

**OPTIMALISASI ASAM DAN SUHU HIDROLISIS PADA MIKROALGA
Nannochloropsis sp. DALAM MENGHASILKAN GULA REDUKSI**

SKRIPSI

**Oleh:
ROFIQA ILHAMI
NIM. 210602110073**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025**

**OPTIMALISASI ASAM DAN SUHU HIDROLISIS PADA MIKROALGA
Nannochloropsis sp. DALAM MENGHASILKAN GULA REDUKSI**

SKRIPSI

**Oleh:
ROFIQA ILHAMI
NIM. 210602110073**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk Memenuhi
Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025**

**OPTIMALISASI ASAM DAN SUHU HIDROLISIS PADA MIKROALGA
Nannochloropsis sp. DALAM MENGHASILKAN GULA REDUKSI**

SKRIPSI

Oleh:
ROFIQA ILHAMI
NIM. 210602110073

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal: 03 Juni 2025

Pembimbing I


Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002

Pembimbing II


Kivah Aha Putra, M.Pd.
NIPPPK. 19900425 202321 1 024



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi


Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002

**OPTIMALISASI ASAM DAN SUHU HIDROLISIS PADA MIKROALGA
Nannochloropsis sp. DALAM MENGHASILKAN GULA REDUKSI**

SKRIPSI

Oleh:
ROFIQA ILHAMI
NIM. 210602110073

Telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 20 Juni 2025

Ketua Penguji	: Ir. Liliek Haranie, M.P.	(.....)
	NIP. 19620901 199803 2 001	
Anggota Penguji I	: Bayu Agung Prahardika, M.Si	(.....)
	NIP. 19900807 201903 1 011	
Anggota Penguji II	: Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.	(.....)
	NIP. 19741018 200312 2 002	
Anggota Penguji III	: Kivah Aha Putra, M.Pd.I	(.....)
	NIPPPK. 19900425 202321 1 024	

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang



Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan untuk semua pihak yang telah mendukung penulis dalam penyusunan, khususnya:

1. Ibuku tercinta Sarwiyah dan Bapakku sayang Moh Ridha R. Terima kasih atas semua pengorbanan dan supportnya, yang meyakinkan kakak bahwa kakak bisa menyelesaikan skripsi ini dikala kesibukan kakak yang lain sebagai seller. Terima kasih atas tulus cinta dan do'a nya yang atas izin Allah semuanya dipermudah sehingga kakak bisa menyelesaikan tugas akhir ini tepat waktu.
2. Adikku tercinta, Raffi Dwi Alham yang menjadi motivasi kakak untuk menjadi panutannya, terima kasih telah memberikan doa dan semangat untuk kakak.
3. Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P dan Bapak Kivah Aha Putra, M.Pd.I selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu untuk memberikan bimbingan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
4. Teman-teman "Tadika Mesra" yang selalu kebersamaai selama masa perkuliahan ini. Terima kasih atas pengalaman, waktu, dan ilmu yang telah kita jalani bersama-sama.
5. Seseorang yang tak kalah penting kehadirannya sebelum awal penulis masuk perkuliahan dan sampai penyelesaian studi ini (Abdullah). Tempat aku berkeluh kesah, terima kasih atas kehadirannya yang meskipun terpisah dengan jarak, namun kehadirannya, dukungannya, dan caranya dalam mengubah mindsetku yang membuatku yakin bisa menyelesaikan ini tepat waktu "Tawakkal 'alā Allāh, wa lā tufakkir katsīran".
6. Diri sendiri yang telah berjuang, terima kasih selama empat tahun kuliah dan menyelesaikan skripsi ini, air matamu tidak pernah jatuh karena tugas-tugas kuliah. Terima kasih sudah menjadi kuat, dan 1% untuk lebih baik dari hari ke hari.

Sekian lembar persembahan yang sederhana ini, semoga karya ini dapat bermanfaat khususnya bagi saya sendiri dan orang lain. Kebesaran dan kesempurnaan hanya milik Tuhan semesta Alam Allah SWT. Kekurangan dan kelemahan sudah menjadi kodrat dari hambaNya. *Wallahua'lam*.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rofiqa Ilhami
NIM : 210602110073
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Optimalisasi Asam Dan Suhu Hidrolisis Pada
Mikroalga *Nannochloropsis* sp. Dalam Menghasilkan
Gula Reduksi

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 25 Juni 2025

Yang membuat pernyataan,



Rofiqa Ilhami

NIM. 210602110073

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

OPTIMALISASI ASAM DAN SUHU HIDROLISIS PADA MIKROALGA *Nannochloropsis* sp. DALAM MENGHASILKAN GULA REDUKSI

Rofiqa Ilhami, Evika Sandi Savitri, Kivah Aha Putra

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Mikroalga merupakan organisme fotosintetik mikroskopik yang hidup di lingkungan perairan. Salah satu jenis mikroalga, *Nannochloropsis* sp., diketahui memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi sehingga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam produksi senyawa turunan seperti gula reduksi yang dapat dimanfaatkan sebagai pemanis, pewarna alami dalam industri pangan, bahan baku bioetanol, serta memiliki aplikasi dalam industri farmasi dan bioproses. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan gula total serta pengaruh variasi konsentrasi asam sulfat (H_2SO_4) dan suhu terhadap kadar gula reduksi hasil hidrolisis biomassa *Nannochloropsis* sp.. Metode penelitian meliputi perhitungan kadar gula total menggunakan metode fenol sulfat, serta perlakuan hidrolisis dengan variasi konsentrasi asam dan suhu. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa kadar gula total yang diperoleh sebesar 264,89 mg/L. Perlakuan terbaik terdapat pada kombinasi 3% H_2SO_4 dan suhu 120 °C, menghasilkan kadar gula reduksi tertinggi sebesar 1447,43 mg/L, sedangkan perlakuan dengan suhu 100 °C pada konsentrasi yang sama menghasilkan kadar terendah sebesar 392,43 mg/L. Penelitian ini memberikan dasar ilmiah dalam optimalisasi proses hidrolisis mikroalga sebagai sumber gula reduksi untuk mendukung pengembangan produk berbasis biomassa.

Kata Kunci: Gula Reduksi, Hidrolisis Asam, Mikroalga, *Nannochloropsis* sp.

OPTIMALIZATION OF ACID CONCENTRATION AND HYDROLYSIS TEMPERATURE OF THE MICROALGA *Nannochloropsis* sp. FOR REDUCING SUGAR PRODUCTION

Rofiqah Ilhami, Evika Sandi Savitri, Kivah Aha Putra

Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam
Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Microalgae are microscopic photosynthetic organisms that live in aquatic environments. One type of microalgae, *Nannochloropsis* sp., is known to have a high carbohydrate content so that it has the potential to be utilized as a raw material in the production of derivative compounds such as reduced sugar which can be used as a sweetener, natural coloring in the food industry, bioethanol raw material, and has applications in the pharmaceutical and bioprocessing industries. This study aims to determine the total sugar content and the effect of variations in sulfuric acid concentration (H_2SO_4) and temperature on reducing sugar content from the hydrolysis of *Nannochloropsis* sp. biomass. The research method includes the calculation of total sugar content using the phenol sulfate method, as well as hydrolysis treatment with variations in acid concentration and temperature. The calculation results showed that the total sugar content obtained was 264.89 mg/L. The best treatment was found in the combination of 3% H_2SO_4 and 120°C temperature, producing the highest reduced sugar content of 1447.43 mg/L, while treatment with 100°C temperature at the same concentration produced the lowest level of 392.43 mg/L. This research provides a scientific basis in optimizing the microalgae hydrolysis process as a source of reducing sugar to support the development of biomass based products.

Keywords: Reducing Sugar, Acid Hydrolysis, Microalgae, *Nannochloropsis* sp.

كمصدر لإنتاج الإيثانول الحي. *Nannochloropsis* sp. تحسين تركيز الحمض ودرجة حرارة التحلل المائي في إنتاج السكر المختزل

رفيق إلهامي، وإيفيكا ساندي سافيتري، وكيفا آها بوترا

قسم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج إندونيسيا

الملخص

الكلمات المفتاحية: الإيثانول الحيوي، السكريات المختزلة، التحلل الحمضي، الطحالب الدقيقة
الطحالب المجهرية هي كائنات مجهرية تقوم بعملية التمثيل الضوئي وتعيش في البيئات المائية. ومن المعروف أن أحد
يحتوي على نسبة عالية من الكربوهيدرات بحيث يمكن *Nannochloropsis* sp. أنواع الطحالب المجهرية، وهو
استخدامه كمادة خام في إنتاج مركبات مشتقة مثل السكر المختزل الذي يمكن استخدامه كمُحلي وملون طبيعي
في صناعة الأغذية ومواد خام للإيثانول الحيوي، وله تطبيقات في الصناعات الدوائية والمعالجة الحيوية. تهدف هذه
ودرجة الحرارة (H_2SO_4) الدراسة إلى تحديد المحتوى الكلي للسكر وتأثير الاختلافات في تركيز حمض الكبريتيك
تتضمن طريقة البحث حساب sp. على اختزال محتوى السكر من التحلل المائي للكتلة الحيوية لنانوكلوروبسيس
المحتوى الكلي للسكر باستخدام طريقة كبريتات الفينول، بالإضافة إلى معالجة التحلل المائي مع اختلافات في تركيز
الحمض ودرجة الحرارة. أظهرت نتائج الحساب أن المحتوى الكلي للسكر الذي تم الحصول عليه كان 264,89
ودرجة حرارة 120 درجة مئوية، حيث أنتجت H_2SO_4 3٪/مجم/لتر. تم العثور على أفضل معالجة في مزيج من 3
أعلى محتوى سكر مختزل بلغ 1447.43 ملغم/لتر، بينما أنتجت المعالجة بدرجة حرارة 100 درجة مئوية بنفس
التركيز أدنى مستوى بلغ 392.43 ملغم/لتر. ويوفر هذا البحث أساسًا علميًا في تحسين عملية التحلل المائي
للطحالب الدقيقة كمصدر للسكر المختزل لدعم تطوير المنتجات القائمة على الكتلة الحيوية.

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmaanirrohiim, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal yang berjudul “Optimalisasi Asam Dan Suhu Hidrolisis Pada Mikroalga *Nannochloropsis* sp. Dalam Menghasilkan Gula Reduksi”. Tidak lupa pula shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakkan diinul Islam yang terpatri hingga akhirul zaman. Aamiin.

Berkat bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak maka penulis mengucapkan terima kasih yang tak terkira, khususnya kepada:

1. Prof. Dr. H.M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. Hj. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. dan Kivah Aha Putra M.Pd.I selaku pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Suyono, MP. selaku Dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
6. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
7. Ayah dan Ibuku serta keluarga tercinta yang telah memberikan doa, dukungan serta motivasi kepada penulis.
8. Teman-teman seperjuangan Biologi.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Proposal ini sudah ditulis secara cermat dan sebaik-baiknya, namun apabila ada kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

Malang, Juni 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
PEDOMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
المخلص.....	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.5 Batasan Masalah.....	7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga	8
2.1.1 <i>Nannochloropsis</i> sp.	9
2.3 Komposisi Kimia <i>Nannochloropsis</i> sp.....	11
2.3.1 Karbohidrat	11
2.3.2 Selulosa	11
2.4.3 Hemiselulosa	12
2.5 Hidrolisis	13
2.5.1 Konsentrasi Asam	14
2.5.2 Suhu Hidrolisis.....	15
2.5.3 Gula Reduksi	16

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian	18
3.2 Variabel Penelitian.....	18
3.2.1 Variabel Bebas.....	18
3.2.2 Variabel Terikat.....	18
3.2.3 Variabel Kontrol	18
3.3 Waktu Dan Tempat	18
3.4 Alat dan Bahan	19
3.4.1 Alat.....	19
3.4.2 Bahan.....	19
3.5 Kerangka Umum Penelitian	19

3.6 Prosedur Penelitian	20
3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	20
3.6.2 Sumber dan Persiapan Biomassa Mikroalga	20
3.6.3 Analisis Karbohidrat Fenol-Asam Sulfat	20
3.6.4 Hidrolisis	21
3.7 Analisis Data	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Kandungan Gula Total <i>Nannochloropsis</i> sp.	23
4.2 Kadar Gula Reduksi	25
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	34
5.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA.....	35
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi <i>Nannochloropsis</i> sp.....	10
2.2 Proses penguraian selulosa menjadi glukosa	12
2.3 Struktur kimia hemiselulosa.....	13
2.4 Reaksi hidrolisis selulosa dengan asam	14
2.5 Reaksi antara DNS dan gula pereduksi.....	17
4.6 Pengaruh Konsentrasi Asam dan Suhu pada Kadar Gula Reduksi (mg/L).....	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi Penelitian	48
2. Perhitungan Kadar Gula Total dan Gula Reduksi <i>Nannochloropsis</i> sp.	51
3. Grafik Kurva Standar Glukosa.....	52
4. Data Perlakuan Semua Ulangan.....	53
5. Hasil Analisis Two Way ANOVA.....	54

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroalga merupakan organisme fotosintetik mikroskopik yang hidup di lingkungan perairan, baik air tawar maupun laut, dan memiliki potensi besar dalam berbagai bidang seperti pangan, pakan, kesehatan, farmasi, dan energi terbarukan. Keunggulan mikroalga terletak pada kemampuannya tumbuh dengan cepat, tidak memerlukan lahan pertanian subur, serta mampu beradaptasi dalam berbagai kondisi lingkungan ekstrem, termasuk perairan limbah (Silva & Bertucco, 2016).

Segala hal telah dibentuk dengan memiliki karakteristik serta kadarnya masing-masing. Sebagaimana firman Allah pada QS: al-Qamar : 49 yaitu:

إِنَّ كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya: “*Sungguh, Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”.

Tafsir Al-Misbah menjelaskan bahwa ayat ini merupakan penegasan bahwa tidak ada satu pun ciptaan Allah yang terjadi secara kebetulan atau tanpa perhitungan. Segala sesuatu diciptakan dengan ukuran, ketetapan, dan keseimbangan tertentu. Hal ini tampak dalam fenomena alam, termasuk mikroorganisme seperti mikroalga, yang memiliki peran spesifik dan kapasitas terbatas dalam menjaga ekosistem (Shihab, 2007). Tafsir at-Thabari menjelaskan bahwa ayat tersebut menegaskan adanya takdir dan ketentuan yang telah digariskan Allah terhadap seluruh makhluk-Nya. Segala sesuatu, baik jumlah, sifat, maupun fungsi makhluk hidup di bumi, telah diciptakan dalam batas dan ukuran yang sesuai.

Tafsir Al-Misbah dan Tafsir At-Thabari keduanya menekankan bahwa setiap makhluk diciptakan dengan kadar, fungsi, dan batas tertentu yang telah ditetapkan oleh Allah. Pemahaman ini menunjukkan bahwa keteraturan alam bukanlah hasil kebetulan, melainkan buah dari sistem yang telah diatur secara sempurna. Penciptaan mikroorganisme seperti mikroalga, dengan segala potensi dan keterbatasannya, menjadi bagian dari keseimbangan tersebut.

Salah satu wujud dari ketentuan dan ukuran tersebut seperti kandungan senyawa bioaktif pada mikroalga. Mikroalga mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti protein, lipid, dan karbohidrat yang cukup besar. Polisakarida struktural mikroalga seperti selulosa dan hemiselulosa berfungsi sebagai kerangka mekanik dinding sel. Proses hidrolisis dapat memutus ikatan glikosidik pada polisakarida tersebut sehingga menghasilkan monosakarida (glukosa, xilosa, arabinosa). Monosakarida tersebut dapat diolah menjadi berbagai produk, seperti bioetanol, asam laktat, bioplastik (polihidroksialkanoat), dan prekursor kimia (asam sitrat, sorbitol), ataupun sebagai substrat dalam fermentasi industri farmasi dan pangan. Karakteristik ini menjadikan mikroalga sebagai sumber biomassa alternatif yang dapat dikembangkan dalam mendukung pembangunan berkelanjutan dan diversifikasi sumber daya hayati (Agustini *et al.*, 2019).

