



### Kajian Pengaruh Ragi *Candida tropicalis* terhadap Potensi Produksi Bioetanol Mikroalga *Schizochytrium*

Rinete Visca

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Jayabaya  
 Email : viscairsyad96@gmail.com

#### Info Artikel :

Diterima : DDMMYY

Disetujui : DDMMYY

Dipublikasikan : DDMMYY

#### ABSTRAK

Mikroalga dapat menyediakan energi terbarukan, termasuk metana, bioetanol, biodiesel dan biohidrogen. Salah satu mikroalga *Schizochytrium* memiliki toleransi yang tinggi terhadap perubahan salinitas, suhu dan cahaya, sehingga budidayanya relatif mudah dibandingkan dengan spesies sensitif lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk membuat bioetanol dari mikroalga *Schizochytrium* dengan variasi massa ragi *Candida tropicalis* yang ditambahkan dan waktu fermentasi. Mikroalga *Schizochytrium* dihidrolisis dengan asam sulfat 1% (v/v) pada suhu 120 °C selama 15 menit (rasio 1:100). Hasil hidrolisis disaring dengan filter fiberglass untuk menghilangkan residu padat, lalu ditambahkan suspensi ragi *Candida tropicalis*. Variabel yang digunakan adalah perubahan massa ragi 3%; 6%; pH fermentasi 4,5 dan waktu fermentasi 0; 24; 48; 72; dan 96 jam. Hasil analisa menunjukkan kandungan mineral terbesar mikroalga *Schizochytrium* merupakan Na 11,23% sedangkan yang terendah adalah Cu 0,02%. Kandungan pati 28,34% menunjukkan mikroalga *Schizochytrium* berpotensi diubah menjadi glukosa kemudian difermentasi oleh *Candida tropicalis* menjadi bioetanol. Kadar bioetanol paling tinggi dihasilkan pada waktu dua hari (48 jam) sebesar 32% dengan massa ragi *Candida tropicalis* 6%

**Kata Kunci :**  
 bioetanol,  
*Candida tropicalis*,  
 fermentasi,  
*Schizochytrium*

#### ABSTRACT

Microalgae may provide renewable energy, including methane, bioethanol, biodiesel and biohydrogen. *Schizochytrium* microalgae has a high tolerance to changes in salinity, temperature and light, hence cultivation is relatively easy compared to other sensitive species. This study aims to make bioethanol from *Schizochytrium* microalgae with variations in the mass of *Candida tropicalis* yeast added and fermentation time. *Schizochytrium* microalgae were hydrolyzed with 1% (v/v) sulfuric acid at 120 °C for 15 minutes (1:100 ratio). The results of the hydrolysis were filtered with a fiberglass filter to remove solid residue, then a suspension of *Candida tropicalis* yeast was added. The variables used were 3% yeast mass change; 6%; Fermentation pH 4.5 and fermentation time 0; 24; 48; 72; and 96 hours. The results of the analysis showed that the largest mineral content of *Schizochytrium* microalgae was 11.23% Na while the lowest was 0.02% Cu. The starch content of 28.34% indicates that *Schizochytrium* microalgae has the potential to be converted into glucose and then fermented by *Candida tropicalis* into bioethanol. The

**Keywords :**  
 bioethanol,  
*Candida tropicalis*,  
 fermentation,  
*Schizochytrium*

*highest bioethanol content was produced within two days (48 hours) of 32% with a mass of 6% Candida tropicalis yeast*

---

## PENDAHULUAN

Mikroalga adalah organisme fotosintetik dengan kemampuan mengubah energi matahari menjadi molekul makro untuk penyimpanan energi, seperti karbohidrat, protein dan lipid. Salah satu pemanfaatan mikroalga adalah untuk produksi metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai antibiotik, algacides, racun, senyawa aktif farmasi, dan juga untuk ekstraksi makromolekul seperti lipid, protein dan nukleat asam [1]. Di sisi lain, komponen biomassa juga dapat digunakan dalam produksi biofuel seperti biodiesel, bioetanol dan biogas, antara lain *Schizochytrium* memiliki toleransi yang tinggi terhadap perubahan salinitas, suhu dan cahaya, sehingga budidayanya relatif mudah dibandingkan dengan spesies sensitif lainnya [2]. Begitu spesies ini meningkatkan adaptasinya, laju pertumbuhannya sangat tinggi sehingga meningkatkan hasilnya.

