

Pembuatan Bioetanol Berbahan Baku *Chlorella Pyrenoidosa* Dengan Metode Hidrolisis Asam dan Fermentasi

(Bioethanol Production from *Chlorella pyrenoidosa* Through Acid Hydrolysis and Fermentation Method)

Asyeni Miftahul Jannah^{1*}, Muhammad Yerizam², Muhammad Yori Pratama³, Achmad Reza Aditya Amin¹

¹Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya, Jl. Raya Palembang-Prabumulih KM 32, Inderalaya 30862, Indonesia

²Teknik Kimia Universitas Politeknik Negeri Sriwijaya, Jl. Sriwijaya Negara, Palembang 30137, Indonesia

³Teknik Kimia Universitas Teknologi Bandung, Ganesha 10, Bandung 40132, Indonesia

Inti Sari

Mikroalga, seperti *C. pyrenoidosa* dapat digunakan sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol generasi ketiga. Pemanfaatan karbohidrat mikroalga, seperti *C. pyrenoidosa* untuk produksi bioetanol memiliki tiga tahap utama, yaitu pretreatment bahan baku, hidrolisis, dan fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh hidrolisis asam dan waktu fermentasi pada proses pembuatan bioetanol berbahan baku *C. pyrenoidosa*. *C. pyrenoidosa* dihidrolisis menggunakan asam sulfat dengan konsentrasi yang bervariasi (1, 2, 3, 4 dan 5) % pada suhu 80°C selama 75 menit. Produksi bioetanol dilakukan dengan fermentasi glukosa menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan variasi waktu 1, 2, 3, 4 dan 5 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi glukosa yang didapatkan mengalami peningkatan seiring naiknya konsentrasi asam sulfat dengan konsentrasi glukosa tertinggi, yaitu 5,97 gr/L didapatkan setelah hidrolisis menggunakan larutan asam sulfat 5%. Kadar bioetanol tertinggi, yaitu 19,28% diperoleh dari 5 hari fermentasi sampel hidrolisis 5% asam sulfat.

Kata Kunci: Mikroalga; *C. pyrenoidosa*; Hidrolisis Asam; Fermentasi; Bioetanol

Key Words: Microalgae; *C. pyrenoidosa*; Acid Hydrolysis; Fermentation; Bioethanol

Abstract

Microalgae, such as *C. pyrenoidosa* can be use as one of raw materials for third-generation bioethanol production. Utilization of *C. pyrenoidosa* for bioethanol production through pretreatment, hydrolysis, and fermentation processes. This study aimed to analyze the effect of acid hydrolysis and fermentation time for bioethanol production from *C. pyrenoidosa*. The microalgae cells of *C. pyrenoidosa* were

Published by

Department of Chemical Engineering
Faculty of Industrial Technology
Universitas Muslim Indonesia, Makassar

Address

Jalan Urip Sumohardjo km. 05 (Kampus 2 UMI)
Makassar- Sulawesi Selatan

Email :

jcpe@umi.ac.id

*Corresponding Author

asyeni@ft.unsri.ac.id



Journal History

Paper received : 15 Juli 2022

Received in revised : 23 Mei 2023

Accepted : 04 Juli 2023

hydrolyzed using sulfuric acid with various concentrations (1, 2, 3, 4 and 5) % at 80°C for 75 minutes. Production of bioethanol was carried out by the glucose fermentation process by using *Saccharomyces cerevisiae* with time variations of 1, 2, 3, 4 and 5 days. The result showed that the glucose concentration increased by increasing concentrations of sulfuric acid with the highest glucose concentration of 5.97 gr/L for 5% sulfuric acid hydrolysis. The highest bioethanol content, which was 19.28% was obtained from the sample treated with 5% sulfuric acid hydrolysis and fermented for 5 days.

