

Identifikasi Gugus Gula Pereduksi Mikroalga *Arthrospira platensis* Hasil Hidrolisis dengan Bantuan Gelombang Mikro

Identification of Reducing Sugars in the Microalga Arthrospira platensis from Microwave-assisted Hydrolysis

^{1*}Sholeh Ma'mun, ²Nur Ariffa Rochmaningsih, ³Riqqah Nabila

¹Program Studi Teknik Kimia, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang km. 14,5 Yogyakarta 55584

²Program Studi Teknik Kimia, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang km. 14,5 Yogyakarta 55584

³Program Studi Teknik Kimia, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang km. 14,5 Yogyakarta 55584

e-mail: sholeh.mamun@uui.ac.id

Receive: February 1 2024

Accepted: Februari 26 2024

Abstract

The depletion of fossil fuel sources and increasing carbon dioxide (CO₂) emissions have encouraged research activities to find renewable energy sources. Bioethanol is an environmentally friendly energy source and has promising prospects for reducing dependence on gasoline. Bioethanol is produced from the fermentation process of monosaccharides. The first and second-generation bioethanol comes from food crops, agricultural waste, and plantation waste, while the third generation is produced from microalgae. *Arthrospira platensis* is a type of microalgae with a high carbohydrate content. This research aims to determine the content of reducing sugar groups which are monosaccharides resulting from hydrolysis with microwaves. A total of 10 g of microalgae powder was added to 100 mL of 0.3 M H₂SO₄ solution. The hydrolysis process was carried out in a microwave reactor at a temperature of 100 °C for 90 minutes. The hydrolyzate obtained was then fermented with *Saccharomyces cerevisiae* anaerobically in a shaking water bath. The HPLC test was carried out to identify reducing sugar groups in the hydrolyzate, while the GC test was carried out to determine the concentration of bioethanol produced from the fermentation process. Meanwhile, the solid content of biochar remaining from hydrolysis was analyzed using FTIR. From the results of the HPLC test, the glucose concentration before fermentation was 11.963 g/L and after fermentation, it was 0.546 g/L or 95% of the glucose was converted to ethanol. Furthermore, the distillation results from the fermented hydrolyzate were tested using GC, and an ethanol content of 0.39% was obtained.

Keywords: *Arthrospira platensis*, bioethanol, hydrolysate, microalgae, microwave

Abstrak

Menipisnya sumber bahan bakar fosil dan meningkatnya emisi karbon dioksida (CO₂) telah mendorong kegiatan penelitian untuk menemukan sumber-sumber energi terbarukan. Bioetanol merupakan sumber energi yang ramah lingkungan dan memiliki prospek yang menjanjikan untuk mengurangi ketergantungan pada gasolin. Bioetanol dihasilkan dari proses fermentasi monosakarida. Bioetanol generasi pertama dan kedua berasal dari tanaman pangan, limbah pertanian, dan limbah perkebunan, sedangkan generasi ketiga dihasilkan dari mikroalga. *Arthrospira platensis* merupakan salah satu jenis mikroalga dengan kandungan karbohidrat yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan gugus gula pereduksi yang merupakan monosakarida hasil hidrolisis dengan bantuan gelombang mikro. Sebanyak 10 g serbuk mikroalga ditambahkan ke dalam 100 mL larutan 0,3 M H₂SO₄. Proses hidrolisis dijalankan dalam sebuah reaktor *microwave* pada suhu 100 °C selama 90 menit. Selanjutnya hidrolisat yang diperoleh difermentasi dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae* secara anaerob di dalam *shaking water bath*. Uji HPLC dilakukan untuk mengidentifikasi gugus-gugus gula pereduksi dalam hidrolisat, sedangkan uji GC

dilakukan untuk menentukan konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi. Sementara itu, kandungan padatan biochar sisa hidrolisis dianalisis menggunakan FTIR. Dari hasil pengujian HPLC diperoleh konsentrasi glukosa sebelum fermentasi sebesar 11,963 g/L dan setelah fermentasi sebesar 0,546 g/L atau sebanyak 95% glukosa terkonversi menjadi etanol. Selanjutnya hasil distilasi dari fermentasi hidrolisat diuji dengan GC dan diperoleh kadar etanol sebesar 0,39%.

