

Chorela Vulgaris : Isolasi, Karakterisasi dan Uji Anti Radikal Bebas Protein Bioaktif

Mochammad Fathurohman*, Dhea Putri Anjuni, Saeful Amin
Prodi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

*Corresponding author: mfathurohman@universitas-bth.ac.id

Abstract

Malnutrition is a nutritional imbalance that has a major impact on global health, especially in children under five. Around 45% of under-five deaths worldwide are related to malnutrition, which can include stunting, wasting, underweight and micronutrient deficiencies. In 2018, approximately 148 million children under five were stunted (21.9%) and 49 million were wasted (7.3%). To address these issues, dietary supplements containing vitamins, minerals, amino acids and proteins are often used. However, inappropriate consumption of supplements may pose health risks. Therefore, natural ingredients such as microalgae are a safer alternative. **Objective:** This study aims to isolate bioactive proteins from *Chlorella vulgaris* and develop an effervescent powder preparation, with the hope that it can be a safer and more effective solution in overcoming malnutrition. **Methods:** The method used to check the protein using FTIR and UV-Vis spectrometer. **Results:** The results showed that the protein content contained in *Chlorella vulgaris* was 4.646 ppm, and *Chlorella vulgaris* could be used as an effervescent powder preparation with the best formula in formula C.

Keywords: Supplements, *Chorella Vulgaris*, Protein

Abstrak

Malnutrisi adalah ketidakseimbangan nutrisi yang berdampak besar pada kesehatan global, terutama pada anak balita. Sekitar 45% kematian balita di seluruh dunia terkait dengan malnutrisi, yang dapat mencakup stunting, wasting, berat badan kurang, dan kekurangan zat gizi mikro. Pada tahun 2018, sekitar 148 juta anak balita mengalami stunting (21,9%) dan 49 juta mengalami wasting (7,3%). Untuk mengatasi masalah ini, suplemen makanan yang mengandung vitamin, mineral, asam amino, dan protein sering kali digunakan. Namun, konsumsi suplemen yang tidak tepat dapat menimbulkan risiko kesehatan. Oleh karena itu, bahan alami seperti mikroalga menjadi alternatif yang lebih aman. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi protein bioaktif dari *Chlorella vulgaris* dan mengembangkan sediaan serbuk effervescent, dengan harapan dapat menjadi solusi yang lebih aman dan efektif dalam mengatasi malnutrisi. **Metode:** Metode yang dilakukan untuk pengecekan protein menggunakan FTIR dan spectrometer UV-Vis. **Hasil:** hasil penelitian menunjukkan kadar protein yang terkandung pada *Chlorella vulgaris* adalah 4,646 ppm, dan *Chlorella vulgaris* dapat dijadikan sediaan serbuk effervescent dengan formula yang terbaik pada formula C.

Kata kunci: Suplemen, *Chorella Vulgaris*, Protein

PENDAHULUAN

Malnutrisi adalah ketidakseimbangan asupan nutrisi, baik kekurangan maupun kelebihan, yang mempengaruhi kesehatan. Sekitar 45% kematian balita di dunia berhubungan dengan

malnutrisi, terutama stunting (pertumbuhan terhambat) dan wasting (berat badan rendah). Pada tahun 2018, 148 juta balita mengalami *stunting* dan 49 juta mengalami *wasting* (Meri Agritubella et al., 2023).

Suplemen membantu memenuhi kebutuhan gizi dengan mengandung vitamin, mineral, asam amino, dan bahan lain yang dapat berdampak positif pada tubuh. Suplemen dari bahan alami, seperti mikroalga, lebih aman dan efektif (Mughtar et al., 2021).

Mikroalga adalah organisme mikroskopis yang hidup di air dan terbagi menjadi beberapa jenis, seperti alga hijau, alga emas, alga biru, dan diatom (Gildantia et al., 2022). Mikroalga, seperti *Chlorella vulgaris*, kaya akan nutrisi dan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan, termasuk karotenoid, fenol, dan vitamin, yang berfungsi sebagai antioksidan dan mendukung sistem kekebalan tubuh (Sumber & Yang, 2019).

Chlorella vulgaris berbentuk bulat dengan diameter 2-8 μm dan berkembang biak dengan membelah diri. Mikroalga ini dapat membuat makanannya sendiri melalui fotosintesis (Dolganyuk et al., 2020).

