

RENDEMEN MINYAK DARI MIKROALGA *Spirulina sp.* DAN *Chlorella sp.* DENGAN TEKNIK PEMECAHAN DINDING SEL

DETERMINATION OF OIL EXTRACTION RATE FROM Spirulina sp. AND Chlorella sp. BY USING CELL DISRUPTION TECHNIQUE

Susiana Melanie dan Diini Fithriani

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi
Kelautan dan Perikanan
Jl. K.S. Tubun, Petamburan VI, Jakarta 10260
pos-el: susianam@yahoo.com

ABSTRACT

Oil derived from microalga has a big potential to substitute fossil fuel so that the oil extraction method needs to be developed. This study aims to compare the method for cell disruption in oil extraction of Spirulina sp. and Chlorella sp. microalgae. Spirulina sp. and Chlorella sp. were cultivated each in a pond with maximum capacity of 600 liters at Biotechnology Laboratory of Research and Development Center for Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology. Spirulina sp. were harvested by filtered it using satin. Chlorella sp. was harvested using coagulant NaOH, so it was needed to be neutralized to pH 7 with citric acid addition. The cell wall of Spirulina sp. and Chlorella sp. then was ruptured using sonicator and microwave, while other sample without disruption as control. The suspension then was macerated with n-hexane solvent, to extract the oil content. Oil content of Spirulina sp. which has been collected from this experiment gave result control: microwave: sonicator as 1.17%, 1.28%, and 1.97% respectively. Meanwhile, oil content of Chlorella sp. gave result from control, microwave, and sonicator as 0.93%, 1.20%, and 1.69% respectively. It was concluded that sonicator is the best method in oil extraction of cultured microalgae.

Keywords: *Microalgae, Spirulina sp., Chlorella sp., Disruption technic, Cell wall, Oil extraction*

ABSTRAK

Minyak yang berasal dari mikroalga berpotensi untuk menggantikan bahan bakar fosil sehingga metode ekstraksi minyak tersebut perlu dikembangkan. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kinerja metode pemecahan dinding sel pada proses ekstraksi minyak mikroalga *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* Mikroalga *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* dikultur di Laboratorium Bioteknologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan dalam bak fiber yang masing-masing memiliki kapasitas maksimal 600 liter. Mikroalga jenis *Spirulina sp.* dipanen dengan disaring menggunakan kain satin, sedangkan *Chlorella sp.* dipanen menggunakan koagulan NaOH sehingga dinetralkan dulu hingga pH 7 menggunakan larutan asam sitrat. Dinding sel *Spirulina sp.* dan *Chlorella s.* dipecah dengan menggunakan *sonicator* dan *microwave*, sedangkan sample lain yang tanpa perlakuan sebagai digunakan sebagai kontrol. Selanjutnya dimaserasi menggunakan pelarut n-heksan selama 24 jam. Kadar minyak *Spirulina sp* yang diperoleh dengan pemecahan dinding sel memberikan hasil sebesar 1,17%, 1,28% dan 1,97% pada kontrol, *microwave*, dan *sonicator* secara berurutan, sedangkan kadar minyak *Chlorella sp.* memberikan hasil sebesar 0,93%, 1,20%, dan 1,69% pada kontrol, *microwave*, dan *sonicator* secara berurutan. Dapat disimpulkan bahwa *sonicator* paling baik untuk proses ekstraksi minyak dari kultur mikroalga.

Kata kunci: Mikroalga, *Spirulina sp.*, *Chlorella sp.*, Pemecahan, Dinding sel, Ekstraksi minyak

PENDAHULUAN

Ketersediaan bahan bakar fosil seperti minyak bumi saat ini jumlahnya sudah semakin berkurang karena penggunaannya yang terus menerus sehingga diperlukan bahan bakar alternatif yang dapat terbarukan (*renewable resources*) sebagai pengganti bahan bakar fosil. Salah satu sumber energi yang berpotensi di masa depan adalah mikroalga karena tidak memerlukan herbisida atau pestisida, kebutuhan akan lahan yang rendah dan dapat dilakukan di kolam atau photobioreaktor pada lahan tidak layak tanam sehingga meminimalkan kerusakan yang disebabkan lingkungan dan sistem rantai makanan.¹ Budidaya mikroalga dapat dilakukan tanpa mengorbankan produksi pangan, pakan ternak dan produk lainnya yang berasal dari tanaman.² Selain itu mikroalga memiliki kemampuan untuk memperbarui diri dengan tingkat pertumbuhan yang tinggi.^{3,4} Mikroalga merupakan kandidat yang tepat untuk menggantikan bahan bakar diesel karena minyak yang berasal dari mikroalga memiliki berat molekul yang tinggi dan energi yang dihasilkan dari pembakaran minyak yang bersumber dari mikroalga serupa dengan bahan bakar diesel.¹

