

Kultivasi Mikroalga *Chlorella sp.* Secara *Fed-Batch* Menggunakan Limbah Cair Tahu Untuk Produksi Lipid

Sri Rezeki Muria^{1*}, Fikri Mifahul Shiddiq¹, Irma Damayanti¹, Indra Purnama²

¹Program Studi Teknik Kimia, Universitas Riau, Pekanbaru 28291, Indonesia

²Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lancang Kuning, Pekanbaru. 28266, Indonesia

ARTICLE HISTORY

Received : 1 Februari 2023

Revised : 27 Februari 2023

Accepted : 29 Maret 2023

KEYWORDS

chlorella

COD

glycerol

lipids

tofu liquid waste

*correspondence author:

Email: sri.rezekimuria@lecturer.unri.ac.id



ABSTRACT

*Microalga is single cell organism that can live by photosynthesis resulting biomass and other secondary product such as protein, carbohydrate, and fat by utilizing nutrients under appropriate environmental condition. Microalga can be used to processing liquid organic waste in order resulting safer effluent and easily neutralized by the nature. These study is aiming to get the data about the effect of gradual additions of tofu liquid waste to the growth and increase of lipid content in the microalga that cultivated in tofu liquid waste media. Microalga were cultivated by variations in gradual media adding. The variations are 0.45 liter in every day, 0.9 liter in every two days, and 1.35 liter in every three days. Microalga growth were measured by an object glass, the amount of cell density in every square field calculated using tomacytometer by aiding of hand counter where observed under light microscope. Total lipid content were gained by employ Bligh-dyer method. The results of this study show the highest specific grow rate of *Chlorella sp* is 0.08692/day accounted from gradual tofu liquid waste addition in every three days. The highest lipid content is 40.879 % which gained from gradual tofu liquid waste addition in every day. Under unfavourable condition microalga will accumulate more lipid so that increase lipid content of it's self. The highest chemical oxygen demand (COD) removal is 575 mg/mL.*

1. PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan tumbuhan bersel satu yang dapat hidup berfotosintesis menghasilkan biomassa dan produk sekunder lain seperti protein, karbohidrat, dan lemak dengan memanfaatkan nutrisi dalam kondisi lingkungan tertentu (Nurhanifah, 2018). Selain itu, mikroalga juga memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan organisme fotosintesis yang lain yaitu memiliki efisiensi konversi fotosintesis yang tinggi, dapat berkembang dalam ekosistem yang beragam, laju produksi biomassa yang cepat, serta dapat dimanfaatkan untuk berbagai aplikasi (Vendruscolo dkk, 2017). Untuk memenuhi banyaknya permintaan terhadap mikroalga, perlu dilakukan kultivasi atau pembudidayaan mikroalga. Kultivasi bertujuan untuk meningkatkan atau memperbanyak jumlah sel mikroalga sehingga diperoleh biomassa sesuai dengan tujuan yang diinginkan (Widiyanto dkk, 2014). Lebih jauh lagi, mikroalga dapat digunakan untuk mengolah limbah cair organik sehingga dihasilkan buangan limbah yang lebih aman dan mudah dinetralkan kembali oleh alam (Hadiyanto dan Azim, 2012).

Penelitian tentang produksi biomassa mikroalga dengan memanfaatkan limbah cair tahu sebagai media kultivasi telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Elystia dkk (2019), telah melakukan penelitian mengenai peningkatan kandungan lipid dan biomassa mikroalga *Scenedesmus sp.* dari media kultivasi limbah cair tahu sebagai bahan baku biodiesel. Mikroalga dikultivasi pada erlenmeyer 500 ml dengan variabelnya yaitu prosentase volume limbah cair tahu 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan

mikroalga optimum pada media 20% limbah cair tahu yang menghasilkan lipid tertinggi 29,73 %. Setyo (2018), telah melakukan penelitian mengenai pengaruh konsentrasi limbah cair tahu terhadap pertumbuhan dan lipid *Chlorella sp.* Mikroalga dikultivasi pada erlenmeyer 1000 ml diberi aerasi secara kontinyu dengan variasi konsentrasi limbah cair tahu yang digunakan yaitu 0%, 15%, 20%, 25% dan 30%. Kadar lipid *Chlorella sp.* tertinggi didapatkan pada konsentrasi konsentrasi limbah cair tahu 20% yaitu 30,388%.

Widayat dan Hadiyanto (2015), telah melakukan penelitian mengenai pemanfaatan limbah cair tahu untuk produksi biomassa mikroalga *Nannochloropsis sp.* sebagai bahan baku biodisel. Mikroalga dikultivasi pada *photobioreactor bubble column unit* dengan kondisi lingkungan pH 7 - 9, suhu 25 – 30°C diberi aerasi secara kontinyu. Variabel bebasnya yaitu % volume limbah cair tahu 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroalga optimum pada media 20% limbah cair tahu yang menghasilkan lipid sebanyak 34,25%.

Dhika dkk (2013), telah melakukan penelitian mengenai pemanfaatan limbah cair tahu sebagai nutrient dalam kultivasi mikroalga *Chlorella sp.* untuk bahan baku biodisel. Mikroalga dikultivasi pada *bioreactor* (80 cm x 40 cm x 25 cm) dengan pH 6 – 7 dan suhu 30°C. Variabel bebasnya yaitu prosentase volume limbah cair tahu 0%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroalga optimum pada media 20% limbah cair tahu yang menghasilkan lipid sebanyak 31,81%.

Puspita dkk (2013), telah melakukan penelitian mengenai pemanfaatan mikroalga *Chlorella sp.* yang dikultivasi limbah cair tahu untuk menghasilkan lipid. Mikroalga dikultivasi pada *photobioreactor bubble column unit* dengan variabelnya yaitu prosentase volume limbah cair tahu 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroalga optimum pada media 20% limbah cair tahu yang menghasilkan lipid tertinggi 27,12 %. Pada penelitian ini akan dilakukan kultivasi mikroalga *Chlorella sp.* menggunakan limbah cair tahu untuk produksi lipid dengan variasi volume limbah cair tahu yang ditambahkan per waktu yaitu 0,45 liter setiap 1 hari, 0,9 liter setiap 2 hari dan 1,35 liter setiap 3 hari.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya bahwa limbah cair tahu telah dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan mikroalga. Penelitian mengenai produksi lipid dari mikroalga ini telah banyak dilakukan, namun penelitian yang menggunakan media tumbuh mikroalga yang dikultivasi secara fed-batch dari limbah cair tahu masih belum banyak dilakukan. Pada penelitian ini mikroalga yang digunakan adalah *Chlorella sp.* Pemilihan mikroalga ini untuk memanfaatkan sumber daya domestik selain itu mikroalga ini juga tahan terhadap kontaminan. Salah satu jenis mikroalga yang dapat menghasilkan produk lipid adalah *Chlorella sp.* dibandingkan jenis mikroalga lainnya. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh penambahan volume limbah cair tahu terhadap pertumbuhan dan kadar lipid mikroalga *Chlorella sp.* mengetahui pengaruh penambahan mikroalga *Chlorella sp.* terhadap nilai COD (Chemical Oxygen Demand) limbah cair tahu dan menentukan nilai pH dan temperatur tiap penambahan volume limbah cair tahu.

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi jerigen sebagai wadah sampel limbah cair tahu, bioreaktor, aerator dengan debit udara 3 l/menit, mikroskop, dan thomacytometer, timbangan analitik, tabung reaksi dan rak, statif dan klem, erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, labu ukur, pipet tetes, corong, aluminium foil, oven, kertas saring, thermometer dan pH meter.

Bahan yang digunakan Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari Mikroalga *Chlorella sp.* yang diperoleh dari Laboratorium pribadi Prof. Dr. Ir. H. Tengku Dahril, M.Sc. Limbah cair tahu sebagai medium pertumbuhan mikroalga. Bahan lain yang digunakan ialah akuades, zat kimia Dahril Solution, gliserol, methanol, kloroform, potassium dikromat, ferro almunium sulfat (FAS), perak sulfat, asam sulfat, dan indicator ferroin.

2.2 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini meliputi persiapan bahan baku, pembiakan kultur mikroalga, aklimatisasi mikroalga, proses kultivasi mikroalga, analisa pertumbuhan mikroalga dan analisa kadar lipid yang dihasilkan mikroalga.

2.2.1 Pembiakan mikroalga

Pembiakan mikroalga mengacu pada Habibah (2011), Mikroalga *Chlorella sp.* diperoleh dari Laboratorium pribadi prof. Dr. Ir. H. Tengku Dahril, M.Sc. Proses pembiakan kultur mikroalga *Chlorella sp.* menggunakan bioreaktor. Sebanyak 3500 ml akuades dimasukkan kedalam wadah galon air dan ditambahkan 400 ml Nutrisi Dahril Solution. Sebanyak 100 ml *Chlorella sp.* dimasukkan kedalam campuran tersebut, kemudian diaduk menggunakan aerasi agar tercampur rata dalam bioreaktor dan dihitung pertumbuhan sel setiap hari sampai kepadatan selnya 106 sel/ml.

