

EKSTRAKSI 1,8-CINEOLE DARI MINYAK DAUN *EUCALYPTUS UROPHYLLA* DENGAN METODE SOXHLETASI

Irvan, Putra B. Manday, Januar Sasmitra

Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sumatera Utara

Jln. Almamater Kampus USU Medan 20155 Indonesia

Email: sasmitra_code09@yahoo.com

Abstrak

Tanaman *Eucalyptus urophylla* (famili: Myrtaceae, ordo: Myrtales) biasanya dimanfaatkan hanya bagian kayu untuk pembuatan kusen, pulp dan kertas, padahal daunnya dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan minyak atsiri untuk kepentingan di bidang farmasi. Tujuan penelitian ini adalah mengambil minyak atsiri dari daun *Eucalyptus urophylla* dengan metode soxhletasi, sehingga diperoleh perolehan minyak atsiri yang maksimal dengan kualitas yang baik. Sebelum proses ekstraksi dilakukan, daun *Eucalyptus urophylla* segar terlebih dahulu diperkecil sehingga ukurannya menjadi 1×1 cm, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 70 °C selama 1 jam setelah dibungkus dengan kertas saring, setelah itu ekstraksi daun *Eucalyptus Urophylla* menggunakan berbagai macam pelarut yaitu etanol 96%, n-heksana dan diklorometan, kemudian dilanjutkan dengan analisa produk minyak atsiri (analisa kadar sineol). Pada penelitian ini dilakukan percobaan dengan berbagai macam perlakuan seperti: rasio volume pelarut terhadap rendemen, rasio massa daun *Eucalyptus urophylla* terhadap rendemen pada 5 siklus, dan temperatur pelarut terhadap rendemen. Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah hasil ekstraksi terbaik dengan kadar sineol maksimum (29,17%) diperoleh menggunakan pelarut diklorometan, sedangkan menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan rendemen ekstrak yang maksimum.

Kata Kunci: *Eucalyptus urophylla*, Sineol, Soxhlet, Etanol, N-heksana, Diklorometan

Abstract

Eucalyptus urophylla plants (family: Myrtaceae, order: Myrtales) usually are used only wooden parts for the manufacture of frames, pulp and paper, whereas their leaves can be used to produce essential oils in the pharmaceutical usage. The aim of this research is to extract the essential oils from leaves of *Eucalyptus urophylla* with soxhlet extraction method, in order to obtain maximum recovery of essential oils with good quality. Prior to the extraction process, the fresh leaves of *Eucalyptus urophylla* were reduced so that its size become 1 × 1 cm, and then dried in an oven at a temperature of 70 °C for 1 hour after being wrapped in a filter paper, after that followed by the extraction of the leaves using a variety of solvents, namely 96 % ethanol, n-hexane and dichloromethane, then proceed with the analysis of essential oil products (cineol content analysis). In this study, experiments were conducted with a variety of treatments such as the ratio of the volume of solvent to yield, the ratio of the mass of leaves of *Eucalyptus urophylla* to the yield on 5 cycles , and temperature of the solvent to yield. The conclusions of this research are the best extraction results with maximum cineol value (29.17 %) was obtained using dichloromethane solvent, while using 96 % ethanol produced the maximum yield of extract.

Keywords: *Eucalyptus urophylla*, Cineole, Soxhlet, Ethanol, N-hexane, Dichloromethane

Pendahuluan

Eucalyptus spp. merupakan salah satu tanaman yang dikembangkan dalam penanaman hutan tanaman industri. Banyak manfaat yang dapat diambil dari kayu *Eucalyptus spp.* antara lain untuk bahan bangunan seperti kusen pintu, jendela, kayu lapis, pulp dan kertas. Sedangkan daun dan cabang *Eucalyptus spp.* dapat menghasilkan minyak atsiri yang digunakan untuk kepentingan farmasi, misalnya untuk obat gosok, obat batuk, parfum, dan disinfektan. *Eucalyptus spp.* banyak dijumpai di kawasan-kawasan hutan tanaman industri

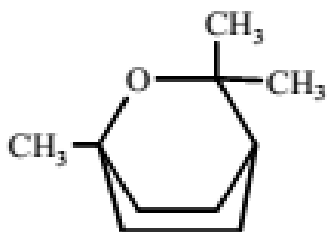
misalnya di kawasan hutan tanaman industri PT Toba Pulp Lestari, Tbk. di Sumatera Utara.