Mikroalga hijau *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* mudah untuk dibudidayakan sehingga dapat menjadi sumber alternatif energi terbarukan. *Chlorella sp.* memiliki kandungan minyak yang cukup tinggi (28-32% per berat biomassa kering).¹ Berdasarkan penelitian Borowitzka,⁵ kandungan minyak pada jenis *Chlorella sp.* berkisar antara 29,2-52,8% per berat biomassa kering. Selain mudah untuk dibudidayakan, *Spirulina sp.* juga mudah untuk dipanen karena ukuran selnya yang relatif lebih besar daripada mikrolaga lainnya. Produksi biodiesel dari mikroalga biasanya meliputi pembudidayaan, peningkatan konsentrasi, *dewatering*, proses ekstraksi minyak dan proses transesterifikasi minyak.⁶

Metode ekstraksi minyak mikroalga secara umum dapat dikelompokkan menjadi dua metode, yaitu perlakuan mekanis dan secara kimiawi.¹ Metode mekanis antara lain dengan cara pengempaan (*press*) dan ekstraksi dengan gelombang ultrasonik. Metode secara kimiawi dapat diklasifikasikan menjadi metode

maserasi, ekstraksi *soxhlet*, dan *supercritical fluid extraction*.

Metode yang umum digunakan untuk mengekstraksi minyak yang terdapat di dalam sel mikroalga adalah dengan menggunakan pelarut, biasanya menggunakan pelarut non-polar seperti heksan.⁷ Heksan yang merupakan pelarut non-polar tidak dapat bercampur dengan air sehingga kandungan air di sekeliling sel mikroalga dapat menghalangi kontak antara pelarut heksan dengan bagian sel yang mengandung minyak. Kandungan air dalam suspensi mikroalga hasil pemanenan harus dihilangkan (*dewatering*) agar ekstraksi dengan pelarut dapat berjalan efisien, bahkan terkadang perusakan sel merupakan proses yang diperlukan dalam memperoleh minyak sebagai bahan pembuatan *biofuel*.^{8,9} Perusakan dinding sel dengan menggunakan iradiasi *microwave* secara efektif telah menurunkan waktu ekstraksi dari dua jam menjadi sepuluh menit ketika mikroalga kering digunakan secara langsung untuk produksi biodiesel.^{10,11}

Dinding sel mikroalga yang keras menghambat proses ekstraksi minyak yang terdapat di dalam sel. Komposisi utama dinding sel mikroalga tersusun atas 24–74% gula-gula netral, 1–24% *uronic acid*, 2–16% protein, dan 0–15% *glucosamine*.¹² Lapisan tipis air pada permukaan biomassa basah mencegah pelarut untuk mencapai bagian sel yang mengandung minyak, yang mengakibatkan ketidakefisienan proses ekstraksi minyak. Agar ekstraksi minyak dapat berlangsung efisien maka perlu dilakukan penghancuran dinding sel mikroalga untuk membebaskan minyak yang terkandung di dalam sel sehingga bisa berkontak dengan pelarut. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa teknik pemecahan dinding sel terbaik antara perlakuan menggunakan *sonicator* dengan *microwave* pada proses ekstraksi minyak mikroalga *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.*

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi

Kelautan dan Perikanan. Waktu pelaksanaan penelitian ini adalah bulan Januari–Mei 2014.

Kultur Mikroalga

Kultur mikroalga jenis *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan dengan mengikuti metode yang dilakukan oleh Amini *dkk.*,¹³ dengan media air laut yang diperkaya dengan pupuk Conway.^{14,15} Teknik kultur di-lakukan secara bertingkat mulai dari kapasitas satu liter, sepuluh liter, 20 liter, hingga 500 liter. Kultur satu liter dilakukan menggunakan erlenmeyer dua liter, sedangkan kultur sepuluh liter dan 20 liter menggunakan toples plastik transparan ukuran 30 liter. Terakhir masing-masing mikroalga dikultur di dalam bak fiber ukuran 600 liter. Kondisi ruangan terkontrol dengan suhu 25°C dan intensitas cahaya 2000 lux.

Setiap hari dilakukan penghitungan kepadatan dan jumlah sel mikroalga dengan cara pengambilan sampel dari bak kultur skala besar (500 liter) sebanyak 1 mL, kemudian ditempatkan pada *haemocytometer Neubauer* untuk dilihat dan dihitung jumlah selnya di bawah mikroskop (Olympus CX1).

Dari perhitungan jumlah sel dapat dihitung besarnya laju pertumbuhan (*k*) mikroalga dengan menggunakan persamaan:¹⁶

$$k = \frac{\log\left(\frac{N}{N_0}\right) \times 3,22}{t - t_0} \quad (1)$$

Keterangan :

k = Laju pertumbuhan sel

N = Jumlah sel pada waktu *t* (sel/mL)

*N*₀ = Jumlah sel awal (sel/mL)

*t*₀ = Waktu awal (hari)

t = Waktu (hari)

Pemanenan Mikroalga

Dari kedua kultur skala besar (500 liter) kemudian dilakukan pemanenan mikroalga. proses kultur mikroalga, pengambilan sampel, dan analisis mikroalga (penghitungan kadar lemak) dilakukan sebanyak masing-masing tiga kali ulangan untuk kedua jenis mikroalga. Mikroalga jenis *Spirulina sp.* dipanen dengan cara disaring langsung dengan

kain satin karena ukuran selnya cukup besar. Mikroalga jenis *Chlorella sp.* dipanen dengan menambahkan koagulan NaOH agar mikroalga dapat diendapkan dan kemudian disaring dengan menggunakan kain satin. *Chlorella sp.* basah hasil pemanenan memiliki kondisi basa karena penambahan NaOH (pH 9–10) sehingga perlu dinetralkan dengan penambahan asam sitrat hingga pH 7.¹⁷

