntungan produksi biofuel dari mikroalga *Aurantiochytrium* adalah adanya nilai tambah dari produk bernilai tinggi sehingga penilaian ekonomi secara umum lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Aasen, I. M., Ertesvåg, H., Heggeset, T. M. B., Liu, B., Brautaset, T., Vadstein, O., & Ellingsen, T. E. (2016). Thraustochytrids as production organisms for docosahexaenoic acid (DHA), squalene, and carotenoids. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 100, Issue 10, pp. 4309–4321). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7498-4>
- Aasen, I. M., Ertesvåg, H., Marita, T., Heggeset, B., Liu, B., Brautaset, T., Vadstein, O., & Ellingsen, T. E. (2016). Thraustochytrids as production organisms for docosahexaenoic acid (DHA),

- squalene, and carotenoids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1, 4309–4321. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7498-4>
- Adarme-Vega, T. C., Lim, D. K. Y., Timmins, M., Vemen, F., Li, Y., & Schenk, P. M. (2012). Microalgal biofactories: a promising approach towards sustainable omega-3 fatty acid production. *Microbial Cell Factories*, 11, 1–10. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-96>
- Almomani, F., Hosseinzadeh-Bandbafha, H., Aghbashlo, M., Omar, A., Joo, S. W., Vasseghian, Y., Karimi-Maleh, H., Shiung Lam, S., Tabatabaei, M., & Rezania, S. (2022). Comprehensive insights into conversion of microalgae to feed, food, and biofuels: Current status and key challenges towards implementation of sustainable biorefineries. *Chemical Engineering Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.140588>
- Barta, D. G., Coman, V., & Vodnar, D. C. (2021). Microalgae as sources of omega-3 polyunsaturated fatty acids: Biotechnological aspects. *Algal Research*, 58. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102410>
- BDLI The German Aerospace Industries Association. (2021). *GRÜNE FLIEGE: BIO-ÖL AUS ALGEN*. <https://www.bdli.de/innovation-der-woche/gruener-fliegen-biokerosin-aus-algen#:~:text=Bereits 2010 haben Ingenieure der,weder Pestizide noch fruchtbaren Boden>
- Bibi, F., Yasmin, H., Jamal, A., AL-Harbi, M. S., Ahmad, M., Zafar, M., Ahmad, B., Samra, B. N., Ahmed, A. F., & Ali, M. I. (2021). Deciphering role of technical bioprocess parameters for bioethanol production using microalgae. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12), 7595–7606. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.011>
- Chen, H., Ding, M., Li, Y., Xu, H., Li, Y., & Wei, Z. (2020a). Feedstocks, environmental effects and development suggestions for biodiesel in China. *Journal of Traffic and Transportation Engineering (English Edition)*, 7(6), 791–807. <https://doi.org/10.1016/j.jtte.2020.10.001>
- Chen, H., Ding, M., Li, Y., Xu, H., Li, Y., & Wei, Z. (2020b). Feedstocks, environmental effects and development suggestions for biodiesel in China. *Journal of Traffic and Transportation Engineering (English Edition)*, 7(6), 791–807. <https://doi.org/10.1016/j.jtte.2020.10.001>
- Chen, J., Li, J., Dong, W., Zhang, X., Tyagi, R. D., Drogui, P., & Surampalli, R. Y. (2018). *The potential of microalgae in biodiesel production*. 90(March), 336–346. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.073>
- Chowdhury, H., & Loganathan, B. (2019). 3rd generation biofuels from microalgae: A review. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.09.003>
- Chozhavendhan, S., Vijay Pradhap Singh, M., Fransila, B., Praveen Kumar, R., & Karthiga Devi, G. (2020). A review on influencing parameters of biodiesel production and purification processes. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 1–2(April), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2020.04.002>
