

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Mikroalga**

Mikroalga pada umumnya merupakan tumbuhan renik berukuran mikroskopik (diameter antara 3-30  $\mu\text{m}$ ) yang termasuk dalam kelas alga dan hidup sebagai koloni maupun sel tunggal di seluruh perairan tawar maupun laut. Morfologi mikroalga berbentuk uniseluler atau multiseluler tetapi belum ada pembagian fungsi organ yang jelas pada sel-sel komponennya. Hal itulah yang membedakan mikroalga dari tumbuhan tingkat tinggi.

Mikroalga hidup di berbagai habitat perairan dan dapat ditemukan mulai di bagian sedimen sampai area intertidal. Mikroalga umumnya bersel satu atau berbentuk benang dan selama hidupnya merupakan plankton. Gunawan (2011) dalam Widyastuti (2014) menjelaskan bahwa mikroalga juga merupakan kelompok fitoplankton atau plankton jenis nabati. Oleh karenanya, mikroalga lazim disebut sebagai fitoplankton. Fitoplankton memiliki zat hijau daun (klorofil) yang berperan dalam menghasilkan bahan organik dan oksigen dalam air. Sebagai dasar mata rantai pada siklus makanan di laut, fitoplankton menjadi makanan alami bagi zooplankton baik yang masih kecil maupun yang dewasa. Selain itu, fitoplankton juga menjadi nutrisi bagi larva ikan dan vertebrata, mikroba dan organisme yang lebih besar seperti udang, kepiting, kerang, ikan dan burung (Anonim, 2008 dalam Widyastuti, 2014).



(Sumber: Catur Rini dan Ayu Chandra, 2010)

Gambar 1. Struktur Umum Mikroalga

Manfaat lainnya dari mikroalga yaitu dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi, sebagai makanan suplemen serta sebagai sumber energi alternatif biodiesel. Berkaitan dengan besarnya manfaat mikroalga dalam kehidupan maka masih diperlukan banyak penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sebaran jenis mikroalga di berbagai wilayah perairan Indonesia, sekalipun penelitian terkait memang telah banyak dilakukan.

### 2.1.1 Identifikasi Mikroalga

Berikut ini merupakan beberapa penjelasan mengenai divisi Mikroalga:

#### 1. *Cyanobacteria* atau Alga Biru Hijau

*Cyanobacteria* atau Alga Biru Hijau adalah kelompok alga yang paling primitif dan memiliki sifat-sifat bakterial dan alga. Kelompok ini adalah organisme prokariotik tidak memiliki struktur-struktur sel, contohnya nukleus dan chloroplast. Hanya memiliki chlorophila, namun memiliki variasi phycobilin seperti carotenoid. Pigmen-pigmen ini beragam variasi sehingga warnanya bisa bermacam-macam. Contohnya *Spirulina*, *Oscillatoria*, *Anabaena*.

#### 2. Alga Hijau (*Chlorophyta*)

Alga hijau adalah kelompok alga yang paling maju dan memiliki banyak sifat-sifat tanaman tingkat tinggi. Merupakan organisme prokaryotik dan memiliki struktur-struktur sel khusus, memiliki kloroplas, DNA-nya berada dalam sebuah nukleus, dan beberapa jenisnya memiliki flagella. Dinding sel alga hijau sebagian besar berupa sellulosa, meskipun ada beberapa yang tidak mempunyai dinding sel. Mempunyai klorophil a dan beberapa karotenoid, dan biasanya mereka berwarna hijau rumput. Pada saat kondisi budidaya menjadi padat dan cahaya terbatas, sel akan memproduksi lebih banyak klorophil dan menjadi hijau gelap. Contoh: *Tetraselmis* (Air tawar, air laut) dan *Pyramimonas* memiliki penampakan serta sifat berenang yang identik dengan *tetraselmis*. Kedua organisme ini adalah sumber makan yang populer untuk mengkultur rotifer, kerang, dan larva udang.

Contoh lainnya, *Clamidomonas* (Air tawar, air laut), *Nannocloris* (Air tawar, air laut,) yang berwarna hijau tidak motil dan tidak memiliki flagel, berukuran

sangat kecil dengan diameter 1,5-2,5 mm, sel berbentuk bola, cenderung mengapung dalam budidaya, berupa suspensi dalam kondisi tanpa aerasi sehingga menguntungkan bagi usaha budidaya. organisme ini adalah sumber makan yang populer untuk mengkultur rotifer, kerang, dan larva udang. *Dunaliella* (air tawar, air laut), *Botryococcus* dan *Chlorella* (Air tawar, air laut) yang selnya bereproduksi dengan membentuk dua sampai delapan sel anak didalam sel induk yang akan dilepaskan dengan melihat kondisi lingkungan. Merupakan pakan untuk rotifer dan dapnia.

### 3. Diatom (*Bacillariophyceae*)

Diatom adalah kelompok alga yang unik dengan dinding sel yang terbentuk dari silikon dioksida yang dipenuhi banyak lubang sehingga tampak seperti ayakan (saringan) dan secara komersial dapat digunakan sebagai perlengkapan dalam beberapa peralatan filter. Tidak memiliki flagella kecuali pada beberapa spesies tertentu. hanya memiliki chlorophyl a dan c serta beberapa carotenoid seperti fucoxanthin sehingga berwarna kecoklatan. Organisme ini biasa digunakan sebagai pakan dalam budidaya. Contoh *Chaetoceros* (Air laut,) yang populer sebagai pakan rotifer, kerang-kerangan, tiram, dan larva udang.

