



UNIVERSITAS INDONESIA

**REAKSI INTERESTERIFIKASI MINYAK JELANTAH
DENGAN METIL ASETAT MENGGUNAKAN BIOKATALIS
PORCINE PANCREATIC LIPASE UNTUK MEMPRODUKSI
BIODIESEL**

SKRIPSI

**RISAN AJI SURENDRO
0606043231**

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA EKSTENSI
DEPOK
DESEMBER 2008**



UNIVERSITAS INDONESIA

**REAKSI INTERESTERIFIKASI MINYAK JELANTAH
DENGAN METIL ASETAT MENGGUNAKAN BIOKATALIS
PORCINE PANCREATIC LIPASE UNTUK MEMPRODUKSI
BIODIESEL**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik

**RISAN AJI SURENDRO
0606043231**

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
DEPOK
DESEMBER 2008**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

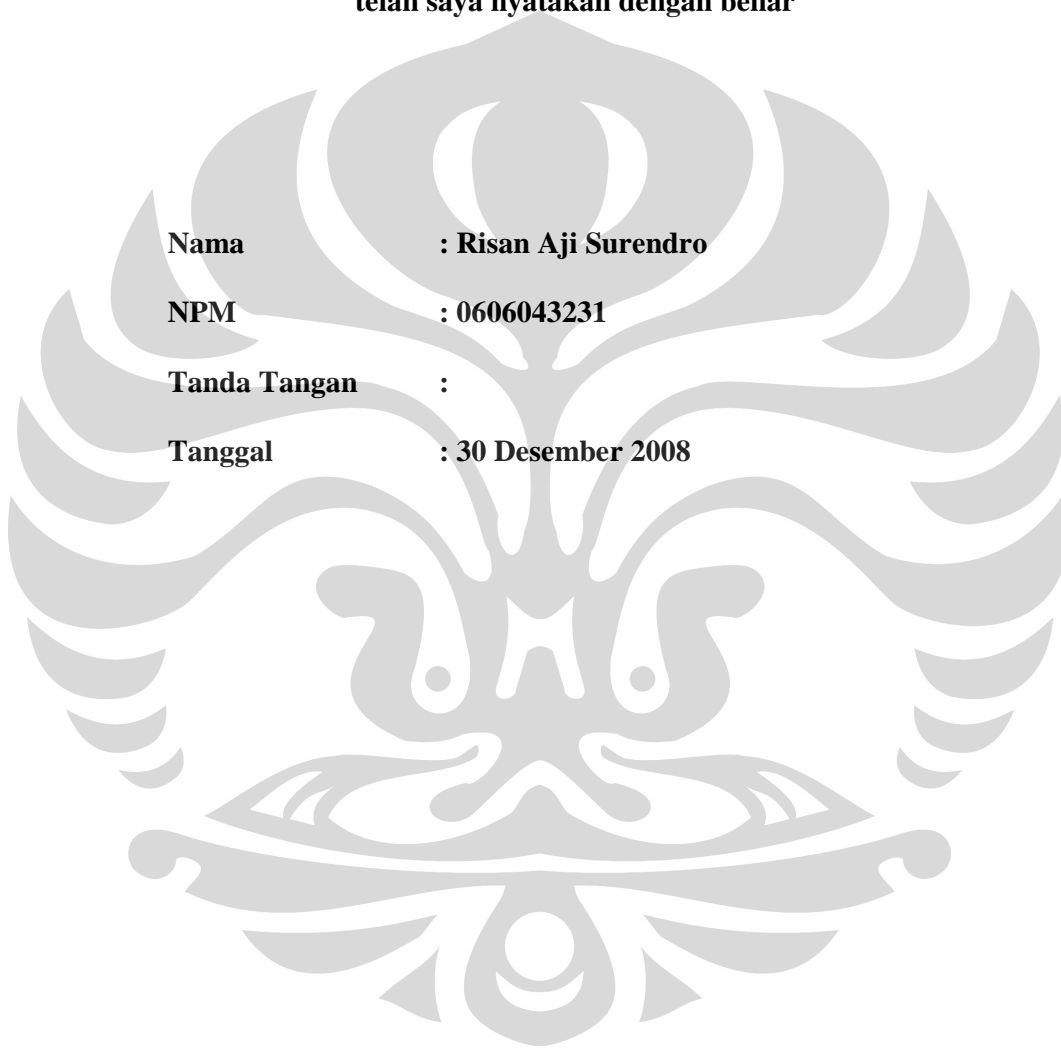
**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar**

Nama : Risan Aji Surendro

NPM : 0606043231

Tanda Tangan :

Tanggal : 30 Desember 2008



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Risan Aji Surendro
NPM : 0606043231
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi : Reaksi Interesterifikasi Minyak Jelantah dengan
Metil Asetat Menggunakan Biokatalis Porcine
Pancreatic Lipase untuk Memproduksi Biodiesel

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik Kimia pada Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Heri Hermansyah, S.T., M.Eng (.....)
Pembimbing : Ir. Rita Arbianti, M.Si (.....)
Penguji : Ir. Tania Surya Utami, MT (.....)
Penguji : Dr. Ing. Misri Gozan, M.Tech (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 30 Desember 2008

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat, rahmat dan karunia-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat beserta salam saya haturkan pada contoh terbaik sepanjang masa Rasulullah SAW. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknik Jurusan Teknik Kimia pada Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Widodo Wahyu Purwanto, DEA., selaku Ketua Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
2. Dr. Heri Hermansyah, S.T., M.Eng., selaku dosen pembimbing I.
3. Ir. Rita Arbianti, M.Si., selaku dosen pembimbing II.
4. Ir. Bambang Heru Susanto, MT, selaku penasehat akademis.
5. Seluruh dosen Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia atas kesabaran dan perhatiannya dalam menanamkan ilmu pengetahuan dan nilai kehidupan untuk penulis.
6. Bapakku, Ibuku, Adikku yang sangat penulis cintai dan sayangi, yang tak henti-hentinya memberikan doa, kasih sayang, dukungan dan semangat kepada penulis selama ini yang tidak akan pernah mungkin penulis dapat membalasnya sampai kapanpun.
7. Teman-teman yang sudah membantu dan mendukung penulis, semoga kebaikan kalian mendapat pahala yang berlimpah, amin.

ABSTRAK

Nama : Risan Aji Surendro
Program Studi : Teknik Kimia
Judul : Reaksi Interesterifikasi Minyak Jelantah dengan Metil Asetat Menggunakan Biokatalis Porcine Pancreatic Lipase untuk Memproduksi Biodiesel

Biodiesel telah menarik perhatian sebagai sumber energi alternatif. Biodiesel telah diproduksi secara komersial melalui reaksi transesterifikasi antara minyak nabati dengan metanol menggunakan katalis alkali. Tetapi katalis alkali ini mempunyai beberapa kelemahan, seperti terjadinya reaksi pembentukan sabun akibat bereaksinya katalis alkali dengan asam lemak bebas. Selain itu katalis yang bercampur homogen juga mengakibatkan kesulitan dalam pemurnian produk.

Metode baru yang akan dikembangkan adalah rute non alkohol. Rute non alkohol bisa dilakukan dengan cara mengganti alkohol dengan metil asetat yang sama-sama berfungsi sebagai pensuplai alkil. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi biodiesel terbesar yang dihasilkan adalah 3.0764 (mol/L) menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic. Namun untuk % yield biodiesel terbesar adalah 59.08 % yang dihasilkan menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi dengan rasio mol minyak : metil asetat adalah 1:12.

ABSTRACT

Name : Risan Aji Surendro
Study : Chemical Engineering
Tittle : Interesterification Reaction of Used Vegetables Oil with Methyl Acetat using Porcine Pancreatic Lipase as Biocatalyst for Producing Biodiesel

The current biodiesel production processed commercially through transesterification of vegetabel oil with methanol using alkaline catalysts. Although conventional chemical technology using alkaline catalysts has been applied to biodiesel fuel production, there are several drawbacks to this approach, including saponification reaction occurs, the need for removal of catalyst, and difficulties of this purity process at the end makes biodiesel price become expensive.

In this paper, a new method is developed by replacing alcohol reaction route to non-alcohol reaction route. Methanol as acyl acceptor would be substituted by methyl acetate for biodiesel production. The result of this research shows that the highest biodiesel concentration is 3.0764 (mol/L) which's obtained from Porcine Pancreatic as biocatalyst. However, the highest % *yield* biodiesel formed is 59.08 % achieved from lipase in suspension form as biocatalyst with molar rasio oil to methyl acetat is 1:12.

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Batasan Masalah	4
1.5 Sistematika Penulisan	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Biodiesel	6
2.1.1 Sejarah Biodiesel	6
2.1.2 Definisi Biodiesel	8
2.1.3 Reaksi Sintesis Biodiesel Konvensional	10
2.2. Biokatalis	18
2.2.1 Lipase	19
2.2.2 Klasifikasi Lipase	21
2.2.3 Faktor yang mempengaruhi aktivitas lipase	22
2.2.4 Porcine Pancreatic Lipase	23
2.3. Imobilisasi Enzim Lipase	26
2.3.1 Metode Imobilisasi Biokatalis	26
2.3.2 Bahan <i>Support</i> Biokatalis	29
2.3.3 Metode Adsorpsi Biokatalis Menggunakan Zeolit sebagai <i>Support</i> ...	30
2.4. Rute Non Alkohol	33
2.4.1 Reaksi	33
2.4.2 Produk	34
2.4.3 Kelebihan dan Kekurangan	34
2.5. State of The Art	35
2.5.1 Riset Rute Non Alkohol di Dunia	35
2.5.2 Riset Rute Non Alkohol di Indonesia	36
2.6 Kinetika Reaksi Enzimatik	41
2.6.1 Reaksi Enzimatik Michaelis-Menten	41
BAB III METODE PENELITIAN	44
3.1 Alur Penelitian	44
3.2 Alat dan Bahan	45
3.2.1 Alat Percobaan	45
3.2.2 Bahan Percobaan	45

3.3	Prosedur Percobaan.....	46
3.3.1	<i>Screening</i> Biokatalis	46
3.3.2	Set Up Reaktor	46
3.3.3	Percobaan Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Katalis NaOH.....	46
3.3.4	Percobaan Immobilisasi Enzim.....	49
3.3.5	Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi	51
3.3.6	Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi	53
3.3.7	Fitting Kurva Michaelis Menten metode linierisasi.....	54
3.3.8	Teknis Analisis Data	57
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	59
4.1	Kurva Hasil HPLC	59
4.2	Hasil Reaksi Sintesa Biodiesel Menggunakan Katalis NaOH.....	60
4.3	Hasil Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Porcine Pancreatic Lipase Bentuk tersuspensi	64
4.4	Pengaruh konsentrasi enzim.....	69
4.5	Pengaruh Rasio Substrat	71
4.6	Pengaruh Immobilisasi Metode Adsorpsi Menggunakan Biokatalis Porcine Pancreatic Lipase.....	73
4.5	Hasil Fitting Kurva Mekanisme Reaksi Michaelis-Menten.....	80
BAB V	KESIMPULAN	85
	DAFTAR REFERENSI	87

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Contoh Biodiesel.....	8
Gambar 2. 2 Rumus Biodiesel	8
Gambar 2. 3 Reaksi esterifikasi dari asam lemak menjadi metil ester	10
Gambar 2. 4 Reaksi Transesterifikasi dari Trigliserida dengan alkohol.....	11
Gambar 2. 5 Tahapan reaksi transesterifikasi	12
Gambar 2. 6 Struktur trigliserida pada minyak kelapa sawit.....	12
Gambar 2. 7 Struktur molekul asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh ...	13
Gambar 2. 8 Struktur kimia trigliserida	14
Gambar 2. 9 Minyak Jelantah	16
Gambar 2. 10 Struktur Lipase	20
Gambar 2. 11 Pseudomonas sp	22
Gambar 2. 12 Aspergillus Niger	22
Gambar 2. 13 G. Candidum	22
Gambar 2. 14 Porcine Pancreatic Lipase	25
Gambar 2. 15 Metode immobilisasi enzim	27
Gambar 2. 16 Metode <i>entrapment</i>	28
Gambar 2. 17 Metode <i>cross linking</i>	29
Gambar 2. 18 Metode <i>covalent binding</i>	29
Gambar 2. 19 Metode Adsorpsi	30
Gambar 2. 20 Reaksi kimia zeolit.....	31
Gambar 2. 21 Grafik Pengaruh Temperatur terhadap Jumlah zat teradsorp.....	33
Gambar 2. 22 Reaksi interesterifikasi minyak nabati melalui rute reaksi non alkohol.....	34
Gambar 2. 23 Tahapan Reaksi interesterifikasi	34
Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian Sintesis Biodiesel.....	44
Gambar 3. 2 Skematik diagram Reaktor <i>batch</i> Interesterifikasi Sintesis Biodiesel Secara Enzimatik.....	46
Gambar 3. 3 Diagram Alir Interesterifikasi menggunakan katalis NaOH.....	49
Gambar 3. 4 Diagram aktifitas Penyangga	50
Gambar 3. 5 Diagram Alir Prosedur Immobilisasi Biokatalis	51
Gambar 3. 6 Diagram Alir Reaksi Interesterifikasi sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi (substrat : minyak jelantah; t = 200 jam; T = 37 ^o C).....	52
Gambar 3. 7 Diagram Alir Reaksi Interesterifikasi sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi (substrat : minyak jelantah; t = 200 jam; T = 37 ^o C).....	54
Gambar 3. 8 Unit HPLC yang digunakan untuk Menganalisa Metil Ester	57
Gambar 4. 1 Kurva standar biodiesel HPLC.....	59
Gambar 4. 2 hasil analisa sampel biodiesel	60
Gambar 4. 3 Substrat minyak jelantah saat sebelum reaksi (t = 0 menit).....	60
Gambar 4. 4 Proses sintesis biodiesel menggunakan katalis NaOH.....	61
Gambar 4. 5 Hasil reaksi interesterifikasi melalui rute non alkohol dengan substrat minyak jelantah menggunakan katalis NaOH	62

Gambar 4. 6 Produk metil ester hasil pemurnian dengan menghilangkan kandungan airnya.....	63
Gambar 4. 7 Konsentrasi Biodiesel yang terbentuk menggunakan katalis NaOH.....	63
Gambar 4. 8 NaOH yang sulit larut dalam metil asetat.....	64
Gambar 4. 9 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel dengan substrat minyak jelantah menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi (t = 50 jam; T= 37 ^o C , rasio mol reaktan = 1: 12).....	65
Gambar 4. 10 Laju konsentrasi tri oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dan <i>Candida rugosa</i> dalam bentuk tersuspensi.....	65
Gambar 4. 11 Laju konsentrasi di oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dan <i>Candida rugosa</i> dalam bentuk tersuspensi.....	65
Gambar 4. 12 Laju konsentrasi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dan <i>Candida rugosa</i> dalam bentuk tersuspensi.....	66
Gambar 4. 13 Laju konsentrasi biodiesel (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dan <i>Candida rugosa</i> dalam bentuk tersuspensi.....	66
Gambar 4. 14 Persiapan pembuatan larutan lipase.....	67
Gambar 4. 15 Tahapan reaksi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic Lipase.....	68
Gambar 4. 16 % yield biodiesel pada waktu 50 dan 100 jam, dari biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi.....	68
Gambar 4. 17 Enzim Porcine Pancreatic Lipase yang digunakan sebagai biokatalis.....	69
Gambar 4. 18 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap % yield biodiesel dari lipase <i>Candida rugosa</i> dan Porcine Pancreatic dalam bentuk tersuspensi.....	70
Gambar 4. 19 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap % yield biodiesel dari lipase <i>Candida rugosa</i> dan Porcine Pancreatic dalam bentuk tersuspensi,.....	70
Gambar 4. 20 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap % yield biodiesel dari lipase Porcine Pancreatic, <i>Candida rugosa</i> dan <i>Candida antarctica</i> yang terimmobilisasi metode adsorpsi,.....	71
Gambar 4. 21 Pengaruh rasio mol substrat terhadap % yield biodiesel yang dihasilkan menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic dan <i>Candida rugosa</i> Lipase dalam bentuk tersuspensi.....	72
Gambar 4. 22 Pengaruh rasio mol substrat terhadap % yield biodiesel yang dihasilkan menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic dan <i>Candida rugosa</i> Lipase yang terimmobilisasi.....	72
Gambar 4. 23 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel dengan substrat minyak jelantah menggunakan Porcine Pancreatic Lipase immobilisasi metode adsorpsi (t = 50 jam; T= 37 ^o C , rasio mol reaktan = 1: 12).....	75
Gambar 4. 24 Laju konsentrasi tri oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Lipase Porcine Pancreatic, <i>Candida rugosa</i> dan <i>Candida antarctica</i> immobilisasi metode adsorpsi (t = 50 jam ; T= 37 ^o C; rasio mol reaktan = 1: 12).....	75

Gambar 4. 25 Laju konsentrasi di oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Lipase Porcine Pancreatic, <i>Candida rugosa</i> dan <i>Candida antarctica</i> immobilisasi metode adsorpsi (t = 50 jam ; T= 37°C; rasio mol reaktan = 1: 12)	75
Gambar 4. 26 Laju konsentrasi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Lipase Porcine Pancreatic , <i>Candida rugosa</i> dan <i>Candida antarctica</i> immobilisasi metode adsorpsi (t = 50 jam ; T= 37°C; rasio mol reaktan = 1: 12)	76
Gambar 4. 27 Laju konsentrasi biodiesel (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Lipase Porcine Pancreatic , <i>Candida rugosa</i> dan <i>Candida antarctica</i> immobilisasi metode adsorpsi (t = 50 jam ; T= 37°C; rasio mol reaktan = 1: 12)	76
Gambar 4. 28 Zeolit Teraktivasi	78
Gambar 4. 29 Tahap Imobilisasi Lipase Porcine Pancreatic powder pada zeolit	79
Gambar 4. 30 Hasil reaksi interesterifikasi menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	79
Gambar 4. 31 yield biodiesel pada waktu 50 dan 100 jam, dari biokatalis Porcine Pancreatic lipase yang terimmobilisasi metode adsorpsi	79
Gambar 4. 32 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi	81
Gambar 4. 33 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Porcine Pacreatic Lipase dalam bentuk immobilisasi metode adsorpsi	82

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Spesifikasi Biodiesel menurut ASTM (USA), EDIN (Eropa) dan SNI (Indonesia)	7
Tabel 2. 2 Karakteristik Biodiesel	9
Tabel 2. 3 Perbandingan karakteristik biodiesel dengan solar	9
Tabel 2. 4 Kandungan Asam Lemak yang Terikat Pada Trigliserida Minyak Sawit	14
Tabel 2. 5 Perbandingan emisi yang dihasilkan Biodiesel dan Solar	17
Tabel 2. 6 Hasil uji laboratorium perbandingan Biodiesel dan Solar	18
Tabel 2. 7 Jenis biokatalis dan produk yang dihasilkan.....	20
Tabel 2. 8 Berbagai macam metode immobilisasi untuk enzim	28
Tabel 2. 9 Perbandingan Kelebihan dan Kekurangan Rute Non-Alkohol	34
Tabel 2. 10 Summary Rute Non Alkohol	40
Tabel 3. 1 Kondisi Operasi Reaksi Menggunakan Katalis NaOH.....	47
Tabel 3. 2 Kondisi Operasi untuk Reaksi Lipase dalam Bentuk suspensi.....	52
Tabel 3. 3 Kondisi Operasi Uji Aktivitas menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Absorpsi	53
Tabel 3. 4 Spesifikasi Alat HPLC	58
Tabel 4. 1 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi	80
Tabel 4. 2 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi	81
Tabel 4. 3 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk immobilisasi metode adsorpsi	81
Tabel 4. 4 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk immobilisasi metode adsorpsi	82
Tabel 4. 5 Nilai V_{max} dan K_m untuk masing-masing grafik hasil fitting metode linierisasi (Porcine Pancreatic Lipase, <i>Candida rugosa</i> dan <i>Candida antartica</i>)..	83

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bahan bakar minyak adalah sumber energi dengan konsumsi yang terbesar untuk saat ini diseluruh dunia jika dibandingkan dengan sumber energi lainnya. Tetapi saat ini dunia mengalami krisis bahan bakar minyak. Banyak negara terutama Indonesia, mengalami masalah kekurangan bahan bakar minyak (dari bahan bakar fosil) untuk negaranya sendiri[1]. Oleh karena itu, pencarian terhadap energi alternatif selain minyak bumi merupakan sebuah isu besar dalam kaitannya dengan politik dan menjadi salah satu primadona permasalahan lingkungan global di dunia internasional.

Peluang di Indonesia adalah usaha eksploitasi sumber daya alam yang sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan bakar alternatif, mengingat Indonesia memiliki beragam sumber energi alternatif terbarukan. Salah satu sumber energi alternatif yang terbarukan adalah biodiesel. Biodiesel secara umum adalah bahan bakar mesin diesel yang terbuat dari bahan terbarukan atau secara khusus merupakan bahan bakar mesin diesel yang terdiri atas ester alkil dari asam-asam lemak. Biodiesel dapat dibuat dari minyak nabati, minyak hewani atau dari minyak jelantah.

Konsep penggunaan minyak tumbuh-tumbuhan sebagai bahan pembuatan bahan bakar sudah dimulai pada tahun 1895 saat Dr. Rudolf Christian Karl Diesel mengembangkan mesin kompresi pertama yang secara khusus dijalankan dengan minyak tumbuh-tumbuhan. Penelitian di bidang ini terus berkembang dengan memanfaatkan beragam lemak nabati dan hewani untuk mendapatkan bahan bakar hayati dan dapat diperbaharui. Perkembangan ini mencapai puncaknya di pertengahan tahun 80-an dengan ditemukannya alkil ester asam lemak yang memiliki karakteristik hampir sama dengan minyak diesel fosil yang dikenal dengan biodiesel[2].

Bahan dasar pembuatan biodiesel berasal dari minyak nabati (minyak yang berasal dari tumbuh-tumbuhan). Salah satu pemanfaatan bahan dari minyak nabati adalah limbah minyak jelantah[3]. Minyak jelantah merupakan limbah yang sangat berbahaya apabila dikonsumsi, karena akan menimbulkan beberapa

penyakit bagi manusia, diantaranya adalah kanker dan penyempitan pembuluh darah. Sedangkan apabila minyak jelantah ini dibuang ke lingkungan akan dapat mencemari lingkungan sekitar[4].

Walaupun warnanya sudah sangat pekat karena sering digunakan, minyak jelantah, tidak akan lagi menjadi barang buangan, namun minyak jelantah tersebut masih bisa dimanfaatkan. Minyak jelantah tersebut dapat digunakan untuk energi biodiesel yang bisa menghidupkan mesin diesel tanpa atau tidak dengan substitusi solar. Hal ini dikarenakan minyak jelantah harus terlebih dahulu diperbaiki melalui proses transesterifikasi. Bahan baku yang diperlukan untuk membuat biodiesel dari minyak jelantah itu adalah minyak jelantah yang sudah disaring dengan kain tiga lapis[5].

Biodiesel yang berasal dari minyak jelantah sifatnya ramah lingkungan, tidak mencemari air, udara, maupun tanah karena mudah terurai secara biologis dan bahan bakunya dapat diperbaharui. Pemakaian minyak jelantah sebagai bahan baku pembuatan biodiesel dapat meminimalisir pencemaran lingkungan akibat limbah minyak jelantah yang berasal dari industri – industri rumah tangga. Dengan memakai limbah minyak jelantah tersebut juga dapat mereduksi biaya produksi biodiesel yang tergolong mahal, dikarenakan terbatasnya ketersediaan bahan baku dan harganya yang relatif tinggi[6].

Salah satu proses pembuatan biodiesel dari minyak jelantah adalah melalui reaksi transesterifikasi. Reaksi transesterifikasi trigliserida minyak nabati dengan metanol menggunakan katalis alkali. Untuk membuat biodiesel, metanol tersebut dicampur dengan soda dan dipanasi dalam suhu 60 °C. minyak goreng jelantah sebagai bahan baku lainnya juga dipanasi dengan suhu yang sama. Ketiga bahan tersebut setelah dipanaskan kemudian dicampur. Setelah pencampuran itu akan terjadi reaksi kimia sekitar satu jam 45 menit. Setelah itu reaksi tersebut dihentikan dan bahan yang sudah dicampur tersebut didinginkan dalam suhu 30 °C. Setelah dingin, bahan yang telah tercampur tersebut kemudian didiamkan sekitar 10 jam. Saat itu akan terjadi pemisahan sebagai hasil dari reaksi kimia antara metanol, soda dan minyak goreng. Bila kita menggunakan satu kilogram minyak jelantah, akan diperoleh biodiesel hingga mencapai 95 persen atau seberat

0.95 kilogram. Kemurnian biodiesel ini pun terbilang tinggi, mencapai 93 persen[4].

Penggunaan katalis alkali ini memiliki beberapa kelemahan diantaranya pemurnian produk dari katalis yang bercampur homogen relatif sulit. Selain itu, katalis sendiri dapat bereaksi dengan terjadinya reaksi penyabunan. Reaksi samping yang tidak diinginkan juga pada akhirnya membebani proses pemurnian produk dan menurunkan yield biodiesel yang pada akhirnya mengakibatkan biaya produksi yang tinggi. Untuk mengatasi masalah di atas, diperlukan katalis yang tidak ikut bercampur secara homogen dan mampu mengarahkan reaksi secara spesifik menghasilkan produk yang diinginkan tanpa reaksi samping[7].

Penelitian sintesis biodiesel dengan menggunakan enzim lipase sebagai katalis semakin banyak dilakukan. Penggunaan enzim lipase sebagai biokatalis untuk sintesis biodiesel memiliki prospek yang menguntungkan karena dapat memperbaiki kelemahan katalis alkali yaitu tidak bercampur homogen sehingga pemisahannya mudah dan mampu mengarahkan reaksi secara spesifik tanpa adanya reaksi samping yang tak diinginkan[7]. Selain kelebihanannya, penggunaan lipase sebagai katalis untuk sintesis biodiesel masih menyisakan masalah yang cukup besar. Lingkungan beralkohol seperti metanol menyebabkan lipase terdeaktivasi secara cepat dan stabilitasnya dalam mengkatalisis reaksi menjadi buruk. Untuk menyelesaikan masalah tersebut, dalam proposal penelitian ini diusulkan untuk mengganti metanol dengan metil asetat[8].

Dalam penelitian ini, metanol akan digantikan dengan metil asetat sebagai penuplai gugus metil. Penggantian alkohol dengan alkil asetat ini diharapkan mampu mencegah deaktivasi dan meningkatkan stabilitas enzim lipase selama proses reaksi secara signifikan. Disamping itu, produk samping rute non alkohol ini yaitu *triacetilglycerol* mempunyai nilai jual yang lebih tinggi dibanding produk samping yang rute alkohol yaitu gliserol. Hasil reaksi yang bernilai lebih tinggi diharapkan mampu membuat sintesis biodiesel secara enzimatik bisa lebih kompetitif di level industri dan layak untuk dikomersialkan di masa depan nanti[9].

Pada penelitian ini akan dilakukan immobilisasi enzim lipase yang digunakan. Teknik ini dikembangkan untuk memperbaiki beberapa kekurangan

penggunaan enzim, seperti: harga enzim yang mahal, ketidak-stabilan enzim, ketersediaan enzim yang sangat sedikit, dan mahalnya biaya untuk *recovery* enzim yang digunakan pada reaksi dalam media cair karena sifat enzim yang larut dalam media cair. Immobilisasi enzim disini maksudnya adalah menggabungkan suatu enzim dengan suatu matrik padat (*support*) secara fisik, sehingga enzim dapat digunakan secara berulang kali dan secara kontinyu.

1.2 Perumusan Masalah

Untuk menghasilkan produk biodiesel dari minyak jelantah, diperlukan berbagai macam optimalisasi yang harus dilakukan dalam proses transesterifikasi. Proses optimalisasi meliputi hal-hal berikut :

1. Berapakah % *yield* dan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan dari substrat minyak jelantah melalui rute non-alkohol dengan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi dan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi?
2. Berapakah kondisi operasi yang optimal untuk enzimatik sintesa biodiesel melalui rute non alkohol?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui berapa banyak % *yield* dan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan.
2. Mendapatkan kondisi operasi yang optimal untuk enzimatik sintesa biodiesel melalui rute non alkohol.

1.4 Batasan Masalah

Dalam penelitian ini, pembatasan terhadap masalah yang akan dibahas adalah sebagai berikut :

1. Substrat yang dipakai berasal dari minyak jelantah
2. Minyak jelantah dibuat sendiri.
3. Menggunakan biokatalis porcine pancreatic lipase.
4. Menggunakan metil asetat sebagai pensuplai gugus metil.

1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan dalam skripsi ini adalah sebagai berikut:

BAB I : PENDAHULUAN

Menjelaskan tentang latar belakang, rumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah, dan sistematika penulisan.

BAB II : TINJAUAN PUSTAKA

Dalam bab ini berisi tentang prinsip dasar ilmu yang berkaitan dengan penelitian. Membahas tentang mekanisme pembuatan biodiesel, Enzim yang digunakan Porcine Pancreatic Lipase, membahas mengenai perlakuan enzim yang terimobilisasi.

BAB III : METODOLOGI PENELITIAN

Menjelaskan diagram alir penelitian, bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian, serta prosedur yang dilakukan pada percobaan yakni imobilisasi enzim lipase.

BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN

Menjelaskan hasil dari eksperimen, yaitu tentang lipase yang terimobilisasi dengan metode adsorpsi dan tersuspensi dan menentukan nilai V_m dan K_m berdasarkan mekanisme reaksi Michelis Menten menggunakan metode linierisasi.

BAB V : KESIMPULAN

Menyimpulkan hasil dari eksperimen yang dilakukan menggunakan lipase porcine pancreatic terimobilisasi metode adsorpsi dan tersuspensi serta nilai V_m dan K_m yang didapat berdasarkan mekanisme reaksi Michaelis Menten menggunakan metode linierisasi.

DAFTAR PUSTAKA

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Biodiesel

2.1.1. Sejarah Biodiesel

Transesterifikasi minyak nabati yang pertama kali dilakukan pada tahun 1853 oleh dua orang ilmuwan, yaitu E. Duffy dan J. Patrick. Hal ini terjadi sebelum mesin diesel pertama ditemukan. Baru pada tanggal 10 Agustus 1893, di Augsburg, Jerman, Rudolph Diesel mempertunjukkan model mesin diesel penemuannya [11]. Pada world Fair tahun 1898 di Paris, Perancis, Rudolph Diesel memamerkan mesin dieselnnya yang menggunakan bahan bakar dari minyak kacang tanah. Dia mengira bahwa penggunaan bahan bakar biomassa memang masa depan bagi mesin ciptaannya. Namun, pada tahun 1920, mesin diesel diubah supaya dapat menggunakan bahan bakar fosil (*Petrodiesel*) dengan viskositas yang lebih rendah dari biodiesel. Penyebabnya karena pada waktu itu petrodiesel relatif lebih murah dari pada biodiesel [12].

Biodiesel (*fatty acid methyl esters*) adalah *cleaner-burner diesel replacement fuel* yang terbuat dari bahan-bahan alami dari sumber terbarukan seperti minyak makan dan lemak hewan. Seperti halnya solar dan minyak bumi, biodiesel dapat digunakan untuk bahan bakar mesin diesel. Campuran antara 20% biodiesel dengan minyak bumi dapat digunakan untuk hampir semua mesin diesel baik transportasi maupun industri dan cocok dengan alat penyimpanan dan distribusi solar minyak bumi. Campuran yang lebih tinggi kadarnya, sampai biodiesel murni (100% biodiesel atau B100) dapat digunakan untuk banyak mesin diesel buatan mulai tahun 1994 dengan sedikit modifikasi [13].

Penggunaan biodiesel pada mesin diesel dapat mengurangi emisi hidrokarbon tak terbakar, karbon monoksida (CO), sulfat, hidrokarbon polisiklis aromatik, nitrat hidrokarbon polisiklis aromatik dan partikel padatan. Reduksi ini akan semakin tinggi dengan persentase biodiesel yang semakin tinggi. Reduksi terbaik adalah pada penggunaan biodiesel murni atau B 100. Penggunaan biodiesel akan menurunkan fraksi karbon dari partikel padatan karena dalam biodiesel telah terdapat atom oksigen yang mendukung terjadinya oksidasi sempurna karbon monoksida menjadi karbon dioksida (CO₂). Penggunaan

biodiesel juga menurunkan fraksi sulfat karena biodiesel hanya mengandung sulfur lebih sedikit, kurang dari 24 ppm belerang[13].

Biodiesel dapat dibuat dari destilat asam lemak minyak sawit dengan proses transesterifikasi saja maupun proses pretreatment terhadap minyak dan asam lemak terlebih dahulu. Sekitar 55% dari biodiesel industri dapat menggunakan destilat asam lemak minyak sawit. Sebagian lainnya hanya menggunakan minyak nabati. Pemakaian minyak nabati yang diperkirakan akan semakin banyak adalah jenis minyak kedelai, minyak kacang dan minyak kelapa sawit.

Campuran biodiesel dengan minyak diesel dapat memperbaiki angka setana, sifat pelumasan dan emisi gas buang yang dihasilkan oleh minyak diesel serta menghasilkan performa mesin yang sama tanpa membutuhkan modifikasi pada mesin diesel dan mempunyai titik nyala (*flash point*) yang lebih tinggi. Keuntungan lain dari penggunaan biodiesel sebagai bahan bakar adalah sifatnya yang dapat diuraikan secara biologis (*biodegradable*), tidak beracun (*non-toxic*) dan tidak mengandung senyawa sulfur dan aromatik (karsinogenik) sehingga tidak mengandung emisi gas buang yang berbahaya bagi kesehatan.

Produk biodiesel (metil ester) harus memenuhi persyaratan atau spesifikasi yang sudah ditetapkan oleh suatu negara untuk dapat dipakai sebagai bahan bakar setara solar. Amerika Serikat mempunyai spesifikasi berdasarkan standar ASTM D 6751-02, dan Eropa berdasarkan EDIN 51606 dan juga Indonesia mempunyai Standar Nasional Indonesia (SNI). Spesifikasi yang sudah ditetapkan berdasarkan standar tersebut disajikan pada Tabel 2.1 untuk menjamin konsistensi kualitas biodiesel untuk memenuhi spesifikasi tergantung pada kondisi proses pengolahan dan pemurnian produk setelah produksi.

Tabel 2. 1 Spesifikasi Biodiesel menurut ASTM (USA), EDIN (Eropa) dan SNI (Indonesia)[14]

Karakteristik	ASTM D-6751	EDIN 51606	SNI
Density @ 15 ⁰ C	0.875 – 0.9 g/mL	0.875 – 0.9 g/mL	0.85 – 0.89 g/mL
Viskositas @ 40 ⁰ C	1.9 – 6.0 mm ² /sec	3.5 – 5.0 mm ² /sec	2.3 -6.0 mm ² /sec
Flashpoint	130 ⁰ C	110 ⁰ C	100 ⁰ C
Water & Sediment	0.050 max % vol	0.030 max % vol	0.050 max % vol
Acid Number	0.8	0.5	0.8
Free Glycerin	0.02	0.02	0.02 max
Total Glycerin	0.24	0.25	0.24 max
Cetane	47 min	49 min	51 min
Carbon Residue	0.05% max	0.05% max	0.05 % max

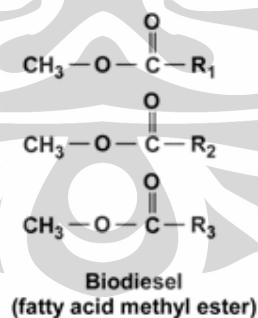
2.1.2. Definisi Biodiesel

Biodiesel adalah bahan bakar yang dapat diperbaharui dan dapat terbuat dari lemak hewani maupun minyak nabati dengan melalui proses transesterifikasi. Secara kimiawi, biodiesel adalah bahan bakar yang mengandung monoalkil ester dari asam lemak rantai panjang. Beberapa minyak nabati yang sudah dan dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan biodiesel yaitu minyak kelapa sawit, minyak kelapa, minyak kedelai, minyak *rapesad* (*canola*), dan minyak bunga matahari.



