



## Pemanfaatan Limbah Cair Tempe Untuk Kultur Chlorella sp. Sebagai Bahan Baku Biodiesel

Arya Zikri Maulana Latif<sup>1\*</sup>, Zahidah<sup>1</sup>, Evi Liviawaty<sup>1</sup>, Heti Herawati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitas Padjadjaran

\*Corresponding Author's e-mail: arya21005@mail.unpad.ac.id

---

### Article History:

Received: July 31, 2025

Revised: August 12, 2025

Accepted: August 18, 2025

---

### Keywords:

*Chlorella sp.,  
Biodiesel,  
Tempe Wastewater,  
Lipid*

**Abstract:** The increasing demand for fossil fuel energy (BBM) has driven the development of renewable energy sources, one of which is biodiesel derived from microalgae. *Chlorella sp.* is a promising microalga due to its high lipid content. This study aims to determine the optimal concentration of tempeh wastewater for culturing *Chlorella sp.* to maximize lipid production as a raw material for biodiesel. The culture was carried out for five days using different treatments of tempeh wastewater: 0% (control using Walne fertilizer), 3%, 5%, 7%, and 9%. Observed parameters included temperature, pH, dissolved oxygen, nitrate, phosphate, cell density, and lipid content, with lipid extraction performed using the Soxhlet method. The culture temperature ranged from 25-27°C, pH increased from acidic to neutral, and dissolved oxygen levels decreased at higher wastewater concentrations. The highest cell density was found in the 7% treatment (8.45 million cells/mL), although it was not significantly different from the other treatments. The highest lipid content was obtained at 3% wastewater (40.3%), which was higher than the control (21.3%) and other treatments. The decrease in lipid content at higher wastewater concentrations was attributed to toxicity and reduced media quality. It is concluded that a 3% concentration of tempeh wastewater is optimal for enhancing lipid production in *Chlorella sp.* as a sustainable biodiesel feedstock.

Copyright © 2025, The Author(s).

This is an open access article under the CC-BY-SA license



**How to cite:** Latif, A. Z. M., Zahidah, Z., Liviawaty, E., & Herawati, H. (2025). Pemanfaatan Limbah Cair Tempe Untuk Kultur Chlorella sp. Sebagai Bahan Baku Biodiesel. *SENTRI: Jurnal Riset Ilmiah*, 4(8), 1299–1309. <https://doi.org/10.55681/sentri.v4i8.4386>

---

## PENDAHULUAN

Kebutuhan energi primer, khususnya bahan bakar minyak (BBM), terus meningkat seiring pertumbuhan jumlah penduduk dan kemajuan teknologi. Konsumsi BBM secara nasional mengalami kenaikan tiap tahun, di mana rata-rata penggunaan harian mencapai 140.000-180.000 kiloliter (Liza 2015). Peningkatan konsumsi ini menyebabkan eksplorasi dan konsumsi minyak bumi kian tinggi, sehingga cadangan energi fosil tersebut semakin menipis (Liza, 2015).

Kelangkaan BBM yang terjadi dalam beberapa tahun terakhir telah memberi dampak luas, utamanya pada sektor transportasi. Salah satu strategi yang diambil untuk mengatasi masalah ini adalah pengembangan sumber energi terbarukan yang dapat diproduksi dan dimanfaatkan secara berkelanjutan. Pemerintah memandang serius isu ini, sebagaimana tertuang dalam Instruksi Presiden Nomor 1 Tahun 2006 mengenai penyediaan dan pemanfaatan bahan bakar nabati sebagai bahan bakar alternatif (Liza, 2015).

Pengembangan bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan, seperti biodiesel, menjadi salah satu solusi yang diusulkan untuk mengurangi ketergantungan pada minyak bumi (Kawaroe, 2012 dalam Widyastuti, 2015). Biodiesel merupakan bahan bakar berbasis minyak nabati atau lemak hewani, yang terdiri dari monoalkil ester dan dapat terbakar secara bersih. Bahan bakar ini bersifat terbarukan, mampu menurunkan emisi, menambah efek pelumasan, serta meningkatkan performa mesin. Pembuatan biodiesel umumnya melalui proses transesterifikasi atau esterifikasi minyak nabati menggunakan katalis basa atau asam sehingga menghasilkan metil ester (Jazzar et al., 2015).

