

PRODUKSI BIOETANOL DARI MIKROALGA LAUT AMBON *Chlorella* sp. GALUR TAD

BIOETHANOL PRODUCTION FROM AMBON MARINE MICROALGAE *Chlorella* sp. STRAIN TAD

Ivonne Telussa^{1,*}, Eirene G. Fransina¹, Joisana Singerin²

¹Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pattimura, Indonesia

²Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pattimura, Indonesia

*email korespondensi: ivon_telussa@ymail.com

Abstrak

Mikroalga merupakan mikroorganisme fotosintesis yang mengandung karbohidrat sehingga dapat diubah menjadi glukosa melalui proses hidrolisis, sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. *Chlorella* sp. galur TAD merupakan jenis mikroalga laut yang tersebar pada perairan laut teluk ambon dalam (TAD) dan dimanfaatkan dalam pembuatan bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan karbohidrat dan bioetanol yang dihasilkan dari mikroalga laut Ambon *Chlorella* sp. galur TAD. Penelitian dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu kultivasi sel *Chlorella* sp. galur TAD untuk mendapatkan biomassa, menentukan kandungan karbohidrat dalam biomassa, melakukan hidrolisis biomassa dan pembuatan bioetanol melalui proses fermentasi dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil penelitian menghasilkan biomassa kering *Chlorella* sp. galur TAD sebanyak $1,599 \pm 0,0119$ g dengan produktivitas $0,151 \pm 0,012$ gL⁻¹h⁻¹. Kandungan karbohidrat dalam *Chlorella* sp. galur TAD sebesar 3,14%. Proses hidrolisis menggunakan asam sulfat dianalisa kandungan gula sebesar $117,134 \pm 0,758$ mg. Proses fermentasi menghasilkan bioetanol dengan kandungan 3,4325%.

Kata kunci: *Chlorella* sp. galur TAD, fermentasi, hidrolisis asam, bioetanol

Abstract

Microalgae are photosynthetic microorganisms that contain carbohydrates that can be converted into glucose through the hydrolysis process so that they can be used as raw materials for bioethanol production. *Chlorella* sp. strain TAD is a type of marine microalgae that is spread in the deep Ambon Bay (TAD) sea waters and is used to manufacture bioethanol. This study aims to determine the content of carbohydrates and bioethanol produced from marine microalgae Ambon *Chlorella* sp. strain TAD. The research was carried out through several stages, namely cultivating *Chlorella* sp. strain TAD cells to obtain biomass, determine the carbohydrate content in biomass, hydrolyzing biomass, and make bioethanol through a fermentation process with the help of *Saccharomyces cerevisiae*. The results showed that dry biomass of *Chlorella* sp. TAD strain was $1,599 \pm 0.0119$ g with a productivity of 0.151 ± 0.012 gL⁻¹h⁻¹. The carbohydrate content in the *Chlorella* sp. strain TAD is 3.14%. The hydrolysis process using sulfuric acid was analyzed for a sugar content of 117.134 ± 0.758 mg. The fermentation process produces bioethanol with a content of 3.4325%.

Keywords: *Chlorella* sp. strain TAD, fermentation, sulfuric acid, bioethanol

Pendahuluan

Perubahan iklim, kenaikan permintaan bahan bakar dan eksploitasi sumber daya alam bahan bakar fosil yang terbatas secara terus menerus menjadi masalah ketersediaan bahan bakar. Oleh sebab itu, pengembangan sumber energi yang dapat diperbaharui, merupakan suatu fundamental bagi kesinambungan ketersediaan energi masa depan. Saat ini, sumber bahan bakar alternatif yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan berasal dari sumber daya hayati. Beberapa dekade sebelumnya, bahan baku biofuel berasal dari biomassa bahan pangan sehingga muncul masalah baru berupa kompetisi produksi bahan pangan

dengan bahan bakar. Upaya mencari sumber bahan baku pembuatan biofuel terus dilakukan [1].

Mikroorganisme fotosintetik yang dapat memberikan solusi terhadap masalah kompetisi bahan pangan dan lahan sebagai bahan baku biofuel yaitu mikroalga. Mikroalga merupakan alga berukuran renik dan tidak memiliki akar, batang, dan daun. Oleh karena ukuran yang sangat kecil, mikroalga mampu menangkap cahaya matahari sangat besar dan efisien sehingga perbanyak sel sangat mudah berlangsung. Semua mikroalga mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat dijadikan sebagai bahan dasar pembuatan biofuel seperti biodiesel dan bioetanol [2-8].

