



## Ekstraksi Komponen Lipid dari Mikroalga *Nannochloropsis oculata* dan *Nitzschia* sp. dengan Metode Sokletasi dan Bligh Dyer

### [Extraction of Lipid Components from *Nannochloropsis oculata* and *Nitzschia* sp. Microalgae with Soxhletation and Bligh Dyer Methods]

Jamius Bin Stepanus✉

Fakultas Teknik, Universitas Papua, Manokwari, Papua Barat 98314, Indonesia.

**Abstract.** Dependence on fossil energy sources as non-renewable energy will trigger the threat of an energy crisis in Indonesia in the future. The solution to this issue is through the development of renewable energy and one of them is through the exploration and utilization of biomass such as microalgae. Microalgae have a high lipid content (4-77%) and have potential as raw materials for producing biofuel (biodiesel, bioethanol, and biogas). Lipids can be converted into biodiesel through acid or base-catalyzed esterification and transesterification reactions. The aim of this research was to determine the percentage of lipid components, namely free fatty acids (FFA), monoglycerides (MAG), diglycerides (DAG), and triglycerides (TAG) from microalgae extracts of *Nannochloropsis oculata* and *Nitzschia* sp. using Soxhletation and Bligh Dyer extraction methods. This research also aims to determine the comparison of lipid yields from the two extraction methods. Lipid yield percentage was determined through gas chromatography analysis. The research results showed that the percentages of FFA, MAG, DAG, and TAG for *N. oculata* ranged from 3.34 - 33.79% (soxhletation) and 0 - 17.54% (bligh dyer). Meanwhile, for *Nitzschia* sp., the percentage ranged from 7.16 - 26.28% (soxhletation) and 0.45 - 13.73% (bligh dyer). Lipid yield for *N. oculata* was 1.81% (soxhletation) and 2.21% (bligh dyer), while for *Nitzschia* sp., 0.96% (soxhletation) and 2.10% (bligh dyer). Based on the results of both extraction methods, it was found that the total lipid percentage of the microalgae *N. oculata* was higher than *Nitzschia* sp.

**Keywords:** Bligh dyer, gas chromatography, lipid, *Nannochloropsis oculata*, *Nitzschia* sp.

**Abstrak.** Ketergantungan pada sumber energi fosil sebagai energi yang tidak dapat diperbaharui akan memicu munculnya ancaman krisis energi di Indonesia pada masa mendatang. Solusi terhadap isu ini adalah melalui pengembangan energi baru dan terbarukan (EBT) dan salah satunya melalui eksplorasi dan pemanfaatan biomassa seperti mikrolaga. Mikroalga berpotensi sebagai bahan baku dalam memproduksi *biofuel* (biodiesel, bioetanol dan biogas) karena memiliki kandungan lipid yang tinggi (4-77 %). Lipid dapat dikonversi menjadi biodiesel melalui reaksi esterifikasi dan transesterifikasi berkataliskan asam atau basa. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk menentukan presentase komponen lipid yaitu asam lemak bebas (*free fatty acid*, FFA), monogliserida (*monoacylglycerol*, MAG), digliserida (*diacylglycerol*, DAG) dan trigliserida (*triacylglycerol*, TAG) dari ekstrak mikroalga *Nannochloropsis oculata* dan *Nitzschia* sp. menggunakan metode ekstraksi Sokletasi dan Bligh Dyer. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui perbandingan *yield* lipid dari kedua metode ekstraksi. Presentase *yield* lipid ditentukan melalui analisis kromatografi gas. Hasil penelitian diperoleh presentase FFA, MAG, DAG dan TAG bagi *N. oculata* berkisar 3,34 - 33,79% (Sokletasi) dan 0 - 17,54%, (*Bligh Dyer*). Sementara bagi *Nitzschia* sp., presentase berkisar 7,16 - 26,28% (Sokletasi) dan 0,45 - 13,73%, (*Bligh Dyer*). *Yield* lipid bagi *N. oculata* sebesar 1,81% (Sokletasi) dan 2,21% (*Bligh Dyer*), sedangkan untuk *Nitzschia* sp. sebesar 0,96% (Sokletasi) dan 2,10% (*Bligh Dyer*). Berdasarkan hasil dari kedua metode ekstraksi, diperoleh bahwa presentase total lipid dari mikroalga *N. oculata* lebih tinggi dari *Nitzschia* sp.

**Kata kunci:** Bligh Dyer, kromatografi gas, lipid, *Nannochloropsis oculata*, *Nitzschia* sp.

Diterima: 3 Oktober 2023, Disetujui: 25 Desember 2023

Sitasi: Stepanus, J.B. (2023). Ekstraksi Komponen Lipid dari Mikroalga *Nannochloropsis oculata* dan *Nitzschia* sp. dengan Metode Sokletasi dan Bligh Dyer. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 9(3), 212-223.

✉ Corresponding author

E-mail: [j.stepanus@unipa.ac.id](mailto:j.stepanus@unipa.ac.id)

<https://doi.org/10.22487/kovalen.2023.v9.i3.16596>



## LATAR BELAKANG

Penyediaan energi di Indonesia saat ini masih didominasi oleh energi fosil (BPPT, 2020). Berdasarkan data dari SKK Migas, cadangan minyak yang telah diproduksi sebesar 92,1% dari total cadangan sehingga diperkirakan cadangan terbukti minyak akan habis dalam waktu 9 tahun lagi. Sementara cadangan terbukti gas bumi tersisa sampai 42 tahun ke depan (BPPT, 2018). Data ini sebagai indikasi bahwa Indonesia terancam mengalami krisis energi di masa mendatang akibat ketergantungan pada energi fosil (*unrenewable energy*) (Holechek *et al.*, 2022).

