

PENGARUH CO₂ TERHADAP PERTUMBUHAN *STAURASTRUM* sp

Mohamad Agus Salim¹, Yeni Yuniarti² dan Rizal Maulana Hasby¹

¹Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati Bandung

²PGSD Konsentrasi Pendidikan Matematika, UPI Kampus Cibiru

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh induksi CO₂ terhadap pertumbuhan sel mikroalga air tawar *Staurastrum* sp. Kultur dilakukan dalam skala laboratorium pada tabung Erlenmeyer yang telah berisi Medium Basal Bold (MBB). Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) faktor tunggal yang terdiri dari 3 taraf : induksi karbondioksida (CO₂), induksi udara, dan kontrol (tanpa perlakuan). Pertumbuhan sel *Staurastrum* sp pada perlakuan induksi udara mencapai puncak yang sama dengan kontrol pada hari ke-11, dengan kepadatan selnya 1.063.166 sel.ml⁻¹ dan pada kontrol 385.833 sel.ml⁻¹. Pada perlakuan induksi CO₂ puncak pertumbuhan ada dua yaitu hari ke-9 dengan kepadatan sel 772.793 sel.ml⁻¹ dan pada hari ke-13 sebesar 436.888 sel.ml⁻¹. Laju pertumbuhan kultur sel *Staurastrum* sp maksimal pada perlakuan induksi CO₂ yaitu 1,59 pembelahan sel.hari⁻¹ pada hari ke-6,87, pada perlakuan induksi udara yaitu 1,49 pembelahan sel.hari⁻¹ pada hari ke-7,69, dan pada kontrol yaitu 1,05 pembelahan sel.hari⁻¹ pada hari ke-3,96. Pada akhir pengamatan, pH medium kultur dengan perlakuan induksi CO₂ mencapai angka 9,1 pada perlakuan induksi udara 8,3 dan pada kontrol 7,6. Biomassa tertinggi sel *Staurastrum* sp pada perlakuan induksi CO₂ 2,4 g.l⁻¹ diikuti perlakuan induksi udara 2,1 g.l⁻¹ dan kontrol 1,6 g.l⁻¹. Kadar klorofil tertinggi dari sel *Staurastrum* sp pada perlakuan induksi CO₂ 10,70 mg.l⁻¹ diikuti pada perlakuan induksi udara 10,57 mg.l⁻¹ dan kontrol 7,84 mg.l⁻¹.

Kata Kunci : *Staurastrum* sp, CO₂, Pertumbuhan.

A. Pendahuluan

Sejak beberapa dekade yang lalu, pemanasan global telah menjadi ancaman yang serius bagi umat manusia dan alam lingkungannya (Brennan dan Owende, 2010). Peningkatan temperatur permukaan bumi dapat menyebabkan perubahan iklim secara ekstrim, naiknya permukaan laut, musnahnya beberapa jenis organisme, mencairnya gunung es di kutub dan beberapa bencana lainnya. Temperatur global yang meningkat disebabkan oleh

tingginya kadar gas karbondioksida (CO₂) di atmosfer (Florides dan Christodoulides, 2009). Dengan begitu seriusnya ancaman pemanasan global, protokol Kyoto pada tahun 1997 mengusulkan pengurangan gas rumah kaca sekitar 5,2 % dari yang diemisikan sejak 1990.

Beberapa cara mitigasi CO₂ dicobakan untuk melaksanakan target dari usulan pada protokol Kyoto. Di antara cara yang ada yaitu mitigasi secara biologi, merupakan cara yang paling

menjanjikan. Manfaat mitigasi CO₂ secara biologi selain menangkap CO₂ juga dapat menghasilkan energi melalui fotosintesis (Li *et al.*, 2011)

Fotosintesis dilakukan oleh semua tumbuhan termasuk mikroorganisme. Walaupun demikian, tumbuhan dianggap kurang efisien dalam menangkap CO₂ karena laju pertumbuhannya yang lambat. Di pihak lain, mikroalga sebagai mikroorganisme fotosintetik mampu menangkap energi matahari dan CO₂ yang lebih efisien sekitar 10 sampai 50 kali dari pada tumbuhan tingkat tinggi (Wang *dkk.*, 2008).

