

Optimasi Pemberian Nutrisi pada Media Kultur Mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk Meningkatkan Kadar Lipid sebagai Bahan Baku Biodiesel

Ramiz Hasbi¹, Puspanitresna¹, Andi Aryanti Nurul Azkiya², Omay Sumarna¹, Tuszie Widhiyanti²

¹Program Studi Kimia, Universitas Pendidikan Indonesia, Indonesia

^{1,2}Program Studi Pendidikan Kimia, Universitas Pendidikan Indonesia, Indonesia

Email : ramizhasbi76@upi.edu (R.H), puspanitresna@upi.edu (P), azkiyandi17@upi.edu (A.A.N.A)

Abstrak : Biodiesel merupakan bahan bakar alternatif yang memiliki potensi sebagai alternatif untuk menggantikan bahan bakar fosil yang tidak ramah lingkungan dan terbatas. Bahan dasar pembuatan biodiesel seringkali berasal dari minyak kelapa sawit. Hal ini, menjadi masalah karena produksi minyak skala besar dari tanaman kelapa sawit memerlukan lahan yang luas dan dapat menimbulkan kerusakan lingkungan hutan. Mikroalga *Chlorella vulgaris* merupakan jenis mikroalga penghasil lipid yang baik, sehingga lipid yang diperoleh dari mikroalga ini dapat menjadi alternatif sebagai bahan baku pembuatan biodiesel. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan kondisi optimal dalam pemberian nutrisi pada media kultur mikroalga *C. vulgaris* untuk meningkatkan kadar lipid di dalam selnya. Variabel bebas yang diujikan pada penelitian ini, yaitu pemberian nutrisi menggunakan air cucian beras, air limbah ampas tahu, air kelapa, dan kontrol (air tawar). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi yang paling optimal adalah pada media kultur yang diberi nutrisi air kelapa dengan perolehan lipid sebesar 22,08%, sedangkan media kultur lain diperoleh lipid berkisar 1 - 3,5 %. Hal ini disebabkan karena air kelapa kaya akan kandungan mineral kalium dan magnesium, serta karbohidrat (glukosa, fruktosa) yang berperan penting dalam pertumbuhan dan pembentukan lipid di dalam sel mikroalga. Pemberian nutrisi dengan air kelapa pada media kultur mikroalga menjadi cara yang berpotensi untuk mengembangkan produksi lipid dalam skala industri menggunakan mikroalga yang dapat menjadi bahan alternatif pembuatan biodiesel.

Kata Kunci : biodiesel, chlorella vulgaris, lipid, mikroalga, nutrisi

Abstract : Biodiesel is an alternative fuel with significant potential to replace conventional fossil fuels, which are both environmentally harmful and finite. It is most commonly produced from palm oil, but large-scale plantations require extensive land use and can lead to severe forest degradation. *Chlorella vulgaris* microalgae is a promising lipid-producing species. Lipids extracted from this microalgae can

Jurnal Energi Baru & Terbarukan, 2025, Vol. 6, No. 2, pp 1 – 8

Received : 17 Juni 2025

Accepted : 18 Juli 2025

Published : 20 Juli 2025



Copyright: © 2022 by the authors. [Jurnal Energi Baru dan Terbarukan](#) (p-ISSN: [2809-5456](#) and e-ISSN: [2722-6719](#)) published by Master Program of Energy, School of Postgraduate Studies. This article is an open access article distributed under the terms and condition of the [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](#) (CC BY-SA 4.0).

serve as an alternative feedstock for biodiesel production. This study aimed to determine the optimal nutrient supplementation conditions in the *C. vulgaris* culture medium to enhance intracellular lipid accumulation. The independent variables tested were nutrient sources: rice washing water, tofu wastewater, coconut water, and a control (freshwater). Results demonstrated that the most optimal condition was achieved using coconut water as a nutrient supplement, yielding a lipid content of 22.08%. In contrast, the other culture media yielded lipids ranging from 1% to 3.5%. This significant increase is attributed to coconut water's richness in essential minerals (potassium and magnesium) and carbohydrates (glucose, fructose), which play crucial roles in microalgal growth and intracellular lipid biosynthesis. Supplementing microalgal culture media with coconut water offers a promising approach for scaling up industrial lipid production using microalgae, thereby supporting the development of sustainable biodiesel alternatives.