### 4. Alga Coklat Emas (*Chrysophyceae*)

Alga coklat-emas dikaitkan dengan diatomae, namun mereka memiliki dinding sel silika yang sedikit selama masa hidup mereka. Alga ini memiliki sifat-sifat yang dapat ditemui pada sebagian besar alga. Beberapa anggota kelompok alga ini memiliki flagella dan motil. Semua memiliki kloroplas dan memiliki DNA yang terdapat di dalam nukleusnya. Alga ini hanya memiliki chlorophyl a dan c serta beberapa carotenoid seperti fucoxanthin yang memberikan mereka warna kecokelatan. Alga ini seringkali dibudidayakan dalam bentuk uniseluler pada usaha budidaya sebagai sumber pakan. Contoh *Isochrysis* (air laut), *Nannochloropsis* (air tawar, air laut), *Ellipsoidon* (Air tawar, air laut).

### 5. Alga Merah (*Rhodophyta*)

Alga merah merupakan makroalga i. hanya memiliki chlorophyl a di samping memiliki pigmen lainnya seperti phycocyanin (pigmen biru), dan phycoeretrin (pigmen merah), seperti juga halnya berbagai carotenoid. Phycoeretrin memberi

warna merah pada alga ini. Selain itu alga ini juga terkadang berwarna hijau kebiruan hingga ungu. Alga merah uniseluler tidak motil dan tidak memiliki flagel. Dapat digunakan dalam lingkungan budidaya. Contohnya *Porphyridium*. Alga ini digunakan pada lingkungan budi daya untuk memenuhi kebutuhan karbohidrat.

#### 6. *Euglenophyta*

*Euglenophyta* dimasukkan dalam kelompok alga hijau oleh beberapa ahli taksonomi dan dimasukkan ke dalam golongan protozoa oleh sebagian ahli lainnya dikarenakan organisme ini memiliki sifat-sifat tanaman sekaligus hewan. Organisme ini merupakan organisme eukaryotik dengan struktur-struktur tubuh yang dapat dijumpai pada sebagian besar alga, namun mereka juga memiliki kerongkongan sehingga mereka dapat memasukkan partikel ke dalam tubuhnya. Mereka memiliki satu flagella yang panjang dan biasanya berenang dengan cara menarik diri mereka melalui air. Beberapa di antaranya melakukan gerakan amoeboid. Organisme ini tidak memiliki dinding sel, namun mereka memiliki lapisan luar yang keras yang tersusun dari protein yaitu pellicle, yang memiliki fungsi yang sama seperti dinding sel. *Euglenophyta* memiliki chlorophyl a dan b beberapa carotenoid dan biasanya mereka terlihat berwarna hijau rumput. *Euglena* umum ditemukan di perairan yang kaya akan nutrien. contoh *Euglena*.

#### 7. *Cryptophyta*

*Cryptophyta* adalah kelompok uniseluler yang unik yang tidak memiliki kedekatan dengan kelompok alga lainnya. Kelompok ini merupakan organisme eukaryotik, dan mereka juga memiliki kerongkongan. Semua spesies kelompok ini memiliki flagel, bersifat motil, dan memiliki satu atau dua kloroplast serta memiliki chlorophyl a dan c, phycocyanin dan phycoeretrin serta beberapa carotenoid yang memberikan warna kecokelatan pada tubuh mereka. *Cryptomonas* (Air tawar, air laut;). memiliki 1-2 kloroplas cokelat dan dapat melakukan fotosintesa ataupun bertahan hidup menggunakan bakteri. Pada umumnya tidak digunakan sebagai pakan pada lingkungan budidaya, namun demikian populasi di alam merupakan makanan bagi rotifer, kerang, tiram, dan larva udang.

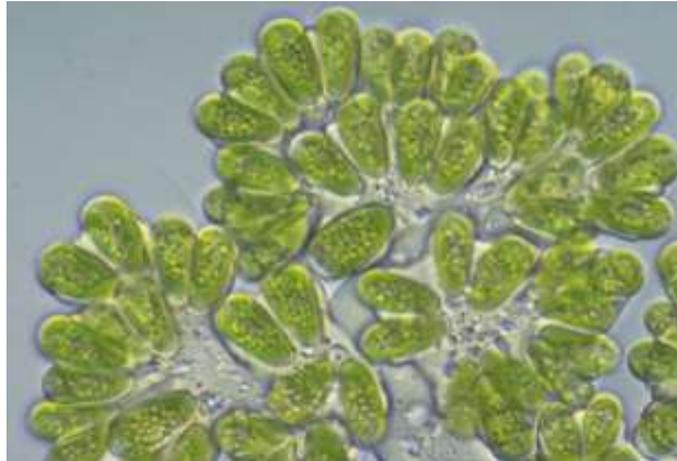
## 8. *Phyrrrophyta*

Dalam kelompok ini terdapat dinoflagellata yang merupakan suatu kelompok organisme uniseluler yang unik yang memiliki dua flagella dan umum dijumpai di air tawar maupun air laut. Kelompok ini merupakan organisme eukaryotik.. Salah satu ciri khas kelompok organisme ini adalah keberadaan dinding sel yang terbuat dari lapisan selulosa. Akan tetapi ada beberapa organisme yang tidak memiliki dinding sel ini. Organisme ini memiliki dua flagella. Banyak organisme dari golongan ini yang memiliki trichocyst, yaitu struktur protein yang dapat dikeluarkan dari permukaan sel untuk melindungi diri dari predator. Fenomena ‘red tide’ adalah peristiwa yang dihubungkan dengan ledakan (berkumpulnya) dinoflagellata karena adanya pigmen kemerahan yang terakumulasi dalam organisme-organisme ini dan dalam jumlah yang besar yang terjadi pada kondisi lingkungan tertentu. Beberapa dinoflagellata menyebabkan peracunan pada kerang-kerangan dan menyebabkan pengakumulasian neurotoxin dalam konsentrasi tinggi. Beberapa spesies merupakan parasit bagi ikan yang menyebabkan masalah seperti ‘velvet disease’. Sebagian besar spesies bukan merupakan makanan ikan karena ukurannya terlalu besar untuk dikonsumsi.

