

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Krisis energi global dan lonjakan konsumsi minyak bumi menjadi tantangan utama bagi keberlanjutan pasokan energi dunia. Minyak bumi masih mendominasi lebih dari 30% bauran energi primer global dan permintaannya terus meningkat seiring pertumbuhan penduduk dan aktivitas ekonomi. Wang *et al.* (2023) melaporkan bahwa konsumsi minyak dunia mencapai 102,2 juta barel per hari pada 2023 dan diproyeksikan naik menjadi 105,7 juta barel per hari pada 2028, setara dengan tambahan konsumsi sekitar 1,3 miliar barel per tahun. Di Indonesia, konsumsi minyak bumi sekitar 1,6 juta barel per hari, sedangkan produksi domestik hanya 600 ribu barel per hari sehingga harus ditutupi dengan impor (Santoso *et al.*, 2021). Tekanan konsumsi ini diperparah oleh sektor transportasi yang menyumbang hampir setengah konsumsi minyak, serta sektor industri dan pembangkitan listrik yang menjadi pengguna energi dalam skala besar (Zhang *et al.*, 2020). Kondisi ini menuntut strategi transisi energi yang lebih agresif agar kebutuhan industri dapat terpenuhi tanpa meningkatkan kerentanan pasokan dan biaya produksi.

Peningkatan pengembangan energi terbarukan memang terjadi, tetapi belum mampu menggeser dominasi bahan bakar fosil dalam bauran energi primer. Lebih dari 80% kebutuhan energi global masih dipenuhi oleh batu bara, minyak bumi, dan gas alam (Huang *et al.*, 2021). Konsumsi energi terus meningkat sejalan dengan pertumbuhan penduduk, ekspansi sektor industri, dan kebutuhan transportasi yang semakin tinggi. Di Indonesia, konsumsi minyak bumi telah mencapai sekitar 1,6 juta barel per hari, atau hampir 584 juta barel per tahun, sedangkan produksi domestik hanya sekitar 600 ribu barel per hari sehingga sisanya harus dipenuhi melalui impor (Santoso *et al.*, 2020). Ketergantungan ini membuat perekonomian nasional rentan terhadap fluktuasi harga minyak global dan memperbesar beban subsidi energi.

Dampak lain penggunaan energi fosil yaitu dapat meningkatkan emisi karbon dioksida (CO₂), penggunaan bahan bakar fosil juga melepaskan metana (CH₄) dan nitrogen dioksida (N₂O) yang memiliki potensi pemanasan

global jauh lebih besar, sehingga memperburuk kualitas udara, mengganggu kelestarian hayati, dan mempercepat laju perubahan iklim. Ketersediaan teknologi mitigasi yang masih terbatas menyebabkan emisi non-karbon sukar dikendalikan. Ketimpangan kebijakan energi dan lingkungan memperparah perlambatan adopsi energi bersih di negara berkembang. Wiratama *et al.* (2019) menambahkan bahwa insentif terhadap energi terbarukan masih lemah akibat beban subsidi bahan bakar fosil yang besar.

Upaya pengurangan emisi dilakukan melalui pengembangan bahan bakar nabati sebagai substitusi solar. Program mandatori B30 yang diterapkan pemerintah Indonesia sejak 2020 meningkatkan konsumsi biodiesel secara signifikan (Kurniawan *et al.*, 2022). Biodiesel berbasis minyak sawit menjadi bahan baku utama dalam implementasi program ini. Produksi minyak sawit dalam skala besar menimbulkan dilema karena terkait dengan konversi lahan, deforestasi, dan emisi tidak langsung. Rizaldi *et al.* (2021) melaporkan bahwa ekspansi perkebunan sawit berkorelasi dengan penurunan tutupan hutan alam dan peningkatan degradasi lahan gambut. Efektivitas biodiesel dalam menurunkan emisi sangat tergantung pada pendekatan keberlanjutan dalam rantai produksinya.

Emisi dari biofuel berbasis sawit dapat setara atau bahkan lebih tinggi dibanding bahan bakar fosil jika mempertimbangkan perubahan tata guna lahan. Edwards *et al.* (2021) menyatakan bahwa biodiesel sawit dengan latar deforestasi menghasilkan jejak karbon negatif. Kebutuhan terhadap diversifikasi sumber bioenergi yang lebih ramah lingkungan dan tidak konflik dengan pangan semakin mendesak. Bahan baku alternatif yang efisien, berkelanjutan, dan bebas dari konversi lahan menjadi solusi yang dicari. Salah satu kandidat yang banyak diteliti adalah mikroalga autotrofik seperti *Chlorella vulgaris* karena memiliki karakteristik metabolik berupa kemampuan fotosintesis yang tinggi, efisiensi konversi CO₂ menjadi biomassa yang besar, dan akumulasi lipid hingga lebih dari 50% berat kering sel di bawah kondisi stres nutrien. Secara ekologis, *C. vulgaris* unggul karena dapat tumbuh cepat pada berbagai kondisi lingkungan, tidak memerlukan lahan subur untuk kultivasi, serta mampu berperan sebagai agen bioremediasi

yang aman bagi lingkungan dengan menyerap nutrisi berlebih maupun logam berat dari limbah cair.

