

## Pengaruh Konsentrasi Enzim, Ragi, dan Lama Fermentasi terhadap Pembuatan Bioetanol Berbahan Baku *Chlorella pyrenoidosa*

### *The Effect of Enzyme Concentration, Yeast, and Duration of Fermentation on Bioethanol Production from Chlorella pyrenoidosa*

Asyeni Miftahul Jannah\*, Indah Wahyuni, Renanda Amalia, Cynthia Savrinda, Indry Permata Hani

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sriwijaya, Jl. Raya Palembang-Prabumulih KM 32  
Inderalaya, Sumatera Selatan, Kode Pos 30662, Indonesia

\*Email: [asyeni@ft.unsri.ac.id](mailto:asyeni@ft.unsri.ac.id)

#### Article history:

Diterima : 3 Februari 2024  
Direvisi : 22 Mei 2024  
Disetujui : 6 Agustus 2024  
Mulai online : 28 September 2024

E-ISSN: 2337-4888

#### How to cite:

Asyeni Miftahul Jannah, Indah Wahyuni, Renanda Amalia, Cynthia Savrinda, Indry Permata Hani. (2024). Pengaruh Konsentrasi Enzim, Ragi, dan Lama Fermentasi terhadap Pembuatan Bioetanol Berbahan Baku *Chlorella pyrenoidosa*. Jurnal Teknik Kimia USU, 13(2), 113-121.

#### ABSTRAK

Saat ini, kebutuhan energi yang terus meningkat menyebabkan jumlah energi menjadi terus berkurang di Indonesia. Hal ini membuat pengembangan sumber energi terbarukan sangat diperlukan, salah satunya adalah bioetanol. Pada penelitian ini bioetanol diproduksi dengan memanfaatkan *Chlorella pyrenoidosa* sebagai bahan baku. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dan peranan ragi dan lamanya fermentasi *Chlorella pyrenoidosa* terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Variabel yang digunakan adalah variasi konsentrasi enzim  $\alpha$ -amilase yaitu 25%, 35%, 45% (v/w), variasi konsentrasi ragi yaitu 5%, 10%, 15% (w/v) serta lama fermentasi 7 hari, 9 hari, dan 11 hari. Dari hasil penelitian diperoleh kadar glukosa tertinggi sebesar 13,119%, yaitu pada variasi konsentrasi enzim  $\alpha$ -amilase 45% (v/w). Bioetanol tertinggi didapatkan sebesar 27% yang dihasilkan dari sampel dengan konsentrasi ragi 10% (v/b) dan difermentasikan selama 9 hari.

**Kata kunci:** bioetanol, *chlorella pyrenoidosa*, hidrolisis, fermentasi, enzim  $\alpha$ -amilase

#### ABSTRACT

Currently, the increasing demand for energy causes the amount of energy to continue to decrease in Indonesia. Therefore, the development of renewable energy sources needed, including bioethanol. In this study, bioethanol was produced by utilizing *Chlorella pyrenoidosa* as raw material. The purpose of this study was to determine the effect of yeast and the fermentation time of *Chlorella pyrenoidosa* on the bioethanol content. The variables used were variation of  $\alpha$ -amylase enzyme concentration of 25%, 35%, 45% (v/w), variation of yeast concentration of 5%, 10%, 15% (w/v) and fermentation duration of 7 days, 9 days, and 11 days. From the study obtained the highest glucose content of 13.119%, which was varied by the concentration of  $\alpha$ -amylase enzyme 45% (v/w). The highest bioethanol was obtained at 27% which was produced from samples with 10% (v/b) yeast concentration and fermented for 9 days.

**Keyword:** bioethanol, *chlorella pyrenoidosa*, hydrolysis, fermentation,  $\alpha$ -amylase enzyme



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International.  
<https://doi.org/10.32734/jtk.v13i2.15601>

## 1. Pendahuluan

Indonesia memiliki banyak sumber energi, tetapi pada dasarnya masyarakat saat ini masih sangat bergantung pada bahan bakar yang berbahan dasar fosil sebagai energi. Berdasarkan dari Peraturan Pemerintah Nomor 79 tahun 2014 yaitu tentang kebijakan energi nasional, target penggunaan energi terbarukan di Indonesia hanya sebesar 23% pada tahun 2025 dan sebesar 31% pada tahun 2050 [1]. Ketergantungan terhadap fosil berdampak pada menurunnya cadangan energi, sedangkan cadangan energi Indonesia akan terus berkurang tiap tahun dan akan habis jika terus digunakan. Oleh karena itu, perlu dikembangkan sumber energi untuk memenuhi kebutuhan energi karena pasokan energi dari sumber fosil yang semakin menipis [2]. Sumber energi alternatif, termasuk biomassa, dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan pasokan energi Indonesia. Berbagai jenis biomassa dapat digunakan sebagai bahan baku untuk produksi bioenergi, salah satunya yaitu bioetanol. Bioetanol merupakan bahan bakar terbarukan yang dihasilkan dari fermentasi dengan memanfaatkan beberapa mikroba [3]. Salah satunya adalah menggunakan bahan baku mikroalga. Penggunaan konsentrasi ragi yang tinggi pada proses fermentasi akan dapat meningkatkan rendemen dan juga kadar bioetanol yang diperoleh.