Keywords : biodiesel, *Chlorella vulgaris*, lipid, microalgae, nutrient

1. Pendahuluan

Biodiesel merupakan bahan bakar alternatif yang dihasilkan oleh reaksi kimia antara minyak nabati atau lemak hewani dengan alkohol rantai pendek, antara lain metanol, etanol, atau butanol dan dengan dibantu katalis, proses ini disebut transesterifikasi. Ditinjau melalui sudut pandang lingkungan, penggunaan biodiesel memiliki beberapa keuntungan misalnya dapat mereduksi emisi karbon monoksida (CO), karbon dioksida (CO₂), nontoxic dan biodegradable. Eksistensi biodiesel ini diharapkan dapat mereduksi penggunaan bahan bakar fosil (Maceiras et al., 2011).

Produksi biodiesel tentunya bergantung besar pada perolehan dan pemilihan bahan baku. Pemilihan bahan baku dalam produksi biodiesel bertujuan untuk mengatasi keterbatasan sumber daya yang tersedia. Bahan baku pembuatan biodiesel dapat berasal dari minyak nabati, seperti minyak kelapa sawit, kedelai, bunga matahari, lobak, kelapa, dan kacang-kacangan (Wibowo, 2013). Mikroalga dikembangkan sebagai alternatif bahan baku biodiesel karena memiliki potensi besar di Indonesia. Mikroalga kaya akan minyak nabati, yang menandakan tingginya kandungan asam lemak dalam alga. Semakin tinggi kadar asam lemak dalam suatu bahan, semakin besar kemampuannya dalam menghasilkan biodiesel (Orchidea et al., 2010). Mikroalga merupakan organisme fotosintetik mikroskopis yang memiliki potensi besar sebagai sumber bioenergi, salah satunya melalui produksi lipid (minyak). Salah satu jenis mikroalga yang banyak diteliti adalah *Chlorella vulgaris*, karena kemampuannya dalam menghasilkan kandungan lipid yang tinggi serta laju pertumbuhan yang cepat (Gouveia & Oliveira, 2009).

Chlorella vulgaris merupakan mikroalga uniseluler dari kelompok hijau (green algae) yang dikenal memiliki kandungan lipid tinggi, menjadikannya kandidat utama dalam produksi biodiesel. Kandungan lipid dalam *C. vulgaris* dapat mencapai 20–40% dari berat kering, tergantung kondisi pertumbuhannya (Mata et al., 2010). Kandungan lipid dalam *Chlorella vulgaris* sangat bervariasi tergantung pada kondisi lingkungan dan media kultur. Menurut Khalaji (2022), komposisi asam lemak dalam lipid *C. vulgaris* didominasi oleh asam palmitat (C16:0), asam oleat (C18:1), dan asam linoleat (C18:2). Komposisi ini menjadikan *C. vulgaris* sebagai kandidat yang baik untuk produksi biodiesel berkualitas tinggi.

Pertumbuhan dan kandungan lipid dalam mikroalga sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan seperti intensitas cahaya, suhu, pH, dan terutama media nutrisi yang digunakan selama proses budidaya (Sharma et al., 2012). Dalam kondisi cukup nutrisi, mikroalga akan mengarahkan metabolisme seluler untuk membentuk protein dan replikasi sel. Namun, pada kondisi stres nutrisi, metabolisme akan beralih pada akumulasi senyawa cadangan seperti lipid. Ketersediaan nitrogen, fosfat, dan karbon, misalnya, telah terbukti memainkan peran penting dalam meningkatkan akumulasi lipid dalam sel mikroalga. Penelitian Mujtaba et al. (2012) menunjukkan bahwa dalam kondisi kekurangan nitrogen, *C. vulgaris* dapat mengakumulasi lipid hingga 43–53% dari berat kering sel dalam waktu 12–24 jam, dengan produktivitas lipid mencapai sekitar 77 mg/L/hari.