Terdapat lebih dari 30.000 jenis mikroalga terdapat di bumi dan mengandung beragam bahan kimia yang bernilai jual. Biomassa yang dihasilkan dari budidaya mikroalga memiliki beberapa kegunaan (Sayre, 2010) : (1). Sumber bahan bakar hayati (biodisel dan bioetanol), (2). Suplemen bernutrisi bagi manusia dalam bentuk tablet, kapsul, tepung dan cairan, (3). Pewarna makanan alami, (4). Sumber pakan alami bagi banyak jenis ikan, (5). Suplemen bernutrisi bagi ternak agar meningkat imun dan kesuburannya, (6). Bahan suplemen kosmetika, (7). Sumber bahan bernilai seperti asam lemak tidak jenuh, asam lemak ω-3, pigmen dan biokimia isotop stabil, (8). Bahan mentah untuk

membentuk “Biochar” melalui pirolisis yang dapat digunakan sebagai pupuk hayati dan sumber karbon , (9). Sumber hidrogen terbarukan.

Mikroalga dapat menangkap CO₂ dari atmosfer, atau dari gas industri (misalnya, gas yang keluar dari pembangkit listrik) dan dalam bentuk karbonat terlarut (Na₂CO₃ dan NaHCO₃) (Chang & Yang, 2003). Pada umumnya, konsentrasi CO₂ dari pembangkit listrik lebih tinggi dari pada atmosfer. Konsentrasi CO₂ yang rendah di atmosfer menyebabkan lambatnya pertumbuhan mikroalga karena transfer massa gas yang lambat. Efisiensi penangkapan CO₂ oleh mikroalga meningkat dengan mengalirkan gas dari pembangkit listrik hingga 15% CO₂ (Amaro *et al.*,2011).

Mikroalga hijau (Chlorophyta) seperti jenis *Staurastrum* sp memiliki struktur tubuh yang sederhana berdiameter kurang dari 2 mm. Pertumbuhan mikroalga membutuhkan tiga faktor utama yaitu : sinar matahari, unsur hara dan gas karbondioksida (CO₂). Oleh sebab itu dalam penelitian ini akan digunakan penginduksian gas karbondioksida (CO₂) agar pertumbuhan dari mikroalga jenis *Staurastrum* sp dapat maksimal. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pertumbuhan mikroalga

Staurastrum sp yang dipengaruhi oleh peginduksian karbondioksida (CO₂).

B. Metode Penelitian

Mikroalga *Staurastrum* sp yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Bandung merupakan hasil isolasi dari perairan Cibiru Bandung. Penelitian dilaksanakan di Ruang Kultur Alga, Jurusan Biologi UIN Bandung dengan kondisi rak kultur : suhu 26 °C, kelembaban 82% , intensitas cahaya 2970 Lux, dan fotoperioda 24 jam terang.

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 (tiga) perlakuan yaitu, tanpa perlakuan (kontrol), induksi udara (aerator) dan induksi karbondioksida (CO₂). Medium yang digunakan yaitu medium basal bold (MBB). Kerapatan awal sel *Staurastrum* sp yang diinokulasikan sebanyak 10.000 sel/ml pada tabung Erlenmeyer 500 ml yang berisi 200 ml medium kultur, pH awal medium perlakuan 6,5 yang diatur dengan penambahan larutan HCl 1% dan KOH 1%.

Penghitungan jumlah atau kepadatan sel dilakukan secara periodik setiap 24 jam sekali selama 14 hari, menggunakan Haemocytometer. Untuk

laju pertumbuhan dihitung dengan persamaan sebagai berikut (Chrismadha *dkk.*, 2006):

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{x_t}{x_0}\right)}{t}$$

dimana μ : Laju pertumbuhan (pembelahan sel/hari), X_t : kepadatan sel pada waktu t, X_0 : kepadatan sel awal, t : waktu (hari).

Pengukuran biomassa diperoleh dengan cara mengetahui berat organiknya. Sampel sebanyak 10 ml di saring dengan kertas saring Whatman GF/A dan dipanaskan di dalam oven 100 °C. Kemudian sampel yang sudah kering diabukan pada suhu 600°C selama satu jam. Berat bahan organik mikroalga diperoleh dengan mengurangi berat sampel telah dipanaskan 100°C dengan berat setelah diabukan. Pengukuran kadar klorofil dilakukan pada kultur hari ke-14 menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 663 nm dan 645 nm (Hosikian *et al.*, 2010). Pengukuran pH media kultur juga dilakukan setiap hari menggunakan pH meter digital untuk melihat status ketersediaan CO₂ di media kultur bagi sel-sel mikroalga yang dikultur. Analisis statistika yang digunakan adalah Uji Variansi dan bila terdapat beda nyata dari perlakuan tersebut dilanjutkan dengan Uji Jarak

