

## **SKRIPSI**

# **INDUKSI ETANOL DAN ULTRAVIOLET TERHADAP KARAKTERISTIK ASAM LEMAK *Hematococcus* *pluvialis* YANG DIKULTUR DALAM MEDIA LIMBAH BUDIDAYA IKAN GABUS**

***ETHANOL AND ULTRAVIOLET INDUCTION ON  
FATTY ACID CHARACTERISTICS OF *Hematococcus*  
*pluvialis* CULTURED WITH SNAKEHEAD FISH  
REARING WASTEWATER MEDIA***



**M Rizky Ariansyah Putra  
05051182025002**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN PERIKANAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2024**

## SUMMARY

**M Rizky Ariansyah Putra** *Ethanol and ultraviolet induction on fatty acid characteristics of *Hematococcus pluvialis* cultured with snakehead fish rearing wastewater media* (Supervised by **MARINI WIJAYANTI**).

*Hematococcus pluvialis*, is a green microalgae that can be used as biofuel, medicine, and food. Unsuitable environment and oxidative stress in *H. pluvialis* can cause *H. pluvialis* to produce more lipids and carotenoids. Induction treatment using ethanol and ultraviolet radiation can be an option because it can affect the production of Reactive Oxygen Species (ROS) which can increase lipid production. This study aims to determine the effect of ethanol and ultraviolet induction on fatty acid characteristics and lipid production in *H. pluvialis* cultured using snakehead fish-rearing wastewater media. This study used a completely randomized design with two factors, ethanol concentration (E1: 0%, E2: 0.4%) and ultraviolet radiation time (V1: 0 minutes, V2: 90 minutes). Parameters observed included microalgae density, specific growth rate, and lipid percentage. The results showed that the use of snakehead fish-rearing wastewater media had a higher specific growth rate percentage of 15.67% compared to 13.28%. The addition of addition ethanol and ultraviolet induction increased lipid content and PUFA by folding of 2.3 and 2.1 respectively.

Keywords: ethanol, *Hematococcus pluvialis*, lipid, ultraviolet, wastewater

## RINGKASAN

**M Rizky Ariansyah Putra** Induksi etanol dan ultraviolet terhadap karakteristik asam lemak *Hematococcus pluvialis* yang dikultur dalam media limbah budidaya ikan gabus (Dibimbing oleh **MARINI WIJAYANTI**).

*Haematococcus pluvialis* merupakan mikroalga hijau yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar nabati, obat-obatan, dan makanan. Lingkungan yang kurang sesuai dan stres oksidatif pada *H. pluvialis* dapat menyebabkan *H. pluvialis* memproduksi lebih banyak lipid dan karotenoid. Perlakuan induksi menggunakan etanol dan radiasi ultraviolet dapat menjadi pilihan karena dapat mempengaruhi produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang meningkatkan produksi lipid . Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh induksi etanol dan radiasi ultraviolet terhadap karakteristik asam lemak dan produksi lipid pada *H. pluvialis* yang dikultur dengan menggunakan media limbah ikan gabus. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan dua faktor, yaitu konsentrasi etanol (E1: 0%, E2: 0,4%) dan waktu penyinaran ultraviolet (V1: 0 menit, V2: 90 menit). Parameter yang diamati meliputi kepadatan mikroalga, laju pertumbuhan spesifik, dan persentase lipid. Hasil menunjukkan bahwa penggunaan media limbah budidaya ikan gabus memiliki persentase laju pertumbuhan spesifik yang lebih tinggi 15,67% berbanding 13,28%. Penambahan etanol dan induksi radiasi ultraviolet berpengaruh nyata terhadap persentase lipid *H. pluvialis* dan menunjukkan perubahan profil asam lemak. Penambahan etanol dan induksi sinar ultraviolet meningkatkan kadar lemak dan PUFA masing-masing sebesar 2,3 dan 2,1 kali lipat.

