

BIOFIKSASI CO₂ OLEH MIKROALGA *CHLAMYDOMONAS sp* DALAM PHOTOBIOREAKTOR TUBULAR

Hadiyanto^{*)} dan Widayat

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275

^{*)}Penulis korespondensi: h.hadiyanto@undip.ac.id

Abstract

CO₂ BIOFIXATION BY MICROALGAE *CHLAMYDOMONAS sp* IN A TUBULAR PHOTOBIOREACTOR. *Microalgae have a potential for CO₂ biofixation and therefore can be used to reduce the CO₂ concentration in the gas pollutants. Moreover, microalgae growth is strongly affected by the concentration of CO₂ in the exhaust gas pollutants. The objective of this research was to investigate the ability of microalgae *Chlamydomonas sp* which was cultivated in a tubular photobioreactor for CO₂ absorption as well as to determine the maximum concentration of CO₂ in the feed gas to obtain optimum microalgae biomass. The experiments were performed by varying the gas flow rate of 0.03-0.071 L/min and the concentration of CO₂ in the feed of 10-30%. The results showed that the maximum biomass of microalgae can be produced with CO₂ concentration of 20% vol with a flow rate of 0.07 L/min. The result also showed that increasing the gas flow rate, the greater of the production of algal biomass and the maximum algae growth rate occurred at 0.31/day. At a concentration of 30% CO₂ gas, it occur a substrate inhibition due to inefficient of bicarbonate use by algae culture.*

Keywords: *biogas; chlamydomonas sp; CO₂ biofixation; microalgae*

Abstrak

*Mikroalga memiliki potensi dalam membiofiksasi CO₂ dan dapat dimanfaatkan untuk mengurangi kadar CO₂ dalam gas pencemar. Pertumbuhan mikroalga sangat dipengaruhi oleh konsentrasi gas CO₂ di dalam gas pencemar. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan mikroalga *Chlamydomonas sp* yang dikultivasi dalam photobioreaktor tubular dalam penyerapan gas CO₂ serta untuk mengetahui konsentrasi maksimum gas CO₂ dalam umpan untuk memproduksi biomasa mikroalga yang optimal. Percobaan dilakukan dengan memvariasi laju alir dari 0,03-0,071 L/menit dan konsentrasi CO₂ dalam umpan 10-30%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biomasa mikroalga dapat diproduksi dengan maksimal dengan konsentrasi gas CO₂ 20% dengan laju alir 0.07 L/min. Semakin tinggi laju alir maka produksi biomasa alga semakin besar. Kecepatan pertumbuhan alga maksimum terjadi pada 0,31/hari. Pada konsentrasi gas CO₂ 30%, terjadi substrate inhibition yang disebabkan carbon dalam bentuk ion bicarbonate tidak dapat dikonsumsi lagi di dalam kultur alga.*

Kata kunci: *biogas; chlamydomonas sp; biofiksasi CO₂; mikroalga*

How to Cite This Article: Hadiyanto dan Widayat, (2014), Biofiksasi CO₂ oleh Mikroalga *Chlamydomonas sp* dalam Photobioreaktor Tubular, Reaktor, 15(1), 37-42, <http://dx.doi.org/10.14710/reaktor.15.1.37-42>

PENDAHULUAN

Pemanasan global disebabkan oleh adanya penambahan gas CO₂ dari sisa aktivitas manusia terutama dari proses pembakaran. Isu peningkatan gas emisi rumah kaca tersebut menjadi perhatian dunia tak terkecuali Indonesia. *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) menyebutkan bahwa karbon dioksida merupakan faktor utama penentu gas rumah kaca 76,7% (v/v), dan konsentrasinya akan terus meningkat dengan bertambahnya jumlah industri

(Ramanathan, 1988). Dari jumlah tersebut, sebanyak 7% (v/v) dihasilkan dari pembakaran batu bara (de Morais dan Costa, 2007a), sedangkan 10-15% (v/v) dikontribusi dari *flue gas* (de Morais dan Costa, 2007b).

Upaya pengurangan emisi gas CO₂ dilakukan melalui proses kimia, fisika dan biologi. Dari proses-proses tersebut, strategi pengurangan gas CO₂ dengan metode biologi menjadi perhatian saat ini. Umumnya

metode ini menggunakan mikroorganisme fotosintesis mikroalga sebagai penyerap gas CO₂.