Kebutuhan minyak diesel yang tinggi mendorong perlunya bahan baku alternatif bagi biodiesel. Pemilihan bahan baku bukan sekadar untuk menggantikan yang ada, melainkan mengatasi kekurangan pasokan bahan baku produksi (Sulistyo 2010). Mikroalga, salah satu sumber daya hayati potensial di Indonesia, dikenal sebagai mikroorganisme fotosintetik penghasil minyak dengan produktivitas tinggi (Widyastuti, 2015). Jika dibandingkan tanaman darat, mikroalga memiliki kapasitas produksi minyak per luas lahan yang lebih besar (Widyastuti, 2015). Komposisi kimia mikroalga, yakni protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat, bervariasi tergantung spesiesnya. Kandungan asam lemak dalam minyak mikroalga ini dapat diolah menjadi biodiesel. Salah satu spesies mikroalga yang menonjol adalah *Chlorella* sp., yang memiliki kandungan lipid cukup tinggi (Nilawati 2012). Fiveriati et al., (2020) mencatat bahwa *Chlorella* sp. dapat menghasilkan lipid sebesar 32%, angka yang memenuhi standar SNI sebagai bahan substitusi untuk bahan bakar diesel.

Pada sisi lain, media kultur yang umumnya digunakan dalam pertumbuhan *Chlorella* sp. berasal dari bahan anorganik yang diperkaya hara makro dan mikro, khususnya unsur penting seperti nitrogen dari nitrat, ammonia, protein, urea, serta fosfat (Boroh et al., 2019). Studi oleh Amir et al., (2021) menunjukkan limbah cair tempe mengandung protein, karbohidrat, dan lemak cukup tinggi sehingga berpotensi menjadi sumber nutrien tambahan dalam kultivasi mikroalga. Penggunaan limbah cair tempe dengan konsentrasi 25% dan 50% menghasilkan kadar protein 52,91% dan 58,11%, lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol sebesar 41,34% (Amir et al., 2021). Meski demikian, masih belum diketahui secara jelas dampak penambahan limbah cair tempe pada kultur *Chlorella* sp. sebagai sumber lipid dalam pembuatan biodiesel.

Berdasarkan tantangan akan menipisnya persediaan bahan bakar minyak serta peluang yang bisa dikembangkan dari *Chlorella* sp. sebagai bahan baku biodiesel, diperlukan penelitian untuk menentukan kondisi optimum kultur *Chlorella* sp. guna memperoleh lipid maksimal sebagai bahan baku pembuatan biodiesel.

## LANDASAN TEORI

### Mikroalga

Mikroalga adalah organisme air uniseluler yang berperan penting sebagai produsen primer dalam ekosistem akuatik dan telah diidentifikasi memiliki potensi besar sebagai bahan baku biodiesel karena kandungan lipidnya yang tinggi (Garno et al., 2016). Salah satu spesies yang banyak digunakan adalah *Chlorella* sp., yang memiliki reproduksi cepat dan kemampuan fotosintesis yang optimal (Elystia et al., 2019).

### Kultur Mikroalga

Kultur *Chlorella* sp. dilakukan dengan mengoptimalkan kondisi lingkungan seperti suhu (15–30°C), pencahayaan, suplai CO<sub>2</sub>, dan nutrien seperti nitrogen dan fosfor (Siregar & Mahmiah, 2023). Metode budidaya dapat menggunakan sistem kolam terbuka atau

fotobioreaktor dengan pengaturan cahaya, suhu, dan aerasi untuk mencapai fase pertumbuhan optimal (Gultom, 2018).

### Media Kultur dan Nutrisi

Media kultur harus mengandung unsur makro dan mikro penting, terutama nitrogen yang berasal dari nitrat, amonia, protein, dan urea, serta fosfat untuk mendukung pertumbuhan *Chlorella* sp. (Boroh et al., 2019). Limbah cair tempe yang mengandung protein, karbohidrat, dan lemak tinggi dapat digunakan sebagai sumber nutrien alternatif yang berpotensi meningkatkan pertumbuhan dan produksi lipid mikroalga (Amir et al., 2021).

### Proses Produksi Biodiesel

Produksi biodiesel dari *Chlorella* sp. meliputi beberapa tahap utama:

1. Kultivasi: Mikroalga dikultur secara autotrof dengan suplai cahaya dan CO<sub>2</sub>, atau heterotrof dengan sumber karbon organik, dalam fotobioreaktor atau tangki terbuka guna memperoleh biomassa dan akumulasi lipid optimal (Jazzar et al., 2015).
2. Pemanenan: Biomassa mikroalga dipanen menggunakan metode sentrifugasi, filtrasi, atau flokulasi untuk memperoleh biomassa kering dengan kadar air rendah. Elektrokagulasi dapat digunakan untuk efisiensi panen skala besar.
3. Ekstraksi Lipid: Lipid diekstraksi dari biomassa kering menggunakan pelarut organik dengan metode konvensional (contoh: soxhlet) atau metode khusus (misalnya ekstraksi langsung basah, supercritical methanol) untuk meningkatkan efisiensi (Utami et al., 2020).
4. Transesterifikasi: Reaksi antara minyak/lipid dan alkohol (biasanya metanol) menggunakan katalis basa (seperti KOH, NaOH) atau katalis asam, mengubah trigliserida menjadi metil ester (biodiesel) dan gliserol. Proses ini dapat dilakukan secara konvensional atau insitu dengan katalis heterogen ramah lingkungan seperti kalsium metoksida berbasis biochar (Jazzar et al., 2015).
5. Pemurnian Biodiesel: Biodiesel dicuci untuk menghilangkan residu katalis, sabun, dan pengotor, kemudian dikeringkan hingga memenuhi standar kualitas internasional (ASTM D6751, EN 14214).

### METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sumber Daya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran untuk kultur *Chlorella* sp. dan Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran untuk pengujian kadar lipid *Chlorella* sp. dengan metode soxhlet. Penelitian ini dilakukan pada April – Mei 2025.

### Persiapan Wadah

Wadah sampel limbah, wadah kultur *Chlorella* sp. dan wadah perlakuan disterilisasi dengan cara dicuci menggunakan sabun dan dibilas dengan air tawar hingga bersih, kemudian disemprot menggunakan alkohol 70% lalu dibiarkan hingga kering.

### Inokulasi dan Perhitungan Kepadatan Awal *Chlorella* sp.

Inokulan *Chlorella* sp. diperoleh dari pembudidaya di Kota Bandung. Kepadatan sel awal dihitung menggunakan hemacytometer dan mikroskop pada pembesaran 40×, dengan 3 kali pengulangan. Target kepadatan awal ditetapkan 1.000.000 sel/ml. Perhitungan kepadatan menggunakan metode small block (Satyantini et al., 2009 dalam Mubarak et al., 2012):

$$D = \frac{nA + nB + nC + nD + nE}{5(4 \times 10^{-6})}$$

Keterangan:

- D : kepadatan *Chlorella* sp. (sel/ml)
- nA + nB + nC + nD + nE : jumlah *Chlorella* sp. pada kotak A, B, C, D dan E
- nE
- 5 : jumlah kotak yang dihitung
- $4 \times 10^{-6}$  : luas kotak kecil A, B, C, D, dan E

Perhitungan kepadatan *Chlorella* sp. dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dengan menggunakan rumus perhitungan yang sama kemudian hasil dari perhitungan tersebut dirata-ratakan.

$$D = \frac{D_1 + D_2 + D_3}{3}$$

Keterangan:

- D : Jumlah rata-rata kepadatan *Chlorella* sp. (sel/ml)
- D<sub>1</sub> : Jumlah kepadatan *Chlorella* sp. ulangan pertama (sel/ml)
- D<sub>2</sub> : Jumlah kepadatan *Chlorella* sp. ulangan kedua (sel/ml)
- D<sub>3</sub> : Jumlah kepadatan *Chlorella* sp. ulangan ketiga (sel/ml)
- 3 : Jumlah Ulangan

### Kultur *Chlorella* sp.

Kultur dilakukan dalam 15 erlenmeyer steril berisi 1 liter media masing-masing, dengan penambahan pupuk walne 1 ml pada perlakuan kontrol (A) dan limbah cair tempe pada perlakuan B (3%), C (5%), D (7%), dan E (9%). Kultur berlangsung selama 5 hari pada suhu 25–30°C dengan intensitas cahaya lampu 1000–2000 lux sebagai pengganti sinar matahari.

### Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan dalam penelitian ini meliuti: (1) Parameter fisik dan kimia media kultur, termasuk Dissolved Oxygen (DO), pH, suhu, nitrat, dan fosfat, diukur secara ex-situ. (2) Kadar lipid pada *Chlorella* sp. hasil kultur, diukur menggunakan metode ekstraksi soxhlet (Afifah & Prajati, 2023), dengan sampel kering sebanyak 3–4 gram. Metode soxhlet efektif mengekstrak lipid dengan pelarut organik melalui siklus penguapan dan kondensasi pelarut. (3) Kepadatan sel *Chlorella* sp., diukur pada hari pertama dan hari kelima (puncak populasi) menggunakan metode small block seperti dijelaskan sebelumnya (Satyantini et al., 2009 dalam Mubarak et al., 2012).

### Analisis Data

Data dianalisis menggunakan analisis varians satu arah (*One Way ANOVA*) untuk menguji perbedaan rata-rata antar perlakuan konsentrasi limbah cair tempe. Metode ini sesuai untuk menguji satu variabel bebas dengan beberapa kelompok dan satu variabel terikat (Widiyanto, 2013 dalam Andadari et al., 2021).