Minyak atsiri merupakan salah satu hasil hutan non kayu yang memiliki banyak manfaat dalam kehidupan sehari-hari. PT Toba Pulp Lestari, Tbk selama ini hanya mengolah dari hasil tanaman *Eucalyptus spp.* dari batang pohonnya saja sebagai bahan baku pembuatan kertas. Salah satu jenis dari *Eucalyptus spp.* di kawasan hutan tanaman industri PT Toba Pulp Lestari, Tbk yang berpotensi menghasilkan minyak atsiri dari daun dan cabangnya adalah *Eucalyptus urophylla*.

Teori

Eucalyptus urophylla termasuk family *Myrtaceae* yang terdiri dari 500 jenis dan 138 varietas, merupakan tumbuhan yang endemik di Australia dan kepulauan sebelah utara Timor, Irian, dan Philipina. Nama *Eucalyptus urophylla* diberi oleh Dr. Blake. Nama *Urophylla* berasal dari Yunani, yaitu *auro* yang berarti ekor, dan *phyla* berarti daun [12].

Berdasarkan penelitian Sen-Sung Cheng, dkk komposisi minyak *Eucalyptus urophylla* adalah hidrokarbon monoterpen, oksigenasi monoterpen, hidrokarbon sesquiterpen dan oksigenasi sesquiterpen, sebagian monoterpen dan sesquiterpen terdiri dari unit isoprene (C_5H_8). Saat ini yang terpenting adalah *1,8-cineol* [4]. *Cineol* merupakan eter siklik dengan rumus empiris $C_{10}H_{18}O$ dan nama sistematik *1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octane* yang termasuk ke dalam kelompok komponen oksigenasi monoterpen. Ini dalam perdagangan komersial disebut sebagai "*eucalyptol*". Gambar 1 menunjukkan struktur kimia dari *1,8-cineol*.



Gambar 1. Struktur 1,8-Cineol [11]

Adapun sifat-sifat kimia dan fisika dari *1,8-cineol* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Sifat Kimia dan Fisika *1,8-cineol*

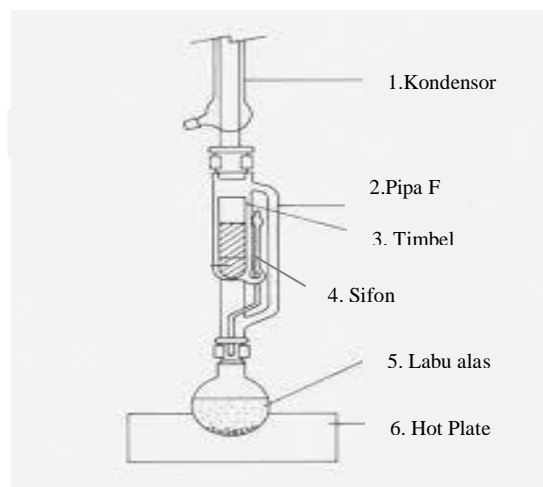
Rumus Kimia	$C_{10}H_{18}O$
Kelarutan dalam air	3,5 g/l (21 °C)
Titik Leleh	1,5 °C
Massa Molar	154,25 g/mol
Densitas	0,925 g/cm ³ (20 °C)
Titik Didih	174-177 °C
Titik Nyala	49 °C

Ekstraksi merupakan salah satu cara pemisahan dua atau lebih komponen dari suatu bahan yang merupakan sumber komponen tersebut. Komponen yang dipisahkan dengan ekstraksi dapat berupa padatan dari suatu sistem padat-cair, berupa cairan dari suatu sistem campuran cair-cair atau berupa padatan dari suatu sistem padat-padat [13]. Ekstraksi dengan pelarut organik umumnya digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri yang mudah rusak oleh pemanasan dengan uap dan air, terutama untuk mengekstrak minyak bunga-bunga misalnya bunga cempaka, melati, mawar, kenanga, lily, dan lain-lain. Pelarut yang biasanya digunakan dalam

ekstraksi yaitu petroleum eter, benzena, dan alkohol [6]. Beberapa faktor yang mempengaruhi ekstraksi yaitu:

a. Metode ekstraksi

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat bahan mentah, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak sempurna atau mendekati sempurna [1]. Pemilihan metode soxhletasi dalam penelitian ini disebabkan minyak esensial dari *Eucalyptus* tahan terhadap panas dengan titik didih 174 °C dan juga efisiensi waktu serta proses pengambilan dengan pelarut diperoleh rendemen yang relatif lebih banyak.



