

Efektivitas Penambahan *Plant Growth Promoting Bacteria* (*Azospirillum* sp) dalam Meningkatkan Pertumbuhan Mikroalga (*Chlorella* sp) pada Media Limbah Cair Tahu Setelah Proses Anaerob

Taif Maharsyah, Musthofa Lutfi, Wahyunato Agung Nugroho

Jurusan Keteknik Pertanian - Fakultas Teknologi Pertanian - Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

ABSTRAK

Chlorella sp adalah salah satu mikroalga yang dimanfaatkan sebagai bahan baku biofuel. Oleh karena itu penelitian yang telah dilakukan (Luz E. de-Bashan *et al.*, 2008) *Chlorella* sp mulai dibudidayakan dengan memanfaatkan bakteri pendukung pertumbuhan tanaman yaitu *Azospirillum brasiliense* yang menghasilkan hormon pertumbuhan IAA. Sesuai dengan uraian tersebut, penelitian ingin mengembangkannya dengan mengganti spesies bakteri dan media yaitu spesies bakteri *Azospirillum* sp dan media limbah tahu cair setelah proses anaerob. Dimana tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh penambahan dosis bakteri *Azospirillum* sp terhadap laju pertumbuhan *Chlorella* sp yang dilakukan pada media limbah tahu cair setelah proses anaerob. Masing-masing perlakuan yaitu A0 (tanpa penambahan bakteri), dan A2 (penambahan *Azospirillum* sp 10^9 cfu/ml. Dari data yg diperoleh menunjukkan pemberian dosis *Azospirillum* sp yang berbeda akan memberikan laju pertumbuhan maksimum (μ_{maks}) populasi *Chlorella* sp yang berbeda pula. Sehingga uji regresi didapatkan hasil yang signifikan atau berpengaruh pada penambahan dosis bakteri terhadap laju pertumbuhan mikroalga. Rata-rata laju pertumbuhan tertinggi diperoleh perlakuan A2 dengan (μ_{maks}) sebesar (0.463347sel/hari) dan rata-rata laju pertumbuhan terendah diperoleh A0 dengan (μ_{maks}) sebesar (0.327467 sel/hari). Sedangkan hasil uji regresi untuk parameter pendukung diperoleh hasil yang signifikan. Sehingga dosis penambahan bakteri yang berbeda berpengaruh terhadap suhu, pH, maupun kualitas air (meliputi kandungan nitrat, amonium, ortofosfat).

Kata Kunci : Mikroalga, *Chlorella* sp, *Azospirillum* sp, Limbah cair tahu setelah proses anaerob

Effectiveness of The Addition of Plant Growth Promoting Bacteria (Azospirillum sp) in Increasing the Growth Rate of Microalgae (Chlorella sp.) on Medium Tofu Wastewater after The Anaerobic Process

ABSTRACT

Chlorella sp is one of microalgae that is used as a raw material for biofuels. Hence research that has been committed (Luz e. De-bashan *et al.*, 2008) *Chlorella* sp start cultivated by using bacteria supporting plant growth of *Azospirillum brasiliense* which produces growth hormone IAA.. According to the description, the researcher want to replace species of bacteria and medium, with including a species of bacterium *Azospirillum* sp and medium tofu wastewater after the anaerobic process. Where the purpose of this study was to determine the effect of adding a dose of bacteria *Azospirillum* sp on the rate of growth of *Chlorella* sp carried out in liquid medium waste after anaerobic process. Each treatment is A0 (without the addition of bacteria), and A2 (addition of *Azospirillum* sp 10^9 cfu/ml). From the data

obtained indicate the giving of different doses of *Azospirillum sp* will give the maximum growth rate (μ maks) populations *Chlorella sp* different also. So the regression test showed a significant effect on the addition or dose rate of growth of bacteria on microalgae. Average of the highest growth rate obtained with the A2 treatment (μ maks) as much as (0.463347sel/hari) and average lowest growth rate obtained with A0 (μ maks) as much as (0.327467 cells / day). While the results of the regression test for support parameters obtained significant results. So dose the addition of different bacteria affect the temperature, pH, and water quality (including nitrate, ammonium, orthophosphate).

