

KANDUNGAN PROKSIMAT *Chlorella sorokiniana* HASIL KULTUR PADA MEDIA LIMBAH CAIR TAHU

Hamza Mursandi, Devy Susanty*, Nurlela
Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Nusa Bangsa

*E-mail: dvsusanty@gmail.com

Abstract: *Chlorella sorokiniana* is a microalgae that has many benefits and is able to grow in waste. This study aimed to determine the growth of *C. sorokiniana* in tofu liquid waste and its proximate content. The proximate contents tested were water content, ash content, fat content, protein content, and carbohydrate content. The water content, protein content, and fat content tests were carried out based on SNI 01-2891-1992, ash content test was based on AOAC 2012;942.05, and carbohydrate content was determined by the difference method. *C. sorokiniana* can grow in tofu liquid waste, with peak growth on the 6th day. The proximate content of *C. sorokiniana* obtained in the peak phase had a water content of 55.69%, an ash content of 5%, a protein content of 10.48%, a fat content of 12%, and a carbohydrate content of 16.83%.

Keywords : *Chlorella sorokiniana*, carbohydrates, protein, fat

Abstrak: *Chlorella sorokiniana* merupakan salah satu mikroalga yang memiliki banyak manfaat dan mampu tumbuh pada limbah. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pertumbuhan *C. sorokiniana* pada limbah cair tahu dan kandungan proksimatnya. Kandungan proksimat yang diuji yaitu kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein, dan kadar karbohidrat. Pengujian kadar air, kadar protein dan kadar lemak dilakukan berdasarkan SNI 01-2891-1992, kadar abu berdasarkan AOAC 2012: 942.05 dan kadar karbohidrat ditentukan dengan metode *by Difference*. *C.sorokiniana* dapat tumbuh pada limbah cair tahu dengan puncak pertumbuhan di hari ke-6. Kadar proksimat *C.sorokiniana* yang diperoleh pada fase puncak memiliki kadar air 55,69%, kadar abu 5%, kadar protein 10,48%, kadar lemak 12%, dan kadar karbohidrat 16,83%

Kata Kunci : *Chlorella sorokiniana*, karbohidrat, protein, lemak

PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan mikroorganisme yang dapat melakukan fotosintetik dan dapat berupa uniselular maupun multiselular. Mikroalga tumbuh dengan cepat dan dapat menggunakan limbah untuk sumber nutrisinya. Mikroalga

memiliki keragaman spesies sekitar 200.000-800.000 (Hadiyanto & Azim, 2012). Salah satu spesies mikroalga yang sudah diteliti yaitu *Chlorella sorokiniana*.

C. sorokiniana merupakan salah satu mikroalga yang memiliki kandungan karbohidrat, vitamin, protein (Kumar dkk. 2012), dan lipid (Ramanna dkk. 2014).

Penelitian Cantú-Bernal dkk. (2020) menunjukkan *C. sorokiniana* memiliki 45,54% (455,4 mg/g) abu, 30,77% (307,7 mg/g) protein, 1,15% (11,5 mg/g) lemak, dan 22,53% (225,3 mg/g) karbohidrat yang dikultur pada larutan nutrisi LC (Lopez-Chuken dkk. 2010). Selain itu, *C. sorokiniana* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti, alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid dan saponin (Mursandi, 2021). Salah satu senyawanya adalah *imidazole [2,1-b]thiazole,5-(3-indolyl)* sebesar 1,10% yang dimanfaatkan sebagai anti kanker (Sbenati dkk. 2021); anti mikroba (Morigi dkk. 2018) dan terdapat senyawa antioksidan *butylated hydroxyl toluene* (BHT) sebesar 0,83%. Perbedaan kandungan nutrisi ini dipengaruhi oleh media yang digunakan pada saat perbanyakan sel mikroalga. *C. sorokiniana* dapat hidup secara mikсотropik dengan berbagai sumber karbon dan nitrogen, sehingga dapat dikultur menggunakan media limbah. Ramanna dkk. (2014) dari hasil penelitiannya menunjukkan bahwa *C. sorokiniana* dapat tumbuh di air limbah.