Gambar 2. Rangkaian Alat Soxhletasi

Gambar 2 memperlihatkan rangkaian alat soxhletasi yang dipergunakan dalam penelitian ini. Komponen instrumen dan fungsinya adalah sebagai berikut:

1. Kondensor berfungsi sebagai pendingin, dan juga untuk mempercepat proses pengembunan.
2. Pipa F berfungsi sebagai jalannya pelarut yang menguap dalam proses ekstraksi.
3. Timbel berfungsi sebagai wadah untuk sampel yang ingin diambil ekstrak.
4. Sifon berfungsi sebagai perhitungan siklus, bila pada sifon penuh dengan larutan kemudian kembali ke labu alas dinamakan 1 siklus.
5. Labu alas berfungsi sebagai wadah pelarut dan ekstrak.
6. Hot plate berfungsi sebagai media pemanas.

b. Jenis pelarut

Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi dilakukan dengan alasan karena pelarut mampu melarutkan senyawa yang akan diekstrak, mudah dipisahkan dan dimurnikan kembali. Salah satu faktor yang sangat

berpengaruh terhadap kecepatan perpindahan massa dari solute ke solvent adalah besarnya konsentrasi pelarut [1]. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Etanol 96%

Etanol disebut juga etil alkohol yang di pasaran lebih dikenal sebagai alkohol yang merupakan senyawa organik dengan rumus kimia C_2H_5OH . Pada kondisi kamar etanol berwujud cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna dengan titik didih $78,32\text{ }^{\circ}\text{C}$ [10].

2. n-heksan

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkane dengan rumus kimi C_6H_{14} . Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air, dengan titik didih $69\text{ }^{\circ}\text{C}$ [10].

3. Diklorometan

Diklorometan (DCM) berasal dari klorinasi metana dengan rumus kimia CH_2Cl_2 . Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang memiliki titik didih $39,8\text{ }^{\circ}\text{C}$.

c. Efek pelarut yang digunakan dalam ekstraksi

Fleksibilitas dari metode ekstraksi soxhlet memungkinkan untuk penggunaan berbagai kelas pelarut organik, ini termasuk eter, alifatik, aromatik, dan diklorinasi hidrokarbon, serta alkohol. Karena berbeda karakteristik kelarutan berbagai pelarut, ekstraksi sampel akan memiliki hasil minyak agak berbeda tergantung pelarut [8].

d. Efek temperatur ekstraksi

kenaikan suhu akan meningkatkan efisiensi proses ekstraksi, dan ini harus dioptimalkan secara singkat dari titik dimana degradasi analit atau co-ekstraksi yang berlebihan dari komponen dapat terekstraksi [8].

e. Efek waktu ekstraksi

Waktu ekstraksi sangat mempengaruhi hasil, terutama terhadap nilai transfer massa. Semakin lama waktu kontak antara solut dengan solvent selama proses ekstraksi maka semakin banyak pula jumlah unsur-unsur kandungan kimia yang terekstrak. Juga lamanya waktu kontak antara minyak dengan panas mempengaruhi kualitas minyak yang diperoleh [14].

Metodologi Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan peralatan seperti alat soxhlet, alat-alat gelas, cutter, kertas saring biasa, neraca analitik, oven dan rotary evaporator. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu daun *Eucalyptus urophylla* sebagai bahan baku, air, n-heksan, etanol 96% dan diklorometan.

Prosedur Preparasi Bahan

Daun *Eucalyptus urophylla* segar yang telah dilakukan pengecilan ukuran ($1 \times 1\text{ cm}$) kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 1 jam. Setelah didinginkan, kemudian dibungkus dengan kertas saring masing-masing 15 gr.