Sebagai respon terhadap isu ini, maka perumusan kebijakan energi nasional wajib mengedepankan transisi dari energi fosil menjadi energi baru dan terbarukan (EBT) sebagai sumber energi yang minim emisi, lebih bersih dan ramah lingkungan. Salah satu target yang tertuang dalam Peraturan Presiden No.22 tahun 2017 tentang Rencana Umum Energi Nasional (RUEN) adalah meningkatkan produksi bahan bakar terbarukan (*biofuel*, biomassa, biogas dan *coal bed methane*) sebesar 23 *million tonnes oil equivalent* (MTOE) pada tahun 2025 dan 79,4 MTOE pada tahun 2050.

Salah satu *raw material* yang dapat berkontribusi terhadap sumber biomassa EBT adalah mikroalga (Gouveia & Oliveira, 2009; Meng *et al.*, 2020). Mikroalga merupakan mikroorganisme uniselular atau multiselular yang dapat bereaksi dengan gas karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) dan mengadsorpsi energi matahari untuk dikonversi menjadi energi melalui proses fotosintesis (Chisti, 2007). Sejumlah penelitian melaporkan bahwa mikroalga berpotensi sebagai bahan *biofuel* (biodiesel, bioetanol dan biogas) karena

memiliki kandungan lipid yang tinggi berkisar 4-77 % (Chisti, 2007; Gouveia & Oliveira, 2009). Biodiesel dapat diproduksi dari lipid melalui reaksi esterifikasi dan transesterifikasi dengan katalis basa atau asam (Meher *et al.*, 2006; Leung *et al.*, 2010; Karmee *et al.*, 2015) dan biokatalis enzimatis lipase (Sharma *et al.*, 2001; Ranganathan *et al.*, 2008; Parawira, 2009). Penelitian lainnya melaporkan bahwa lipid dari mikroalga dapat dikoversi menjadi biodiesel melalui transesterifikasi berkataliskan CaO dan MgO (Umdu *et al.*, 2009).

Lipid dari mikroalga sangat potensial dijadikan biodiesel karena bersifat non toksik, dapat diuraikan secara alami (*biodegradable*) serta memiliki kandungan sulfur yang rendah (Bošnjaković, 2013; Bošnjaković & Sinaga, 2020). Kelebihan lainnya adalah memiliki efisiensi fotosintesis dan produksi biomassa yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan energi yang dihasilkan dari tanaman (Miao & Wu, 2006).

*Nannochloropsis oculata* dan *Nitzschia* sp. adalah jenis mikroalga yang potensial sebagai *raw material* untuk produksi biodiesel. Kedua mikroalga ini memiliki karakteristik dengan kecepatan pertumbuhan yang tinggi, proses kultivasi yang mudah dan memiliki kandungan lipid yang relatif tinggi (Chisti, 2007). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan presentase kandungan lipid dari asam lemak bebas (*free fatty acid*, FFA), mono-gliserida (*monoacylglycerol*, MAG), digliserida (*diacylglycerol*, DAG) dan trigliserida (*triacylglycerol*, TAG) pada mikroalga *N. oculata* dan *Nitzschia* sp. menggunakan metode ekstraksi Sokletasi (sampel kering) dan *Bligh Dyer* (sampel basah); serta untuk mengetahui perbandingan *yield* lipid dari kedua metode ekstraksi.

Metode sokletasi merupakan cara yang umum untuk ekstraksi lipid. Metode ini melibatkan tahap pengeringan dan penghalusan sampel sebelum proses ekstraksi berlangsung dalam rangkaian alat soklet (Hewavitharana *et al.*, 2020; Zygler *et al.*, 2012). *N*-heksana merupakan salah satu pelarut organik yang dapat mengekstrak lipid dari mikrolaga dengan perolehan *yield* yang tinggi menggunakan metode Sokletasi (Ramluckan *et al.*, 2014).

Metode *bligh dyer* diperkenalkan oleh E.G. Bligh dan W.J. Dyer pada tahun 1959 melalui modifikasi terhadap metode Folch (Folch *et al.*, 1957). Metode ini menggunakan kombinasi pelarut klorofom, metanol dan air untuk mengekstrak lipid dari jaringan basah material biologis secara cepat dan efisien (Bligh & Dyer, 1959). Tahap ekstraksi dari metode ini menghasilkan lapisan air dan lapisan organik, dimana komponen lipid akan terpartisi pada lapisan organik (Breil *et al.*, 2017).

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan terdiri dari *aluminium foil*, aquades, pelarut organik p.a. Merck (klorofom, metanol, *n*-heksana) dan dua sampel mikroalga (*Nannochloropsis oculata* dan *Nitzschia sp.*) dalam bentuk bubuk (kering dan tanpa media cair) dan bentuk basah (bercampur dengan media cair). Sampel mikroalga diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo.

Alat-alat laboratorium yang digunakan berupa gelas kimia 100 mL, gelas ukur 10 mL, pipet tetes, spatula, botol vial 10 mL, corong pisah 100 mL, rangkaian alat distilasi dan rangkaian alat Sokhlet. Instrumen yang digunakan terdiri dari neraca digital Ohaus

(Pioneer), *centrifuge* (Model 0508-1), *hot plate stirrer* (Thermo Scientific Cimarec), *gas chromatography* (Shimadzu GC-2010), *freezer*, *rotary evaporator* dan oven (101-0).