Teknik Pemecahan Sel

Mirshekari *et al.*,¹⁸ mengevaluasi beberapa teknik pemecahan sel mikroalga, yaitu *ultrasonic*, *osmotic shock*, *microwave*, *bead mill*, nitrogen cair dan sentrifugasi. Dari penelitian tersebut dihasilkan bahwa teknik *ultrasonic* memberikan hasil tertinggi, yaitu 7,50 mg/l, selanjutnya diikuti oleh *bead mill* (6,38 mg/l), *osmotic shock* (4,50 mg/l), *microwave* (4,11 mg/l), sentrifugasi (3,21 mg/l) dan nitrogen cair (3,01 mg/l). Pada penelitian kali ini pemilihan teknik ekstraksi menggunakan *sonicator* dan *microwave* dikarenakan kedua metode ini pada beberapa penelitian menghasilkan kadar lemak paling tinggi.^{6,8,11,18,19} Mikroalga *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* yang telah dipanen dan dinetralkan, ditimbang masing-masing sebanyak sepuluh gram. Mikroalga dipecah dinding selnya menggunakan dua teknik, yaitu *sonicator* dan *microwave*. Pemecahan menggunakan *sonicator* (*Sonic vibracell model vc 505 series 382816*) dilakukan dengan gelombang resonansi 85–90 KHz selama lima menit. Pemecahan menggunakan oven *microwave* (Sanyo *microwave oven*, 800 watt) dilakukan pada suhu tinggi (sekitar 100°C) selama lima menit.⁶ Untuk pembandingan perlakuan digunakan mikroalga *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* yang tanpa dipecah dinding selnya sebagai contoh.

Proses Ekstraksi dengan Pelarut n-Heksan

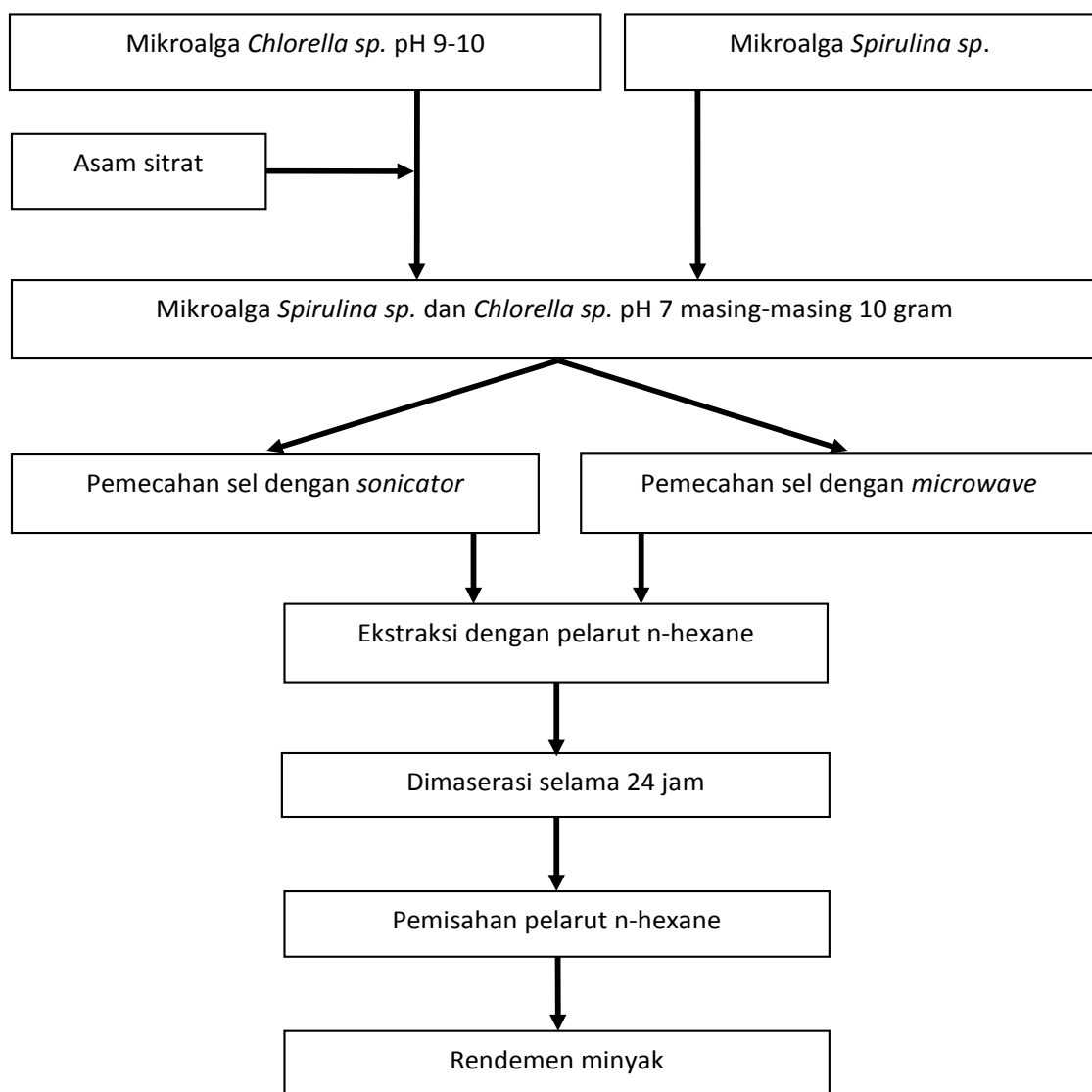
Proses ekstraksi menggunakan pelarut n-heksan untuk mengekstraksi kandungan minyak dari dalam sel mikroalga (Gambar 1). Pelarut n-heksan murni dipilih karena berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ying Shen *et al.*,¹⁹ pelarut heksan murni menghasilkan perolehan minyak lebih banyak daripada menggunakan pelarut kombinasi heksan-etanol.