### 2.2 Karakteristik Mikroalga *Botryococcus braunii*

*Botryococcus braunii* merupakan mikroalga berwarna hijau (*Chlorophyta*) dan merupakan tanaman sel tunggal berwarna hijau, banyak dijumpai di perairan danau, tambak ataupun perairan payau sampai laut (Metzger dan Largeau, 2005). Kandungan klorofil (zat hijau daun) *Botryococcus braunii* mencapai  $\pm 1,5 - 2,8\%$  terdiri dari klorofil a, b dan c sehingga di permukaan perairan tampak berwarna hijau- kekuningan (Kabinawa, 2008). Klasifikasi *Botryococcus braunii* adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Protista*  
 Divisi : *Chlorophyta*  
 Kelas : *Chlorophyceae*  
 Genus : *Botryococcus*  
 Spesies : *Botryococcus braunii*



(Sumber: Dayananda dkk, 2007)

Gambar 2. Struktur Umum *Botryococcus braunii*

*Botryococcus braunii* memiliki inti sel dengan ukuran 15- 20  $\mu\text{m}$  dan berkoloni, bersifat non motil dan setiap pergerakannya sangat dipengaruhi oleh arus perairan (Kabinawa, 2008)

Alga jenis ini termasuk paling berpotensi karena dapat menjadi sumber hidrokarbon rantai panjang ( $\text{C}_{22} - \text{C}_{33}$ ) yang dapat diproses lebih lanjut menjadi pengganti energi terbarukan (*renewable energy substitute*) bagi minyak bumi (Isak, 2011).

### 2.2.1 Fase Pertumbuhan Mikroalga *Botryococcus braunii*

#### a. Fasa Tunda (*lag phase*)

*Lag phase* adalah suatu tahap setelah pemberian inokulum ke dalam media kultur dimana terjadi penundaan pertumbuhan yang dikarenakan mikroalga memerlukan pembelahan. Dalam fasa ini tidak terjadi penambahan jumlah sel. Fasa ini adalah fasa penyesuaian yaitu suatu masa ketika sel-sel kekurangan metabolit dan enzim akibat dari keadaan tidak menguntungkan dalam pembiakan terdahulu, menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru. Enzim-enzim dan zat antara terbentuk dan terkumpul sampai konsentrasi yang cukup untuk kelanjutan pertumbuhan.

#### b. Fasa Pertumbuhan Logaritmik (*log phase*)

Pada fasa ini, sel-sel membelah dengan cepat dan terjadi penambahan dalam

jumlah sel. Selama fasa ini, sel-sel berada dalam keadaan yang stabil. Bahan sel baru terbentuk dengan konstan tetapi bahan-bahan baru itu bersifat katalitik dan massa bertambah secara eksponensial. Hal ini bergantung dari satu atau dua hal yang terjadi, yaitu apabila tidak atau lebih zat makanan dalam pembenihan habis maka hasil metabolisme yang beracun akan tertimbun dan menghambat pertumbuhan. Kultur dalam fasa pertumbuhan eksponensial tidak hanya berada dalam keseimbangan pertumbuhan tetapi jumlah dari sel-sel dalam kultur ini bertambah dengan kecepatan yang konstan. Dalam penggunaan mikroorganisme pada dunia perindustrian, dibutuhkan bibit atau *starter* untuk proses fermentasi suatu bahan makanan, biasanya digunakan mikroorganisme yang sedang berada dalam fasa eksponensial. Hal ini dikarenakan mikroorganisme tersebut tidak akan mengalami fasa pertumbuhan sebelum fasa eksponensial dalam media yang baru.

#### c. Fasa Penurunan Laju Pertumbuhan

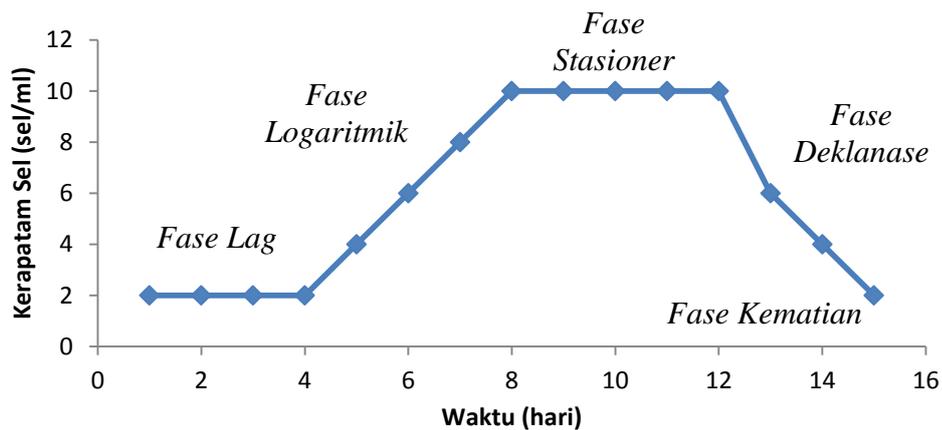
Pada fasa ini, tetap terjadi penambahan sel namun laju pertumbuhannya menurun. Hal ini dikarenakan terjadinya kompetisi yang sangat tinggi di dalam media hidup karena zat makanan yang tersedia tidak sebanding dengan jumlah populasi akibat dari pertambahan yang sangat cepat pada fasa eksponensial sehingga hanya sebagian dari populasi yang mendapatkan makanan yang cukup dan dapat tumbuh serta membelah.