### Prosedur Penelitian

#### Penentuan kandungan air (*moisture content*)

Preparasi awal dalam penentuan kandungan air pada mikroalga basah adalah memisahkan media cairnya melalui proses sentrifugasi. Adapun kondisi sentrifugasi sebagai berikut; kecepatan 500 rpm, suhu ruangan dan waktu 4 menit. Hasil sentrifugasi teramati dua lapisan, media cair pada lapisan atas sedangkan biomassa mikroalga terendap di lapisan bawah. Media cair dapat dipisahkan dengan cara dekantasi. Selanjutnya biomassa mikroalga sebanyak 6 g (BB) dikeringkan dalam oven (temperatur 100 °C) sampai didapatkan berat tetap / berat kering (BK) (Kiruthika & Kamaraj, 2017). Persamaan (1) digunakan untuk menghitung presentase kandungan air dari mikroalga basah. Pengukuran dilakukan 3 kali (secara triplo) untuk menghitung rata-rata berat kering.

$$\text{Kandungan Air (\%)} = \frac{\text{BB}-\text{BK}}{\text{BB}} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

BB – Berat Basah Mikroalga (g)

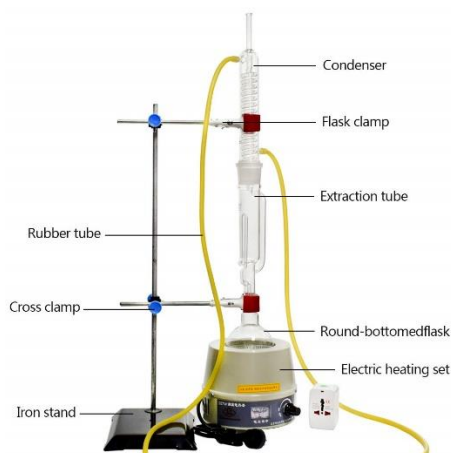
BK – Berat Kering Mikroalga (g)

#### Ekstraksi

##### a. Metode sokletasi

Ilustrasi rangkaian peralatan soklet seperti terlihat pada Gambar 1 (Amazon.co.uk, 2023). Sampel mikrolaga yang digunakan pada metode ini adalah yang berupa bubuk (*powder*). Proses sokletasi menggunakan pelarut *n*-heksana sebanyak 200 mL, mikroalga sebanyak 20 g (BP) dimasukkan ke dalam *thimble*, pengaturan *hot plate* ke suhu 69°C dan

proses ekstraksi selama 12 jam secara kontinu.



**Gambar 1.** Rangkaian alat soklet

Hasil sokletasi lalu dipisahkan dari pelarut *n*-heksana menggunakan *rotary evaporator* (Hewavitharana *et al.*, 2020; Ramluckan *et al.*, 2014; Zygler *et al.*, 2012). Kemudian ekstrak dikeringkan, ditimbang (BE) dan dihitung *yield, dry basis* menggunakan Persamaan (2). Tahap berikutnya, ekstrak dianalisis dengan gas *chromatography* (GC). Selama belum dianalisis, perlu dihindari kemungkinan terjadinya degradasi struktur senyawa-senyawa sehingga ekstrak dimasukkan ke dalam botol vial yang dibungkus *aluminium foil* dan disimpan dalam *freezer*. Cara yang sama ini juga diperlakukan untuk penyimpanan hasil ekstraksi dari metode Bligh Dyer.

$$\text{Yield, Dry Basis (\%)} = \frac{\text{BE}}{\text{BP}} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan:

BE – Berat Ekstrak (g)

BP – Berat *Powder* Mikroalga (g)

#### b. Metode bligh dyer

Sampel mikroalga yang digunakan pada metode ini adalah biomassa terendap hasil sentrifugasi dari mikroalga basah. Kondisi sentrifugasi seperti yang dijelaskan

pada tahap penentuan kandungan air. Sebanyak 6 g biomassa mikroalga ditambahkan campuran pelarut kloroform-metanol (rasio 1:2, v/v) 30 mL lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer* (15 menit). Setelah itu, ditambahkan 10 mL kloroform dan 10 mL akuades. Pada masing-masing penambahan kloroform dan akuades, dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* (15 menit). Hasil ekstraksi berikutnya dimasukkan ke corong pisah dan didiamkan 2-3 jam sehingga teramati 3 lapisan. Lapisan kloroform (lapisan bawah) dipisahkan lalu dievaporasi (Bligh & Dyer, 1959). Ekstrak kemudian dikeringkan dan ditimbang (BE). Berat ekstrak ini digunakan untuk menghitung *yield wet basis* dan *dry basis* menggunakan Persamaan (3) dan Persamaan (4). Tahap selanjutnya, ekstrak dianalisis dengan GC.

$$\text{Yield, Wet Basis (\%)} = \frac{\text{BE}}{\text{BB}} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{Yield, Dry Basis (\%)} = \frac{\text{BE}}{\text{BK}} \times 100\% \quad (4)$$

Keterangan:

BE – Berat Ekstrak (g)

BB – Berat Basah Mikroalga (g)

BK – Berat Kering Mikroalga (g)

#### **Analisis lipid dengan gas chromatography**

Hasil ekstraksi dari kedua metode dianalisis menggunakan GC dengan ZB-5HT (5% - *Phenyl*)-*methylpolysiloxane* sebagai fase diam dan kolom kapiler dengan spesifikasi Phenomenex, 15m x 0.32 mm x 0.1  $\mu\text{m}$ . Suhu injektor 370°C. Suhu oven diprogramkan dari 80°C, meningkat dengan *rate* 15 °C/min menjadi 365 °C dan dipertahankan pada 365 °C selama 8 menit. Gas pembawa yang digunakan adalah gas nitrogen dengan *flow rate* 30cm/s. Volume ekstrak yang diinjeksikan adalah 1 $\mu\text{L}$ . 4 komponen lipid (FFA, MAG, DAG dan TAG)

diidentifikasi berdasarkan perbedaan waktu retensi. Selanjutnya, *yield* lipid (FFA/MAG/DAG/TAG) dihitung menggunakan Persamaan (5).

$$\text{Yield (\%)} = \frac{L \times \text{BE}}{\text{BP atau BK}} \times 100\% \quad (5)$$

Keterangan:

L – Persentase Lipid, FFA / MAG / DAG / TAG (%)

BE – Berat Ekstrak (g)

BP – Berat *Powder* Mikroalga - Sokletasi (g)

BK – Berat Kering Mikroalga - Bligh Dyer (g)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kandungan Air dalam Sampel Mikroalga Basah

Presentase kandungan air dari mikroalga *N. oculata* dan *Nitzschia* sp. tercantum pada Tabel 1. Semakin rendah berat kering mikroalga maka semakin tinggi presentase kandungan air. Berat kering *Nitzschia* sp. lebih rendah dari *N. oculata* tetapi memiliki presentase kandungan air yang lebih tinggi. Terlihat bahwa kedua mikroalga memiliki kandungan air sekitar 90-an %. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa mikroalga memiliki kandungan air yang tinggi yaitu 70-90% (Kim *et al.*, 2015 ; Watanabe & Isdepsky, 2021).