PENDAHULUAN

Kebutuhan suatu bahan bakar fosil yang sangat tinggi tidak diiringi dengan ketersediaan sumber daya yang masih ada sampai saat ini, dan apabila digunakan dalam jangka panjang maka akan habis dalam beberapa tahun mendatang. Kebutuhan energi yang selama ini kita gunakan untuk berbagai aktivitas bukan berasal dari sumber energi terbarukan tetapi berasal dari sumber energi alam dengan keberadaan yang semakin sedikit [1]. Bioetanol dapat dijadikan bahan bakar pengganti bensin serta sebagai bahan bakar untuk memasak dalam rumah tangga, dan terbuat dari berbagai jenis tanaman dan limbah. Produksi dan penggunaan bahan bakar bioetanol di Indonesia saat ini masih terbatas, hal ini dikarenakan masyarakat masih bergantung pada bahan bakar fosil. Pada awalnya, bioetanol dapat dihasilkan memanfaatkan kandungan karbohidrat yang berasal dari sumber seperti singkong [2] ataupun jagung [3], [4]. Seiring dengan pembaharuan teknologi, bioetanol dapat dihasilkan dari limbah yang mengandung lignoselulosa seperti ampas tebu [5], jerami padi [6]–[9] dan Jerami gandum, serta bahan baku [10] yang mengandung karbohidrat seperti seperti makroalga [11] dan mikroalga [12], [13]. Bioetanol yang dihasilkan dari proses tersebut didapat dari hasil fermentasi glukosa dengan bantuan ragi.

Bioetanol secara umum dibuat dengan beberapa proses tahapan, yaitu pretreatment bahan baku, delignifikasi, hidrolisis, fermentasi, dan purifikasi. Jenis proses yang dibutuhkan dalam pembuatan bioetanol dipengaruhi oleh generasi pembuatan bioetanol. Generasi pertama pembuatan bioetanol merupakan metode pembuatan bioetanol dengan menggunakan bahan pangan. Bioetanol generasi kedua memanfaatkan limbah biomassa sebagai bahan baku dengan mengolah kandungan lignoselulosa yang terdapat pada limbah. Sedangkan produk bioetanol terbaru memanfaatkan kandungan karbohidrat yang ada pada alga baik mikroalga maupun makroalga yang dikenal dengan bioetanol generasi ketiga.

Keunggulan dari bioetanol generasi ketiga adalah cepatnya pertumbuhan dari jenis alga dan cara bertahan yang baik di berbagai lingkungan, sehingga dapat menggantikan bahan baku bioetanol yang terkendala dengan alasan pangan dan terbatasnya ketersediaan limbah pertanian [14]. Pada penelitian ini memanfaatkan mikroalga *C. pyrenoidosa* sebagai bahan baku pada proses pembuatan bioetanol dengan metode hidrolisis menggunakan asam sulfat dan kemudian difermentasikan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Penggunaan asam sulfat pada proses hidrolisis *C. pyrenoidosa* dengan konsentrasi tertentu dan lamanya waktu fermentasi merupakan keterbaruan dari penelitian ini. Hasil dari proses hidrolisis berupa glukosa akan sangat dipengaruhi oleh konsentrasi asam sulfat yang digunakan pada proses hidrolisis. Kadar glukosa yang dihasilkan selanjutnya akan difermentasikan dengan variasi waktu tertentu. Hal ini dimaksudkan untuk mendapatkan waktu optimum konversi glukosa menjadi bioetanol dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*.

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini menggunakan bahan baku berupa mikroalga *C. pyrenoidosa* yang dikembangkan dengan cara kulturasi. Selanjutnya dilakukan proses hidrolisis dan fermentasi untuk mendapatkan produk bioetanol yang diinginkan.

Kultur *C. pyrenoidosa*

Mikroalga *C. pyrenoidosa* diperbanyak dengan mengkultur 500 mL bibit mikroalga di tambahkan dengan 500 mL air tawar ke dalam media dengan diberi oksigen dan lampu supaya membantu mikroalga untuk dapat melakukan fotosintesis. Selanjutnya, mikroalga memasuki fase eksponensial pada hari ke 5 kultivasi dan siap untuk dipanen.

