

Produksi Biomassa dan Protein pada Kultur Tunggal serta Campuran *Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp. Menggunakan Media Limbah Cair Kotoran Sapi

Biomass and Protein Production of *Chlorella* spp. and *Nannochloropsis* spp. in Single and Mixed Cultures on Anaerobically Digested Dairy Wastewater

MUHAMMAD FARHAN AIDIRA^{1*}, TAUFIKURAHMAN², LILI MEILANI²

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian, Bogor 16680, Indonesia

²Program Studi Rekayasa Hayati, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Kampus ITB Jatinangor, Jatinangor 45363, Indonesia

Diterima 23 April 2026/Diterima dalam Bentuk Revisi 07 Mei 2026/Disetujui 30 Mei 2026

Microalgae are known for their ability to produce protein and reduce certain pollutant levels. One of the main challenges in microalgae cultivation is the provision of suitable synthetic growth media. Anaerobically Digested Dairy Manure Wastewater (ADDMW) has potential as an alternative growth medium due to its relatively high nutrient content. This study aims to analyze the effect of ADDMW-based cultivation on the growth rate, biomass production, and protein production of *Chlorella* spp. and *Nannochloropsis* spp., cultivated both in monoculture and mixed culture systems using an open raceway pond bioreactor. Cultivation was carried out using *Chlorella* spp. and *Nannochloropsis* spp. with an initial volume ratio of 1:1 (v/v) over a 7-day period, and the ADDMW wastewater was diluted 25 times prior to use. The highest specific growth rate, biomass yield, and biomass productivity were observed in the mixed culture, with values of 1.47 day⁻¹, 0.95 g·L⁻¹, and 0.28 g·L⁻¹ day⁻¹, respectively. The highest protein content was also obtained from the mixed culture, reaching 56.25% of dry biomass, whereas the protein content in monocultures of *Chlorella* spp. and *Nannochloropsis* spp. was 40.42% and 40.11%, respectively.

Key words: *Chlorella* spp, microalgae, mixed culture, *Nannochloropsis* spp, ADDMW media

PENDAHULUAN

Mikroalga adalah organisme tumbuhan yang paling primitif berukuran renik, bersifat uniselular maupun multiselular (membentuk koloni kecil) yang hidup di perairan air tawar (freshwater) maupun air laut (seawater) (Barsanti 2006). Mikroalga dapat menjadi salah satu organisme yang potensial untuk bahan baku bioenergi. Selain itu, mikroalga memiliki potensi untuk pemenuhan nutrisi bagi manusia, karena dapat menghasilkan protein dan lemak. *Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp. merupakan spesies mikroalga dengan kandungan protein yang tinggi berkisar 45-65% dari berat keringnya (Chen *et al.* 2010).

Efektivitas produksi senyawa metabolit pada mikroalga tidak terlepas dari kualitas serta kuantitas

media tumbuh yang digunakan, seperti kandungan nitrogen dan fosfat. Salah satu media tumbuh berasal dari limbah pengolahan biogas atau dikenal juga sebagai limbah *anaerobically digested dairy manure wastewater* (ADDMW). ADDMW mengandung nitrogen dan fosfat yang cukup tinggi yakni sebesar 1.246 mg/L dan 244 mg/L secara berturut-turut, sehingga berpotensi yang sangat baik untuk dijadikan media tumbuh bagi mikroalga (Taufikurahman & Istiqomah 2019).

Mikroalga juga dikenal sebagai agen hayati yang mampu mendegradasi limbah dengan baik. Mikroalga mampu menyerap polutan, baik yang bersifat anorganik maupun organik meliputi nutrisi berlebih seperti nitrogen (dalam bentuk amonia NH₃/NH₄⁺, nitrat NO₃⁻) dan fosfor (ortofosfat PO₄³⁻), logam berat seperti kadmium (Cd), timbal (Pb), merkuri (Hg), dan kromium (Cr), serta senyawa organik seperti pestisida, fenol, dan hidrokarbon aromatik polisiklik (Bashi *et al.* 2019). Mikroalga dapat tumbuh di kawasan yang kurang ideal seperti kawasan dengan

*Penulis Korespondensi:
E-mail: farhanaidira@apps.ipb.ac.id

keterbatasan intensitas cahaya, limitasi nutrisi, dan kondisi temperatur yang tidak stabil (Padmaperuma *et al.* 2018).

Pengembangbiakan mikroalga dengan menggunakan media limbah sering kali terkendala oleh adanya kontaminan yang dapat menyebabkan kultur mikroalga mati. Salah satu solusi yang dapat digunakan adalah dengan melakukan penggabungan dua spesies mikroalga dalam satu sistem kultivasi yang sama atau dikenal juga sebagai kultur campuran (Guccione *et al.* 2014). Kultur mikroalga campuran dapat tumbuh dan menghasilkan biomassa yang tinggi pada kondisi nutrisi dan lingkungan yang tepat. Selain itu, kultur mikroalga campuran juga dapat mendegradasi limbah dengan lebih baik dibandingkan kultur mikroalga tunggal, karena lebih stabil dan tahan terhadap kontaminasi (Azizi *et al.* 2021).

Secara umum, kultivasi mikroalga dapat dilakukan dengan menggunakan dua jenis bioreaktor, yakni *photobioreactor* dan *open raceway pond* (ORP). ORP merupakan sistem yang lebih ekonomis dibandingkan dengan *photobioreactor* dari segi pemeliharaan serta kebutuhan energinya (Santiago *et al.* 2013).