Mikroorganisme fotosintesis menggunakan karbon anorganik untuk tumbuh dan dengan demikian mengkonversi gas CO₂ menjadi biomasa. Biofiksasi CO₂ dengan mikroalga menjadi metode yang sangat penting untuk dikembangkan disebabkan mikroalga mempunyai efisiensi fiksasi CO₂ yang relatif tinggi, produktivitas biomasa yang tinggi dan mempunyai pertumbuhan yang relatif cepat dibandingkan dengan tanaman penghasil biomasa lainnya (Miao dan Wu, 2006; Minowa, 1995; Dote, 1994). Dengan melihat potensi tersebut, fiksasi CO₂ menjadi teknologi pengurangan CO₂ yang paling *feasible*, ramah lingkungan dan rendah energi yang digunakan (Skjanes dkk., 2007).

Pada aplikasinya, pengurangan gas CO₂ (biofiksasi CO₂) dengan mikroalga sangat ditentukan oleh kadar CO₂ dalam gas masuk. Beberapa spesies mikroalga telah diteliti untuk ketahanan mikroalga tersebut pada berbagai konsentrasi CO₂ seperti *Chlorococcum littorale* (Ota dkk., 2009), *Chlorella kessleri*, *Scenedesmus obliquus* (de Morais dan Costa, 2007a), *Chlorella vulgaris* (de Morais dan Costa, 2007c), *Dunaliella tertiolecta*, *Botryococcus braunii*, *Spirulina platensis* (Sydney dkk., 2010), *Chlorella sp.* (Chiu dkk., 2008), *Nannochloropsis oculata* (Chiu dkk., 2009). Dari beberapa spesies tersebut diketahui bahwa konsentrasi CO₂ yang tinggi akan menghambat pertumbuhan mikroalga. Chiu dkk. (2008) dan Chiu dkk. (2009) menunjukkan bahwa mikroalga *Chlorella sp.* dan *N. oculata* sangat terhambat pertumbuhannya pada konsentrasi CO₂ di atas 5%. Sedangkan de Morais dan Costa (2007a), de Morais dan Costa (2007b), dan de Morais dan Costa (2007c) mengevaluasi pertumbuhan mikroalga jenis *Chlorella kessleri*, *Scenedesmus obliquus*, *Spirulina sp.* dan *Chlorella vulgaris* pada konsentrasi gas CO₂ sebesar 6% dan dapat tumbuh dengan optimal.

Namun demikian, penelitian-penelitian tersebut umumnya menggunakan konsentrasi di bawah 10%, dan penelitian di atas 10% belum banyak dilakukan. Selain itu, mikroalga jenis *Chlamydomonas* juga belum banyak digunakan untuk biofiksasi gas CO₂. Untuk itu, artikel ini menggambarkan hasil evaluasi pertumbuhan mikroalga jenis *Chlamydomonas sp* dengan variasi gas CO₂ diatas 10% yaitu 10-30%.