Protein adalah makromolekul besar yang terdiri dari asam amino yang terhubung oleh ikatan peptida. Peptida bioaktif, yang terdiri dari 2-20 asam amino, memiliki berbagai aktivitas biologis yang bermanfaat (Haliza et al., 2020). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa senyawa peptida dari mikroalga dapat diisolasi untuk digunakan dalam produk kesehatan, seperti serbuk effervescent (Prasetyawati et al., 2023).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi protein bioaktif dari *Chlorella vulgaris* dan mengembangkannya menjadi serbuk effervescent, sebagai solusi inovatif untuk mengatasi malnutrisi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Chlorella vulgaris, asam sitrat, laktosa, ammonium sulfat, methanol, reagen biuret, bovine serum albumin (BSA), etanol p.a, methanol, buffer A, Natrium bikarbonat, sukrosa, CMC-Na, asam askorbat,

Alat

Toples, batang pengaduk, timbangan analitik, spatula, tabung sentrifugasi, gelas kimia 250ml, gelas ukur, aluminium foil, kertas saring, rotary evaporator, fourier transform infrared spektrofotometer (FTIR), corong buchner, lemari es, kantong selopon, magnetic stirrer, spektrofotometri uv-vis, moisture balance, mortar dan stemper, freezy dry.

Metode

Ekstraksi menggunakan maserasi

Maserasi ini digunakan karena prosesnya mudah, sederhana dan tidak menggunakan suhu tinggi yang dimungkinkan dapat merusak senyawa aktif pada mikroba *Chlorella vulgaris*.

Karakterisasi Protein menggunakan FTIR

Karakterisasi dengan menggunakan FTIR ini dilakukan dengan cara menyalakan PC monitor dan juga menyalakan instrumen FTIR. Setelah itu, buka aplikasi Microlab PC (untuk running), aplikasi Microlab lite (untuk pengolahan data). Bersihkan kristal, kemudian blank dimasukkan dan letakan 1 tetes sampel diatas kristal. Hasil yang didapat adalah spektrum yang kemudian diukur bilangan gelombangnya pada 4000 – 650 cm^{-1} dengan menggunakan aplikasi *SpectraGryph* (Fajrin, 2022).

Pemurnian protein

Mikroalga biomassa basah sebanyak 5 gram ditambahkan ke dalam 100 mL larutan buffer A dan diblender hingga halus. Campuran ini kemudian disaring menggunakan corong Buchner. Filtrat yang diperoleh dibekukan dan dicairkan berulang kali sebanyak 2-3 kali, lalu disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang diperoleh disimpan dalam lemari es.

Ekstrak ini kemudian difraksinasi menggunakan ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan bertahap, mulai dari 0-20% dan kemudian 20-40%. Endapan yang terbentuk dialisis dengan memasukkan fraksi protein ke dalam kantong selofan berisi buffer B, kemudian direndam dalam larutan buffer C.

Campuran ini diaduk dengan magnetic stirrer selama 3 jam. Proses dialisis selesai ketika tidak ada lagi endapan dalam larutan buffer C.

Penentuan kadar protein dengan metode biuret

Ekstrak kasar yang diperoleh ditentukan kadar proteinnya dengan metode Biuret dengan larutan standar menggunakan larutan bovine serum albumin (BSA). Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer (Fajrin, 2022).

Penentuan aktivitas

antioksidan menggunakan metode dpph

1. Pembuatan Larutan DPPH. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara melarutkan 5 mg DPPH dalam 100 mL etanol p.a. menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Yeni Aprillia *et al.*, 2023).
2. **Penetapan *Operating Time*** Masukkan larutan DPPH dan larutan uji ekstrak, diinkubasi dan diukur tiap lima menit sekali pada serapan maksimum DPPH yang telah diperoleh, sehingga didapat rentang waktu yang stabil yang selanjutnya dijadikan acuan untuk waktu pengukuran aktivitas antioksidan (Yeni Aprillia *et al.*, 2023).
3. **Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak dengan perbandingan** Perbandingan yang digunakan adalah vitamin C. Sampel dan perbandingan dibuat 6 variasi konsentrasi, kemudian diambil 1 mL dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 50 ppm. Campuran larutan kemudian homogenkan dengan dikocok perlahan dan diinkubasi dalam ruang gelap dengan waktu yang diperoleh dari hasil *operating time*. Selanjutnya ukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH, kemudian dihitung %peredaman radikal DPPH oleh sampel dan perbandingan, menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{DPPH} - A_{\text{sampel}}}{A_{DPPH}} \times 100\%$$

$$A_{DPPH}$$

(Yeni Aprillia *et al.*, 2023).