Bioetanol merupakan senyawa alkohol yang diperoleh melalui fermentasi biomassa bantuan atau melalui termografimetri. Untuk menjadi bahan bakar alternatif, bioetanol harus diproduksi murah, ramah lingkungan serta berkelanjutan [9]. Bioetanol sebagai biofuel memiliki prospek yang lebih baik untuk dikembangkan dibandingkan biodiesel. Hal ini disebabkan oleh bahan baku bioetanol dapat berasal dari biomassa mikroalga secara langsung [3] maupun biomassa yang sudah diekstrak lemaknya [6]. Dengan demikian, produksi bioetanol berbahan mikroalga hijau (*Chlorella* sp.) yang diambil dari Teluk Ambon bagian dalam [10] menjadi organisme model untuk dieksplorasi sebagai bahan baku bioetanol. Dalam penelitian ini *Chlorella* sp. galur TAD yang ditumbuhkan dalam medium modifikasi sehingga dapat meningkatkan akumulasi karbohidrat untuk memproduksi bioethanol.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini pro analisis (Merck, Germany) : Etanol, H₂SO₄, Dinitro Salilisat (DNS), Na₂S₂O₃, NaOH, (NH₄)₂SO₄, K₂HPO₄, KH₂PO₄, MgSO₄, CuSO₄. 5H₂O, HNO₃, KI, Na-K Tatrak, Na-Metabisulfit, *Saccharomyces cerevisiae* dan yeast ekstrak. Peralatan yang digunakan terdiri dari erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, Baker glass, pipet tetes, mikro pipet, batang pengaduk, cawan petri, water bath, Mikroskop cahaya Nikon YS-100, *Scanning Electron Mikroskop* (SEM), GC-FID, spektrofotometer Uv-Vis agilent, *Rotary Vacuum Evaporator*.

Prosedur Kerja

Kulivasi *Chlorella* sp. Galur TAD

Sel *Chlorella* sp. galur TAD ditanam dalam medium modifikasi [11]. Kultivasi dilakukan dengan kerapatan sel awal 5×10^5 sel mL⁻¹ dalam fotobioreaktor sederhana pada temperatur ruang di bawah intensitas cahaya 67,5 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ dengan fotoperiodie 12:12 jam (gelap:terang), salinitas 28 ppt, pH 8,2–8,5 dan diaerasi dengan gelembung udara bebas. Fotobioreaktor sederhana yang digunakan dalam penelitian ini terbuat dari botol kaca transparan dengan tinggi 25 cm, diameter eksternal 9 cm, dan volume kerja 900 mL. Pertumbuhan sel dalam kultur diukur dengan menghitung jumlah sel (dalam satuan sel mL⁻¹) menggunakan *Neubauer Haemocytometer* di bawah mikroskop cahaya.

Pemanenan Biomassa *Chlorella* sp. galur TAD

Sel *Chlorella* sp. galur TAD yang telah dikultivasi dipanen dengan menggunakan teknik sedimentasi dan filtrasi menggunakan kain katun Masini™. Biomassa basah Sel *Chlorella* sp. galur TAD ditimbang menggunakan neraca analitik untuk mendapatkan berat biomassa basah. Selanjutnya, biomassa basah dikeringkan menggunakan alat pengering beku selama 24 jam sampai kering dan ditimbang untuk mendapatkan berat biomassa kering. Biomassa kering dikarakterisasi dengan FTIR.

Pengamatan Perubahan Morfologi Sel

Pengamatan perubahan morfologi sel diamati menggunakan mikroskop cahaya dan mikroskop elektron (*Scanning Electron Microscope*, SEM). Pengamatan bentuk dan ukuran *Chlorella* sp. galur TAD menggunakan mikroskop cahaya dilakukan dengan pengambilan kultur sel dan diamati pada perbesaran 400. Pengamatan dengan SEM, kultur sel disentrifugasi, dan pelet sel difiksasi dengan 2,5% glutaraldehid selama 2,5 jam pada 4°C. Setelah itu, dicuci dengan HNO₃ pekat pada 4°C dan didehidrasi dengan etanol 20, 60, dan 90%. Kemudian dikeringkan dan diamati dengan SEM.