Pelarut n-heksan ditambahkan ke dalam mikroalga yang telah dipecah selnya lalu dimaserasi selama 24 jam. Setelah dimaserasi selama 24 jam kemudian pelarut n-heksan di pisahkan dari padatan mikroalga dengan melakukan sentrifugasi. Sisa pelarut heksan yang masih terdapat di dalam sampel kemudian diuapkan sehingga diperoleh minyak mikroalga. Hasil berupa minyak bebas pelarut ditimbang dan dihitung rendemen minyak yang diperoleh dengan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat minyak yang diperoleh}}{\text{berat sampel awal}} \times 100\% \quad (2)$$

Analisis Data

Data rendemen minyak mikroalga jenis *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan *software* SPSS 16.0 dengan metode *Two-Way ANOVA* untuk melihat adanya perbedaan atau tidak. Metode lanjutan yang digunakan adalah metode *Duncan* untuk melihat pengelompokan data dan perlakuan pemecahan sel yang terbaik untuk *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.*.



Gambar 1. Alur kerja ekstraksi minyak *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* dengan pemecahan dinding sel menggunakan *sonicator* dan *microwave*

HASIL DAN PEMBAHASAN

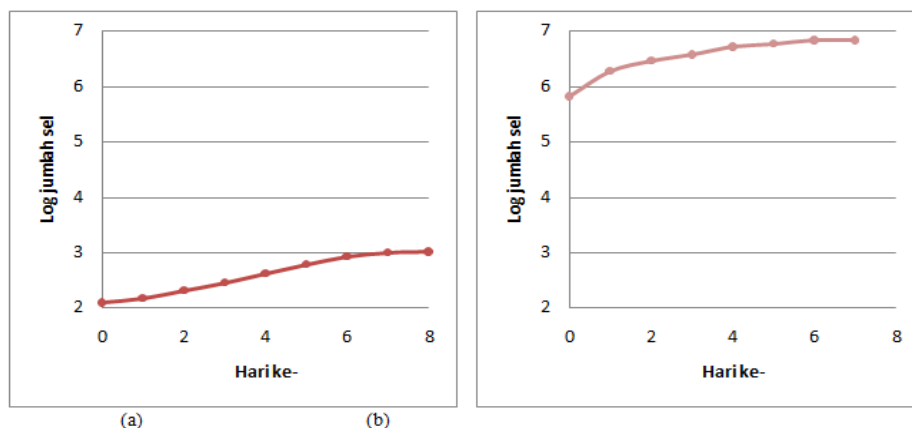
Pertumbuhan sel

Pola pertumbuhan sel mikroalga *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* dengan perlakuan kultivasi yang sama menunjukkan hasil yang berbeda (Gambar 2). Dari Gambar 2a dapat dilihat bahwa pertumbuhan sel *Spirulina sp.* memiliki fase eksponensial pada hari ke-1 hingga hari ke-6, kemudian menuju fase stasioner pada hari ke-7. *Spirulina sp.* mencapai maksimum pada hari ke-8 yaitu mencapai log 3,01 sel/mL. Dari gambar 2b terlihat bahwa pertumbuhan sel *Chlorella sp.* mencapai fase eksponensial pada hari pertama hingga hari ke-5. Pada hari ke-6 fase pertumbuhan sudah mulai menuju fase stasioner. Kepadatan sel *Chlorella sp.* telah mencapai jumlah tertinggi pada hari ke-7, yaitu log 6,83 sel/mL.