Mikroalga memiliki kandungan yang dapat berperan sebagai sumber glukosa dalam produksi etanol. Mikroalga memiliki laju pertumbuhan dan produktivitas lebih besar dibanding dengan tanaman kehutanan konvensional. Mikroalga juga mempunyai kadar karbohidrat tinggi yang dapat difermentasi menjadi bioetanol [4]. Produksi bioetanol hingga saat ini telah melewati beberapa generasi, bioetanol generasi pertama berasal dari tanaman pangan, terutama yang berasal dari bahan baku yang bergula dan mengandung pati, misalnya tebu [5], singkong [6], umbi-umbian [7], jagung [8], dan gandum [9]. Namun bahan baku tersebut masih sering diperdebatkan karena kegunaannya sebagai bahan pangan. Selain itu, bahan baku ini harus melewati beberapa tahap persiapan dahulu diantaranya adalah persiapan bahan baku, hidrolisis, dan juga fermentasi. Oleh karena itu, bioetanol generasi kedua dengan menggunakan bahan baku yang berbasis pada lignoselulosa seperti jerami padi [10], sabut kelapa [11], tandan kosong kelapa sawit [12] dan tongkol jagung [13]. Permasalahan utama pada penggunaan bahan baku generasi kedua adalah terdapat kandungan lignin di bahan baku sehingga kandungan lignin yang ada harus dihilangkan terlebih dahulu sebelum digunakan untuk menjadi bahan baku pada proses pembuatan bioetanol. Hal ini menyebabkan waktu produksi menjadi lebih lama [14].

Bioetanol generasi ketiga dialihkan dengan menggunakan mikroalga. Kandungan lipid tinggi yang terdapat dalam mikroalga akan berpotensi sebagai sumber energi bahan bakar nabati [15]. Mikroalga mempunyai kandungan lipid dan karbohidrat yang tinggi, dapat dengan mudah tumbuh di lingkungan yang berbeda, dan memiliki kemampuan untuk dapat mengabsorpsi karbon dioksida. Sifat kosmik dari mikroalga *Chlorella sp.* membuatnya dapat hidup diberbagai kondisi [16]. Maka dari itu, penelitian yang dilakukan yaitu pembuatan bioetanol dengan menggunakan Mikroalga spesies *Chlorella sp.* Karakteristik dari bioetanol yang dihasilkan akan dimanfaatkan sebagai bahan bakar dengan kadar emisi rendah dibandingkan dengan bahan bakar fosil [17]. Karena adanya kandungan karbohidrat dan kemampuan tumbuh yang cepat pada mikroalga *Chlorella sp.*, maka penelitian ini akan dilakukan proses produksi bioetanol dengan menggunakan mikroalga *Chlorella sp.* melalui proses hidrolisis enzim dan fermentasi. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh konsentrasi ragi dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan.

## 2. Metode Penelitian

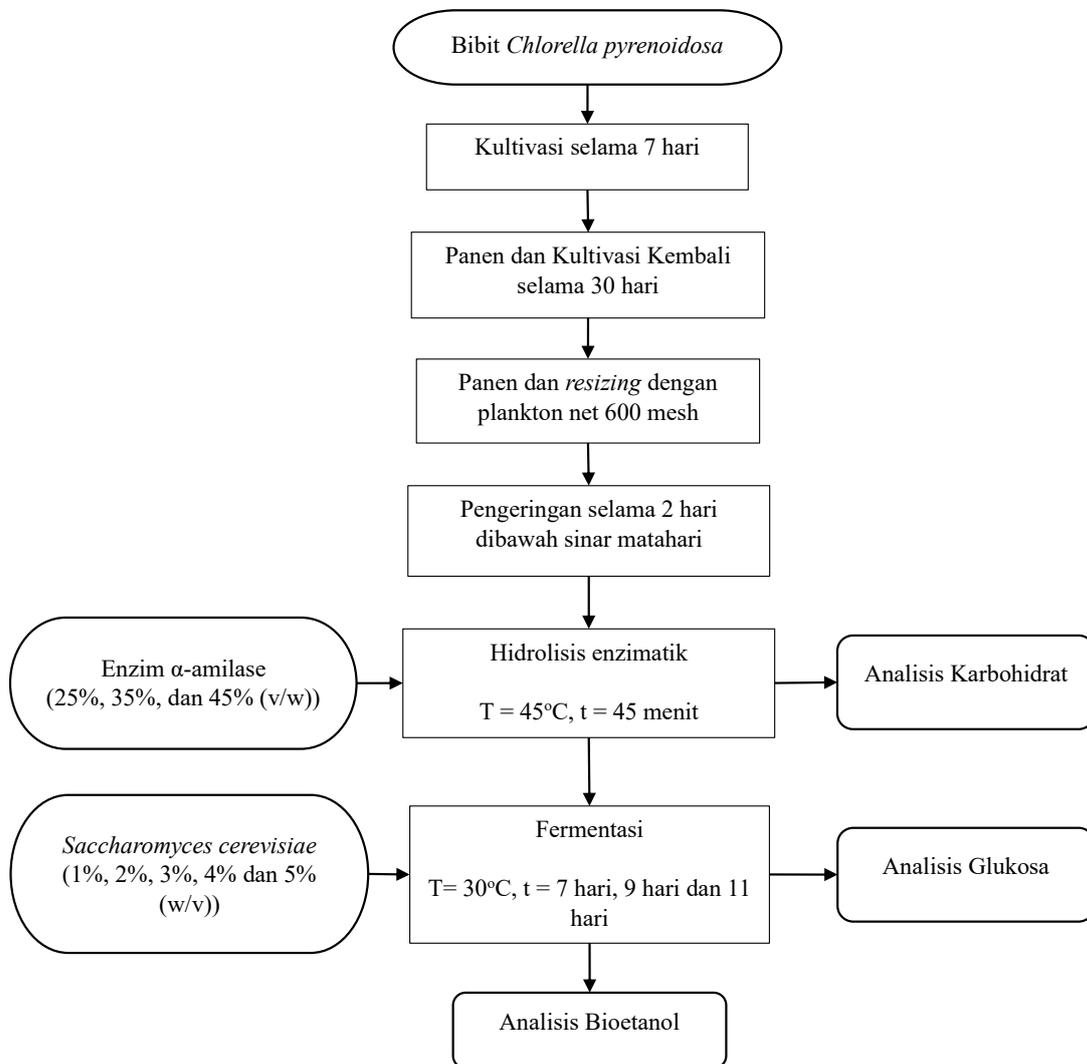
### Bahan dan Alat yang Digunakan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Jurusan Teknik Kimia, Universitas Sriwijaya. Bahan baku utama pada penelitian ini adalah bibit *Chlorella pyrenoidosa* yang berasal dari Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Bahan kimia lain yang digunakan adalah *aquadest*, fenol 5%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98%, amilum, iodium, HCl 1N, NaOH, enzim  $\alpha$ -amilase, *Saccharomyces cerevisiae*, 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) dan potasium sodium tartrate (KNaC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>·4H<sub>2</sub>O) yang digunakan untuk analisa glukosa. Semua bahan kimia didapatkan dari Toko Alat Kimia di Palembang. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: gelas ukur merk pyrex, beker gelas merk pyrex dan Erlenmeyer merk pyrex dengan ukuran 250 mL dan 500 mL, aerator dengan *air flow* 4,5 L/menit dan tekanan 0,012 MPa, *plankton net* 600 mesh, Labu Ukur merk pyrex dengan ukuran 500 mL, neraca analitik, *hot plate*, piknometer merk pyrex ukuran 25 mL, Spektrofotometer Genesys 20 dan refraktometer alkohol merk *Icon Arrow Right*.

