



Fermentasi Etanol Berbahan Baku Biomassa Mikroalga Bebas Lipid: Studi Pendahuluan

Microalgae-Based Ethanol Fermentation from Defatted Biomass: A Preliminary Study

Sukmawati Usman^{1*}, Maulina Agriandini¹

¹Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia.

²Program Studi Akuakultur, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*koresponden : sukmawati@fpik.unmul.ac.id

| Article Information | Abstract |
|---|---|
| Submitted : 29/04/2025 | The utilization of microalgae has been widely carried out, ranging from food, feed, and cosmetics to alternative energy. Microalgae is a potential biomass source with lipid content ranging from 7% to 23% and carbohydrate content ranging from 4.6% to 23%. Microalgae can be utilized as a source of pigments and antioxidants. The ability of rapid cell growth is an advantage for microalgae. In addition, microalgae have lower lignin content compared to macroalgae. <i>Tetraselmis chunii</i> and <i>Porphyridium cruentum</i> are microalgae species that are known to contain lipids and carbohydrates that have the potential to be further utilized in the production of biodiesel and bioethanol. This study was conducted to determine the potential of microalgae biomass in bioethanol production through the fermentation process. This study was conducted to determine the potential of microalgae biomass in bioethanol production through the fermentation process. The pre-treatment stage consisted of a delipidation process with hydrolysis. The pretreated biomass was then fermented using <i>Saccharomyces cerevisiae</i> culture. Glucose and bioethanol levels were then observed every 24 hours. This study showed that the optimum time for bioethanol fermentation was 24 hours. Based on the analysis conducted using <i>Tetraselmis chunii</i> and <i>Porphyridium cruentum</i> biomass, the delipidation efficiency was 29.6362% and 40.2667%, and the hydrolysis efficiency was 8.49% and 7.51%. The bioethanol levels at the optimum fermentation time based on the refractive index test were 5.8% and 6.0%. The bioethanol levels based on gas chromatography analysis were 0.299% and 11.221%. This study shows that microalgae biomass has the potential as a substrate in |
| Revised : 14/07/2025 | |
| Accepted : 14/07/2025 | |
| Published : 17/07/2025 | |
| Keywords : Microalgae, Bioethanol, Fermentation, <i>Tetraselmis chunii</i> , <i>Porphyridium cruentum</i> | |

bioethanol production and can be a reference for microalgae biomass-based bioethanol production on a larger scale.

Usman, S., & Agriandini, M. (2025). Fermentasi etanol berbahan baku biomassa mikroalga bebas lipid: studi pendahuluan. *Jurnal Perikanan Terpadu* 6(1): 29-41

PENDAHULUAN

Kekhawatiran terhadap keberlanjutan sumber energi fosil terus meningkat seiring dengan pertumbuhan populasi dan industrialisasi yang mengakibatkan peningkatan kebutuhan energi *global*. Emisi gas rumah kaca yang dihasilkan dari pembakaran bahan bakar fosil mempercepat perubahan iklim global, sementara itu ketergantungan yang berlebihan pada sumber energi tidak terbarukan menimbulkan ancaman terhadap keamanan energi jangka panjang (IEA, 2023; IPCC, 2021). Tujuan Pembangunan Berkelanjutan (*SDGs*) ketujuh menekankan pentingnya akses terhadap energi yang terjangkau, andal, berkelanjutan, dan *modern*, diperlukan upaya untuk mengembangkan sumber energi alternatif yang ramah lingkungan dan ekonomis (UN, 2015).

Bioetanol telah mendapatkan perhatian yang luas sebagai salah satu bentuk bioenergi yang menjanjikan untuk digunakan sebagai campuran (*fuel blend*) dengan bahan bakar fosil konvensional. *Bioetanol* dapat diproduksi melalui fermentasi biomassa kaya karbohidrat dan menawarkan keunggulan dalam hal biodegradabilitas serta menghasilkan emisi yang lebih rendah dibandingkan dengan bahan bakar konvensional (Balat & Balat, 2009; Zabed *et al.*, 2017). Namun, penggunaan bahan pangan seperti jagung dan tebu dalam produksi *bioetanol* konvensional menimbulkan isu etika dan keberlanjutan yang serius, terutama terkait dengan kompetisi lahan dan ketahanan pangan *global* (Fargione *et al.*, 2008; Searchinger *et al.*, 2008).

Mikroalga dianggap memiliki potensi sebagai sumber *biomassa* alternatif yang menjanjikan untuk produksi *bioetanol* karena memiliki beberapa keunggulan diantaranya pertumbuhan sel yang cepat, mampu hidup di lingkungan limbah dan nutrisi terbatas dan memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi (Tsolcha *et al.*, 2021). Keunggulan ini menjadikan *mikroalga* sebagai solusi potensial untuk mengatasi masalah kompetisi lahan dengan tanaman pertanian sekaligus berkontribusi dalam pengolahan limbah organik (Brennan & Owende, 2010; Mata *et al.*, 2010).

Selain sebagai sumber karbohidrat yang tinggi, *mikroalga* juga diketahui mampu menghasilkan *lipid* dalam jumlah yang signifikan berpotensi tinggi untuk produksi *biodiesel*. *Biomassa* residu hasil ekstraksi *lipid* (*delipidated biomass*) dapat dimanfaatkan secara optimal untuk produksi *bioetanol* sehingga memungkinkan untuk produksi simultan *biodiesel* dan *bioetanol* (Ashokkumar *et al.*, 2015). Konsep biorefinery terintegrasi ini dapat mendukung produksi *biofuel* yang berkelanjutan serta meningkatkan efisiensi ekonomi keseluruhan proses produksi (Dragone *et al.*, 2014).