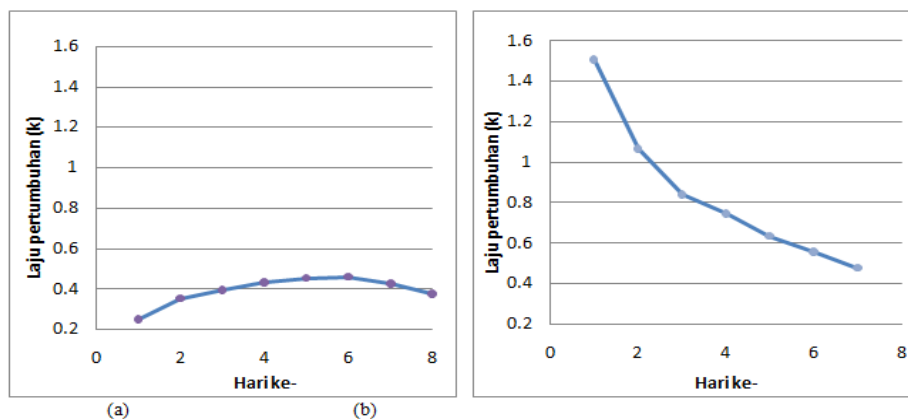
Dari kurva pertumbuhan sel *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* dapat terlihat bahwa *Chlo-*

rella sp. memiliki pertumbuhan yang lebih cepat daripada *Spirulina sp.* Hal ini dikarenakan ukuran sel *Chlorella sp.* yang jauh lebih kecil daripada ukuran sel *Spirulina sp.* sehingga lebih mudah untuk membelah diri. Sel *Spirulina sp.* yang lebih kompleks membutuhkan waktu yang lebih lama untuk membelah diri.

Lamers *et al.*,²⁰ menyimpulkan bahwa terdapat hubungan antara ukuran sel dengan kepadatan biomassa maksimum rata-rata. Peningkatan ukuran dari genus terkecil hingga yang terbesar *Isochrysis sp.*, *Pavlova sp.*, *Chlorella sp.*, *Tetraselmis sp.* hingga *Dunaliella sp.*, mengakibatkan penurunan pada kepadatan maksimum sel/biomassa. Ukuran sel yang lebih besar membutuhkan nutrisi yang lebih banyak untuk bereproduksi karena terbentuknya autospora-autospora.²¹ *Chlorella sp.* yang memiliki ukuran sekitar 4,5 μm akan memiliki kepadatan sel/biomassa yang lebih tinggi dibandingkan dengan sel *Spirulina sp.* yang memiliki ukuran panjang sekitar 100–200 μm dan diameter sekitar 8–10 μm .



Gambar 2. Kurva pertumbuhan kepadatan sel pada (a) *Spirulina sp.* dan (b) *Chlorella sp.*



Gambar 3. Laju pertumbuhan sel (a) *Spirulina sp.* dan (b) *Chlorella sp.*

Laju pertumbuhan sel *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* dapat dilihat pada Gambar 3. Laju pertumbuhan sel *Spirulina sp.* menunjukkan percepatan perkembangan sel yang tidak tinggi dibandingkan dengan *Chlorella sp.* dengan nilai maksimal laju pertumbuhan (k) sebesar 0,46 pada hari ke-6 (Gambar 3a).

Gambar 3b menunjukkan bahwa laju pertumbuhan *Chlorella sp.* sangat tinggi di awal periode pertumbuhannya, tetapi mengalami penurunan tiap harinya dengan laju pertumbuhan (k) sel paling tinggi berada pada hari pertama yaitu sebesar 1,51. Penurunan laju pertumbuhan ini dapat diakibatkan oleh semakin berkurangnya nutrisi yang terdapat pada media akibat kepadatan sel *Chlorella sp.* yang meningkat sehingga terjadi persaingan antar sel untuk memperoleh nutrisi.

Kedua grafik laju pertumbuhan tersebut menunjukkan bahwa laju pertumbuhan sel *Spirulina sp.* lebih lambat daripada laju pertumbuhan sel *Chlorella sp.* Hal ini dapat dimungkinkan karena ukuran sel *Chlorella sp.* yang lebih kecil daripada sel *Spirulina sp.* sehingga lebih mudah untuk membelah diri untuk memperbanyak jumlah sel. Ukuran sel yang lebih besar tentu membutuhkan energi yang lebih besar bagi *Spirulina sp.* untuk memperbanyak jumlah sel.

Hubungan secara alometrik antara laju pertumbuhan sel mikroalga dengan ukuran sel merupakan alasan yang dapat diterima untuk menjelaskan perbedaan laju pertumbuhan maksimum berbagai macam spesies. Bouterfast *et al.*,²² dalam penelitiannya tentang pengaruh radiasi dan penyinaran terhadap laju pertumbuhan jumlah sel mikroalga memberikan hasil bahwa spesies yang memiliki ukuran sel lebih kecil (*Selenastrum minutum*) tumbuh lebih cepat daripada yang berukuran lebih besar (*Cosmarium subprotumidum*).

