PENINGKATAN KANDUNGAN LIPID DAN BIOMASSA *Mikroalga Scenedesmus Sp*. DARI MEDIA KULTIVASI LIMBAH CAIR TAHU SEBAGAI BAHAN BAKU BIODIESEL

Shinta Elystia, Aisyah Sri Lestari, Sri Rezeki Muria
Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Universitas Riau
Kampus Bina Widya Jl. HR. Soebrantas Km 12,5 Pekanbaru 28293
E-mail : shintaelystia@yahoo.com

ABSTRAK

Sumber energi semakin berkurang diiringi dengan semakin besarnya kebutuhan energi. Hal ini dapat diantisipasi dengan melakukan pencarian sumber energi terbarukan. Upaya untuk mengantisipasi kelangkaan energi adalah dengan memanfaatkan mikroalga sebagai bahan baku bioenergi. Mikroalga Scenedesmus sp. adalah salah satu species yang memiliki kadar lipid tertinggi yang dapat digunakan sebagai bahan baku biodiesel. Oleh karena itu untuk memperoleh biomassa yang besar, perlu dilakukan kultivasi. Salah satu media kultivasi adalah limbah cair tahu. Kandungan pada limbah cair tahu dapat menjadi nutrisi bagi pertumbuhan mikroalga. Senyawa organik dan anorganik dalam limbah diserap mikroalga dan dihasilkan oksigen yang dapat mengurangi kadar COD dalam limbah. Perlakuan pada penelitian ini perbedaan volume limbah cair tahu sebesar 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% serta intensitas cahaya 1000 lux - 4000 lux pada Fotoperiod Terang: Gelap (T:G) 12:12. Parameter yang diamati adalah jumlah sel, lipid dan efisiensi penyisihan COD. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kondisi optimal pada volume limbah cair tahu 20% dan intensitas cahaya 4000 lux dengan jumlah sel 6.63 x 10^6 sel/ml, lipid 29.73 % serta penyisihan COD 78,26%.

***Kata Kunci**: COD, Intensitas Cahaya, Lipid, Volume Limbah Cair Tahu, Scenedesmus sp.*

ABSTRACT

The source of energy decreases accompanied by the increasingly large demand for energy. This can be anticipated by searching for renewable energy sources.The effort to anticipate energy scarcity by using microalgae as a raw material of bioenergy. Microalgae Scenedesmus sp. is one of the species that has the highest lipid content that can be used as a raw material of biodiesel. Therefore, to obtain large biomass, needs to be done of cultivation. One of the cultivation media is tofu waste water. The content of tofu waste water can be a nutrient for microalgae growth. Organic and inorganic compounds in waste are absorbed by microalgae and oxygen is produced which can reduce levels of COD in waste. The treatment in this study was the difference in the volume of tofu waste water by 0%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100% and the light intensity of 1000 lux - 4000 lux in the Light: Dark (T: G) Photoperiod 12:12. Parameters observed were cell count, lipid and COD removal efficiency. Based on the results of the study obtain optimal conditions in the volume tofu waste water 20% and light intensity 4000 lux with cell numbers 6.63 x 106 cells / ml, 29.73% lipid and COD removal eficiency 78.26%.

***Keywords**: COD, Light Intensity, Lipid, Scenedesmus sp., Tofu Waste Water,*

1. PENDAHULUAN

Energi merupakan komponen penting dalam kehidupan. Selama ini, kebutuhan energi lebih banyak dipenuhi dari energi fosil seperti Bahan Bakar Minyak (BBM) yang merupakan bahan bakar yang tidak dapat diperbaharui (*unrenewable fuels*) dan ketersediaannya di alam sangat terbatas (Putnarubun dkk, 2012). Pada tahun 2014, Kementerian ESDM mencatat bahwa energi fosil masih mendominasi dalam konsumsi energi primer. Cadangan minyak bumi nasional per 1 januari 2014 mengalami penurunan 2,3 % dibandingkan tahun sebelumnya. Indonesia memiliki cadangan minyak bumi sebesar 0,5% dari total cadangan minyak bumi dunia. Di Indoneisa produk hasil olahan seperti BBM mengalami peningkatan laju konsumsi. Peningkatan laju konsumsi tidak sejalan dengan perkembangan produksi minyak bumi. Perkembangan produksi minyak bumi mengalami penurunan dari tahun 2005-2014 yaitu 386,48 juta barel - 287,90 juta barel (Sekretariat Jenderal, 2015). Salah satu cara untuk mengatasi permasalahan adalah menghasilkan bioenergi sebagai pengganti energi fosil.