Karbohidrat berbasis mikroalga yang sebagian besar berupa pati dan selulosa tanpa keberadaan lignin, menjadi lebih mudah diubah menjadi monosakarida dibandingkan dengan bahan lignoselulosa (Harun *et al.*, 2010). Kandungan karbohidrat pada mikroalga ditentukan oleh perbedaan spesies dan kondisi lingkungan tempat tumbuhnya (Markou *et al.*, 2013). *Chlorella* sp. mengandung karbohidrat sebesar (19,5%) (Phukan *et al.*, 2011), *Chlorella vulgaris* (20,99%)

(Wang *et al.*, 2013), *Nannochloropsis* sp. (22,70%), *Euglena gracilis* (14%) (Alam *et al.*, 2015), dan *Tetraselmis maculate* (15%) (Sudhakar *et al.*, 2017). Pemanfaatan kandungan karbohidrat pada mikroalga tersebut sudah banyak diteliti dalam berbagai studi. Sementara itu, penelitian mengenai potensi karbohidrat pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. masih sangat terbatas dan belum banyak dikembangkan.

Nannochloropsis sp. merupakan salah satu jenis mikroalga laut yang memiliki potensi tinggi dalam pengembangan berbagai produk berbasis biomassa karena kandungan karbohidratnya yang relatif tinggi dan struktur dinding sel yang khas. Komposisi biokimia *Nannochloropsis* sp. diketahui terdiri atas 40,30% karbohidrat, 39,07% protein, dan 14,44% lemak (Gonzales-Lopes *et al.*, 2013; Arnata *et al.*, 2013). Karbohidrat yang tersimpan dalam mikroalga ini umumnya terletak di dalam dan sekitar dinding sel, yang sebagian besar tersusun atas selulosa hingga mencapai 75% dari total biomassa (Scholz *et al.*, 2014). Karbohidrat tersebut dapat diuraikan menjadi senyawa gula sederhana seperti gula reduksi, yang dapat digunakan dalam berbagai aplikasi, seperti industri pangan, farmasi, bioproses, dan diagnostik. Mata *et al.* (2010) menyatakan bahwa kandungan karbohidrat *Nannochloropsis* sp. dapat ditingkatkan hingga 90% dengan memperbaiki proses pra-perlakuan mikroalga. Kandungan karbohidrat yang cukup tinggi tersebut dapat menghasilkan gula pereduksi.

Gula pereduksi adalah kemampuan gula untuk mereduksi, yang disebabkan oleh adanya gugus aldehida atau keton bebas. Senyawa yang mengoksidasi atau merupakan agen pereduksi adalah logam pengoksidasi seperti Cu (II). Contoh gula yang termasuk gula pereduksi adalah glukosa, fruktosa, laktosa, maltosa, dan lain-

lain. Monosakarida maupun disakarida memiliki sifat pereduksi sehingga kelompok ini sering disebut gula pereduksi (Mottram *et al.*, 2017). Sifat mereduksi suatu gula ditentukan oleh ada tidaknya gugus hidroksil bebas yang reaktif. Prinsip analisis didasarkan pada monosakarida yang memiliki kemampuan mereduksi suatu senyawa, adanya polimerisasi monosakarida mempengaruhi sifat pereduksinya (Nurcahyani *et al.*, 2022). Gula reduksi dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi, termasuk sebagai sumber energi, bahan baku pembuatan bioetanol, indikator kualitas produk makanan, dan dalam reaksi Maillard untuk menentukan rasa makanan (Bulal *et al.*, 2021).

Proses hidrolisis diperlukan untuk melepaskan karbohidrat dari dinding sel mikroalga, yang dapat menghasilkan gula reduksi. Hidrolisis bertujuan untuk mengurai dinding sel dan melepaskan polisakarida melalui konversi karbohidrat menjadi gula sederhana (Herawati *et al.*, 2021). Hidrolisis asam memiliki beberapa keunggulan, di antaranya adalah menghasilkan etanol dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan hidrolisis enzimatik. Proses hidrolisis ini juga berlangsung lebih cepat karena melibatkan pemutusan acak ikatan glikosidik (Taherzadeh & Karini, 2008).

Taherzadeh dan Karimi (2007) menyatakan bahwa proses hidrolisis dipengaruhi oleh ukuran partikel, rasio asam dengan substrat, jenis dan konsentrasi asam, suhu dan waktu hidrolisis. Kusmiyati *et al.* (2020) juga menyatakan bahwa faktor seperti konsentrasi asam dan suhu dapat memengaruhi proses hidrolisis. Konsentrasi asam menentukan intensitas reaksi dengan menyediakan ion hidrogen (H^+) yang berperan aktif dalam proses pemecahan molekul. Suhu berperan dalam mempercepat laju reaksi dengan memberikan energi tambahan yang diperlukan

untuk memutus ikatan kimia. Kombinasi konsentrasi asam dan suhu yang tepat diperlukan untuk menyeimbangkan laju dan pola reaksi dalam hidrolisis, sehingga menghasilkan gula reduksi secara optimal (Kjellstrand, 1977).

Suhu yang sering digunakan pada kisaran 120 °C dengan waktu retensi antara 30 hingga 90 menit (Jahnavi *et al.*, 2017). Waktu hidrolisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah selama 30 menit. Pemilihan waktu ini didasarkan pada penelitian Qaishum *et al.* (2015) yang menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi glukosa pada Mikroalga *Tetraselmis chuii* seiring bertambahnya waktu hidrolisis hingga 30 menit, namun mengalami penurunan pada menit ke-50. Penurunan setelahnya disebabkan oleh ion H⁺ yang telah mencapai titik optimum dalam mendegradasi ikatan glikosidik. Temuan ini juga diperkuat oleh penelitian Harun *et al.* (2011) yang menunjukkan pola serupa, yaitu peningkatan glukosa hingga 30 menit dan penurunan setelah 45 menit hidrolisis. Proses hidrolisis dengan menggunakan asam, suhu yang sering digunakan pada kisaran 70 °C hingga 120 °C, dengan suhu sekitar 100 °C sering kali dipilih untuk mencapai reaksi yang optimal (Wolfaardt *et al.*, 2021).

Ho *et al.* (2013) menggunakan hidrolisis asam sulfat pada *Scenedesmus* sp. menunjukkan bahwa konsentrasi asam sulfat 2% (v/v) pada suhu 121°C selama 20 menit menghasilkan gula reduksi sebesar 96-98%. Juliarnita *et al.* (2018) juga melakukan hidrolisis pada biomassa kultur campuran mikroalga menggunakan asam sulfat (H₂SO₄) dengan konsentrasi 2%, 5% dan 10% menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi asam memperbaiki hasil kadar gula reduksi. Hasil hidrolisis terbaik tercatat pada penggunaan H₂SO₄ konsentrasi 2% selama 30 menit, menghasilkan kadar gula reduksi sekitar 72,18%. Konsentrasi asam yang lebih

tinggi, yaitu 5% dan 10%, menyebabkan penurunan kadar gula reduksi. Penurunan ini dapat disebabkan oleh degradasi gula menjadi senyawa lain akibat tingginya konsentrasi ion H^+ , yang dapat memicu terbentuknya senyawa inhibitor seperti hidroksimetilfurfural (HMF) dan furfural. Hal ini diperkuat oleh pernyataan wulandari *et al.* (2023) bahwa konsentrasi asam 2% dapat memberikan efisiensi hidrolisis tinggi dengan penggunaan asam yang lebih rendah. Konsentrasi asam yang terlalu tinggi memicu reaksi samping, seperti pembentukan hidroksimetilfurfural (HMF) yang dapat menghambat gula reduksi yang dihasilkan.

Miranda *et al.* (2012) juga menunjukkan bahwa suhu mempengaruhi secara signifikan hasil glukosa dari biomassa *Scenedesmus obliquus* setelah dilakukan pretreatment dengan asam sulfat (H_2SO_4). Suhu 58 °C menghasilkan hasil glukosa sebesar 2.6% , yang meningkat menjadi 4.7% pada suhu 82 °C, sementara itu pada suhu 120 °C menghasilkan hasil glukosa tertinggi, yaitu 8.2% . Peningkatan suhu ini menunjukkan adanya peningkatan hasil glukosa secara sistematis. Penelitian serupa oleh Negara *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa hidrolisis *Nannochloropsis oculata* dengan asam sulfat (H_2SO_4) 0,2 M pada suhu 121 °C selama 30 menit menghasilkan kadar gula sebesar 4%.

Peningkatan konsentrasi asam dan suhu dapat menurunkan jumlah glukosa yang dihasilkan karena glukosa yang terbentuk akan terdegradasi lebih lanjut. Hasil degradasi glukosa yang dapat mengganggu dan merusak hasil hidrolisis diantaranya HMF (hidroksi metil furfural). Studi mengenai optimasi konsentrasi asam sulfat dan suhu hidrolisis pada *Nannochloropsis* sp. juga masih sangat terbatas. Oleh karena itu penelitian ini menggunakan *Nannochloropsis* sp. sebagai bahan baku dalam menghasilkan gula reduksi melalui metode hidrolisis menggunakan asam

sulfat. Optimasi konsentrasi asam dan suhu hidrolisis merupakan keterbaruan dari penelitian ini.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana kandungan gula total pada *Nannochloropsis* sp. dengan metode asam fenol sulfat?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi asam sulfat dan suhu hidrolisis untuk menghasilkan gula reduksi pada mikroalga *Nannochloropsis* sp.?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk menentukan kandungan gula total pada *Nannochloropsis* sp. menggunakan metode asam fenol sulfat
2. Untuk mengetahui kondisi optimal konsentrasi asam sulfat dan suhu hidrolisis pada *Nannochloropsis* sp. dalam menghasilkan gula reduksi.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kondisi optimum hidrolisis mikroalga *Nannochloropsis* sp. dalam menghasilkan gula reduksi.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Mikroalga yang digunakan sebagai bahan baku adalah *Nannochloropsis* sp.
2. Proses hidrolisis dilakukan secara kimiawi menggunakan asam sulfat (H_2SO_4) dengan suhu yang berbeda (100 °C dan 120 °C).
3. Parameter yang diukur adalah kadar gula total dan kadar gula reduksi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

Mikroalga adalah organisme eukariotik bersel tunggal berukuran 3–30 μm yang hidup di perairan. Mikroalga dapat ditemukan di air tawar dan air laut. Karakteristik mikroalga hampir sama dengan tumbuhan multiseluler, tetapi tidak memiliki akar, batang, maupun daun sejati sebagai alat fotosintesis (Hadiyanto *et al.*, 2012). Allah SWT berfirman dalam Surat Al-Anbiya ayat 30 bahwa segala makhluk hidup berasal dari air:

أَوَلَمْ يَرِ الَّذِينَ كَفَرُوا أَنَّ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ كَانَتَا رَتْقًا فَفَتَقْنَاهُمَا ۖ وَجَعَلْنَا مِنَ الْمَاءِ كُلَّ شَيْءٍ حَيٍّ ۖ أَفَلَا يُؤْمِنُونَ

Artinya: “Dan apakah orang-orang yang kafir tidak mengetahui bahwasanya langit dan bumi itu keduanya dahulu adalah suatu yang padu, kemudian Kami pisahkan antara keduanya. Dan dari air Kami jadikan segala sesuatu yang hidup. Maka mengapakah mereka tiada juga beriman?” (Q.S Al-Anbiya: 30).

Al-Qur'an mengisyaratkan bahwa alam semesta awalnya merupakan satu kesatuan sebelum akhirnya dipisahkan oleh Allah. Ayat ini mendorong manusia untuk mengamati dan mempelajari alam semesta sebagai bukti kebesaran dan kekuasaan-Nya. Observasi Edwin P. Hubble pada tahun 1929 menunjukkan bahwa alam semesta mengalami pemuaihan, yang kemudian dikembangkan lebih lanjut oleh fisikawan George Gamow, menyatakan bahwa ekspansi ini melahirkan miliaran galaksi dengan ratusan miliar bintang di dalamnya (Shihab, 2007). Tafsir At-Thabari oleh Abu Ja'far Muhammad juga menjelaskan bahwa langit dan bumi awalnya satu kesatuan yang kemudian dipisahkan oleh Allah, di mana langit

menurunkan hujan dan bumi menumbuhkan tanaman. Ayat ini menegaskan bahwa segala kehidupan berasal dari air, sesuai dengan temuan ilmiah bahwa air merupakan komponen utama dalam pembentukan sel kehidupan (Muhammad, 2007).

Lafadz *وَجَعَلْنَا مِنَ الْمَاءِ كُلَّ شَيْءٍ حَيٍّ* mengandung makna bahwa Allah SWT menciptakan makhluk hidup dari air, termasuk mikroalga. Keanekaragaman mikroalga di bumi diperkirakan mencapai jutaan spesies, namun sebagian besar masih belum dikenal dan belum dapat dikultivasi secara mandiri. Perkiraan jumlah spesies yang hidup di alam berkisar antara 200.000 hingga 800.000, dengan sekitar 35.000 spesies yang telah teridentifikasi dan 15.000 komponen kimia penyusun biomassa yang diketahui (Hadiyanto *et al.*, 2012). Komposisi kimia mikroalga berbeda-beda tergantung pada spesies serta kondisi budidaya (Özçimen & Inan, 2015). Salah satu jenis mikroalga dengan kadar karbohidrat yang relatif tinggi adalah *Nannochloropsis* sp., dengan persentase karbohidrat antara 22% hingga 40% (Kwangdinata *et al.*, 2014).

2.1.1 *Nannochloropsis* sp.

Nannochloropsis sp. merupakan mikroalga hijau uniseluler yang termasuk dalam kelas Eustigmatophyceae dan biasanya ditemukan di perairan laut maupun perairan tawar. Sel *Nannochloropsis* sp. berbentuk bulat atau bulat memanjang dengan ukuran berkisar antara 2 hingga 5 μm , seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1 (Sukarni *et al.*, 2014). *Nannochloropsis* sp. tidak memiliki klorofil-b, namun mengandung klorofil-a, klorofil-c, serta pigmen fucoxanthin yang berfungsi sebagai pigmen fotosintetik tambahan (Fachrullah, 2011). Dinding sel *Nannochloropsis* sp. tersusun dari selulosa yang kuat, termasuk dalam kelompok

karbohidrat kompleks. Sel mikroalga ini dilengkapi kloroplas yang memiliki stigma atau bintik mata yang peka terhadap cahaya, serta dua flagela heterokont, salah satunya dilengkapi rambut halus (Wahyuni *et al.*, 2010 dalam Ernest, 2012).

Nannochloropsis sp. dapat hidup pada rentang salinitas 0 hingga 35 ppt, dengan kondisi optimal pada kisaran 25 sampai 35 ppt. Suhu ideal untuk pertumbuhannya adalah antara 25 hingga 30 °C dengan pH 8 hingga 9,5 (Fachrullah, 2011). Komposisi kimia *Nannochloropsis* sp. terdiri atas protein sebesar 55,80%, karbohidrat 20,10%, lemak 11,00%, EPA 2,50%, DHA 1,80%, klorofil-a 0,89%, kadar air 3,60%, dan kadar abu 4,50% (Reed Mariculture Inc., 2001 dalam Muliono, 2004).

Muliono (2004) mengklasifikasi *Nannochloropsis* sp. sebagai berikut:

Kingdom: Protista

Philum: Chromophyta

Kelas: Eustigmatophyceae

Ordo: Eustigmatales

Famili: Eustigmataceae

Genus: *Nannochloropsis*

Spesies: *Nannochloropsis* sp.



Gambar 2.1 Morfologi *Nannochloropsis* sp. (Zanella dan Vianello, 2020).