Key Words: microalgae *Chlorella sp*, *Azospirillum sp*, tofu wastewater after anaerobic process

PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan salah satu organisme yang dapat dinilai ideal dan potensial untuk dijadikan sebagai bahan baku produksi *biofuel* (Li, *et al.*, 2008). Kandungan lipid dalam biomassa mikroalga kering spesies tertentu dapat mencapai di atas 50% dengan pertumbuhan yang sangat cepat. Proses pembiakan mikroalga hanya membutuhkan waktu 10 hari untuk siap dipanen sehingga secara matematis produktivitasnya mencapai (120.000 kg biodiesel/Ha tahun) lebih dari 20 kali lipat produktivitas minyak sawit (5.800 kg biodiesel/Ha tahun) dan 80 kali lipat dibandingkan minyak jarak (1.500 kg/biodiesel/Ha tahun) (Massinggil, 2009 dalam Ahmad, 2012). Mikroalga berpotensi menghasilkan *biofuel* dalam jumlah yang sangat besar. *Biodiesel* dan *bioethanol* merupakan bahan bakar yang berpotensi dapat diperbaharui yang menarik perhatian dunia. *Biodiesel* dan *bioethanol* diproduksi oleh tanaman pertanian menggunakan metode yang ada dan keberadaannya tidak dapat menggantikan minyak fosil yang dijadikan bahan bakar. Tingginya potensi bahan dari mikroalga ini telah dikemukakan oleh Umdu *et al.* (2008) bahwa minyak mikroalga mengandung lipid yang cocok untuk esterifikasi atau transesterifikasi. Mikroalga merupakan biota yang menjanjikan hasil lebih baik karena:

1. Memiliki laju pertumbuhan tinggi.
2. Kandungan lipid dapat disesuaikan dengan mengubah komposisi media untuk tumbuh.
3. Dapat dipanen lebih dari satu kali dalam satu tahun.
4. Dapat menggunakan air laut atau air limbah.

Chlorella sp adalah salah satu jenis mikroalga yang dibudidayakan di perairan Indonesia dimana mikroalga tersebut dapat berkembang baik di negara yang beriklim tropis. Dalam hal ini untuk pembudidayaan mikroalga masih menggunakan media air yang diberi pupuk buatan seperti walne dan conwey. Beberapa tahun terakhir ini para peneliti memanfaatkan limbah cair sebagai media tumbuh mikroalga seperti limbah tahu cair yang banyak dihasilkan para perajin tahu di Indonesia yang memang masyarakatnya gemar mengkonsumsi tahu. Dalam segi pengeluaran biaya media limbah tahu cair sangat ekonomis terlebih kandungan nutrisi yang masih banyak terkandung dalam limbah tahu cair seperti nitrat, fosfat dan ammonium. Dalam pengembangannya, budidaya mikroalga mulai dilirik untuk bisa menghasilkan *biofuel* untuk menggantikan bahan bakar fosil, Dalam penelitiannya (Luz E. de-Bashan *et al.*, 2008) *Chlorella sp* mulai dibudidayakan dengan memanfaatkan bakteri pendukung pertumbuhan tanaman yaitu *Azospirillum brasiliense* yang menghasilkan hormon pertumbuhan IAA. Pemberian bakteri ini diharapkan dapat meningkatkan laju pertumbuhan mikroalga dan dapat mempercepat masa panen.

Dari uraian yang telah dikemukakan Luz E. de-Bashan *et al.*,(2008), yaitu membudidayakan mikroalga dengan memanfaatkan bakteri dari genus *Azospirillum* yang menghasilkan hormon IAA, maka peneliti ingin mengetahui efektivitas penambahan bakteri terhadap laju pertumbuhan mikroalga dengan menggunakan bakteri dari spesies yang berbeda yaitu *Azospirillum sp*. Dosis penambahan yang diberikan yaitu A0(tanpa penambahan), A2(10^9 cfu/ml). Dan media limbah yang digunakan limbah tahu cair setelah proses anaerob dimana pH