Persiapan bahan baku

Proses penanaman *C. pyrenoidosa* dilakukan pada hari ke 5 dengan menggunakan plankton net. Selanjutnya *C. pyrenoidosa* dikeringkan terlebih dahulu menggunakan sinar matahari untuk

menghilangkan air yang terkandung selama 3 hari hingga beratnya konstan. Kemudian mikroalga digerus menggunakan mortar menjadi membentuk bubuk.

Hidrolisis

Pada proses hidrolisis digunakan bahan baku mikroalga kering sebanyak 20 g yang selanjutnya diletakkan dalam erlenmeyer berukuran 250 mL. Selanjutnya dituangkan sebanyak 200 mL larutan H₂SO₄ dengan konsentrasi sebesar 1, 2, 3, 4, dan 5%. Sampel dihidrolisis menggunakan *hotplate* pada temperatur 80°C dengan waktu hidrolisis selama 75 menit. Setelah waktu hidrolisis selesai, larutan sampel didinginkan hingga mencapai suhu kamar. Setelah itu, dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan residu hasil hidrolisis menggunakan kertas saring whatman 93 dengan ukuran pori 10 mikron. Sampel filtrat kemudian dianalisa untuk mengetahui kadar glukosa dengan metode *Luffschoorl*.

Analisa *Luffschoorl* dilakukan dengan menimbang seksama sebanyak 5 g sampel yang diletakkan ke dalam erlenmyer berukuran 500 mL dan dicampurkan dengan 200 mL larutan HCl 3%. Selanjutnya sampel ini kemudian dipanaskan selama 3 jam. Sampel selanjutnya dibiarkan pada suhu ruangan dan ditambahkan larutan NaOH 30% dan CH₃COOH 3% agar pH menjadi asam. Kemudian sampel disaring. Sebanyak 10 mL sampel disaring dan dimasukkan ke erlenmeyer berukuran 500 mL, lalu ditambahkan 25 mL larutan *Luffschoorl* dan 15 mL aquadest. Larutan dipanaskan hingga mendidih selama 3 menit. Didihkan terus selama tepat 10 menit (dihitung dari saat mulai mendidih) kemudian dinginkan di dalam wadah berisi es. Setelah dingin, tambahkan 15 mL larutan KI 20%, dan 25 mL H₂SO₄ 25% secara perlahan. Titar secepatnya dengan menggunakan larutan tio 0,1 N dan larutan kanji 0,5 % sebagai indikator. Kemudian volume larutan tio yang digunakan dicatat dan digunakan pada blanko *Luffschoorl* untuk menghitung glukosa yang terkandung. Kandungan glukosa dihitung menggunakan rumus (1).

$$\text{kadar glukosa} = \frac{W_1 \times f_p}{W} \times 100\% \dots (1)$$

Keterangan :

W1 = bobot cuplikan (mg)

Fp = faktor pengenceran

W = glukosa yang terkandung untuk ml tio yang dipergunakan (mg)

Fermentasi

Hidrolisat berupa larutan diambil kemudian pH-nya larutan diatur hingga mencapai pH 4,8 dengan cara menambahkan larutan NaOH 100-150 mL. Kemudian larutan diaduk menggunakan stirrer hingga homogen. Filtrat ditambahkan dengan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) sebanyak 1% (w/v) dari volume larutan sampel. Selanjutnya sampel diaduk menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan putaran 220 rpm selama 1 menit bertujuan agar larutan homogen. Pada proses fermentasi, erlenmeyer ditutup dengan menggunakan gabus, kemudian bagian corong erlenmeyer disambungkan ke wadah pendingin dengan menggunakan selang dengan tujuan untuk mencegah kontaminasi udara pada proses fermentasi. Sampel difermentasi dengan variasi 1, 2, 3, 4, dan 5 hari di dalam inkubator dengan suhu 30°C.