Bioenergi dapat bersumber dari beberapa bahan baku penghasil biomassa (Chisti, 2007). Salah satunya yaitu mikroalga. Mikroalga dapat memproduksi energi 20 sampai 100 kali lipat dibanding tumbuhan tingkat tinggi lain (Chisti, 2007). Beberapa turunan produk bioenergi seperti bioetanol, biobutanol, SVO (*Straight Vegetable Oil*), dan biodisel diperoleh dari pengolahan biomassa mikroalga (Hadiyanto, 2012). Mikroalga yang berpotensi sebagai bahan baku bioenergi adalah *Scenedesmus* sp. *Scenedesmus* sp. dapat hidup di lingkungan akuatik seperti perairan tawar dan payau. *Scenedesmus* sp. mengandung lipid sebesar 19,6 – 21,1 % (Teresa dkk, 2010). Mikroalga memiliki beberapa keunggulan diantaranya : Mampu beradaptasi pada lingkungan ekstrim, Membutuhkan sedikit nutrisi, Siklus hidup singkat, membutuhkan lahan yang tidak terlalu luas, mampu mengolah limbah cair, dan biomassa yang dihasilkan dapat dijadikan baku bioenergi (Hadiyanto, 2012).

Perbanyakan biomassa *Scenedesmus* sp. dapat diketahui dengan cara kultivasi. Secara praktis kultivasi mikroalga digunakan dengan beberapa tujuan seperti untuk produksi bahan farmasi, pengolahan limbah cair, konversi energi dan berbagai kombinasi lainnya. Keberhasilan kultivasi tergantung pada adaptasi mikroalga yang dikultivasi dengan beberapa faktor pendukung seperti cahaya, suhu, pH, dan media kultur (Salim, 2013). Perbanyakan biomassa mikroalga membutuhkan media kultur. Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh kandungan makronutrien dan mikronutrien pada media kultur. Jenis media kultur mikroalga yaitu media sintetik dan alami. Media sintetik mengandung senyawa-senyawa kimia yang telah terkomposisi. Sedangkan media alami mengandung senyawa organik dan anorganik yang dapat diperoleh dari limbah, seperti limbah minuman teh, limbah cair tahu dan tapioka (Imelda, 2018).

Limbah industri banyak yang belum termanfaatkan secara maksimal. Limbah industri langsung dibuang kebadan air permukaan tanpa diolah terlebih dahulu. Salah satu limbah yang belum termanfaatkan yaitu limbah industri tahu. limbah cair tahu biasanya langsung dibuang kebadan air permukaan sehingga dapat mencemari lingkungan perairan. Kandungan pada limbah cair tahu dapat dijadikan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan mikroalga. Kandungan senyawa organik dan anorganik yang masih tersisa dalam limbah diserap oleh mikroalga dan dihasilkan oksigen yang dapat menurunkan kadar COD dalam limbah (Hadiyanto, 2012). Penggunaan limbah cair tahu sebagai medium mikroalga akan memberikan dampak positif terhadap lingkungan. Mikroalga menghasilkan biomassa yang dapat digunakan untuk pangan atau energi, sehingga proses pengolahan limbah cair dan produksi biomassa dapat saling bersinergi. Sehingga tujuan dari penelitian ini adalah untuk

menentukan kondisi optimal pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus* sp. dengan pengaruh volume limbah cair tahu dan intensitas cahaya yang berbeda terhadap jumlah sel, peningkatan landungan lipid dan efisiensi penyisihan COD limbah cair tahu oleh mikroalga *Scenedesmus* sp.

2. Metode Penelitian

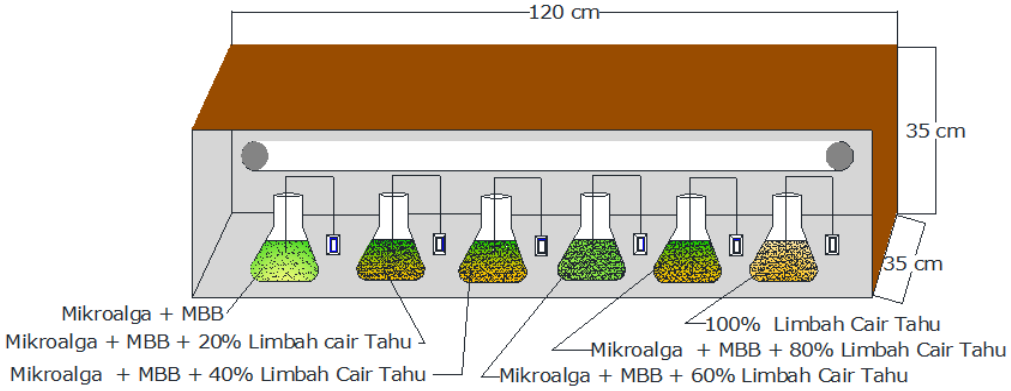
2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan Erlenmeyer 500 ml, cawan penguap, kertas saring, oven, lux meter, *autoclave*, *hand counter*, *cover glass*, aerator (*aquarium pump*), mikroskop cahaya dan *Thomacytometer*.

Bahan yang digunakan mikroalga *Scenedesmus* sp., limbah cair tahu, Medium Basal Bold (MBB) dengan komposisi: KH_2PO_4, $CaCl_2.H_2O$, $MgSO_4.7H_2O$, $NaNO_3$, K_2HPO_4, NaCl, KOH, $FeSO_4.7H_2O$, H_3BO_3, EDTA dan *trace element metal* berupa $NaMoO_4.2H_2O$, $MnCl_2.4H_2O$, $ZnSO_4.7H_2O$, $Co(NO_3)_2.6H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$, kloroform, metanol, akuades.