**Tabel 1.** Kadar air mikroalga

| Parameter                  | <i>N. oculata</i> | <i>Nitzschia</i> sp. |
|----------------------------|-------------------|----------------------|
| Berat Kering Mikroalga (g) | 0,5518            | 0,4211               |
| Kadar Air (%)              | 90,80             | 92,98                |

Pada preparasi awal dari tahap ini, digunakan metode sentrifugasi karena dapat mempercepat proses pemisahan biomassa mikroalga dari media cair melalui gaya sentrifugal. Selain durasi 4 menit, telah diuji coba juga proses sentrifugasi dengan durasi 5 menit dan 10 menit. Namun, hasil berat kering yang diperoleh tetap sama. Sehingga untuk

menghemat waktu, durasi sentrifugasi yang digunakan adalah 4 menit. Pengeringan dalam oven pada suhu 100°C bertujuan untuk menguapkan air.

### Hasil Ekstraksi

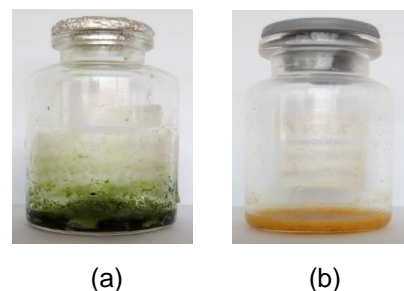
#### Metode sokletasi

Hasil ekstraksi dengan metode Sokletasi dimuat pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 2, diketahui ekstrak *N. oculata* berwarna hijau dengan berat 0,6026 g. Sedangkan ekstrak *Nitzschia* sp. berwarna oranye dengan berat 0,3616 g.

**Tabel 2.** Hasil ekstraksi metode sokletasi

| Parameter                   | <i>N. oculata</i> | <i>Nitzschia</i> sp. |
|-----------------------------|-------------------|----------------------|
| Warna Ekstrak               | Hijau             | Oranye               |
| Berat Ekstrak (g)           | 0,6026            | 0,3616               |
| <i>Yield, Dry Basis</i> (%) | 3,01              | 1,81                 |

Umumnya lipid bersifat non polar sehingga diasumsikan bahwa peluang untuk mengekstrak kandungan lipid dalam jumlah yang relatif banyak adalah dengan menggunakan pelarut *n*-heksana. Dimana, *n*-heksana adalah pelarut yang juga bersifat non polar yang dapat berinteraksi dengan lipid (prinsip “*like dissolve like*”).



**Gambar 2.** Hasil ekstraksi metode sokletasi; (a) *N. oculata* dan (b) *Nitzschia* sp.

*Yield* dari *N. oculata* sebesar 3,01%, lebih tinggi berbanding pada *Nitzschia* sp. 1,81% (Tabel 2), sehingga diduga bahwa *N. oculata* mengandung komponen non polar lebih banyak berbanding pada *Nitzschia* sp. Jika

dibandingkan dengan berat awal *powder* sampel mikroalga yang digunakan (20 g), hasil berat ekstrak yang didapatkan pada metode ini jauh lebih rendah yaitu kurang dari 1 g atau kurang dari 5 %. Hal ini karena selama proses sokletasi, kontak pelarut *n*-heksana dengan sampel mikroalga pada bagian *extraction chamber* tidak berlangsung lama sebelum pelarut jatuh kembali ke labu alas bulat melewati sifon. Selain itu juga, selama proses sokletasi tidak adanya pengadukan.

Faktor lainnya dapat dikaitkan dengan geometri dan ukuran molekul dari *n*-heksana. Satu molekul *n*-heksana ( $C_6H_{14}$ ) terdiri dari 6 atom karbon (C) dan 14 atom hidrogen (H). Setiap atom C terhibridisasi  $sp^3$  sehingga membentuk ikatan kovalen tunggal antar C-C dan C-H. Akibatnya memiliki struktur berupa tetrahedral. Sehingga, memungkinkan terjadinya rotasi antar ikatan pada atom-atom C. Dengan demikian, geometri molekul dari *n*-heksana bukan struktur yang linear dan kaku melainkan dapat berubah bentuk. Akibatnya akan mempersulit proses difusi keluar masuk molekul-molekul *n*-heksana melewati dinding sel mikroalga.

### Metode *bligh dyer*

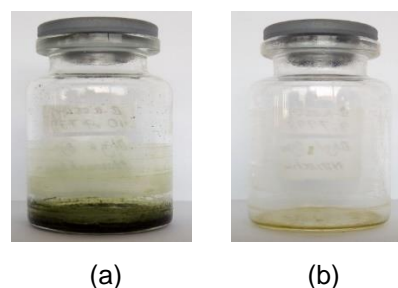
Tabel 3 mencantumkan hasil ekstraksi dengan metode *bligh dyer*. Berat ekstrak dari *N. oculata* dan *Nitzschia* sp. masing-masing sebesar 0,0345 g dan 0,0326 g. Nilai ini jauh lebih kecil berbanding berat ekstrak yang diperoleh dengan metode Sokletasi. Hal ini karena berat awal sampel mikroalga basah yang digunakan hanya 6 g, ditambah lagi presentase kandungan air yang tinggi (>90%).

Namun hasil perhitungan *yield dry basis* dengan metode *bligh dyer* lebih tinggi dari metode sokletasi yaitu 6,25 % untuk *N. oculata* dan 7,74 % untuk *Nitzschia* sp.