Kata Kunci: etanol, *Hematococcus pluvialis*, limbah cair, lipid, ultraviolet

## **SKRIPSI**

# **INDUKSI ETANOL DAN ULTRAVIOLET TERHADAP KARAKTERISTIK ASAM LEMAK *Hematococcus* *pluvialis* YANG DIKULTUR DALAM MEDIA LIMBAH BUDIDAYA IKAN GABUS**

Sebagai Syarat untuk Mendapatkan Gelar  
Sarjana Perikanan Pada Fakultas Pertanian  
Universitas Sriwijaya



**M Rizky Ariansyah Putra  
05051182025002**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN PERIKANAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2024**

## LEMBAR PENGESAHAN

### INDUKSI ETANOL DAN ULTRAVIOLET TERHADAP KARAKTERISTIK ASAM LEMAK *Hematococcus pluvialis* YANG DIKULTUR DALAM MEDIA LIMBAH BUDIDAYA IKAN GABUS

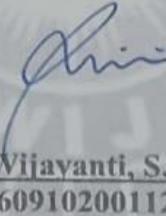
#### SKRIPSI

Sebagai syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Perikanan  
pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya

Oleh:

M Rizky Ariansyah Putra  
05051182025002

Indralaya, Juli 2024  
Pembimbing

  
Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si.  
NIP 197609102001122003

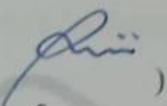
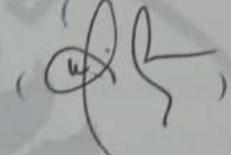
Mengetahui,  
Dekan Fakultas Pertanian



Skripsi dengan Judul "Induksi Etanol dan Ultraviolet Terhadap Karakteristik Asam Lemak *Hematococcus Pluvialis* yang Dikultur Dalam Media Limbah Budidaya Ikan Gabus" oleh M Rizky Ariansyah Putra telah dipertahankan di hadapan Komisi penguji skripsi fakultas pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 19 Juli 2024 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

Komisi penguji

1. Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si Ketua  
NIP. 197609102001122003
2. Mirna Fitriani, S.Pi., M.Si, Ph.D Anggota  
NIP. 198403202008122002

(  
(

Indralaya, Juli 2024

Ketua Jurusan Perikanan

Dr. Ferdinand Hukama Taqwa, S.Pi., M.Si  
NIP. 197602082001121003

## PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Muhammad Rizky Ariansyah Putra

NIM : 05051182025002

Judul : Induksi etanol dan ultraviolet terhadap karakteristik asam lemak *Hematococcus pluvialis* yang dikultur dalam media limbah budidaya ikan gabus.

Menyatakan bahwa semua data dan informasi yang dimuat dalam skripsi ini merupakan hasil tulisan saya sendiri di bawah arahan pembimbing, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya. Apabila dikemudian hari ditemukan plagiasi dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dari Universitas Sriwijaya. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak mendapatkan paksaan dari pihak manapun.



Indralaya, Juli 2024



M Rizky Ariansyah Putra

## **DAFTAR RIWAYAT HIDUP**

Penulis lahir di Palembang pada Tanggal 27 Maret 2003. Saat ini penulis berdomisili di Palembang. Penulis merupakan anak pertama dari lima bersaudara dari pasangan Bapak Muhammad Imammudin dan Ibu Sri Noviyani. Penulis mempunyai minat pada kegiatan baca-membaca.