Analisis Kadar Karbohidrat Luff Schrool (AOAC, 1984)

Sebanyak 5 g biomassa kering ditambahkan 200 mL HCl 3% dan batu didih. Selanjutnya, labu Erlenmeyer dipasang pada pendingin tegak dan dihidrolisis selama 3 jam. Larutan didinginkan dan dinetralkan dengan NaOH. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL, ditambahkan air suling sampai pada tanda batas dan disaring. Sebanyak 10 mL larutan dipipet ke dalam labu erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan larutan *luff* 25 mL serta 15 mL air suling, sedangkan untuk pembuatan blanko dibuat larutan tanpa menambahkan sampel selanjutnya dianalisis. Larutan dalam labu erlenmeyer dipasang pada pendingin balik dan dididihkan selama 10 menit. Setelah itu, larutan langsung didinginkan pada air akuades yang mengalir. Selanjutnya, ditambahkan larutan KI 30% dan 25 mL H₂SO₄ 25% ke dalam larutan yang telah didinginkan dan ditambahkan indikator berupa larutan kanji. Selanjutnya, larutan dititrasi sampai reaksi terhenti dan dititrasi lagi dengan larutan Na₂S₂O₃ sampai berwarna biru muda. Kadar karbohidrat dapat dihitung berdasarkan persamaan (1),

$$\text{kadar karbohidrat (\%)} = \frac{G \times P \times 0,9}{g} \times 100 \% \quad (1)$$

Keterangan:

0,9 = Faktor pembandingan berat molekul satu unit gula dalam molekul pati

G = Glukosa setara dengan mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang dipergunakan untuk titrasi (mg) setelah gula diperhitungkan

P = Pengenceran

Produksi Bioetanol

Hidrolisis Asam

Hidrolisis berlangsung menggunakan rangkaian alat kondensor dan labu leher tiga dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Dalam proses hidrolisis digunakan biomassa kering kemudian dilarutkan dalam asam sulfat dengan konsentrasi 3,5%. Campuran kemudian dimasukkan kedalam labu didih leher tiga yang telah dipasang kondensor. Untuk mendapatkan kondisi terbaik dalam proses hidrolisis maka proses hidrolisis dilakukan selama 1 jam pada suhu 110°C (0,86 g biomassa) dan 30 menit pada temperature 90°C (2,5 g biomassa). Hidrosilat kemudian disaring dan dilakukan proses penetralan dengan NaOH 4 M hingga pH 4-5, setelah itu dilanjutkan analisis gula pereduksi [12].

Fermentasi

Gula yang telah terbentuk pada proses sakarifikasi kemudian diproses ke tahap fermentasi menggunakan *S. cerevisiae*. Proses fermentasi gula menjadi etanol dilakukan pada kondisi yang berbeda yaitu fermentasi selama 3 hari tanpa menambahkan nutrisi untuk ragi dan proses fermentasi selama 5 hari dengan menggunakan starter/nutrisi ragi. Kemudian Hasil fermentasi disaring setelah itu dilanjutkan dengan proses destilasi dan dianalisis menggunakan GC untuk mengetahui kadar etanol yang dihasilkan.

Analisis Kualitatif Bioetanol

Analisis kualitatif etanol dilakukan dengan uji warna dengan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Sebanyak 1 ml $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 6 tetes H_2SO_4 pekat. Larutan diaduk kemudian ditambahkan destilat hasil fermentasi. Uji dinyatakan positif mengandung etanol jika larutan berubah warna dari jingga menjadi hijau atau biru. Setelah itu dilakukan uji lanjut menggunakan FTIR.