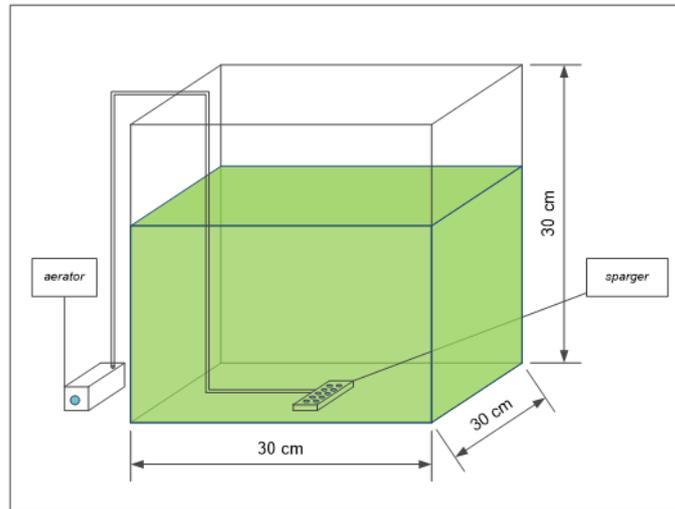
2.2.2 Proses aklimatisasi

Proses aklimatisasi mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan selama 12 hari dengan menambahkan limbah cair tahu secara bertahap kedalam bioreaktor yang telah berisi mikroalga hingga diperoleh kepadatan sel mikroalga sebesar 106 sel/ml. Tahap awal dilakukan dengan mencampurkan 50% mikroalga hasil kultur dan 50% limbah cair tahu. Kemudian tahap berikutnya dilakukan dengan mencampurkan mikroalga dari tahap pertama dan limbah cair tahu dengan rasio 75% : 25%. Setelah proses aklimatisasi dilakukan perhitungan kepadatan sel *Chlorella sp.* menggunakan thomacytometer. Perhitungan ini dilakukan untuk mengetahui peningkatan jumlah *Chlorella sp.* dalam bioreactor sudah mencapai 106 sel/ml.

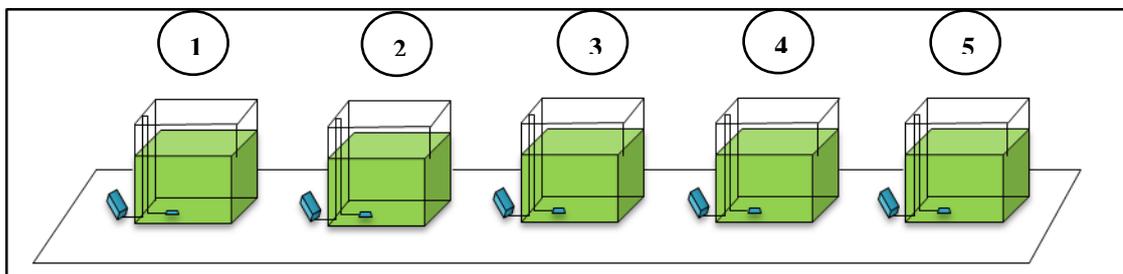
2.2.3 Proses kultivasi

Proses kultivasi mikroalga ini dilakukan dengan menggunakan limbah cair tahu secara batch dan fed-batch. Nilai COD (Chemical Oxygen Demand) pada limbah cair tahu dihitung terlebih dahulu. Mikroalga yang telah diaklimatisasi didalam media limbah cair tahu hingga jumlah kepadatan selnya 106 sel/mL, sebanyak 10% dari substrat (600 ml) dimasukkan kedalam bioreaktor. Penelitian ini menggunakan 5 bioreaktor yang dapat dilihat pada Gambar 2 dan untuk lebih jelas perspektif bioreaktor dilihat pada Gambar 1. Pada bioreaktor pertama limbah cair tahu ditambahkan sebanyak 6000 ml tanpa penambahan mikroalga. Kemudian pada

bioreaktor kedua, kultivasi dilakukan secara batch dengan menambahkan 5400 ml limbah cair tahu dan 600 ml mikroalga. Pada bioreaktor ketiga hingga kelima, kultivasi dilakukan secara fed-batch dengan menambahkan limbah cair tahu sesuai perlakuan 450 ml setiap 1 hari, 900 ml setiap 2 hari dan 1350 ml setiap 3 hari hingga volume limbah cair tahu mencapai 6000 ml dan masing – masing bioreaktor ditambahkan mikroalga sebanyak 600 ml.



Gambar 1. Presfektif Instalasi Bioreaktor



Gambar 2. Desain Bioreaktor

Proses kultivasi mikroalga dilakukan selama 12 hari. Selama proses kultivasi dilakukan analisa kepadatan sel, pH, temperatur dan kadar lipid dari mikroalga, pada kultivasi *Batch* analisa dilakukan setiap hari sedangkan untuk kultivasi *fed-batch* dilakukan setiap penambahan limbah cair tahu. Setelah kultivasi selanjutnya dilakukan pengukuran kadar COD dari limbah cair tahu yang telah dikontakkan dengan *Chlorella sp.*

2.2.4 Ekstraksi lipid

Ekstraksi lipid *Chlorella sp.* dilakukan dengan cara memasukkan 5 ml kultur *Chlorella sp.* ke dalam tabung sentrifus. Sebanyak 2 ml methanol dan 1 ml kloroform ditambahkan dan disimpan selama 24 jam pada suhu kamar. Kemudian campuran dishaker selama 2 menit, ditambahkan 1 ml kloroform kedalam campuran lalu diaduk selama 1 menit. Setelah diaduk, ditambahkan 1 ml aquades kemudian dishaker kembali. Lalu disentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit, kemudian lipid yang mengendap diambil dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Untuk menghilangkan campuran larutan kimia yang digunakan sebelumnya

dilakukan pemanasan 104 °C selama 30 menit. Total lipid ditentukan dalam gravimetri (Kalla dan Khan, 2016).

2.2.4 Analisis Data

1. Pengukuran pH Medium

Pengukuran pH dan temperatur dilakukan selama proses kultivasi sesuai dengan SNI 06-6989.11-2004 untuk pengukuran pH Elektroda pada pH meter dibilas dengan air suling, selanjutnya elektroda dikeringkan dengan kertas tisu. Kemudian pH meter dicelupkan kedalam media kultivasi hingga pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap. Angka pada tampilan pH meter dicatat sebagai hasil pengukuran pH. SNI 06-6989.23-2005 untuk pengukuran temperatur thermometer langsung dicelupkan kedalam contoh uji dan biarkan selama 2-5 menit sampai thermometer menunjukkan nilai stabil.

2. Jumlah sel

Jumlah Kepadatan sel *Chlorella sp.* dihitung dengan sebuah gelas objek. Jumlah kepadatan sel pada setiap bidang kotak dihitung menggunakan *thomacytometer* dengan bantuan *hand counter* yang diamati di bawah mikroskop cahaya. Perhitungan kepadatan sel *Chlorella sp.* dilakukan dengan meneteskan sampel pada *thomacytometer* lalu ditutup dengan *cover glass*, kemudian diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 100-400 kali.

Perhitungan jumlah kelimpahan sel *Chlorella sp.* dapat dihitung menggunakan rumus:

$$N = n \times 4000 \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan :

N = Jumlah total (sel/ml)

n = Jumlah total sel setiap sampel

4000 = Bilangan faktor sampel pada *thomacytometer*.

Specific growth rate dihitung untuk mengetahui tingkat laju pertumbuhan sel mikroalga per hari. *Specific growth rate* dapat dihitung dengan rumus (Asuthkar dkk, 2016):

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{\Delta t} \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan:

X_2 = jumlah sel pada fase eksponensial (sel/mL)

X_1 = jumlah sel awal (sel/mL)

Δt = waktu yang dibutuhkan untuk meningkatkan konsentrasi dari X_1 hingga X_2 (hari)

3. Kadar Lipid

Ekstraksi lipid *Chlorella sp.* dilakukan dengan cara memasukkan 5 ml kultur *Chlorella sp.* ke dalam tabung reaksi. 2 ml methanol dan 1 ml kloroform ditambahkan dan disimpan selama 24 jam pada suhu kamar. Kemudian campuran *dishaker* selama 2 menit, ditambahkan 1 ml kloroform kedalam campuran lalu diaduk selama 1 menit. Setelah diaduk, ditambahkan 1 ml aquades kemudian *dishaker* kembali. Lalu disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit, kemudian lipid yang mengendap diambil dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Untuk menghilangkan campuran larutan kimia yang digunakan sebelumnya dilakukan pemanasan 104 °C selama 30 menit. Total lipid

ditentukan dalam gravimetri (Kalla dan Khan, 2016). Ekstraksi mikroalga untuk mendapatkan lipid dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Total Lipid \%} = \frac{L_w}{B_w} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

- L_w = Berat lipid (g)
- B_w = Berat biomassa kering (g)

4. Analisa Kadar *Chemical Oxygen Demand* (COD)

Analisa kadar (COD) dilakukan diawal sebelum kultivasi dan setelah dikultivasi. Analisa parameter COD mengacu pada SNI 6989.73.2009 dengan metode refluks tertutup secara titrimetri. Untuk analisis awal kandungan COD pada limbah cair tahu dilakukan pengenceran hingga konsentrasi limbah cair tahu menjadi 20%. Sampel yang telah diencerkan diambil sebanyak 4 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Sampel tersebut kemudian ditambahkan 2 ml $K_2Cr_2O_7$ dan 6 ml katalis $H_2SO_4-AgSO_4$ untuk selanjutnya dipanaskan menggunakan heating blok selama 2 jam. Sampel dititrasi dengan larutan ferro ammonium sulfat (FAS) dengan menambahkan indikator ferroin sebagai indikator warna. Kadar COD ditentukan melalui perubahan warna menjadi merah bata.

