

RESPONS PERTUMBUHAN *CHLORELLA* sp. TERHADAP PENAMBAHAN LIMBAH CAIR ORGANIK PADA MEDIUM KULTIVASI

Geraldi Rahanra*, Ivonne Telussa, Ervina Rumpakwakra, Alif Nur Laili Rachmah, Sabrianah Badaruddin, Tamaratritania Citta Trisnantari, Muhammad Ikhsan Taipabu

Program Studi Teknik Kimia, Universitas Pattimura
Jalan Ir. M. Putuhena, Kecamatan Teluk Ambon, Kota Ambon, Maluku 97233

*E-mail: geraldarahanra@gmail.com

Abstract

Sago and tofu processing wastewater contain nutrients with potential for *Chlorella* sp. cultivation. The wastewater was characterized for pH, Chemical Oxygen Demand (COD), total carbon (TC), total nitrogen (TN), and total phosphorus (TP), and then supplemented into a 28 ppt NaCl medium. Cultivation was conducted for 24 days at a light intensity of 5000 lux under a 12:12 h light-dark photoperiod. Tofu wastewater showed higher nutrient content than sago wastewater, with COD values of 23.49 mg/L and 12.65 mg/L, respectively. The maximum cell concentration was achieved in the control medium (MK) at 38×10^5 cells/mL (day 21), followed by tofu wastewater supplementation (MLT) at 34×10^5 cells/mL and sago wastewater supplementation (MLS) at 24.9×10^5 cells/mL. Wastewater supplementation did not enhance growth compared to the control, likely due to acidic pH, low C:N ratio, and high salinity that may have induced osmotic stress. However, both types of wastewater supported microalgal growth and demonstrated potential for integrating microalgae cultivation with sustainable wastewater treatment.

Keywords: *Chlorella* sp.; sago wastewater; microalgae; bioremediation

Abstrak

Limbah cair pengolahan sago dan tahu mengandung nutrisi yang berpotensi dimanfaatkan untuk kultivasi *Chlorella* sp. Karakterisasi meliputi pH, Chemical Oxygen Demand (COD), total karbon (TC), total nitrogen (TN), dan total fosfor (TP), kemudian limbah cair ditambahkan ke dalam medium NaCl salinitas 28 ppt. Kultivasi dilakukan selama 24 hari pada intensitas cahaya 5000 lux dengan fotoperiode 12:12 jam. Air limbah pengolahan tahu menunjukkan kandungan nutrisi lebih tinggi dibandingkan air limbah pengolahan sago, dengan COD masing-masing 23,49 mg/L dan 12,65 mg/L. Konsentrasi sel maksimum diperoleh pada medium kontrol (MK) sebesar 38×10^5 sel/mL (hari ke-21), diikuti perlakuan suplementasi air limbah pengolahan tahu (MLT) sebesar 34×10^5 sel/mL dan air limbah pengolahan sago (MLS) sebesar $24,9 \times 10^5$ sel/mL. Suplementasi limbah cair tidak meningkatkan pertumbuhan dibandingkan kontrol, yang dapat dipengaruhi oleh kondisi pH asam, rasio C:N yang rendah, serta salinitas tinggi yang berpotensi menimbulkan stres osmotik. Meskipun demikian, kedua jenis limbah tetap mampu mendukung

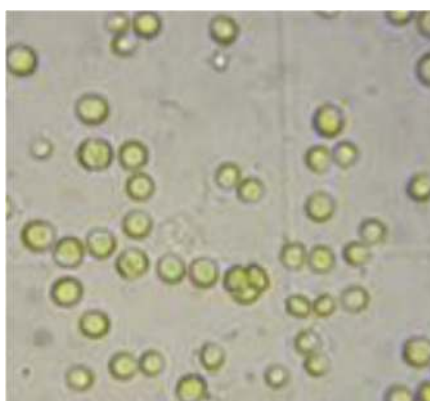
pertumbuhan mikroalga dan menunjukkan potensi integrasi kultivasi mikroalga dengan pengolahan limbah cair secara berkelanjutan.