Mikroalga jenis ini memiliki adaptasi lingkungan tinggi dan mampu tumbuh pada berbagai jenis air, termasuk air limbah. Nguyen *et al.* (2020) menunjukkan bahwa *Chlorella vulgaris* dapat tumbuh dengan baik di air limbah domestik, memanfaatkan kandungan nutrisi seperti nitrat dan fosfat. Panis dan Carreon (2019) menambahkan bahwa mikroalga tidak membutuhkan lahan pertanian produktif, sehingga tidak menimbulkan konflik lahan dengan pertanian pangan. Adaptabilitas tinggi membuat mikroalga cocok digunakan di berbagai skenario produksi bioenergi. Efisiensi fisiologis dan kesesuaian ekologisnya yang lebih cepat dalam reproduktif dan adaptif menjadikan *Chlorella vulgaris* pilihan menarik dalam skala industri.

Kecepatan pertumbuhan sel *Chlorella vulgaris* menjadi keunggulan utama dalam sistem produksi tertutup maupun terbuka. Kokabi *et al.* (2021) melaporkan bahwa waktu duplikasi sel dapat dicapai dalam waktu 24 jam di bawah kondisi optimal. Chew *et al.* (2021) menunjukkan kecepatan fotosintesis mencapai 6–8%, jauh lebih tinggi dibanding tanaman darat seperti jagung dan kedelai yang hanya 1–2%. Potensi penyerapan CO₂ hingga 1,8 g/L/hari telah diamati dalam kultur intensif menggunakan fotobioreaktor (Tian *et al.*, 2022). Produksi biomassa pada sistem tertutup bahkan mampu mencapai 60 g/m²/hari, sangat menjanjikan untuk konversi energi.

Chlorella vulgaris menunjukkan keunggulan dalam keseimbangan antara kandungan lipid, pertumbuhan biomassa, dan produktivitas harian. *Botryococcus braunii* mampu menyimpan lipid hingga 50–75% berat kering sel, tetapi kelemahannya adalah laju pertumbuhan yang sangat lambat sehingga produktivitas lipid harian rendah (Banerjee *et al.*, 2020). *Scenedesmus obliquus* dapat mencapai kandungan lipid sekitar 30–35%, namun akumulasi biomassa tidak setinggi *Chlorella vulgaris*, sehingga hasil akhir tetap lebih rendah (Zhang *et al.*, 2021). *Nannochloropsis gaditana* relatif stabil dalam produksi lipid (30–32%), tetapi keterbatasannya terletak pada laju pertumbuhan yang moderat serta dominasi asam lemak jenuh yang kurang ideal untuk biodiesel berkualitas tinggi (Abdullah *et al.*, 2019).

Dibandingkan dengan ketiga spesies tersebut, *Chlorella vulgaris*, meskipun hanya menyimpan lipid sekitar 37,2% berat kering sel, mampu menghasilkan biomassa tinggi dalam waktu singkat dengan laju pertumbuhan cepat, sehingga produktivitas lipid harian dan potensi biodiesel lebih unggul serta relevan untuk aplikasi biofuel skala industri (Yadav *et al.*, 2022).

Komposisi lipid alami dari *Chlorella vulgaris* masih menjadi tantangan. Kandungan lipid hanya berkisar antara 10–20% berat kering sel, dengan rata-rata sekitar 14% (Matsakas *et al.*, 2019). Nilai tersebut belum mencukupi untuk konversi biodiesel yang ekonomis tanpa perlakuan tambahan. Takeshita *et al.* (2022) menggarisbawahi pentingnya strategi peningkatan kandungan lipid secara selektif tanpa menurunkan produktivitas biomassa secara signifikan. Upaya optimalisasi dilakukan dengan menginduksi stres nutrisi yang memicu akumulasi lipid. Respons fisiologis terhadap stres menjadi salah satu area penting dalam riset bioenergi mikroalga.

