



UNIVERSITAS INDONESIA

**REAKSI INTERESTERIFIKASI MINYAK JELANTAH
DENGAN METIL ASETAT MENGGUNAKAN
BIOKATALIS *CANDIDA RUGOSA* LIPASE
UNTUK MEMPRODUKSI BIODIESEL**

SKRIPSI

**MUHAMMAD EKKY RIZKIYADI
0606043156**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**REAKSI INTERESTERIFIKASI MINYAK JELANTAH
DENGAN METIL ASETAT MENGGUNAKAN
BIOKATALIS *CANDIDA RUGOSA* LIPASE
UNTUK MEMPRODUKSI BIODIESEL**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik

**MUHAMMAD EKKY RIZKIYADI
0606043156**

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
KEKHUSUSAN 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 : Muhammad Ekky Rizkiyadi

NPM : 0606043156

Tanda Tangan : 

Tanggal : 24 Desember 2008

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Muhammad Ekky Rizkiyadi
NPM : 0606043156
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi :

Reaksi Interesterifikasi Minyak Jelantah dengan Metil Asetat Menggunakan Biokatalis *Candida rugosa* 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 I : Dr. Heri Hermansyah, S.T., M.Eng. (.....)
Pembimbing II : Ir. Rita Arbianti, M.Si. (.....)
Penguji I : Ir. Tania Surya Utami, M.T. (.....)
Penguji II : Ir. Dianursanti, M.T. (.....)

Ditetapkan di : Depok, Jawa Barat, Indonesia

Tanggal : 24 Desember 2008

KATA PENGANTAR/UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrohmaanirrohiim,

Rasulullah SAW bersabda, “ Jika engkau meminta, mintalah kepada Allah; jika engkau minta tolong, minta tolonglah kepada Allah “ (HR. Turmidzi)
Rasulullah SAW bersabda, “ Barang siapa memudahkan orang yang tengah dilanda kesulitan maka Allah akan memudahkannya di dunia dan akhirat.
Barang siapa menempuh jalan dalam rangka mencari ilmu, maka Allah akan memudahkan baginya jalan menuju surga.” (HR. Muslim)

Assalamu’alaikum Wr. Wb.,

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 pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberi pengarahan, diskusi dan bimbingan serta persetujuan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
3. Ir. Rita Arbianti, M.Si., selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan waktu, tenaga, dan pikiran.
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, Adekku 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. Ratih Kumala Dewi, yang selalu setia menemani penulis dan berbagi keluh kesah dengan penulis. Terima kasih untuk selalu menjadi bagian yang berarti bagi diriku. Semoga Allah SWT selalu melindungi dirimu. *thanks for everything that you gave me my babe..*
8. Bang Werry, thanks atas pulsa-pulsanya ya bang..mudah-mudahan abang cepat menemukan pengganti “DMS” ya bang..*i will help you to find a new hire person that you will be satisfied by her..*
9. Rekan kerja satu tim, Risan Aji Surendro atas kerjasama dan bantuannya yang tidak mungkin penulis dapat membalasnya selama penelitian sampai penyusunan skripsi ini. Semoga Allah selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya.
10. Sahabat-sahabat penulis Sulistyawati, Debby samanty, Eko prasetio, Hanif adhi setyoko, Aziz afandi, Oland, Binyo, Iqbal yang senantiasa memberikan dukungan dan semangat selama kuliah dan proses penyusunan skripsi ini hingga selesai. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan kalian, dan selalu melindungi dimanapun kalian berada.
11. Bang Ijal, Kang Jajat, Mas Eko, Pak Heri, Pak Sriyono, Pak Mugeni yang selalu membantu penulis dan berbagi pengalaman. Terima kasih banyak.
12. Seluruh teman yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu khususnya Teknik Kimia (GPE’06) sukses untuk kalian.

Depok, Desember 2008

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Muhammad Ekky Rizkiyadi
NPM : 0606043156
Program Studi : Teknik Kimia
Departemen : Teknik Kimia
Fakultas : Teknik
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**Reaksi Interesterifikasi Minyak Jelantah dengan
Metil Asetat Menggunakan Biokatalis *Candida rugosa* Lipase
untuk Memproduksi Biodiesel**

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok, Jawa Barat, Indonesia
Pada tanggal : 24 Desember 2008

Yang menyatakan



(Muhammad Ekky Rizkiyadi)

ABSTRAK

Nama : Muhammad Ekky Rizkiyadi
Program Studi : Teknik Kimia
Judul : Reaksi Interesterifikasi Minyak Jelantah dengan Metil Asetat
Menggunakan Biokatalis *Candida rugosa* lipase untuk
Memproduksi Biodiesel

Metil asetat sebagai pensuplai gugus alkil direaksikan dengan trigliserida dari minyak jelantah dalam reaktor *batch*. HPLC digunakan untuk menganalisa reaktan dan produk. Hasil penelitian ini menunjukkan *Candida rugosa* mampu mengkonversi 75% rantai asam lemak dari trigliserida minyak jelantah menjadi biodiesel yang dihasilkan menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi pada kondisi biokatalis sebesar 4% wt substrat, rasio mol minyak/alkil sebesar 1:12 selama 50 jam reaksi. Uji stabilitas menunjukkan bahwa biokatalis terimobilisasi ini masih memiliki aktivitas untuk tiga kali siklus reaksi. Uji efek inhibisi diperoleh % *yield* terbesar 28.30% untuk lipase tersuspensi sedangkan untuk uji variasi diperoleh % *yield* terbesar 26.49% pada temperatur 50⁰C untuk lipase tersuspensi. Model kinetika berbasis Michaelis Menten mampu menggambarkan reaksi ini dengan ditandai hasil fitting yang cukup memuaskan dengan data hasil eksperimen.

Kata kunci :
Biodiesel, Minyak jelantah, Trigliserida, *Candida rugosa* lipase, Interesterifikasi, Rute non alkohol, Kinetika.

ABSTRACT

Name : Muhammad Ekky Rizkiyadi
Study Program: Chemical Engineering
Title : Interesterification Reaction of Fried Palm Oil with Methyl Acetate using *Candida rugosa* lipase as Biocatalyst for Biodiesel Production

In this reaction, methyl acetate is reacted with triglyceride from fried palm oil in batch reactor. The reactants and products were analyzed using HPLC. The result showed that *Candida rugosa* lipase can convert 75% fatty acid from triglyceride in Fried palm oil to biodiesel under the condition of 4% wt of the biocatalyst concentration, oil/alkyl mole ratio equal to 1:12 in 50 hour reaction. Stability test indicate that the activity of the immobilized biocatalyst still remain after three reaction cycles. The maximum yield of methyl ester for inhibition test was 28.30% achieved from lipase in suspension form and the maximum yield for temperature variation test was 26.49% gained in temperature of 50°C from lipase in suspension form. Kinetic model based on Michaelis Menten mechanism can describe this reaction with comparing experiment data result to fitting data result.

Keywords :

Biodiesel, Fried Palm oil, Triglyceride, *Candida rugosa* lipase, Interesterification, Non alcohol route, Kinetics.

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR/UCAPAN TERIMA KASIH	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1 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 2 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	20
2.2.1. Lipase	22
2.2.2. Klasifikasi Lipase	24
2.2.3. Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Lipase	25
2.2.4. <i>Candida rugosa</i> Lipase	30
2.3. Imobilisasi Enzim Lipase	33
2.3.1. Metode Imobilisasi Biokatalis	34
2.3.2. Bahan <i>Support</i> Biokatalis	37
2.3.3. Metode Adsorpsi Biokatalis Menggunakan Zeolit sebagai <i>Support</i>	37
2.4. Rute Non Alkohol	41
2.4.1. Reaksi	41
2.4.2. Produk	42
2.4.3. Kelebihan dan Kekurangan	43
2.5. Mekanisme Michaelis-Menten	43
2.6. <i>State of The Art</i>	45
2.6.1. Riset Rute Non Alkohol di Dunia	45
2.6.2. Riset Rute Non Alkohol di Indonesia	46
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	51
3.1. Alur Penelitian	51
3.2. Alat dan Bahan	52
3.2.1. Alat Percobaan	52
3.2.2. Bahan Percobaan	57
3.3. Prosedur Percobaan	59

3.3.1. <i>Screening</i> Biokatalis	59
3.3.2. <i>Set-up</i> Reaktor	59
3.3.3. Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Katalis NaOH	59
3.3.4. Percobaan Immobilisasi Enzim	62
3.3.5. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi pada T= 37 ⁰ C	64
3.3.6. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi pada T= 37 ⁰ C	65
3.3.7. Percobaan Uji Stabilitas	66
3.3.8. Percobaan Sintesis Biodiesel dengan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi dengan Penambahan Asam Palmitat sebagai <i>Inhibitor</i>	67
3.3.9. Percobaan Sintesis Biodiesel dengan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi dengan Penambahan Asam Palmitat sebagai <i>Inhibitor</i>	68
3.3.10. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi pada T= 50 ⁰ C	69
3.3.11. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi pada T= 50 ⁰ C	70
3.3.12. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi pada T= 25 ⁰ C	71
3.3.13. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi pada T= 25 ⁰ C	72
3.3.14. Teknik Analisis Data	73
3.3.15. Pemodelan Reaksi Enzimatik	75
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	78
4.1. Hasil HPLC	78
4.2. Hasil Sintesis Biodiesel Menggunakan Katalis NaOH	79
4.3. Hasil Sintesis Biodiesel Menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase	84
4.4. Pengaruh Konsentrasi Enzim	90
4.4.1. <i>Candida rugosa</i> Lipase dalam Bentuk Tersuspensi	90
4.4.2. Lipase Terimmobilisasi dengan Metode Adsorpsi	92
4.5. Pengaruh Rasio Substrat	94
4.6. Pengaruh Temperatur	97
4.7. Pengaruh Inhibitor	99
4.8. Pengaruh Imobilisasi	100
4.9. Hasil Uji Stabilitas	108
4.10. Hasil Kurva Fitting	111
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	118
5.1. Kesimpulan	118
5.2. Saran	119
DAFTAR REFERENSI	120

