

# **PENGARUH VARIASI ASAM DALAM FERMENTASI BIOMASSA BERBAHAN BAKU *ALGA Spirogyra sp.* TERHADAP KADAR ETANOL**

**Amin Sri Wahyu Ningrum<sup>1)</sup>, Vella Liani<sup>2)</sup>, dan Arum Restu Widyasti<sup>3)</sup>**

<sup>1)</sup> Mahasiswa Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta  
Email: amin.wahyu37@yahoo.com

<sup>2)</sup> Mahasiswa Biologi FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

<sup>3)</sup> Mahasiswa Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

## **Abstrak**

Bahan Bakar Minyak (BBM) merupakan salah satu sumber energi penting yang digunakan oleh seluruh masyarakat dunia disamping energi listrik. Keberadaan bahan bakar minyak semakin lama semakin menipis bahkan pada tahun 2025 diperkirakan ketersediaan minyak bumi akan habis. Sebagai pengganti BBM, saat ini mulai dikembangkan Bahan Bakar Nabati (BBN). Saat ini pengembangan bioetanol berpusat pada bahan pangan yang banyak mengandung glukosa, seperti jagung dan kedelai. Jika bahan bakar nabati terus menerus dibuat dari bahan pangan, maka akan terjadi persaingan antara penyediaan pangan dan energi. Alga memiliki prospek yang sangat baik untuk dikembangkan sebagai bahan baku bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi jenis dan konsentrasi asam terhadap kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi alga *Spyrogyra sp.* Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan 2 jenis asam, 3 variasi konsentrasi, dan 3 kali pengulangan. Tahap penelitian yang dilakukan adalah mulai dari preparasi bahan baku, sterilisasi alat, hidrolisis alga, fermentasi, destilasi dan terakhir adalah penentuan kadar etanol. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, adanya variasi jenis dan konsentrasi asam tidak berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi alga *Spirogyra sp.* Tidak adanya pengaruh pengaruh jenis dan konsentrasi asam terhadap kadar etanol yang dihasilkan disebabkan oleh beberapa faktor. Fermentasi alga *Spirogyra sp.* menggunakan *Saccaromicces cerevisei* selama 10 hari menghasilkan etanol tertinggi 7,537% pada perlakuan hidrolisis HCL 0,5 M, sedangkan kadar etanol terendah dihasilkan dari fermentasi alga *Spirogyra sp.* menggunakan jenis sam HCl 0,1 M.

*Kata kunci: etanol, Spirogyra sp., variasi asam.*

## EFFECTS OF ACID VARIATIONS IN THE FERMENTATION OF BIOMASS WITH ALGA *Spirogyra* sp. AS ITS BASIC MATERIAL ON THE ETHANOL LEVEL

### Abstract

Fuel is one of the important energy sources used by the whole world besides electricity energy. The fuel progressively will have decreased by 2025. The availability of petroleum will be exhausted. As a substitute fuel, biofuel is currently being developed. Currently bioethanol development is focused on the food that contains a lot of glucose, such as corn and soybeans. If biofuel is continuously made from foodstuffs, there will be a competition between food and energy supply. Algae has an excellent prospect to be developed as the raw material of bioethanol. This study aims to determine the effect of variations in the type and concentration of the acid on the ethanol produced from the fermentation of algae *Spirogyra* sp. This type of research was an experimental study with two types of acid, three variations of concentration, and 3 repetitions. The research steps are raw material preparation, sterilization, algae hydrolysis, fermentation, distillation and determination of the ethanol content. Based on the results of the research conducted, the variation of the type and concentration of the acid had no effect on the levels of ethanol produced from the fermentation of algae *Spirogyra* sp. It was due to several factors. The fermentation of algae *Spirogyra* sp. using *Saccharomyces Cerevisiae* for 10 days yielded the highest ethanol as much as 7.537% at the treatment of 0.5M hydrochloric, while the lowest level of ethanol produced from the fermentation of algae *Spirogyra* sp. using the type of hydrochloric acid was 0.1 M.

*Keywords: acid variation, ethanol, Spirogyra sp*

### PENDAHULUAN

Bahan Bakar Minyak (BBM) merupakan salah satu sumber energi penting yang digunakan oleh seluruh masyarakat dunia disamping energi listrik. BBM merupakan energi yang berasal dari bahan bakar fosil. Keberadaan bahan bakar minyak semakin lama semakin menipis bahkan pada tahun 2025 diperkirakan ketersediaan minyak bumi akan habis. Untuk mencukupi kebutuhan energi di masa depan, maka ilmuwan-ilmuwan di setiap negara mulai

menciptakan energi alternatif terbarukan pengganti BBM.