2.3 Komposisi Kimia *Nannochloropsis* sp.

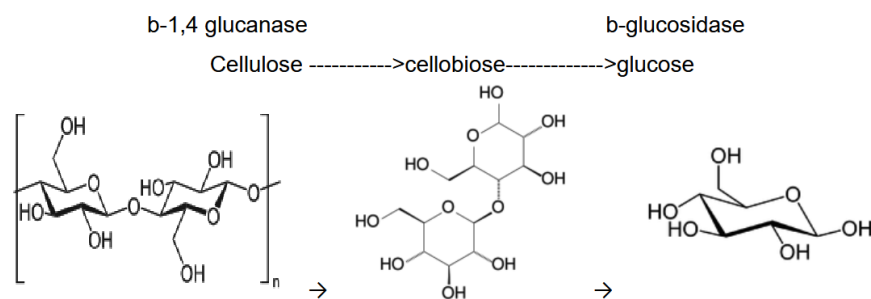
2.3.1 Karbohidrat

Karbohidrat merupakan senyawa organik yang tersusun dari unsur karbon, hidrogen, dan oksigen. Perbandingan atom penyusunnya yaitu satu atom karbon, dua atom hidrogen, dan satu atom oksigen (Afriza *et al.*, 2019). Karbohidrat dibedakan menjadi dua golongan utama, yaitu karbohidrat kompleks dan karbohidrat sederhana. Karbohidrat kompleks terdiri atas polisakarida, yang terbentuk dari pengikatan lebih dari dua unit monosakarida, serta serat yang termasuk polisakarida nonpati. Karbohidrat sederhana meliputi monosakarida sebagai unit dasar karbohidrat, disakarida yang merupakan gabungan dua molekul monosakarida, dan oligosakarida, yaitu gula rantai pendek yang terdiri dari fruktosa, galaktosa, dan glukosa (Effendi *et al.*, 2022). Karbohidrat pada mikroalga ditemukan di dinding sel dan sitoplasma. Karbohidrat pada dinding sel terdiri dari lapisan luar dinding sel yang mengandung polisakarida seperti pektin dan alginat dan lapisan dalam sebagian besar terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan bahan lainnya (Agustini & Febrian 2019).

2.3.2 Selulosa

Selulosa adalah polimer alami yang tergolong karbohidrat, tersusun melalui ikatan β -1,4 glikosida. Polisakarida ini memiliki struktur linear dan terdiri atas ratusan hingga puluhan ribu unit monomer D-glukosa. Senyawa ini umumnya ditemukan bersama dengan komponen lain, seperti hemiselulosa, sebagai bagian utama dari dinding sel mikroalga (Bhernama *et al.*, 2023). Selulosa bersifat tidak larut dalam air dan sulit terurai secara biologis. Selulosa tergolong homopolisakarida yang tersusun dari monomer glukosa yang saling terikat melalui

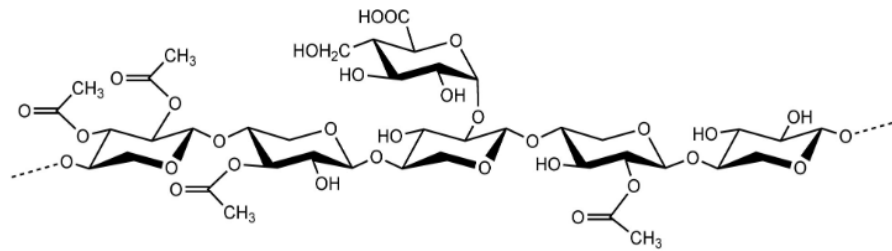
ikatan glikosidik β -(1,4). Molekul selulosa memiliki berat relatif tinggi dengan struktur kimia yang linear, di mana unit selobiosa berulang membentuk polimer (Yuansah, 2019). Rantai panjang polimer selulosa diikat oleh ikatan hidrogen dan ikatan van der Waals sehingga membentuk struktur mikrofibril. Pembentukan mikrofibril ini meningkatkan daerah kristalin dalam selulosa sekaligus mengurangi wilayah amorf (Zhang & Lynd, 2004). Penguraian selulosa menjadi selobiosa terdiri dari dua monomer glukosa. Selanjutnya, selobiosa diuraikan lebih lanjut menjadi glukosa seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.2 (Tut & Olt, 2011).



Gambar 2.2 Proses penguraian selulosa menjadi glukosa (Tut & Olt, 2011)

2.4.3 Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan kumpulan polimer dengan rantai yang lebih pendek dan bercabang. Polisakarida ini tersusun dari monomer-monomer seperti xilosa, arabinosa, glukosa, manosa, dan galaktosa, serta memiliki struktur yang bersifat amorf (Yuansah, 2019). Hemiselulosa termasuk dalam golongan serat tak larut dalam air dan memiliki struktur bercabang yang berbeda dengan selulosa (Gambar 2.3). Struktur bercabang pada hemiselulosa membuatnya lebih mudah dihidrolisis dibandingkan dengan selulosa, karena daerah amorf yang terbentuk lebih besar (Brasseur *et al.*, 2014).



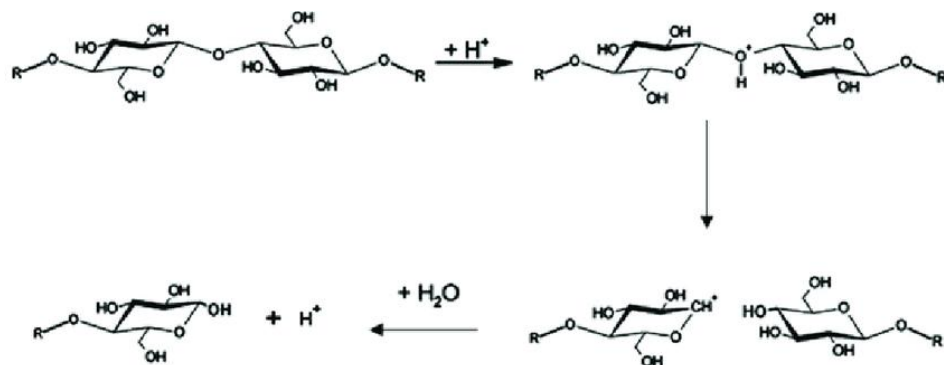
Gambar 2.3 Struktur kimia hemiselulosa (Hu *et al.*, 2020)

2.5 Hidrolisis

Hidrolisis adalah proses pemecahan molekul besar (polimer) menjadi bagian yang lebih kecil (monomer) melalui penambahan molekul air (H_2O) dengan bantuan katalis. Pemecahan ini dapat dilakukan secara enzimatik, fisik, atau kimia. Hidrolisis kimia menggunakan asam sulfat (H_2SO_4) atau asam klorida (HCl) untuk mengubah polisakarida menjadi monosakarida secara acak, sementara hidrolisis enzimatik bersifat lebih spesifik tergantung pada jenis enzim yang digunakan (Alvita *et al.*, 2023).

Proses hidrolisis menggunakan asam sulfat dapat menghasilkan produk dalam jumlah lebih banyak karena asam sulfat mengandung ion hidronium lebih banyak dibandingkan asam kuat lain, seperti asam klorida. Ketersediaan ion hidronium yang lebih tinggi memungkinkan pemutusan monomer pati berlangsung lebih sempurna (Gunam *et al.*, 2010). Metode enzimatik tidak digunakan dalam penelitian ini karena memiliki beberapa kelemahan, antara lain kesulitan dalam isolasi enzim yang tepat, keterbatasan penggunaan ulang, serta stabilitas termal yang rendah (Handayani *et al.*, 2016). Kandungan karbohidrat dalam mikroalga, seperti selulosa dan hemiselulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa menggunakan hidrolisis asam (Kusmiyati *et al.*, 2020). Selulosa merupakan polimer glukosa yang

tersusun melalui ikatan β -1,4 glikosida dalam bentuk rantai lurus. Ikatan β -1,4 pada selulosa akan terdegradasi dan menghasilkan glukosa saat proses hidrolisis. Mekanisme reaksi hidrolisis antara selulosa dan asam melibatkan ion H^+ dari asam sulfat yang akan mengubah serat menjadi gugus radikal. Gugus radikal ini kemudian berikatan dengan gugus OH dari molekul air dan membentuk glukosa (Mardina *et al.*, 2014). Ilustrasi mekanisme reaksi hidrolisis selulosa oleh asam ditampilkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi hidrolisis selulosa dengan asam

Faktor seperti konsentrasi asam, waktu, dan suhu hidrolisis sangat penting untuk memaksimalkan hasil gula reduksi sekaligus meminimalkan pembentukan inhibitor selama hidrolisis asam (Gírio *et al.*, 2010).

2.5.1 Konsentrasi Asam

Miranda *et al.* (2014) melakukan hidrolisis menggunakan asam sulfat pada *Tetraselmis chuii* dengan konsentrasi 0,25% (v/v) menghasilkan yield glukosa 14,52%. Peningkatan konsentrasi asam sulfat 1,75% (v/v) meningkatkan yield glukosa meningkat secara signifikan menjadi 45,19%, yang merupakan hasil tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Peningkatan ini menunjukkan bahwa dengan semakin banyaknya ion H^+ yang tersedia, ikatan glikosida pada selulosa dapat diputuskan lebih efektif, sehingga meningkatkan konversi selulosa

menjadi glukosa (Negara *et al.*, 2019). Megawati *et al.* (2022) juga menunjukkan bahwa yield glukosa yang dihasilkan dari hidrolisis *Spirulina platensis* dipengaruhi oleh variasi konsentrasi asam yang digunakan. Konsentrasi asam (1%) menghasilkan yield glukosa 23,5%. Peningkatan konsentrasi asam hingga 3% meningkatkan yield glukosa menjadi 45,7%, yang merupakan hasil tertinggi. Konsentrasi asam yang lebih tinggi (5%) yield glukosa menurun menjadi 39,2%. Penurunan ini dapat disebabkan oleh degradasi glukosa menjadi senyawa lain, seperti 5-HMF (5-hidroksimetilfurfural) (Wulandari *et al.*, 2023). Konsentrasi asam yang terlalu tinggi dapat seperti menyebabkan korosi pada peralatan dan netralisasi hidrolisat asam dapat menghasilkan sejumlah besar gypsum (Jahnavi *et al.*, 2017).

2.5.2 Suhu Hidrolisis

Hasil penelitian Kusmiyati *et al.* (2020) menunjukkan bahwa peningkatan suhu selama proses hidrolisis biomassa *Ulva lactuca* berpengaruh terhadap peningkatan kadar gula total yang dihasilkan. Percobaan yang melibatkan variasi suhu antara 40 °C hingga 100 °C menunjukkan bahwa suhu 100 °C merupakan kondisi optimal untuk mencapai rendemen gula tertinggi, yaitu sebesar 23,04%. Peningkatan energi kinetik molekul pada suhu yang lebih tinggi mempermudah pemutusan ikatan kimia pada biomassa dan pelepasan molekul gula. Chng *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa peningkatan suhu reaksi meningkatkan efisiensi hidrolisis *Scenedesmus dimorphus*. Perlakuan optimal dengan 2,5% v/v asam pada 120 °C selama 30 menit menghasilkan bioetanol tertinggi. Glukosa yang dihasilkan meningkat dari 1,0 g/L pada 115 °C menjadi 2,5 g/L pada 120 °C, seiring dengan

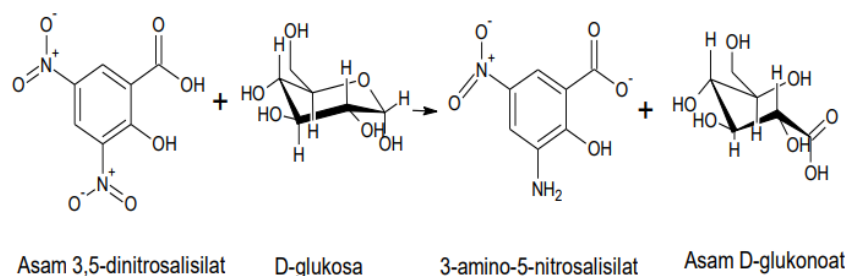
percepatan degradasi dinding sel yang mempermudah pelepasan karbohidrat untuk fermentasi.

2.5.3 Gula Reduksi

Gula reduksi merupakan jenis gula yang memiliki kemampuan sebagai agen pereduksi. Kemampuan ini disebabkan oleh adanya gugus aldehid atau keton yang bebas. Contoh gula reduksi meliputi glukosa, fruktosa, laktosa, maltosa, dan lain sebagainya (Wilberta *et al.*, 2021). Metode yang sering digunakan untuk mengukur kadar gula reduksi dalam sampel mencakup metode Nelson Somogyi dan asam dinitro salisilat (DNS). Metode pengujian gula pereduksi menggunakan Nelson-Somogyi memiliki kelemahan berupa proses analisis yang lebih lama dan kompleks (Auliyah *et al.*, 2023). Reagen yang digunakan pada metode ini juga bersifat lebih toksik dan lebih peka terhadap gangguan dibandingkan dengan metode DNS (Pratiwi *et al.*, 2018). Uji DNS menjadi yang paling umum digunakan karena kemudahannya dan kemampuannya dalam mengukur sejumlah besar sampel dalam waktu singkat (Deshavath *et al.*, 2020). Metode DNS memiliki keunggulan berupa tingkat ketelitian yang lebih tinggi sehingga mampu mengukur gula pereduksi pada konsentrasi yang rendah (Pratiwi *et al.*, 2018).

DNS adalah senyawa aromatik yang bereaksi dengan gula reduksi maupun komponen pereduksi lain untuk membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat, yaitu senyawa yang mampu menyerap radiasi gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang 550 nm secara kuat (Bahati *et al.*, 2023). Reaksi antara gula reduksi dengan reagen DNS merupakan reaksi redoks yang melibatkan gugus aldehid pada gula reduksi. Gugus aldehid mengalami oksidasi menjadi gugus karboksil, sedangkan DNS berperan sebagai oksidator yang tereduksi membentuk asam 3-

amino-5-nitrosalisilat serta asam D-glukosat (Fatmawati *et al.*, 2008; Kusmiati & Agustini, 2010), seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Reaksi antara DNS dan gula pereduksi (It Nawita *et al.*, 2022)

Prinsip metode dinitrosalisilat (DNS) didasarkan pada oksidasi gugus aldehid dalam rantai polisakarida menjadi gugus karboksil, bersamaan dengan reduksi asam 3,5-dinitrosalisilat menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisilat (It Nawita *et al.*, 2022). Reaksi ini berlangsung secara simultan selama terdapat gula reduksi dalam sampel yang diuji. Gula reduksi dalam sampel bereaksi dengan larutan DNS yang semula berwarna kuning, sehingga warna larutan berubah menjadi jingga kemerahan. Perubahan warna ini disebabkan oleh terbentuknya senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna kuning kecoklatan (It Nawita *et al.*, 2022). Kadar gula reduksi yang lebih tinggi menghasilkan jumlah molekul asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang lebih banyak, sehingga meningkatkan intensitas warna jingga kemerahan. Senyawa ini menyerap radiasi elektromagnetik dengan kuat pada panjang gelombang 540 nm, sehingga absorbansi dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai absorbansi yang lebih tinggi menunjukkan kandungan gula pereduksi yang lebih besar (Kusmiati & Agustini, 2010).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan tiga kali ulangan untuk mengevaluasi variasi konsentrasi asam sulfat serta suhu hidrolisis dalam menghasilkan kadar gula reduksi dari mikroalga *Nannochloropsis* sp. Konsentrasi asam sulfat yang diuji adalah 1%, 2%, dan 3%.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian adalah konsentrasi asam sulfat (1%, 2%, dan 3%) dan suhu hidrolisis (100 °C dan 120 °C).

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian adalah kadar gula reduksi yang dihasilkan dari proses hidrolisis biomassa *Nannochloropsis* sp.

3.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini yaitu jumlah biomassa *Nannochloropsis* sp. serta lama waktu hidrolisis selama 30 menit.

3.3 Waktu Dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret hingga Juni 2025. Lokasi penelitian meliputi Laboratorium Mikrobiologi, dan Laboratorium Genetika Molekuler Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, dan Laboratorium Mikrobiologi serta Laboratorium Biokimia Universitas Islam Malang.

3.4 Alat dan Bahan

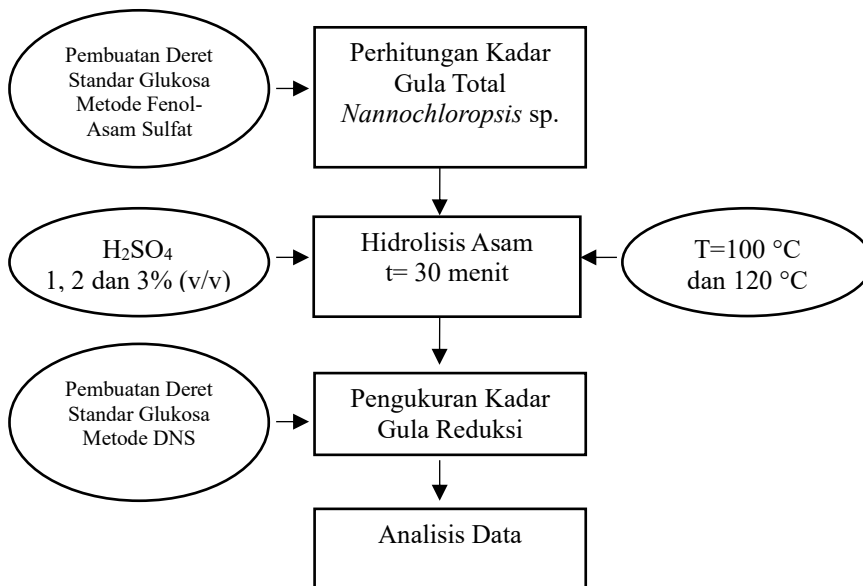
3.4.1 Alat

Alat yang digunakan meliputi spatula, timbangan analitik, gelas ukur, botol kaca, pipet tetes, mikropipet, *hot plate*, *magnetic stirrer*, oven, autoklaf, *waterbath*, erlenmeyer 250 ml, *centrifuge* dan spektrofotometer UV-Vis.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan meliputi tepung *Nannochloropsis* sp. alkohol 70%, akuades, larutan fenol 5%, H_2SO_4 pekat, aluminium foil, glukosa anhidrat dan reagen DNS.