Pada penelitian ini, dipilih dua jenis *mikroalga* untuk mengetahui potensi produksi *bioetanol* dari *mikroalga* hijau (*Tetraselmis chuii*) dan *mikroalga* merah (*Porphyridium cruentum*). Kedua jenis *mikroalga* ini memiliki kelebihan masing-masing yang menjadikannya kandidat potensial untuk produksi *bioetanol*. *Mikroalga Tetraselmis chuii* diketahui memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi, yakni sekitar 79.36% (Megawati *et al.*, 2021). Lebih lanjut, *Tetraselmis chuii* juga diketahui memiliki pertumbuhan yang cepat dan kemampuan bertahan terhadap cekaman lingkungan (Khatoon *et al.*, 2018; Rahman *et al.*, 2017). *Porphyridium cruentum* diketahui memiliki karakteristik unik berupa ukuran sel yang besar dengan kandungan *lipid* yang tinggi sehingga lebih menguntungkan untuk produksi dalam skala yang lebih besar (Russo *et al.*, 2024; Tounsi *et al.*, 2024). Selain itu, pertumbuhan yang cepat serta kandungan *eksopolisakarida* yang tinggi pada *Porphyridium cruentum* memiliki potensi yang tinggi untuk digunakan sebagai bahan baku fermentasi *bioetanol* (Mubarok *et al.*, 2018).

Penelitian yang berfokus pada penggunaan biomassa mikroalga sebagai bahan baku dalam produksi *bioetanol* telah banyak dilakukan pada berbagai spesies mikroalga, seperti *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, *Microcystis aeruginosa*, (Brányiková *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2025; Hasin *et al.*, 2021). Namun, studi komparatif mengenai perbandingan *bioetanol* yang dapat dihasilkan antara mikroalga hijau (*Tetraselmis chuii*) dan mikroalga merah (*Porphyridium cruentum*) dalam kondisi produksi yang sama masih terbatas.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan potensi produksi *bioetanol* dari kedua jenis mikroalga dalam kondisi fermentasi yang sama. Lebih lanjut, fermentasi menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang telah digunakan secara luas untuk fermentasi *etanol* dapat menjadi salah satu pilihan dalam produksi *bioetanol* dari mikroalga yang lebih ekonomis dan dapat diaplikasikan secara komersial.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Program Studi Teknologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Nutrisi Ikan, Program Studi Akuakultur, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman, Samarinda. Bahan dan Alat

Alat dan bahan yang digunakan selama penelitian adalah alat-alat gelas, seperangkat alat distilasi, *salinometer*, *thermometer*, oven udara, *hotplate stirrer*, *piknometer*, neraca analitik, *shaker incubator*, *spektrofotometer UV-Vis*, *kromatografi gas (GC)*, residu mikroalga *Tetraselmis chuii* dan *Porphyridium cruentum* hasil delipidasi, akuades, ekstrak ragi, ekstrak tauge, KH_2PO_4 , larutan *buffer asetat*, isolat *Saccharomyces cerevisiae*, reagensia Nelson, reagensia *Arsenomolibdat*, HCl 36%, $CaCO_3$, kertas *pH Universal*.

Prosedur Penelitian

1. Delipidasi Biomassa Mikroalga

Tahapan delipidasi biomassa mikroalga dilakukan berdasarkan Kwangdinata *et al.*, (2014) dengan modifikasi. Biomassa mikroalga kering dituangkan ke dalam *Erlenmeyer* berisi *etanol* 96% (perbandingan 1:6). Ekstraksi dilakukan menggunakan alat ultrasonik (40 kHz/35 W) pada suhu 50-60 °C selama 11 jam 30 menit. Setelah proses ekstraksi, larutan disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh filtrat ekstrak lipid dan residu berupa endapan biomassa. Filtrat dan endapan yang diperoleh masing-masing ditimbang dan dicatat bobotnya. Endapan kemudian dibilas dengan akuades beberapa kali hingga bebas pelarut lalu dikeringkan menggunakan oven dan ditimbang. Endapan kering merupakan biomassa mikroalga kering bebas lipid.

2. Hidrolisis biomassa mikroalga

Tahapan hidrolisis biomassa mikroalga bebas lipid dilakukan berdasarkan Iryani, (2013). Sebanyak 1 gram biomassa kering ditambahkan ke dalam larutan HCl 0.1 N (1:100). Suspensi kemudian dipanaskan sambil diaduk pada suhu 90 °C selama 30 menit. Larutan hasil hidrolisis kemudian dianalisis kadar gula reduksinya menggunakan metode *Nelson-Somogyi*.

3. Pembuatan media inokulum dan fermentasi *Saccharomyces cerevisiae*

Tahapan pembuatan media inokulum dan fermentasi *etanol* dilakukan berdasarkan (Mulyadi *et al.*, 2023) dengan modifikasi. Larutan hasil hidrolisis ditambahkan dengan ekstrak tauge 5%, ekstrak yeast 5% dan KH_2PO_4 0,01% lalu diaduk hingga larut. *pH* larutan diatur hingga mencapai *pH* 5 dengan bantuan *buffer asetat*. Wadah berisi media kemudian ditutup dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media kemudian didinginkan lalu ditambahkan dengan kultur khamir *Saccharomyces cerevisiae* untuk inokulum dan 10% (v/v)

inokulum per 100 mL media untuk media fermentasi. Proses fermentasi berlangsung selama 168 jam (7 hari). Kultur diambil setiap 24 jam, disentrifugasi lalu diukur kadar gula reduksi dan indeks bias etanolnya.

4. Distilasi *etanol*

Distilasi dilakukan untuk memisahkan etanol dari media fermentasi yang dapat menjadi pengotor selama pengujian menggunakan *kromatografi gas* (GC). Media fermentasi disaring menggunakan kertas *Whatmann* no.1 dengan bantuan saringan vakum untuk memisahkan padatan dan larutan. Larutan (*filtrat*) yang diperoleh kemudian dipindahkan ke labu sampel dan didistilasi menggunakan rangkaian alat distilasi. Sampel dipanaskan dan dijaga suhunya kisaran 80-100 °C (kisaran suhu penguapan *etanol*) hingga diperoleh cairan yang ditampung di labu distilat (cairan bening). Pada penelitian ini tidak dilakukan dehidrasi karena distilat yang diperoleh sangat terbatas untuk uji menggunakan *kromatografi gas*.