METODE PENELITIAN

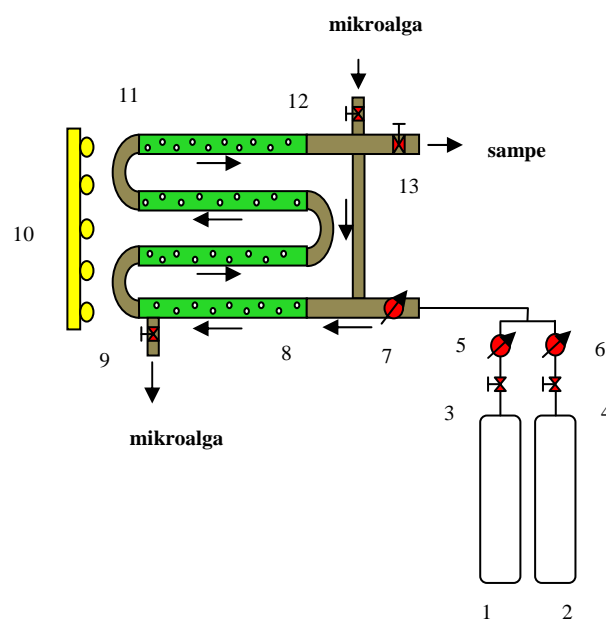
Mikroalga *Chlamydomonas*

Mikroalga *Chlamydomonas sp* diperoleh dari Laboratorium Bioproses, Teknik Kimia Universitas Diponegoro Semarang. Bibit mikroalga dikembangbiakkan dalam dalam erlenmeyer dengan pH =7 dan suhu 28°C. Medium yang digunakan yaitu (per Liter): 1 mg Na₂Mg EDTA, 36 mg CaCl₂.2H₂O, 75 mg MgSO₄.7H₂O, 40 mg K₂HPO₄.3H₂O, 2,86 mg H₃BO₃, 1,81 mg MnCl₂.4H₂O, 0,222 mg, ZnSO₄.7H₂O, 0,079 mg CuSO₄.5H₂O, 0,05 mg

CoCl₂.6H₂O, 0,391 mg NaMoO₄.2H₂O dan 1500 mg NaNO₃.

Proses Biofiksasi

Proses biofiksasi dilakukan dengan mikroalga *Chlamydomonas sp* dalam reaktor tubular (Gambar 1) dan dilakukan pada kondisi operasi suhu 28°C, tekanan atmosferik, dengan variabel laju alir gas CO₂ 0,031-0,071 L/min dan konsentrasi gas CO₂ 10-30% vol. Untuk kultivasi digunakan lampu sebesar 100 W.



Gambar 1. Rangkaian alat penelitian untuk konsentrasi gas CO₂ 30 dan 40% volume, 1. Tabung gas N₂; 2. Tabung gas CO₂; 3. Valve tabung gas N₂; 4. Valve tabung gas CO₂; 5. Flow meter tabung gas N₂; 6. Flow meter tabung gas CO₂; 7. Flow meter photobioreactor; 8. Photobioreactor jenis tubular coloumn; 9. Valve keluaran mikroalga; 10. Lampu; 11. Elbow; 12. Valve masukan mikroalga; 13. Tempat pengambilan sampel

Perhitungan Jumlah Biomasa

Berat sel biomasa (g/L) di ukur berdasarkan metode yang dideskripsikan oleh Chiu dkk. (2009). Mikroalga di sentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 5 menit dan dicuci dengan air demin. Biomasa dikeringkan untuk pengukuran berat.

Pengukuran densitas sel menggunakan metode spektrofotometer (Shimadzu, Jepang) pada panjang gelombang 680 nm (OD 680). Tiap sampel diukur absorbansinya pada kisaran 0,1-1,0 dan jika OD melebihi 1 maka harus diencerkan. Hubungan antara OD dan berat biomasa dibuat dalam suatu persamaan linier.

Pengukuran Growth Rate dan Produktivitas

Konsentrasi biomasa diukur dengan menghitung jumlah sel dan absorbansi pada panjang gelombang 680 nm. Dengan memperoleh konsentrasi biomasa sebagai nilai *optical density* (OD) maka

kecepatan pertumbuhan dapat dihitung dengan persamaan (1)

$$\mu = \frac{\ln(OD_2) - \ln(OD_1)}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

Dimana OD_1 merupakan titik awal fase eksponensial, OD_2 titik akhir fase eksponensial, t_1 waktu awal dan t_2 waktu akhir fase eksponensial.

Sedangkan produktivitas dihitung dengan persamaan (2):

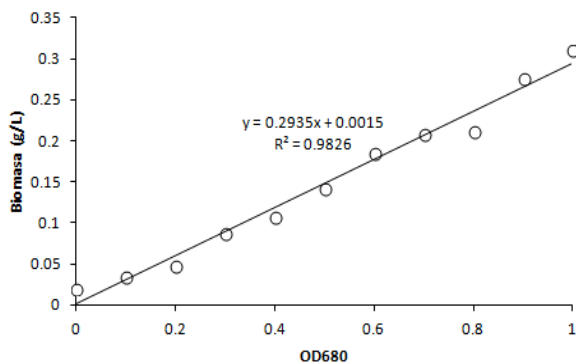
$$P = \frac{X_2 - X_1}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

Dimana X_2 dan X_1 merupakan konsentrasi biomasa alga pada waktu t_2 dan t_1 .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hubungan *Optical Density* dan Konsentrasi

Hubungan antara *optical density* dan konsentrasi biomasa ditunjukkan pada Gambar 2. Dari korelasi didapatkan persamaan linier dengan biomasa (g/L) = 0.2935 OD + 0.0015 ($R^2=0.9826$).