4. **Penentuan Nilai IC50.** Penentuan Nilai IC50 Nilai IC50 diperoleh dari konsentrasi sampel atau perbandingan terhadap persen inhibisinya yang diplot pada sumbu x dan y. Kemudian dibuat persamaan regresi linier. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC50 dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC50 (Yeni Aprillia *et al.*, 2023).

Pembuatan serbuk effervescent

Ekstrak kental, asam sitrat, asam tartrat, laktosa, sukrosa, dan CMC-Na ditimbang dan dicampur hingga merata. Campuran dipanaskan pada 65°C selama 5 menit, lalu diletakkan di nampan 1.

Ekstrak kental, natrium bikarbonat, laktosa, sukrosa, dan CMC-Na juga ditimbang, dicampur, dan dipanaskan pada 65°C selama 5 menit, lalu diletakkan di nampan 2.

Campuran dari nampan 1 dan 2 digabung, diaduk hingga homogen menggunakan alu dan mortir, lalu dipanaskan kembali pada 40°C selama 5 menit. Serbuk akhir disimpan dalam plastik klip yang rapat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi menggunakan maserasi

Proses Maserasi adalah metode untuk mengekstraksi senyawa bioaktif dari mikroalga *Chlorella vulgaris*. Serbuk halus mikroalga direndam dalam pelarut tertentu selama 24-72 jam pada suhu kamar, diaduk sesekali untuk meningkatkan ekstraksi. Setelah maserasi, campuran disaring untuk memisahkan ekstrak cair dari sisa serbuk. Ekstrak cair kemudian diuapkan menggunakan alat penguap vakum atau rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental.

Rendemen dihitung sebagai perbandingan berat ekstrak yang diperoleh dengan berat bahan baku, dan hasilnya adalah 21,37%. Rendemen di atas 10% dianggap baik,

menunjukkan bahwa *Chlorella vulgaris* menghasilkan ekstrak yang memadai untuk aplikasi farmasi, nutrisi, dan penelitian ilmiah.

Pemurnian protein

Tahapan selanjutnya adalah isolasi *Chlorella vulgaris* untuk mendapatkan protein bioaktif. Serbuk mikroalga dicampur dengan larutan buffer A dan diblender untuk memecahkan sel, sehingga protein larut dalam buffer. Campuran disaring, dibekukan dan dicairkan beberapa kali, lalu disentrifugasi untuk memisahkan fragmen sel dengan sempurna.



Gambar 1. Hasil Dialysis ekstrak *Chlorella vulgaris*

Ekstrak protein yang diperoleh difraksinasi menggunakan ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 0-20%, 20-40%, 40-60%, dan 60-80% untuk memisahkan protein berdasarkan kelarutannya. Ekstrak kemudian dimurnikan melalui dialisis menggunakan kantong selofan untuk memisahkan molekul protein.

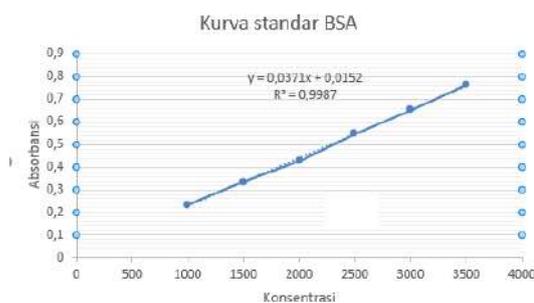
Kadar protein diukur menggunakan metode biuret dengan standar BSA (bovine serum albumin). Metode biuret mengukur ikatan peptida pada protein, di mana protein bereaksi dengan Cu^{2+} dalam suasana basa dan absorbansinya diukur.

Penentuan Panjang gelombang BSA

Panjang gelombang maksimum digunakan untuk menentukan serapan optimal zat pada spektrofotometer UV-Vis, yaitu panjang gelombang yang menghasilkan absorbansi tertinggi. Larutan standar bovine serum albumin (BSA) diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 500-600 nm (Anggrainiet al., 2019). Hasilnya menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 551 nm.

Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar BSA

Pembuatan kurva kalibrasi bertujuan untuk menentukan Panjang gelombang maksimum dan pengukuran absorbansi dalam larutan standar.. Larutan standar yang dibuat sebanyak 6 konsentrasi yaitu 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm, 3000 ppm, 3500 ppm. Setelah larutan standar Bovine Serum Albumin (BSA) didapatkan hasil Panjang gelombang 551nm.



Gambar 2. Kurva Standar BSA

Berdasarkan gambar di atas semakin besar konsentrasi maka semakin banyak protein yang diserap atau diabsorpsi, sehingga harga absorbansi yang didapat semakin besar juga.

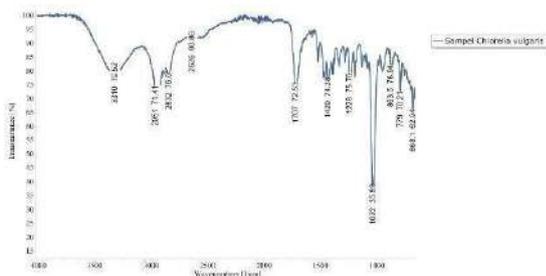
Dari hasil data yang diperoleh, akan didapatkan suatu kurva antara absorbansi larutan standar dengan konsentrasinya. Kurva tersebut membentuk suatu garis lurus yang linear. Ini dikarenakan larutan protein yang digunakan merupakan larutan encer dengan konsentrasi yang kecil.

Penentuan kadar protein

Bertujuan untuk mengetahui kadar protein yang terdapat pada ekstrak *Chlorella vulgaris*. Hasil kadar protein yang di dapat dengan absorbansi 0,1876 didapat hasil kadar protein sebesar 4,646 ppm.

Karakterisasi protein

Bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada serbuk *Chlorella vulgaris*



Gambar 3. Spektrum FTIR dari *Chlorella vulgaris*

Gugus fungsi protein terletak pada rentang 3310 cm^{-1} dalam spektrum inframerah (FTIR) biasanya menunjukkan vibrasi amida A dari ikatan peptida dalam protein. Gugus Fungsi (Amida A): Pada rentang 3310 cm^{-1} , terdapat penyerapan yang sering dikaitkan dengan vibrasi ikatan N-H dari kelompok amida A.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrihidrazil). Prinsip dari pengujian ini yaitu reaksi penangkapan radikal bebas DPPH oleh senyawa antioksidan yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimal 510-520 nm. Penurunan absorbansi DPPH tersebut selanjutnya dilakukan perhitungan %inhibisi dan didapatkan nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dapat menurunkan absorbansi DPPH sebanyak 50% (Nazliniwaty, 2018).

Reaksi penangkapan atom hidrogen oleh DPPH (reduksi DPPH) dari senyawa antioksidan merupakan prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan pada senyawa uji akan meredam DPPH yang berperan sebagai radikal bebas. DPPH akan terdestruksi menjadi senyawa diphenyl picryl hidrazine (DPPH-H). Perubahan warna dari ungu menjadi kuning adalah akibat dari reduksi DPPH menjadi DPPH-H (Supomo et al., 2021). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk hasil freeze dry dari ekstrak *Chlorella vulgaris*. Prinsip dari metode ini yaitu menghilangkan kandungan metanol dari ekstrak kental *Chlorella vulgaris* yang telah dibekukan tanpa melalui fase cair. Tujuan

pembuatan serbuk *Chlorella vulgaris* menggunakan metode freeze dry adalah untuk menguapkan pelarut metanol sehingga dapat memperpanjang umur simpan, mempertahankan kualitas senyawa metabolit sekunder, dan mempermudah perhitungan konsentrasi sampel dalam pengujian aktivitas antioksidan (Nowak, 2020).

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan, dilakukan terlebih dahulu scanning dan operating time. Tujuan scanning yaitu untuk mengetahui panjang gelombang maksimal dari DPPH yang digunakan sedangkan operating time bertujuan untuk mengetahui waktu optimal DPPH bereaksi dengan sampel. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal DPPH pada penelitian ini adalah 516 nm. Hasil scanning tersebut berbeda dengan panjang gelombang maksimal DPPH dari penelitian (Setiawan et al., 2021). yaitu dengan panjang gelombang maksimal 522 nm. Adanya perbedaan panjang gelombang tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan merek alat spektrofotometer dan bahan yang digunakan (Apriyani et al., 2022). Adapun hasil operating time dari DPPH ketika direaksikan bersama dengan standar (vitamin C) dan sampel yaitu berada di kisaran 25-35 menit. Di bawah ini adalah hasil pengujian aktivitas antioksidan dari standar (vitamin C) dan ekstrak *Chlorella vulgaris*.