2.2 Desain alat penelitian

Desain alat penelitian dapat dilihat pada Gambar 1. sebagai berikut:



Gambar 1. Desain alat penelitian

Desain alat penelitian terdiri dari chamber cahaya dengan ukuran 120 cm x 35 cm x 35 cm. *Chamber* cahaya dilengkapi dengan lampu *white-cool flourescent* (*Tube lamp*) dan dilapisi aluminium foil. Erlenmeyer berukuran 500 ml digunakan sebagai tempat kultivasi mikroalga. Mikroalga dan media kultur dalam erlenmeyer diaerasi menggunakan aerator (*aquarium pump*). Erlenmeyer untuk masing-masing perlakukan penelitian akan diletakkan pada *chamber* cahaya.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Perbanyakan Mikroalga

Isolat mikroalga yang digunakan yaitu *Scenedesmus* sp. dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC), *Research Center for Biology*, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor. Isolat mikroalga sebanyak 5 ml diambil dan dimasukan kedalam erlenmeyer 250 ml yang telah berisi medium basal bold. Erlenmeyer diletakkan pada *chamber* cahaya dan diberi aerasi serta faktor lingkungan mikroalga *Scenedesmus* sp. yang dikondisikan pencahayaan (T:G) yaitu (12:12), dan diberi aerasi. Perbanyakan mikroalga dilakukan selama 2 minggu (InaCC, 2018).

2.3.2 Preparasi Medium Basal Bold (MBB) dan Limbah Cair Tahu

Preparasi MBB dilakukan dengan cara menambahkan 10 ml dari setiap larutan MBB kedalam erlenmeyer 1 liter kemudian ditambahkan *trace element metal* masing-masing 1 ml dan ditambahkan akuades hingga batas 1 liter. Limbah cair tahu dan MBB dipreparasi sesuai perlakuan penelitian yaitu, volume limbah cair tahu 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Masing-masing perlakuan dimasukkan kedalam erlenmeyer 500 ml. Larutan yang telah dihomogenkan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121^{o}C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit (Fadilla, 2010). Preparasi limbah cair tahu dengan Medium Basal Bold (MBB) sebagai berikut :

a. 0 % Limbah cair tahu (248 ml MBB)
b. 20% (49,6 ml limbah cair tahu steril + 198,4 ml MBB)
c. 40% (99,2 ml limbah cair tahu steril + 148,8 ml MBB)
d. 60% (148,8 ml limbah cair tahu steril + 99,2 ml MBB
e. 80% (198,4 ml limbah cair tahu steril + 49,6 ml MBB)
f. 100 % Limbah cair tahu (248 ml limbah cair tahu)

2.3.3 Kultivasi Mikroalga

Seluruh Erlenmeyer 500 ml yang telah berisi medium diisi dengan kultur mikroalga *Scenedesmus* sp. sebanyak 2 ml. Dari 6 variasi perlakuan medium masing-masing dilakukan variasi intensitas cahaya 1000 lux - 4000 lux pada Fotoperiod Terang: Gelap (T:G) 12:12.

2.4 Analisa dan Pembahasan

Parameter yang dianalisis adalah jumlah sel mikroalga, *specific growth*, pH,kadar lipid pada hari 1, 3, 5, 7, 9, 11 dan 13 hari. Analisis dilakukan dengan cara mengambil kultur *Scenedesmus* sp. sebanyak 5 ml pada masing-masing erlenmeyer, dan diambil 1 ml untuk setiap parameter yang dianalisis. Data jumlah sel mikroalga, pH, kadar lipid dan penurunan kosnetrasi COD diplotkan ke dalam bentuk grafik dengan hubungan waktu (hari) dalam bentuk logaritmik. Metode Analisa yag digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. sebagai berikut:

Tabel 1. Metode Analisa Penelitian

Analisis	Metode / Alat
Jumlah Sel	*Thomacytometer*
COD	SNI 6989.73:2009
Lipid	*Bligh-Dyer*

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakteristik Awal Limbah Cair Tahu