Riwayat pendidikan penulis antara lain pernah bersekolah di SD Harapan Mandiri Palembang, SMPN 3 Palembang, kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMAN 2 Palembang, dan saat ini penulis sedang melanjutkan pendidikan sarjana (S-1) di Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT, atas segala rahmat dan kasih-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Induksi etanol dan ultraviolet terhadap karakteristik asam lemak *Hematococcus pluvialis* yang dikultur dalam media limbah budidaya ikan gabus". Penelitian Unggulan Hibah Kompetitif dana DIPA Unsri tahun 2023 dan 2024 dengan judul "Bioprospeksi mikroalga sistem IMTA-Bioflok ikan rawa sebagai bahan nutrasetikal dan bioenergi" dan "Peningkatan skala (*Scale Up*) dan optimasi panen mikroalga sistem IMTA-Bioflok ikan rawa sebagai bahan nutrasetikal-bioenergi" Nomor: 0893/UN9.1.5.7/AK/2024 dan 0013/UN9/LP2M.PT/2024. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Ferdinand H. Taqwa, S.Pi., M.Si selaku Ketua Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.
2. Ibu Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si. selaku pembimbing skripsi yang telah membimbing, memberikan arahan, dan motivasi bagi penulis.
3. Ibu Mirna Fitran, S.Pi., M.Si, Ph.D. selaku penguji pada ujian komprehensif yang telah memberikan saran dalam penyempurnaan skripsi ini.
4. Kepada semua Bapak atau Ibu dosen program studi budidaya perairan atas bimbingannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Kepada kedua orang tua, keluarga, dan teman-teman program studi budidaya perairan atas dukungan baik berupa materi maupun non materi terhadap penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menjadi sumber informasi bagi pembaca.

Indralaya, Juli 2024

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
KATA PENGANTAR .....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	2
1.3. Tujuan dan Kegunaan .....	2
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	3
2.1. <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.2. Asam lemak .....	4
2.3. Etanol .....	5
2.4. Sinar Ultraviolet .....	5
2.5. Limbah Ikan Gabus .....	5
2.6. Media Kultur <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	6
2.7. Induksi Produksi Lipid pada <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	8
2.8. Fase Pertumbuhan <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	9
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	12
3.1. Tempat dan Waktu .....	12
3.2. Bahan dan Metode.....	12
3.3. Prosedur Penelitian.....	13
3.4. Parameter yang Diamati.....	15
3.5. Analisis Data .....	17
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1. Kepadatan Harian dan Laju Pertumbuhan <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	18
4.2. Persentase Lipid <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	19
4.3. Profil Asam Lemak <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	23
4.4. Analisis Kualitas Air .....	26

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN .....	28
5.1. Kesimpulan .....	28
5.2. Saran.....	28
DAFTAR PUSTAKA .....	29
LAMPIRAN	

## **DAFTAR GAMBAR**

	<b>Halaman</b>
Gambar 2.1. <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	3
Gambar 2.2. Hubungan faktor stres lingkungan dan biosintesis lipid oleh ROS ...	8
Gambar 2.3. Kurva pertumbuhan mikroalga .....	9
Gambar 2.4. Siklus hidup <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	10
Gambar 3.1. Sketsa Media Pemeliharaan <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	12
Gambar 4.1. Log Kepadatan Harian <i>Haematococcus pluvialis</i> Pra Induksi .....	18
Gambar 4.2. Log Kepadatan Harian <i>Haematococcus pluvialis</i> Pasca Induksi ....	19

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 2.1. Perbandingan Komposisi Media Setiap Liter.....	6
Tabel 2.2. Pertumbuhan <i>Haematococcus pluvialis</i> di Media Berbeda.....	7
Tabel 3.1. Alat yang digunakan.....	12
Tabel 3.2. Bahan yang digunakan .....	13
Tabel 4.1. Laju Pertumbuhan <i>H. pluvialis</i> Pra Induksi .....	18
Tabel 4.2. Laju Pertumbuhan <i>H. pluvialis</i> Pasca Induksi .....	20
Tabel 4.3. Hasil uji BNT <sub>0,05</sub> Log kepadatan harian hari ke-0 pasca induksi .....	20
Tabel 4.4. Hasil uji BNT <sub>0,05</sub> Log kepadatan harian hari ke-1 pasca induksi .....	20
Tabel 4.5. Hasil uji BNT <sub>0,05</sub> Log kepadatan harian hari ke-2 pasca induksi .....	20
Tabel 4.6. Hasil uji BNT <sub>0,05</sub> Log kepadatan harian hari ke-3 pasca induksi .....	21
Tabel 4.7. Uji BNT Persentase Lipid <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	22
Tabel 4.8. Profil <i>Saturated Fatty Acid</i> (SFA) dari <i>H. pluvialis</i> .....	23
Tabel 4.9. Profil <i>Monounsaturated Fatty Acid</i> (MUFA) dari <i>H. pluvialis</i> .....	24
Tabel 4.10. Profil <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i> (PUFA) dari <i>H. pluvialis</i> .....	24
Tabel 4.11. Komposisi Asam Lemak dari <i>H. pluvialis</i> (%) .....	24
Tabel 4.12. Parameter Kualitas Air Pemeliharaan <i>H. pluvialis</i> Pra Induksi .....	26
Tabel 4.13. Parameter Kualitas Air Pemeliharaan <i>H. pluvialis</i> Pasca Induksi.....	26

