

AKLIMATISASI MIKROALGA HIJAU DALAM LIMBAH PETERNAKAN UNTUK MENINGKATKAN PENYISIHAN NUTRIEN DAN PRODUKSI LIPIDA

ACCLIMATIZATION OF GREEN MICROALGAE IN LIVESTOCK WASTE TO ENHANCE NUTRIENT REMOVAL AND LIPID PRODUCTION

Irhamni¹⁾, Elvitriana²⁾, Vera Viena³⁾

**1) 2) 3) Teknik Lingkungan Universitas Serambi Mekkah, Jalan Tgk Imum Leungbata,
Batoh, Banda Aceh.**

***Email: viena_violet@yahoo.com, Irhamni71@yahoo.co.id**

Abstrak

Mikroalga memiliki kemampuan untuk menyerap berbagai bentuk nitrogen, dan posfor. Penelitian mengenai aklimatisasi mikroalga hijau dalam *fotobioreaktor* volume 2 liter untuk menyisihkan nutrisi dalam limbah cair peternakan dengan konsentrasi limbah yang berbeda, yaitu 25, 50 dan 100%, dan siklus pencahayaan 24 jam dan 12 jam (*on/off*) telah dilakukan.. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroalga hijau terbaik diperoleh dari mikroalga teraklimatisasi dengan kandungan biomassa tertinggi sebesar 1,65 gr/L berat kering, diikuti dengan 1,4 dan 1,35 gram/liter berat kering pada kultur limbah cair peternakan 25, 50 dan 100%. Pertumbuhan alga hijau tanpa aklimatisasi sangat lambat dengan masa kultivasi yang sama yaitu 16 hari, kandungan biomassa hanya berkisar antara 0,65–1,1 gram/liter berat kering. Proses metabolisme mikroalga hijau teraklimatisasi terbukti mampu menyisihkan nutrisi amonium, nitrat dan pospat dalam limbah cair peternakan 60-98%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemanfaatan mikroalga hijau lokal untuk penyisihan limbah peternakan dapat dilakukan sebagai salah satu metode alternatif penanggulangan limbah cair, sedangkan biomassa alga dapat dimanfaatkan untuk produksi lipid minyak alga.

Kata kunci: Aklimatisasi mikroalga, Penyisihan nutrisi, Produksi lipid.

Abstract

Microalgae has an ability to absorb various forms of Nitrogen dan Phosfor. Research on green microalgae cultivated in photobioreactor volume 2 liter to remove the nutrient content in the livestock waste by considering the effect of different waste concentration, e.i 100%, 50% and 25% and length of illumination time, e.i 24 hour and 12 hour (on/off) on biomass produced has been done. The result showed that the highest microalgae growth is obtained from the acclimatized culture of the livestock waste 25% with biomass content 1,65 gram/liter dry weight, and followed by the livestock waste (50% and 100%) , with biomass content 1,4 gram/liter dry weight and 1,35 gram/liter dry weight, respectively. The non-acclimatized microalgae showed a very slow growth within the same cultivation time, e.i 16 days with biomass range from 0,65–1,1 gram/liter dry weight. Metabolism process of acclimatized green microalgae was proven to be able to remove the nutrient content of ammonium, nitrate, and phosphate in range 60-98%, thus the writers concluded that the usage of local green microalgae for livestock waste removal can be done as one of the alternative methods for wastewater treatment, while algae biomass can be utilized for the production of algae oil lipid.

Keywords: Lipid production, Microalgae acclimatization, Nutrient removal.

1. PENDAHULUAN

Eutrofikasi pada badan air (misalnya danau atau aliran sungai) dapat terjadi pada kondisi kaya nutrisi dalam sistem yang menimbulkan perkembangan alga (*algal bloom*). Pertumbuhan alga yang berlebih, dapat menyebabkan penurunan pada kualitas air, seperti; menurunnya kejernihan air, bau, penurunan kandungan oksigen, dan kemungkinan dapat membunuh ikan. Sumber-sumber nutrisi tersebut dapat berasal dari instalasi pengolahan limbah, deterjen buangan rumah tangga, septik sistem, sedimen, kotoran ternak, dan penggunaan pupuk komersil (Hoyle, dkk., 2003).