Gambar 2. 1 Contoh Biodiesel[11]

Biodiesel memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan bahan bakar konvensional antara lain berupa sifatnya yang dapat diperbaharui dan tidak beracun sehingga merupakan alternatif potensial dalam mengatasi permasalahan keterbatasan sumber energi yang berasal dari fosil. Dengan memproduksi biodiesel, negara pengimpor minyak seperti Indonesia memiliki peluang untuk mengurangi impor di tengah tingginya harga minyak mentah dewasa ini.



Gambar 2. 2 Rumus Biodiesel

Keuntungan lain adalah sifatnya yang lebih ramah lingkungan dibanding dengan bahan bakar fosil. Biodiesel dapat mereduksi emisi gas berbahaya seperti karbon monoksida (CO), ozon (O₂), nitrogen oksida (NO_x), sulfur oksida (SO_x) dan hidrokarbon reaktif lainnya.

Tabel 2. 2 Karakteristik Biodiesel[15]

Gravitasi spesifik (gr/mL)	0,87 – 0,89
Viskositas kinematik (mm ² /s) @ 40°C	3,7 – 5,8
Angka setana	46 – 70
Nilai pemanasan tertinggi (btu/lb)	16928 – 17996
Sulfur, wt%	0,0 – 0,0024
Titik asap (<i>Cloud point</i>) °C	-11 – 16
Titik tuang (<i>Pour point</i>) °C	-15 – 13
Angka iodine	60 – 135
Nilai pemanasan terendah (Btu/lb)	15700 – 16735

Biodiesel mempunyai sifat kimia dan fisika yang serupa dengan petroleum diesel. Walaupun kandungan kalorinya hampir sama, Tetapi karena biodiesel mengandung oksigen, flash pointnya lebih tinggi sehingga tidak mudah terbakar. Disamping itu, biodiesel tidak mengandung sulfur dan senyawa benzena yang karsinogenik, sehingga biodiesel merupakan bahan bakar yang lebih bersih dan lebih mudah ditangani dibandingkan dengan petroleum diesel. Perbandingan emisi hasil pembakaran minyak solar dengan biodiesel (yang diperoleh melalui pencampuran metil ester minyak nabati dengan solar) dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2. 3 Perbandingan karakteristik biodiesel dengan solar[16]

No	Parameter	Satuan	BBM Solar	Biodiesel
1	Densitas	kg/m ³	820 - 870 (15°C)	850 – 890 (40°C)
2	Viskositas kinematika (40 °C)	Mm ² /s (cSt)	1.6 - 5,8	2,3 – 6,0
3	Angka setana	°C	min. 45	min. 51
4	Titik nyala	°C	min. 60	min. 100
5	Titik embun	°C		maks. 18
6	Titik tuang	Rating	maks. 18	
7	Korosi garis tembaga	(3 jam pada 50°C)	maks. no 1	maks. no 3
8	Residu karbon			
	- dalam sampel yang tidak terdistilasi	% (m/m)	-	maks. 0,05
	- dalam 10% residu yang terdistilasi	% (m/m)	maks. 0.1	maks. 0,30
9	Sedimen dan air	%-vol.	maks. 0,05	maks. 0,05
10	90% (v/v) kembali pada suhu distilasi	°C	-	maks. 360

11	95% (v/v) kembali pada suhu distilasi	°C	maks. 370	-
12	Kandungan debu (debu sulfat)	% (m/m)	maks.0,01	maks.0,02
13	Kandungan sulfur	ppm-m (mg/kg)	maks.. 5000	maks. 100
14	Kandungan fosfor	ppm-m (mg/kg)	-	maks. 10
15	Tingkat keasamaan	mg-KOH/g	maks.0,6	maks.0,8
16	Gliserol bebas	% (m/m)	-	maks. 0,02
17	Gliserol total	% (m/m)	-	maks. 0,24
18	Kandungan ester	% (m/m)	-	min. 96,5
19	Angka yodium	% (m/m) (g-I2/100g)	-	maks. 115
20	Tes halphen		-	Negatif

2.1.3. Reaksi Sintesis Biodiesel Konvensional

2.1.3.1. Esterifikasi

Esterifikasi adalah konversi dari asam lemak bebas menjadi ester. Esterifikasi mereaksikan minyak lemak dengan alkohol. Katalis-katalis yang cocok adalah zat berkarakter asam kuat dan karena ini asam sulfat, asam sulfonat organik atau resin penukar kation asam kuat merupakan katalis-katalis yang biasa terpilih dalam praktek industrial. Untuk mendorong agar reaksi bisa berlangsung kekonversi yang sempurna pada temperature rendah (misalnya paling tinggi 120°C), reaktan metanol harus ditambahkan dalam jumlah yang sangat berlebih dan air produk ikutan reaksi harus disingkirkan dari fasa reaksi, yaitu fasa minyak. Melalui kombinasi-kombinasi yang tepat dari kondisi-kondisi reaksi dan metode penyingkiran air, konversi sempurna asam-asam lemak ke ester metilnya dapat dituntaskan dalam waktu 1 jam[17]. Reaksi esterifikasi dapat dilihat pada gambar 2.3 di bawah ini.

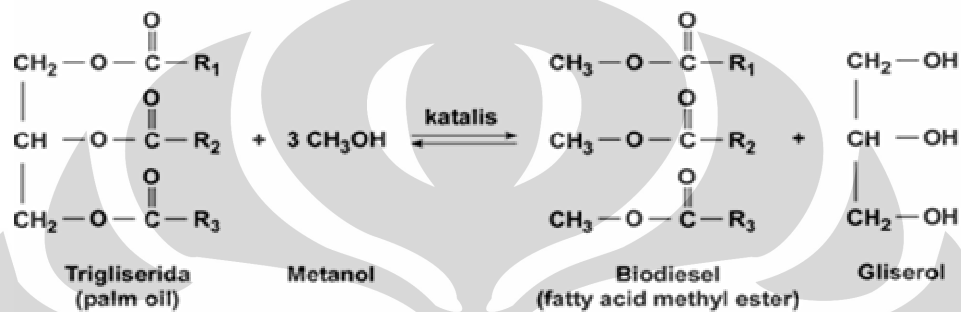


Gambar 2. 3 Reaksi esterifikasi dari asam lemak menjadi metil ester

Esterifikasi biasa dilakukan untuk membuat biodiesel dari minyak berkadar asam lemak bebas tinggi (berangka asam ≥ 5 mg – KOH/g). Pada tahap ini, asam lemak bebas akan dikonversikan menjadi metil ester. Tahap esterifikasi diumpankan ke tahap transesterifikasi, air dan bagian terbesar katalis asam yang dikandungnya harus dihilangkan terlebih dahulu.

2.1.3.2. Transesterifikasi

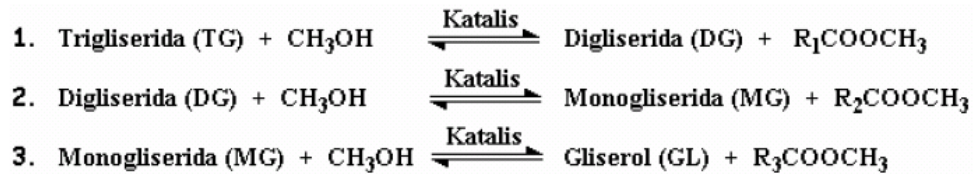
Transesterifikasi (disebut juga alkoholisis) adalah reaksi antara lemak atau minyak nabati dengan alkohol untuk membentuk ester dan gliserol. Biasanya dalam reaksi ini digunakan katalis untuk meningkatkan laju reaksi dan jumlah *yield* produk. Karena reaksi ini adalah reaksi reversible, maka digunakan alkohol berlebih untuk menggeser kesetimbangan ke arah produk[17]. Reaksi transesterifikasi trigliserida menjadi metil ester dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2. 4 Reaksi Transesterifikasi dari Trigliserida dengan alkohol

R_1 , R_2 dan R_3 adalah hidrokarbon panjang yang sering disebut dengan asam lemak. R_1 , R_2 dan R_3 merupakan asam lemak yang tergantung dari tipe minyak nabati. Rantainya bisa sama antar ketiganya atau berlainan. Alkohol yang digunakan juga dapat berbeda, jika methanol yang digunakan maka akan menghasilkan asam lemak metil ester, dan jika etanol yang digunakan menjadi asam lemak etil ester. Yang paling sering digunakan dalam proses produksi biodiesel adalah metanol karena harganya yang lebih ekonomis dan memiliki kelebihan secara fisika (merupakan alkohol rantai terpendek) serta kimia (bersifat polar). Metanol dapat secara cepat bereaksi dengan trigliserida dan mampu melarutkan NaOH.

Reaksi transesterifikasi sebenarnya terdiri atas beberapa reaksi berurutan yang bersifat reversibel. Trigliserida sebagai penyusun utama minyak nabati akan terkonversi secara bertahap menjadi digliserida, monogliserida, untuk kemudian akhirnya menjadi gliserol. Pada setiap tahapan ini akan dihasilkan satu mol senyawa ester. Meski reaksi bersifat reversibel, tetapi kesetimbangan alami bergerak ke arah pembentukan senyawa ester asam lemak dan gliserol. Proses ini terlihat pada gambar 2.5 dibawah ini.



Gambar 2. 5 Tahapan reaksi transesterifikasi

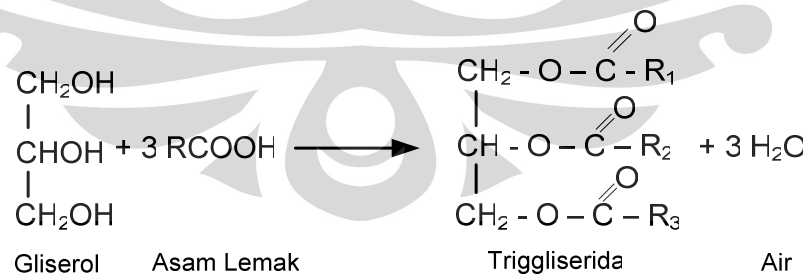
Agar suatu reaksi transesterifikasi dapat bereaksi sempurna, secara stoikiometri dibutuhkan alkohol dan trigliserida dengan rasio molar 3:1. Pada praktiknya, rasio yang dibutuhkan jauh lebih tinggi untuk mendorong terbentuknya ester secara maksimum.

Ada beberapa pilihan katalis reaksi yang dapat digunakan dalam proses transesterifikasi ini, antara lain berupa alkali, katalis asam, atau enzim. Katalis alkali yang biasa digunakan antara lain NaOH, KOH, karbonat, sodium metoksida, sodium etoksida, sodium propoksida, dan sodium butoksida. Katalis asam yang biasa digunakan antara lain asam sulfat, asam sulfonat, dan asam hidroklorida. Sedangkan sebagai katalis enzim dalam proses transesterifikasi biasa digunakan lipase.

2.1.3.3. Bahan Baku Biodiesel

A. Trigliserida

Seperti halnya lemak dan minyak lainnya, minyak kelapa sawit terdiri atas trigliserida yang merupakan ester dari gliserol dengan tiga molekul asam lemak menurut reaksi sebagai berikut :

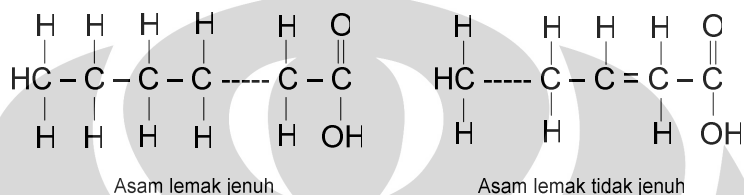


Gambar 2. 6 Struktur trigliserida pada minyak kelapa sawit

Bila $R_1 = R_2 = R_3$ atau ketiga asam lemak penyusunnya sama maka trigliserida ini disebut trigliserida sederhana, dan apabila salah satu atau lebih asam lemak penyusunnya tidak sama maka disebut trigliserida campuran. Asam

lemak merupakan rantai hidrokarbon; yang setiap atom karbonnya mengikat satu atau dua atom hidrogen ; kecuali atom karbon terminal mengikat tiga atom hidrogen, sedangkan atom karbon terminal lainnya mengikat gugus karboksil. Asam lemak yang pada rantai hidrokarbonnya terdapat ikatan rangkap disebut asam lemak tidak jenuh, dan apabila tidak terdapat ikatan rangkap pada rantai hidrokarbonnya karbonnya disebut dengan asam lemak jenuh.

Secara umum struktur asam lemak dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 2. 7 Struktur molekul asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh

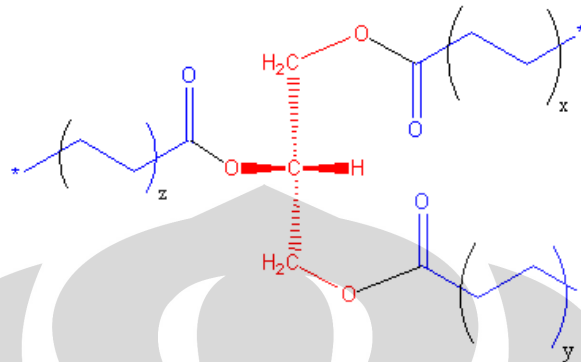
Lipid sederhana merupakan senyawa organik non-polar dan hanya dapat larut dalam senyawa non-polar seperti kloroform dan eter. Lipid merupakan senyawa yang penting bagi organisme karena berperan sebagai komponen membran sel, menghasilkan energi yang tinggi untuk proses metabolisme, dan juga sebagai cadangan makanan.

Lipid sederhana umumnya banyak ditemukan di dalam terdapat sebagai lipid sederhana, lilin, fosfolipid, sfingolipid, glikolipid, lipoprotein, eiksanoid, stereoid dan lipid pelarut vitamin A, D, E dan K. Lipid sederhana terdiri dari molekul asam lemak dan gliserol, dan merupakan jenis lipid yang paling banyak terdapat di alam. Berdasarkan jumlah asam lemak yang berikatan dengan gliserol, lipid sederhana terbagi atas triasgliserida, digliserida dan monogliserida.

Lipid sederhana umumnya banyak ditemukan dalam bentuk trigliserida, sedangkan bentuk monogliserida dan digliserida jarang ditemukan. Trigliserida terdiri dari gliserol yang membentuk ikatan ester dengan tiga molekul asam lemak.

Berdasarkan ada atau tidaknya ikatan kovalen rangkap pada rantai hidrokarbon, asam lemak dapat digolongkan menjadi asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh. Asam lemak jenuh tidak memiliki ikatan kovalen rangkap, sedangkan asam lemak tidak jenuh memiliki satu atau lebih ikatan kovalen

rangkap. Asam lemak tidak jenuh yang memiliki satu ikatan rangkap disebut *monosaturated* dan memiliki lebih dari satu ikatan rangkap disebut *polysaturated*.



Gambar 2. 8 Struktur kimia trigliserida[18]

Asam lemak adalah organik berantai panjang yang mempunyai 4-24 atom karbon. Asam lemak tersusun oleh gugus karboksik yang bersifat polar, dan rantai hidrokarbon panjang tersebut menyebabkan trigliserida tidak dapat larut dalam air. Asam lemak pada monoalkil ester dapat digunakan sebagai bahan bakar dalam mesin diesel.

Tabel 2. 4 Kandungan Asam Lemak yang Terikat Pada Trigliserida Minyak Sawit

Asam Lemak	Struktur
Asam Laurat (12:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COH}$
Asam Palmitat (16:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COH}$
Asam Stearat (18:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COH}$
Asam Oleat (18:1)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COH}$
Asam Linoleat (18:2)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CH}\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COH}$
Asam Linolenat (18:3)	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CH}\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COH}$
Asam Eruseat (22:1)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COH}$
Asam Risinoleat (19:2)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\overset{\text{OH}}{\parallel}\text{CH}\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COH}$

B. Sumber Trigliserida

1. Minyak Kelapa Sawit

Secara teknologi proses daging sawit dapat diolah menjadi CPO (*crude palm oil*), sedangkan buah sawit diolah menjadi PK (*kernel palm*). Melalui proses fraksinasi CPO akan dihasilkan 2 (dua) macam produk, yaitu *stearin* (fraksi padat), dan *olein* (fraksi cair). Selanjutnya dengan proses *Refining, bleaching & deodorizing* dihasilkan produk murni *RDB Olein* dan *RDB Stearin*. *RDB Olein* merupakan bahan baku utama dalam industri oleokimia dan pembuatan minyak goreng, sedangkan *RDB Stearin* terutama digunakan untuk margarin dan *shortening*, disamping untuk bahan baku industri sabun dan deterjen.

Minyak sawit tersusun sebagian besar atas trigliserida yang mengikat asam lemak dengan jumlah rantai karbon yang bervariasi, mulai dari 4 hingga 35. Asam-asam lemak tersebut ada yang memiliki ikatan jenuh dan ikatan yang tidak jenuh. Adapun kandungan asam lemak yang terkandung pada minyak sawit dapat dilihat pada Tabel 2.4

Senyawa trigliserida pada minyak sawit mengandung hidrokarbon, seperti halnya minyak bumi. Sehingga apabila dianalogikan dengan proses pengilangan minyak bumi, maka minyak sawit dapat pula menghasilkan produk-produk turunan yang dapat dihasilkan dari pengolahan minyak bumi, diantaranya adalah solar (diesel), gasoline, kerosin, dan termasuk pelumas.

Minyak sering disebut juga dengan trigliserida yang merupakan ester dari gliserol dan asam-asam karboksilat suku tinggi yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Sedangkan istilah lemak biasanya berwujud padat dan berasal dari hewan. Asam-asam karboksilat dari minyak disebut dengan asam lemak. Minyak yang terbentuk dari asam-asam lemak yang sejenis disebut sebagai minyak sederhana sedangkan yang terbentuk dari dua atau tiga jenis asam lemak minyak disebut sebagai minyak campuran. Kenyataannya yang ada yaitu minyak yang ada di alam yaitu minyak campuran.

Kelapa sawit merupakan tumbuhan monokotil (*monocotyledon*) yang termasuk spesies *Elaeis*, yang merupakan tumbuhan sepanjang tahun menghasilkan minyak paling tinggi. *E. guineensis* dan *E. olifera* adalah dua spesies dari kelompok *Elaeis*. Minyak kelapa sawit dibagi menjadi dua yaitu

minyak kelapa sawit mentah dan minyak inti kelapa sawit. Minyak kelapa sawit mentah (*Crude Palm Oil*) dihasilkan dari daging buah (*mesocarp*) dan merupakan bahan dasar utama pembuatan minyak goreng. Minyak kelapa sawit mentah diperoleh dari mengekstraksi daging buah kelapa sawit. Di dalam proses ekstraksi, buah kelapa sawit dapat menghasilkan 59% *palm oil* dan 4% *palm kernel oil*. Minyak inti kelapa sawit (*Palm Kernel Oil*) dihasilkan dari inti buah kelapa sawit dengan proses ekstraksi, seperti pada ekstraksi kelapa sawit *E. guineensis* yang dapat menghasilkan 48-52% minyak inti kelapa sawit[19].

Warna minyak kelapa sawit kemerah-merahan karena banyak mengandung betakaroten. Minyak kelapa sawit banyak digunakan sebagai minyak goreng, mentega dan sebagai salah satu komponen dari makanan yang sudah diproses. Memanaskan minyak kelapa sawit selama beberapa menit akan mematikan karotenoid menyebabkan minyak menjadi berwarna putih.

2. Minyak Jelantah

Minyak jelantah (*waste cooking oil*) merupakan limbah dan bila ditinjau dari komposisi kimianya, minyak jelantah mengandung senyawa-senyawa yang bersifat karsinogenik, yang terjadi selama proses penggorengan. Jadi jelas bahwa pemakaian minyak jelantah yang berkelanjutan dapat merusak kesehatan manusia, menimbulkan penyakit kanker, dan akibat selanjutnya dapat mengurangi kecerdasan generasi berikutnya. Untuk itu perlu penanganan yang tepat agar limbah minyak jelantah ini dapat bermanfaat dan tidak menimbulkan kerugian dari aspek kesehatan manusia dan lingkungan.



Gambar 2. 9 Minyak Jelantah

Salah satu bentuk pemanfaatan minyak jelantah agar dapat bermanfaat dari berbagai macam aspek ialah dengan mengubahnya secara proses kimia menjadi biodiesel. Hal ini dapat dilakukan karena minyak jelantah juga merupakan minyak nabati, turunan dari CPO (*crude palm oil*). Adapun pembuatan biodiesel dari minyak jelantah ini menggunakan reaksi transesterifikasi seperti pembuatan biodiesel pada umumnya dengan *pretreatment* untuk menurunkan angka asam pada minyak jelantah.

Hasil ujicoba pada kendaraan Izusu Elf menunjukkan adanya penghematan bahan bakar dari 1 liter untuk 6 kilometer menjadi 1 liter untuk 9 kilometer dengan menggunakan biodiesel dari minyak jelantah, demikian juga BBM perahu nelayan berkurang sekitar 20 persen apabila digunakan oleh para nelayan. Bahkan telah diuji coba pada kendaraan bermesin diesel sampai 40% campuran dengan solar selama kurang lebih 3 tahun tanpa masalah sedikit pun.

Tabel berikut adalah perbandingan emisi yang dihasilkan oleh biodiesel dari minyak jelantah (Fatty Acid Methyl Ester/FAME) dan Solar :

Tabel 2. 5 Perbandingan emisi yang dihasilkan Biodiesel dan Solar

Hal	FAME	Solar
Emisi NO	1005,8 ppm	1070 ppm
Emisi CO	209 ppm	184 ppm
Emisi CH	13,7 ppm	18,4 ppm
Emisi partikulat/debu	0,5	0,93
Emisi SO ₂	tidak ada	ada

Dari tabel 2.5 terlihat bahwa biodiesel dari minyak jelantah merupakan alternatif bahan bakar yang ramah lingkungan sebagaimana biodiesel dari minyak nabati lainnya. Hasil uji gas buang menunjukkan keunggulan FAME dibanding solar, terutama penurunan partikulat/debu sebanyak 65%. Biodiesel dari minyak jelantah ini juga memenuhi persyaratan SNI untuk Biodiesel. Berikut adalah hasil uji laboratorium perbandingan berbagai macam parameter antara biodiesel minyak jelantah, solar dan persyaratan SNI untuk biodiesel :

Tabel 2. 6 Hasil uji laboratorium perbandingan Biodiesel dan Solar

Sifat fisik	Unit	Hasil	ASTM Standar (Minyak Solar)	SNI Biodiesel
<i>Flash point</i>	°C	170	Min.100	Min. 100
Viskositas (40°C)	cSt.	4,9	1,9-6,5	2,3-6,0
Bilangan setana	-	49	Min.40	Min.48
<i>Cloud point</i>	°C	3,3	-	Maks.18
Sulfur content	% m/m	<<>	0.05 max	Maks.0,05
Calorific value	kJ/kg	38.542	45.343	--
Density (15°C)	Kg/l	0,85	0,84	0,86-0,90
Gliserin bebas	Wt.%	0,00	Maks.0,02	Maks 0,02

Namun yang menjadi permasalahan utama ialah pengumpulan minyak jelantah yang tidak mudah, selain karena persebarannya cukup luas dan tidak merata, tapi juga tidak sedikitnya pengumpul minyak jelantah dari restoran-restoran yang nantinya akan mereka olah kembali, bisa juga tidak, untuk kemudian dijual ke pedagang kecil maupun untuk keperluan lain. Disatu sisi berdasarkan pengamatan penulis, para pedagang kecil yang menggunakan minyak goreng untuk dagangannya akan membuang minyak jelantah sisa menggoreng ke selokan yang terdekat yang bermuara pada sungai, sehingga dapat menjadi salah satu sumber polusi pada perairan sungai. Untuk itu perlu adanya dukungan dari pemerintah pusat maupun pemerintah daerah untuk penanganan limbah minyak jelantah ini menjadi biodiesel, sebagaimana yang telah dilakukan oleh pemerintah kota Guangzhou, China. Guangzhou sebagai kota terbesar ketiga di China telah berhasil mengolah minyak jelantah sebanyak 20.000 ton pertahun untuk diolah menjadi biodiesel karena adanya dukungan dari pemerintah lokal.

Oleh karena itu, pemanfaatan minyak jelantah sebagai bahan bakar motor diesel merupakan suatu cara pembuangan limbah (minyak jelantah) yang menghasilkan nilai ekonomis serta menciptakan bahan bakar alternatif pengganti bahan bakar solar yang bersifat ethis, ekonomis, dan sekaligus ekologis.

2.2. Biokatalis

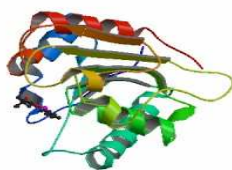
Suatu reaksi kimiawi yang menggunakan katalis biologis (biokatalis), merupakan metoda yang tidak asing dalam proses sintesis kimia organik di ranah akademis maupun dalam tataran industri. Sampai saat ini, metoda tersebut banyak

berperan dalam industri kimia dan farmasi, industri pangan dan pakan, serta dalam pengelolaan limbah dan remediasi lingkungan. Sehingga, tidaklah mengherankan, bila biokatalis dianggap sebagai komponen penting dan bagian yang tak terpisahkan dari industri[19].

Biokatalis, yang berupa enzim, sel mikroba (hidup atau mati), yang terikat dalam matriks atau bebas, secara tradisional telah digunakan untuk mengkonversi bahan baku yang berasal dari bahan organik atau bahan baku yang terbarukan. Namun, pemanfaatannya terus meluas, sehingga digunakan juga untuk mengolah material yang berasal dari bahan bakar fosil. Pemanfaatannya juga begitu beragam, dari biotransformasi senyawa khiral secara enzimatis untuk produksi obat sampai sintesa biodiesel, seperti yang akan dilakukan pada penelitian ini. Secara umum, enzim digunakan sebagai biokatalis dalam beragam reaksi, seperti hidrolisis, transesterifikasi, dan lain-lain.

2.2.1. Lipase

Lipase (*Triasil gliserol hidrolase*) merupakan enzim yang tersebar yang mengkatalisis hidrolisis lemak dan minyak. Aktivasi lipase terjadi dipermukaan air-lemak, yang merupakan karakteristik struktural yang unik dari kelas enzim ini. Lipase menjadi unit oligopeptida heliks yang melindungi *active site* sehingga disebut pada interaksi dengan permukaan *hidrofobik* seperti droplet lemak, memungkinkan pergerakan seperti dalam jalan untuk membuka *active site* untuk substrat. *Active site* biasanya dikarakterkan dengan senyawa triad serin, histidin, dan aspartat, kompleks enzim asli menjadi perantara penting dalam mengkatalisis reaksi lipase. Sebagai tambahan dalam fungsi biologisnya pada bakteri, jamur, tumbuhan dan hewan tingkat tinggi, lipase digunakan dalam sejumlah proses industri seperti minyak dan lemak, detergen, roti, pembuatan keju, pembersih permukaan kulit dan proses pembuatan kertas. Selain itu, lipase merupakan enzim yang paling sering digunakan dalam sintesis organik, mengkatalis kemo-, regio- dan atau hidrolisis stereoselektif ester asam karboksilat atau reaksi balik pelarut organik.



Gambar 2. 10 Struktur Lipase[20]

Enzim mikroorganisme yang banyak digunakan dalam industri umumnya adalah enzim ekstraselular, karena lebih mudah diisolasi dibandingkan enzim intraselular. Metode untuk mengisolasi enzim intraselular lebih rumit karena harus dilisiskan terlebih dahulu.

Berikut ini adalah jenis biokatalis, reaksi dan produk yang dihasilkan :

Tabel 2. 7 Jenis biokatalis dan produk yang dihasilkan

Biokatalis	Reaksi	Produk	Referensi
Chromobacterium Viscosum	Transesterifikasi	Metil ester	Yen Yu <i>et al</i> (1998)
Pseudomonas Flouresence	Transesterifikasi	Metil ester	Iso Mamoru <i>et al</i> (2001)
P. Cepacia	Transesterifikasi	Metil ester	Iso Mamoru <i>et al</i> (2001)
Mucor Javanicus	Transesterifikasi	Metil ester	Iso Mamoru <i>et al</i> (2001)
Rhizhopus niveus	Transesterifikasi	Metil ester	Iso Mamoru <i>et al</i> (2001)
Candida Antarctica	Transesterifikasi	Metil ester	Watanabe Yomi <i>et al</i> (2002)
Candida Cylindracea	Transesterifikasi	Metil ester	Deng Li <i>et al</i> (2003)
Rhizhopus arrhizus	Transesterifikasi	Metil ester	Deng Li <i>et al</i> (2003)
Rhizhopus usamii	Transesterifikasi	Metil ester	Deng Li <i>et al</i> (2003)
Porcine Pancreatic	Transesterifikasi	Metil ester	Desai .PD <i>et al</i> (2006)
Pseudomonas Cepacia	Transesterifikasi	Metil ester	Noureddini. H <i>et al</i> (2005)
Novozym 435	Interesterifikasi	Metil ester	Du wei <i>et al</i> (2004)
Rhizopus oryzae	Transesterifikasi	Metil ester	Zeng Jing <i>et al</i> (2006)
Novozym 435 dan Lipozyme	Transesterifikasi	Metil ester	Wang Li <i>et al</i> (2006)
Candida sp	Transesterifikasi	Metil ester	Nie Kaili <i>et al</i> (2006)
Lipozyme TL IM	Transesterifikasi	Metil ester	Wang Li <i>et al</i> (2006)

Lipase mempunyai beberapa kelebihan bila dibandingkan dengan katalis lain. Lipase mempunyai spesifikasi dan stereoselektivitas reaksi relatif tinggi,

sangat stabil pada pelarut organik dan menunjukkan substrat ketegasan yang luas. Bull *et al.* (1999) menambahkan bahwa lipase mempunyai sifat lebih ramah lingkungan bila dibandingkan dengan katalis lainnya, terutama katalis logam toksik. Lipase mempunyai peranan penting dalam mewujudkan proses dan produk industri yang ramah lingkungan.

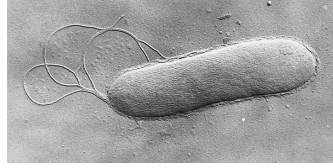
Lipase yang dimanfaatkan dalam bioteknologi industri banyak diproduksi dari bakteri termofilik. Hal ini karena enzim yang dihasilkan oleh bakteri termofilik bersifat tahan panas (termostabil). Enzim tersebut sering disebut termozim. Termozim selain mempunyai termostabilitas tinggi juga mampu mempertahankan stabilitas serta aktivitasnya, baik pada pH ekstrim maupun pada agen denaturan lain, sehingga dapat digunakan untuk menggantikan enzim mesofilik dan katalis lain dalam beberapa proses industri.

Aplikasi termozim dalam proses industri pada suhu tinggi (lebih dari 50°C) lebih menguntungkan karena laju reaksi berjalan lebih cepat sehingga produk yang dihasilkan lebih tinggi. Laju reaksi yang lebih cepat pada suhu tinggi disebabkan oleh penurunan viskositas dan peningkatan kelarutan substrat. Proses industri pada suhu tinggi juga menurunkan risiko kontaminasi oleh mikroba. Selain itu, penggunaan enzim yang berasal dari mikroorganisme mesofilik memerlukan pendinginan bioreaktor untuk mencapai kondisi reaksi optimal sehingga diperlukan biaya lebih besar bila dibandingkan dengan penggunaan termozim.

2.2.2. Klasifikasi Lipase

Lipase yang diisolasi dari mikroba dapat digolongkan menjadi tiga kelompok. Kelompok tersebut antara lain[20] :

1. Lipase yang menghidrolisis trasilgliserol (TAG) secara acak terhadap posisi asam lemak pada triasilgliserol menjadi asam lemak. Kelompok mikroba tersebut antara lain *Candida sp.* Dan *pseudomonas sp.* Enzim dapat menghidrolisis ikatan ester secara sempurna, menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol.



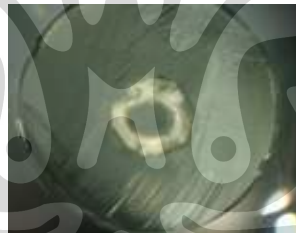
Gambar 2. 11 *Pseudomonas* sp

2. Lipase yang menghidrolisis spesifik pada posisi 1 dan 3 dari triasilgliserol. Contoh mikroba penghasil tersebut adalah *A. niger* dan *M. miehei* produk yang dihasilkan berupa asam lemak bebas, 1,2-diasilgliserol, dan 2 monoasilgliserol.



Gambar 2. 12 *Aspergillus Niger*

3. Lipase yang menghidrolisis secara spesifik asam lemak tertentu dari trasilgliserol. Contoh mikroba penghasil lipase tersebut adalah *G.candidum* yang mempunyai spesifitas terhadap asam lemak rantai panjang.



Gambar 2. 13 *G. Candidum*

2.2.3. Faktor yang mempengaruhi aktivitas lipase

Aktifitas enzim adalah besarnya kemampuan enzim dalam mempercepat reaksi penguraian sumber karbon[20]. Aktivitas enzim dinyatakan dalam unit per mL menit di mana 1 unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah yang menyebabkan pengubahan 1 μmol sumber karbon atau 1 μmol produk yang dihasilkan per menit pada kondisi tertentu. Jadi, satu unit aktivitas enzim lipase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghidrolisis 1 μmol ikatan per menit pada kondisi pengujian tertentu[21].

Sifat-sifat lipase tergantung pada substrat dan asal perolehannya. Lipase yang berasal dari mikroba tertentu, mempunyai aktifitas optimum yang berbeda

dengan mikroba lipolitik lainnya. Aktifitas lipase dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain : pH, suhu, dan waktu. Kestabilan lipase bergantung pada derajat keasaman (pH). Kondisi pH yang jauh dari optimum akan menyebabkan inaktivasi, karena terjadi kerusakan struktur protein enzim, kondisi pH yang terlalu rendah mengakibatkan ion H^+ akan berikatan dengan $-NH_2$ membentuk $-NH_3^+$. Proses pengikatan tersebut menyebabkan ikatan hidrogen antara atom nitrogen dengan atom hidrogen terputus, sehingga enzim terdenaturasi. Kondisi pH yang tinggi mengakibatkan ion OH^- berikatan dengan atom hidrogen dari gugus $COOH$ enzim membentuk H_2O . Hal tersebut mengakibatkan rusaknya ikatan antara atom hidrogen dengan nitrogen atau oksigen, sehingga struktur enzim mengalami kerusakan. Lipase mempunyai aktivitas optimum pada substrat yang tidak larut dalam air dan aktifitasnya rendah terhadap substrat yang larut dalam air. Hasil tersebut menyebabkan lipase memiliki sifat unik yang membedakannya dengan kelompok esterase lain[22].

