

TUGAS AKHIR

**PRODUKSI BIODIESEL DARI MIKROALGA –
CHLORELLA VULGARIS DENGAN METODE
EKSTRAKSI MASERASI MENGGUNAKAN
PELARUT N-HEKSAN**

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik Lingkungan**



Disusun oleh :
Nurin Retno Sawitri
13.513.214

**PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2017**

LEMBAR PENGESAHAN

PRODUKSI BIODIESEL DARI MIKROALGA – *CHLORELLA VULGARIS* DENGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI MENGGUNAKAN PELARUT N-HEKSAN

BIODIESEL PRODUCTION FROM MICROALGAE – CHLORELLA VULGARIS BY MACERATION EXTRACTION METHOD USING N-HEXANE SOLVENT

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Derajat Sarjana Sastra Satu (S1) Teknik Lingkungan**



Disetujui,

Dosen Pembimbing:

Andik Yulianto, S.T., M.T.

Tanggal : 10/10/2017

Lutfia Isna A., S.Si., M.Sc.

Tanggal : 9.10.2017.

Mengetahui :

Ketua Program Studi Teknik Lingkungan FTSP UII

Hudori, S.T., M.T

Tanggal :

LEMBAR PENGESAHAN

PRODUKSI BIODIESEL DARI MIKROALGA – *CHLORELLA VULGARIS* DENGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI MENGGUNAKAN PELARUT N-HEKSAN

BIODIESEL PRODUCTION FROM MICROALGAE – CHLORELLA VULGARIS BY MACERATION EXTRACTION METHOD USING N-HEXANE SOLVENT

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Derajat Sarjana Sastra Satu (S1) Teknik Lingkungan**



Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh:
Dosen Penguji 1,

Andik Yudianto, S.T., M.T.

Tanggal: 10/10/2017

Dosen Penguji 2,



Lutfia Isna A., S.Si., M.Sc.

Tanggal: 9.10.2017

Dosen Penguji 3,



Puji Lestari, S.Si., M.Sc.

Tanggal:

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun, baik di Universitas Islam Indonesia maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini adalah merupakan gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan Dosen Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat kata atau pendapat orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama penulis dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Program *software* komputer yang digunakan dalam penelitian ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya, bukan tanggung jawab Universitas Islam Indonesia. (apabila menggunakan *software* khusus)
5. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dengan pencabutan gelar yang sudah diperoleh, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.
6. Hasil penelitian ini dapat dipublikasikan dengan arahan atau persetujuan Dosen Pembimbing tugas akhir.

Yogyakarta, 11 OKTOBER 2017



Yang membuat pernyataan

NURIN RETNO SAWITRI

NIM: 13.513.214

KATA PENGANTAR

Segala puji kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan petunjuk-Nya sehingga laporan tugas akhir ini dapat selesai dengan baik dan tepat waktu. Shalawat dan salam penulis hadiahkan kepada Rasulullah SAW yang selalu menjadi suri tauladan dan idola penulis. Penulisan laporan tugas akhir dengan judul **“Produksi Biodiesel dari Mikroalga – *Chlorella Vulgaris* dengan Metode Ekstraksi Maserasi Menggunakan Pelarut n-Heksan”** dilakukan dalam rangka memenuhi mata kuliah Tugas Akhir. Penulisan laporan ini tidak lepas dari bantuan beberapa pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Orang tua saya, Mama Rosnilawati dan Bapak Misnuri, S.Sos yang senantiasa memberikan dukungan berupa doa yang senantiasa mengalir tiada henti dan dukungan moril maupun materiil lainnya yang sangat berarti dalam kehidupan saya. Juga untuk kakak dan adik, Eka Kurnia Saputra, S.T., M.M. dan Alfian Nurridho yang selalu saya rindukan.
2. Bapak Hudori, S.T., M.T. selaku Ketua Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan (FTSP) Universitas Islam Indonesia, yang telah banyak membantu saya selama perkuliahan.
3. Bapak Andik Yulianto, S.T., M.T. selaku Dosen Pembimbing I yang merupakan salah satu dosen favorit saya karena selalu mengajarkan untuk berpikir luas dan sederhana dalam menghadapi berbagai masalah.
4. Mbak Luthfia Isna, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing II yang benar-benar sangat peduli dan banyak membantu dalam memberikan arahan terkait penelitian yang dilakukan dalam tugas akhir ini.
5. Seluruh dosen dan karyawan Program Studi Teknik Lingkungan FTSP Universitas Islam Indonesia. Terima kasih atas semua ilmu dan bantuan yang diberikan.

6. Lidia Elvina selaku rekan dalam pengerjaan tugas akhir selama lebih kurang 6 bulan ini juga Wahyu Budiantoro, S.T. yang telah banyak berbagi ilmu dan bantuan dalam pengerjaan tugas akhir ini.
7. Sahabat terbaik saya, Succi Wulandhary, S.T., yang selalu ada dan mengerti segala hal tentang saya. Terima kasih banyak untuk semuanya 4 tahun ini.
8. Sandy Firmawan Arifin, A.Md, Pel. yang selalu mendukung dan memberikan motivasi untuk saya selama 5 tahun ini. Semoga kita berjodoh.
9. Sahabat-sahabat “Boedak Ngangak”: Raja Nurhafiza, S.T., Avanti Puja Sulistyanigrum, S.T., Resti Malida Putri, Robita Rahmayanti, dan Hilda Ageng Ilmira yang selalu menyemangati satu sama lain. Kalianlah teman main paling asik dalam hidup saya.
10. Sahabat-sahabat saya selama 8 tahun dan semoga selalu menjadi sahabat sampai ke surga Allah SWT nantinya, Tri Agrina, S.Ked. dan Nurul Shafarani, S.Ked., yang menjadi sahabat juga saingan juara kelas sejak SMP sampai SMA. Kalian yang terbaik.
11. Teman-teman KKN unit 218 dan 219 yang telah membawa banyak perubahan positif dalam hidup saya.
12. Keluarga besar mahasiswa Teknik Lingkungan FTSP Universitas Islam Indonesia angkatan 2013. Terima kasih atas kebersamaannya selama ini. Semoga kita semua menjadi manusia yang bermanfaat di dunia dan selamat di akhirat serta selalu menjaga silaturahmi.

Semoga apa yang penulis sampaikan dalam penelitian ini dapat berguna bagi rekan-rekan mahasiswa maupun semua pihak yang membutuhkan sehingga dapat menjadi studi literatur bagi penelitian yang berhubungan.

Yogyakarta, September 2017

Penulis

ABSTRACT

Based on the Presidential Regulation of Republic of Indonesia No. 22/2017 About National Energy General Plan, in 2015, portion of fossil energy in national energy mix is 95%, while new and renewable energy is only 5%. Chlorella vulgaris has the potential to be source of renewable energy in the form of biodiesel, especially in Indonesia where It has abundant amount of Chlorella vulgaris. This species of microalgae is easy to breed and has 14-22% fatty acid component so It is suitable to be developed as one of the raw materials of biodiesel production. However, the application of science and technology to utilize microalgae as fuel is still in the process of development. The purpose of this study is to contribute to biodiesel development research from microalgae, also to observe the effect of pH on the harvesting process by flocculation method with the addition of NaOH, and to produce biodiesel from Chlorella vulgaris by maceration extraction method using n-hexane solvent. The steps in the biodiesel production from Chlorella vulgaris included preparation stage of microalgae biomass, harvesting biomass using flocculation method with effect of pH change, microalgae lipid extraction using maceration with n-hexane solvent, and biodiesel synthesis. The result showed that pH had an effect on flocculation process if It was at optimum value. An over alkaline pH (≥ 9) will cause lysis whereas a pH value that is too low (≤ 6) would not cause floc formation. The result of GC-MS test of biodiesel transesterification solution showed the presence of Hexadecanoic acid, methyl ester as much as 0,52% in sample 1 and 0,73% in sampel 2 which is Fatty Acid Methyl Ester (FAME).

Keywords: biodiesel, Chlorella vulgaris, microalgae, n-heksan

ABSTRAK

Menurut Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2017 Tentang Rencana Umum Energi Nasional, pada tahun 2015 porsi energi fosil dalam bauran energi nasional sebesar 95%, sedangkan energi baru dan terbarukan hanya 5%. Mikroalga *Chlorella vulgaris* memiliki potensi untuk menjadi sumber energi terbarukan berupa biodiesel, terutama di Indonesia dimana memiliki jumlah *Chlorella vulgaris* yang berlimpah. Mikroalga jenis ini mudah dikembangkan biakkan dan memiliki komponen asam lemak sebesar 14-22% sehingga sangat cocok dikembangkan sebagai salah satu bahan baku pembuatan biodiesel. Tetapi penerapan ilmu pengetahuan dan teknologi untuk memanfaatkan mikroalga sebagai bahan bakar masih dalam proses pengembangan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memberikan kontribusi terhadap penelitian pengembangan biodiesel dari mikroalga, juga melihat pengaruh pH pada proses pemanenan dengan metode flokulasi dengan penambahan NaOH, serta menghasilkan biodiesel dari *Chlorella vulgaris* dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut n-heksan. Langkah-langkah dalam produksi biodiesel dari *Chlorella vulgaris* meliputi tahap persiapan biomassa mikroalga, pemanenan biomassa menggunakan metode flokulasi dengan pengaruh perubahan pH, ekstraksi lipid mikroalga menggunakan metode maserasi dengan pelarut n-heksan, dan sintesis biodiesel. Hasil penelitian menunjukkan pH berpengaruh pada proses flokulasi apabila berada pada nilai optimum. pH yang terlalu basa (≥ 9) akan menyebabkan lisis sedangkan pH yang lebih rendah (≤ 6) tidak akan menyebabkan pembentukan flok. Hasil uji GC-MS larutan transesterifikasi biodiesel menunjukkan adanya senyawa *Hexadecanoic acid, methyl ester* sebanyak 0,52% pada sampel 1 dan 0,73% pada sampel 2 yang merupakan *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME).

Kata Kunci: biodiesel, *Chlorella vulgaris*, mikroalga, n-heksan

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
PERNYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Ruang Lingkup Penelitian	4
BAB II TINJAUAN	
PUSTAKA.....	<u>5</u>
2.1 Biodiesel.....	5
2.2 Mikroalga <i>Chlorella sp.</i>	6
2.2.1 Taksonomi <i>Chlorella sp.</i>	8
2.2.2 Morfologi <i>Chlorella sp.</i>	8
2.2.3 Pemanfaatan <i>Chlorella vulgaris</i>	9
2.3 n-Heksan.....	10

2.4	Penelitian Sebelumnya	10
2.5	Hipotesis	12
BAB III METODE PENELITIAN		13
3.1	Tahapan Penelitian	13
3.2	Metode Pengumpulan Data	13
3.3	Lokasi Penelitian	14
3.4	Prosedur Penelitian	14
3.4.1	<i>Seeding</i> dan Aklimatisasi	15
3.4.2	Kultivasi	15
3.4.3	Identifikasi Jumlah Sel Mikroalga	15
3.4.4	Pemanenan dan Pengeringan Mikroalga	16
3.4.5	Ekstraksi	16
3.4.6	Sintesis Biodiesel (Transesterifikasi)	16
3.4.5	Uji <i>Fatty Acid Methyl Ester</i> (FAME)	17
<u>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA</u>		<u>18</u>
<u>4.1</u>	<u>Identifikasi Mikroalga</u>	<u>18</u>
<u>4.2</u>	<u><i>Seeding</i> dan Aklimatisasi</u>	<u>19</u>
<u>4.3</u>	<u>Kultivasi dan Analisis Sel Mikroalga</u>	<u>20</u>
<u>4.4</u>	<u>Pemanenan dan Pengeringan</u>	<u>22</u>
<u>4.5</u>	<u>Ekstraksi Lipid</u>	<u>24</u>
<u>4.6</u>	<u>Sintesis Biodiesel (Transesterifikasi)</u>	<u>27</u>
<u>4.7</u>	<u>Uji <i>Fatty Acid Methyl Ester</i> (FAME)</u>	<u>28</u>
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		31
5.1	Kesimpulan	31
5.2	Saran	31