Kata Kunci: *Chlorella sp.*, air limbah sagu, kultivasi mikroalga, bioremediasi

1. Pendahuluan

Perubahan iklim global dan meningkatnya tekanan terhadap keberlanjutan lingkungan telah mendorong berkembangnya paradigma industri yang lebih ramah lingkungan. Tantangan ini mempengaruhi pola produksi dan konsumsi secara global, khususnya pada sektor industri kimia yang kini dituntut untuk mengurangi ketergantungan pada bahan berbasis fosil dan beralih menuju proses serta produk yang lebih berkelanjutan [1]. Sebagai respons terhadap tuntutan tersebut, berbagai produk kimia konvensional mulai disubstitusi dengan bioproduk yang bersumber dari bahan terbarukan dan memiliki dampak lingkungan yang lebih rendah.

Dalam konteks ini, mikroalga muncul sebagai salah satu mikroorganisme yang potensinya semakin banyak dikaji dan dimanfaatkan. Mikroalga mampu memproduksi beragam bioproduk bernilai tinggi, seperti protein, pigmen, lipid, dan senyawa bioaktif lainnya, yang aplikasinya meluas pada berbagai sektor industri, termasuk farmasi, kosmetik, pangan, hingga energi terbarukan [2], [3]. Selain sebagai sumber bioproduk, mikroalga juga memiliki potensi besar dalam bidang pengolahan limbah, menjadikannya kandidat penting dalam pengembangan sistem bioproses terintegrasi. Salah satu spesies mikroalga yang banyak dikultivasi adalah *Chlorella sp.* Mikroalga ini dikenal memiliki laju pertumbuhan yang relatif tinggi, toleransi yang baik terhadap variasi kondisi lingkungan, serta kemampuan menyerap nutrisi anorganik dan organik secara efisien [4]. Oleh karena itu, *Chlorella sp.* dapat dimanfaatkan dalam pengolahan limbah, khususnya limbah cair domestik, baik sebagai kultur tunggal [5] maupun dalam bentuk konsorsium dengan bakteri [6].



Gambar 1. Sel *Chlorella sp.* pada pengamatan dibawah mikroskop cahaya [7]

Namun demikian, keberhasilan pemanfaatan mikroalga sangat bergantung pada sistem kultivasi yang digunakan. Beberapa pendekatan untuk meningkatkan efisiensi proses antara lain melalui rekayasa strain, optimasi sistem fotobioreaktor, dan rekayasa medium [8]. Secara umum, metode kultivasi mikroalga dapat dibedakan menjadi sistem terbuka dan sistem tertutup. Sistem terbuka, seperti kolam (open pond), memiliki

keunggulan dari sisi biaya investasi yang rendah, tetapi dibatasi oleh produktivitas yang relatif rendah, kebutuhan lahan yang luas, serta kerentanan terhadap kontaminasi. Sebaliknya, sistem tertutup berbasis fotobioreaktor mampu menghasilkan produktivitas biomassa yang lebih tinggi dan kondisi operasi yang lebih terkontrol, namun masih menghadapi kendala berupa konsumsi energi dan biaya operasi yang tinggi, sehingga implementasi skala besar secara ekonomis masih menjadi tantangan [9].

Salah satu strategi yang menjanjikan untuk menekan biaya operasi sekaligus meningkatkan keberlanjutan proses adalah integrasi kultivasi mikroalga dengan integrasi pengolahan limbah [9], [10]. Limbah cair umumnya mengandung nutrisi organik dan anorganik, seperti karbon (C), nitrogen (N), fosfor (P) yang dibutuhkan oleh mikroalga untuk pertumbuhan [11]. Dengan memanfaatkan limbah sebagai sumber nutrisi, proses kultivasi mikroalga tidak hanya berpotensi menghasilkan biomassa, tetapi juga berfungsi sebagai metode pengolahan limbah yang ramah lingkungan.

Meskipun pemanfaatan *Chlorella* sp. dalam pengolahan limbah cukup banyak telah dilaporkan [5], [6], [12], penelitian mengenai pemanfaatan limbah cair spesifik pada beberapa daerah seperti air limbah pengolahan sagu masih terbatas. Air limbah pengolahan sagu, yang dihasilkan dalam jumlah besar berpotensi menimbulkan permasalahan lingkungan apabila tidak dikelola dengan baik [13]. Air limbah pengolahan sagu mengandung senyawa organik dan mineral yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber nutrisi untuk mendukung pertumbuhan dan aktivitas metabolisme [14]. Selain limbah pengolahan sagu, industri skala rumah tangga seperti pengolahan tahu juga menghasilkan air limbah yang kaya nutrisi, terutama sumber N karena kandungan proteinnya yang tinggi [15]. Meskipun secara umum air limbah tersebut mengandung berbagai nutrisi yang mendukung pertumbuhan, terdapat kemungkinan adanya senyawa lain yang dapat menghambat pertumbuhan mikroalga. Oleh karena itu, diperlukan evaluasi respons *Chlorella* sp. terhadap penambahan limbah cair pengolahan sagu dan tahu ke dalam medium kultivasi. Penelitian ini diharapkan memberikan pemahaman mengenai respons pertumbuhan mikroalga terhadap suplementasi kedua jenis limbah tersebut sekaligus membuka peluang pengembangan sistem kultivasi mikroalga yang terintegrasi dengan pengolahan limbah secara lebih efisien dan berkelanjutan.