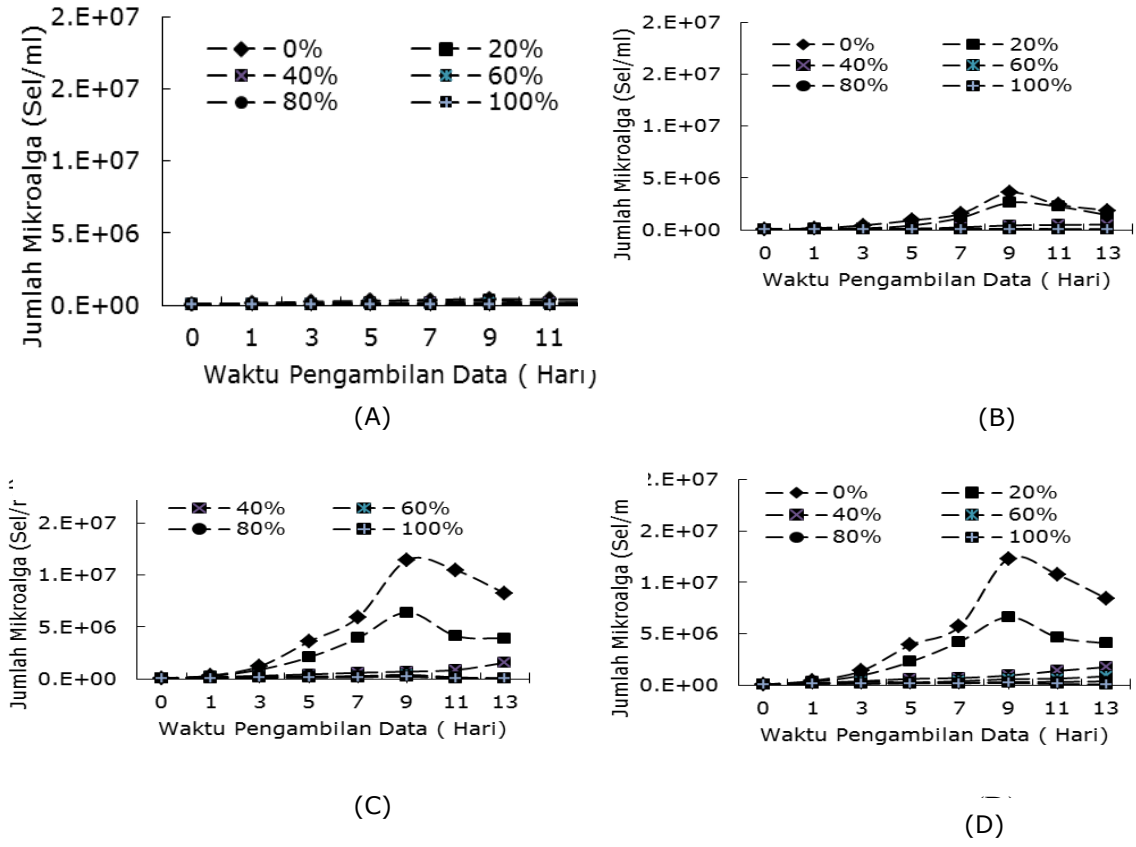
Analisis karakteristik awal dilakukan untuk mengetahui kadar *Chemical Oxigen Demand* (COD) dari perbandingan volume limbah cair tahu dengan Medium Basal Bold (MBB). Pada Tabel 2. dapat dilihat karakteristik awal MBB : Limbah Cair Tahu.

Tabel 2. Karaktersitik Awal MBB : Limbah Cair Tahu

Parameter	MBB : Limbah Cair Tahu (% v/v)	Hasil Uji (mg/L)
COD	20	1150
	40	2200
	60	3250
	80	4450
	100	5400

3.2 Jumlah Sel Mikroalga *Scenedesmus* sp.

Pada penelitian ini jumlah sel mikroalga *Scenedesmus* sp. diamati menggunakan mikroskop dan *thomasitometer*. Pengamatan pertumbuhan sel mikroalga dilakukan selama 13 hari. Pertumbuhan sel mikroalga di dalam kultur ditandai dengan peningkatan ukuran dan jumlah sel. Jumlah sel awal *Scenedesmus* sp. dalam setiap perlakuan adalah 6.25 x 10^4 sel/ml. Dari Gambar 3. dapat dilihat fase pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus* sp. Pada Intensitas cahaya 4000 lux pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus* sp. dengan volume limbah cair tahu yang berbeda mengalami fase lag sangat singkat. Fase lag yang sangat singkat dapat dilihat dengan terjadinya peningkatan jumlah sel mikroalga *Scenedesmus* sp. Mikroalga dapat beradaptasi dengan baik pada lingkungan yang baru saat memasuki fase lag (Widayat dan Hadiyanto, 2015). Senyawa organik dan anorganik dalam media kultur mempengaruhi kemampuan adaptasi mikroalga yang menjadi sumber nutrisi bagi pertumbuhannya (Rini, 2012). Mikroalga mampu merubah kandungan nutrisi akibat faktor lingkungan sehingga dikelompokkan dalam tiga jenis yaitu autotrof, heterotrof, dan miksotrof (Richmond, 2013). Mikroalga *Scenedesmus* sp menggunakan kultur miksotrof yaitu memanfaatkan nutrisi dan melakukan fotosintesis (Salim, 2015).