DAFTAR PUSTAKA	32
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Beberapa Hasil Penelitian Sebelumnya	11
Tabel 4.1 Komponen Kimia Larutan Hasil Transesterifikasi (Sampel 1).....	29
Tabel 4.2 Komponen Kimia Larutan Hasil Transesterifikasi (Sampel 2).....	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Penampang Vertikal Mikroalga	9
Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian	13
Gambar 3.2 Tahapan Pembuatan Biodiesel dari Mikroalga	14
Gambar 4.1 Penampakan <i>Chlorella vulgaris</i>	18
Gambar 4.2 Reaktor yang Digunakan Pada Proses Kultivasi	20
Gambar 4.3 Jumlah Kerapatan Sel Mikroalga Perhari.....	21
Gambar 4.4 Mikroalga Kering	24
Gambar 4.5 Larutan Setelah Dimaserasi 19 Jam	25
Gambar 4.6 Larutan Hasil Penyaringan Proses Maserasi	26
Gambar 4.7 Larutan Hasil Transesterifikasi	28
Gambar 4.8 Kromatogram Biodiesel <i>Chlorella vulgaris</i> (Sampel 1)	28
Gambar 4.9 Kromatogram Biodiesel <i>Chlorella vulgaris</i> (Sampel 2)	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Tata Cara Pengujian

Lampiran 2: Data Pengamatan, Pengujian, dan Contoh Perhitungan

Lampiran 3: Hasil Analisa Kromatogram

Lampiran 4: Kondisi Pengukuran GC-MS

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selama beberapa dekade ini, bahan bakar fosil menjadi bagian yang tak terpisahkan dari kehidupan manusia. Secara khusus, bahan bakar fosil dibakar untuk memproduksi energi untuk kebutuhan transportasi dan pembangkit listrik, dimana kedua sektor ini memainkan peranan penting pada perkembangan kehidupan manusia dan sebagai percepatan kemajuan teknologi. Namun, bahan bakar fosil adalah sumber daya non-terbarukan yang jumlahnya terbatas dan akan habis di masa yang akan datang. Selain itu, pembakaran bahan bakar fosil telah menyebabkan banyak masalah lingkungan, termasuk efek gas rumah kaca yang berkontribusi penting dalam pemanasan global (Lam dan Lee, 2011). Fenomena ini memaksa manusia untuk terus melakukan pencarian energi alternatif untuk mengurangi beban suplai energi yang tidak dapat diperbaharui. Salah satu energi alternatif yang sedang berkembang pesat adalah *biofuel*. Hampir setiap orang pernah mendengar tentang etanol dan biodiesel. Kedua teknologi ini dapat memberikan banyak manfaat tanpa perlu mengeluarkan banyak biaya seperti

sistem infrastruktur bahan bakar dari minyak bumi yang telah ada saat ini (Kemp, 2009).

Kebutuhan minyak diesel yang tinggi akan meningkatkan kebutuhan bahan bakunya (Sulistyo, 2010). Bahan baku untuk biodiesel sendiri bisa didapatkan dari energi tanaman dan residu proses biomassa, limbah perkotaan, dan hewan. Dari sekian banyak potensi alam yang dimiliki Indonesia, mikroalga merupakan mikroorganisme fotosintesis penghasil minyak yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai salah satu alternatif bahan baku pembuatan biodiesel (Ondrey, 2008 dan Chisti, 2007).

Biodiesel telah diakui sebagai bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan dan terbarukan. Beberapa keuntungan dari biodiesel adalah sifatnya yang *non-toxic*, *biodegradable*, dan memiliki emisi gas rumah kaca (GHG) yang lebih rendah dibandingkan bahan bakar fosil saat digunakan pada mesin diesel (Demirbas, 2009).

Selama ini mikroalga sudah dikenal sebagai bahan baku industri farmasi dan kosmetika. Hal ini disebabkan adanya kandungan berbagai senyawa kimia yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar untuk mengobati dan mencegah berbagai macam penyakit. Kandungan senyawa kimia tersebut seperti protein, lemak, asam lemak tak jenuh, pigmen, dan vitamin. Namun, penerapan ilmu pengetahuan dan teknologi untuk memanfaatkan mikroalga sebagai bahan bakar masih dalam proses pengembangan. Tercatat sampai saat ini hanya empat spesies mikroalga yang telah berhasil dikultivasi pada skala industri, diantaranya adalah *Chlorella sp.*, *Spirulina sp.*, *Dunaliella salina* dan *Nannochloropsis sp.* (Kawaroe dkk., 2010). Salah satu mikroalga yang mudah didapatkan dan dikembangkan di Indonesia adalah *Chlorella sp.*. Jenis alga ini memiliki komponen asam lemak sebesar 14-22% (Sofyan, 2012). Komponen asam lemak dalam mikroalga ini disintesis menjadi biodiesel.

Mikroalga memiliki kemampuan untuk mengonversi energi matahari melalui proses fotosintesis. Mikroalga yang habitatnya di lingkungan perairan memiliki efektivitas dan efisiensi lebih tinggi karena aksesnya pada air, karbondioksida, dan berbagai nutrisi lain lebih mudah dibandingkan dengan

tumbuhan tingkat tinggi di daratan. Untuk menggali dan memanfaatkan berbagai potensi mikroalga, perlu dilakukan uji coba kultivasi untuk memenuhi kebutuhan biomassa mikroalga seperti halnya pembudidayaan tanaman pangan. Jika dalam satu hektar lahan kultivasi mikroalga dapat menghasilkan 100.000 liter *biofuel*, maka area yang sama hanya memproduksi 2.700 liter *biofuel* dari kelapa sawit dan 1.400 liter dari tanaman jarak. Dengan demikian, semakin nyata bahwa mikroalga memiliki potensi dan prioritas yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai bahan baku *biofuel* (Kawaroe dkk., 2010).

Produksi biodiesel dari mikroalga biasanya meliputi pembudidayaan, peningkatan konsentrasi, *dewatering*, proses ekstraksi minyak, dan proses transesterifikasi minyak (Lee *et al.*, 2010). Metode ekstraksi minyak mikroalga secara umum dapat dikelompokkan menjadi dua metode, yaitu perlakuan mekanis dan secara kimiawi (Chisti, 2007). Metode mekanis antara lain dengan cara pengepresan (*press*) dan ekstraksi gelombang ultrasonik. Metode secara kimiawi dapat diklasifikasikan menjadi metode maserasi, ekstraksi *soxhlet*, dan *supercritical fluid extraction* (Melanie dan Fithriani, 2015).

Metode yang umum digunakan untuk mengekstraksi mikroalga adalah dengan menggunakan pelarut, biasanya menggunakan pelarut non-polar seperti heksan (Magota dkk., 2012). Heksan merupakan pelarut non-polar yang tidak dapat bercampur dengan air sehingga kandungan air di sekeliling sel mikroalga dapat menghalangi kontak antara pelarut heksan dengan bagian sel yang mengandung minyak (Melanie dan Fithriani, 2015).

1.2 Rumusan Masalah

Penerapan ilmu pengetahuan dan teknologi untuk memanfaatkan mikroalga sebagai bahan bakar masih dalam proses pengembangan. Menurut Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2017 Tentang Rencana Umum Energi Nasional, pada tahun 2015 porsi energi fosil dalam bauran energi nasional sebesar 95%, sedangkan energi baru dan terbarukan hanya 5%. Hasil-hasil Penelitian, Pengembangan, dan Penguasaan Ilmu Pengetahuan dan

Teknologi (P3IPTEK) nasional pun belum mampu memberikan kontribusi secara optimal untuk mendukung kemandirian industri energi nasional.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pengaruh variasi pH dengan penambahan NaOH pada proses pemanenan dengan metode flokulasi.
2. Pengaruh metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut n-heksan terhadap biodiesel yang dihasilkan dari *Chlorella vulgaris*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Memberikan informasi terkait bahan bakar alternatif berupa biodiesel yang dihasilkan dari mikroalga, khususnya *Chlorella vulgaris*.
2. Memberikan kontribusi terhadap pengembangan penelitian bahan bakar terbarukan khususnya yang diproduksi dari mikroalga.
3. Mengetahui potensi besaran produksi biodiesel dari mikroalga *Chlorella vulgaris* sehingga dapat digunakan sebagai referensi acuan dalam pemanfaatan dan pengembangan teknologi biodiesel di kemudian hari.

1.5 Ruang Lingkup Penelitian

Untuk mendapatkan hasil penelitian yang maksimal, maka diperlukan adanya pembatasan masalah. Maka pembatasan masalah dapat diuraikan sebagai berikut:

1. Tempat yang akan menjadi lokasi penelitian ini adalah di Laboratorium Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia.
2. Mikroalga yang digunakan adalah *Chlorella vulgaris*.

3. Sistem pencahayaan dilakukan dengan sistem terang 24 jam yaitu menggunakan bantuan sinar matahari dan lampu *Light Emitting Diode* (LED).
4. Dilakukan dalam skala laboratorium sehingga ada beberapa faktor yang tidak diperhatikan.
5. Reaktor yang digunakan dalam tahap kultivasi adalah reaktor tanpa pengadukan. Sedangkan perangkat CO₂ (tabung dan *diffuser*) tidak dimodifikasi karena merupakan studi lanjutan Tugas Akhir terdahulu.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biodiesel

Biodiesel, seperti halnya etanol, merupakan sumber bahan bakar terbarukan dengan hasil pembakaran yang relatif bersih dan dapat digunakan untuk mesin diesel dan peralatan pemanas yang berbasis minyak. Biodiesel berasal dari minyak nabati murni atau yang sudah didaur ulang dan residu lemak hewan dari tempat pengolahan ikan. Biodiesel dihasilkan setelah terjadinya reaksi kimia minyak nabati atau lemak hewan ini dengan alkohol dan katalis yang kemudian memproduksi senyawa yang disebut *Fatty Acid Metil Ester* (FAME atau biodiesel) dan juga menghasilkan produk sampingan berupa gliserin (Kemp, 2009). Biodiesel bersifat terbarukan, dapat menurunkan emisi kendaraan, bersifat melumasi dan dapat meningkatkan kerja mesin. Biodiesel dibuat secara transesterifikasi maupun esterifikasi minyak nabati dengan katalis basa maupun asam sehingga menghasilkan metil ester (Nilawati, 2012 dan Fukuda dan Noda, 2001).

Teknologi untuk produksi dan penggunaan biodiesel sudah diketahui lebih dari 50 tahun. Di Amerika Serikat, biodiesel diproduksi terutama dari kacang kedelai. Sumber komersial lainnya dari biodiesel yaitu minyak canola, lemak hewan, minyak kelapa sawit, minyak jagung, minyak jelantah (Felizardo et al.,

2006; Kulkarni dan Dalai, 2006), dan minyak jathropa (Barnwal dan Sharma, 2005).

Penggunaan biodiesel sebagai bahan bakar otomotif memiliki beberapa keuntungan sebagai berikut:

- Biodiesel dapat mensubstitusi bahan bakar diesel pada semua kendaraan bermotor modern.
- Penggunaan biodiesel tidak memengaruhi performa kendaraan.
- Lubrisitas (kapasitas untuk mengurangi aus pada mesin akibat gesekan) sangat tinggi dengan menggunakan biodiesel.
- Karena biodiesel memiliki *cetane rating* yang lebih tinggi, maka *noise* pada mesin dan *ignition knocking* berkurang.
- Siklus emisi karbon dapat berkurang secara drastis atau bahkan hilang dikarenakan penyaringan yang sangat teliti dari bahan baku minyak dan proses kimia.

Dari sudut pandang agrikultural, biodiesel memberikan keuntungan dan kerugian. Proses pembuatan biodiesel relatif sederhana dan murah, bahkan produk sampingan dari proses pembuatan biodiesel, gliserin, mempunyai pasar dalam industri makanan, kosmetik, dan lain-lain (Kemp, 2009).