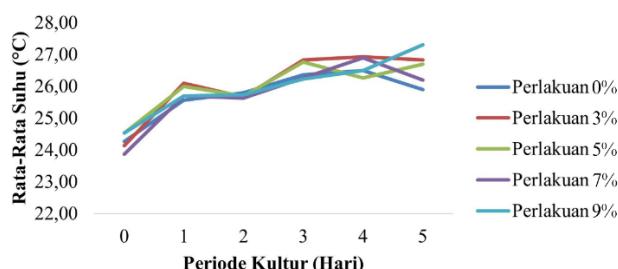
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Parameter Fisik-Kimiawi Media Kultur

Parameter fisik-kimiawi yang diamati meliputi Dissolved Oxygen (DO), pH, suhu, nitrat, dan fosfat yang diukur secara ex-situ.

#### Suhu

Suhu merupakan faktor lingkungan abiotik utama yang mempengaruhi laju pertumbuhan, metabolisme, dan akumulasi biomassa mikroalga, termasuk *Chlorella* sp. (Adriyanti et al. 2021). Rata-rata suhu media kultur meningkat dari hari ke-0 hingga hari ke-5 yang terdapat pada Gambar 1, dimulai dari kisaran 23,87–24,53°C pada hari ke-0, yang masih di bawah rentang optimal 25–30°C (Brück et al., 2024).

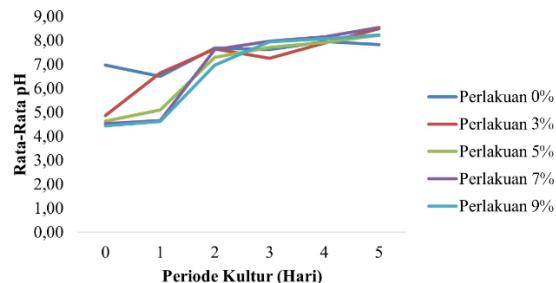


Gambar 1. Suhu Media Kultur *Chlorella* sp.

Suhu rendah awal tersebut disebabkan oleh minimnya paparan cahaya pada saat inokulasi dan fase adaptasi mikroalga, sehingga produksi panas internal rendah (Ahmad et al., 2020). Pada hari ke-1 hingga ke-5, suhu meningkat menjadi 25–27°C akibat pengaturan AC pada 25°C dan pengaruh suhu luar ruangan. Rentang suhu ini mendukung pertumbuhan optimal *Chlorella* sp. (Brück et al., 2024).

#### Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) adalah ukuran kuantitatif tingkat keasaman suatu larutan (Winoto et al., 1970). Pada hari ke-0, perlakuan tanpa limbah cair tempe (0%) menunjukkan pH netral sekitar 6,96, sementara perlakuan limbah cair tempe (3%–9%) menunjukkan pH asam antara 4,44–4,86 seperti yang terlihat pada Gambar 2.



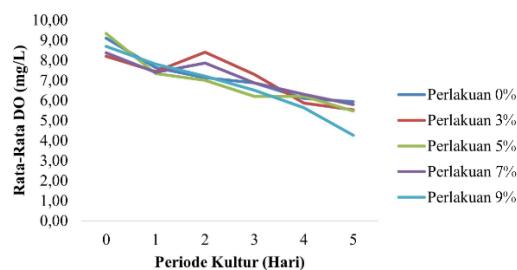
Gambar 2. pH Media Kultur *Chlorella* sp.

Hal ini dipengaruhi oleh senyawa asam organik hasil fermentasi kedelai dalam limbah tempe, seperti asam laktat dan asetat (Putri et al., 2024). Seiring adaptasi *Chlorella* sp. yang mampu mengkonsumsi senyawa organik tersebut, nilai pH meningkat dan stabil dari hari ke-2 hingga akhir kultur. Peningkatan pH disebabkan oleh penggunaan ion H<sup>+</sup> saat asimilasi nitrogen amonium dari limbah (Yu et al., 2022) dan aktivitas fotosintesis yang menurunkan CO<sub>2</sub> terlarut sehingga mengurangi konsentrasi ion H<sup>+</sup> (Anh & Khuyen, 2020). Rentang pH optimal bagi *Chlorella* sp. adalah 6–8,5 (Anh & Khuyen, 2020), dan

hasil ini konsisten dengan stabilitas pH 7–8 saat fase pertumbuhan logaritmik (Putri et al., 2024).

### Dissolved Oxygen (DO)

Kadar DO awal pada hari ke-0 setiap perlakuan berada dalam kisaran 8,2–9,1 mg/L, sesuai dengan kadar optimal untuk kultur *Chlorella* sp. yaitu 5–8 mg/L (Rosyadi et al., 2023). Selama hari ke-1 hingga ke-4, kadar DO menurun secara moderat (6,1–7,8 mg/L), tetapi dalam kisaran optimal. Pada hari ke-5, penurunan DO menjadi lebih nyata hingga 5,47–5,9 mg/L, terutama pada perlakuan 9% yang turun hingga 4,27 mg/L. Hasil ini ditunjukkan oleh Gambar 3.