Penggunaan limbah cair tahu sebagai media pertumbuhan merupakan salah satu alternatif. Pada penelitian Rini (2012) konsentrasi media limbah cair tahu 25% menunjukkan kelimpahan mikroalga tertinggi. Limbah cair tahu memiliki kandungan unsur hara nitrogen 1,24%, P₂O₅ 5,54%, K₂O 1,34% dan C-Organik 5,803% yang merupakan unsur hara esensial (Asmoro, 2008) yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi mikroalga. Medium pembiakan mikroalga harus memiliki nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangannya (Syaichurrozi & Jayanuddin, 2016). Berdasarkan hal tersebut perlu diuji kandungan proksimat *C. sorokiniana* yang dikultur pada media limbah cair tahu.

METODE

Persiapan Media Limbah Tahu Cair

Air limbah tahu yang digunakan sebagai medium *C. sorokiniana* berasal

dari pabrik tahu kulit Desa Keranji, Ciriung, Kabupaten Bogor. Limbah yang diambil merupakan limbah segar hasil pengepresan tahu dengan pH awal 4. Limbah cair tahu diambil sebanyak 10 L dengan cara menghomogenkan limbah yang kemudian diambil dengan kedalaman setengah dari tinggi drum tersebut. Kemudian limbah tersebut ditambahkan larutan NaOH 2N untuk mencapai pH pertumbuhan mikroalga yaitu 6-8.

Kultivasi Mikroalga *C. sorokiniana* pada Limbah Cair Tahu

Sebanyak 4,6 mL stok isolat *C. sorokiniana* dimasukkan ke dalam limbah cair tahu 1000 mL dengan konsentrasi 25%. Jumlah sel *C. sorokiniana* dihitung setiap hari menggunakan *haemocytometer*.

Perhitungan Kelimpahan Sel *C. sorokiniana*

Perhitungan kelimpahan sel *C. sorokiniana* dilakukan dengan menggunakan *Haemocytometer Neubauer Improved* (Irianto, 2011).

Pengumpulan Biomassa *C. sorokiniana*

Biomassa sel mikroalga dipanen atau dikumpulkan pada pertumbuhan optimum, kemudian disaring menggunakan vakum sehingga terpisah antara media dengan alga, lalu dikeringkan pada suhu ruang sehingga didapatkan biomassa kering.

Pengujian Proksimat

a. Pengujian Kadar Air (SNI 01-2891-1992)

Biomassa *C. sorokiniana* sebanyak 1 g ditimbang, dikeringkan pada oven selama 3 jam dengan suhu 105°C. Setelah itu, biomassa ditimbang kembali hingga didapat bobot konstan.

b. Pengujian Kadar Abu (AOAC 2012: 942.05)

Biomassa sebanyak 2 g dipanaskan dengan alat tanur pada suhu 600°C selama 2 jam, didinginkan, kemudian ditimbang.

c. Pengujian Kadar Protein (SNI 01 – 2891 – 1992)

Pengujian kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode Kjeldahl. Biomassa didestruksi dengan selen dan asam sulfat pekat. Kemudian dilakukan distilasi dan dilanjutkan proses titrasi dengan HCl.

d. Pengujian Kadar Lemak (SNI 01-2891-1992)

Ekstraksi lemak dilakukan dengan soxhlet menggunakan pelarut heksana selama 6 jam. Ekstrak didestilasi dan dikeringkan, lalu ditimbang hingga bobot tetap.

e. Pengujian Kadar Karbohidrat (Sudarmadji dkk. 1989)

Pada pengujian kadar karbohidrat total metode *by Difference*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