Sebagai pengganti BBM, saat ini mulai dikembangkan Bahan Bakar Nabati (BBN). Indonesia berpeluang menjadi Raja BBN Dunia. Indonesia merupakan negara agraris yang memiliki beragam kekayaan alam terbarukan yang sangat berpotensi menghasilkan bio energi (Kristina, Evi R., Novia, 2012). Pemerintah Indonesia telah memberikan perhatian serius untuk pengembangan bahan bakar

nabati dengan menerbitkan Instruksi Presiden No. 1 Tahun 2006 tertanggal 25 Januari 2006 tentang Penyediaan dan Pemanfaatan Bahan Bakar Nabati sebagai bahan bakar lain (L. Broto, 2010).

Etanol dapat diproduksi dari bahan baku tanaman yang mengandung pati atau dari tanaman yang mengandung lignoselulosa, melalui proses fermentasi dengan bantuan mikroorganisme (Amutha dan Gunasekaran dalam Iris M.S, dkk, 2008). Saat ini pengembangan bioetanol berpusat pada bahan pangan yang banyak mengandung glukosa, seperti jagung dan kedelai. Jika bahan bakar nabati terus menerus dibuat dari bahan pangan, maka akan terjadi persaingan antara penyediaan pangan dan energi. Untuk menghindari persaingan tersebut, maka perlu dicari bahan non pangan yang berpotensi untuk dijadikan BBN (bioetanol), salah satunya adalah mikroalga.

Alga memiliki prospek yang sangat baik untuk dikembangkan sebagai bahan baku bioetanol. Alga dipilih karena memiliki kemampuan tumbuh dengan cepat dan tidak memerlukan area yang luas serta dapat tumbuh di air laut maupun air tawar. Selain itu dalam masa tumbuhnya mikroalga menyerap karbondioksida di udara sehingga dapat mengurangi kadar CO<sub>2</sub> sebagai penyebab efek rumah kaca (Widjaja, 2009).

Pemanfaatan alga sebagai bahan baku bioetanol dikarenakan kandungan karbohidrat yang dimilikinya, kandungan

karbohidrat pada alga berbeda-beda, tergantung pada spesies dan kondisi lingkungan hidupnya (Basmal, 2008). Salah satu jenis alga yang memiliki kandungan karbohidrat dalam jumlah banyak adalah *Spirogyra sp.*, yaitu mengandung karbohidrat 33-64% berat kering (Handayani. N.A&Ariyanti. D, 2012). Alga tidak tersusun oleh bahan lignoselulosa yang bersifat keras, sehingga tidak diperlukan langkah *pretreatment* yang sulit untuk dapat memecah selulosa. Teknik fermentasi dalam produksi bioetanol sampai saat ini masih belum efisien dengan produktivitas yang masih rendah dan membutuhkan modal yang besar. Untuk meningkatkan produktivitas etanol, perlu dilakukan optimasi kondisi yang dapat dilakukan antara lain dengan cara mutagenesis, pemilihan substrat/ bahan baku, dan kondisi fermentasi yang optimum (Assadad L, Utomo B.S.B., Sari R.N., 2010).

Dalam penelitian ini digunakan bahan baku berupa alga jenis *Spirogyra sp.* yang dikonversi menjadi bioetanol dengan langkah *pretreatment* dengan cara kimiawi menggunakan asam yang divariasikan jenis dan kadarnya. Kemudian dilanjutkan dengan proses fermentasi selama 10 hari, destilasi, dan dehidrasi atau pemurnian.

## METODE PENELITIAN

Pengambilan alga dilakukan di kebun kangkung Sungai Bedog. Preparasi bahan dilakukan di rumah kos Vella Liani. Identifikasi alga dan sterilisasi alat dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY. Tahap pembuatan etanol dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA UNY. Analisis kadar etanol dilakukan di Laboratorium Instrumen Terpadu UII. Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen dua faktor (bivariat) dalam pembuatan bioetanol dengan bahan baku alga *Spirogyra sp.* Variabel bebas dari penelitian ini adalah jenis dan konsentrasi asam. Variabel terikat dari penelitian ini adalah kadar etanol yang dihasilkan. Variabel kontrol penelitian ini adalah suhu & waktu fermentasi, suhu destilasi, dan volume.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga *Spirogyra sp.* yang diperoleh dari Sungai Bedog. Bahan kimia yang digunakan adalah HCl, CH<sub>3</sub>COOH, akuades, fermipan, dan alkohol. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jaring, blender, ayakan teh, autoclave, box plastik, seperangkat alat refluks, seperangkat alat destilasi, botol flacon dan botol fermentor, dan alat-alat kaca lainnya.