## **DAFTAR LAMPIRAN**

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Kepadatan harian <i>Haematococcus pluvialis</i> Prainduksi.....	35
Lampiran 2. Kepadatan harian Pasca Induksi <i>Haematococcus pluvialis</i> E1V1 ...	36
Lampiran 3. Kepadatan harian Pasca Induksi <i>Haematococcus pluvialis</i> E1V2 ...	37
Lampiran 4. Kepadatan harian Pasca Induksi <i>Haematococcus pluvialis</i> E2V1 ...	38
Lampiran 5. Kepadatan harian Pasca Induksi <i>Haematococcus pluvialis</i> E2V2 ...	39
Lampiran 6. Anova Log kepadatan sel <i>Haematococcus pluvialis</i> Pasca Induksi .	40
Lampiran 7. Anova persentase lipid <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	48
Lampiran 8. Asam Lemak <i>Haematococcus pluvialis</i> Hasil GC-FID.....	50
Lampiran 9. Dokumentasi penelitian .....	52

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Mikroalga dapat menghasilkan biomassa per area yang lebih tinggi dari pada tanaman darat, kaya akan minyak, protein, dan karbohidrat (Wijffels *et al.*, 2010; Draaisma *et al.*, 2013). Selain itu, mikroalga dapat memproduksi asam lemak, gliserol, pigmen, vitamin, dan senyawa-senyawa metabolit aktif (Setyaningsih *et al.*, 2017). Oleh karena itu, mikroalga dapat dimanfaatkan menjadi berbagai produk, seperti bahan bakar nabati (Medipally *et al.*, 2015), produk obat-obatan (Sathasivam *et al.*, 2019), dan bahan makanan (Draaisma *et al.*, 2013). Mikroalga berpotensi menjadi sumber lipid bernilai tinggi, dengan asam lemak esensial yang memberikan manfaat bagi kesehatan, seperti omega-3 (Ferreira *et al.*, 2019).

*Haematococcus pluvialis* merupakan mikroalga hijau yang hidup di perairan tawar. *H. pluvialis* memiliki kandungan seperti; lipid 15%, karbohidrat 27%, protein 48% dan astaxanthin 4-5% dari berat keringnya (Nugroho, 2021). Budidaya mikroalga hijau *H. pluvialis* dilakukan melalui proses dua tahap. Tahap pertama didedikasikan untuk akumulasi biomassa dalam kondisi yang mendukung pertumbuhan (tahap hijau), dan tahap kedua untuk memicu sintesis astaxanthin dalam berbagai kondisi stres (tahap merah) (Osman *et al.*, 2021). Pada tahap merah kandungan lipid dan karotenoid meningkat, masing-masing menjadi 32–37% dan 2–5% (Shah *et al.*, 2016). Tahap merah pada *H. pluvialis* terjadi karena tekanan lingkungan dan stres oksidatif. Beberapa perlakuan telah dilakukan untuk menyebabkan stres oksidatif pada *H. pluvialis* seperti induksi etanol (Wen *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2019) dan radiasi sinar ultraviolet (Awaliyah *et al.*, 2019). Perlakuan induksi menggunakan etanol dan radiasi sinar ultraviolet dapat menjadi pilihan karena memiliki kemampuan untuk mempengaruhi produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Bailey *et al.*, 1999). Berdasarkan penelitian Liu *et al.* (2019) pemberian etanol dengan dosis 0,4% meningkatkan kandungan astaxanthin hingga 4,23% dan total lipid hingga 20% berat kering dari *H. pluvialis*. Radiasi sinar ultraviolet selama 90 menit meningkatkan produksi astaxanthin hingga 2 kali lipat dibandingkan perlakuan tanpa sinar ultraviolet (Awaliyah *et al.*, 2019).