Suhu merupakan faktor yang mempengaruhi laju reaksi enzimatik. Kenaikan suhu dalam reaksi enzimatik akan meningkatkan laju reaksi, sehingga jumlah produk yang dihasilkan meningkat. Kenaikan suhu pada batas maksimum akan menyebabkan enzim terdenaturasi. Enzim pada umumnya mempunyai aktivitas optimum pada suhu $30-40^{\circ}C$ dan mulai terdenaturasi di atas suhu $45^{\circ}C$.

2.2.4 Porcine Pancreatic Lipase

Porcine Pancreatic Lipase adalah enzim yang tersebar yang mengkatalisis hidrolisis lemak dan minyak. Aktivasi lipase terjadi dipermukaan air-lemak, yang merupakan karakteristik struktural yang unik dari kelas enzim ini. Lipase menjadi unit oligopeptida heliks yang melindungi active site. Sehingga disebut pada interaksi dengan permukaan hidrofobik seperti droplet lemak, memungkinkan pergerakan seperti jalan untuk membuka active site untuk substrat. Active site biasanya dikarakterkan dengan senyawa triad serin, histidin, dan aspartat, kompleks enzim asli menjadi perantara penting dalam mengkatalisis reaksi lipase. Sebagai tambahan dalam fungsi biologinya pada bakteri, jamur, tumbuhan dan hewan tingkat tinggi, lipase merupakan enzim yang paling sering digunakan dalam sintesis organik, mengkatalis kemo-, regio- dan atau hidrolisis stereoselektif ester asam karboksilat atau reaksi balik pelarut organik. Review

ini memfokuskan pada penggunaan lipase dalam sintesis organik, kemajuan metodologi dan aplikasinya.

Porcine pancreatic lipase telah dimurnikan dari porcine pankreas dari prosedur yang diadaptasi oleh *verger et al.* Porcine pancreatic dipisahkan dari lipid dan enzim proteolytic dengan menggunakan diisopropyl fluorophosphat yang diperlukan untuk mencegah ketidakstabilan lipase di dalam langkah-langkah pemurnian selanjutnya. phenylmethanesulfonyl fluoride dan p-nitrophenyl-p-guanidinium benzoat, penghambat chymotrypsin yang spesifik dan tripsin. lipase secara komersial tersedia hadir di pancreatin murni sampai ke homogenitas oleh prosedur diatas saat ini adalah mungkin.

Porcine pancreatic lipase termasuk dalam ester hydrolase, memiliki kecenderungan menghidrolisis trigliserida dalam emulsi, dalam misel dan dalam film monomolekular. Sejak porcine pancreatic menunjukkan memiliki kinerja dapat mengkatalisis lipid, karena memiliki permukaan adsorpsi, permukaan aktivasi dan permukaan katalisis. studi tentang penggunaan enzim porcine pancreatic lipase sebagai biokatalis berkembang dengan pesat. Perilaku enzim tersebut pada substrat dapat menyebabkan sistem enzimatis dapat digunakan untuk studi interaksi lipid dan protein sebagai enzim kompleks pada lingkungan yang lebih kompleks. Persyaratan untuk studi enzim porcine pancreatic lipase seperti interaksi pada preparasi penentuan komposisi dari lipase, karakteristik kimia dari porcine pancreatic lipase sebagai glikoprotein yang mengandung manosa dan glukosamin.

Porcine pancreatic lipase adalah suatu enzim yang dapat larut dalam air. Porcine pancreatic lipase (triacylglycerol acyl hydrolase) adalah suatu glycoprotein yang berfungsi sebagai kunci dalam mengabsorpsi lemak dengan menghidrolisis trigliserida ke dalam digliserida dan kemudian ke dalam monoglycerida dan asam lemak bebas.

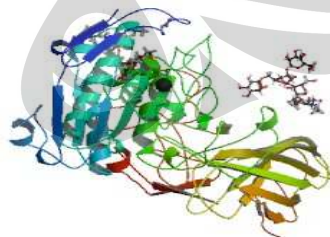
Sejauh ini struktur kimia enzim dari porcine pancreatic lipase telah ditemukan berisi rantai tunggal M, sekitar 50.000. Rantai ini berisi empat methionine residu dan menghasilkan lima peptida. Peptida ini telah dimurnikan dan diurutkan. Hasil penelitian dari *J.D. Bianchetta* tentang Porcine Pancreatic Lipase melaporkan bahwa pada tiga peptida cyanogen bromida yang pertama

terbentuk berisi adalah CNI, CNII, CNIII termasuk 234 asam amino dari jumlah total yang terdiri sekitar 460 untuk keseluruhan rantai dan Porcine pancreatic lipase juga berisi dua kelompok *sulphydryl* dimana kelompok ini tidak termasuk dalam kelompok *active site* dari porcine pancreatic lipase dan senyawa non esensial tyrosine yang bereaksi dengan diisopropyl-phosphorofluorida.

Pemecahan menjadi kepingan CN peptides dilakukan oleh trypsin (setelah dilakukan treatment dengan citraconylation atau 1,2-cyclohexanedione), chymotrypsin dan Staphylococcus aureus protease eksternal. Hidrolisis [dari;ttg] material oleh pepsin dan thermolysin, yang dilakukan dalam rangka menentukan posisi rangkaian S-S, yang bermanfaat untuk menyediakan peptida yang masuk. Separuh dari lipase berikatan dengan Asn-166.

Kelas taksonomi lengkapnya sebagai berikut.

<i>Fold</i>	: <i>Lipase</i>
<i>Super Family</i>	: <i>Lipase</i>
<i>Class</i>	: <i>All beta protein</i>
<i>Family</i>	: <i>Colipase-binding domain</i>
<i>Domain</i>	: <i>Pancreatic lipase C-terminal domain</i>
<i>Species</i>	: <i>Pig</i>
<i>Architecture</i>	: <i>3 – layer (aba) sandwich</i>
<i>Molecular fuction</i>	: <i>Catalytic activity</i>
	: <i>Triacylglycerol lipase activity</i>
	: <i>hydrolase activity</i>
<i>Biological proses</i>	: <i>Lipid metabolic proses</i>



Gambar 2. 14 *Porcine Pancreatic Lipase*[23]

Porcine pancreatic lipase memiliki molekular yang berfungsi sebagai aktifator, seperti yang tertulis di dalam klasifikasi taksonomi yang ada, proses biologi pada porcine pancreatic lipase untuk memecah lipid dan untuk proses

metabolik lipid. Karena sifatnya inilah porcine pancreatic lipase dikembangkan untuk digunakan sebagai biokatalis untuk produksi biodiesel. Selain digunakan untuk biokatalis, enzim pancreatic juga banyak digunakan dalam dunia kedokteran dan juga dikembangkan sebagai suplemen. Menurut Verger et al porcine pancreatic lipase memiliki molecular weight 45.000 – 50.000, dan memiliki kode enzim EC.3.1.1.3. Enzim porcine pancreatic lipase powder dapat disimpan selama 3 tahun tanpa mengalami kerusakan dengan suhu penyimpanan -20°C dan memiliki sinonim dengan nama triacylglycerol acylhydrolase, atau triacylglycerol lipase.

Lipase dikenal mengadsorpsi pertama kali terhadap gugus hidrofobik seperti yang ada dalam substrat trigliserida, sebaliknya lipase tidak akan bisa mengadsorpsi ke dalam molekul yang memiliki gugus hidrofilik atau gugus hidrofilik yang terbentuk karena akumulasi molekul amfipatik.

2.3. Imobilisasi Enzim Lipase

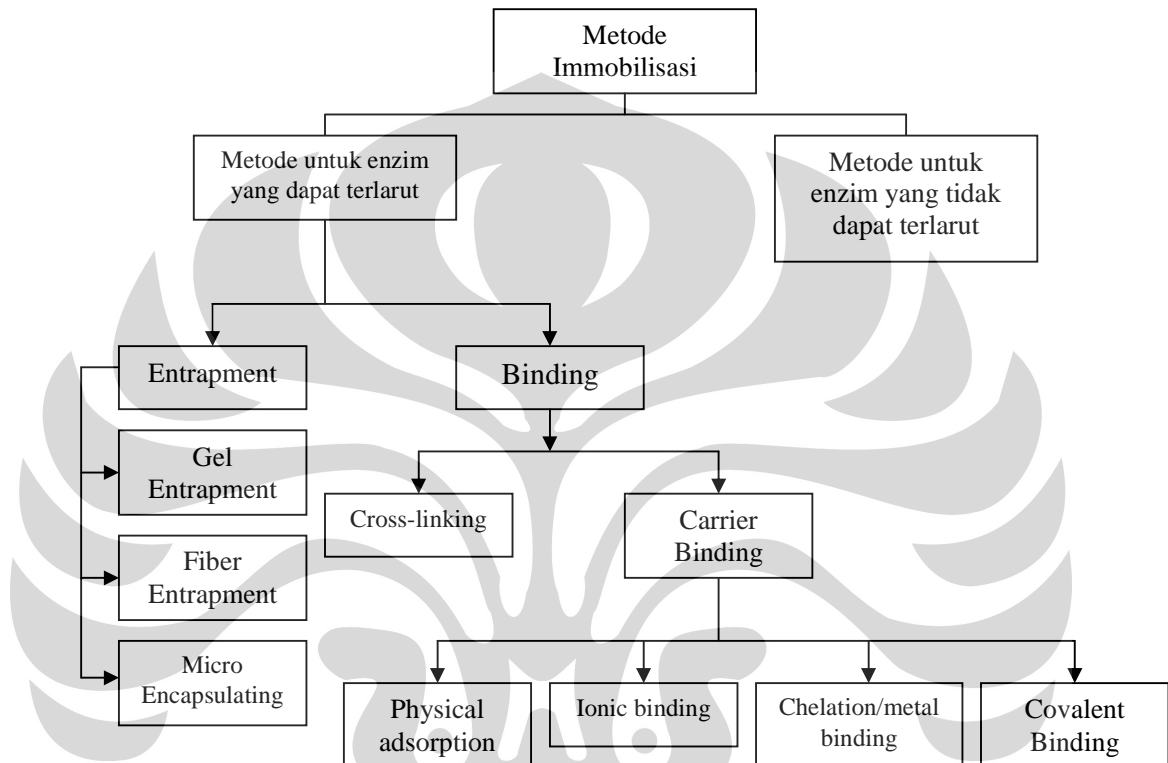
Enzim atau yang dikenal dengan nama fermentasi merupakan biokatalisator yang sangat penting dari protein. Enzim disebut biokatalisator karena semua perombakan zat makanan dalam organisme hanya dapat terjadi jika di dalamnya terdapat enzim. Zat-zat yang diuraikan oleh enzim digolongkan sebagai substrat. Fungsi enzim pada umumnya adalah merombak suatu zat menjadi bentuk yang lebih kecil untuk kemudian diuraikan menjadi zat-zat yang dapat diresorpsi.

Penggunaan enzim sebagai biokatalis mempunyai beberapa kelemahan seperti harga enzim yang sangat mahal, ketidakstabilan enzim, ketersediaan enzim yang sangat sedikit, dan mahal biaya untuk recovery enzim yang digunakan pada reaksi dalam media cair karena sifat enzim yang larut dalam media cair.

2.3.1. Metode Imobilisasi Biokatalis

Imobilisasi enzim adalah proses menggabungkan suatu enzim dengan suatu matrik padat (*support*) secara fisik, sehingga dapat digunakan secara fisik, sehingga dapat digunakan secara berulang kali dan secara berkala. Teknik ini dikembangkan untuk memperbaiki beberapa kekurangan penggunaan enzim.

Enzim yang terimmobilisasi juga dapat didefinisikan sebagai enzim yang secara fisik terikat atau teralokasi pada sebuah lingkungan mikro (microenvironment) yang menyimpan aktivitas katalis dan dapat digunakan secara berulang-ulang. Berbagai macam tipe dari metode immobilisasi dapat diklasifikasi dalam beberapa cara, seperti yang ditunjukkan pada gambar dibawah ini.



Gambar 2. 15 Metode immobilisasi enzim

Kelebihan enzim yang terimmobilisasi adalah :

- Mikro protein yang terlarut akan lebih cepat beraksi
- Hasil akhir reaksi hanya pelarut dan produk itu sendiri
- Produk lebih mudah dipisahkan
- Katalis dapat digunakan secara berulang
- Mempunyai kestabilan yang lebih baik dibandingkan dengan katalis yang terlarut.

Dalam dua dekade terakhir, metode immobilisasi biokatalis yang dikembangkan telah banyak jumlahnya, dan jumlah ini terus bertambah dengan pesat. Berbagai macam metode immobilisasi untuk enzim yang dapat larut dibandingkan dalam tabel dibawah ini.

Tabel 2. 8 Berbagai macam metode immobilisasi untuk enzim

karakteristik	Cross-linking	Adsorpsi Fisik	Ikatan Ionik	Ikatan Logam	Ikatan Kovalen	Entrapping
Preparasi	sedang	mudah	sedang	mudah	sulit	Sulit
Gaya ikatan	kuat	lemah	sedang	sedang	kuat	Sedang
Aktivitas enzim	rendah	sedang	tinggi	tinggi	tinggi	Rendah
Regenerasi carrier	tak mungkin	mungkin	mungkin	mungkin	sangat mungkin	mungkin
Biaya immobilisasi	sedang	rendah	rendah	sedang	tinggi	Sedang
Stabilitas	tinggi	rendah	sedang	sedang	tinggi	Tinggi
Perlindungan dari kontaminasi	sedikit	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	Ada

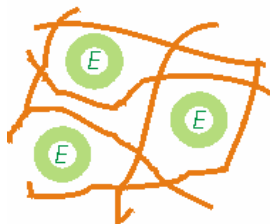
Metoda yang digunakan dalam immobilisasi enzim pada umumnya dapat dilakukan dengan 4 cara, yaitu : Adsorpsi, *Entrapment*, *cross linking*, dan *Covalent binding* [20].

1. Adsorpsi

Adsorpsi : Metode ini yang paling banyak digunakan dalam proses immobilisasi enzim. Penyerapan enzim kedalam permukaan padatan bahan pendukung didasari oleh adanya interaksi antara permukaan enzim dan bahan pendukung. Proses immobilisasi enzim secara ionik, adsorpsi dan desorpsi enzim tergantung dari ion *exchange*-nya. Metode ini lebih murah dan simpel dibandingkan dengan metode yang lain, lebih mudah dilakukan, dan memberikan gangguan kestabilan protein yang rendah.

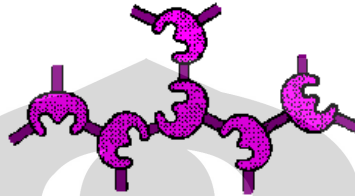
2. Metode *entrapment*

Sudah banyak digunakan dalam proses immobilisasi sel tapi metode ini tidak digunakan dalam proses immobilisasi katalis. Kelemahan utama dari metode ini adalah adanya kemungkinan terjadinya kebocoran secara perlahan jika digunakan secara terus-menerus. Hal ini disebabkan karena ukuran partikel sel lebih kecil daripada ukuran partikel katalis.

Gambar 2. 16 Metode *entrapment*[24]

3. *Cross linking*

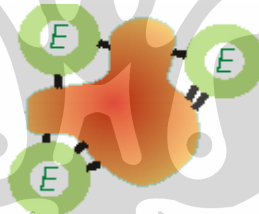
Adalah proses imobilisasi enzim dengan menghubungkan secara silang ikatan kovalen antar molekul protein. Metode ini sangatlah mahal dan tidak mencukupi kebutuhan katalis yang besar, selain itu enzim yang terbentuk memiliki aktifitas sangat rendah.



Gambar 2. 17 Metode *cross linking*[24]

4. *Covalent binding*

Merupakan pembentukan ikatan kovalen antara enzim dengan bahan pendukung (*support*). Keterbatasannya yaitu jika terjadi reaksi antar protein yang tidak terlarut, maka reaksi harus dilakukan dibawah kondisi yang tidak menyebabkan hilangnya aktivitas enzim dan daerah aktif enzim belum tersentuh oleh pereaksinya (*reagents*).



Gambar 2. 18 Metode *covalent binding*[24]

2.3.2. **Bahan *Support* Biokatalis**

Bahan *support* untuk biokatalis merupakan bahan tambahan yang digunakan untuk mengikat enzim agar enzim tidak larut didalam air, yang biasanya bahan *support* enzim ini berupa polimer. Bahan *support* untuk enzim ini sangat mempengaruhi sekali efek dari kestabilan dan keefektifan penggunaan enzim. Bagian paling penting dari media *support* ini adalah media (bahan) harus mempunyai kekuatan yang baik untuk mengikat enzim, tidak larut dalam air, inert secara kimia, dan mempunyai kestabilan yang bagus. Kekuatan pengikatan enzim

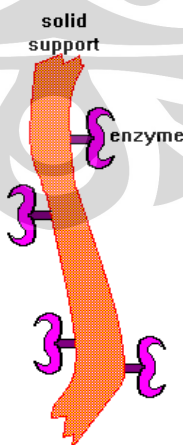
tergantung dari daerah permukaannya, baik secara internal (ukuran pori *support*) dan eksternal (dari ukuran diameter butiran enzimnya).

2.3.3. Metode Adsorpsi Biokatalis Menggunakan Zeolit sebagai *Support*

Adsorpsi fisik dibuat dengan mengikat enzim pada *support* padat, metode adsorpsi fisik merupakan teknik immobilisasi yang paling tua dan paling umum. Secara umum, peningkatan rasio gugus hidrofilik dalam enzim, menghasilkan aktivitas yang lebih baik dalam ter-immobilisasi. Beberapa *carrier* yang umumnya digunakan untuk immobilisasi adalah seperti turunan senyawa polisakarida seperti selulosa, dextran, agarose, dan gel poliakrilamida.

Pemilihan *support* dan metode ikatannya sangatlah penting. *Support* yang ideal untuk metode ini adalah *support* yang apabila berinteraksi dengan enzim akan meningkatkan ikatan substrat, mengurangi rintangan produk, menggeser nilai pH optimal ke nilai yang diinginkan, mencegah tumbuhnya mikroba dan dapat me-recovery enzim untuk dapat digunakan.

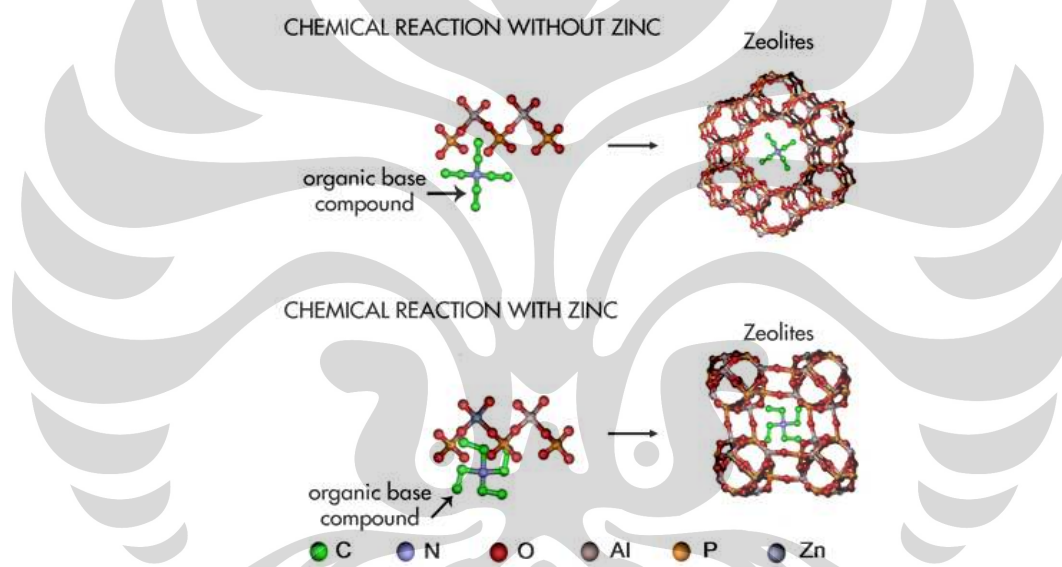
Adsorpsi didasari pada kontak antara enzim dengan permukaan *support*. Bergantung dengan sifat alami permukaan tersebut, ikatan enzim boleh jadi merupakan hasil dari interaksi ionik, adsorpsi fisik, ikatan hidrofobik atau gaya van der Waals (atau kontaminasi dari semuanya). Prosedurnya didasarkan pada pencampuran enzim dengan material *support* pada kondisi yang tepat, diikuti dengan interaksi hingga periode tertentu, diakhiri dengan proses pemisahan enzim yang tidak larut dengan sentrifugasi atau filtrasi.



Gambar 2. 19 Metode Adsorpsi[24]

Karena tidak terdapatnya senyawa yang bereaksi, tidak ada pula perubahan penyesuaian pada enzim dalam immobilisasinya. Karena itu aktivitas spesifik yang mirip dengan enzim aslinya bisa didapatkan. Adsorpsi enzim bergantung pada parameter-parameter seperti pH, sifat dasar pelarut, kekuatan ionik, konsentrasi enzim dan adsorbent dan temperatur.

Sifat dehidrasi zeolit akan berpengaruh terhadap sifat adsorpsinya. Zeolit dapat melepaskan molekul air dari dalam rongga permukaan yang menyebabkan medan listrik meluas ke dalam rongga utama dan akan efektif terinteraksi dengan molekul yang diadsorp. Jumlah molekul air sesuai dengan jumlah pori-pori atau volume hampa yang akan terbentuk bila unit sel kristal zeolit tersebut dipanaskan.



Gambar 2. 20 Reaksi kimia zeolit

Ruang hampa dalam struktur kristal zeolit dalam keadaan normal akan terisi oleh molekul air bebas yang berada di sekitar kation. Jika kristal zeolit ini dipanaskan pada temperatur 300 – 400 °C, maka molekul-molekul air tersebut akan keluar sehingga zeolit dapat berfungsi sebagai penyerap gas sebanyak 30 % dari berat keringnya. Adsorpsi yang terjadi pada permukaan zeolit ada dua :

a. Adsorpsi Fisika

Adsorpsi fisika terjadi bila molekul-molekul adsorbat terikat tanpa disertai terjadinya reaksi pada permukaan zeolit (adsorben). Molekul adsorbat ini dapat terikat akibat adanya gaya *Van der Waals*, yaitu gaya tarik menarik yang relatif lemah dengan permukaan adsorben. Gaya ini memungkinkan adsorbat bergerak

dari suatu bagian ke bagian lain pada permukaan adsorben. Adsorpsi jenis ini berlangsung dengan cepat, reversibel dan memiliki panas adsorpsi rendah.

b. Adsorpsi Kimia

Adsorpsi ini terjadi akibat adanya reaksi antara molekul-molekul adsorbat dengan molekul zeolit (adsorben). Adsorpsi kimia memiliki sifat tidak reversibel dan hanya membentuk lapisan tunggal (monolayer), umumnya terjadi pada temperatur tinggi sehingga panas adsorpsinya juga tinggi.

Faktor-faktor yang mempengaruhi daya adsorpsi zeolit :

1. Sifat Adsorbat

a. Ukuran molekul

Rongga tempat terjadinya proses adsorpsi dapat dicapai melewati ukuran yang sesuai, sehingga molekul-molekul yang dapat diadsorpsi adalah molekul yang memiliki diameter sama atau lebih kecil dari diameter pori zeolit.

b. Kepolaran

Adsorbat dengan molekul-molekul yang polar cenderung lebih mudah untuk teradsorpsi daripada molekul yang kurang polar, apabila diameter molekulnya sebanding.

1. Luas Permukaan Zeolit

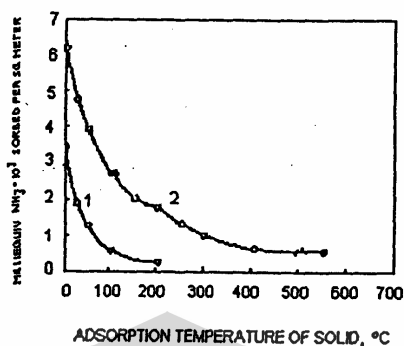
Jumlah molekul adsorbat yang dapat teradsorpsi meningkat seiring dengan bertambahnya luas permukaan zeolit (adsorben). Karena dengan bertambahnya luas permukaan, kemungkinan terjadinya kontak antara molekul adsorben dengan adsorbat semakin besar.

2. Temperatur

Proses adsorpsi merupakan proses eksotermis, yang berarti bahwa jumlah senyawa yang akan diadsorpsi akan berkurang seiring dengan kenaikan temperatur berdasarkan prinsip *Le Chatelier*. Kurva hubungan antara jumlah senyawa yang teradsorpsi dengan temperatur dapat dilihat pada gambar 2.21.

3. Tekanan

Selain temperatur, jumlah adsorbat yang mampu diserap oleh adsorben juga tergantung pada tekanan adsorbat. Semakin besar tekanan adsorbat, maka semakin banyak pula adsorbat yang dapat diserap oleh adsorben.



Gambar 2. 21 Grafik Pengaruh Temperatur terhadap Jumlah zat teradsorp

Keuntungan penggunaan metode adsorpsi ini adalah pada kemudahannya dalam menempatkan enzim pada material support, adsorbent yang bisa digunakan juga bisa bervariasi serta bisa dipakai berulang kali. Kerugian menggunakan metode ini adalah yaitu terjadinya desorpsi pada enzim karena gaya ikatan antara enzim dengan support umumnya rendah.

2.4. Rute Non Alkohol

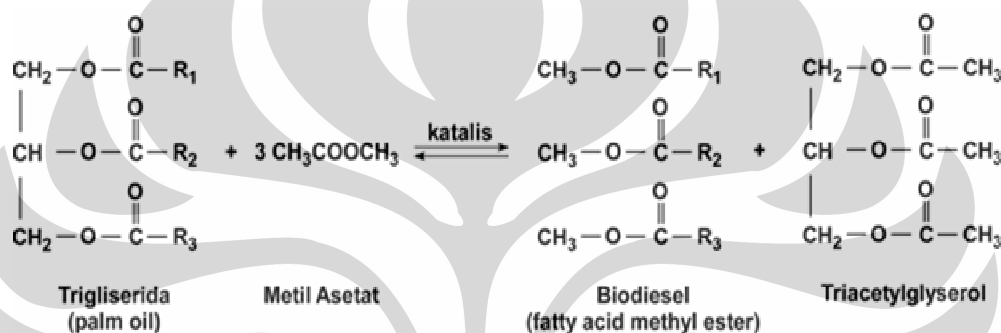
2.4.1. Reaksi

Biodiesel (*Fatty Acid Methyl Ester*) digunakan sebagai bahan bakar alternatif. Secara konvensional biodiesel diproduksi melalui reaksi transesterifikasi gliserida dengan alkohol dan menggunakan katalis asam atau alkali. Beberapa tahun belakangan ini biokatalis lipase banyak digunakan dalam sintesa biodiesel. Enzim lipase banyak digunakan karena memiliki kelebihan dapat mengarahkan reaksi secara spesifik tanpa adanya reaksi samping yang tak diinginkan seperti reaksi penyabunan. Meskipun penggunaan lipase memiliki kelebihan, penggunaan lipase sebagai katalis untuk sintesa biodiesel juga menyisakan masalah yang cukup besar. Lingkungan beralkohol seperti metanol menyebabkan lipase terdeaktivasi secara cepat dan stabilitasnya dalam mengkatlis reaksi menjadi buruk. Akibatnya biokatalis tersebut tidak bisa dipakai ulang. Hal ini mengakibatkan biaya produksi yang tinggi sehingga sintesis biodiesel menggunakan biokatalis belum bisa dilakukan secara komersial[20].

Dari uraian diatas kita bisa mengetahui bahwa lipase mempunyai potensi besar sebagai katalis untuk sintesis biodiesel menggantikan katalis alkali. Tetapi, alkohol berantai pendek seperti metanol yang biasa digunakan sebagai penuplai

gugus alkil mempunyai pengaruh buruk bagi aktivitas dan stabilitas lipase. Untuk menyelesaikan masalah tersebut, dalam penelitian ini akan diusulkan rute baru untuk mensintesis biodiesel menggunakan rute non alkohol.

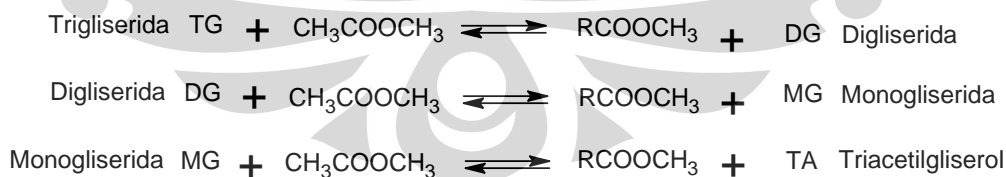
Dalam sintesis biodiesel rute alkohol, alkohol (metanol) berfungsi untuk mensuplai gugus alkil (metil). Sementara itu, dalam sintesis biodiesel rute non alkohol, metanol bisa digantikan dengan metil asetat sebagai pensuplai gugus metil seperti yang diperlihatkan dalam gambar 2.22. Penggantian alkohol dengan alkil asetat ini diharapkan mampu meningkatkan stabilitas enzim yang digunakan selama proses reaksi secara signifikan.



Gambar 2. 22 Reaksi interesterifikasi minyak nabati melalui rute reaksi non alkohol

2.4.2. Produk

Dalam sintesis biodiesel menggunakan rute non alkohol, trigliserida (TG) mengalami reaksi interesterifikasi menjadi digliserida (DG), monogliserida (MG) dan triacylglycerol (TA), dimana disetiap tahap tersebut dihasilkan biodiesel (B) seperti yang dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 2. 23 Tahapan Reaksi interesterifikasi

2.4.3. Kelebihan dan Kekurangan

Tabel 2. 9 Perbandingan Kelebihan dan Kekurangan Rute Non-Alkohol [27]

No	Parameter	Perbandingan
----	-----------	--------------

		Rute Non-Alkohol	Rute Alkohol
1	Hasil samping	Dalam rute non alkohol produk samping yang di hasilkan yakni triasetilgliserol yang mempunyai nilai jual yang lebih tinggi	Dalam rute alkohol produk samping yang dihasilkan yakni gliserol yang nilai jualnya lebih rendah dibandingkan dengan triasetilgliserol
2	Mekanisme reaksi	Mekanisme reaksi yang terjadi benar-benar lebih rumit dibandingkan dengan rute alkohol karena ada kaitannya dengan tiga reaksi dari trigliserida menjadi produk	Mekanisme reaksi yang terjadi lebih sederhana dibandingkan dengan rute non alkohol
3	Penggunaan biokatalis	Biokatalis tidak mudah terdeaktivasi dan stabilitasnya selama proses reaksi signifikan	Biokatalis mudah terdeaktivasi secara cepat dan stabilitasnya dalam mengkatalis reaksi menjadi buruk

2.5. *State of The Art*

Penelitian sintesis biodiesel masih sangat berpeluang untuk dapat dieksplorasi dan menemukan originalitas yang bisa dipatenkan. Biodiesel merupakan bahan bakar alternatif yang paling bagus untuk dikembangkan karena memiliki sifat yang ramah terhadap lingkungan dibandingkan dengan bahan bakar fosil, sehingga banyak peneliti yang berlomba-lomba untuk mencari pembuatan sintesa biodiesel dengan berbagai macam metode.

2.5.1. Riset Rute Non Alkohol di Dunia

Selain sintesa biodiesel melalui rute alkohol belakangan ini ada peneliti asal cina yang melakukan sintesa biodiesel melalui rute baru yaitu non alkohol. Penelitian sintesis biodiesel melalui rute non alkohol belum banyak dilakukan. Sejauh ini, *research group* dari Cina dengan hasil 2 publikasi internasional melakukan penelitian reaksi interesterifikasi antara minyak kedelai dengan metil asetat menggunakan *Candida antarctica* lipase. Du *et. Al.* (2004), melakukan studi komparasi antara rute alkohol dan non alkohol, dimana dalam laporan Du *et*

Al yang mereaksikan 9.65 g minyak kedelai, 30 % *novozym 435* (oil wt) pada suhu 40°C menghasilkan yield biodiesel sebesar 92% [8].

Sementara itu Xu *et al.* (2005), melakukan studi dan penelitian tentang persamaan model kinetika sederhana untuk reaksi interesterifikasi dengan substrat trigliserida dengan metil asetat sebagai pendonor alkil untuk memproduksi biodiesel [25].

Pada tahun 2005 dilakukan juga penelitian tentang reaksi transesterifikasi dari penggantian etanol yang dilakukan oleh S.S.Bhagwat *et al.*, dengan menggunakan katalis lipase. Dari penelitian tersebut juga dilakukan studi tentang model kinetika dan molecular dari reaksi transesterifikasi etil asetat dan etanol yang diganti dengan porcine pancreatic lipase (PPL) dan *Candida cylindracea* lipase. Dan disamping itu juga pada penelitian ini dilakukan juga studi tentang kinetika model dari inhibisi kompetitif dari suatu produk [29].

Research group dari India oleh M.K Modi *et al* juga melakukan penelitian (2007) tentang reaksi interesterifikasi antara *Jatropha curcas* (jatropha), *Pongamia pinnata* (karanj) dan *Helianthus annuus* (sunflower) dengan menggunakan biokatalis *Novozym-435*. Maksimum yield metil ester yang didapat 91.3%, 90% dan 92.7% dengan rasio mol etil acetat/ minyak 11:1 reaksi selama 12 jam pada suhu 50°C [28].

2.5.2. Riset Rute Non Alkohol di Indonesia

Universitas Indonesia juga melakukan penelitian sintesis biodiesel rute non alkohol seperti yang dilaporkan oleh H.Hermansyah *et al* (2008), melakukan pengembangan rute sintesis biodiesel non alkohol menggunakan biokatalis (*state of the art*). Topik ini diikut sertakan dalam seminar nasional di Universitas Diponegoro Semarang. Pada laporannya H.Hermansyah *et al* (2008) akan melakukan sintesa biodiesel dengan mengganti metanol yang biasa digunakan dalam sintesa biodiesel diganti dengan metil acetat sebagai alkil dan lipase sebagai biokatalis. Penggantian alkil dengan metil acetat diharapkan dapat mengatasi kelemahan sintesa biodiesel rute non alkohol seperti kesulitan dalam pemisahan gliserol [25].

H.Hermansyah *et al*(2008) di dalam laporannya juga melakukan penelitian sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit melalui rute baru non-alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi. H.Hermansyah *et al*(2008) melakukan penelitian untuk mengetahui konsentrasi biodiesel (mol/L) yang terbentuk dari reaktan alkil asetat menggunakan biokatalis *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi, lipase terimmobilisasi metode adsorpsi, dan lipase terimmobilisasi dalam bentuk sol-gel (Novozym 435). Menyelidiki pengaruh biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel yang dihasilkan. Untuk lipase yang terimmobilisasi akan di uji stabilitasnya. Reaksi dilakukan dalam reaktor *batch* dan analisa sampel menggunakan HPLC. Berikutnya adalah melakukan pemodelan secara sederhana terhadap laju konsentrasi biodiesel yang terbentuk untuk menentukan nilai K_m dan V_{max} reaksi menggunakan persamaan Michaelis-Menten.