Demikian pula, intensitas cahaya juga dapat memengaruhi pertumbuhan sel dan akumulasi lipid pada mikroalga. Peningkatan intensitas cahaya umumnya meningkatkan biomassa hingga batas fotoinhibisi tertentu, contohnya *Desmodesmus* sp. mencapai biomassa tertinggi 1,4 g/L pada $300 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sementara *Scenedesmus* sp. 11-1 menghasilkan 3,88 g/L pada $400 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dalam kondisi nitrogen terbatas (Liu et al., 2012; Nzayisenga et al., 2020). Akumulasi lipid juga meningkat seiring intensitas cahaya menunjukkan bahwa intensitas 5.000 lux (setara $\sim 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) menghasilkan kadar lipid 20,75% (berat kering), lebih tinggi dibandingkan intensitas 3.000 lux atau 7.000 lux pada *Chlorella variabilis* RSM09 (Chantarasiri & Ungwiwatkul, 2024). Namun, respons ini bervariasi tergantung spesies dan kondisi kultur. Pada penelitian Nzayisenga et al. (2020), *Chlorella vulgaris* justru mengalami penurunan lipid pada intensitas tinggi meski biomassa naik.

Beberapa penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa kandungan nutrisi dalam media kultur berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan dan akumulasi lipid dalam mikroalga. Misalnya, hasil penelitian Yeh & Chang (2011) mengungkapkan bahwa kandungan nitrogen yang berbeda dalam media kultur dapat mempengaruhi jumlah lipid yang disintesis oleh *Chlorella vulgaris*. Sementara itu, air kelapa diketahui mengandung unsur mikro seperti kalium dan magnesium yang dapat mendukung pertumbuhan mikroalga (Claudia et al., 2018).

Meskipun demikian, masih terdapat keterbatasan dalam penelitian informasi terkait kondisi optimum pemberian nutrisi pada media Kultur mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk memperoleh akumulasi lipid dalam sel mikroalga. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mencari kondisi optimal dalam pemberian nutrisi pada media kultur mikroalga *C. vulgaris* untuk meningkatkan kadar lipid di dalam selnya. Variabel bebas yang diujikan pada penelitian ini, yaitu pemberian nutrisi menggunakan air cucian beras, air limbah ampas tahu, air kelapa, dan kontrol (air tawar).

2. Metode Penelitian

Metode penelitian ini dirancang untuk mengevaluasi pengaruh variasi media nutrisi terhadap pertumbuhan dan akumulasi lipid pada mikroalga *C. vulgaris*, dengan tahapan utama meliputi persiapan kultur, pengkondisian media, inokulasi, hingga analisis kuantitatif biomassa dan hasil ekstraksi lipid.

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu wadah plastik ukuran 1 liter, lampu 2835 SMD LED *red & blue*, batang pengaduk, spatula, pipet pasteur, botol vial 5 mL, set alat refluks mikro, timbangan analitik, pompa vakum, pompa aerasi, selang, set filtrasi Buchner, termometer.

2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu air keran (tawar), starter mikroalga *C. vulgaris* yang diperoleh dari *e-commerce*, padatan NaHCO_3 , larutan n-heksana, tisu, kertas lakmus, kertas saring.