Kata Kunci: *Arthrospira platensis*, bioetanol, gelombang mikro, hidrolisat, mikroalga

PENDAHULUAN

Bahan bakar fosil masih menjadi sumber energi utama di Indonesia (Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, 2020). Beberapa dekade yang lalu, Indonesia merupakan salah satu produsen minyak bumi terbesar di dunia, tetapi karena konsumsi lebih besar dari pada produksi, maka saat ini Indonesia telah menjadi negara pengimpor minyak bumi. Data dari Kontan (2020) menunjukkan bahwa pada tahun 2017 produksi minyak bumi Indonesia sebesar 949 ribu barel per hari dan turun menjadi 773 ribu barel per hari pada tahun 2018. Sektor industri dan transportasi merupakan sektor yang menggunakan BBM terbesar, misalnya konsumsi rata-rata BBM oleh PT. Kereta Api Indonesia sebesar 200 juta liter per tahun.

Saat ini penelitian untuk mencari sumber-sumber energi alternatif dan terbarukan dilakukan semakin intensif. Hal ini disebabkan karena semakin menipisnya sumber bahan bakar fosil. Selain itu, komitmen untuk menurunkan emisi karbon dioksida (CO₂) sebagai penyebab terjadinya perubahan iklim telah menjadi *driving force* penelitian-penelitian di bidang Energi Baru dan Terbarukan (EBT). Menurut Dasan et al. (2019) bahwa bahan bakar berbasis biomassa, berdasarkan *Life Cycle Assessment* (LCA), memberikan emisi CO₂ negatif. Bioetanol merupakan salah satu jenis EBT berbahan dasar biomassa yang ramah lingkungan yang dapat mensubstitusi gasolin. Bioetanol terbuat dari konversi biomassa melalui proses fermentasi.

Bioetanol generasi pertama diproduksi dari hasil fermentasi tanaman pangan seperti tebu, jagung, dan hasil pertanian lainnya, sedangkan bioetanol generasi kedua berasal lignoselulosa seperti residu hasil pertanian, hutan, dan bahan ligniselulostik lainnya. Berdasarkan tinjauan ekonomi bahwa bioetanol generasi pertama terhitung lebih murah, akan tetapi dapat menyebabkan kompetisi dengan sumber pangan. Sementara itu, pembuatan bioetanol generasi kedua lebih kompleks dibandingkan bahan baku lainnya dikarenakan adanya lignin di dalamnya. Dengan mempertimbangkan permasalahan di atas, maka beberapa peneliti mulai aktif untuk mengembangkan produksi bioetanol generasi ketiga yang berasal dari mikroalga (Sadatshojaei et al., 2020). Sebagai negara maritim, Indonesia mempunyai pesisir yang sangat luas, sehingga mempunyai potensi yang besar dalam pembudidayaan mikroalga. Selain itu, jumlahnya yang melimpah dapat memberikan potensi tinggi dalam keberlanjutan produksi.

Menurut Mayers et al. (2018) bahwa untuk saat ini sintesis bioetanol dari mikroalga belum memberikan keuntungan dibandingkan dari sumber lainnya dalam skala besar, karena rute proses dan juga penggunaan energi yang belum optimal. Penelitian-penelitian yang dilakukan saat ini masih fokus untuk mencari solusi dari permasalahan di atas dengan mempertimbangkan kondisi operasi pembudidayaan mikroalga seperti pasokan cahaya,

nutrisi, suhu, dan derajat keasaman media budidaya. Selain itu, studi tentang proses penyiapan bahan baku dan proses fermentasi sedang giat dilakukan oleh beberapa peneliti untuk mencari kondisi yang optimum.