Berganda *Duncan* (Gomez & Gomez, 1995)

C. Hasil Dan Pembahasan

Kultur mikroalga *Staurastrum* sp. selama 14 hari pengamatan menunjukkan pola pertumbuhan yang beragam pada perlakuan yang diberikan. Pola pertumbuhan pada perlakuan aerasi atau pemberian udara mencapai puncak pertumbuhan yang sama dengan kontrol yaitu pada hari ke-11, namun kepadatan selnya hampir tiga kali lipatnya yaitu 1.063.166 sel/ml. Sedangkan pola pertumbuhan pada perlakuan induksi CO₂ mencapai puncak pertumbuhan pada hari ke-9 sebesar 772.793 sel/ml (Gambar 1).

Puncak pertumbuhan mikroalga *Staurastrum* sp pada medium Basal Bold (MBB) yang diberi perlakuan induksi CO₂ mengalami dua kali yaitu pada hari ke-9 dan hari ke-13. Sedangkan untuk kontrol dan perlakuan induksi udara, hanya memiliki satu puncak pertumbuhan yaitu hari ke 11. Hal tersebut dimungkinkan karena induksi CO₂ dapat membantu mikroalga untuk melaksanakan fotosintesis yang lebih cepat, sehingga nutrisi yang ada di dalam medium masih ada dan dapat digunakan untuk pertumbuhan berikutnya hingga mencapai puncak pertumbuhan yang kedua. Kepadatan sel pada puncak pertumbuhan

untuk perlakuan induksi CO₂ lebih rendah dari pada perlakuan induksi udara dan lebih tinggi dari kontrol, namun bila dilihat di bawah mikroskop, sel mikroalga *Staurastrum* sp yang ditumbuhkan pada medium yang diberi perlakuan induksi CO₂ menunjukkan sel yang lebih besar.

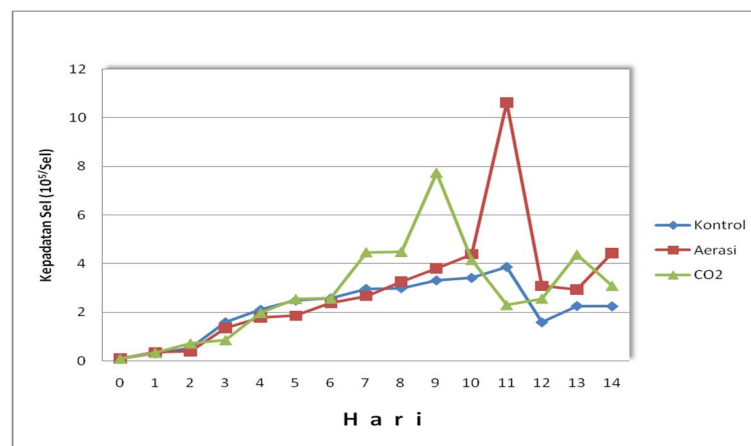
Pada kultur mikroalga *Staurastrum* sp ini tidak memperlihatkan adanya fase adaptasi. Hal tersebut terjadi disebabkan fase adaptasi berlangsung kurang dari 24 jam sehingga tidak teramati dengan jelas. Dari hari pertama rata-rata kepadatan sel sudah mulai menunjukkan peningkatan. Selain itu, tidak adanya fase adaptasi juga disebabkan medium yang digunakan dalam percobaan, sama dengan media pemeliharaan yaitu MBB. Menurut Pittman, *et al.* (2011) kultur sejumlah sel mikroorganisme pada media dan kondisi lingkungan yang sama seperti pada pemeliharaan kultur sebelumnya, menyebabkan fase adaptasi tidak terlihat, sehingga sel lebih cepat masuk ke dalam fase eksponensial.

Pada fase eksponensial terjadi peningkatan kepadatan sel. Proses perbanyakan sel pada fase eksponensial berlangsung cepat sehingga sel bertambah. Fase eksponensial tersebut kemungkinan terjadi karena kandungan nutrisi dalam MBB masih terdapat dalam jumlah yang banyak sehingga

pertumbuhan dan pembelahan sel terus terjadi.