Saat ini komponen utama bioetanol generasi ketiga adalah mikroalga, dianggap sebagai sumber energi alternatif terbarukan yang layak untuk produksi bioetanol mengatasi kekurangan bioetanol generasi pertama dan kedua [3]. Mikroalga dapat menyediakan energi terbarukan, termasuk metana, bioetanol, biodiesel dan bio-hidrogen [4]. Ada banyak keuntungan untuk memproduksi biofuel dari alga karena mikroalga dapat menghasilkan 15 hingga 300 kali lebih banyak biodiesel daripada tanaman tradisional [5]. Siklus panen mikroalga sangat pendek dan laju pertumbuhannya sangat tinggi. Apalagi tinggi lahan pertanian tidak diperlukan untuk produksi biomassa mikroalga. Memproduksi biomassa mikroalga umumnya lebih mahal secara teknologi daripada menanam tanaman perkebunan.

Pertumbuhan fotosintesis mikroalga membutuhkan cahaya, CO<sub>2</sub>, air dan garam anorganik. Suhu perlu dikontrol secara ketat. Untuk sebagian besar pertumbuhan mikroalga, suhu 20°C- 30°C. Produksi biotanol harus bergantung pada sinar matahari yang tersedia secara bebas. Mikroalga tumbuh di berbagai lingkungan perairan, seperti air tawar dan laut, air limbah kota, air limbah industri dan air limbah hewan asalkan terdapat karbon dalam jumlah yang cukup, N (urea, amonium atau nitrat), dan P serta elemen lainnya [6]. Air laut dilengkapi dengan pupuk nitrat dan fosfat komersial dan beberapa mikronutrien lainnya yang biasa digunakan untuk menumbuhkan mikroalga laut [7]. Air limbah memiliki keunikan dalam profil kimia dan sifat fisiknya seperti: dibandingkan dengan air tawar dan laut. Penelitian terbaru menunjukkan potensi besar produksi massal alga, biomassa untuk biofuel dan aplikasi lain yang menggunakan air limbah. Namun, budidaya alga berbasis air limbah masih menghadapi banyak ketidakpastian dan tantangan termasuk variasi komposisi air limbah karena sumber, infrastruktur, kondisi cuaca, dan metode pra-perawatan, rasio nutrisi yang tidak tepat (misalnya, C/N dan N/P), kekeruhan yang tinggi karena adanya pigmen dan partikel padat tersuspensi yang mempengaruhi transmisi cahaya, dan adanya mikroflora yang bersaing dan senyawa toksik, serta akumulasi senyawa penghambat pertumbuhan yang memburuk jika air didaur ulang dan digunakan kembali [8].

## KAJIAN PUSTAKA

Ada berbagai cara mikroalga dapat dibudidayakan. Namun, dua sistem budidaya yang banyak digunakan adalah a) kultur tersuspensi, termasuk kolam terbuka dan reaktor tertutup, dan b) kultur amobil, termasuk sistem imobilisasi matriks dan biofilm. Sistem produksi skala besar yang paling umum dalam praktiknya adalah kolam alga tingkat tinggi. Fotobioreaktor berbentuk tabung adalah satu-satunya jenis sistem tertutup yang digunakan pada produksi ganggang skala besar [9]. Sistem fotoreaktor dapat diklasifikasikan sebagai: a) fotoreaktor vertikal, b) fotoreaktor datar atau horizontal, dan c) fotoreaktor heliks. Fotoreaktor heliks dianggap paling mudah untuk meningkatkan produksi. Fotobioreaktor berbentuk tabung dapat memberikan kontrol pH dan suhu yang lebih baik, perlindungan yang lebih baik terhadap kultur kontaminasi, pencampuran yang lebih baik, kehilangan penguapan yang lebih sedikit dan kepadatan sel yang lebih tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk membuat bioetanol dari mikroalga *Schizochytrium* dengan variasi massa ragi *Candida tropicalis* yang ditambahkan dan waktu fermentasi. Beberapa penelitian yang berkaitan dengan bioetanol mikroalga antara lain Kolo [10] menyatakan bahwa kadar gula meningkat seiring meningkatnya suhu hidrolisis pada suhu 75 °C ke 150 °C (2,3 – 23,7 g/L) dan mengalami penurunan kadar pada suhu 175 °C menjadi 17,1 g/L. Kadar gula pereduksi optimum sebesar 33,4 g/L pada suhu 150 °C dengan konsentrasi asam 2 % pada waktu hidrolisis 50 menit