Penggunaan mikroalga untuk pengolahan limbah cair menawarkan beberapa keuntungan lebih daripada pengolahan limbah secara tradisional, diantaranya dalam hal efektifitas biaya untuk menyisihkan BOD, Posfor, Nitrogen dan dapat menghilangkan bakteri patogen dibandingkan sistem lumpur aktif. Melalui proses pengolahan limbah cair dengan alga dapat ditumbuhkan biomassa dalam jumlah besar (Woertz, 2007). Alga secara alamiah bekerja untuk mereduksi kadar Nitrogen dan Posfor pada limbah cair peternakan (Johnson, 2009). Nutrien seperti nitrogen dan posfor dapat dihilangkan dari limbah cair dengan beberapa cara. Cara yang paling umum adalah dengan menghilangkan nitrogen melalui proses *denitrifikasi* yang mereduksi nitrat menjadi nitrogen gas, yang dilepaskan ke atmosfer (Metcalf & Eddy, 2004).

Biomassa mikroalga mengandung sejumlah besar senyawa seperti protein dan lipid. Mikroalga memiliki kemampuan untuk menyerap berbagai bentuk nitrogen, dan posfor, dimana mikroalga ini dapat menggunakan berbagai senyawa organik, khususnya senyawa *eutrofik* yang mengandung nitrogen dan posfor sebagai sumber karbon (Lee, dkk., 1998). Mikroalga pada dasarnya memanfaatkan berbagai senyawa organik terutama pada perairan yang tercemar senyawa organik mengandung

Nitrogen dan Posfor bersama Karbon dalam fotosintesis. Oleh karena itu, kultur mikroalga dalam limbah cair akan tumbuh baik dan sekaligus berperan positif dalam upaya pengelolaan limbah cair. Kultur *Botryococcus braunii* adalah mikroalga hijau yang potensial dalam menghasilkan lipid, tetapi laju pertumbuhannya agak lambat. Optimasi media pertumbuhan terbukti dapat meningkatkan laju pertumbuhan dan produksi lipida (Tran, dkk., 2010)

Penelitian oleh Wang dkk., (2009) menunjukkan feasibilitas kultivasi *Chlorella* sp. dalam sampel limbah cair yang diambil dari empat lokasi berbeda dari Pabrik Pengolahan Limbah Cair Pemukiman (MWTP). Diamati bahwa *Chlorella* sp. dapat beradaptasi dengan baik pada keempat limbah cair dengan tanpa fase lag (fase adaptasi). Pertumbuhan alga meningkat cepat pada bagian tengah kolam pengolahan karena tingginya kadar nitrogen, posfor dan COD dibandingkan dengan 3 lokasi limbah cair lainnya. Sreesai, dkk., (2002) juga telah mempelajari aplikasi mikroalga lainnya untuk pengolahan limbah cair peternakan babi di Bangkok. Proses kultur *Chlorella* sp. didalam limbah cair menyebabkan transformasi zat-zat organik dan nutrisi dalam limbah menjadi biomassa alga. Hasil penelitian membuktikan bahwa sistem kultur ini berhasil mengolah limbah cair peternakan babi dan mengembalikan organisme air lain yang menguntungkan bagi lingkungan.

Hal tersebut telah mendorong peneliti untuk mengkaji mikroalga sebagai salah satu solusi untuk pengendalian pencemaran akibat pembuangan limbah cair peternakan ke badan-badan air dengan cara memanfaatkan mikroalga hijau yang diperoleh dari wilayah Banda Aceh dan melakukan tahapan aklimatisasi mikroalga hijau tersebut didalam limbah peternakan pada konsentrasi yang berbeda-beda. Tujuan khusus dari penelitian ini adalah; (1) mengkaji pengaruh aklimatisasi mikroalga hijau terhadap pertumbuhan mikroalga hijau yang berasal dari daerah Banda Aceh, (2) membandingkan

tingkat penyisihan nutrisi limbah peternakan oleh mikroalga hijau yang diaklimatisasi, (3) mengembangkan dan membudidayakan kultur mikroalga hijau terbaik dengan biomassa berkadar lipid yang tinggi. Akhir penelitian ini diperoleh metode pertumbuhan mikroalga yang terbaik dalam menyisihkan sejumlah nutrisi yang terdapat didalam limbah cair peternakan dan juga diperoleh biomassa dengan kandungan lipid tinggi sebagai salah satu sumber alternatif minyak nabati dari mikroalga hijau.