5. Analisis kadar *etanol*

Kadar distilat *etanol* hasil fermentasi yang diukur menggunakan *kromatografi gas* (GC) meliputi waktu retensi (*Retention time* (*Rt*)), luas area dibawah puncak (Area) dan tinggi puncak (*Height*) yang ditampilkan pada kromatogram. Proses analisis berlangsung selama 10 menit dengan kondisi umum antara lain suhu oven 115 °C; suhu injektor 150 °C; suhu detektor 200 °C; gas pembawa N₂; dan kecepatan aliran gas pembawa 45 mL/menit. Berdasarkan data kromatogram, dipilih satu puncak pada *Rt* standar etanol yakni ± 1.813 menit. Kadar *etanol* dihitung berdasarkan perbandingan total luas area dibawah puncak (Area) sampel dan standar pada kisaran waktu retensi (*Rt*) standar (Hermanto, 2021).

Analisis Data

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga kali pengulangan (*triplo*) untuk tahapan hidrolisis *biomassa* dan fermentasi *etanol*. Data yang diperoleh dianalisis dengan Analisa Sidik Ragam (ANOVA) dan ditabulasikan menggunakan aplikasi Ms. Excel 2021.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk mendukung pengukuran adalah *roll meter*, yang berfungsi untuk memperoleh data dimensi utama kapal secara presisi. Subjek yang diukur dalam penelitian ini adalah kapal perikanan yang menggunakan alat tangkap bubu dan pancing ulur di Pelabuhan Perikanan Nusantara (PPN) Palabuhanratu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Delipidasi *Biomassa Mikroalga*

Ekstraksi *lipid* pada *biomassa mikroalga* dilakukan untuk mengurangi hambatan proses fermentasi akibat kandungan *lipid* yang tinggi pada *mikroalga*. Hal ini sesuai dengan El-Dalatony *et al.*, (2017) yang melaporkan bahwa *lipid* secara fisik dapat mengganggu akses mikroba terhadap karbohidrat sehingga menghambat laju fermentasi. Ekstraksi *lipid* dengan metode ultrasonik dilakukan untuk mengekstrak *lipid* secara lebih efisien melalui pemecahan sel mikroalga menggunakan gelombang kavitasi. Menurut Gerde *et al.*, (2012), ekstraksi menggunakan metode ultrasonikasi mampu merusak struktur dinding sel mikroalga dan memberikan akses yang lebih banyak bagi pelarut ke dalam sel sehingga ekstraksi dapat berlangsung secara lebih efisien.

Proses ekstraksi menggunakan metode ultrasonikasi pada mikroalga telah banyak dilakukan dan menunjukkan efektivitas yang tinggi untuk ekstraksi berbagai senyawa, diantaranya ekstraksi klorofil dengan sifat antioksidan dan antibakteri tinggi (Tavakoli *et al.*, 2021), *lipid* dan metana (Rokicka *et al.*, *n.d.*), dan biomolekul lainnya dari jenis mikroalga yang berbeda (Zhang *et*

al., 2019). Selain itu, Asada *et al.* (2012) juga melaporkan ekstraksi pati *mikroalga Chlamydomonas fasciata Ettl 437* menggunakan metode ultrasonik yang kemudian digunakan untuk fermentasi bioetanol.

Proses ekstraksi lipid (*delipidasi*) pada penelitian ini dilakukan menggunakan pelarut *etanol* 96% dengan bantuan alat sonikasi (40 kHz/35 W). Proses ekstraksi lipid dilakukan hingga diperoleh ekstrak *lipid* yang diuji menggunakan KLT (*Kromatografi Lapis Tipis*) dengan fase stasioner menggunakan Silika gel 60 dan fase gerak menggunakan n-heksan:dietil eter:asam asetat (80:20:1) lalu diamati di bawah lampu UV. Uji KLT merupakan metode sederhana yang dapat digunakan untuk memastikan apakah lipid telah terekstrak ke dalam pelarut yang digunakan (data hasil KLT tidak dapat ditampilkan karena merupakan bagian dari penelitian berkaitan yang tidak dipublikasikan). Ekstrak lipid (*filtrat*) kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* dan residu (*biomassa*) dikeringkan menggunakan oven lalu ditimbang (Tabel 1).

Table 1. Lipid extraction of microalgae biomass

| Microalgae | Biomass (g)* | Lipid Extract (g) | Extraction Efficiency (%) |
|------------------------------|--------------|-------------------|---------------------------|
| <i>Tetraselmis chuii</i> | 17.7622 | 5.2634 | 29.6326 |
| <i>Porphyridium cruentum</i> | 24.8699 | 10.0143 | 40.2667 |

Note: *Biomass based on dry weight.

Proses delipidasi yang dilakukan menunjukkan bahwa efisiensi ekstraksi *lipid* pada *Porphyridium cruentum* lebih tinggi yakni sebesar 40.2667% dibandingkan dengan *Tetraselmis chuii* yakni sebesar 29.6326%. Efisiensi ekstraksi *lipid* yang lebih rendah untuk *biomassa Tetraselmis chuii* dapat disebabkan oleh perbedaan komponen penyusun dinding sel antara *Tetraselmis chuii* (alga hijau) dan *Porphyridium cruentum*. Menurut (Alhattab *et al.*, 2019; Safi *et al.*, 2013), komponen dinding sel berpengaruh terhadap metode ekstraksi yang efisien untuk ekstraksi komponen biologis dari sel *mikroalga*. *Tetraselmis chuii* memiliki dinding sel yang tersusun atas *hemiselulosa* yang lebih kaku dibandingkan komponen dinding sel *Porphyridium cruentum* yang tersusun atas *polisakarida sulfat* yang lebih rentan terhadap gangguan fisik dan kimiawi. Pengamatan yang dilakukan oleh (Spain & Funk, 2022) terhadap beberapa spesies mikroalga hijau juga menunjukkan struktur dinding sel yang tebal dan kaku. Lebih lanjut, metode ekstraksi menggunakan gelombang kavitasasi (ultrasonik) memberikan respon yang berbeda bergantung pada jenis mikrolaga sehingga perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas metode ekstraksi untuk setiap mikroalga yang berbeda sebagaimana juga telah diamati oleh Anjos *et al.* (2022) mengenai beberapa metode ekstraksi protein pada *Tetraselmis chuii*.