2. Metode Penelitian

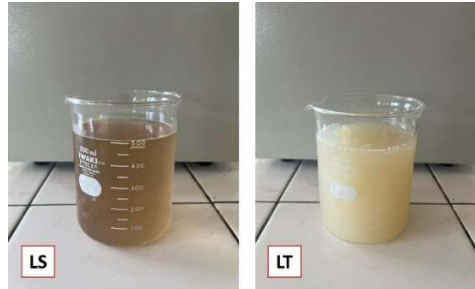
2.1. Bahan dan Mikroalga

Mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Chlorella* sp. yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Pattimura. Medium kultivasi berupa larutan NaCl dengan salinitas 28 ppt yang disuplementasi menggunakan limbah cair dari proses pengolahan tahu (LT) dan pengolahan sagu tradisional (LS) yang berasal dari UMKM di Kota Ambon. Limbah cair yang digunakan sebagai suplemen medium dikarakterisasi untuk mengetahui kandungan nutrisinya dan potensi pemanfaatannya dalam kultivasi mikroalga. Parameter yang dianalisis meliputi Chemical Oxygen Demand (COD), total karbon (TC), total nitrogen (TN), dan total fosfor (TP).

2.2. Pretreatment Limbah Cair

Limbah cair sagu dan limbah cair tahu yang telah dikumpulkan terlebih dahulu menjalani tahapan pretreatment sebelum digunakan sebagai suplemen media kultivasi.

Tahapan awal dilakukan melalui proses filtrasi menggunakan kain saring untuk memisahkan partikel padat dan kotoran tersuspensi yang terbawa dalam limbah. Selanjutnya, limbah cair disterilisasi secara termal dengan pemanasan pada suhu 80 °C selama 90 menit. Proses ini bertujuan untuk mengurangi beban mikroorganisme kontaminan tanpa menyebabkan degradasi signifikan terhadap kandungan nutrisi yang terdapat di dalam limbah.



Gambar 2. Limbah cair pengolahan sagu (LS) dan tahu (LT)

Setelah proses pemanasan selesai, limbah cair didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Limbah kemudian disaring kembali untuk memastikan tidak terdapat partikel hasil pengendapan selama proses pemanasan. Limbah cair yang telah melalui tahap pretreatment selanjutnya disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat pada suhu 4 °C hingga digunakan dalam proses kultivasi.

2.3. Prosedur Kultivasi

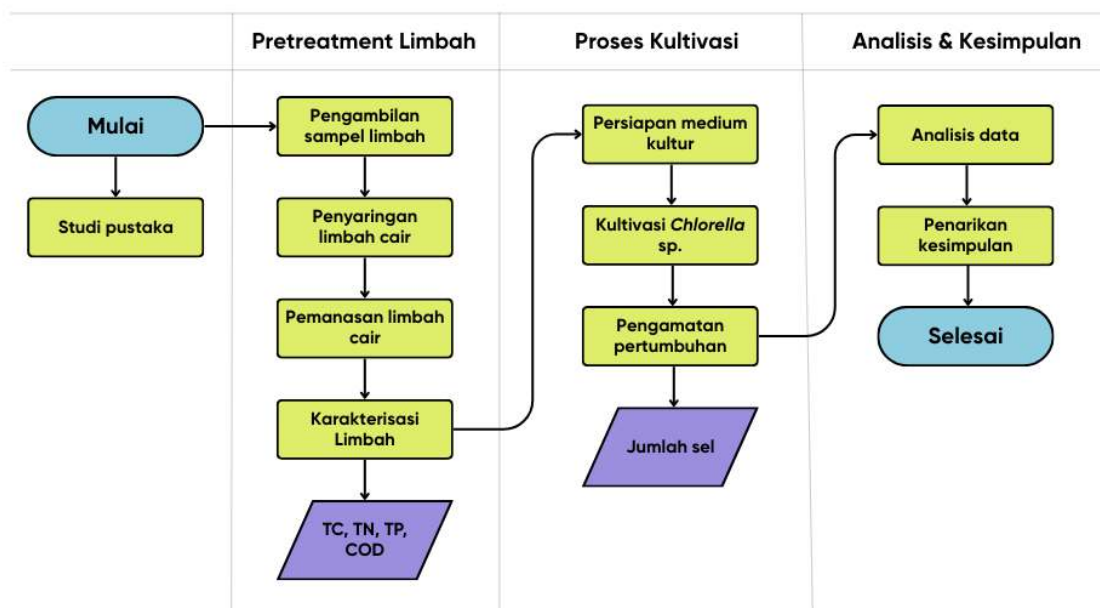
Kultur *Chlorella* sp. dilakukan dalam labu Erlenmeyer dengan volume kerja 500 mL pada kondisi steril dan diaerasi secara kontinu. Inokulasi dilakukan dengan kerapatan awal sebesar 5×10^5 sel/mL. Kultivasi berlangsung pada intensitas cahaya 5000 lux dengan fotoperiode 12:12 jam (terang:gelap). Penelitian ini menggunakan tiga perlakuan, yaitu:

- (1) medium larutan NaCl tanpa penambahan limbah cair sebagai kontrol (MK)
- (2) medium larutan NaCl dengan penambahan limbah cair pengolahan sagu (MLS), dan
- (3) medium larutan NaCl dengan penambahan limbah cair pengolahan tahu (MLT).

Penambahan limbah cair dilakukan sebanyak 1 mL atau setara dengan 0,2% (v/v) dari volume kultur. Kultivasi dilakukan selama 24 hari.

2.4. Analisis Pertumbuhan Mikroalga

Pertumbuhan *Chlorella* sp. dievaluasi berdasarkan perubahan kerapatan sel terhadap waktu kultivasi. Pengambilan sampel dilakukan setiap hari untuk menentukan kerapatan sel. Analisis kerapatan sel dilakukan melalui pengamatan mikroskopis.



Gambar 3. Diagram alir penelitian

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Karakterisasi Limbah Cair

Hasil analisis limbah cair menunjukkan bahwa kedua jenis limbah mengandung komponen yang berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi dalam kultivasi mikroalga. Secara umum, kandungan bahan organik pada limbah tahu (LT) lebih tinggi dibandingkan limbah sagu (LS), yang ditunjukkan oleh nilai COD sebesar 23,49 mg/L pada LT dan 12,65 mg/L pada LS.

Parameter lain seperti total karbon (TC), total nitrogen (TN), dan total fosfor (TP) juga menunjukkan nilai yang lebih tinggi pada LT dibandingkan LS. Perbedaan ini dipengaruhi oleh karakteristik proses produksi masing-masing industri. Pada pengolahan sagu tradisional, tahap ekstraksi pati dilakukan dengan metode pemerasan menggunakan air dalam volume relatif besar, sehingga menyebabkan pengenceran konsentrasi nutrisi dalam limbah cair. Sebaliknya, pada pengolahan tahu, proses fermentatif dan aktivitas mikroorganisme berkontribusi terhadap degradasi senyawa makromolekul menjadi bentuk yang lebih sederhana dan tetap terlarut dalam fase cair. Nilai pH kedua limbah berada pada kondisi asam, yang berpotensi memengaruhi ketersediaan nutrisi dan performa pertumbuhan mikroalga pada saat kultivasi.

Proses pretreatment yang dilakukan menyebabkan penurunan nilai COD hingga mencapai level yang sangat rendah. Kondisi ini berdampak langsung pada berkurangnya ketersediaan substrat organik yang dapat dimanfaatkan dalam pertumbuhan mikroalga. Meskipun penurunan COD berkontribusi terhadap peningkatan kualitas limbah, reduksi yang terlalu besar dapat membatasi suplai nutrisi organik bagi *Chlorella* sp. Di sisi lain, penggunaan limbah dengan COD yang terlalu tinggi dapat meningkatkan risiko kontaminasi bakteri heterotrof, serta turbiditas yang tinggi sehingga penerasi cahaya menjadi tidak optimal. Komposisi limbah cair yang dianalisis disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Contoh penulisan tabel

Parameter	Limbah Sagu	Limbah Tahu
pH	4.5	4.0
C (%)	0.05	0.11
N (%)	0.12	0.16
P (mg/L)	3.97	7.37
COD (mg/L)	12.65	23.49

Hasil yang dilaporkan oleh Elystia dkk. [16] menunjukkan bahwa penggunaan air limbah tahu dengan COD 2466 mg/L menghasilkan penurunan konsentrasi sel yang signifikan dibandingkan dengan medium yang telah diencerkan 40% (COD 1028 mg/L). Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat rentang COD optimum yang mendukung pertumbuhan mikroalga.