2.3. Prosedur

- Persiapan alat dan bahan. Menggunakan 4 jenis perlakuan media kultur mikroalga *C. vulgaris*, yaitu menggunakan campuran air tawar dengan tiga jenis nutrisi (air cucian beras², air kelapa³, air limbah ampas tahu⁴) dan air tawar¹ saja sebagai kontrol.
- Sterilisasi masing-masing tiga jenis cairan nutrisi dengan dilakukan pasteurisasi atau pemanasan pada suhu 65°C selama 20 menit.
- Kultur mikroalga *C. vulgaris* digunakan sebanyak 7% dari volume total media 1000 mL dalam wadah plastik. Campuran air tawar dan pupuk nutrisi yang digunakan, yaitu dengan perbandingan air tawar:pupuk nutrisi (9:1) dengan setiap empat jenis perlakuan masing-masing ditambahkan 2 gr NaHCO_3 . Kultur mikroalga dilakukan dalam media dengan pH 7-8, pencahayaan menggunakan lampu UV 2835 SMD LED red & blue dengan perbandingan terang:gelap (12:12), dan dilakukan aerasi udara bebas masing-masing media kultur selama 20 menit per hari.
- Pemanenan biomassa mikroalga dilakukan setelah kultivasi selama 10 hari pada fase stasioner pertumbuhan mikroalga. Fase stasioner *C. vulgaris* umumnya terjadi antara hari ke-8 hingga ke-15 yang merupakan kondisi terbaik dalam akumulasi lipid (Teh et al., 2021).
- Tahap pengukuran biomassa dilakukan setelah biomassa disaring dengan kertas saring yang kemudian dikeringkan. Perolehan biomassa kering dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Berat Biomassa kering } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{Berat filter dengan biomassa} - \text{Berat filter}}{\text{Volume Sampel}} \quad (1)$$

- Lipid diperoleh dengan metode ekstraksi refluks mikro menggunakan pelarut n-heksana (biomassa:n-heksana 1:100) selama 2 jam. Biomassa kering yang diekstraksi masing-masing sebanyak 0,045 gram. Setelah tahap ekstraksi, selanjutnya dilakukan penyaringan ekstrak kemudian penguapan pelarut dengan pemanasan, sehingga dihasilkan lipid. Kadar lipid dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Total Lipid (\%)} = \frac{(A - B)}{C} \times 100 \quad (2)$$

Keterangan:

A = Berat labu berisi lipid

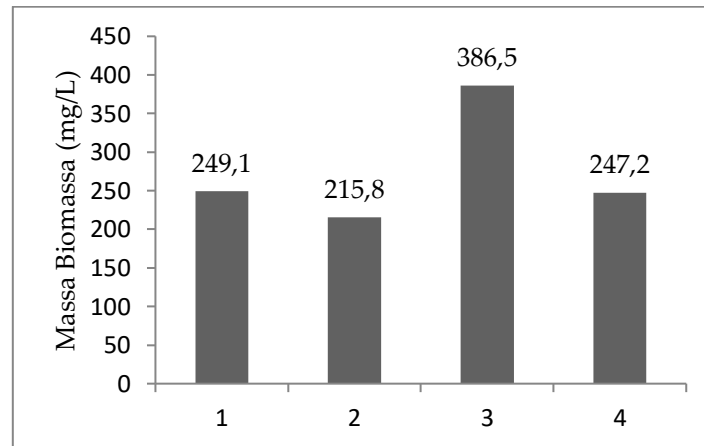
B = Berat labu kosong

C = Berat kering sampel

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Produktivitas Biomassa Mikroalga

Biomassa mikroalga *C. vulgaris* diperoleh melalui proses penyaringan dan pengeringan setelah hari ke-10 pengembangbiakkan dengan menggunakan kertas saring dengan teknik filtrasi vakum (Buchner).



Gambar 1. Perolehan Biomassa Mikroalga *C. vulgaris*; (1) Kontrol, (2) Air Cucian Beras, (3) Air Kelapa, (4) Air Limbah Ampas Tahu

Dari Gambar 1 di atas menunjukkan bahwa perolehan biomassa tertinggi adalah pada kultur mikroalga dengan media air tawar ditambah dengan air kelapa sebesar 386,5 mg/L. Hal ini disebabkan karena kandungan nutrisi yang ada di dalam air kelapa membantu pertumbuhan mikroalga. Dibandingkan dengan komposisi nutrisi pada media kultur lain, air kelapa tidak hanya kaya akan mineral-mineral vital, melainkan juga mencakup hormon pertumbuhan. Mineral yang terkandung di antaranya adalah natrium, kalsium, magnesium, besi, tembaga, dan fosfor. Sementara itu, dari segi zat pengatur tumbuh, terdapat auksin dan sitokinin yang secara ilmiah diakui peran signifikannya dalam mendukung dan mengatur proses pertumbuhan khususnya pada *C. vulgaris* (Ariyanti et al., 2018).