Penelitian mengenai pemanfaatan limbah sebagai media kultivasi mikroalga telah banyak dilakukan karena limbah cair umumnya mengandung nitrogen dan fosfor yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroalga. Beberapa studi menunjukkan bahwa *Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp. memiliki potensi untuk tumbuh pada media limbah sekaligus menghasilkan biomassa bernilai tambah. Song *et al.* (2024), misalnya, melaporkan bahwa *Chlorella vulgaris* dan *Nannochloropsis oculata* mampu tumbuh pada limbah akuakultur sintetik serta berperan dalam penurunan nitrogen dan fosfor, dengan kadar protein masing-masing mencapai 35,9% dan 46,3% berat kering pada media limbah tersebut. Temuan ini menunjukkan bahwa media limbah tidak hanya berfungsi sebagai media pertumbuhan, tetapi juga dapat diarahkan untuk menghasilkan biomassa mikroalga yang bernilai nutrisi tinggi. Selain itu, pendekatan kultur campuran mikroalga mulai banyak dikembangkan karena sistem ini dinilai lebih adaptif terhadap kondisi limbah yang kompleks dibandingkan kultur tunggal. Gonçalves *et al.* (2017) menjelaskan bahwa penggunaan konsorsium mikroalga dalam pengolahan limbah dapat meningkatkan ketahanan kultur, efisiensi pemanfaatan nutrisi, dan stabilitas sistem kultivasi. Hal ini juga didukung oleh Zhu *et al.* (2023), yang menyatakan bahwa konsorsium mikroalga dapat meningkatkan produksi biomassa dan efisiensi penghilangan nutrisi melalui interaksi biologis antarorganisme dalam kultur. Secara lebih spesifik, Taufikurrahman *et al.* (2025) melaporkan

bahwa kultur campuran *Chlorella vulgaris* dan *Nannochloropsis oculata* pada limbah tahu dalam open raceway pond 55 L mampu menghasilkan laju pertumbuhan spesifik $0,66 \text{ hari}^{-1}$, perolehan biomassa $0,83 \text{ g/L}$, dan produktivitas biomassa $0,12 \text{ g/L hari}^{-1}$ pada perlakuan terbaik. Namun, penelitian tersebut menggunakan limbah tahu dan berfokus pada produksi astaxanthin, bukan pada pemanfaatan limbah *Anaerobically Digested Dairy Manure Wastewater* (ADDMW) untuk produksi protein. Dengan demikian, kajian mengenai pemanfaatan ADDMW sebagai media tumbuh bagi *Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp., baik dalam kultur tunggal maupun kultur campuran, khususnya untuk mengevaluasi laju pertumbuhan, produksi biomassa, dan kandungan protein pada bioreaktor open raceway pond, masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan pengaruh kultivasi *Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp. secara monokultur dan kultur campuran menggunakan media ADDMW terhadap laju pertumbuhan, produksi biomassa, dan kandungan protein mikroalga pada bioreaktor *open raceway pond*.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan. Bioreaktor yang digunakan pada eksperimen ini adalah *Vertical Tubular Reactor* (VTR) dan *open raceway pond* (ORP) dari akrilik. Bioreaktor VTR berkapasitas 25 L dengan dimensi $25 \text{ cm} \times 50 \text{ cm}$ (diameter \times tinggi) terdiri dari bagian penyimpanan lampu, ruang vakum, kompartemen kultur, *sparger*, serta ruang udara masuk (Gambar 1). Bioreaktor ORP dengan dimensi $23 \text{ cm} \times 34 \text{ cm} \times 60 \text{ cm}$ (lebar \times panjang \times tinggi) memiliki kapasitas hingga 38 L serta dilengkapi dengan agitator berupa *paddle wheel* dengan kecepatan putar 38 rpm (Gambar 2). Pencahayaan selama kultivasi menggunakan lampu LED dengan daya sebesar 8 watt dan aerasi udara diberikan melalui pompa dengan daya sebesar 10 watt dengan laju aerasi udara yang digunakan sebesar 3 L menit^{-1} .

Alat lain yang digunakan adalah neraca analitik, hemasitometer, mikroskop binokuler, spektrofotometer UV-VIS, sentrifus, dan autoklaf yang merupakan fasilitas Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) Institut Teknologi Bandung Kampus Jatinangor. *Inokulum Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp. diperoleh dari pembelian melalui *e-commerce* Sneaky pada platform Tokopedia. Limbah ADDMW diperoleh dari Kebun Pendidikan Haurgombang SITH, Institut Teknologi Bandung Kampus Jatinangor. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini seperti akuades steril, Coomassie Brilliant Blue G-250, etanol 96%, asam fosfat 85%, bovine serum albumin (BSA),

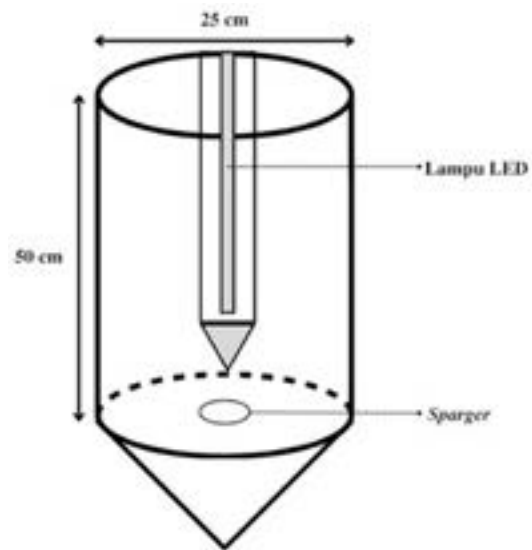
NaOH 0,5 N, etanol 70%, medium Walne, dan kertas saring Whatman No. 1 diperoleh dari gudang kimia SITH, Institut Teknologi Bandung.