Hitung nilai COD dengan rumus:

$$COD (mg O_2) = \frac{(A-B) \times M \times 8000}{ml \text{ sampel}} \dots\dots\dots (4)$$

Dimana:

- A = ml titrasi untuk blanko
- B = ml titrasi untuk sampel
- M = Molaritas
- 8000 = miliequivalen berat oksigen x 1000 ml/l

Untuk mengetahui efisiensi penurunan parameter COD digunakan persamaan berikut:

$$Efisiensi (\%) = \frac{C_{in}-C_{ef}}{C_{in}} \times 100\% \dots\dots\dots (5)$$

Keterangan:

- C_{in} = Konsentrasi influen (mg/L)
- C_{ef} = Konsentrasi efluen (mg/L)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pemiakan Kultur Mikroalga *Chlorella sp.*

Pada penelitian ini, mikroalga *Chlorella sp.* dikultivasi secara *fed-batch* dalam wadah botol plastik 6000 ml menggunakan medium *Dahril Solution*. Dapat dilihat pada Gambar 3 medium di aerasi secara kontinu untuk menghindari pengendapan sel mikroalga *Chlorella sp.* dan agar kontak sel mikroalga *Chlorella sp.* dengan mediumnya lebih merata, sebab mikroalga memiliki massa jenis yang lebih besar dari pada air (Zahir, 2011). Hal ini terbukti jika dидiamkan beberapa saat, sel-sel *Chlorella sp.* mengendap di dasar botol plastik. Mikroalga memanfaatkan sinar matahari sebagai sumber cahaya untuk melakukan fotosintesis dan pembelahan sel. Dalam penelitian ini, sel mikroalga yang telah dikultivasi selama 12 hari diperoleh kepadatan sel mikroalga sebesar 5.368×10^6 sel/mL.

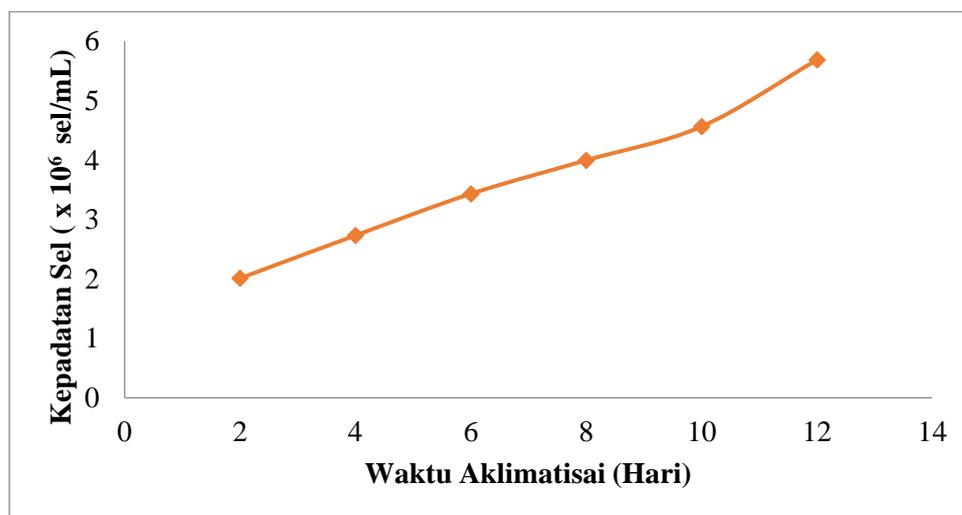


Gambar 3. Proses Pembiakan Kultur Mikroalga *Chlorella* sp.

3.2 Aklimatisasi Mikroalga *Chlorella* sp.

Setelah pembiakan kultur mikroalga *Chlorella* sp. kemudian akan melalui tahap aklimatisasi. Menurut (Anggraeni, 2011), tahap aklimatisasi merupakan pengadaptasian mikroorganisme dengan air limbah yang akan diolah agar mikroalga dapat hidup dan melakukan penyesuaian diri terhadap lingkungan baru. Pada penelitian ini aklimatisasi dilakukan dengan dua tahap yaitu tahap 1 dan tahap 2. Aklimatisasi dilakukan dengan cara mencampurkan mikroalga *Chlorella* sp. hasil pembiakan kultur dengan limbah cair tahu selama 12 hari secara bertahap hingga diperoleh kepadatan sel mikroalga *Chlorella* sp. mencapai 10^6 sel/mL.

Pada proses aklimatisasi kepadatan sel yang didapatkan adalah sebesar 5.368×10^6 sel/mL, pada tahap pertama dilakukan dengan mencampurkan mikroalga *Chlorella* sp. dan limbah cair tahu selama 6 hari dan didapatkan kepadatan sel sebesar $3,432 \times 10^6$ sel/mL. Setelah aklimatisasi tahap 1 selesai, dilanjutkan dengan tahap 2 yang dilakukan dengan waktu yang sama yaitu selama 6 hari. Kepadatan sel pada akhir aklimatisasi tahap 2 yaitu $5,684 \times 10^6$ sel/mL.



Gambar 4. Hubungan antara Waktu Aklimatisasi Terhadap Kepadatan Sel

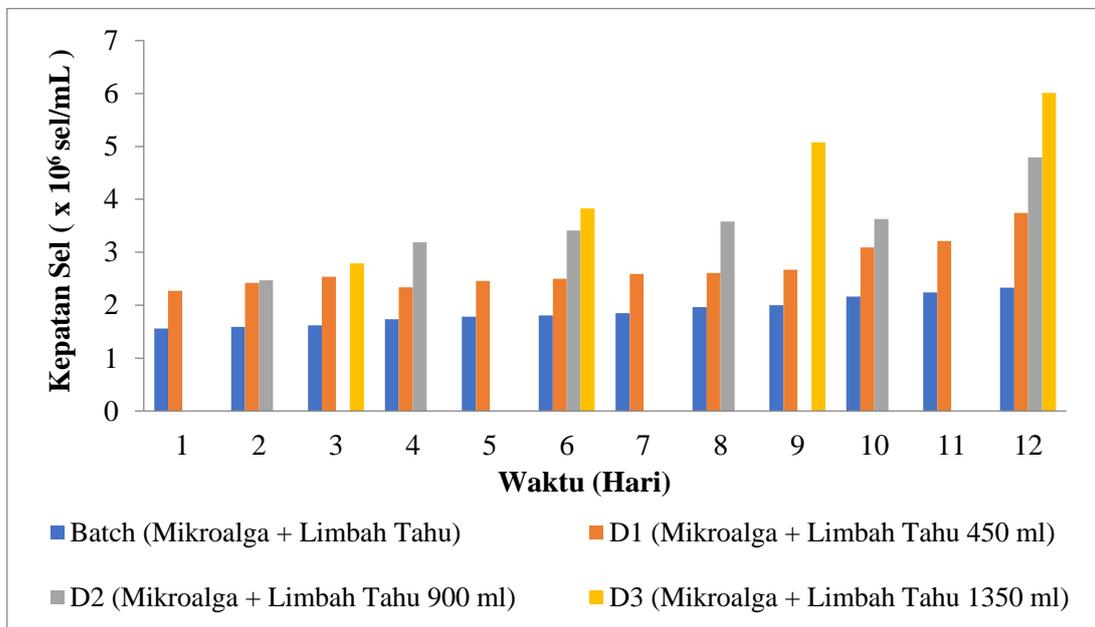
Dapat dilihat pada Gambar 4 kepadatan sel mikroalga *Chlorella sp.* terus meningkat hingga hari ke-12 yaitu $5,684 \times 10^6$ sel/mL. Menurut (Aulia dkk, 2017), kepadatan sel mikroalga *Chlorella sp.* pada tahap akhir aklimatisasi meningkat sehingga dapat mencapai nilai kepadatan minimalnya yaitu 10^6 sel/mL, hal ini mengindikasikan bahwa mikroalga *Chlorella sp.* mampu beradaptasi dan memanfaatkan nutrisi yang terkandung dalam limbah cair tahu serta siap dipanen untuk digunakan untuk penelitian selanjutnya.

3.3 Pengaruh Penambahan Volume Limbah Cair Tahu terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik dan Kandungan Lipid Mikroalga *Chlorella sp.*

Faktor pembatas pertumbuhan mikroalga adalah jumlah nutrisi yang tersedia pada sistem kultur. Kekurangan nutrisi esensial dalam waktu yang lama maka pertumbuhan akan menurun. Sehingga dilakukan sistem *fed-batch* dimana ditambahkan medium baru secara bertahap. Pada penelitian ini dilakukan variasi penambahan volume limbah cair tahu yang ditambahkan per waktu yaitu 0,45 liter setiap 1 hari, 0,9 liter setiap 2 hari, dan 1,35 liter setiap 3 hari.

3.4 Pengaruh Penambahan Volume Limbah Cair Tahu terhadap Jumlah Sel Mikroalga *Chlorella sp.*

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa terdapat pengaruh penambahan volume limbah cair tahu yang berbeda terhadap jumlah mikroalga. Pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* diukur dengan menggunakan mikroskop dan *thomacytometer* untuk menghitung jumlah sel yang hidup. Perhitungan jumlah sel dilakukan setiap penambahan limbah cair tahu. Data pertumbuhan sel mikroalga *Chlorella sp.* yang dikultivasi pada media limbah cair tahu dengan berbagai penambahan volume limbah cair tahu dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan antara Waktu Penambahan Limbah Cair Tahu Terhadap Kepadatan Sel Pada Variasi Penambahan Volume Limbah Cair Tahu

Berdasarkan Gambar 5 terlihat bahwa kultur yang ditumbuhkan dalam media limbah cair tahu dengan proses *fed-batch* memiliki jumlah sel yang berbeda. Hal ini mengidentifikasi bahwa proses *fed-batch* berpengaruh terhadap pertumbuhan sel mikroalga *Chlorella sp.*

(Hadiyanto, 2013) menyatakan bahwa pertumbuhan sel alga di dalam kultur ditandai dengan peningkatan jumlah sel.