2. METODA

Sampel mikroalga hijau diperoleh dari kolam terbuka di wilayah Darussalam, Banda Aceh. Sampel mikroalga diambil menggunakan net plankton dan dicentrifuge. Mikroalga campuran yang diperoleh kemudian dikultur didalam media pertumbuhan BG-11 (Rippka dkk.,1979), dengan komposisi (g/L): NaNO_3 1,5; Na_2HPO_4 0,04; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,075; ZnCl_2 dihidrat 0.036; asam sitrat 0,006; ferric ammonium citrate, 0.006; $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 0.001; Na_2CO_3 0.02; dan larutan *trace metal* 1 ml (H_3BO_3 2.86 g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.81 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.222 g, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.390 g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 79 mg and $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 49.4 mg per liter) pada pH 7,4. Kloroform, Metanol (p.a). Bahan kimia ini keseluruhan diperoleh secara komersil dari Merck.

Sampel limbah cair hasil peternakan diperoleh dari kandang peternakan sapi di Darussalam, Banda Aceh. Limbah peternakan ini disaring sebelum digunakan dalam perlakuan.

Analisa Karakteristik Limbah (sebelum dan sesudah perlakuan)

Limbah cair peternakan dibuat dalam konsentrasi yang berbeda (100%, 50%, dan 25% v/v) untuk melihat pengaruh konsentrasi limbah terhadap pertumbuhan mikroalga dan kemampuan menyisihkan limbah pada kondisi pekat dan dengan pengenceran.

- (1) Parameter pH limbah sebelum diinokulasi diukur dengan pH meter.

- (2) Analisa NH_4 , NO_3 , PO_4 (mg/L), dilakukan dengan cara APHA (2005) sebelum diinokulasi dengan isolat. Pengukuran parameter nutrisi limbah pada kultur perlakuan dilakukan setelah mencapai fase stasioner.

Aklimatisasi Mikroalga

Mikroalga lokal yang diperoleh dari sumber kolam terbuka di wilayah Banda Aceh dan sekitarnya, disentrifugasi, dan dikembangkan dalam Media BG-11 serta dibuat stok kulturnya dari mulai 10 ml, 100 ml, 500 ml dan 1000 ml sebanyak 2 wadah kultur. Salah satu wadah disimpan sebagai stok kultur dan wadah kultur lainnya digunakan sebagai *working kultur* untuk selanjutnya diaklimatisasi didalam limbah cair peternakan selama 14 hari sebelum digunakan untuk pengolahan limbah cair.

Kultivasi Mikroalga dalam Fotobioreaktor dengan Variasi Perlakuan

Mikroalga yang telah diaklimatisasi digunakan didalam penanganan limbah cair peternakan dengan cara mengambil inokulum sebesar 10% (V.inokulum/V.media) dan ditanam didalam erlenmeyer 3000 ml yang mengandung 2000 mL media cair (BG-11 disterilkan langsung, sedangkan limbah cair lainnya disaring halus). Kultur vessel diinkubasi pada keadaan tetap dengan suhu ruangan dan intensitas pencahayaan kontinyu (lampu 4 x 8 watt) dengan aerasi udara tetap. Kultur dianalisa untuk melihat kurva pertumbuhan mikroalga dengan menentukan kandungan biomassa (*dry weight*) per 2 hari, sedangkan kandungan lipid biomassa hanya diukur pada akhir masa kultivasi (16 hari). Mikroalga juga diberi perlakuan kultivasi 5 hari, 10 hari dan 15 hari untuk melihat pengaruh waktu tinggal mikroalga dalam menyisihkan nutrisi limbah dalam bentuk kandungan NH_4 , NO_3 , PO_4 dalam media sisa setelah dipisahkan dari biomasanya.

Analisa Kultur Hasil Kultivasi

(1) Kurva Pertumbuhan Mikroalga

Kurva pertumbuhan mikroalga didapat dengan menentukan berat biomassa kering dengan 2 (dua) hari interval.

(2) Kandungan biomassa

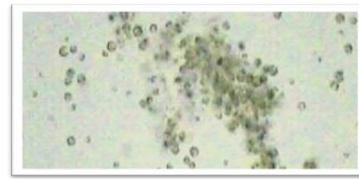
Kandungan biomassa ditentukan dengan cara spektrofotometri menggunakan panjang gelombang 680 nm (Lee dkk., 1998).