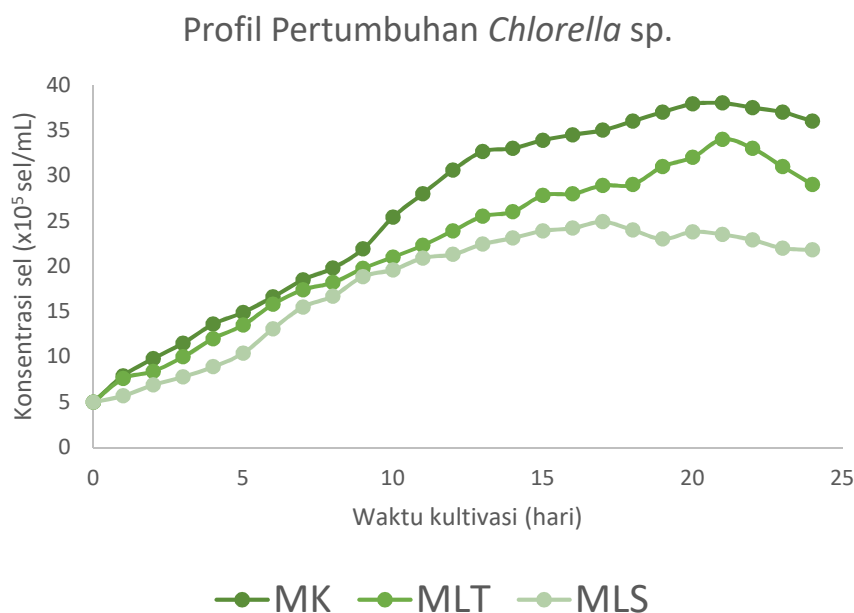
Selain konsentrasi karbon organik, total karbon (TC) dan total nitrogen (TN) menentukan rasio C:N, yang merupakan salah satu parameter kunci dalam regulasi pertumbuhan mikroalga. Beberapa penelitian melaporkan bahwa rasio C:N optimum untuk kultivasi *Chlorella* sp. berada pada kisaran 4-15 [17], [18]. Limbah cair pengolahan tahu dan sagu yang digunakan dalam penelitian ini memiliki konsentrasi karbon organik relatif rendah, sehingga rasio C:N yang terbentuk berada di bawah kisaran optimum tersebut. Keterbatasan karbon ini sebagian dikompensasi melalui suplai CO₂ dari udara selama proses aerasi. *Chlorella* sp. diketahui mampu tumbuh secara mikсотrofik, yaitu memanfaatkan karbon organik dan anorganik secara simultan. Namun demikian, apabila rasio C:N berada di bawah kondisi optimum dan suplai karbon tidak mencukupi, maka pertumbuhan biomassa tetap akan terhambat.

3.2. Profil Pertumbuhan *Chlorella* sp.

Kultivasi *Chlorella* sp. pada medium kontrol (MK) yang menggunakan larutan NaCl selama 24 hari menunjukkan pola pertumbuhan khas mikroalga, yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel seiring waktu. Konsentrasi awal saat inokulasi adalah 5×10^5 sel/mL dan meningkat hingga mencapai 36×10^5 sel/mL pada hari ke-24. Konsentrasi maksimum tercapai pada hari ke-21 sebesar 38×10^5 sel/mL, kemudian mengalami penurunan yang mengindikasikan transisi menuju fase kematian mikroalga (*death phase*).

Profil pertumbuhan *Chlorella* sp. pada medium kontrol (MK), medium dengan suplementasi limbah tahu (MLT), dan limbah sagu (MLS) ditampilkan pada Gambar 4.

Dalam pertumbuhan *Chlorella* sp. ini, salinitas menjadi parameter kunci karena memengaruhi keseimbangan osmotik sel, transport nutrisi, serta aktivitas enzimatik yang berkaitan dengan proses fotosintesis. Salinitas yang tidak optimal dapat menyebabkan tekanan osmotik intraseluler dan stabilitas membran sel, yang pada akhirnya berdampak pada laju pertumbuhan mikroalga.