2.2 Mikroalga *Chlorella* sp.

Mikroalga diakui sebagai salah satu mikroorganisme tertua di bumi. Mikroalga berukuran seluler dan umumnya dikenal dengan sebutan fitoplankton. Habitat hidupnya adalah wilayah perairan atau di tempat-tempat lembab. Organisme ini merupakan produsen primer di perairan yang mampu berfotosintesis seperti tumbuhan tingkat tinggi lainnya. Mikroalga banyak ditemukan berasal dari kelas *Bacillariophyceae* (diatom), *Chrysophyceae* (alga coklat keemasan), *Chlorophyceae* (alga hijau), dan kelas *Chyanophyceae* (alga hijau-biru). Berdasarkan pigmen yang dimiliki, mikroalga dikelompokkan menjadi lima filum, yaitu: *Chlorophyta* (alga hijau), *Chrysophyta* (alga keemasan), *Pyrhophyta* (alga api), *Euglenophyta*, dan *Cyanophyta* (alga hijau-biru) (Kawaroe, *et al.*, 2010).

Mikroalga tumbuh dengan sangat cepat, yaitu 100 kali lebih cepat daripada tanaman tingkat tinggi dan dapat menggandakan biomasanya dalam waktu kurang dari satu hari (Biondi dan Tredici, 2011). Selain itu, beberapa jenis mikroalga dapat mengakumulasi lipid di dalam selnya dalam jumlah yang besar, dimana lipid tersebut dapat dikonversi menjadi biodiesel (Chisti, 2007).

Chlorella sp. merupakan mikroalga yang termasuk dalam kelas alga hijau atau *Chlorophyceae*. Mikroalga ini belum memiliki akar, batang, dan daun sejati tetapi memiliki pigmen klorofil sehingga bersifat fotoautotrof. Tubuhnya terdiri dari satu sel (uniseluler) dan ada juga yang bersel banyak (multiseluler) dengan sifat yang cenderung membentuk koloni. Mikroalga hijau ini banyak tersebar di habitat air maupun tanah dan diduga sebagai asal mula tumbuhan. *Chlorella sp.* hanya melakukan reproduksi tipe aseksual, yaitu dengan pembelahan diri tipe mitosis. Selnya bereproduksi dengan membentuk dua sampai delapan sel yang terdapat dalam sel induk dan akan dilepas jika kondisi lingkungan mendukung (Kaworoe, *et al.*, 2010).

Mikroalga *Chlorella sp.* merupakan organisme fotosintetik yang mempunyai kemampuan fiksasi CO₂ yang baik karena kandungan klorofilnya yang sangat tinggi dibandingkan dengan seluruh alga hijau bahkan seluruh tanaman tingkat tinggi di dunia yaitu 28,9 g/kg. Mikroalga ini merupakan mikroalga primitif yang telah ada sejak 2,5 miliar tahun yang lalu, namun populasinya masih dapat bertahan sampai sekarang karena beberapa sebab yaitu:

1. Kestabilan sifat genetik dari pengaruh luar.
2. Memiliki daya dan mekanisme perbaikan DNA yang tinggi untuk beradaptasi dengan lingkungannya yang baru.
3. Bentuk dan sifat dinding sel yang kuat sehingga tahan terhadap pengaruh luar (Suriawiria, 2005).

Pertumbuhan mikroalga dalam kultur ditandai dengan bertambah besar ukuran sel atau bertambah banyaknya jumlah sel. Ada 4 fase pertumbuhan menurut Pelczar & Chan. (1986) pada mikroalga yang dikultur, yaitu:

1. Fase lag/adaptasi

Pertumbuhan mikroalga pada umumnya diawali fase adaptasi yang merupakan tahap penyesuaian sel terhadap lingkungan baru. Pembelahan sel pada fase tersebut belum terjadi atau jika ada berlangsung lambat dan relatif sedikit (Clegg dan Mackean, 2000). Pertumbuhan pada fase ini umumnya berupa penambahan massa dan ukuran sel (Pelczar dan Chan, 1986).

2. Fase eksponensial

Peningkatan jumlah sel yang pesat terjadi pada saat eksponensial. Sel-sel membelah dengan kecepatan maksimum dan aktivitas fotosintesis meningkat. Aktivitas fotosintesis yang tinggi menyebabkan protein dan komponen-komponen penyusun protoplasma lainnya tinggi, yang berperan dalam proses pertumbuhan. Kandungan protein yang dihasilkan pada fase eksponensial lebih tinggi dibandingkan fase stasioner (Fogg dan Thake, 1987).

3. Fase stasioner

Fase stasioner ditandai dengan terjadinya keseimbangan antara tingkat pertumbuhan dengan kematian sel. Pertambahan sel terjadi dalam jumlah kecil (Madigan *et al.*, 2000). Penurunan laju pertumbuhan pada fase stasioner disebabkan keterbatasan nutrisi dan terbentuknya senyawa metabolit sekunder, hasil metabolisme sel yang terakumulasi dalam media kultur dapat menghambat proses metabolisme sel (Pelczar dan Chan, 1986).

4. Fase kematian

Setelah fase stasioner, terjadi pengurangan jumlah sel secara bertahap. Sel-sel mati dengan kecepatan yang bervariasi, bergantung pada jenis dan kondisi lingkungan. Beberapa faktor yang menyebabkan kematian sel adalah jumlah nutrisi berkurang, jumlah suplai CO₂ dan O₂ berkurang, perubahan pH media, dan rendahnya penetrasi cahaya yang dipengaruhi oleh kerapatan sel (Fogg dan Thake, 1987).

2.2.1 Taksonomi *Chlorella* sp.

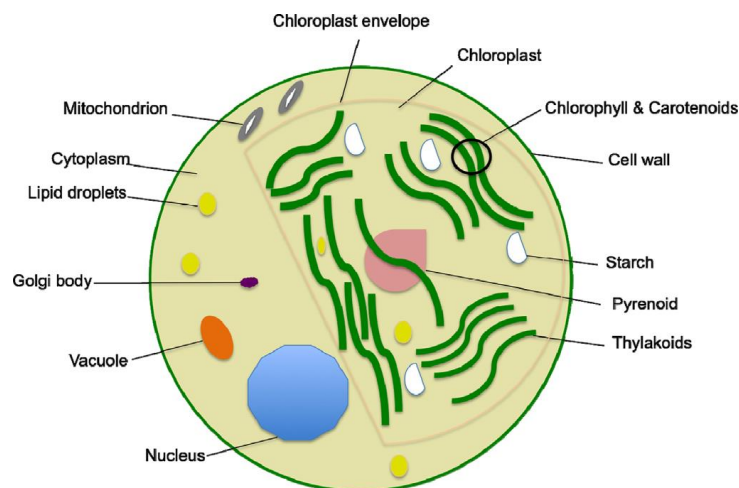
Berdasarkan taksonominya, *Chlorella* sp. memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Sub Kingdom : *Viridaeplantae*
Filum : *Chlorophyta*
Kelas : *Chlorophyceae*
Ordo : *Chlorococcales*
Famili : *Oocystaceae*
Genus : *Chlorella sp.*

2.2.2 Morfologi *Chlorella sp.*

Chlorella vulgaris merupakan alga yang termasuk ke dalam organisme uniseluler. Jenis selnya adalah eukariotik dengan kemampuan fotosintesis untuk menghasilkan makanannya. Struktur sel mikroalga dapat dilihat pada Gambar 2.1 berikut:



Sumber : (Safi *et al*, 2014)

Gambar 2.1 Penampang Vertikal Mikroalga

2.2.3 Pemanfaatan *Chlorella vulgaris*

Dari kandungan esensialnya yang potensial, *Chlorella vulgaris* merupakan organisme autotrof yang akhir-akhir ini banyak dimanfaatkan untuk bahan baku industri. Kemampuannya berfotosintesis dapat dimanfaatkan untuk mereduksi CO₂ dari udara sehingga mengurangi efek rumah kaca (Wang B. *et al*, 2008). Selain itu, kandungan lipidnya yang cukup tinggi juga potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan biodiesel.

Pembuatan biodiesel dari mikroalga membutuhkan proses yang sangat panjang. Salah satu prosesnya adalah proses ekstraksi atau proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik. Dalam hal ini ekstraksi minyak alga dilakukan menggunakan pelarut n-heksana. Pelarut ini dapat mengekstrak dengan baik. Hal ini dikarenakan sifat dasar minyak dimana akan lebih larut terhadap komponen pelarut non-polar, dimana n-heksana merupakan pelarut organik non-polar. Kelarutan disebabkan oleh gaya tarik Van der Waals antara pelarut dan zat terlarut, seperti halnya senyawa-senyawa gugus alkana lainnya, n-heksana tidak larut dalam air (Wati dan Motto, 2011).

2.3 n-Heksan

n-Heksan merupakan sebuah senyawa hidrokarbon alifatik yang sangat mudah menguap dengan rumus kimia C_6H_{14} . Awalan heks- merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran -ana berasal dari kata alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Munawaroh dan Handayani, 2010). n-Heksan merupakan jenis pelarut non polar. Karakteristik n-heksan:

1. Rumus molekul : C_6H_{14}
2. Struktur kimia : $CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$
3. Berat molekul : 86,1754 g/mol
4. Warna : tidak berwarna
5. Titik leleh : $-95^{\circ}C$
6. Densitas : 0,6603 pada $20^{\circ}C$
7. *Boiling point* : $69^{\circ}C$ (P=1 atm)
8. Titik nyala : $-23,3^{\circ}C$
9. Kelarutan dalam air : 0,0013 g/100ml pada $20^{\circ}C$

n-Heksan adalah pelarut yang memiliki banyak kegunaan dalam industri kimia dan makanan, baik dalam bentuk murni atau sebagai komponen dari campuran n-heksana komersial. n-Heksan digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi secara Soxhlet yang bertujuan untuk menghilangkan lemak. Ikatan

pada n-heksan yang tunggal dan sifat yang kovalen menjadikan n-heksan tidak reaktif sehingga sering digunakan pelarut inert pada reaksi organik.

2.4 Penelitian Sebelumnya

Daftar penelitian-penelitian terdahulu serta perbandingannya yang telah dilakukan baik di dalam ataupun luar negeri dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Beberapa hasil penelitian sebelumnya

No.	Peneliti	Judul	Tujuan	Hasil Penelitian
1.	Lam <i>et al.</i> ,(2016)	<i>Cultivation of Chlorella vulgaris using nutrients source from domestic wastewater for biodiesel production: Growth condition and kinetic studies</i>	Kultivasi mikroalga menggunakan air limbah domestik sebagai alternatif dan solusi berkelanjutan untuk produksi biodiesel.	• Pengaruh jumlah nutrien: produktivitas biomassa lebih tinggi dengan jumlah nutrien lebih rendah • Pengaruh pH: pertumbuhan dan biomassa tertinggi pada pH 3 • Pengaruh jumlah benih: pertumbuhan tertinggi pada jumlah benih 0,1575/hari • <i>Removal</i> nutrien: 72% untuk N dan 28% untuk P dari sampel • Ekstraksi lipid dan produksi biodiesel dari <i>Chlorella vulgaris</i>: 32 wt% total lipid terekstraksi, total FAME 74,43%
2	Widyastuti dan Dewi (2015)	Sintesis biodiesel dari minyak mikroalga <i>Chlorella vulgaris</i> dengan reaksi transesterifikasi menggunakan katalis KOH	Menghasilkan biodiesel dari potensi minyak mikroalga <i>Chlorella vulgaris</i> melalui reaksi transesterifikasi	• Ekstraksi dengan n-Heksana menghasilkan rendemen minyak terbesar • 2 komponen <i>Chlorella sp.</i> terbesar: Dodecanoic acid 59,62% dan n-Decanoic acid 12,64% • Transesterifikasi dengan katalis KOH diperoleh

				yield biodiesel 59,85% • Densitas biodiesel yang dihasilkan 0,88 g/cm³
3	Chisti (2007)	<i>Biodiesel from Microalgae</i>	Mengetahui tentang potensi biodiesel dari mikroalga sebagai energi terbarukan dan netral dari karbon pengganti minyak bumi	Biodiesel dari mikroalga dinyatakan layak secara teknis. Ini adalah satu-satunya biodiesel terbarukan yang dapat menggantikan bahan bakar dari minyak bumi. Produksi biodiesel dari mikroalga secara <i>low-cost</i> membutuhkan pengembangan lanjutan melalui rekayasa genetik dan metabolik.
4	Oh et al. (2001)	<i>Harvesting of Chlorella vulgaris using a bioflocculant from Paenibacillus sp. AM49</i>	Mengetahui efisiensi pemanenan mikroalga secara flokulasi dengan beberapa flokulan mikroba dari bakteri dan menguji aktivitas flokulasinya terhadap <i>C. vulgaris</i>	• Efisiensi flokulasi menggunakan bioflokulan meningkat pada range pH 5-11 • Penggunaan flokulan NaOH pada pH 11 memberi efisiensi tertinggi 86% • Efisiensi tertinggi adalah dengan penambahan 6,8 mm CaCl₂ sebagai co-flokulan. • Bioflokulan dari <i>Paenibacillus sp. AM49</i> dapat digunakan secara efektif untuk memanen <i>C. Vulgaris</i>

Dari beberapa referensi yang didapatkan, sudah banyak publikasi penelitian mengenai produksi biodiesel dari mikroalga, baik publikasi penelitian skala nasional maupun internasional, dengan berbagai macam metode ekstraksi. Hanya saja belum pernah dilakukan penelitian berupa produksi biodiesel dari mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut n-heksan di lingkungan Universitas Islam Indonesia. Maka dari itu

penelitian ini akan menjadi studi pendahuluan bagi produksi biodiesel dari mikroalga.