**Tabel 3.** Hasil ekstraksi metode *bligh dyer*

| Parameter                   | <i>N. oculata</i> | <i>Nitzschia</i> sp. |
|-----------------------------|-------------------|----------------------|
| Warna Ekstrak               | Hijau Kehitaman   | Coklat pudar         |
| Berat Ekstrak (g)           | 0,0345            | 0,0326               |
| <i>Yield, Wet Basis</i> (%) | 0,57              | 0,54                 |
| <i>Yield, Dry Basis</i> (%) | 6,25              | 7,74                 |

Warna ekstrak yang didapatkan juga berbeda. Seperti terlihat pada Gambar 3, ekstrak *N. oculata* berwarna hijau kehitaman sedangkan ekstrak *Nitzschia* sp. berwarna coklat pudar.



**Gambar 3.** Hasil ekstraksi metode *bligh dyer*; (a) *N. oculata* dan (b) *Nitzschia* sp.

Munculnya perbedaan hasil ekstrak dari kedua metode dipengaruhi oleh ukuran molekul dan kepolaran pelarut organik yang digunakan serta perlakuan selama proses ekstraksi. Pada metode Sokletasi hanya menggunakan pelarut tunggal yang bersifat non polar, sebaliknya pada metode *bligh dyer* yang digunakan merupakan campuran pelarut kloroform – metanol - akuades (air) yang cenderung bersifat polar. Ukuran molekul kloroform ( $CH_3Cl$ ), metanol ( $CH_3OH$ ) dan akuades ( $H_2O$ ) lebih kecil jika dibandingkan dengan molekul *n*-heksana ( $C_6H_{14}$ ) sehingga proses difusi keluar masuk pelarut melewati dinding sel mikrolaga lebih mudah. Faktor ini mempengaruhi hasil ekstraksi, dimana *yield dry basis* dari metode *bligh dyer* lebih tinggi dari metode Sokletasi.

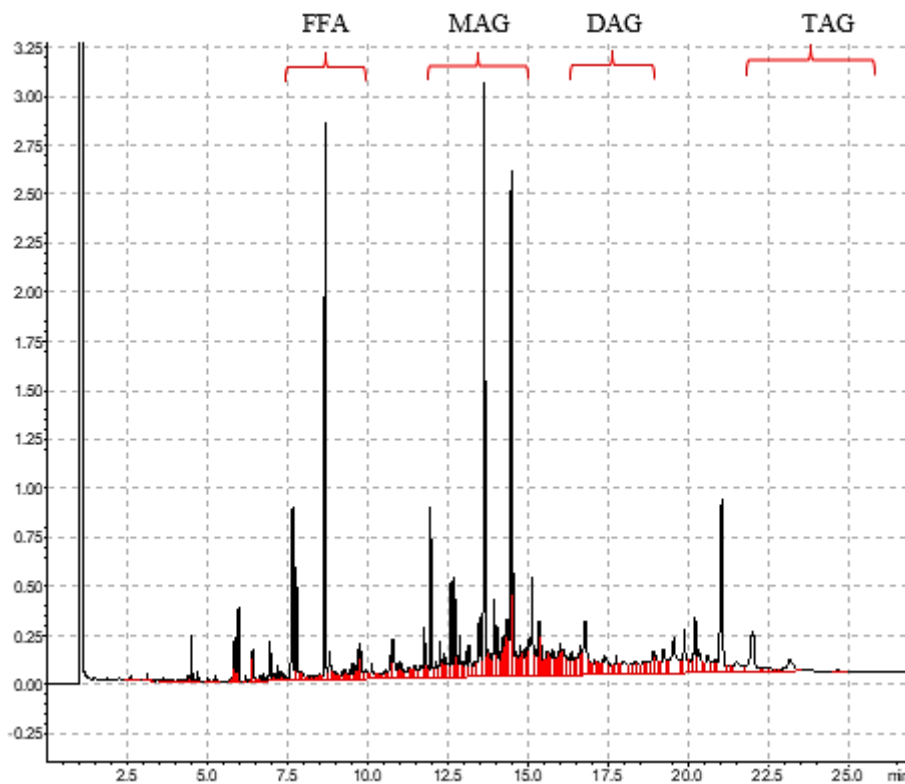
Selain itu, dalam metode ini juga melibatkan pengadukan dengan *magnetic*

*stirrer* serta pengocokan dalam corong pisah (proses ekstraksi cair-cair). Perlakuan ini memungkinkan lebih banyak komponen senyawa yang diekstrak karena meningkatnya kontak antara molekul pelarut dengan sampel mikroalga per satuan luas. Setelah didiamkan 2-3 jam dalam corong pisah, teramat 3 lapisan. Lapisan atas adalah campuran pelarut metanol-akuades yang mengestrak komponen-komponen senyawa polar termasuk non lipid, lapisan tengah adalah residu dari mikroalga sementara lapisan bawah adalah pelarut kloroform yang mengestrak komponen-komponen senyawa non polar termasuk lipid. Pelarut kloroform terletak pada lapisan bawah karena memiliki massa jenis yang lebih tinggi.

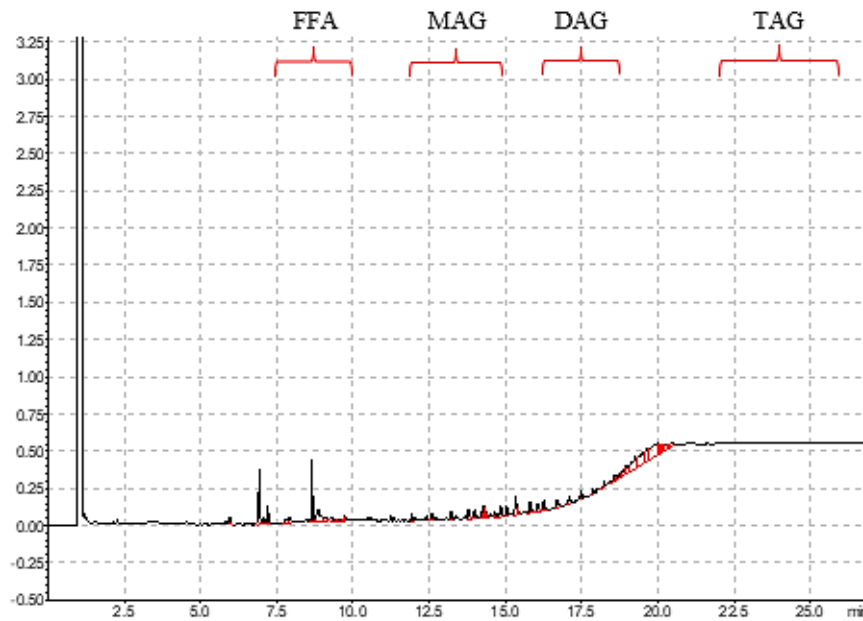
#### Hasil Analisis Lipid

Presentase *yield* lipid hasil ekstraksi dari kedua metode ditentukan melalui analisis GC.