**Kultivasi *Chlorella pyrenoidosa***

Tahapan penelitian ini dimulai dengan kegiatan kultivasi *Chlorella pyrenoidosa*. Bibit *Chlorella pyrenoidosa* berasal dari Bogor, Jawa Barat. Tahapan kultivasi menggunakan air dengan perbandingan 1:5 terhadap bibit *Chlorella pyrenoidosa*. Bibit *Chlorella pyrenoidosa* dimasukkan kedalam wadah terbuka yang berisi air dan diberi aerator dengan air flow 4,5 L/menit dan tekanan 0,012 MPa. Aerator berfungsi untuk mendistribusikan udara dengan tujuan membuat larutan menjadi homogen. Selanjutnya, pada larutan ditambahkan 2 sdm dedak halus, 1 sdm pupuk urea, 1 sdm molase/air gula, dan 1 sdm EM4 perikanan dan difermentasikan selama 24 jam. Pupuk kultur telah dilarutkan dengan 100 mL air. Pupuk kultur tersebut dibuat untuk kultivasi 20 L *Chlorella pyrenoidosa*. Pupuk kultur yang telah dibuat dilarutkan dan dimasukkan kedalam wadah yang berisi air dan bibit *Chlorella pyrenoidosa* dengan cara disaring menggunakan saringan 120 mesh.

Wadah yang berisi bibit *Chlorella pyrenoidosa* yang akan dikultivasi harus dipastikan mendapatkan pencahayaan matahari yang cukup. Setelah 7 hari *Chlorella pyrenoidosa* yang sangat pekat selanjutnya dapat dikembangkan kembali dengan perbandingan antara *Chlorella pyrenoidosa* dan media air tawar adalah 1:5 L. Selanjutnya *Chlorella pyrenoidosa* dikultivasi selama 1 bulan hingga dapat dipanen. Mikroalga hasil proses kultivasi akhir dipisahkan dari air menggunakan *plankton net* 600 mesh. *Chlorella pyrenoidosa* dikeringkan dibawah sinar matahari selama 2 hari. *Chlorella pyrenoidosa* kering kemudian digerus menggunakan mortar hingga halus.



Gambar 1. Diagram alir proses produksi bioetanol

### Proses Hidrolisis

Sebanyak 20 g sampel mikroalga dicampurkan dengan 100 mL *aquadest*, kemudian ditambahkan 1 mL asam klorida (HCl) 1 N untuk menjaga kondisi larutan pada pH 6. Enzim  $\alpha$ -amilase kemudian ditambahkan kedalam campuran larutan tersebut dengan variasi 25%, 35%, 45% (v/w) dari berat mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* yang digunakan. Larutan selanjutnya dihomogenasi menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 200 rpm. Proses hidrolisis dilakukan selama 45 menit pada suhu 45 °C selama 90 menit. Larutan hasil hidrolisis kemudian dipisahkan menggunakan *centifuge* selama 10 menit dengan kecepatan 9.000 rpm untuk memisahkan partikel padat dan cairan. Kemudian sampel dianalisis untuk mendapatkan kadar glukosa menggunakan metode *dinitrosalicylic acid* (DNS).

### Fermentasi

Larutan hasil proses hidrolisis yang telah dianalisa kadar glukosa dimasukkan kedalam erlenmeyer kemudian ditambahkan larutan asam klorida (HCl) 1 N sebanyak 5 mL hingga didapatkan pH larutan 4,8. Ragi *Saccharomyces cerevisiae* ditambahkan dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% (w/v) dari total volume larutan. Larutan kemudian dibuat homogen dengan bantuan *rotary shaker* pada 220 rpm selama 2 menit. Erlenmeyer yang berisi larutan fermentasi kemudian ditutup rapat menggunakan gabus. Pada bagian tengah gabus diberi selang plastik yang terhubung dengan erlenmeyer tertutup berisi *aquadest*. Proses tersebut dilakukan untuk memastikan tidak ada udara yang masuk ke dalam larutan pada saat proses fermentasi. Proses fermentasi dilakukan pada suhu 30 °C selama 7 hari, 9 hari, dan 11 hari.