(3) Kandungan total lipid biomassa

Metode dasar analisa ini merupakan modifikasi dari Bligh dan Dyer (1959). Sel alga yang dipanen dihancurkan dengan mortar dan dipindahkan kedalam corong pemisah. Lipid diekstraksi dengan larutan kloroform metanol (2:1, v/v) dan terpisah menjadi lapisan cairan kloroform dan metanol dengan penambahan metanol dan air untuk menghasilkan rasio pelarut akhir dari kloroform : metanol : air sebesar 1:1:0.9. Lapisan kloroform dicuci dengan 20 ml larutan NaCl 5%, dan diuapkan sampai kering, total lipid ditentukan secara gravimetri (Lee dkk., 1998).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN***Pengaruh Aklimatisasi Mikroalga Hijau terhadap Pertumbuhan Mikroalga Hijau***

Mikroalga hijau yang dikultivasi dalam limbah cair peternakan terlebih dahulu diberi perlakuan aklimatisasi selama 14 hari untuk memperkuat daya tahan hidup dan kemampuan adaptasi mikroalga terhadap konsentrasi limbah cair yang berbeda. Alga hijau yang tumbuh kemudian diaplikasikan untuk menyisihkan kandungan nutrisi yang terkandung di dalam limbah peternakan agar aman dibuang ke lingkungan. Gambar 1 dan 2 dapat dilihat ciri-ciri mikroalga hijau yang tumbuh didalam media limbah cair peternakan.



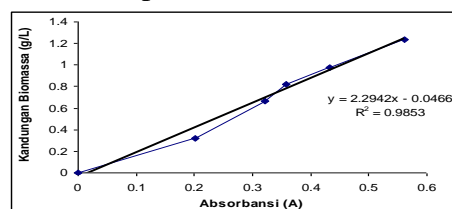
Gambar 1.: Mikroalga hijau campuran dalam limbah peternakan



Gambar 2.: Mikroalga hijau campuran dalam limbah peternakan

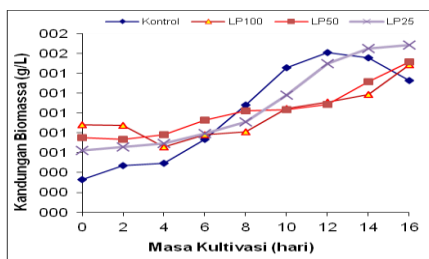
Kurva Kalibrasi Antara Absorbansi Dengan Biomassa

Kurva hubungan antara absorbansi dengan biomassa kering mikroalga merupakan kurva kalibrasi untuk mengetahui kandungan biomassa mikroalga pada saat mengukur hasil biomassa mikroalga selama tahap kultivasi. Hasil hubungan antara absorbansi (A) dengan kandungan biomassa (dalam berat kering) mikroalga (g/l) untuk kurva kalibrasi ditunjukkan pada Gambar 3. Kurva kalibrasi dibuat dengan menentukan absorbansi mikroalga pada konsentrasi inokulum mikroalga awal yang berbeda-beda yaitu 1, 5, 10, 15, 20 % v/v (volume inokulum per volume media cair). Absorbansi diukur setelah pertumbuhan mencapai tahap logaritmik (7 hari) dan pengukuran kandungan biomassa (dalam satuan berat kering g/l) dilakukan dengan memisahkan biomassa dari media cair dan dikeringkan pada suhu 105⁰C pada oven.



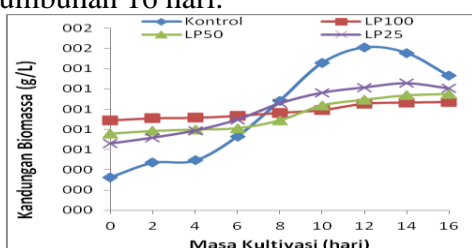
Gambar 3. Kurva kalibrasi absorbansi (A) terhadap kandungan biomassa kering alga (g/L) pada limbah peternakan

Kultur mikroalga hijau teraklimatisasi dikultivasi pada keadaan tetap dengan suhu ruangan dan intensitas pencahayaan kontinu (lampu 4x8 watt) untuk mengetahui pengaruh aklimatisasi terhadap kandungan biomassa mikroalga pada konsentrasi limbah cair yang berbeda. Kultur dianalisa untuk melihat kurva pertumbuhan mikroalga dengan menentukan kandungan biomassa (*dry weight*) per 2 hari dan hasilnya diilustrasikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi limbah cair peternakan terhadap kandungan biomassa mikroalga teraklimatisasi.