Mikroalga *Chlorella sp.* pada tiap bioreaktor mengalami fase *lag* yang berbeda-beda, dimana pada proses *fed-batch* fase *lag* terjadi selama tiga hari pertama yang ditandai dengan jumlah sel mikroalga *Chlorella sp.* yang hanya meningkat sedikit. Menurut (Fadilla, 2010), secara fisiologis pada fase *lag* (adaptasi) organisme mengalami metabolisme tetapi belum terjadi pembelahan sel secara signifikan sehingga kepadatan sel belum mengalami peningkatan. Pada fase ini sel-sel mikroalga *Chlorella sp.* belum sepenuhnya memanfaatkan nutrisi yang ada dalam limbah cair tahu dan pembelahan sel masih sedikit serta sel mikroalga masih menyesuaikan diri dengan lingkungan seperti suhu, pH, dan cahaya didalam bioreaktor sehingga jumlah sel tidak banyak mengalami peningkatan. Kemampuan mikroalga beradaptasi dengan baik dan lebih singkat pada fase *lag* menyebabkan sel mikroalga lebih mampu tumbuh dan bertahan dengan baik memanfaatkan nutrient yang ada pada limbah cair tahu sehingga sel dengan cepat memasuki fase eksponensial. Hal ini dipengaruhi oleh adanya proses aklimatisasi mikroalga ke dalam limbah cair tahu dimana sesuai dengan penelitian (Irhamni dan Munir, 2015) yang menyatakan bahwa aklimatisasi tersebut memiliki kelebihan yaitu sel mikroalga lebih aktif secara fisiologi dan mampu memanfaatkan lebih banyak nutrient yang ada di dalam limbah cair tahu untuk pertumbuhan dan metabolisme.

Setelah mampu beradaptasi dengan baik dan melewati fase *lag* (adaptasi), mikroalga *Chlorella sp.* akan memasuki fase eksponensial (*log phase*). Fase eksponensial diawali dengan pembelahan sel dan ditandai dengan naiknya laju pertumbuhan, sel-sel mikroalga *Chlorella sp.* membelah diri dengan cepat, senyawa-senyawa metabolit yang dibutuhkan untuk pembelahan sel sudah tersedia sehingga kepadatan populasi meningkat. Pertumbuhan sel terbaik terjadi karena komposisi nutrisi medium dan kondisi lingkungan sesuai bagi pertumbuhan mikroalga sehingga pertumbuhan dan pembelahan berlangsung dengan cepat (Kabinawa, 2006). Pada penelitian ini, waktu dan kepadatan sel pada fase eksponensial terendah terjadi pada kultivasi sistem *batch*, hal ini dikarenakan kadar nutrisi yang tidak sebanding dengan mikroalga sehingga menyebabkan pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* terhambat. Pada penelitian sebelumnya juga disebutkan bahwa pada media yang memiliki kandungan unsur hara yang terlalu tinggi akan menyebabkan pertumbuhan mikroalga terhambat karena mikroalga tersebut memerlukan waktu yang lama untuk beradaptasi (Chilmawati dan Suminto, 2010). Fase eksponensial tertinggi terjadi pada penambahan limbah cair tahu setiap 3 hari, hal ini dikarenakan jumlah nutrient yang ada didalam limbah cair tahu sebanding dengan jumlah mikroalga yang memanfaatkan nutrient tersebut. Mikroalga akan mengalami pertumbuhan yang baik atau optimum apabila kebutuhan nutriennya terpenuhi. Sedangkan pada penambahan limbah cair tahu setiap 1 hari pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* juga kurang optimal, hal ini dikarenakan unsur hara yang terkandung berlebih dan mikroalga secara terus-menerus akan mengadaptasikan diri dengan media yang ditambahkan. Waktu penambahan nutrient yang lebih cepat dari 3 hari akan berdampak pada menumpuknya nutrisi pada medium sehingga menjadi penghambat dalam pertumbuhan mikroalga.

Pada kultivasi secara *fed-batch* pertumbuhan sel akan terus meningkat, hal ini disebabkan karena nutrisi ditambahkan secara terus-menerus. Hal ini mengakibatkan mikroalga akan terus tumbuh dan tidak akan mengalami fase stasioner dan fase kematian. Namun pada kultivasi

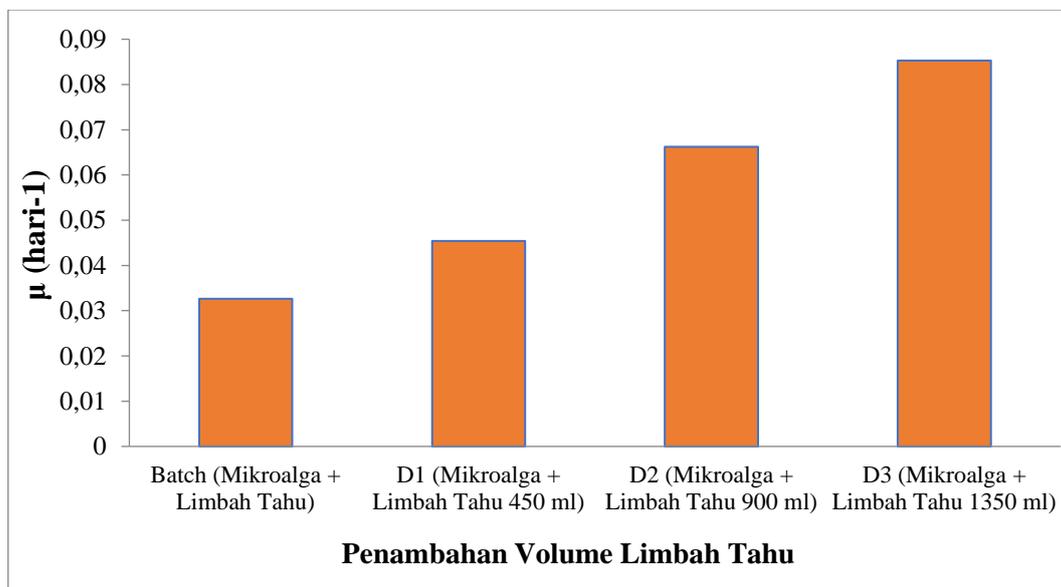
secara *batch* setelah mencapai fase eksponensial, mikroalga akan memasuki fase *log* (penurunan laju pertumbuhan) kemudian fase stasioner, fase ini terjadi pada hari ke 9. Fase penurunan pertumbuhan diawali dengan pertumbuhan yang mulai melambat, hal ini terjadi karena nutrient dalam media sudah sangat berkurang sehingga tidak mencukupi untuk pertumbuhan dan pembelahan sel (Hadiyanto dan Azim, 2012). Fase stasioner ditandai dengan tidak adanya peningkatan jumlah sel lagi. Fase stasioner diindikasikan dengan adanya keseimbangan katabolisme dan anabolisme di dalam sel (Kawaroe dkk, 2010).

Kurva kembali menurun hal ini menunjukkan bahwa mikroalga telah mencapai fase kematian. Pada fase ini jumlah sel mikroalga yang mati lebih banyak dari jumlah sel yang hidup. Nutrien semakin menipis, cadangan makanan dalam tubuh sel menjadi berkurang. Pada fase ini sel yang mati bahkan lisis (pecah) dan larut ke dalam medium, oleh sebab itu pada fase ini tampak mikroalga seperti mengendap dan medium terlihat keruh (Hadiyanto dan Azim, 2012).

Pada penelitian ini yang menggunakan sistem *fed batch* dapat dilihat jumlah sel mikroalga *Chlorella sp.* masih terus menunjukkan peningkatan hingga akhir kultivasi. Hal ini disebabkan karena penambahan medium secara terus-menerus (*fed-batch*), sehingga mikroalga masih terus memanfaatkan nutrisi yang terdapat dalam limbah cair tahu.