### Distilasi

Larutan hasil proses fermentasi kemudian disaring dan dimasukkan kedalam labu didih dan alat distilasi dapat dirangkai untuk dilakukan serangkaian proses distilasi. Labu didih yang berisi larutan fermentasi dipanaskan dengan *hot mantle* hingga suhu 78 °C. Suhu tetap dijaga dengan menggunakan termometer untuk menghindari kandungan air ikut teruapkan. Proses pemanasan dilakukan selama 2 jam hingga diperoleh tetesan terakhir dari kondensasi bioetanol. Hasil distilasi kemudian dianalisis kadar bioetanol yang dihasilkan.

### Analisis Proses

#### Analisis Kadar Karbohidrat *Chlorella sp.*

Analisis kadar karbohidrat yang terkandung dalam *Chlorella pyrenoidosa* dilakukan dengan cara mencampurkan 100 mL *aquadest* dengan 20 mg glukosa. Larutan kemudian dihomogenkan dengan cara diaduk perlahan dan diencerkan hingga konsentrasi 25; 50; 100; 150 dalam 10 mL. Sebanyak 1 mL mikroalga kering dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya 0,5 ml fenol 5% dan 2,5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Larutan dalam tabung reaksi diaduk hingga homogen dan didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar. Setelah itu, larutan diinkubasi pada suhu 40 °C selama 20 menit dan didinginkan selama 2 menit. Langkah terakhir yaitu absorbansi diukur dengan menggunakan *spektrofotometer Genesys 20* pada panjang gelombang 490 nm.

#### Analisis Aktivitas Enzim

Analisis aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan menggunakan metode Iodium dengan disiapkan tabung reaksi yang telah diberi label kontrol dan uji. 1 mL substrat (amilum) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi kemudian diinkubasi selama 5 menit dengan suhu 50 °C. Selanjutnya, *aquadest* sebanyak 0,5 mL ditambahkan ke tabung kontrol dan sebanyak 0,5 mL enzim  $\alpha$ -amilase ditambahkan ke tabung uji. Kemudian dilakukan inkubasi selama 30 menit dengan suhu 50 °C., masing-masing tabung dilakukan inkubasi kembali selama 5 menit dengan suhu 100 °C untuk menghentikan reaksi enzim. Setelah inkubasi selesai dilakukan pendinginan selama 2 menit kemudian tabung ditambahkan iodium sebanyak 1 mL dan *aquadest* 8 mL. Langkah terakhir yaitu absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer Genesys 20 pada panjang gelombang 540 nm. Setiap sampel pengujian aktivitas enzim dibuat pengulangan sebanyak tiga kali dan dihitung menggunakan persamaan 1 berikut:

$$Aktivitas \left( \frac{Unit}{mL} \right) = \frac{A_k - A_s}{A_k} \times fp \times \frac{1}{V_e} \times 10 \quad (1)$$

### Analisis Kadar Glukosa

Metode *dinitrosalicylic acid* (DNS) digunakan untuk menganalisis kadar glukosa pada larutan sampel. Larutan reagen DNS dibuat dengan mencampurkan 1 g DNS yang dilarutkan ke dalam 50 mL *aquadest* dan 1,6 g NaOH yang dilarutkan ke dalam 15 mL *aquadest*. Kemudian campuran larutan ini dipanaskan pada suhu 45 °C. Larutan yang telah dipanaskan selanjutnya ditambahkan *potassium sodium tartrate* (KNaC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>·4H<sub>2</sub>O) sebanyak 30 g serta *aquadest* hingga 100 mL. Untuk membuat larutan glukosa standar 1.000 ppm dibutuhkan 100 mg yang dilarutkan dalam 100 mL *aquadest*. Kemudian diencerkan hingga konsentrasi 200 ppm; 400 ppm; 600 ppm; 800 ppm dalam 10 mL. Sebanyak 0,2 mL sampel glukosa hasil hidrolisis diencerkan hingga 1 mL. Kemudian 1 mL larutan glukosa standar dan sampel hidrolisis ditambahkan 3 mL reagen DNS kemudian dipanaskan hingga 100 °C selama 10 menit. Setelah itu tabung didinginkan menggunakan air es untuk menghentikan reaksi pada larutan. Kadar glukosa masing-masing sampel kemudian diukur dengan menggunakan *spektrofotometer Genesys 20* pada panjang gelombang 540 nm.

### Analisis Bioetanol

Analisis bioetanol dilakukan menggunakan alat refraktometer alkohol untuk mengetahui kadar bioetanol yang terbentuk. Pengukuran kadar bioetanol menggunakan *refraktometer* alkohol dilakukan dengan cara bioetanol yang dihasilkan sebanyak 2 tetes diteteskan pada *prisma*, kemudian kadar bioetanol yang dihasilkan akan terbaca pada bagian skala melalui pengamatan mata dengan melihatnya ditempat yang bercahaya. Angka terukur akan terlihat berdasarkan perbedaan warna, dimana angka terukur atau kadar bioetanol akan berwarna putih pada angka skala *prisma*.