Hasil penelitian H.Hermansyah *et al* (2008) sudah diikutsertakan pada seminar nasional di Institut Teknologi Sepuluh November dan ITB. Topik yang diseminarkan adalah dengan melakukan sintesis biodiesel dengan rute non alkohol menggunakan *Candida rugosa* Lipase dalam bentuk tersuspensi. Topik ini ikut serta dalam seminar nasional yang diselenggarakan di Institut Teknologi Sepuluh November (ITS). pada laporanya dituliskan bahwa lebih dari 86% rantai asam lemak dari trigliserida minyak kelapa sawit dikonversi menjadi biodiesel pada kondisi konsentrasi biokatalis sebesar 4% wt substrat, rasio mol minyak/metil asetat 1/12 selama 50 jam reaksi[31].

Sedangkan untuk penelitian H.Hermansyah *et al*(2008) dengan topik sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan *Candida rugosa* lipase yang terimmobilisasi melalui metode adsorpsi telah diikut sertakan seminar nasional yang diselenggarakan di Institut Teknologi Bandung (ITB), pada laporanya di terangkan bahwa lebih dari 82% rantai asam lemak dari trigliserida minyak sawit berhasil dikonversikan menjadi biodiesel pada kondisi konsentrasi biokatalis sebesar 4% wt substrat, rasio mol minyak/metil asetat 1/12 selama 50 jam reaksi. Immobilisasi lipase dilakukan dengan menggunakan metode adsorpsi dengan menggunakan bahan support zeolit[30].

Dalam penelitian ini dilakukan sintesis biodiesel dengan menggunakan rute non-alkohol. Penelitian ini merujuk pada penelitian sebelumnya yang sudah

dilakukan oleh H.Hermansyah *et al*(2008) yang menggunakan substrat minyak sawit untuk mensintesis biodiesel. Akan tetapi yang membedakan penelitian ini dengan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya yaitu terletak pada substrat yang digunakan. Pada penelitian ini digunakan substrat yang berasal dari minyak jelantah. Minyak jelantah yang digunakan pada penelitian ini sudah dilakukan *pretreatment* terlebih dahulu untuk menghilangkan pengotor-pengotor yang ada pada minyak jelantah yang merupakan hasil pemakaian berulang-ulang. Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh perbandingan antara sintesis biodiesel yang menggunakan substrat minyak kelapa sawit dengan menggunakan substrat minyak jelantah, sehingga dapat diketahui substrat mana yang akan menghasilkan persentase (%) *yield* biodiesel yang lebih besar.

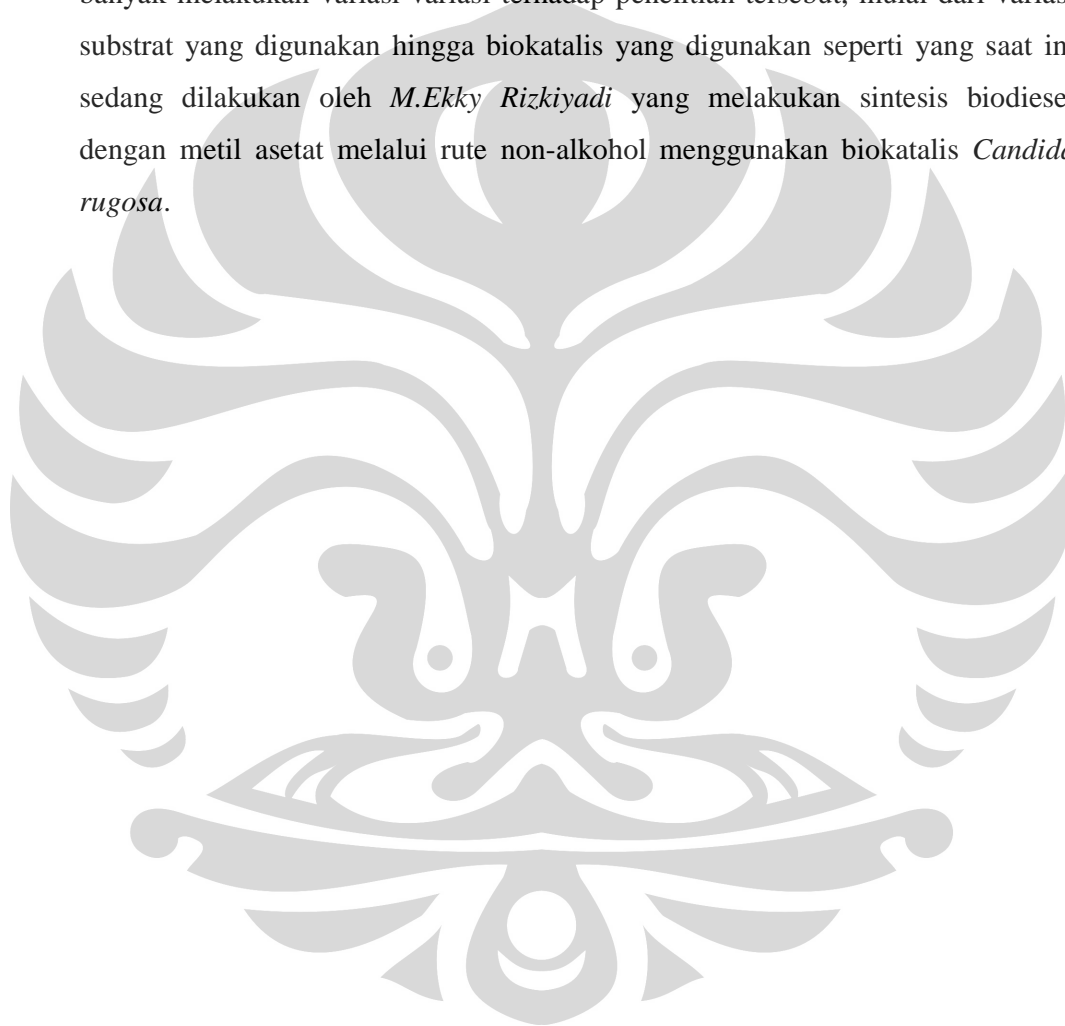
Dari penelitian-penelitian yang sudah dilakukan di dunia internasional untuk sintesis biodiesel dengan menggunakan rute non-alkohol yang baru dilakukan oleh Du *et al*, 2004, Xu *et al*. 2005, S. S. Bhagwat *et al*, 2005, dan M. K. Modi *et al*, 2007. Dan untuk di Indonesia penelitian sintesis biodiesel dengan menggunakan rute non-alkohol baru pertama kali dilakukan oleh H.Hermansyah *et al*(2008) dengan menggunakan substrat minyak sawit. Dan untuk menyempurnakan penelitian tersebut pada penelitian ini menggunakan minyak jelantah sebagai substrat untuk memperoleh % *yield* biodiesel dari enzim Porcine Pancreatic Lipase. Pada Percobaan ini penggunaan biokatalis Porcine pancreatic lipase yang akan direaksikan pada kondisi suhu 37°C, serta enzim akan diimobilisasi dengan menggunakan zeolit, dengan harapan dapat diketahui seberapa besar kerja biokatalis *Candida rugosa* lipase yang berfungsi sebagai katalis dalam mengkonversi minyak jelantah menjadi biodiesel. Dari percobaan tersebut akan diperoleh % *yield* yang berbeda, sehingga dapat digunakan sebagai data acuan untuk melakukan penelitian-penelitian selanjutnya.

Penelitian dengan menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase bukan yang pertama kalinya, PD desai *et al* (2006) melakukan reaksi transesterifikasi minyak salicornia dengan metanol dan berat enzim 0.125 rasio mol salicornia : metanol 1:3 menghasilkan konversi metil oleat sebesar 43%.

Penggunaan rute non alkohol untuk memproduksi biodiesel dengan menggunakan biokatalis porcine pancreatic lipase baru pertama kali di Indonesia,

maka pada penelitian ini akan dilakukan sintesa biodiesel dengan rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase. Porcine pancreatic lipase akan diimmobilisasi dalam zeolit, lalu diuji aktivitasnya dengan menggunakan variasi enzim 1%, 2% dan 4% wt, pada suhu 37°C dengan waktu reaksi 50 jam.

Dan untuk lebih mengembangkan penelitian sintesis biodiesel dengan menggunakan rute non-alkohol tersebut, maka saya mengusulkan untuk lebih banyak melakukan variasi-variasi terhadap penelitian tersebut, mulai dari variasi substrat yang digunakan hingga biokatalis yang digunakan seperti yang saat ini sedang dilakukan oleh *M.Ekky Rizkiyadi* yang melakukan sintesis biodiesel dengan metil asetat melalui rute non-alkohol menggunakan biokatalis *Candida rugosa*.



Tabel 2. 10 Summary Rute Non Alkohol

	Du et al (2004)	Xu et Al (2005)	Sunil et al (2005)	Mukesh Kumar et al (2006)	Heri Hermansyah et al (2008)
Reaksi	Interesterifikasi	Interesterifikasi	Interesterifikasi	Interesterifikasi	Interesterifikasi
Biokatalis	Novozym 435	Persamaan kinetika/Kinetic Model	Porcine pancreatic lipase dan <i>Candida cylindracea</i> lipase	Novozym 435	<i>Candida rugosa</i> lipase dan Novozym 435
Substrat	Metil asetat dan Minyak Kedelai (<i>Soy bean oil</i>)	Metil asetat dan minyak/asam lemak	Substitusi β -Etanol	<i>Jatropha curcas</i> (Jatropha), <i>Pongamia pinnata</i> (karanji) dan <i>Helianthus annuus</i> (sunflower)	Minyak Kelapa Sawit dan Metil asetat
Konversi	92 %	-	83 % (PPL, Me ₂ N) 65 % (CY, Br)	91.3 % (Jatropha) 90% (Karanji) 92.7 % (sunflower)	86% (Tersuspensi) 82 % (Immobilisasi)
Rasio mol minyak dan metil asetat	1:12	-	-	1: 11	1:12
Suhu reaksi	47 ^o C	40 ^o C	35 ^o C	50 ^o C	37 ^o C
Biokatalis yang digunakan	4% wt	0.5 gram	1 gram	5% dan 30% wt	4 % wt
Waktu reaksi	100 jam	-	48 jam	12 jam	50 jam
Alat analisa sampel	GC-14B Shimadzu Corp, Kyoto	GC-14B Shimadzu Corp, Kyoto	-	GC-MS	HPLC Hitachi

2.6 Kinetika Reaksi Enzimatik

Reaksi dari suatu enzim dengan sebuah substrat akan melibatkan pembentukan produk tengah yang kemudian beraksi kembali dengan substrat yang lain atau terdekomposisi untuk membentuk produk. Dari perkembangan terkini dalam *enzymology*, adalah kemungkinan untuk mengidentifikasi tahap reaksi dasar termasuk penggunaan enzim sebagai katalis, dan dari data percobaan laju pembentukan produk tengah (*intermediate*), kinetika instrinsik dapat ditemukan.

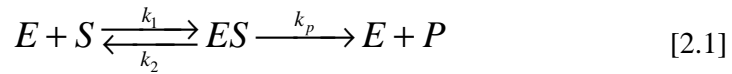
Sejarahnya, hal ini ditemukan bahwa kinetika reaksi enzimatik sebagai katalis menunjukkan keistimewahan, dimana reaksi tunggal sederhana tidak dapat ditemukan. *Invertase*, yang digunakan sebagai katalis pada reaksi hidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, telah diperlihatkan oleh *Brown* pada tahun 1902 yang menunjukkan kinetika orde pertama dari reaktan sukrosa berada pada konsentrasi yang rendah, tetapi mempunyai konsentrasi yang tinggi pada orde nol. Hasil ini bertentangan dengan orde pertama konsentrasi sukrosa yang ditemukan jika terhidrolisis menggunakan katalis asam. Hiperbola ini tergantung dari laju konsentrasi reaksi substrate yang ditemukan, telah dijadikan sebagai permasalahan umum pada semua reaksi yang menggunakan enzim sebagai katalis. Secara khas, data laju dari sebuah enzim akan dilaporkan sebagai data laju awal, dimana laju pengurangan substrate atau pembentukan produk ditentukan dari periode waktu yang sangat pendek yang mengikuti (tergantung) dari awal mula sebuah reaksi.

2.6.1 Reaksi Enzimatik Michaelis-Menten

Dalam reaksi enzim dikenal kecepatan reaksi hidrolisis penguraian, atau reaksi katalis lain yang disebut *velocity* atau disingkat *V*. Harga *V* dari suatu reaksi enzimatik pada umumnya sangat tergantung pada konsentrasi substrat. Semakin tinggi konsentrasi substrat reaksi enzim semakin cepat, sampai mencapai kecepatan yang tetap.

Substrat dipengaruhi oleh gaya (dorongan) secara fisik yang diberikan enzim. Sifat kompleks ini kemudian mengarah terhadap terjadinya perubahan kimia, menghasilkan pembentukan produk dan pelepasan produk oleh enzim, dengan orde pertamanya tergantung terhadap konsentrasi enzim-substrat yang kompleks. Secara sistematikanya reaksinya dituliskan sebagai berikut:

Universitas Indonesia



Notasi E dan S adalah enzim dan substrat, P merupakan produk, dan notasi ES merupakan enzim-substrat kompleks. Pembentukan senyawa kompleks ES dari E dan S berlangsung dengan konstanta kecepatan k_1 . kompleks ES kemudian mengalami 2 kemungkinan penguraian yaitu, pertama kembali terurai menjadi E dan S dengan konstanta kecepatan k_2 , atau melanjutkan reaksi dengan menghasilkan produk (P) dan E dengan konstanta kecepatan k_3 , dengan asumsi tidak ada P yang dapat diubah lagi menjadi S.

Penjabaran hubungan antara kecepatan penguraian, baik dengan konsentrasi substrat maupun konsentrasi enzim. Kecepatan reaksi sangat tergantung pada konsentrasi ES dan konstanta laju reaksi k_3 yang dapat diutarakan dalam rumus sebagai berikut :

$$\text{Laju penguraian } ES = (k_2 + k_3)[ES] \quad [2.2]$$

$$\text{Laju pembentukan } ES = k_1[E][S] \quad [2.3]$$

Dalam keadaan setimbang jumlah ES tetap, yang artinya baik ES yang terbentuk maupun yang terurai sama banyaknya, meskipun bahan awal dan produk jumlahnya dapat saja berubah-ubah. Hal ini hanya mungkin terjadi bila laju pembentukan = laju penguraian.

$$k_1[E][S] = (k_2 + k_3)[ES]$$

$$\frac{k_1[E][S]}{(k_2 + k_3)} = [ES]$$

$$[ES] = \frac{[E][S]}{\frac{(k_2 + k_3)}{k_1}} \quad \text{bila } Km = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

Km = disebut konstanta Michaelis

$$\text{maka } [ES] = \frac{[E][S]}{Km} \quad [2.4]$$

Bila konsentrasi substrat awal sangat tinggi atau berlebih, konsentrasi substrat yang belum terikat dapat dianggap sama dengan konsentrasi substrat semula.

E = konsentrasi enzim yang tidak terikat. Jadi berarti sama dengan konsentrasi E mula-mula atau total $[E_{\text{Total}}]$ dikurangi konsentrasi E dari ES.

$$[E_{Total}] = [E] + [ES] \quad [2.5]$$

$$[E] = [E_{Total}] - [ES] \quad [2.6]$$

Dari persamaan laju pembentukan dan penguraian ES maka :

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E_{Total} - ES][S]$$

$$\text{dan } \frac{d[ES]}{dt} = (k_2 + k_3)[ES] \quad \text{sehingga}$$

$$(k_2 + k_3)[ES] = k_1[E_{Total} - ES][S]$$

$$\frac{(k_2 + k_3)}{k_1}[ES] = ([E_{Total}] - [ES])[S]$$

$$\frac{(k_2 + k_3)}{k_1}[ES] = [E_{Total}][S] - [ES][S]$$

$$\frac{(k_2 + k_3)}{k_1}[ES] + [ES][S] = [E_{Total}][S]$$

$$[ES] \left(\frac{(k_2 + k_3)}{k_1} + [S] \right) = [E_{Total}][S]$$

$$\text{didapat } [ES] = \frac{[E_{Total}][S]}{(K_m + [S])} \quad [2.7]$$

$$\text{Persamaan } V = k_3[ES] \quad [2.8]$$

$$\text{Sehingga } V = \frac{k_3[E_{Total}][S]}{(K_m + [S])} \quad [2.9]$$

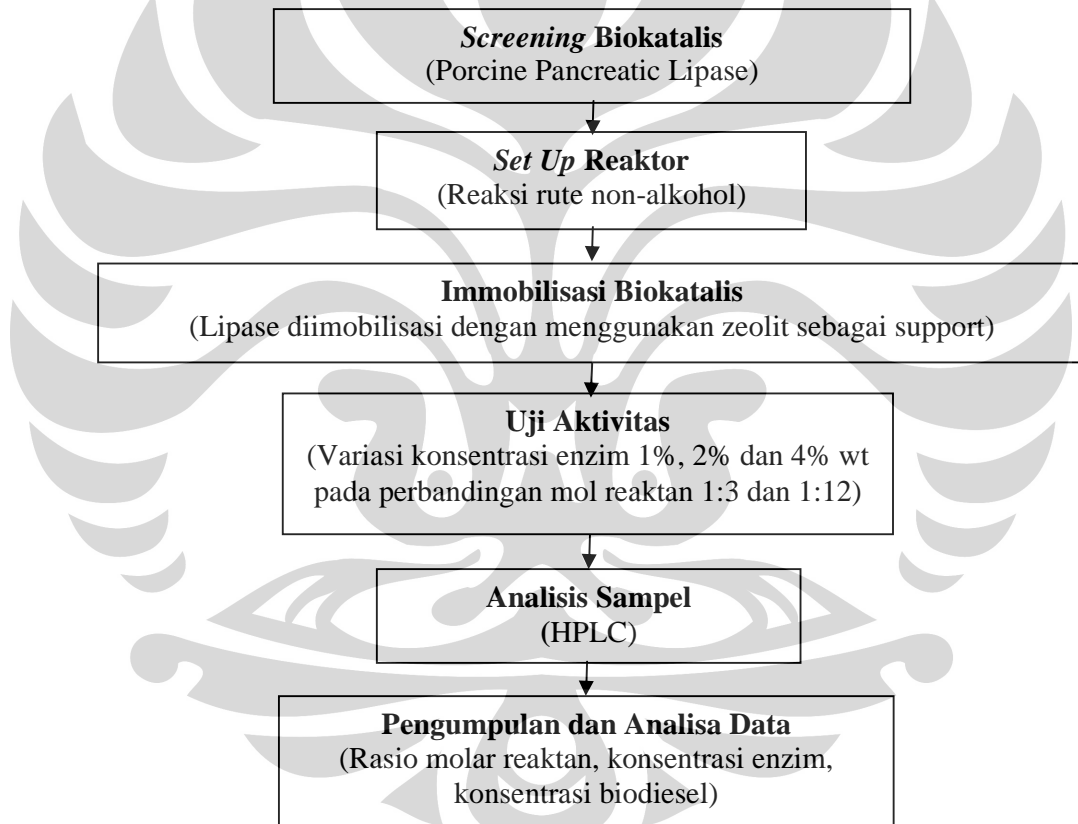
$$V_{maks} = k_3[E_{Total}] \quad [2.10]$$

$$V = \frac{k_3[E_{Total}][S]}{(K_m + [S])} = \frac{V_{maks}[S]}{(K_m + [S])} \quad [2.11]$$

BAB III METODE PENELITIAN

Dalam bab ini dibahas alur proses penelitian, peralatan dan bahan yang digunakan, variabel penelitian, dan prosedur penelitian. Penelitian dilakukan di Laboratorium Dasar Proses Kimia (DPK), Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. Untuk melakukan analisis sampel dengan HPLC dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Teknologi (Puspitek-Serpong).

3.1 Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian Sintesis Biodiesel

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat Percobaan

Peralatan yang digunakan dalam percobaan ini adalah:

1. Termometer (IWAKI) digunakan untuk memastikan suhu pada reaksi yang sedang dilakukan.
2. *Stop watch* (Alba) digunakan untuk pengukur waktu dalam pengambilan sampel.
3. *Magnetic stirrer*(Sitz Freital TGL) sebagai alat pengaduk pada reaksi interesterifikasi-enzimatis.
4. *Waterbath* (Aquabath Lab-Line)digunakan sebagai alat pemanas untuk memberikan sumber panas bagi reaksi yang terjadi didalam labu erlenmeyer dan didalamnya terdapat magnet yang dapat memutar magnetic stirrer.
5. Labu erlenmeyer (Iwaki) 25 ml sebagai tempat reaksi.
6. *Syringe auto transfepette* digunakan untuk mengambil sample berukuran mikron
7. *Bottle plastic* (Iwaki) sebagai tempat menaruh sampel
8. *Beaker glass* (Iwaki)sebagai tempat bahan penelitian.
9. Gelas ukur (Iwaki) untuk mengukur volume bahan yang dibutuhkan.
10. Cawan petri sebagai wadah menaruh bahan-bahan kimia.
11. Pompa air (Yamano SP-1200) yang digunakan disini fungsinya untuk memompa air yang akan dialirkan kedalam wadah tempat menampung air hangat.
12. Selang air digunakan untuk mengalirkan air yang akan melalui kondenser
13. HPLC yang digunakan sebagai alat untuk menganalisa sampel.

3.2.2 Bahan Percobaan

1. Enzim lipase *Porcine Pancreatic lipase*(Sigma).
2. Minyak jelantah(Bimoli)
3. Zeolit lampung akan digunakan sebagai material penyangga.
4. Metil asetat (Merck)
5. NaOH (Merck)

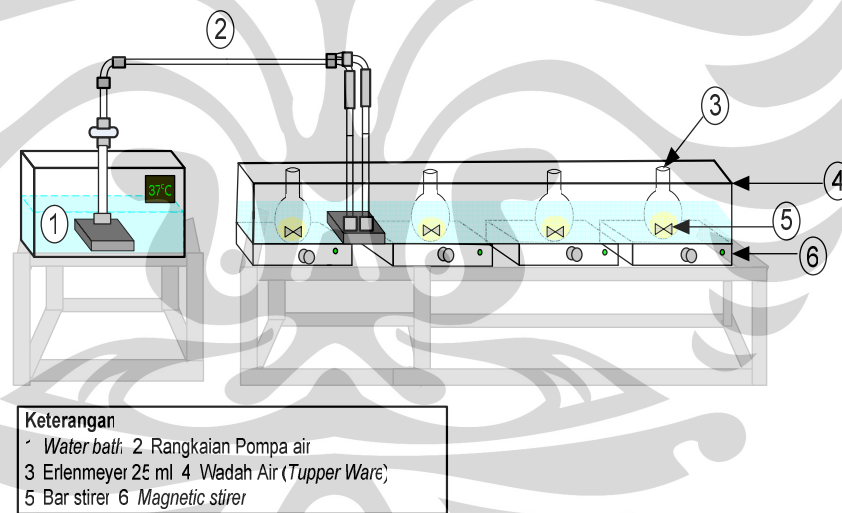
3.3 Prosedur Percobaan

3.3.1 *Screening* Biokatalis

Pada tahap *screening* biokatalis dikumpulkan literatur mengenai jenis lipase terbaik yang digunakan untuk sintesis biodiesel rute non-alkohol serta referensi mengenai kondisi operasi optimal untuk reaksi sintesis biodiesel rute non-alkohol baik dari buku, jurnal, maupun artikel. Dari hasil studi literatur ini diharapkan diperoleh tinjauan pustaka yang dapat digunakan sebagai dasar dari reaksi sintesis biodiesel rute non-alkohol.

3.3.2 Set Up Reaktor

Dalam percobaan awal ini reaksi yang dilakukan adalah reaksi sintesis biodiesel dalam sebuah reaktor batch. Reaksi sintesis biodiesel dilakukan melalui rute non-alkohol. Dalam tahapan ini juga dilakukan penyiapan peralatan pendukung yang menunjang penelitian.



Gambar 3. 2 Skematik diagram Reaktor *batch* Interesterifikasi Sintesis Biodiesel Secara Enzimatik

3.3.3 Percobaan Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Katalis NaOH

Pada tahapan ini reaksi sintesis biodiesel dilakukan menggunakan katalis NaOH. Minyak Jelantah digunakan sebagai sumber trigliserida yang direaksikan dengan metil asetat sebagai reaktan pensuplai alkil. Hasil yang didapat dari percobaan ini nantinya akan digunakan sebagai perbandingan terhadap reaksi

sintesis biodiesel menggunakan biokatalis. Berikut adalah kondisi operasi yang digunakan untuk reaksi rute non-alkohol menggunakan katalis NaOH.

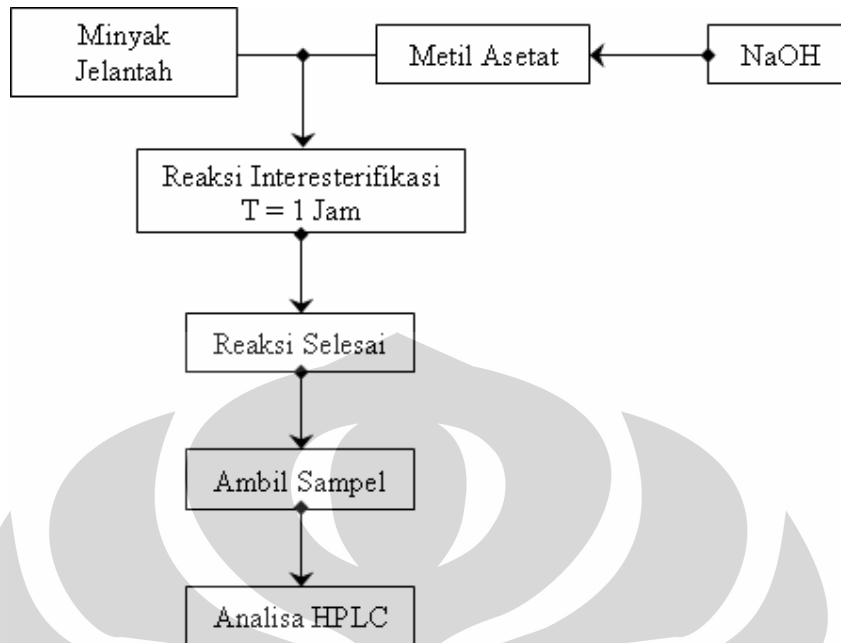
Tabel 3. 1 Kondisi Operasi Reaksi Menggunakan Katalis NaOH

Kondisi Reaksi	
Suhu	60 ⁰ C
Waktu Reaksi	1 Jam
Perbandingan molar Minyak Jelantah : Metil Asetat	1 : 6
Konsetrasi katalis NaOH	1% wt substrat

Adapun prosedur sintesis biodiesel dari minyak jelantah adalah sebagai berikut :

1. Tahap Persiapan Bahan
Mempersiapkan bahan-bahan yang diperlukan seperti NaOH, metil asetat, dan minyak jelantah.
2. Tahap Persiapan Alat
Mempersiapkan alat-alat yang dibutuhkan untuk penelitian seperti dua buah tabung erlenmeyer 200 ml sebagai tempat substrat, dan kaca arloji serta termometer untuk mencatat suhu, *stirer* pengaduk, *waterbath*, reaktor *batch* (tumpak), dan *stopwatch*.
3. Tahap Penelitian
Mengukur massa substrat yang diperlukan untuk reaksi dengan perbandingan mol minyak minyak jelantah : mol metil asetat = : 1:6
4. Mempersiapkan Minyak Jelantah Ke dalam Reaktor
 - a. Memasukan minyak minyak jelantah yang telah dilakukan pemanasan dan penyaringan terlebih dahulu ke dalam reaktor tumpak. Pemanasan dilakukan pada suhu 100⁰C selama 30 menit dan penyaringan dilakukan menggunakan kertas saring.
 - b. Menyalakan *stirer gigantor*.
 - c. Mengalirkan air pada condenser.
 - d. Men-*setting* *waterbath* pada suhu 60⁰C, kemudian ukur suhunya menggunakan thermometer.
 - e. Setelah suhu minyak minyak jelantah sudah mencapai 60⁰C.
5. Mempersiapkan Larutan Metil Asetat

- a. Mengukur volume metil asetat yang dibutuhkan sesuai perbandingan stokiometrik menggunakan gelas ukur 100 ml.
 - b. Mengambil metil asetat yang dibutuhkan sesuai dengan perbandingan mol yang digunakan, kemudian dituang ke dalam labu erlenmeyer 250 ml, lalu labu erlenmeyer ditutup.
6. Mempersiapkan Katalis NaOH
- a. NaOH yang dibutuhkan adalah 1% wt dari berat total minyak minyak jelantah dan metil asetat.
 - b. Massa NaOH yang dibutuhkan kemudian ditimbang menggunakan timbangan digital.
7. Melarutkan NaOH ke dalam Metil Asetat
- a. Memasukan NaOH ke dalam labu erlenmeyer menggunakan corong.
 - b. Melarutkan NaOH dengan metil asetat menggunakan *magnetic stirrer* dan tunggu hingga larut sempurna.
8. Memulai Reaksi Interesterifikasi
- a. Memasukan larutan NaOH dan metil asetat ke dalam tabung reactor tumpak yang telah berisi minyak jelantah pada suhu 60°C.
 - b. Catat waktu reaksi menggunakan *stopwatch*.
 - c. Tunggu hingga 1 jam dan kemudian diambil sampelnya.
9. Tahap Reaksi Selesai
- a. Setelah reaksi selesai, *waterbath* dimatikan, refluks disiram dengan aquades, dan kemudian campuran metil ester dan triacetilgliserol dalam reaktor langsung didinginkan dalam air untuk menghentikan reaksi.
 - b. Campuran metil ester dan triacetilgliserol (hasil reaksi) ini kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan dibiarkan semalaman pada suhu ruang untuk memisahkan metil ester dan triacetilgliserol.
 - c. Ambil Sampel lalu dianalisa dengan HPLC.



Gambar 3. 3 Diagram Alir Interesterifikasi menggunakan katalis NaOH
(Substrat : Minyak Jelantah; T = 60°C; T = 1 Jam)

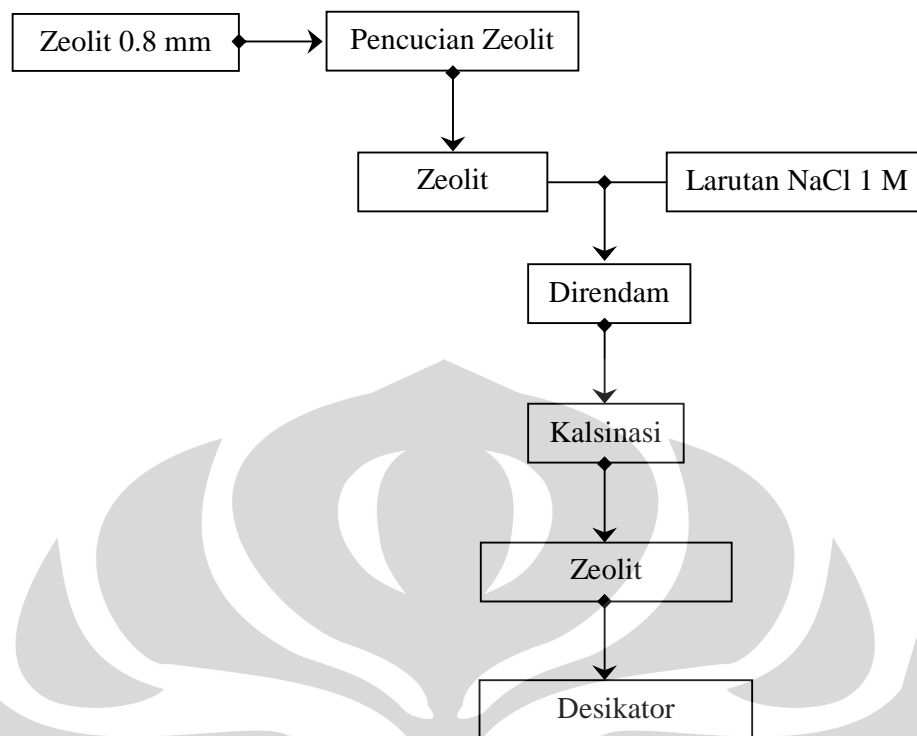
3.3.4 Percobaan Immobilisasi Enzim

Enzim *Porcine Pancreatic Lipase* diimmobilisasi. Bagan alir prosedur untuk proses immobilisasi biokatalis dapat dilihat pada gambar 3.4

1. Aktivasi Penyangga

Menyiapkan zeolit berukuran partikel 0.8 mm dengan cara ditumbuk-tumbuk kemudian di ayak. Lalu menimbang zeolit yang diperlukan. Zeolit yang sudah ditimbang kemudian dicuci dengan air untuk dibersihkan.

Mengaktivasi zeolit dengan cara direndam pada NaCl 1 M selama 12 jam dengan penggantian larutan sebanyak 2 kali untuk menghilangkan ion Ca^{2+} . Zeolit kemudian dipanaskan pada suhu 220°C selama 1 jam didalam oven dan didinginkan pada suhu ruang. Zeolit yang sudah teraktivasi ini kemudian dipersiapkan untuk tahap immobilisasi didalam larutan lipase.



Gambar 3. 4 Diagram aktifitas Penyangga

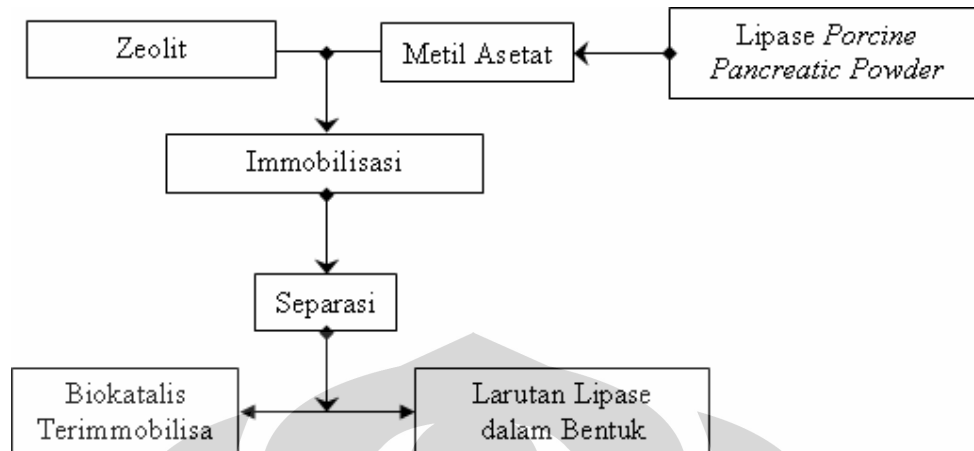
2. Preparasi Biokatalis

Lipase yang telah ditimbang kemudian dilarutkan pada metil asetat hingga larut. Banyaknya metil asetat yang digunakan ditentukan dari variasi rasio mol substratnya.

3. Immobilisasi Biokatalis

Zeolit yang sudah teraktivasi kemudian dimasukkan kedalam larutan metil asetat yang sudah berisi lipase. Zeolit kemudian di aduk (di stirer) pada temperatur ruang. Diharapkan selama proses pengadukan terjadi proses adsorpsi dimana adanya terjadi pertukaran ion-ionnya antara lipase dan zeolit. Pada tahap proses adsorpsi inilah lipase akan menempel pada penyangganya (lipase terimmobilisasi)

Larutan lipase diimmobilisasi selama 60 menit. Butiran penyangga kemudian dipisahkan dari sisa larutan lipase menggunakan molekular *sieve*.