#### d. Fasa Stasioner

Fasa stasioner adalah fasa pemberhentian pertumbuhan. Pada fasa ini, jumlah sel kurang lebih tetap. Hal ini disebabkan oleh habisnya nutrisi dalam medium atau karena menumpuknya hasil metabolisme yang beracun sehingga mengakibatkan pertumbuhan berhenti. Dalam kebanyakan kasus, pergantian sel terjadi dalam fasa stasioner, dimana adanya kehilangan sel yang lambat karena kematian yang diimbangi dengan pembentukan sel-sel yang baru melalui pembelahan. Bila hal ini terjadi, maka jumlah sel akan bertambah secara lambat, meskipun jumlah sel hidup tetap.

#### e. Fase Kematian

Dalam fasa ini, jumlah populasi ini menurun. Selama fasa ini, jumlah sel yang mati per satuan waktu secara perlahan-lahan bertambah dan akhirnya kecepatan sel-sel yang mati menjadi konstan. Berikut ini merupakan grafik fase pertumbuhan mikroalga.



Gambar 3 .Grafik Fase Pertumbuhan Mikroalga

### 2.2.2 Faktor- Faktor yang mempengaruhi Pertumbuhan Mikroalga

Organisme autotrofik seperti *Botryococcus braunii* membutuhkan cahaya, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, nutrient, dan *trace element* untuk pertumbuhannya ([www.nhm.ac.uk](http://www.nhm.ac.uk)). Berikut akan diuraikan beberapa faktor lain yang berhubungan dengan hal-hal tersebut yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan mikroalga hijau *Botryococcus braunii* pada medium terbatas.

#### a. Pencahayaan

Cahaya merupakan faktor utama yang mempunyai peranan penting untuk pertumbuhan mikroalga sebagai sumber energi untuk pertumbuhan mikroalga dan fotosintesis. Cahaya matahari yang diperlukan oleh mikroalga dapat diganti oleh lampu TL. Penggunaan cahaya yang berasal dari lampu TL karena didasari oleh kebutuhan intensitas cahaya pada penelitian ini dimana jika cahaya pada lampu TL dapat diatur sesuai dengan intensitas yang dibutuhkan. Selain itu lampu TL mempunyai kestabilan intensitas cahaya jika dibandingkan dengan cahaya yang bersumber dari cahaya matahari. Faktor pencahayaan terbagi menjadi tiga bagian,

yaitu pencahayaan kontinu, pencahayaan alterasi dan pencahayaan gelap-terang (fotoperiodesitas).

b. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) akan memengaruhi kinerja kerja suatu enzim. pH media berkisar antara 7.0 – 8.0 cukup baik digunakan dalam kultur alga di laboratorium. *Botryococcus braunii* sendiri tahan terhadap lingkungan yang asam dengan pH mencapai 2. Untuk mencegah terjadinya perubahan pH dalam media kultur alga, perlu ditambahkan EDTA (*Ethyl Diamine Tetra Acetate*) ke dalam media, karena EDTA berfungsi sebagai *buffer* sehingga pH media akan tetap stabil.

c. Temperatur

Kondisi lingkungan dimana pembiakan diletakan akan memengaruhi proses metabolisme sel yang ada di dalamnya. Semakin tinggi suhu maka laju reaksi akan semakin besar. Berdasarkan prinsip tersebut sel akan tumbuh lebih cepat pada temperatur yang lebih tinggi. Namun temperatur yang terlalu tinggi akan menyebabkan denaturasi protein dan asam nukleat, kehilangan enzim yang penting dan metabolisme sel. Temperatur optimum bagi perkembangan *Botryococcus braunii* adalah 23°C - 30°C.

d. Kontaminasi

Sedikit kontaminan yang ada akan memengaruhi pertumbuhan *Botryococcus braunii* kontaminan dapat berebut makanan dengan *Botryococcus braunii* itu sendiri dan yang lebih berbahaya jika kontaminan yang ada menjadi predator bagi mikroalga itu sendiri. Oleh karena itu, seluruh kegiatan kultivasi *Botryococcus braunii* harus dilakukan secara steril untuk mencegah adanya kontaminan.

e. Jenis Medium

Medium pembiakan sangat berpengaruh dalam pertumbuhan *Botryococcus braunii*. Apabila asupan nutrisi dan medium tidak cukup, maka laju pertumbuhannya akan terhambat. Oleh karena itu, medium pembiakannya harus

memiliki berbagai nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangannya sehingga komposisi dari medium yang diberikan harus sesuai. Medium yang diperlukan untuk perkembangan *Botryococcus braunii*. Relatif lebih sederhana dan hanya memerlukan jenis nutrisi yang lebih sedikit dibandingkan dengan medium untuk jenis alga lainnya. Ada beberapa medium yang biasanya digunakan untuk pembiakan *Botryococcus braunii* yaitu Benneck, Detmer, Pupuk komersial dan Walne. Komposisi untuk masing- masing medium ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Komposisi Nutrisi Medium Pembiakan *Botryococcus braunii*