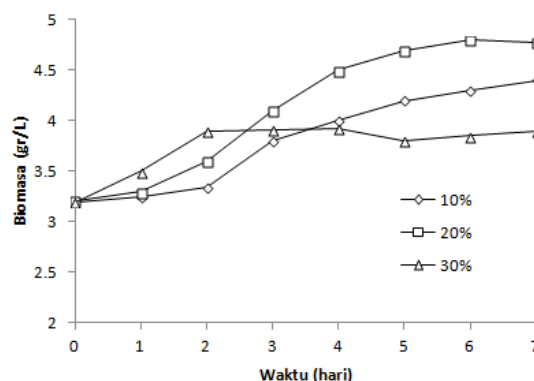


Gambar 2. Hubungan antara OD dan konsentrasi biomasa

Pengaruh Konsentrasi Gas CO_2

Pada penelitian ini, konsentrasi gas CO_2 dibuat bervariasi antara 10-30% volume untuk mengetahui efek konsentrasi gas CO_2 terhadap pertumbuhan mikroalga seperti terlihat dalam Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa pertumbuhan alga sangat dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi gas karbondioksida (CO_2) sebagai sumber karbon untuk fotosintesis. Hal ini menguatkan pendapat bahwa gas CO_2 merupakan faktor yang penting yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroalga (Hoshida dkk., 2005). Di samping gas CO_2 , pertumbuhan alga juga dipengaruhi oleh derajat keasaman (pH) di dalam kultur alga (Olaizola dkk, 2004). Namun demikian, konsentrasi gas yang berlebihan dapat menjadi penghambat (inhibitor) bagi pertumbuhan alga tersebut. Gambar 3 menunjukkan bahwa dengan konsentrasi melebihi 20% vol, maka pertumbuhan biomasa mengalami penurunan. Dengan konsentrasi di atas 20%, maka carbon bukan menjadi *limiting factor* pada proses fotosintesis alga, dan justru menjadi *substrate inhibition factor*.



Gambar 3. Kurva produksi biomassa berbagai konsentrasi CO_2 ($Q=0,071$ L/menit)

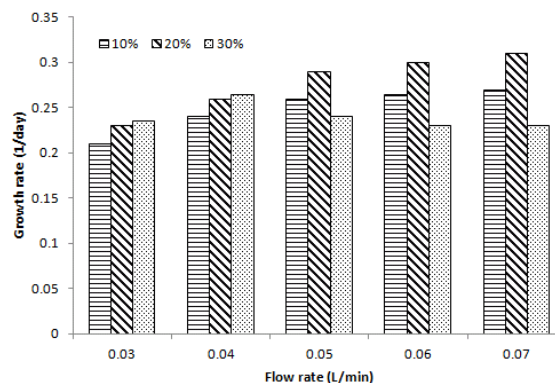
Tabel 1 menunjukkan bahwa konsentrasi gas CO_2 sebesar 10-20% akan meningkatkan *growth rate* (kecepatan pertumbuhan) alga sebesar 50%. Kecepatan pertumbuhan maksimum sebesar 0,31/hari untuk 20% vol CO_2 dan kecepatan gas 0,07 L/menit dengan produktivitas 0,4 g/L/hari. Data penelitian ini dapat digunakan untuk mengurangi beban CO_2 dalam *flue gas* dimana *flue gas* mempunyai kandungan CO_2 sebesar 10-20% vol.

Tabel 1. Kecepatan pertumbuhan dan produktivitas *Chlamydomonas sp* dalam photobioreaktor tubular dengan kecepatan 0,07 L/min

| Konsentrasi gas | <i>Growth rate</i> (1/hari) | Produktivitas (g/L/hari) |
|-----------------|-----------------------------|--------------------------|
| 10 | 0.21 | 0.24 |
| 20 | 0.31 | 0.4 |
| 30 | 0.05 | 0.07 |

Pengaruh Laju Alir Gas CO_2 terhadap Kecepatan Pertumbuhan Alga

Selain konsentrasi, laju alir gas masuk reaktor tubular juga menjadi penentu dalam pertumbuhan alga. Gambar 4 menunjukkan bahwa dengan kenaikan laju alir gas, maka pertumbuhan mikroalga semakin besar, namun demikian mengalami penurunan pada konsentrasi 30% dengan kecepatan 0,05 L/min. Hal ini didukung oleh penelitian Wilde dan Benneman, (1993) yang menyatakan bahwa produktivitas dan laju pertumbuhan alga dapat ditingkatkan dengan kenaikan laju alir gas.