Perolehan biomassa mikroalga pada media kultur air cucian beras, air limbah ampas tahu, dan kontrol tidak jauh berbeda. Namun, perbedaan terlihat dari kepekatan warna (klorofil) mikroalga dari ketiganya. Gambar 2 memperlihatkan kultur mikroalga pada hari terakhir perkembangbiakkan.

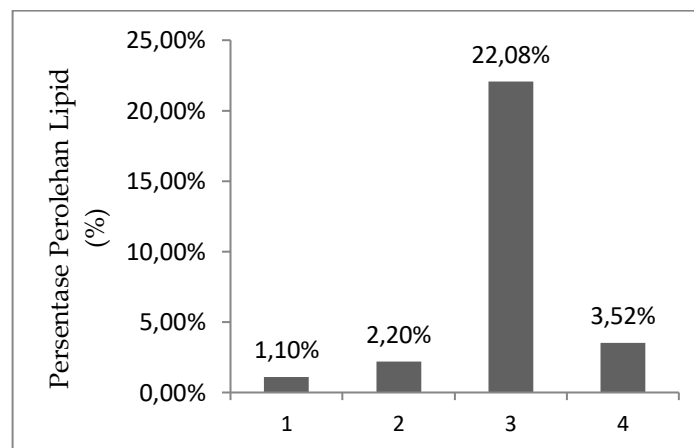


Gambar 2. Hari ke-10 Kultivasi Mikroalga *C. vulgaris*; (a) Kontrol, (b) Air Cucian Beras, (c) Air Limbah Ampas Tahu, (d) Air Kelapa

Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa pada media kultur kontrol memiliki kepekatan warna yang lebih rendah dari pada air cucian beras dan air limbah ampas tahu. Hal ini karena tidak adanya asupan nutrisi pada media kontrol yang berfungsi sebagai senyawa pembentuk klorofil. Air cucian beras dan air limbah ampas tahu mempunyai kandungan nitrogen dan fosfor yang berperan penting untuk pembentukan klorofil a dan metabolisme sel mikroalga (Ismail et al., 2024).

3.2. Perolehan Lipid Mikroalga *C. vulgaris*

Lipid diperoleh dari hasil ekstraksi biomassa kering mikroalga *C. vulgaris* masing-masing sebanyak 0,045 gr menggunakan pelarut n-heksana dengan metode refluks skala mikro selama 2 jam.



Gambar 3. Persentase Perolehan Lipid Mikroalga; (1) Kontrol, (2) Air Cucian Beras, (3) Air Kelapa, (4) Air Limbah Ampas Tahu

Grafik pada Gambar 3 memperlihatkan bahwa media kultur yang menghasilkan lipid paling banyak adalah media dengan penambahan nutrisi air kelapa sebesar 22,08%, sedangkan media kultur lain diperoleh lipid berkisar 1-3,5 %.

Air kelapa muda (7–9 bulan) kaya akan nutrisi penting bagi pertumbuhan mikroalga. Komposisi air kelapa meliputi gula sederhana (seperti glukosa dan fruktosa), asam amino, serta elektrolit utama (kalium, magnesium, kalsium) dan vitamin. Saputro et al. (2015) melaporkan, air kelapa mengandung ~7,3% karbohidrat total, gula, vitamin, elektrolit, dan hormon pertumbuhan (sitokinin). Kadar gula yang tinggi (sekitar 7% karbohidrat) serta kelimpahan K dan Mg dapat memperkuat fungsi fotosintesis dan enzimatis mikroalga. Kombinasi nutrisi organik dan anorganik ini diperkirakan meningkatkan efisiensi metabolisme dan mensuplai prekursor sintesis lipid.