Setelah mencapai puncak pertumbuhan, kepadatan sel mulai menurun, yang menandakan kultur mulai masuk fase stasioner. Fase stasioner pada kultur mikroalga berkaitan dengan berkurangnya sejumlah besar nutrisi

dalam medium dan akumulasi senyawa-senyawa sisa metabolisme yang beracun. Selain itu, penurunan terjadi akibat berkurangnya intensitas cahaya yang diterima oleh sel mikroalga akibat adanya fenomena pembentukan bayangan (*self-shading*) oleh sel-sel mikroalga tersebut dalam kultur (Costa & Morais, 2011).



Gambar 1. Pertumbuhan mikroalga *Staurastrum* sp selama 14 hari pada medium Basal Bold (MBB)

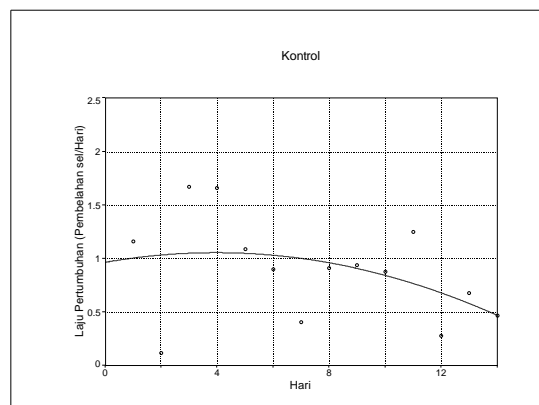
Pola pertumbuhan *Staurastrum* sp. selama 14 hari yang dikultur pada MBB dengan berbagai perlakuan sesuai dengan laju pertumbuhan yang dinyatakan dalam jumlah pembelahan sel per hari, membentuk kurva hiperbolik dengan persamaan regresi kuadratik (Gambar 2, 3 dan 4). Hal tersebut sesuai dengan hasil pengamatan Matta, *et al.* (2010) yang melaporkan laju pertumbuhan kultur mikroalga yang membentuk kurva hiperbolik.

Berdasarkan kurva hiperbolik tersebut laju pertumbuhan maksimal pada

perlakuan induksi CO₂ yaitu 1,59 pembelahan sel/hari pada hari ke-6,87, sedangkan pada perlakuan induksi udara yaitu 1,49 pembelahan sel/hari pada hari ke-7,69, dan pada kontrol yaitu 1,05 pembelahan sel/hari pada hari ke-3,96. Dari kurva laju pertumbuhan tersebut dapat dilihat bahwa pertumbuhan *Staurastrum* sp tiap harinya dengan perlakuan induksi CO₂ merupakan yang tertinggi yaitu 1,59 pembelahan sel/hari dan tidak jauh dari perlakuan induksi udara 1,49 pembelahan sel/hari. Seperti yang dilaporkan oleh Mutanda, *et al.*

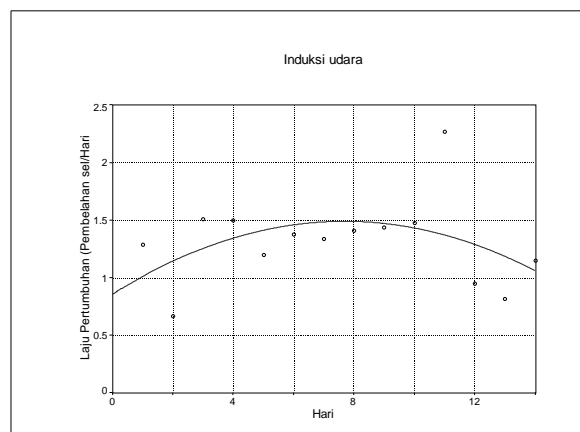
(2011) sel mikroalga dapat membelah sampai 3 kali pembelahan tiap harinya. Sel mikroalga yang memperoleh nutrisi yang cukup akan mampu tumbuh dengan baik apalagi bila disuplai dengan CO₂ ke dalam mediumnya yang akan memenuhi keperluan bagi reaksi fotosintesisnya.