Gambar 1. Proses Pembuatan Bioetanol Berbahan Baku *C. pyrenoidosa*

Purifikasi

Hasil fermentasi kemudian dipurifikasi dengan menggunakan proses distilasi. Bioetanol yang telah dipurifikasi disimpan dalam keadaan tertutup rapat, dan dimasukkan kedalam lemari pendingin dengan suhu $< 5^{\circ}\text{C}$ untuk menghindari terjadinya penguapan. Analisa kadar bioetanol dilakukan dengan menggunakan metode pengukuran densitas. Pengukuran densitas setiap sampel menggunakan piknometer 5 mL. Piknometer 5 mL disiapkan lalu ukur berat kosong, lalu di isi penuh piknometer dengan bioetanol dan ukur beratnya dan densitas zat padat diukur dengan rumus:

$$\text{Densitas} = \frac{m \text{ piknometer isi zat} - m \text{ piknometer kosong}}{\text{volume}} \dots (2)$$

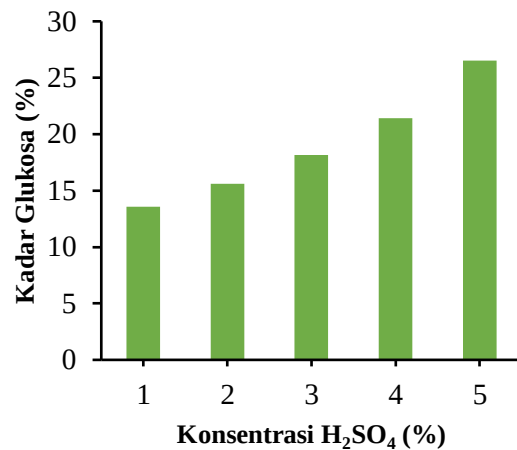
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Konsentrasi H_2SO_4 pada Proses Hidrolisis

Pada penelitian ini, proses hidrolisis melibatkan asam sulfat dengan variasi konsentrasi 1-5% pada temperatur 80°C dan waktu 75 menit. Gambar 2. menunjukkan hubungan antara konsentrasi larutan asam sulfat yang digunakan pada proses hidrolisis dengan kadar glukosa yang dihasilkan. Hidrolisis menggunakan larutan 5% asam sulfat menunjukkan kadar glukosa tertinggi, yaitu 26,52%. Hasil hidrolisis dengan kadar glukosa terendah dihasilkan pada penggunaan larutan 1% H_2SO_4 , yaitu kadar glukosa 13,57%. Perubahan yang terjadi terhadap hasil hidrolisis *C. pyrenoidosa* menggunakan konsentrasi yang berbeda, terlihat jelas bahwa konsentrasi glukosa yang dihasilkan akan meningkat jika konsentrasi larutan H_2SO_4 yang digunakan semakin banyak. Pengaruh konsentrasi larutan H_2SO_4 yang digunakan memengaruhi kadar glukosa yang dihasilkan pada proses fermentasi. Peningkatan konsentrasi larutan asam dan penggunaan asam kuat akan meningkatkan hasil kadar glukosa setelah proses hidrolisis.

Peningkatan kadar glukosa yang dihasilkan dari hidrolisis selaras dengan hasil studi yang dilakukan [15] yang menggunakan bahan baku mikroalga dengan genus yang sama. Berdasarkan hasil yang didapatkan, hidrolisis *C. pyrenoidosa* menggunakan 5% larutan H_2SO_4 menghasilkan konsentrasi glukosa

sebesar 5,972 g/L. Hidrolisis dengan mikroalga juga pernah diteliti sebelumnya dengan menggunakan enzim selulase, menghasilkan konsentrasi glukosa tertinggi sebesar 5,35 g/L [16]. Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan larutan asam sulfat dalam proses hidrolisis memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan penggunaan enzim selulase berdasarkan konsentrasi glukosa yang dihasilkan.