Gambar 3. Jumlah Sel Mikroalga *Scenedesmus* sp. pada Berbagai Volume Limbah Cair Tahu dan Intensitas Cahaya (A) 1000 Lux, (B) 2000 Lux, (C) 3000 Lux, (D) 4000 Lux

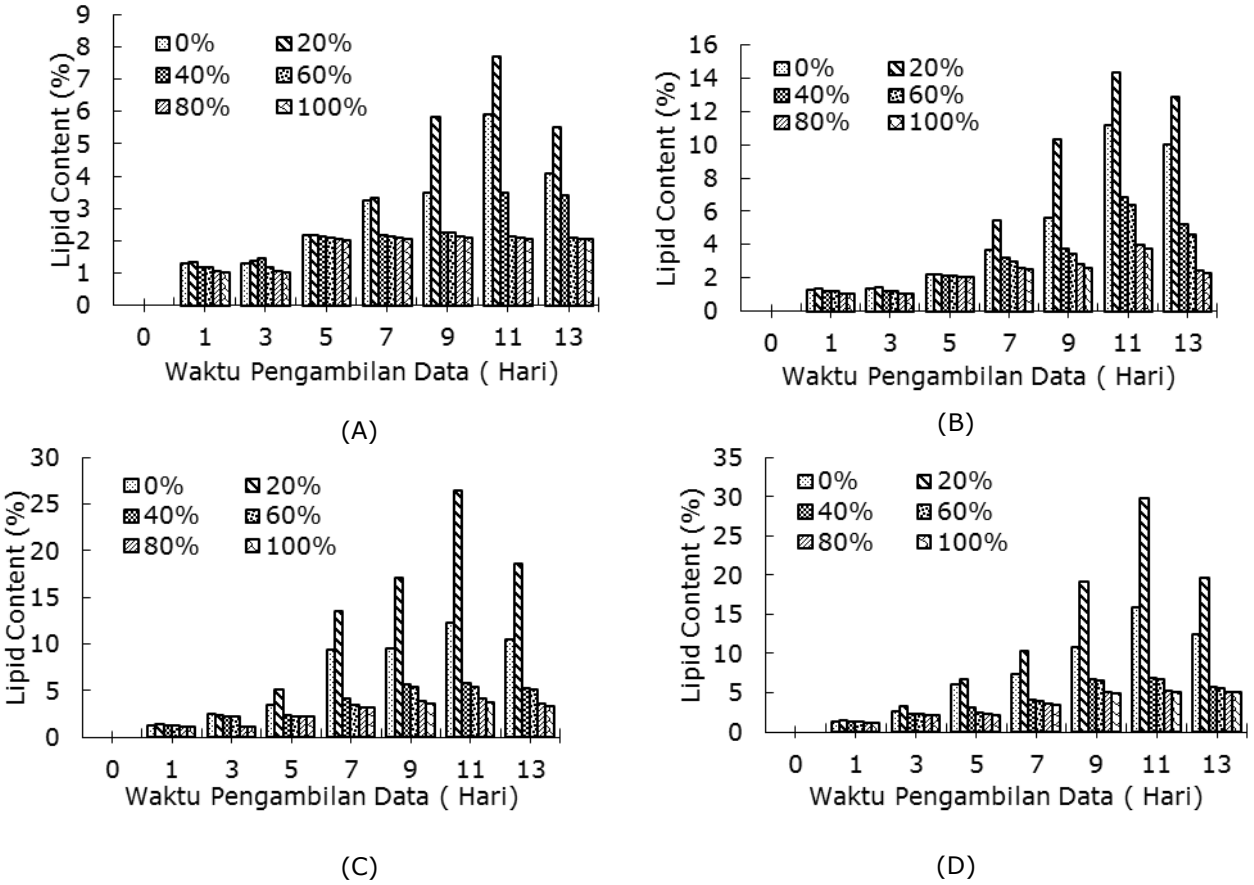
Pembelahan sel dan naiknya laju pertumbuhan yang menyebabkan kepadatan populasi meningkat merupakan permulaan dari fase eksponensial (*log phase*) (Aulia dkk, 2017). Pada Intensitas cahaya yang sama fase eksponensial tertinggi yaitu pada volume limbah 0% menggunakan Medium Basal Bold (MBB) dengan jumlah sel 1.23 x 10^7 sel/ml pada hari ke-9. Wang dkk (2012) menyatakan bahwa medium pertumbuhan yang sama dengan kultur pemeliharaan akan mempengaruhi proses adaptasi mikroalga proses ini akan mengakibatkan sel mikroalga cepat memasuki fase eksponensial. Unsur Boron dalam MBB berfungsi untuk

mempertahankan pigmen klorofil. Kekurangan Boron dapat menyebabkan sel alga kehilangan pigmen klorofil (Wijoseno, 2011). Rendahnya tingkat nutrisi dalam medium, akan mempengaruhi laju reproduksi sel hal ini merupakan tanda berlangsungnya fase stasioner pada pertumbuhan mikroalga. Pada fase stasioner jumlah sel tidak lagi mengalami peningkatan (Rini, 2012). Intensitas cahaya yang sama fase stasioner tertinggi terjadi pada volume limbah 0% dengan jumlah sel 1.08 x 10^7 sel/ml.