### 3. Hasil

Enzim yang tersedia terlebih dahulu dilakukan analisa untuk mengetahui aktivitas enzim aktif yang akan digunakan pada proses hidrolisis *Chlorella pyrenoidosa*. Analisa enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan dengan menggunakan metode Iodium dengan mengukur absorbansi pada sampel dengan label kontrol dan uji. Pada uji Iodium, enzim amilase mengubah amilum menjadi maltosa, yang kemudian bereaksi dengan larutan iodium dan menghasilkan warna biru atau ungu. Semakin banyak maltosa yang dihasilkan, semakin intens warna yang dihasilkan [18]. Nilai absorbansi larutan digunakan untuk menghitung aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase menggunakan persamaan (1). Data hasil absorbansi larutan kontrol dan uji diambil dari rerata dari uji pengulangan sebanyak tiga kali. Kemudian akan didapatkan hasil nilai aktivitas enzim yang disajikan pada Tabel 1. berikut.

Tabel 1. Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dengan metode Iodium dan absorbansi larutan kontrol dan uji

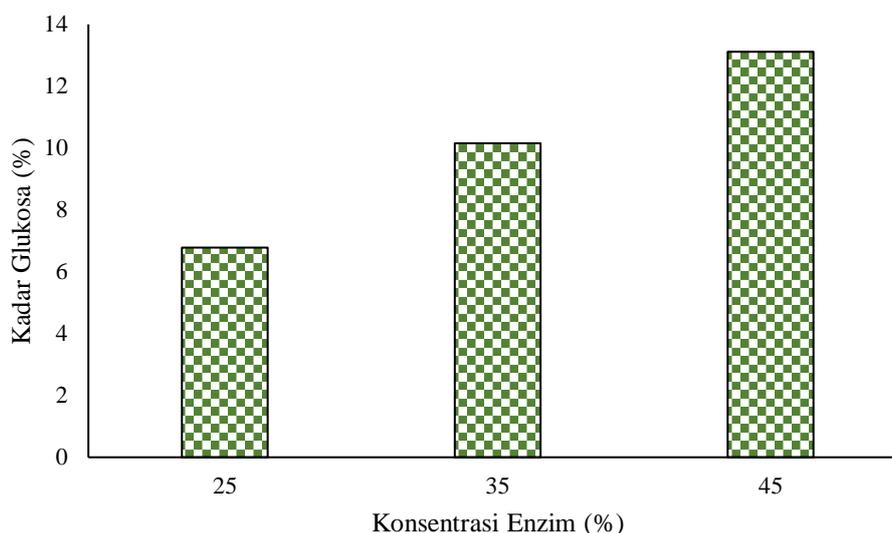
Pengulangan	Aktivitas Enzim (U/mL)	Absorbansi Larutan	
		Kontrol	Uji
1	151,433	0,649	0,181
2	152,697	0,623	0,170
3	158,318	0,642	0,158
Rerata	154,149	0,638	0,169

Tabel 1. menunjukkan bahwa absorbansi larutan uji berada di bawah absorbansi larutan kontrol yang berarti jumlah amilum yang tersisa pada larutan uji makin berkurang. Berkurangnya amilum pada larutan uji dapat ditandai dengan warna biru yang lebih muda pada larutan kontrol. Setelah dilakukan analisa enzim dengan menggunakan metode iodium lalu dilakukan proses hidrolisis. Proses hidrolisis dengan menggunakan enzim membutuhkan kondisi suhu optimum. Enzim berperan sebagai katalis pada reaksi untuk membuat reaksi semakin cepat dan aktif [19]. Suhu optimum enzim alfa amilase adalah 45 °C. Jika suhu optimum tercapai maka akan terdapat banyak tumbukan antara enzim dan substrat sehingga akan membentuk kompleks enzim-

substrat yang akan meningkatkan nilai aktivitas enzim [20]. Namun, jika suhu yang digunakan melampaui kondisi optimum, maka akan terjadi denaturasi molekul pada enzim.

### Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Proses Hidrolisis

Proses hidrolisis pada penelitian ini dilakukan secara enzimatik dengan menggunakan konsentrasi enzim yang berbeda pada setiap sampel dengan variasi 25%, 35%, 45% (w/v) dari berat mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* yang digunakan. Gambar 2. menunjukkan kadar glukosa tertinggi dihasilkan pada sampel dengan menggunakan 45% enzim  $\alpha$ -amilase. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas kerja enzim sangat baik dan bekerja maksimal. Pada proses ini, asam amino yang terkandung pada enzim mengikat karbohidrat dan membentuk glukosa [21]. Gambar 2. menunjukkan terjadinya peningkatan dari kadar glukosa pada sampel dengan konsentrasi enzim sebesar 25% hingga 45%, sehingga hasil optimum proses hidrolisis *Chlorella pyrenoidosa* didapatkan pada keterlibatan konsentrasi enzim sebesar 45% (v/b) pada suhu 45°C selama 90 menit dengan kecepatan pengadukan 200 rpm yaitu sebesar 13,119%.