Simulasi yang dilakukan oleh Stolte and Riegman²³ memberikan hasil berupa hubungan yang bertolak belakang antara ukuran sel

dengan laju pertumbuhan maksimum pada kondisi *steady-state*. Sel yang memiliki ukuran lebih besar memiliki *growth rate* lebih kecil. Ukuran sel yang lebih besar membutuhkan nutrisi yang lebih banyak untuk tumbuh dan bereproduksi.²¹

Rendemen minyak mikroalga

Kandungan minyak *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* dapat dihasilkan secara optimal dengan cara memecah dinding selnya menggunakan iradiasi *microwave* dan gelombang *sonicator*. Hasil ekstraksi minyak mikroalga dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil percobaan pemecahan dinding sel pada mikroalga *Spirulina sp.* dengan menggunakan *sonicator* memberikan hasil rendemen minyak tertinggi yaitu 1,97%, lebih tinggi daripada kontrol tanpa pemecahan dinding sel (1,17%) dan menggunakan *microwave* (1,28%). Untuk mikroalga jenis *Chlorella sp.* juga memberikan hasil yang serupa yaitu pemecahan dinding sel menggunakan *sonicator* memberikan hasil tertinggi (1,69%), lebih tinggi daripada kontrol (0,93%) dan yang menggunakan *microwave* (1,20%). Dapat terlihat jelas bahwa pemecahan dinding sel memberikan hasil yang cukup signifikan dibandingkan kontrol yang tanpa pemecahan dinding sel. Hasil penelitian Mirshekari *et al.*²³ pada sel *Chlorella vulgaris* juga menyimpulkan *sonicator* yang paling efisien untuk pemecahan dinding sel. Berdasarkan data yang disajikan Neto *et al.*,²⁴ menganalisis pengaruh pemecahan sel pada tahap awal ekstraksi minyak mikroalga jenis *Chlorella minutissima*, sel kandungan minyak mikroalga *Chlorella minutissima* dapat mencapai 15,5%.

Hasil yang diperoleh agak berbeda dari yang diperoleh oleh Lee *et al.*,⁶ yang melaporkan bahwa metode pemecahan dinding sel menggunakan oven *microwave* memberikan hasil yang paling tinggi untuk mikroalga jenis *Botryococcus sp.*

Tabel 1. Rendemen minyak *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* pada teknik pemecahan dinding sel dengan *microwave* dan *sonicator*

JENIS MIKROALGA	RERATA RENDEMEN MINYAK MIKROALGA (%)		
	KONTROL	MICROWAVE	SONICATOR
<i>SPIRULINA SP.</i>	1,17	1,28	1,97
<i>CHLORELLA SP.</i>	0,93	1,20	1,69

Metode pemecahan dinding sel menggunakan oven *microwave* merupakan cara yang paling mudah dan efisien untuk proses ekstraksi minyak dari mikroalga.⁶ Hasil yang berbeda dengan penelitian sebelumnya ini dapat dimungkinkan karena spesies yang digunakan pada penelitian ini berbeda, sehingga memiliki karakteristik yang berbeda pula.

Struktur dinding sel mikroalga memiliki karakteristik yang unik berdasarkan fase pertumbuhan masing-masing spesies mikroalga, sehingga menghasilkan perbedaan dalam hal ketebalan, kekerasan dan kandungannya. Mikroalga tidak dapat bertahan kecuali tubuhnya terlindungi oleh dinding sel yang memiliki fungsi untuk mekanisme pertahanan dan juga sebagai alat transportasi molekul intraselular dan ekstraselular. *Chlorella vulgaris* dikenal dengan dinding selnya yang kuat sehingga diperlukan perlakuan pada dinding selnya untuk meningkatkan asimilasi dan bioavailabilitas molekul-molekul di dalam sel dengan pelarut pengestraksi.²⁵

Dinding sel *Spirulina sp.* serupa dengan bakteri gram positif karena terdiri atas glukosamin dan *muramic acid* yang berasosiasi dengan peptida. Walaupun sulit untuk dicerna, dinding sel *Spirulina sp.* rapuh sehingga kandungan di dalam sel mudah diakses oleh enzim pencernaan atau pelarut. Hal ini merupakan keuntungan utama jika dibandingkan dengan organisme-organisme berdinding selulosa (contohnya ragi dan *Chlorella sp.*).²⁶

Perbedaan karakteristik dinding sel kedua jenis mikroalga ini mengakibatkan terjadinya perbedaan pada rendemen minyak yang diperoleh. *Spirulina sp.* memiliki rendemen yang lebih tinggi daripada *Chlorella sp.* dikarenakan sifat dinding selnya yang rapuh dan mudah untuk dipecah menggunakan berbagai macam teknik pemecahan dinding sel, sedangkan *Chlorella sp.* memberikan hasil yang lebih kecil karena dinding selnya tersusun atas selulosa yang lebih sulit untuk dipecah.

Jika dilihat dari laju pertumbuhan *Spirulina sp.* saat dikultur memerlukan waktu lebih lama untuk mencapai pertumbuhan maksimal jika dibandingkan dengan *Chlorella sp.*, tetapi karena ukuran sel *Spirulina sp.* jauh lebih besar daripada

Chlorella sp. maka kandungan minyak yang terdapat di dalam selnya akan lebih banyak. Hal ini dapat diatasi dengan penambahan unsur besi konsentrasi tinggi ke dalam media pertumbuhan *Chlorella sp.* seperti yang dihasilkan oleh penelitian Liu *et al.*,²⁷ bahwa penambahan unsur besi konsentrasi tinggi dapat menginduksi peningkatan kandungan minyak dalam mikroalga *Chlorella vulgaris*. Illman *et al.*,²⁸ menyimpulkan bahwa pengurangan unsur nitrogen dalam media pertumbuhan mengakibatkan peningkatan kadar minyak pada mikroalga *Chlorella emersonii*, *C. minutissima*, dan *C. vulgaris*. *Chlorella sp.* meskipun memiliki jumlah sel dua kali lipat daripada *Spirulina sp.* tetapi sangat sulit untuk mengekstrak minyak yang terkandung di dalam selnya karena terhalang oleh dinding selulosa yang keras.