2.5 Hipotesis

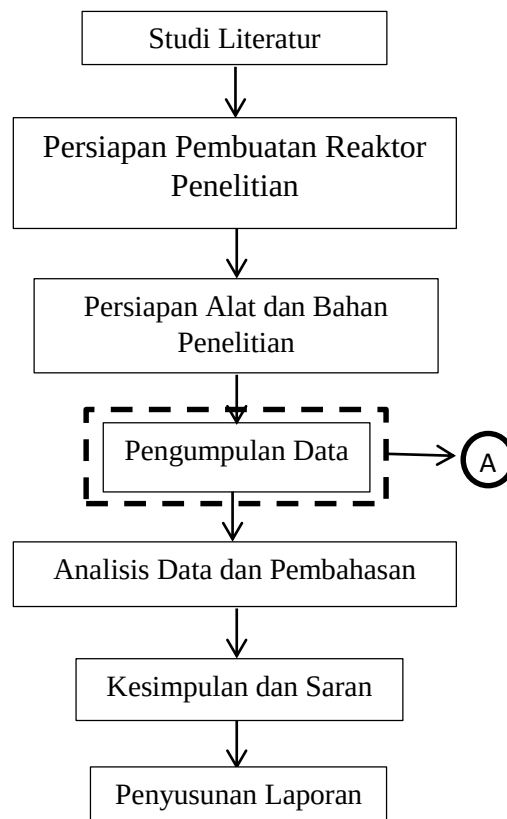
Hipotesis pada penelitian ini adalah mikroalga *Clorella vulgaris* yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut n-heksan dapat menghasilkan *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) atau biodiesel.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tahapan Penelitian

Berikut ini adalah diagram alir dari proses penelitian ini:

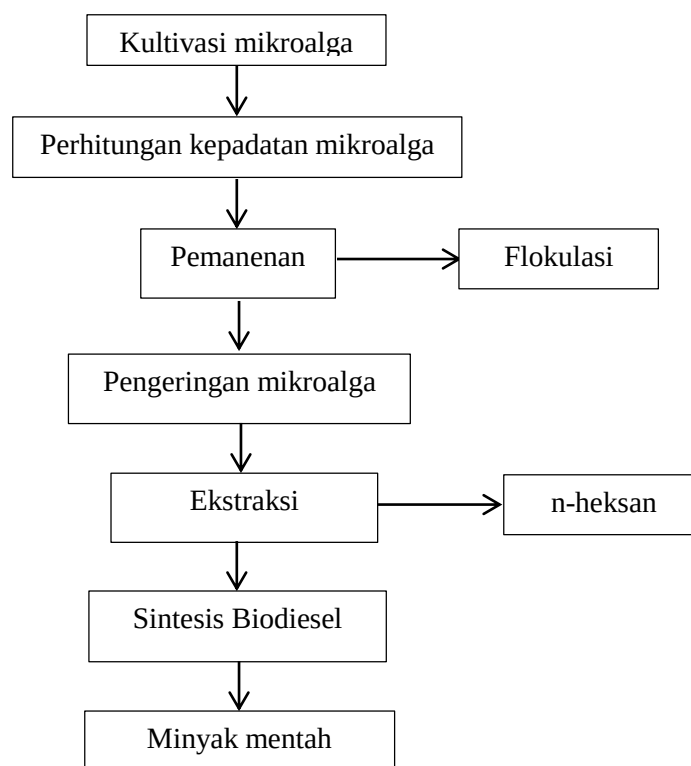


(A) Dijelaskan lebih lanjut pada Gambar 3.2.

Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.2 Metode Pengumpulan Data

Data yang akan digunakan adalah data primer dan data sekunder. Data sekunder berupa teori-teori yang didapatkan dari observasi serta studi literatur. Sedangkan data primer didapatkan dengan melakukan penelitian di laboratorium. Adapun perolehan data primer dilakukan melalui beberapa tahapan sebagai berikut:



Gambar 3.2 Tahapan Pembuatan Biodiesel dari Mikroalga

3.3 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Kualitas Air Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan (FTSP), Universitas Islam Indonesia (UII); Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran (FK), UII; dan Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia.

3.4 Prosedur Penelitian

Tahapan penelitian secara umum dapat dilihat pada Gambar 3.2 diatas. Masing-masing tahapan tersebut dapat dijabarkan lagi menjadi prosedur-prosedur seperti terlihat pada penjelasan berikut.

3.4.1 *Seeding* dan Aklimatisasi

Seeding dan aklimatisasi dilakukan agar mendapatkan mikroalga yang siap digunakan dalam proses *running*. Dalam proses ini dilakukan pengambilan bibit mikroalga *Chlorella vulgaris* dan kemudian diencerkan menggunakan air kran. Dilakukan penambahan pupuk NPK yang berfungsi sebagai nutrisi bagi mikroalga. Penambahan pupuk NPK diberikan sebanyak 35 mg/L setiap 2 hari sekali. Mikroalga diidentifikasi spesiesnya menggunakan mikroskop. Proses *seeding* dan aklimatisasi dilakukan selama dua minggu dengan mengamati pertumbuhan alga dengan perhitungan kerapatan sel alga. Jika sudah hijau pekat dan mencapai 6×10^6 sel/mL media, alga siap di-*running*.

3.4.2 Kultivasi

Reaktor terdiri dari 2 buah reaktor yang berisi air mikroalga dan air kran dengan perbandingan 1:4 (v/v). Reaktor tersebut diberikan suplai CO₂ sebanyak 0,25 l/menit. Gas CO₂ dialirkan ke reaktor menggunakan pompa dosis melalui *diffuser*. Kedua reaktor mendapatkan intensitas cahaya yang sama. Di pagi hari sumber cahaya adalah cahaya matahari dan lampu LED yang direkatkan pada dinding masing-masing reaktor, sedangkan di malam hari sumber cahaya hanya dari bantuan lampu LED saja. Temperatur disesuaikan dengan kondisi lingkungan sekitar. Reaktor yang digunakan memiliki desain ukuran panjang x lebar x tinggi yaitu 10 cm x 10 cm x 60 cm.

3.4.3 Identifikasi Jumlah Sel Mikroalga

Identifikasi jumlah sel mikroalga dilakukan dengan menggunakan metode perhitungan langsung dengan bantuan alat *Haemocytometer* dengan mengambil 1-2 tetes air yang berisi mikroalga menggunakan pipet tetes kemudian memipet sampel ke alat *Haemocytometer* yang sudah ditutup dengan *cover glass*. Setelah itu mikroalga dapat diamati dan dihitung, dengan bantuan *hand counter*, di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 kali lalu dibandingkan dengan literatur. Jumlah sel mikroalga dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sel (sel/mL)} = \frac{\text{Jumlah sel perkotak} \times \text{Faktor pengenceran}}{0,0004}$$

Perhitungan jumlah sel mikroalga dapat dilihat pada lampiran 2.

3.4.4 Pemanenan dan Pengeringan Mikroalga

Pemanenan dilakukan dengan metode flokulasi, yaitu dengan cara membentuk mikroalga menjadi kumpulan yang lebih besar (flok) sehingga mudah untuk diambil biomasanya. Flokulan yang diberikan adalah NaOH yang berfungsi sebagai pengatur pH. NaOH dapat digunakan untuk menurunkan pH sehingga dapat memberikan efisiensi lebih tinggi. Kristal NaOH ditimbang dan dimasukkan ke dalam sampel kemudian sampel diaduk menggunakan *jar test* dengan kecepatan 100 rpm selama 1 menit dan dilanjutkan dengan pengadukan lambat dengan kecepatan 20 rpm selama 15 menit. Setelah flok terbentuk, medium dan *cake* alga dipisahkan menggunakan kertas saring. *Cake* alga ditimbang menggunakan neraca analitik sebagai berat basah. Hasil saringan berupa *cake* tadi dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 2 jam. Mikroalga yang sudah kering digerus dari kertas saring lalu ditimbang menggunakan neraca analitik untuk mengetahui berat keringnya.

3.4.5 Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut n-heksan. Biomassa mikroalga *Chlorella vulgaris* yang sudah kering dimasukkan ke dalam erlenmeyer bersama dengan pelarut n-heksan dengan perbandingan sampel terhadap pelarut 1:8 (b/v). Kemudian larutan diaduk dengan *magnetic*

stirrer selama 5 jam. Selanjutnya erlenmeyer berisi larutan ditutup dengan aluminium foil yang sudah dilubangi dengan jarum dan dibiarkan selama 19 jam, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat.

3.4.6 Sintesis Biodiesel (Transesterifikasi)

Setelah ekstraksi lipid alga selesai, dilanjutkan pada proses sintesis. Campuran dari 1,7 mL metanol, 0,3 mL asam sulfat dan 2 mL kloroform ditambahkan pada lipid alga dan dipanaskan pada suhu 90°C selama 40 menit dengan dilakukan pengadukan selama pemanasan, kemudian sampel didinginkan sampai suhu ruang dan dicampur 1 mL akuades. Sesudah itu, fasa organik (bagian bawah) terdiri dari FAME dikumpulkan dan pelarut dievaporasi (Nilawati, 2012).

3.4.7 Uji *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME)

Data yang didapatkan selanjutnya dianalisis menggunakan Kromatografi Gas-Spektrofotometri Massa (GC-MS) untuk mengetahui kandungan senyawa minyak atau FAME yang dihasilkan dari proses transesterifikasi. Kondisi pengukuran GC-MS terlampir pada Lampiran 4.

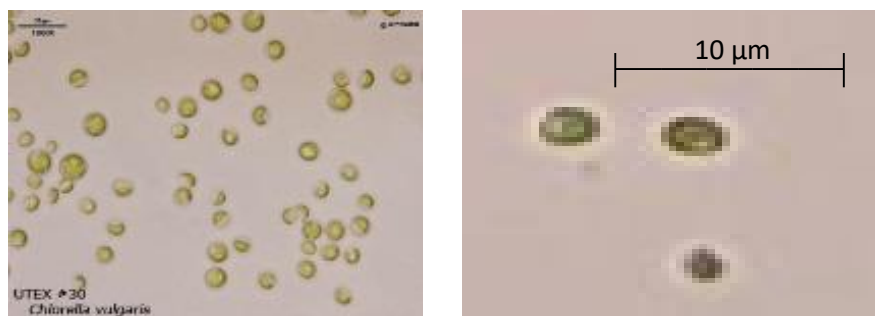
BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

4.1 Identifikasi Mikroalga

Mikroalga yang digunakan pada penelitian ini bersumber dari kolam fakultatif IPLT (Instalasi Pengelolaan Limbah Tinja) Sewon, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Kolam ini merupakan kolam dimana mikroalga telah beradaptasi terhadap limbah tinja. Hal ini dapat diidentifikasi dari warna hijau yang merupakan ciri khas fisik dari mikroalga, khususnya mikroalga hijau seperti *Chlorella vulgaris*.