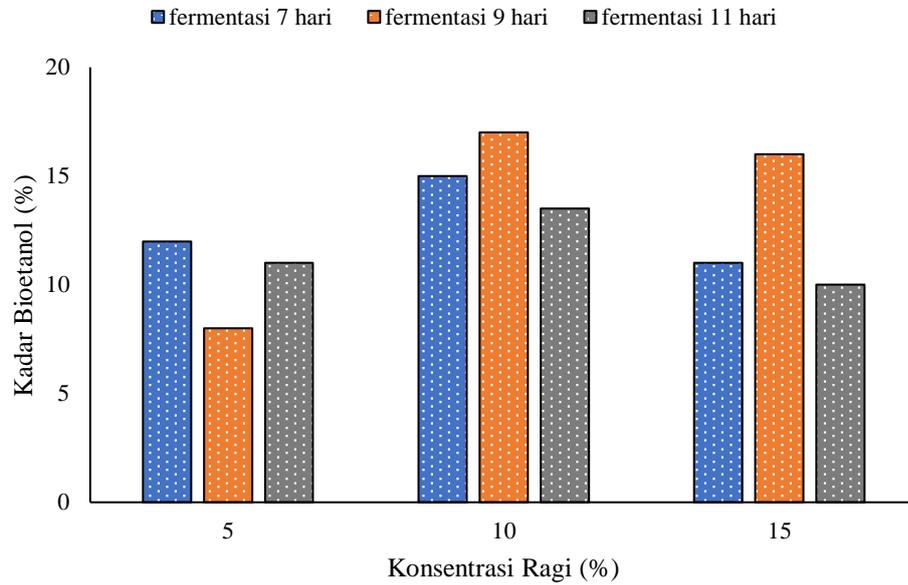
Gambar 2. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap kadar glukosa pada proses hidrolisis

### Pengaruh Konsentrasi Ragi dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol

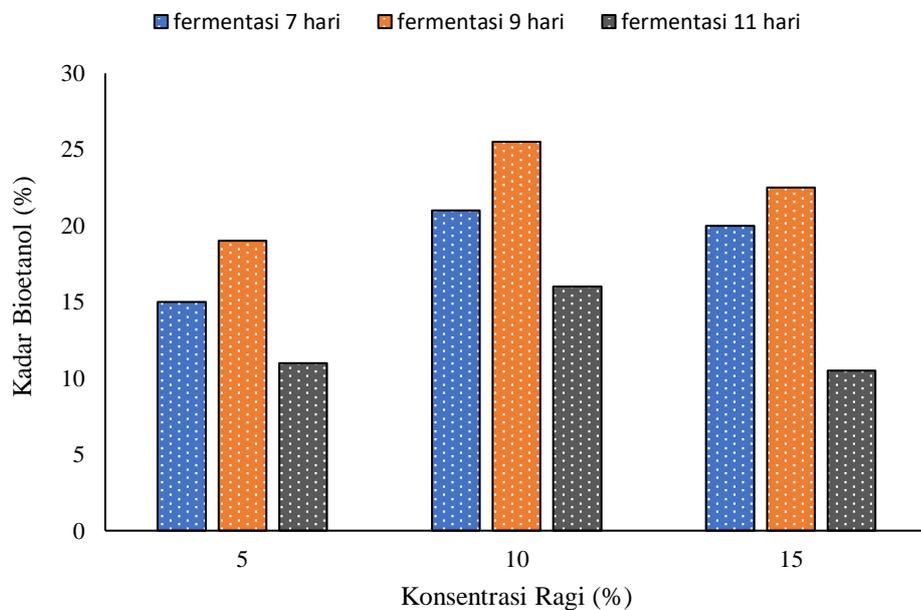
Bioetanol hasil fermentasi sangat dipengaruhi oleh konsentrasi ragi dan lamanya fermentasi berlangsung. Bioetanol diuji dengan menggunakan refraktometer alkohol. Kadar bioetanol untuk setiap variasi enzim ditunjukkan pada Gambar 3 (a), (b) dan (c). Kadar bioetanol yang dihasilkan menggunakan konsentrasi ragi 5% (v/w) sampai 10% terus mengalami peningkatan setiap penambahan konsentrasi ragi. Namun, kadar bioetanol yang dihasilkan mengalami penurunan ketika penggunaan ragi dengan konsentrasi 15%. Hal ini dikarenakan *Saccharomyces cerevisiae* yang tersedia berjumlah lebih besar daripada pupuk, sehingga energi yang dapat digunakan untuk mengonversi gula menjadi alkohol terbatas [22]. Pada penambahan konsentrasi ragi sebanyak 10% telah mencapai kondisi optimal dengan kadar bioetanol yang dihasilkan tertinggi yaitu 27% yang dihasilkan pada hidrolisis menggunakan konsentrasi enzim  $\alpha$ -amilase 45%. Kadar bioetanol yang dihasilkan ini sangat bergantung pada jumlah glukosa pada tahap hidrolisis. Semakin banyak glukosa yang dihasilkan maka konsentrasi produksi bioetanol pada proses fermentasi akan semakin besar. Lama waktu fermentasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap produksi bioetanol. Bertambahnya waktu fermentasi glukosa menyebabkan produk bioetanol terus bertambah hingga kondisi optimumnya. Kondisi optimumnya proses fermentasi yaitu selama 9 hari dengan menghasilkan bioetanol sebesar 27%. Fermentasi yang dilakukan selama 7 hari sampai 9 hari terus menunjukkan kenaikan kadar bioetanol. Namun, ketika fermentasi di hari ke-11 kadar bioetanol mengalami penurunan dikarenakan produktivitas dari mikroba yaitu *Saccharomyces cerevisiae* menurun dan nutrisi yang tersedia semakin menipis. Data ini juga selaras dengan penelitian yang dilakukan Yerizam, dkk [21], yang menunjukkan waktu optimum proses fermentasi glukosa dengan bahan baku *Chlorella pyrenoidosa* dicapai pada hari ke-9.