3.5 Kerangka Umum Penelitian



3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan dicuci hingga bersih, kemudian dikeringkan. Alat gelas yang sudah kering dan media dibungkus dengan plastik kemudian disterilisasi secara basah menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Kawaroe *et al.*, 2010).

3.6.2 Sumber dan Persiapan Biomassa Mikroalga

Biomassa mikroalga *Nannochloropsis* sp. yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah. Kultur mikroalga dipanen saat fase pertumbuhan eksponensial untuk memastikan kandungan biomassa optimal, kemudian dikeringkan menggunakan oven hingga berbentuk tepung.

3.6.3 Analisis Karbohidrat Fenol-Asam Sulfat

Analisis dilakukan dengan membandingkan kandungan karbohidrat pada sampel terhadap larutan standar. Sebanyak 5 mg biomassa kering dilarutkan dalam 1 ml aquadest, kemudian ditambahkan 0,5 ml fenol 5% dan 2 ml asam sulfat pekat (H_2SO_4). Larutan tersebut dikocok selama 1 menit hingga homogen, kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Penentuan kadar gula total pada sampel *Nannochloropsis* sp. dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm. Larutan standar glukosa dibuat dengan prosedur yang sama seperti sampel. Standar disiapkan dalam berbagai konsentrasi, yaitu 0, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Aquadest digunakan sebagai larutan blanko. (Agustini *et al.*, 2018).

3.6.4 Hidrolisis

Tepung *Nannochloropsis* sp. sebanyak 0,8 gram dicampurkan dengan 20 mL H₂SO₄ variasi konsentrasi (1%, 2% dan 3% v/v) kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate stirrer* dengan suhu yang berbeda (100 °C dan 120 °C) dengan waktu 30 menit. Hidrolisat disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan supernatan. Supernatan disentrifugasi pada 4200 rpm dengan suhu 10 °C selama 10 menit (Harun & Danquah, 2011).

3.6.4.1 Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Kurva standar glukosa disiapkan dengan cara menimbang 1,5 gram glukosa, kemudian melarutkannya dalam akuades menggunakan gelas beaker. Larutan ini dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan hingga tanda batas, menghasilkan larutan stok dengan konsentrasi sebesar 15.000 ppm (Julacha *et al.*, 2016). Selanjutnya, larutan stok tersebut diencerkan menggunakan akuades untuk memperoleh larutan standar glukosa dengan konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm, dan 1500 ppm. Proses pengenceran dilakukan berdasarkan rumus pengenceran $M_1V_1=M_2V_2$, dengan mengambil volume tertentu dari larutan stok, kemudian menambahkan akuades hingga mencapai volume akhir 10 mL. Sementara itu, larutan dengan konsentrasi 0 ppm disiapkan menggunakan 10 mL akuades murni sebagai larutan blanko. Hasil larutan standar yang telah disiapkan digunakan untuk mengukur nilai absorbansi dan membentuk kurva standar glukosa (Agustini *et al.*, 2018).

3.6.4.2 Pengukuran Gula Reduksi

Pengukuran gula reduksi menggunakan metode *3,5-Dinitrosalicylic acid* (DNS). Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml reagen DNS dan 2 ml aquadest dengan menggunakan pipet. Larutan yang telah direaksikan dihomogenisasi dengan vortex dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 100 °C (menggunakan waterbath). Larutan kemudian didinginkan sampai mencapai temperatur ruang, kemudian ditambahkan aquadest sampai volume larutan 20 ml (Lembono & Syu, 2023). Pengukuran absorbansi dilakukan pada setiap larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 540 nm. Data yang diperoleh kemudian dibuat kurva standar antara konsentrasi glukosa terhadap absorbansi. Blanko digunakan dengan mengganti glukosa dengan akuades (Agustini *et al.*, 2019).

3.7 Analisis Data

Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS dengan metode Two-Way ANOVA untuk melihat pengaruh konsentrasi asam sulfat dan suhu hidrolisis terhadap kadar gula reduksi pada *Nannochloropsis* sp. Hasil uji dianggap signifikan apabila nilai $p < 0,05$. Jika terdapat perbedaan yang signifikan, analisis lanjutan dilakukan dengan uji Tukey HSD untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan secara lebih spesifik.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kandungan Gula Total *Nannochloropsis* sp.

Analisis gula total pada *Nannochloropsis* sp. dilakukan menggunakan metode asam fenol sulfat. Metode ini dapat mendeteksi dua molekul gula pereduksi. Gula sederhana, oligosakarida, dan turunannya dapat terdeteksi dengan adanya fenol dalam larutan asam sulfat pekat, yang akan menghasilkan warna jingga kekuningan yang stabil (Taiyeb *et al.*, 2011). Penggunaan metode asam fenol sulfat didasarkan pada struktur dasar selulosa yang merupakan polimer penyusun, serta metode ini tergolong mudah, cepat, sensitif, dan spesifik terhadap senyawa golongan karbohidrat (Nielsen, 2010). Prinsip kerja metode ini didasari oleh proses dehidrasi polisakarida terhidrolisis menjadi turunan furfural saat bereaksi dengan asam sulfat pekat, kemudian membentuk kompleks berwarna dengan adanya fenol (Delattre *et al.*, 2016). Penambahan fenol dan asam sulfat pekat berfungsi untuk membentuk kompleks warna pada sampel, sehingga dapat dideteksi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Analisis kadar gula total pada mikroalga *Nannochloropsis* sp. dilakukan menggunakan metode asam fenol sulfat pada panjang gelombang 490 nm. Pengukuran menghasilkan nilai absorbansi sebesar 0,000; 0,284; 0,302; 0,359; 0,405; dan 0,423, yang menunjukkan pola peningkatan seiring bertambahnya konsentrasi glukosa. Berdasarkan hasil tersebut, diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,0036x + 0,1144y$ dengan nilai koefisien determinasi $R^2 = 0,7665$. Persamaan ini digunakan sebagai acuan untuk menghitung kadar gula total pada sampel mikroalga. Hasil perhitungan menunjukkan kadar gula total yang diperoleh dari hidrolisis biomassa *Nannochloropsis* sp. adalah sebesar 264,89 mg/L. Nilai ini

menunjukkan bahwa kandungan gula total dalam mikroalga tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan hasil hidrolisat *Chlorella pyrenoidosa* yang dilaporkan sebesar 153,246 mg/L (Fathurohman *et al.*, 2023).

Tingginya kadar gula total yang dihasilkan dari biomassa *Nannochloropsis* sp. menunjukkan bahwa mikroalga tersebut berpotensi sebagai sumber karbohidrat yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi bioteknologi. Keberadaan gula reduksi menjadi indikator dalam menilai efisiensi proses hidrolisis biomassa, dikarenakan senyawa ini merupakan hasil akhir dari pemecahan polisakarida struktural seperti selulosa dan hemiselulosa. Kandungan gula reduksi yang tinggi menandakan bahwa mikroalga *Nannochloropsis* sp. memiliki komposisi dinding sel yang dapat dihidrolisis secara efektif menjadi monosakarida. Fenomena ini mencerminkan keteraturan dan keseimbangan sistem biologis ciptaan Tuhan yang kompleks namun terstruktur. Sebagaimana dijelaskan dalam firman Allah SWT pada QS. Al-Baqarah:164 yang berbunyi:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيَّاحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, pergantian malam dan siang, kapal yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air lalu dengan itu dihidupkan-Nya bumi sesudah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan*” (QS. Al-Baqarah: 164).

Tafsir Al-Misbah menjelaskan bahwa ayat tersebut mengandung ajakan kepada manusia untuk berpikir dan merenungkan berbagai fenomena alam sebagai bentuk kesempurnaan ciptaan Allah. Ayat (خلق السماوات والأرض) yang merujuk pada

penciptaan langit dan bumi tidak hanya dimaknai sebagai proses penciptaan semata, tetapi juga mencakup makna pengaturan (*taqdīr*) dan pengukuran yang sangat teliti. Seruan untuk menggunakan akal dalam merenungkan ciptaan-Nya memberikan dasar teologis bagi pengembangan ilmu pengetahuan yang bertujuan untuk membawa kemaslahatan bagi umat manusia (Shihab, 1998). Sementara itu Tafsir At-Thabari menjelaskan bahwa ayat tersebut menunjukkan bukti keesaan dan kekuasaan Allah melalui penciptaan langit dan bumi, pergantian malam dan siang, kapal yang berlayar di laut, hujan yang menyuburkan bumi, penyebaran berbagai jenis hewan, dan pengaturan angin. Semua ini adalah tanda bagi orang-orang yang berpikir. Perbedaan pendapat ulama tentang makna “penciptaan” menunjukkan kedalaman pembahasan tentang sifat Allah, kehendak-Nya, dan hubungan-Nya dengan makhluk (Muhammad, 2007).

Ayat-ayat tersebut menunjukkan bahwa segala ciptaan Allah di alam semesta mempunyai manfaat yang dapat digali melalui pendekatan ilmiah yang bertanggung jawab. Eksplorasi dan pemanfaatan mikroalga sebagai sumber daya hayati merupakan bagian dari bentuk aktualisasi peran manusia sebagai khalifah di bumi, yang memanfaatkan ilmu pengetahuan untuk kemaslahatan umat dan kelestarian lingkungan. paya ilmiah dalam mengoptimalkan potensi sumber daya alam seperti mikroalga tidak hanya menjadi kegiatan ilmiah semata, tetapi juga sejalan dengan nilai-nilai yang diajarkan dalam Al-Qur'an.

4.2 Kadar Gula Reduksi

Analisis gula reduksi pada *Nannochloropsis* sp. dilakukan menggunakan metode DNS. Metode DNS memiliki keunggulan tingkat ketelitian yang tinggi sehingga mampu mengukur gula pereduksi pada konsentrasi yang rendah (Pratiwi

et al., 2018). DNS merupakan senyawa aromatis yang jika bereaksi dengan gula pereduksi akan membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat, yakni senyawa yang dapat menyerap radiasi gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang maksimum 540 nm (Agustini *et al.*, 2019). Semakin tinggi kadar gula pereduksi yang terdapat dalam sampel, maka akan semakin banyak pula molekul asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang terbentuk, sehingga absorbansi sampel akan semakin tinggi. Reaksi gula pereduksi dengan reagen DNS merupakan reaksi redoks dimana gugus aldehyd yang bertindak sebagai pereduksi akan teroksidasi menjadi karboksil, sedangkan DNS yang bertindak sebagai oksidator akan tereduksi membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat. Larutan DNS yang berwarna kuning bereaksi dengan gula pereduksi akan menimbulkan warna jingga kemerahan apabila terdapat gula pereduksi pada sampel. Reaksi ini berlangsung pada suasana basa dan suhu 100 °C (Ruswandi *et al.*, 2018).

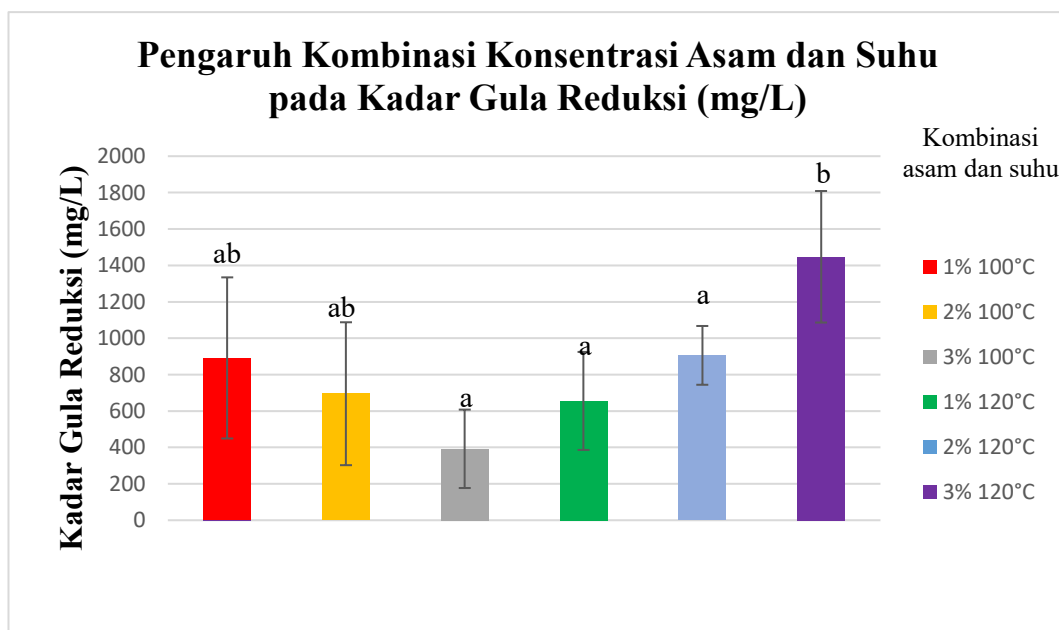
Penentuan kadar gula reduksi pada sampel *Nannochloropsis* sp. dilakukan menggunakan metode DNS dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Kurva standar yang diperoleh dari pengukuran larutan glukosa menunjukkan adanya hubungan linear antara konsentrasi glukosa dan nilai absorbansi. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa konsentrasi glukosa sebesar 0 mg/L menghasilkan absorbansi sebesar 0,040; 500 mg/L sebesar 0,374; 1000 mg/L sebesar 0,628; dan 1500 mg/L sebesar 1,606. Dari data tersebut, diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,001x - 0,0811y$ dengan nilai koefisien determinasi $R^2 = 0,8989$. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan bahwa model regresi yang digunakan memiliki tingkat keakuratan yang tinggi, dengan 89,89% variasi nilai absorbansi dapat dijelaskan oleh variasi konsentrasi glukosa (Aksari *et*

al., 2024). Hasil persamaan tersebut digunakan untuk menghitung kadar gula reduksi pada setiap perlakuan dalam penelitian.

Kadar gula pereduksi tertinggi dari hasil proses hidrolisis *Nannochloropsis* sp. diperoleh pada penambahan asam sulfat dengan konsentrasi 3% yaitu sebesar 1447.43 mg/L pada suhu 120 °C, sedangkan kadar gula reduksi terendah sebesar 392.43 mg/L pada suhu 100 °C (Gambar 4.1). Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan suhu hidrolisis dapat meningkatkan kadar gula yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fillah *et al.* (2024) bahwa semakin tinggi suhu, maka energi kinetik molekul reaktan semakin meningkat, serta menurunkan energi aktivasi yang dibutuhkan untuk memulai reaksi sehingga mempercepat pemecahan selulosa menjadi glukosa. Agustini *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa kadar gula reduksi hasil hidrolisis biomassa mikroalga pada *Porphyridium cruentum* meningkat secara linier seiring dengan peningkatan konsentrasi asam sulfat yang digunakan, yaitu 1%, 2% dan 3%.

Peningkatan gula reduksi tersebut juga dapat dijelaskan berdasarkan mekanisme hidrolisis kimia, di mana asam sulfat berperan sebagai katalis dalam pemutusan ikatan glikosidik polisakarida (Alvita *et al.*, 2023). Gunam *et al.* (2010) menyatakan bahwa asam sulfat memiliki jumlah ion hidronium (H_3O^+) yang lebih banyak dibandingkan asam kuat lainnya, sehingga mempercepat dan memperbanyak pemutusan ikatan antar-monomer dalam polisakarida. Selulosa yang tersusun atas rantai panjang glukosa dalam bentuk ikatan β -(1,4) membutuhkan perlakuan asam yang cukup kuat untuk dapat diurai menjadi glukosa (Zhang & Lynd, 2004).