yang dihasilkan netral 6-8 sehingga *Chlorella* sp dapat tumbuh optimal. Pemberian bakteri dengan dosis yang berbeda diharapkan dapat meningkatkan laju pertumbuhan *Chlorella* sp dimana bakteri *Azospirillum* sp sebagai *Plant Growth Promoting Bacteria* (PGPB) yang menghasilkan hormon pertumbuhan seperti IAA, auksin, sitokinin, dan giberilin.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit *Chlorella* sp, bakteri *Azospirillum* sp sebagai bakteri pendukung pertumbuhan, media limbah tahu cair setelah proses anaerob sebagai media tumbuh *Chlorella* sp, air akuades sebagai air steril untuk pengenceran. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop untuk mengamati jumlah kepadatan mikroalga, toples sebagai wadah pertumbuhan mikroalga, gelas ukur untuk mengukur volume, hand counter untuk menghitung kepadatan, aerator untuk penyuplai udara, termometer untuk mengukur suhu, pipet tetes untuk mengambil sampel, pH untuk mengukur nilai pH media tumbuh, lampu neon 40 watt sebagai pencahayaan untuk fotosintesis, *haemocytometer* media menghitung jumlah kepadatan mikroalga, lux meter berfungsi untuk mengukur intensitas cahaya.

Metode Penelitian

Pengkulturan *Chlorella* sp. Kultur awal dilakukan di ruang workshop lab Fakultas Perikanan dan ilmu kelautan dengan inokulan hasil dari kabupaten situbondo. Pertama air akuades yang sudah diberi pupuk walne 0.3 ml dimasukkan dalam 50 ml akuades. Setelah itu di sterilisasi. Kemudian inokulan *Chlorella* sp dimasukkan sebanyak 150 ml. kedalam akuades yang sudah diberi pupuk, selama 4 hari dihitung tiap hari kepadatannya populasi *Chlorella* sp hingga mencapai kurang lebih 10^6 sel/ml.

Persiapan Media. Media diambil dari pengolahan limbah pabrik tahu di daerah Kota Batu, Dimana limbah tahu yang digunakan untuk media tumbuh *Chlorella* sp adalah limbah tahu cair setelah proses anaerob, dikarenakan pH limbah tidak terlalu asam yang dapat mengakibatkan bibit tidak akan berkembang baik. Kemudian disiapkan 6 toples sebagai wadah media, terlebih dahulu dibersihkan dan diberi label (A0, dan A2). Setelah itu limbah tahu cair disaring dengan kain tipis agar kotoran-kotoran tidak ikut ke dalam wadah.

Pencampuran. Pencampuran dilakukan setelah media telah siap untuk dijadikan tempat tumbuh kembang *Chlorella* sp. Setelah *Chlorella* telah dimasukkan media, kemudian bakteri *Azospirillum* sp dicampurkan sesuai dengan dosis masing-masing wadah.

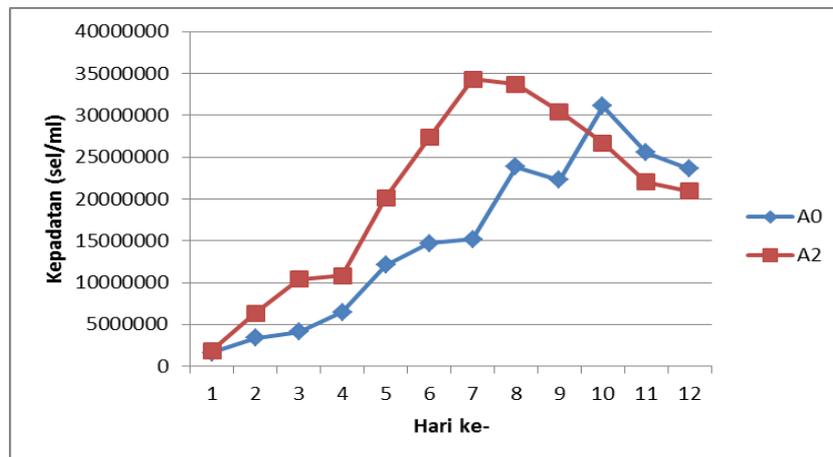
Pengambilan data. Pengambilan data penelitian meliputi pengambilan data jumlah kepadatan mikroalga, pH media, suhu media, DO media dan kualitas air media. Untuk pengambilan data kepadatan, suhu, pH, dan DO dilakukan 2 kali sehari, waktu pagi hari dan sore hari. Sedangkan data kualitas air dilakukan setiap 4 hari sekali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelimpahan Populasi *Chlorella* sp