Nutrisi	Benneck (mg/l)	Detmer (mg/l)	Pupuk komersil (mg/l)	Walne (mg/l)
MgSO <sub>4</sub>	100	550	-	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	200	250	-	-
NaNO <sub>3</sub>	500	-	-	100
FeCl <sub>3</sub>	3-5	-	-	1,3
KCl	-	250	40	-
Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	1000	-	-
CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	-	-	800	-
Na: EDTA	-	-	-	45
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	-	-	-	33,6
TSP	-	-	15	-
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	-	-	20
MnCl <sub>2</sub>	-	-	-	0,36

(Sumber: Wirosaputro, 2002)

### 2.3 Potensi Mikroalga Sebagai Bahan Baku Biodiesel

Biodiesel adalah bahan bakar untuk mesin diesel (solar) yang dihasilkan dari minyak nabati (*vegetable oil*), lemak binatang atau minyak bekas melalui proses kimiawi menjadi metil ester (*methyl ester*) atau etil ester (*ethyl ester*) yang mempunyai sifat serupa dengan minyak diesel. Biodiesel adalah bahan bakar yang dapat diperbaharui (*renewable*), yang dapat digunakan untuk mengganti minyak diesel secara langsung atau mencampurinya dengan minyak diesel, lalu digunakan pada mesin diesel yang tidak usah memodifikasi mesin diesel lagi. Biodiesel dapat dihasilkan dari berbagai jenis tumbuhan. Saat ini yang umum digunakan adalah penggunaan minyak kelapa sawit, jarak, kedelai,

jagung dan juga mikroalga sebagai campuran solar. Bahan bakar biodiesel lebih ramah lingkungan karena tingkat pencemarannya rendah dan bebas polutan sulfur oksida (SOx), nitrogen oksida (NOx) serta timbal.

Mikroalga memiliki kandungan minyak yang komposisinya mirip seperti tanaman darat lain, bahkan untuk jenis tertentu mempunyai kandungan minyak cukup tinggi melebihi kandungan minyak tanaman darat seperti kelapa, kelapa sawit, kedelai, dan jarak. Produksi biodiesel dari mikroalga telah diakui sebagai pilihan yang paling cocok dan memiliki keunggulan sebagai bahan baku biodiesel, jika dibandingkan dengan tanaman nabati lainnya seperti terlihat pada tabel berikut ini.

Tabel 2. Perbandingan Potensi Beberapa Bahan Baku Biodiesel

<b>Bahan Baku</b>	<b>Produktivitas Liter/Hektar/Tahun</b>
Kedelai	450
Camelina	581
Bunga Matahari	956
Jarak	1.893
Kelapa Sawit	5.950
<b>Mikroalga</b>	<b>50.000 – 120.000</b>

(Sumber: Christi, 2007)

Menurut tabel di atas, terlihat bahwa mikroalga dapat memproduksi bahan bakar hingga 100 kali lebih banyak dibandingkan dengan kedelai ataupun bahan baku lain dalam luas lahan yang sama. Mikroalga menawarkan banyak manfaat dibandingkan dengan sumber energi terbarukan lain seperti kedelai dan kelapa sawit yang digunakan sebagai bahan baku biofuel. Mikroalga dapat dijadikan sebagai bahan baku biodiesel. Biodiesel dari mikroalga tidak beracun dan tidak mengandung sulfur sehingga ramah lingkungan.

## 2.4 Minyak dan Lemak

Minyak dan lemak merupakan salah satu kelompok yang termasuk golongan, lipida. Sifat khas dan mencirikan golongan lipida (termasuk minyak dan lemak) adalah daya larutnya dalam pelarut organik (misalnya eter, benzene, kloroform) atau sebaliknya, yaitu ketidak larutannya dalam air. Kelompok-kelompok lipida

dapat dibedakan berdasarkan struktur kimia tertentu. Kelompok-kelompok lipida tersebut adalah:

1. Kelompok trigliserida (lemak, minyak dan asam lemak)
2. Kelompok turunan asam lemak (lilin, aldehyd asam lemak dan lain-lain)
3. Fosfolipid dan serebrosida (termasuk glikolipid)
4. Sterol-sterol dan steroida
5. Karotenoida
6. Kelompok lipida lain.

Lemak dan minyak atau secara kimia adalah trigliserida merupakan bagian terbesar kelompok lipida. Secara umum, lemak diartikan sebagai trigliserida yang dalam kondisi suhu ruang berbeda dalam keadaan padat. Sedangkan minyak adalah trigliserida yang dalam suhu ruang berbentuk cair.

Lemak merupakan bahan padat pada suhu kamar, disebabkan kandungan asam lemak jenuh tinggi secara kimia tidak mengandung ikatan rangkap, sehingga mempunyai titik lebur yang lebih tinggi. Contoh asam lemak jenuh yang banyak terdapat di alam adalah asam palmitat dan asam stearate.

Minyak nabati pada umumnya merupakan sumber asam lemak tidak jenuh, sebagian besar minyak nabati berbentuk cair karena mengandung sejumlah asam lemak tidak jenuh dan telah dimanfaatkan secara luas. Minyak nabati seperti halnya lemak dari hewani telah lama dikenal bukan sekedar hanya sebagai minyak yang dapat dimakan (*edible oil*) akan tetapi juga sebagai bahan baku *oleochemical* seperti pembuatan sabun, detergen dan sebagainya selain itu merupakan bahan utama pembuatan margarine.