Hasil kadar gula reduksi dalam penelitian ini lebih tinggi dari penelitian sebelumnya oleh Jannah dan Fuadi (2022) dimana pada konsentrasi asam sulfat 5% menghasilkan kadar gula reduksi sebesar 68,55 mg/100ml. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi asam sulfat yang lebih tinggi dapat menurunkan kadar gula reduksi dikarenakan komponen konsentrasi asam yang lebih tinggi akan lebih mudah membentuk inhibitor. Indriyani, (2024) menyatakan bahwa penggunaan asam sulfat dalam konsentrasi yang terlalu tinggi dapat memicu terbentuknya senyawa-senyawa samping seperti turunan furan, asam-asam lemah, dan senyawa fenolik, yang berpotensi menjadi inhibitor sehingga dapat menurunkan kadar gula reduksi.



Gambar 4.1 Pengaruh Konsentrasi Asam dan Suhu pada Kadar Gula Reduksi (mg/L)

Ket. Huruf yang sama menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan berdasarkan uji Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Hasil analisis statistik deskriptif (Gambar 4.1) menunjukkan bahwa kadar gula pereduksi yang dihasilkan bervariasi tergantung pada kombinasi konsentrasi asam sulfat (H_2SO_4) dan suhu hidrolisis yang digunakan. Perlakuan dengan

konsentrasi 3% dan suhu 120 °C menghasilkan kadar gula pereduksi tertinggi, yaitu sebesar 1447,43 mg/L, sedangkan kadar terendah diperoleh pada perlakuan dengan konsentrasi 3% dan suhu 100 °C, yaitu sebesar 392,43 mg/L. Asam sulfat berperan sebagai katalis dalam proses hidrolisis pembentukan gula pereduksi, di mana ion hidronium (H_3O^+) yang terbentuk dari asam sulfat memprotonasi atom oksigen dalam ikatan glikosidik, sehingga membuat ikatan tersebut lebih mudah terputus. Setelah ikatan glikosidik terputus, molekul selulosa akan terpecah menjadi unit-unit gula pereduksi (Chang *et al.*, 2018).

Peningkatan suhu dari 100 °C menjadi 120 °C cenderung meningkatkan kadar gula pereduksi pada semua tingkat konsentrasi (Gambar 4.1). Namun, pada suhu 100 °C, peningkatan konsentrasi tidak selalu diikuti oleh peningkatan kadar gula pereduksi. Hasil analisis varian dua arah Two-Way ANOVA (Lampiran 5) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara perlakuan konsentrasi asam sulfat (H_2SO_4) dan suhu hidrolisis terhadap kadar gula pereduksi yang dihasilkan ($p = 0,044$) dan nilai ($F = 4,097$).

Perbedaan antar perlakuan konsentrasi dapat dilihat melalui nilai rata-rata kadar gula reduksi. Suhu 100 °C pada konsentrasi 1% menghasilkan rata-rata gula reduksi sebesar $886,77 \pm 542,04$ mg/L, sedangkan konsentrasi 2% menurun menjadi $695,10 \pm 480,84$ mg/L, dan konsentrasi 3% menghasilkan nilai terendah, yaitu $392,43 \pm 263,73$ mg/L. Namun, pada suhu 120 °C, terjadi peningkatan pada konsentrasi 3%, yaitu sebesar $1447,43 \pm 442,50$ mg/L, dibandingkan dengan konsentrasi 2% sebesar $905,77 \pm 197,77$ mg/L, dan 1% sebesar $655,43 \pm 329,78$ mg/L. Hal ini menunjukkan bahwa pada suhu yang lebih tinggi, konsentrasi asam

sulfat yang lebih besar cenderung meningkatkan efisiensi hidrolisis dalam menghasilkan gula pereduksi.

Uji lanjut menggunakan metode Tukey HSD dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan, sebagaimana ditampilkan pada Lampiran 5. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antar pasangan kombinasi perlakuan ($p > 0,05$). Secara deskriptif, terdapat kecenderungan variasi kadar gula pereduksi antar kelompok perlakuan, namun perbedaan tersebut belum memenuhi kriteria signifikansi statistik pada taraf kepercayaan 95%.

Waktu panen biomassa juga berpengaruh terhadap kadar gula reduksi yang dihasilkan. *Nannochloropsis* sp. dalam penelitian ini dipanen pada fase eksponensial, yaitu saat mikroalga mengalami pertumbuhan aktif dan menyimpan cadangan energi dalam bentuk karbohidrat secara maksimal. Hal ini menyebabkan kandungan karbohidrat dalam biomassa relatif tinggi, sehingga setelah proses hidrolisis, diperoleh kadar gula reduksi yang lebih tinggi. Pemilihan fase panen ini menjadi salah satu faktor dalam mengoptimalkan hasil hidrolisis. Hal ini didukung oleh pernyataan Mishbach *et al.* (2022) bahwa fase eksponensial merupakan waktu terbaik untuk pemanenan mikroalga, karena sel masih dalam kondisi normal dan terdapat keseimbangan nutrisi di dalam media maupun sel.

Hal tersebut diperkuat oleh nilai R^2 sebesar 0,502 (Lampiran 5), yang menunjukkan bahwa model yang digunakan dapat menjelaskan 50,2% variasi dalam data. Interaksi ini diperkuat oleh pernyataan Salsabila dan Fahrurroji (2021) bahwa efektivitas hidrolisis asam dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti jenis substrat, rasio bahan, waktu, suhu, dan konsentrasi asam. Substrat yang lebih halus

dengan luas permukaan yang lebih besar akan memperluas area kontak dengan asam, mempercepat laju reaksi, dan mengurangi kemungkinan konversi yang tidak sempurna. Selain itu, rasio bahan yang lebih besar juga meningkatkan jumlah substrat yang dapat bereaksi, sehingga menghasilkan kadar gula yang lebih tinggi (Utani *et al.*, 2014).

Allah berfirman dalam Quran Surah Ali 'Imran ayat 190-191 yang berbunyi

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ ۖ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَٰذَا بَاطِلًا ۖ سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang-orang yang berakal (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka" (Ali 'Imran: 190-191).

Tafsir Al-Misbah menjelaskan bahwa ayat tersebut membahas tentang ulul albab yang menegaskan pentingnya berpikir dan merenungkan ciptaan Allah secara mendalam. Orang-orang yang disebut ulul albab adalah mereka yang terus-menerus mengingat Allah dalam berbagai keadaan, baik saat bekerja maupun beristirahat, serta menggunakan akal untuk memahami kejadian dan sistem kerja alam semesta. Mereka meyakini bahwa penciptaan alam dan segala isinya tidaklah sia-sia, melainkan mengandung hikmah dan tujuan yang hakiki. Sebagaimana sabda Rasulullah SAW, “Berpikirlah tentang makhluk Allah, dan jangan berpikir tentang Allah”. Melalui renungan terhadap alam semesta, manusia dapat menemukan kekuasaan dan keesaan Allah yang menjadi fitrah dalam jiwa manusia.

Tafsir Kementerian Agama Republik Indonesia juga menjelaskan bahwa, *ulul albab* atau orang-orang yang berakal adalah mereka yang senantiasa menggunakan akal pikiran untuk merenungkan ciptaan Allah SWT. Aktivitas berpikir tersebut melibatkan perenungan terhadap keindahan dan keteraturan alam semesta sebagai bentuk ayat-ayat kauniyah yang menjadi bukti kekuasaan-Nya. Dzikir kepada Allah dilakukan dalam berbagai kondisi, baik saat berdiri menjalani aktivitas, duduk dalam majelis ilmu atau ibadah, maupun ketika berbaring menjelang istirahat. Kesadaran timbul bahwa penciptaan langit dan bumi tidaklah sia-sia, melainkan memiliki hikmah dan tujuan tertentu.

Hal ini sejalan dengan upaya mengoptimalkan ciptaan Allah, seperti mikroalga *Nannochloropsis* sp., untuk menghasilkan energi terbarukan berupa bioetanol melalui proses hidrolisis. Pemanfaatan sumber daya alam secara bijak dan ilmiah sejalan dengan ciri-ciri *ulul albab* yang menggunakan akal untuk mengambil manfaat dari ciptaan Allah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan konsentrasi asam dan suhu dalam proses hidrolisis mikroalga sebagai langkah dalam mengaplikasikan ilmu pengetahuan untuk kemaslahatan umat, sekaligus menjaga keberlanjutan lingkungan sesuai dengan prinsip-prinsip yang diajarkan dalam Al-Qur'an.

Kontribusi para ilmuwan Muslim klasik juga dapat menjadi sumber inspirasi. Salah satu ilmuwan Muslim yang memberikan kontribusi besar dalam bidang ilmu pengetahuan dan penelitian adalah Al-Razi (Abu Bakr Muhammad ibn Zakariya al-Razi, 854-925 M). Al-Razi dikenal sebagai bapak kimia dan kedokteran eksperimental, yang mengembangkan metode ilmiah melalui observasi dan eksperimen sistematis (Istianah dan Rahmatullah, 2021). Al-Razi menekankan

pemahaman bahan dan proses kimiawi yang mendasari berbagai reaksi, termasuk proses hidrolisis yang menjadi dasar penelitian optimalisasi konsentrasi asam dan suhu dalam menghasilkan gula reduksi.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu:

1. Hasil perhitungan menggunakan metode fenol sulfat menunjukkan bahwa kadar gula total dari hidrolisat biomassa *Nannochloropsis* sp. sebesar 264,89 mg/L.
2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi asam sulfat dan suhu hidrolisis menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan kadar gula reduksi secara deskriptif, meskipun hasil uji lanjut tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik ($p > 0,05$). Kombinasi konsentrasi asam sulfat 3% dan suhu 120 °C menghasilkan kadar gula reduksi tertinggi sebesar 1447,43 mg/L, sedangkan kombinasi 3% pada suhu 100 °C menghasilkan kadar gula reduksi terendah sebesar 392,43 mg/L.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk menerapkan kondisi optimum yaitu konsentrasi asam sulfat 3% dan suhu 120 °C dalam proses fermentasi untuk mengetahui potensi produksi bioetanol secara langsung dari hasil hidrolisis mikroalga *Nannochloropsis* sp. Selain itu, eksplorasi lebih lanjut terhadap variasi konsentrasi asam, suhu, serta waktu hidrolisis juga diperlukan guna memperoleh efisiensi yang lebih tinggi dalam produksi gula reduksi sebagai bahan baku bioetanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriza, R., & Ismanilda. (2019). Analisis perbedaan kadar gula pereduksi dengan metode Lane Eynon dan Luff Schoorl pada buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Teknologi dan Manajemen Pengelolaan Laboratorium* (Temapela), 2(2).
- Agustini, N. W. S., & Febrian, N. (2019). Hidrolisis biomassa mikroalga *Porphyridium cruentum* menggunakan asam (H_2SO_4 dan HNO_3) dalam produksi bioetanol. *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 41(1), 1-10. <http://dx.doi.org/10.24817/jkk.v41i1.3962>
- Aksari, S. A., Alvita, L. R., Ski, A. S., & Hanifah, W. (2024). Perbandingan konsentrasi asam pekat (H_2SO_4) dalam proses hidrolisis terhadap kadar gula pereduksi kulit kakao sebagai substrat dalam pembuatan bioetanol. *JoASCE: Journal of Applied Science and Chemical Engineering*, 2(1), 7–13.
- Amir, M., Nurjanah, A., & Agustini, N. W. S. (2009). Analisis fikobiliprotein dan polisakarida dari mikroalga merah (*Porphyridium cruentum*) yang dikultivasi pada media limbah cair nata de coco. Balai Besar Industri Agro (BBIA). SNI 06-6989-72-2009
- Andriani, Y., Shiyam, D. F., Hasan, Z., & Pratiw, F. M. (2023). Penggunaan berbagai pupuk alami dalam budidaya *Chlorella* sp. *Jurnal Agroqua*, 21(1). <https://doi.org/10.32663/ja.v%vi%oi.3238>
- Aniriani, G. W., Apriliani, N. F., & Sulistiono, E. (2018). Hidrolisis polisakarida xilan jerami menggunakan larutan asam kuat untuk bahan dasar produksi bioetanol. *Jurnal Ilmiah Sains*, 18(2).
- Apriyatmoko, Y. (2015). *Isolasi dan karakterisasi mikroalga yang berpotensi sebagai bahan baku biodiesel di perairan estuaria Sungai Porong* (Skripsi). ITS Repository.
- Ardiansyah, N., Nurlansi, & Musta, R. (2018). Waktu optimum hidrolisis pati limbah hasil olahan ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz var. Lahumbu) menjadi gula cair menggunakan enzim α -amilase dan glukamilase. *Indo. J. Chem. Res.*, 5(2), 86-95.
- Ariyani, E., Kusumo, E., & Supartono. (2013). Produksi bioetanol dari jerami padi (*Oryza sativa* L). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 2(2). Retrieved from <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- Assaf, J. C., Mortada, Z., Rezzoug, S.-A., Maache-Rezzoug, Z., Debs, E., & Louka, N. (2024). *Comparative review on the production and purification of bioethanol from biomass: A focus on corn*. *Processes*, 12(5), 1001. <https://doi.org/10.3390/pr12051001>
- Astuti, W., Astuti, S. P., Suropto, & Japa, L. (2017). Komunitas mikroalga di perairan sungai dan muara sungai Pelangan, Kecamatan Sekotong Kabupaten Lombok Barat. *Jurnal Biologi Tropis*, 17(1), 76.
- Ath-Thabari, A. J. M. b. J. (2008). *Jami' al-bayan 'an ta'wil ay al-Qur'an* (A. Somad, Y. Hamdani, et al., Trans.; Vols. 3, 12, 13, & 21). Pustaka Azzam.
- Auliyah, M. T., Toemon, A. N., & Martani, N. S. (2023). Uji aktivitas antilistik ekstrak kulit labu kuning (*Cucurbita moschata*) secara in vitro. Barigas: *Jurnal Riset Mahasiswa*, 1(3), 111-116. <https://doi.org/10.37304/barigas.v1i3.8055>

- Azhar, S. H. M., Abdulla, R., Jambo, S. A., Marbawi, H., Gansau, J. A., Faik, A. A. M., & Rodrigues, K. F. (2017). Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 10, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.03.003>
- Azizah, N., Al-Baarri, A. N., & Mulyani, S. (2012). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(2), 72–73.
- Bahati, R., Suhartono, & Sudiana, I. M. (2013). Penapisan khamir selulolitik dan xilanolitik dalam mendukung pembentukan bioetanol. *Jurnal Riset Sains dan Teknologi (JRSKT)*, 3(1).
- Barman, S. K., Khatoon, H., Rahman, M. R., Mazumder, S. K., & Hasan, S. J. (2022). Effects of sodium nitrate on the growth and proximate composition of the indigenous marine microalgae *Tetraselmis chuii*. *Aquatic Sciences and Engineering*, 37(1), 46-52. <https://doi.org/10.26650/ASE2021972678>
- Batten, D., Peter, C., & Greg, T. (2011, July 10). Resource potential of algae for sustainable biodiesel production in the APEC. *Presentation at APEC Workshop on Algal Biofuels*, San Francisco. Retrieved from <http://www.egnret.ewg.apec.org/workshops/AlgalBiofuels/David%20Batten.pdf>
- Bhernama, B. G., Nurhayati, Saputra, S. A., & Amalia, J. (2023). Karakterisasi selulosa dan selulosa asetat dari limbah cangkang biji pala (*Myristica fragrans*) Aceh Selatan. *Jurnal Riset Ilmiah*, 14(1).
- Bold, H.C. dan M.J. Wynne. 1985. *Introduction to The Algae Structure and Reproduction*. New York: Englewood Cliffs. Hal. 662-706.
- Brasseur, C., Bauwens, J., Tarayre, C., Mattéotti, C., Thonart, P., Destain, J., & De Pauw, E. (2014). MALDI-TOF MS analysis of cellodextrins and xylo-oligosaccharides produced by hindgut homogenates of *Reticulitermes santonensis*. *Molecules*, 19(4), 4578–4594. <https://doi.org/10.3390/molecules19044578>
- Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae – A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 557–577.
- Bruhn, A., Dahl, J., Nielsen, H. B., Nikolaisen, L., Rasmussen, M. B., Markager, S., Olesen, B., Arias, C., & Jensen, P. D. (2011). Bioenergy potential of *Ulva lactuca*: Biomass yield, methane production, and combustion. *Bioresource Technology*, 102(5), 2595–2604.
- Bulal, I., Mandik, Y. I., & Maryuni, A. E. (2021). Produksi gula pereduksi dari ampas sagu (*Metroxylon* sp.) menggunakan metode hidrolisis asam selama 30 menit. *AVOGADRO Jurnal Kimia*, 5(2), 71–79.
- Cardozo, AP., Bersano, JGF. dan Amaral, WJA. 2007. Composition, Density and Biomass of Zooplankton in Culture Ponds of *Litopenaeus Vannamei* (Decapoda:Penaidae) in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*. 11(1), 13-20.
- Casas-Arrojo, V., Decara, J., de los Ángeles Arrojo-Agudo, M., Pérez-Manríquez, C., & Abdala-Díaz, R. T. (2021). Immunomodulatory, antioxidant activity, and cytotoxic effect of sulfated polysaccharides from *Porphyridium cruentum*