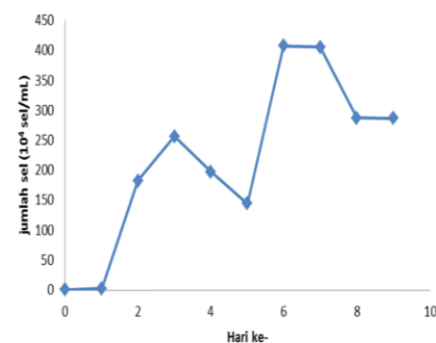
Kepadatan Sel *C. Sorokiniana*

Fase pertumbuhan *C. Sorokiniana* dapat dilihat dari kepadatan selnya (Simamora, 2017) dan dipengaruhi oleh nutrisi media. Pada penelitian ini, *C.sorokiniana* dikultivasi pada media limbah cair tahu (LCT) pada konsentrasi 25% (Rini, 2012). Penggunaan media limbah tahu didasarkan pada keberadaan zat organik dan unsur makro seperti N, P, K (Hariyadi, 2002).

Pada penggunaan media LCT 25% ini, fase lag terlihat singkat yang terbukti dengan cukup tingginya kepadatan sel di hari pertama kultur, yaitu 30.000 sel/mL (Gambar 1). Artinya, spesies ini memiliki kemampuan adaptasi yang baik sehingga

cepat mengalami pembelahan sel (Kawaroe, 2010). Kemampuan beradaptasi ini dipengaruhi oleh nutrisi dalam media yang digunakan untuk pertumbuhan *C.sorokiniana*. Jika nutrisi tersebut tidak tersedia atau ada dalam jumlah besar, maka dapat menghambat pertumbuhan mikroalga (Aulia, 2017). Sehingga dapat dikatakan bahwa *C.sorokiniana* memiliki kemampuan yang baik dalam adaptasi dengan media LCT.

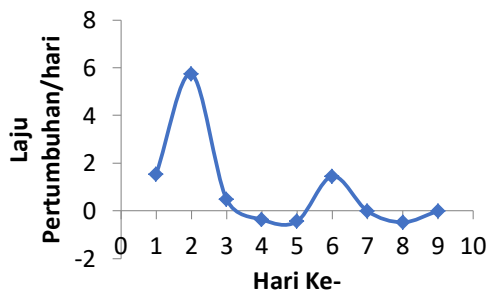
Fase eksponensial terjadi di hari ke-6 dengan kepadatan sel sebesar 4.073.500 sel/mL (Gambar 1). Hari ke-7 dapat dianggap sebagai fase stasioner karena penurunan kepadatan sel pada hari sebelumnya tidak jauh berbeda yaitu 4.056.500 sel/mL. Jarak fase stasioner dan fase penurunan umumnya relatif singkat. Untuk dapat mengamati fase ini disarankan untuk melakukan pengamatan kepadatan sel beberapa kali dalam sehari (Simamora, 2017). Fase penurunan terjadi pada hari ke-8 yaitu 2.873.500 sel/mL. Kepadatan sel yang mulai menurun ini disebabkan karena nutrisi yang ada pada limbah tersebut sudah mulai berkurang seiring dengan waktu kultur.



Gambar 1. Grafik Kepadatan Sel *C.sorokiniana*

Kepadatan sel ini dihitung dengan *haemocytometer* sehingga dapat dilihat laju pertumbuhan sel *Chlorella sorokiniana* seperti Gambar 2. Berdasarkan data tersebut laju pertumbuhan tertinggi terdapat pada hari ke-2. Hal ini dikarenakan adaptasi yang baik dan kesediaan nutrisi yang masih banyak pada media, sehingga *C. sorokiniana* dapat memanfaatkan dengan

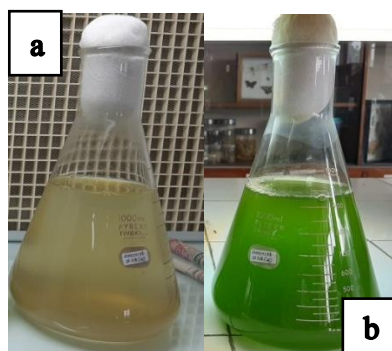
maksimal. Intensitas cahaya, suhu, nutrient pada media merupakan faktor penting yang harus dikondisikan dengan baik untuk pertumbuhan yang optimal karena fisiologi mikroalga dipengaruhi faktor tersebut (Fakhri & Arifin, 2016).