#### **2.4.1 Kandungan Asam Lemak pada *Botryococcus braunii***

Mikroalga seperti *Botryococcus braunii*, *Dunaliella salina*, *Chlorella vulgaris*, *Monalanthus sauna* mempunyai kandungan minyak berkisar 40 - 85% (sementara untuk kelapa hanya mengandung minyak sekitar 40 - 55%, jarak mempunyai kandungan minyak 43 - 58% , dan untuk sawit berkisar 45 - 70% (Banerjee, 2002). Semua jenis alga memiliki komposisi kimia sel yang terdiri dari protein, karbohidrat, lemak (*fatty acids*) dan *nucleic acids*. Persentase keempat komponen

tersebut bervariasi tergantung jenis alga. Ada jenis alga yang memiliki komponen *fatty acids* lebih dari 40%. Dan komponen *fatty acids* inilah yang akan diekstraksi dan diubah menjadi biodiesel (Rahardjo, 2008).

Berikut ini merupakan komposisi kandungan lipid beberapa jenis mikroalga:

Tabel 3. Kandungan Lipid dalam beberapa jenis mikroalga

<b>Mikroalga</b>	<b>Kandungan Lipid (%)</b>
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chlorella sp.</i>	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca sp.</i>	16-37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis sp.</i>	25-33
<i>Monallanthus salina</i>	20
<i>Nannochloris sp.</i>	20-35
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31-68
<i>Neochloropsis oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia sp.</i>	45-47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Schizochytrium sp.</i>	50-77

(Sumber: Noer Abyor Handayani dan Dessy Arianty, 2012)

Pada Tabel 4. Ditampilkan kandungan asam lemak pada mikroalga *Botryococcus braunii*:

Tabel 4. Kandungan Asam Lemak *Botryococcus braunii*

<b>Jenis Asam Lemak</b>	<b>Kandungan Asam Lemak (%)</b>
Asam Miristat (C14:0)	3,04
Asam Palmitat (C16:0)	14,11
Asam Stearat (C18:0)	9,06
Asam Oleat (C18:1)	14,04
Asam Linoleat (C18:2)	0,27

(Sumber: Amini, 2005)

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai.

Berdasarkan bentuk campuran yang diekstraksi, dapat dibedakan dua macam ekstraksi yaitu :

1. Ekstraksi padat-cair jika substansi yang diekstraksi terdapat di dalam campurannya yang berbentuk padat. Proses ini paling banyak ditemui di dalam usaha untuk mengisolasi suatu substansi yang terkandung di dalam suatu bahan alam. Oleh karena itu, hanya proses ekstraksi ini yang akan dibahas dalam bab ini.
2. Ekstraksi cair-cair jika substansi yang diekstraksi terdapat di dalam campurannya yang berbentuk cair.

Berdasarkan proses pelaksanaannya ekstraksi dapat dibedakan :

- a. Ekstraksi yang berkesinambungan (*Continous Extraction*)  
Dalam ekstraksi ini pelarut yang sama dipakai berulang-ulang sampai proses ekstraksi selesai.
- b. Ekstraksi bertahap (*Bath Extraction*)  
Dalam ekstraksi ini pada tiap tahap selalu dipakai pelarut yang baru sampai proses ekstraksi selesai.

Dalam proses ekstraksi padat-cair diperlukan kontak yang sangat lama antara pelarut dan padatan. Seperti sudah dinyatakan di atas bahwa proses ini paling banyak ditemui di dalam usaha untuk mengisolasi suatu substansi yang terkandung di dalam suatu bahan alam, sehingga yang berperan penting dalam menentukan sempurnanya proses ekstraksi ini adalah sifat-sifat bahan alam tersebut dan juga bahan yang akan diekstraksi.

Faktor- faktor yang harus diperhatikan dalam ekstraksi antara lain:

1. Ukuran partikel  
Ukuran partikel mempengaruhi laju ekstraksi dalam beberapa hal. Semakin kecil ukurannya, semakin besar luas permukaan antara padat dan cair; sehingga laju perpindahannya menjadi semakin besar. Dengan kata lain, jarak untuk berdifusi yang dialami oleh zat terlarut dalam padatan adalah kecil.
2. Zat pelarut  
Larutan yang akan dipakai sebagai zat pelarut seharusnya merupakan pelarut pilihan yang terbaik dan viskositasnya harus cukup rendah agar

dapat dapat bersikulasi dengan mudah. Biasanya, zat pelarut murni akan diapaki pada awalnya, tetapi setelah proses ekstraksi berakhir, konsentrasi zat terlarut akan naik dan laju ekstraksinya turun, pertama karena gradien konsentrasi akan berkurang dan kedua zat terlarutnya menjadi lebih kental

### 3. Temperatur

Dalam banyak hal, kelarutan zat terlarut (pada partikel yang diekstraksi) di dalam pelarut akan naik bersamaan dengan kenaikan temperatur untuk memberikan laju ekstraksi yang lebih tinggi.

### 4. Pengadukan fluida

Pengadukan pada zat pelarut adalah penting karena akan menaikkan proses difusi, sehingga menaikkan perpindahan material dari permukaan partikel ke zat pelarut.

## 2.6 Metode Ekstraksi Lipid Mikroalga

### 2.6.1 Metode Maserasi

Maserasi istilah aslinya adalah *macerare* (bahasa Latin, artinya merendam): adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati yaitu direndam menggunakan pelarut bukan air (pelarut nonpolar) atau setengah air, misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian. Metode Maserasi umumnya menggunakan pelarut non air atau pelarut non-polar. Teorinya, ketika bahan yang akan di maserasi direndam dalam pelarut yang dipilih, maka ketika direndam, cairan pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang penuh dengan zat aktif dan karena ada pertemuan antara zat aktif dan pelarut itu terjadi proses pelarutan (zat aktifnya larut dalam pelarut) sehingga pelarut yang masuk ke dalam sel tersebut akhirnya akan mengandung zat aktif, katakan 100%, sementara pelarut yang berada di luar sel belum terisi zat aktif (0%) akibat adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel ini akan muncul gaya difusi, larutan yang terpekat akan didesak menuju keluar berusaha mencapai keseimbangan konsentrasi antara zat aktif di dalam dan di luar sel. Proses keseimbangan ini akan berhenti, setelah terjadi keseimbangan konsentrasi.