- da Silva, T. L., Moniz, P., Silva, C., & Reis, A. (2019). The dark side of microalgae biotechnology: A heterotrophic biorefinery platform directed to ω -3 rich lipid production. *Microorganisms*, 7(12), 1–21. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120670>
- Dellero, Y., Cagnac, O., Rose, S., Seddiki, K., Cussac, M., Morabito, C., Lupette, J., Aiese Cigliano, R., Sanseverino, W., Kuntz, M., Jouhet, J., Maréchal, E., Rébeillé, F., & Amato, A. (2018). Proposal of a new thraustochytrid genus *Hondaea* gen. nov. and comparison of its lipid dynamics with the closely related pseudo-cryptic genus *Aurantiochytrium*. *Algal Research*, 35, 125–141. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.018>
- Deshmukh, S., Kumar, R., & Bala, K. (2019). Microalgae biodiesel: A review on oil extraction, fatty acid composition, properties and effect on engine performance and emissions. *Fuel Processing Technology*, 191(November 2018), 232–247. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.03.013>
- Devasia, V. L. A., & Muraleedharan, U. D. (2012). Polysaccharide-degrading enzymes from the marine protists, thraustochytrids. *Biotechnol. Bioinf. Bioeng*, 2(1), 617–627. <https://doi.org/10.1038/srep08611>
- Dharumadurai, D., Thangaraj, R., & Gopal, V. (2017). *Oleaginous Microorganisms for Biofuel Development*. February.
- Direktorat Jendral Energi Baru Terbarukan dan Konservasi Energi. (2023). *Rencana Strategis Pengembangan Bahan Bakar Nabati Menuju NZE*.

- <https://Ebtke.Esdm.Go.Id/Post/2022/10/13/3293/Rencana.Strategis.Pengembangan.Bahan.Bakar.Nabati.Menuju.Nze?Lang=en>.
- Ebhodaghe, S. O., Imanah, O. E., & Ndibe, H. (2022). Biofuels from microalgae biomass: A review of conversion processes and procedures. In *Arabian Journal of Chemistry* (Vol. 15, Issue 2). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103591>
- Fan, K. W., Vrijmoed, L. L. P., & Jones, E. B. G. (2002). Physiological studies of subtropical mangrove thraustochytrids. *Botanica Marina*, 45(1), 50–57. <https://doi.org/10.1515/BOT.2002.006>
- Furlan, V. J. M., Maus, V., Batista, I., & Bandarra, N. M. (2017). Production of docosahexaenoic acid by *Aurantiochytrium* sp. ATCC PRA-276. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(2), 359–365. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.01.001>
- Gao, M., Song, X., Feng, Y., Li, W., & Cui, Q. (2013). Isolation and characterization of *Aurantiochytrium* species: High docosahexaenoic acid (DHA) production by the newly isolated microalga, *Aurantiochytrium* sp. SD116. *Journal of Oleo Science*, 62(3), 143–151. <https://doi.org/10.5650/jos.62.143>
- Gouveia, L., & Oliveira, A. C. (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(2), 269–274. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0495-6>
- Halim, R., Gladman, B., Danquah, M. K., & Webley, P. A. (2011). Bioresource Technology Oil extraction from microalgae for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 102(1), 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.136>
- Hernandez, R., & French, T. (2014). *Lipid Production for Microbial Biodiesel by the Oleagenous Yeast Rhodotorula glutinis Using Hydrolysates of Wheat ... Lipid Production for Microbial Biodiesel by the Oleagenous Yeast Rhodotorula glutinis Using Hydrolysates of Wheat Straw and Miscanthus*. December. <https://doi.org/10.1007/s12649-014-9312-9>
- Honda, D., Yokochi, T., Nakahara, T., Erata, M., & Higashihara, T. (1998). *Schizochytrium limacinum* sp. nov., a new thraustochytrid from a mangrove area in the west Pacific Ocean. *Mycological Research*, 102(4), 439–448. <https://doi.org/10.1017/S0953756297005170>
- Honda, D.; Yokochi, T.; Nakahara, T.; Erata, M.; Higashihara, T. (1998). *Schizochytrium limacinum* sp. nov., a new thraustochytrid from a mangrove area in the west Pacific Ocean. *Mycol. Res.* 1998, 102, 439–448., 102, 439–448.