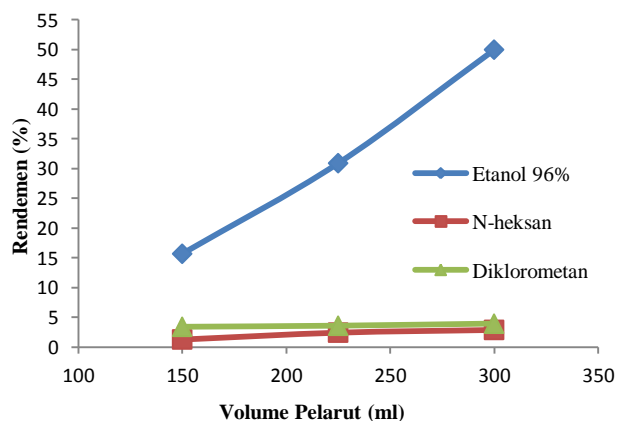
Prosedur Ekstraksi Daun *Eucalyptus urophylla*

Ekstraksi daun *Eucalyptus urophylla* dengan metode soxhletasi menggunakan 3 pelarut, yaitu etanol 96%, n-heksan, dan diklorometan pada suhu masing-masing pelarut $80, 70$ dan $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan variasi rasio pelarut : bahan $150 : 15 ; 225 : 15 ; 300 : 15\text{ (ml : gr)}$. Daun *Eucalyptus urophylla* yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam tabung alat soxhlet.

Hasil

1. Pengaruh Rasio Volume Pelarut terhadap Rendemen pada Massa Daun *Eucalyptus urophylla*

Pada gambar 3 dapat dilihat pengaruh rasio volume pelarut terhadap rendemen pada massa daun *Eucalyptus urophylla* pada volume 150, 225, 300 : 15 (ml : gr). Dari penelitian yang dilakukan, pengaruh rasio volume pelarut terhadap rendemen pada massa daun *Eucalyptus urophylla* sebagai variabel tetap menunjukkan semakin besar jumlah pelarut yang digunakan terhadap massa daun tetap maka rendemen yang didapatkan semakin besar.



Gambar 3. Pengaruh Rasio Volume Pelarut terhadap Rendemen pada Massa Daun *Eucalyptus urophylla*

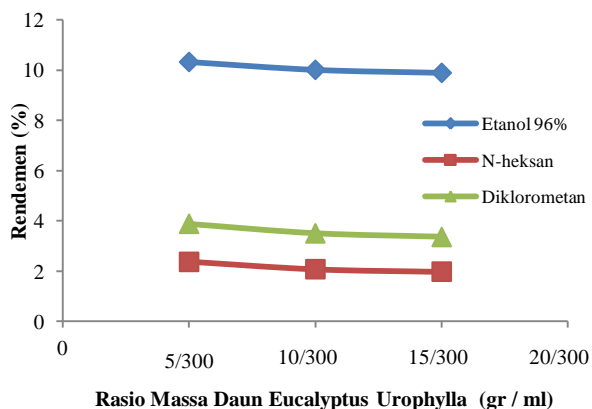
Pada gambar 3, rendemen terlihat mengalami peningkatan seiring bertambahnya volume pelarut yang digunakan. Semakin banyak volume pelarut yang digunakan maka semakin besar pula kemampuan pelarut untuk mengambil minyak yang terkandung di dalam bahan daun *Eucalyptus urophylla*. Semakin bertambahnya volume pelarut juga mengakibatkan semakin lama waktu pengontakan yang terjadi antara bahan dengan pelarut. Hal ini sesuai dengan penelitian

Kurniawan, dkk (2007), bahwa semakin lama waktu pengontakan yang dilakukan antara bahan dengan pelarut, maka akan semakin lama pula terjadi perpindahan massa ekstrak dari bahan ke pelarut yang berdampak pada perolehan ekstrak tersebut[7].

Pada gambar 3 juga terlihat bahwa etanol adalah pelarut yang menghasilkan rendemen ekstraksi yang terbanyak dibandingkan dengan pelarut lainnya. Dalam proses ekstraksi ini, etanol 96% menghasilkan rendemen 15,7; 30,93; dan 50,00 % pada masing-masing rasio volume 150 ; 225 dan 300 ml. Sedangkan n-heksan dan diklorometan menghasilkan rendemen ekstraksi yang rendah. Hal ini disebabkan karena etanol merupakan jenis pelarut polar yang memiliki indeks polaritas lebih besar dibandingkan pelarut n-heksan dan diklorometan. Polaritas pelarut mempengaruhi rendemen yang dihasilkan dalam proses ekstraksi. Hal ini sesuai dengan penelitian Andri Cahyo K, dkk (2008), bahwa dengan menggunakan pelarut organik polar seperti etanol menghasilkan rendemen yang relatif tinggi, sedangkan menggunakan pelarut organik non-polar seperti n-heksan menghasilkan rendemen yang rendah [2].