Komponen lipid yang dianalisis terdiri dari asam lemak bebas (*free fatty acid*, FFA), monogliserida (*mono-acylglycerol*, MAG), digliserida (*diacylglycerol*, DAG) dan trigliserida (*triacylglycerol*, TAG). 4 komponen lipid tersebut terdeteksi pada retensi waktu (*retention time*) yang berbeda sebagai berikut ; menit 7,5-10,0 (FFA), menit 12,25-15,0 (MAG), menit 16,5-18,5 (DAG) dan menit 22,0-26,0 (TAG) (Aparamarta *et al.*, 2016). Adanya perbedaan retensi waktu dari 4 komponen lipid tersebut karena memiliki struktur kimia serta berat molekul yang berbeda. Berbanding 3 komponen lainnya, TAG memiliki jumlah rantai alkil, R, terbanyak pada struktur kiminya yaitu 3 rantai alkil. Karakteristik rantai R yang bersifat non polar mengakibatkan TAG terabsorpsi lebih kuat terhadap fase diam non polar yaitu (5%-*phenyl*)-*methyl* dalam kolom GC.



**Gambar 4.** Kromatogram GC dari ekstrak *N. oculata* dengan metode sokletasi



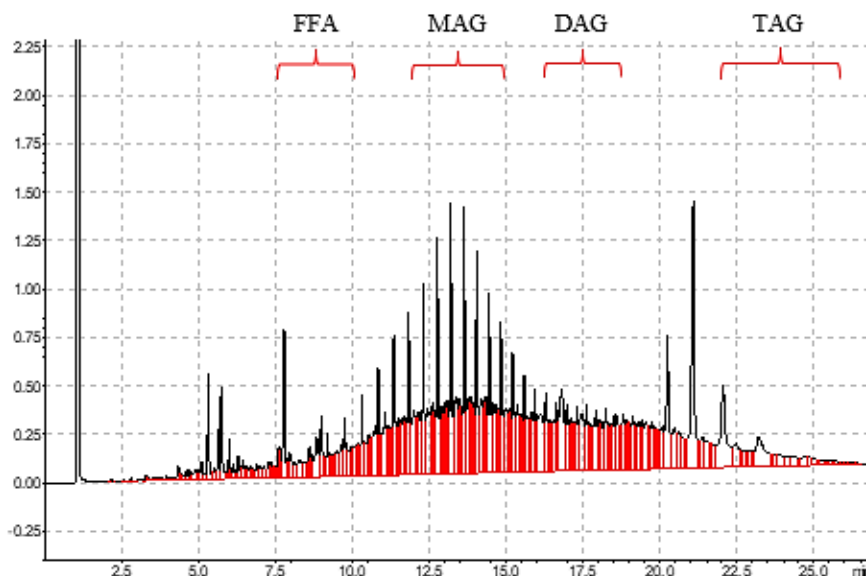
**Gambar 5.** Kromatogram GC dari ekstrak *N. oculata* dengan metode *bligh dyer*

Terdapatnya 3 rantai alkil ini juga menyebabkan berat molekul TAG bertambah, sehingga terdistribusi lebih lama melewati kolom jika dibandingkan dengan FFA, MAG dan DAG. Lama retensi berdasarkan pada urutan TAG > DAG > MAG > FFA.

Kromatogram GC dari ekstrak *N. oculata* untuk kedua metode dapat dilihat pada Gambar 4 dan Gambar 5. Hasil analisis kromatogram

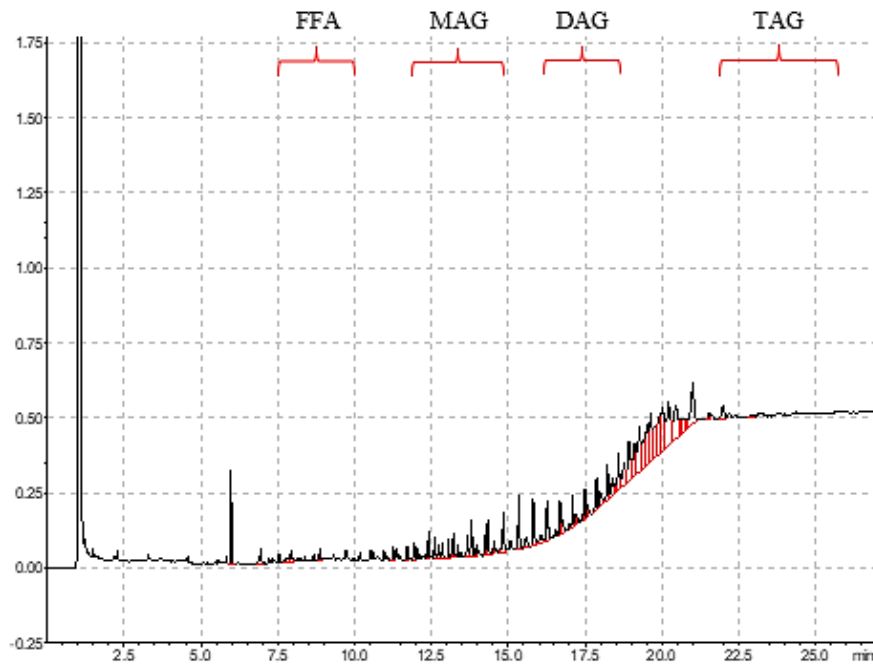
dimuat pada Tabel 4 yang menunjukkan persentase FFA, MAG, DAG dan TAG.