Rancangan Penelitian. Rancangan penelitian ini menggunakan jenis kultivasi mikroalga sebagai perlakuan utama, yang terdiri atas tiga taraf perlakuan, yaitu kultur tunggal *Chlorella* spp., kultur tunggal *Nannochloropsis* spp., dan kultur campuran *Chlorella* spp. dengan *Nannochloropsis* spp. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak dua ulangan pada tahap kultivasi menggunakan bioreaktor *open raceway pond* (ORP), sehingga terdapat enam unit percobaan pada tahap

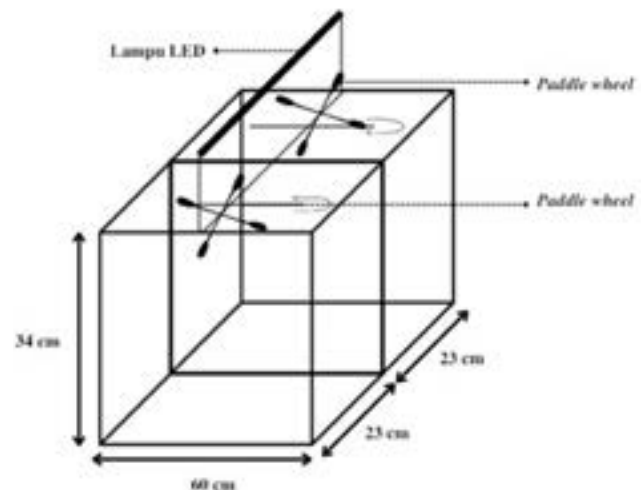
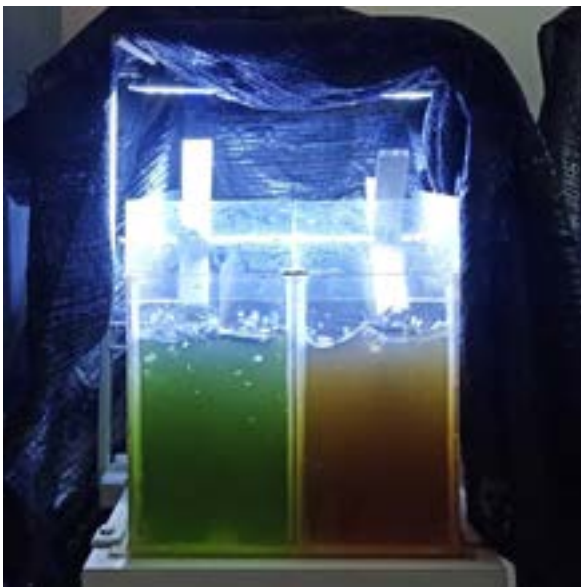
ORP, yang terdiri atas dua unit kultur tunggal *Chlorella* spp., dua unit kultur tunggal *Nannochloropsis* spp., dan dua unit kultur campuran. Setiap unit percobaan dikultivasi selama 7 hari di dalam bioreaktor ORP. Sampel dari setiap unit percobaan diambil selama periode kultivasi untuk dianalisis terhadap parameter pertumbuhan, produksi biomassa, dan kadar protein mikroalga.

Tahapan Penelitian.

Kultivasi Mikroalga Kultivasi inokulum mikroalga dilakukan melalui tiga tahapan. Tahapan pertama yaitu kultivasi pada skala botol kultur



Gambar 1. (A) Bioreaktor vertical tubular reactor (B) Skema VTR



Gambar 2. (A) Mikroalga pada open raceway pond (B) Skema ORP

dengan menggunakan media Walne di dalam botol kaca dengan volume kerja 800 mL. Selanjutnya, kultur dipindahkan ke bioreaktor VTR dengan perbandingan volume inokulum:media = 1:7 (v/v) dengan volume kerja sebanyak 3,5 L. Kultur kemudian dilakukan proses aklimatisasi selama 7 hari dengan menggunakan limbah ADDMW yang telah disterilkan di autoklaf dengan rasio inokulum : larutan media = 1:1 (v/v), yang berarti volume kerja pada VTR bertambah menjadi 7 L. Media ADDMW steril yang digunakan telah diencerkan sebanyak 25 kali.