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Biodiesel dari berbagai macam substrat	6
Gambar 2. 2 Rumus kimia biodiesel	8
Gambar 2. 3 Dari kiri ke kanan : Biodiesel dari jarak pagar, minyak jelantah dan RBDPO.....	9
Gambar 2. 4 Reaksi esterifikasi dari asam lemak menjadi metil ester.....	11
Gambar 2. 5 Reaksi Transesterifikasi dari Triglicerida dengan alkohol	13
Gambar 2. 6 Tahapan reaksi transesterifikasi	13
Gambar 2. 7 Struktur triglicerida pada minyak kelapa sawit	14
Gambar 2. 8 Struktur molekul asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh .	15
Gambar 2. 9 Struktur kimia triglicerida.....	16
Gambar 2. 10 Minyak jelantah.....	18
Gambar 2. 11 Struktur lipase	22
Gambar 2. 12 Pseudomonas sp	24
Gambar 2. 13 Aspergillus Niger	25
Gambar 2. 14 G. Candidum	25
Gambar 2. 15 <i>Candida rugosa</i>	30
Gambar 2. 16 Reaksi enzimatik dari <i>Candida rugosa</i> lipase pada hidrolisis substrate triglicerol	32
Gambar 2. 17 Reaksi interesterifikasi dan transesterifikasi triglicerida.....	33
Gambar 2. 18 Mekanisme umum dalam penggunaan candida rugosa lipase sebagai katalis.....	33
Gambar 2. 19 Metode immobilisasi enzim	34
Gambar 2. 20 Metode <i>entrapment</i>	36
Gambar 2. 21 Metode <i>cross linking</i>	36
Gambar 2. 22 Metode <i>covalent binding</i>	36
Gambar 2. 23 Metode Adsorpsi	38
Gambar 2. 24 Reaksi kimia zeolit.....	39
Gambar 2. 25 Grafik pengaruh temperatur terhadap jumlah zat teradsorp.....	40
Gambar 2. 26 Reaksi interesterifikasi minyak nabati melalui rute reaksi non alkohol	42
Gambar 2. 27 Tahapan reaksi interesterifikasi.....	42
Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian	51
Gambar 3. 2 Termometer	52
Gambar 3. 3 <i>Stop watch</i>	52
Gambar 3. 4 <i>Magnetic stirer</i>	52
Gambar 3. 5 <i>Waterbath</i>	53
Gambar 3. 6 Labu Erlenmeyer 25 ml	53
Gambar 3. 7 <i>Syringe auto transfepette</i>	53
Gambar 3. 8 Botol plastik.....	54
Gambar 3. 9 <i>Beaker glass</i>	54
Gambar 3. 10 Gelas ukur	54
Gambar 3. 11 Cawan petri	55
Gambar 3. 12 Pompa air	55
Gambar 3. 13 Selang air <i>silicon</i>	55

Gambar 3. 14	Unit HPLC yang digunakan untuk menganalisa Metil Ester	56
Gambar 3. 15	<i>Candida rugosa</i> lipase	57
Gambar 3. 16	Minyak jelantah.....	57
Gambar 3. 17	Zeolit lampung	57
Gambar 3. 18	Asam asetat pro. analis.....	58
Gambar 3. 19	Asam palmitat	58
Gambar 3. 20	NaOH padat.....	58
Gambar 3. 21	Skematik diagram reaktor <i>batch</i> interesterifikasi sintesis biodiesel secara enzimatis.....	59
Gambar 3. 22	Diagram alir reaksi interesterifikasi menggunakan katalis NaOH..	60
Gambar 3. 23	Diagram alir aktivasi penyangga.....	62
Gambar 3. 24	Bagan alir prosedur immobilisasi.....	63
Gambar 3. 25	Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi (substrat: minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37 ⁰ C).....	64
Gambar 3. 26	Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat: minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37 ⁰ C).....	65
Gambar 3. 27	Diagram alir uji stabilitas lipase terimmobilisasi reaksi interesterifikasi biodiesel (substrat: minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37 ⁰ C).....	66
Gambar 3. 28	Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi dengan penambahan asam palmitat sebagai inhibitor	68
Gambar 3. 29	Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi dengan penambahan asam palmitat sebagai <i>inhibitor</i>	69
Gambar 3. 30	Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi (substrat: minyak jelantah; t = 50 jam; T = 50 ⁰ C).....	70
Gambar 3. 31	Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat: minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37 ⁰ C).....	71
Gambar 3. 32	Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi (substrat: minyak jelantah; t = 50 jam; T = 25 ⁰ C).....	72
Gambar 3. 33	Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat: minyak jelantah; t = 50 jam; T = 25 ⁰ C).....	73
Gambar 3. 34	Diagram alir pemodelan Michaelis-Menten.....	77
Gambar 4. 1	Kurva standar HPLC.....	78
Gambar 4. 2	Profil HPLC untuk sintesis biodiesel menggunakan rute non-alkohol	78
Gambar 4. 3	Substrat minyak jelantah saat sebelum reaksi (t = 0 menit).....	79
Gambar 4. 4	Reaktor <i>batch</i> untuk sintesis biodiesel menggunakan katalis NaOH padat	80
Gambar 4. 5	Proses sintesis biodiesel menggunakan katalis NaOH.....	81

Gambar 4. 6 Hasil reaksi interesterifikasi melalui rute non alkohol dengan substrat minyak jelantah menggunakan katalis NaOH.....	81
Gambar 4. 7 Produk metil ester hasil pemurnian dengan menghilangkan kandungan airnya.....	82
Gambar 4. 8 Konsentrasi Biodiesel yang terbentuk menggunakan katalis NaOH padat	83
Gambar 4. 9 NaOH yang sulit larut dalam metil asetat	84
Gambar 4. 10 Enzim <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk <i>powder</i> yang digunakan untuk mensintesis biodiesel dalam bentuk tersuspensi .	85
Gambar 4. 11 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam reaksi sintesis biodiesel dengan substrat minyak jelantah menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah,.....	85
Gambar 4. 12 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	86
Gambar 4. 13 Laju reaksi dioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	86
Gambar 4. 14 Laju reaksi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	86
Gambar 4. 15 Laju reaksi metil oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	87
Gambar 4. 16 Tahap reaksi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis <i>Candida rugosa</i> lipase.....	88
Gambar 4. 17 Bilangan asam minyak kelapa sawit dan minyak jelantah.....	89
Gambar 4. 18 Persiapan pembuatan larutan lipase	89
Gambar 4. 19 Berat biokatalis yang digunakan untuk sintesis biodiesel menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3 dan 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C).....	90
Gambar 4. 20 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1 : 3 menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)....	90
Gambar 4. 21 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1 : 12 menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	91

Gambar 4. 22 Berat zeolit yang digunakan untuk sintesis biodiesel menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3 dan 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C).....	92
Gambar 4. 23 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1 : 3 menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	92
Gambar 4. 24 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1 : 12 menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	93
Gambar 4. 25 Enzim terikat pada zeolit dalam metode imobilisasi.....	94
Gambar 4. 26 Pengaruh konsentrasi substrat	95
Gambar 4. 27 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1:3 dan 1:12 menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase (4%wt) dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3 dan 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	95
Gambar 4. 28 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1:3 dan 1:12 menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase (4%wt) terimmobilisasi dengan metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3 dan 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C).....	96
Gambar 4. 29 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1:12 menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dan <i>Candida antarctica</i> lipase (4%wt) terimmobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C).....	96
Gambar 4. 30 Tahap reaksi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol untuk uji variasi temperatur pada T = 50 ⁰ C.....	97
Gambar 4. 31 Tahap reaksi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol untuk uji variasi temperatur pada T = 25 ⁰ C.....	98
Gambar 4. 32 Perbandingan konversi biodiesel yang dihasilkan dari lipase dalam bentuk tersuspensi dan lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi pada temperature 25 ⁰ C dan 50 ⁰ C (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 50 ⁰ C dan 25 ⁰ C).....	98
Gambar 4. 33 Tahap reaksi uji efek inhibisi dengan asam palmitat sebagai inhibitor	99
Gambar 4. 34 Reaksi enzimatik dengan kehadiran inhibitor	99

Gambar 4. 35 Perbandingan konversi pada uji inhibisi untuk lipase dalam bentuk tersuspensi dan lipase terimobilisasi dengan metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	100
Gambar 4. 36 Tahap reaksi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis <i>Candida rugosa</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi	101
Gambar 4. 37 Laju reaksi masing-masing komponen (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	102
Gambar 4. 38 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	103
Gambar 4. 39 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dan <i>Candida antarctica</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	103
Gambar 4. 40 Laju reaksi di oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	103
Gambar 4. 41 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dan <i>Candida antarctica</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	104
Gambar 4. 42 Laju reaksi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	104
Gambar 4. 43 Laju reaksi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dan <i>Candida antarctica</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	104
Gambar 4. 44 Laju reaksi methyl oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	105
Gambar 4. 45 Laju reaksi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dan <i>Candida antarctica</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C)	105
Gambar 4. 46 Zeolit teraktivasi.....	108
Gambar 4. 47 Tahap Imobilisasi <i>Candida rugosa</i> lipase powder pada zeolit	108
Gambar 4. 48 Tahap reaksi uji stabilitas lipase terimobilisasi metode adsorpsi.	109
Gambar 4. 49 Uji stabilitas <i>Candida rugosa</i> lipase terimobilisasi metode adsorpsi setelah di-recycle 3 kali (Kondisi operasi : substrat=	

	minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37 ⁰ C).....	109
Gambar 4. 50	Uji stabilitas biokatalis <i>Candida rugosa</i> lipase dan <i>Candida antarctica</i> lipase	110
Gambar 4. 51	Hasil Pemodelan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi.....	112
Gambar 4. 52	Hasil pemodelan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi.....	113
Gambar 4. 53	Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	114
Gambar 4. 54	Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	114
Gambar 4. 55	Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan <i>Candida antarctica</i> lipase.....	115



DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1	Spesifikasi Biodiesel menurut ASTM (USA), EDIN (Eropa) dan SNI (Indonesia)	8
Tabel 2. 2	Karakteristik Biodiesel	9
Tabel 2. 3	Perbandingan karakteristik biodiesel dengan solar	10
Tabel 2. 4	Kandungan Asam Lemak yang Terikat Pada Trigliserida Minyak Sawit	16
Tabel 2. 5	Hasil uji laboratorium perbandingan Biodiesel dan Solar	19
Tabel 2. 6	Perbandingan emisi yang dihasilkan Biodiesel dan Solar	19
Tabel 2. 7	Perbandingan efek berbagai macam lipase dalam reaksi esterifikasi	21
Tabel 2. 8	Jenis biokatalis dan produk yang dihasilkan.....	23
Tabel 2. 9	Berbagai macam metode immobilisasi untuk enzim	35
Tabel 2. 10	Perbandingan Kelebihan dan Kekurangan Rute Non-Alkohol	43
Tabel 2. 11	Summary Rute Non Alkohol	50
Tabel 3. 1	Spesifikasi alat HPLC	56
Tabel 3. 2	Kondisi operasi sintesis biodiesel menggunakan katalis NaOH.....	60
Tabel 3. 3	Kondisi operasi untuk lipase dalam bentuk tersuspensi	64
Tabel 3. 4	Kondisi operasi untuk lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	65
Tabel 3. 5	Kondisi reaksi untuk uji stabilitas.....	66
Tabel 3. 6	Kondisi operasi untuk lipase tersuspensi dengan penambahan asam palmitat sebagai inhibitor	67
Tabel 3. 7	Kondisi operasi untuk lipase terimmobilisasi dengan penambahan asam palmitat sebagai inhibitor	68
Tabel 3. 8	Kondisi operasi untuk lipase tersuspensi pada $T=50^{\circ}\text{C}$	69
Tabel 3. 9	Kondisi operasi untuk lipase terimmobilisasi pada $T=50^{\circ}\text{C}$	70
Tabel 3. 10	Kondisi operasi untuk lipase tersuspensi pada $T=25^{\circ}\text{C}$	71
Tabel 3. 11	Kondisi operasi untuk lipase terimmobilisasi pada $T=25^{\circ}\text{C}$	72
Tabel 3. 12	Data standar HPLC untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol	73
Tabel 4. 1	Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi.....	112
Tabel 4. 2	Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi.....	112
Tabel 4. 3	Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi	113
Tabel 4. 4	Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi	113
Tabel 4. 5	Nilai V_{\max} dan K_m untuk masing-masing grafik hasil fitting metode linierisasi.....	116

DAFTAR LAMPIRAN

Lamp. 1. 1	Data saat $t = 0$ jam minyak jelantah	123
Lamp. 1. 2	Data saat $t = 1$ jam minyak jelantah	123
Lamp. 1. 3	% mol balance sintesis biodiesel melalui rute non alkohol dengan katalis NaOH dari substrat minyak jelantah.....	123
Lamp. 1. 4	% konversi trioelat dan % yield masing-masing komponen yang terbentuk	124
Lamp 2. 1	Data saat $t = 0$ jam untuk minyak jelantah	125
Lamp 2. 2	Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (kondisi operasi = rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)	125
Lamp 2. 3	Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt....	125
Lamp 2. 4	Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt....	125
Lamp 2. 5	Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt....	125
Lamp 2. 6	% konversi trioelat dan % yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (kondisi operasi = rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)	126
Lamp 2. 7	Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (kondisi operasi = rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)	126
Lamp 2. 8	Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt....	126
Lamp 2. 9	Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt....	127
Lamp 2. 10	Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt....	127
Lamp 2. 11	% konversi trioelat dan % yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (kondisi operasi = rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)	127
Lamp 2. 12	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 biokatais = 4% wt; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)	128
Lamp 2. 13	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 biokatais = 4% wt; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)	128
Lamp 2. 14	% mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan Candida rugos lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatais = 4% wt; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)	128
Lamp 2. 15	% konversi trioelat dan % yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk	

tersuspensi dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C).....	129
Lamp. 3. 1 Data saat t = 0 jam untuk minyak jelantah	130
Lamp. 3. 2 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi = rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; t=50 jam; T = 37°C)	130
Lamp. 3. 3 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt....	130
Lamp. 3. 4 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2 % wt...	130
Lamp. 3. 5 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt....	130
Lamp. 3. 6 Konversi trioelat 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).....	131
Lamp. 3. 7 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).....	131
Lamp. 3. 8 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt...	131
Lamp. 3. 9 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt...	132
Lamp. 3. 10 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt...	132
Lamp. 3. 11 % konversi trioelat 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)....	132
Lamp. 3. 12 Luas area yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatais = 4% wt; t=50 jam; T = 37°C).....	133
Lamp. 3. 13 Konsentrasi yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatais = 4% wt; t=50 jam; T = 37°C)	133
Lamp. 3. 14 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 biokatais = 4% wt; t=50 jam; T = 37°C)	133
Lamp. 3. 15 % konversi trioelat dan % yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C).....	134
Lamp. 3. 16 Data uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatalis 4% wt ; t =50 jam; T = 37°C).....	134
Lamp. 3. 17 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 1.....	134
Lamp. 3. 18 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 2.....	134

Lamp. 3. 19 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 3.....	135
Lamp. 3. 20 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji stabilitas menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t =50 jam; T = 37°C).....	135
Lamp. 4. 1 Data uji efek inhibisi.....	136
Lamp. 4. 2 Perhitungan % mol balance untuk Immobilized.....	136
Lamp. 4. 3 Perhitungan % mol balance untuk Free enzim	136
Lamp. 4. 4 % konversi trioelat dan % yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji efek inhibisi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C).....	136
Lamp. 5. 1 Data variasi temperature immobilized dan free enzim.....	137
Lamp. 5. 2 Perhitungan % mol balance untuk immobilized.....	137
Lamp. 5. 3 Perhitungan % mol balance untuk free enzim	137
Lamp. 5. 4 % konversi trioelat dan % yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji efek variasi temperatur (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 50°C).....	138
Lamp. 5. 5 Data variasi temperature immobilized dan free enzim.....	138
Lamp. 5. 6 Perhitungan % mol balance untuk Immobilized.....	138
Lamp. 5. 7 Perhitungan % mol balance untuk Immobilize.....	138
Lamp. 5. 8 % konversi trioelat dan % yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji efek variasi temperatur (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 25°C).....	139
Lamp. 6. 1 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi.....	140
Lamp. 6. 2 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi.....	140
Lamp. 6. 3 Kurva perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C).....	140
Lamp. 6. 4 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi	141
Lamp. 6. 5 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis ter-immobilisasi metode adsorpsi.....	141
Lamp. 6. 6 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C).....	141

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia sebagai salah satu negara subtropis memiliki sumber daya alam yang sangat potensial. Usaha pertanian merupakan usaha yang sangat potensial untuk dikembangkan di Indonesia karena Indonesia memiliki potensi sumber daya lahan, agroklimat dan sumber daya manusia yang sangat memadai. Kondisi iklim subtropis dengan curah hujan yang cukup, ketersediaan lahan yang masih luas, serta telah berkembangnya teknologi optimalisasi produksi dapat mendukung kelayakan pengembangan usaha agribisnis [1].

Terjadinya krisis energi, khususnya bahan bakar minyak (BBM) yang diinduksi oleh meningkatnya harga BBM dunia telah membuat Indonesia perlu mencari sumber-sumber bahan bakar alternatif yang mungkin dikembangkan. Sumber daya energi yang berasal dari minyak bumi akan semakin menipis persediannya seiring dengan bertambahnya industri yang akan mengakibatkan peningkatan konsumsi bahan bakar minyak. Jumlah bahan bakar minyak yang dikonsumsi oleh industri – industri yang menggunakan mesin – mesin diesel mengakibatkan peningkatan kebutuhan solar. Hal tersebut dapat mengakibatkan krisis, karena kebutuhan konsumsi solar tidak disertai dengan ketersediaan sumber daya energi yang memadai. Oleh karena itu, dibutuhkan sumber daya energi alternatif untuk mengatasi permasalahan tersebut [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 goreng [3]. Minyak goreng bekas merupakan limbah yang sangat berbahaya apabila dikonsumsi, karena akan menimbulkan beberapa penyakit bagi manusia, diantaranya adalah kanker dan penyempitan pembuluh darah. Sedangkan apabila minyak goreng bekas ini dibuang ke lingkungan akan dapat mencemari lingkungan sekitar [4].

Minyak goreng bekas atau yang sering disebut dengan minyak jelantah, tidak akan lagi menjadi barang buangan. Walaupun warnanya sudah sangat pekat karena sering digunakan, namun minyak jelantah tersebut masih bisa dimanfaatkan. Minyak jelantah tersebut dapat digunakan sebagai substrat untuk

energi biodiesel yang dapat 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 goreng bekas yang sudah disaring dengan kain tiga lapis [5].

Salah satu proses pembuatan biodiesel dari minyak jelantah adalah melalui reaksi transesterifikasi. Reaksi transesterifikasi dengan substrat trigliserida minyak nabati dengan metanol menggunakan katalis alkali. Untuk membuat biodiesel, metanol tersebut dicampur dengan soda dan dipanasi dalam suhu 60 °C. Minyak 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 [6].

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 goreng yang berasal dari industri – industri rumah tangga. Dengan memakai limbah minyak goreng tersebut juga dapat mereduksi biaya produksi biodiesel yang tergolong mahal, dikarenakan terbatasnya ketersediaan bahan baku dan harganya yang relatif tinggi [7].

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 diatas, diperlukan katalis yang tidak ikut bercampur secara homogen dan mampu mengarahkan reaksi secara spesifik menghasilkan produk yang diinginkan tanpa reaksi samping [8].

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 [9]. Selain kelebihan, 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 melakukan sintesis enzim tetap tinggi selama reaksi berlangsung.

Dalam penelitian ini, metanol akan digantikan dengan metil asetat sebagai pensuplai 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 dibandingkan dengan produk samping rute alkohol. Produk samping rute non alkohol 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 [10].

Dalam penelitian ini, penggunaan enzim *Candida rugosa* lipase sebagai biokatalis akan di-immobilisasi. 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. 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.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan sebelumnya, maka dapat dikemukakan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Berapakah % *yield* dan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan dari sintesis biodiesel dengan substrat minyak jelantah melalui rute non-alkohol dengan biokatalis *Candida rugosa* lipase *powder* dalam bentuk tersuspensi dan dalam bentuk lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi.
2. Pengujian stabilitas biokatalis *Candida rugosa* lipase untuk sintesis biodiesel dari substrat minyak jelantah.
3. Pengujian efek inhibisi asam palmitat terhadap substrat untuk sintesis biodiesel dari substrat minyak jelantah.
4. Pengujian variasi temperatur untuk sintesis biodiesel dari substrat minyak jelantah.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui berapa banyak % *yield* dan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan dari sintesis biodiesel melalui rute non alkohol.
2. Mendapatkan kondisi operasi yang optimal untuk reaksi enzimatik sintesa biodiesel melalui rute non alkohol.
3. Mengetahui uji stabilitas biokatalis *Candida rugosa* lipase dalam proses sintesis biodiesel melalui rute non alkohol.
4. Mengetahui efek inhibisi asam palmitat terhadap substrat untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol.
5. Mengetahui pengaruh variasi temperatur untuk sintesis biodiesel dari substrat minyak jelantah.