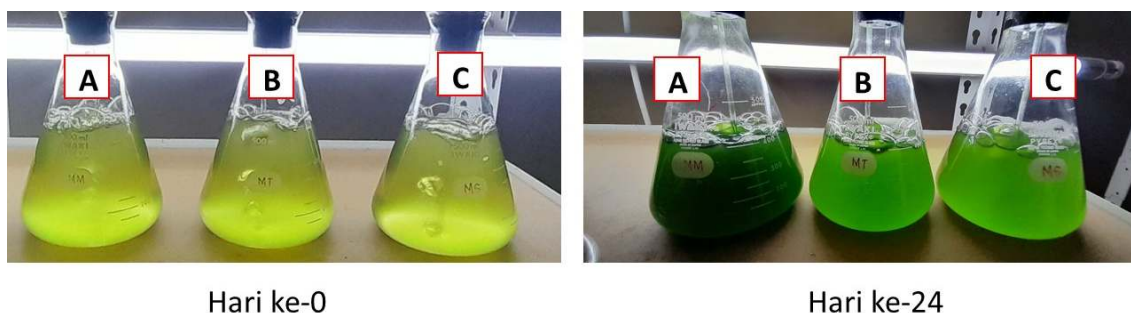
Gambar 4. Pertumbuhan sel *Chlorella* sp. pada medium kontrol (MK), suplementasi limbah tahu (MLT), dan suplementasi limbah sagu (MLS)

Biliani [19] melaporkan bahwa kultivasi *Chlorella* sp. pada salinitas tinggi (15–35 ppt) menghasilkan pertumbuhan yang lebih rendah dibandingkan pada salinitas rendah hingga moderat (1–3.5 ppt). Pada salinitas 3.5 ppt konsentrasi sel dapat mencapai $\geq 400 \times 10^5$ sel/mL [19]. Kondisi salinitas yang terlalu tinggi dapat menyebabkan stres osmotik, mengganggu homeostasis ionik, serta meningkatkan kebutuhan energi sel untuk mekanisme adaptasi, sehingga energi yang tersedia untuk pertumbuhan menjadi berkurang [20].

Dalam penelitian ini, medium larutan NaCl yang digunakan memiliki tingkat salinitas relatif tinggi, sehingga dapat memberikan efek inhibisi pada pertumbuhan *Chlorella* sp.. Kondisi ini kemungkinan berkontribusi terhadap konsentrasi sel yang lebih rendah dibandingkan laporan pada kondisi salinitas yang lebih optimal.

3.3. Respons Pertumbuhan terhadap Penambahan Limbah

Berdasarkan Gambar 4 dan Gambar 5, ketiga perlakuan (MK, MLT, dan MLS) menunjukkan adanya pertumbuhan selama periode kultivasi 24 hari. Secara visual, perubahan warna kultur menjadi hijau lebih pekat mengindikasikan peningkatan konsentrasi sel. Pada perlakuan MLT, konsentrasi sel mencapai 29×10^5 sel/mL pada hari ke-24, dengan konsentrasi maksimum sebesar 34×10^5 sel/mL pada hari ke-21. Pola pertumbuhan MLT relatif serupa dengan kontrol (MK), yaitu mengalami peningkatan hingga hari ke-21 kemudian menurun. Sebaliknya, pada perlakuan MLS, konsentrasi sel pada akhir kultivasi adalah $21,8 \times 10^5$ sel/mL, dengan konsentrasi tertinggi sebesar $24,9 \times 10^5$ sel/mL yang dicapai lebih awal, yaitu pada hari ke-17. Setelah hari ke-15, pertumbuhan pada MLS cenderung melambat dan memasuki fase stasioner lebih cepat dibandingkan MK dan MLT, kemudian diikuti penurunan konsentrasi sel setelah hari ke-17.