Gula dalam air kelapa berperan sebagai sumber karbon organik tambahan. Meskipun *Chlorella vulgaris* dalam eksperimen dikultur secara fotoautotrof, keberadaan glukosa/fruktosa dalam medium dapat memicu jalur metabolik mixotrofik yang meningkatkan akumulasi lipid. Penelitian menunjukkan bahwa kultur mikroalga dengan sumber karbon organik (misal glukosa) secara signifikan meningkatkan pertumbuhan biomassa dan kadar lipid sel dibandingkan kultur murni fotoautotrof. Dengan kata lain, gula dari air kelapa muda menyediakan sumber karbon yang diintegrasikan ke dalam rantai metabolik asam lemak, sehingga mendorong peningkatan sintesis lipid di dalam sel (Yun et al., 2021).

Kalium (K^+) dan magnesium (Mg^{2+}) adalah nutrisi makroelektrolit penting bagi fotosintesis dan aktivitas enzim dalam mikroalga. Kalium berperan sebagai kofaktor enzim dan penyeimbang muatan sel, serta meningkatkan efisiensi fotosintesis. Studi kultur mikroalga menunjukkan bahwa pemberian kalium nitrat (KNO_3) dalam medium dapat menaikkan kandungan lipid dan produktivitas mikroalga lebih tinggi daripada sumber nutrisi lain (Gour et al., 2018). Hal ini menunjukkan bahwa suplai Kalium yang memadai (seperti dari air kelapa) mendukung produksi lipid. Demikian pula, magnesium adalah inti molekul klorofil dan kofaktor banyak enzim biosintesis lipid. Pada penelitian Gorain *et al.* (2013), peningkatan konsentrasi Mg dalam medium kultur *Chlorella vulgaris* dapat meningkatkan biomassa dan hasil lipid. Dengan demikian, air kelapa yang kaya akan K dan Mg dapat memperkuat jalur fotosintesis dan akumulasi lipid mikroalga (Gorain et al., 2013).

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa kondisi yang paling optimal pada media kultur mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk menghasilkan lipid adalah media kultur dengan pemberian nutrisi air kelapa. Hal ini disebabkan karena air kelapa kaya akan kandungan kalium, magnesium, dan karbohidrat (glukosa dan fruktosa) yang berperan penting dalam pertumbuhan dan pembentukan lipid di dalam sel mikroalga. Oleh karena itu, penambahan nutrisi air kelapa pada media kultur mikroalga berpotensi sebagai cara untuk meningkatkan kadar lipid, yang mana langkah ini merupakan inovasi dalam memperoleh bahan dasar prekursor pembuatan biodiesel yang berkelanjutan.

Dari hasil yang diperoleh penelitian ini, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengoptimalkan pemberian air nutrisi air kelapa dengan membandingkan berbagai rasio, pengkondisian media kultur, dan kombinasi dengan sumber nutrisi lain, guna memaksimalkan pertumbuhan dan akumulasi lipid pada mikroalga *Chlorella vulgaris*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia atas hibah pendanaan penelitian, Laboratorium Praktik Belajar Mengajar (PBM) FPMIPA UPI atas penyediaan fasilitas riset, serta Tim Mata Kuliah Matematika, Sains, Teknologi, dan Rekayasa atas kolaborasi akademiknya.

5. Daftar Pustaka

- Ariyanti, M., Suherman, C., Maxiselly, Y., & Rosniawaty, S. (2018). Pertumbuhan tanaman kelapa (*Cocos nucifera* L.) dengan pemberian air kelapa. *Jurnal Hutan Pulau-Pulau Kecil*, 2(2), 201–212.
- Chantarasiri, A., & Ungwiwatkul, S. (2024). Effects of CO₂ Aeration and Light Supply on the Growth and Lipid Production of a Locally Isolated Microalga, *Chlorella variabilis* RSM09. *Applied Sciences*, 14(22), 10512. <https://doi.org/10.3390/app142210512>
- Claudia, C., Imelda, S., Lambui, O., & Suwastika, I. N. (2018). Kultivasi mikroalga isolat lokal pada medium suplemen air kelapa. *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 7(3). <https://www.academia.edu/download/81059631/8818.pdf>
- Gorain, P. C., Bagchi, S. K., & Mallick, N. (2013). Effects of calcium, magnesium and sodium chloride in enhancing lipid accumulation in two green microalgae. *Environmental Technology*, 34(13–16), 1887–1894. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.812668>