- Hong, W. K., Kim, C. H., Rairakhwada, D., Kim, S., Hur, B. K., Kondo, A., & Seo, J. W. (2012). Growth of the oleaginous microalga *Aurantiochytrium* sp. KRS101 on cellulosic biomass and the production of lipids containing high levels of docosahexaenoic acid. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35(1–2), 129–133. <https://doi.org/10.1007/s00449-011-0605-0>
- Hosseini, M. (2019). A perspective on bioprocessing for biofuels, bio-based chemicals, and bioproducts. In *Advanced Bioprocessing for Alternative Fuels, Biobased Chemicals, and Bioproducts: Technologies and Approaches for Scale-Up and Commercialization*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817941-3.00001-2>
- Hutari, A., An Nisaa, R., Suhendra, S., Agustin, Y., & Ayunda, K. A. (2022). Exploration Of High Economic Value Microalgae In The Mangrove Area Of Pari Island, Seribu Islands, Jakarta. *JURNAL PEMBELAJARAN DAN BIOLOGI NUKLEUS*, 8(3), 662–672. <https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i3.3096>
- Ilham, Z. (2021). Biomass classification and characterization for conversion to biofuels. In *Value-Chain of Biofuels: Fundamentals, Technology, and Standardization* (pp. 69–87). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824388-6.00014-2>
- Jeon, S., Lim, J. M., Lee, H. G., Shin, S. E., Kang, N. K., & Park, Y. Il. (2017). Biotechnology for Biofuels Current status and perspectives of genome editing technology for microalgae. *Biotechnology for Biofuels*, 1–18. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0957-z>
- Kim, K. H., Lee, O. K., Kim, C. H., Seo, J. W., Oh, B. R., & Lee, E. Y. (2016). Lipase-catalyzed in-situ biosynthesis of glycerol-free biodiesel from heterotrophic microalgae, *Aurantiochytrium* sp. KRS101 biomass. *Bioresource Technology*, 211, 472–477. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.092>
- Kim, K., Jung Kim, E., Ryu, B. G., Park, S., Choi, Y. E., & Yang, J. W. (2013). A novel fed-batch process based on the biology of *Aurantiochytrium* sp. KRS101 for the production of biodiesel

- and docosahexaenoic acid. *Bioresource Technology*, 135, 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.139>
- Klaus, C. (2021). *Biokerosin: Fliegen wir bald mit Algen?* <https://www.br.de/nachrichten/wissen/biokerosin-fliegen-wir-bald-mit-algen,SgdBAPB>
- Kralova, I., & Sjöblom, J. (2010a). Biofuels-renewable energy sources: A review. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 31(3), 409–425. <https://doi.org/10.1080/01932690903119674>
- Kralova, I., & Sjöblom, J. (2010b). Biofuels-renewable energy sources: A review. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 31(3), 409–425. <https://doi.org/10.1080/01932690903119674>
- Le Cheng, Tengting Ji, Ming Zhang, & Bing Fang. (2024). Recent advances in squalene: Biological activities, sources, extraction, and delivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, 146(104392).