Gambar 3. 5 Diagram Alir Prosedur Immobilisasi Biokatalis

4. Separasi Larutan Lipase

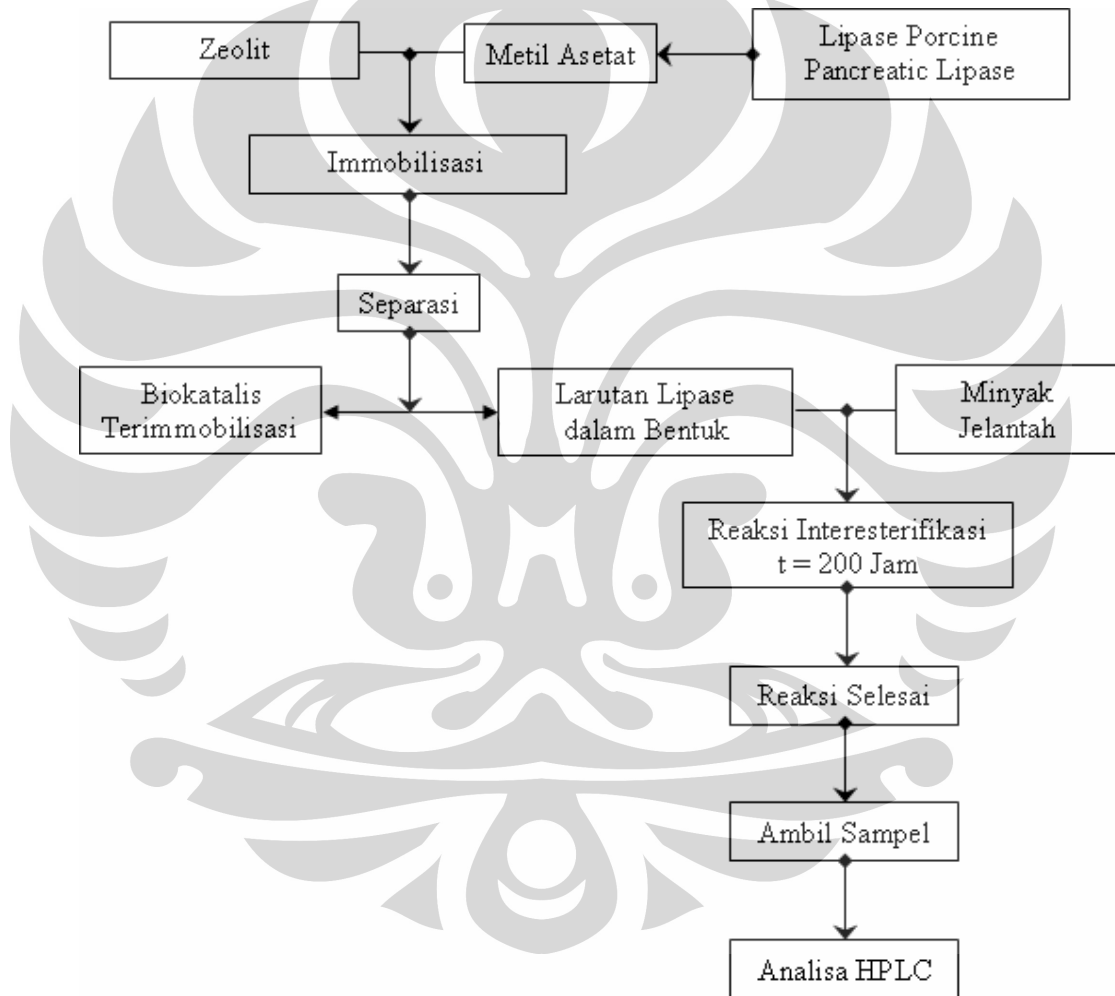
Separasi larutan lipase dilakukan menggunakan saringan jeruk atau *molekular sieve* dengan diameter lubang berukuran 0.8 mm. Larutan lipase yang lolos saring digunakan sebagai *free* lipase dan lipase yang tersaring digunakan sebagai lipase yang terimmobilisasi.

3.3.5 Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi

Reaksi akan dilakukan dalam reaktor *batch* (labu erlenmeyer 25 ml) yang berisi campuran minyak jelantah dan metil asetat dengan perbandingan mol yang berbeda-beda. Perbandingan mol substrat minyak jelantah terhadap metil asetat yang digunakan adalah 1:3 dan 1:12. Percobaan uji aktivitas ini direaksikan pada suhu 37°C. Konsentrasi *free* enzim yang digunakan adalah 1%, 2%, dan 4%wt dari substrat campuran minyak jelantah dan metil asetat. Sebelum reaksi dimulai, minyak di dalam labu erlenmeyer direndam terlebih dulu dalam air hangat pada suhu 37°C, hal ini dilakukan agar saat terjadi proses sintesis, lipase sebagai biokatalis sudah mencapai suhu optimalnya. Untuk variasi waktu proses pengambilan sampel dilakukan pada t (jam) : 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9,12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50. 75,100,125,150,200.

Tabel 3. 2 Kondisi Operasi untuk Reaksi Lipase dalam Bentuk suspensi

Konsentrasi awal enzim	: 1, 2 dan 4 [% wt campuran reaktan]
Rasio molar minyak jelantah : metal acetat	: 1:3 dan 1:12
Temperatur reaksi	: 37 °C
Waktu reaksi	: 200 jam

**Gambar 3. 6** Diagram Alir Reaksi Interesterifikasi sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi (substrat : minyak jelantah; t = 200 jam; T = 37°C)

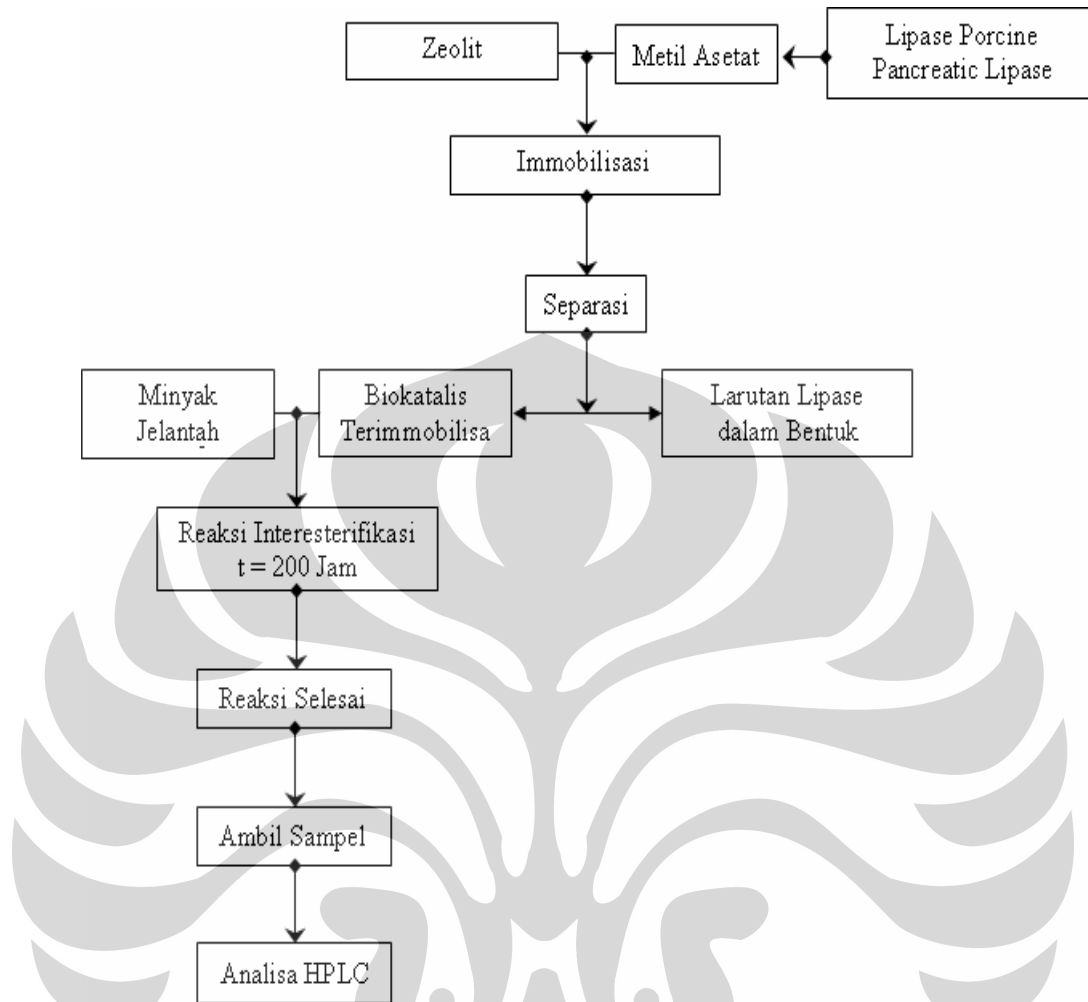
3.3.6 Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi

Reaksi akan dilangsungkan dalam reaktor *batch* (labu erlenmeyer 25 ml) yang berisi campuran minyak jelantah dan metil asetat dengan perbandingan mol yang berbeda-beda. *Immobilized* lipase yang digunakan adalah 1%, 2%, dan 4% wt dari substrat campuran minyak jelantah dan metil asetat. Percobaan uji aktivitas akan dilakukan juga adalah variasi mol substrat dengan perbandingan mol minyak jelantah terhadap metil setat adalah 1:3 dan 1:12. Untuk variasi waktu proses pengambilan sampel dilakukan pada t (jam) : 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9,12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50,75,100,125,150,200.

Seperti percobaan sebelumnya, konsentrasi dari biodiesel yang terbentuk di ukur menggunakan HPLC. Optimasi kondisi operasi untuk reaksi sintesis biodiesel menggunakan lipase yang sudah diimmobilisasi dilangsungkan dengan melakukan variasi konsentrasi enzim.

Tabel 3. 3 Kondisi Operasi Uji Aktivitas menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Absorpsi

Konsentrasi awal enzim	: 1, 2 dan 4 [% wt campuran reaktan]
Rasio molar minyak jelantah : metil acetat	: 1:3 dan 1:12
Temperatur reaksi	: 37 °C
Waktu reaksi	: 200 jam



Gambar 3. 7 Diagram Alir Reaksi Interesterifikasi sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi (substrat : minyak jelantah; t = 200 jam; T = 37°C)

3.3.7 Fitting Kurva Michaelis Menten metode linierisasi



3.1

Notasi E dan T adalah enzim dan trigliserida sebagai substrat, B merupakan produk yaitu biodiesel, dan notasi ET merupakan enzim-trigliserida kompleks. Pembentukan senyawa kompleks ET dari E dan T berlangsung dengan konstanta kecepatan k_1 . kompleks ET kemudian mengalami 2 kemungkinan penguraian yaitu, pertama kembali terurai menjadi E dan T dengan konstanta kecepatan k_2 , atau melanjutkan reaksi dengan menghasilkan produk (B) dan E

dengan konstanta kecepatan k_3 , dengan asumsi tidak ada B yang dapat diubah lagi menjadi T.

Penjabaran hubungan antara kecepatan penguraian, baik dengan konsentrasi substrat maupun konsentrasi enzim. Kecepatan reaksi sangat tergantung pada konsentrasi ET dan konstanta laju reaksi k_3 yang dapat diutarakan dalam rumus sebagai berikut :

$$\text{Laju penguraian } ET = (k_2 + k_3)[ET] \quad [3.2]$$

$$\text{Laju pembentukan } ET = k_1[E] + [T] \quad [3.3]$$

Dalam keadaan setimbang jumlah ET tetap, yang artinya baik ET yang terbentuk maupun yang terurai sama banyaknya, meskipun bahan awal dan produk jumlahnya dapat saja berubah-ubah. Hal ini hanya mungkin terjadi bila laju pembentukan = laju penguraian.

$$k_1[E][T] = (k_2 + k_3)[ET]$$

$$\frac{k_1[E][T]}{(k_2 + k_3)} = [ET]$$

$$[ET] = \frac{[E][T]}{(k_2 + k_3)/k_1} \quad \text{bila } Km = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

Km = disebut konstanta Michaelis

$$\text{maka } [ET] = \frac{[E][T]}{Km} \quad [3.4]$$

Bila konsentrasi substrat awal sangat tinggi atau berlebih, konsentrasi substrat yang belum terikat dapat dianggap sama dengan konsentrasi substrat semula.

E = konsentrasi enzim yang tidak terikat. Jadi berarti sama dengan konsentrasi E mula-mula atau total $[E_{Total}]$ dikurangi konsentrasi E dari ET

Dimana E_{Total} = jumlah dari E dan E yang terikat dengan substrat atau ET.

$$[E_{Total}] = [E] + [ET] \quad [3.5]$$

$$[E] = [E_{Total}] - [ET] \quad [3.6]$$

Dari persamaan laju pembentukan dan penguraian ET maka :

$$\frac{d[ET]}{dt} = k_1[E_{Total} - ET][T]$$

dan $\frac{d[ET]}{dt} = (k_2 + k_3)[ET]$ sehingga

$$(k_2 + k_3)[ET] = k_1[E_{Total} - ET][T]$$

$$\frac{(k_2 + k_3)}{k_1}[ET] = ([E_{Total}] - [ET])[T]$$

$$\frac{(k_2 + k_3)}{k_1}[ET] = [E_{Total}][T] - [ET][T]$$

$$\frac{(k_2 + k_3)}{k_1}[ET] + [ET][T] = [E_{Total}][T]$$

$$[ET] \left(\frac{(k_2 + k_3)}{k_1} + [T] \right) = [E_{Total}][T]$$

$$\text{didapat } [ET] = \frac{[E_{Total}][T]}{(K_m + [T])} \quad [3.7]$$

$$\text{Persamaan } V = k_3[ET] \quad [3.8]$$

$$\text{Sehingga } V = \frac{k_3[E_{Total}][T]}{(K_m + [T])} \quad [3.9]$$

$$V_{maks} = k_3[E_{Total}] \quad [3.10]$$

$$V = \frac{k_3[E_{Total}][T]}{(K_m + [T])} = \frac{V_{maks}[T]}{(K_m + [T])} \quad [3.11]$$

Penurunan persamaan michaelis-menten menghasilkan persamaan [3.11], dimana untuk mencari nilai K_m dan V_{max} dapat diselesaikan secara sederhana menggunakan metode linierisasi. Jika laju pembentukan produk adalah:

$$\frac{d[B]}{dt} = \frac{V_{max}[T]}{[T] + k_m} \quad [3.12]$$

Maka jika ingin mencari nilai K_M dan V_{max} dapat dilinierisasikan melalui cara seperti berikut:

$$\frac{1}{d[B]} = \frac{[T] + k_m}{V_{max}[T]} \quad [3.13]$$

Disederhanakan lagi menjadi:

$$\frac{1}{\frac{d[B]}{dt}} = \frac{[T]}{V_{\max} [T]} + \frac{k_m}{V_{\max} [T]} \quad [3.14]$$

Lalu disusun ulang menjadi sebagai berikut:

$$\frac{1}{\frac{d[B]}{dt}} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{k_m}{V_{\max}} \left(\frac{1}{[T]} \right)$$

$\downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow$
 $y = a + b x$

[3.15]

sebagai sumbu y adalah $y = \frac{1}{\frac{d[B]}{dt}}$, dan sebagai sumbu x adalah $x = \frac{1}{[T]}$ sehingga

jika di plot nilainya akan menghasilkan slope $b = \frac{k_m}{V_{\max}}$ dan intersep: $a = \frac{1}{V_{\max}}$

3.3.8 Teknis Analisis Data

Untuk mengetahui % yield biodiesel yang dihasilkan maka analisa dilakukan menggunakan HPLC (high performance liquid chromatograph). Penggunaan HPLC didasari oleh sifat fasa sampel yang berbentuk liquid. Banyaknya (%) yield biodiesel yang terbentuk dilihat dari kandungan metil-oleatnya. Komponen oleat digunakan karena mewakili jumlah komponen asam lemak terbesar didalam kandungan trigliserida. Tes analisa sampel menggunakan HPLC yang dilakukan di PUSPITEK (Pusat Penelitian dan Teknologi), Serpong-Tangerang.



Gambar 3. 8 Unit HPLC yang digunakan untuk Menganalisa Metil Ester

Tabel 3. 4 Spesifikasi Alat HPLC

Merk	Hitachi
Detektor	L-4000 UV Detektor dengan panjang gelombang 205 nm
Kolom	C-18 Reverse Fase
Merck Kolom	Wakopak
Jenis Kolom	Wakosil-GP-N6
Diameter kolom	4.6 mm
Panjang kolom	150 mm
Pump	L-6200A
Differential Refractometer	RI-71
Column Thermostat	L-5025
Eluen	a. Methanol b. Isopropanol dan Hexane
Flow	0,8 ml/ menit

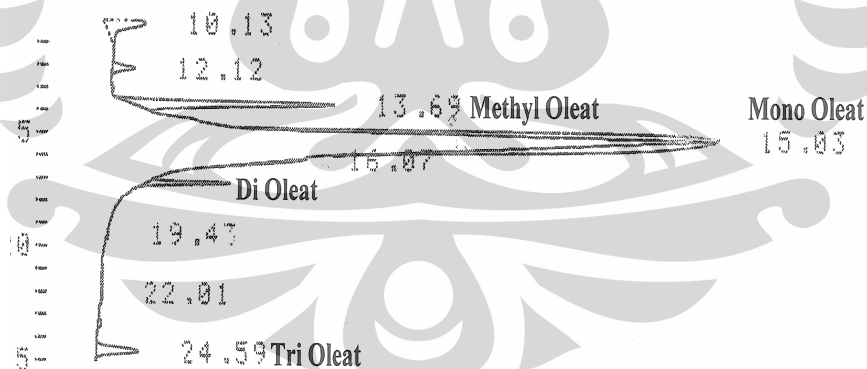
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui *yield* biodiesel yang dihasilkan melalui rute baru non-alkohol menggunakan variasi konsentrasi biokatalis dan waktu.

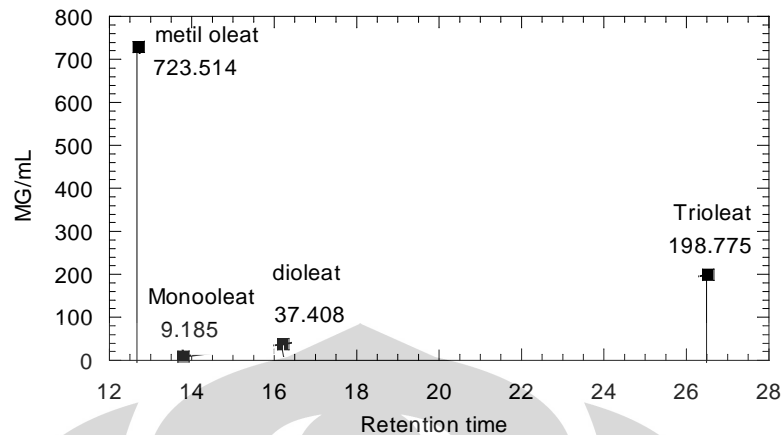
4.1 Kurva Hasil HPLC

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui *yield* biodiesel yang dihasilkan melalui rute baru non-alkohol menggunakan variasi konsentrasi biokatalis, dan waktu. Untuk mengetahui % *yield* biodiesel yang dihasilkan maka analisa dilakukan menggunakan HPLC (high performance liquid chromatograph). Penggunaan HPLC didasari oleh sifat fasa sampel yang berbentuk liquid. Banyaknya (%) *yield* biodiesel yang terbentuk dilihat dari kandungan metil-oleatnya. Komponen oleat digunakan karena mewakili jumlah komponen asam lemak terbesar di dalam kandungan trigliserida. Analisa sampel menggunakan HPLC yang dilakukan di PUSPITEK (Pusat Penelitian dan Teknologi), Serpong-Tangerang.

Berikut adalah contoh hasil pengecekan yang telah dilakukan



Gambar 4. 1 Kurva standar biodiesel HPLC



Gambar 4. 2 hasil analisa sampel biodiesel

4.2 Hasil Reaksi Sintesa Biodiesel Menggunakan Katalis NaOH

Pada tahap ini dilakukan reaksi interesterifikasi menggunakan katalis NaOH. Tujuannya adalah untuk mengetahui konsentrasi biodiesel yang terbentuk (mol/L) yang akan digunakan sebagai pembandingan terhadap konsentrasi biodiesel (mol/L) yang dihasilkan menggunakan biokatalis.

Reaksi sintesis biodiesel dilakukan menggunakan substrat minyak jelantah sebagai sumber trigliserida. Reaksi dilakukan melalui rute non-alkohol dengan menggunakan metil asetat sebagai pendonor alkil. analisa data tidak hanya dibandingkan dengan sintesa biodiesel dengan biokatalis, namun akan dibandingkan dengan hasil eksperimen *Septian marno* yang menggunakan minyak sawit untuk sintesis biodiesel. Sedangkan pada eksperimen ini dilakukan menggunakan minyak jelantah sebagai sumber trigliserida.



Gambar 4. 3 Substrat minyak jelantah saat sebelum reaksi (t = 0 menit)

Rute non-alkohol merupakan reaksi untuk membentuk *fatty acid methyl ester* (FAME) dari minyak jelantah dengan menggunakan ester berantai pendek (metil asetat) sebagai pensuplai gugus alkilnya. Rute non alkohol memiliki

Universitas Indonesia

kelebihan dibandingkan dengan rute alkohol, karena pada rute non alkohol biodiesel yang dihasilkan tidak perlu dilakukan pemurnian.

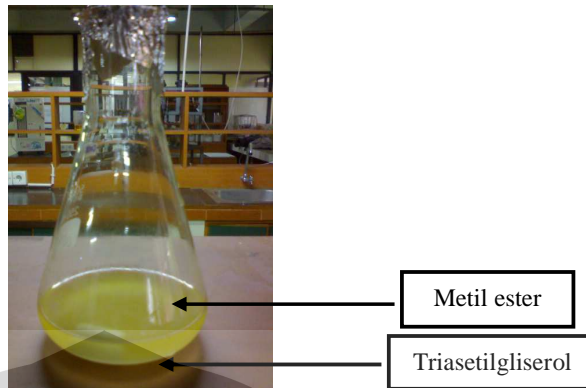
Dalam melakukan reaksi interesterifikasi, NaOH dilarutkan dalam metil asetat dengan pencampuran NaOH dengan CH_3COOH_3 terlebih dahulu, air yang dihasilkan lebih sedikit dibandingkan apabila NaOH ditambahkan langsung kedalam reaksi. Setelah itu katalis sodium asetat lebih reaktif dan merupakan katalis yang bisa digunakan untuk proses interesterifikasi. Hasil reaksi yang terbentuk berupa dua fasa yaitu lapisan atas metil ester berwarna kuning bening, sedangkan lapisan bawah berwarna kuning agak keruh.

Reaksi interesterifikasi dengan menggunakan minyak jelantah tidak bisa dilakukan secara langsung. Perlu dilakukan *pretreatment* terlebih dahulu terhadap minyak jelantah. *Pretreatment* yang dilakukan berupa proses penyaringan minyak jelantah menggunakan kertas saring. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan pengotor-pengotor yang terkandung di dalam minyak jelantah dan proses penghilangan kandungan air dari minyak jelantah menggunakan oven pada suhu 105°C selama 20 menit. Proses pengurangan kandungan minyak jelantah dimaksudkan untuk mengurangi reaksi saponifikasi selama proses interesterifikasi.



Gambar 4. 4 Proses sintesis biodiesel menggunakan katalis NaOH

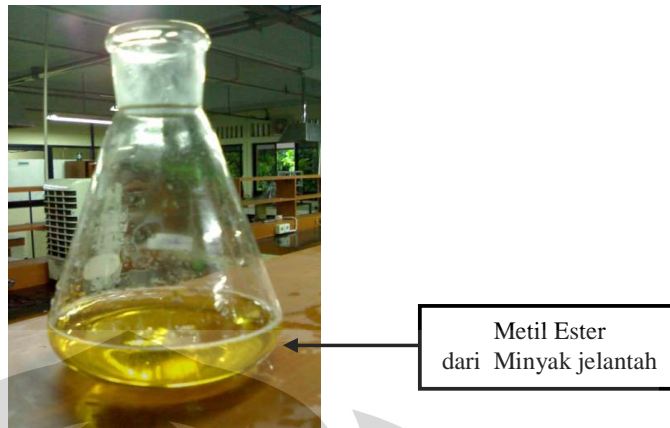
Hasil yang diperoleh setelah reaksi interesterifikasi selama 1 jam adalah sebagai berikut:



Gambar 4. 5 Hasil reaksi interesterifikasi melalui rute non alkohol dengan substrat minyak jelantah menggunakan katalis NaOH

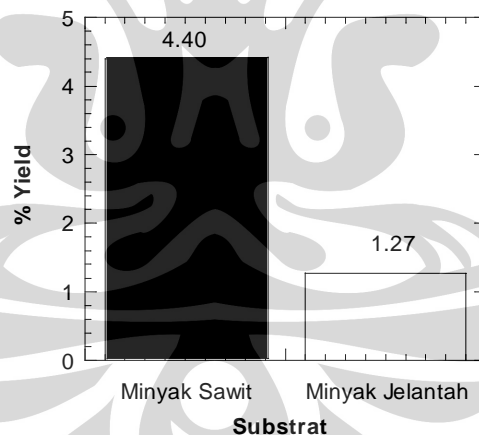
Hasil reaksi yang terbentuk berupa dua fasa yaitu lapisan atas metil ester berwarna kuning bening, sedangkan lapisan bawah berwarna kuning dengan sedikit lebih pekat. Setelah reaksi selesai, dilakukan pemisahan secara sederhana menggunakan perbedaan fasa, lapisan atas metil ester dipisahkan dengan cara dituang dan triasetilgliserol dibiarkan mengendap di dasar erlenmeyer. Setelah dipisahkan dari triasetilgliserol, metil ester yang terbentuk langsung dicuci dengan air hangat secara perlahan-lahan menggunakan air aquades. Tujuan pencucian ini adalah untuk menghilangkan sisa metil asetat dan sisa katalis NaOH yang masih terdapat dalam produk. Air merupakan pelarut polar sehingga akan dapat melarutkan senyawa polar seperti metil asetat dan sisa katalis NaOH..

Setelah dilakukan pencucian dengan air hangat, proses *treatment* berikutnya adalah penghilangan kandungan air dari produk metil ester yang terbentuk. Proses penghilangan kandungan air ini dimaksudkan untuk mencegah terjadi reaksi penyabunan berkelanjutan. Reaksi penyabunan mungkin terjadi jika masih ada sisa metil asetat dan katalis NaOH yang tidak larut selama proses pencucian. Proses penghilangan kandungan air dilakukan dengan merendam produk metil ester yang terbentuk dalam *waterbath* pada suhu 100°C selama 2 menit. Dalam proses pengeringan terlihat adanya uap air yang terbentuk dan menempel pada dinding labu erlenmeyer yang berisikan metil ester.



Gambar 4. 6 Produk metil ester hasil pemurnian dengan menghilangkan kandungannya.

Untuk mengetahui konsentrasi yang terbentuk dari rute alkohol ini, maka setiap sampel dianalisa menggunakan HPLC. Sampel yang dianalisa adalah saat $t = 0$ menit, yaitu saat minyak jelantah belum mulai beraksi, ini merupakan waktu awal-mula reaksi. Berikutnya adalah saat $t = 60$ menit, ketika minyak jelantah telah mengalami reaksi interesterifikasi membentuk biodiesel, ini merupakan waktu akhir reaksi dimana semua substrat dianggap telah membentuk produk biodiesel. Berikut adalah hasilnya:



Gambar 4. 7 Konsentrasi Biodiesel yang terbentuk menggunakan katalis NaOH

Kondisi operasi : minyak sawit dan minyak jelantah,

rasio mol reaktan = 1 : 6, $t = 1$ jam; $T = 60^{\circ}\text{C}$

Pada gambar 4.7 perbandingan mol/L biodiesel yang terbentuk dari dua substrat yang berbeda yaitu menggunakan minyak jelantah dan minyak sawit, data % yield minyak sawit didapat dari eksperimen *septian marno*, dimana minyak sawit lebih besar % yield biodieselnnya dibanding dengan menggunakan minyak

jelantah mol/L. Hal ini disebabkan oleh masih terdapatnya pengotor (*impurities*) dan banyaknya kandungan asam lemak bebas dan kandungan air yang terdapat pada minyak jelantah yang digunakan. Adanya kandungan asam lemak bebas dan kandungan air mendorong terjadinya reaksi hidrolisis yang dapat menurunkan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan.

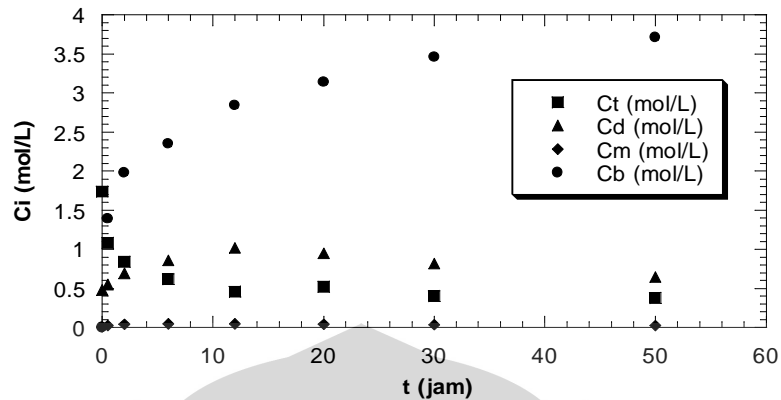


Gambar 4. 8 NaOH yang sulit larut dalam metil asetat

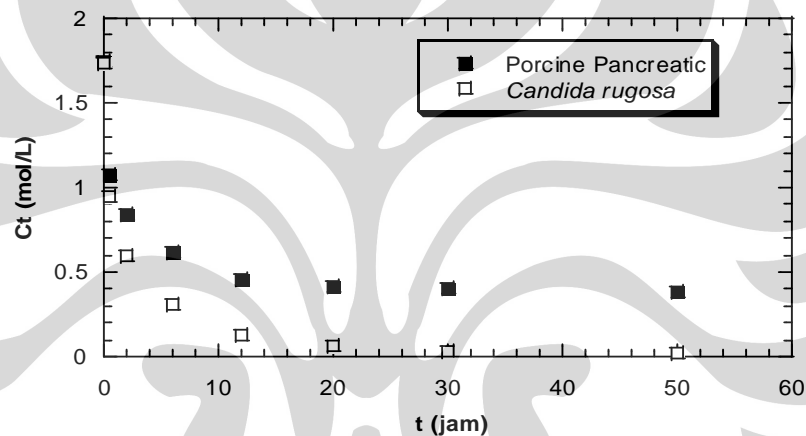
4.3 Hasil Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Porcine Pancreatic Lipase Bentuk tersuspensi

Untuk mengetahui laju konsentrasi pembentukan produk terhadap waktu, maka dalam penelitian ini dilakukan variasi waktu, banyaknya biodiesel yang terbentuk dalam waktu tertentu juga padat menunjukkan aktivitas dari enzim sebagai biokatalis. Hasilnya ditunjukkan oleh kurva dibawah ini dimana hasilnya dibandingkan dengan sintesa biodiesel menggunakan biokatalis *Candida rugosa* yang eksperimenya dilakukan oleh *M.Ekky Rizkiyadi*.

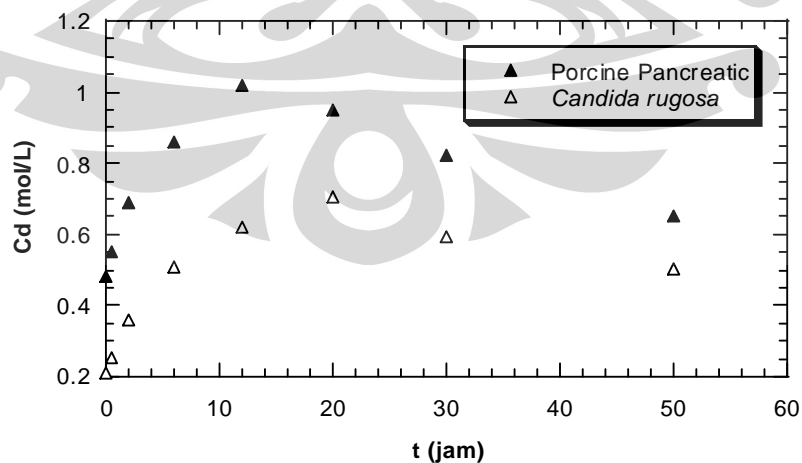
Sintesa biodiesel dengan menggunakan porcine pancreatic lipase sudah pernah dilakukan oleh Li Deng *et al* pada tahun 2003 dimana pada laporanya melakukan reaksi esterifikasi dari asam oleat dan metanol dengan menggunakan 6 jenis lipase yang berbeda dimana salah satunya menggunakan Porcine Pancreatic lipase menghasilkan konversi 13,79 % (immobilisasi) dan 22.45% (non-immobilisasi).



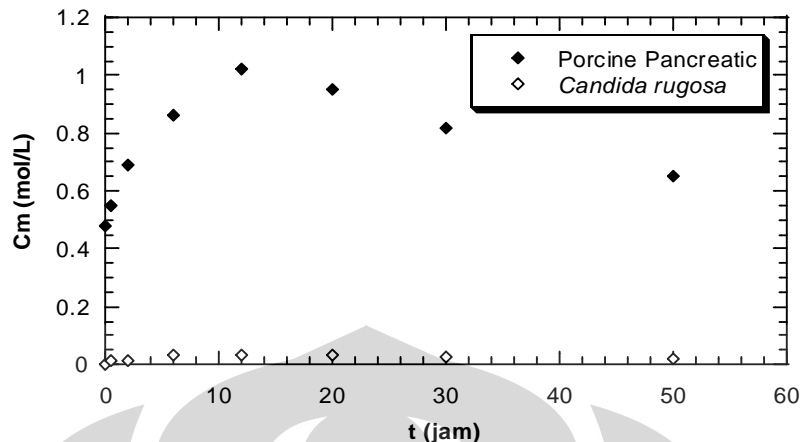
Gambar 4.9 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel dengan substrat minyak jelantah menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi ($t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$, rasio mol reaktan = 1: 12)



Gambar 4.10 Laju konsentrasi tri oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi (kondisi operasi : substrat minyak jelantah, $t = 50$ jam ; $T = 37^{\circ}\text{C}$; rasio mol reaktan = 1: 12)

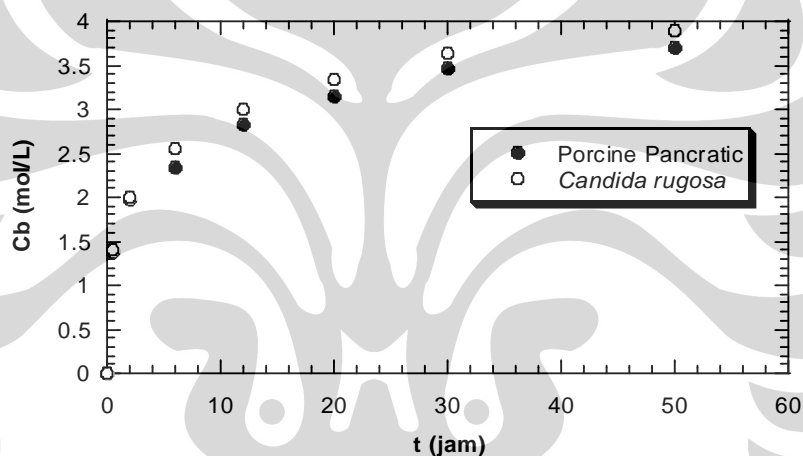


Gambar 4.11 Laju konsentrasi di oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi (kondisi operasi : substrat minyak jelantah, $t = 50$ jam ; $T = 37^{\circ}\text{C}$; rasio mol reaktan = 1: 12)



Gambar 4.12 Laju konsentrasi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi

(kondisi operasi : substrat minyak jelantah, $t = 50$ jam ; $T = 37^{\circ}\text{C}$; rasio mol reaktan = 1: 12)



Gambar 4.13 Laju konsentrasi biodiesel (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi

(kondisi operasi : substrat minyak jelantah, $t = 50$ jam ; $T = 37^{\circ}\text{C}$; rasio mol reaktan = 1: 12)

Dari kurva laju reaksi tri oleat diatas yang dihasilkan, dapat terlihat bahwa konsentrasi dari tri oleat akan terus mengalami penurunan seiring meningkatnya waktu reaksi. Penurunan konsentrasi tri oleat dikarenakan adanya sejumlah substrat yang membentuk menjadi produk (biodiesel). Peningkatan jumlah produk yang terbentuk terlihat dari meningkatnya konsentrasi biodiesel yang dihasilkan (mol/L) seiring bertambahnya waktu. Jika dibandingkan dengan data eksperimen *M.Ekky Rizkiyadi* sintesa biodiesel menggunakan *Candida rugosa* banyaknya tri oleat yang terbentuk menjadi produk lebih besar dibandingkan dengan menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase.