Gambar 2. Pengaruh Larutan H_2SO_4 Terhadap Kadar Glukosa Hasil Hidrolisis

Pada penelitian ini, asam kuat mampu mengkonversikan karbohidrat menjadi glukosa secara efektif pada suhu 80°C selama 75 menit. Semakin besar konsentrasi H_2SO_4 yang digunakan, maka kadar karbohidrat yang terkonversi menjadi glukosa semakin besar. Asam kuat dapat bereaksi memecah karbohidrat menjadi glukosa. Konsentrasi asam yang rendah dengan suhu tinggi lebih diinginkan daripada konsentrasi asam yang tinggi karena tidak akan menyebabkan degradasi gula selama proses hidrolisis berlangsung [17]. Selain itu, mengurangi potensi terbentuknya menjadi senyawa lain yang tidak menguntungkan yang difermentasi. Demikian juga, konsentrasi asam yang rendah lebih memadai dari pada konsentrasi asam yang tinggi karena jumlah zat penetral yang lebih sedikit diperlukan dan akan ada lebih sedikit kecenderungan untuk menimbulkan korosi pada peralatan eksperimen. Asam yang ditambahkan dalam proses hidrolisis bertindak sebagai katalis untuk mempercepat reaksi terminasi rantai polisakarida terhadap glukosa karena proses hidrolisis alami menggunakan air untuk waktu yang sangat lama. Ini secara tidak langsung dapat

meningkatkan konversi bioetanol yang dihasilkan [18].

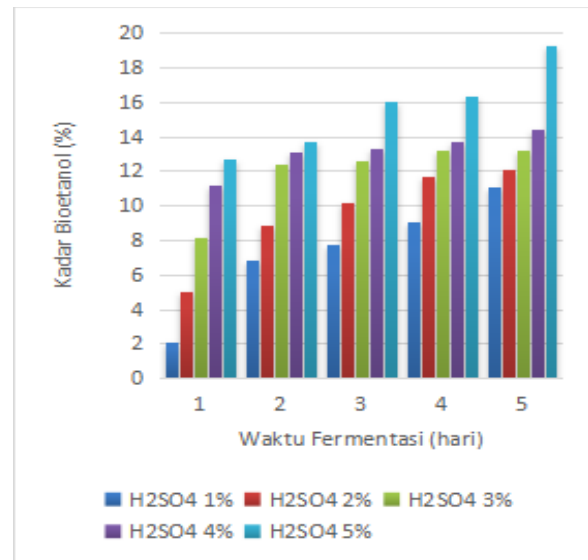
Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol

Proses selanjutnya dari penelitian ini adalah fermentasi glukosa untuk menghasilkan bioetanol. Proses fermentasi ini bertujuan untuk mengubah glukosa hasil hidrolisis menjadi bioetanol dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*. Proses diawali oleh pembuatan starter dengan cara penambahan NaOH pada sampel hasil hidrolisis dengan tujuan untuk mengkondisikan pH sampel agar bakteri dapat hidup pada kondisi tersebut. Selain itu, penambahan NaOH ini bertujuan untuk menaikkan pH dari larutan hidrolisis, Mulanya larutan hasil hidrolisis dengan menggunakan asam sulfat yang memiliki pH 1 kemudian dilakukan penambahan NaOH sebanyak 100-150 mL sampai mencapai pH 4-5. Proses pengaturan pH ini bertujuan untuk mengoptimalkan proses aktivasi karena *Saccharomyces cerevisiae* tidak bertahan pada larutan yang terlalu asam. Setelah mencapai pH 4-5, diambil 200 ml larutan glukosa yang sudah sesuai pH nya dan dilakukan penambahan nutrisi yang berupa NPK 1% (w/v) dari volume sampel.

Selain sebagai sumber nitrogen, NPK juga merupakan sumber fosfor dan kalium bagi *Saccharomyces cerevisiae*. Unsur N berguna untuk proses terbentuknya unsur penting seperti asam nukleat dan asam-asam amino. Sedangkan unsur K merupakan ko-faktor enzim, dan unsur P berguna untuk sintesis, adenosin trifosfat (ATP) dan senyawa yang mengandung fosfor. Penelitian ini dilakukan dengan penambahan nutrisi NPK sebanyak 1% (w/v) untuk proses fermentasi. Setelah dilakukan penambahan nutrisi kemudian dilakukan penambahan *Saccharomyces cerevisiae*, campuran kemudian diaduk dengan *rotary shaker* pada 220 rpm selama 1 menit dengan tujuan agar larutan menjadi homogen. Hasil yang didapat dari fermentasi dapat dilihat pada Gambar 3.