1.4. Batasan Masalah

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

1. Substrat yang dipakai untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol berasal dari minyak jelantah.

2. Minyak jelantah yang digunakan dalam sintesis biodiesel melalui rute non alkohol berasal dari pembuatan sendiri.
3. Menggunakan biokatalis *Candida rugosa* lipase dalam bentuk *powder*.
4. Menggunakan metil asetat sebagai pensuplai gugus metil.
5. Reaksi dilakukan dalam reaktor *batch*.
6. Reaksi dilakukan pada suhu 37⁰C dalam *range* waktu 50 jam dengan variasi perbandingan mol minyak jelantah dan metil asetat yaitu 1 : 3 dan 1 : 12.

1.5. Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan dalam skripsi ini adalah sebagai berikut:

BAB 1 : PENDAHULUAN

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

BAB 2 : TINJAUAN PUSTAKA

Dalam bab ini berisi tentang prinsip dasar ilmu yang berkaitan dengan penelitian. Membahas tentang mekanisme sintesis biodiesel, Enzim yang digunakan *Candida rugosa* lipase (Sigma Co.) *powder*, membahas mengenai perlakuan enzim yang terimobilisasi.

BAB 3 : METODOLOGI PENELITIAN

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

BAB 4 : HASIL DAN PEMBAHASAN

Berisi tentang pembahasan hasil penelitian dan analisis- analisis terhadap hasil penelitian tersebut.

BAB 5 : KESIMPULAN DAN SARAN

Berisi tentang kesimpulan penelitian secara keseluruhan serta saran yang diperlukan untuk kelanjutan penelitian berikutnya.

DAFTAR REFERENSI

BAB 2 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].



Gambar 2. 1 Biodiesel dari berbagai macam substrat

Biodiesel (*fatty acid methyl esthers*) 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 (metilester) 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

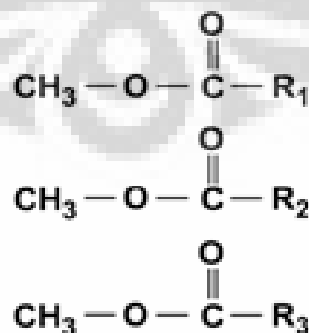
D 6751-02, dan Eropa berdasarkan EDIN 51606 dan juga Indonesia mempunyai Standar Nasional Indonesia (SNI). Spesifikasi yang sudah ditetapkan berdasarkan standar tersebut disajikan pada Tabel 2.1 untuk menjamin konsistensi kualitas biodiesel untuk memenuhi spesifikasi tergantung pada kondisi proses pengolahan dan pemurnian produk setelah produksi [14].

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

Karakteristik	ASTM D-6751	EDIN 51606	SNI
Density @ 15 ^o C	0.875 – 0.9 g/mL	0.875 – 0.9 g/mL	0.85 – 0.89 g/mL
Viskositas @ 40 ^o C	1.9 – 6.0 mm ² /sec	3.5 – 5.0 mm ² /sec	2.3 -6.0 mm ² /sec
Flashpoint	130 ^o C	110 ^o C	100 ^o 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
Cloud Point	Tidak terdefinisi	- 20 ^o C	18 ^o C 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 (*soybean*), minyak *rapesad (canola)*, dan minyak bunga matahari (*sunflower*) [15].



Biodiesel

Gambar 2. 2 Rumus kimia biodiesel



Gambar 2. 3 Dari kiri ke kanan : Biodiesel dari jarak pagar, minyak jelantah dan RBDPO. (Terlihat bahwa biodiesel yang dihasilkan dari minyak jelantah memiliki tingkat kejernihan yang sama dengan biodiesel yang dihasilkan dari kelapa sawit dan jarak walaupun minyak jelantah merupakan minyak bekas, adapun mengenai warna merupakan pengaruh dari kadar betakaroten dan mineral-mineral yang sangat kecil dan tidak berpengaruh pada kualitas biodiesel) [15].

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. Keuntungan lain adalah sifatnya yang lebih ramah lingkungan dibanding dengan bahan bakar fosil. Biodiesel dapat mereduksi emisi gas berbahaya seperti karbon monoksida (CO), ozon (O_2), nitrogen oksida (NO_x), sulfur oksida (SO_x) dan hidrokarbon reaktif lainnya.

Tabel 2. 2 Karakteristik Biodiesel [25]

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

Tabel 2. 3 Perbandingan karakteristik biodiesel dengan solar

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-I ₂ /100g)	-	maks. 115
20	Tes halphen		-	Negatif

Sumber: Bode Haryanto. "Bahan Bakar Alternatif Biodiesel (Bagian I. Pengenalan)." *Perpustakaan Digital Universitas Sumatera Utara*

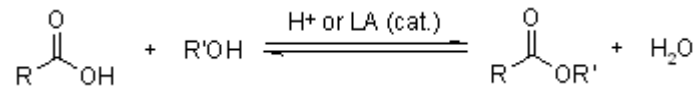
2.1.3. Reaksi Sintesis Biodiesel Konvensional

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

Universitas Indonesia

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 [16]. Reaksi esterifikasi dapat dilihat pada gambar 2.4 di bawah ini.



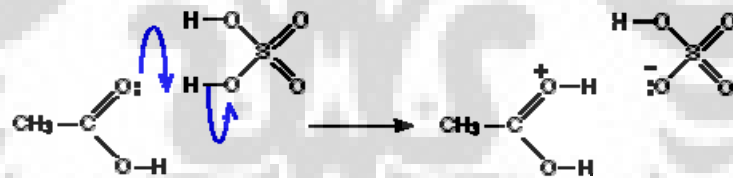
Gambar 2. 4 Reaksi esterifikasi dari asam lemak menjadi metil ester

Mekanisme reaksi ini terdiri dari lima langkah [31], kita ambil contoh pembentukan etil etanoat dengan mereaksikan asam asetat dan etanol dengan bantuan katalis asam sulfat.



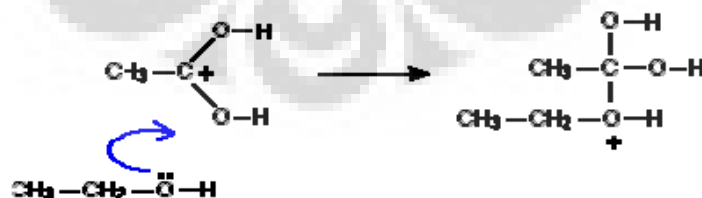
Gambar 2. 5 Reaksi esterifikasi asam etanoat dengan etanol

Langkah pertama, asam asetat menerima proton (ion hidrogen) dari asam sulfat. Proton tersebut lalu berikatan dengan oksigen yang berikatan rangkap dengan karbon. Perpindahan proton ke oksigen membuatnya jadi bermuatan positif.



Gambar 2. 6 Tahap pertama reaksi esterifikasi

Langkah kedua, muatan positif pada atom karbon diserang oleh satu elektron oksigen dari molekul etanol.



Gambar 2. 7 Tahap kedua reaksi esterifikasi

Langkah ketiga, pada fase ini terjadi perpindahan proton (ion hidrogen) dari oksigen terbawah ke atom oksigen lainnya.



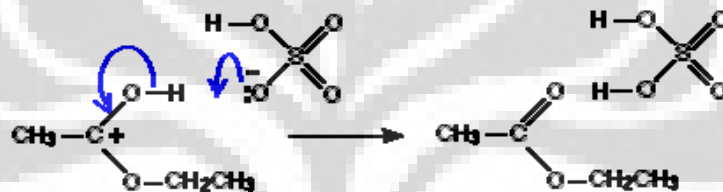
Gambar 2. 8 Tahap ketiga reaksi esterifikasi

Langkah keempat, pada fase ini terbentuk molekul air akibat terputusnya ikatan ion.



Gambar 2. 9 Tahap keempat reaksi esterifikasi

Langkah terakhir, yaitu pemisahan hidrogen dari oksigen oleh reaksi dari ion hidrogen sulfat yang terbentuk pada langkah pertama.

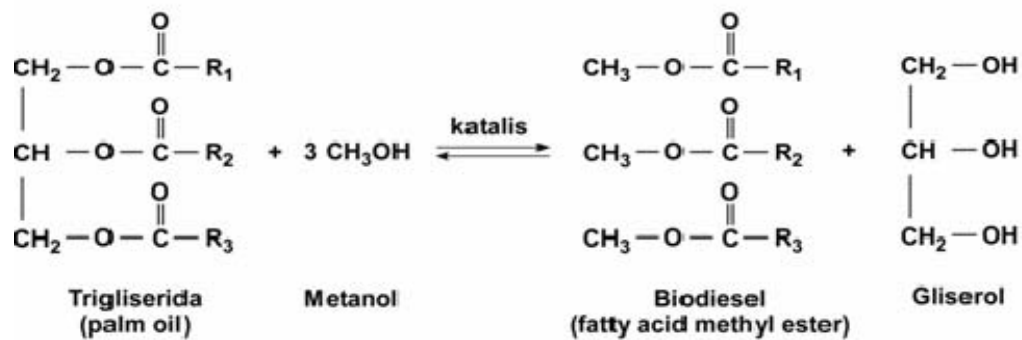


Gambar 2. 10 Tahap terakhir reaksi esterifikasi

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

2.1.3.2. Transesterifikasi

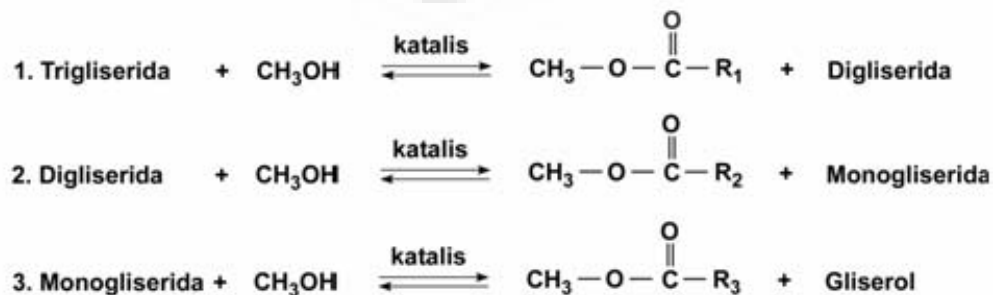
Transesterifikasi (disebut juga alkoholisis) adalah reaksi antara lemak atau minyak nabati dengan alkohol untuk membentuk ester dan gliserol. Biasanya dalam reaksi ini digunakan katalis untuk meningkatkan laju reaksi dan jumlah *yield* produk. Karena reaksi ini adalah reaksi reversible, maka digunakan alkohol berlebih untuk menggeser kesetimbangan ke arah produk [16]. Reaksi transesterifikasi trigliserida menjadi metil ester dapat dilihat pada gambar 2.11 di bawah ini.