2. Pengaruh Rasio Massa Daun *Eucalyptus urophylla* Terhadap Rendemen

Pada gambar 4 dapat dilihat pengaruh rasio massa daun *Eucalyptus urophylla* terhadap rendemen pada perbandingan 5, 10, 15 : 300 (gr daun: ml pelarut) dan siklus tetap (5 siklus). Semakin besar massa daun *Eucalyptus urophylla* yang digunakan dengan volume pelarut yang tetap maka semakin sedikit rendemen yang diperoleh dari proses ekstraksi.



Gambar 4. Pengaruh Rasio Massa Daun *Eucalyptus urophylla* Terhadap Rendemen pada Volume Pelarut dan Siklus

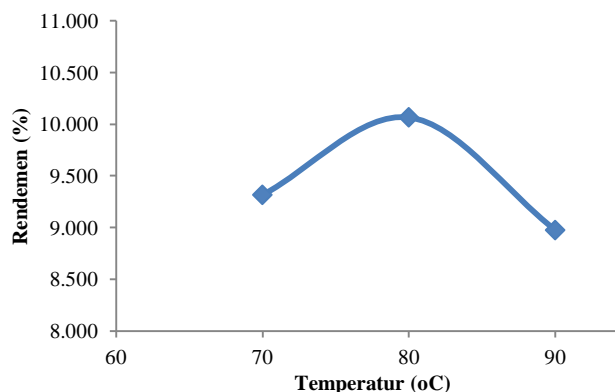
Dari gambar 4 terlihat semakin besar massa bahan yang diekstraksi maka semakin sedikit pula rendemen yang dihasilkan. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya kemampuan pelarut untuk mengambil minyak dari bahan seiring semakin besarnya rasio bahan yang diekstraksi. Ini sesuai dengan penelitian Kurniawan, dkk

(2007), bahwa semakin banyak massa umpan pada sirkulasi yang tetap maka akan semakin sedikit pula rendemen yang dihasilkan [7].

Adapun yang membedakan antara pengaruh rasio pelarut terhadap rendemen pada massa daun *Eucalyptus urophylla* tetap (gambar 3) dengan pengaruh rasio massa daun *Eucalyptus urophylla* terhadap rendemen (gambar 4) adalah adanya jumlah siklus yang ditetapkan dalam proses ekstraksi. Disimpulkan bahwa jumlah siklus yang digunakan dalam proses ekstraksi juga mempengaruhi tinggi rendahnya rendemen yang dihasilkan dan mempersingkat waktu ekstraksi soxhletasi. Namun, dari kedua grafik di atas dapat dilihat bahwa pelarut etanol 96% yang digunakan dalam ekstraksi menghasilkan rendemen yang tertinggi.

3. Pengaruh Temperatur Pelarut terhadap Rendemen

Pada gambar 5, 6 dan 7 dapat dilihat pengaruh temperatur pelarut yang digunakan terhadap rendemen pada ekstraksi daun *Eucalyptus urophylla*, dimana terjadi peningkatan dan penurunan rendemen yang diperoleh. Dari penelitian yang telah dilakukan, terlihat masing-masing pelarut memiliki temperatur optimum dalam menghasilkan rendemen.

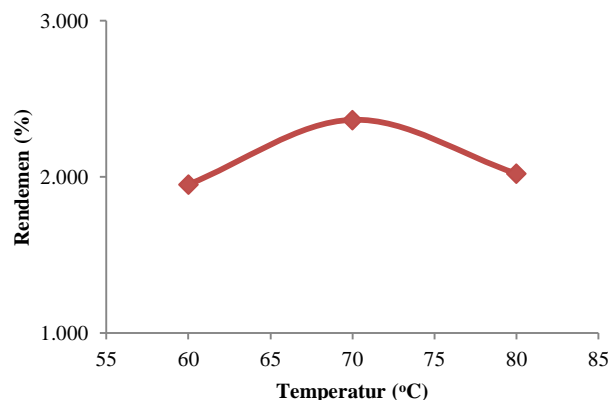


Gambar 5. Pengaruh Temperatur Pelarut yang Digunakan terhadap Rendemen pada pelarut etanol 96%

Dari gambar 5 terlihat rendemen yang tertinggi sebesar 10,065 % diperoleh pada temperatur pelarut 80 °C. Hal ini sedikit berbeda pada penelitian yang dilakukan Faith P. Mabiki, dkk (2013) pada ekstraksi akar *Synadenium glaucescens* dengan pelarut yang sama, dimana rendemen tertinggi yang dihasilkan adalah pada temperatur 75 °C [9]. Adapun perbedaan dari penelitian sebelumnya adalah optimasi kondisi ekstraksi yang dilakukan pada akar *Synadenium glaucescens*.