Stres lingkungan seperti pembatasan nitrogen, fosfor, dan sulfur terbukti meningkatkan akumulasi triacylglycerol (TAG) dalam sel. Gao *et al.* (2019) melaporkan bahwa pembatasan nitrogen dapat meningkatkan akumulasi lipid hingga sekitar 275 mg·g⁻¹ (27.5% DCW), hampir dua kali lipat dibanding kondisi basal (14% atau 140 mg·g⁻¹). Perlu dicatat bahwa peningkatan persentase lipid sering kali diiringi penurunan laju pertumbuhan dan produktivitas volumetrik, sehingga trade-off antara kandungan lipid dan laju produksi harus dianalisis.. Zhang *et al.* (2020) menunjukkan bahwa peningkatan salinitas juga dapat meningkatkan kadar lipid hingga 1,8 kali lipat pada konsentrasi NaCl 25 g/L. Kombinasi cahaya tinggi dan nitrogen rendah mampu mendorong akumulasi lipid sebesar 62,5% dari berat kering sel (Zhang *et al.*, 2021). Meskipun efektif, strategi ini harus diimbangi agar tidak mengorbankan laju pertumbuhan biomassa secara drastis.

Jalur biosintesis lipid melibatkan konversi asetil-CoA menjadi malonil-CoA oleh enzim ACCase, yang dilanjutkan melalui jalur Kennedy untuk sintesis TAG. Patel *et al.* (2020) menjelaskan bahwa jalur ini terdiri dari tahapan esterifikasi oleh GPAT, LPAAT, dan DGAT yang menentukan

efisiensi pembentukan TAG. Kumar *et al.* (2021) menekankan bahwa TAG merupakan bentuk lipid paling sesuai untuk transesterifikasi menjadi biodiesel. Struktur kimianya menyerupai minyak nabati konvensional sehingga dapat diproses dengan efisien melalui teknologi yang telah tersedia. Keberhasilan sintesis TAG dalam jumlah tinggi menjadi indikator utama produktivitas biofuel mikroalga.

Meskipun strategi stressing mampu meningkatkan kandungan lipid, risiko penurunan produktivitas biomassa tetap menjadi tantangan. Penelitian oleh Wang *et al.* (2021) memperlihatkan bahwa pembatasan nutrisi yang ekstrem dapat menurunkan pertumbuhan sel lebih dari 40%. Akumulasi senyawa reaktif oksigen (ROS) menjadi pemicu utama kerusakan sel akibat stres berkepanjangan. Lim *et al.* (2022) menunjukkan bahwa stres oksidatif menghambat aktivitas enzim fotosintetik dan menurunkan viabilitas kultur. Zhou *et al.* (2023) menyarankan pendekatan integratif yang menggabungkan perlakuan stres ringan dengan manajemen nutrisi untuk menjaga efisiensi sistem produksi.

Penelitian mengenai lipid *Chlorella vulgaris* sebagai potensi biofuel skala massal masih terbatas, terutama dalam kaitannya dengan stressing booster dalam meningkatkan produksi lipid. Penelitian sebelumnya yang dilakukan dalam rentang tahun 2014–2021 belum memberikan pembaharuan data terkini. Oleh karena itu, penelitian ini diarahkan untuk mengevaluasi potensi pemanfaatan nanopartikel hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) sebagai pemicu stres metabolik yang dapat meningkatkan produksi lipid pada *Chlorella vulgaris*. Proses kuantifikasinya dilakukan melalui pewarnaan *in vivo* menggunakan Nile Red, yang memungkinkan deteksi cepat dan selektif terhadap lipid netral. Kombinasi pendekatan ini masih jarang dijumpai dalam literatur, sehingga diharapkan mampu memberikan kontribusi terhadap pengembangan metode efisien dan terukur dalam budidaya mikroalga sebagai bahan baku biofuel.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1. Bagaimana pengaruh pemberian hematit $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ terhadap peningkatan produksi lipid *Chlorella vulgaris* sebagai potensi pengembangan produksi *biofuel* ?
- 1.2.2. Bagaimana pewarnaan *Nile Red* dalam mendeteksi kuantitas lipid *Chlorella vulgaris* secara *in-vivo* ?

1.3 Tujuan

- 1.3.1 Menganalisis kemampuan $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ dalam meningkatkan kandungan lipid pada *Chlorella vulgaris*.
- 1.3.2 Menganalisis kemampuan pewarnaan *Nile Red* dalam mendeteksi keberadaan lipid *Chlorella vulgaris* secara *in-vivo*.

1.4 Manfaat

- 1.4.1 Penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan teknologi peningkatan produksi lipid mikroalga melalui pendekatan nanoteknologi, khususnya penggunaan nanopartikel $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, yang dapat diaplikasikan pada skala industri *biofuel*.
- 1.4.2 Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat mendukung pencapaian energi terbarukan yang lebih bersih dan berkelanjutan di Indonesia dengan memanfaatkan sumber daya hayati seperti *Chlorella vulgaris* yang tidak bersaing dengan pangan, serta berpotensi besar dalam menyerap karbon dan menghasilkan lipid berkualitas tinggi.