Gambar 2. 11 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 2.12 dibawah ini.



Gambar 2. 12 Tahapan reaksi transesterifikasi

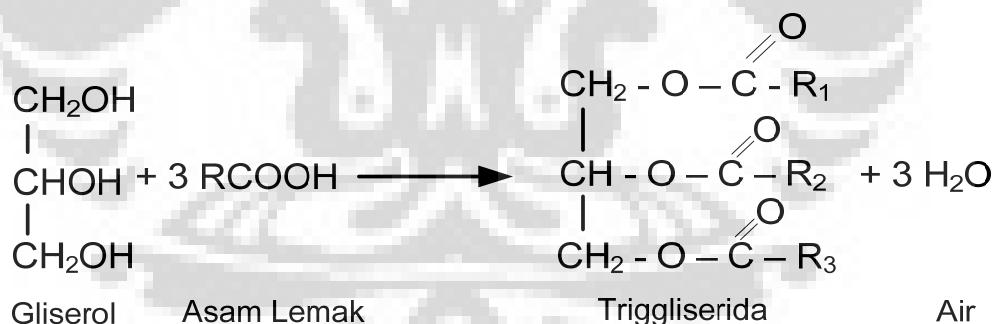
Agar suatu reaksi transesterifikasi dapat bereaksi sempurna, secara stoikiometri dibutuhkan alkohol dan trigliserida dengan rasio molar 3:1. Pada praktiknya, rasio yang dibutuhkan jauh lebih tinggi untuk mendorong terbentuknya ester secara maksimum.

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

2.1.3.3.1. 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 :

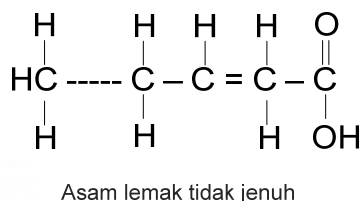
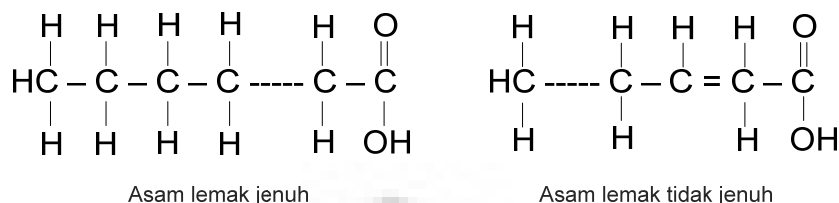


Gambar 2. 13 Struktur trigliserida pada minyak kelapa sawit

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 jenuh dan asam lemak tidak jenuh dapat digambarkan sebagai berikut:



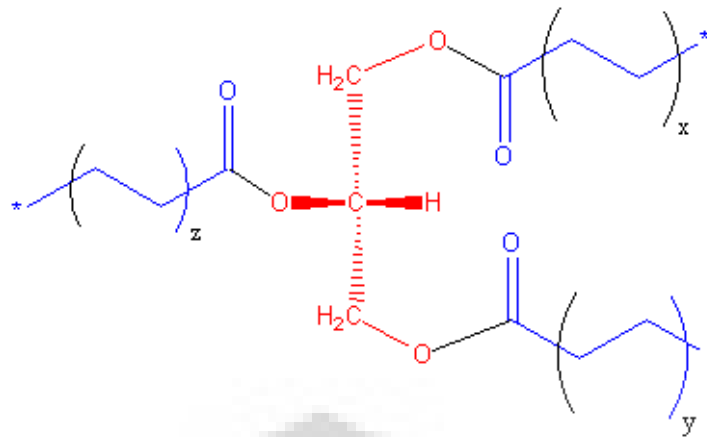
Gambar 2. 14 Struktur molekul asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh

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 organism karena berperan sebagai komponen membran sel, menghasilkan energy 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, steroid 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 triasigliserida, 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* sedangkan asam lemak tidak jenuh yang memiliki lebih dari satu ikatan rangkap disebut *polysaturated*.



Gambar 2. 15 Struktur kimia trigliserida

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)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\overset{\text{OH}}{\parallel}\text{CH}\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COH}$

2.1.3.3.2. Sumber Trigliserida

A. 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 (Gambar 2.15) 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.

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*, *kerosine*, dan termasuk pelumas [17].

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 [17].

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.

B. Minyak Jelantah

Minyak jelantah (*fried palm 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. 16 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 (Gatra 2006). Bahkan telah diuji coba pada kendaraan bermesin diesel sampai 40% campuran dengan solar selama kurang lebih 3 tahun tanpa masalah sedikit pun.

Tabel 2. 5 Hasil uji laboratorium perbandingan Biodiesel dan Solar

Sifat fisik	Unit	Hasil	ASTM Standar (Minyak Solar)	SNI Biodiesel
Flash point	°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
Cloud point	°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

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

Tabel 2. 6 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 tersebut terlihat bahwa biodiesel dari substrat 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 :

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 (*Y Wang et al*, 2006).

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 etis, 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 [17].

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 enzimatik untuk produksi obat sampai sintesis biodiesel. Secara umum, enzim digunakan sebagai biokatalis dalam beragam reaksi, seperti hidrolisis, transesterifikasi, dan lain-lain [17].

Biokatalis yang akan digunakan dalam sintesis biodiesel ini dilakukan pemilihan terlebih dahulu dan proses tersebut disebut *screening biokatalis*. Pada tahap *screening biokatalis* akan dikumpulkan literatur mengenai jenis-jenis lipase terbaik yang digunakan untuk sintesis biodiesel dengan menggunakan rute non-alkohol serta referensi mengenai kondisi operasi optimal untuk reaksi sintesis biodiesel dengan menggunakan 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*. Setelah dilakukan pemilihan terhadap berbagai macam biokatalis yang akan digunakan dalam sintesis biodiesel ini maka *Candida rugosa* lipase dipilih sebagai biokatalis untuk proses sintesis biodiesel ini karena *Candida rugosa* lipase mempunyai sifat-sifat khusus yang sangat baik untuk sintesis biodiesel antara lain *Candida rugosa* lipase bersifat *non-patogenik* (tidak menimbulkan penyakit) dan sangat aktif terhadap rantai panjang trigliserida pada kondisi optimumnya yaitu pada temperatur 30-40 °C dan pH 8 [23].

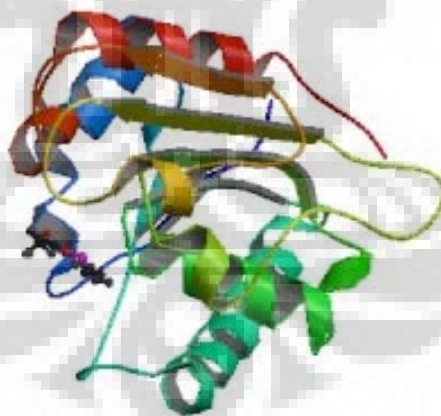
Tabel 2. 7 Perbandingan efek berbagai macam lipase dalam reaksi esterifikasi [34]

Lipase	% Yield
Porcine pancreas (non-immobilized)	22.45
Porcine pancreas (immobilized)	13.79
Lipolase 100T (immobilized)	42.17
<i>Rhizopus arrhizus</i> lipase (non-immobilized)	66.39
<i>Rhizopus arrhizus</i> lipase (immobilized)	26.31
<i>Rhizopus usarii</i> lipase (non-immobilized)	61.18
<i>Rhizopus usarii</i> lipase (immobilized)	20.60
<i>Candida cylindracea</i> (non-immobilized)	19.72
<i>Candida cylindracea</i> (immobilized)	17.20
<i>Candida</i> sp. 99-125 lipase (non-immobilized)	80.50
<i>Candida</i> sp. 99-125 lipase (immobilized)	81.51

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 asama karboksilat atau reaksi balik pelarut organik.



Gambar 2. 17 Struktur Lipase [18]

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. 8 Jenis biokatalis dan produk yang dihasilkan

Biokatalis	Reaksi	Produk	Referensi
Chromobacterium Viscosum	Transesterifikasi	Metil ester	Yen Yu <i>et al</i> (1998)
Pseudomonas Flourescence	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)
<i>Candida Antarctica</i>	Transesterifikasi	Metil ester	Watanabe Yomi <i>et al</i> (2002)
<i>Candida Cylindracea</i>	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)
<i>Candida sp</i>	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

Universitas Indonesia

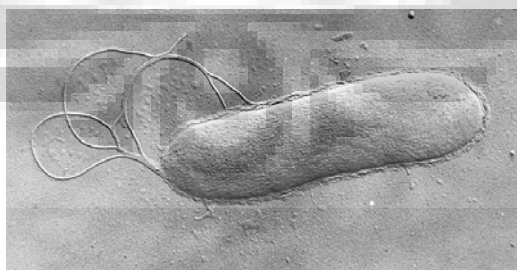
termozim (Vielle dan Zeikus, 2001). Termozim selain mempunyai termostabilitas tinggi juga mampu mempertahankan stabilitas serta aktivitasnya, baik pada pH ekstrim maupun pada agen denaturan lain, sehingga dapat digunakan untuk menggantikan enzim mesofilik dan katalis lain dalam beberapa proses industri.

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 (Bruins *et al.*, 2001). 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 [18]:

1. Lipase yang menghidrolisis triasilgliserol (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. 18 *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. 19 *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.