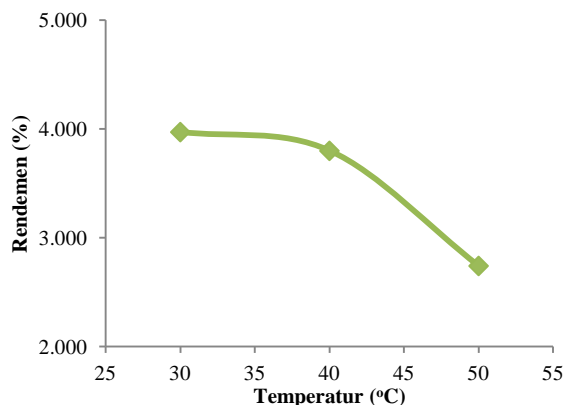
Gambar 6 menunjukkan pengaruh temperatur pelarut n-heksan terhadap rendemen yang diperoleh. Dalam penelitian ini, rendemen yang tertinggi diperoleh pada temperatur 70 °C yaitu 2,364 %. Hal ini agak berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Felix U.

Asoiro (2011), bahwa temperatur optimum pada ekstraksi *Jatropha curcas* dengan pelarut n-heksan adalah 60 °C [3]. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan bahan yang ekstraksi sehingga senyawa yang larut dalam proses ekstraksi berbeda pula.



Gambar 6. Pengaruh Temperatur Pelarut yang Digunakan terhadap Rendemen pada pelarut N-heksana

Pengaruh temperatur pelarut diklorometan terhadap rendemen yang dihasilkan proses ekstraksi daun *Eucalyptus urophylla* dapat dilihat pada gambar 7.



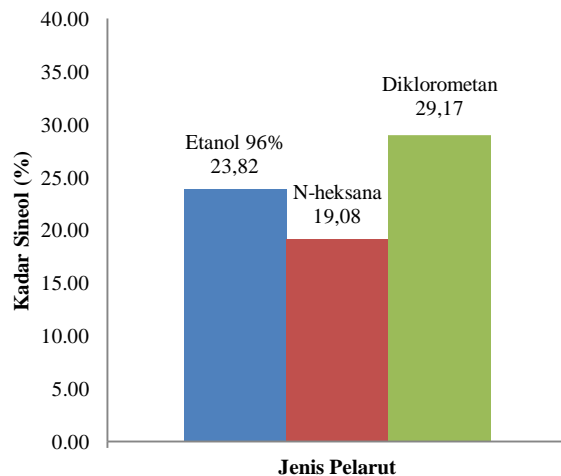
Gambar 7. Pengaruh Temperatur Pelarut Diklorometan terhadap Rendemen

Rendemen yang dihasilkan pada temperatur 30 °C menunjukkan yang tertinggi yaitu 3,970%. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Faith P. Mabiki, dkk (2013), bahwa temperatur optimum pada diklorometan terhadap rendemen dalam ekstraksi adalah 30 °C. Rendemen mengalami penurunan pada temperatur 40 dan 50 °C, hal ini dapat disebabkan adanya dekomposisi senyawa yang larut dalam ekstraksi dengan pelarut diklorometan pada temperatur tertinggi [9].

4. Analisis Kadar Sineol

Analisa kadar sineol dari minyak daun *Eucalyptus urophylla* terhadap jenis pelarut yang digunakan dalam

proses ekstraksi dilakukan menggunakan GC-MS. Pada gambar 8 terlihat persentase kadar sineol didalam berbagai jenis pelarut yang digunakan.



Gambar 8. Grafik Persentase Kadar Sineol didalam Pelarut yang digunakan

Dari gambar 8 terlihat bahwa senyawa sineol lebih banyak dihasilkan menggunakan pelarut semipolar seperti diklorometan. Namun, dilihat dari segi ekonomis bahwa pelarut yang baik menghasilkan kadar sineol adalah etanol 96% dimana harganya lebih murah daripada diklorometan.