Hasil pengamatan populasi *Chlorella* sp menunjukkan pada hari ke- 1 sampai hari ke-3 pertambahan jumlah sel relatif masih kecil, kali ini disebabkan jumlah sel *Chlorella* sp pada pertumbuhannya masih memerlukan adaptasi dengan lingkungannya yang baru, kemudian berkembangbiak sesuai dengan kondisi lingkungan tersebut. Sesuai dengan (Fogg, 1975) sel fitoplankton membutuhkan waktu untuk menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan yang baru. Setelah mengalami fase lag, pada hari ke-4 sampai hari ke- 7 periode ini diperkirakan memasuki fase eksponensial (periode puncak) dimana perkembangan sel *Chlorella* sp mengalami pertumbuhan puncak. Selanjutnya pada hari ke- 8 sampai hari ke-9 merupakan fase stasioner dimana jumlah sel yang tumbuh berkembang sama dengan kematian. Kemudian pada

hari 10 sampai hari ke-12 merupakan fase kematian dimana terjadi penurunan jumlah populasi mikroalga. Berikut ini disajikan grafik rata-rata kelimpahan harian populasi *Chlorella* sp antar perlakuan pada Gambar 1



Gambar 4.1. Kelimpahan populasi *Chlorella* sp. (sel/ml)

Laju Pertumbuhan kelimpahan populasi *Chlorella* sp

Data menunjukkan dari masing-masing perlakuan dosis penambahan bakteri *Azospirillum* sp, perlakuan A0 (tanpa penambahan bakteri *Azospirillum* sp) menghasilkan rata-rata laju pertumbuhan maksimal terendah (μ_{maks}) populasi *Chlorella* sp sebesar (0.327467 sel/hari) perlakuan A2 (*Azospirillum* sp 10^9 cfu/ml) menghasilkan laju pertumbuhan maksimal tertinggi (μ_{maks}) populasi *Chlorella* sp sebesar (0.463347 sel/hari).

Output model summary menunjukkan bahwa nilai koefisien determinasi sebesar 0,743, artinya 74,3 % dari varian penambahan bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda dapat dijelaskan oleh perubahan dari laju pertumbuhan maksimal (μ_{maks}). Analisa ANOVA menggunakan hipotesis uji yaitu model kuadratik penambahan dosis *Azospirillum* sp yang berbeda dengan laju pertumbuhan maksimal (μ_{maks}) tidak signifikan (H_0). Pada *output ANOVA*, diketahui nilai F hitung lebih besar daripada F tabel, maka H_0 ditolak, sehingga dapat disimpulkan bahwa model kuadratik penambahan dosis bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda dengan laju pertumbuhan maksimal (μ_{maks}) adalah signifikan. Uji T juga menunjukkan bahwa besarnya nilai t hitung lebih besar daripada t tabel (2,145), yang berarti koefisien konstantanya signifikan terhadap model regresi.

Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor terpenting dalam kultur mikroalga pada sistem *batch*. Dimana suhu harus terjaga agar mikroalga dapat tumbuh dengan optimal. Dari hasil penelitian didapatkan suhu rata-rata berkisar antara 25 °C – 27 °C pada tabel 1 (lampiran 3) menunjukkan bahwa suhu cenderung berubah-ubah relatif tidak konstan. Pengambilan data suhu pada waktu sore hari, suhu cenderung turun dan pada waktu siang hari suhu berubah lebih tinggi. Secara keseluruhan berturut-turut suhu meningkat dengan meningkatnya pula populasi bakteri *Azospirillum* sp dan *Chlorella* sp. Hal ini mungkin disebabkan peningkatan kepadatan populasi kedua mikroorganisme pada media kultur menyebabkan peningkatan suhu media juga. Hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan dosis penambahan bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap suhu media kultur. Hal ini terlihat dari $F_{5\%} < F_{hitung} > F_{1\%}$ dimana $4.49 < 66.221 > 8.53$. Sehingga pengaruh dari penambahan tersebut dapat mempengaruhi hasil dari suhu media kultur. Untuk mengetahui hubungan antara dosis penambahan dosis penambahan bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda dengan suhu media kultur.