Proses fermentasi dilakukan menggunakan bantuan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae*, sehingga kondisi dari *Saccharomyces cerevisiae* akan berpengaruh pada proses dan hasil yang diperoleh. Mikroorganisme umumnya mempunyai fase pertumbuhan yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan

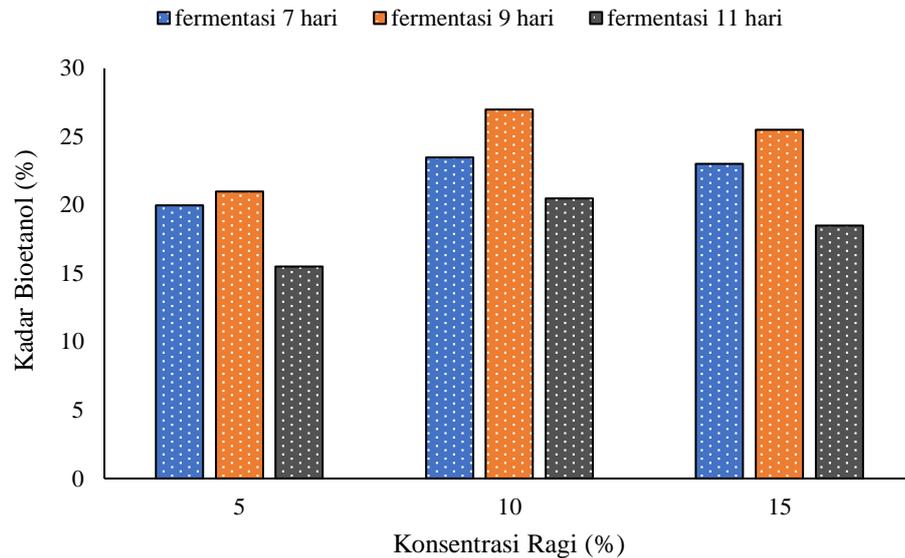
fase kematian. Hal ini dapat berhubungan dengan kadar bioetanol yang dihasilkan ketika fermentasi di hari ke-11 dimana penurunan kadar bioetanol di hari tersebut dapat disebabkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* yang telah memasuki fase kematian karena nutrisi tambahan yang diberikan oleh khamir itu mulai habis selama fermentasi dan hanya mengandalkan kadar glukosa hasil proses hidrolisis. Pada hari ke-9 aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* mengalami fase stationer yang mengakibatkan terjadinya proses pemecahan glukosa secara besar-besaran dimana hasil pemecahan tersebut menghasilkan bioetanol. Pembuatan bioetanol dengan memvariasikan konsentrasi enzim pada proses hidrolisis, konsentrasi ragi, dan lama waktu fermentasi yang digunakan pada penelitian ini memperoleh kadar bioetanol tertinggi yaitu 27 % menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase 45%, konsentrasi ragi 10% (v/b) dan lama fermentasi 9 hari. Penurunan kadar bioetanol dihari ke-11 dapat diakibatkan karena produktivitas dari khamir *Saccharomyces cerevisiae* menurun.



(a)



(b)



(c)

Gambar 3. Pengaruh konsentrasi ragi dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol dengan konsentrasi enzim (a) 25 %, (b) 35% dan (c) 45%.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian diperoleh bahwa semakin besar konsentrasi enzim  $\alpha$ -amilase menyebabkan produksi glukosa bertambah. Kadar glukosa tertinggi dihasilkan dari proses hidrolisis *Chlorella pyrenoidosa* dengan menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase dengan konsentrasi 45% sebanyak 13,119% (v/b). Pengaruh penambahan konsentrasi ragi juga menunjukkan hal yang sama. Konsentrasi ragi yang terus bertambah menghasilkan bioetanol yang terus meningkat hingga mencapai batas optimum yaitu pada penggunaan konsentrasi ragi 10% (v/w). Kadar bioetanol yang dihasilkan sebesar 27%. Selain itu juga, lamanya fermentasi berlangsung sangat berpengaruh pada kadar bioetanol yang dihasilkan. Waktu optimum proses fermentasi untuk menghasilkan bioetanol yaitu 9 hari dengan kadar bioetanol sebesar 27%.

#### 5. Ucapan Terimakasih

Penulis berterima kepada Jurusan Teknik Kimia Universitas Sriwijaya yang telah membantu memfasilitasi penelitian ini.

#### 6. Konflik Kepentingan

Semua penulis tidak memiliki konflik kepentingan (*conflict of interest*) pada publikasi artikel ini.

#### Daftar Pustaka

- [1] P. R. Indonesia, "Peraturan Pemerintah No. 79 Thn 2014 tentang energi alternatif," Indonesia, pp. 1–36, 2014.
- [2] S. O. Gultom, "Mikroalga: sumber energi terbarukan masa depan," *J. Kelaut. Indones. J. Mar. Sci. Technol.*, vol. 11, no. 1, p. 95, 2018, doi: 10.21107/jk.v11i1.3802.
- [3] A. Y. M. Simanjuntak and R. Subagyo, "Analisis hasil fermentasi pembuatan bioetanol dengan variasi waktu menggunakan bahan (singkong, beras ketan hitam dan beras ketan putih)," *Sci. J. Mech. Eng. Kinemat.*, vol. 4, no. 2, pp. 79–90, 2019, doi: 10.20527/sjmekinematika.v4i2.119.
- [4] J. Velazquez-Lucio *et al.*, "Microalgal biomass pretreatment for bioethanol production: A review," *Biofuel Res. J.*, vol. 5, no. 1, pp. 780–791, 2018, doi: 10.18331/BRJ2018.5.1.5.
- [5] D. P. Yuniarti, S. Hatina, and W. Efrinalia, "Pengaruh Jumlah ragi dan waktu fermentasi pada pembuatan bioetanol dengan bahan baku ampas tebu," *J. Redoks*, vol. 3, no. 2, pp. 1–12, 2018, doi: 10.31851/redoks.v3i2.2391.
- [6] K. Rueangsan, S. Trisupakitti, W. Senajuk, and J. Morris, "Fast Pyrolysis of dipterocarpus alatus roxb and rubber wood in a free-fall reactor," *Energy Sources, Part A Recover. Util. Environ. Eff.*, vol. 44, no.