Bioetanol diproduksi dari hasil fermentasi gula monosakarida dengan menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Namun demikian, tidak semua gugus gula pereduksi dapat dikonversi menjadi alkohol, hanya glukosa, mannososa, dan galaktosa yang menghasilkan alkohol sedangkan xylosa dan arabinosa tidak dapat dikonversi menjadi alkohol (Bera et al., 2010). Dengan demikian, komposisi gugus gula pereduksi sangat penting untuk diketahui agar dapat menentukan berapa banyak gugus gula pereduksi yang dapat dikonversi menjadi alkohol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan komposisi gugus gula pereduksi hasil hidrolisis dengan bantuan gelombang mikro dari mikroalga *Arthrospira platensis*. Hasil hidrolisis kemudian difermentasi dan kandungan etanolnya ditentukan dengan cara distilasi.

METODE PENELITIAN

1. Bahan dan Alat

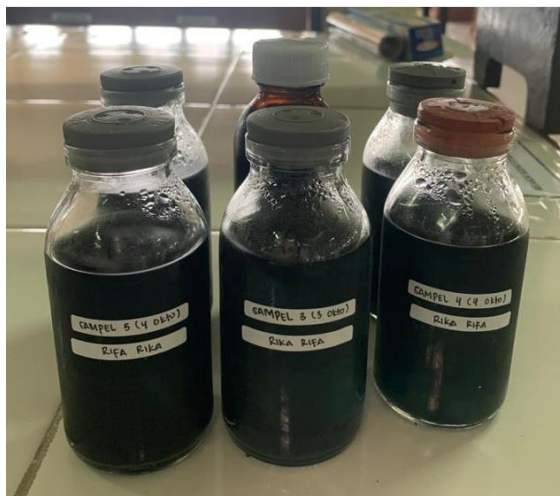
Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian antara lain serbuk mikroalga *Arthrospira platensis*, asam sulfat (H_2SO_4), kultur *Saccharomyces cerevisiae*, kertas saring, dan *deionized water*. Sedangkan alat-alat yang dibutuhkan antara lain *microwave reactor*, labu Erlenmeyer, *shaking water bath*, dan kolom distilasi.

2. Cara Kerja

a. Hidrolisis dengan *microwave reactor*

Hidrolisis merupakan proses pemecahan karbohidrat menjadi gugus gula sederhana seperti glukosa, mannososa, galaktosa, rhamnosa, xylosa, dan arabinosa. Pada proses hidrolisis ini dihasilkan pula padatan *biochar*. Proses hidrolisis dapat dilakukan menggunakan asam seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Yu et al. (2020) dengan menggunakan H_2SO_4 0,1 dan 0,2 M.

Sebanyak 10 g mikroalga *Arthrospira platensis* ditambahkan ke dalam tabung reaktor, kemudian ditambahkan larutan H_2SO_4 0,3 M sebanyak 100 mL. Selanjutnya tabung reaktor dimasukkan ke dalam *microwave* kemudian diaduk dengan menggunakan pengaduk magnetik dan dipanaskan sampai suhu 100 °C selama 90 menit. Hasil hidrolisis disajikan pada Gambar 1. Setelah itu, *slurry* disaring dengan kertas saring biasa, dilanjutkan dengan kertas saring Whatman 42 dan terakhir disaring dengan Millipore 0.45 μ . Sementara itu, padatan *biochar* dikeringkan untuk diuji komposisinya dengan *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), sedangkan gugus monosakarida dianalisis dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).



Gambar 1. Hasil hidrolisis *Arthrospira platensis* (H_2SO_4 0,3 M, 100 °C, dan 90 menit) dengan bantuan gelombang mikro.

b. Fermentasi

Fermentasi dijalankan di dalam labu Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL hidrolisat dengan konsentrasi kultur *Saccharomyces cerevisiae* sebesar 5 % berat. Fermentasi dijalankan dalam suhu 30 °C pada kondisi gelap dalam *shaking water bath* selama 96 jam seperti terlihat pada Gambar 2. Hasil fermentasi selanjutnya didistilasi pada suhu antara 95 dan 97 °C untuk memisahkan kandungan etanol dari pelarutnya.