Hal ini diduga disebabkan oleh semakin meningkatnya populasi pada media semakin besar pula pertukaran gas yang akan terjadi, sehingga memungkinkan peningkatan suhu pada media disamping faktor lingkungan yang mempengaruhi. *Output model summary* menunjukkan bahwa nilai koefisien determinasi sebesar 0,805 artinya 80,5 % dari varian penambahan bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda dapat dijelaskan oleh perubahan dari kenaikan laju suhu media kultur *Chlorella* sp. Analisa ANOVA menggunakan hipotesis uji yaitu model linier penambahan dosis *Azospirillum* sp yang berbeda dengan kenaikan laju suhu media kultur *Chlorella* sp tidak signifikan (H_0). Pada *output ANOVA*, diketahui nilai F hitung lebih besar daripada F tabel, maka H_0 ditolak, sehingga dapat disimpulkan bahwa model linier penambahan dosis bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda dengan laju pertumbuhan maksimal (μ_{maks}) adalah signifikan. Uji T juga menunjukkan bahwa besarnya nilai t hitung lebih besar daripada t tabel, yang berarti koefisien konstantanya signifikan terhadap model regresi.

pH

Pada hasil penelitian diperoleh secara keseluruhan rata-rata pH antara 8- 9,1 pada masing-masing perlakuan. Dimana pH media kultur cenderung meningkat seiring dengan peningkatan populasi *Chlorella* sp dan bakteri *Azospirillum* sp. Peningkatan terjadi pada hari ke 2 ditandai dengan mulai naiknya pH media kultur dan peningkatan populasi pada *Chlorella* sp. Kenaikan pH diduga karena seiring dengan adanya proses pemanfaatan nitrogen dari unsur-unsur pupuk dari limbah tahu cair oleh sel-sel *Chlorella* sp dan adanya bakteri *Azospirillum* sp yang mampu menghasilkan nitrogen. Sesuai dengan pendapat (Morel 1983), pada kisaran pH 7-9 terdapat dua kemungkinan pemanfaatan nitrogen dari nutrisi dalam medium oleh sel mikroalga, yaitu pemanfaatan nitrogen dalam bentuk nitrat dan amonium. Hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan dosis penambahan bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pH media kultur. Hal ini terlihat dari $F_{5\%} < F_{hitung} > F_{1\%}$ dimana $3,34 < 148,59 > 5,56$. Sehingga pengaruh dari penambahan tersebut dapat mempengaruhi hasil dari pH media kultur.

Pemilihan hubungan kurva kuadratik antara pH media kultur *Chlorella* sp dengan dosis penambahan bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda dikarenakan seiring dengan bertambahnya penambahan dosis *Azospirillum* sp pada masing-masing perlakuan semakin meningkat pula kadar pH media pada masing-masing perlakuan. Hal ini diduga disebabkan adanya proses pemanfaatan nitrogen dari unsur-unsur pupuk dari limbah tahu cair oleh sel-sel *Chlorella* sp dan Adanya Bakteri *Azospirillum* sp yang mampu menghasilkan nitrogen serta terjadi nitrifikasi dalam media limbah tahu. *Output model summary* menunjukkan bahwa nilai koefisien determinasi sebesar 0,976 artinya 97,6 % dari varian penambahan bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda dapat dijelaskan oleh perubahan dari pH media kultur *Chlorella* sp. Analisa ANOVA menggunakan hipotesis uji yaitu model kuadratik penambahan dosis *Azospirillum* sp yang berbeda dengan pH media kultur *Chlorella* sp tidak signifikan (H_0). Pada *output ANOVA*, diketahui nilai F hitung lebih besar daripada F tabel, maka H_0 ditolak, sehingga dapat disimpulkan bahwa model kuadratik penambahan dosis bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda dengan pH media kultur *Chlorella* sp adalah signifikan. Uji T juga menunjukkan bahwa besarnya nilai t hitung lebih besar daripada t tabel, yang berarti koefisien konstantanya signifikan terhadap model regresi.