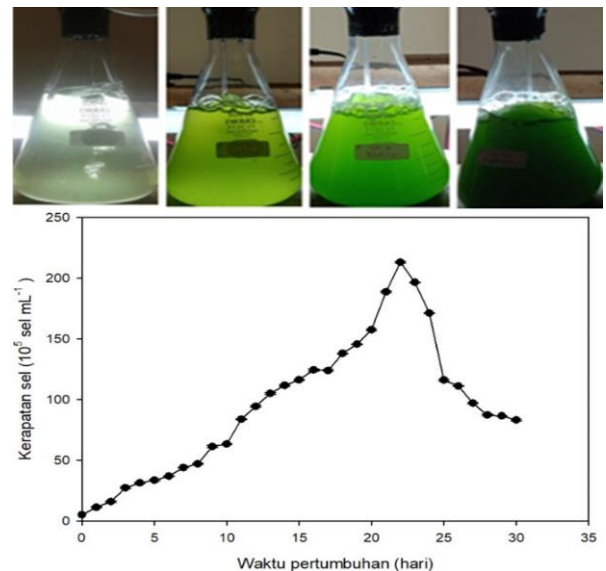
Analisis Kuantitatif Bioetanol

Pengukuran kadar etanol sampel dilakukan dengan menggunakan instrumen GC. Dengan tujuan dapat melihat berapa banyak kandungan etanol yang terdapat pada sampel.

Hasil dan Pembahasan

Kultivasi *Chlorella* sp. galur TAD

Sel *Chlorella* sp. galur TAD dikultivasi dalam medium modifikasi dengan sel awal 5×10^5 sel mL^{-1} pada intensitas cahaya 5000 lux. Peningkatan kerapatan sel *Chlorella* sp. galur TAD dapat dilihat pada perubahan warna kultur yang semakin gelap (Gambar 1a). Pada Gambar 1b menunjukkan kurva pertumbuhan sel semakin bertambah, dengan kerapatan sel tertinggi pada hari ke 22 sebesar $213,167 \times 10^5 \pm 0,656$ sel mL^{-1} dan warna kultur semakin berwarna hijau pekat. Dapat dilihat dari perubahan warna pada kultur menunjukkan pertumbuhan *Chlorella* sp. galur TAD berlangsung baik. Warna hijau pekat yang dihasilkan disebabkan adanya peningkatan jumlah biomassa pada kultur.



Gambar 1. Pertumbuhan *Navicula* sp. galur TAD (a) Warna kultur (hari ke-0, 8,16, 24) (dari kiri ke kanan)); (b). Kurva pertumbuhan

Kerapatan sel maksimum pada hari ke-22 memiliki laju pertumbuhan 0,605 sel/hari. Dari data tersebut maka waktu panen dilakukan pada hari ke-14 yang termasuk dalam fase eksponensial karena memiliki jumlah sel yang yang banyak dengan bentuk sel yang baik. Bentuk sel yang baik ini berpengaruh terhadap kandungan yang ada pada sel *Chlorella* sp. galur TAD.

Pemanenan Biomasa *Chlorella* sp. galur TAD

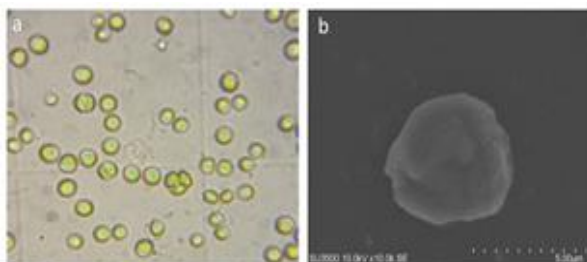
Kultur *Chlorella* sp. galur TAD dipanen pada hari ke-14 yang berada dalam fase eksponensial dengan kerapatan sel yang cukup tinggi. Gambar 2 menunjukkan proses pemanenan kultur *Chlorella* sp. galur TAD dengan teknik sedimentasi dan filtrasi menggunakan Kanebo. Proses sedimentasi dilakukan selama 48 jam dikarenakan ukuran sel dan berat jenis yang dimiliki sangat kecil sehingga waktu yang diperlukan dalam proses sedimentasi lebih lama [13]. Sedangkan untuk teknik filtrasi digunakan kanebo untuk memisahkan biomassa dari media kultur. Hasil pemanenan dari 760 ml kultur diperoleh $1,599 \pm 0,0119$ g biomassa kering dengan produktivitas biomassa yang diperoleh sebesar $0,151 \pm 0,012$ gL⁻¹h⁻¹.