Fase kematian ditandai dengan menurunnya jumlah kepadatan sel. Menurut Prabowo (2009) Mikroalga mengalami peningkatan jumlah sel yang ditandai dengan tingginya kandungan nutrien pada awal kultur. Fase kematian berlangsung ketika peningkatan populasi mikroalga tidak sejalan dengan penambahan nutrien, sedangkan pemanfaatan nutrien oleh mikroalga terus berlanjut hal ini menyebabkan terjadinya penurunan jumlah kepadatan sel mikroalga. Intensitas cahaya yang sama fase kematian tertinggi yaitu pada volume limbah 100% dengan jumlah sel 6.25 x 10^4 sel/ml. Menurut Hasanudin (2012) penurunan pertumbuhan sel mikroalga disebabkan oleh berkurangnya proses fotosintesis didalam medium akibat pekatnya medium sehingga cahaya yang masuk kedalam medium berkurang. Volume limbah 0% dengan intensitas cahaya 4000 lux didapatkan hasil pertumbuhan mikroalga *Scenedesmus* sp. tertinggi pada hari ke-9 dengan jumlah sel 1.23 x 10^7 sel/ml. Laju pertumbuhan mikroalga meningkat seiring dengan peningkatan intensitas cahaya. Jumlah energi yang diterima oleh mikroalga untuk melakukan fotosintesis dipengaruhi oleh intensitas cahaya (Gunawan, 2010). Menurut Richmond (2013), mikroalga merupakan mikroorganisme fototrof yang menggunakan cahaya sebagai sumber energi utama.

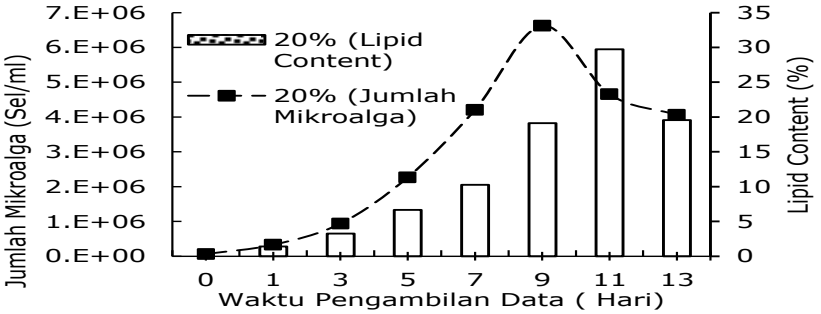
3.3 Kandungan Lipid Mikroalga *Scenedesmus* sp.

Berdasarkan hasil penelitian, Total lipid tertinggi mikroalga *Scenedesmus* sp. diperoleh pada fase stasioner yaitu hari ke-11 pada volume limbah cair tahu 20% yaitu 29.73 % dengan intensitas cahaya 4000 lux. Ditinjau dari pola pertumbuhan, kadar lipid meningkat pada fase stasioner. Pada fase stasioner mikroalga akan mengalami kondisi stress akibat kekurangan nutrien, sehingga mikroalga mikroalga akan merubah penggunaan karbon dari proses pertumbuhan menjadi cadangan energi seperti lipid (Novaryatiin dkk, 2015). Mikroalga cenderung membentuk lipid sebagai cadangan makanan pada kondisi stress (Wijoseno, 2011). Pada fase eksponensial kadar lipid mikroalga akan lebih kecil, karena nutrien yang dibentuk pada sel mikroalga masih dimanfaatkan untuk pertumbuhan sel (Harahap dkk, 2013).



Gambar 4. Lipid Mikroalga *Scenedesmus* sp. dengan Volume Limbah Cair Tahu pada Intensitas Cahaya (A) 1000 Lux, (B) 2000 Lux, (C) 3000 Lux, (D) 4000 Lux

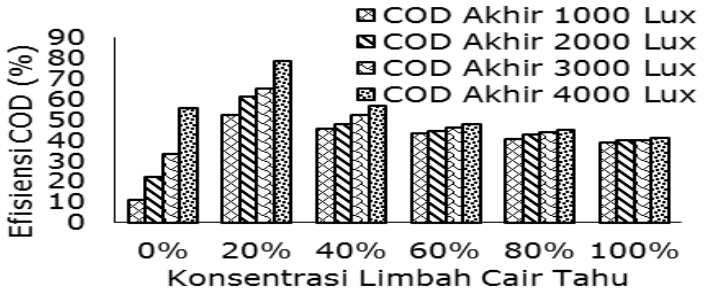
Dari Gambar 4. dapat dilihat bahwa semakin tinggi intensitas cahaya maka lipid mikroalga *Scenedesmus* sp. yang dihasilkan juga semakin besar Hasanudin (2012), menyatakan bahwa semakin tinggi intensitas cahaya maka akan semakin meningkat pula produktifitas lipid mikroalga. Menurut Widianingsih dkk (2011), Aktifitas enzim Asetil KoA Karboksilase dipengaruhi oleh intensitas cahaya. Enzim Asetil KoA Karboksilase adalah prekursor bagi pembentukan lipid. Menurut Rini (2012) biosintesis lipid sel mikroalga dimulai oleh kondensasi gliserol dengan tiga molekul asam lemak dengan bantuan katalis enzim lipase. Beberapa Asetil KoA, dua pasang elektron (2NADPH) dan satu energi ATP dibutuhkan dalam pembentukan asam lemak. Kebutuhan energi di klorofil dapat tersedia dari hasil fotosintesis. yaitu glukosa melalui proses glikolisis akan dipecah menjadi ATP, NADH dan Asam Piruvat. NADPH dapat tersedia dari lintasan respirasi pentosa fosfat, dan ATP dari glikolisis piruvat yang merupakan senyawa asal dari Asetil KoA. Asetil KoA karboksilase dan beberapa enzim digunakan sebagai target dalam peningkatan produksi lipid. Berdasarkan Gambar 5. dapat dilihat bahwa jumlah sel mikroalga memiliki kaitan dengan lipid yang dihasilkan. Pertumbuhan mikroalga mengalami penurunan akan tetapi kadar lipid yang dihasilkan lebih besar. Penyimpanan produk dalam bentuk lipid seiring dengan penurunan pertumbuhan sel (Widianingsih dkk, 2011).