Prosedur Penelitian ini adalah sebagai berikut.

### 1. Identifikasi alga *Spirogyra sp.*

Mengambil alga dengan *insect net*. Langkah identifikasi alga *Spirogyra sp.*

dilakukan di Kebun Biologi FMIPA UNY dibantu oleh dosen ahli taksonomi tumbuhan menggunakan mikroskop binokuler perbesaran 100 kali.

### 2. *Pretreatment*

Pretreatment alga dilakukan dengan menjemur alga yang telah dicuci selama 2 hari. Kemudian alga kering diblender dan diayak menggunakan saringan teh.

### 3. Sterilisasi alat

Sebelum diautoclav alat-alat kaca dicuci menggunakan sabun dan dikeringkan. Sterilisasi alat menggunakan autoclav pada suhu 121°C selama 1 jam. Alat yang disterilisasi adalah alat yang terbuat dari kaca. Setelah diambil dari *autoclave* kemudian alat diolesi dengan alkohol 96%. Kemudian alat ditutup rapat dan dimasukkan ke dalam kotak penyimpanan.

### 4. Hidrolisis menggunakan Asam

Langkah hidrolisis ini dilakukan untuk 18 sampel dengan 3 variasi konsentrasi untuk 2 jenis asam dengan 3 kali pengulangan. Hidrolisis alga dilakukan dengan merefluks sebanyak 5 gram alga yang telah dipreparasi dengan 100 mL asam selama 30 menit pada suhu 60°C. Untuk menghilangkan asam dilakukan penyaringan sehingga alga dapat terpisah dengan asam. Kemudian pH alga diubah menjadi 4-5 dengan menambahkan basa NaOH.

5. Fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*

Fermentasi menggunakan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* dalam sediaan fermipan. Pemberian fermipan sebanyak 5% dari massa sampel dan dicampur secara merata di dalam botol fermentor. Botol fermentor dimasukkan ke dalam box plastik untuk menjaga suhu fermentasi.

6. Destilasi untuk Mendapatkan Etanol

Destilasi dilakukan untuk memisahkan bioethanol yang dihasilkan dari fermentasi alga. Hasil fermentasi sebanyak 20 mL dimasukkan dalam labu destilasi dan didestilasi pada rentang suhu 78-80°C.

7. Penentuan Kadar Alkohol

Menganalisis bioetanol hasil fermentasi menggunakan instrumen *Gas Chromatography* (GC). Hasil analisis berupa kromatogram yang akan menunjukkan kadar etanol dalam sampel.

Teknik pengumpulan data dilakukan melalui tahap-tahap eksperimen di laboratorium, yaitu: pengukuran massa, kadar etanol, dan volume bahan/substrat yang dihasilkan dari masing-masing tahap. Dokumentasi setiap tahap kegiatan baik berupa gambar ataupun audio (jika diperlukan). Kadar etanol dalam bioetanol diukur menggunakan instrumen GC. Hasil analisis yang berupa kromatogram akan menunjukkan kadar etanol dalam sampel

dengan satuan %. Hasil untuk seluruh sampel akan dianalisis menggunakan analisis satu faktor.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis one way anova* untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi asam terhadap kadar etanol yang dihasilkan dari konversi mikroalga *Spirogyra sp.* menjadi bioetanol dengan hipotesa:

$H_0$  : Tidak ada pengaruh konsentrasi asam terhadap kadar etanol yang dihasilkan dari konversi mikroalga *Spirogyra sp.* menjadi bioetanol.

$H_1$  : Terdapat pengaruh konsentrasi asam terhadap kadar etanol yang dihasilkan dari konversi mikroalga *Spirogyra sp.* menjadi bioetanol.