Gambar 3. DO Media Kultur *Chlorella* sp.

Penurunan ini disebabkan aktivitas mikroorganisme heterotrofik yang menggunakan oksigen secara aerobik untuk menguraikan bahan organik tinggi dalam limbah tempe (Munir, 2017). Semakin tinggi konsentrasi limbah, beban organik meningkat sehingga kompetisi oksigen menjadi lebih intensif, menurunkan kadar DO (Munir, 2017).

### Nitrat

Nitrat adalah nutrien nitrogen utama dalam perairan dan penting bagi pertumbuhan alga (Arnanda 2023). Kadar nitrat awal tertinggi terdapat pada perlakuan 9% limbah cair tempe (1,96 mg/L) dan terendah pada kontrol 0% (0,06 mg/L), menunjukkan limbah tempe menyediakan nutrien nitrogen dalam jumlah besar (Istirokhatun et al., 2017). Pada hari ke-5, kadar nitrat menurun pada semua perlakuan limbah (3%–9%), mencerminkan penyerapan aktif oleh *Chlorella* sp. untuk sintesis protein dan komponen sel (Emparan et al., 2019). Data ini ditunjukkan pada Tabel 1.

Table 1. Kadar Nitrat Media Kultur

No	Perlakuan	Nitrat (mg/l)			Perubahan
		Hari Ke-0	Hari Ke-5	5	
1	0%	0,06	0,14		0,08
2	3%	0,27	0,08		-0,19
3	5%	0,79	0,11		-0,68
4	7%	0,62	0,11		-0,51
5	9%	1,96	0,11		-1,87

Penurunan ini juga didukung oleh aktivitas mikroorganisme heterotrofik yang menggunakan nitrat untuk metabolisme (Emparan et al., 2019). Sebaliknya, pada kontrol 0% terjadi peningkatan nitrat kecil, kemungkinan akibat kematian sel mikroalga dan dekomposisi senyawa organik yang melepaskan nitrat kembali ke media (Santanumurti et al., 2021).

## Fosfat

Fosfat berperan sebagai nutrien esensial, namun kadar berlebih dapat menurunkan kualitas air (Ngibad, 2019). Kadar fosfat tertinggi pada hari ke-0 terdapat pada perlakuan 9% dan terendah pada 0%, disebabkan oleh kandungan fosfat larut yang tinggi dalam limbah tempe dibanding pupuk Walne (Shoviyah, 2015). Pada hari ke-5, kadar fosfat menurun pada perlakuan limbah (3%–9%) akibat penyerapan oleh *Chlorella* sp. untuk pembentukan ATP dan metabolisme energi (Wijaya & Prabaningtyas, 2024). Data ini ditunjukkan oleh Tabel 2.

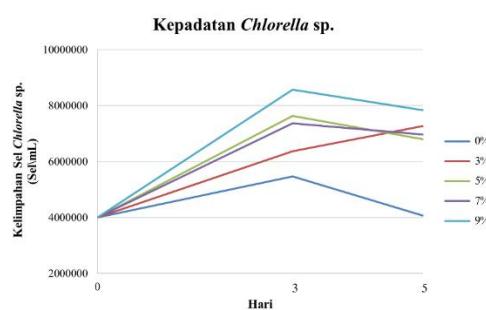
**Table 2.** Kadar Fosfat Media Kultur

Fosfat (mg/l)				
No	Perlakuan	Hari ke-0	Hari ke-5	Perubahan
1	0%	0,10	0,13	0,03
2	3%	0,34	0,13	-0,21
3	5%	0,48	0,18	-0,30
4	7%	0,61	0,17	-0,54
5	9%	0,77	0,23	-0,54

Penurunan fosfat juga dipengaruhi oleh aktivitas mikroorganisme penguraian bahan organik (Fitria et al., 2023). Sedangkan pada kontrol 0%, peningkatan ringan fosfat diduga karena mineralisasi senyawa organik dan pelepasan fosfat anorganik (Fitria et al., 2023).

## Kepadatan Sel *Chlorella* sp.

Puncak populasi *Chlorella* sp. terjadi pada hari ke-5 kultur, dengan kepadatan tertinggi pada perlakuan 7% sebesar 8.450.000 sel/ml, diikuti 9% (7.833.333 sel/ml), 3% (7.266.667 sel/ml), 5% (6.800.000 sel/ml), dan paling rendah pada kontrol 0% (4.066.667 sel/ml) (Gambar 6). Meskipun beberapa perlakuan (0%, 5%, 7%, 9%) mencapai puncak populasi pada hari ke-3 dan menurun pada hari ke-5, analisis one-way ANOVA ( $p$ -value = 0,736 > 0,05) menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antar perlakuan. Data Kepadatan Sel *Chlorella* sp. terdapat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Kepadatan Sel *Chlorella* sp.