Tabel 1. Nilai IC₅₀ dan Kekuatan Aktivitas Antioksidan Vitamin C dan Ekstrak Metanol *Chlorella vulgaris*.

Sampel	C (ppm)	%inhibisi	Regresi Linear	IC ₅₀	Kekuatan Antioksidan
Vitamin C	1	35,05	$y = 0,0625x + 0,2971$ $R^2 = 0,9943$	3,25 ppm	Sangat kuat (Trisnanto et al., 2017)
	2	42,15			
	3	49,36			
	4	55,48			
	5	61,42			
	6	66			
Ekstrak Metanol <i>Chlorella Vulgaris</i>	50	27,26	$y = 0,0018x + 0,1927$ $R^2 = 0,9639$	170,72 ppm	Sedang (Trisnanto et al., 2017)
	100	39,59			
	150	48,87			
	200	50,80			
	250	61,50			
300	76,80				

Berdasarkan tabel aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol *Chlorella vulgaris* berada dalam kategori sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 170,72 ppm. Hasil dari penelitian ini

berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh (Saadah et al.,2018). dengan nilai IC50 ekstrak metanol *Chlorella vulgaris* sebesar 85,37 ppm. Menurut (Khan et al.,2018). Perbedaan aktivitas antioksidan dari ekstrak *Chlorella vulgaris* disebabkan oleh perbedaan sumber *Chlorella vulgaris* (tempat kultivasi dan kondisi pertumbuhan) serta perbedaan kemurnian dan konsentrasi senyawa antioksidan dalam ekstrak. Di dalam ekstrak metanol *Chlorella vulgaris*, terdapat banyak metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan seperti senyawa polifenol, klorofil, karotenoid, vitamin C, dan vitamin E (Saadah et al.,2018). Akan tetapi kandungan senyawa-senyawa tersebut dalam penelitian ini sangat rendah sehingga memiliki nilai IC50 yang lebih rendah dibandingkan ekstrak metanol *Chlorella vulgaris* dari penelitian (Khan et al.,2018).

Pembuatan serbuk effervescent

Pembuatan serbuk effervescent dengan zat aktif *Chlorella vulgaris* menggabungkan manfaat nutrisi mikroalga ini dengan kemudahan konsumsi effervescent. *Chlorella vulgaris* kaya akan protein, vitamin, mineral, dan antioksidan. Serbuk ini dibuat melalui metode freeze-drying, yang mengeringkan biomassa dengan cepat menggunakan udara panas bersuhu terkontrol, tanpa merusak senyawa aktifnya. Freeze-drying menjaga senyawa yang sensitif terhadap panas dan oksidasi, meningkatkan efisiensi energi dan kualitas produk. Proses ini sangat cocok untuk aplikasi di industri farmasi, pangan, dan nutrisi yang memerlukan standar kualitas tinggi.

Uji kadar air bertujuan untuk menentukan kadar air yang terkandung dalam sediaan serbuk effervescent, karena kadar air yang

tinggi dapat mempengaruhi mutu dan menyebabkan pertumbuhan bakteri sehingga tidak aman dikonsumsi. Hasil uji kadar air menunjukkan bahwa formulasi 1 memiliki kadar air sebesar 1,50%, formulasi 2 sebesar 1,98%, dan formulasi 3 sebesar 1,3%. Semua hasil ini memenuhi syarat kadar air pada minuman instan effervescent yang harus di bawah 5%. Uji pH dilakukan untuk menentukan derajat keasaman serbuk effervescent, dengan hasil pH formula A adalah 2,81, formula B adalah 3,52, dan formula C adalah 4,71. Berdasarkan persyaratan, pH harus mendekati 4,5-6,0, sehingga formula C memenuhi kriteria sebagai produk pangan berasam sedang. Uji waktu alir dilakukan untuk melihat sifat aliran serbuk dengan cara menimbang 20 gram serbuk, kemudian dialirkan melalui corong dan dihitung waktu alirnya. Hasil menunjukkan bahwa formula A memiliki waktu alir 8,69 g/detik, formula B 6,99 g/detik, dan formula C 6,4 g/detik, yang semua termasuk dalam kategori "mudah mengalir". Selanjutnya, uji waktu dispersi menunjukkan bahwa formula A memiliki waktu dispersi 50,51/detik, formula B 25,05/detik, dan formula C 20,18/detik, dengan formula C menunjukkan hasil terbaik dalam hal waktu dispersi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat ditarik kesimpulan bahwa protein dari mikroalga *Chlorella vulgaris* dapat diisolasi dengan baik dengan kadar protein pada ekstrak sebesar 4,646 ppm. Karakterisasi protein menggunakan FTIR menunjukkan adanya serapan gugus fungsi. Protein yang dihasilkan dari sampel *Chlorella vulgaris* dapat dibuat sediaan serbuk effervescent dengan formula terbaik yaitu pada formula C.