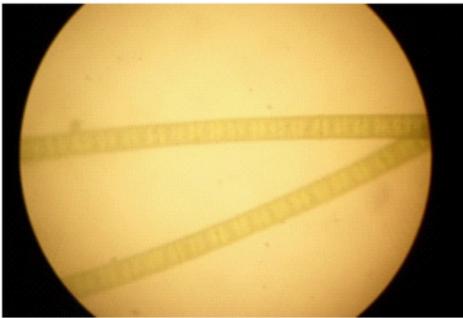
Jika  $H_1$  diterima maka dilanjutkan uji Tukey pada taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ) untuk mengetahui perbedaan nyata antara kombinasi perlakuan konsentrasi asam encer dan lama fermentasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi Alga *Spirogyra sp.*

Tahap identifikasi alga berhasil setelah dilakukan 3 kali pengambilan. Pengambilan alga yang pertama dilakukan di kolam Kebun Biologi FMIPA UNY dan diperoleh jenis alga *Cladopora*. Pengambilan alga yang kedua dilakukan di daerah Gedongan dan diperoleh jenis alga *Cladopora*. Pengambilan alga yang ketiga

dilakukan di kebun kangkung Sungai Bedog dan diperoleh jenis alga *Spirogyra sp.*. Langkah identifikasi alga *Spirogyra sp.* dilakukan di Kebun Biologi FMIPA UNY dibantu oleh dosen ahli taksonomi tumbuhan menggunakan mikroskop binokuler perbesaran 100 kali. Alga yang diperoleh pada pengambilan pertama dan kedua memiliki rambut yang bercabang, sedangkan alga yang dicari adalah alga yang memiliki rambut tidak bercabang.



Gambar 1. Alga *spirogyra sp.* Dilihat Dibawah Mikroskop Perbesaran 100 kali

#### *Pretreatment Spirogyra sp*

Sebelum dikeringkan, alga dicuci dari tanah dan pengotor lainnya. Pada proses pencucian harus dilakukan dengan hati-hati karena alga *Spirogyra sp.* memiliki rambut yang sangat halus sehingga harus dilapisi dengan kain paris untuk mengurangi kontaminan yang menempel. Pengerinan alga memanfaatkan sinar matahari dan setelah kering dihaluskan menggunakan blender. Kemudian diayak menggunakan ayakan teh sehingga

diperoleh alga dengan ukuran tertentu. Berdasarkan langkah *pretreatment* yang dilakukan diperoleh alga kering seberat  $\pm 120$  gram.



Gambar 2. Alga *spirogyra sp.* Hasil Preparasi

### Sterilisasi Alat

Sebelum dilakukan sterilisasi, alat-alat kaca dicuci terlebih dahulu dengan sabun dan dikeringkan. Sterilisasi alat menggunakan *autoclave* bertujuan menghindari kontaminasi dari mikroorganisme yang akan menghambat proses fermentasi oleh bakteri *Saccharomyces cerevisiae*.



Gambar 3. Sterilisasi Alat untuk Fermentasi Menggunakan *Autoclave*

### Hidrolisis Menggunakan Asam

Hidrolisis alga dilakukan dengan 2 metode, yaitu dengan metode fisik dan metode kimia. Hidrolisis menggunakan metode fisik dilakukan bersamaan dengan preparasi bahan, yaitu dengan mengubah mikroalga menjadi tepung. Hidrolisis menggunakan metode kimia dilakukan dengan asam encer, yaitu asam asetat dan asam klorida. Hidrolisis alga menggunakan asam asetat menghasilkan alga berwarna hijau gelap, sedangkan hidrolisis alga menggunakan asam klorida menghasilkan alga berwarna cokelat gelap. Alasan digunakannya asam adalah karena bahan baku yang akan dihidrolisis tidak memiliki kandungan lignin.



Gambar 4. Hasil Hidrolisis Alga

### Fermentasi Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*.

Proses fermentasi ini dilakukan setelah tahap preparasi dan hidrolisis bahan selesai dilakukan. Proses fermentasi menggunakan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* dalam sediaan fermipan. Banyaknya fermipan yang ditambahkan dalam substrat adalah 5% dari berat substrat. Fermentasi yang dilakukan selama 10 hari dilakukan pada suhu ruang antara 27-31°C.



Gambar 5. Proses Fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*



Gambar 6. Bioethanol yang Telah Didestilasi

### Penentuan Kadar Etanol

Penentuan kadar etanol perlu menggunakan uji analisis gas kromatografi. Hasil analisis gas kromatografi terdapat dalam Tabel 1.