Gambar 4. Kurva laju pertumbuhan mikroalga pada berbagai konsentrasi gas CO_2

Penurunan kecepatan pertumbuhan ini disebabkan oleh tidak termanfaatkannya senyawa karbonat (HCO₃⁻) dalam siklus CA (*Carbonic Anhydrase*) yang mulai jenuh sehingga sehingga efektivitas CA dalam memanfaatkan senyawa karbonat mulai berkurang. Sedangkan pada konsentrasi CO₂ kurang dari 20% volume, semua carbond ari CO₂ dapat dimanfaatkan pada proses *Carbonic anhydrase*. Pada penelitian ini kecepatan pertumbuhan terbesar terjadi pada kecepatan 0,07 L/min dengan konsentrasi CO₂ 20% sebesar 0,31/hari.

Penyerapan Gas CO₂

Pada penelitian ini, kemampuan mikroalga *Chlamydomonas sp* dalam menyerap gas CO₂ terlihat dalam Tabel 2.

Tabel 2. CO₂ yang terserap oleh mikroalga pada laju alir gas CO₂ 0,071 l/min

| Konsentrasi gas CO ₂ (% volume) | CO ₂ terlarut awal (%) | CO ₂ terlarut akhir (%) | CO ₂ yang terserap (%) |
|--|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| 10 | 17,73 | 11,85 | 5,88 |
| 20 | 29,76 | 20,61 | 9,15 |
| 30 | 38,44 | 26,35 | 12,09 |

Penggunaan karbondioksida pada kultivasi mikroalga memiliki beberapa keuntungan, seperti mikroalga tumbuh di air, lebih mudah diamati pertumbuhannya daripada tumbuhan tingkat tinggi, mikroalga dapat tumbuh sangat cepat dan mikroalga tidak membutuhkan tempat atau lahan yang sangat luas untuk tumbuh (Benneman, 1997). Untuk organisme seperti mikroalga, karbondioksida merupakan faktor yang penting yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroalga (Hoshida dkk., 2005). Pada Tabel 1 di atas terlihat kemampuan penyerapan gas CO₂ oleh mikroalga linier terhadap konsentrasi CO₂ masuk ke dalam bioreactor. Penyerapan mikroalga *Chlamydomonas* berkisar antara 5-12,09% pada lanju alir 0,07 L/menit dan konsentrasi CO₂ masuk 10-30%. Hal ini membuktikan bahwa CO₂ digunakan oleh mikroalga untuk menambah jumlah sel dalam medium kultur dimana sel-sel mikroalga tersebut mulai memproduksi biomassa.

KESIMPULAN

Semakin tinggi laju alir gas CO₂ maka laju pertumbuhan serta produktivitas biomassa juga mengalami kenaikan selama kosnetrasi gas CO₂ tidak melebihi 20% volume. Kecepatan maksimum dalam photobioreaktor tubular adalah 0,071 L/menit dengan kecepatan pertumbuhan maksimum 0,31/hari.

Semakin tinggi konsentrasi gas CO₂ maka produksi biomassa masih terus bertambah selama CA masih efektif/belum jenuh sehingga gas CO₂ dapat dirubah menjadi senyawa karbonat yang dapat dimanfaatkan media kultur menjadi biomassa.

DAFTAR PUSTAKA

Badger, M., (2003), The roles of carbonic anhydrases in photosynthetic CO₂ concentrating mechanisms. *Photosyn. Res.*, 77, pp. 83-94.

Balkos, K.D. and Colman, B., (2007), Mechanism of CO₂ acquisition in an acid-tolerant *Chlamydomonas*. *Plant Cell Environ.* 30, pp. 745-752.

Benemann, G., (1997), Characterization of Marine Microalga for Biofuel Production, *Journal of Biotechnology*, 31, pp. 1367-1372.