Induksi udara melalui aerator dan induksi CO₂ melalui tabung gas CO₂ akan menciptakan pengadukan di dalam medium sehingga setiap sel mikroalga akan mendapatkan nutrisi yang cukup bagi pertumbuhannya



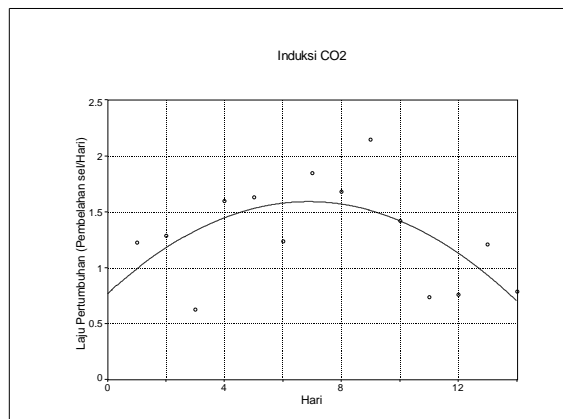
Gambar 2. Laju pertumbuhan mikroalga *Staurastrum* sp tanpa perlakuan selama 14 hari pada Medium Basal Bold (MBB). Persamaan regresi

$$Y = 0,96 + 0,05X + 0,01X^2$$



Gambar 3. Laju pertumbuhan mikroalga *Staurastrum* sp dengan perlakuan induksi udara selama 14 hari pada Medium Basal Bold (MBB) Persamaan

$$\text{regresi } Y = 0,86 + 0,16X + 0,01X^2$$



Gambar 4. Laju pertumbuhan mikroalga *Staurastrum* sp dengan perlakuan CO₂ selama 14 hari pada Medium Basal Bold (MBB). Persamaan regresi

$$Y = 0,77 + 0,24X + 0,02X^2$$

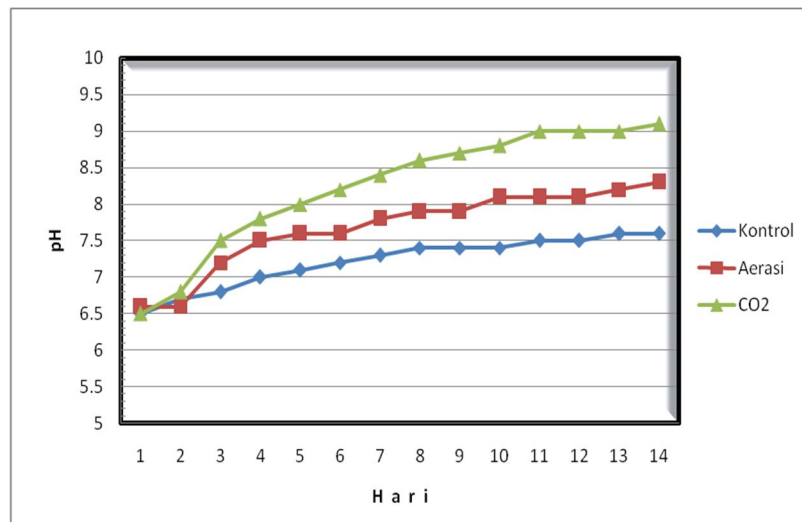
Gambar 5 menunjukkan perkembangan pH pada medium kultur terus meningkat baik pada kontrol maupun pada perlakuan induksi udara dan induksi CO₂. Peningkatan pH pada perlakuan induksi CO₂ cukup tajam mencapai angka 9,1 di akhir pengamatan, sedangkan pada perlakuan induksi udara, pH meningkat pula sampai angka 8,3 dan pada kontrol peningkatan pH sampai pada angka 7,6. Peningkatan pH pada medium kultur *Staurastrum* sp dari pH awal 6,5 menunjukkan semua sel mikroalga menggunakan CO₂ yang terkandung dalam medium pertumbuhannya. Walaupun pada kontrol dan perlakuan induksi udara tidak disuplai dengan gas CO₂, namun sel mikroalga yang terdapat dalam medium tersebut menggunakan

CO₂ yang ada bagi pertumbuhannya sehingga pH medium meningkat pula.

CO₂ digunakan oleh mikroalga sebagai sumber karbon karena sifat hidup yang fototrof. CO₂ bebas merupakan jenis karbon anorganik utama yang digunakan mikroalga. Sumber karbon anorganik lain yang berada di medium menurut Singh *et al.* (2011) dapat berupa ion karbonat (CO₃²⁻) maupun ion bikarbonat (HCO₃⁻). Penggunaan CO₂ dan ion bikarbonat oleh mikroalga akan menurunkan konsentrasi CO₂, sehingga dapat meningkat pH dalam medium pertumbuhan.