Dari gambar 4.13 terlihat bahwa konsentrasi biodiesel yang terbentuk paling besar terjadi pada saat $t = 50$ jam, yaitu mencapai 3.71 mol/L. Jika dibandingkan dengan konsentrasi biodiesel yang terbentuk dari data *M.Ekky rizkiyadi* dengan menggunakan lipase *Candida rugosa* mencapai 3.89 mol/L berdasarkan teori tentang laju reaksi pembentukan produk, suatu produk yang terbentuk seharusnya akan semakin besar jika waktu reaksi yang digunakan semakin lama. Dengan kata lain lama waktu reaksi yang dibutuhkan untuk mensintesis biodiesel akan mempengaruhi laju reaksi dari pembentukan suatu produk.

Kurva yang terbentuk diatas hampir sepenuhnya mengikuti bentuk kurva linier signoid seperti kebanyakan mekanisme reaksi enzimatik yang pernah dilakukan. Peningkatan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan saat $t = 50$ jam masih terlihat berbeda dengan saat $t = 30$ jam. Ada peningkatan yang cukup signifikan. Hal ini mengindikasikan kemampuan enzim untuk mengikat substrat masih sangat efektif dan tingkat aktivitas enzim belum mengalami penurunan. Ada kemungkinan ketika $t \geq 50$ jam produk yang dihasilkan akan turun, saat inilah kinerja enzim sebagai biokatalis sudah terdeaktivasi, dimana enzim sudah tidak mampu mengikat substrat dan enzim sudah mengalami kejenuhan.

Jika dibandingkan dengan penelitian yang sudah dilakukan oleh Li Deng *et al* pada tahun 2003 dimana pada laporanya melakukan reaksi esterifikasi dari asam oleat dan metanol dengan menggunakan 6 jenis lipase yang berbeda dimana salah satunya menggunakan Porcine Pancreatic lipase menghasilkan konversi 22.45% dengan kondisi reaksi $t = 24$ jam, $T = 40$ °C, rasio mol reaktan 1:3 dengan konsentrasi enzim 3 % wt).

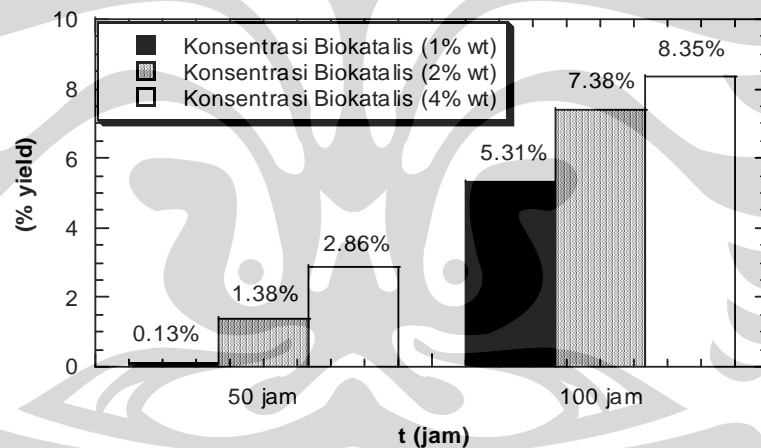


Gambar 4. 14 Persiapan pembuatan larutan lipase



Gambar 4. 15 Tahapan reaksi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic Lipase

Pada eksperimen sintesa biodiesel dengan menggunakan porcine pancreatic lipase dilakukan sintesa sampai $t = 200$ jam, namun untuk analisa hanya dilakukan sampai $t = 100$ jam, hal ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim pada saat $t = 100$ jam apakah reaksi yang terjadi masih menghasilkan biodiesel. Berikut adalah hasilnya :



Gambar 4. 16 % yield biodiesel pada waktu 50 dan 100 jam, dari biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi

(kondisi operasi : substrat minyak jelantah, rasio mol reaktan 1: 3 , $t = 50$ dan 100 jam ; $T = 37^{\circ}\text{C}$)

Dapat dilihat pada gambar diatas pada waktu reaksi 100 jam % yield biodiesel masih dihasilkan, ini bisa dilihat dari penambahan % yield biodiesel dari waktu reaksi 50 jam ke waktu 100 jam. Perbedaan % yield yang dihasilkan masih menunjukkan perbedaan yang cukup besar dari selang waktu 50 jam ke 100 jam. Pada penggunaan biokatalis 4% terjadi penambahan % yield biodiesel sebesar 5.49% dari $t = 50$ jam ke $t = 100$ jam. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim

Porcine Pancreatic lipase masih baik pada waktu reaksi 100 jam dan belum terdeaktivasi.

4.4 Pengaruh konsentrasi enzim

Pada eksperimen ini dilakukan pengujian aktivitas enzim lipase yang digunakan sebagai biokatalis dalam mensintesis biodiesel. penggunaan lipase sebagai biokatalis disebabkan oleh kemampuan lipase yang dapat memecah lemak, selain itu katalis dapat juga digunakan untuk mempercepat reaksi dan jumlah yield dalam proses reaksi.

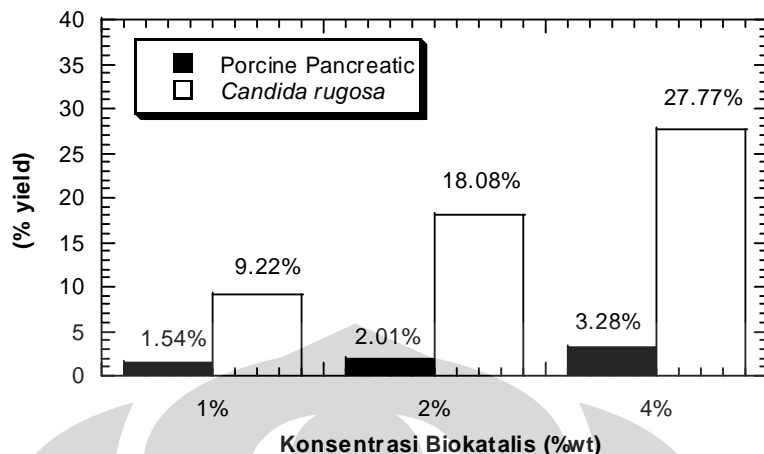
Lipase yang digunakan adalah porcine pancreatic lipase, penggunaan lipase jenis porcine pancreatic lipase didasari oleh penelitian PD Desai *et al* pada tahun 2006, dimana PD Desai melakukan sintesa biodiesel dengan menggunakan porcine pancreatic lipase dalam laporannya yang mereaksikan 0.5 Mm minyak salicornia (salicornia oil) dengan 0.5-3.0 mM methanol menggunakan 0.125 gr *free* porcine pancreatic lipase menghasilkan konversi metil oleat sekitar 48 %.

Reaserch group universitas Mumbai S.S.Bhagwat *et al* pada tahun 2004 melakukan kinetika pemodelan dari transesterifikasi menggunakan Porcine Pancreatic Lipase (PPL) dan *Candida cylindracea* lipase (YL). S.S. Bhagwat *et al* mereaksikan substitusi β -Etanol ($X-CH_2-CH_2-OH$, dimana $X= Cl, Br, MeO, BuO, Me_2N$ dan Et_2N dengan 15 ml etil asetat dan 1 g lipase pada suhu $35^{\circ}C$. konversi yang dihasilkan untuk PPL lebih baik dibandingkan dengan YL.

Yang membedakan penelitian ini adalah rute sintesanya yaitu rute non alkohol, minyak jelantah akan direaksikan dengan metil asetat sebagai pensuplai gugus alkil dalam reaksi interesterifikasi.

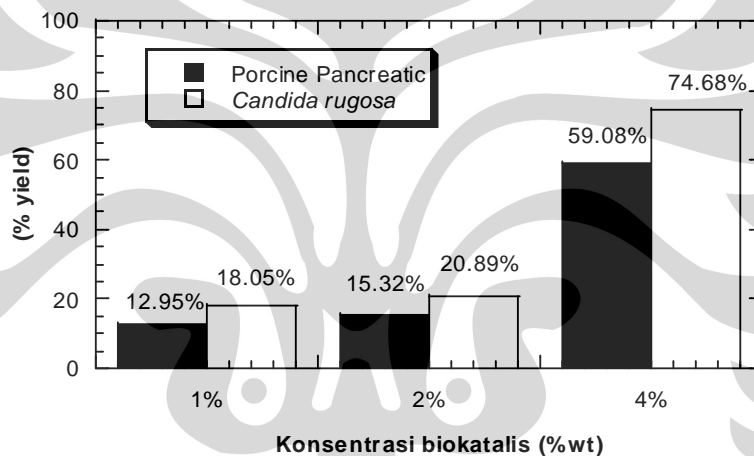


Gambar 4. 17 Enzim Porcine Pancreatic Lipase yang digunakan sebagai biokatalis



Gambar 4. 18 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap % yield biodiesel dari lipase *Candida rugosa* dan Porcine Pancreatic dalam bentuk tersuspensi

(kondisi operasi : substrat minyak jelantah, rasio mol reaktan 1: 3 , t = 50 jam; T = 37°C)



Gambar 4. 19 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap % yield biodiesel dari lipase *Candida rugosa* dan Porcine Pancreatic dalam bentuk tersuspensi,

(kondisi operasi : substrat minyak jelantah, rasio mol reaktan 1: 12 , t = 50 jam; T = 37°C)

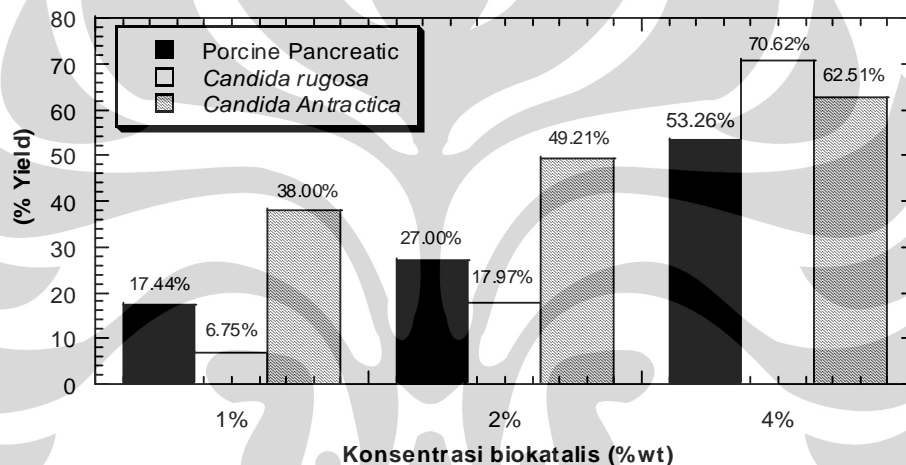
Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa % yield *Candida rugosa* lebih tinggi dibanding dengan % yield dari porcine pancreatic lipase, hal ini bisa terjadi karena aktifitas enzim porcine pancreatic lipase lebih kecil dibandingkan dengan *Candida rugosa*, untuk rasio mol 1:12 konsentrasi enzim 4% wt terdapat perbedaan % yield yang sangat jauh, yaitu 74.68 % untuk *Candida rugosa* dan 59.08 % untuk porcine pancreatic lipase.

Pengaruh penambahan biokatalis dapat menyebabkan laju reaksi pembentukan produk akan semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi

enzim. Dengan semakin besarnya laju pembentukan produk, maka konstanta laju reaksi pembentukan produk (k_p) mempunyai nilai yang lebih besar dari pada nilai reaksi baliknya (k_{-1}).

Data hasil percobaan akan dibandingkan dengan hasil data dari sintesa biodiesel dengan biokatalis *Candida rugosa*, data tersebut merupakan data eksperimen yang dilakukan oleh *M. Ekky rizkiyadi*.

Hasil yang sam juga ditunjukkan pada lipase terimmobilisasi, dengan bertambahnya biokatalis yang digunakan maka akan menghasilkan produk biodiesel yang semakin besar, berikut data hasil eksperimen yang dialkukan dan hasilnya dibandingkan dengan data dari *Septian Marno* dan *M. Ekky Rizkiyadi*.



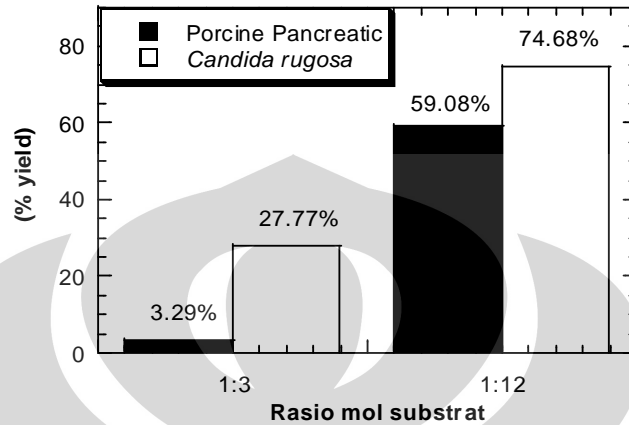
Gambar 4. 20 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap % yield biodiesel dari lipase Porcine Pancreatic, *Candida rugosa* dan *Candida antractica* yang terimmobilisasi metode adsorpsi, (kondisi operasi : substrat minyak jelantah, rasio mol reaktan 1: 12 , t = 50 jam; T = 37^oC)

Dapat dilihat dari gambar diatas bahwa terjadi kenaikan % yield biodiesel dari masing-masing katalis sering dengan bertambahnya biokatalis yang digunakan, hal ini menandakan bahwa semakin banyak biokatalis yang digunakan maka akan semakin besar pula % yield biodiesel yang dihasilkan. % yield terbesar datang datang dari ekperimen yang dilakukan *M Ekky Rizkiyadi* yaitu 70.62 % pada penambahan biokatalis 4 % wt.

4.5 Pengaruh Rasio Substrat

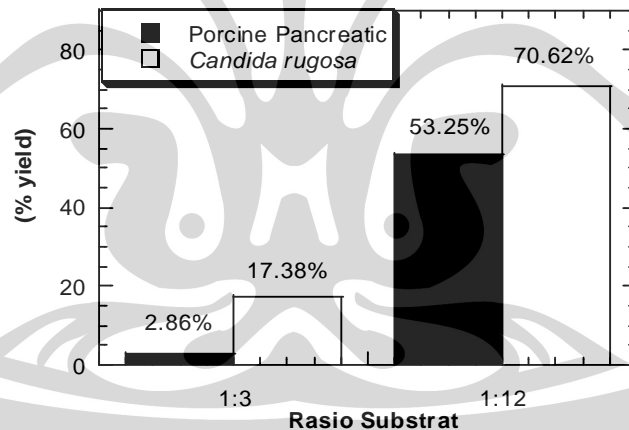
Untuk melakukan uji aktivitas enzim, selain dengan variasi biokatalis, variasi mol substrat juga dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim dalam

reaksi sintesa biodiesel. variasi mol substrat yang digunakan yaitu 1:3 dan 1:12. berikut adalah hasil eksperimen dari variasi mol substrat dari Porcine pancreatic Lipase



Gambar 4. 21 Pengaruh rasio mol substrat terhadap % yield biodiesel yang dihasilkan menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic dan *Candida rugosa* Lipase dalam bentuk tersuspensi

(kondisi operasi : substrat minyak jelantah, berat biokatalis 4% wt, t = 50 jam; T = 37°C)



Gambar 4. 22 Pengaruh rasio mol substrat terhadap % yield biodiesel yang dihasilkan menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic dan *Candida rugosa* Lipase yang terimmobilisasi (kondisi operasi : substrat minyak jelantah, berat biokatalis 4% wt, t = 50 jam; T = 37°C)

Gambar diatas menunjukkan bahwa semakin meningkatnya mol substrat yang digunakan maka akan meningkatkan jumlah dari konsentrasi biodiesel yang dihasilkan.

Dari hasil gambar tersebut untuk rasio molar minyak jelantah dan metil asetat 1: 3 dan 1:12 sesuai dengan prinsip dalam mekanisme reaksi enzimatik pada umumnya dimana jumlah konsentrasi biokatalis (enzim) selalu berbanding

lurus terhadap produk yang dihasilkan. Dari kurva tersebut dapat dilihat juga bahwa penggunaan enzim porcine pancreatic lipase menghasilkan % yield yang lebih kecil jika dibandingkan dengan % yield *Candida rugosa* dari eksperimen yang dilakukan oleh *Ekky Rizkiyadi*.

Jika dilihat dari nilai profil konsentrasi yang terbentuk dalam eksperimen ini, maka dapat dilihat nilai konsentrasi biodiesel yang tertinggi dengan menggunakan enzim Porcine Pancreatic lipase, yaitu sebesar 3.706 mol /L atau setara dengan % yeild 59.08 % yang terbentuk pada saat rasio mol reaktan 1:12 dan konsentrasi biokatalis 4% wt, sedangkan untuk rasio mol reaktan 1:3 konsentrasi biokatalis 4% wt, didapat konsentrasi biodiesel sebesar 0.1713 mol/L atau setara dengan yield biodiesel sebesar 3.29 %. Hasil ini dapat menyimpulkan bahwa uji aktivitas rasio mol reaktan sangat berpengaruh pada produk yang terbentuk (biodiesel), semakin besar rasio mol reaktanya maka akan semakin besar juga biodiesel yang terebentuk.

pembandingan hasil data ekperimen menggunakan *Candida rugosa* yang dikerjakan oleh *M. Ekky Rizkiyadi* ini terlihat perbedaan % yield dengan penggunaan lipase yang berbeda tetapi menggunakan substrat yang sama yaitu minyak jelantah. Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan aktivitas enzim, dimana aktivitas enzim Porcine pancreatic lipase lebih rendah dari *Candida rugosa* hal tersebut dapat dilihat dari % yeild biodiesel yang terbentuk.

4.6 Pengaruh Immobilisasi Metode Adsorpsi Menggunakan Biokatalis Porcine Pancreatic Lipase

Pada percobaan kali ini akan dilakukan pengujian terhadap laju konsentrasi pembentukan produk terhadap waktu menggunakan lipase yang terimmobilisasi metode adsorpsi. Pada pembahasan ini data ekperimen yang didapat akan dibandingkan dengan data eksperimen dari *Septian marno* dan data *M.Ekky Rizkiyadi* dimana masing-masing menggunakan biokatalis *Candida antarctica* dan *Candida rugosa* dengan menggunakan substrat yang sama yaitu minyak jelantah.

Penggunaan biokatalis Porcine Pancreatic Lipase dalam ekperimen ini didasari oleh penelitian PD Desai *et al* pada tahun 2006 yang mereaksikan 0.5

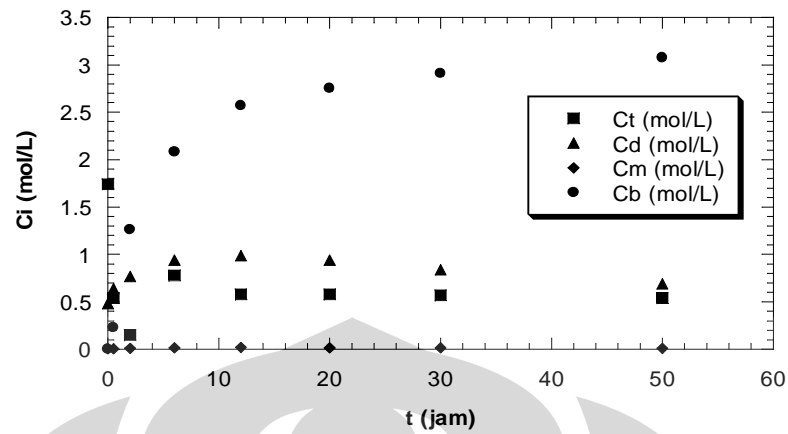
Universitas Indonesia

Mm minyak salicornia (salicornia oil) dengan 0.5-3.0 mM methanol menggunakan 0.125 gr *free* porcine pancreatic lipase yang terimmobilisasi dalam chitosan menghasilkan konversi metil oleat sekitar 48 %,

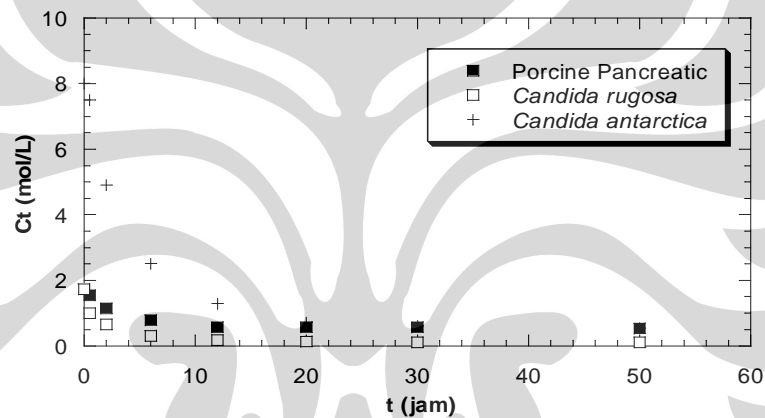
Jika dibandingkan dengan penggunaan lipase dalam bentuk tersuspensi sebagai biokatalis, maka konsentrasi biodiesel yang terbentuk menggunakan biokatalis metode adsorpsi mempunyai nilai yang lebih rendah dengan teknik immobilisasi karena ada enzim yang terbuang atau tidak terikat oleh penyangga selama proses immobilisasi. Namun keuntungan dari metode immobilisasi ini adalah enzim dapat digunakan berulang kali untuk sintesa biodiesel karena memiliki stabilitas yang baik.

Dalam laporan Nouredini *et al*, teknik immobilisasi mempunyai keterbatasan terhadap kemampuannya mengikat enzim. Dalam laporannya, disebutkan bahwa uji derajat immobilisasinya berhasil mencapai 95%. Dalam pengukurannya didapat enzim loading dari 3 gr sol-gel setara dengan 475 mg lipase *PS*. Dengan kata lain, dalam reaksi yang dilakukannya 1 gr immobilisasi enzim setara dengan 158 gr *free* enzim. Dari sini dapat dijelaskan bahwa dengan teknik immobilisasi tidak sepenuhnya enzim terikat sempurna dan mempunyai kualitas aktivitas yang sama dengan *free* enzim.

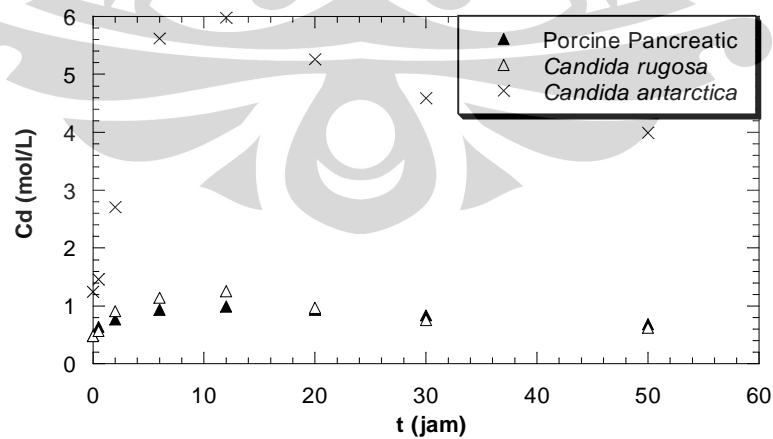
Untuk mengetahui laju pembentukan masing-masing komponen terhadap waktu maka dalam penelitian ini dilakukan variasi waktunya. Banyaknya jumlah konsentrasi biodiesel yang terbentuk dalam waktu tertentu dapat menunjukkan kinerja optimal dari enzim sebagai biokatalis. Berikut adalah hasilnya :



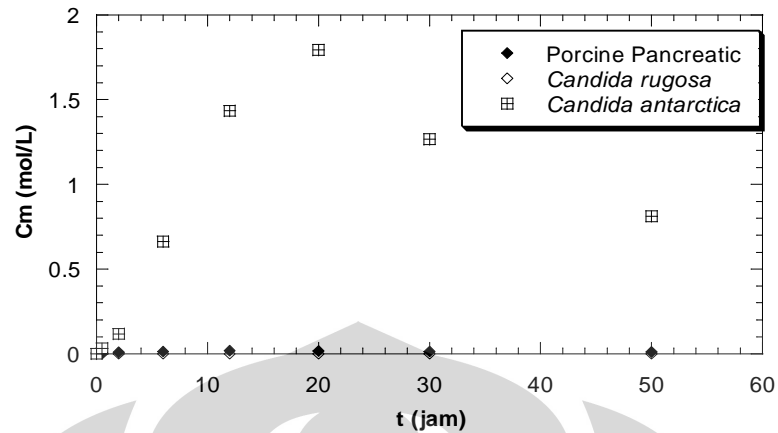
Gambar 4.23 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel dengan substrat minyak jelantah menggunakan Porcine Pancreatic Lipase immobilisasi metode adsorpsi ($t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$, rasio mol reaktan = 1: 12)



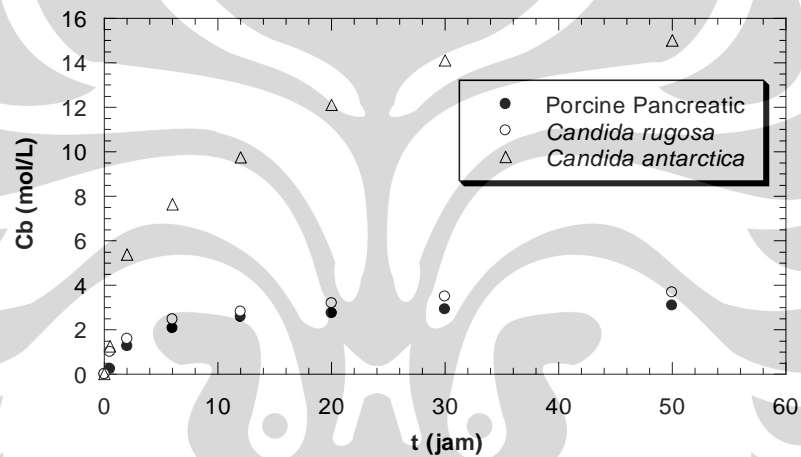
Gambar 4.24 Laju konsentrasi tri oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Lipase Porcine Pancreatic, *Candida rugosa* dan *Candida antarctica* immobilisasi metode adsorpsi ($t = 50$ jam ; $T = 37^{\circ}\text{C}$; rasio mol reaktan = 1: 12)



Gambar 4.25 Laju konsentrasi di oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Lipase Porcine Pancreatic, *Candida rugosa* dan *Candida antarctica* immobilisasi metode adsorpsi ($t = 50$ jam ; $T = 37^{\circ}\text{C}$; rasio mol reaktan = 1: 12)



Gambar 4. 26 Laju konsentrasi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Lipase Porcine Pancreatic, *Candida rugosa* dan *Candida antarctica* immobilisasi metode adsorpsi (t = 50 jam ; T= 37°C; rasio mol reaktan = 1: 12)



Gambar 4. 27 Laju konsentrasi biodiesel (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Lipase Porcine Pancreatic, *Candida rugosa* dan *Candida antarctica* immobilisasi metode adsorpsi (t = 50 jam ; T= 37°C; rasio mol reaktan = 1: 12)

Dari profil laju reaksi konsentrasi trioleat (mol/L) yang terbentuk maka didapatkan *trend* profil konsentrasi yang terus menurun. Penurunan konsentrasi trioleat menunjukkan adanya laju reaksi pembentukan produk selama reaksi. Hal ini terlihat dari profil konsentrasi biodiesel yang terus meningkat seiring meningkatnya waktu. Berdasarkan persamaan laju reaksi dengan semakin lamanya waktu reaksi maka produk yang dihasilkan akan semakin besar. Dari kurva laju pembentukan biodiesel menggunakan biokatalis *Candida rugosa* yang dikerjakan oleh *M.Ekky Rizkiyadi* terlihat bahwa konsentrasi terbesar terbentuk saat t = 50 jam dengan nilai 3.08 mol/L. Jika dibandingkan dengan nilai

konsentrasi biodiesel yang dihasilkan menggunakan Porcine Pancreatic lipase tersuspensi saat $t = 50$ jam, yaitu sebesar 3.71 mol/L maka nilai konsentrasi menggunakan lipase teradsorpsi ini lebih rendah. Untuk hasil sintesa biodiesel menggunakan biokatalis *Candida antarctica* yang eksperimennya dikerjakan oleh septian marno menghasilkan konsentrasi biodiesel yang paling tinggi yaitu 15.02 mol/L pada saat $t = 50$ jam. Jika dibandingkan hasil konsentrasi biodiesel dengan metode tersuspensi maka hasil konsentrasi biodiesel lipase terimmobilisasi metode adsorpsi lebih rendah. Hal ini disebabkan oleh adanya sebagian *free* lipase yang tidak terikat secara sempurna pada zeolit. Selain itu pengaruh luas kontak biokatalis dipermukaan zeolit untuk mengikat substrat juga menjadi salah satu faktor lebih rendahnya konsentrasi biodiesel yang terbentuk dari immobilisasi metode adsorpsi.

Namun jika dilihat dari segi ekonomi, sintesa biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi lebih menguntungkan, hal ini dapat dibuktikan dari hasil yang diperoleh, hasil sintesa biodiesel tersuspensi untuk rasio mol 1:12, $t = 50$ jam berat biokatalis 4% wt didapat konsentrasi biodiesel sebesar 3.076 mol/L setara dengan % yield 59.08, sedangkan menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi didapat konsentrasi biodiesel 2.773 mol/L setara dengan % yield 53.26, dari hasil ini terlihat dengan menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi memang lebih rendah % yield yang dihasilkan tetapi lipase terimmobilisasi dapat digunakan berulang kali dan banyaknya enzim yang bereaksi dengan substrat lebih sedikit dibandingkan lipase tersuspensi tetapi menghasilkan % yield hampir sama dengan lipase bentuk tersuspensi.

Jika pembentukan biodiesel dibandingkan dengan data *M. Ekky rizkiyadi* dengan biokatalis *Candida rugosa* pada $t = 50$ immobilisasi yaitu 3,68 mol/L maka penggunaan biokatalis porcine pancreatic lipase masih dibawah konsentrasi biokatalis *Candida rugosa*, hal ini menandakan bahwa porcine pancreatic lipase memiliki aktivitas yang lebih rendah dari *Candida rugosa*.

Biokatalis *Candida antarctica* memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan enzim *Candida rugosa* dan Porcine Pancreatic lipase hal ini dibuktikan dengan hasil konsentrasi biodiesel yang dihasilkan.

Jika dibandingkan dengan penelitian PD Desai *et al* (2006) yang melakukan teknik immobilisasi yaitu menggunakan metode adsorpsi dengan chitosan menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase, maka penelitian ini diperkirakan mempunyai konversi metil oleat yang lebih tinggi yaitu sebesar 53,26 %, sedangkan dalam laporan PD Desai *et al* (2006) yang mereaksikan minyak salicornia dengan metanol (perbandingan mol minyak salicornia : metanol = 1:3) menggunakan *immobilized chitosan* (0.125 gr *free* lipase) mampu mendapatkan konversi membentuk metil oleat mencapai 40%.

Konsentrasi zat intermediet, di oleat dan mono oleat, selama reaksi selalu rendah. Hal ini karena kedua zat intermediet tersebut tidak terakumulasi tetapi masing-masing langsung bereaksi kembali untuk membentuk zat baru, yaitu mono oleat dan triasetilgliserol. Konsentrasi di oleat hanya menunjukkan kenaikan sedikit pada awal reaksi untuk kemudian menurun kembali setelahnya

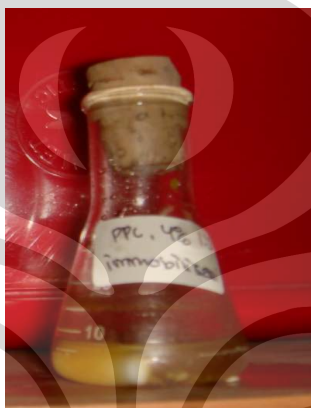
Jika dibandingkan, umumnya kurva di oleat pada kebanyakan data eksperimen menunjukkan konsentrasi tertingginya lebih diatas konsentrasi tertinggi mono oleat, artinya terjadi akumulasi di oleat sebelum akhirnya zat itu terkonversi menjadi mono gliserida. Sedangkan mono oleat sendiri konsentrasinya selalu rendah selama reaksi, artinya setiap mono oleat yang terbentuk langsung bereaksi kembali dengan cepat untuk membentuk produk.



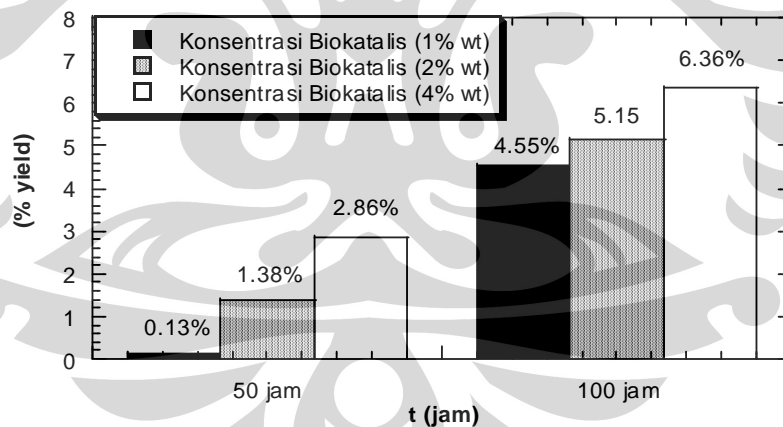
Gambar 4. 28 Zeolit Teraktivasi



Gambar 4. 29 Tahap Imobilisasi Lipase Porcine Pancreatic powder pada zeolit



Gambar 4. 30 Hasil reaksi interesterifikasi menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi



Gambar 4. 31 yield biodiesel pada waktu 50 dan 100 jam, dari biokatalis Porcine Pancreatic lipase yang terimmobilisasi metode adsorpsi

(kondisi operasi : substrat minyak jelantah, rasio mol reaktan 1: 3 , t = 50 dan 100 jam ; T = 37°C)

Pada percobaan sintesa biodiesel menggunakan Porcine Pancreatic lipase yang terimmobilisasi metode adsorpsi pada waktu reaksi 100 jam, aktivitas enzim porcine pancreatic lipase masih baik, hal ini ditunjukkan dengan adanya perbedaan % yield biodiesel yang terbentuk dari t = 50 jam ke t = 100 jam,

perbedaan persen yield yang terbentuk pada penggunaan biokatalis 4 % wt yaitu 3.5%. dari hasil % yield biodiesel pada gambar diatas dapat disimpulkan bahwa reaksi sintesa biodiesel menggunakan biokatalis porcine pancreatic lipase masih memungkinkan sampai $t = 100$ jam.