- (S.F. Gray) Nägeli. *Biomolecules*, 11(4), 488. <https://doi.org/10.3390/biom11040488>
- Chang, J. K. W., Duret, X., Berberi, V., Zahedi-Niaki, H., & Lavoie, J. M. (2018). Two-step thermochemical cellulose hydrolysis with partial neutralization for glucose production. *Frontiers in Chemistry*, 6(April), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00117>
- Chen, C. Y., Zhao, X. Q., Yen, H. W., Ho, S. H., Cheng, C. L., Lee, D. J., Bai, F. W., & Chang, J. S. (2013). Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. *Biochemical Engineering Journal*, 78, 1–10.
- Chng LM, Chan DJC, Lee KT. (2016). Sustainable production of bioethanol using lipid-extracted biomass from *Scenedesmus dimorphus*, *Journal of Cleaner Production*, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.02.016>
- Chng, L. M., Teo, K. S. K., Chan, D. J. C., Lee, K. T., & Toh, P. Y. (2018). Fermentation of microalgae biomass through mild acid pretreatment for bioethanol production. *Journal of Energy and Safety Technology*, 1(2), 15–22.
- Cinar, O. S., Chong, Z. K., Kucuker, M. A., Wiecek, N., Cengiz, U., & Kuchta, K. (2020). Bioplastic production from microalgae: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(11), 3842. <https://doi.org/10.3390/ijerph17113842>
- Dara, A., Surianti, & Hasrianti. (2024). Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap kepadatan *Thalassiosira* sp. skala laboratorium. *Jurnal Sains dan Inovasi Perikanan*, 8(1), 70–77. Retrieved from <http://ojs.uho.ac.id/index.php/JSIPi>
- Delattre, C., Pierre, G., Laroche, C., & Michaud, P. (2016). Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides. *Biotechnology Advances*, 34(7), 1159–1179. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.08.001>
- Deshavath, N. N., Mukherjee, G., Goud, V. V., Veeranki, V. D., & Sastri, C. V. (2020). Pitfalls in the 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) assay for the reducing sugars: Interference of furfural and 5-hydroxymethylfurfural. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.045>
- Devi, A., Dhaka, A., & Singh, J. (2016). Acid and alkaline hydrolysis technologies for bioethanol production: An overview. *International Journal of Advanced Technology in Engineering and Science*, 4(6), 94–106.
- Dragone, G., Fernandes, B.D., Abreu, A.P., Vicente, A.A., & Teixeira, J.A. (2011). Nutrient limitation as a strategy for increasing starch accumulation in microalgae. *Applied Energy*, 88(10), 3331–3335.
- Elfandi, M. A., Laenggeng, A. H., Sutrisnawati, & Wahyuni, S. (2022). Kadar karbohidrat pada talas ketan (*Colocasia esculenta* (L) Schott) dengan cara masak yang berbeda dan pemanfaatannya sebagai media pembelajaran. *Journal of Biology Science and Education (JBSE)*, 10(2), 50–55.
- El-Sheekh, M. M., El-Gamal, A., Bastawess, A. E., & El-Bokhomy, A. (2017). Production and characterization of biodiesel from the unicellular green alga *Scenedesmus obliquus*. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*. <https://doi.org/10.1080/15567036.2016.1263257>
- Ernes, A., Ratnawati, L., Wardani, A. K., & Kusnadi, J. (2014). Optimasi fermentasi bagas tebu oleh *Zymomonas mobilis* CP4 (NRRL B-14023) untuk produksi bioetanol. *AGRITECH*, 34(3), 247.

- Fadila, A. R., Suminto, Subandiyono, & Chilmawati, D. (2021). Pengaruh rasio N:P dalam media kultur terhadap pola pertumbuhan dan kandungan protein *Thalassiosira* sp. *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 2(2), 147-158.
- Falaah, M., & Kusumayanti, H. (2021). Proses Fermentasi pada Produksi Bioetanol Dedak Padi dengan Hidrolisis Enzimatis. *Metana: Media Komunikasi Rekayasa Proses dan Teknologi Tepat Guna*, 17(2), 81–87. <https://doi.org/10.14710/metana.v17i2.43335>
- Faried, M., Khalifa, A., Abdelsalam, E., Attia, Y., Moselhy, M. A., Yousef, R. S., Abdelbary, K., & Samer, M. (2022). Increasing biodiesel production from microalgae using chemical additives. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 24(4), 101-110.
- Fathurohman, M., Herdiana, H., Wulandari, W. T., & Pratita, A. T. K. (2023). Uji aktivitas antioksidan senyawa eksopolisakarida dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Penelitian*, 3, 112.
- Fatimah, Ginting, D., & Sirait, V. (2017). Kinerja mikroba *Zymomonas mobilis* dan *Saccharomyces cerevisiae* untuk menguraikan hidrolisat tongkol jagung menjadi bioetanol dengan pengaruh waktu fermentasi dan rasio penambahan mikroba. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 6(2), 1–X.
- Fatmawati, A., Soeseno, N., Chiptadi, N., dan Natalia, S. 2008. Hidrolisis Batang Padi dengan Menggunakan Asam Sulfat Encer, *Teknik Kimia*, 3(1): 187-191.
- Fatoni, A., Setiawan, A., & Ramadani, T. A. (2022). Pengaruh massa ragi dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol air limbah pencucian dari tangki dissolving industri kecap. *Conference Proceeding on Waste Treatment Technology*, 5(1), 175.
- Febriani, R., Hasibuan, S., & Syafriadiman. (2020). Pengaruh intensitas cahaya berbeda terhadap kepadatan dan kandungan karotenoid *Dunaliella salina*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 25(1), 36-43. <https://doi.org/10.31258/jpk.25.1.36-43>
- Fillah, M. I., Fauzan, R., & Harunsyah. (2024, Oktober). Pembuatan sirup glukosa dari biji durian dengan metode hidrolisis asam. *Jurnal Teknologi*, 24(2), 200–205.
- Fuhrer, T., Fischer, E., & Sauer, U. (2005). Experimental identification and quantification of glucose metabolism in seven bacterial species. *Journal of Bacteriology*, 187(5), 1581–1590.
- Gao, L., Qin, Y., Zhou, X., Jin, W., Dia, Z., Li, X., & Qilin, R. (2024). Microalgae as future food: Rich in nutrients, safety, production costs, and environmental impact. *Science of the Total Environment*, 927, 172167. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172167>
- Ge, S.; Madill, M.; Champagne, P. (2018). Use of freshwater macroalgae *Spirogyra* sp. for the treatment of municipal wastewaters and biomass production for biofuel applications. *Biomass Bioenergy*, 111, 213–223.
- Gildantia, E., Ferniah, R. S., Budiharjo, A., Supriyadi, A., Zainuri, M., & Kusumaningrum, H. P. (2022). Identifikasi spesies mikroalga dari BBPBP Jepara secara morfologi dan molekuler menggunakan 18S rDNA. *Buletin Oseanografi Marina*, 11(2), 167–176. <https://doi.org/10.14710/buloma.v11i2.39703>

- Gírio, F. M., Fonseca, C., Carvalheiro, F., Duarte, L. C., Marques, S., & Bogel-Lukasik, R. (2010). Hemicelluloses for fuel ethanol: a review. *Bioresource Technology*, 101, 4775–4800.
- Gouveia, L. (2011). *Microalgae as a Feedstock for Biofuels*. Springer Brief in Microbiology.
- Gunam, I. B. W., Buda, K., & Guna, M. Y. S. (2010). Pengaruh perlakuan delignifikasi dengan larutan NaOH dan konsentrasi substrat jerami padi terhadap produksi enzim selulase dari *Aspergillus niger* NRRL A-II, 264. *Jurnal Biologi*, XIV(1), 55–61.
- Hadiyanto, & Azim, M. (2012). *Mikroalga: Sumber pangan dan energi masa depan* (Edisi pertama). UPT UNDIP Press. ISBN: 978-602-097-298-3.
- Hadiyanto, M.M.A.Nur and G.D. Hartanto.2012. Cultivation of *Chlorella* sp. as Biofuel Sources in Palm Oil Mill Effluent (POME). *Int. Journal of Renewable Energy Development* 1 (2) : 45-49.
- Hadiyanto, Widayat, & Kumoro, A. C. (2012). Potency of microalgae as biodiesel source in Indonesia. *International Journal of Renewable Energy Development*, 1(1), 23–27. <https://doi.org/10.14710/ijred.1.1.23-27>
- Hambali, S. (2009). Pemanfaatan kulit pisang dengan cara fermentasi untuk pembuatan alkohol. *Majalah Bistek*, 6(6), 20–28.
- Handayani, S. S., Hadi, S., & Patmala, H. (2016). Fermentasi glukosa hasil hidrolisis buah kumbi untuk bahan baku bioetanol. *J. Pijar MIPA*, 11(1), 28–33.
- Harun, R., & Danquah, M. K. (2011). Influence of acid pre-treatment on microalgal biomass for bioethanol production. *Process Biochemistry*, 46(1), 304-309.
- Harun, R., Danquah, M. K., & Forde, G. M. (2010). Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85, 199-203.
- Herawati, N., Roni, K. A., Fransiska, S., & Rifdah. (2021). Pembuatan bioetanol dari rumput gajah dengan proses hidrolisis asam. *Jurnal Redoks*, 6(1), 35–51. <https://doi.org/10.31851/redoks.v6i1.5566>
- Ho, S.-H., Chen, C.-Y., & Chang, J.-S. (2012). Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresource Technology*, 113, 244–252.
- Ho, S.-H., Li, P.-J., Liu, C.-C., & Chang, J.-S. (2013). Bioprocess development on microalgae-based CO₂ fixation and bioethanol production using *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresource Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.119>
- Illman, A.M., Scragg, A.H., & Shales, S.W. (2000). Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme and Microbial Technology*, 27(8), 631–635.
- Inayah, Z. N. (2021). *Keanekaragaman plankton pada perairan dan lambung ikan nila (Oreochromis niloticus) di Waduk Selorejo, Kecamatan Ngantang, Kabupaten Malang* (Skripsi). Universitas Brawijaya, Malang.
- Indriyani, N., Lumbantoruan, L., Musfika, U., & Fathurrahman, F. (2024). Fermented sugar from ultrasound-assisted acid hydrolysis berenuk fruit (*Crescentia cujete* L.). *Reka Buana*, 9(1), 121–130.

- Ishak, H., Idrus, A., & Marwan, U. M. (2022). Pengaruh pencahayaan berbeda terhadap kepadatan fitoplankton *Thalassiosira* sp. pada skala laboratorium. *Eucheuma Journal of Aquaculture*, 1.
- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Fitoplankton Zooplankton*. Kanisius. Yogyakarta. 116 hal.
- Jahnavi, G., Prashanthi, G. S., Sravanthi, K., & Rao, L. V. (2017). Status of availability of lignocellulosic feed stocks in India: Biotechnological strategies involved in the production of bioethanol. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 73, 798–820. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.02.018>
- Jannah, A. M., Yerizam, M., Pratama, M. Y., & Amin, A. R. A. (2023). Pembuatan bioetanol berbahan baku *Chlorella pyrenoidosa* dengan metode hidrolisis asam dan fermentasi. *Journal of Chemical Process Engineering*, 8(1).
- Jannah, A. N., & Fuadi, A. M. (2022). Effect of hydrolysis time and sulfuric acid concentration on reducing sugar content on corn cob hydrolysis. *CHEMICA: Jurnal Teknik Kimia*, 9(1), 10–15. <https://doi.org/10.26555/chemica.v9i1.20637>
- Jaya, D., Setiyaningtyas, R., & Prasetyo, S. (2018). Pembuatan bioetanol dari alga hijau *Spirogyra* sp. *Eksergi*, 15(1), 16–19.
- John, R.P., Anisha, G.S., Nampoothiri, K.M., & Pandey, A. (2011). Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology*, 102(1), 186–193.
- Julaeha, E., Rustiyaty, S., Fajri, N. N., Ramdlani, F., & Tantra, R. (2016). Pemanfaatan tepung gadung (*Dioscorea hispida* Dennst.) pada produksi amilase menggunakan *Bacillus* sp. *FORTECH*, 1(1). Retrieved from <http://ejournal.upi.edu/index.php>
- Kalnenieks, U. (2006). Physiology of *Zymomonas mobilis*: Some unanswered questions. *Advances in Microbial Physiology*, 51, 73–117. [https://doi.org/10.1016/S0065-2911\(06\)51002-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2911(06)51002-1)
- Kawaroe, M., T. Partono, A. Sunudin, D.S. Wulan, dan D. Augustine. 2010. *Mikroalga :Potensi dan Pemanfaatannya Untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. IPB Press. Bogor.
- Khan, A., Habib, M. A. B., Hossain, M. S., & Miah, M. I. (2018). Culture of *Chlorella vulgaris* in press mud media as sugar mill waste. *International Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 3(2), 41–45.
- Khan, M. I., Shin, J. H., & Kim, J. D. (2018). The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0936-2>
- Kowalski, S., Łuczycka, M., & Bzducha-Wróbel, W. (2013). Applicability of physico-chemical parameters of honey for identification of the botanical origin. *Acta Scientiarum Polonorum*, 2(1), 51–59.
- Kristina, E.R. Sari, Novia. 2012. Alkaline Pretreatment dan Proses Simultan Sakarifikasi-Fermentasi untuk Produksi Etanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Teknik Kimia*. 18 (3): 34-43.
- Kurnia, I. (2016). *Optimasi pertumbuhan dan hidrolisis lignoselulosa dari mikroalga Chlorella vulgaris untuk meningkatkan kadar glukosa sebagai bahan baku bioetanol* (Skripsi). Universitas Andalas, Padang.