Hidrolisis *Biomassa* Hasil Delipidasi

Setelah melalui proses delipidasi menggunakan metode ultrasonik, maka diharapkan akses mikroba terhadap polisakarida seperti pati dan selulosa menjadi lebih mudah, sehingga proses fermentasi dapat berjalan lancar. Hidrolisis biomassa dilakukan untuk meningkatkan sederhana terlarut yang diperlukan dalam proses fermentasi etanol (Fu *et al.*, 2010). Dinding sel *mikroalga* mengandung selulosa sebagai komponen struktural utama sehingga hidrolisis menjadi tahapan penting untuk memecah polimer karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana (Brennan & Owende, 2010).

Dalam penelitian ini, *HCl* dipilih sebagai agen hidrolisis untuk menghindari gangguan gas *NO2* dalam proses fermentasi yang dihasilkan bila hidrolisis menggunakan *HNO3* pada suhu tinggi (Iryani, 2013). Pemilihan *HCl* juga didukung oleh efektivitasnya dalam hidrolisis biomassa ligniselulosa yang telah terbukti dalam penelitian sebelumnya (Brandt *et al.*, 2013; Wyman *et al.*, 2005). Penentuan kadar gula reduksi dilakukan menggunakan metode uji *Nelson-Somogyi* yang

merupakan metode standar untuk analisis gula reduksi. Data kadar gula reduksi hasil hidrolisis biomassa mikrolaga dapat dilihat pada Tabel 2.

Table 2. Reducing sugar concentration for hydrolyzed microalgae biomass

| Microalgae | Substrat Concentration (%) | Reduction Sugar Concentration (mg/mL) | Hydrolysis Efficiency (%)* |
|------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| <i>Tetraselmis chuii</i> | 1% | 0.0849 | 8.4900 |
| <i>Porphyridium cruentum</i> | 1% | 0.0751 | 7.5100 |

Note: * Hydrolysis efficiency is calculated from the ratio of reducing sugar to initial substrate concentration.

Hasil penelitian ini menunjukkan konsentrasi gula reduksi yang diperoleh dari hidrolisis biomassa *Tetraselmis chuii* (0.0849 mg/mL) dan *Porphyridium cruentum* (0.0751 mg/mL) tidak berbeda nyata secara statistik. Meskipun demikian, *Tetraselmis chuii* menunjukkan efisiensi hidrolisis yang sedikit lebih tinggi (8.49%) dibandingkan *Porphyridium cruentum* (7.51%). Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh variasi komposisi dinding sel dan struktur karbohidrat kompleks yang berbeda antar spesies mikroalga.

Hasil penelitian ini menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan studi sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh (Agustini & Febrian, 2019) menggunakan biomassa *Porphyridium cruentum* melaporkan konsentrasi gula reduksi mencapai 0.125 mg/mL atau sekitar 66% lebih tinggi dari hasil penelitian ini. Selain itu, (Qaishum *et al.*, 2015) telah melakukan hidrolisis sel *Tetraselmis chuii* memperoleh konsentrasi gula reduksi hingga 0.112 mg/mL, atau 32% lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian ini. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain: konsentrasi asam dan suhu hidrolisis yang berbeda (Brandt *et al.*, 2013); waktu hidrolisis dan metode preparasi biomassa yang berbeda (Wyman *et al.*, 2005); dan efektivitas proses delipidasi yang dapat mempengaruhi akses terhadap polimer karbohidrat (Halim *et al.*, 2012).

Meskipun konsentrasi gula reduksi relatif rendah, hasil ini menunjukkan bahwa kedua spesies mikrolaga memilikipotensi untuk digunakan sebagai substrat fermentasi etanol. Menurut (C.-Y. Chen *et al.*, 2013) biomassa mikroalga dengan konsentrasi gula reduksi serupa (0.05-0.08 mg/mL) masih dapat menghasilkan etanol dengan efisiensi fermentasi mencapai 70-80% dari nilai teoritis. Lebih lanjut, hasil hidrolisis biomassa mikroalga menunjukkan potensi biomassa mikroalga bebas lipid sebagai substrat fermentasi etanol melalui optimasi proses hidrolisis lebih lanjut.

Fermentasi Etanol

Fermentasi etanol dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri maupun khamir. Fermentasi menggunakan kultur khamir *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kelebihan dalam produksi bioetanol diantaranya toleransinya yang tinggi terhadap etanol dan kemampuan fermentasi yang optimal (Bai *et al.*, 2008; Limayem & Ricke, 2012). Pada penelitian ini fermentasi dilakukan selama 168 jam (7 hari). Pengamatan kadar gula reduksi (Gambar 1) dan kadar etanol (Gambar 2) setiap 24 jam.