Gambar 2. Proses pemanenan biomassa *Chlorella* sp. galur TAD (a) Kultur pada hari ke-14, (b) Proses penyaringan menggunakan kanebo, (c) Biomassa basa, dan (d) Biomassa kering

Morfologi *Chlorella* sp. galur TAD

Pertumbuhan sel *Chlorella* sp. galur TAD selama kultivasi diamati melalui perubahan warna kultur, kerapatan sel, produk biomassa, maupun morfologi sel. Pengamatan morfologi sel dilakukan dengan mikroskop cahaya dan elektron (SEM). Bentuk sel *Chlorella* sp. galur TAD melalui pengamatan di bawah mikroskop cahaya berbentuk bulat dan berwarna hijau. Warna hijau ini menunjukkan dominan pigmen klorofil (klorofil a dan b) dalam sel *Chlorella* sp. [14]. Sementara itu, pengamatan sel dengan SEM menunjukkan sel berbentuk bulat dengan permukaan yang halus tanpa pori. Citra sel dari *Chlorella* sp. galur TAD dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Sel *Chlorella* sp. galur TAD. (a) Pengamatan di bawah mikroskop cahaya; (b) Pengamatan SEM

Analisis Kandungan Karbohidrat *Chlorella* sp. galur TAD

Biomassa kering yang telah didapat, kemudian dilanjutkan dengan analisis kandungan karbohidrat dengan menggunakan metode Luff Schreel. Kandungan karbohidrat yang dimiliki oleh mikroalga *Chlorella* sp. galur TAD adalah 3,14%. Jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Byung dan Young-Soo terhadap kandungan karbohidrat yang dimiliki oleh *Chlorella* sp. berkisar antara 12% [15]. Kandungan karbohidrat dari *Chlorella* sp. galur TAD sangat berbeda signifikan dengan hasil penelitian-penelitian sebelumnya. Perbedaan kandungan karbohidrat ini, dimungkinkan karena faktor lingkungan dan nutrisi pada saat proses kultivasi. Selain itu, suplai CO₂ yang mempengaruhi kualitas nutrisi dalam biomassa, pH, Cahaya, dan ketersediaan unsur fosfor dan nitrogen sebagai unsur-unsur dalam nutrisi [3, 16].

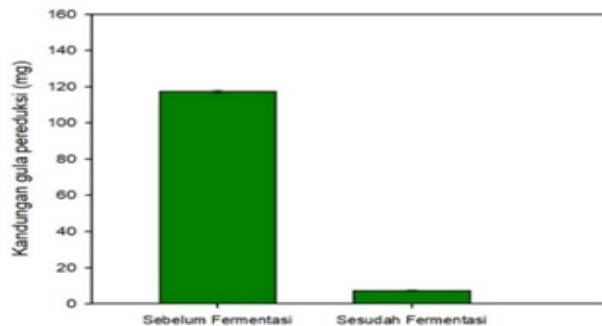
Penentuan Total Gula Pereduksi *Chlorella* sp. galur TAD

Dalam proses hidrolisis dengan metode asam, kondisi hidrolisis yaitu waktu dan temperatur merupakan salah satu faktor yang sangat penting yang harus diperhatikan dalam menganalisis kandungan gula pereduksi dalam suatu sampel. Berdasarkan Penelitian yang dilakukan oleh Qaishum (2015) kandungan gula pereduksi yang dihasilkan dengan waktu yang dipakai selama 50 menit mengalami penurunan yang signifikan [17]. Dikarenakan ion H⁺ pada asam telah mencapai titik optimumnya dalam melepas ikatan rantai glikosidik pada selulosa. Hal yang sama dihasilkan oleh Harun (2010) dimana pada waktu 45 menit kandungan glukosa mengalami penurunan [18]. Proses hidrolisis *Chlorella* sp. galur TAD diuji pada kondisi dengan waktu hidrolisis selama 30 menit pada suhu 90°C. Pada kondisi ini diperoleh kandungan gula *Chlorella* sp. galur TAD sebesar $117,134 \pm 0,758$ mg.

Proses Fermentasi

Untuk mendapatkan bioetanol dengan konsentrasi yang tinggi, maka dilanjutkan proses fermentasi. Fermentasi merupakan tahap konversi glukosa, fruktosa, dan sukrosa menjadi sejumlah kecil ATP dan menghasilkan etanol serta produk samping berupa gas CO₂. Proses fermentasi yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu fermentasi anaerob yang tidak membutuhkan oksigen dan

berbantuan mikroba *Saccharomyces cerevisiae* untuk mendapatkan bioetanol. Sampel difermentasi pada pH 5 dengan suhu sekitar 25-30°C sebagai pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* yang optimum. Hasil hidrolisis dari 2,5 g biomassa difermentasi selama 5 menunjukkan kandungan gula pereduksi menurun selama proses fermentasi (Gambar 4). Hal ini menunjukkan terjadi konversi glukosa menjadi etanol yang dianalisa kandungan etanol dengan GC.