Jumlah pertumbuhan sel *Spirulina sp.* yang rendah dapat diatasi dengan pengurangan kadar nitrogen dalam media kulturnya. Macedo and Alegre,²⁹ melaporkan bahwa kandungan minyak dalam *Spirulina sp.* meningkat tiga kali lipat dengan pengurangan kadar nitrogen dan penurunan suhu, sehingga menjadikan pengurangan nitrogen sebagai cara yang paling efektif untuk meningkatkan kandungan minyak mikroalga. Namun, peningkatan produksi lemak akibat pengurangan kadar nitrogen membutuhkan waktu 2–5 hari dan diimbangi dengan penurunan laju pertumbuhan dan jumlah sel, serta pada akhirnya mempengaruhi total biomassa dan produktivitas lemak yang dihasilkan.³⁰

Dari analisis statistik terhadap data rendemen memberikan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan nyata antara *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* ($p > 0,05$), sedangkan untuk teknik pemecahan dinding sel memberikan hasil yang berbeda nyata antara menggunakan *sonicator* dengan *microwave* ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa penggunaan *sonicator* lebih efektif dalam pemecahan dinding sel *Spirulina sp.* dan *Chlorella sp.* dalam proses ekstraksi minyak mikroalga. Akan tetapi jika merujuk pada laju pertumbuhan sel *Chlorella sp.* yang jauh lebih cepat dari *Spirulina sp.* dan kesulitan yang dihadapi dalam mengekstrak minyak akibat dinding sel *Spirulina sp.* yang lebih tebal, *Chlorella sp.* akan menjadi pilihan yang tepat jika membutuhkan waktu proses yang cepat.

KESIMPULAN

Penggunaan *sonicator* lebih efektif dalam proses ekstraksi lemak *Spirulina sp.*, meningkatkan rendemen lemak hingga 1,97% dibandingkan dengan kontrol (1,17%) dan dengan menggunakan *microwave* (1,28%). Pada mikroalga *Chlorella sp.* penggunaan *sonicator* pada proses ekstraksi lemak juga meningkatkan rendemen hingga 1,69%, lebih tinggi daripada menggunakan *microwave* (1,20%) maupun kontrol (0,93%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih Penulis ucapkan kepada Sri Amini, M.Sc selaku penanggung jawab kegiatan penelitian Minyak Mikroalga Sebagai Bahan Baku Biofuel, Balai Besar Penelitian dan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Gadis Sri Haryani, DEA atas bimbingan yang diberikan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹Chisti, Y., 2007. Biodiesel from microalgae. *Bioethanol Adv.* 25, 294–306.
- ²Scarsella, M., G. Belotti, P. DeFilippis, M. Bravi, 2010. Study on the optimal growing conditions of *Chlorella vulgaris* in bubble column photobioreactors. *Proceedings of Industrial Biotechnology 2nd International Conference*. Padua, Italia: The Italian Association of Chemical Engineering - Biotech Working Group (AIDIC).
- ³Benemann, J.R., J.C. Weissman, B.L. Koopman, W.J. Oswald, 1977. Energy production by microbial photosynthesis. *Nature* 268: 19–23.
- ⁴Milne, T.A., R.J. Evans, N. Nagle, 1990. Catalytic conversion of microalgae and vegetable oils to premium gasoline, with shape-selective zeolites. *Biomass* 21: 219–232
- ⁵Borowitzka, M.A. 1992. Fats, oils and hydrocarbons. *Micro-algal Biotechnology. Section The Algae*. Cambridge Univ. Press. p.257–287.
- ⁶Lee, J.Y., C. Yoo, S.Y. Jun, C.Y. Ahn, H.M. Oh, 2010. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresour. Technol.* 101: 575–577.
- ⁷Magota, A., K. Saga, S. Okada, S. Atobe, K. Imou, 2012. Effect of thermal pretreatments on

hydrocarbon recovery from *Botryococcus braunii*. *Bioresource Technology*. 123: 195-198.