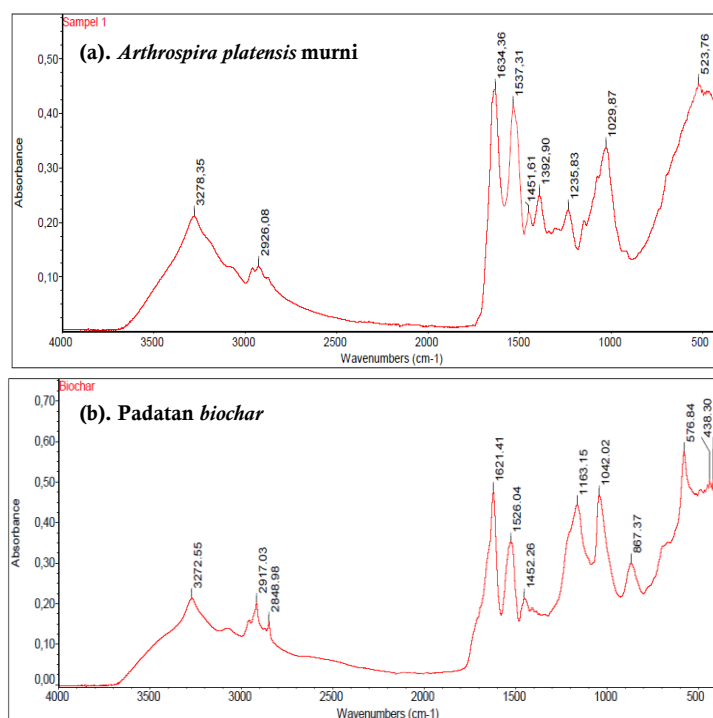
Gambar 2. Fermentasi dalam *shaking water bath* pada suhu 30 °C selama 96 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan gugus monosakarida hasil hidrolisis dengan bantuan gelombang mikro dari mikroalga *Arthrospira platensis*. Hasil hidrolisis kemudian difermentasi dan kandungan etanolnya ditentukan dengan cara distilasi.

Pada penelitian ini proses hidrolisis menggunakan asam H_2SO_4 sebagai pelarut. Proses hidrolisis sangat mempengaruhi kadar gula yang dihasilkan. Selain itu hidrolisis dipengaruhi oleh beberapa parameter diantaranya yaitu suhu, konsentrasi asam, jumlah bahan baku, waktu, dan kadar karbohidrat. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi H_2SO_4 sebesar 0,3M dengan waktu 90 menit.

Hasil hidrolisis berupa hidrolisat dan padatan *biochar*. Selanjutnya komposisi *biochar* dianalisis dengan FTIR yang bertujuan untuk mengetahui komponen - komponen yang terkandung di dalam sampel. Sebagai perbandingan, komponen serbuk *Arthrospira platensis* murni juga dianalisis. Gambar 3 menunjukkan spektra FTIR untuk padatan *biochar* dan serbuk *Arthrospira platensis* murni. Sementara itu komposisi gugus gula pereduksi dalam hidrolisat dianalisis dengan HPLC.



Gambar 3. Hasil analisis FTIR untuk *Arthrospira platensis* murni dan *biochar*

Hasil analisis FTIR pada Gambar 3a menunjukkan bahwa intensitas *peak* tertinggi pada rentang panjang gelombang di atas 2970 cm^{-1} terjadi pada panjang gelombang $3278,35\text{ cm}^{-1}$ dimana panjang gelombang tersebut menunjukkan gugus fungsi hidroksil – OH yang termasuk dalam golongan senyawa alkohol. *Peak* dengan rentang panjang gelombang $2850 - 2970\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan regangan vibrasi ikatan C – H yang merupakan golongan

senyawa alkana dan *peak* dengan serapan kuat dan tajam pada rentang panjang gelombang 1610 – 1680 cm^{-1} menunjukkan regangan vibrasi ikatan C = C yang merupakan golongan senyawa alkena. Sementara itu, *peak* dengan rentang panjang gelombang 1340 – 1470 cm^{-1} menunjukkan regangan vibrasi ikatan C – H yang merupakan golongan senyawa alkana. Pada *peak* di rentang panjang gelombang 1050 – 1300 cm^{-1} menunjukkan regangan vibrasi ikatan C – O dengan golongan senyawa alkohol, eter, asam karboksilat, maupun ester (Skoog et al., 2018). Sementara itu, spektra pada Gambar 3b menunjukkan kemiripan posisi *peak*, sehingga dapat disimpulkan bahwa padatan *biochar* mempunyai komponen yang identik dengan komponen dalam mikroalga murni.