Kondisi tersebut dapat disebabkan oleh fase penurunan populasi akibat keterbatasan nutrien dan perubahan lingkungan kultur (Hismayasaki et al. 2021). Dinamika populasi yang berbeda terkait interaksi kompleks antara nutrien tersedia, akumulasi senyawa penghambat, dan respons fisiologis mikroalga (Pamungkas & Rosariawati 2024). Kontrol 0% mengalami defisiensi nutrien esensial setelah hari ke-3, menyebabkan hambatan pertumbuhan (Pratama et al. 2016). Pupuk Walne kurang cukup

menyediakan nutrisi jangka panjang, sehingga populasi menurun akibat kekurangan nutrien (Pamungkas & Rosariawari 2024).

Penurunan juga terjadi pada perlakuan limbah tempe 5%, 7%, dan 9%, yang kemungkinan dipicu oleh toksitas senyawa limbah seperti ammonia terionisasi dan senyawa fenolik yang dapat merusak membran sel dan menghambat metabolisme (Putri et al. 2016). Selain itu, ketidakseimbangan rasio nutrien dan akumulasi senyawa penghambat menyebabkan metabolisme terganggu dan penurunan pertumbuhan (Shoviyah 2015). Penurunan DO yang terjadi akibat respirasi aerobik mikroorganisme pengurai juga menghambat pertumbuhan *Chlorella* sp. (Munir 2017). Sebaliknya, perlakuan 3% menunjukkan puncak populasi pada hari ke-5, yang menandakan bahwa konsentrasi limbah tempe ini menyediakan nutrisi tambahan secara optimal tanpa menimbulkan stres berlebihan (Boroh et al. 2019; Mubarak et al. 2012)

#### **Kadar Lipid *Chlorella* sp.**

Analisis kadar lipid menggunakan metode soxhlet menunjukkan bahwa kadar lipid tertinggi terdapat pada perlakuan 3% yaitu 40,3%, diikuti 5% (38,2%), 7% (32,3%), 9% (24,2%), dan terendah pada kontrol 0% (21,3%) (Tabel 3). (Pargiyanti 2019).

**Table 3.** Kadar Lipid *Chlorella* sp.

No	Perlakuan	Kadar Lipid (%)
1	0%	21,3
2	3%	40,3
3	5%	38,2
4	7%	32,3
5	9%	24,2

Kadar lipid tinggi pada perlakuan 3% disebabkan oleh kondisi stres nitrogen moderat yang memicu alokasi karbon ke sintesis lipid sebagai respons adaptif penyimpanan energi (Griffiths et al., 2014). Limbah tempe menyediakan nutrien untuk pertumbuhan awal, namun pembatasan nitrogen setelah hari ke-2 mendorong pergeseran metabolisme dari sintesis protein ke produksi triasilglicerol (Griffiths et al., 2014). Warna kultur berubah menjadi hijau kecoklatan (Gambar 7), indikasi stres nutrient yang selaras dengan peningkatan akumulasi karotenoid dan asam lemak tak jenuh (Elystia et al., 2019). Kondisi air yang stabil pada pH 7–8 dan DO > 5 mg/L memperkuat efisiensi konversi karbon organik limbah menjadi lipid (Munir, 2017).

Kadar lipid rendah pada kontrol (0%) dijelaskan oleh kondisi nutrien replet yang lebih mendorong pertumbuhan biomassa daripada akumulasi lipid (Yusandi, 2010). Aktivitas ekspresi gen lipogenesis juga terhambat oleh nutrien lengkap sehingga karbon dialokasikan ke pembentukan struktur sel (Henard et al., 2017).

Pada perlakuan 5% dan 7%, kadar lipid lebih tinggi dibanding kontrol, namun mulai dipengaruhi stres lingkungan akibat kandungan bahan organik dan senyawa toksik meningkat, yang menghambat fotosintesis dan pertumbuhan (Emparan et al., 2019). Penurunan DO dan akumulasi senyawa penghambat mempercepat fase penurunan populasi.

Sedangkan perlakuan 9% mengalami kadar lipid lebih rendah akibat stres dan toksitas yang tinggi, menurunkan fotosintesis dan menyebabkan kematian sel, terbukti dengan perubahan warna kultur menjadi coklat (Ding et al., 2024).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis dapat disimpulkan bahwa kadar limbah cair tempe paling optimal untuk meningkatkan lipid sebagai bahan baku biodiesel pada *Chlorella* sp. adalah kadar 3%, dengan nilai lipid sebesar 40,3%.