Gambar 5. Perbandingan visual kultur *Chlorella* sp. pada hari ke-0 dan hari ke-24

Secara umum, suplementasi medium dengan limbah cair sagu dan tahu menghasilkan pertumbuhan *Chlorella* sp. yang lebih rendah dibandingkan medium kontrol. Meskipun kandungan nutrisi pada limbah cair relatif memadai, faktor pembatas seperti pH yang bersifat asam (4,0–4,5) dapat menyebabkan kondisi suboptimal bagi pertumbuhan *Chlorella* sp., yang umumnya tumbuh optimal pada pH netral hingga sedikit basa. Perlakuan MLT menunjukkan performa pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan MLS. Hal ini konsisten dengan kandungan nutrisi LT yang lebih tinggi, terutama pada parameter karbon, nitrogen, fosfor, dan COD. Selain itu, proses pengolahan tahu yang melibatkan aktivitas mikroorganisme memungkinkan sebagian senyawa organik telah terdegradasi menjadi bentuk yang lebih sederhana, sehingga lebih mudah dimanfaatkan oleh mikroalga.

Meskipun demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa suplementasi limbah cair tetap mampu mendukung pertumbuhan *Chlorella* sp. Hal ini mengindikasikan potensi integrasi sistem kultivasi mikroalga dengan pengolahan limbah cair sebagai pendekatan bioremediasi sekaligus produksi biomassa yang bernilai tambah.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan limbah cair pengolahan sagu dan limbah cair pengolahan tahu memiliki kandungan nutrisi C, N, dan P sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi tambahan dalam kultivasi *Chlorella* sp.. LT menunjukkan nilai COD, TC, TN, dan TP yang lebih tinggi dibandingkan LS, sehingga secara komposisi memiliki potensi nutrisi yang lebih baik untuk mendukung pertumbuhan mikroalga.

Namun demikian, suplementasi limbah cair pada medium larutan NaCl salinitas 28 ppt tidak menghasilkan peningkatan pertumbuhan dibandingkan kontrol. Konsentrasi sel tertinggi pada medium kontrol (MK) mencapai 38×10^5 sel/mL (hari ke-21), sedangkan pada medium penambahan limbah tahu (MLT) dan limbah sagu (MLS) masing-masing mencapai 34×10^5 sel/mL dan $24,9 \times 10^5$ sel/mL. Perlakuan MLS menunjukkan fase stasioner lebih cepat dan konsentrasi akhir yang lebih rendah dibandingkan MK dan MLT. Pertumbuhan yang lebih rendah pada perlakuan dengan limbah cair diduga dipengaruhi oleh beberapa faktor pembatas, antara lain pH limbah yang bersifat asam (4,0–4,5), rasio C:N yang berada di bawah kisaran optimum, serta kondisi salinitas medium yang relatif tinggi dan berpotensi menimbulkan stres osmotik. Meskipun demikian, kedua jenis limbah tetap mampu mendukung pertumbuhan *Chlorella* sp., yang mengindikasikan adanya potensi integrasi sistem kultivasi mikroalga dengan pengolahan limbah cair sebagai pendekatan bioremediasi sekaligus produksi biomassa bernilai tambah.

Secara keseluruhan, penelitian ini menunjukkan bahwa limbah cair sagu dan tahu dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi tambahan, namun diperlukan optimasi lebih lanjut terhadap parameter operasional seperti penyesuaian pH, pengaturan salinitas, dan optimasi rasio nutrisi untuk mencapai pertumbuhan biomassa yang lebih maksimal.