## METODE PENELITIAN

### ***Budidaya biomassa***

Semua bahan direndam dalam HCl 1M selama 24 jam, dibilas dengan air suling, dan terakhir diautoklaf. Air laut disaring melalui saringan karbon aktif dan membran nilon. Salinitas air diukur secara tidak langsung dan disesuaikan dengan air suling hingga 33 g/L, lalu ukur total padatan terlarut menggunakan refraktometer. Larutan nutrisi untuk media f/2 disiapkan untuk 10 L kultur. Sebanyak dua liter kultur mikroalga *Schizochytrium* digunakan sebagai inokulum. Budidaya kultur dipertahankan dalam kondisi yang terkendali; suhu 23 - 24 °C dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap dan terhubung ke sistem aerasi dengan filter karbon aktif dan silika [11].

### ***Analisis komposisi***

Sebanyak 0,1 g sampel ditambahkan 1,5 g campuran katalis (5% CuSO<sub>4</sub> dan 95% K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) dan 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [12]. Selanjutnya direbus dalam mikro digester kjeldahl kemudian disuling dan dicampur dengan NaOH 40%. Destilat dititrasi dengan HCl 0,1 N dan kandungan protein dihitung menggunakan faktor nitrogen protein 6,25. Abu ditentukan dengan metode gravimetri. Sampel dikalsinasi ke dalam muffle pada suhu 200°C selama 3 jam, kemudian didinginkan ke dalam desikator. Penentuan masing-masing mineral dilakukan dengan spektrofotometri. Mineral Ca, Mg, Fe dan Zn ditentukan dengan lampu pada panjang gelombang tertentu, sedangkan Cu dan K diukur dengan nyala api.

### ***Produksi bioetanol***

Mikroalga *Schizochytrium* dihidrolisis dengan asam sulfat 1% (v/v) pada suhu 120 °C selama 15 menit (rasio 1:100). Hasil hidrolisis disaring dengan filter fiberglass untuk menghilangkan residu padat. Produk sakarifikasi dinetralkan dengan NaOH 2 M kemudian diautoklaf pada suhu 120 °C selama 15 menit [13]. Pengkondisian ragi *Candida tropicalis* dibuat dengan suspensi 10% (b/v) Sebanyak 900 ml air suling

dilarutkan 12 g tripton, 24 g ekstrak ragi dan 12 ml gliserol, sedangkan dalam 100 ml air suling, 9,4 g dan 2,2 g kalium fosfat. Untuk menyiapkan inokulum untuk fermentasi, 200 ml media Terrific Broth (TB) dipindahkan ke labu dan 6 ml suspensi ragi *Candida tropicalis* ditambahkan dan diinkubasi selama 24 jam (200 rpm, 30°C). Waktu inkubasi 24 jam.

Berat kering dan berat basah ditimbang dengan metode gravimetri. Berat basah mikroalga ditentukan setelah mikroalga tumbuh mencapai kepadatan 106 mg/l. Mikroalga disentrifugasi dengan kecepatan 150 rpm. kemudian diendapkan selama 15 menit. Endapan yang terjadi ditimbang sebagai berat basah mikroalga. Biomassa kering *Schizochytrium* diperoleh setelah *Schizochytrium* yang disentrifugasi dan diendapkan tersebut dikeringkan menggunakan oven.

Hidrolisis dilakukan dengan meneteskan asam kuat HCl dengan konsentrasi 1 Molar pada sampel mikroalga yang telah dikeringkan. Kandungan pati ditentukan sebagai berikut : sampel yang telah dihidrolisis dipipet sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL reagen Nelson. Sampel dipanaskan dalam air mendidih selama 20 menit, dinginkan sampai mencapai suhu ruangan, kemudian ditambahkan 1 mL fosfomolibdat, ditambahkan 7 mL aquadest dan diukur absorbannya pada panjang gelombang 540 nm. Variabel yang digunakan adalah perubahan massa ragi 3%; 6%; pH fermentasi 4,5 dan waktu fermentasi 0; 24; 48; 72; dan 96 jam.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis proksimal *Schizochytrium*