3.5 Pengaruh Penambahan Volume Limbah Cair Tahu terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik Mikroalga *Chlorella sp.*

Laju pertumbuhan spesifik menggambarkan kecepatan pertumbuhan sel-sel mikroalga per satuan waktu yang dapat dipakai sebagai tolak ukur untuk mengetahui daya dukung medium atau nutrient terhadap pertumbuhan dan pembelahan sel mikroalga (Simamora dkk, 2017). Laju pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* pada penambahan volume limbah cair tahu dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan antara Penambahan Volume Limbah Cair Tahu Terhadap Laju Pertumbuhan Spesifik Mikroalga *Chlorella sp.*

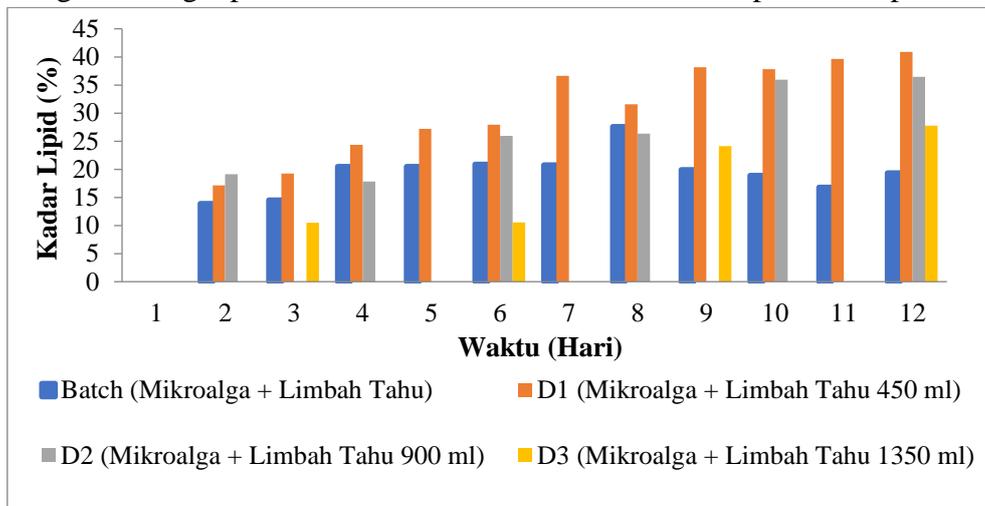
Berdasarkan Gambar 6 dapat dilihat bahwa laju pertumbuhan spesifik pada proses *fed-batch* lebih tinggi dibandingkan proses *batch*. Menurut (Ji, 2015) yang menyatakan bahwa

budidaya secara *fed-batch* dapat menyediakan nutrisi terus menerus dan media untuk menghindari efek yang tidak diinginkan sehingga dapat mencapai pertumbuhan sel yang tinggi. Perbedaan laju pertumbuhan pada setiap perlakuan tersebut disebabkan oleh kemampuan sel dalam menyerap unsur hara yang terdapat dalam media kultur. Nilai laju pertumbuhan spesifik dapat digunakan sebagai tolak ukur untuk mengetahui daya dukung media terhadap pertumbuhan sel.

Peningkatan laju pertumbuhan spesifik pada setiap variasi yang diberikan menandakan terjadinya pemanfaatan nutrient yang terkandung dalam limbah cair tahu. Perbedaan laju pertumbuhan spesifik mikroalga yang diperoleh pada penelitian ini dikarenakan perbedaan faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Faktor internal juga dapat mempengaruhi perbedaan laju pertumbuhan spesifik mikroalga, karena strain atau spesies mikroalga *Chlorella sp.* yang digunakan pada masing-masing penelitian berbeda (Sutomo, 2005).

3.6 Pengaruh Penambahan Volume Limbah Cair Tahu terhadap Kandungan Lipid Mikroalga *Chlorella sp.*

Kandungan lipid merupakan nilai yang dibutuhkan untuk mengetahui persentase lipid pada suatu jenis mikroalga sehingga dapat diprediksi jumlah lipid yang dapat dihasilkan (Dimas dkk, 2017). Data kandungan lipid mikroalga *Chlorella sp.* yang dikultivasi pada media limbah cair tahu dengan berbagai penambahan volume limbah cair tahu dapat dilihat pada Gambar 7.



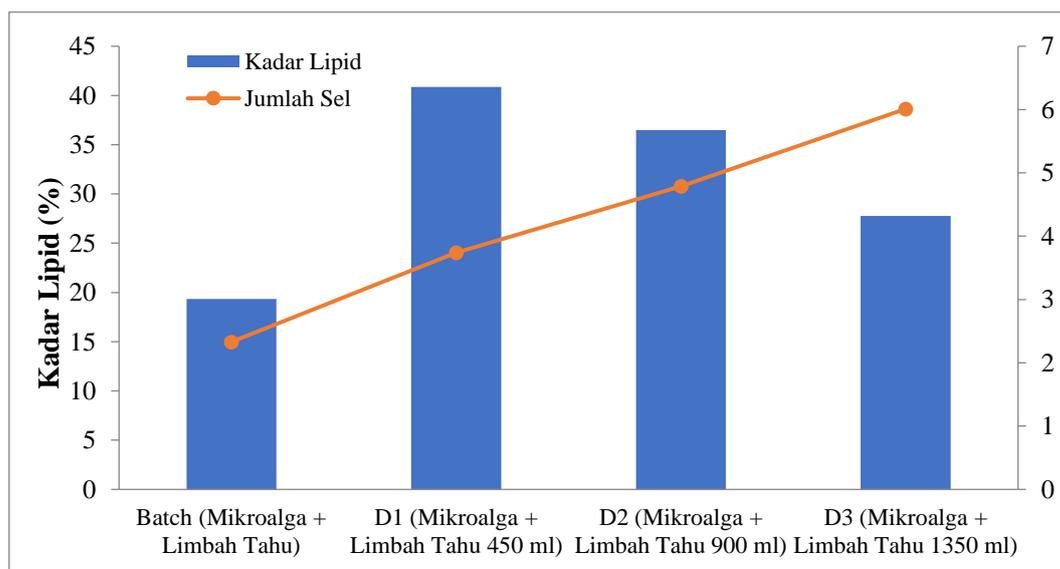
Gambar 7. Hubungan antara Waktu Penambahan Limbah Cair Tahu Terhadap Kadar Lipid Mikroalga *Chlorella sp.* Pada Variasi Penambahan Volume Limbah Cair Tahu

Berdasarkan Gambar 7. dapat dilihat bahwa semakin lama waktu kultivasi, maka % lipid semakin meningkat pula baik untuk penambahan volume limbah cair tahu. Kandungan lipid paling tinggi terdapat pada fase eksponensial, sedangkan diawal fase pertumbuhan, mikroalga *Chlorella sp.* cenderung membentuk protein dan mensintesis protein untuk pertumbuhan dan memperbanyak sel (Bellou dan Aggelis, 2013). Hal tersebut dikarenakan selama mengalami fase awal pertumbuhan, keberadaan nutrisi memegang peranan yang sangat penting yang menyebabkan pertumbuhan dan kematian pada mikroalga. Salah satu makronutrisi yang penting dalam pertumbuhan mikroalga adalah karbon (C) dalam media kultur.

Dapat dilihat dari Gambar 7 nilai kandungan lipid tertinggi di hasilkan pada penambahan volume limbah cair tahu 1 hari yaitu sebesar 40.879%. Peningkatan lipid dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya nutrisi.

Pada saat mikroalga *Chlorella sp.* mencapai fase eksponensial kandungan lipid di dalam mikroalga akan meningkat. (Miao dan Wu, 2006) juga melaporkan bahwa peningkatan produksi lipid terjadi pada kondisi laju produksi komponen sel rendah, namun produksi lipid tetap tinggi yang akhirnya akan meningkatkan akumulasi lipid pada sel namun pertumbuhan sel akan menurun.

Kondisi yang memungkinkan tingkat pertumbuhan mikroalga maksimal dan peningkatan lipid sulit untuk dicapai karena lipid yang lebih tinggi biasanya tidak diperoleh dalam kondisi yang optimal untuk pertumbuhan. Hal tersebut dapat dilihat pada Gambar 8 bahwa kandungan lipid yang tertinggi dihasilkan pada kondisi kultivasi yang menghasilkan kepadatan sel yang lebih rendah. Pada saat kondisi pertumbuhan tidak menguntungkan bagi mikroalga, mikroalga akan mengakumulasi lebih banyak lipid dari pada protein maupun karbohidrat. Kondisi ini dapat dianggap sebagai faktor stres sehingga metabolisme mengarah pada sintesis asam amino dan komponen sel khusus lainnya seperti lipid (George dkk, 2014).



Gambar 8. Hubungan antara Penambahan Limbah Cair Tahu Terhadap Kadar Lipid dan Kepadatan Sel Mikroalga *Chlorella sp.*

Tabel 1. Kandungan Lipid Mikroalga pada Kondisi Kultivasi yang Berbeda

No.	Mikroalga	Media yang Digunakan	Kandungan Lipid (%)	Referensi
1	<i>Chlorella sp.</i>	Air laut : aquades	23,51%	Senjaya, 2017
2	<i>Chlorella sp.</i>	BG-11	36,5%	Gao dkk, 2019
3	<i>Chlorella sp.</i>	Limbah Cair Hotel	40,61%	Elystia dkk, 2019
4	<i>Chlorella sp.</i>	Limbah Cair Tahu	40,88%	Penelitian ini

Kandungan lipid tertinggi pada penelitian ini dihasilkan pada penambahan limbah cair tahu setiap 1 hari yaitu 40,88%. Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa hasil ini menunjukkan

kandungan lipid yang lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya dengan menggunakan mikroalga *Chlorella sp.* dan media kultivasi yang berbeda. Pada kondisi stress lingkungan yaitu konsentrasi karbon berlebih, mikroalga akan cenderung membentuk lipid sebagai cadangan makanan daripada membentuk karbohidrat dan senyawa lainnya. Hal ini disebabkan karena mikroalga lebih banyak menggunakan atom karbon untuk membentuk lipid daripada karbohidrat, sebagai akibat meningkatnya aktifitas enzim asetil ko-A karboksilase (Wijoseno, 2011).

3.7 Pengaruh Penambahan Mikroalga *Chlorella sp.* terhadap Nilai COD Limbah Cair Tahu.

Kadar bahan organik yang terkandung dalam limbah cair dapat diukur dari nilai *Chemical Oxygen Demand* (COD). COD merupakan indikator pencemaran di badan air, nilai COD menunjukkan keberadaan zat-zat organik yang secara ilmiah dapat dioksidasi melalui proses mikrobiologis sehingga mengakibatkan berkurangnya oksigen terlarut di perairan. COD juga menggambarkan banyaknya zat organik yang tidak mengalami penguraian dalam air (Aulia dkk, 2017). Nilai COD yang semakin rendah menunjukkan bahwa kandungan bahan organik dalam air tersebut semakin sedikit, dan hal ini juga menunjukkan bahwa tingkat pencemaran di perairan rendah.