Gambar 5. Hubungan Jumlah Mikroalga *Scenedesmus* sp. dengan Lipid yang Dihasilkan pada Volume Limbah Cair Tahu 20% dengan Intensitas Cahaya) 4000 Lux

3.4 Efisiensi Penyisihan COD

Berdasarkan Gambar 6. dapat dilihat bahwa kadar COD limbah cair tahu berkurang seiring meningkatnya intensitas cahaya. Menurut Hasanudin (2012), Cahaya merupakan faktor terpenting dalam kehidupan mikroalga, pertumbuhan sel mikroalga *Scenedesmus* sp. semakin meningkat seiring dengan meningkatnya intensitas cahaya. Kandungan COD yang ada di dalam limbah cair tahu berbanding terbalik dengan pertumbuhan sel mikroalga. Kandungan COD semakin menurun maka jumlah mikroalga semakin meningkat. Hal ini disebabkan terjadi proses pemanfaatan zat-zat organik dalam limbah sebagai nutrien bagi pertumbuhan sel-sel mikroalga (Aulia dkk, 2017).



Gambar 6. Efisiensi Penyisihan COD oleh Mikroalga *Scenedesmus* sp. pada Berbagai Volume Limbah Cair Tahu dan Intensitas Cahaya (A) 1000 Lux, (B) 2000 Lux, (C) 3000 Lux, (D) 4000 Lux

Tabel 3. Perbandingan Konsentrasi COD Akhir Pengolahan dengan Baku Mutu

Volume limbah Cair Tahu	Konsentrasi Akhir (mg/L)	Baku Mutu (PerMenLH No 5 Tahun 2014)
20%	250	300 mg/L
40%	1000	300 mg/L
60%	1750	300 mg/L
80%	2050	300 mg/L
100%	3200	300 mg/L

Berdasarkan hasil penelitian bahwa efisiensi penyisihan tertinggi terjadi pada intensitas cahaya 4000 Lux. Konsentrasi akhir air limbah berdasarkan parameter COD pada 20% limbah sudah memenuhi Baku Mutu Air Limbah Bagi Usaha Dan /Atau Kegiatan Industri Kedelai Permen LH RI No. 5 Tahun 2014.

4. KESIMPULAN

Kondisi optimal pertumbuhan dan peningkatan kadar lipid serta penyisihan COD mikroalga *Scenedesmus* sp. diperoleh pada volume limbah cair tahu 20% dengan intensitas cahaya 4000 Lux. Jumlah sel mikroalga *Scenedesmus* sp. yang diperoleh pada kondisi optimal yaitu 6.63 x 10^6 sel/ml dengan kadar 29.73 % diperoleh efisiensi penyisihan COD yaitu 78.26 %.

DAFTAR PUSTAKA

Amini, S dan Susilowati, R (2010) Produksi Biodiesel dari Mikroalga *Botryococcus braunii*, *Squalen*, 5 (1), 23-32.

Aulia, M., Istirokhatun, T., dan Sudarno (2017) Penyisihan Kadar COD dan Nitrat Melalui Kultivasi *Chlorella* sp. dengan Variasi Konsentrasi Limbah Cair Tahu, *Jurnal Teknik Lingkungan*, 6 (2), 1-9.

Chisti, Y (2007) Biodiesel From Microalgae, *Biotechnology Advances*, 25, 294-306.

Daniyati, R., Yudoyono, G., dan Rubiyanto, A (2012) Desain *Closed Photobioreaktor Chlorella Vulgaris* sebagai Mitigasi CO_2, *Jurnal Sains dan Seni*, 1, 1-5.

Sekretariat Jendral (2015) *Out look Energi Indonesia 2015*, Dewan Energi Nasional, Jakarta.

Fadilla, Z (2010) Pengaruh Konsentrasi Limbah Cair Tahu terhadap Pertumbuhan Mikroalga *Scenedesmus* sp., *Skripsi*, Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Syarif Hidyatullah, Jakarta.