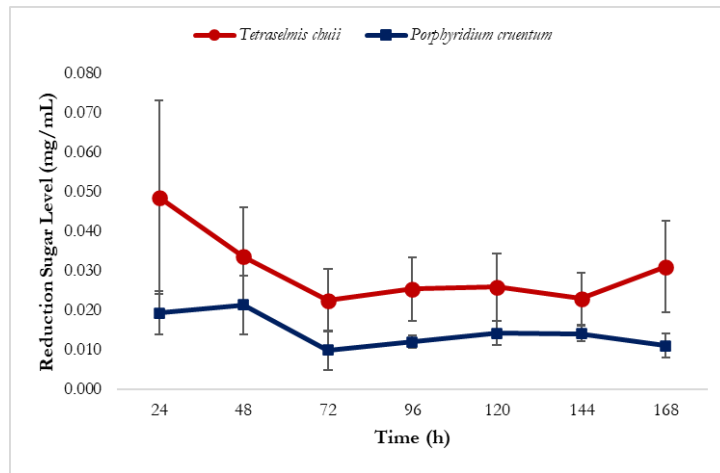


Figure 1. Graphic of reduction sugar level during ethanol fermentation

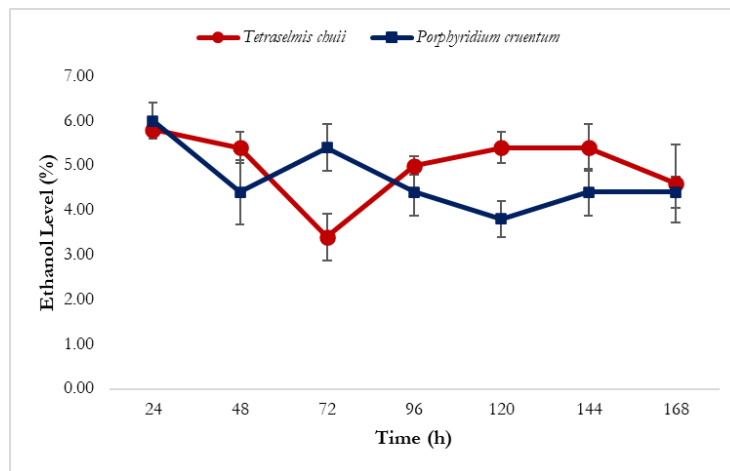


Figure 2. Graphic of ethanol level during ethanol fermentation.

Berdasarkan data analisa kadar gula reduksi selama proses fermentasi etanol (Gambar 1), terlihat bahwa kadar gula reduksi dari kedua jenis substrat yang digunakan mengalami penurunan seiring dengan lama fermentasi. Namun, substrat *biomassa Tetraselmis chuii* mengalami penurunan yang lebih signifikan bila dibandingkan dengan pada substrat *biomassa Porphyridium cruentum*. Pada substrat *biomassa Tetraselmis chuii* terjadi penurunan kadar gula reduksi yang cukup signifikan pada waktu fermentasi 24 jam-72 jam, yang mengindikasikan fase eksponensial pertumbuhan *kbamir* dan aktivitas fermentasi yang optimal (Narendranath *et al.*, 2001). Pola serupa juga ditunjukkan pada substrat *Porphyridium cruentum* dengan kadar gula reduksi terendah pada waktu fermentasi 72 jam.

Berbeda dengan pola konsumsi gula reduksi, pengamatan terhadap kadar etanol selama fermentasi menunjukkan penurunan kadar etanol setelah mencapai puncak pada jam ke-24. Waktu optimum fermentasi pada penelitian ini yakni 24 jam dengan kadar etanol tertinggi yakni 5.8% dan 6.0% masing-masing untuk substrat *Tetraselmis chuii* dan *Porphyridium cruentum*. Hal ini menunjukkan bahwa *Porphyridium cruentum* menghasilkan etanol yang sedikit lebih tinggi meskipun laju konsumsi gula reduksinya lebih lambat. Konsentrasi etanol yang diperoleh dalam penelitian ini sebanding dengan studi sebelumnya menggunakan *biomassa mikroalga*. (Harun & Danquah, 2011) melaporkan produksi etanol sebesar 4.2-7.1% dari berbagai spesies mikroalga, lebih lanjut (C.-Y. Chen *et al.*, 2013) memperoleh konsentrasi etanol 3.8-6.5% dari *biomassa Chlorella* dan *Scenedesmus*. Hal ini menunjukkan bahwa *biomassa mikroalga* bebas lipid memiliki potensi yang kompetitif untuk produksi bioetanol.

Penurunan kadar etanol pada jam ke-72 untuk substrat *Tetraselmis chuii* dan jam ke-48 untuk *Porphyridium cruentum* yang mengindikasikan terjadinya penguraian etanol pada media fermentasi namun untuk mengkonfirmasi hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Degradasi etanol selama fermentasi merupakan proses kompleks yang dipengaruhi oleh berbagai faktor. Meskipun etanol merupakan produk utama dari banyak fermentasi, etanol juga dapat terdegradasi dalam kondisi tertentu. Hasil degradasi tersebut berupa senyawa organik lain seperti asam *asetat*, *asetaldehida*, dan *karbon dioksida*. Untuk mengkonfirmasi degradasi etanol yang terjadi maka diperlukan analisis lebih lanjut terhadap produk sampingan fermentasi dan kondisi lingkungan fermentasi.

Analisis hubungan antara konsentrasi gula pereduksi dengan kadar etanol yang dihasilkan menunjukkan efisiensi proses fermentasi yang berbeda antara kedua substrat. Pada substrat *Tetraselmis chuii* meskipun terjadi penurunan gula pereduksi yang lebih signifikan (konsumsi gula yang lebih tinggi), kadar etanol yang dihasilkan justru lebih rendah (5.8%) dibandingkan *Porphyridium cruentum* (6.0%). Fenomena ini mengindikasikan bahwa substrat *Porphyridium cruentum* memiliki efisiensi konversi gula menjadi etanol yang lebih baik.

Perbedaan efisiensi ini dapat disebabkan oleh komposisi karbohidrat yang berbeda pada kedua spesies mikroalga. *Tetraselmis chuii* kemungkinan memiliki proporsi karbohidrat kompleks yang lebih tinggi sehingga membutuhkan energi metabolik yang lebih besar untuk proses hidrolisis dan fermentasi. Sebaliknya, *Porphyridium cruentum* mungkin memiliki proporsi gula sederhana yang lebih tinggi sehingga lebih mudah difermentasi oleh *S. cerevisiae*. Efisiensi fermentasi yang rendah pada *Tetraselmis chuii* juga dapat disebabkan oleh adanya komponen penghambat fermentasi atau kondisi lingkungan yang kurang optimal untuk aktivitas *kehamir*.