Limbah budidaya ikan gabus merupakan salah satu media yang potensial untuk kultur *H. pluvialis*, karena setelah 30 hari pemeliharaan limbah ikan gabus mengandung nutrisi seperti nitrogen 10-20 mg L<sup>-1</sup> dan fosfor 4-7 mg L<sup>-1</sup> (Saputra *et al.*, 2017). Pemanfaatan limbah air budidaya untuk produksi mikroalga dapat sebagai upaya remediasi dan memberi nilai ekonomis. Pada penelitian Widyatoro *et al.* (2018) pemanfaatan air limbah budidaya ikan lele untuk kultur *Spirulina platensis* mengurangi kandungan amonia 70,87-80,88% Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian terkait pemanfaatan limbah gabus sebagai media pertumbuhan dan pengaruh induksi etanol dan radiasi sinar ultraviolet terhadap kandungan lipid dan asam lemak *H. pluvialis*, sehingga pada penelitian ini diharapkan nantinya menambah informasi terkait karakteristik lipid *H. pluvialis* yang diinduksi dengan etanol dan radiasi sinar ultraviolet.

### **1.2. Rumusan Masalah**

*Haematococcus pluvialis* merupakan mikroalga yang dapat dimanfaatkan menjadi berbagai produk disebabkan oleh kandungan asam lemak esensial dan astaxanthin. Senyawa lipid dan astaxanthin pada *H. pluvialis* lebih banyak diproduksi pada fase merah yang disebabkan oleh stres oksidatif. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengoptimalkan produksi lipid. Namun produksi *H. pluvialis* terdapat tantangan berupa biaya produksi yang tinggi yang disebabkan oleh media kultur yang kurang ekonomis. Sehingga diperlukan penelitian tentang perlakuan yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan pemanfaatan air limbah sebagai media kultur yang potensial untuk meningkatkan produktivitas dan menekan biaya produksi dari *H. pluvialis*.