Gambar 2. Laju Pertumbuhan *C. sorokiniana*

Pada penelitian ini, intensitas cahaya untuk *C. sorokiniana* menggunakan 2 buah lampu dengan intensitas 3000 lux. Suhu optimal pertumbuhan mikroalga *C. sorokiniana* 35°C-40°C (De-Bashan dkk. 2008). Menurut Rahmawati (2016), peningkatan suhu dapat mempengaruhi laju fotosintesis (Rahmawati, 2016).

Inokulasi *C. sorokiniana* menggunakan biakan pada hari ke-6 karena fase pertumbuhan yang signifikan terjadi saat hari ke-6. Pada kondisi ini pH sangat mempengaruhi pertumbuhan *C. sorokiniana*, pH yang digunakan untuk pertumbuhan berkisar antara pH 7-9 (Mufidah dkk. 2017). Kultivasi dilakukan dengan inokulasi dengan melihat kelimpahan pada hari ke-9 dan hasil kultivasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kultivasi *C. sorokiniana* (a) T-0 hari (b) T-9 hari

Kadar Air

Pengujian kadar air mengacu pada SNI 01-2891-1992. Kadar air pada *C. sorokiniana* yaitu 55,69% karena biomassa yang diuji merupakan biomassa hasil panen yang belum dikeringkan. Selain itu, tingginya kadar air juga diakibatkan oleh lingkungan tumbuhnya yang berupa cairan/ lingkungan basah (Widjaja dkk. 2009). Penelitian Agwa dkk. (2013) pada *Chlorella* memiliki kandungan kadar air pada sampel basah sebesar 6,32% dan sampel kering sebesar 3,37% pada kondisi heterotropik hasil kultur pada media campuran limbah kotoran sapi dan air tambak. Penelitian lainnya Mursandi (2021) pada *Chlorella sorokiniana* memiliki kandungan sampel kering sebesar 7,33% hasil kultur pada media limbah cair tahu.

Kadar Abu

Pengujian kadar abu mengacu pada AOAC 2012:942.05. Hasil yang diperoleh dari pengujian kadar abu adalah sebesar 5%. Pada penelitian Wildd dkk. (2019) pengujian kadar abu yang didapatkan pada media TAP (Tris Asetat Posfat) adalah sebesar 16%. Penelitian Agwa, dkk. (2013) pada *Chlorella* memiliki kandungan kadar abu sebesar 2,65% pada kondisi heterotropik hasil kultur pada media campuran limbah kotoran sapi dan air tambak. Kadar abu berhubungan dengan mineral suatu bahan. Mineral dalam bahan dapat berupa garam anorganik dan organik (Sudarmadji, 2010).

Kadar Protein

Pengujian kadar protein mengacu pada SNI 01-2891-1992. Kadar protein *C. sorokiniana* yang diuji menggunakan metode Kjeldahl adalah 10,48%. Pada penelitian Tejano dkk. (2019) kandungan protein isolat *C. sorokiniana* sebesar 65,08 ± 0,88% dengan rendemen 4,40% (b/b biomassa awal basis kering). Nitrogen berperan dalam biosintesis protein (Christiani dkk. 2017; Cai dkk. 2013; Hu, 2013; Wijoseno, 2011) dan

mekanisme seluler (Zhang, 2014) pada mikroalga.

Nitrogen yang dimanfaatkan mikroalga dapat berupa garam nitrat dan urea. Keberadaan nitrat pada media dapat meningkatkan pertumbuhan maupun biomassa mikroalga (Sharma dkk. 2017). Berdasarkan penelitian Mursandi (2021) kandungan makonutrien dan mikronutrien yang rendah mikroalga *Chlorella sorokiniana* dapat memanfaatkan nutrisinya dengan baik untuk pertumbuhan (Tabel 1).