Berdasarkan morfologi sel mikroalga secara mikroskopik ditemukan mikroalga dengan ukuran kurang dari 10 μm ($<10 \mu\text{m}$), berbentuk bulat, memiliki dinding sel tipis, memiliki inti berwarna hijau yang menunjukkan klasifikasi ganggang hijau, dan ditemukan di air yang kaya nutrisi. Setelah diidentifikasi menggunakan literatur, ciri morfologi sel yang ditemukan merupakan ciri umum dari mikroalga *Chlorella vulgaris*.



Sumber: utex.org/products/utex-0030

Gambar 4.1 Penampakan *Chlorella vulgaris* menurut literatur (kiri) dan pada mikroskop peneliti (kanan)

Dari Gambar 4.1 dapat dilihat bahwa morfologi *Chlorella vulgaris* yang digunakan pada penelitian ini sesuai dengan morfologi pada literatur dimana

ukuran mikroalga kurang dari 10 μm , berbentuk bulat, memiliki inti sel berwarna hijau dengan dinding sel tipis, dan cenderung hidup bergerombol.

4.2 Seeding dan Aklimatisasi

Seeding dan aklimatisasi mikroalga *Chlorella vulgaris* dilakukan dengan mengambil bibit mikroalga dan dikultur pada akuarium yang telah ditambahkan air kran. Tujuannya adalah untuk meningkatkan kuantitas kultur mikroalga dalam media. Akuarium telah dipasang lampu sebagai sumber cahaya bagi mikroalga. Kultur yang telah diencerkan ini kemudian diberikan nutrisi sebagai sumber energi bagi mikroalga dengan menambahkan pupuk NPK sebanyak 35 mg/L setiap 2 hari sekali. Natrium (N), Fosfor (P), dan Kalium (K) yang terdapat dalam pupuk NPK merupakan makronutrien bagi mikroalga.

Selain itu kultur juga diberikan tambahan oksigen dengan bantuan aerator. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya penggumpalan atau pengendapan pada kultur mikroalga, selain itu juga berfungsi memastikan bahwa semua sel mikroalga mendapat cahaya dan nutrisi yang sama dimanapun berada (Kawaroe *et al.*, 2010).

Selama proses *seeding* dan aklimatisasi dilakukan kontrol terhadap pH agar terus berada pada nilai 7 sampai 8, dan juga pada temperatur agar berada pada temperatur kamar (24°C sampai 30°C). Menurut Round (1973), pH media berkisar antara 7 sampai 8 cukup baik digunakan dalam kultur alga di laboratorium. Sedangkan menurut Amini dan Syamdidi (2006), *Chlorella vulgaris* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 26°C.

Akuarium diletakkan di laboratorium mikrobiologi Teknik Lingkungan, FTSP, UII. Proses ini seharusnya dilakukan selama 2 minggu, akan tetapi memakan waktu lebih kurang 3 bulan sampai air berwarna hijau pekat. Hal ini disebabkan oleh kurangnya intensitas cahaya terutama dari matahari karena akuarium diletakkan di dalam ruangan. Memasuki bulan ketiga akuarium kemudian diletakkan di luar ruangan sehingga proses pertumbuhan mikroalga berjalan dengan cepat. Proses ini ditunjukkan secara visual yaitu perubahan warna air mikroalga dari hijau muda (bening) menjadi hijau tua (pekat). Hal ini

menunjukkan bahwa mikroalga dapat mengonsumsi nutrisi yang diberikan secara optimal dimana mikroalga tersebut memasuki fase eksponensial dengan menghasilkan warna kultur yang lebih hijau seiring dengan meningkatnya kepadatan kultur (Pranayogi, 2003).

4.3 Kultivasi dan Analisis Sel *Chlorella vulgaris*

Kultivasi dapat dilakukan setelah visual air mikroalga berwarna hijau pekat dengan kerapatan mikroalga minimal adalah 6×10^6 sel/mL media (Handayani *et al.*, 2014). Maka analisis kerapatan mikroalga dilakukan setelah sekiranya kondisi fisik air mikroalga menjadi hijau pekat yang menunjukkan kepadatan mikroalga dalam media sedang mengalami peningkatan. Dalam uji *Haemocytometer* pada air mikroalga hijau pekat tersebut didapatkan sebanyak $8,64 \times 10^6$ sel/mL. Dikarenakan kerapatan mikroalga minimal adalah 6×10^6 sel/mL, maka air mikroalga sudah dapat dikultivasi. Tahap pertama, air mikroalga sebanyak 0,5 L dimasukkan ke dalam reaktor. Reaktor yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 4.2.

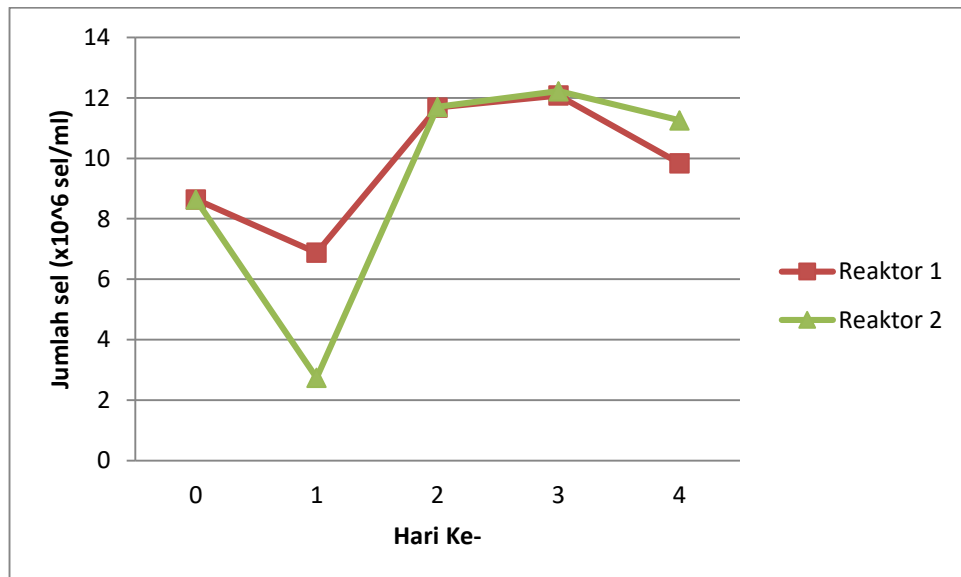


Gambar 4.2 Reaktor yang Digunakan pada Proses Kultivasi

Air mikroalga selanjutnya diencerkan dengan air kran sebanyak 2 L. Kemudian masing-masing reaktor dialirkan CO₂ sebanyak 0,25 L/menit dimana CO₂ digunakan sebagai substrat pada fotosintesis mikroalga.

Sebagai mikroorganisme fotoautotrof, intensitas cahaya memegang peranan penting dalam pertumbuhan mikroalga *Chlorella vulgaris*. Intensitas cahaya berfungsi untuk memaksimalkan konversi energi cahaya menjadi biomassa alga. Dalam penelitian Choochote *et al.* (2012), intensitas cahaya 5.000 lux menghasilkan kepadatan tertinggi ($3,88 \times 10^8$ sel/mL) dibandingkan perlakuan 4.000 lux dan 3.000 lux. Maka dari itu reaktor berisi air mikroalga diletakkan di luar ruangan untuk memaksimalkan intensitas cahaya. Intensitas cahaya pada penelitian ini adalah 6.225 lux pada siang hari dan 3.860 lux pada malam hari.

Jumlah kerapatan sel mikroalga diamati setiap hari. Jumlah kerapatan sel per hari pada masing-masing reaktor dapat dilihat dari Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Jumlah Kerapatan Sel Mikroalga Perhari

Dari gambar di atas, diketahui bahwa jumlah sel mikroalga pada reaktor 1 yang selanjutnya disebut sebagai sampel 1 pada hari pertama sampai hari keempat berturut-turut adalah $6,88 \times 10^6$; $11,68 \times 10^6$; $12,08 \times 10^6$; dan $9,84 \times 10^6$ sel/mL.

Selanjutnya pada reaktor 2 yang selanjutnya disebut sebagai sampel 2 pada hari pertama sampai keempat berturut-turut adalah $2,74 \times 10^6$; $11,7 \times 10^6$; $12,22 \times 10^6$; dan $11,26 \times 10^6$ sel/mL.

Dari data diatas, hari ke-0 adalah hari terakhir dalam proses seeding dan aklimatisasi dengan jumlah $8,64 \times 10^6$ sel/mL dimana mikroalga telah siap untuk memasuki tahap kultivasi. Selanjutnya pada kultivasi hari pertama mikroalga mengalami penurunan jumlah kerapatan sel. Hal ini menunjukkan mikroalga memasuki fase lag atau fase adaptasi dimana jumlah selnya masih sangat sedikit. Kemudian pertumbuhan pesat terjadi pada hari kedua sehingga fase ini disebut fase eksponensial. Hari ketiga memasuki fase stasioner dimana pertumbuhan terjadi dalam jumlah yang sedikit. Lalu hari keempat mikroalga mengalami penurunan jumlah sel dimana mikroalga sudah memasuki fase kematian.

Jumlah sel pada hari pertama pada sampel 2 mengalami penurunan yang sangat signifikan. Hal ini disebabkan oleh tidak homogenya larutan yang diambil sebagai sampel uji *Haemocytometer*. Reaktor yang digunakan untuk kultivasi mikroalga adalah reaktor tanpa pengadukan konstan dan saat pengambilan sampel uji pun tidak dilakukan pengadukan terlebih dahulu. Hal ini dapat menyebabkan jumlah sel mikroalga pada satu buah reaktor memberikan nilai yang berbeda-beda dimana pengujian pun dilakukan tidak secara duplo. Selain itu, waktu pengambilan sampel uji juga berpengaruh terhadap jumlah sel yang didapatkan. Saat malam hari intensitas cahaya berkurang, hal ini menyebabkan pertumbuhan di malam hari pun ikut menurun. Sampel uji yang diambil tidak dilakukan pada waktu yang sama, sehingga sampel uji yang diambil di awal pagi hari akan memberikan nilai yang lebih rendah pula dari pada sampel uji yang diambil pada siang hari dimana proses fotosintesis terjadi.

4.4 Pemanenan dan Pengeringan

Pemanenan mikroalga seharusnya dilakukan pada fase stasioner. Pada penelitian ini pemanenan dilakukan pada hari keempat kultivasi atau pada fase kematian. Hal ini dikarenakan peneliti memperkirakan pada hari keempat mikroalga masih berada pada fase stasioner, ternyata setelah dilakukan pengujian,

hari keempat telah memasuki fase kematian awal mikroalga. Akan tetapi hal ini tidak akan berdampak besar terhadap hasil pemanenan mikroalga karena penurunan pertumbuhan mikroalga terjadi dalam jumlah sedikit.