Berdasarkan data pada table 1, kandungan mineral terbesar merupakan Na 11,23%. Yang terendah adalah Cu 0,02%. Pada tabel 2, kandungan lemak sebesar 12.85%, oleh karena itu dianggap rendah sebagai produk biodiesel yang layak. Kandungan lemak yang tinggi sebagai biofuel harus berkisar antara 20-50%; ada pula kisaran yang lebih luas hingga 20-70% [9]. Namun kandungan lipid dalam biomassa mikroalga dapat dimodifikasi dengan mengubah kondisi kultur *Schizochytrium*, seperti suhu, salinitas dan sumber nitrogen. Dari kandungan karbohidrat total biomassa *Schizochytrium* (35,6%), Kandungan glukosa yang terdapat pada biomassa disebabkan oleh pati yang terbentuk dalam kloroplas sel, karena polisakarida ini tersusun dari rantai 1,4-glukosa disusun ulang dalam struktur linier (amilosa) atau bercabang (amilopektin). Untuk pelepasan gula yang dapat difermentasi, diperlukan untuk melakukan hidrolisis biomassa atau yang dikenal sebagai proses fermentasi. Laporan sebelumnya dari 37% kandungan karbohidrat dalam biomassa *Schizochytrium* berpotensi dalam produksi bioetanol [2].

**Tabel 1.** Komposisi Mineral dalam Kultur Mikroalga

Mineral	mg dari mineral/g Biomass
Mangan (Mn)	0.04
Zinc (Z)	0.13
Copper (Cu)	0.02
Natrium (Na)	11.23
Kalium (K)	4.35
Kalsium (Ca)	2.23
Magnesium (Mg)	2.45
Ferrum (Fe)	1.42

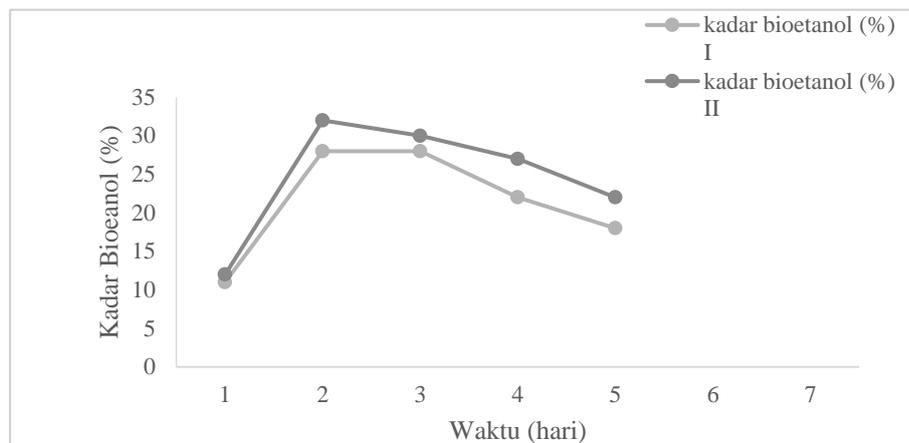
Karakterisasi proksimal *Schizochytrium* menunjukkan bahwa protein memiliki proporsi tertinggi dengan nilai 38,62% db (Tabel 2); nilai ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan dari 32 hingga 53% kandungan protein. Kadar abu adalah 7,25%, menunjukkan keberhasilan budidaya kultur. Kandungan pati 28,34% menunjukkan mikroalga *Schizochytrium* berpotensi diubah menjadi glukosa kemudian difermentasi oleh *Candida tropicalis* menjadi bioetanol.

**Tabel 2.** Komposisi proksimal (basis kering) kultur Mikroalga

Komponen	Kandungan (% biomass)
Pati	28,34
Serat	9,42
Abu	7,25
Lemak	12,85
Protein	38,62

### Pengaruh Massa Ragi *Candida tropicalis* Dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol

Pada gambar 3 menunjukkan kadar bioetanol paling tinggi dihasilkan dalam waktu dua hari (48 jam) sebesar 32% dengan massa ragi *Candida tropicalis* 6% [1]. Dari grafik dapat diketahui semakin lama waktu fermentasi maka kadar bioetanol akan meningkat hingga batas waktu tertentu dan selanjutnya menurun. Hal ini berlaku juga untuk massa ragi *Candida tropicalis* 3%. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa waktu optimal untuk fermentasi alkohol selama 2 hari (48 jam).