Tabel 1 menunjukkan rerata konsentrasi gula pereduksi hasil uji dengan HPLC dari dua sampel hidrolisat *Arthrospira platensis* sebelum dan setelah fermentasi. Dari Tabel 1 terlihat bahwa konsentrasi arabinosa, glukosa, dan galaktosa mengalami penurunan berturut-turut sebesar 78, 95, dan 97%, sedangkan konsentrasi rhamnosa, xylosa, dan mannosa mengalami kenaikan. Turunnya konsentrasi glukosa dan galaktosa dikarenakan kedua gula pereduksi tersebut telah dikonversi menjadi etanol. Hal ini sesuai dengan hasil analisis Bera et al. (2010) dimana glukosa dan galaktosa akan dikonversi menjadi alkohol dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*.

Tabel 1. Konsentrasi gula pereduksi sebelum dan setelah fermentasi

Gula Pereduksi	Konsentrasi (g/L larutan)	
	Sebelum Fermentasi	Setelah Fermentasi
Glukosa	11,963	0,546
Galaktosa	1,204	0,034
Xylosa	0,986	1,125
Mannosa	0,359	1,690
Arabinosa	0,100	0,022
Rhamnosa	0,000	0,152

Hidrolisat *Arthrospira platensis* yang telah difermentasi selanjutnya didistilasi pada suhu 95 – 97 °C. Distilat yang diperoleh kemudian dianalisis dengan GC dan diperoleh konsentrasi etanol dari sampel sebesar 0,39% atau sekitar 3,90 g/L. Hasil yang telah diperoleh ini berada dalam kisaran hasil dari peneliti-peneliti lainnya seperti tercantum dalam Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan kadar bioetanol dari penelitian lain

Peneliti	Jenis Biomassa	Kadar Kultur Ragi	Kadar Bioetanol, %
Khodijah dan Abtokhi (2015)	<i>Duckweed</i>	5, 15, dan 25%	0,45 – 3,80
Jayus dkk. (2016)	Molases	0 – 4,26 g/L	0,14 – 5,43
Rijal dkk. (2019)	Batang jagung	1, 2, 3, dan 4 g ragi/10 g bahan	0,26 – 1,25
Candra et al. (2019)	Singkong raksasa	5 dan 10%	0,00 – 2,83

Thangavelu <i>et al.</i> (2019)	Limbah sagu	5% (v/v)	15,6 – 30,8 (g/L)
Febrina dkk. (2020)	Kulit kopi Arabika	3, 9, dan 15 g/25 g bahan	0,35 – 1,46
Beigbeder <i>et al.</i> (2021)	<i>Industrial Sugar Beet Molasses</i>	0,2; 0,6; dan 1,0 g/L	12 – 74 (g/L)
Penelitian ini (2024)	<i>Arthrospira platensis</i>	5%	0,39

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta atas pendanaan penelitian ini dengan kontrak No. 150/KajurTek.Kimia-S1/70/Prodi Tekim-S1/VI/ 2023.