- Gour, R. S., Bairagi, M., Garlapati, V. K., & Kant, A. (2018). Enhanced microalgal lipid production with media engineering of potassium nitrate as a nitrogen source. *Bioengineered*, 9(1), 98–107. <https://doi.org/10.1080/21655979.2017.1316440>
- Gouveia, L., & Oliveira, A. C. (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(2), 269–274.
- Ismail, I., Tjoanda, M., & Madubun, U. (2024). Using Liquid Organic Fertilizer (POC), Rice Washing Water, Coconut Water, and Fermented Ecoenzymes to Enhance The Growth of *Chlorella* sp. *Lab. Scale*. 17(1).
- Khalaji, M. (2022). Evaluation of fatty acid profiles of *Chlorella Vulgaris* microalgae grown in dairy wastewater for producing biofuel. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 20(2), 691–697. <https://doi.org/10.1007/s40201-022-00808-z>
- Liu, J., Yuan, C., Hu, G., & Li, F. (2012). Effects of Light Intensity on the Growth and Lipid Accumulation of Microalga *Scenedesmus* sp. 11-1 Under Nitrogen Limitation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 166(8), 2127–2137. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9639-2>
- Maceiras, R., Rodri, M., Cancela, A., Urréjola, S., & Sánchez, A. (2011). Macroalgae: Raw material for biodiesel production. *Applied Energy*, 88(10), 3318–3323.
- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217–232.
- Mujtaba, G., Choi, W., Lee, C.-G., & Lee, K. (2012). Lipid production by *Chlorella vulgaris* after a shift from nutrient-rich to nitrogen starvation conditions. *Bioresource Technology*, 123, 279–283.
- Nzayisenga, J. C., Farge, X., Groll, S. L., & Sellstedt, A. (2020). Effects of light intensity on growth and lipid production in microalgae grown in wastewater. *Biotechnology for Biofuels*, 13(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1646-x>
- Orchidea, R., Rachmaniah, M., & Reni, D. S. (2010). Pemilihan Metode Ekstraksi Minyak Alga dari *Chlorella* sp. Dan Prediksinya sebagai Biodiesel. *Bogor: Institut Teknologi Sepuluh Nopember*.
- Saputro, B. R., Kusdiyantini, E., & Pncasakti Kusumaningrum, H. (2015). The Growth of *Botryococcus braunii* Microalgae as a Lipid Producer in a Mixed Medium of Coconut Water and Seawater. *Jurnal Sains dan Matematika*, 23(4), 94–100.
- Sharma, K. K., Schuhmann, H., & Schenk, P. M. (2012). High lipid induction in microalgae for biodiesel production. *Energies*, 5(5), 1532–1553.
- Teh, K. Y., Loh, S. H., Aziz, A., Takahashi, K., Effendy, A. W. M., & Cha, T. S. (2021). Lipid accumulation patterns and role of different fatty acid types towards mitigating salinity fluctuations in *Chlorella vulgaris*. *Scientific Reports*, 11(1), 438.
- Wibowo, A. D. K. (2013). Study on production process of biodiesel from rubber seed (*hevea brasiliensis*) by in situ (trans) esterification method with acid catalyst. *Energy Procedia*, 32, 64–73.
- Yeh, K., & Chang, J. (2011). Nitrogen starvation strategies and photobioreactor design for enhancing lipid content and lipid production of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31: Implications for biofuels. *Biotechnology Journal*, 6(11), 1358–1366. <https://doi.org/10.1002/biot.201000433>
- Yun, H.-S., Kim, Y.-S., & Yoon, H.-S. (2021). Effect of Different Cultivation Modes (Photoautotrophic, Mixotrophic, and Heterotrophic) on the Growth of *Chlorella* sp. And Biocompositions. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.774143>