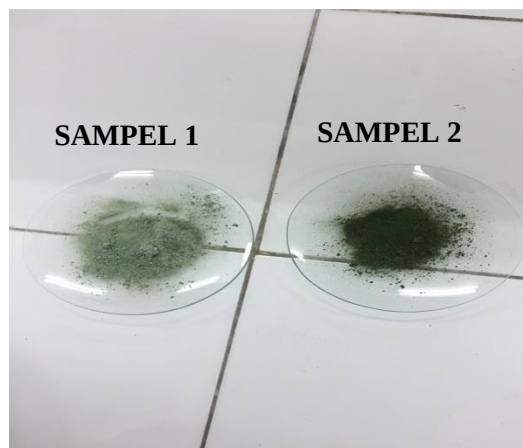
Pemanenan dilakukan dengan teknik flokulasi. Sistem flokulasi yang digunakan adalah pengaturan pH sehingga biomassa akan mengalami autoflokulasi. 2,5 L sampel 1 dimasukkan ke 3 buah gelas beker 1000 mL dan masing-masing diberikan kristal NaOH sebanyak 9 g/L. Kemudian sampel diaduk menggunakan *jar test*. Ternyata setelah dilakukan pengadukan, tidak terbentuk flok pada larutan. Lalu larutan sampel 1 ini didiamkan semalaman pada lemari pendingin karena keterbatasan waktu dalam penggunaan laboratorium. Pada hari selanjutnya diberikan tawas sebanyak 2 g/L lalu dilakukan pengadukan ulang dengan kecepatan dan waktu yang sama. Pembentukan flok sudah terlihat setelah penambahan tawas. Selanjutnya larutan didiamkan selama 1 jam agar flok mengendap. pH larutan sampel 1 adalah 9. Perlakuan yang sama dilakukan pada sampel 2, akan tetapi kristal NaOH diberikan sebanyak 0,2 g/L saja tanpa didiamkan semalaman dalam lemari pendingin. Hasil tetap menunjukkan tidak terjadinya pembentukan flok sehingga juga perlu penambahan tawas pada larutan. pH larutan sampel 2 adalah 6.

Menurut McCausland (1999), flokulasi yang optimal terjadi pada rentang pH 11,8 sampai 12. Pengaruh perubahan pH terhadap flokulasi juga telah dilakukan sebelumnya oleh Oh (2001), dimana efektivitas flokulasi tertinggi dihasilkan pada pH 11. Akan tetapi peneliti mengkhawatirkan terjadinya lisis, karena sampel 1 dengan pH 9 telah menunjukkan terjadinya lisis di dalam larutan sehingga peneliti memberikan NaOH dalam jumlah yang lebih sedikit pada sampel 2 dengan pH 6. Hal ini mengindikasikan bahwa proses pembentukan yang dilakukan dalam penelitian ini sebenarnya telah terjadi, hanya saja dengan jumlah *yield* flokulasi yang kecil.

Larutan sampel 1 dan sampel 2 memberikan warna yang berbeda. Sampel 1 berwarna hijau muda keruh sedangkan sampel 2 berwarna hijau tua pekat seperti warna mikroalga hijau kering pada umumnya. Warna hijau muda keruh pada sampel 1 diakibatkan oleh terjadinya lisis atau rusaknya dinding sel dan keluarnya

isi dari sel. Keluarnya isi dari sel menyebabkan sel mati dan sebagian flok yang terbentuk kembali bercerai atau tidak mengendap karena menjadi lebih ringan. Hal inilah yang dimungkinkan menyebabkan perubahan warna pada larutan juga hasil mikroalga setelah dikeringkan nantinya.

Setelah tahap flokulasi dilakukan, selanjutnya masing-masing larutan disaring menggunakan kertas saring. Hasil saringan berupa *cake*. Berat basah *cake* sampel 1 adalah 3,274 gram dan sampel 2 adalah 3,592 gram. *Cake* mikroalga *Chlorella vulgaris* ini kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 2 jam. Mikroalga kering dikeruk dari kertas saring dan dikumpulkan. Selanjutnya ditimbang menggunakan neraca analitik. Didapatkan hasil mikroalga kering sampel 1 sebanyak 1,009 gram dan sampel 2 sebanyak 1,174 gram.



Gambar 4.4 Mikroalga kering

4.5 Ekstraksi Lipid

Ekstraksi lipid mikroalga menggunakan metode maserasi dengan pelarut n-heksan. Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan cara perendaman sampel yang menggunakan pelarut organik dan dilakukan pada suhu ruang. Perendaman sampel akan menyebabkan pemecahan dinding sel dan membran sel akibat dari perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga lipid yang terdapat di dalam sitoplasma akan larut dalam pelarut organiknya. Metode maserasi dipilih karena alat dan cara yang digunakan terbilang sederhana juga dapat digunakan dengan pelarut yang tidak tahan terhadap pemanasan.

Proses maserasi pada penelitian ini menggunakan pelarut n-heksan. n-Heksan merupakan salah satu pelarut organik yang lebih ramah lingkungan daripada pelarut lainnya seperti kloroform dan metanol serta dapat digunakan dalam skala besar. n-Heksan memiliki titik didih yang rendah sehingga mudah diuapkan. Lipid adalah senyawa organik yang tidak dapat larut di dalam air tetapi larut dalam pelarut non-polar. Dalam hal ini n-heksan bersifat non-polar (Wati dan Motto, 2011) sehingga n-heksan menjadi pelarut organik yang sangat sesuai dalam proses ekstraksi ini.

Sampel mikroalga yang diberikan pelarut n-heksan kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 5 jam untuk mempersingkat proses maserasi. Setelah pengadukan 3 jam terbentuk *cake* alga. Hal ini menyebabkan sulitnya melakukan pengadukan dengan volume yang kecil. Maka peneliti menambahkan akuades sebanyak 50 mL dan pengadukan dilanjutkan. Setelah dilakukan pengadukan, erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium *foil* yang telah diberikan sedikit lubang untuk mengurangi tekanan yang terjadi di dalam erlenmeyer akibat penguapan pelarut, lalu didiamkan selama 19 jam.



Gambar 4.5 Larutan Setelah Dimaserasi 19 Jam

Dari hasil maserasi yang dilakukan terlihat adanya 3 lapisan. Lapisan paling bawah adalah *cake* alga, lapisan kedua adalah larutan bening, dan lapisan ketiga adalah lapisan lipid seperti minyak bening yang sangat tipis. Selanjutnya larutan tersebut disaring menggunakan kertas Whatman No. 42. Hasil penyaringan berupa larutan bening seperti pada Gambar 4.6.



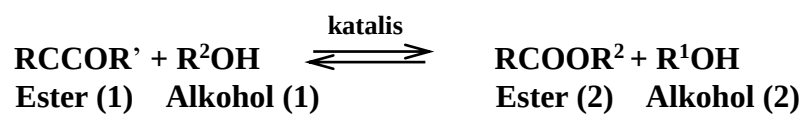
Gambar 4.6 Larutan Hasil Penyaringan Proses Maserasi

Larutan hasil penyaringan tadi dimasukkan kedalam corong pisah untuk memisahkan pelarut dan ekstrak lipid mikroalga. Secara visual, sulit sekali untuk mengidentifikasi hasil ekstraksi yang terbentuk, maka peneliti menambahkan 1 mL n-heksan. n-Heksan terlihat membentuk lapisan baru di bagian atas larutan. Bagian atas larutan yang dimungkinkan mengandung lipid mikroalga ini diambil dan disimpan dalam botol sampel. Larutan n-heksan kemudian mengalami penguapan dengan sendirinya setelah didiamkan dalam botol sampel. Hasilnya masing-masing sampel menghasilkan hanya ± 3 tetes larutan saja.

Tahap selanjutnya adalah menguapkan larutan akhir agar diperoleh ekstrak pekat menggunakan *rotary evaporator*. Akan tetapi, hasil larutan akhir pada penelitian ini sangat sedikit sehingga dikhawatirkan ekstrak pekat akan melekat pada dinding botol atau hilang. Maka larutan n-heksan pada larutan akhir dianggap telah menguap dengan sendirinya dengan cara membuka sedikit wadah larutan. Larutan ini merupakan ekstrak pekat yang digunakan untuk proses selanjutnya.

4.6 Sintesis Biodiesel (Transesterifikasi)

Hasil transesterifikasi mikroalga yang berupa trigliserida harus dikonversikan melalui proses transesterifikasi untuk menjadi biodiesel. Reaksi transesterifikasi merupakan reaksi kesetimbangan. Transesterifikasi trigliserida dan alkohol, dalam hal ini metanol, akan menghasilkan FAME dan produk sampingan berupa gliserol (Demirbas dan Fatih, 2010). Reaksi yang terjadi dalam proses transesterifikasi adalah sebagai berikut:



Penelitian dilakukan dengan mencampur pelarut organik metanol, kloroform, asam sulfat, dan ekstrak pekat lipid alga ke dalam erlenmeyer. Asam sulfat dalam hal ini digunakan sebagai katalis asam untuk mempercepat reaksi. Kemudian dengan menggunakan *magnetic stirrer* larutan diaduk dengan kecepatan rendah pada suhu 90°C selama 40 menit. Pengadukan sangat diperlukan untuk membentuk campuran homogen dari dua cairan yang tidak saling melarutkan seperti minyak dan alkohol (Mahreni, 2010). Selanjutnya larutan didinginkan sampai pada suhu ruang. Hasil transesterifikasi dimurnikan dengan cara dicuci menggunakan akuades sebanyak 1 mL.

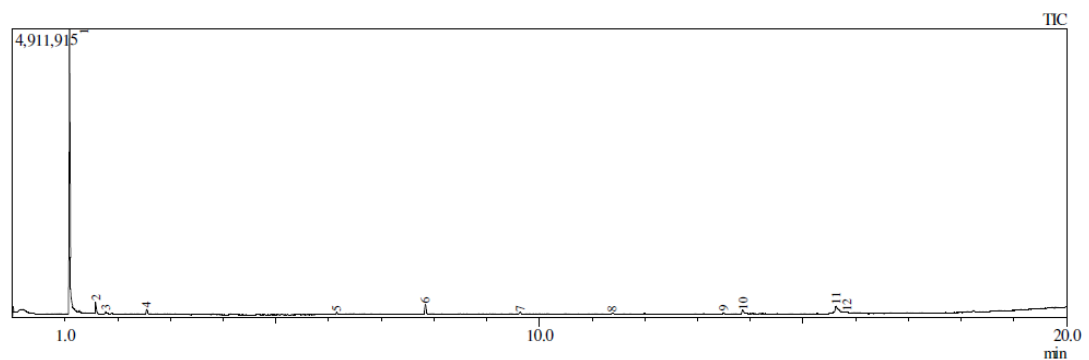
Pada metode transesterifikasi yang digunakan seharusnya terbentuk 2 lapisan dimana lapisan bawah merupakan fase organik berupa FAME atau biodiesel dan lapisan atas merupakan pelarut yang selanjutnya akan dievaporasi. Tetapi setelah dilakukan tahapan transesterifikasi, secara visual tidak terlihat adanya 2 lapisan pada larutan. Hal ini menimbulkan kemungkinan bahwa tidak terdapat biodiesel pada larutan atau terdapat biodiesel dengan konsentrasi yang sangat kecil.



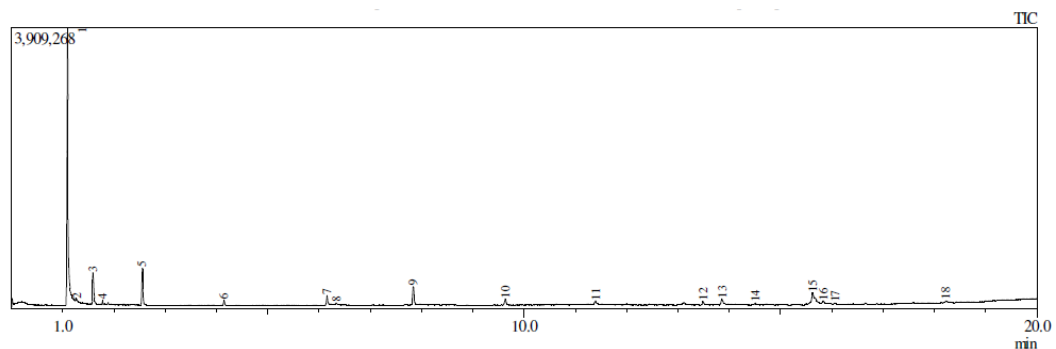
Gambar 4.7 Larutan hasil transesterifikasi

4.7 Uji *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME)

Larutan hasil transesterifikasi tidak dapat diidentifikasi secara visual. Maka diperlukan pengujian menggunakan alat Kromatografi Gas-Spektrofotometri Massa (GC-MS) untuk mengetahui apakah terdapat senyawa kimia *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) di dalamnya. Hasil analisa kromatogram larutan transesterifikasi biodiesel *Chlorella vulgaris* menggunakan GC-MS dapat dilihat pada Gambar 4.8 dan 4.9. Hasil analisa kromatogram lebih jelasnya dijabarkan pada Lampiran 3.