Peningkatan pH yang paling tinggi terjadi pada medium kultur *Staurastrum* sp yang mendapat perlakuan induksi CO₂. Hal ini dimungkinkan, dengan adanya pasokan CO₂ ke medium, sel mikroalga makin giat untuk melaksanakan

fotosintesis yang akan menambah akan terus meningkat
biomassa sel mikroalga dan pH di medium

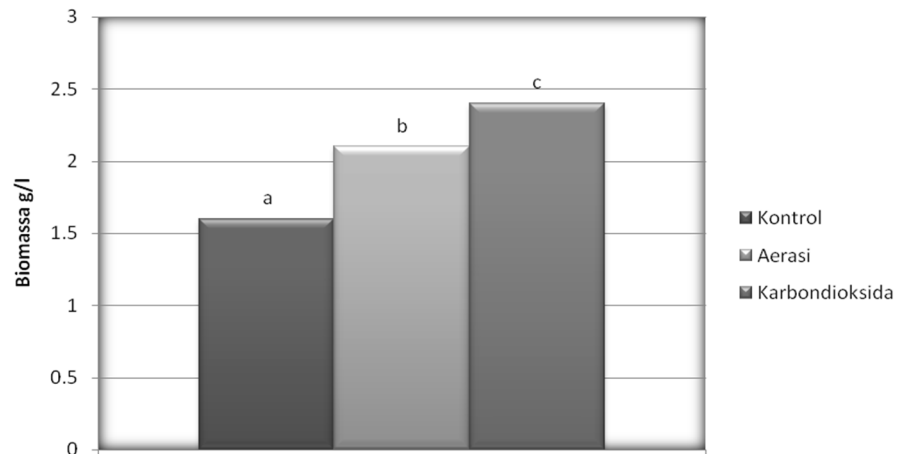


Gambar 5. Perkembangan pH pada medium kultur *Staurastrum sp* selama 14 hari

Biomassa yang merupakan gambaran kandungan bahan organik dari sel mikroalga terlihat makin meningkat bila pada medium diinduksikan gas CO₂ (Gambar 6). CO₂ yang merupakan satu satunya sumber karbon yang sangat dibutuhkan bagi pertumbuhan mikroalga . Seperti yang dijelaskan oleh Khoo *et al.* (2011) mikroalga dalam pertumbuhannya selain memerlukan cahaya matahari, unsur hara juga tidak kalah pentingnya yaitu CO₂. Kehadiran CO₂ dalam medium akan dimanfaatkan oleh sel mikroalga untuk melaksanakan fotosintesis. Menurut Widjaja *et al.* (2009) dari proses fotosintesis tersebut akan dihasilkan

karbohidrat sederhana yang dapat dirubah menjadi senyawa organik lainnya. Terbentuknya senyawa organik akan meningkatkan biomassa mikroalga tersebut

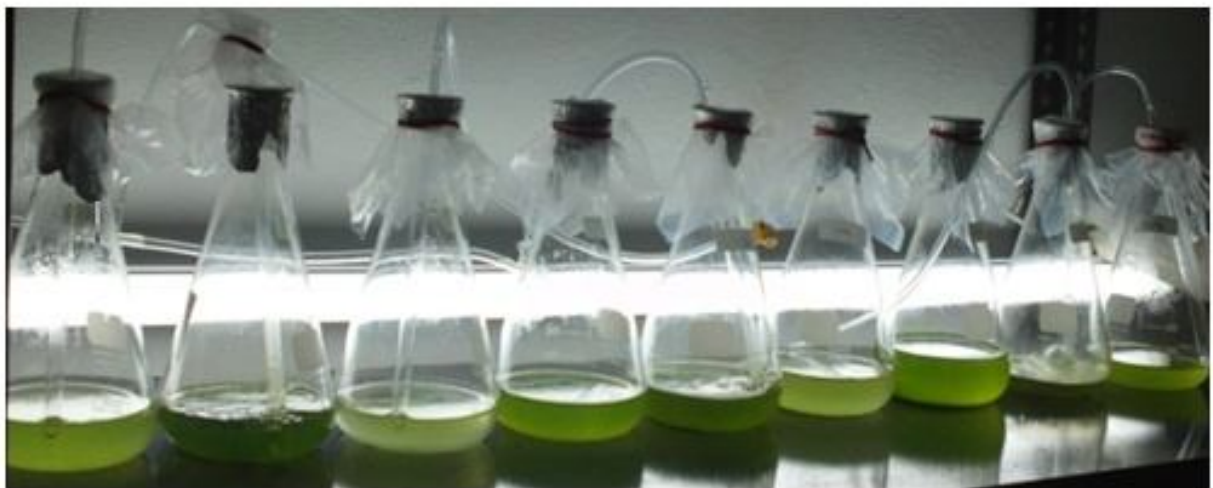
Kandungan unsur hara di dalam MBB cukup untuk mendukung pertumbuhan sel mikroalga. Unsur hara makro seperti Mg, Ca, K, dan P digunakan oleh sel mikroalga sebagai komponen penyusun sel, sedangkan unsur mikro seperti Fe, Zn, Mn, dan Cu diperlukan oleh sel mikroalga baik sebagai kofaktor enzim, maupun sebagai komponen pembentukan klorofil (Demirbas, 2011).