Pada Gambar 3. menunjukkan kadar bioetanol yang diproduksi oleh selama proses fermentasi berlangsung. Produksi bioetanol tertinggi sebesar 19,28% diperoleh pada perlakuan hidrolisis asam sulfat 5% dan waktu fermentasi 5 hari, sedangkan produksi bioetanol terendah terdapat pada perlakuan hidrolisis asam sulfat 1% dan waktu

fermentasi 1 hari, yaitu 2,13%. Terlihat dari data, produksi bioetanol terus meningkat dalam kurun 5 hari. Besarnya kadar bioetanol yang dihasilkan pada sampel perlakuan hidrolisis H_2SO_4 5% disebabkan oleh banyaknya glukosa yang dihasilkan pada proses hidrolisis sebelumnya. Sehingga, keseluruhan glukosa yang dihasilkan pada hidrolisis berpeluang dapat dikonversikan menjadi bioetanol dengan jumlah yang lebih banyak dibanding perlakuan menggunakan konsentrasi H_2SO_4 yang lebih rendah.



Gambar 3. Pengaruh Waktu Fermentasi dan Kadar H_2SO_4 terhadap Kadar Bioetanol

Lama waktu fermentasi sangat mempengaruhi jumlah kadar bioetanol yang dihasilkan. Dalam jangka waktu 5 hari, glukosa dapat terfermentasi menjadi bioetanol lebih banyak dibandingkan proses fermentasi pada rentang waktu kurang dari 5 hari. Kondisi ini terjadi karena waktu fermentasi yang kurang dari 5 hari pada sampel, masih terdapat kandungan glukosa yang belum terfermentasi oleh ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Selain itu, ragi *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan hingga waktu fermentasi 5 hari masih berada pada kondisi optimum untuk mengkonversi glukosa menjadi bioetanol. Hal ini juga dipengaruhi oleh nutrisi yang diberikan pada larutan sampel. Nutrisi yang ada berfungsi agar ragi dapat tetap bertahan hidup dalam rentang waktu 5 hari. Penelitian dengan melibatkan *Sacharomyces cerevisiae* pada proses fermentasi sangat umum digunakan, namun hasil bioetanol yang didapat berbeda-beda tergantung dengan bahan baku

yang digunakan. Pada penelitian dengan menggunakan bahan baku yang sama dan melibatkan *Sacharomyces cerevisiae* pada proses fermentasinya yang dilakukan oleh Yerizam, fermentasi 5 hari hanya mampu menghasilkan konsentrasi bioetanol sebesar 6,19% [19]. Konsentrasi bioetanol yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki kadar yang lebih besar dibandingkan penelitian sebelumnya.