- Lee Chang, K. J., Dumsday, G., Nichols, P. D., Dunstan, G. A., Blackburn, S. I., & Koutoulis, A. (2013). High cell density cultivation of a novel Aurantiocytrium sp. strain TC 20 in a fed-batch system using glycerol to produce feedstock for biodiesel and omega-3 oils. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(15), 6907–6918. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4965-z>
- Li, P., Sakuragi, K., & Makino, H. (2019). Extraction techniques in sustainable biofuel production: A concise review. *Fuel Processing Technology*, 193(February), 295–303. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.05.009>
- Li, Q., Du, W., & Liu, D. (2016). *Perspectives of microbial oils for biodiesel production*. 2008, 749–756. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1625-9>
- Ma, Q., Zhang, Q., Liang, J., & Yang, C. (2021). The performance and emissions characteristics of diesel/biodiesel/alcohol blends in a diesel engine. *Energy Reports*, 7, 1016–1024. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2021.02.027>
- Mahmudul, H. M., Hagos, F. Y., Mamat, R., Adam, A. A., Ishak, W. F. W., & Alenezi, R. (2017a). Production, characterization and performance of biodiesel as an alternative fuel in diesel engines – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 72(November 2016), 497–509. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.001>
- Mahmudul, H. M., Hagos, F. Y., Mamat, R., Adam, A. A., Ishak, W. F. W., & Alenezi, R. (2017b). Production, characterization and performance of biodiesel as an alternative fuel in diesel engines – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 72(November 2016), 497–509. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.001>
- Maia, J. L. da, Cardoso, J. S., Mastrantonio, D. J. da S., Bierhals, C. K., Moreira, J. B., Costa, J. A. V., & Morais, M. G. de. (2020). Microalgae starch: A promising raw material for the bioethanol production. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 2739–2749. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.159>
- Martins, A., Caetano, N. S., & Mata, T. M. (2010). *Microalgae for biodiesel production and other applications : A review*. 14, 217–232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>
- Mata, S. N., de Souza Santos, T., Cardoso, L. G., Andrade, B. B., Duarte, J. H., Costa, J. A. V., Oliveira de Souza, C., & Druzian, J. I. (2020). Spirulina sp. LEB 18 cultivation in a raceway-type bioreactor using wastewater from desalination process: Production of carbohydrate-rich biomass. *Bioresource Technology*, 311(March). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123495>
- Microalgae Biotechnologies Possible Frameworks from Biofuel to Biobased Products*. (2020). July 2017. <https://doi.org/10.1201/9781315152547-1>
- Morales-sa, D., Kyndt, J., & Martinez, A. (2015). *Heterotrophic growth of microalgae : metabolic aspects*. 1–9. <https://doi.org/10.1007/s11274-014-1773-2>
- Nadu, T. (2015). *Ultra Structural Analysis and Lipid Staining of Biodiesel Producing Microalgae - Chlorella vulgaris Collected from Various Ponds in Tamil Nadu , India Ultra Structural Analysis and Lipid Staining of Biodiesel Producing Microalgae - Chlorella vulgaris Colle*. June, 3–6.
- Nazir, Y., Halim, H., Prabhakaran, P., Ren, X., Naz, T., Mohamed, H., Nosheen, S., Mustafa, K., Yang, W., Hamid, A. A., & Song, Y. (2020a). Different classes of phytohormones act

- synergistically to enhance the growth, lipid and DHA biosynthetic capacity of *Aurantiochytrium* sp. SW1. *Biomolecules*, 10(5), 1–18. <https://doi.org/10.3390/biom10050755>
- Nazir, Y., Halim, H., Prabhakaran, P., Ren, X., Naz, T., Mohamed, H., Nosheen, S., Mustafa, K., Yang, W., Hamid, A. A., & Song, Y. (2020b). Different classes of phytohormones act synergistically to enhance the growth, lipid and DHA biosynthetic capacity of *Aurantiochytrium* sp. SW1. *Biomolecules*, 10(5), 1–18. <https://doi.org/10.3390/biom10050755>
- Nishitani, G., & Yoshida, M. (2018). A new primer set to amplify the mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I (COI) gene in the DHA-rich microalgae, the genus *Aurantiochytrium*. *Microbes and Environments*, 33(2), 227–229. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME17145>
- Nurachman, Z. (2011). *Policy Brief Series 2011 - 3*.