- Kusmiyati, & Agustini, N. W. S. (2007). Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*, 8(1), 48–53.
- Kusmiyati, K., Heratri, A., Kubikazari, S., Hidayat, A., & Hadiyanto, H. (2020). Hydrolysis of microalgae *Spirulina platensis*, *Chlorella* sp., and macroalgae *Ulva lactuca* for bioethanol production. *International Energy Journal*, 20, 611–620.
- Kusnanda, A. J., Perdana, B. A., Dharma, A., & Chaidir, Z. (2021). Isolasi dan skrining mikroalga air tawar sebagai sumber pigmen karotenoid. *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 43(1), 38-43. <https://doi.org/10.24817/jkk.v43i1.6827>
- Kwangdinata, R., I. Raya, dan M. Zakir. 2014. "Production of Biodiesel from Lipid of *Porphyridium cruentum* through Ultrasonic Method." *ISRN Renewable Energy* 2014: 1–6. <https://doi.org/10.1155/2014/107278>.
- Lembono, P., & Syu, M.-J. (2023). Produksi glukosa dari mikroalga *Chlorella* sp. melalui hidrolisis oleh enzimelulase. *Jurnal Teknologi dan Kimia Industri*, 29(2), 95-103. <https://doi.org/10.36706/jtk.v29i2.1421>
- Limahelu, F. A., Jasman, & Sarifudin, K. (2021). Optimasi suhu, pH, dan konsentrasi inokulum pada proses ko-fermentasi batang sorgum manis (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) dengan biakan *Saccharomyces cerevisiae*–*Trichoderma reesei*. *Jurnal beta Kimia*, 1(2), 54–63. <https://ejurnal.undana.ac.id/index.php/jbk>
- Lloyd, C., Tan, K. H., Lim, K. L., Valu, V. G., Fun, S. M. Y., Chye, T. R., Mak, H. M., Sim, W. X., Musa, S. L., Ng, J. J. Q., Bte Nordin, N. S., Bte Md Aidzil, N., Eng, Z. Y. W., Manickavasagam, P., & New, J. Y. (2021). Identification of microalgae cultured in Bold's Basal Medium from freshwater samples, from a high-rise city. *Scientific Reports*, 11(1), 4474. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84112-0>
- Malasarn, D., Kropat, J., Hsieh, S. I., Finazzi, G., Casero, D., Loo, J. A. and Merchant, S. S. 2013. Zinc deficiency impacts CO₂ assimilation and disrupts copper homeostasis in *Chlamydomonas reinhardtii*. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(15): 10672-10683.
- Mardina, Primata (2014). Pengaruh Waktu Hidrolisis dan Konsentrasi Katalisator Asam Sulfat terhadap Sintesis Furfural dari Jerami Padi. *Konversi*. 2(3) : 2-4.
- Marthia, N. (2020). Pengaruh jenis media kultur terhadap konsentrasi biomassa *Nannochloropsis* sp. *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*, 7(3).
- Maslova, O., Stepanov, N., Senko, O., & Efremenko, E. (2019). Production of various organic acids from different renewable sources by immobilized cells in the regimes of separate hydrolysis and fermentation (SHF) and simultaneous saccharification and fermentation (SSF). *Bioresource Technology*, 272, 1–9.
- Mathews, C. K., van Holde, K. E., & Ahern, K. G. (2000). *Biochemistry* (3rd ed.). San Francisco: Benjamin/Cummings, pp. 278–310.
- Matsumoto, M., Hiroko, Y., Nobukazu, S., Hiroshi, O., & Tadashi, M. (2003). Saccharification of marine microalgae using marine bacteria for ethanol production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*.
- Megawati, M., Bahlawan, Z. A. S., Damayanti, A., Putri, R. D. A., Triwibowo, B., & Prasetyawan, H. (2022). Comparative study on the various hydrolysis and fermentation methods of *Chlorella vulgaris* biomass for the production of

- bioethanol. *International Journal of Renewable Energy Development*, 11(2), 515–522. <https://doi.org/10.14710/ijred.2022.41696>
- Miranda, G., A. Amri, dan S. P. Utami. 2014. Hidrolisis Mikroalga *Tetraselmis chuii* Dengan Variasi Konsentrasi Asam Sulfat dan Temperatur. *Jurnal Jom Ftehnik*. 1(2):1-5.
- Mishbach, I., Permatasari, N. S., Zainuri, M., Kusumaningrum, H. P., & Hastuti, E. D. (2022). Potensi mikroalga *Anabaena sp.* sebagai bahan utama bioetanol [Potential of the microalgae *Anabaena sp.* as bioethanol feedstock]. *Ekotonia: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*, 7(1), 69–76. <https://doi.org/10.33019/ekotonia.v7i1.3144>
- Miskah, S., Istiqomah, N., & Malam, S. (2016). Pengaruh konsentrasi asam pada proses hidrolisis dan waktu fermentasi pembuatan bioetanol dari buah sukun (*Artocarpus altilis*). *Jurnal Teknik Kimia*, 22(3).
- Mottram, D. S., Elmore, J. S., & Hasanah, S. Z. (2017). Pengaruh Perbandingan Gula Merah Cair Dan Nira Terhadap Karakteristik Gula Semut (Palm sugar).Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, univesitas Pasundan. Bandung. PP 1-12
- Mottram, D. S., Elmore, J. S., & Hasanah, S. Z. (2017). Pengaruh Perbandingan Gula Merah Cair Dan Nira Terhadap Karakteristik Gula Semut (Palm sugar).Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, univesitas Pasundan. Bandung. PP 1-12
- Muchammad, A., Kardena, E., & Rinanti, A. (2013). Pengaruh intensitas cahaya terhadap penyerapan gas karbondioksida oleh mikroalga tropis *Ankistrodesmus sp.* dalam fotobioreaktor. *Jurnal Teknik Lingkungan*, 19(2), 103-116. <https://doi.org/10.5614/jtl.2013.19.2.1>
- Muhammad A. J. bin J. (2007). *Tafsir Ath-Thabari, Terj: Ahsan*, (Jakarta: Pustaka Azzam).
- Muhammad, A. J. (2009). *Tafsir Ath-Thabari: Jami' Al-Bayan an Ta'wil Ayi Al-Qur'an* (hal. 680). Jakarta: Pustaka Azzam.
- Muharam, T., Fitriani, D., Jannah, D. F. M., Al Ghifari, M. Z., & Sihombing, R. P. (2022). Karakteristik daya serap air dan biodegradabilitas pada bioplastik berbasis pati singkong dengan penambahan polyvinyl alcohol. *Prosiding Seminar Nasional Aplikasi Sains & Teknologi (SNAST) 2022*, 1979-911X, 2541-528X, D-35.
- Negara, B. F. S. P., Nursalim, N., Herliany, N. E., Renta, P. P., Purnama, D., & Utami, M. A. F. (2019). Peranan dan pemanfaatan mikroalga *Tetraselmis chuii* sebagai bioetanol. *Jurnal Enggano*, 4(2), 136–147. <https://doi.org/10.31186/jenggano.4.2.136-147>
- Nielsen, S. S. (2010). *Food Analysis Laboratory Manual*. Retrieved from <http://cst.ur.ac.rw/library/Food%20Science%20books/batch1/Food%20Analysis%20Laboratory%20Manual%20Second%20Edition>
- Nisa, N. I. F., & Aminudin, A. (2019). Pengaruh waktu distilasi etanol-air terhadap konsentrasi overhead product dan bottom product. *CHEESA: Chemical Engineering Research Articles*, 2(1), 19-25. <https://doi.org/10.12345/cheesa.2019.2.1.19>
- Novelia, D., Putra, A. Y., & Sari, Y. (2022). Review pemanfaatan berbagai macam limbah menjadi bioetanol sebagai bahan bakar alternatif. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 20 (1).

- Nur, M. M. A. (2014). Potensi mikroalga sebagai sumber pangan fungsional di Indonesia (overview). *Eksergi*, 11(2).
- Nurcahyani, E., Sari, Y. P., Diana, E., Sumardi, Qudus, H. I., & Wahyunningsih, S. (2022). Analysis of reducing sugar levels of *Cattleya* sp. orchid plantlet after induction fusaric acid *in vitro*. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 14(2), 95–99.
- Nurjannah, L., Suryani, S., Achmadi, S. S., & Azhari, A. (2017). Produksi asam laktat oleh *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dengan sumber karbon tetes tebu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 9(1). <https://doi.org/10.17969/jtipi.v9i1.5903>
- Olofsson, K., Bertilsson, M., & Lidén, G. (2008). A short review on SSF. An interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Biotechnology for Biofuels*, 1(7). <https://doi.org/10.1186/1754-6834-1-7>
- Özçimen and Inan, B., 2015. An overview of bioethanol production from algae. In: Biofuels-Status and Perspective. *IntechOpen*, pp. 141–162.
- Özçimen, D., Koçer, A. T., İnan, B., & Özer, T. (2020). Bioethanol production from microalgae. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products* (pp. 373–386). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818536-0.00014-2>
- Panesar, P.S., Marwaha, S.S. dan Kennedy, J.F. (2006). *Zymomonas mobilis*: an alternative ethanol producer. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81: 623-635.
- Paradh, A. D. (2015). Gram-negative spoilage bacteria in brewing. In *Brewing Microbiology*. Elsevier Ltd. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-78242-331-7.00008-3>
- Perumal, P., Prasath, B. B., Perumal, S., Ananth, S., Devi, A. S., Kumar, S. D., & Jeyanthi, S. (2015). Isolation and intensive culture of marine microalgae. In S. Perumal et al. (Eds.), *Advances in marine and brackishwater aquaculture* (pp. 1-18). Springer India. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2271-2_1
- Posadas, E., Alcántara, C., García-Encina, P. A., et al. (2017). Microalgae-based biofuels and bioproducts. In C. Gonzalez-Fernandez & R. Muñoz (Eds.), *Microalgae cultivation in wastewater*. Woodhead Publishing (pp. 67–91). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101023-5.00003-0>
- Prasetyo, L. D., Supriyanti, E., & Sedjati, S. (2022). Pertumbuhan mikroalga *Chaetoceros calcitrans* pada kultivasi dengan intensitas cahaya berbeda. *Buletin Oseanografi Marina*, 11(1), 59–70. <https://doi.org/10.14710/buloma.v11i1.31698>
- Pratiwi, N. E. (2018). *Fermentasi hidrolisat eceng gondok kering menjadi etanol oleh Zymomonas mobilis dan Saccharomyces cerevisiae* (Skripsi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember).
- Pratiwi, Y. H., Ratnayani, O., & Wirajana, I. N. (2018). Perbandingan metode uji gula pereduksi dalam penentuan aktivitas α -L-arabinofuranosidase dengan substrat janur kelapa (*Cocos nucifera*). *Jurnal Kimia*, 12(2), 134-139
- Putra, I. K. R. W., Anggreni, A. A. M. D., & Arnata, I. W. (2015). Pengaruh jenis media terhadap konsentrasi biomassa dan klorofil mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 3(2), 40-46.
- Putra, M. A. H., & Purnama, H. (2019). Pengaruh waktu pengeringan dan rasio bahan baku/starter *Zymomonas mobilis* pada pembuatan bioetanol dari

- limbah kulit kopi robusta. Simposium Nasional RAPI XVIII – 2019, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta (UMS). ISSN 1412-9612.
- Rafaelina, M., Rustam, Y., & Amini, S. (2016). *Pertumbuhan dan aktivitas antioksidan dari mikroalga Porphyridium cruentum dan Chlorella sp.* BIOMA, 12(1).
- Ridhani, M. A., Vidyaningrum, I. P., Akmala, N. N., Fatihatunisa, R., Azzahro, S., & Aini, N. (2021). Potensi penambahan berbagai jenis gula terhadap sifat sensori dan fisikokimia roti manis: Review. *Pasundan Food Technology Journal*, 8(3), 61.
- Ridhani, M. A., Vidyaningrum, I. P., Akmala, N. N., Fatihatunisa, R., Azzahro, S., & Aini, N. (2021). Potensi penambahan berbagai jenis gula terhadap sifat sensori dan fisikokimia roti manis: Review. *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*, 8(3), 61–68.
- Risjani, Y., Mutmainnah, N., Manurung, P., Wulan, S. N., & Yunianta. (2021). Exopolysaccharide from *Porphyridium cruentum* (purpureum) is not toxic and stimulates immune response against vibriosis: The assessment using zebrafish and white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Marine Drugs*, 19(3), 133. <https://doi.org/10.3390/md19030133>
- Rizqina, C., Sulardiono, B., & Djunaedi, A. (2017). Hubungan antara kandungan nitrat dan fosfat dengan kelimpahan fitoplankton di Perairan Pulau Pari, Kepulauan Seribu. *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*, 6(1), 43–50. <https://doi.org/10.14710/marj.v6i1.19809>
- Rogers, P. L., Lee, K. J., Skotnicki, M. L., & Tribe, D. E. (1982). Ethanol production by *Zymomonas mobilis*. *Microbial Reactions* (pp. 37–84). Springer, Berlin.
- Rostini, I. 2007. *Kultur Fitoplankton (Chlorella sp. dan Tetraselmis sp.) pada Skala Laboratorium di Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian Bojonegara* (Skripsi). Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Ruswandi, R., Oktavia, B., & Azhar, M. (2018). Penentuan kadar fruktosa hasil hidrolisis inulin dengan DNS sebagai pengoksidasi. *Eksakta*, 19(1), 30 April. <http://eksakta.ppj.unp.ac.id>
- Rutkis, R., Strazdina, I., Balodite, E., et al. (2016). The low energy-coupling respiration in *Zymomonas mobilis* accelerates flux in the Entner-Doudoroff pathway. *PLoS ONE*, 11, 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153866>
- Saisa, & Syabriana, M. (2018). Produksi bioetanol dari limbah kulit kopi menggunakan enzim *Zymomonas mobilis* dan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Serambi Engineering*, 3(1), 271–278. <https://doi.org/10.32672/jse.v3i1.356>
- Salsabilla, A. L., & Fahrurroji, I. (2021). Hidrolisis pada sintesis gula berbasis pati jagung [Hydrolysis in corn starch-based sugar synthesis]. *EDUFORTECH*, 6(1). <http://ejournal.upi.edu/index.php/edufortech>
- Saragi, J. F. H. T., & Purba, J. S. (2020). Pembuatan bioetanol dari tebu. *Jurnal SIMETRIS*, 11(2), November. P-ISSN: 2252-4983, E-ISSN: 2549-3108.
- Sari, N. (2023). Identifikasi analisis kadar karbohidrat dan kadar gula reduksi metode Luff Schoorl dari hidrolisis selulosa limbah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Kimia Saintek dan Pendidikan*, 7(1), 41–47. <https://doi.org/10.51544/kimia.v7i1.3942>

- Sassner, P., Martensson, C. G., Galbe, M., & Zacchi, G. (2008). Steam pretreatment of H₂SO₄-impregnated *Salix* for production of bioethanol. *Journal of Bioresource Technology*.
- Saxena, R.; Rodríguez-Jasso, R.M.; Chávez-Gonzalez, M.L.; Aguilar, C.N.; Quijano, G.; Ruiz, H.A. (2022). Strategy Development for Microalgae *Spirulina platensis* Biomass Cultivation in a Bubble Photobioreactor to Promote High Carbohydrate Content. *Fermentation*, 8, 374. <https://doi.org/10.3390/fermentation8080374te>
- Seftian, D., Antonius, F., & Faizal, M. (2012). Pembuatan Etanol dari Kulit Singkong Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatis dan Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 10-16.
- Sekatresna, W., Dharma, A., Rahmiana Zein, & Chaidir, Z. (2016). Identification of blue-green algae uncultured *Oscillatoria* sp. IPOME-4 isolated from local industry effluent with the potential as β -carotene feedstock. *Jurnal Algae*, 8(12), 110–117.
- Seo, J. S., Chong, H., Park, H. S., Yoon, K. O., Jung, C., Kim, J. J., et al. (2004). The genome sequence of the ethanologenic bacterium *Zymomonas mobilis* ZM4. *Nature Biotechnology*, 23(1), 63–68.
- Setyono, A. E., & Kiono, B. F. T. (2021). Dari energi fosil menuju energi terbarukan: Potret kondisi minyak dan gas bumi Indonesia tahun 2020–2050. *Jurnal Energi Baru & Terbarukan*, 2(3), 154–162.
- Shihab, M. Q. (2007). *Tafsir al-Misbah: Pesan, kesan, dan keserasian Al-Qur'an* (Vol. XI). Jakarta: Lentera Hati.
- Shouny, W., Sharaf, M., Abomohra, A. E., & Abo-Eleneen, M. (2015). Production enhancement of some valuable compounds of *Arthrospira platensis*. *Journal of Basic and Environmental Sciences*, 2, 74-83
- Singh, P., Gupta, S. K., Guldhe, A., Rawat, I., & Bux, F. (2015). *Microalgae isolation and basic culturing techniques*. In S.-K. Kim (Ed.), *Handbook of marine microalgae* (pp.43–54). Boston: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00004-2>
- Solahuddin, Hanifa, N. I., Deccati, R. F., & Muliasari, H. (2021). Isolasi dan uji aktivitas enzim selulase dari rumen sapi (*Bos javanicus*). *Journal of Science Technology of Entrepreneurship*, 3(1). e-ISSN: 2657-1668.
- Solati, D. (2020). *Isolasi dan kultivasi mikroalga dari Sungai Cipinang Jakarta Timur untuk pengolahan limbah* (Skripsi), Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Sulfahri, Mushlihah, S., Utami, R. S., & Sunarto, E. (2011). Pemanfaatan *Spirogyra* sebagai bahan baku bioetanol dengan penambahan enzim α -amilase. *Jurnal Purifikasi*, 12(1), 9–16.
- Suryanto, A. M. (2011). Kelimpahan Dan Komposisi Fitoplankton Di Waduk Selorejo Kecamatan Ngantang Kabupaten Malang. *Jurnal Kelautan*, 4(1).
- Sylvester, B., Nelvy D. dan Sudjiharno. 2002. Persyaratan Budidaya Fitoplankton. Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. *Prosiding Proyek Pengembangan Perekayasaan Teknologi Balai Budidaya Laut Lampung*. Vol:10(2):24-36.
- Taherzadeh, M. J., & Karimi, K. (2007). Enzymes-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. *Bioresources*, 2(4), 707–738.