Gambar 4.8 Kromatogram Larutan Transesterifikasi Biodiesel *Chlorella vulgaris* (Sampel 1)



Gambar 4.9 Kromatogram Larutan Transesterifikasi Biodiesel *Chlorella vulgaris* (Sampel 2)

Analisa kromatogram yang diperoleh pada Gambar 4.8 dan Gambar 4.9 berturut-turut menunjukkan adanya 12 dan 18 senyawa yang terkandung dalam larutan hasil transesterifikasi biodiesel dari mikroalga *Chlorella vulgaris* seperti yang telah tersaji pada Tabel 4.1 dan Tabel 4.2 berikut.

Tabel 4.1 Komponen Kimia Larutan Hasil Transesterifikasi (Sampel 1)

No	Waktu Retensi	Area (%)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Referensi
1	13.496	0,52	<i>Hexadecanoic acid, methyl ester</i>	$C_{17}H_{34}O_2$	Patil <i>et al.</i> (2013); Hu <i>et al.</i> (2014)
2	13,854	2,08	<i>Hexadecanoic acid</i>	$C_{16}H_{32}O_2$	Zhao (2012)
3	15,628	8,61	<i>9-Octadecenoic acid</i>	$C_{18}H_{34}O_2$	Hu <i>et al.</i> (2014)

Tabel 4.2 Komponen Kimia Larutan Hasil Transesterifikasi (Sampel 2)

No	Waktu Retensi	Area (%)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Referensi
1	13,492	0,73	<i>Hexadecanoic acid, methyl ester</i>	$C_{17}H_{34}O_2$	Patil <i>et al.</i> (2013); Hu <i>et al.</i> (2014)
2	13,885	1,96	<i>Hexadecanoic acid</i>	$C_{16}H_{32}O_2$	Zhao (2012)
3	15,627	6,90	<i>9-Hexadecenoic acid</i>	$C_{16}H_{30}O_2$	Zhao (2012)
4	15,833	0,58	<i>Octadecanoic acid</i>	$C_{18}H_{36}O_2$	Hu <i>et al.</i> (2014)

Pada Tabel 4.1 dan Tabel 4.2 menunjukkan adanya kandungan biodiesel yang dihasilkan dari *Chlorella vulgaris* pada sampel 1, yaitu *Hexadecanoic acid*,

methyl ester dengan luas area kromatogram sebesar 0,52% pada waktu retensi 13,496 menit. Sedangkan pada sampel 2 ditemukan *Hexadecanoic acid, methyl ester* dengan luas area kromatogram sebesar 0,73% pada waktu retensi 13,492 menit. *Hexadecanoic acid, methyl ester* merupakan *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME). Selain itu juga ditemukan *Hexadecanoic acid* dan *9-Octadecanoic acid* pada sampel 1 serta *Hexadecanoic acid*, *9-Hexadecanoic acid*, dan *Octadecanoic acid* pada sampel 2 yang kesemuanya merupakan asam lemak yang berasal dari lipid mikroalga yang berpotensi menjadi bahan baku biodiesel. Sedangkan komponen lainnya merupakan senyawa pengotor.

Apabila hasil penelitian ini dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya, dalam penelitian Patil *et al.* (2011), salah satu komponen kimia biodiesel dari biomassa alganya adalah *7-Hexadecanoic acid methyl ester* sebanyak 1,74% dengan waktu retensi 13,587 menit. Sedangkan dalam penelitian Hu *et al.* (2014), hasil pengujian biodiesel dari *Chlorella vulgaris* mendapatkan 9 macam komponen kimia yang salah satunya adalah *Hexadecanoic acid, methyl ester* sebanyak 0,47% dengan waktu retensi 13,432 menit. Dalam penelitian Dyah P (2011) juga ditemukan *Hexadecanoic acid, methyl ester* sebanyak 30,24%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berikut ini adalah kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan, yaitu:

1. Nilai pH pada proses pemanenan mikroalga dengan metode flokulasi menggunakan NaOH akan berpengaruh pada proses pembentukan flok apabila berada pada nilai optimum. Nilai pH yang terlalu besar dapat menyebabkan lisis sedangkan nilai pH yang terlalu kecil tidak dapat menyebabkan pembentukan flok.
2. Hasil uji GC-MS menunjukkan bahwa baik dalam pH asam ataupun basa, mikroalga *Chlorella vulgaris* tetap menghasilkan *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) ditunjukkan dengan adanya kandungan senyawa *Hexadecanoic acid, methyl ester*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. *Seeding* dan aklimatisasi serta kultivasi harus dilakukan di luar ruangan untuk mempercepat pertumbuhan mikroalga.
2. Reaktor yang digunakan pada proses kultivasi harus menggunakan pengaduk konstan agar larutan tetap homogen.
3. Untuk mengetahui potensi besaran biodiesel dari suatu spesies mikroalga sebaiknya digunakan mikroalga kering dalam jumlah yang lebih besar sehingga dapat mempersingkat waktu penelitian dan tidak menghambat proses ekstraksi maupun sintesis biodiesel.
4. Beberapa dugaan yang diterangkan dalam penelitian ini seperti terjadinya lisis sebaiknya dikaji dan diteliti lebih lanjut.
5. Kadar oksigen terlarut (DO) sebaiknya diukur untuk mengidentifikasi kelimpahan mikroalga. DO juga berkaitan dengan suhu yang menjadi faktor penting pertumbuhan mikroalga.

DAFTAR PUSTAKA

- Amini, Sri dan Syamdidi. 2006. **Konsentrasi Unsur Hara pada Media dan Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* dengan Pupuk Anorganik Teknis dan Analis.** *Jurnal Perikanan*. VII(2). 201-206
- Barnwal B. K., Sharma R.. 2005. **Prospects of Biodiesel Production from Vegetables Oils in India.** *Renew Sustain Energy Rev.* 9. 363-78
- Biondi, N. dan M. Tredici. 2011. **Algae and Aquatic Biomass for a Sustainable Production of 2nd Generation Biofuels.** UNIFI. 148-150
- Chisti, Y.. 2007. **Biodiesel from Microalgae.** *Biotechnology Advances*. Elsevier. 25. 297-306
- Choocote, W., K. Paiboonsin, S. Ruangpan dan A. Pharuang. 2012. **Effects of Urea and Light Intensity on the Growth of *Chlorella sp.*** The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. Bangkok. 130-131

- Clegg, C. J. & DG. Mackean. 2000. **Advanced Biology Principle and Applications**. London: John Murray (Publisher) Ltd
- Demirbas, A. 2009. **Progress and Recent Trends in Biodiesel Fuels**. *Energy Conversion and Management*. **50(1)**. 14-34
- Demirbas, A. dan M. Fatih Demirbas. 2010. **Importance of Algae Oil As Source of Biodiesel**. *Energy Conversion and Management*. **52**. 163-170
- Dyah P, Shintawati. 2011. **Produksi Biodiesel dari Mikroalga *Chlorella sp* dengan Metode Esterifikasi In Situ**. Tesis. Semarang: Univeristas Diponegoro
- Felizardo, P., Correia M. J. N., Raposo I., Mendes J. F., Berkemeier R., Bordado J. M.. 2006. **Production of Biodiesel from Waste Frying Oil**. *Waste Management*. **26(5)**. 487-94
- Fogg, G. E. & B. Thake. 1987. **Algal Cultures and Phytoplankton Ecology**. Wincosin: 3rd The University of Wincosin Press
- Fukuda H, K. A., Noda A.. 2001. **Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils**. *J Biosci Bioeng*. **92**. 16-405
- Handayani, T., Mulyanto, A. dan Sopiah, N.. 2014. **Penyerapan Emisi CO₂ oleh Mikroalga *Euglena sp* dengan Bioreaktor Kolam Kultur**. *Jurnal Ecolab*. **8**. 1-52
- Hu, Qiao, Rong Zeng, Seng-Xiang Zhang, Zhong-Hua Yang, dan Hao Huang. 2014. **Production of Microalgal Lipids as Biodiesel Feedstock with Fixation of CO₂ by *Chlorella vulgaris***. *Food Technol. Biotechnol*. **52(3)**. 285-291
- Kawaroe, M., Tri Prartono, Adriani Sunuddin, Dahlia Wulan Sari, dan Dina Augustine. 2010. **Mikroalga: Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar**. Bogor: IPB Press
- Kemp, William H.. 2009. **The Renewable Energy Handbook: The Updated Comprehensive Guide to Renewable Energy and Independent Living**. Canada: Aztext Press
- Kulkarni, M.G., Dalai A. K.. 2006. **Waste Cooking Oil – an Economic Source for Biodiesel: A review**. *Ind Eng Chem Res*. **45**: 2901-13
- Lam, M. K. dan K. T. Lee. 2011. **Mixed Methanol-Ethanol Technology to Produce Greener Biodiesel from Waste Cooking Oil: A**

Breaktrough for $\text{SO}_4^{2-}/\text{SnO}_2$ - SiO_2 Catalyst. *Fuel Process. Technol.* **92.** 1639-1645

- Lam, M. K., Mohamad I. Y., Yoshimitsu U., Jun W. L., Choon G. K., Keat T. L., Hwai C. O.. 2016. **Cultivation of *Chlorella vulgaris* Using Nutrients Source from Domestic Wastewater for Biodiesel Production: Growth Condition and Kinetic Studies.** *Renewable Energy.* Elsevier. **103.** 197-207
- Lee, 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
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., dan Parker, J.. 2000. **Brock Biology of Microorganism. 9th Edition.** New Jersey: Prentice-Hall Inc
- Magota, 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
- McCausland, M. A., Brown, M. R., Barret, S. M., Diemaar, J. A. and Heasmn, M. P.. 1999. **Evaluation of Live Microalgae and Microalgae Pastes as Supplementary Food for Junivile Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*).** *Aquacul.* **174.** 323-342
- Mahreni. 2010. **Peluang dan Tantangan Komersialisasi Biodiesel-Review.** *Eksergi.* **Volume X.** 2: 15-25
- Melanie, S., D. Fithriani. 2015. **Rendemen Minyak dari Mikroalga *Spirulina* sp. dan *Chlorella* sp. dengan Teknik Pemecahan Dinding Sel.** *Widyariset.* **Vol. 1.** No. 1: 61-70
- Munawaroh, S. dan A. Handayani. 2010. **Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan pelarut Etanol dan N-Heksana.** *Jurnal Kompetensi Teknik.* **1(2).** 73-78
- Nilawati, Destya. 2012. **Studi Awal Sintesis Biodiesel dari Lipid Mikroalga *Chlorella vulgaris* Berbasis Medium Walne melalui Reaksi Esterifikasi dan Transesterifikasi.** Skripsi. Universitas Indonesia
- Oh, Hee-Mock. 2001. **Harvesting of *Chlorella vulgaris* Using A Bioflocculant from *Paenibacillus* sp.** AM49. Kluwer Academic Publishers: Netherland