Chiu, S.Y., Kao, C.Y., Chen, C.H., Kuan, T.C., Ong, S.C., and Lin, C.S., (2008), Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella sp.* in a semicontinuous photobioreactor, *Bioresour. Technol.*, 99, pp. 3389-3396.

Chiu, S.Y., Kao, C.Y., Tsai, M.T., Ong, S.C., Chen, C.H., and Lin, C.S., (2009), Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration, *Bioresour. Technol.*, 100, pp. 833-838.

Dallaire, B., Bernet, N., and Bernard, O., (2007), Anaerobic Digestion of Microalgae as a Necessary Step to Make Microalgae Biodiesel Sustainable, *Journal of Biotechnology Advances*, 27, pp. 409-416.

de Morais, M.G. and Costa, J.A., (2007a), Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. *Energy Convers. Manage.*, 48, pp. 2169-2173.

de Morais, M.G. and Costa, J.A., (2007b), Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina sp.* and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor, *J. Biotechnol.*, 129, pp. 439-445.

de Morais, M.G. and Costa, J.A., (2007c), Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina sp.* cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors, *Biotechnol. Lett.*, 29, pp. 1349-1352.

Dote, Y., (1994), Recovery of liquid fuel from hydrocarbon-rich microalgae by thermochemical liquefaction, *Fuel*, 73, pp. 1855-1857.

Elzenga, J.T.M., (2000), The role of extracellular carbonic anhydrase activity in inorganic carbon utilization of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae). A comparison with other marine algae using the isotopic disequilibrium technique, *Limnol. Oceanogr.*, 45, pp. 372-380.

Hoshida, H., Ohira, T., Minematsu, A., Akada, R., and Nishizawa, Y., (2005), Accumulation of Eicosapentaenoic Acid in *Nannochloropsis sp.* in Response to Elevated CO₂ Concentrations, *Applied Phycology*, 17, pp. 29-34.