### 2.6.2 Metode Sokhletasi

Sokhletasi adalah metode pelarutan secara berulang-ulang senyawa bahan alam dengan menggunakan alat sokhlet. Sokhletasi merupakan teknik pelarutan dengan pelarut organik menggunakan alat sokhlet. Pada cara ini pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Berikut ini merupakan gambar metode ekstraksi sokhletasi.



(Sumber: rolanrusli.com, 2016)

Gambar 4. Alat Sokhlet

### 2.6.3 Metode Perkolasi

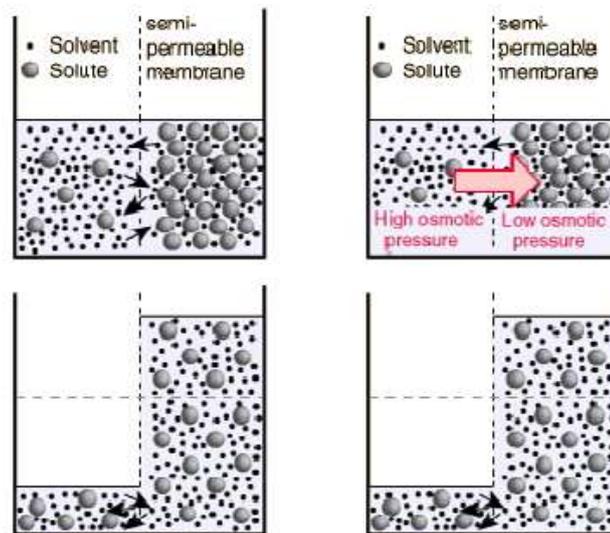
Perkolasi adalah suatu metode yang dilakukan dengan jalan melewatkan pelarut secara perlahan-lahan sehingga pelarut tersebut bisa menembus sampel bahan yang biasanya ditampung dalam suatu bahan kertas yang agak tebal dan berpori dan berbentuk seperti kantong atau sampel ditampung dalam kantong yang terbuat dari kertas saring.

### 2.6.4 Metode Autoklaf

Ekstraksi dengan metode autoklaf ini dilakukan dalam alat autoklaf yang merupakan alat pemanas bertekanan tinggi. Tekanan tinggi inilah yang mampu memecah sel-sel dalam mikroalga sehingga minyak dapat terekstraksi. Dengan meningkatnya suhu air maka tekanan udara akan bertambah dalam autoklaf yang tertutup rapat. Sejalan dengan meningkatnya tekanan diatas tekanan udara normal, titik didih air meningkat.

### 2.6.5 Metode Osmotik

Osmosis merupakan suatu proses di mana suatu liquid dapat melewati suatu membran semipermeabel secara langsung. Apabila terdapat dua larutan yang memiliki konsentrasi zat terlarut yang berbeda dipisahkan oleh suatu membran semipermeabel, maka akan terjadi perpindahan air dari larutan hipotonik (larutan dengan konsentrasi zat terlarut yang lebih rendah) ke larutan hipertonik (larutan dengan konsentrasi zat lebih tinggi).



(Sumber: Orchidea dkk, 2010)

Gambar 5. Ilustrasi Proses Osmotik

### 2.7 Pelarut

Pelarut adalah benda cair atau gas yang melarutkan benda padat, cair atau gas yang menghasilkan sebuah larutan. Pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh faktor-faktor berikut ini :

#### 1. Selektivitas

Pelarut hanya boleh melarutkan ekstrak yang diinginkan, bukan komponen-komponen lain dari bahan ekstraksi. Dalam praktek, terutama pada ekstraksi bahan-bahan alami, sering juga bahan lain (misalnya lemak, resin) ikut dibebaskan bersama-sama dengan ekstrak yang diinginkan. Dalam hal itu larutan ekstrak tercemar yang diperoleh harus

dibersihkan, yaitu misalnya di ekstraksi lagi dengan menggunakan pelarut kedua.

2. Kelarutan

Pelarut sedapat mungkin memiliki kemampuan melarutkan ekstrak yang besar (kebutuhan pelarut lebih sedikit).

3. Kemampuan tidak saling bercampur

Pada ekstraksi cair-cair pelarut tidak boleh (atau hanya secara terbatas) larut dalam bahan ekstraksi.

4. Kerapatan

Terutama pada ekstraksi cair-cair, sedapat mungkin terdapat perbedaan kerapatan yaitu besar antara pelarut dan bahan ekstraksi. Hal ini dimaksudkan agar kedua fasa dapat dengan mudah dipisahkan kembali setelah pencampuran (pemisahan dengan gaya berat). Bila beda kerapatan kecil, seringkali pemisahan harus dilakukan dengan menggunakan gaya sentrifugal (misalnya dalam ekstraktor sentrifugal).

5. Reaktifitas

Pada umumnya pelarut tidak boleh menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen-komponen bahan ekstraksi. Sebaliknya dalam hal-hal tertentu diperlukan adanya reaksi kimia (misalnya pembentukan garam) untuk mendapatkan selektivitas yang tinggi. Seringkali ekstraksi juga disertai dengan reaksi kimia. Dalam hal ini bahan yang akan dipisahkan mutlak harus berada dalam bentuk larutan.