Total lipid hasil ekstraksi dari metode sokletasi dan *bligh dyer* masing-masing sebesar 60.05% dan 35.34%. Diketahui presentase FFA, MAG, DAG dan TAG tidak sama dari kedua metode dan berkisar antara 0-33,79 %.



**Gambar 6.** Kromatogram GC dari ekstrak *Nitzschia* sp. dengan metode sokletasi





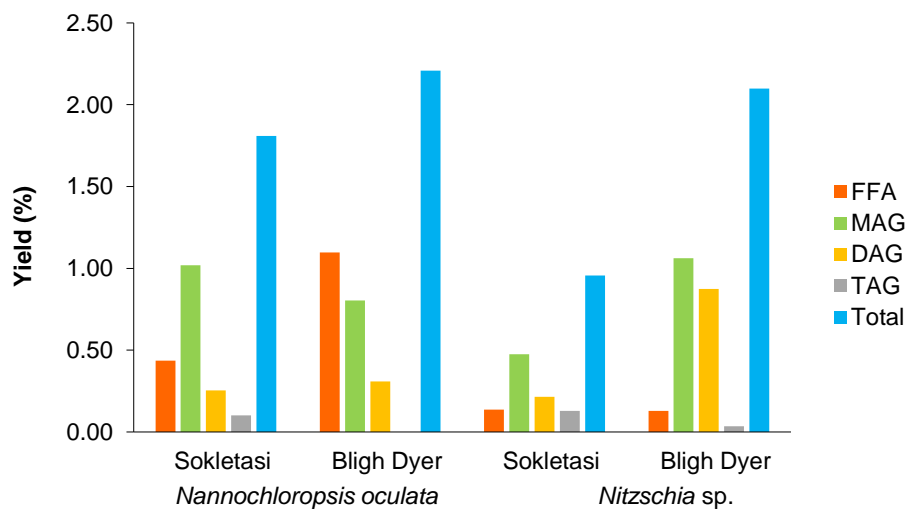
**Gambar 7.** Kromatogram GC dari ekstrak *Nitzschia* sp. dengan metode *bligh dyer*

**Tabel 4.** Hasil analisis lipid *N. oculata*

| Metode Ekstraksi | Kandungan Lipid (%) |       |      |      | Total |
|------------------|---------------------|-------|------|------|-------|
|                  | FFA                 | MAG   | DAG  | TAG  |       |
| Sokletasi        | 14,49               | 33,79 | 8,43 | 3,34 | 60,05 |
| Bligh Dyer       | 17,54               | 12,87 | 4,93 | 0    | 35,34 |

**Tabel 5.** Hasil analisis lipid *Nitzschia* sp.

| Metode Ekstraksi | Kandungan Lipid (%) |       |       |      | Total |
|------------------|---------------------|-------|-------|------|-------|
|                  | FFA                 | MAG   | DAG   | TAG  |       |
| Sokletasi        | 7,59                | 26,28 | 11,87 | 7,16 | 52,90 |
| Bligh Dyer       | 1,66                | 13,73 | 11,28 | 0,45 | 27,12 |



**Gambar 8.** Grafik perbandingan *yield* FFA, MAG, DAG dan TAG dari ekstrak *N. oculata* dan *Nitzschia* sp. dengan metode sokletasi dan *bligh dyer*

Berbeda dengan spesies *Nitzschia* sp., total lipid dari metode sokletasi dan *bligh dyer* masing-masing 52.90% dan 27.12%. Sementara presentase kandungan FFA, MAG, DAG dan TAG berkisar dari 0,45-26,28 % seperti yang ditunjukkan pada Tabel 5.

Grafik pada Gambar 8 memperlihatkan perbandingan *yield* FFA, MAG, DAG dan TAG dari ekstrak *N. oculata* dan *Nitzschia* sp. dengan metode Sokletasi dan Bligh Dyer. Berdasarkan grafik, *yield* (FFA, MAG, DAG dan total) yang diperoleh dengan metode Bligh Dyer relatif lebih tinggi daripada metode Sokletasi, kecuali untuk *yield* TAG. Hal ini disebabkan TAG memiliki 3 rantai alkil R sehingga bersifat non polar. Akibatnya TAG tidak mudah terekstrak dengan pelarut-pelarut metanol, air dan klorofom dalam metode Bligh Dyer. Jumlah *yield* TAG yang diperoleh lebih sedikit dibandingkan dengan *yield* FFA, MAG, DAG pada metode Sokletasi karena melibatkan pemanasan untuk menguapkan pelarut *n*-heksana. Pemanasan dalam durasi waktu hitungan jam dapat menguraikan struktur TAG menjadi MAG dan DAG. Total *yield* lipid yang didapatkan dari *N. oculata* sebesar 1,81 wt % (Sokletasi) dan 2,21 % (Bligh Dyer) sedangkan untuk *Nitzschia* sp sebesar 0,96 % (Sokletasi) dan 2,10 % (Bligh Dyer).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari kedua metode ekstraksi, diperoleh bahwa presentase total lipid dari mikroalga *N. oculata* lebih tinggi dari *Nitzschia* sp. Presentase FFA, MAG, DAG dan TAG bagi *N. oculata* berturut-turut adalah 14,49%, 33,79%, 8,43% dan 3,34% (sokletasi); 17,54%, 12,87%, 4,93% dan 0% (*bligh dyer*). Sementara bagi *Nitzschia* sp. berturut-turut adalah 7,59%, 26,28%, 11,87% dan 7,16%

(sokletasi); 1,66%, 13,73%, 11,28% dan 0,45% (*bligh dyer*). *Yield* lipid bagi *N. oculata* sebesar 1,81% (sokletasi) dan 2,21% (*bligh dyer*), sedangkan untuk *Nitzschia* sp. sebesar 0,96% (sokletasi) dan 2,10% (*bligh dyer*).