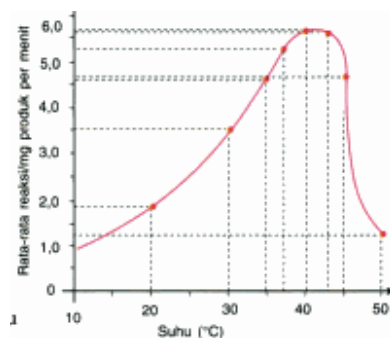
Gambar 2. 20 *G. Candidum*

2.2.3. Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Lipase

Aktifitas enzim adalah besarnya kemampuan enzim dalam mempercepat reaksi penguraian sumber karbon [18]. Aktivitas enzim dinyatakan dalam unit per mL menit di mana 1 unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah yang menyebabkan perubahan 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 [20]. Aktivitas biokatalis dipengaruhi oleh faktor-faktor sebagai berikut :

1. Suhu

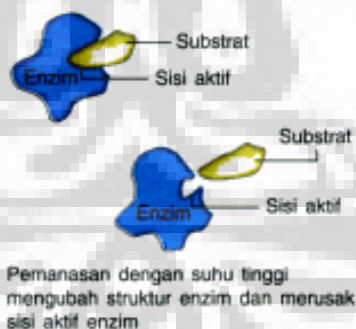
Pada suhu yang lebih tinggi kecepatan molekul substrat meningkat, sehingga pada saat bertumbukkan dengan enzim, energi molekul substrat berkurang. Hal ini memudahkan terikatnya molekul substrat pada sisi aktif enzim (biokatalis). Aktivitas enzim meningkat dengan meningkatnya suhu sampai pada titik tertentu.



Gambar 2. 21 Suhu optimum biokatalis

Pada kurva di atas dapat dilihat bahwa suhu optimum reaksi yang di katalis enzim adalah 40 °C. Di atas suhu tersebut, produk yang dihasilkan menurun. Peningkatan suhu di atas suhu optimum menyebabkan putusya ikatan hidrogen dan ikatan lain yang merangkai molekul enzim, sehingga enzim mengalami denaturasi.

Denaturasi adalah rusaknya bentuk tiga dimensi enzim yang menyebabkan enzim tidak dapat lagi berikatan dengan substratnya (gambar 2.22). Denaturasi menyebabkan aktivitas enzim menurun atau hilang. Denaturasi umumnya bersifat *irreversible* (tidak dapat kembali). Namun, enzim-enzim yang langka seperti RNAase dapat mengalami denaturasi setelah mengalami denaturasi. Renaturasi adalah kembalinya bentuk enzim yang rusak ke bentuk sebelum rusak.

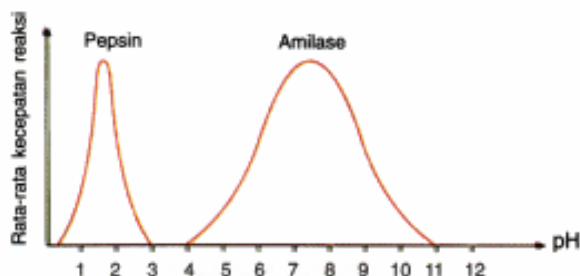


Gambar 2. 22 Denaturasi enzim

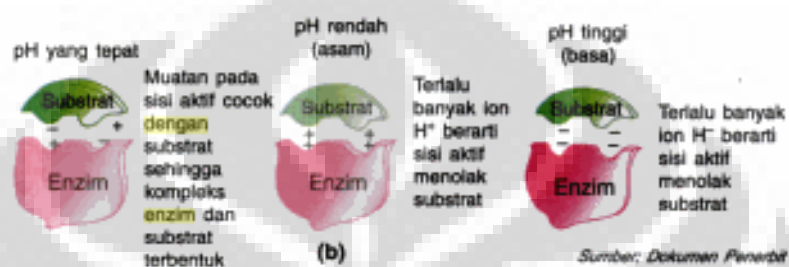
2. pH (Derajat Keasaman)

Derajat keasaman (pH) juga mempengaruhi aktivitas enzim. Perubahan kondisi asam dan basa di sekitar molekul enzim mempengaruhi bentuk tiga dimensi enzim dan dapat menyebabkan denaturasi enzim. Setiap enzim memiliki pH optimum. Sebagai contoh, pepsin (enzim yang bekerja di dalam lambung) memiliki pH optimum sekitar 2 (sangat asam), sedangkan amilase (enzim yang

bekerja di mulut dan usus halus) memiliki pH optimum sekitar 7,5 (agak basa). Gambar dibawah ini menunjukkan pH optimum dari biokatalis.



Gambar 2. 23 pH optimum beberapa jenis enzim



Gambar 2. 24 Pengaruh pH terhadap kerja enzim

3. Aktivator

Aktivator merupakan molekul yang mempermudah ikatan antara enzim dengan substratnya. Contoh aktivator adalah ion klorida yang berperan dalam aktivitas amilase dalam saliva.

4. Inhibitor

Inhibitor merupakan suatu molekul yang menghambat ikatan enzim dengan substratnya. Contoh inhibitor adalah ion sianida. Ion sianida menutupi sisi aktif enzim yang terlibat dalam respirasi. Inhibitor terhadap reaksi enzimatik dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis. Berdasarkan sifat kinetiknya inhibitor dibagi menjadi dua jenis yaitu inhibitor kompetitif dan inhibitor non-kompetitif.

Inhibitor kompetitif adalah molekul penghambat yang cara kerjanya bersaing dengan substrat untuk mendapatkan sisi aktif enzim. Contohnya sianida bersaing dengan oksigen untuk mendapatkan hemoglobin dalam rantai respirasi terakhir. Inhibitor kompetitif dapat diatasi dengan cara penambahan konsentrasi substrat.



Gambar 2. 25 Inhibitor kompetitif

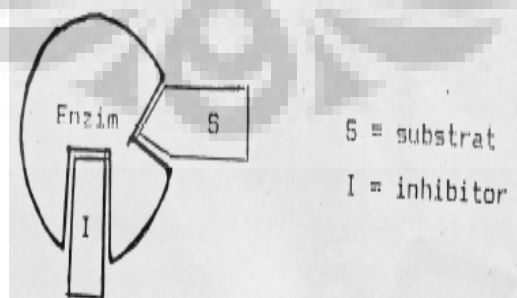
Inhibitor non-kompetitif adalah molekul penghambat enzim yang bekerja dengan cara melekatkan diri pada luar sisi aktif, sehingga bentuk enzim berubah dan sisi aktif tidak dapat berfungsi. Inhibitor ini tidak dapat dipengaruhi oleh konsentrasi substrat.



Gambar 2. 26 Inhibitor non-kompetitif

Kemudian berdasarkan sifat ikatan enzim-inhibitor dibagi menjadi dua jenis yaitu inhibitor reversibel dan inhibitor irreversibel.

Inhibitor reversibel dapat berikatan dengan enzim bebas maupun kompleks enzim substrat, terikat pada tempat yang berbeda dengan pengikatan substrat dan dapat menurunkan kadar enzim yang aktif.



Gambar 2. 27 Inhibitor reversibel

Inhibitor irreversibel dapat berikatan dengan enzim secara irreversibel dan dapat merubah konformasi enzim atau *active site*, sehingga enzim menjadi inaktif.

5. Konsentrasi Enzim

Konsentrasi enzim juga mempengaruhi kecepatan reaksi. Semakin besar konsentrasi enzim semakin cepat pula reaksi yang berlangsung. Dengan kata lain, konsentrasi enzim berbanding lurus dengan kecepatan reaksi.

Sisi aktif suatu enzim dapat digunakan berulang kali oleh banyak substrat. Substrat yang berikatan dengan sisi aktif enzim akan membentuk produk. Pelepasan produk menyebabkan sisi aktif enzim bebas untuk berikatan dengan substrat yang lainnya. Oleh karenanya hanya dibutuhkan sejumlah kecil enzim untuk mengkatalis sejumlah besar substrat.



Gambar 2. 28 Pengaruh konsentrasi enzim terhadap kecepatan reaksi

6. Konsentrasi Substrat

Bila jumlah enzim dalam keadaan tetap, kecepatan reaksi akan meningkat dengan adanya peningkatan konsentrasi substrat. Namun, pada saat sisi aktif semua enzim bekerja, penambahan substrat tidak dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzim lebih lanjut. Kondisi ini disebut konsentrasi substrat pada titik jenuh atau disebut dengan kecepatan reaksi telah mencapai maksimum (V_{Max}).

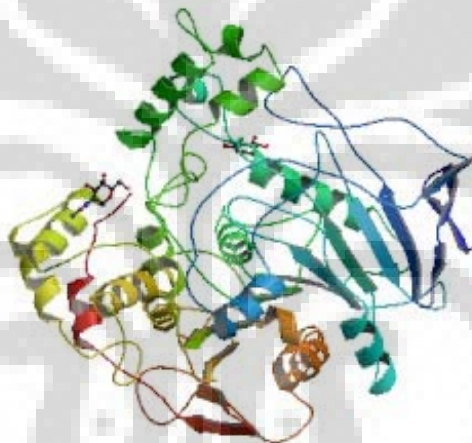


Gambar 2. 29 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi

2.2.4. *Candida rugosa* Lipase

Candida sp. merupakan organisme yang tergabung di dalam kingdom fungi. Kelas taksonomi lengkapnya sebagai berikut [19].

Kingdom : Fungi
Phylum : Ascomycota
Subphylum : Ascomycotina
Class : Ascomycetes
Order : Saccharomycetales
Family : Saccharomycetaceae
Genus : *Candida*
Species : *Candida rugosa*



Gambar 2. 30 *Candida rugosa* [19]

Candida sp. merupakan fungi yang hampir tersebar di seluruh dunia. Biasanya hidup berkoloni pada kulit manusia, pada daun, bunga, air, tanah, dan membran mukosa. Genus *Candida* terdiri dari 154 spesies yang sudah diketahui. Sebagian besar dari mereka umumnya bersifat patogen dan dapat menginfeksi manusia. Beberapa yang paling berbahaya adalah *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, dan *Candida lusitaniae*. Infeksi yang disebabkan *Candida* adalah *Candidiasis*.

Namun ada juga beberapa spesies yang tidak patogen. Salah satunya adalah *Candida rugosa*. Telah dilaporkan oleh *Food Standards Australia New Zealand* (FSANZ) pada 5 Oktober 2005 bahwa *Candida rugosa* adalah organisme non-patogen. Lipase yang dihasilkan dari organisme ini merupakan lipase yang dapat menyerang ketiga gugus lemak pada rantai trigliserida.