### **1.3. Tujuan dan Kegunaan**

Kegiatan penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar lipid dan profil asam lemak *H. pluvialis* yang dikultur menggunakan limbah ikan gabus yang diinduksi etanol dan diradiasi sinar ultraviolet. Sehingga penelitian ini diharapkan nantinya menambah informasi terkait karakteristik lipid *H. pluvialis* yang diinduksi dengan etanol dan radiasi sinar ultraviolet.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, N., 2019. *Profil Asam Lemak Jenuh (Saturated Fatty Acid) dan Kandungan Kolesterol pada Nugget Daging Kelinci New Zealand White (Oryctolagus cuniculus)*. Skripsi. Universitas Brawijaya.
- Almatsier, S., 2006. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Bailey, S.M., Pietsch, E.C. and Cunningham, C.C., 1999. Ethanol Stimulates The Production Of Reactive Oxygen Species At Mitochondrial Complexes I And III. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(7-8), 891-900.
- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia, 2023. *Ethanol*. Encyclopedia Britannica [online]. <https://www.britannica.com/science/ethanol> [Accessed 25 October 2023].
- Broto Sudarmo, T.H.P., Limantara, L., Setiyono, E. and Heriyanto, H., 2020. Structures of Astaxanthin and Their Consequences for Therapeutic Application. *International Journal of Food Science*, 2020, 1-16.
- Buwono, N.R. dan Nurhasanah, R.Q., 2018. Studi Pertumbuhan Populasi *Spirulina* sp. pada Skala Kultur yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 10(1), 26-33.
- Cavonius, L. R., Carlsson, N. G. and Undeland, I., 2014. Quantification of total fatty acids in microalgae: comparison of extraction and transesterification methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406, 7313-7322.
- Chen, S., Chen, J., Zhang, L., Huang, S., Liu, X., Yang, Y., Luan, T., Zhou, S., Nealon, K.H. and Rensing, C., 2023. Biophotovoltaic process co-driven by dead microalgae and live bacteria. *The ISME Journal*[online], 17(5), 712-719.
- Cirulis, J.T., Scott, J.A. and Ross, G.M., 2013. Management of oxidative stress by microalgae. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 15–21.
- Damiani, M.C., Popovich, C.A., Constenla, D. and Leonardi, P.I., 2010. Lipid analysis in *Haematococcus pluvialis* to assess its potential use as a biodiesel feedstock. *Bioresource Technology*, 3801–3807.
- Diffey, B.L., 2002. Sources and measurement of ultraviolet radiation. *Methods*, 28(1), 4-13.
- Domínguez-Bocanegra, A.R., Guerrero Legarreta, I., Martinez Jeronimo, F. and Tomasini Campocosio, A., 2004. Influence of environmental and nutritional factors in the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 92(2), 209–214.
- Draaisma, R.B., Wijffels, R.H., Slegers, P.M., Brentner, L.B., Roy, A. and Barbosa, M.J., 2013. Food commodities from microalgae. *Current Opinion in Biotechnology*, 169–177.

- El Jay, A., 1996. Toxic effects of organic solvents on the growth of *chlorella vulgaris* and *Selenastrum capicornutum*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 57(2), 191–198.
- Ferreira, G.F., Ríos Pinto, L.F., Maciel Filho, R. and Fregolente, L. V., 2019. A review on lipid production from microalgae: Association between cultivation using waste streams and fatty acid profiles. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 448–466.
- González, A., Pariente, J.A. and Salido, G.M., 2007. Ethanol stimulates ROS generation by mitochondria through Ca<sup>2+</sup> mobilization and increases GFAP content in rat hippocampal astrocytes. *Brain Research*, 1178(1), 28–37.
- Hadiyanto, H. dan Azim, M., 2012. *Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan*. Semarang: UPT UNDIP Press.
- ITIS, 2023. *ITIS - Report: Haematococcus pluvialis* [online]. Available at: <http://www.itis.gov>. [Accessed 17 Agustus 2023].
- Kawaroe, M., Prartono, T., Sanuddin, A., Wulansari, D. dan Augustine, D., 2010. *Mikroalga potensi dan pemanfaatannya untuk produksi bio bahan bakar*. Bogor: IPB Press.
- Kim, J.H., Affan, M.A., Jang, J., Kang, M.H., Ko, A.R., Jeon, S.M., Oh, C., Heo, S.J., Lee, Y.H., Ju, S.J. and Kang, D.H., 2015. Morphological, molecular, and biochemical characterization of astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus* sp. KORDI03 (haematococcaceae, chlorophyta) isolated from Korea. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(2), 238–246.
- Lacroux, J., Llamas, M., Dauptain, K., Avila, R., Steyer, J. P., van Lis, R. and Trably, E., 2023. Dark fermentation and microalgae cultivation coupled systems: outlook and challenges. *Science of the Total Environment*, 865, 161136.
- Lei, A., Chen, H., Shen, G., Hu, Z., Chen, L. and Wang, J., 2012. Expression of fatty acid synthesis genes and fatty acid accumulation in *Haematococcus pluvialis* under different stressors. *Biotechnology for Biofuels*, 5, 1-11.
- Liu, Y.H., Alimujiang, A., Wang, X., Luo, S.W., Balamurugan, S., Yang, W.D., Liu, J.S., Zhang, L. and Li, H.Y., 2019. Ethanol induced jasmonate pathway promotes astaxanthin hyperaccumulation in *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 289, 121720.
- Lorenz, R.T. 1999. A technical review of *Haematococcus* algae. *NatuRoseTM Technical Bulletin*, 60, 1-12.
- Mazumdar, N., Novis, P. M., Visnovsky, G. dan Gostomski, P. A., 2019. Effect of nutrients on the growth of a new alpine strain of *Haematococcus* (Chlorophyceae) from New Zealand. *Phycological Research*, 67(1), 21-27.
- Medipally, S.R., Yusoff, F.M., Banerjee, S. and Shariff, M., 2015. Microalgae as sustainable renewable energy feedstock for biofuel production. *BioMed Research International*, 2015, 1–13.