Analisis Kadar Distilat Etanol

Setelah proses fermentasi berlangsung selama 168 jam, media fermentasi disaring dan filtrat kemudian didistilasi untuk memisahkan etanol. Distilat etanol yang diperoleh kemudian didehidrasi lalu dianalisis secara kuantitatif menggunakan *kromatografi gas* (GC). Hasil analisis kadar distilat etanol disajikan pada Tabel 3.

Table 3. The data of ethanol distillate analyzed by gas chromatography

| Sample | Retention Time (Rt) (m) | Area | Height | Level of Ethanol (%) |
|------------------------------|-------------------------|----------|----------|----------------------|
| Ethanol Standard | 1.813 | 64657128 | 14239024 | - |
| | 1.993 | 7320 | 1861 | |
| <i>Tetraselmis chuii</i> | 1.801 | 193480 | 51775 | 0.299 |
| <i>Porphyridium cruentum</i> | 1.810 | 7255207 | 1290277 | 11.221 |
| | 2.543 | 1612.000 | 925 | |

Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 3, terdapat perbedaan waktu retensi (*Rt*) dari etanol standar dengan sampel. Perbedaan waktu retensi dapat terjadi akibat adanya pengotor berupa produk samping hasil fermentasi seperti asam asetat atau asam organik lain atau proses dehidrasi distilat etanol belum berlangsung sempurna yang mempengaruhi proses pemisahan di dalam kolom *kromatografi* namun perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk mengkonfirmasi hal tersebut. Kadar etanol yang dihasilkan dalam penelitian ini masih tergolong rendah dibandingkan dengan beberapa penelitian sebelumnya. (Agustini & Febrian, 2019) menggunakan biomassa mikroalga *Porphyridium cruentum* dengan kadar etanol maksimum 34,5% untuk biomassa yang dihidrolisis menggunakan H_2SO_4 1% dan 14,83% untuk biomassa yang dihidrolisis menggunakan HNO_3 2%.

Terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar etanol yang disajikan pada Gambar 2 (hasil monitoring selama fermentasi) dengan hasil analisis *kromatografi gas* pada Tabel 3. Pada

Gambar 2, kadar etanol maksimum yang tercatat adalah 5.8% untuk *Tetraselmis chunii* dan 6.0% untuk *Porphyridium cruentum* pada jam ke-24. Sementara itu, hasil analisis *keromatografi gas* pada Tabel 3 menunjukkan kadar etanol yang jauh berbeda, yaitu 0.299% untuk *Tetraselmis chunii* dan 11.221% untuk *Porphyridium cruentum*. Perbedaan kedua hasil analisis tersebut dapat terjadi karena metode analisis yang berbeda sehingga memiliki tingkat akurasi dan spesifitas yang berbeda. Waktu pengambilan sampel juga berbeda, dimana data pada Gambar 2 merupakan hasil monitoring langsung media fermentasi pada berbagai waktu. Sedangkan data Tabel 3 merupakan analisis terhadap distilat etanol setelah proses fermentasi (168 jam) dan telah melalui proses distilasi serta dehidrasi. Proses distilasi dan dehidrasi dapat menyebabkan konsentrasi etanol yang berbeda karena adanya kemungkinan etanol yang hilang selama proses distilasi atau adanya interferensi dalam analisis *keromatografi gas*.

Rendahnya kadar etanol yang diperoleh dalam penelitian ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya: 1) metode pra-perlakuan biomassa berupa hidrolisis asam yang belum intensif sehingga gula sederhana yang dihasilkan untuk fermentasi belum optimal; 2) parameter fermentasi seperti *pH*, suhu dan aerasi belum optimal untuk aktivitas maksimal *S. cerevisiae*. Kondisi lingkungan yang kurang sesuai dapat menghambat pertumbuhan mikroba dan produksi etanol; 3) konsentrasi inoculum yang digunakan masih rendah; dan 4) terjadinya degradasi etanol pada fase akhir fermentasi menunjukkan adanya metabolisme sekunder yang mengkonversi etanol menjadi produk samping

Peningkatan efisiensi fermentasi etanol dapat dilakukan melalui: 1) optimasi pra-perlakuan, seperti hidrolisis asam atau enzimatis untuk meningkatkan ketersediaan gula *fermentable* dari *biomassa mikroalga*; 2) optimasi studi parameter fermentasi seperti suhu, *pH* dan kondisi fermentasi yang optimal bagi aktivitas mikroba yang digunakan; 3) meningkatkan konsentrasi inoculum untuk mempercepat proses fermentasi dan mengurangi resiko fermentasi; dan 4) menambahkan nutrisi tambahan untuk mendukung pertumbuhan mikroba dan produksi etanol. Lebih lanjut, karakterisasi substrat berupa detail komposisi karbohidrat pada biomassa mikroalga, monitoring parameter fermentasi seperti *pH* dan suhu, analisis produk samping fermentasi yang kurang, serta penggunaan kromatografi gas tunggal tanpa konfirmasi dengan metode analisis lain dapat mempengaruhi akurasi interpretasi hasil penelitian ini sehingga kedepannya perlu dilakukan perbaikan.

Meskipun etanol yang dihasilkan masih tergolong rendah, hasil penelitian ini dapat menunjukkan potensi bioetanol dari proses fermentasi biomassa mikroalga bebas *lipid*. Penelitian ini dapat menjadi salah satu acuan bagi pengembangan penelitian mengenai *bioefuel* (*biodiesel* dan *bioetanol*) dari *mikroalga*, khususnya dalam optimasi kondisi fermentasi dan pemurnian produk.