Koloni *Candida* sp. berupa krim yang berwarna kekuningan, tumbuh dengan cepat dan matang dalam tiga hari. *Candida* sp. termasuk dalam golongan *yeast* atau ragi. Ragi merupakan kelompok fungi yang penting. Fungi, sama seperti bakteri, tersebar banyak di alam, meskipun mereka biasanya hidup di tanah dan pada daerah yang relatif lembab dibanding tempat hidup bakteri. Fungi tidak dapat mengambil energi dari sinar matahari. Walaupun kebanyakan fungi memiliki morfologi yang relatif kompleks, ragi dapat dibedakan karena merupakan mikroorganisme bersel satu, dan berukuran panjang dari 5 sampai 30 μm dengan lebar 1 hingga 5 μm .

Candida rugosa lipase biasanya digunakan secara luas untuk reaksi katalitik yang mana termasuk hidrolisis non spesifik dan streospesifik, kebalikan dari hidrolisis melalui esterifikasi. Sejauh ini, tidak ada lipase yang tersedia yang spesifikasinya (substrat, posisi, asam lemak, dan streopreference) yang dapat dihubungkan dengan *Candida rugosa* lipase [23].

Pemurnian dan karakterisasi dari berbagai macam lipase yang berasal dari *yeast* (*Candida rugosa*, *Candida antarctica*) dapat menjadi lebih kompleks di dalam biologi molekuler. *Candida rugosa* lipase dan *G. Candidum* telah dilakukan studi secara bersamaan sejak kedua jenis lipase tersebut menunjukkan persamaan-persamaan dalam berbagai aspek. Kedua lipase tersebut mempunyai perbedaan dalam *lipase encoding genes* (lipase pseudogene family), yang mana dapat dihitung untuk membedakan rangkaian urutan asam amino dan kemungkinan untuk sifat-sifat enzimatik dan biokimia.

2.2.4.1. Kekhususan *Candida rugosa* lipase

Enzim bekerja untuk menentukan ikatan kimia tertentu pada bagian spesifik di dalam molekul, di lain hal untuk reaksi kimia biasa terjadi respon acak terhadap hukum termodinamika.

Pengontrolan enzim-enzim terhadap produk-produk yang dihasilkan juga akan meningkatkan *yield* dengan mengurangi produk samping : keuntungan-keuntungannya adalah saling berikatan di dalam reaksi pada kondisi yang sejuk dan pada *low waste treatment costs*.

Substrate specificity dari *Candida rugosa* lipase seharusnya terjadi pada berbagai macam bentuk lipase, indikasi perkembangan lipase dari proses adaptasi lebih baik untuk pemanfaatan substrat yang ada.

Non-specificity dari *Candida rugosa* lipase sudah sangat jelas digambarkan pada jurnal-jurnal tentang enzim sebelumnya. Benzonna dan Esposito menemukan bahwa *Candida rugosa* lipase sangat aktif terhadap rantai panjang trigliserida pada pH 8.0 dan pada suhu 30⁰C. Dibawah kondisi tersebut, tiga rantai dari gliserol akan terhidrolisis secara sempurna seperti yang ditunjukkan pada gambar di bawah ini [23].

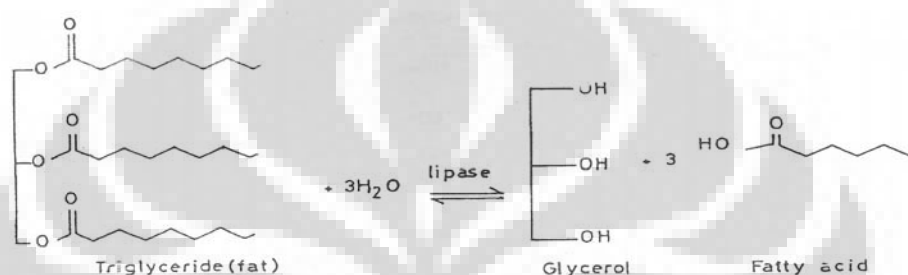


Figure 3. Enzymatic reaction of CRL catalysing hydrolysis or synthesis of a triglycerol substrate.

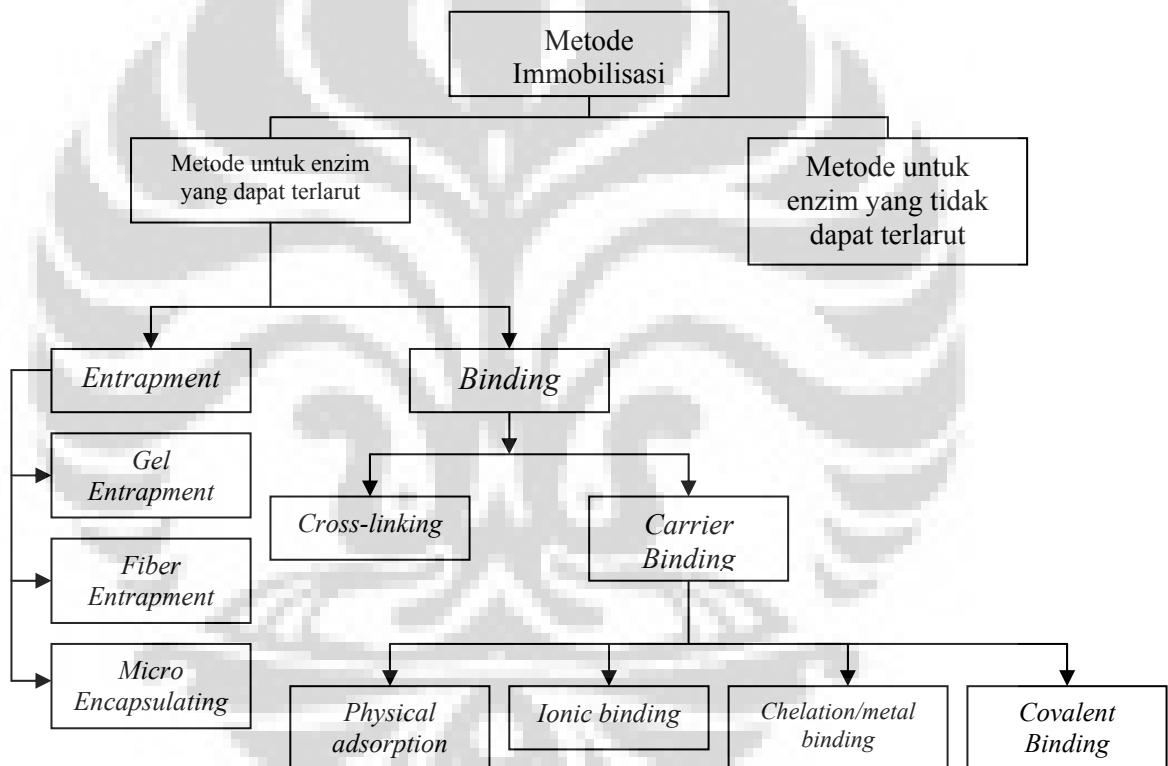
Gambar 2. 31 Reaksi enzimatik dari *Candida rugosa* lipase pada hidrolisis substrate trigliserol

Aplikasi yang sangat potensial dari *Candida rugosa* lipase yaitu dalam hal memproduksi asam lemak dan gliserol melalui hidrolisis minyak dan lemak, modifikasi komposisi dan sifat-sifat fisika dari campuran trigliserida melalui reaksi interesterifikasi dan transesterifikasi seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.17 dan sintesis kimia dalam pelarut organik. Sifat-sifat non-hidrolitik (esterifikasi) dapat terjadi terutama dalam lingkungan perairan yang terbatas. Ikatan lipase pada *interface* antara larutan *aqueous* dan fasa organik akan mengkatalis pada reaksi hidrolisis pada *interface* yang sama. Ikatan tersebut tidak hanya menempatkan *Candida rugosa* lipase dekat dengan substrat, akan tetapi juga meningkatkan kekuatan katalitik dari *Candida rugosa* lipase, dan peristiwa ini disebut dengan *interfacial activation*. Di dalam lingkungan yang terdapat pelarut-pelarut organik, *Candida rugosa* lipase mengkatalis sintesis ester baru dan juga modifikasi dari sakarida, peptida atau pembentukan aktif enansiomer untuk produksi kimia [23].

2.3.1. Metode Immobilisasi Biokatalis

Immobilisasi 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. 34 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. 9 Berbagai macam metode immobilisasi untuk enzim

karakteristik	<i>Cross-linking</i>	Adsorpsi Fisik	Ikatan Ionik	Ikatan Logam	Ikatan Kovalen	<i>Entrapping</i>
Preparasi	sedang	mudah	sedang	mudah	sulit	sulit
Gaya ikatan	kuat	lemah	sedang	sedang	kuat	sedang
Aktivitas enzim	rendah	sedang	tinggi	tinggi	tinggi	rendah
Regenerasi <i>carrier</i>	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

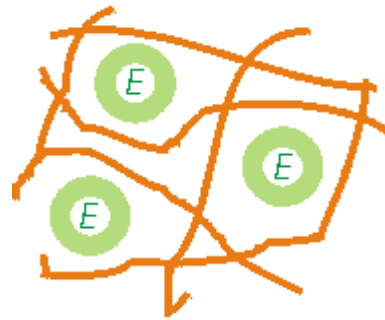
Metoda yang digunakan dalam immobilisasi enzim pada umumnya dapat dilakukan dengan 4 cara, yaitu : Adsorpsi, *Entrapment*, *cross linking*, dan *Covalent binding* [18].