- Miazek, K., Kratky, L., Sulc, R., Jirout, T., Aguedo, M., Richel, A. and Goffin, D., 2017. Effect of organic solvents on microalgae growth, metabolism and industrial bioproduct extraction: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1–31.
- Nugroho, R.A., 2021. *Seluk Beluk Mikroalga dan Botryococcus braunii*. Sleman: Deepublish.
- Oslan, S.N.H., Shoparwe, N.F., Yusoff, A.H., Rahim, A.A., Chang, C.S., Tan, J.S., Oslan, S.N., Arumugam, K., Ariff, A. Bin, Sulaiman, A.Z. and Mohamed, M.S., 2021. A review on *Haematococcus pluvialis* bioprocess optimization of green and red stage culture conditions for the production of natural astaxanthin. *Biomolecules*, 11, 256.
- Pertiwi, R.R., 2019. *Growth of Spirulina sp. Population Using Humpback Grouper (Cromileptes altivelis) Cultivation Sterilized Waste In Semi-Mass Scale Culture*. Skripsi. Universitas Negeri Lampung.
- PlantFAdb, 2024. *9,12-Octadecadienoic acid, (9E,12E)- - PlantFAdb* [online]. Available at: [https://plantfdb.org/fatty\\_acids/10093](https://plantfdb.org/fatty_acids/10093). [Accessed 17 April 2024].
- Prayitno, J., 2016. Pola Pertumbuhan dan Pemanenan Biomassa dalam Fotobioreaktor Mikroalga untuk Penangkapan Karbon. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 17(1), 45-52.
- Putri, D.S. and Alaa, S., 2019. The Growth Comparison of *Haematococcus Pluvialis* in Two Different Medium. *Biota*, 12(2), 90-97.
- Qiao, J., Wang, J., Chen, L., Tian, X., Huang, S., Ren, X. and Zhang, W., 2012. Quantitative iTRAQ LC–MS/MS proteomics reveals metabolic responses to biofuel ethanol in cyanobacterial *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Journal of Proteome Research*, 11(11), 5286-5300.
- Saputra, A., Setyaningsih, L., Yosmaniar, Y. dan Prihadi, T.H., 2017. Distribusi nitrogen dan fosfor pada budidaya ikan gabus (*Channa striata*) dengan aplikasi eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) dan probiotik. *Jurnal Riset Akuakultur*, 12(4), 379–388.
- Sartika, R.A.D., 2008. Pengaruh Asam Lemak Jenuh, Tidak Jenuh dan Asam Lemak Trans terhadap Kesehatan. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 2(4), 154–160.
- Sathasivam, R., Radhakrishnan, R., Hashem, A. and Abd Allah, E.F., 2019. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 709–722.
- Setyaningsih, I., Hardjito, L., Monintja, D.R., Sondita, M.F.A., Bintang, M., Lailati, N., dan Panggabean, L., 2017. Ekstrasi Senyawa Antibakteri dari Diatom *Chaetoceros gracilis* dengan Berbagai Metode. *Jurnal Biologi Indonesia*, 5(1), 23-33