KESIMPULAN

Fermentasi etanol dengan menggunakan *biomassa mikroalga Tetraselmis chunii* dan *Porphyridium cruentum* bebas *lipid* menunjukkan kadar gula sederhana tereduksi tertinggi setelah fermentasi adalah 0.0849% menggunakan *biomassa Tetraselmis chunii*. Sementara itu, etanol hasil fermentasi dengan kemurnian tertinggi adalah 11.221% menggunakan *biomassa Porphyridium cruentum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, N. W. S., & Febrian, N. (2019). Hidrolisis biomassa mikroalga porphyridium cruentum menggunakan asam (H_2SO_4 dan HNO_3) dalam produksi bioetanol. *Jurnal Kimia Dan Kemasan*, 41(1), 1-10. <https://doi.org/10.24817/jkk.v41i1.3962>
- Alhattab, M., Kermanshahi-Pour, A., & Brooks, M. S. L. (2019). Microalgae disruption techniques for product recovery: influence of cell wall composition. *Journal of Applied Phycology* 31 (1) 61–88. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1560-9>
- Anjos, L., Estêvão, J., Infante, C., Mantecón, L., & Power, D. M. (2022). Extracting protein from microalgae (*Tetraselmis chuii*) for proteome analysis. *MethodsX*, 9 (2022) 101637. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101637>
- Asada, C., Doi, K., Sasaki, C., & Nakamura, Y. (2012). Efficient extraction of starch from microalgae using ultrasonic homogenizer and its conversion into ethanol by simultaneous saccharification and fermentation. *Natural Resources*, 03(04), 175–179. <https://doi.org/10.4236/nr.2012.34023>
- Ashokkumar, V., Salam, Z., Tiwari, O. N., Chinnasamy, S., Mohammed, S., & Ani, F. N. (2015). An integrated approach for biodiesel and bioethanol production from *Scenedesmus bijugatus* cultivated in a vertical tubular photobioreactor. *Energy Conversion and Management*, 101, 778–786. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2015.06.006>
- Bai, F. W., Anderson, W. A., & Moo-Young, M. (2008). Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology Advances*, 26(1), 89–105. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.09.002>
- Balat, M., & Balat, H. (2009). Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. *In Applied Energy* 86(11) 2273–2282. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.03.015>
- Brandt, A., Gräsvik, J., Hallett, J. P., & Welton, T. (2013). Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. *In Green Chemistry* 15(3) 550–583. Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c2gc36364j>
- Brányiková, I., Maršálková, B., Doucha, J., Brányik, T., Bišová, K., Zachleder, V., & Vítová, M. (2011). Microalgae-novel highly efficient starch producers. *Biotechnology and Bioengineering*, 108(4), 766–776. <https://doi.org/10.1002/bit.23016>
- Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *In Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(2) 557–577. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.009>
- Chen, C.-Y., Zhao, X.-Q., Yen, H.-W., Ho, S.-H., Cheng, C.-L., Lee, D.-J., Bai, F.-W., & Chang, J.-S. (2013). Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. *Biochemical Engineering Journal*, 78, 1–10. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.03.006>
- Chen, W., Xu, S., Zou, S., Liu, Z., Liu, Y., Xu, H., Wang, J., Ma, J., Chen, R., & Zuo, Z. (2025). Carbohydrate and lipid yield in *Microcystis aeruginosa* for biofuel production under different light qualities. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 18(1) 1-13 <https://doi.org/10.1186/s13068-025-02615-8>

- Dragone, G., Fernandes, B. D., Vicente, A., Fernandes, B., Vicente, A. A., & Teixeira, J. A. (2014). Third generation biofuels from microalgae in Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. 1355-1366. World Scientific Publishing. <https://www.researchgate.net/publication/236006059>
- El-Dalatony, M. M., Salama, E. S., Kurade, M. B., Hassan, S. H. A., Oh, S. E., Kim, S., & Jeon, B. H. (2017). Utilization of microalgal biofractions for bioethanol, higher alcohols, and biodiesel production: A review. *Energies*, 10(12) 2110. <https://doi.org/10.3390/en10122110>
- Fargione, J., Hill, J., Tilman, D., Polasky, S., & Hawthorne, P. (2008). Land clearing and the biofuel carbon debt. *Science*, 319(5867), 1235–1238. <https://doi.org/10.1126/science.1152747>
- Fu, C. C., Hung, T. C., Chen, J. Y., Su, C. H., & Wu, W. T. (2010). Hydrolysis of microalgae cell walls for production of reducing sugar and lipid extraction. *Bioresource Technology*, 101(22), 8750–8754. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.100>
- Gerde, J. A., Montalbo-Lomboy, M., Yao, L., Grewell, D., & Wang, T. (2012). Evaluation of microalgae cell disruption by ultrasonic treatment. *Bioresource Technology*, 125, 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.110>
- Halim, R., Danquah, M. K., & Webley, P. A. (2012). Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. *Biotechnology Advances*, 30(3), 709–732. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.01.001>
- Harun, R., & Danquah, M. K. (2011). Enzymatic hydrolysis of microalgal biomass for bioethanol production. *Chemical Engineering Journal*, 168(3), 1079–1084. <https://doi.org/10.1016/j.ccej.2011.01.088>
- Hasin, M., Gohain, M., & Deka, D. (2021). Bio-Ethanol Production from Carbohydrate-Rich Microalgal Biomass: *Scenedesmus Obliquus*. In M. Bose & A. Modi (Eds.), *Proceedings of the 7th International Conference on Advances in Energy Research* (pp. 1215–1224). Springer Singapore.
- Hermanto, D. (2021). Penentuan Kandungan Etanol dalam Makanan dan Minuman Fermentasi Tradisional Menggunakan Metode Kromatografi Gas. *Chempublish Journal*, 5(2), 105–115. <https://doi.org/10.22437/chp.v5i2.8979>
- IEA. (2023). *World Energy Outlook 2023*. Paris: IEA.
- IPCC. (2021). *Climate Change 2021: The Physical Science Basis*. <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/>
- Iryani, A. S. (2013). Pengaruh jenis katalis asam terhadap studi kinetika proses hidrolisis pati dalam ubi kayu. *Iltek*, 8(15), 1078-1081.
- Khatoon, H., Haris, H., Rahman, N. A., Zakaria, M. N., Begum, H., & Mian, S. (2018). Growth, proximate composition and pigment production of *Tetraselmis chuii* cultured with aquaculture Wastewater. *Journal of Ocean University of China*, 17(3), 641–646. <https://doi.org/10.1007/s11802-018-3428-7>
- Kwangdinata, R., Raya, I., & Zakir, M. (2014). Production of biodiesel from lipid of phytoplankton *Chaetoceros calcitrans* through ultrasonic method. *The Scientific World Journal*, 2014 (1) 231361. <https://doi.org/10.1155/2014/231361>