- Oliver, L., Dietrich, T., Marañón, I., Villarán, M. C., & Barrio, R. J. (2020). Producing omega-3 polyunsaturated fatty acids: A review of sustainable sources and future trends for the EPA and DHA market. *Resources*, 9(12), 1–15. <https://doi.org/10.3390/resources9120148>
- Park, S., Kim, K., Eun, S. H., Kim, J., & Choi, Y. (2017). Organic solvent-free lipid extraction from wet *Aurantiochytrium* sp. biomass for co-production of biodiesel and value-added products. *Applied Biological Chemistry*. <https://doi.org/10.1007/s13765-017-0258-z>
- Patel, A., Rova, U., Christakopoulos, P., & Matsakas, L. (2020). Mining of squalene as a value-added byproduct from DHA producing marine thraustochytrid cultivated on food waste hydrolysate. *Science of the Total Environment*, 736. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139691>
- Paul Abishek, M., Patel, J., & Prem Rajan, A. (2014). Algae Oil: A Sustainable Renewable Fuel of Future. *Biotechnology Research International*, 2014(May 2014), 1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/272814>
- Perez, C. M. T., Watanabe, K., Okamura, Y., Nakashimada, Y., & Aki, T. (2019a). Metabolite profile analysis of *aurantiochytrium limacinum* SR21 grown on acetate-based medium for lipid fermentation. *Journal of Oleo Science*, 68(6), 541–549. <https://doi.org/10.5650/jos.ess19020>
- Perez, C. M. T., Watanabe, K., Okamura, Y., Nakashimada, Y., & Aki, T. (2019b). Metabolite profile analysis of *aurantiochytrium limacinum* SR21 grown on acetate-based medium for lipid fermentation. *Journal of Oleo Science*, 68(6), 541–549. <https://doi.org/10.5650/jos.ess19020>
- Perez-Garcia, O., Escalante, F. M. E., de-Bashan, L. E., & Bashan, Y. (2011). Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Research*, 45(1), 11–36. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.037>
- Pikoli, M. R., Sari, A. F., Solihat, N. A., & Permana, A. H. (2019). Characteristics of tropical freshwater microalgae *Micractinium conductrix*, *Monoraphidium* sp. and *Choricystis parasitica*, and their potency as biodiesel feedstock. *Heliyon*, 5(12), e02922. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02922>
- Putri Azmi Millatie, Suyono Thamrin, Sri Murtiana, & Lailatul Fajriyah. (2022). Analisis Siklus Hidup Bioavtur dan Dampaknya terhadap Lingkungan: Jurnal Review. *Jurnal Kewarganegaraan*, 7(2).
- Reijnders, L. (2006). Conditions for the sustainability of biomass based fuel use. *Energy Policy*, 34(7), 863–876. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2004.09.001>
- Rinna, F., Buono, S., Cabanelas, I. T. D., Nascimento, I. A., Sansone, G., & Barone, C. M. A. (2017). Wastewater treatment by microalgae can generate high quality biodiesel feedstock. *Journal of Water Process Engineering*, 18(December 2016), 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.06.006>
- Rocha, P. D., Oliveira, L. S., & Franca, A. S. (2019). Sulfonated activated carbon from corn cobs as heterogeneous catalysts for biodiesel production using microwave-assisted transesterification. *Renewable Energy*, 143, 1710–1716. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.05.070>
- Russo, G. L., Langelotti, A. L., Sacchi, R., & Masi, P. (2022). Techno-economic assessment of DHA-rich *Aurantiochytrium* sp. production using food industry by-products and waste streams as alternative growth media. *Bioresource Technology Reports*, 18. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.100997>
- Ryu, B. G., Kim, K., Kim, J., Han, J. I., & Yang, J. W. (2013). Use of organic waste from the brewery industry for high-density cultivation of the docosahexaenoic acid-rich microalga, *Aurantiochytrium* sp. KRS101. *Bioresource Technology*, 129, 351–359. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.049>