## DAFTAR REFERENSI

- Afifah, A. S., & Prajati, G. (2023). Kultivasi Mikroalga Chlorella dengan Media Air Limbah (Studi Literatur untuk Produksi Biomassa dan Pengolahan Air Limbah).
- Ahmad, S., Kothari, R., Shankarayyan, R., & Tyagi, V. V. (2020). Temperature dependent morphological changes on algal growth and cell surface with dairy industry wastewater: An experimental investigation. *3 Biotech*, 10(1), 24. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-2008-x>
- Amir, M., Agustini, W. S., & Caesar, Q. F. (2021). Analisis Protein, Karbohidrat, Lemak, Dan Pigmen Fikobiliprotein Mikroalga *Spirulina platensis* Yang Dikultivasi Pada Media Limbah Cair Pembuatan Tempe.
- Anh, L. H., & Khuyen, V. (2020). Biotreatment Of Aquaculture Wastewater With Chlorella Sp. In Tubular Photo-Bioreactors. *International Journal Of Scientific & Technology Research*, 9(04), 6.
- Boroh, R., Litaay, M., Umar, M. R., & Ambeng, A. (2019). Pertumbuhan Chlorella sp. Pada Beberapa Kombinasi Media Kultur. BIOMA : JURNAL BIOLOGI MAKASSAR, 4(2), 129. <https://doi.org/10.20956/bioma.v4i2.6759>
- Brück, W. M., Alfonso, E., Rienth, M., & Andlauer, W. (2024). Heat Stress Resistance in Chlorella vulgaris Enhanced by Hydrolyzed Whey Proteins. *Agronomy*, 14(12), 2854. <https://doi.org/10.3390/agronomy14122854>
- Ding, K., Chen, Z., Wan, Q., Hu, X., Wang, X., Li, H., Wang, Y., Luo, Y., & Xiang, D. (2024). Improving antistress capacity and lipid productivity in the green alga *Chlorella pyrenoidosa* by adding abscisic acid under salt stress conditions. *Algae*, 39(3), 207–222. <https://doi.org/10.4490/algae.2024.39.8.28>
- Elystia, S., Muria, S. R., & Pertiwi, S. I. P. (2019). Pemanfaatan Mikroalga Chlorella Sp Untuk Produksi Lipid Dalam Media Limbah Cair Hotel Dengan Variasi Rasio C:N Dan Panjang Gelombang Cahaya. *Jurnal Sains & Teknologi Lingkungan*, 11(1). <https://doi.org/10.20885/jstl.vol11.iss1.art3>
- Emparan, Q., Harun, R., & Danquah, M. K. (2019). Role Of Phycoremediation For Nutrient Removal From Wastewaters: A Review. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(1), 889–915. [https://doi.org/10.15666/aeer/1701\\_889915](https://doi.org/10.15666/aeer/1701_889915)
- Fitria, Nurhayati, I., & Joko Sutrisno. (2023). Penurunan Chemical Oxygen Demand (COD) Dan Fosfat (PO4-P) Limbah Laundry Menggunakan EM4 dan Mikroalga Spirulina sp. *Jurnal Sains & Teknologi Lingkungan*, 15(1), 31–44. <https://doi.org/10.20885/jstl.vol15.iss1.art3>
- Fiveriati, A., Yonatan, Y., Anne, O., & Gamawati Adinurani, P. (2020). Characteristic Biofuel Microalgae Chlorella sp. As Renewable Energy Source. *E3S Web of Conferences*, 190, 00002. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202019000002>
- Garno, Y. S., Komarawidjaja, W., & Susanto, J. P. (2016). Kajian Pertumbuhan Chlorella Sp. Pada Limbah Cair Industri Susu. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 15(1), 9. <https://doi.org/10.29122/jtl.v15i1.1451>