- 1, pp. 2489–2496, 2022, doi: 10.1080/15567036.2019.1649760.
- [7] M. Melikoglu and B. Turkmen, “Food waste to energy: Forecasting Turkey’s bioethanol generation potential from wasted crops and cereals till 2030,” *Sustain. Energy Technol. Assessments*, vol. 36, no. October, p. 100553, 2019, doi: 10.1016/j.seta.2019.100553.
- [8] K. Tolulope Eunice, “Enzymatic and dilute acid hydrolyses of maize stalk substrate in bio-ethanol production,” *J. Energy, Environ. Chem. Eng.*, vol. 6, no. 1, pp. 24–30, 2021, doi: 10.11648/j.jeece.20210601.14.
- [9] C. E. de Farias Silva and A. Bertucco, “Bioethanol from microalgal biomass: A promising approach in biorefinery,” *Brazilian Arch. Biol. Technol.*, vol. 62, pp. 1–14, 2019, doi: 10.1590/1678-4324-2019160816.
- [10] J. Damaurai, T. Preechakun, M. Raita, V. Champreda, and N. Laosiripojana, “Investigation of alkaline hydrogen peroxide in aqueous organic solvent to enhance enzymatic hydrolysis of rice straw,” *Bioenergi Res.*, 2020, doi: <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10152-5>.
- [11] M. Yerizam *et al.*, “Bioethanol production from coconut husk using DES-NADES pretreatment and enzymatic hydrolysis method,” *Comptes Rendus Chim.*, vol. 15, pp. 1060–1064, 2023, [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.crci.2012.09.005>.
- [12] S. Polprasert, O. Choopakar, and P. Elefsiniotis, “Bioethanol production from pretreated palm empty fruit bunch (PEFB) using sequential enzymatic hydrolysis and yeast fermentation,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 149, no. April, pp. 1–9, 2021, doi: 10.1016/j.biombioe.2021.106088.
- [13] P. Selvakumar *et al.*, “Optimization of binary acids pretreatment of corncob biomass for enhanced recovery of cellulose to produce bioethanol,” *Fuel*, vol. 321, no. April, p. 124060, 2022, doi: 10.1016/j.fuel.2022.124060.
- [14] M. Takano and K. Hoshino, “Bioethanol production from rice straw by simultaneous saccharification and fermentation with statistical optimized cellulase cocktail and fermenting fungus,” *Bioresour. Bioprocess.*, vol. 5, no. 1, 2018, doi: 10.1186/s40643-018-0203-y.
- [15] E. A. Beltagy, A. Abouelwafa, and K. M. Barakat, “Bioethanol production from immobilized amylase produced by marine *Aspergillus flavus* AUMC10636,” *Egypt. J. Aquat. Res.*, no. xxxx, 2022, doi: 10.1016/j.ejar.2022.02.003.
- [16] M. J. Nuhma, H. Alias, A. A. Jazie, and M. Tahir, “Role of microalgae as a source for biofuel production in the future: A short review,” *Bull. Chem. React. Eng. Catal.*, vol. 16, no. 2, pp. 396–412, 2021, doi: 10.9767/bcrec.16.2.10503.396-412.
- [17] L. Arlianti, “Bioetanol sebagai sumber green energy alternatif yang potensial di Indonesia,” *Unistek*, vol. 5, no. 1, pp. 16–22, 2018, doi: 10.33592/unistek.v5i1.280.
- [18] B. Cochran, D. Lunday, and F. Miskevich, “Kinetic analysis of amylase using quantitative Benedict’s and iodine starch reagents,” *J. Chem. Educ.*, vol. 85, no. 3, pp. 401–403, 2008, doi: 10.1021/ed085p401.
- [19] N. A. Arifiyanti, D. N. Aqliyah, and M. Billah, “Bioetanol dari biji nangka dengan proses likuifikasi dan fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*,” *ChemPro*, vol. 1, no. 1, pp. 51–55, 2020, doi: 10.33005/chempro.v1i01.47.
- [20] D. Istia’nah, U. Utami, and A. Barizi, “Karakterisasi Enzim amilase dari bakteri *Bacillus megaterium* pada variasi suhu, pH dan konsentrasi Substrat,” *J. Ris. Biol. dan Apl.*, vol. 2, no. 1, p. 11, 2020, doi: 10.26740/jrba.v2n1.p11-17.
- [21] M. Yerizam, A. M. Jannah, and N. Aprianti, “Bioethanol production from chlorella pyrenoidosa by using enzymatic hydrolysis and fermentation method,” *J. Ecol. Eng.*, vol. 24, no. 1, pp. 34–40, 2023, doi: 10.12911/22998993/156000.
- [22] I. Febriana, Zurohiana, A. Zikri, and S. Hatina, “Effect of bread yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) concentration and fermentation time in the manufacture of bioethanol using banana peel,” *Distilasi*, vol. 3, no. 1, pp. 1–7, 2018.