Gunawan (2010) Keragaman dan Karakterisasi Mikroalga dari Sumber Air Panas di Jawa Barat yang Berpotensi sebagai Sumber Biodisel, *Tesis*, Institut Pertanian Bogor.

Hadiyanto dan Azim, M. (2012) *Mikroalga sumber pangan dan energi masa depan*, Press Semarang, Semarang.

Hadiyanto (2013) Valorisasi Mikroalga untuk Pengolahan Limbah Cair Kelapa Sawit dan Sebagai Sumber Energi dan Pangan Altertanif, *Prosiding Rekayasa Kimia & Proses*, Universitas Diponegoro, 28 – 29 Agustus 2013.

Harahap, P.S., Susanto, A.B., Susilaningsih, D., dan Delicia, YR (2013) Pengaruh Subtitusi Limbah cair Tahu untuk Menstimulasi Pembentukan Lipida pada *Chlorella* sp., *Journal Of Marine Research*, 2 (1) , 80-86.

Hasanudin, M (2012) Pengaruh Perbedaan Intensitas Cahya terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Scenedesmus* sp. yang Dibudidayakan pada Limbah Cair Tapioka, *Skripsi*, UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Imelda, S., Claudia, C., Lambui, O dan Suwastika, I, N (2018) Kultivasi Mikroalga Isolat Lokal Pada Medium Ekstrak Tauge, *Journal of Science and Technology,* Vol 7 (2), 148 – 157.

Marjakangas, J. M., Chen, C., Lakaniemi, A., Puhakka, J., Whang, L., dan Chang, J (2015) Simultaneous nutrient removal and lipid production with *Chlorella vulgaris* on sterilized and non-sterilized anaerobically pretreated piggery wastewater, *Biochemical Engineering Journal*, 103, 177-184.

Novaryatiin, S., Priyanto, B., dan Masduki, A (2015) Isolasi dan Karakterisasi Potensi Biodiesel Mikroalga Air Tawar yang Dikoleksi dari Beberapa Perairan Umum Sekitar Tangerang dan Bogor, *Jurnal Surya Medika*, 1 (1), 23-30.

Prabowo, A. D (2009) Optimasi Pengembangan Media untuk Pertumbuhan *Chlorella* sp. pada Skala Laboratorium*, Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Putnarubun, C., Suratno, W., Adyaningsih, P., dan Haerudin, H (2008) Penelitian Pendahuluan Pembuatan Biodiesel dan Bioetanol dari *Chlorella sp* Secara Simultan, *Jurnal Sains MIPA*, 18 (1), 1- 6.

Putri, E.V (2012) Cultivation of Microalgae Using Palm Oil Mill Effluent for Lipid Production, *Thesis*. Universiti Teknologi Malaysia, Malaysia.

Richmond, A. Emeritus., dan Qiang, Hu (2013) *Handbook of Microalgal Culture : Biotechnology and Applied Phycology Second Edition*, Willey Blackwell, UK.

Rini (2012) Pengaruh Konsentrasi Limbah Cair Tahu Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Lipid *Chlorella* sp., *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maliki, Malang.

Salim, M.A (2013) Penggunaan Limbah Cair Tahu untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Produksi Biodisel dari Mikroalga *Scenedesmus* sp., *Skripsi*, UIN Sunan Gunung Djati, Bandung.

Salim, M.A (2015) Kadar Lipida *Scenedesmus* sp. pada Kondisi Miksotrof dan Penambahan Sumber Karbon dari Hidrolisat Pati Singkong, *Skripsi*, UIN Sunan Gunung Djati, Bandung.

Teresa, M. Mata, A. Martins dan Nidia (2010) Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 217-232.

Verma, N. H., Shakti, M., Amitesh, S., dan Bhartendu, N. M (2010) Prospective of biodiesel production utilizing microalgae as the cell factories: A comprehensive discussion, *African Journal of Biotechnology*, 9 (10), 1402–1411.

Widayat dan Hadiyanto (2015) Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu untuk Produksi Biomassa Mikroalga *Nannochloropsis* sp. sebagai Bahan Baku Biodiesel, *Reaktor*, 15 (4), 253-260.

Widianingsih., Hartati, R., Endrawati, H., Yudiati, E., dan Iriani, V. R (2011) Pengaruh Pengurangan Konsentrasi Nutrien Fosfat dan Nitrat terhadap Kandungan Lipid Total *Nannochloropsis oculata, Ilmu Kelautan*, 16 (1), 24-29.

Wijoseno, T (2011) Uji Pengaruh Variasi Media Kultur Terhadap Tingkat Pertumbuhan dan Kandungan Protein, Lipid, Klorofil, dan Karotenoid pada Mikroalga *Chlorella vulgaris Buitenzorg*, *Skripsi*, Universitas Indonesia, Jakarta.

Yoo, C., Jun, S., Lee, J., Ahn, C dan Oh, H (2010) Selection of Microalgae for Lipid Production Under High Levels Carbondioxide, *Bioresource Technology*, 101, S71–S74.