**Grafik 1.** Pengaruh Massa Ragi *Candida tropicalis* Dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioe

### KESIMPULAN

Hasil analisa menunjukkan kandungan mineral terbesar mikroalga *Schizochytrium* merupakan Na 11,23% sedangkan yang terendah adalah Cu 0,02%. Kandungan pati 28,34% menunjukkan mikroalga *Schizochytrium* berpotensi diubah menjadi glukosa kemudian difermentasi oleh *Candida tropicalis* menjadi bioetanol. Kadar bioetanol paling tinggi dihasilkan pada waktu dua hari (48 jam) sebesar 32% dengan massa ragi *Candida tropicalis* 6%.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] S. Tripathi. (2018). Optimization of Fermentation Conditions for Ethanol Production from Renewable Biomass Using Response Surface Methodology. *Journal of Petroleum and Environmental Biotechnology*, vol. 9, no.379, pp. 1-9.
- [2] A. Rinanti dan R. Purwadi. (2018). Pemanfaatan Mikroalga Blooming dalam Produksi Bioetanol Tanpa Proses Hidrolisis. Prosiding Seminar Nasional Kota Berkelanjutan 2018, pp. 281-292.
- [3] N. Biolita dan Harmadi. (2017). Perancangan Fotobioreaktor Mikroalga *Chlorella vulgaris* untuk Mengoptimalkan Konsentrasi Oksigen (O<sub>2</sub>). *Jurnal Fisika Unand*, vol. 6, no. 3, pp. 1-7.
- [4] A. Shidiq, R. Akbar, R. Wardani dan Haryono. (2015). Optimalisasi Pembuatan Bioetanol dari Limbah Minuman Rumah Tangga Sebagai Alternatif Bahan Bakar Renewable. Seminar Nasional Pendidikan Sains (SNPS) 2015. Prosiding, pp. 555-560.
- [5] T. Johnson, S. Katuwal, G. Anderson, G. Liping, R. Zhou and W. Gibbons. (2018). Photobioreactor Cultivation Strategies for Microalgae and Cyanobacteria. *Biotechnology Progress Journal*, vol. 1, no. 2, pp. 231-237.
- [6] S. Gultom. (2018). Mikroalga: Sumber Energi Terbarukan Masa Depan. *Jurnal Kelautan*, vol. 11, no. 1, pp. 16-23.
- [7] K. Wunna, K. Nakasaki, J. Auresenia, L. Abella and P. Gaspillo. (2021). Enhancement of Delignification and Glucan Content of Sugarcane Bagasse by Alkali Pretreatment for Bioetanol Production. *ASEAN journal of Chemical Engineering*, vol. 21, no. 2, pp.133-142.
- [8] N. Bojórquez, R. Rocha, M. Angulo, Escalante and J. Barajas. (2016). Production of Bioetanol from Biomass of Microalgae *Dunaliella tertiolecta*, *International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR)*, vol. 2, no. 2, pp.110-117.
- [9] Hadiyanto dan N. Aditya. *Biorefinery Microalgae*. Buku. EF Press Digimedia. Semarang, pp.1-87.
- [10] S. Kolo, J. Presson dan P. Amfotis. (2021). Produksi Bioetanol sebagai Energi Terbarukan dari Rumput Laut *Ulva reticulata* Asal Pulau Timor. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, vol. 17, no. 2, pp. 159-167.
- [11] F. Alam, S. Mobin and H. Chowdhury. (2015). Third generation biofuel from Algae. 6th BSME International Conference on Thermal Engineering (ICTE 2014). *Procedia Engineering*, vol. 105, pp. 763 – 768.
- [12] M. K Egbo, A. O Okoani, I. E Okoh. (2018). Photobioreactors for Microalgae Cultivation – An Overview. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, vol. 9, no. 11, pp. 65-72.
- [13] S. Ho, S. Huang, C. Chen, T. Hasunuma, A. Kondo and J. Chang. (2013). Bioetanol Production Using Carbohydrate-Rich Microalgae Biomass as Feedstock, *Bioresource Technology Journal*, vol. 135, no.3, pp. 191-198.