Variasi yang diberikan adalah kultur tunggal dan kultur campuran. Setelah tahap aklimatisasi selesai, seluruh kultur dari VTR dipindahkan ke ORP dan ditambahkan media limbah ADDMW encer hingga volume total mencapai 35 L. Pada perlakuan kultur tunggal, ORP diisi dengan 7 L kultur hasil aklimatisasi dari VTR dan 28 L media ADDMW. Pada perlakuan kultur campuran, pencampuran dilakukan pada tahap ORP dengan komposisi 3,5 L kultur *Chlorella* spp. dari VTR dan 3,5 L kultur *Nannochloropsis* spp. dari VTR, sehingga total inokulum menjadi 7 L. Selanjutnya, ditambahkan 28 L media limbah ADDMW hingga volume akhir mencapai 35 L. Dengan demikian, rasio total inokulum campuran terhadap media pada tahap ORP adalah 1:4 (v/v), sedangkan rasio volume *Chlorella* spp. : *Nannochloropsis* spp. dalam inokulum campuran adalah 1:1 (v/v). Selama kultivasi pada VTR, kultur diberikan aerasi konstan, sedangkan aerasi pada ORP dihasilkan dari perputaran *paddle wheel* kolam. Pencahayaan yang digunakan adalah pemberian lampu white fluorescent selama 16 jam per hari.

Penentuan Jumlah Sel dan Perolehan Biomassa.

Penentuan jumlah sel dilakukan menggunakan hemositometer dan mikroskop. Perolehan biomassa dilakukan dengan membandingkan bobot biomassa yang diperoleh dengan volume awal kultur. Produktivitas biomassa ditentukan dengan membandingkan kepadatan biomassa tertinggi dengan waktu ketika diperoleh kepadatan biomassa tertinggi.

Penentuan Kadar Protein. Penentuan kadar protein pada sampel mikroalga dilakukan berdasarkan metode (Bradford 1976) menurut Kruger (Rashid *et al.* 2019). Sebanyak 100 mg Coomassie Blue G250 dilarutkan dalam 50 mL etanol 96%. Larutan kemudian dicampur dengan 100 mL asam fosfat 85% dan dilarutkan dengan akuades hingga volume mencapai 1 L. Larutan kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman No. 1. Filtrat yang dihasilkan digunakan sebagai reagen uji kadar protein.

Kadar protein sampel hasil ekstraksi ditentukan dengan cara mencampurkan 1 mL supernatan hasil

ekstraksi dengan 5 mL reagen Bradford. Campuran kemudian ditentukan absorbansinya pada panjang gelombang 595 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Nilai absorbansi yang diperoleh dikonversi menjadi konsentrasi protein menggunakan persamaan kurva baku yang telah dibuat menggunakan larutan bovine serum albumin (BSA) pada rentang konsentrasi 0-50 ppm. Berat protein yang diperoleh ditentukan dengan mengalikan konsentrasi protein terhadap volume supernatan. Kadar protein terhadap biomassa kering ditentukan dengan membandingkan massa protein terhadap massa kering biomassa mikroalga dalam satuan persen (%).

Proses ekstraksi protein dilakukan dengan metode Rausch (1981). Tahap pertama yaitu sebanyak 3 mL NaOH 0,5 N dimasukkan ke dalam tabung falcon yang sudah berisi biomassa 12 mL. Sampel tersebut didiamkan dalam water bath bersuhu 80°C selama 10 menit untuk waktu ekstraksi. Sampel kemudian didinginkan pada suhu ruang dengan mengalirkan air dingin. Sampel yang sudah diekstraksi kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipisahkan pada tabung reaksi, kemudian padatan yang terbentuk diekstraksi ulang dengan prosedur serupa sebanyak 1 kali.

Analisis Data.

Laju Pertumbuhan Spesifik. Laju pertumbuhan spesifik menunjukkan kecepatan pertambahan jumlah sel mikroalga selama fase pertumbuhan tertentu, terutama pada fase eksponensial. Parameter ini dihitung berdasarkan perubahan jumlah sel dari waktu awal ke waktu akhir.

$$\mu = \frac{\ln(N_t) - \ln(N_0)}{t_t - t_0}$$

μ : laju pertumbuhan spesifik mikroalga (hari^{-1})

N_t : jumlah sel mikroalga pada waktu akhir pengamatan (sel/mL)

N_0 : jumlah sel mikroalga pada waktu awal pengamatan (sel/mL)

t_t : waktu akhir pengamatan (hari)

t_0 : waktu awal pengamatan (hari)

\ln : logaritma natural

Konsentrasi Biomassa. Konsentrasi biomassa menunjukkan jumlah biomassa kering mikroalga yang dihasilkan dalam volume kultur tertentu. Parameter ini digunakan untuk menggambarkan kemampuan mikroalga dalam mengakumulasi massa sel selama kultivasi. Konsentrasi biomassa dinyatakan dalam satuan gram per liter (g.L^{-1}).

$$X = \frac{m_{\beta} - m_{\alpha}}{V}$$

X: konsentrasi biomassa mikroalga (g.L⁻¹)

m_β: massa wadah atau tabung berisi biomassa kering (g)

m_α: massa wadah atau tabung kosong (g)

V: volume sampel kultur yang digunakan (L)

Laju Pertambahan Biomassa. Laju pertambahan biomassa menunjukkan kecepatan peningkatan konsentrasi biomassa mikroalga per satuan waktu. Parameter ini menggambarkan produktivitas kultur dalam menghasilkan biomassa selama periode kultivasi. Laju pertambahan biomassa dinyatakan dalam satuan (g.L⁻¹.hari⁻¹).

$$P_x = \frac{X_t - X_0}{t_t - t_0}$$

P_x: laju pertambahan biomassa atau produktivitas biomassa (g.L⁻¹.hari⁻¹)

X_t: konsentrasi biomassa pada waktu akhir pengamatan (g.L⁻¹)

X₀: konsentrasi biomassa pada waktu awal pengamatan (g.L⁻¹)

t_t: waktu akhir pengamatan (hari)

t₀: waktu awal pengamatan (hari)

Analisis Statistik. Parameter-parameter yang diukur pada penelitian ini dianalisis menggunakan analisis variansi satu arah (one-way ANOVA) dan diikuti oleh uji jarak berganda Duncan (*Duncan's multiple range test*) untuk menentukan apakah terdapat perbedaan signifikan antara nilai-nilai parameter pada tiap perlakuan. Parameter dianggap memiliki perbedaan signifikan apabila nilai p<0,05.