Gambar 4. Histogram kandungan gula pereduksi sebelum dan sesudah Fermentasi dan *Chlorella* sp. galur TAD

Analisis Bioetanol

Analisis Kualitatif Bioetanol

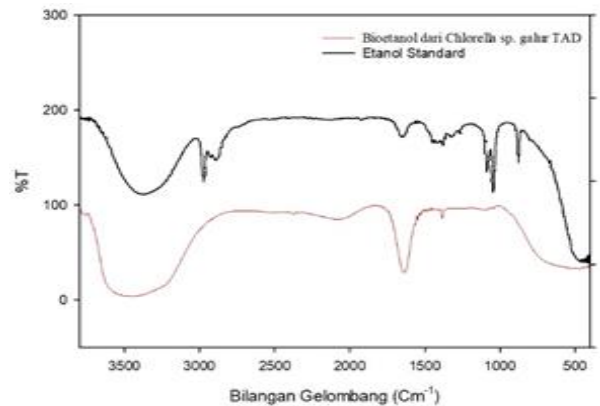
Analisis kualitatif pada hasil destilasi bioethanol dari *Chlorella* sp. galur TAD, dilakukan dengan $K_2Cr_2O_7$ bertujuan memastikan ada tidaknya etanol di dalam destilat hasil fermentasi. Prinsipnya, $K_2Cr_2O_7$ mengoksidasi etanol dalam suasana asam menjadi senyawa aldehida jika di dalam larutan mengandung etanol. Reaksi yang terjadi pada saat etanol mengalami reaksi oksidasi, $K_2Cr_2O_7$ akan mengalami reduksi yang ditandai dengan warna larutan yang semula berwarna jingga berubah menjadi hijau/biru. Hal ini dikarenakan ion dikromat (VI) yang jingga akan tereduksi menjadi ion kromium (III) yang hijau/biru. Hasil uji p sampel bioethanol dari *Chlorella* sp. galur TAD (gambar 5) dengan etanol murni dan aquades sebagai pembanding ditandai dengan warna akhir reaksi hijau/biru yang terbentukkan bioetanol selama proses fermentasi.



Gambar 5. Hasil uji kualitatif bioetanol. (a) Aquades; (b) Etanol standard (c) Bioetanol dari *Chlorella* sp. galur TAD

Karakterisasi Bioetanol dengan FTIR

Hasil yang diperoleh dari destilasi, kemudian dianalisis kualitatif menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra-Red*). Spektrum hasil uji bioetanol dari *Chlorella* sp. galur TAD dapat dilihat pada Gambar 6 dan Tabel 1.



Gambar 6. Spektrum etanol (hitam), spektrum bioetanol dari *Chlorella* sp. galur TAD (merah)

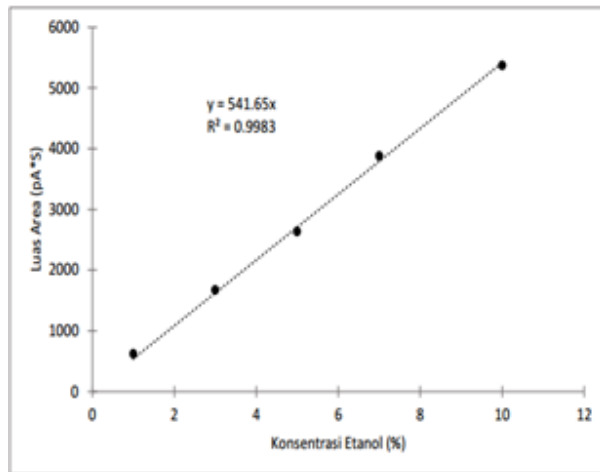
Tabel 1. Data spektrum FTIR bioetanol

Struktur	Serapan Hasil Uji (cm^{-1})	
	<i>Chlorella</i> sp. galur TAD	Etanol
OH	3443	3445
C-H	2999	2998
C-O	1061	1050