Tabel 1 adalah hasil analisis *Gas Chromatography* (GC) yang kami lakukan di laboratorium terpadu Universitas Islam Indonesia pada tanggal 7 September 2015.

Tabel 1. Hasil Analisis Gas Kromatografi

Ulangan	Jenis Asam	Konsentrasi	Luas Area	Faktor Pengenceran	Kadar Etanol (%)
1	CH <sub>3</sub> COOH	0.1 M	2265.9856	25.0	3.668
2	CH <sub>3</sub> COOH	0.1 M	7790.1998	12.5	5.871
3	CH <sub>3</sub> COOH	0.1 M	11491.8858	10.0	6.861
1	CH <sub>3</sub> COOH	0.5 M	3078.9022	25.0	4.857
2	CH <sub>3</sub> COOH	0.5 M	8464.0746	10.0	5.091
3	CH <sub>3</sub> COOH	0.5 M	11293.9182	12.5	3.695
1	CH <sub>3</sub> COOH	1 M	2027.8002	25.0	3.320
2	CH <sub>3</sub> COOH	1 M	6567.6232	10.0	3.982
3	CH <sub>3</sub> COOH	1 M	11293.9182	10.0	6.745
1	HCl	0.1 M	2645.5670	10.0	1.689
2	HCl	0.1 M	4194.5062	10.0	2.595
3	HCl	0.1 M	8492.8398	10.0	4.215
1	HCl	0.5 M	7491.3870	16.7	7.537
2	HCl	0.5 M	5610.5136	10.0	3.423
3	HCl	0.5 M	6966.6378	10.0	4.215
1	HCl	1 M	7790.1998	10.0	5.440
2	HCl	1 M	4673.1392	10.0	2.875
3	HCl	1 M	8005.1838	10.0	4.823

#### Deskripsi Kadar Etanol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
.10	6	4.2987	1.99014	.81247	2.2101	6.3872	1.69	6.86
.50	6	4.8030	1.48583	.60659	3.2437	6.3623	3.42	7.54
1.00	6	4.5308	1.43691	.58662	3.0229	6.0388	2.88	6.75
Total	18	4.5442	1.57050	.37017	3.7632	5.3252	1.69	7.54

Pengaruh Variasi Asam dalam Fermentasi Biomassa Berbahan Baku *Alga Spirogyra Sp.* Terhadap Kadar Etanol

Uji GC yang kami lakukan bertujuan untuk mengetahui kadar alkohol berupa etanol. Untuk memperoleh kadar etanol maka data luas area untuk masing-masing sampel dimasukkan ke dalam persamaan:

$$y = 17105x - 244.0 \text{ dimana}$$

$$R^2 = 0.9948.$$

Keterangan:

y = luas area

x = kadar etanol

Hipotesis:

Ho: tidak terdapat pengaruh jenis dan konsentrasi asam encer terhadap kadar etanol

H1: terdapat pengaruh jenis dan konsentrasi asam encer terhadap kadar etanol

Berdasarkan analisis deskriptif diperoleh kadar etanol tertinggi yaitu 7.54 pada sampel 1 jenis asam HCl konsentrai 0.5 M. Kadar etanol terendah yaitu 1.69 pada sampel 1 jenis asam HCl konsentrasi 0.1 M.

#### *Test of Homogeneity of Variances*

Kadar etanol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.918	2	15	.421

Pada tabel *test of homogeneity of variances* diperoleh nilai signifikansi 0.421 atau  $> 0.5$  sehingga dapat disimpulkan data tidak homogen.

#### ANOVA

Kadar etanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.765	2	.382	.139	.871
Within Groups	41.165	15	2.744		
Total	41.930	17			

Pada tabel analisis Anova diperoleh nilai signifikansi 0.871 atau  $> 0.5$  sehingga Ho diterima dan H1 ditolak. Hal ini berarti tidak ada pengaruh jenis dan konsentrasi asam terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Seharusnya pada penelitian ini jenis dan konsentrasi asam berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan. Namun belum dapat diketahui apakah semakin besar konsentrasi asam maka akan semakin banyak pula kadar etanol yang dihasilkan. Hal tersebut perlu diuji dengan penelitian, yaitu dengan mengukur kadar karbohidrat dalam sampel sebelum dan sesudah dihidrolisis dengan asam dan mengukur kadar etanol yang dihasilkan setelah fermentasi. Pada penelitian ini juga terdapat beberapa sampel yang mendapat perlakuan sama namun menghasilkan etanol berbeda sehingga mempengaruhi data secara keseluruhan. Ketidaksesuaian tersebut

dapat terjadi karena dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah temperatur ruang yang tidak selalu konstan dan tekanan udara tidak sama dengan 1 atm.