- ⁸Mendes-Pinto, M.M., M.F.J. Raposo, J. Bowen, A.J. Young, R. Morais, 2001. Evaluation of different cell disruption processes on encysted cells of *Haematococcus pluvialis*: effects on astaxanthin recovery and implications for bio-availability. *J. Appl. Phycol.* 13: 19–24.
- ⁹Molina Grima, E., E.H. Belarbi, F.G. Acien Fernandez, Robles A. Medina, Y. Chisti, 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnol. Adv.* 20: 491–515.
- ¹⁰Ehimen, E., Z. Sun, C. Carrington, 2010. Variables affecting the in situ transesterification of microalgal lipids. *Fuel* 89(3): 677–684.
- ¹¹Wahlen, B.D., R.M. Willis, L.C. Seefeldt, 2011. Biodiesel production by simultaneous extraction and conversion of total lipids from microalgae, cyanobacteria, and wild mixed-cultures. *Bioresour. Technol.* 102(3): 2724–2730.
- ¹²Blumreisinger, M., D. Meindl, E. Loos, 1983. Cell Wall Composition of Chlorococcal Algae. *Phytochemistry* 22(7): 1603–1604.
- ¹³Amini, S., S. Melanie, dan D. Fithriani, 2014. *Kandungan minyak mikroalga dari jenis Chlorella sp. yang ditumbuhkan pada media air laut dan air tawar*. Yogyakarta: Prosiding Seminar Nasional Tahunan XI Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan Universitas Gadjah Mada.
- ¹⁴Lananan, F., A. Jusoh, N. Ali, S. S. Lam, A. Endut, 2013. Effect of Conway Medium and f/2 Medium on the growth of six genera of South China Sea marine microalgae. *Bioresource Technology* 141: 75–82.
- ¹⁵Amini, S., 2004. Pengaruh umur ganggang halus laut jenis *Chlorella sp.* dan *Dunaliella sp.* terhadap pigmen klorofil dan karotenoid sebagai bahan baku makanan kesehatan. Seminar Nasional & Temu Usaha, Fakultas Pertanian Universitas Sahid, Jakarta. p229 – 238.
- ¹⁶Oh-Hama, T. & S. Miyachi, 1992. *Chlorella: Micro-Algal Biotechnology*, Edited by M. A. Borowitzka and L. J. Borowitzka Cambridge Univ. Press.
- ¹⁷Nursid, M., S. Amini, Sugiyono, E. Chasanah, I. Januar, D. Fithriani, 2013. *Mikroalga Sebagai Bahan Baku Biofuel*. Laporan Teknis Penelitian Bahan Bioaktif Bersumber dari Makroalga dan Mikroalga, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.

- ¹⁸Mirshekari, S., D. Arabian, R. Khalilzadeh, F. Abaspour, 2014. Investigation of different microalgae cell disruption methods. *Proceedings of 15th International Congress of Microbiology*. Tehran, Iran: Iranian Society of Microbiology.
- ¹⁹Shen, Y., Z. Pei, W. Yuan, E. Mao, 2009. Effect of nitrogen and extraction method on algae lipid yield. *Int J Agric & Biol Eng.*, 2(1): 51–57.
- ²⁰Lamers, P.P., M. Janssen, R.C.H. De Vos, R.J. Bino, R.H. Wijffels, 2012. Carotenoid and fatty acid metabolism in nitrogen-starved *Dunaliella salina*, a unicellular green microalga. *Journal of Biotechnology* 162(1): 21–27.
- ²¹Assunção, P. R. Jaén-Molina, J. Caujapé-Castells, A. de la Jara, L. Carmona, K. Freijanes, H. Mendoza, 2012. Molecular taxonomy of *Dunaliella* (Chlorophyceae), with a special focus on *D. salina*: ITS2 sequences revisited with an extensive geographical sampling. *Aquatic Biosystems* 8(1).
- ²²Bouterfas, R., M. Belkoura, A. Dauta, 2006. The effects of irradiance and photoperiod on the growth rate of three freshwater green algae isolated from a eutrophic lake. *Limnetica*, 25(3): 647–656.
- ²³Stolte, W., R. Riegman, 1996. A model approach for size-selective competition of marine phytoplankton for fluctuating nitrate and ammonium. *J. Phycol.*, 32(5): 732–740.
- ²⁴Neto, A. M. P., R. A. S. de Souza, A. D. Leon-Nino, J. D. A. da Costa, R. S. Tiburcio, T. A. Nunes, T. C. S. de Mello, F. T. Kanemoto, F. M. P. Saldanha-Corrêa, S. M. F. Ganesella, 2013. Improvement in microalgae lipid extraction using a sonication-assisted method. *Renewable Energy* 55: 525–531.
- ²⁵Safi, C., C. Frances, A. V. Ursu, C. Laroche, C. Pouzet, C. Vaca-Garcia, P. Y. Pontalier, 2015. Understanding the effect of cell disruption methods on the diffusion of *Chlorella vulgaris* proteins and pigments in the aqueous phase. *Algal Research*, 8: 61–68.
- ²⁶Falquet, J. and J. P. Hurni, 2006. *The Nutritional Aspects of Spirulina*. Switzerland: Antenna Technologies. 25 p.
- ²⁷Liu, Z.Y., G.C. Wang, B.C. Zhou, 2008. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 99: 17–22.
- ²⁸Illman, A.M., A.H. Scragg, S.W. Shales, 2000. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme and Microbial Technology*, 27:631–5.
- ²⁹Macedo, R.V.T., R.M. Alegre, 2001. Influência do Teor de Nitrogênio no Cultivo de *Spirulina Maxima* em Dois Níveis de Temperatura – Parte II. *Produção de Lipídios Científica Tecnol Aliment Campinas*, 21(2):183–186.
- ³⁰Widjaja, A., Chien, C.-C., Ju, Y.-H., 2009. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 40: 13–20.