HASIL

Pertumbuhan Sel dan Biomassa Mikroalga.

Pada penelitian ini, terdapat tiga perlakuan kultivasi mikroalga, yakni kultivasi kultur tunggal *Chlorella* spp., kultur tunggal *Nannochloropsis* spp., dan kultur campuran antara *Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp. dengan rasio perbandingan 1:1 (v/v). Pertumbuhan sel mikroalga tersebut dianalisis berdasarkan jumlah selnya. Kurva pertumbuhan mikroalga selama 7 hari pada setiap variasi perlakuan kultivasi dapat dilihat pada Gambar 3.

Fase hidup dari setiap perlakuan kultivasi pada fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, maupun fase kematian terdapat perbedaan pola (Gambar 3).

Jumlah sel pada kultivasi kultur tunggal *Chlorella* spp. meningkat secara bertahap sejak hari ke-0 hingga hari ke-4. Peningkatan yang cukup tajam terjadi antara hari ke-1 hingga hari ke-2, kemudian terus meningkat hingga mencapai nilai tertinggi pada hari ke-4. Setelah itu, jumlah sel mengalami penurunan pada hari ke-5 hingga hari ke-7.

Jumlah sel pada kultur tunggal *Nannochloropsis* spp. menunjukkan peningkatan sejak awal pengamatan hingga hari ke-3. Nilai jumlah sel relatif tinggi dipertahankan hingga hari ke-4, kemudian mengalami penurunan secara bertahap pada hari-hari berikutnya. Penurunan terlihat lebih jelas setelah mencapai hari ke-4 dan berlanjut hingga hari ke-7.

Jumlah sel pada kultur campuran *Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp. lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya hingga hari ke-2. Peningkatan jumlah sel mulai terlihat pada hari ke-2 dan meningkat secara tajam pada hari ke-3. Setelah itu, jumlah sel terus meningkat hingga mencapai nilai tertinggi pada hari ke-6, selanjutnya jumlah sel mengalami penurunan pada hari ke-7.

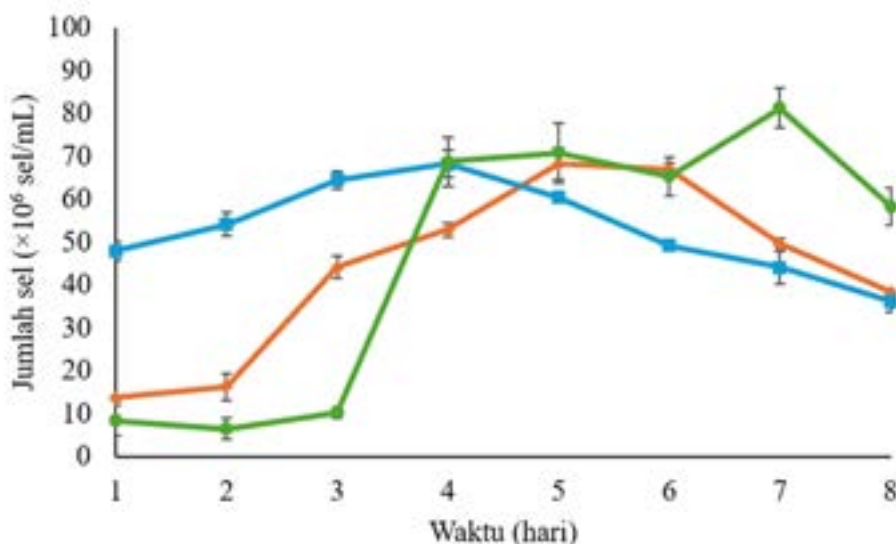
Perbandingan hasil pengamatan dari beberapa parameter pertumbuhan mikroalga disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan data tersebut, terlihat bahwa nilai parameter pertumbuhan pada kultur campuran umumnya lebih tinggi dibandingkan dengan masing-masing kultur tunggalnya.

Kadar Protein pada Mikroalga. Kadar protein pada mikroalga untuk setiap perlakuan kultivasi dapat dilihat pada Tabel 2. Kadar protein pada penelitian ini dihitung pada kultivasi hari ke-3. Kadar protein pada kultur mikroalga campuran lebih tinggi dibandingkan dengan kultur tunggal *Chlorella* spp., *Nannochloropsis* spp., walaupun tidak berbeda secara signifikan (p>0,05).

PEMBAHASAN

Pertumbuhan Sel dan Biomassa Mikroalga.