6. Titik didih

Karena ekstrak dan pelarut biasanya harus dipisahkan dengan cara penguapan, destilasi atau rektifikasi, maka titik didih kedua bahan itu tidak boleh terlalu dekat, dan keduanya tidak membentuk azeotrop. Ditinjau dari segi ekonomi, akan menguntungkan jika pada proses ekstraksi titik didih pelarut tidak terlalu tinggi (seperti juga halnya dengan panas penguapan yang rendah).

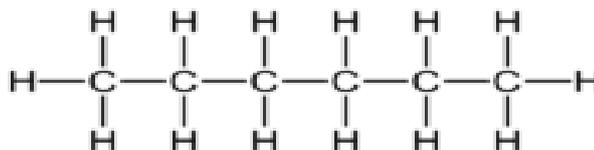
### a. Heksana

Heksana adalah jenis pelarut yang sering digunakan karena memiliki titik didih yang rendah sehingga mudah diuapkan. Seluruh isomer heksana amat tidak reaktif dan sering digunakan sebagai pelarut organik yang inert. n-Heksana juga umum terdapat pada bensin dan lem sepatu, kulit dan tekstil. Dalam industri, heksana digunakan dalam formulasi lem untuk sepatu, produk kulit, dan pengatapan. Heksana juga digunakan untuk mengekstrak minyak masak dari biji-bijian, untuk pembersihan dan penghilang lemak, dan produksi tekstil. Penggunaan laboratorium khas heksana ialah untuk mengekstrak kontaminan minyak dan lemak dari air dan tanah untuk analisis. Heksana awalnya diperoleh melalui pemurnian minyak mentah..

Tabel 5. Sifat Fisika dan Kimia n-Heksana

Sifat Fisika dan Kimia n-Heksana	
Rumus Molekul	$C_6H_{14}$
Berat Molekul	86,18 gr/mol l
Wujud	Liquid tak berwarna
Densitas	0,66 gr/cm <sup>3</sup>
Titik Lebur	-94,3 °C
Titik Didih	70°C
Kelarutan	Tidak larut dalam air
Viskositas	0,326 mPa.s pada 20°C

(Sumber: Anonim, 2016)



(Sumber: Khayasar.wordpress.com, 2016)

Gambar 6. Struktur kimia N-Heksana

### b. Etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)

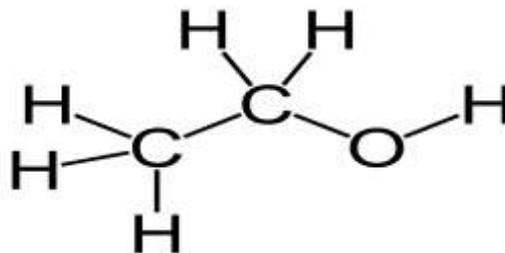
Etanol adalah pelarut serbaguna karena dapat larut dengan air dan dengan banyak jenis pelarut organik termasuk asam asetat, aseton, benzena, karbon

tetraklorida, kloroform, dietil eter, etilena glikol, gliserol, nitrometana, piridin, dan toluena. Etanol dihasilkan dari tumbuh-tumbuhan dengan kandungan hidrokarbon tinggi, etanol (disebut juga etil-alkohol atau alkohol saja) adalah alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Karena sifatnya yang tidak beracun. Bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan dan minuman. Etanol juga dapat larut dengan hidrokarbon alifatik ringan seperti pentana dan heksana serta dengan klorida alifatik seperti trikloroetan dan tetrakloroetil. 40% larutan etanol dalam air akan terbakar jika dipanaskan sampai sekitar 26 °C.

Tabel 6. Sifat Fisika dan Kimia Etanol

<b>Sifat Fisika dan Kimia Etanol</b>	
Rumus Molekul	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
Berat Molekul	46,07g/mol
Wujud	Liquid tak berwarna
Densitas	0,7893 g/cm <sup>3</sup>
Titik Lebur	-114,14 °C
Titik Didih	78,29 °C
Kelarutan	Larut dalam air
Viskositas	1200 cP

(Sumber: Anonim, 2016)



(Sumber: toksikologi519.wordpress.com, 2016)

Gambar 7. Struktur kimia etanol

### c. Asam Klorida (HCL)

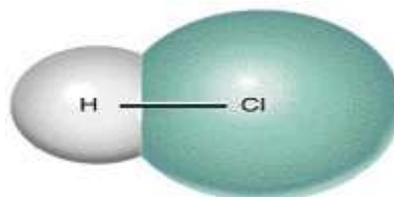
Asam klorida adalah larutan akuatik dari gas hidrogen klorida (HCl). Merupakan asam kuat, dan merupakan komponen utama dalam asam lambung.

Senyawa ini juga digunakan secara luas dalam industri. Asam klorida harus ditangani dengan penanganan keselamatan yang tepat karena merupakan cairan yang sangat korosif.

Tabel 7. Sifat Fisika dan Kimia HCL

<b>Sifat Fisika dan Kimia HCL</b>	
Rumus Molekul	HCL
Berat Molekul	36,46 gr/mol
Wujud	Liquid tak berwarna
Densitas	1,19 gr/ml
Titik Lebur	-62,25 °C
Titik Didih	108,58 °C
Kelarutan	Larut dalam air
Viskositas	1,9 mPas

(Sumber: Anonim, 2016)



(Sumber: diniindriasari.wordpress.com, 2016)

Gambar 8. Struktur Asam Klorida