- Hoshida, H., (2005), Accumulation of eicosapentaenoic acid in *Nannochloropsis* sp. in response to elevated CO₂ concentrations, *J. Appl. Phycol.*, 17, pp. 29-34.
- Juanga, A., (2007), Biogas untuk Masa Depan Pengganti BBM, *Jurnal Ilmiah Indonesia*, 4, p. 25.
- Knothe, G., (2008), "Designer" biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties, *Energy Fuels*, 22, pp. 1358-1364.
- Martin, C.L. and Tortell, P.D., (2008), Bicarbonate transport and extracellular carbonic anhydrase in marine diatoms, *Physiol. Plant*, 133, pp. 106-116.
- Miao, X.L., Li, R.X., and Yao, H.Y., (2009), Effective acid-catalyzed transesterification for biodiesel production, *Energy Convers. Manage.*, 50, pp. 2680-2684.
- Miao, X.L. and Wu, Q.Y., (2006), Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresour. Technol.*, pp. 97, 841-846.
- Minowa, T., (1995), Oil production from algal cells of *Dunaliella tertiolecta* by direct thermochemical liquefaction, *Fuel*, 74, pp. 1735-1738.
- Moroney, J.V. and Ynalvez, R.A., (2007), Proposed carbon dioxide concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Eukaryotic Cell*, 6, pp. 1251-1259.
- Muradyan, E.A., (2004), Changes in lipid metabolism during adaptation of the *Dunaliella salina* photosynthetic apparatus to high CO₂ concentration, *Russ. J. Plant Physiol.*, 51, pp. 53-62.
- Nurhasanah, A., Widodo, W. T., Asari, A., and Rahmarestia, E., (2006), Perkembangan Digester Biogas di Indonesia, *Jurnal Pertanian*, 2, p. 57.
- Olaizola, M., Bridges, T., Flores, S., Griswold, L., Morency, J., and Nakamura, T., (2004), Microalga Removal of CO₂ from Flue Gases : CO₂ Capture from a Coal Combuster, *Biotech. Bioproc. Eng.*, 8, pp. 360-367.
- Ota, M., Kato, Y., Watanabe, H., Watanabe, M., Sato, Y., Smith, R.L., and Inomata, H., (2009), Fatty acid production from a highly CO₂ tolerant alga, *Chlorococcum littorale*, in the presence of inorganic carbon and nitrate, *Bioresour. Technol.*, 100, pp. 5237-5242.
- Ramanathan, V., (1988), The greenhouse theory of climate change: a test by an inadvertent global experiment, *Science*, 240, pp. 293-299.
- Rodolfi, L., Zittelli, G.C., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., and Tredici, M.R., (2009), Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor, *Biotechnol. Bioeng.*, 102, pp. 100-112.
- Rost, B., Riebesell, U., Burkhardt, S., and Sultemeyer, D., (2003), Carbon acquisition of bloom-forming marine phytoplankton, *Limnol. Oceanogr.*, 48, pp. 55-67.
- Setiawan, S., Sari, M., and Yuliusman, (2008), Mekanisme Absorpsi CO₂ dengan Menggunakan Fitoplankton, *Jurnal Ilmiah Bioteknologi*, 19, pp. 115-119.
- Skjanes, K., Lindblad, P., and Muller, J., (2007), BiOCO₂ – a multidisciplinary, biological approach using solar energy to capture CO₂ while producing H₂ and high value products, *Biomol. Eng.*, 24, pp. 405-413.
- Spalding, M.H., (2008), Microalgal carbon-dioxide-concentrating mechanisms: *Chlamydomonas* inorganic carbon transporters, *J. Exp. Bot.*, 59, pp. 1463-1473.
- Sultemeyer, D., (1998), Carbonic anhydrase in eukaryotic algae: characterization, regulation, and possible function during photosynthesis, *Can. J. Bot. – Rev. Can. Bot.*, 76, pp. 962-972.
- Sydney, E.B., Sturm, W., de Carvalho, J.C., Thomaz-Soccol, V., Larroche, C., Pandey, A., and Soccol, C.R., (2010), Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae, *Bioresour. Technol.*, 101 (15), pp. 5892-5896.
- Tortell, P.D., Martin, C.L., and Corkum, M.E., (2006), Inorganic carbon uptake and intracellular assimilation by subarctic Pacific phytoplankton assemblages, *Limnol. Oceanogr.*, 51, pp. 2102-2110.
- Trimborn, S., Lundholm, N., Thoms, S., Richter, K.U., Krock, B., Hansen, P.J., and Rost, B., (2008), Inorganic carbon acquisition in potentially toxic and non-toxic diatoms: the effect of pH-induced changes in seawater carbonate chemistry, *Physiol. Plant.*, 133, pp. 92-105.
- Trimborn, S., Wolf-Gladrow, D., Richter, K., and Rost, B., (2009), The effect of CO₂ on carbon acquisition and intracellular assimilation in four marine diatoms, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 376, pp. 26-36.
- Tsuzuki, M., (1990), Effects of CO₂ concentration during growth on fatty acid composition in microalgae, *Plant Physiol.*, 93, pp. 851-856.
- Vargas, M.A., (1998), Biochemical composition and fatty acid content of filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria, *J. Phycol.*, 34, pp. 812-817.
- Wijanarko, A., Hermansyah, H., Gozan, M., and Witarto, B.A., (2007), Pengaruh Pencahayaan Siklus Harian Terhadap Produksi Biomassa *Chlorella*

vulgaris Buitenzorg Dalam Fotobioreaktor Kolom Gelembung, *Jurnal Teknologi*, 1, pp. 58-65.

Wilde, C. and Benemann, G. (1993). A Culture Method for Microalgae Forms to Studies on Growth and Carotenoid Production, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17, pp. 325-329.

Xia, J.R. and Gao, K.S., (2005), Impacts of elevated CO₂ concentration on biochemical composition, carbonic anhydrase, and nitrate reductase activity of freshwater green algae, *J. Integr. Plant Biol.*, 47, pp. 668-675.

Yan, H. and Pan, G., (2002), Toxicity and bioaccumulation of copper in three green microalgal species, *Chemosphere*, 49 (5), pp. 471-476.

Yoo, C., Jun, S.Y., Lee, J.Y., Ahn, C.Y., and Oh, H.M., (2010), Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide, *Bioresour. Technol.*, 101, pp. S71-S74.

Zhu, M., Zhou, P.P., and Yu, L.J., (2002), Extraction of lipids from *Mortierella alpina* and enrichment of arachidonic acid from the fungal lipids, *Bioresour. Technol.*, 84, pp. 93-95