Referensi

- [1] R. Mori, "Replacing all petroleum-based chemical products with natural biomass-based chemical products: a tutorial review," *RSC Sustainability*, vol. 1, no. 2, pp. 179–212, Jan. 2023, doi: 10.1039/D2SU00014H.
- [2] T. Lafarga, J. M. Fernández-Sevilla, C. González-López, and F. G. Acién-Fernández, "Spirulina for the food and functional food industries," *Food Research International*, vol. 137, no. April, p. 109356, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109356.
- [3] E. S. Okeke *et al.*, "Microalgae biorefinery: An integrated route for the sustainable production of high-value-added products," Dec. 01, 2022, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.ecmx.2022.100323.
- [4] Y. Abuhaseesh, A. Ghazal, D. Y. Y. Tang, F. Banat, S. W. Hasan, and P. L. Show, "Advances in Chlorella microalgae for sustainable wastewater treatment and bioproduction," May 01, 2025, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.ceja.2025.100715.
- [5] A. Silmi Afifah and G. Prajati, "Kultivasi Mikroalga Chlorella dengan Media Air Limbah (Studi Literatur untuk Produksi Biomassa dan Pengolahan Air Limbah)," vol. VIII, no. 1, 2023.
- [6] T. Thiruchelvam, J. Wang, K. C. Bal Krishna, and A. Sathasivan, "Municipal wastewater treatment by microalgal-bacterial consortium without mechanical aeration – Effect of initial inoculum Chlorella vulgaris and activated sludge addition," *Bioresour. Technol.*, vol. 446, p. 134133, Apr. 2026, doi: 10.1016/j.biortech.2026.134133.
- [7] I. Telussa, E. G. Fransina, and J. Singerin, "Produksi Bioetanol dari Mikroalga Laut Ambon Chlorella sp. Galur TAD," *Jurnal Sains Dasar*, vol. 11, no. 2, pp. 63–69, Apr. 2023, doi: 10.21831/jsd.v11i2.51085.
- [8] S. Abdur Razzak *et al.*, "Microalgae cultivation in photobioreactors: sustainable solutions for a greener future," Dec. 01, 2024, *KeAi Communications Co.* doi: 10.1016/j.gce.2023.10.004.
- [9] E. Rivera-Sánchez, S. Villaró-Cos, M. Salinas-García, and T. Lafarga, "Increasing the sustainability of photoautotrophic microalgae production by minimising freshwater requirements," May 25, 2025, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.nbt.2025.01.004.
- [10] G. O. Omokaro, Z. S. Nafula, N. E. Iloabuchi, A. A. Chikukula, O. G. Osayogie, and E. C. Nnoli, "Microalgae as biofactories for sustainable applications: Advancing carbon sequestration, bioenergy, and environmental remediation," Dec. 01, 2025, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.scca.2025.100098.
- [11] T. Magyar, B. Németh, J. Tamás, and P. T. Nagy, "Improvement of N and P ratio for enhanced biomass productivity and sustainable cultivation of Chlorella vulgaris microalgae," *Heliyon*, vol. 10, no. 1, 2024, doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e23238.

- [12] W. Widayat and H. Hadiyanto, "PEMANFAATAN LIMBAH CAIR INDUSTRI TAHU UNTUK PRODUKSI BIOMASSA MIKROALGA *Nannochloropsis* Sp SEBAGAI BAHAN BAKU BIODIESEL," *Reaktor*, vol. 15, no. 4, p. 253, Feb. 2016, doi: 10.14710/reaktor.15.4.253-260.
- [13] S. Niju, V. Shruthi, and K. Priyadharshini, "Comprehensive insights into biological and bio-electrochemical treatment of the sago industry wastewater: Challenges and future perspectives," Jun. 01, 2025, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.scenv.2025.100242.
- [14] H. Nururrahmah, Budiyono, and U. Sudarno, "Physicochemical Characteristic of Sago Hampas and Sago Wastewater in Luwu Regency," *E3S Web of Conferences*, vol. 73, p. 07007, Dec. 2018, doi: 10.1051/e3sconf/20187307007.
- [15] T. Karchiyappan, P. Ettiyagounder, P. S. Selvaraj, and K. Ramanujam, "Transforming waste into value: Advancements in protein recovery and functional product development from wastewater sources," Jan. 01, 2025, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.dwt.2025.101044.
- [16] S. Elystia, F. H. M. Nasution, and A. Sasmita, "Rotary Algae Biofilm Reactor (RABR) using microalgae *Chlorella* sp. for tofu wastewater treatment," in *Materials Today: Proceedings*, Elsevier Ltd, 2023, pp. 263–271. doi: 10.1016/j.matpr.2023.03.206.
- [17] C. C. Chong *et al.*, "Anaerobic digestate as a low-cost nutrient source for sustainable microalgae cultivation: A way forward through waste valorization approach," Jan. 10, 2022, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.150070.
- [18] D. I. P. Jhouhanggir, A. Pertiwinigrum, N. A. Fitriyanto, and E. A. Suyono, "Integrating anaerobic digestate effluent into microalgal systems for renewable biomass and wastewater treatment: Effects of dilution, C/N ratio, and growth modelling," *Results in Engineering*, vol. 27, Sep. 2025, doi: 10.1016/j.rineng.2025.106044.
- [19] S. E. Biliyani and I. D. Manariotis, "Sodium chloride and nitrogen effects on *Chlorella vulgaris* growth and biocommodities production," *Desalination Water Treat.*, vol. 237, pp. 159–169, Oct. 2021, doi: 10.5004/dwt.2021.27729.
- [20] X. Y. Choong *et al.*, "Exploring the influence of carbon sources and salinity on the growth of microalgae," *E3S Web of Conferences*, vol. 603, p. 01030, Jan. 2025, doi: 10.1051/e3sconf/202560301030.