Tabel 1. Makronutrien dan Mikronutrien Limbah Cair Tahu

Makronutrien			Mikronutrien				
N (%)	P (%)	K (%)	Fe (mg/L)	Na (%)	Ca (%)	Cu (mg/L)	Mg (mg/L)
0,02	0,01	0,07	<0,02	0,001	0,01	0,07	<0,01

Kadar Lemak

Pengujian kadar lemak mengacu pada SNI 01-2891-1992. Kadar lemak *C.sorokiniana* yang diuji menggunakan metode sokhlet adalah 12%. Pada penelitian Dahiya dkk. (2021) *C. sorokiniana* menghasilkan kadar lemak sebesar 17,3% yang dikultur pada media BG-11. Selanjutnya penelitian Hamidian dkk. (2021) produktivitas lipid *C. sorokniiana* pada limbah susu yaitu, 79,962 mg/L perhari. Pada mikroalga, lemak terdapat dalam bentuk ester gliserol dan asam lemak C₁₄-C₂₂ (Borowitzka, 1988). Pemanfaatan mikroalga terkait kandungan lipid umumnya sebagai bahan baku biofuel (Assadad dkk. 2010; Widjaja, 2009). Biosintesis lipid pada mikroalga umumnya saat fase stasioner sebagai cadangan makanan (Wijoseno, 2011). Kandungan lipid pada fase eksponensial umumnya sedikit karena digunakan untuk pertumbuhan (Harahap dkk. 2013).

Menurut Hasanudi (2013), produktivitas lipid pada mikroalga dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang semakin tinggi yang mempengaruhi

aktivitas enzim asetil koA karboksilase. Biosintesis lipid pada mikroalga membutuhkan asetil-CoA sebagai titik awal pembetukkan lipid (Widianingsih dkk. 2011). Menurut Wijihastuti (2011) keterbatasan nitrogen atau silika, dapat meningkatkan kandungan lipid.

Kadar Karbohidrat *by Difference*

Pada pengujian karbohidrat *by difference*, hasil yang diperoleh adalah sebesar 16,83%. Kadar ini didapatkan dari hasil pengurangan 100% dengan kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak sehingga kadar karbohidrat tergantung pada faktor pengurangan. Hal ini karena karbohidrat sangat berpengaruh pada zat gizi lainnya. Kandungan karbohidrat pada mikroalga berbeda-beda, tergantung pada spesies dan kondisi lingkungan hidupnya (Basmal, 2008). Karbohidrat pada mikroalga terletak pada dinding sel dan sitoplasma. Sekitar 4–7% dalam bentuk selulosa dan sekitar 51–60% dalam bentuk gula netral non selulosa (VanderGheynst, 2008). Mikroalga mempunyai kandungan karbohidrat yang hampir sama dengan kandungan lemaknya. Dengan demikian, mikroalga memiliki sebagai sumber bahan baku bioetanol juga sama dengan potensi mikroalga sebagai sumber bahan baku biodiesel (Assadad dkk. 2010).

KESIMPULAN

C.sorokiniana dapat tumbuh pada limbah cair tahu konsentrasi 25% dengan puncak pertumbuhan dihari ke-6. Kadar proksimat *C.sorokiniana* yang diperoleh pada fase puncak memiliki kadar air 55,69%, kadar abu 5%, kadar protein 10,48%, kadar lemak 12%, dan kadar karbohidrat 16,83%