- Griffiths, M. J., Van Hille, R. P., & Harrison, S. T. L. (2014). The effect of nitrogen limitation on lipid productivity and cell composition in *Chlorella vulgaris*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(5), 2345–2356. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5442-4>
- Gultom, S. O. (2018). MIKROALGA: SUMBER ENERGI TERBARUKAN MASA DEPAN. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 11(1), 95. <https://doi.org/10.21107/jk.v11i1.3802>
- Henard, C. A., Guarnieri, M. T., & Knoshaug, E. P. (2017). The *Chlorella vulgaris* S-Nitrosoproteome under Nitrogen-Replete and -Deplete Conditions. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2016.00100>
- Istirokhatun, T., Aulia, M., & Utomo, S. (2017). Potensi *Chlorella* Sp. Untuk Menyisihkan COD dan Nitrat dalam Limbah Cair Tahu. *Jurnal Presipitasi : Media Komunikasi dan Pengembangan Teknik Lingkungan*, 14(2), 88. <https://doi.org/10.14710/presipitasi.v14i2.88-96>
- Jazzar, S., Quesada-Medina, J., Olivares-Carrillo, P., Marzouki, M. N., Acién-Fernández, F. G., Fernández-Sevilla, J. M., Molina-Grima, E., & Smaali, I. (2015). A whole biodiesel conversion process combining isolation, cultivation and in situ supercritical methanol transesterification of native microalgae. *Bioresource Technology*, 190, 281–288. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.097>
- Liza, D. (2015). Biodiesel Sebagai Bioenergi Alternatif Dan Prospektif. *Agrica Ekstensia*, 9, 23–26.
- Mubarak, A. S., Meritasari, D., Sulmartiwi, L., & Masithah, E. D. (2012). Pengaruh Pemberian Pupuk Cair Limbah Ikan Lemuru (*Sardinella* sp.) dengan Dosis yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. *[Effect of Liquit Fertilizer Waste Sardinella Fish (*Sardinella* sp.) With Different Doses To The *Chlorella* sp. Growth]*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 4(1), 27–32. <https://doi.org/10.20473/jipk.v4i1.11579>
- Munir, F. (2017). Pengaruh Limbah Cair Tahu Terhadap Pertumbuhan Populasi *Chlorella Pyrenoidosa* H. Chick Dalam Skala Laboratorium. 6(2).
- Ngibad, K. (2019). Analisis Kadar Fosfat Dalam Air Sungai Ngelom Kabupaten Sidoarjo Jawa Timur Analysis Of Phosphate Levels In Water Of Ngelom River Sidoarjo Jawa Timur. *J. Pijar Mipa*, 14(3), 5.
- Putri, D. Y., Nurhayati, I., Sutrisno, J., Kholif, M. A., & Widayastuti, S. (2024). Tempe Wastewater Treatment Using Effective Microorganism (EM) Based on Kepok Banana Peel Waste. *BERKALA SAINSTEK*, 12(3), 116. <https://doi.org/10.19184/bst.v12i3.46979>
- Rheamya Carissa Siregar & Mahmiah. (2023). Blue Energy dari Mikroalga *Chlorella* sp. Sebagai Bahan Baku Biodiesel. *Jurnal Riset Kelautan Tropis (Journal Of Tropical Marine Research) (J-Tropimar)*, 5(2), 79–85. <https://doi.org/10.30649/jrkt.v5i2.73>
- Rosyadi, R., Agusnimar, A., & Hadi, K. (2023). Pemanfaatan Hasil Fermentasi Lindi Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Dan Kepadatan Sel *Chlorella* sp. Media Akuakultur, 18(2), 47. <https://doi.org/10.15578/ma.18.2.2023.47-53>
- Santanumurti, M. B., Khanza, S., Abidin, Z., Putri, B., & Hudaidah, S. (2021). The Performance of Microalgae (*Nannochloropsis* sp., *Tetraselmis* sp. And *Dunaliella* sp.) on White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Wastewater Cultivation Media.

- Journal of Aquaculture and Fish Health, 11(1), 1–9.  
<https://doi.org/10.20473/jafh.v11i1.21345>
- Shoviyah, S. (2015). Skripsi Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Jurusan Manajemen Sumberdaya Perikanan.
- Utami, P., Waityastuti, W., & Soesatyo, M. (2020). Keterlibatan Lipid Pada Regulasi Sistem Imun. Departemen Fisiologi FK-KMK UGM.
- Widyastuti, C. R. (2015). Sintesis Biodiesel Dari Minyak Mikroalga Chlorella Vulgaris Dengan Reaksi Transesterifikasi Menggunakan Katalis Koh.
- Wijaya, L. G. C., & Prabaningtyas, S. (2024). Effect of Phosphate Source on Growth of Chlorella vulgaris Cultured with Indole-3-Acetic Acid-Producing Bacteria. Jurnal Ilmiah Sains, 148–159. <https://doi.org/10.35799/jis.v24i2.57375>
- Winoto, S. W., Galih, A. V. B., Awahita, H., & Irmita, L. U. (1970). Pengembangan “pHelper” Kalkulator pH Larutan Berbasis Web Sebagai Media Pembelajaran Kimia. Orbital: Jurnal Pendidikan Kimia, 7(2), 208–221.  
<https://doi.org/10.19109/ojpk.v7i2.19781>
- Yu, H., Kim, J., Rhee, C., Shin, J., Shin, S. G., & Lee, C. (2022). Effects of Different pH Control Strategies on Microalgae Cultivation and Nutrient Removal from Anaerobic Digestion Effluent. Microorganisms, 10(2), 357.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10020357>
- Yusandi, F. (2010). Pengaruh Nitrogen Terhadap Kandungan Essensial Biomassa Chlorella vulgaris Buitenzorg.