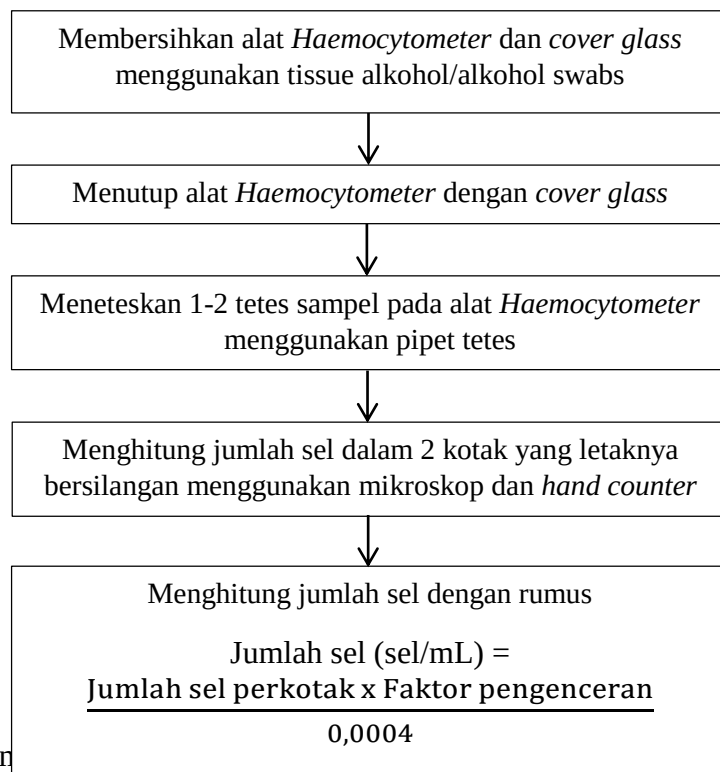
- Ondrey, G.. 2008. **Commercial Production and Debut of A New Solid-acid Catalyst for Making Biodiesel.** *Chemical Engineering.* **115(2).** 12
- Patil, P. D., Gude, V. G., Mannarswamy, A., Deng, S., Cooke, P., Manson-McGee, S., Rhodes, I., Lammers, P. dan Nirmalakhandan, N.. 2011. **Optimization of Direct Conversion of Wet Algae to Biodiesel Under Supercritical Methanol Conditions.** *Biosource Technology.* **102.** 182-122
- Pelczar, M. J. & E. C. S. Chan. 1986. Penterjemah, Ratna Siri Hadieoetomo dkk. **Dasar-Dasar Mikrobiologi I.** Jakarta: UI-Press
- Pranayogi, D.. 2003. **Studi Potensi Pigmen Klorofil dan Karetenoid dari Mikroalga Jenis *Chlophyceae*.** Universitas Lampung. 59
- Pratama, Irfan. 2011. **Pengaruh Metode Pemanenan Mikroalga Terhadap Biomassa dan Kandungan Esensial *Chlorella vulgaris*.** Skripsi. Universitas Indonesia
- Round, F. E.. 1973. **The Biology of Algae.** London: Edward Arnold. 278
- Safi, C., Ursu, A. V., Laroche, C., Zebib, B., Merah, O., Pontailer, P.Y. dan Vaca-Garcia, C.. 2014. **Aqueous Extraction of Proteins from Microalgae: Effect of Different Cell Disruption Methods.** *Algal Research.* **3(1).** 61-65
- Sofyan, Putra. 2012. **Panduan Membuat Sendiri Bensin & Solar.** Yogyakarta: Pustaka Baru Press
- Sulistyo, Joko. 2010. **Eksplorasi Sumber Daya Mikroba Penghasil Lemak Sel Tunggal untuk Pengembangan Bioenergi Alternatif Berbasis Biodiesel dan Biometan.** Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)
- Suriawiria, U.. 2005. **Chlorella untuk Kesehatan dan Kebugaran.** Jakarta: Papas Sinar Sinanti
- Wang, B., Li, Y., Wu, N. dan Christopher Q. L.. 2008. **CO₂ Bio-Mitigation Using Microalgae.** *Appl Microbiol Biotechnol.* **79.** 707-718
- Wati, A., dan S. A. Motto. 2011. **Ekstraksi Minyak dari Mikroalga Jenis *Chlorella* sp Berbantuan Ultrasonik.** Teknik Kimia Universitas Diponegoro Semarang

Widyastuti, C. R. dan Dewi, A. C.. 2015. **Sintesis Biodiesel dari Minyak Mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan Reaksi Transesterifikasi Menggunakan Katalis KOH**. Teknik Kimia D3 Universitas Semarang

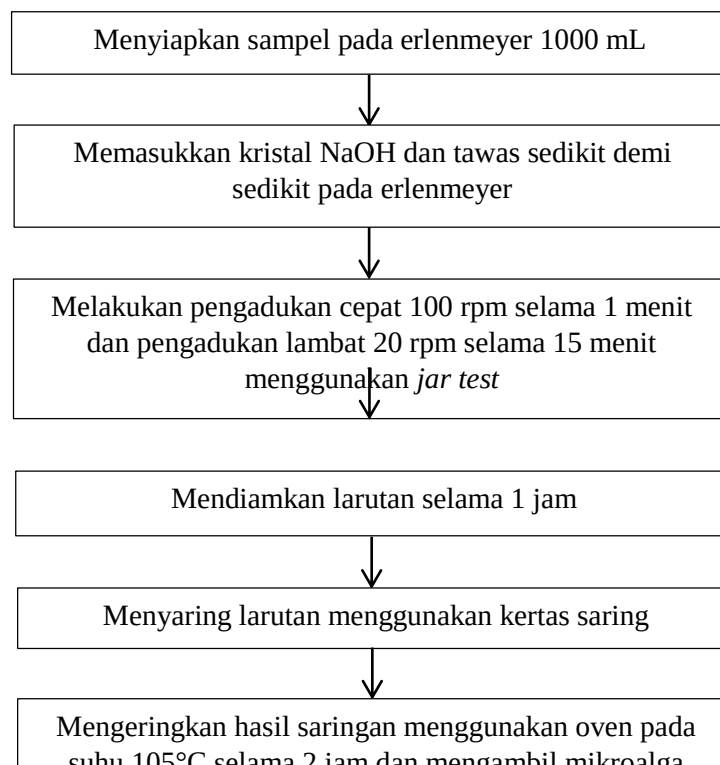
Zhao, Suli. 2012. **Analysis of Fatty Acid Methyl Esters by Agilent 5975T LTM GCMS**. Agilent Technologies (Shanghai) Co., Ltd. Shangha

LAMPIRAN 1 (Tata Cara Pengujian)

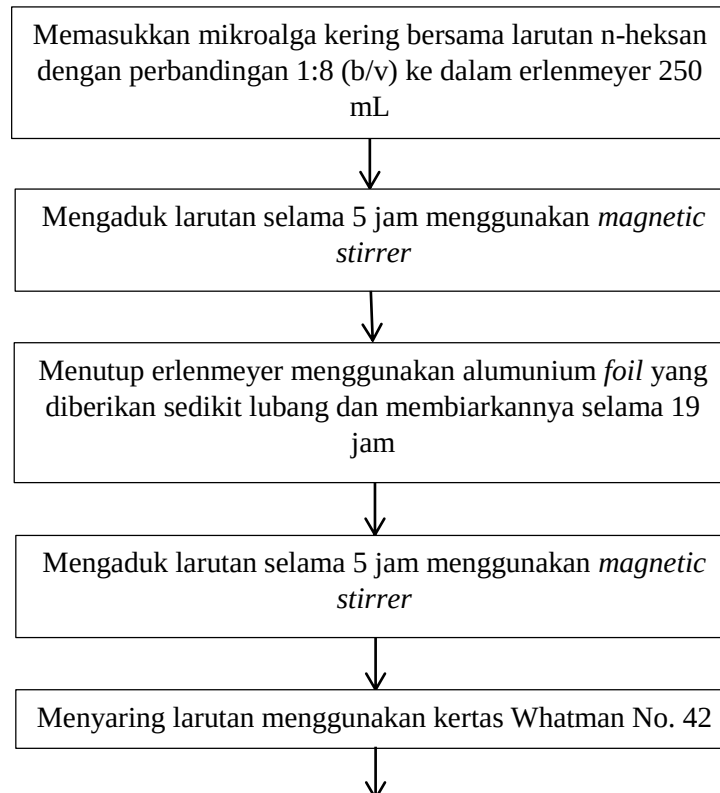
1. Cara Kerja Identifikasi Jumlah Sel Mikroalga dengan *Haemocytometer*



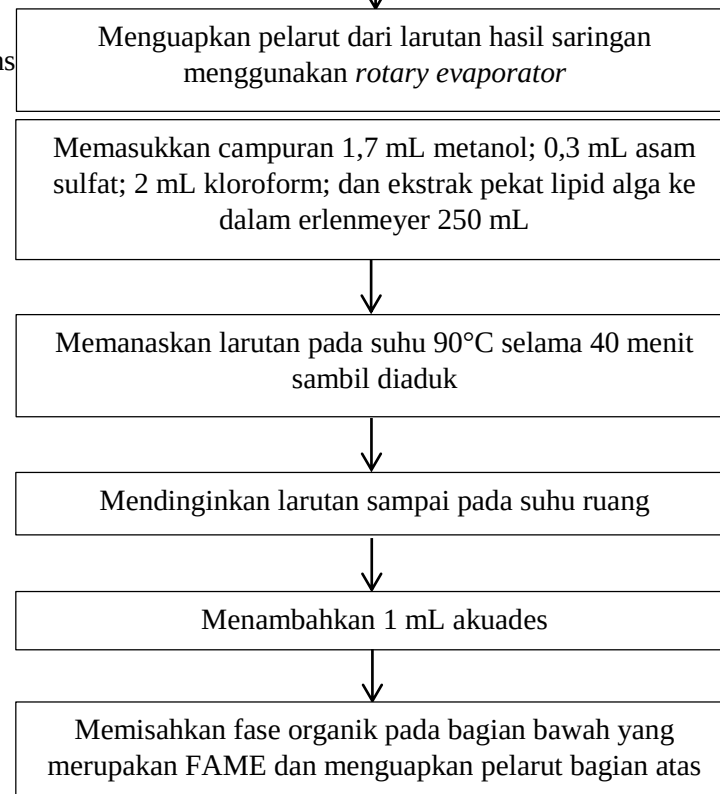
2. Cara Kerja Pen



3. Cara Kerja Ekstraksi



4. Cara Kerja Trans



LAMPIRAN 2 (Data Pengamatan, Pengujian, dan Contoh Perhitungan)

1. Data Pengamatan, Pengujian, dan Contoh Perhitungan Identifikasi Jumlah Sel Mikroalga dengan Alat *Haemocytometer*

Hari ke-	Kerapatan Sel ($\times 10^6$ sel/mL)	
	Reaktor 1	Reaktor 2
0	8,64	8,64
1	6,88	2,74
2	11,68	11,7
3	12,08	12,22
4	9,84	11,26

Perhitungan:

Diketahui : Faktor pengenceran hari ke-0 = 2

Faktor pengenceran hari ke-1 sampai hari ke-4 = 4

a. Sampel 1

$$\frac{\text{Hari ke-0: Jumlah sel (sel/ml)}}{\text{Jumlah sel perkotak} \times \text{Faktor pengenceran}} = \frac{0,0004}{0,0004}$$

$$= \frac{(1159+569) \times 2}{0,0004}$$

$$= 8,64 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-1: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(392+296) \times 4}{0,0004}$$

$$= 6,88 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-2: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(558+610) \times 4}{0,0004}$$

$$= 11,68 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-3: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(559+649) \times 4}{0,0004}$$

$$= 12,08 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

$$\text{Hari ke-4: Jumlah sel (sel/ml)} = \frac{(539+445) \times 4}{0,0004}$$

$$= 9,84 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

b. Sampel 2

Hari	ke-0:	Jumlah	sel	(sel/ml)	=
$\frac{\text{Jumlah sel perkotak} \times \text{Faktor pengenceran}}{0,0004}$					
					$= \frac{(1159+569) \times 2}{0,0004}$
					$= 8,64 \times 10^6 \text{ sel/ml}$
Hari ke-1:	Jumlah sel (sel/ml)				$= \frac{(156+138) \times 4}{0,0004}$
					$= 2,74 \times 10^6 \text{ sel/ml}$
Hari ke-2:	Jumlah sel (sel/ml)				$= \frac{(614+556) \times 4}{0,0004}$
					$= 11,7 \times 10^6 \text{ sel/ml}$
Hari ke-3:	Jumlah sel (sel/ml)				$= \frac{(610+612) \times 4}{0,0004}$
					$= 12,22 \times 10^6 \text{ sel/ml}$
Hari ke-4:	Jumlah sel (sel/ml)				$= \frac{(543+583) \times 4}{0,0004}$
					$= 11,26 \times 10^6 \text{ sel/ml}$