Pola pertumbuhan yang ditunjukkan pada masing-masing perlakuan mengindikasikan adanya perbedaan karakter pertumbuhan antarspesies mikroalga yang diamati. Perbedaan ini terlihat dari waktu pencapaian fase pertumbuhan maksimum serta laju peningkatan jumlah sel pada setiap perlakuan. Pola pertumbuhan yang terjadi pada kultur tunggal *Chlorella* spp. sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Purkan *et al.* (2019): fase eksponensial dari *Chlorella* spp. dimulai dari hari ke-1 dan dapat bertahan hingga hari ke-6 dengan menggunakan medium BG-11 yang memiliki kandungan nitrogen lebih banyak dibandingkan dengan media ADDMW. Kultur tunggal *Chlorella* spp. yang dikultivasi pada media ADDMW menunjukkan nilai laju pertumbuhan spesifik dan laju



Gambar 3. Kurva pertumbuhan kultivasi kultur tunggal *Chlorella* spp., kultur tunggal *Nannochloropsis* spp., dan kultur campuran *Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp.

Tabel 1. Parameter pertumbuhan mikroalga

Kultur mikroalga	Media	Laju pertumbuhan spesifik (hari ⁻¹)	Biomassa (g.L ⁻¹)	Laju pertumbuhan biomassa (g.L ⁻¹ hari ⁻¹)	Referensi
<i>Chlorella</i> spp.	ADDMW	0,78±0,11 ^a	0,34±0,02 ^A	0,14±0,05 ^a	Penelitian ini
<i>Nannochloropsis</i> spp.	ADDMW	0,74±0,53 ^a	0,53±0,32 ^A	0,11±0,06 ^a	Penelitian ini
<i>Chlorella</i> spp. dan <i>Nannochloropsis</i> spp.	ADDMW	1,47±1,21 ^b	0,95±0,15 ^B	0,28±0,06 ^b	Penelitian ini

Data dianalisis menggunakan one-way ANOVA yang dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test*. Huruf yang sama pada angka dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 5% ($p < 0,05$)

Tabel 2. Kadar protein pada hari ke-3 dari berbagai kultivasi mikroalga

Spesies	Medium	Reaktor	Kadar protein (%) terhadap bobot kering	Referensi
<i>Chlorella</i> spp.	ADDMW	ORP	40,42 ^a	Penelitian ini
<i>Nannochloropsis</i> spp.	ADDMW	ORP	40,11 ^a	Penelitian ini
<i>Chlorella</i> spp. dan <i>Nannochloropsis</i> spp.	ADDMW	ORP	56,25 ^a	Penelitian ini

Data dianalisis menggunakan one-way ANOVA yang dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test*. Huruf yang sama pada angka dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 5% ($p < 0,05$).

pertambahan biomassa yang lebih tinggi dibandingkan hasil Sofiyah *et al.* (2021) pada *Chlorella* spp. yang dikultivasi menggunakan medium BG-11. Hasil ini menunjukkan bahwa media ADDMW mampu mendukung pertumbuhan *Chlorella* spp. dengan baik, meskipun ADDMW merupakan media berbasis limbah. Kemampuan tersebut diduga berkaitan dengan kandungan nitrogen dan fosfor dalam ADDMW yang dapat dimanfaatkan mikroalga sebagai sumber nutrisi utama untuk pembelahan sel, sintesis klorofil, dan pembentukan biomassa.

Pada perlakuan *Nannochloropsis* spp., peningkatan jumlah sel terjadi pada fase awal hingga pertengahan

kultivasi sebelum mengalami penurunan pada fase akhir. Pola ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Metsoviti *et al.* (2019) bahwa pertumbuhan *Nannochloropsis* spp. dalam sistem *open raceway pond* dipengaruhi oleh kondisi kultivasi yang diberikan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa media ADDMW masih mampu mendukung pembentukan biomassa dan pertumbuhan kultur, meskipun nilai konsentrasi biomassa dan laju pertumbuhan biomassa yang diperoleh lebih rendah dibandingkan hasil Metsoviti *et al.* (2019) pada medium Bold Basal Medium yang merupakan medium sintetik dengan komposisi nutrisi yang lebih terkontrol, sedangkan

ADDMW memiliki komposisi yang lebih kompleks karena berasal dari limbah hasil digesti anaerobik.

Selanjutnya, perlakuan kultur campuran memperoleh hasil pertumbuhan yang paling tinggi dibandingkan dengan kedua perlakuan kultur tunggal dari masing-masing kulturnya (Tabel 1). Hasil ini menjelaskan bahwa perlakuan kultur campuran dapat meningkatkan pertumbuhan mikroalga bahkan pada media limbah. Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Militao *et al.* (2019) yang menunjukkan bahwa mikroalga dengan perlakuan kultur campuran memiliki komposisi biokimia dengan tingkat stabilitas yang tinggi sehingga mampu tumbuh dengan baik pada bioreaktor *open raceway pond*. Menurut Rashid *et al.* (2019), alasan utama perlakuan kultur campuran mampu meningkatkan produktivitas biomassa adalah karena adanya kapitalisasi gas buang yang baik serta penggunaan kembali karbon organik pada sistem kultivasi. Selain itu, kultur campuran mikroalga memungkinkan adanya toleransi berbeda pada masing-masing spesies yang digunakan, sehingga dapat mempertahankan kultur dalam keadaan yang tidak diinginkan, misalnya pH dan suhu yang ekstrem, kontaminan, dan invasi mikroalga atau bakteri asing (Padmaperuma *et al.* 2018).