Gambar 6. Biomassa mikroalga *Staurastrum* sp pada akhir pengamatan hari ke-14

Peningkatan biomassa sel mikroalga juga dapat dilihat dari perubahan warna kultur (Gambar 7). Warna kultur mikroalga merupakan pigmen utama yang terkandung dalam sitoplasma sel, yaitu klorofil. Pada awal percobaan, kultur mikroalga yang ditumbuhkan dalam media perlakuan berwarna putih pucat. Kondisi tersebut terjadi disebabkan oleh jumlah sel mikroalga yang belum sebanding dengan volume media. Pada hari ke-3 medium kultur mulai

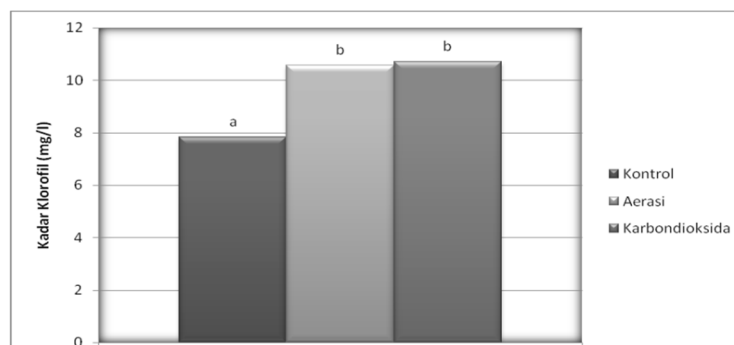
menunjukkan perubahan menjadi warna hijau apel. Pada hari ke-7 kultur mulai menunjukkan warna hijau dan pada hari ke-10 warna kultur menjadi hijau tua. Pada hari ke-14 merupakan hari akhir kultur mikroalga warna medium kultur berubah menjadi hijau tembaga. Perubahan warna hijau medium kultur mulai dari hijau muda hingga menjadi hijau tembaga menunjukkan bahwa populasi sel meningkat seiring dengan bertambahnya umur kultur.



Gambar 7. Kultur mikroalga *Staurastrum* sp pada hari ke 7

Warna hijau kultur selain menunjukkan peningkatan populasi sel, juga mengindikasikan kadar klorofil yang terkandung dalam sel. Kadar klorofil dari sel mikroalga *Staurastrum* sp diukur pada hari akhir percobaan yaitu hari ke-14. Pada Gambar 8. menunjukkan bahwa sel mikroalga yang mendapat perlakuan induksi CO₂ memiliki kadar klorofil yang paling tinggi yaitu 10,70 mg/l dan secara uji statistik tidak berbeda nyata dengan kadar klorofil sel mikroalga yang mendapat perlakuan induksi udara sebesar 10,57 mg/l. Sedangkan kadar klorofil pada kontrol paling rendah sebesar 7,84 mg/l.

Kepadatan sel *Staurastrum* sp yang lebih tinggi pada kultur yang mendapat perlakuan induksi udara dari pada yang mendapat perlakuan induksi CO₂ (Gambar 1.) tidak sejalan dengan kadar klorofilnya. Kadar klorofil yang lebih tinggi ternyata terjadi pada kultur sel *Staurastrum* sp yang mendapat perlakuan induksi CO₂. Hal tersebut dapat terjadi karena tingginya kepadatan sel *Staurastrum* sp pada kultur dapat menghambat penetrasi cahaya ke dalam kolom kultur sehingga proses fotosintesis tidak berlangsung maksimal dan sintesis klorofil akan berkurang.