Berdasarkan standard minyak kayu putih SNI 01-5009.11-2001, bahwa minyak kayu putih yang memiliki kadar sineol $\geq 55\%$ digolongkan sebagai mutu utama, sedangkan minyak kayu putih yang memiliki kadar sineol $\leq 55\%$ digolongkan sebagai mutu pertama. Karena kadar sineol yang diperoleh dari ekstraksi daun *Eucalyptus urophylla* ini adalah $\leq 55\%$ sehingga dapat digolongkan sebagai mutu pertama.

Kesimpulan

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstraksi daun *Eucalyptus urophylla* dengan perbandingan volume pelarut terhadap massa bahan tetap, semakin besar volume pelarut yang digunakan menghasilkan rendemen ekstrak yang tinggi pula.
2. Pada ekstraksi daun *Eucalyptus urophylla* dengan perbandingan rasio bahan terhadap volume pelarut yang tetap, semakin besar jumlah bahan yang digunakan maka akan menghasilkan rendemen ekstrak yang semakin sedikit, menghasilkan rendemen maksimum pada pelarut etanol 96%, dan menghasilkan kadar sineol maksimum dengan menggunakan pelarut diklorometan yaitu 29,17%.

3. Pada proses ekstraksi yang telah dilakukan, diperoleh temperatur optimum dari masing-masing pelarut antara lain etanol 98% pada 80 °C, n-heksana pada 70 °C dan diklorometan pada 30 °C.

Daftar Pustaka

- [1] Ahmad Anes, dkk, Extraction, Separation and identification of Chemical Ingredients of *Elephantopus Scaber.*, Vol. 1, No. 1. Penang : Malaysia 2009.
- [2] Andri Cahyo, dkk, Effect of Solvent Properties on The Soxhlet Extraction of Diterpenoid Lactones From *Andrographis Paniculata* Leaves. ScienceAsia 35, 2008 : hal. 306-309.
- [3] Asoiro Felix. U and Akubuo Clement O., Effect of Temperature on Oil Extraction of *Jatropha curcas* L. Kernel. *The Pacific Journal of Science and Technology*, 12 (2) 2011 : hal. 456-463.
- [4] Barton Allan, *Industrial Uses of Eucalyptus Oil*, Murdoch : Murdoch University, 2000.
- [5] Banat, F, *Extraction of Olive Oil from Olive Cake Using Soxhlet Apparatus*, (Departement of Chemical Engineering. Abu Dhabi, UAE, 2013.
- [6] Guenther. E, *Minyak Atsiri*, (Jilid 1, Jakarta : Universitas Indonesia, 1987).
- [7] Kurniawan Ronny, dkk, Pengambilan Minyak Cendana Menggunakan Ekstraktor Soxhlet dengan Variasi Rasio Umpan dan Jumlah Sirkulasi, *ISSN* 04 (27) 2007 : hal. 1-10.
- [8] Luthria. D. L, *Oil Extraction and Analysis*, (Departement of Agriculture., Maryland : AOCS Press, 2004).
- [9] Mabiki P. Faith., Joseph J. Magadula., Robinson H. Mdegela and Resto D. Mosha, Optimization of Extraction Conditions and Phytochemical Screening of Root Extract of *Synadenium glaucescens* Pax, *International Journal of Chemistry*, 5 (4) 2013 : hal. 1919-9698.
- [10] Munawaroh, Safaatul dan Handayani Prima Astuti, Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan Pelarut etanol dan N-Heksana, *Jurnal Kompetensi Teknik*, 2 (1) 2010 : hal. 73-78.
- [11] Scientific Committee on Food, *Opinion of The Scientific Committee on Food on Eucalyptol*, (European Commission, 2002).
- [12] Siahaan, T, *Dinamika Perubahan Kalsium dan Magnesium Akibat Sistem Tebang Habis Pada Hutan Tanaman Eucalyptus urophylla Di HPHTI PT. Toba Pulp Lestari*, Skripsi, Program Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Simalungun. Pematang Siantar, 2005.
- [13] Suyitno Haryadi, *et al.*, *Petunjuk Laboratorium Rekayasa Pangan. PAU Pangan dan Gizi* (Yogyakarta : UGM, 1989).
- [14] Wiyarno, B., R. M. Yunus and M. Mel, Extraction of Algae Oil from *Nannocloropsis* sp : Study of Soxhlet and Ultrasonic-assisted Extraction, *Journal of Applied Science*, 11 (21) 2011 : hal. 3607-3612.