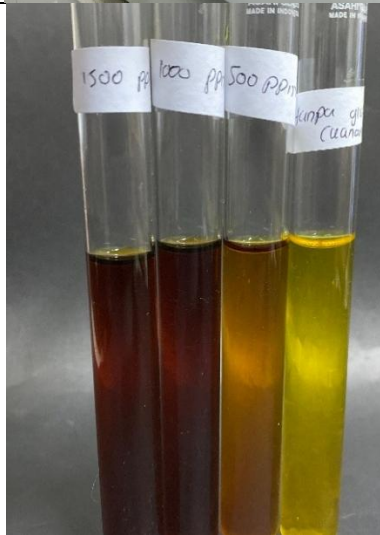
- Taiyeb, M. (2011). *Penuntun Praktikum Analisis Gizi Pangan*. Laboratorium Biologi FMIPA UNM, Makassar.
- Tan, J. S., Lee, S. Y., Chew, K. W., Lam, M. K., Lim, J. W., Ho, S. H., & Show, P. L. (2020). A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids. *Bioengineered*, 11(1), 116–129. <https://doi.org/10.1080/21655979.2020.1711626>
- Tasić, M.B., B.V. Konstantinović, M.L. Lazić, dan V.B. Veljković. 2009. “The Acid Hydrolysis of Potato Tuber Mash in Bioethanol Production.” *Biochemical Engineering Journal* 43 (2): 208–11. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2008.09.019>.
- Telussa, I., Fransina, E. G., & Singerin, J. (2022). Produksi Bioetanol Dari Mikroalga Laut Ambon *Chlorella* sp. Galur Tad. *Jurnal Sains Dasar*, 11(2), 63–69.
- Telussa, I., Fransina, E. G., Singerin, J., & Taipabu, M. I. (2023). Bioethanol production from tropical marine microalgae Ambon Bay *Navicula* sp. of the Inner Ambon Bay strain. *Indonesian Journal of Chemical Research*, 10(3), 136-142. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2023.10-ivo>
- Tewal, F., Kemer, K., Rimper, J. R. T. S. L., Mantiri, D. M. H., Pelle, W. E., & Mudeng, J. D. (2021). Laju pertumbuhan dan kepadatan mikroalga *Dunaliella* sp. pada pemberian timbal asetat dengan konsentrasi yang berbeda. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 9(1).
- Tokah, C., Undap, S. L., & Longdong, S. N. J. (2017). Kajian kualitas air pada area budidaya kurungan jaring tancap (KJT) di Danau Tutud Desa Tombatu. *Budidaya Perairan*, 5(1), 1-11.
- Tutt, M., & Olt, J. (2011). Suitability of various plant species for bioethanol production. *Agronomy Research, Biosystem Engineering Special Issue*, 1, 261–267. <https://www.researchgate.net/publication/267959230>
- Utami, R. S., Sari, E. P., & Inayati, I. (2014). Pengaruh waktu hidrolisa dan konsentrasi asam pada hidrolisa pati kentang dengan katalis asam, *Journal of Chemical Engineering*, 13(2), 45-49.
- Van Harmelen, T., & Oonk, H. (2006). Microalgae biofixation processes: Applications and potential contributions to greenhouse gas mitigation options. Retrieved from <http://www.fluxfarm.com/uploads/3/1/6/8/3168871/biofixation.pdf>
- Vichit, S.; Salakkam, A.; Fiala, K. (2023). Exploring the Potential of *Spirogyra* sp. Biomass for Ethanol Production: Optimization of Saccharification and High-Temperature Ethanol Fermentation. *Processes*, 11, 2920. <https://doi.org/10.3390/pr11102920>.
- Vuuren, S.J.V., Taylor, J., Ginket, C.V., & Gerber, A. 2006. *Easy Identification of The Most Common Freshwater Algae*. Department of Water Affairs and Forestry, North-West University.
- Wahyudi, C., Chilmawati, D., Samidjan, I., & Suminto. (2022). Pengaruh rasio chelator dan metal pada media kultur terhadap pola pertumbuhan dan kandungan protein sel diatom *Thalassiosira* sp. *Jurnal Akuakultur*, 6, 129–137.
- Wang, S., & Copeland, L. (2013). Effect of acid hydrolysis on starch structure and functionality: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.684551>

- Wibowo, A. H., Mubarokah, L., & Suratman, A. (2013). The fermentation of green algae (*Spirogyra majuscula* Kuetz) using immobilization technique of Ca-alginate for *Saccharomyces cerevisiae* entrapment. *Indo J. Chem*, 13, 7–13.
- Widyastanti, S., & Widyaningrum, T. (2022). Produksi bioetanol limbah nasi aking fermentasi menggunakan *Zymomonas mobilis* dengan perlakuan konsentrasi crude enzim *Bacillus amyloliquefaciens*. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(2), 901-908. <https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist>
- Wilberta, N., Sonya, N. T., & Lydia, S. H. R. (2021). Analisis kandungan gula reduksi pada gula semut dari nira aren yang dipengaruhi pH dan kadar air. *Bioedukasi: Jurnal Pendidikan Biologi*, 12(1).
- Woiciechowski, A. L., Nistsche, S., Pandey, A., & Socco, C. R. (2002). Acid and enzymatic hydrolysis to recover reducing sugars from cassava bagasse: An economic study. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45(3), 393–400.
- Wulandari, P. A., Fatimura, M., & Fitriyanti, R. (2023). Pengaruh konsentrasi H₂SO₄ dan waktu fermentasi terhadap proses pembuatan bioetanol berbahan eceng gondok (*Eichhornia crassipes*). *Jurnal Teknologi dan Inovasi Industri*, 4(2), 9-15.
- Yuansah, S. C. (2019). Potensi pembuatan gula non digestible dari selulosa dan hemiselulosa menggunakan hidrolisis enzimatis. *CANREA Journal*, 2(2), 69. <https://doi.org/10.20956/canrea.v2i2.116>
- Yun, C.J., Hwang, K.O., Han, S.S., & Ri, H.G. (2019). The effect of salinity stress on the biofuel production potential of freshwater microalgae *Chlorella vulgaris* YH703. *Biomass and Bioenergy*, 127, 105277. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105277>
- Zelvi, M., Suryani, A., & Setyaningsih, D. (2017). Hidrolisis *Eucheuma cottonii* dengan enzim k-karagenase dalam menghasilkan gula reduksi untuk produksi bioetanol. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 27(1), 33-42.
- Zhang, Q., Nurhayati, C. C. L., et al. (2017). Ethanol production by modified polyvinyl alcohol-immobilized *Zymomonas mobilis* and in situ membrane distillation under very high gravity condition. *Applied Energy*, 202, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.05.105>
- Zhang, Y. P., & Lynd, L. R. (2004). Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulase systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 88(7), 797–824. <https://doi.org/10.1002/bit.20282>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian

Penimbangan tepung <i>Nannochloropsis</i> sp.		
Deret standar glukosa uji fenol-asam sulfat		
Uji gula total sampel <i>Nannochloropsis</i> sp.		

Hidrolisis asam		
Sentrifugasi sampel		
Deret standar glukosa metode DNS		

Supernatan hasil sentrifugasi untuk analisis kadar gula reduksi	
Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis	

Lampiran 2. Perhitungan Kadar Gula Total dan Gula Reduksi *Nannochloropsis* sp.

1). Perhitungan Kadar Gula Total

Berdasarkan absorbansi sebesar 1,068 dan persamaan regresi

$$y=0,0036x+0,1144$$

maka konsentrasi gula (x) dapat dihitung sebagai berikut:

$$x=\frac{1,068-0,1144}{0,0036}=264,89 \text{ mg/L}$$

Keterangan:

y=nilai absorbansi

x adalah konsentrasi gula (mg/L).

Gula total sampel *Nannochloropsis* sp. yang diperoleh sebesar 1,068 mg/L

2). Perhitungan Kadar Gula Reduksi

Persamaan regresi linier yang diperoleh dari larutan standar glukosa adalah $y = 0.001x - 0.0811$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0.8989. Hasil persamaan tersebut digunakan untuk menghitung konsentrasi gula reduksi dalam sampel perlakuan.

$$y = 0.001x - 0.0811$$

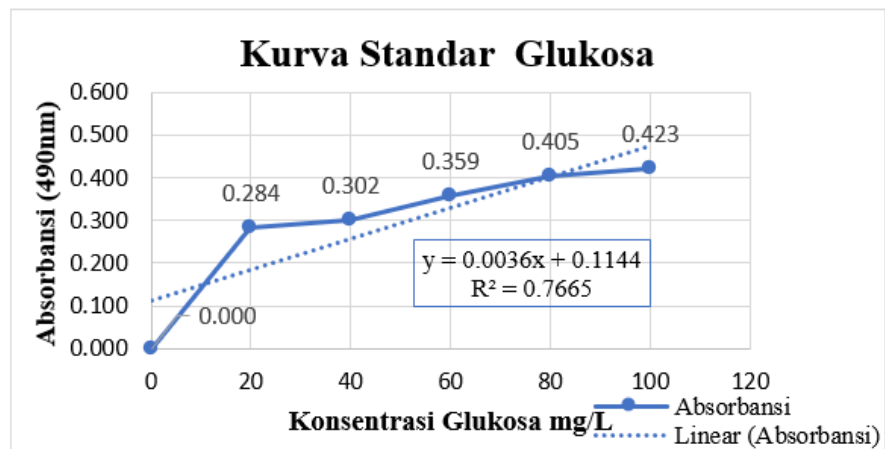
Keterangan:

y=nilai absorbansi

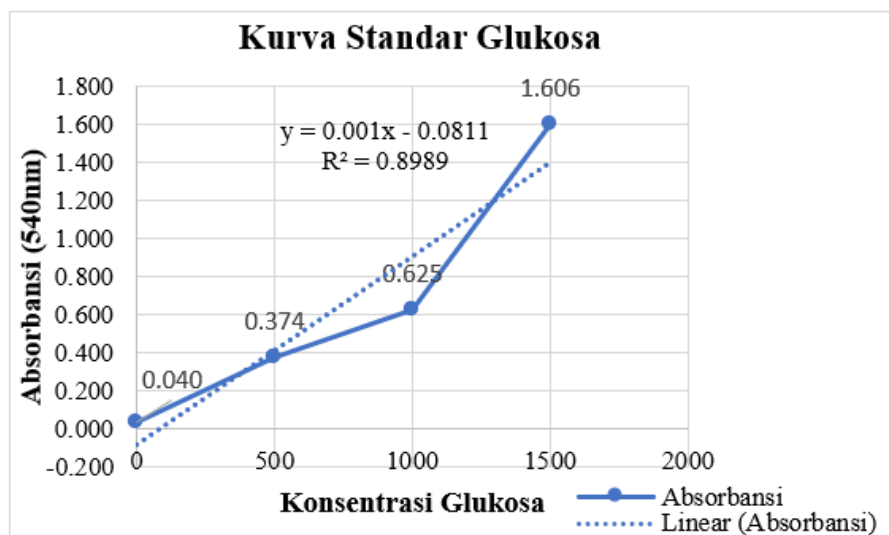
x adalah konsentrasi gula (mg/L).

Lampiran 3. Grafik Kurva Standar Glukosa

1). Kurva Standar Perhitungan Gula Total



2). Kurva Standar Perhitungan Gula Reduksi



Lampiran 4. Data Perlakuan Semua Ulangan

Konsentrasi Asam (%)	Suhu (°C)	Ulangan	Absorbansi (540nm)	Kadar Gula Reduksi (mg/L)
1	100	1	0,183	264,1
1	100	2	1,062	1143,1
1	100	3	1,172	1253,1
2	100	1	1,033	1114,1
2	100	2	0,089	170,1
2	100	3	0,720	801,1
3	100	1	0,251	332,1
3	100	2	0,083	164,1
3	100	3	0,600	681,1
1	120	1	0,324	405,1
1	120	2	0,948	1029,1
1	120	3	0,451	532,1
2	120	1	0,923	1004,1
2	120	2	0,954	1035,1
2	120	3	0,597	678,1
3	120	1	1,809	1890,1
3	120	2	0,924	1005,1
3	120	3	1,366	1447,1
Kontrol	Tanpa perlakuan	1	0,049	130,1
Kontrol	Tanpa perlakuan	2	0,063	144,1
Kontrol	Tanpa perlakuan	3	0,061	142,1

Lampiran 5. Hasil Analisis Menggunakan SPSS

Tabel 1. Hasil Analisis Two Way ANOVA

Perlakuan	Gula Reduksi (mg/L)
1% 100°C	886.76 ± 442.57 ^a
2% 100°C	695.1 ± 392.57 ^a
3% 100°C	392.43 ± 215.33 ^a
1% 120°C	655.43 ± 269.26 ^a
2% 120°C	905.76 ± 161.48 ^a
3% 120°C	1447.43 ± 261.3 ^a

Descriptive Statistics

Dependent Variable: mg/L

%	°C	Mean	Std. Deviation	N
1.0	100	886.76667	542.042741	3
	120	655.43333	329.776187	3
	Total	771.10000	420.808270	6
2.0	100	695.10000	480.844050	3
	120	905.76667	197.773439	3
	Total	800.43333	348.488546	6
3.0	100	392.43333	263.727764	3
	120	1447.43333	442.500094	3
	Total	919.93333	663.363375	6
Total	100	658.10000	441.850654	9
	120	1002.87778	456.984622	9
	Total	830.48889	470.760229	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: mg/L

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	1890964.94 ^a	5	378192.989	2.419	.098	.502
Intercept	12414812.30	1	12414812.30	79.392	.000	.869
Konsentrasi	74584.111	2	37292.056	.238	.791	.038
Suhu	534922.722	1	534922.722	3.421	.089	.222
Konsentrasi * Suhu	1281458.111	2	640729.056	4.097	.044	.406
Error	1876493.333	12	156374.444			
Total	16182270.58	18				
Corrected Total	3767458.278	17				

a. R Squared = .502 (Adjusted R Squared = .294)

Tabel 2. Hasil Analisis Uji Lanjut Tukey HSD

ANOVA

mg/L

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1890964.944	5	378192.989	2.419	.098
Within Groups	1876493.333	12	156374.444		
Total	3767458.278	17			



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341) 551354, Fax. (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 210602110073
Nama : ROFIQA ILHAMI
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan : BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.
Dosen Pembimbing 2 : KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : Optimalisasi konsentrasi asam sulfat dan suhu hidrolisis pada mikroalga lokal waduk Selorejo untuk meningkatkan gula reduksi sebagai bahan baku bioetanol

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	28 September 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Bimbingan Konsep Penelitian	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
2	02 Oktober 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Bimbingan Konsep Penelitian	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
3	04 Oktober 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Bimbingan Konsep Penelitian	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
4	15 Oktober 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Bimbingan Konsep Penelitian	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
5	30 Oktober 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Bimbingan Bab I	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
6	04 November 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Bimbingan Bab I	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
7	12 November 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Bimbingan Bab I dan III	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
8	04 Desember 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Bimbingan Bab I, II dan III	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
9	06 Desember 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Bimbingan Bab I, III dan III	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
10	06 Desember 2024	KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I	Bimbingan Integrasi	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
11	10 Desember 2024	KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I	Acc Integrasi	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
12	20 Desember 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	ACC Bab III	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
13	03 Juni 2025	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Acc Bab IV dan V	Genap 2024/2025	Belum Dikoreksi
14	03 Juni 2025	KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I	Acc bab IV dan V	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

KIVAH AHA PUTRA,M.Pd.I



Malang, _____
Dosen Pembimbing 1

Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Rofiqah Ilhami
 NIM : 210602110073
 Judul : Optimalisasi Asam Dan Suhu Hidrolisis Pada Mikroalga *Nannochloropsis* sp.
 Dalam Menghasilkan Gula Reduksi

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	138	
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		



Mengetahui,
 Ketua Program Studi Biologi

Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
 NIP. 19741018 200312 2 002