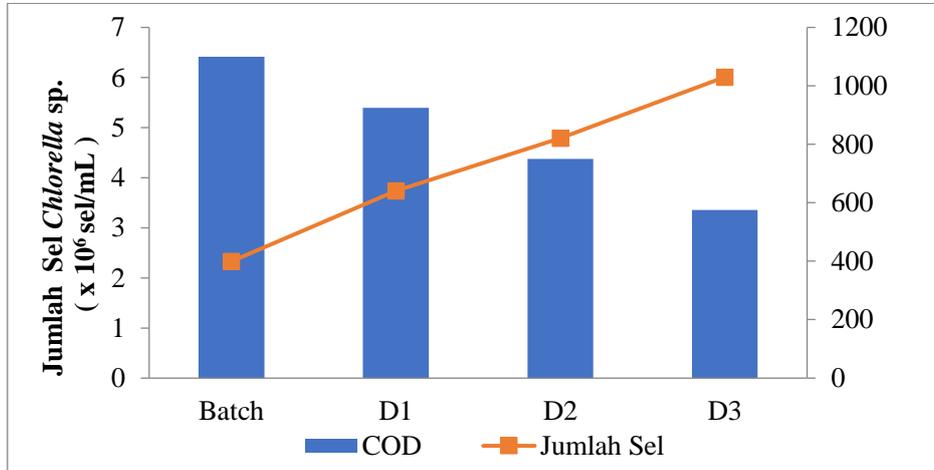
Tabel 2. Nilai Konsentrasi COD dan Efisiensi Penyisihan COD

No.	Variasi Perlakuan	COD Awal (mg/L)	COD Akhir (mg/L)	Efisiensi (%)
1	Limbah Cair Tahu	3250	2400	26,15
2	Mikroalga + Limbah Cair Tahu	3250	1100	66,15
3	Mikroalga + Limbah Cair Tahu 450 ml/hari	3250	925	71,53
4	Mikroalga + Limbah Cair Tahu 900 ml/hari	3250	750	76,92
5	Mikroalga + Limbah Cair Tahu 1350 ml/hari	3250	575	82,31

Tabel 2 menunjukkan konsentrasi COD dan efisiensi penyisihan COD pada tiap bioreaktor. Efisiensi penyisihan COD tertinggi terdapat pada bioreaktor dengan penambahan volume limbah cair tahu setiap 3 hari, dengan konsentrasi COD pada akhir pengolahan sebesar 575 mg/L dan efisiensi penyisihan COD sebesar 82,31%. Hal ini dikarenakan pada kondisi tersebut komposisi antara mikroalga dan kandungan nutrisi ideal. Penurunan nilai COD terjadi karena adanya kegiatan mikroalga *Chlorella sp.* yang memanfaatkan senyawa organik yang terkandung dalam limbah cair tahu. Hal ini juga dibuktikan dengan kepadatan sel yang paling tinggi didapat pada penambahan limbah cair tahu setiap 3 hari. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa fase pertumbuhan sel dilihat dari kepadatan sel berbanding terbalik dengan kandungan COD yang ada di dalam limbah cair tahu. Semakin besar atau semakin banyak jumlah mikroalga yang tumbuh dengan cara membelah diri, maka kandungan COD yang turun pun semakin banyak. Hal ini dikarenakan sel-sel mikroalga tumbuh dengan memanfaatkan zat-zat organik sebagai nutrient untuk pertumbuhannya.

Pada bioreaktor kontrol limbah cair tahu hanya diaerasi dan diberikan cahaya sinar matahari dengan perlakuan tanpa penambahan mikroalga. Pada kondisi ini tetap mengalami proses pengdegradasian sehingga nilai konsentrasi COD tetap mengalami penurunan. Hal ini menandai adanya aktivitas mikroorganisme dalam mendegradasi senyawa organik (Hartini, 2017). Hal ini diduga juga karena pada limbah cair tahu terdapat bakteri pengurai yang hidup

secara alami, ini yang menyebabkan terjadinya penurunan nilai konsentrasi COD pada perlakuan control tanpa penambahan mikroalga *Chlorella sp.* Grafik hubungan antara jumlah sel mikroalga dan konsentrasi COD pada penambahan volume limbah cair tahu dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Hubungan antara Penambahan Limbah Cair Tahu Terhadap Jumlah Sel Mikroalga *Chlorella sp.* dan Nilai COD Limbah Cair Tahu

Berdasarkan Gambar 9 dapat diketahui bahwa peningkatan jumlah sel diiringi dengan penurunan konsentrasi COD dalam limbah cair tahu. Peningkatan jumlah sel mikroalga *Chlorella sp.* pada setiap penambahan limbah cair tahu semakin meningkat seiring dengan penurunan konsentrasi COD. Hal ini sesuai dengan penelitian (Kalla dan Khan, 2016) yang menyatakan bahwa semakin tinggi jumlah kepadatan sel mikroalga maka penurunan konsentrasi parameter semakin baik. Hal tersebut dikarenakan mikroalga menyerap bahan organik yang terdapat pada limbah cair tahu untuk meningkatkan pertumbuhan sel-sel mikroalga.

Berikut merupakan tabel perbandingan efisiensi penisisihan COD oleh mikroalga pada penelitian lainnya.

Tabel 3. Perbandingan Efisiensi Penurunan COD Penelitian Lainnya

No.	Mikroalga	Limbah yang Digunakan	Efisiensi	Referensi
1	<i>Chlorella sp.</i>	Limbah Cair Domestik	60%	Singh dkk, 2012
2	<i>Chlorella sp.</i>	Limbah Cair Tahu	60%	Arifin, 2015
3	<i>Chlorella sp.</i>	Limbah Cair Tahu	77,4%	Istirokhatun dkk, 2017
4	<i>Chlorella sp.</i>	Limbah Cair Tahu	82,31%	Penelitian ini

Berdasarkan pada Tabel 3 menunjukkan efisiensi pada penelitian ini mencapai 82,31%, lebih besar dibandingkan penelitian sebelumnya. Hal ini dikarenakan kondisi makronutrien limbah cair tahu pada penelitian ini sudah ideal untuk pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* dan juga dikarenakan proses kultivasi yang digunakan merupakan sistem *fed batch* (Citra dkk, 2019).

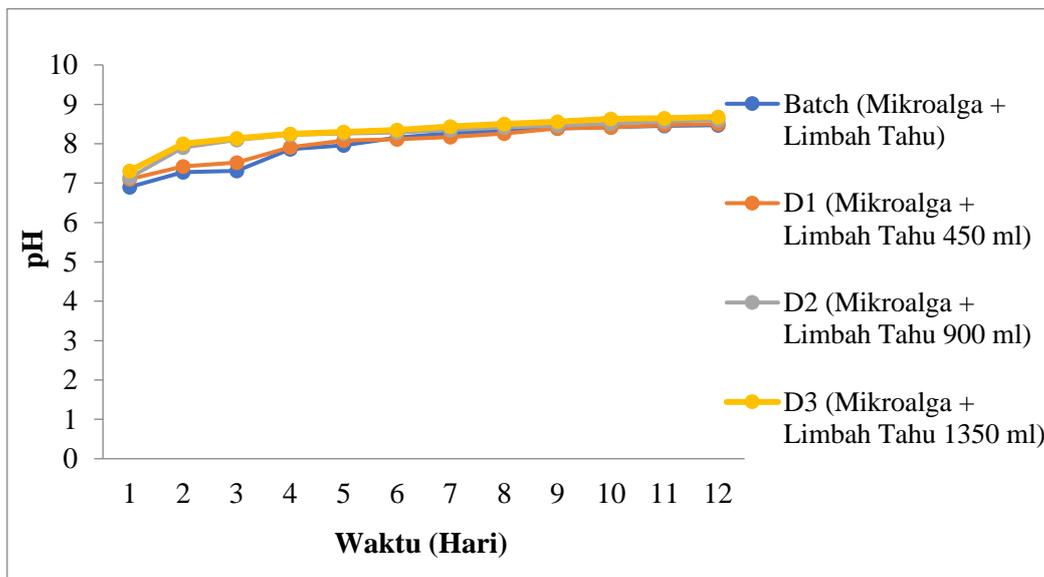
3.8 pH dan Temperatur Kultivasi Mikroalga *Chlorella sp.*

pH dan temperatur memiliki pengaruh penting dalam kultivasi mikroalga. pH dan temperatur dalam media kultur pada akhirnya dapat mempengaruhi metabolisme sel dan

pertumbuhan biomassa mikroalga (Lam dkk, 2017). Perubahan pH dan temperatur dalam kultivasi mikroalga menandakan adanya aktivitas fotosintesis.