4.5 Hasil Fitting Kurva Mekanisme Reaksi Michaelis-Menten

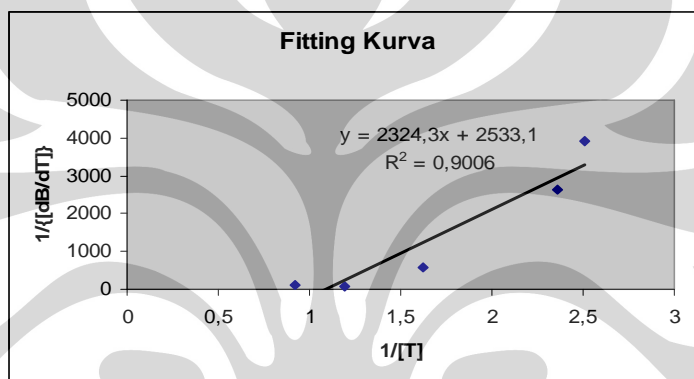
Fitting kurva dilakukan guna mengestimasi nilai parameter – parameter yang tak diketahui pada persamaan model. Pada mekanisme reaksi michaelis-menten, parameter tersebut adalah konsentrasi awal trigliserida (mol/L), konsentrasi biodiesel yang terbentuk (mol/L), dan waktu reaksi. Hasil plot atara data hasil eksperimen dengan data yang diperoleh lewat pemodelan diberikan pada gambar – gambar di bawah yang secara berurutan menunjukkan hasil pemodelan pada data hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan biokatalis Porcine Pacreatic lipase dalam bentuk tersuspensi, hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi. Data yang diperoleh melalui fitting kurva akan dibandingkan dengan data eksperimen dari *Septian Marno* dan *M.Ekky Rizkiyadi* dengan menggunakan biokatalis *Candida antarctica* dan *Candida rugosa* adalah sebagai berikut :

Tabel 4. 1 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi

Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)
T		D		M		F
1.7357	1424536	0.4792	61148	0.0052	1811	0.0007
1.0833	1645378	0.5535	257755	0.0220	3546056	1.3896
0.8385	2036767	0.6851	452163	0.0386	5046543	1.9776
0.6157	2567894	0.8638	554664	0.0473	6005033	2.3532
0.4611	3046547	1.0248	537041	0.0458	7254432	2.8428
0.4238	2832189	0.9527	455185	0.0388	8310068	3.2565
0.3984	2431872	0.8180	404667	0.0345	8965472	3.5133
0.3816	1926362	0.6480	281966	0.0240	9212371	3.6100

Tabel 4. 2 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi

Reaction time (h)	Reaction product (mol/l)	Reaction product (mol/l)	Reaction time (min)	d[B] (mol/l)	dT (menit)	d[B]/dt	Y = 1/{d[B]/dt}	X = 1/[T]
0	1,7357	0,0007	0					
0,5	1,0833	1,3896	30	1,3889	30	0,0462	21,5998	0,9230
2	0,8385	1,9776	120	0,5880	90	0,0065	153,0603	1,1925
6	0,6157	2,3532	360	0,3756	240	0,0015	638,9635	1,6239
12	0,4611	2,8428	720	0,4896	360	0,0013	735,2816	2,1685
20	0,4238	3,1389	1200	0,2961	480	0,0006	1620,9924	2,3592
30	0,3984	3,4584	1800	0,3195	600	0,0005	1877,7199	2,5100
50	0,3816	3,7068	3000	0,2484	1200	0,0002	4830,7390	2,6203



Gambar 4. 32 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi

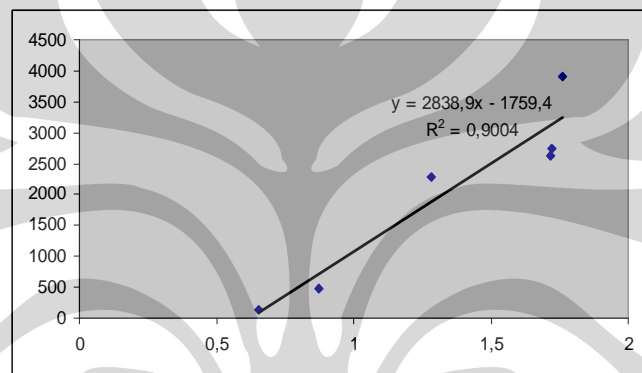
(substat = minyak sawit; t = 50 jam; T = 37⁰C; Rasio mol reaktan = 1:12)

Tabel 4. 3 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk immobilisasi metode adsorpsi

Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)
T		D		M		F
3.9368	1424536	1.4937	61148	0.0010	1811	0.0008
2.8860	1889777	1.9815	70548	0.0012	594467	0.2869
1.9079	2296090	2.4076	105447	0.0018	3214477	1.5515
1.5184	2792035	2.9276	180618	0.0032	6002040	2.8970
1.2683	2945473	3.0885	204457	0.0036	6856467	3.3095
1.1215	2607977	2.7346	197864	0.0035	7221317	3.4856
0.9891	2204479	2.3115	173698	0.0031	7514114	3.6269
0.8856	1645479	1.7254	123977	0.0022	8056465	3.8887

Tabel 4. 4 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk immobilisasi metode adsorpsi

Reaction time (h)	Reaction product (mol/l)	Reaction product (mol/l)	Reaction time (min)	d[B] (mol/l)	dT (menit)	d[B]/dt	Y = 1/{d[B]/dt}	X = 1/[T]
0	1,7357	0,0007	0					
0,5	1,5352	0,2329	30	0,2322	30	0,0077	129,1727	0,6513
2	1,1478	1,2596	120	1,0267	90	0,0114	87,6580	0,8711
6	0,7789	2,0777	360	0,8180	240	0,0034	293,3756	1,2837
12	0,5811	2,5693	720	0,4915	360	0,0013	732,3345	1,7208
20	0,5820	2,7514	1200	0,1821	480	0,0003	2635,0011	1,7179
30	0,5675	2,9054	1800	0,1539	600	0,0002	3897,9430	1,7619
50	0,5437	3,0787	3000	0,1733	1200	0,0001	6922,5584	1,8389



Gambar 4. 33 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Porcine Pacreatic Lipase dalam bentuk immobilisasi metode adsorpsi

(substat = minyak sawit; t = 50 jam; T = 37⁰C; Rasio mol reaktan = 1:12)

Dari hasil *fitting* kurva sederhana yang dilakukan terlihat bahwa grafik yang diperoleh secara keseluruhan menunjukkan kurva yang bergerak linier naik. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan meningkatnya penambahan jumlah substrat (trigliserida) yang digunakan maka laju pembentukan produk yang terbentuk akan semakin besar. Hasil lain yang dapat dilihat dari grafik tersebut adalah persamaan garis yang didapat menunjukkan intersep dengan nilai yang berbeda-beda.

Dari hasil *fitting* kurva yang dilakukan didapat nilai intersep yang positif. Pengaruh adanya hasil intersep yang positif menghasilkan nilai V_{max} yang bernilai positif. Berdasarkan persamaan [2.45] nilai V_{max} yang diperoleh akan menghasilkan nilai K_m . Berikut adalah hasilnya:

$$\frac{1}{d[Cb]} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{k_m}{V_{\max}} \left(\frac{1}{[Ct]} \right)$$

$$\downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow$$

$$y = a + b x$$

Tabel 4. 5 Nilai V_{\max} dan K_m untuk masing-masing grafik hasil fitting metode linierisasi (Porcine Pancreatic Lipase, *Candida rugosa* dan *Candida antarctica*)

Biokatalis		Persamaan garis	a (interse p)	b (slope)	V_{\max}	K_M
Porcine Pancreatic	Suspensi (minyak jelantah)	$y = 2324.3x + 2533.1$	2533.1	2324.3	0.0004	0.9175
	Immobilisasi (minyak jelantah)	$y = 2838.9x - 1759.4$	-1759.4	2839.9	-0.0005	-1,6141
<i>Candida rugosa</i>	Suspensi (minyak jelantah)	$y = 112.73 + 42.402x$	42,402	112,73	0,0235	2,6586
	Immobilisasi (minyak jelantah)	$y = 197.02 - 111.43x$	-111,43	197,02	-0,0089	-1,7681
	Suspensi (minyak jelantah)	$y = 140.35 + 66.632x$	140,35	140,35	0,0071	1,000
	Immobilisasi (minyak jelantah)	$y = -129.29 + 236.68x$	-129,29	236,68	-0,0077	-1,8306
<i>Candida antarctica</i>	Immobilisasi (minyak jelantah)	$y = 165.55x + 12.759$	12,759	165,55	0,0783	12,975

Dari tabel 4.5 terlihat bahwa nilai V_{\max} terbesar terdapat pada reaksi sintesis biodiesel menggunakan biokatalis *Candida antarctica* dengan nilai $V_{\max} = 0.078$ eksperimen dilakukan oleh *Septian Marno*. Nilai V_{\max} yang didapat menunjukkan nilai kecepatan maksimal yang dicapai dari reaksi sintesis biodiesel selama rentang waktu 50 jam. Hal ini mengindikasikan kemampuan *Candida antarctica* sebagai biokatalis mempunyai aktivitas yang lebih baik dari pada *Candida rugosa powder*, dan Porcine Pancreatic lipase dalam sistem tersuspensi dan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi. Sedangkan nilai K_m terbesar juga terdapat pada reaksi sintesis biodiesel yang menggunakan biokatalis *Candida antarctica* dengan nilai K_m sebesar 12.975. Ketika dilakukan penambahan substrat sesudah melewati nilai K_m tersebut maka hampir dipastikan kecepatan awal reaksi tidak akan meningkat secara signifikan dengan bertambahnya substrat.

Dari hasil pemodelan reaksi enzimatik menggunakan mekanisme reaksi Michaelis-Menten didapat nilai V_{\max} dari reaksi sintesis biodiesel menggunakan Porcine Panreatic lipase dalam sistem tersuspensi mempunyai nilai V_{\max} yang lebih besar daripada lipase terimmobilisasi metode adsorpsi, dengan nilai $V_{\max} = 0.0004$. Hasil ini dapat memberikan petunjuk bahwa kemampuan aktivitas dari Porcine Panreatic lipase dalam sistem tersuspensi lebih baik daripada biokatalis lipase metode adsorpsi.

Ada sedikit fenomena menarik disini ketika ditemukannya nilai persamaan garis dengan intersep negatif untuk pemodelan reaksi enzimatik Michaelis-Menten dari sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dan immobilisasi. Hal ini akan memberikan nilai dan K_M yang negatif. Hal ini bisa dikarenakan oleh adanya kecepatan reaksi yang turun diselang waktu tertentu. Data reaksi enzimatik yang diperoleh cenderung berbentuk liner dengan mengikuti persamaan reaksi orde 1. Selain itu, penyebaran data digunakan untuk fitting kurva tidak mengambil nilai titik yang banyak. Titik yang digunakan pada umumnya hanya 5-8 titik untuk dilakukan linierisasi menggunakan mekanisme reaksi enzimatik Michaelis-Menten.

Jika dibandingkan dengan data perhitungan oleh *M. Ekky Rizkiyadi* yang menggunakan *Candida rugosa* dengan substrat minyak jelantah juga didapat nilai V_m yang negatif yaitu -1.7681 pada Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.

Untuk kelemahan dari metode linierisasi ini adalah mekanisme reaksi enzimatik oleh *Michaelis Menten* terlalu sederhana untuk menjelaskan reaksi enzimatik terhadap reaksi pembentukan biodiesel yang berlangsung secara bertahap dan pada umumnya menghasilkan produk samping. Seharusnya fitting kurva *Michaelis Menten* ini sesuai dengan reaksi sintesa interesterifikasi yang terjadi yaitu 2 substrat dan 2 produk, namun pada perhitungan ini hanya menggunakan 1 produk dan 1 substrat. Selain itu, adanya faktor inhibisi yang tidak digunakan dalam mekanisme reaksi *Michaelis-Menten* tersebut.

BAB V

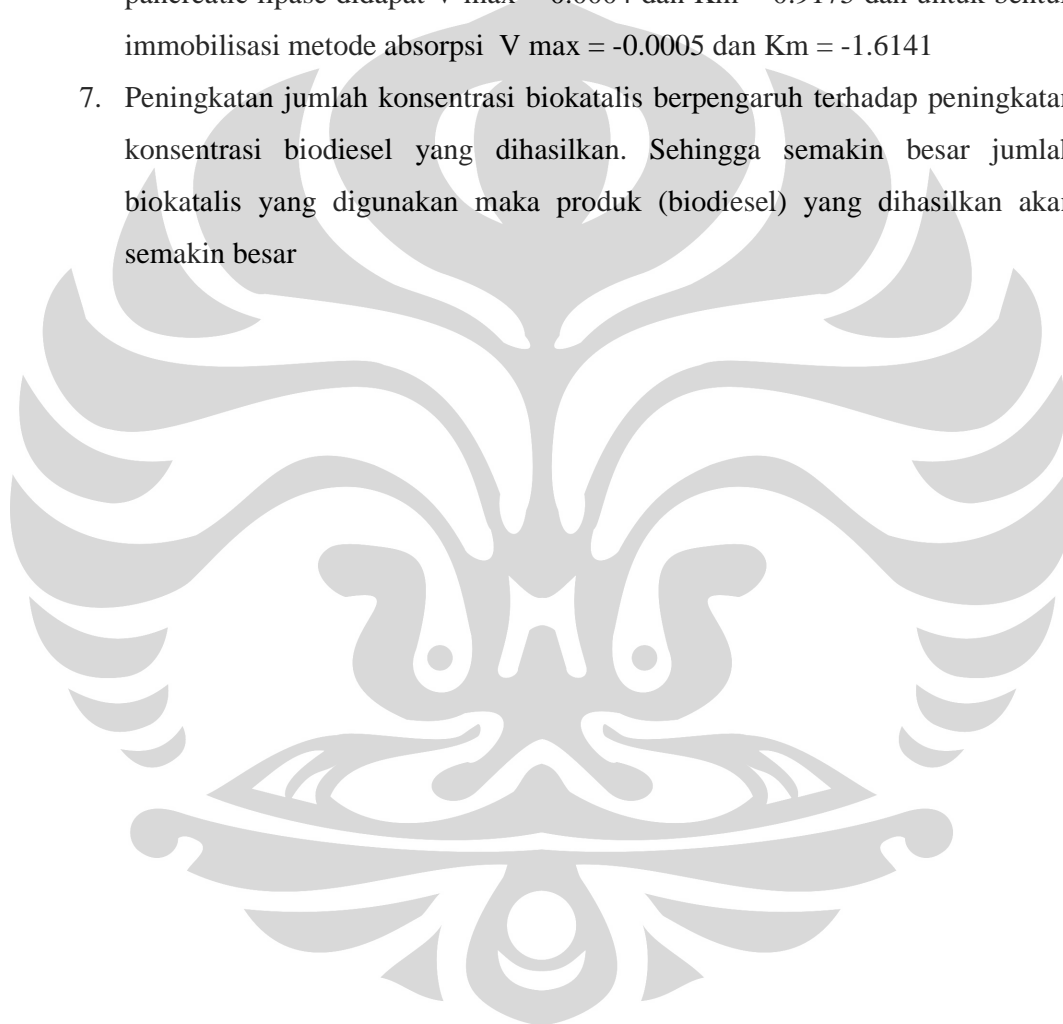
KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah

1. Untuk percobaan sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan katalis NaOH (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:6 ; t = 1 jam; T = 60°C), didapat hasil konsentrasi biodiesel sebesar 0.065 mol/L setara dengan % yield 1.27 % dan konversi metil oleatnya yaitu 8.16 %
2. Pengaruh biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel yang terbentuk melalui rute non alkohol menggunakan Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi dengan substrat minyak jelantah (t = 50 jam; T = 37°C) untuk rasio mol minyak jelantah : metil asetat 1:3 didapat konsentrasi biodiesel 0.08 mol/L (1% wt) , 0.10 mol/L (2% wt) dan 0.17 mol/L (4% wt). Sedangkan untuk rasio mol 1: 12 konsentrasi biodiesel yang terbentuk 0.67 mol/L (1% wt), 0.8 mol/L (2% wt) dan 3.08 mol/L (4% wt).
3. Pengaruh biokatalis terhadap yield biodiesel yang terbentuk melalui rute non alkohol menggunakan Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi dengan substrat minyak jelantah (t = 50 jam; T = 37°C) untuk rasio mol minyak jelantah : metil asetat 1:3 didapat 1.54 % (1% wt), 2.02% (2% wt) dan 3.29 (4% wt) sedangkan untuk rasio mol minyak jelantah : metil asetat 1: 12 didapat 12.95% (1% wt), 15.32% (2% wt) dan 59.68 (4% wt).
4. Pengaruh biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel yang terbentuk melalui rute non alkohol menggunakan Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk immobilisasi metode absorpsi dengan substrat minyak jelantah (t = 50 jam; T = 37°C) untuk rasio mol minyak jelantah : metil asetat 1:3 didapat konsentrasi biodiesel 0.0067 mol/L (1% wt) , 0.0721 mol/L (2% wt) dan 0.1492 mol/L (4% wt). Sedangkan untuk rasio mol 1: 12 konsentrasi biodiesel yang terbentuk 0.91 mol/L (1% wt), 1.41 mol/L (2% wt) dan 2.77 mol/L (4% wt).
5. Pengaruh biokatalis terhadap yield biodiesel yang terbentuk melalui rute non alkohol menggunakan Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk immobilisasi metode absorpsi dengan substrat minyak jelantah (t = 50 jam; T = 37°C) untuk

rasio mol minyak jelantah : metil asetat 1:3 didapat 0.13 % (1% wt), 1.38% (2% wt) dan 2.86 (4% wt) sedangkan untuk rasio mol minyak jelantah : metil asetat 1: 12 didapat 17.44% (1% wt), 27.00 % (2% wt) dan 53.26 (4% wt).

6. Pemodelan terhadap hasil penelitian menggunakan persamaan reaksi enzimatik Michaelis-Menten dengan metode linierisasi, hasilnya adalah sebagai berikut untuk bentuk tersuspensi dengan menggunakan biokatalis porcine pancreatic lipase didapat $V_{max} = 0.0004$ dan $K_m = 0.9175$ dan untuk bentuk immobilisasi metode absorpsi $V_{max} = -0.0005$ dan $K_m = -1.6141$
7. Peningkatan jumlah konsentrasi biokatalis berpengaruh terhadap peningkatan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan. Sehingga semakin besar jumlah biokatalis yang digunakan maka produk (biodiesel) yang dihasilkan akan semakin besar

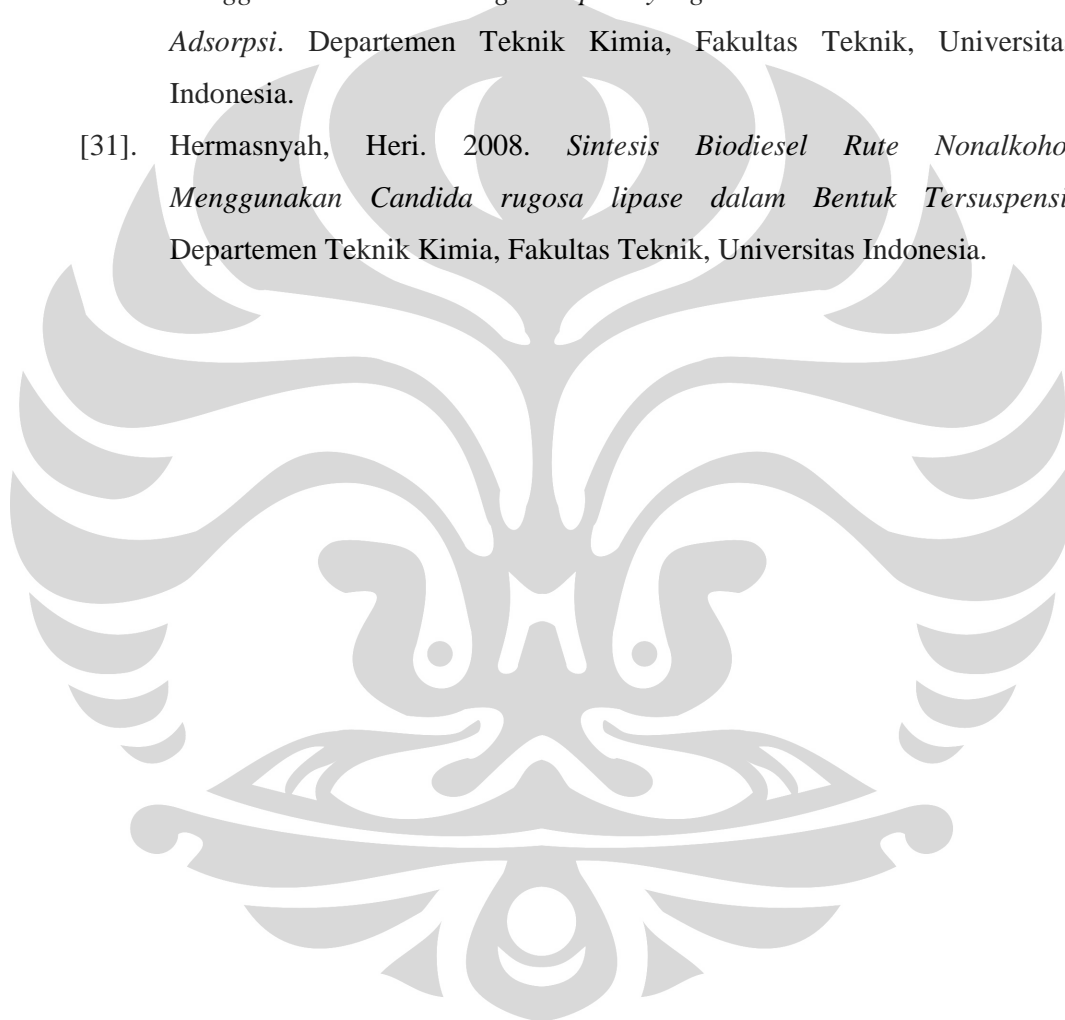


DAFTAR REFERENSI

- [1]. Tambun, Rondang, ST, MT 2006. *Buku Ajar Teknologi Oleokimia Sumatera*: USU digital library
- [2]. Haryahto, Bode, 2002. *Bahan Bakar Alternatif Biodiesel*, Jurusan Teknik Kimia Universitas Sumatera Utara: USU digital library
- [3]. Soerawidjadja, Tatang, *Biodiesel dari Jelantah*, <http://www.sentrapolimer.com> diakses tanggal 03 Agustus 2008
- [4]. Elizabeth, jenny. *Biodiesel Jelantah dan Pelumas Sawit*, <http://www.kompas.com> diakses tanggal 03 Agustus 2008
- [5]. Supranto, “*Pengaruh suhu dan perbandingan reaksi pada pembuatan metil ester biodiesel dari destilat asam lemak minyak sawit*”, Pusat Studi Energi Universitas Gajah Mada. (2002)
- [6]. Anonim, Biodiesel from used cooking oil, <http://www.sentrapolimer.com> diakses tanggal 03 Agustus 2008
- [7]. Ma, Fangrui dan Milford A. Hanna, “*Biodiesel production : a review*”, ELSEVIER (1999)
- [8]. Du W et al, “*Comparative study on lipase – catalyzed transformation of soybean oil for biodiesel production with different acyl acceptor*” *Journal of molekular catalysis B : Enzymatic*, 2004. 30 : 125-129
- [9]. Watanabe Y et al, “*Continous production of biodiesel fuel from vegetable oil using immobilized candida antarctica lipase*” *JAOCS*, 2000, 77(4) : 355-360
- [10]. Anonim, *Negara Indonesia Berpotensi Kembangkan Biodiesel*, <http://www.balipost.co.id> diakses tanggal 24 Juli 2008
- [11]. Boyd, Mike. *Biodiesel in British Columbia Feasibility Study Report*, <http://www.scribd.com> diakses tanggal 24 Juli 2008
- [12]. Anonim, *Biodiesel* , <http://id.wikipedia.org/wiki/biodiesel> diakses tanggal 24 Juli 2008
- [13]. Elisabeth, J, *Biodiesel Sawit : Bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan*, harian kompas 2 Oktober, 2001.
- [14]. Anonim, *Biodiesel Sebagai Pengganti Solar*, <http://www.terranel.or.id> diakses tanggal 24 Juli 2008

- [15]. Hendartono, Tomi. 2005. *Pemanfaatan Minyak Dari Tumbuhan Untuk Pembuatan Biodiesel*. Diakses Tanggal: 28 maret 2007
- [16]. Bode Haryanto. "Bahan Bakar Alternatif Biodiesel (Bagian I. Pengenalan)." *Perpustakaan Digital Universitas Sumatera Utara*
- [17]. Nasiri, Johan, Biodiesel : Upaya Mengurangi Ketergantungan Minyak Bumi, <http://www.sentrapolimer.com> diakses tanggal 03 Agustus 2008
- [18]. Anonim, Trigliserida, <http://www.wikipedia.com> diakses tanggal 03 Agustus 2008
- [19]. Sukara, Endang, Pemanfaatn Biodiversity, <http://www.biotek.lipi.go.id> diakses tanggal 22 Juli 2008
- [20]. Marno, Septian . "Interesterifikasi minyak kelapa sawit dengan metil asetat menggunakan biokatalis untuk memproduksi biodiesel", Skripsi, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok 2008.
- [21]. Anonim, Tips Memilih Enzim Sebagai Ingridien Pangan, <http://pipimm.org/cetak> diakses tanggal 26 Juli 2007
- [22]. Anonim, Lipase, <http://en.wikipedia.org/lipase>, 24 Juli 2008
- [23]. Anonim, <http://www.proteindatabank.com> diakses 15 desemeber 2008
- [24]. Anonim, Ilustrasi metode immobilisasi, <http://www.lsbu.ac.uk/biology/enztech/immmethod.html> diakses tanggal 25 November 2008
- [25]. Xu, et al "Study on the kinetics of enzymatic interesterification of triglycerides for biodiesel production with methyl acetat as the acyl acceptor". *Journal of molekular catalysis B : Enzymatic*, 2005. 32 : 241-245
- [26]. Hendartono, Tomi. 2005. *Pemanfaatan Minyak Dari Tumbuhan Untuk Pembuatan Biodiesel*. Diakses Tanggal: 28 maret 2007
- [27]. Hermasnyah, Heri. 2008. *Pengembangan Rute Sintesis Biodiesel Non Alkohol Menggunakan Biokatalis : State of The Arts*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

- [28]. Mukesh M.K et al. 2007. *Lipase-mediated conversion of vegetable oils into biodiesel using ethyl acetate as acyl acceptor*. Bioresource Technology 98 (2007) 1260-1264.
- [29]. Bhagwat,S.S et al. 2005. *Transesterification of Substituted ethanols-modelling studies*. Biochemical Engineering Journal 22 (2005) 253.259.
- [30]. Hermasnyah, Heri. 2008. *Sintesis Biodiesel Rute Nonalkohol Menggunakan Candida rugosa lipase yang diimobilisasi melalui Metode Adsorpsi*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.
- [31]. Hermasnyah, Heri. 2008. *Sintesis Biodiesel Rute Nonalkohol Menggunakan Candida rugosa lipase dalam Bentuk Tersuspensi*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.



Lampiran A Standar

A.1 Data Luas Area dan Konsentrasi Standar

Tabel A. 1 Luas Area dan konsentrasi standar yang digunakan

Standar	Rute non Alkohol		
	Zat	Luas Area	Konsentrasi mg/l
T	836486	186,9500	0,1832
D	534017	127,5875	0,1796
M	1829086	62,6875	0,1561
F	4085094	546,6250	1,6008

Keterangan: Notasi T menyatakan Tri oelat, D menyatakan Di oelat, M menyatakan mono oelat, dan F menyatakan *Fatty Acid Methyl Ester* (Biodiesel).

A.2 Pengolahan Data Menggunakan Interpolasi Standar:

Berikutnya adalah melakukan interpolasi terhadap luas area yang diperoleh dari percobaan terhadap luas area standar yang digunakan. Interpolasi dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi sampel secara akurat. Interpolasi dilakukan secara sederhana dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Konsentrasi sampel (mol/L)} = \frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Luas area standar}} \times \text{konsentrasi standar (mol/L)} \quad [\text{A.1}]$$

A.3 Contoh Perhitungan Interpolasi

Data percobaan yang diperoleh setelah diinterpolasi dengan data standar yang digunakan adalah sebagai berikut:

Tabel A. 2 Konsentrasi sampel yang diperoleh setelah di-interpolasi dengan data standar

t = 0	Minyak Jelantah	
	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	7924714	1,7358
D	1424536	0,4792
M	61148	0,0052
F	1811	0,0007

(Lanjutan)

A.4 Rumus Perhitungan % mol Balance

Setelah mendapatkan konsentrasi sampel menggunakan interpolasi terhadap data standar yang digunakan, maka konsentrasi biodiesel yang terbentuk saat t tertentu dihitung menggunakan % mol balance.

(Lanjutan)

$$\% \text{ mol balance} = \frac{3 \times C_{T,t=t} + 2 \times C_{D,t=t} + C_{M,t=t} + C_{B,t=t}}{3 \times C_{T,t=0} + 2 \times C_{D,t=0} + C_{M,t=0} + C_{B,t=0}} \times 100\% \quad [\text{A. 2}]$$

Dari persamaan [A.2] tersebut diperoleh konsentrasi biodiesel saat $t = t$. Untuk mendapatkan % yield biodiesel yang terbentuk maka konsentrasi biodiesel yang terbentuk dibandingkan dengan konsentrasi awal substrat. Pengertian % *yield* konsentrasi disini merupakan perbandingan konsentrasi produk terhadap konsentrasi awal substrat.