Tabel 2. Hasil uji evaluasi serbuk effervescent

Formula	Kadar air	pH	Waktu alir	Waktu disperse
A	1,50%	2, 81	8,69 gram/ detik	50,51 detik
B	1,98%	3, 52	6,99 gram/ detik	25,05 detik
C	1,30%	4, 71	6,40 gram/ detik	20,18 detik

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima Kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S., & Uversky, V. N. (2022). Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3). <https://doi.org/10.3390/ijms23031445>
- Aldayel, M. F., Al Kuwayti, M. A., & El Semary, N. A. H. (2022). Investigating the Production of Antimicrobial Nanoparticles by *Chlorella vulgaris* and the Link to Its Loss of Viability. *Microorganisms*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010145>
- Anggraini, D., Setyaningsih, I., & Budi Setia Asih, P. (2019). Extraction and In Vitro Antimalarial Activity Phycocyanin from *Spirulina platensis*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(1), 17–25. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2016.19.1.17>
- Aryanti, R., Perdana, F., & Syamsudin, R. A. M. R. (2021). Telaah Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 15–24. <https://doi.org/10.33084/jsm.v7i1.2024>
- Carnovale, G., Rosa, F., Shapaval, V., Dzurendova, S., Kohler, A., Wicklund, T., Horn, S. J., Barbosa, M. J., & Skjånes, K. (2021). Starch rich *Chlorella vulgaris*: High-throughput screening and up-scale for tailored biomass production. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(19). <https://doi.org/10.3390/app11199025>
- Dagnaisser, L. S., dos Santos, M. G. B., Rita, A. V. S., Chaves Cardoso, J., de Carvalho, D. F., & de Mendonça, H. V. (2022). Microalgae as Bio-fertilizer: a New Strategy for Advancing Modern Agriculture, Wastewater Bioremediation, and Atmospheric Carbon Mitigation. *Water, Air, and Soil Pollution*, 233(11), 11270. <https://doi.org/10.1007/s11270-022-05917-x>
- Dali, S., Natsir, H., Usman, H., & Ahmad, A. (n.d.). Bioaktivitas Antibakteri Fraksi Protein Alga Merah *Gelidium amansii* Dari Perairan Cikoang Kabupaten Takalar Sulawesi Selatan Seniwati Dali, Hasnah Natsir, Hanapi Usman dan Ahyar Ahmad 1). *Program Studi Kimia Fak. MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar*, 90245, 15.
- Dolganyuk, V., Belova, D., Babich, O., Prosekov, A., Ivanova, S., Katserov, D., Patyukov, N., & Sukhikh, S. (2020). Microalgae: A promising source of valuable bioproducts. *Biomolecules*, 10(8), 1–24. <https://doi.org/10.3390/biom10081153>
- Georgiopoulou, I., Tzima, S., Pappa, G. D., Louli, V., Magoulas, K., & Voutsas, E. (2022). Experimental design and optimization of recovering bioactive compounds from *Chlorella vulgaris* through conventional extraction. *Molecules*, 27(1). <https://doi.org/10.3390/molecules27010029>
- Gildantia, E., Ferniah, R. S., Budiharjo, A., Suprihadi, A., Zainuri, M., & Kusumaningrum, H. P. (2022). Identifikasi Spesies Mikroalga dari BBPBAP Jepara secara Morfologi dan Molekuler menggunakan 18S

rDNA. *Buletin Oseanografi Marina*, 11(2), 167–176.
<https://doi.org/10.14710/buloma.v11i2.39703>
Gustaman, F., Rahayuningsih, N., & Octavani, S. H. (2022). Studi Aktivitas Antioksidan Sediaan

Granul Effervescent Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L) R . M . King & H . Rob) dan Daun Salam (*Syzygium*. *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi*, 2, 355–364.