- Limayem, A., & Ricke, S. C. (2012). Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress in Energy and Combustion Science*, 38(4), 449–467. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.peccs.2012.03.002>
- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *In Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(1), 217–232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>
- Megawati, Damayanti, A., Putri, R. D. A., Sari, P. N., & Fidyani, D. (2021). Kinetics study of enzymatic hydrolysis of *Tetraselmis chuii* using Valjamae model. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1053(1), 012044. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/1053/1/012044>
- Mubarok, A., Setyaningsih, I., & Uju, U. (2018). Karakteristik eksopolisakarida mikroalga *Porphyridium cruentum* yang berpotensi untuk produksi bioetanol. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(1), 24-34.. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i1.21258>
- Mulyadi, D., Mulyani, R., & Hidayah, L. (2023). Pengaruh konsentrasi ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) pada proses fermentasi limbah kulit buah sukun (*Artocarpus altilis*) dalam pembuatan bioetanol. *Jurnal Energi Baru dan Terbarukan*, 4(3), 154–161. <https://doi.org/10.14710/jebt.2023.17708>
- Narendranath, N., Thomas, K., & Ingledew, W. (2001). Effects of acetic acid and lactic acid on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in a minimal medium. *In Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 26(3), 171-177. www.nature.com/jim
- Qaishum, F., Amri, A., & Utami, S. P. (2015). Hidrolisis mikroalga *Tetraselmis chuii* menjadi glukosa menggunakan solvent H₂SO₄ dengan variasi waktu hidrolisis. *JOM FTeknik* 2(1), 1-5.
- Rahman, N. A., Khatoon, H., Yusuf, N., Banerjee, S., Haris, N. A., Lananan, F., & Tomoyo, K. (2017). *Tetraselmis chuii* biomass as a potential feed additive to improve survival and oxidative stress status of Pacific white-leg shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *International Aquatic Research*, 9(3), 235–247. <https://doi.org/10.1007/s40071-017-0173-2>
- Rokicka, M., Zieliński, M., Dudek, M., & Dębowski, M. (n.d.). Effects of ultrasonic and microwave pretreatment on lipid extraction of microalgae and methane production from the residual extracted biomass. *BioEnergy Research* 14, 752-760. <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10202-y/Published>
- Russo, G. L., Langellotti, A. L., Verardo, V., Garcia, B. M., Oliviero, M., & Masi, P. (2024). Sustainable cultivation of *Porphyridium cruentum* via agro-industrial by-products: A study on biomass and lipid enhancement. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 60, 103341. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103341>
- Safi, C., Charton, M., Pignolet, O., Silvestre, F., & Vaca-Garcia, C. (2013). Influence of microalgae cell wall characteristics on protein extractability and determination of nitrogen-to-protein conversion factors. Influence of microalgae cell wall characteristics on protein extractability and determination of nitrogen-to-protein conversion. *Journal of Applied Phycology*, 25(2), 523–529. <https://doi.org/10.1007/s10811>
- Searchinger, T., Heimlich, R., Houghton, R. A., Dong, F., Elobeid, A., Fabiosa, J., Tokgoz, S., Hayes, D., & Yu, T. H. (2008). Use of U.S. croplands for biofuels increases greenhouse gases

- through emissions from land-use change. *Science*, 319(5867), 1238–1240. <https://doi.org/10.1126/science.1151861>
- Spain, O., & Funk, C. (2022). Detailed Characterization of the cell wall structure and composition of nordic green microalgae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(31), 9711–9721. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c02783>
- Tavakoli, S., Hong, H., Wang, K., Yang, Q., Gahrui, H. H., Zhuang, S., Li, Y., Liang, Y., Tan, Y., & Luo, Y. (2021). Ultrasonic-assisted food-grade solvent extraction of high-value added compounds from microalgae *Spirulina platensis* and evaluation of their antioxidant and antibacterial properties. *Algal Research*, 60, 102493. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102493>
- Tounsi, L., Ben Hlima, H., Fendri, I., Abdelkafi, S., & Michaud, P. (2024). Photoautotrophic growth and accumulation of macromolecules by *Porphyridium cruentum* UTEX 161 depending on culture media. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(20), 26323–26340. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04703-x>
- Tsolcha, O. N., Patrino, V., Economou, C. N., Dourou, M., Aggelis, G., & Tekerlekopoulou, A. G. (2021). Utilization of biomass derived from cyanobacteria-based agro-industrial wastewater treatment and raisin residue extract for bioethanol production. *Water (Switzerland)*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/w13040486>
- UN. (2015). Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development.
- Wyman, C. E., Dale, B. E., Elander, R. T., Holtzapfel, M., Ladisch, M. R., & Lee, Y. Y. (2005). Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresource Technology*, 96(18), 1959–1966. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.01.010>
- Zabed, H., Sahu, J. N., Suely, A., Boyce, A. N., & Faruq, G. (2017). Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 71, 475–501. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.076>
- Zhang, R., Grimi, N., Marchal, L., Lebovka, N., Vorobiev, E., & Zhang, M. R. (2019). Effect of ultrasonication, high pressure homogenization and their combination on efficiency of extraction of bio-molecules from microalgae *Parachlorella kessleri*. *Algal Research* 40, 101524