Oksigen terlarut (DO)

Berdasarkan perhitungan *Output model summary* menunjukkan bahwa nilai koefisien determinasi sebesar 0,089 artinya 8,9 % dari varian penambahan bakteri *Azospirillum* sp yang berbeda dapat dijelaskan oleh perubahan dari DO media kultur *Chlorella* sp. Analisa ANOVA menggunakan hipotesis uji yaitu model kubik penambahan dosis *Azospirillum* sp yang berbeda dengan DO media kultur *Chlorella* sp tidak signifikan (H_0). Pada *output ANOVA*, diketahui nilai F hitung lebih kecil daripada F tabel, maka H_0 diterima, sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan bakteri *Azospirillum* sp tidak berpengaruh nyata terhadap DO media kultur *Chlorella* sp.

KESIMPULAN

Penambahan variasi perlakuan bakteri *Azospirillum* sp dapat meningkatkan laju pertumbuhan spesifik (μ_{maks}) pada pertumbuhan mikroalga (*Chlorella* sp) di media limbah tahu cair setelah proses anaerob. Sehingga penambahan dosis berpengaruh terhadap laju pertumbuhan Mikroalga. Penambahan variasi perlakuan Bakteri *Azospirillum* sp mempengaruhi peningkatan suhu, pH media kultur dan kualitas air Limbah tahu setelah proses anaerob meliputi kandungan nitrat, ortofosfat dan ammonium.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, 2012. **Kajian Produksi Biodiesel dan Bioetanol Berbasis Mikroalga Secara Simultan**. FMIPA Universitas Lambung Mngkurat. Banjarmasin.
- Akbari, Gh. Abbas, Arab, SM, Alikhani, HA, Allahdadi & Arzanesh MH. 2007. *Isolation and selection of indigenous Azospirillum spp. and the IAA of superior strains effects on wheat roots*, World J. Agric. Sci., vol. 3, no. 4, pp. 523-29.
- Alin. 2008. **Uji Efektivitas Pupuk Organik Hayati (Bio-Organic Fertilizer) Dalam Mensubstitusi Kebutuhan Pupuk Pada Tanaman Caisin (Brassica Chinensis)**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anonymous, 2012, **Bentuk Chlorella sp**, (Sumber: <http://www.rbg Syd.nsw.gov.au>, 12 Desember 2012).
- Anonymous, 2012, **Bakteri Azospirillum sp**, (Sumber: <http://www.drrjanlaboratories.com/products11.html> 12 Desember 2012).
- Basmi, et al 1993. **Planktonologi : Chrysophyta-Diatom Penuntun Identifikasi**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Husin, Amir. 2008. **Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu Dengan Biofiltrasi Anaerob Dalam Reaktor Fixed – Bed**. Universitas Sumatera Utara Medan. Medan.
- Cahyaningsih, S. 2009. **Standar Nasional Indonesia Pembenihan Perikanan (Pakan Alami)**. Pelatihan MPM-CPIB Pembenihan Udang, 16-20 Juni 2009, Situbondo. Balai Budidaya Air Payau Situbondo.
- Cholik, F. Artanti dan R. Arifudin. 1986. Ahli Bahasa dari Water Quality Management in Pound Fish Cultur by C.E. Boyd (1979). **Pusat Penelitian Pengembangan Perikanan dalam Rangka Proyek INFISH kerjasama dengan IDRC** . Jakarta.
- Danang, 2009, **Optimasi Pengembangan Media Untuk Pertumbuhan Chlorella Sp. Pada Skala Laboratorium**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Eckert, B., Weber, O. B., Kirchhof, G., Halbritter, A., Stoffels, M., and Hartmann, A.(2001). *Azospirillum doebereinae sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C₄-grass Miscanthus*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51, 17–26.
- Fogg, G. E. 1975. *Algae Cultures and Phytoplankton Ecology*. The Athalone Prios University of London. London.
- Edhy, W.A., Januar, dan Kurniawan. 2003. **Plankton di Lingkungan PT. Central Pertiwi Bahari**. Laboratorium Central Department, Aquaculture.Tulang Bawang.
- Hanafiah, K. A. 2005. **Dasar-dasar Ilmu Tanah**. Rajawali Pers, Jakarta.
- Handajani, Hany. 2006. **Pemanfaatan Limbah Cair Tahu Sebagai Pupuk Alternatif Pada Kultur Mikroalga Spirullina sp**. Jurnal Protein Vol.13, No.2,: 188-193.
- Hladka, J.D. 1971. *A Comparison of Growth Rate of Algae as Influenced by Variation in Nitrogen Nutrition in Chorella pyrenoidosa dan Scenedesmus obliquus*. Biologia Plantarum. 13: 1-11.
- Hirata, et al .1981. *Effect of Salinity and Temperature on The Growth of The Marine Phytoplankton Chlorella saccharophila*. Vol. 30. Mem. Fac. Kagoshima University. Japan.