- Sajjadi, B., Chen, W. Y., Raman, A. A. A., & Ibrahim, S. (2018). Microalgae lipid and biomass for biofuel production: A comprehensive review on lipid enhancement strategies and their effects on fatty acid composition. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 97, pp. 200–232). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.07.050>
- Sajjadi, B., Raman, A. A. A., & Arandiyan, H. (2016a). A comprehensive review on properties of edible and non-edible vegetable oil-based biodiesel: Composition, specifications and prediction models. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 63, 62–92. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.05.035>
- Sajjadi, B., Raman, A. A. A., & Arandiyan, H. (2016b). A comprehensive review on properties of edible and non-edible vegetable oil-based biodiesel: Composition, specifications and prediction models. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 63, 62–92. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.05.035>
- Siddiki, S. Y. A., Mofijur, M., Kumar, P. S., Ahmed, S. F., Inayat, A., Kusumo, F., Badruddin, I. A., Khan, T. M. Y., Nghiem, L. D., Ong, H. C., & Mahlia, T. M. I. (2022). Microalgae biomass as a sustainable source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: An integrated biorefinery concept. *Fuel*, 307. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121782>
- Singh, J., & Gu, S. (2010). Commercialization potential of microalgae for biofuels production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(9), 2596–2610. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.06.014>
- Singh, P., Liu, Y., Li, L., & Wang, G. (2014). *Ecological dynamics and biotechnological implications of thraustochytrids from marine habitats*. 5789–5805. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5780-x>
- Sivaramakrishnan, R., & Incharoensakdi, A. (2018). Microalgae as feedstock for biodiesel production under ultrasound treatment – A review. *Bioresource Technology*, 250, 877–887. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.095>
- Suhendra, Chuzaimah, Hutari, A., & Saputro, A. G. E. (2022a). *Isolasi Mikroalga Aurantiochytrium dari Hutan Bakau*. <https://www.youtube.com/watch?v=OPRdXOxHNI8>
- Suhendra, Chuzaimah, Hutari, A., & Saputro, A. G. E. (2022b). *Isolasi Mikroalga dari Hutan Bakau*.
- Suhendra, Chuzaimah, Hutari, A., & Saputro, A. G. E. (2022c). *Produksi Omega-3 Skala Lab dari Mikroalga Aurantiochytrium*. <https://www.youtube.com/watch?v=101-KOT1bPc>
- Suhendra, S. (2022). Bioprocess of of Astaxanthin Production as Functional Food from Aurantiochytrium Microalgae: A Review. *CHEMICA: Jurnal Teknik Kimia*, 8(2), 123. <https://doi.org/10.26555/chemica.v8i2.21954>
- Suhendra, S., Pantoiyo, T., Fazlia, S., Sulistiawati, E., & Evitasari, R. T. (2021). Bioprocess Potentials of Squalene from Thraustochytrids Microalgae for Nutraceuticals in New Normal Era Isolated from Indonesian Mangroves: A Review. *CHEMICA: Jurnal Teknik Kimia*, 8(1), 18. <https://doi.org/10.26555/chemica.v8i1.19121>
- Suhendra, S., Septianingsih, L., Rizka Ariandi, T., Husna, M., Adi Laksana, Z., Yuniasih, D., & Hutari, A. (2022). Isolasi mikroalga Aurantiochytrium dari Raja Ampat dan potensinya pada industri bahan baku adjuvant vaksin. *Jurnal Rekayasa Proses*, 16(2), 34. <https://doi.org/10.22146/jrekpros.72045>
- Suhendra, S., Sulistiawati, E., Evitasari, R. T., Ariandi, T. R., Septianingsih, L., & Hutari, A. (2023). Bioprocess potentials of Aurantiochytrium microalgae from Kulonprogo mangrove forest Yogyakarta, Indonesia. *AIP Conference Proceedings*, 2667. <https://doi.org/10.1063/5.0112298>
- Sumprasit, N., Wagle, N., Glanpracha, N., & Annachhatre, A. P. (2017). Biodiesel and biogas recovery from Spirulina platensis. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 119, 196–204. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.11.006>
- Susilaningsih, D., Djohan, A. C., & Widyaningrum, D. N. (2009). *Biodiesel from indigenous Indonesian marine microalgae*, 2(2), 1–4.