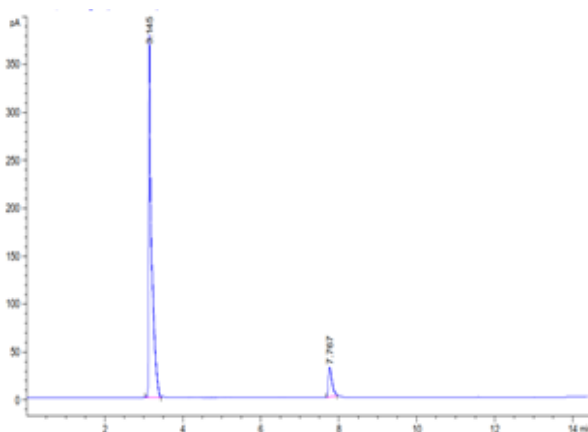
Berdasarkan hasil yang diperoleh, maka hasil fermentasi dari *Chlorella* sp. galur TAD mengandung etanol, yang ditandai dengan adanya serapan gugus $-OH$, CH_3 dan CH_2 , dan $C-O$. Ikatan $O-H$ pada alkohol menyerap pada bilangan gelombang yang lebih besar dari suatu asam yaitu antara $3230 - 3550 cm^{-1}$. Absorpsi ini berada pada bilangan gelombang yang lebih besar lagi jika alkohol ini tidak mengandung ikatan hidrogen seperti dalam keadaan gas. Absorpsi ikatan $C-H$ sedikit berada dibawah $3000 cm^{-1}$, dan serapan pada daerah pada 1000 dan $1100 cm^{-1}$ salah satunya berasal dari ikatan $C-O$.

Analisis Kuantitatif Bioetanol Menggunakan GC

Kandungan bioetanol dari *Chlorella* sp. galur TAD ditentukan menggunakan GC. Detektor yang digunakan untuk menganalisis yaitu detektor ionisasi nyala (*Flame Ionization Detector*) dimana detektor ini digunakan untuk menganalisis komponen-komponen yang memiliki gugus alkil $C-H$ dalam sampel. Penentuan kandungan bioetanol berdasarkan persamaan linier $Y = 541,65x$ yang diperoleh dari kurva standard etanol antara luas area dan kadar.



Gambar 7. Grafik hubungan antara luas area dan kadar etanol



Gambar 8. Kromatogram GC bioetanol dari *Chlorella* sp. galur TAD

Berdasarkan grafik hubungan antara luas area dan kadar etanol standar yang telah diperoleh (Gambar 7), maka dapat dihitung kadar bioetanol *Chlorella* sp. galur TAD yang difermentasi selama 5 hari. Berdasarkan hasil Kromatogram GC (Gambar 8) menunjukkan sampel hasil destilasi memiliki dua puncak. Puncak dengan waktu retensi 3,145 merupakan puncak bioetanol. Hal ini menunjukkan bahwa hasil destilasi pada bioetanol tersebut belum benar-benar murni bioetanol. Kadar bioetanol yang diperoleh sebesar 3,4325%. Penelitian yang dilakukan oleh Putnaruban, dkk (2018) menghasilkan bioetanol sebesar 0,035% dari *Chlorella* sp. [6], sementara *Chlorella pyrenoidosa* menghasilkan bioetanol sebesar 0,28% [19]. Negara, dkk (2019) menghasilkan bioetanol sebesar 2,38% dari *Tetraselmis chuii* [20]. Hal ini menunjukkan bahwa *Chlorella* sp. galur TAD berpotensi dalam menghasilkan bioetanol.

Kesimpulan

Kultivasi *Chlorella* sp. galur TAD menghasilkan biomassa kering sebesar $1,599 \pm 0,0119$ g dengan produktivitas $0,151 \pm 0,012$ gL⁻¹h⁻¹. Kandungan karbohidrat dalam *Chlorella* sp. galur TAD sebesar 3,14%. Proses hidrolisis biomassa *Chlorella* sp. galur TAD menggunakan asam sulfat mengandung gula pereduksi sebesar $117,134 \pm 0,758$ mg. Fermentasi *Chlorella* sp. galur TAD menghasilkan 3,4325% bioetanol.