Produksi Protein oleh Mikroalga. Kadar protein pada kultur tunggal *Chlorella* spp. lebih rendah daripada hasil yang didapatkan oleh Phukan *et al.* (2011) (Tabel 1). Hal ini dapat terjadi karena terdapat perbedaan kondisi kultivasi yaitu media kultivasi yang digunakan. Penelitian Phukan *et al.* (2011) menggunakan media kultivasi yang lebih sesuai yaitu medium BG-11, yang berarti bahwa kultivasi bisa dilakukan tanpa perlu ada proses aklimatisasi, seperti yang dilakukan pada penelitian ini, yakni dengan menggunakan limbah ADDMW. Selanjutnya, kadar protein pada kultur tunggal *Nannochloropsis* spp. sama dengan penelitian Andres *et al.* (1992) yaitu sekitar 40% dari berat biomasanya.

Kadar protein pada kultur campuran memiliki nilai paling tinggi dibandingkan dengan variasi perlakuan kultur tunggal lainnya. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Annisa *et al.* (2022) bahwa kultur campuran mikroalga akan memiliki kestabilan kultur yang lebih baik dibandingkan dengan kultur tunggalnya. Pada penelitian lain juga dijelaskan bahwa kultivasi mikroalga kultur campuran mampu menghasilkan protein yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultivasi kultur tunggal (Militao *et al.* 2019).

Ketersediaan nitrogen dalam medium kultivasi berperan penting dalam pertumbuhan mikroalga dan pembentukan biomolekul berbasis nitrogen, termasuk protein. Nitrogen merupakan komponen utama asam amino, protein, klorofil, dan asam nukleat, sehingga ketersediaannya dapat memengaruhi

pertumbuhan sel dan komposisi biokimia biomassa. Makareviciene *et al.* (2011) melaporkan bahwa sumber dan konsentrasi nitrogen memengaruhi produktivitas biomassa *Chlorella* spp. dan *Scenedesmus* spp., sedangkan Metsoviti *et al.* (2019) menunjukkan bahwa kandungan nutrisi mikroalga dipengaruhi oleh spesies dan kondisi kultivasi. Namun, pengaruh nitrogen terhadap kadar protein tidak selalu bersifat linier karena juga dipengaruhi oleh bentuk nitrogen, rasio nutrien, fase pertumbuhan, dan kondisi kultivasi. Pada kondisi nitrogen terbatas, mikroalga dapat mengalami penurunan kandungan protein dan mengalihkan metabolisme ke akumulasi lipid atau karbohidrat (Hulatt *et al.* 2017). Dengan demikian, kadar protein yang lebih tinggi pada penelitian dapat dikaitkan dengan ketersediaan nitrogen pada media ADDMW, tetapi tetap perlu dipahami sebagai hasil dari kombinasi faktor nutrien dan kondisi kultivasi, bukan hanya dari akibat ketersediaan kadar nitrogen pada medium kultivasi.

Pembentukan protein termasuk ke dalam growth-related product yang memiliki makna bahwa produksi protein berlangsung secara bersamaan dengan pembentukan biomasanya (de Carvalho *et al.* 2019). Hal ini dibuktikan dengan tingginya nilai perolehan serta produktivitas biomassa mikroalga kultur campuran dibandingkan dengan kultur tunggal. Begitu juga dengan nilai kadar protein kultur campuran lebih tinggi dibandingkan dengan kultur tunggalnya.

Kesimpulannya, penelitian ini menunjukkan kultur campuran mikroalga *Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp. menghasilkan nilai laju pertumbuhan spesifik, perolehan biomassa, serta produktivitas biomassa yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur tunggal masing-masing spesies. Nilai laju pertumbuhan spesifik, perolehan biomassa, dan produktivitas biomassa tertinggi dihasilkan pada variasi kultur campuran yaitu sebesar 1,47 hari⁻¹, 0,95 g.L⁻¹, dan 0,28 g.L⁻¹ hari⁻¹ secara berurutan. Kadar protein tertinggi juga diperoleh pada kultur campuran yaitu sebesar 56,25% dari berat keringnya.