- Julia. 2011. **Microbial (Microalgal-Bacterial) Biomass Grown on Municipal Wastewater for Sustainable Biofuel Production**. Civil and Natural Resources Engineering at the University of Canterbury. University of Canterbury. New Zealand
- Krichnavaruk, S., Worapanne, Sorawit, dan Prasert. 2004. **Optimal Growth Conditions and the Cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in Airlift Photobioreactor**. Chemical Engineering. 105: 91-98.
- Kawaroe, M. 2008. **Mikroalga sebagai Bahan Baku Biofuel. Surfactant and Bioenergy Research Centre Lembaga Pengabdian Pada Masyarakat**, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Li Y, Horsman M, Wu N, Lan C.Q, and Dubois-Calero N., 2008, **Biofuels From Microalgae**. *Biotechnology Progress* ; 24 (4) : 815–820.
- Luz E. de-Bashan *et al.* 2001. **Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense***. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.
- Luz E. de-Bashan *et al.* 2008. **Involvement Of Indole-3-Acetic Acid Produced By The Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum Spp.* In Promoting Growth Of *Chlorella Vulgaris***. The University of Arizona, Tucson. USA
- Metcalf & Eddy, 2003, **Wastewater Engineering : Treatment, Disposal and Reuse, 4th ed.**, McGraw Hill Book Co., New York.
- Nurhasmawaty Pohan, 2008, **Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu Dengan Proses Biofilter anaerobik**. Tesis. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Oh-Hama T, Miyachi S. 1988. ***Chlorella*. In Borowitzka MA, Borowitzka LJ (Eds). Microalgal Biotechnology**. Cambridge Uni. Press. Cambridge.
- Pelczar, Jr. M. J and Reid, R. 1986. **Microbiology**. New York, McGraw-Hill.
- Prihantini, N.B., Putri, dan Yuniati. 2005. **Pertumbuhan *Chlorella spp.* dalam Medium Ekstrak Tauge (Met) Dengan Variasi pH Awal**. Departemen Biologi Fakultas MIPA, Universitas Indonesia. Depok.
- Rahma, Nur. 2011. **Studi Pemanfaatan Limbah Cair Tahu Untuk Pupuk Cair Tanaman (Studi Kasus Pabrik Tahu Kenjeran)**. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya
- Rezza, 2011. **Laju Pertumbuhan Mikroalga Penghasil Biofuel Jenis *Chlorella Sp.* Dan *Nannochloropsis Sp.* Yang Dikultivasi Menggunakan Air Limbah Hasil Penambangan Timah Di Pulau Bangka**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rostini, I. 2007. **Karya Ilmiah. Kultur Fitoplankton (*Chlorella sp.* dan *Tetraselmis sp.*) pada Skala Laboratorium di Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian Bojonegara**. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Sastrosupadji, Adji. 2000. **Rancangan Percobaan praktis Bidang Pertanian**. Kanisius. Yogyakarta.
- Subarijanti, H.U. 1990. **Kesuburan dan Pemupukan Perairan**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya Malang.
- Taw, N. 1990. **Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murni dan Massal Mikroalga. Proyek Pengembangan Udang**. Food and Agriculture Organizations of the United Nations.
- Umdu, E.S., Mert, dan Erol. 2008. **Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's lipid to biodiesel on Al_2O_3 supp**