KESIMPULAN

Kandungan karbohidrat yang terdapat dalam *C. pyrenoidosa* sebagai bahan baku dapat dikonversikan menjadi glukosa menggunakan asam sulfat dengan hasil maksimum 5% konsentrasi asam sulfat yang digunakan menghasilkan 5,972 g/L glukosa. Serta lamanya waktu fermentasi glukosa menghasilkan kadar bioetanol lebih banyak. Kadar bioetanol tertinggi, yaitu 19,28% setelah fermentasi 5 hari sampel hidrolisis 5% H₂SO₄.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. Bin Arif, A *et al.*, “Optimasi Waktu Fermentasi Produksi Bioetanol Dari Dedak Sorgun Manis (*Sorghum Bicolor* L) Melalui Proses Enzimatis,” *J. Penelit. Pascapanen Pertan.*, vol. 14, no. 2, p. 11, 2017, doi: 10.21082/jpasca.v14n2.2017.67-78.
- [2] A. Bušić *et al.*, “Bioethanol Production From Renewable Raw Materials And Its Separation And Purification: A Review,” *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 56, no. 3, pp. 289–311, 2018, doi: 10.17113/ftb.56.03.18.5546.
- [3] H. S. Tira *et al.*, “Karakteristik fisik dan kimia bioetanol dari jagung (*Zea mays* L),” *Din. Tek. Mesin*, vol. 8, no. 2, pp. 77–82, 2018, doi: 10.29303/dtm.v8i2.231.
- [4] 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.
- [5] E. Restiawaty *et al.*, “Bioethanol Production from Sugarcane Bagasse Using *Neurospora Intermedia* in an Airlift Bioreactor,” *Int. J. Renew. Energy Dev.*, vol. 9, no. 2, pp. 247–253, 2020, doi: 10.14710/ijred.9.2.247-253.
- [6] M. R. Swain *et al.*, “Bioethanol Production From Rice- and Wheat Straw: An Overview,” *Bioethanol Prod. from Food Crop.*, no. January, pp. 213–231, 2019, doi: 10.1016/b978-0-12-813766-6.00011-4.
- [7] W. Xing *et al.*, “Novel Dihydrogen-bonding Deep Eutectic Solvents: Pretreatment of Rice Straw for Butanol Fermentation Featuring Enzyme Recycling and High Solvent Yield,” *Chem. Eng. J.*, vol. 333, no. June 2017, pp. 712–720, 2018, doi: 10.1016/j.cej.2017.09.176.
- [8] M. K. Hassan *et al.*, “Energy and Environmental Impact Assessment of Indian Rice Straw For The Production of Second-Generation Bioethanol,” *Sustain. Energy Technol. Assessments*, vol. 47, no. August, p. 101546, 2021, doi: 10.1016/j.seta.2021.101546.
- [9] K. Gupta and T. S. Chundawat, “Zinc Oxide Nanoparticles Synthesized Using *Fusarium Oxysporum* to Enhance Bioethanol Production From Rice-Straw,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 143, no. July, p. 105840, 2020, doi: 10.1016/j.biombioe.2020.105840.
- [10] B. Tsegaye *et al.*, “Optimization of Microwave and NaOH Pretreatments of Wheat Straw for Enhancing Biofuel Yield,” *Energy Convers. Manag.*, vol. 186, pp. 82–92, 2019, doi: 10.1016/j.enconman.2019.02.049.
- [11] I. S. Tan *et al.*, “Advances of Macroalgae Biomass For The Third Generation Of Bioethanol Production,” *Chinese J. Chem. Eng.*, vol. 28, no. 2, pp. 502–517, 2020, doi: 10.1016/j.cjche.2019.05.012.
- [12] M. E. S. Smachetti *et al.*, *Microalgal Biomass as an Alternative Source of Sugars for the Production of Bioethanol*, no. August. 2018.
- [13] A. Raheem *et al.*, “A review on Sustainable Microalgae Based Biofuel and Bioenergy Production: Recent Developments,” *J. Clean. Prod.*, vol. 181, pp. 42–59, 2018, doi: 10.1016/j.jclepro.2018.01.125.
- [14] M. Jeguirim and L. Limousy, “Strategies for Bioenergy Production from Agriculture and Agrifood Processing Residues,” *Biofuels*, vol. 9, no. 5, pp. 541–543, 2018, doi: 10.1080/17597269.2018.1506277.
- [15] A. Z. Yaser, *Engineering for Campus Sustainability*. Springer International Publishing, 2020.

- [16] W. O. Putri *et al.*, “Pengaruh pH Pada Proses Hidrolisis Mikro Alga *Chlorella Vulgaris* Menjadi Glukosa Menggunakan Enzim Selulase,” *JOM FTEKNIK*, vol. 2, no. 1, pp. 1–5, 2015.
- [17] L. M. Chng *et al.*, “Synergistic Effect of Pretreatment and Fermentation Process on Carbohydrate-Rich *Scenedesmus dimorphus* for Bioethanol Production,” *Energy Convers. Manag.*, 2016, doi: 10.1016/j.enconman.2016.10.026.
- [18] F. Putri, *et al.*, “Starch Producing in Microalga Biomass as a Raw Material for Bioethanol,” in *MATEC Web of Conferences*, 2018, vol. 13018, pp. 1–4, doi: <https://doi.org/10.1051/mateconf/201819713018>.
- [19] M. Yerizam *et al.*, “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.