- Shah, M.M.R., Liang, Y., Cheng, J.J. and Daroch, M., 2016. Astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus pluvialis*: from single cell to high value commercial products. *Frontiers in Plant Science*, 7, 531.
- Shi, T.Q., Wang, L.R., Zhang, Z.X., Sun, X.M. and Huang, H., 2020. Stresses as first-line tools for enhancing lipid and carotenoid production in microalgae. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 1-9.
- Sipaúba-Tavares, L.H., Berchielli-Morais, F.A. and Scardoeli-Truzzi, B., 2015. Growth of *Haematococcus pluvialis* flotow in alternative media. *Brazilian Journal of Biology*, 75(4), 796–803.
- Sipaúba-Tavares, L. H., Millan, R. N. dan Berchielli-Morais, F. A., 2013. Effects of some parameters in upscale culture of *Haematococcus pluvialis* Flotow. *Brazilian Journal of Biology*, 73, 585-591.
- Stanley, J.C., 2009. Stearic acid or palmitic acid as a substitute for trans fatty acids. *Lipid Technology*, 21(8–9), 195–198.
- Tadros, M. G., Phillips, J., Patel, H. and Pandiripally, V., 1995. Differential response of marine diatoms to solvents. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(6), 333-337.
- Talib, R.M., 2022. *Pengaruh Gas Pembakaran Batubara terhadap Pertumbuhan, Kandungan Lipid dan Karotenoid Total serta Profil Asam Lemak Chlorella Emersonii*. Tesis. Universitas Andalas.
- Wayama, M., Ota, S., Matsuura, H., Nango, N., Hirata, A. and Kawano, S., 2013. Three-Dimensional Ultrastructural Study of Oil and Astaxanthin Accumulation during Encystment in the Green Alga *Haematococcus pluvialis*. *PLOS ONE*, 8(1), 1-9.
- Wen, Z., Liu, Z., Hou, Y., Liu, C., Gao, F., Zheng, Y. and Chen, F., 2015. Ethanol induced astaxanthin accumulation and transcriptional expression of carotenogenic genes in *Haematococcus pluvialis*. *Enzyme and Microbial Technology*, 78, 10–17.
- Widyantoro, H., Wijayanti, M. and Heza Dwinanti, S., 2018. Modification of *Spirulina platensis* Medium as an Effort for Utilization of Waste Water of Catfish Farming. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 6(3), 153–164.
- Wijayanti, M., Fitriani, M., Fuadi, N., Jubaedah, D. and Amin, M., 2023. Biofloc-Aquaponic Floating System Technology for Striped Snakehead Fish (*Channa striata*) Rearing. In *SRICOENV 2022: Proceedings of the 3rd Sriwijaya International Conference on Environmental Issues*, SRICOENV 2022, October 5th, 2022, Palembang, South Sumatera, Indonesia.
- Wijffels, R.H., Barbosa, M.J. and Eppink, M.H., 2010. Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 4(3), 287-295
- Witono, J.R., Gunadi, A., Santoso, H., Miryanti, A. and Kumalaputri, A.J., 2020. The Optimal Condition on the Growth of Green *Haematococcus pluvialis* as

- one of the Future Natural Resources', in *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 778(1), 012036.
- Witono, R.B.J., Miryanti, Y.I.P.A., Santoso, H., Kumalaputri, A.J., Novianty, V. dan Gunadi, A., 2018. Studi Awal Pertumbuhan dan Induksi Mikroalga *Haematococcus pluvialis*. *Jurnal Rekayasa Hijau*, 2(3).
- Wu, C., Wang, W., Yue, L., Yang, Z., Fu, Q. and Ya, Q., 2013. Enhancement effect of ethanol on lipid and fatty acid accumulation and composition of *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, 140, 120–125.
- Wu, Z., Chen, G., Chong, S., Mak, N.K., Chen, F. and Jiang, Y., 2010. Ultraviolet-B radiation improves astaxanthin accumulation in green microalga *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology letters*, 32, 1911-1914.
- Xu, C., Natarajan, S. and Sullivan, J. H., 2008. Impact of solar ultraviolet-B radiation on the antioxidant defense system in soybean lines differing in flavonoid contents. *Environmental and experimental botany*, 63(1-3), 39-48.