Daftar Pustaka

- [1] Suharto, I. I. (2018). *Bioteknologi dalam bahan bakar nonfosil*. Andi publishing.
- [2] Lakatos, G. E., Ranglová, K., Manoel, J. C., Grivalský, T., Kopecký, J., & Masojídek, J. (2019). Bioethanol production from microalgae polysaccharides. *Folia Microbiologica*, 64(5), 627-644.
- [3] Agustini, N. W., & Febrian, N. (2019). Hidrolisis biomassa mikroalga *Porphyridium cruentum* menggunakan asam (H₂SO₄ dan HNO₃) dalam produksi bioetanol. *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 41(1), 1-10.
- [4] Guo, H., Daroch, M., Liu, L., Qiu, G., Geng, S., & Wang, G. (2013). Biochemical features and bioethanol production of microalgae from coastal waters of Pearl River Delta. *Bioresour Technol*, 127(1), 422-428.
- [5] Padil, P., Syamsiah, S., Hidayat, M., & Kasiamdari, R. S. (2017). Kinerja enzim ganda pada pretreatment mikroalga untuk produksi bioetanol. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 5(2), 92-100.
- [6] Putnaruban, C., Suratno, W., Adyaningsih, P., & Haerudin, H. (2012). Penelitian pendahuluan pembuatan biodiesel dan bioetanol dari *Chlorella* sp secara simultan. *Jurnal Sains MIPA Universitas Lampung*, 18(1), 1-6.
- [7] Noer, A. H., & Dessy, A. Potensi Mikroalga sebagai sumber biomasa dan pengembangan produk turunannya. *Teknik*, 33(2), 58-66.
- [8] Azzahra, N., Amri, A., & Utami, S. P. (2015). *Hidrolisis mikroalga Tetraselmis Chuii menjadi glukosa menggunakan enzim selulase* (Doctoral dissertation, Riau University).

- [9] Harun, R., Singh, M., Forde, G. M., & Danquah, M. K. (2010). Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(3), 1037-1047.
- [10] Telussa, I., Hattu, N., & Sahalessy, A. (2022). Morphological observation, identification and isolation of tropical marine microalgae from Ambon Bay, Maluku. *Indonesian Journal of Chemical Research*, 9(3) 137-243.
- [11] Telussa, I., & Nurachman, Z. (2019). Dynamics of β -carotene and fucoxanthin of tropical marine *Navicula* sp. as a response to light stress conditions. *Algal Research*, 41(1), 101-110.
- [12] Miranda, G., Amri, A., & Utami, S. P. (2014). *Hidrolisis mikroalga tetraselmis chuii dengan variasi konsentrasi asam sulfat dan temperatur* (Doctoral dissertation, Riau University).
- [13] Santoso, A. D. (2017). Pemanenan mikroalga dengan metode sedimentasi. *Jurnal Rekayasa Lingkungan*, 10(1), 15-27.
- [14] Bold, H. C., Alexopoulos, C. J., & Delevoryas, T. (1980). *Morphology of plants and fungi* (No. BOOK). Harper & Row, Publishers.
- [15] Um, B. H., & Kim, Y. S. (2009). A chance for Korea to advance algal-biodiesel technology. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 15(1), 1-7.
- [16] Ho, S. H., Huang, S. W., Chen, C. Y., Hasunuma, T., Kondo, A., & Chang, J. S. (2013). Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E. *Bioresource Technology*, 135(1), 157-165.
- [17] Qaishum, F., Amri, A., & Utami, S. P. (2015). *Hidrolisis mikroalga Tetraselmis Chuii menjadi glukosa menggunakan solvent H2SO4 dengan variasi waktu hidrolisis* (Doctoral dissertation, Riau University).
- [18] Harun, R., Danquah, M. K., & Forde, G. M. (2010). Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85(2), 199-203.
- [19] Elystia, S., & Aprilia, D. (2018, September). Potensi mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dari limbah cair kelapa sawit menjadi bioetanol sebagai sumber energi alternatif. In *Seminar Nasional Sains dan Teknologi Lingkungan III 2018*.
- [20] Negara, B. F. S., Nursalim, N., Herliany, N. E., Renta, P. P., Purnama, D., & Utami, M. A. F. (2019). Peranan dan pemanfaatan mikroalga *Tetraselmis chuii* sebagai bioetanol. *Jurnal Enggano*, 4(2), 136-147.