Pertumbuhan mikroalga hijau sangat dipengaruhi oleh media tumbuh yang digunakan dimana mikroalga lokal yang telah diaklimatisasi dalam limbah peternakan dan yang tidak diaklimatisasi menunjukkan kurva pertumbuhan yang berbeda jauh. Pada Gambar 5, pertumbuhan mikroalga yang tidak diaklimatisasi sangat lambat dalam menyesuaikan diri dengan konsentrasi limbah peternakan yang pekat sehingga butuh waktu lebih lama untuk fase pertumbuhan limbah cair peternakan pada 50 dan 100%. Kurva pertumbuhan pada media limbah peternakan masih harus menyesuaikan diri dengan tingkat kepekatan yang terkandung dalam limbah cair yang telah mengalami masa aklimatisasi. Kandungan biomassa mikroalga yang telah diaklimatisasi antara 0,3–1,6 g/l, dengan biomassa tertinggi diperoleh pada media kontrol saat pertumbuhan 12 hari, dan pada media limbah cair peternakan 25% saat pertumbuhan 16 hari.



Gambar 5. Pengaruh konsentrasi media terhadap kandungan biomassa alga yang tidak diaklimatisasi dalam masa kultivasi 16 hari

Media cair yang berasal dari limbah peternakan dapat menjadi media tumbuh yang baik bagi pertumbuhan mikroalga hijau lokal dan berpotensi sebagai medium alternatif pertumbuhan massal mikroalga hijau lokal dimasa yang akan datang. Bertoldi, dkk (2006), menyebutkan bahwa alternative media kultur yang telah dievaluasi untuk kultivasi mikroalga diantaranya limbah cair industri dan pertanian, yang mengandung residu kaya akan nutrien dan dapat diubah menjadi nutrisi bagi pertumbuhan biomassa akuakultur. Hu dkk, (2004), juga menyebutkan bahwa beberapa jenis mikroalga hijau seperti *Scenedesmus* sp. dan *Chlorella* sp., mampu tumbuh baik dalam limbah cair peternakan, tanpa pengenceran dengan air. Konsentrasi limbah sangat berpengaruh pada pertumbuhan mikroalga hijau, dimana semakin tinggi kepekatan limbah cair peternakan maka pertumbuhan menjadi semakin lambat dan butuh fase pertumbuhan yang lebih lama untuk tumbuh. Penelitian proses aklimatisasi mikroalga hijau lokal selama 14 hari agar mikroalga tersebut dapat beradaptasi dengan lingkungan limbah cair peternakan.

Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya memerlukan cahaya, karbondioksida, air dan garam anorganik dan suhu antara 20-30 °C. Pertumbuhan mikroalga hijau membutuhkan karbondioksida sebagai sumber utama pencahayaan dan nutrien.

Pertumbuhan mikroalga hijau lokal sangat dipengaruhi oleh masa kultivasi, konsentrasi limbah cair dan siklus pencahayaan. Kandungan biomassa terus meningkat pada siklus cahaya 24 jam dan mulai menurun pada siklus cahaya 12 jam. Berkurangnya pencahayaan dan kandungan nutrien dalam limbah cair sehingga proses fotosintesis

pH	9,6	9,4	9,0	8,2	9,6	9,4	9,0	8,2
COD (mg/L)	192	80	32	4,8	82,86	91,67	80	50
BOD (mg/L)	0	2	1	1	100	99,68	76,19	75,19
NH4 (mg/L)	0,181	0,139	0,146	0,401	81,9	77,58	59,44	51,1
NO3 (mg/L)	ND	0,53	0,274	0,16	ND	89,18	89,85	74,28
PO4 (mg/L)	ND	ND	ND	0,767	ND	ND	ND	18,92

ND = tidak terdeteksi.

Hasil analisa kandungan nutrisi limbah setelah 15 hari kultivasi menunjukkan bahwa parameter COD dan BOD mampu diturunkan sampai 98-100%, sedangkan nutrisi nitrat mampu diturunkan oleh kultur mikroalga sampai 89%, kemudian diikuti dengan nutrisi Amoniak. Penurunan nutrisi Fosfat tidak dapat terdeteksi pada sisa media kultur alga 16 hari, sehingga kecenderungan penurunan nutrisi jenis Fosfat tidak terbaca.