DAFTAR RUJUKAN

- Agwa, O.K., Ibe, S.N., & Abu, G.O. (2013). Heterotrophic Cultivation of *Chlorella* sp. Using Different Waste Extract. *International Scholars Journals*. University of Port Harcourt : Nigeria.
- AOAC. (2005). Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemist. Virginia USA : Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- AOAC. (2012). Official Methods of Analysis of AOAC International, 19th ed, USA
- Aulia, M. (2017). Penyisihan Kadar COD dan Nitrat Melalui Kultivasi *Chlorella* sp. Dengan Variasi Konsentrasi Limbah Cair Tahu. *Journal Teknik Lingkungan*
- Asmoro, Y. (2008). Pemanfaatan Limbah Tahu Untuk Peningkatan Hasil Tanaman Petsai (*Brassica chinensis*). *Jurnal Bioteknologi*. Universitas Sebelas Maret : Surakarta
- Assadad, L., Utomo, B.S.B., & Sari, R.N. (2010). Pemanfaatan Mikroalga sebagai Bahan Baku Bioetanol. Squalen. Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.
- Basmal, J. (2008). Peluang dan tantangan pemanfaatan mikroalga sebagai biofuel. *Squalen Buletin Pascapanen Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 3 (1): 34–39.
- Borowitzka, M. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of biotechnology*. 70 (1), 313-321.
- [BSN].Badan Standardisasi Nasional. (1992). Mutu dan Cara Uji Biskuit (SNI 01 2973-1992). BSN. Jakarta
- Cai, T., Park, S.Y. & Li, Y. (2013). Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae:status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19, pp. 360–369.
- Cantú-Bernal S, Domínguez-Gámez M, Medina-Peraza I, Aros-Uzarraga E, Ontiveros N, Flores-Mendoza L, Gomez-Flores R, Tamez-Guerra P & González-Ochoa G. (2020). Enhanced Viability and Anti-rotavirus Effect of Bifidobacterium longum and Lactobacillus plantarum in Combination With *Chlorella sorokiniana* in a Dairy Product. *Front. Microbiol*. 11:87
- Christiani, C., Insan, A.I. & Hidayah, H.A. (2017). Pertumbuhan mikroalga hasil budidaya skala laboratorium dengan media kultur limbah cair tapioka. *Prosiding Seminar Nasional*. 7, pp. 17-18.
- Dahiya, S., Chowdhury, R., Tao, W., & Kumar, P. (2021). Biomass and Lipid Production by Two Algal Strains of *Chlorella sorokiniana* Grown in Hydrolysate of Water Hyacinth. *Indian Institute Of Tchnology Rookee : India*
- De-Bashan, L.E.; Trejo, A.; Huss, V.A.R.; Hernandez, J.P.; & Bashan, Y. (2008). *Chlorella sorokiniana* UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from

- wastewater. *Bioresour. Technol.* 4980–4989.
- Fakhri, M., & Arifin. N.B. (2016). Karakteristik Pertumbuhan *Tetraselmis* sp. Dan *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Perikanan.* 18(1):15-16.
- Hamidian, N., Hajar, & Zamani. (2021). Potential *Chlorella sorokiniana* Cultivated in Dairy Wastewater for Bioenergy and Biodiesel Production. *BioEnergy Research.* (12).
- Harahap, P. S., Susanto, A.B., Susilaningih, D., & Delicia, Y.R. (2013). Pengaruh Substitusi Limbah Cair Tahu untuk Menstimulasi Pembentukan Lipida pada *Chlorella* sp. *Journal of Marine Research.*
- Hardiyanto & Azim, M. (2012). Mikroalga: Sumber Pangan dan Energi Masa Depan. Semarang : UPT UNDIP Press
- Hariyadi, P. (2002). Pemanfaatan Limbah Cair Tahu Untuk Memproduksi Ingredien Pangan Fungsional. Karya Ilmiah: IPB, Bogor
- Hasanudin, M. (2013). Pengaruh Perbedaan Intensitas Cahaya terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Scenedesmus* sp. Yang Dibudidayakan pada Limbah Cair Tapioka. Skripsi. UIN Maliki : Malang
- Hu, Q. (2013). Environmental effects on cell composition. In : Richmond A, Hu Q, editors *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology.* 2nd ed. *Wiley Blackwell, West Sussex,* pp. 114:122.
- Irianto, D. (2011). Pemanfaatan Mikroalga Laut *Scenedesmus* sp Sebagai Penyerap Bahan Kimia Berbahaya Dalam Air Limbah Industri. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Kawaroe, M. (2010). Potensi Mikroalga dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar. Bogor: IPB Press.
- Kumar, K.; Dasgupta, C.N.; Nayak, B.; Lindblad, P., & Das, D. (2012). Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresour. Technol.,* 102, 4945–4953
- López-Chuken, U. J., Young, S. D., & Guzmán-Mar, J. L. (2010). Evaluating a 'biotic ligand model' applied to chloride-enhanced Cd uptake by *Brassica juncea* from nutrient solution at constant Cd²⁺ activity. *Environ. Technol.* 31, 307–318
- Mufidah, A., Agustono, Sudarno, & D.D. Nindarwi. (2017). Teknik Kultur Mikroalga *Chlorella* sp. Skala Laboratorium dan Intermediate di Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo Jawa Timur. *Journal of Aquaculture and Fish Health.* 7(2):50-56.
- Mursandi, H. (2021). Aktivitas Antioksidan dari Ekastrak Etanol Mikroalga *Chlorella sorokiniana* Hasil Kultur Pada Media Limbah Cair Tahu. [Skripsi]. Bogor : Universitas Nusa Bangsa.
- Rahmawati, L.M. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Identifikasi Senyawa Steroid Isolate Hasil KLTP Fraksi Petroleum Eter Mikroalga *Chlorella* sp. Menggunakan Uv-Vis. [Skripsi]. Fakultas Sains dan

- Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Ramanna, L.; Guldhe, A.; Rawat, I. & Bux, F. (2014). The optimization of biomass and lipid yields of *Chlorella sorokiniana* when using wastewater supplemented with different nitrogen sources. *Bioresour. Technol.*, 168, 127–135.
- Rini, I.S. (2012). Pengaruh Konsentrasi Limbah Cair Tahu Terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipid *Chlorella sp.* UIN Maliki : Malang
- Sbenati, R. M., Semreen, M. H., Semreen, A. M., Shehata, M. K., Alsaghir, F. M., & El-Gamal, M. I. (2021). Evaluation of imidazo[2,1-b]thiazole-based anticancer agents in one decade (2011–2020): Current status and future prospects. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 29, 115897. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115897>
- Sharma, J., Kumar, S., Sharma, P., Gupta, S., Manju, T., Malyan, S. & Bishnoi, N. (2017). Effect of different nitrogen sources on growth of algal consortia. *Annals of Agri-bio Research.*, 22(2), pp. 150-153.
- Simamora, L.A. (2017). Kultivasi Mikroalga Sebagai Metode pengolahan dalam Menyisihkan Kadar COD dan Amonium pada Limbah Cair Tahu . UNDIP : Semarang
- Sudarmadji, S; B. Haryono & Suhardi. (1989). Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Penerbit Liberty. Yogyakarta.
- Sudarmadji. (2010). Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian: Yogyakarta.
- Syaichurrozi, I., & Jayanudin. J. (2016). Potensi Limbah Cair Tahu Sebagai Media Tumbuh *Spirulina plantesis*. *Jurnal Integrasi Proses*. 6(2):64-68.
- Tejano, L.A., Peralta, J.P., Yap, E.E. S., Panjaitan, F.C.A. & Chang, Y.W. (2019). Prediction of Bioactive Peptides from *Chlorella sorokiniana* Proteins Using Proteomic Techniques in Combination with Bioinformatics Analyses. *International Journals of Molecular Sciences*.
- Vander-Gheynst, J. (2008). The future of microalgae in clean technologies. <http://www.ucop.edu/ott/industry/documents/VanderGheynstCleanTech>. Diakses pada tanggal 20 Februari 2021.
- Widianingsih., Hartati, R., Endrawati, H., Yudiarti, E., & Iriani, V. (2011). Pengaruh Pengurangan Konsentrasi Nutrien Fosfat dan Nitrat Terhadap Kandungan Lipid Total *Nannochloropsis oculata*. *Jurnal Ilmu Kelautan* Vol. 16 (1): 24-29
- Widjaja, A., Chien, C.-C., & Ju, Y.-H. (2009). Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 40 (1), 13–20.
- Wijihastuti. (2011). Optimasi lingkungan Tumbuh Mikroalga dari Kawah Ratu Sukabumi yang Berpotensi sebagai Sumber biodiesel: Bogor. ITB
- 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

Zhang, C., (2014). Essential functions of iron-requiring proteins in DNA replication, repair and cell cycle control. *Protein Cell*, 5, pp. 750-760.