Oleh karena itu, strategi pengembangbiakan mikroalga dengan menggunakan teknik kultur campuran antara *Chlorella* spp. dan *Nannochloropsis* spp. ini dinilai mampu memaksimalkan potensi mikroalga dalam proses pertumbuhan serta produksi metabolitnya. Potensi pengembangan melalui kombinasi mikroalga spesies lain dapat dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan biomassa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada PPMI ITB tahun 2021 yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrés M, Raúl C, Luis L, Mariane L. 1992. Evaluation of marine microalga *Nannochloropsis* sp. as a potential dietary supplement. Chemical, nutritional and short term toxicological evaluation in rats. *Nutrition research*. 12:1273-1284. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(05\)80784-5](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(05)80784-5)
- Annisa, Taufikurahman, Meliani L. 2022. Produksi protein dan biomassa dari kultivasi *Chlorella vulgaris* dan *Nannochloropsis* sp. dalam medium limbah cair budidaya ikan dengan variasi perlakuan mixed culture [Thesis]. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Azizi S, Bayat B, Tayebati H, Hashemi A, Pajoum Shariati F. 2021. Nitrate and phosphate removal from treated wastewater by *Chlorella vulgaris* under various light regimes within membrane flat plate photobioreactor. *Environmental Progress & Sustainable Energy*. 40:e13519. <https://doi.org/10.1002/ep.13519>
- Barsanti L, Gualtieri P. 2006. Algal culturing. In: *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. Boca Raton: CRC Press. pp 1-15.
- Bashi Z, McCullough R, Ong L, Ramirez M. 2019. *Alternative Proteins: The Race for Market Share is On*. Denver: McKinsey & Company.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Chen P, Min M, Chen Y, Wang L, Li Y, Chen Q, Wang C, Wan Y, Wang X, Cheng Y, Deng S, Hennessy K, Lin X, Liu Y, Wang Y, Martinez B, Ruan R. 2010. Review of biological and engineering aspects of algae to fuels approach. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*. 2:1-30.
- de Carvalho JC, Sydney EB, Tessari LFA, Soccol CR. 2019. Culture media for mass production of microalgae. In: Pandey A, Chang JS, Soccol CR, Lee DJ, Chisti Y (eds). *Biofuels from Algae*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier. p 33-50. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64192-2.00003-4>
- Gonçalves AL, Pires JCM, Simões M. 2017. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research* 24:403-415. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008>
- Guccione A, Biondi N, Sampietro G, Rodolfi L, Bassi N, Tredici MR. 2014. *Chlorella* for protein and biofuels: from strain selection to outdoor cultivation in a Green Wall Panel photobioreactor. *Biotechnology for Biofuels*. 7:84. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-84>
- Hulatt CJ, Wijffels RH, Bolla S, Kiron V. 2017. Production of fatty acids and protein by *Nannochloropsis* in flat-plate photobioreactors. *PloS one*. 12:e0170440. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170440>
- Makareviciene V, Andrulevičiūtė V, Skorupskaitė V, Kasperovičienė J. 2011. Cultivation of microalgae *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. as a potential biofuel feedstock. *Environmental Research, Engineering and Management*. 57:21-27. <https://doi.org/10.5755/j01.erem.57.3.1520>
- Metsoviti MN, Papapolymerou G, Karapanagiotidis IT, Katsoulas N. 2019. Comparison of growth rate and nutrient content of five microalgae species cultivated in greenhouses. *Plants*. 8:279. <https://doi.org/10.3390/plants8080279>
- Militão FP, Fernandes VO, Bastos KV, Martins AP, Colepicolo P, Machado LP. 2019. Nutritional value changes in response to temperature, microalgae mono and mixed cultures. *Acta Limnologica Brasiliensia*. 31:e17. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X1018>
- Padmaperuma G, Kapoore RV, Gilmour DJ, Vaidyanathan S. 2018. Microbial consortia: a critical look at microalgae co-cultures for enhanced biomanufacturing. *Critical Reviews in Biotechnology*. 38:690-703. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1390728>
- Phukan MM, Chutia RS, Konwar BK, Katak R. 2011. Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock. *Applied Energy*. 88:3307-3312. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.11.026>
- Purkan P, Nidianti E, Abdulloh A, Safa A, Retnowati W, Soemarjati W, Nurlaila H, Kim SW. 2019. Biodiesel production by lipids from Indonesian strain of microalgae *Chlorella vulgaris*. *Open Chemistry*. 17:919-926. <https://doi.org/10.1515/chem-2019-0100>
- Rashid N, Ryu AJ, Jeong KJ, Lee B, Chang YK. 2019. Co-cultivation of two freshwater microalgae species to improve biomass productivity and biodiesel production. *Energy Conversion and Management*. 196:640-648. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2019.05.106>
- Rausch T. 1981. The estimation of micro-algal protein content and its meaning to the evaluation of algal biomass I. Comparison of methods for extracting protein. *Hydrobiologia*. 78:237-251. <https://doi.org/10.1007/BF00008524>
- Santiago AF, Calijuri ML, Assemany PP, Calijuri MDC, Reis AJD. 2013. Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent. *Environmental Technology*. 34:1877-1885. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.826783>
- Sofiyah ES, Ariyanti S, Septiariva IY, Suryawan IWK. 2021. The opportunity of developing microalgae cultivation techniques in Indonesia. *Ber. Biol*. 20:221-233.
- Song WRL, Yeap SK, Yusoff FM, Tan JP, Abdu Rahman N. 2024. Potential of culturing microalgae *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis oculata* with aquaculture wastewater for simultaneous aquafeed production and wastewater remediation. *Blue Biotechnology*. 1:19. <https://doi.org/10.1016/j.bbtc.2024.100019>
- Taufikurahman T, Istiqomah IN. 2019. Phycoremediation of anaerobic digested dairy manure wastewater using *Chlorella vulgaris*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 299:012013. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/299/1/012013>
- Taufikurahman T, Irene J, Melani L, Marwani E, Purba LDA, Susanti H. 2025. Optimizing microalgae cultivation in tofu wastewater for sustainable resource recovery: the impact of salicylic acid on growth and astaxanthin production. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 15:30535-30544. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-05891-9>
- Zhu S, Higa L, Barela A, Lee C, Chen Y, Du ZY. 2023. Microalgal consortia for waste treatment and valuable bioproducts. *Energies*. 16:884. <https://doi.org/10.3390/en16020884>