## DAFTAR PUSTAKA

- Amazon.co.uk. (2023). *Laboratory Soxhlet Extractor 250-1000ml*. <https://www.amazon.co.uk/Laboratory-250-1000ml-Serpentine-Extraction-Distilling/dp/B0869HW9XG?th=1>
- Aparamarta, H. W., Saputra, T., Claratika, A., Ju, Y., & Gunawan, S. (2016). *Separation and Purification of Triacylglycerols from Nyamplung ( Calophyllum inophyllum ) Oil by Batchwise Solvent Extraction*. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b04877>
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917.
- Bošnjaković, M. (2013). Biodiesel from Algae. *Journals of Mechanics Engineering and Automation*, 3, 179–188.
- Bošnjaković, M., & Sinaga, N. (2020). The perspective of large-scale production of algae biodiesel. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(22), 1–26. <https://doi.org/10.3390/app10228181>
- BPPT. (2018). Indonesia Energy Outlook 2018: Sustainable Energy for Land Transportation. In *Agency for The Assessment and Application of Technology*, 134(4).
- BPPT. (2020). Indonesia Energy Outlook 2020 - Special Edition Dampak Pandemi COVID-19 terhadap Sektor Energi di Indonesia. In *PPIPE dan BPPT*. [https://www.researchgate.net/publication/343903321\\_OUTLOOK\\_ENERGI\\_INDON\\_ESIA\\_2020\\_Dampak\\_Pandemi\\_COVID19\\_terhadap\\_Sektor\\_Energi\\_di\\_Indonesia](https://www.researchgate.net/publication/343903321_OUTLOOK_ENERGI_INDON_ESIA_2020_Dampak_Pandemi_COVID19_terhadap_Sektor_Energi_di_Indonesia)
- Breil, C., Abert Vian, M., Zemb, T., Kunz, W., & Chemat, F. (2017). “Bligh and Dyer” and Folch methods for solid–liquid–liquid extraction of lipids from microorganisms. Comprehension of solvation mechanisms and towards substitution with alternative solvents. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 1–21. <https://doi.org/10.3390/ijms18040708>

- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, 26(3), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.12.002>
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)64849-5)
- Gouveia, L., & Oliveira, A. C. (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(2), 269–274. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0495-6>
- Hewavitharana, G. G., Perera, D. N., Navaratne, S. B., & Wickramasinghe, I. (2020). Extraction methods of fat from food samples and preparation of fatty acid methyl esters for gas chromatography: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(8), 6865–6875. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.06.039>
- Holeczek, J. L., Geli, H. M. E., Sawalhah, M. N., & Valdez, R. (2022). A Global Assessment: Can Renewable Energy Replace Fossil Fuels by 2050? *Sustainability (Switzerland)*, 14(8), 1–22. <https://doi.org/10.3390/su14084792>
- Karmee, S. K., Linardi, D., Lee, J., & Lin, C. S. K. (2015). Conversion of lipid from food waste to biodiesel. *Waste Management*, 41, 169–173. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.03.025>
- Kim, B., Im, H., & Lee, J. W. (2015). In situ transesterification of highly wet microalgae using hydrochloric acid. *Bioresource Technology*, 185(February), 421–425. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.092>
- Kiruthika, R., & Kamaraj, S. (2017). Characterization of Microalgae for Lipid Extraction. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(12), 1295–1301. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.612.146>
- Leung, D. Y. C., Wu, X., & Leung, M. K. H. (2010). A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Applied Energy*, 87(4), 1083–1095. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.10.006>
- Meher, L. C., Vidya Sagar, D., & Naik, S. N. (2006). Technical aspects of biodiesel production by transesterification - A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10(3), 248–268. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2004.09.002>
- Meng, T. K., Kassim, M. A., & Cheirsilp, B. (2020). Mixotrophic Cultivation: Biomass and Biochemical Biosynthesis for Biofuel Production. In *Microalgae Cultivation for Biofuels Production*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817536-1.00004-7>
- Miao, X., & Wu, Q. (2006). Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresource Technology*, 97(6), 841–846. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.04.008>
- Parawira, W. (2009). Biotechnological production of biodiesel fuel using biocatalysed transesterification: A review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 29(2), 82–93. <https://doi.org/10.1080/07388550902823674>
- Ramluckan, K., Moodley, K. G., & Bux, F. (2014). An evaluation of the efficacy of using selected solvents for the extraction of lipids from algal biomass by the soxhlet extraction method. *Fuel*, 116(September), 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.07.118>
- Ranganathan, S. V., Narasimhan, S. L., & Muthukumar, K. (2008). An overview of enzymatic production of biodiesel. *Bioresource Technology*, 99(10), 3975–3981. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.060>
- Sharma, R., Chisti, Y., Chand, U., & Banerjee, U. C. (2001). Production, Purification, Characterization, and Applications of Lipases. *Biotechnology Advances*, 19(8), 627–662. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(01\)00086-6](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(01)00086-6)
- Umdu, E. S., Tuncer, M., & Seker, E. (2009). Transesterification of Nannochloropsis oculata microalga's lipid to biodiesel on Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> supported CaO and MgO catalysts. *Bioresource Technology*, 100(11), 2828–2831. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.027>
- Watanabe, M. M., & Isdepsy, A. (2021). Biocrude oil production by integrating microalgae polyculture and wastewater treatment: Novel proposal on the use of deep water-depth polyculture of mixotrophic microalgae. *Energies*, 14(21). <https://doi.org/10.3390/en14216992>

Zygler, A., Słomińska, M., & Namieśnik, J. (2012). Soxhlet extraction and new developments such as soxtec. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation: Analytical Techniques for Scientists*, 2, 65–82. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00037-5>