- Torres, S., Acien, G., García-cuadra, F., & Navia, R. (2017). *Direct transesterification of microalgae biomass and biodiesel re fi ning with vacuum distillation*. 28(October 2016), 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.10.001>
- Tran, T. L. N., Miranda, A. F., Gupta, A., Puri, M., Ball, A. S., Adhikari, B., & Mouradov, A. (2020). The nutritional and pharmacological potential of new australian thraustochytrids isolated from mangrove sediments. *Marine Drugs*, 18(3), 1–17. <https://doi.org/10.3390/md18030151>

- Vo, T. K., Ly, H. V., Lee, O. K., Lee, E. Y., Kim, C. H., Seo, J. W., Kim, J., & Kim, S. S. (2017). Pyrolysis characteristics and kinetics of microalgal *Aurantiochytrium* sp. KRS101. *Energy*, *118*, 369–376. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2016.12.040>
- Wang, X., Zhang, Y., Xia, C., Alqahtani, A., Sharma, A., & Pugazhendhi, A. (2023). A review on optimistic biorefinery products: Biofuel and bioproducts from algae biomass. *Fuel*, *338*. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.127378>
- Watanabe, K., Arafiles, K. H. V., Higashi, R., Okamura, Y., Tajima, T., Matsumura, Y., Nakashimada, Y., Matsuyama, K., & Aki, T. (2018). Isolation of high carotenoid-producing *aurantiochytrium* sp. Mutants and improvement of astaxanthin productivity using metabolic information. *Journal of Oleo Science*, *67*(5), 571–578. <https://doi.org/10.5650/jos.ess17230>
- Wensel, P., Helms, G., Hiscox, B., Davis, W. C., Kirchhoff, H., Bule, M., Yu, L., & Chen, S. (2014). Isolation, characterization, and validation of oleaginous, multi-trophic, and haloalkaline-tolerant microalgae for two-stage cultivation. *Algal Research*, *4*(1), 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.12.005>
- Xia, A., Sun, C., Fu, Q., Liao, Q., Huang, Y., Zhu, X., & Li, Q. (2020). Biofuel production from wet microalgae biomass: Comparison of physicochemical properties and extraction performance. *Energy*, *212*, 118581. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.118581>
- Xiao, R., Li, X., & Zheng, Y. (2018). Enzyme production by a fungoid marine protist, *Thraustochytrium striatum*. *European Journal of Protistology*, *66*, 136–148. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2018.09.004>
- Xie, Y., Jin, Y., Zeng, X., Chen, J., Lu, Y., & Jing, K. (2015). Fed-batch strategy for enhancing cell growth and C-phycoerythrin production of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* under phototrophic cultivation. *Bioresource Technology*, *180*, 281–287. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.073>
- Xu, L., Xiu, Y., Liu, F., Liang, Y., & Wang, S. (2020). Research progress in conversion of CO₂ to valuable fuels. *Molecules*, *25*(16). <https://doi.org/10.3390/molecules25163653>
- Yang, J., Xu, M., Zhang, X., Hu, Q., Sommerfeld, M., & Chen, Y. (2011). Bioresource Technology Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrients balance. *Bioresource Technology*, *102*(1), 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.017>
- Yu, X. J., Sun, J., Zheng, J. Y., Sun, Y. Q., & Wang, Z. (2016). Metabolomics analysis reveals 6-benzylaminopurine as a stimulator for improving lipid and DHA accumulation of *Aurantiochytrium* sp. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *91*(4), 1199–1207. <https://doi.org/10.1002/jctb.4869>
- Zhang, J., Jiang, L., Chen, X., Lv, K., Basiony, M., Zhu, G., Karthik, L., Ouyang, L., Zhang, L., & Liu, X. (2021). Recent advances in biotechnology for marine enzymes and molecules. *Current Opinion in Biotechnology*, *69*, 308–315. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.05.009>
- Zhang, L., Chen, L., Wang, J., Chen, Y., Gao, X., Zhang, Z., & Liu, T. (2015). Attached cultivation for improving the biomass productivity of *Spirulina platensis*. *Bioresource Technology*, *181*, 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.025>