3.9 pH Kultivasi Mikroalga *Chlorella sp.*

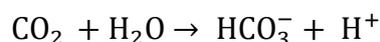
pH adalah parameter yang menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu larutan. pH merupakan salah satu kondisi lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan alga (Isnadina dan Hermawan, 2013). Nilai pH juga mempengaruhi proses biokimia yang berhubungan dengan pertumbuhan dan metabolisme mikroalga. Secara umum mikroalga akan tumbuh dan berkembang dengan baik pada kondisi pH netral dan cenderung basa (Reynold, 2006). Hasil pengukuran pH selama proses kultivasi dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Hubungan antara Waktu Penambahan Limbah Cair Tahu Terhadap pH Selama Proses Kultivasi Pada Variasi Penambahan Volume Limbah Cair Tahu

Kandungan senyawa organik dan gas karbon dioksida yang tinggi pada limbah cair tahu menyebabkan air menjadi berbau dan bersifat asam (Indriyati dan Susanto, 2012). Limbah cair tahu yang digunakan sebagai media kultivasi pada penelitian ini memiliki pH 6.9. Berdasarkan Gambar 10 nilai pH medium selama kultivasi berkisar antara 6.9-8.68, dimana nilai pH tersebut masih dalam rentang pH optimum pertumbuhan mikroalga yaitu 6-9, pemantauan nilai pH medium sangat penting untuk menganalisis kinerja proses fotosintesis. Peningkatan jumlah sel dalam medium cenderung meningkatkan jumlah pH medium (Harnadiemas, 2012).

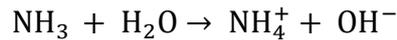
Perubahan nilai pH berkaitan dengan proses fotosintesis selama pertumbuhan mikroalga. Peningkatan pH selama waktu proses kultivasi diperkirakan oleh aktivitas mikroalga *Chlorella sp.* dan juga karena adanya interaksi antara CO₂ yang larut didalam air. Gas CO₂ yang terkandung dalam medium kultivasi akan berubah menjadi senyawa bikarbonat seperti pada reaksi berikut:



Menurut (Harnadiemas, 2012), aktivitas mikroorganisme untuk menguraikan bahan organik dalam air limbah terkait dengan aktivitas fotosintesis yang mengambil CO₂ terlarut

dalam bentuk HCO_3^- yang menyebabkan peningkatan pH. *Chlorella sp.* menyerap karbon tidak dalam bentuk CO_2 melainkan dalam bentuk senyawa bikarbonat. Proses fotosintesis yang terjadi menyebabkan peningkatan aktivitas sel dan laju konsumsi senyawa bikarbonat tersebut.

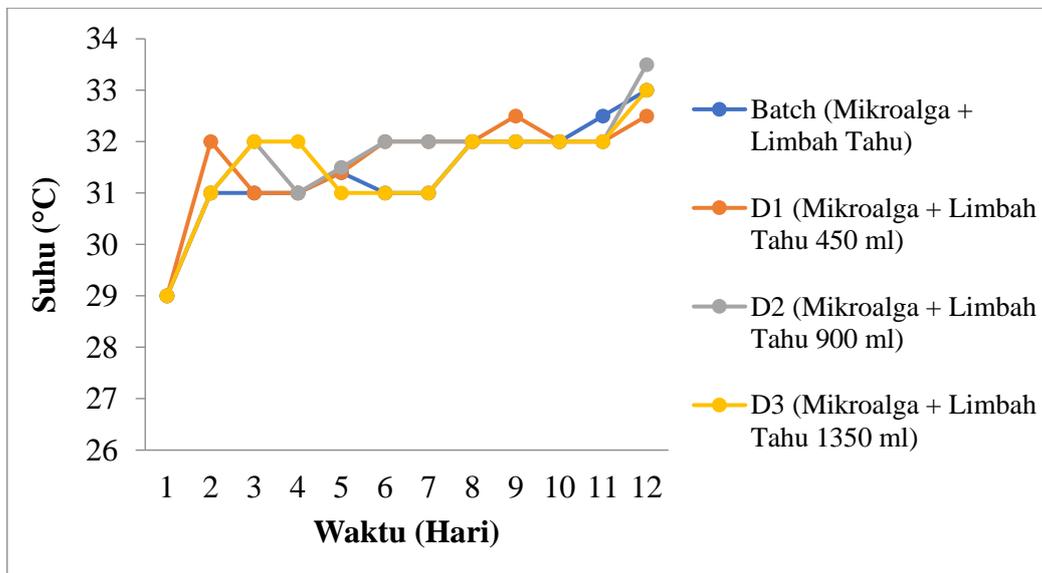
Peningkatan nilai pH juga dapat terjadi akibat adanya penguapan ammonia dan aktivitas mikroorganisme yang berperan sebagai decomposer (Cole, 1994). Amonia (NH_3) yang larut dalam air akan melepaskan ion ammonium (NH_4^+). Ammonium dihasilkan melalui proses disosiasi ammonium hidroksida yang terlarut dalam air. Berikut merupakan reaksi pembentukan ammonium (Prihantini dkk, 2005):



Peningkatan pH hingga akhir kultivasi seiring dengan bertambahnya jumlah sel *Chlorella sp.* Cole (1994) dalam penelitiannya juga mengatakan bahwa terjadinya peningkatan pH sejalan dengan meningkatnya kepadatan mikroalga dan laju pemanfaatan nutrient.

3.10 Temperatur Kultivasi Mikroalga *Chlorella sp.*

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Mikroalga memiliki nilai toleransi suhu yang berbeda-beda (Saputro, 2015). Suhu lingkungan memiliki pengaruh yang signifikan terhadap produktivitas mikroalga. Suhu optimal untuk pertumbuhan mikroalga dalam suatu medium bervariasi, tergantung spesies mikroalga dan aklimatisasinya terhadap lingkungan tertentu. Secara umum, mikroalga mampu bertahan hidup pada suhu 10°C - 35°C . Pada suhu dibawah 16°C mikroalga masih dapat tumbuh dalam keadaan lambat, dan pada suhu diatas 35°C beberapa mikroalga dapat mati atau lisis (Hadiyanto dan Azim, 2012). Hasil pengukuran suhu pada setiap hari pada bioreaktor selama kultivasi mikroalga pada media limbah cair tahu dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Hubungan antara Waktu Penambahan Limbah Cair Tahu Terhadap Suhu Selama Kultivasi Pada Variasi Penambahan Volume Limbah Cair Tahu

Menurut Saputro (2015), menyatakan bahwa suhu optimal untuk pertumbuhan mikroalga berada pada rentang suhu 25°C - 35°C , mikroalga ini menunjukkan pertumbuhan

yang baik pada kisaran tersebut. Berdasarkan dari penelitian ini, dapat dilihat pada Gambar 11 bahwa suhu pada setiap bioreaktor berkisar antara 28.5°C - 32°C dan suhu yang dipergunakan masih memenuhi syarat untuk proses kultivasi mikroalga karena masih berada diantara suhu yang direkomendasikan.

Fluktuasi suhu pada setiap bioreaktor selama proses kultivasi dipengaruhi oleh kondisi cuaca dan radiasi matahari. Selain itu, meningkatnya konsentrasi suspensi mikroalga menyebabkan terjadinya efek *internal shading*, sehingga terjadi perbedaan intensitas cahaya matahari yang diterima dan menyebabkan suhu pada medium menjadi lebih rendah (Park dkk, 2011). Namun hal ini tidak menjadi masalah yang berarti karena adanya aerasi selama proses kultivasi berlangsung, sehingga mikroalga tetap mendapat penyinaran matahari dengan baik dan suhu didalam sistem terjaga dalam rentang suhu optimum.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa laju pertumbuhan mikroalga tertinggi didapat pada penambahan limbah cair tahu setiap 3 hari yaitu sebesar 0.0869/hari, sedangkan kadar lipid tertinggi didapat pada penambahan limbah cair tahu 1 hari sekali yaitu sebesar 40.87 %. Penyisihan COD terbaik dan efisiensi COD tertinggi didapat pada penambahan limbah cair tahu setiap 3 hari yaitu 575 mg/mL dan 82,31 %. Nilai pH selama kultivasi berkisar antara 6.9-8.68 dengan suhu selama kultivasi berkisar antara 28.5-32°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni, B. I. (2011). Efek Aerasi terhadap Dominasi Mikroba dalam Sistem High Rate Algae Pond (HRAP) untuk Pengolahan Air Boezem Monokrempangan. *Skripsi*. Institut Sepuluh November.
- Asuthkar, M., Gunti, Y., Rao, R. S., Rao, C. S., & Yadavalli, R. (2016). Effect of Different Wavelengths of Light on the Growth of *Chlorella Pyrenoidosa*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(2), 847-851.
- Aulia, M., Istirokhatun, T., & Sudarno. (2017). Penyisihan Kadar COD dan Nitrat melalui Kultivasi *Chlorella* sp. dengan Variasi Konsentrasi Limbah Cair Tahu. *Jurnal teknik Lingkungan*, 6(2).
- Badan Standarisasi Nasional. (2004). SNI 06-6989.11-2003. Cara Uji Derajat Keasaman (pH).
- Badan Standarisasi Nasional. (2009). SNI 6989.73.2009. Cara Uji Kebutuhan Oksigen Kimiawi (*Chemical Oxygen Demand (COD)* dengan refluks tertutup secara titrimetri.
- Bellou, S., & Aggelis, G. (2017). Biochemical Activities in *Chlorella* sp. and *Nanochloropsis salina* During Lipid and Sugar Synthesis in a Lab-Scale Open Pond Simulating Reactor. *Journal of Biotechnology*, 1, 1-12.
- Chilmawati D., & Suminto, S. (2008). Penggunaan Media Kultur yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. 4(1), 42-49
- Citra, D. H. N., Muria, S. R & Padil. (2019). Kultivasi Mikroalga *Chlorella* Sp. Secara Fed-Batch Dalam Media Pome Sebagai Bahan Baku Bioetanol. *JOM Teknik*, 2, 2-6.
- Cole. (1994). *Textbook of Limnology*. Waveland Press inc. Mionis.