Gambar 7. Kadar klorofil mikroalga *Staurastrum* sp pada akhir pengamatan hari ke-14

D. Kesimpulan

1. Pertumbuhan sel *Staurastrum* sp selama 14 hari pada medium kultur yang mendapat perlakuan induksi udara mencapai puncak pertumbuhan yang sama dengan kontrol yaitu pada hari ke-11, namun kepadatan selnya

tertinggi yaitu sebesar 1.063.166 sel/ml, sedangkan pada kontrol sebesar 385.833 sel/ml. Pada medium kultur yang mendapat perlakuan induksi CO₂ mencapai puncak pertumbuhan pertama pada hari ke-9 dengan kepadatan sel sebesar 772.793

- sel/ml dan puncak pertumbuhan kedua pada hari ke-13 dengan kepadatan sel 436.888 sel/ml.
2. Laju pertumbuhan kultur sel *Staurastrum* sp maksimal yang mendapat perlakuan induksi CO₂ yaitu 1,59 pembelahan sel/hari pada hari ke-6,87, sedangkan pada perlakuan induksi udara yaitu 1,49 pembelahan sel/hari pada hari ke-7,69, dan pada kontrol yaitu 1,05 pembelahan sel/hari pada hari ke-3,96.
 3. Pada akhir pengamatan, pH medium kultur yang mendapat perlakuan induksi CO₂ mencapai angka 9,1 sedangkan pada perlakuan induksi udara mencapai angka 8,3 dan pada kontrol mencapai angka 7,6.
 4. Biomassa tertinggi dari sel *Staurastrum* sp dicapai pada kultur yang mendapat perlakuan induksi CO₂ sebesar 2,4 g/l diikuti oleh perlakuan induksi udara sebesar 2,1 g/l dan kontrol sebesar 1,6 g/l
 5. Kadar klorofil tertinggi dari sel *Staurastrum* sp dicapai pada kultur yang mendapat perlakuan induksi CO₂ sebesar 10,7 mg/l diikuti oleh perlakuan induksi udara sebesar 10,57 mg/l dan kontrol sebesar 7,84 mg/l

E. Daftar Pustaka

- Amaro, H.M., Guedes, A.C. & Malcata F.X. 2011. Advance and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. *Applied Energy*. 115 : 34-43
- Brennan, L & Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae – a review of technologies for production, processing and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Review*, 14(2):557-577.
- Chang, E.H. & Yang S.S. 2003. Some characteristics of microalgae isolated in Taiwan for biofixation of carbon dioxide. *Bot.Bull.Acad.Sin.* 44:43-52.
- Chrimadha,T., Mardiaty, Y, & Hadiansyah, D. 2006. Respon fitoplankton terhadap peningkatan konsentrasi karbondioksida udara. *Limnotek*. 13(1):26-32.
- Costa, J.A.V. & Morais, M.G.D. 2011. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. *Bioresource Technology*. 102 : 2-9
- Demirbas, A. 2011. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae : a solution to pollution problems. *Applied Energy*. 115 : 233-243
- Florides, G.A. & Christodoulides, P. 2009. Global warming and carbon dioxide through sciences. *Environment International*, 35(2):390-401.
- Gomez, K.A & A.A. Gomez. 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Hosikian, A., Lim, S., Halim, R. & Danquah, M. K. 2010. Chlorophyll extraction from microalgae : A review on the process engineering aspects. *International Journal of Chemical Engineering*. 39: 32-43

- Khoo, H.H., Sharratt, P.N., Das, P., Balasubramanian, R.K., Naraharisetti, P.K. & Shaik, S. 2011. Life cycle energy and CO₂ analysis of microalgae-to-biodiesel : preliminary result and comparisons. *Bioresource Technology*. 102 : 5800-5807
- Li, Y.G., Xu, L., Huang, Y.M., Wang, F., Guo, C. & Liu, C.Z. 2011. Microalgal biodiesel in china : opportunities and challenges. *Applied Energy*. 115 : 112-123
- Mata, T. M., Martin, A.A., & Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications : A review. *Renewable and Sustainable Energy Review*. 14:217-232.
- Mutanda, T., Ramesh, D., Karthikeyan, S., Kumari, S., Anandraj, A. & Bux, F. 2011. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuels production. *Bioresource Technology*. 102 : 57-70.
- Pittman, J.K., Dean, A.P. & Osundeko, O. 2011. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology*. 102 : 17-25.
- Sayre, R. 2010. Microalgae : the potential for carbon capture. *Bioscience* . 60(9) : 722-727
- Singh, A., Nigam, P.S. & Murphy, J.D. 2011. Mechanism and challenges in commercialization of algal biofuels. *Bioresource Technology*. 102 : 26-34
- Wang, B., Li, Y., Wu, N., & Lan, C.Q. 2008. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(5):707-718.
- Widjaja, A., Chien, C.C. & Ju, Y.H. 2009. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Journal of The Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 40 : 13-20.