Produksi Lipid Mikroalga Hijau

Pada Tabel 3 diperlihatkan kemampuan mikroalga teraklimatisasi dalam memproduksi total lipida setelah masa kultivasi 16 hari.

Tabel 3. Produksi Total Lipida Mikroalga Hijau setelah masa kultivasi 16 hari

Media Kultur	Total Lipida (%)
Kontrol (BG-11)	35,72
LP100	16,00
LP50	15,12
LP25	38,53

4. KESIMPULAN

1. Pertumbuhan mikroalga hijau yang diaklimatisasi dan yang tidak diaklimatisasi menunjukkan perbedaan yang nyata pada kurva pertumbuhannya.

2. Kultivasi mikroalga selama 16 hari menunjukkan kemampuan mikroalga teraklimatisasi dalam menurunkan kandungan nutrisi Amonium, Nitrat dan Fosfat dalam limbah peternakan.
3. Mikroalga hijau yang teraklimatisasi dalam limbah peternakan mampu memproduksi lipid 15-38%.

SARAN

1. Perlu dikaji lebih lanjut tingkat pertumbuhan dan penyisihan nutrisi dalam limbah peternakan pada faktor-faktor lainnya seperti; intensitas pencahayaan, dan penambahan aerasi karbondioksida terhadap kandungan biomassa dan lipid dari mikroalga hijau.
2. Perlu pengembangan penelitian mikroalga hijau teraklimatisasi untuk metode ekstraksi terbaik sebagai penghasil minyak nabati berkadar asam lemak tinggi yang berpotensi sebagai biodiesel.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian Hibah Bersaing ini dibiayai sepenuhnya oleh DIPA Kopertis Wilayah I tahun 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation, (2005), *Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed.; American Public Health Association: Washington, D.C.
- Bertoldi, F.C., Sant'Anna, E., da Costa Braga, M.V., and Oliveira, J.G.B., (2006), Lipids, Fatty Acids Composition And Carotenoids of *Chlorella Vulgaris* Cultivated In Hydroponic Wastewater, *Grasas y aceites*, 57 (3), 270-274.
- Bligh, A., Dyer, W.J. (1959), A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification, *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917.
- Hoyle, B.D., Lerner, K.L., Richmond, E., (2003). *Algal Blooms in Fresh Water*. 1, 21-24.
- Hu, Q., dan Sommerfeld, M., (2004), *Selection of High Performance Microalgae for Bioremediation of Nitrate-Contaminated Groundwater*, Technical Report for Grant Number 01-HO-GR-0113, School of Life Sciences Arizona State University.
- Johnson, M. B., (2009), *Microalgal Biodiesel Production through a Novel Attached Culture System and Conversion Parameters*, Master Thesis of Virginia Polytechnic Institute and State University
- Lee, S.J., Kim, S. -B., Kim, J.-E., Kwon, G. -S., Yoon, B. -D., and Oh, H. -M. (1998). Effects of harvesting method and growth stage on the flocculation of the green alga *Botryococcus braunii*, *Letters in Applied Microbiology*, 27, 14–18.
- Metcalf and Eddy, Inc (2004), *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, 4th Edition, McGraw-Hill International, New York.
- Rippka, R., J. Deruelles, J.B. Waterbury, M. Herdman, and R. Y. Stanier. (1979), Genetic Assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.* 111: 1-61.
- Sreesai, S., Asawasinsopon, R., and Satitvipawee, P., (2002), Treatment and Reuse of Swine Wastewater, *Thammasat Int. J. Sc. Tech.*, Vol 7. No.1
- Tran, H.L., Kwon, J.S., Kim, Z.H., Oh, Y., Lee, C.G., 2010, Statistical Optimization of culture media for growth and lipid production of *Botryococcus braunii* LB572, *J.Biotechnology and Bioprocess Engineering*, Vol 15, No.2, pp 277 – 284.
- Wang, L., Min Min., Li. Y., Chen. P., Chen, Y., Liu, Y., Wang, Y., and Ruan, R., (2009), Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant, *Appl Biochem Biotechnol.*, DOI 10.1007/s12010-009-8866-7
- Woertz, I. C., (2007), *Lipid Productivity Of Algae Grown On Dairy Wastewater As A Possible Feedstok For Biodiesel*, Master Thesis of California Polytechnic University, San Louis Obispo.