- Dhika, J. A., Hayu, P. P., Danny, S. (2013). Potensi Air Dadih (whey) Tahu Sebagai Nutrien dalam Kultivasi *Chlorella* sp. untuk Bahan Baku Pembuatan Biodesel. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 2(4), 233–242.
- Dimas, A. P., Istirokatun, T., & Praharyawan, S. (2017). Pemanfaatan Air Lindi TPA Jatibarang sebagai Media Alternatif Kultivasi Mikroalga untuk Perolehan Lipid. *Jurnal Teknik Lingkungan*, 6(1), 1-15.
- Elystia, S., Lestari, A. S., Muria, S. R., & Kunci, K. (2019). Peningkatan Kandungan Lipid dan Biomassa Mikroalga. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 5(2), 19-28.
- Fadilla, Z. (2010). Pengaruh Konsentrasi Limbah Cair Tahu terhadap Pertumbuhan Mikroalga *Scenedesmus* sp. *Skripsi*. Jakarta : Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Gao, B., Huang, L., Wang, F., Chen, A., Zhang, C. (2019). Bilateral and Simultaneous Accumulation of Lipid and Biomass in The Novel Oleaginous Green Microalga *Tetrademus Bernardii* under Mixotrophic Growth. *Algal Research*. 37, 64-73.
- George, B., Pancha, I., Desai, C., Chokshi, K., Paliwal, C., Ghosh, T., & Mishra, S. (2014). Effect of Different Media Composition, Light Intensity and Photoperiod on Morphology and Physiologi of freshwater Microalgae *Ankistrodesmus Falcatus* - A Potensial Strain for Bio-fuel Production. *Bioresource Technology*, 171, 367-373.
- Habibah, Z. E. (2011). Potensi Pemanfaatan Alga *Chlorella pyrenoidosa* dalam pengolahan Limbah Cair Kelapa Sawit. *Tesis*. Pekanbaru: Universitas Riau.
- Hadiyanto. (2013). Valoriiasi Mikroalga untuk Pengolahan Limbah Cair Kelapa Sawit sebagai Sumber Energi dan Pangan Alternatif. *Prosiding Rekayasa Kimia dan Proses*, 1-11.
- Hadiyanto & Azim, M. (2012). *Mikroalga Sumber Pangan & Energi Masa Depan*. Semarang: UPT UNDIP Press.
- Harnadiemas, R. F. (2012). Evaluasi Pertumbuhan dan Kandungan Esensial *Chlorella Vulgaris* pada Kultivasi Fotobioreaktor Outdoor Skala Pilot dengan Pencahayaan Terang Gelap Alami. *Skripsi*. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Hartini, F. (2017). Pemanfaatan Mikroalga *Chlorella* sp. dalam Menurunkan Baku Mutu Polutan Limbah Cair Industri Sagu. *Skripsi*. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Indryati. (2003). *Proses Pembenihan (seeding) dan Aklimatisasi pada Reaktor Tipe Fixed bed*. Jakarta: Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.
- Irhamni., & Munir, E. (2015). Kultivasi Mikroalga untuk Bioteknologi Biomassa Sebagai Energi Terbarukan. *Seminar Program Doktor Pengelolaan Sumber Daya Alam dan Lingkungan*. Universitas Sumatra Utara.
- Isnadina, D. R. M., & Hermawan, J. (2013). Pengaruh Konsentrasi Bahan Organik, Salinitas, dan pH terhadap Laju pertumbuhan Alga. *Seminar Nasional Pascasarjana XIII*. ITS. Surabaya.
- Istirokhatun, T., ulia, M., & Sudarno. (2017). Penyisihan Kadar COD dan Nitrat melalui Kultivasi *Chlorella* sp. dengan Variasi Konsentrasi Limbah Cair Tahu. *Jurnal teknik Lingkungan*, 6(2).
- Ji, F., Yuguang, Z., Aiping, P., Li, N., Kibet, R., Ying, L., & ranjie, D. (2015). Fed-Batch Cultivation of *Desmodesmus* sp. In Anaerobic Digestion Wastewater for Improved Nutrient Removal and Biodisel Production. *Journal Bioresource Technology*, 184(1), 116-122.
- Kabinawa, I. N. K., & Ni, W. S. A. (2005). *Aplikasi Chlorella Pyrenoidosa Strain Lokal (ink) dalam Penanggulangan Limbah Cair Agroindustri*. Bogor: Puslit Bioetknologi, LIPI Cibinong.
- Kalla, N., & Khan, S. (2016). Effect of Nitrogen, Phosphorus Concentrations, pH and Salinity Range on Growth, Biomass and Lipid Accumulation of *Chlorella Vulgaris*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Reserch*. 7(1), 397-405.

- Kawaroe, M., Prartono, T., Sunuddin, A., Sari, D.W., & Augustine, D. (2010). *Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. Bogor: PT Penerbit IPB Press.
- Lam, M. K., & Lee, K. T. (2017). Renewable and Sustainable Bioenergies Production from plam Oil Mill Effluent (POME): Win-win Strategies Toward Better Enviromental Protection. *Biotechnology Advances*, 29, 124-141.
- Miao, X., & Wu, Q. (2006). Biodiesel Production from Heterotrophic Microalgal Oil. *Bioresour. Technol.* 97, 841–846
- Nurhanifah, D. N. (2018). Kultivasi Mikroalga Menggunakan Media Af6 Berdasarkan Perbedaan Intensitas Cahaya. *Skripsi*, 6, 1-5.
- Park, H. D., & Hayashi, H. (1992). Life Cycle of Peridinium Bipes F. Occulatum (Dynophyceae) Isolated from Lake Kizai. *Journal Fac. Sci. Shinshu University*, 27(2), 1-19.
- Puspita, S. R., Susanto, A. B., Dwi, S., & Delicia, Y. R. (2013). Pengaruh Substitusi Limbah Cair Tahu untuk Menstimulasi Pembentukan Lipida pada Chlorella sp. *Journal of Marine Reserch.* 2(1), 80-86.
- Prihantini, N. B., Putri, B., & Yuniati, R. (2005). Pertumbuhan Chlorella sp. dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan Variasi pH Awal. *Jurnal Makara Sains*, 9(1), 1-6.
- Reynolds, C. S. (2006). *Ecology Phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Saputro, B. R., Kusdiyantini, E., & Kusumaningrum, H. P. (2015). Pertumbuhan Mikroalga Botryococcus Braunii sebagai Penghasil Lipid pada Medium Campuran Antara Air Kelapa dan Air Laut. *Jurnal Biologi*, 4(4), 20-27.
- Senjaya, F.A., Sulistyanto, D., Laira, I., Fatana, M. N., Pridiana, D.B., Widayat. (2017). Pengaruh Laju Alir Nitrogen pada Metode Starvasi Nitrogen Terhadap Peningkatan Kandungan Lipid Mikroalga Chlorella sp. Sebagai Bahan Baku Biodiesel. *Bioma.* 6(2), 21-28.
- Setyo, I. R. (2018). Pengaruh Konsentrasi Limbah Cair Tahu Terhadap Pertumbuhan dan Lipid Chlorella sp. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maliki Malang.
- Simamora, L. A., Sudarno. (2017). Kultivasi Mikroalga Sebagai Metode Pengolahan Dalam Menyisihkan Kadar COD dan Amonium pada Limbah Cair Tahu. *Jurnal Teknik Lingkungan.* 6(1), 1-14.
- Singh, S. K., Bansal, A., Jha, M, K., Dey., & Purba. (2012). An Intergrated Approach to Remove Cr (VI) Usig Immo bilized Chlorella Minitussima Griwn in Nutrient Rich Sawage Waswater. *Journal of Bioresource Technology.* 104, 257-265.
- Sutomo. (2005). Kultur Tugas Jenis Mikroalga (Tetraselmis sp., Chlorella sp., dan Dunaliella Gracilis) dan Pengaruh Kepadatan Awal Terhadap Pertumbuhan C. Gracilid di Laboratorium. *Oseanologi dan Limnologi Indonesia.* 37, 43-58.
- Vendruscolo, F., Ferreira, G. L. D. R., & Filho, N. R. A. (2017). Biosorption of Hexavalent Chromium by Microorganism. *International Biodeterioration & Biodegradation.* 119, 87-95.
- Widayat., & Hadiyanto. (2015). Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu untuk Produksi Biomassa Mikroalga Nannochloropsis sp. sebagai Bahan Baku Biodisel. *Reaktor.* 15(4), 253- 260.
- Widiyanto, A., Susilo, B., & Yulianingsih, R. (2014). Studi Kultur Semi-Massal Mikroalga Chlorella sp Pada Area Tambak Dengan Media Air Payau (Di Desa Rayunggumuk, Kec. Glagah, Kab. Lamongan) Study on Cultivation Semi-Mass of Microalgae Chlorella sp on Ponds Area with Brackish Water Media (in District Rayunggumuk, Subdistrict Glagah, Lamongan), 2(1), 2-8.

- Wijoseno, T. (2011). Uji pengaruh Variasi Media Kultur terhadap Tingkat Pertumbuhan dan Kandungan Protein, Lipid, Klorofil, dan karotenoid pada Mikroalga *Cjlorella Vulgaris* Buitenzirg. *Skripsi*. Universitas Indonesia. Depok.
- Zahir, F. R. (2011). Peningkatan produksi Biomassa *Chlorella vulgaris* dengan perlakuan Mikrofiltrasi pada Sirkulasi Aliran Medium Kultur sebagai Bahan Baku Biodisel. *Skripsi*. Universitas Indonesia: Jakarta.