Selain itu, proses pemberian ragi ke substrat alga seharusnya tidak dilakukan secara langsung tetapi menggunakan metode *shaker* sehingga dapat tercampur rata. Selain itu, selama proses fermentasi tidak boleh ada udara yang masuk ke dalam botol fermentasi karena adanya udara dalam botol akan mempengaruhi proses fermentasi oleh mikroba. Fermentasi yang kami lakukan selama 10 hari menghasilkan kadar etanol yang tidak maksimal. Perlu diketahui bahwa *Saccaromicces cerevisie* merupakan jenis mikroorganisme yang memiliki tahap hidup mulai dari perbanyakan, kondisi statis, kemudian mati. Peristiwa itu umumnya berlangsung 3-5 hari, jadi dalam rentang hari itu dapat dimungkinkan kadar etanol yang dihasilkan tinggi dan menurun kembali pada hari ke-6 dan seterusnya. Penurunan kadar etanol yang dihasilkan karena mikroorganisme yang melakukan fermentasi telah mati sehingga tidak dapat mengubah monosakarida menjadi alkohol yang diinginkan. Maka perlu dilakukan pengukuran waktu optimum fermentasi dengan cara mengukur kadar etanol yang dihasilkan selama 24 jam sekali.

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, adanya variasi jenis dan konsentrasi asam tidak berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi alga *Spirogyra sp.* Tidak adanya pengaruh jenis dan konsentrasi asam terhadap kadar etanol yang dihasilkan disebabkan oleh beberapa faktor seperti yang telah disebutkan dalam pembahasan. Fermentasi alga *Spirogyra sp.* menggunakan *Saccaromicces cerevisie* selama 10 hari menghasilkan etanol tertinggi 7,537% pada perlakuan hidrolisis HCL 0,5 M, sedangkan kadar etanol terendah dihasilkan dari fermentasi alga *Spirogyra sp.* menggunakan jenis asam HCl 0,1 M.

Perlu dilakukan pengukuran kadar karbohidrat dalam alga sebelum hidrolisis, sesudah hidrolisis menggunakan asam, dan setelah fermentasi. Pengukuran kadar etanol sebaiknya dilakukan setiap 24 jam sekali, sehingga akan diketahui berapa waktu optimum fermentasi untuk menghasilkan kadar etanol tertinggi.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Assadad L, Utomo B.S.B, Sari R.N. 2010. *Pemanfaatan Mikroalga sebagai Bahan Baku Bioetanol*. Squalen Vol. 5 No. 2 Agustus 2010. hh.55-54.
- Basmal, J. 2008. *Peluang dan Tantangan Pemanfaatan Mikroalga sebagai Biofuel*. Squalen Buletin Pascapanen Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. 3 (1): 34-39.
- Handayani. N.A & Ariyanti. D. 2012. *Potensi Mikroalga sebagai Sumber Biomassa dan Pengembangan Produk Turunannya*. Jurnal Teknik. Vol. 33 No. 2 Tahun 2012, ISSN 0852-1697. hh. 62.
- Iris. M.K., dkk. 2008. *Pemanfaatan Jerami Padi dan Alang-Alang dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Kapang *Trichoderma viride* dan Khamis *Saccharomyces cerevisiae**. VIS VITALIS, Vol.01 No.2, tahun 2008.hh.55.
- Kristina, Evi R.S, Novia. 2012. *Alkaline Pretreatment dan Proses Simultan Sakarifikasi-Fermentasi untuk Produksi Etanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit*. Jurnal Teknik Kimia No. 3 Vol. 18 Agustus 2012. hlm. 34.
- L. Broto. S. Kardono. 2010. *Teknologi Pembuatan Etanol Berbasis Lignoselulosa Tumbuhan Tropis untuk Produksi Biogasoline*. Web: <http://km.ristek.go.id>. [13 Januari 2015].
- Widjaja, A. 2009. *Lipid Production from Microalgae As a Promising C Andidate for Biodiesel Production*. Makara Teknologi. 13(1): 47-51.