Untuk mengetahui % konversi tri oelat dan % yield untuk masing-masing komponen dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$\% \text{ konversi Tri oelat} = \frac{C_{T,t=0} - C_{T,t=t}}{C_{T,t=0}} \times 100\% \quad [\text{A. 3}]$$

$$\% \text{ yield di oelat} = \frac{C_{D,t=t} \times 2}{(C_{T,t=0}) \times 3} \times 100\%$$

[A. 4]

$$\% \text{ yield mono oelat} = \frac{C_{M,t=t}}{(C_{T,t=0})} \times 100\%$$

[A. 5]

$$\% \text{ yield Biodiesel} = \frac{C_{B,t=t}}{C_{T,t=0}} \times 100\%$$

[A. 6]

Lampiran B Katalis NaOH

B.1 Data Hasil sintesis Biodiesel Rute Non-Alkohol menggunakan katalis NaOH

Tabel B. 1 Data saat t = 0 jam untuk minyak Jelantah

t = 0	Minyak Jelantah	
Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	7924714	1,7358
D	1424536	0,4792
M	61148	0,0052
F	1811	0,0007

Tabel B. 2 Data saat t = 1 jam untuk minyak jelantah

Katalis NaOH		
t = 0	Minyak Jelantah	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	8718882	1,9097
D	48917	0,0165
M	661442	0,0565
F	165946	0,0650

B.2 Perhitungan Menggunakan % Mol Balance Rute Non Alkohol Katalis NaOH

Tabel B. 3 % mol Balance sintesis biodiesel rute non alkohol dengan katalis NaOH dari minyak Jelantah

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
1	7277883	1.5932	1951391	0.6645	902365	0.0812	168202	0.0659	101

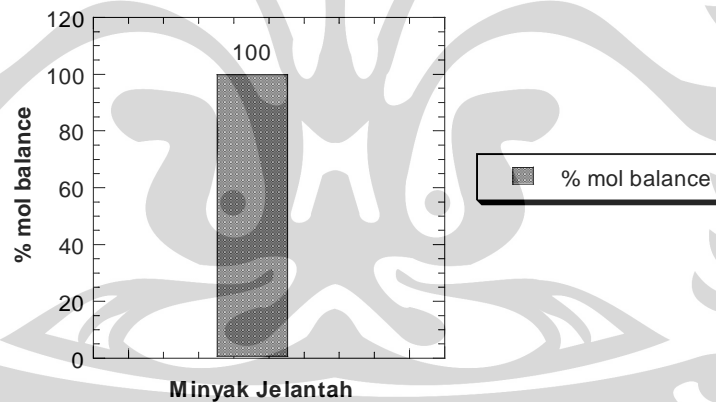
Tabel B. 4 mol Balance sintesis biodiesel rute non alkohol dengan katalis NaOH dari minyak sawit

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
1	7606837	1.6712	1301593	0.4472	408191	0.0323	585278	0.2345	99

(Lanjutan)

Tabel B. 5 (%) konversi tri oleat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk

Komponen	Zat	
	Minyak sawit	Minyak Jelantah
3*CT, t=0	5,2074	5,2074
2*CD, t=0	0,9584	0,9584
CM, t=0	0,0052	0,0052
CB, t=0	0,0007	0,0007
3*CT, t=t	5.0136	4,7796
2*CD, t=t	0,8944	1.3290
CM, t=t	0.0323	0.0812
CB, t=t	0.2345	0.0659
% konversi tri oleat	4,0123	8,1645
% Yield di oleat	16,8212	25,2141
% Yield mono oleat	0,101	0,101
% Yield biodiesel	4,4042	1,2725

**Gambar B. 1** % mol balance sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan katalis NaOH

Lampiran C Rute Non Alkohol Tersuspensi

C.1 Data Hasil Reaksi Sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Porcine Pancreatic Lipase dalam Bentuk Tersuspensi

Tabel C. 1 Data Saat $t = 0$ jam untuk minyak jelantah

t = 0	Minyak jelantah	
Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	7924714	1,7358
D	1424536	0,4792
M	61148	0,0052
F	1811	0,0007

Tabel C. 2 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi

Biokatalis Tersuspensi	Perbandingan mol 1:3					
	Konsentrasi Enzim 1%		Konsentrasi Enzim 2%		Konsentrasi Enzim 4%	
t = 50 jam	Luas Area	Konsentrasi mol/L	Luas Area	Konsentrasi mol/L	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	5728666	1,2548	2589658	0,5672	3396479	0,7439
D	1066659	0,3588	5744495	1,9325	216479	0,0728
M	53053	0,0045	479390	0,0409	1441143	0,1230
F	20493	0,0080	1383617	0,5422	437143	0,1713

Tabel C. 3 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1%
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3 ; $t = 50$ jam ; $T = 37^{\circ}\text{C}$)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
50	5728666	1.2548	3391879	1.1410	530536	0.0453	204930	0.0803	100

Tabel C. 4 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2%
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3 ; $t = 50$ jam ; $T = 37^{\circ}\text{C}$)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
50	5688058	1.2458	3400495	1.1439	479390	0.0409	268361	0.1051	100

(Lanjutan)

Tabel C. 5 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4%
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3 ; t = 50 jam ; T=37^oC)

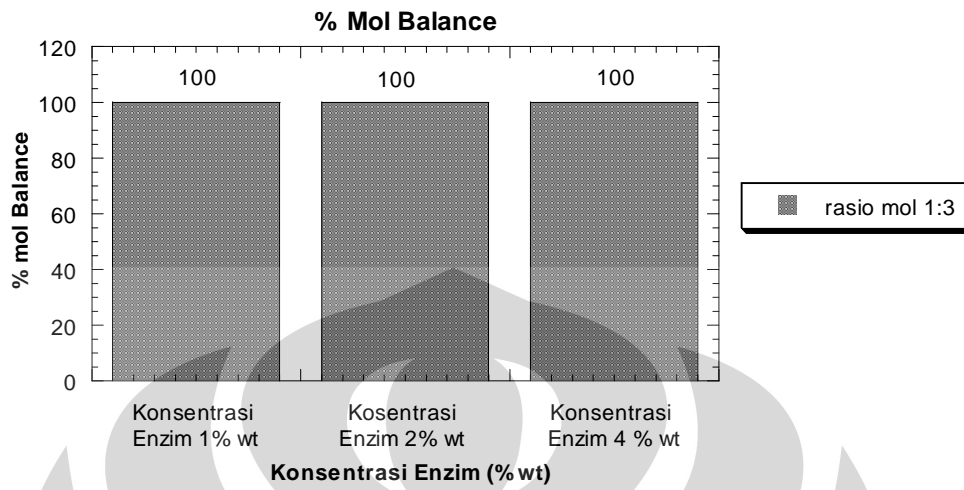
t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
50	3396479	0.7439	5544790	1.8652	441143	0.0376	437143	0.1713	100

Tabel C. 6 (%) konversi tri oleat dan (%) yield masing-masing komponen yang menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3 , t = 50 jam; T = 37^oC)

Biokatalis dalam bentuk tersuspensi	Perbandingan mol = 1 : 3		
	Konsentrasi Enzim		
t = 50 jam	1%	2%	4%
Komponen			
3*CT, t=0	5,2073	5,2073	5,2073
2*CD, t=0	0,9584	0,9584	0,9584
CM, t=0	0,0052	0,0052	0,0052
CB, t=0	0,0007	0,0007	0,0007
3*CT, t=t	3,7643	3,7376	3,0203
2*CD, t=t	2,2821	2,2879	2,9425
CM, t=t	0,0453	0,0409	0,0377
CB, t=t	0,0803	0,1052	0,1713
% konversi tri oleat	38,3344	39,3220	72,4084
% Yield di oleat	41,9984	43,9362	56,5078
% Yield mono oleat	0,8698	0,7859	0,7232
% Yield biodiesel	1,5422	2,0196	3,2897

(Lanjutan)



Gambar C. 1 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan porcine pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3 ; t = 50 jam ; T=37°C)

(Lanjutan)

Tabel C. 7 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1%

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t 50 jam; T=37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
50	4501539	0.9860	3709827	1.2480	506852	0.0433	1721479	0.6746	100

Tabel C. 8 Perhitungan mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2%

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t 50 jam; T=37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
50	501704	1.0988	3041617	1.0232	359597	0.0306	2036431	0.7980	100

Tabel C. 9 Perhitungan mol balance untuk konsentraso biokatalis 4%

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t 50 jam; T=37°C)

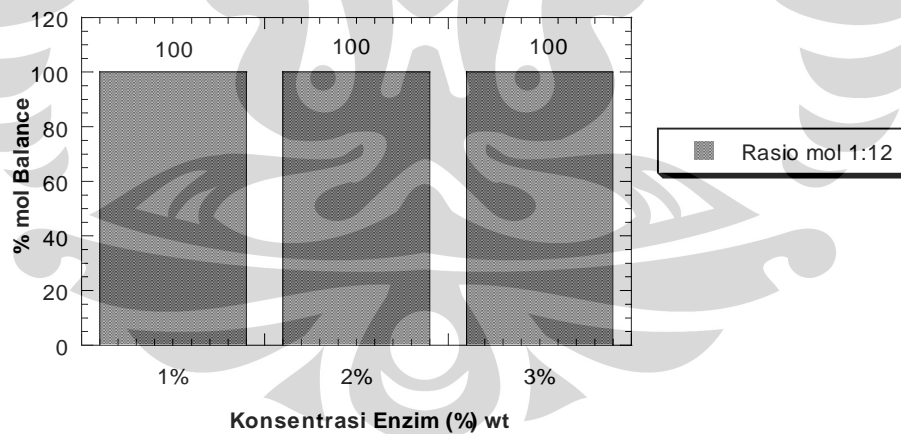
t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
50	2701547	0.5917	1926362	0.6480	281966	0.0240	7850371	3.0764	100

(Lanjutan)

Tabel C. 10 (%) konversi tri oleat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1: 12; t = 50 jam; T= 37°C)

Biokatalis dalam bentuk tersuspensi	Perbandingan mol = 1 : 12		
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim		
Komponen	1%	2%	4%
3*CT, t=0	5,2073	5,2073	5,2073
2*CD, t=0	0,9584	0,9584	0,9584
CM, t=0	0,0052	0,0052	0,0052
CB, t=0	0,0007	0,0007	0,0007
3*CT, t=t	2,9579	3,2966	1,7752
2*CD, t=t	2,4960	2,0464	1,2961
CM, t=t	0,0433	0,0307	0,0241
CB, t=t	0,6746	0,7980	3,0764
% konversi tri oleat	43,1962	45,7912	65,9098
% Yield di oleat	47,9329	39,2993	24,8896
% Yield mono oleat	0,8310	0,5895	0,4623
% Yield biodiesel	12,9551	15,3253	59,0783

**Gambar C. 2** mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12, t = 50 jam ; T = 37°C)

(Lanjutan)

Tabel C. 11 Perhitungan mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1%
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; t 100 jam; T=37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	%
		Tri		Di		Mono		FAME	mol Balance
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100,00
100,00	5015845	1,0986	3578721	1,2039	78237	0,0067	705464	0,2765	97,00

Tabel C. 12 Perhitungan mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2%
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; t 100 jam; T=37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	%
		Tri		Di		Mono		FAME	mol Balance
100,00	4690273	1,0273	4011672	1,3495	71355	0,0061	981123	0,3845	100,00

Tabel C. 13 Perhitungan mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4 %
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; t 100 jam; T=37°C)

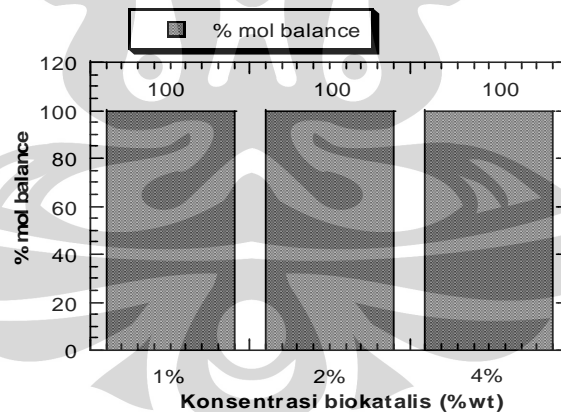
t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	%
		Tri		Di		Mono		FAME	mol Balance
100,00	4068792	0,8912	4543165	1,5283	79879	0,0068	1109456	0,4348	100,00

(Lanjutan)

Tabel C. 14 (%) konversi tri oleat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1: 3; t = 100 jam; T = 37°C)

Tersuspensi			
	Perbandingan mol = 1 : 3		
t = 100 jam	Konsentrasi Enzim		
Komponen	1%	2%	4%
3*CT, t=0	5,2073	5,2073	5,2073
2*CD, t=0	0,9584	0,9584	0,9584
CM, t=0	0,0052	0,0052	0,0052
CB, t=0	0,0007	0,0007	0,0007
3*CT, t=t	3,2959	3,0819	2,6736
2*CD, t=t	2,4078	2,6991	3,0567
CM, t=t	0,0067	0,0061	0,0068
CB, t=t	0,2765	0,3845	0,4348
% konversi tri oleat	36,7063	40,8146	48,6569
% Yield di oleat	46,2390	51,8329	58,7001
% Yield mono oleat	0,1283	0,1170	0,1310
% Yield biodiesel	5,3090	7,3835	8,3493

**Gambar C. 3** mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3, t = 100 jam ; T = 37°C)

(Lanjutan)

Tabel C. 15 Luas area yang didapat dari hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12, konsentrasi biokatalis = 4% , t=50 jam ; T=37°C)

Free	Perbandingan mol = 1:12							
Konsentrasi enzim = 4%	Luas Area							
	t = 0 jam	t = 30 menit	t = 2 jam	t = 6 jam	t = 12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
T	7924714	4946169	7128348	28114549	2205398	3935142	2618925	2642347
D	1424536	1041296	169401	331034	4774723	257345	5231872	5626362
M	61148	13	16	784667	387045	635181	184666	501964
F	1811	4	51	595033	57108	394185	38899	101237

Tabel C. 16 Konsentrasi yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel rute non alkohol dengan variasi waktu

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1 : 12 konsnetrasi biokatalis = 4 % wt , t= 50 jam ; T = 37 °C)

Free	Perbandingan mol = 1:12							
Konsentrasi enzim = 4%	Konsentrasi sampel (mol/l)							
	t = 0 jam	t = 30 menit	t = 2 jam	t = 6 jam	t = 12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
T	1,7358	1,0834	1,5613	0,6158	0,4830	0,8619	0,5736	0,5788
D	0,4792	0,3503	0,0570	0,1114	1,6062	0,0866	1,7600	1,8927
M	0,0052	0,0000	0,0000	0,0670	0,0330	0,0542	0,0158	0,0429
F	0,0004	0,0000	0,0000	0,1303	0,1251	0,8634	0,8520	0,9226

Tabel C. 17 % mol balance untuk sisntesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12, konsentrasi biokatalis = 4% , t=50 jam ; T=37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		T		D		M		F	
0	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100,00
0,5	4946169	1,0834	1645378	0,5535	257755	0,0220	3546056	1,3896	93,47
2	3828348	0,8385	2036767	0,6852	452163	0,0386	5046543	1,9776	95,63
6	2811454	0,6158	2567894	0,8638	554664	0,0474	6005033	2,3532	96,82
12	2105398	0,4611	3046547	1,0249	537041	0,0458	7254432	2,8428	102,43
20	1935142	0,4239	2832189	0,9528	455185	0,0389	8010068	3,1389	102,97
30	1818925	0,3984	2431872	0,8181	404667	0,0345	8825472	3,4585	102,48
50	1742347	0,3816	1926362	0,6480	281966	0,0241	9459371	3,7069	100,00

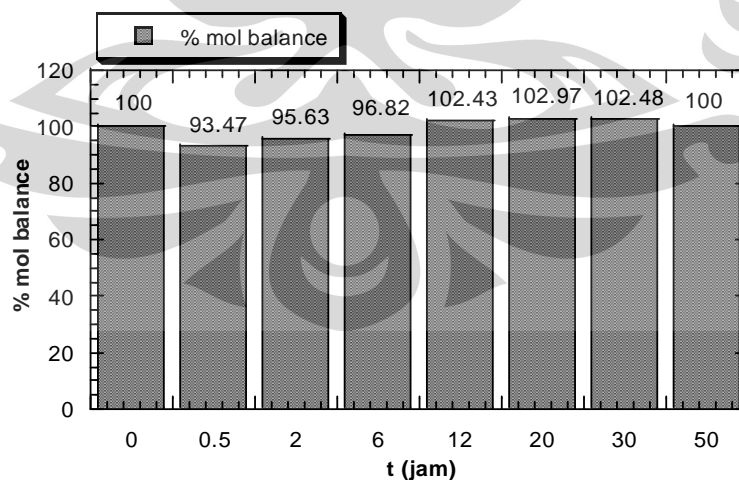
Universitas Indonesia

(Lanjutan)

Tabel C. 18 (%) konversi trioleat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12 , t= 50 jam ; T= 37 °C)

Biokatalis Tersuspensi	Perbandingan mol =1:12							
Komponen	Waktu							
	t=0 jam	t=0.5 jam	t=2 jam	t=6 jam	t=12 jam	t=20 jam	t=30 jam	t=50 jam
3*CT, t=0	5,2073							
2*CD, t=0	0,9584							
CM, t=0	0,0052							
CB, t=0	0,0007							
3*CT, t=t		3,2501	2,5156	1,8474	1,3834	1,2716	1,1952	1,1449
2*CD, t=t		1,1070	1,3703	1,7277	2,0497	1,9055	1,6362	1,2961
CM, t=t		0,0220	0,0386	0,0474	0,0458	0,0389	0,0345	0,0241
CB, t=t		1,3896	1,9776	2,3532	2,8428	3,1389	3,4585	3,7069
% konversi trigliserida		37,5855	51,6910	64,5230	73,4325	75,5809	77,0474	78,0138
% Yield digliserida		21,2592	26,3161	33,1786	39,3630	36,5934	31,4211	24,8896
% Yield monogliserida		0,4226	0,7413	0,9093	0,8804	0,7462	0,6634	0,4623
% Yield biodiesel		26,6860	37,9780	45,1911	54,5935	60,2801	66,4165	59,0783

**Gambar C. 4** % mol balance untuk sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12 , t= 50 jam ; T= 37 °C)

Universitas Indonesia

Lampiran D Rute Non Alkohol Adsorpsi

D.1 Data Hasil Reaksi Sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi

Tabel D. 1 Data saat $t = 0$ jam untuk minyak jelantah

t = 0	Minyak Jelantah	
Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	7924714	1,7358
D	1424536	0,4792
M	61148	0,0052
F	1811	0,0007

Tabel D. 2 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat 1:3 ; $T= 50$ jam ; $T= 37^{\circ}\text{C}$)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% Mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
50	7683616	1.6829	1650013	0.5551	68103	0.0058	16979	0.0067	100

Tabel D. 3 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2 % wt
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat 1:3 ; $T= 50$ jam ; $T= 37^{\circ}\text{C}$)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% Mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
50	7549952	1.6537	1586589	0.5337	830905	0.0709	183971	0.0721	100

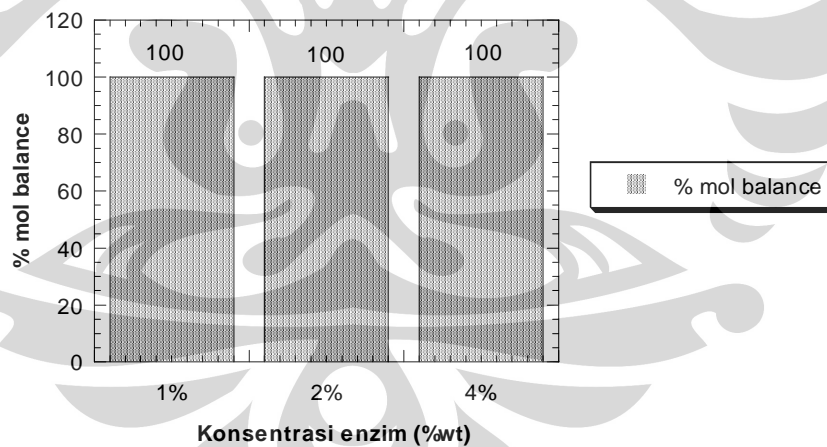
Tabel D. 4 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat 1:3 ; $T= 50$ jam ; $T= 37^{\circ}\text{C}$)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% Mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100
50	7606313	1.6660	1458551	0.4906	503284	0.0429	380742	0.1492	100

(Lanjutan)

Tabel D. 5 Konversi tri oleat dan % yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat 1:3 ; T= 50 jam ; T= 37°C

Biokatalis dalam bentuk tersuspensi	Perbandingan mol = 1 : 3		
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim		
Komponen	1%	2%	4%
3*CT, t=0	5,2073	5,2073	5,2073
2*CD, t=0	0,9584	0,9584	0,9584
CM, t=0	0,0052	0,0052	0,0052
CB, t=0	0,0007	0,0007	0,0007
3*CT, t=t	5,0488	4,9610	4,9980
2*CD, t=t	1,1101	1,0675	0,9813
CM, t=t	0,0058	0,0709	0,0430
CB, t=t	0,0067	0,0721	0,1492
% konversi tri oleat	3,1378	4,9638	4,1860
% Yield di oleat	86,3348	20,4996	18,8453
% Yield mono oleat	0,1117	1,3622	0,8251
% Yield biodiesel	0,1278	1,3845	2,8653



Gambar D. 1 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3 ; t = 50 jam ; T = 37°C)

(Lanjutan)

Tabel D. 6 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi

(rasio mol minyak jelantah: metil asetat = 1;12 t = 50 jam ; T = 37°C)

Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Perbandingan mol = 1:12					
	Konsentrasi Enzim = 1%		Konsentrasi Enzim = 2%		Konsentrasi Enzim = 4%	
t = 50 jam	Zat	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)
	T	0,6134	2603245	0,5702	1082669	0,2371
	D	0,1018	261139	0,0878	381742	0,1284
	M	0,0430	65432	0,0056	792501	0,0677
	F	0,1496	414914	0,1626	31770	0,0124

Tabel D. 7 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt

(rasio mol minyak jelantah: metil asetat = 1;12 t = 50 jam ; T = 37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	%
		T		D		M		F	mol Balance
0	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100,00
50	7379313	1,6163	552615	0,1859	503284	0,0430	2317420	0,9081	100,00

Tabel D. 8 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt

(rasio mol minyak jelantah: metil asetat = 1;12 t = 50 jam ; T = 37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	%
		T		D		M		F	mol Balance
50	6731245	1,4743	501139	0,1686	65432	0,0056	3587972	1,4060	100,00

Tabel D. 9 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi 4% wt

(rasio mol minyak jelantah: metil asetat = 1;12 t = 50 jam ; T = 37°C)

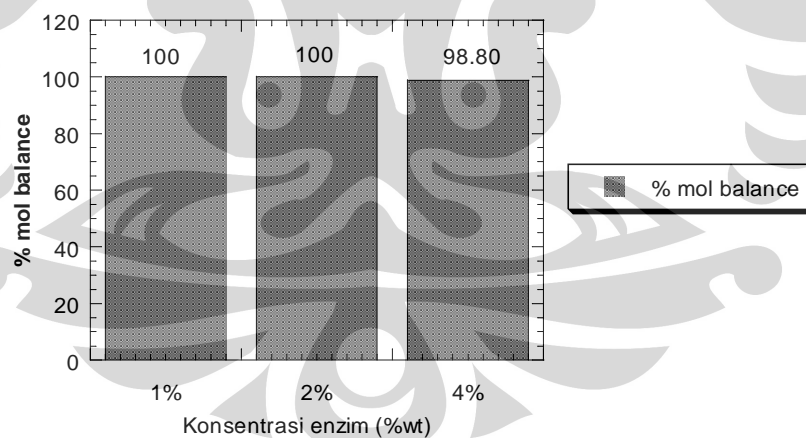
t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	%
		T		D		M		F	mol Balance
50	2482669	0,5438	2045479	0,6881	133977	0,0114	7856465	3,0788	98,80

(Lanjutan)

Tabel D. 10 % konversi tri oleat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12 ; t = 50 jam ; T= 37°C)

Biokatalis dalam bentuk tersuspensi	Perbandingan mol = 1 : 12		
	Konsentrasi Enzim		
t = 50 jam	1%	2%	4%
Komponen			
3*CT, t=0	5,2073	5,2073	5,2073
2*CD, t=0	0,9584	0,9584	0,9584
CM, t=0	0,0052	0,0052	0,0052
CB, t=0	0,0007	0,0007	0,0007
3*CT, t=t	4,8489	4,4230	3,0737
2*CD, t=t	0,3718	0,3372	0,2568
CM, t=t	0,0430	0,0056	0,0677
CB, t=t	0,9081	1,4060	2,7733
% konversi tri oleat	6,8823	15,0601	40,9737
% Yield di oleat	7,1401	6,4750	4,9323
% Yield mono oleat	0,8251	0,1073	1,2993
% Yield biodiesel	17,4398	27,0014	53,2586

**Gambar D. 2** % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah 1: 12; t = 50 jam ; T = 37°C)

(Lanjutan)

Tabel D. 11 Luas area yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1: 12; konsentrasi biokatalis = 4% wt; 50 jam; T= 37⁰C)

Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Perbandingan mol = 1:12							
Konsentrasi enzim = 4% wt	Luas Area							
Zat	t = 0 jam	t = 30 menit	t = 2 jam	t = 6 jam	t = 12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
T	7924714	5009434	3840556	2257543	3353106	2441843	1991176	1082669
D	1424536	108303	1496090	298345	1617833	464218	430822	381742
M	61148	54466	58842	596423	154645	496589	618404	792501
F	1811	46459	11754	740194	1004598	669944	609940	31775

Tabel D. 12 Konsentrasi yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1: 12; konsentrasi biokatalis = 4% wt; 50 jam; T= 37⁰C)

Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Perbandingan mol = 1: 12							
Konsentrasi enzim = 4% wt	Konsentrasi (mol/l)							
Zat	t = 0 jam	t = 30 menit	t = 2 jam	t = 6 jam	t = 12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
T	1,7358	1,0972	0,8412	0,4945	0,7344	0,5348	0,4361	0,2371
D	0,4792	0,0364	0,5033	0,1004	0,5442	0,1562	0,1449	0,1284
F	0,0007	0,0182	0,0046	0,2901	0,3937	0,2625	0,2390	0,0125

Tabel D. 13 Perhitungan % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1: 12; konsentrasi biokatalis = 4% wt; 50 jam; T= 37⁰C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		T		D		M		F	
0	7924714	1,74	1424536	0,48	61148	0,0052	1811	0,00	100,00
0,5	7009434	1,54	1889777	0,64	70548	0,0060	594467	0,23	99,10
2	5240556	1,15	2296090	0,77	105447	0,0090	3214477	1,26	101,38
6	3556487	0,78	2792035	0,94	180618	0,0154	5302040	2,08	102,22
12	2653106	0,58	2945473	0,99	204457	0,0175	6556467	2,57	102,27
20	2657543	0,58	2807977	0,94	197864	0,0169	7021317	2,75	103,76
30	2591176	0,57	2504479	0,84	173698	0,0148	7414114	2,91	102,21
50	2482669	0,54	2045479	0,69	133977	0,0114	7856465	3,08	98,80

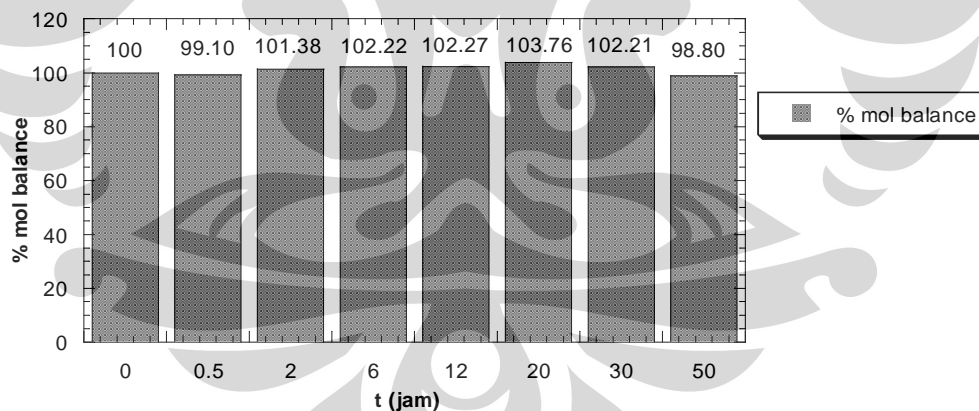
Universitas Indonesia

(Lanjutan)

Tabel D. 14 (%) konversi tri oleat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan Porcine Pancreatic Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu

(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12 , t= 50 jam ; T= 37 °C)

Biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi	Perbandingan mol =1:12							
	Waktu							
	t =0	t =0.5	t =2	t =6	t=12	t=20	t=30	t=50
Konsentrasi enzim = 4% wt								
Komponen								
3*CT, t=0	5,2073							
2*CD, t=0	0,9584							
CM, t=0	0,0052							
CB, t=0	0,0007							
3*CT, t=t		4,6058	3,4435	2,3369	1,7433	1,7462	1,7026	1,6313
2*CD, t=t		1,2715	1,5448	1,8785	1,9817	1,8892	1,6850	1,3762
CM, t=t		0,0060	0,0090	0,0154	0,0175	0,0169	0,0148	0,0114
CB, t=t		0,2330	1,2597	2,0777	2,5693	2,7515	2,9054	3,0788
% konversi tri oleat		11,5497	33,8707	55,1216	66,5211	66,4651	67,3026	68,6718
% Yield di oleat		24,4169	29,6667	36,0746	38,0571	36,2806	32,3592	26,4287
% Yield mono oleat		0,1157	0,1729	0,2961	0,3352	0,3244	0,2848	0,2196
% Yield biodiesel		4,4737	24,1907	39,9007	49,3410	52,8392	55,7952	59,1242

**Gambar D. 3** % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1: 12; kosentrasi biokatalis = 4% wt; 50 jam; T= 37°C)

(Lanjutan)

Tabel D. 15 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi 1% wt
(rasio mol minyak jelantah: metil asetat = 1;12 t = 50 jam ; T = 37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
0,00	7924714	1,7358	1424536	0,4792	61148	0,0052	1811	0,0007	100,00
100,00	7001081	1,5335	2287925	0,7697	324302	0,0277	605215	0,2372	103,77

Tabel D. 16 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi 2% wt
(rasio mol minyak jelantah: metil asetat = 1;12 t = 50 jam ; T = 37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
100,00	5732168	1,2555	3121416	1,0501	64960	0,0055	683892	0,2680	99,49

Tabel D. 17 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi 4% wt
(rasio mol minyak jelantah: metil asetat = 1;12 t = 50 jam ; T = 37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		Tri		Di		Mono		FAME	
100,00	5287187	1,1581	3512173	1,1815	41848	0,0036	844871	0,3311	100,00

(Lanjutan)

(Lanjutan)

Tabel D. 18 (%) konversi tri oleat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan Porcine Pancreatic Lipase yang terimmobilisasi metode adsorpsi(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1 : 3; t = 100 jam; T= 37⁰C)

Immobilisasi			
Biokatalis dalam bentuk tersuspensi	Perbandingan mol = 1 : 3		
	Konsentrasi Enzim		
t = 75 jam	1%	2%	4%
Komponen	1%	2%	4%
3*CT, t=0	5,2073	5,2073	5,2073
2*CD, t=0	0,9584	0,9584	0,9584
CM, t=0	0,0052	0,0052	0,0052
CB, t=0	0,0007	0,0007	0,0007
3*CT, t=t	4,6004	3,7666	3,4742
2*CD, t=t	1,5393	2,1001	2,3630
CM, t=t	0,0277	0,0055	0,0036
CB, t=t	0,2372	0,2680	0,3311
% konversi tri oleat	11,6551	27,6672	33,2823
% Yield di oleat	29,5612	40,3304	45,3791
% Yield mono oleat	0,5317	0,1065	0,0686
% Yield biodiesel	4,5546	5,1467	6,3581

Lampiran E Pemodelan

E.1 Pemodelan Hasil Percobaan Menggunakan Mekanisme Reaksi Michaelis-Menten Metode Linierisasi

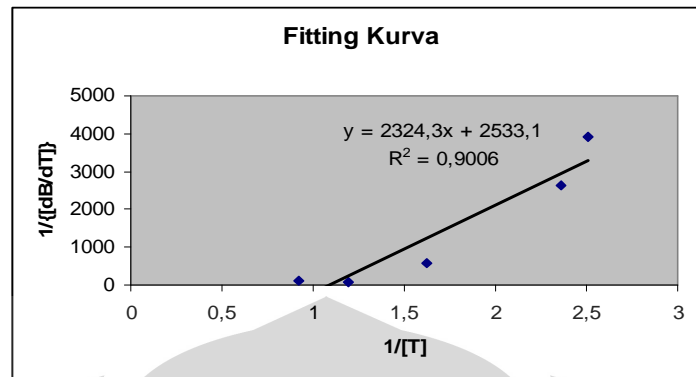
Tabel E. 1 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi

Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)
T		D		M		F
1.7357	1424536	0.4792	61148	0.0052	1811	0.0007
1.0833	1645378	0.5535	257755	0.0220	3546056	1.3896
0.8385	2036767	0.6851	452163	0.0386	5046543	1.9776
0.6157	2567894	0.8638	554664	0.0473	6005033	2.3532
0.4611	3046547	1.0248	537041	0.0458	7254432	2.8428
0.4238	2832189	0.9527	455185	0.0388	8310068	3.2565
0.3984	2431872	0.8180	404667	0.0345	8965472	3.5133
0.3816	1926362	0.6480	281966	0.0240	9212371	3.6100

Tabel E. 2 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi

Reaction time (h)	Reaction product (mol/l)	Reaction product (mol/l)	Reaction time (min)	d[B] (mol/l)	dT (menit)	d[B]/dt	Y = 1/{d[B]/dt}	X = 1/[T]
0	1,7357	0,0007	0					
0,5	1,0833	1,3896	30	1,3889	30	0,0462	21,5998	0,9230
2	0,8385	1,9776	120	0,5880	90	0,0065	153,0603	1,1925
6	0,6157	2,3532	360	0,3756	240	0,0015	638,9635	1,6239
12	0,4611	2,8428	720	0,4896	360	0,0013	735,2816	2,1685
20	0,4238	3,1389	1200	0,2961	480	0,0006	1620,9924	2,3592
30	0,3984	3,4584	1800	0,3195	600	0,0005	1877,7199	2,5100
50	0,3816	3,7068	3000	0,2484	1200	0,0002	4830,7390	2,6203

(Lanjutan)



Gambar E. 1 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Porcine Pancreatic Lipase dalam bentuk tersuspensi (substansi = minyak sawit; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$; Rasio mol reaktan = 1:12)

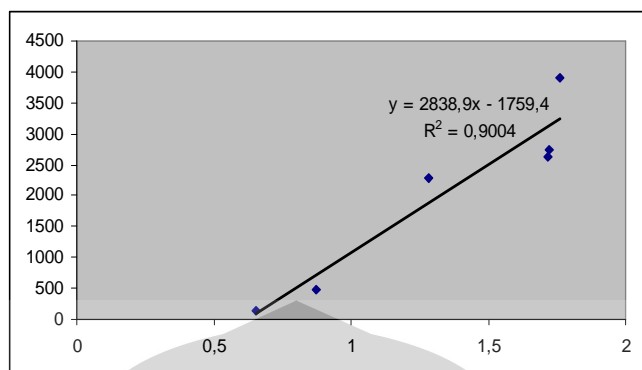
Tabel E. 3 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk immobilisasi metode adsorpsi

Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)
T		D		M		F
3.9368	1424536	1.4937	61148	0.0010	1811	0.0008
2.8860	1889777	1.9815	70548	0.0012	594467	0.2869
1.9079	2296090	2.4076	105447	0.0018	3214477	1.5515
1.5184	2792035	2.9276	180618	0.0032	6002040	2.8970
1.2683	2945473	3.0885	204457	0.0036	6856467	3.3095
1.1215	2607977	2.7346	197864	0.0035	7221317	3.4856
0.9891	2204479	2.3115	173698	0.0031	7514114	3.6269
0.8856	1645479	1.7254	123977	0.0022	8056465	3.8887

Tabel E. 4 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk immobilisasi metode adsorpsi

Reaction time (h)	Reaction product (mol/l)	Reaction product (mol/l)	Reaction time (min)	d[B] (mol/l)	dT (menit)	d[B]/dt	Y = $1/\{d[B]/dt\}$	X = $1/[T]$
0	1,7357	0,0007	0					
0,5	1,5352	0,2329	30	0,2322	30	0,0077	129,1727	0,6513
2	1,1478	1,2596	120	1,0267	90	0,0114	87,6580	0,8711
6	0,7789	2,0777	360	0,8180	240	0,0034	293,3756	1,2837
12	0,5811	2,5693	720	0,4915	360	0,0013	732,3345	1,7208
20	0,5820	2,7514	1200	0,1821	480	0,0003	2635,0011	1,7179
30	0,5675	2,9054	1800	0,1539	600	0,0002	3897,9430	1,7619
50	0,5437	3,0787	3000	0,1733	1200	0,0001	6922,5584	1,8389

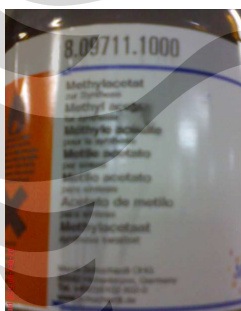
(Lanjutan)



Gambar E. 2 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Porcine Pacreatic Lipase dalam bentuk immobilisasi metode adsorpsi (substat = minyak sawit; t = 50 jam; T = 37⁰C; Rasio mol reaktan = 1:12



Lampiran F Dokumentasi percobaan



Lampiran G notasi dan simbol

G.1 Daftar Notasi dan Simbol

Notasi & Simbol	Keterangan
V_{\max}	Kecepatan Maksimal
K_M	Konstanta Michaelis-Menten
[T]	Notasi untuk trigliserida (trioleat)
[D]	Notasi untuk Digliserida (dioleat)
[M]	Notasi untuk monogliserida (Monooleat)
[B]	Notasi untuk Biodiesel (Methyl oleat)
F	Notasi untuk FAME (<i>Fatty Acid Methyl Ester</i>)
[ET]	Notasi untuk enzim-substrat kompleks
mg/L	miligram/Liter
gr/mL	gram/Liter
mol/L	Mol/Liter
T (°C)	Suhu (°C)
t (jam)	Waktu (jam)
t (detik)	Waktu (detik)
C_t	Konsentrasi trioleat
C_d	Konsentrasi dioleat
C_m	Konsentrasi monooleat
C_b	Konsentrasi biodiesel (Methyl-oleat)
$d C_B$	Selisih konsentrasi biodiesel
dt	Selisih waktu
X	Konversi
N	mol
θ	Perbandingan mol
A	Notasi untuk asam (metil asetat)
wt	(<i>weight</i>)

Lampiran H. Data Analisa HPLC

H.1 Data Primer Hasil Analisa HPLC

Notasi	Keterangan
R1	Data HPLC untuk Standar
R2	t = 1 jam interesterifikasi dengan katalis NaOH
R3	t = 0 jam untuk minyak jelantah
R4	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 1% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R5	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi bokatalis 1% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R6	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 2% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R7	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 2% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R8	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R9	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R10	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 1% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R11	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 1% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R12	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 2% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R13	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 2% wt;

	T=37°C; t = 50 jam)
R14	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 0.5 jam)
R15	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 2 jam)
R16	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 6 jam)
R17	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 12 jam)
R18	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 20 jam)
R19	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 30 jam)
R20	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R21	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 0.5 jam)
R22	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 2 jam)
R23	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 6 jam)
R24	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 12 jam)
R25	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt;

	T=37°C; t = 20 jam)
R26	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 30 jam)
R27	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)
R28	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 1% wt; T=37°C; t = 100 jam)
R29	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 2% wt; T=37°C; t = 100 jam)
R30	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 100 jam)
R31	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase yang terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 1% wt; T=37°C; t = 100 jam)
R32	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase yang terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 2% wt; T=37°C; t = 100 jam)
R33	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Porcine Pancreatic lipase yang terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; Konsentrasi biokatalis 4% wt; T=37°C; t = 100 jam)