SIMPULAN DAN SARAN

Konversi mikroalga *Arthrospira platensis* dilakukan dengan cara hidrolisis menggunakan pelarut asam sulfat. Hidrolisat yang diperoleh selanjutnya difermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Dari hasil analisis diperoleh beberapa gugus gula pereduksi antara lain glukosa, mannosa, galaktosa, xylosa, arabinosa, dan rhamnosa. Namun hanya glukosa dan galaktosa yang terkonversi menjadi etanol dengan kadar 0,39%. Dengan tingginya kandungan glukosa dan galaktosa di dalam hidrolisat diharapkan akan meningkatkan kadar etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, "Indonesia Darurat Energi", <https://www.bppt.go.id/teknologi-informasi-energi-dan-material/3296-bppt-indonesia-darurat-energi>, diakses tanggal 10 Agustus 2020.
- Beigbeder, J. B., Dantas, J. M. M., and Lavoie, J. M. 2021. Optimization of Yeast, Sugar and Nutrient Concentrations for High Ethanol Production Rate Using Industrial Sugar Beet Molasses and Response Surface Methodology. *Ferment.* 7 (86), 1 – 16.
- Bera, A. K., Sedlak, M., Khan, A., and Ho, N. W. Y. 2010. Establishment of L-arabinose Fermentation in Glucose/xylose Co-fermenting Recombinant *Saccharomyces cerevisiae* 424A(LNH-ST) by Genetic Engineering. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 87, 1803 – 1811.
- Candra, K. P., Ismail, K., Marwati, Murdianto, W., and Yuliani. 2019. Optimization Method for the Bioethanol Production from Giant Cassava (*Manihot esculenta* var. Gajah) Originated from East Kalimantan. *Indones. J. Chem.*, 19 (1), 176 – 182.
- Dasan, Y. K., Lam, M. K., Yusup, S., Lim, J. W., and Lee, K. T. 2019. Life Cycle Evaluation of Microalgae Biofuels Production: Effect of Cultivation System on Energy, Carbon Emission and Cost Balance Analysis. *Sci. Total Environ.* 688, 112 – 128.
- Febrina, R. V., Nasution, R. S., dan Arfi, F. 2020. Pengaruh Variasi Massa Ragi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Kadar Bioetanol Berbahan Dasar Limbah Kulit Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L). *AMINA*, 2 (1), 19 – 25.

- Jayus, J., Noorvita, I. V., dan Nurhayati, N. 2016. Produksi Bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3210 pada Media Molases dengan Kecepatan Agitasi dan Aerasi yang Berbeda. *Jurnal Agroteknologi*, 10 (2), 184 – 192.
- Khodijah, S. dan Abtokhi, A. 2015. Analisis Pengaruh Variasi Persentase Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) dan Waktu pada Proses Fermentasi dalam Pemanfaatan Duckweed (*Lemna minor*) sebagai Bioetanol. *Jurnal Neutrino*, 7 (2), 71 – 76.
- Kontan.co.id., "BPH Migas Dorong Penggunaan LNG sebagai Bahan Bakar Kereta Api", <https://industri.kontan.co.id/news/bph-migas-dorong-penggunaan-lng-sebagai-bahan-bakar-kereta-api>, diakses tanggal 07 Agustus 2020
- Mayers, J. J., Vaiciulyte, S., Malmhäll-Bah, E., Alcaide-Sancho, J., Ewald, S., Godhe, A., Albers, E. 2018. Identifying a Marine Microalgae with High Carbohydrate Productivities under Stress and Potential for Efficient Flocculation. *Algal Res.* 31, 430 – 442.
- Rijal, M., Rumberu, A., dan Mahulauw, A. 2019. Pengaruh Konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Produksi Bioetanol Berbahan Dasar Batang Jagung. *Biologi Sel*, 8 (1), 59 – 70.
- Sadatshojaei, E., Wood, D. A., and Mowla, D. 2020. Third Generation of Biofuels Exploiting Microalgae - Sustainable Green Chemical Processes and their Allied Applications, Springer, pp. 575 – 588.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., and Crouch, S. C. 2018, Principle of Instrumental Analysis, 7th ed., Cengage Learning, Boston, USA.
- Thangavelu, S. K., Rajkumar, T., Pandi, D. K., Ahmed, A. S., and Ani, F.N. 2019. Microwave Assisted Acid Hydrolysis for Bioethanol Fuel Production from Sago Pith Waste. *Waste Manage.* 86, 80 – 86.
- Yu, K. L., Chen, W. H., Sheen, H. K., Chang, J. S., Lin, C. S., Ong, H. C., and Ling, T. C. 2020. Bioethanol Production from Acid Pretreated Microalgal Hydrolysate using Microwave-assisted Heating Wet Torrefaction. *Fuel* 279, 118435.