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*

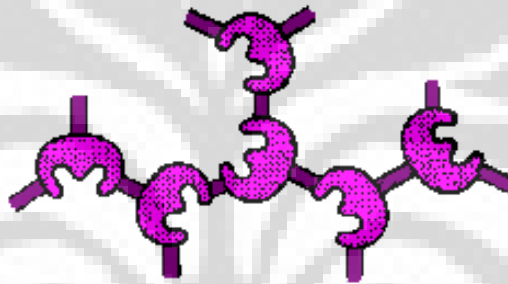
Sudah banyak digunakan dalam proses immobilisasi sel tapi metode ini tidak digunakan dalam proses immobilisasi katalis. Kelemahan utama dari metode ini adalah adanya kemungkinan terjadinya kebocoran secara perlahan jika digunakan secara terus-menerus. Hal ini disebabkan karena ukuran partikel sel lebih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



Gambar 2. 35 Metode *entrapment* [22]

3. *Cross linking*

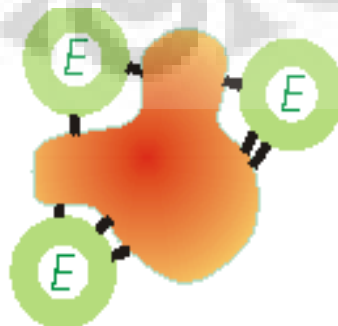
Adalah proses imobilisasi enzim dengan menghubungkan secara silang ikatan kovalen antar molekul protein. Metode ini sangatlah mahal dan tidak mencukupi kebutuhan katalis yang besar, selain itu enzim yang terbentuk memiliki aktifitas sangat rendah.



Gambar 2. 36 Metode *cross linking* [22]

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. 37 Metode *covalent binding* [22]

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).

Pemilihan zeolit sebagai *support* (penyangga) untuk reaksi sintesis biodiesel karena zeolit harganya murah, zeolit mudah di dapat, zeolit mempunyai struktur kristal berpori sehingga dapat berfungsi sebagai bahan pengikat, zeolit mempunyai kestabilan yang baik dan zeolit diharapkan dapat terdidpersi secara merata ke seluruh permukaan dan pori penyangga. Teknik penempelan inti aktif ke dalam penyangga yang biasa digunakan adalah dengan cara impregnasi yang kemudian diaktivasi dengan menggunakan pemanasan (kalsinasi). Kemudian teknik lain yang biasa digunakan yaitu dengan cara imobilisasi. Imobilisasi merupakan suatu proses menggabungkan suatu enzim dengan suatu matrik padat (*support*) secara fisik, sehingga dapat digunakan secara fisik dan dapat digunakan secara berulang kali secara berkala. Teknik-teknik tersebut dikembangkan untuk memperbaiki beberapa kekurangan penggunaan enzim. Tujuan dari penempelan inti aktif tersebut adalah untuk dapat memperluas (memperbanyak) permukaan aktif (*active sites*) zeolit dalam kinerjanya sebagai suatu katalis dalam reaksi sintesis biodiesel.

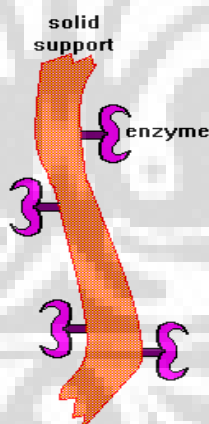
2.3.3. Metode Adsorpsi Biokatalis Menggunakan Zeolit sebagai *Support*

Adsorpsi fisik dibuat dengan mengikat enzim pada *support* padat, metode adsorpsi fisik merupakan teknik imobilisasi yang paling tua dan paling umum. Metode inilah yang pertama kali muncul dalam benak kita apabila kita berbicara mengenai imobilisasi, dan mungkin metode inilah yang paling banyak diteliti.

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 *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.

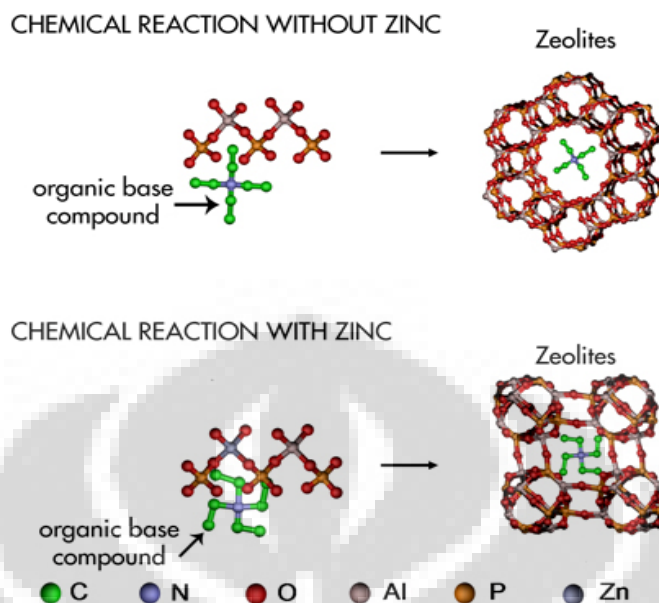


Gambar 2. 38 Metode Adsorpsi [22]

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 berinteraksi 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. 39 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.

2. Luas Permukaan Zeolit

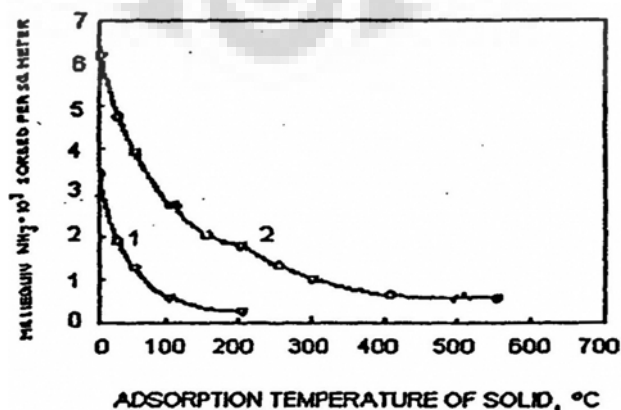
Jumlah molekul adsorbat yang dapat teradsorpsi meningkat seiring dengan bertambahnya luas permukaan zeolit (adsorben). Karena dengan bertambahnya luas permukaan, kemungkinan terjadinya kontak antara molekul adsorben dengan adsorbat semakin besar.

3. 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 2.25.

4. 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. 40 Grafik Pengaruh Temperatur terhadap Jumlah zat teradsorpsi

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

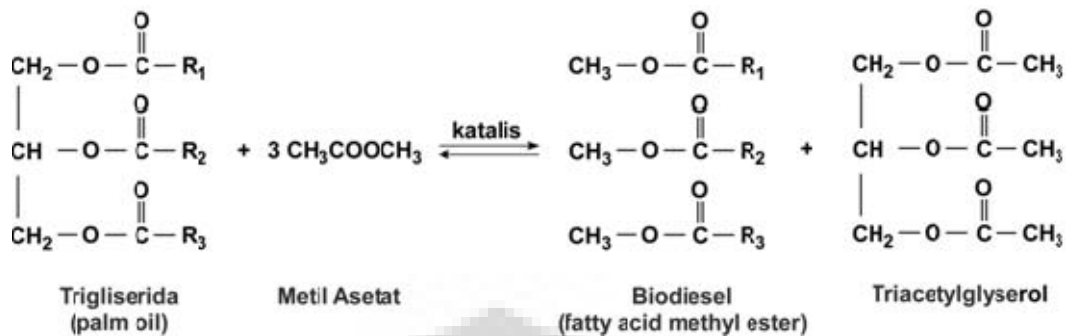
2.4.1. Reaksi

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 [18].

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 penuplai gugus metil seperti yang diperlihatkan dalam gambar 2.26. Penggantian alkohol dengan

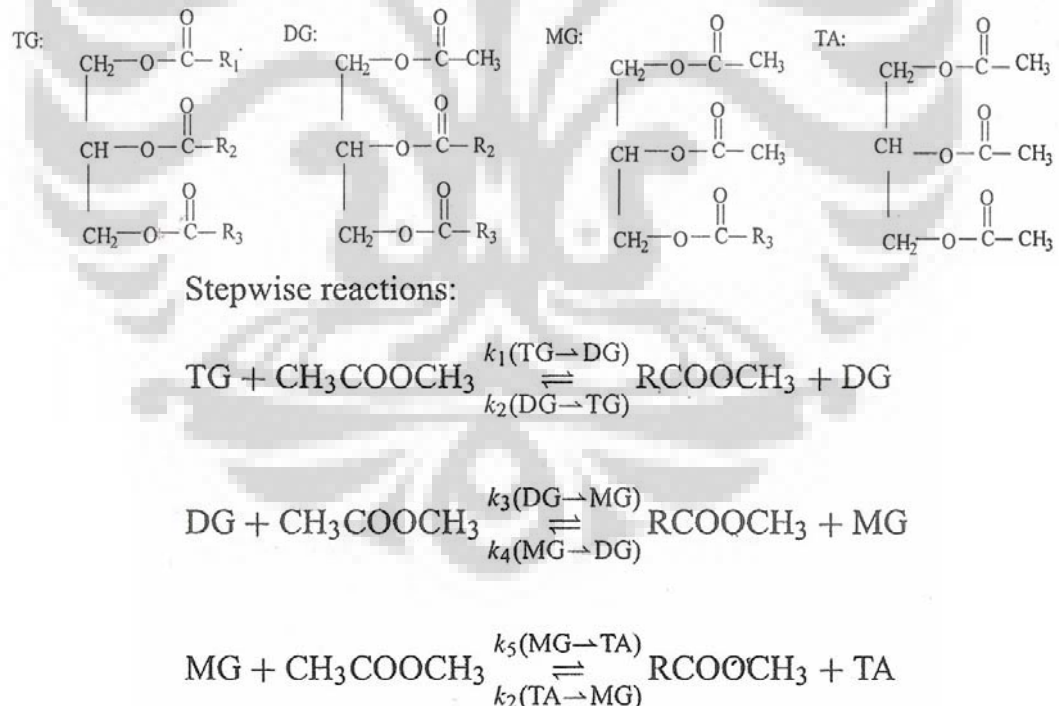
alkil asetat ini diharapkan mampu meningkatkan stabilitas enzim yang digunakan selama proses reaksi secara signifikan.



Gambar 2. 41 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. 42 Tahapan Reaksi interesterifikasi [24]

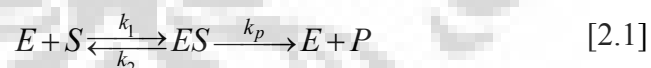
2.4.3. Kelebihan dan Kekurangan

Tabel 2. 10 Perbandingan Kelebihan dan Kekurangan Rute Non-Alkohol [26]

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. Mekanisme Michaelis-Menten

Reaksi enzimatik sintesis biodiesel diasumsikan mengikuti mekanisme Michaelis-Menten sebagai berikut:



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.

Kemudian dijabarkan 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 dijelaskan dalam rumus ini adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 V &= k_3 [ES] \\
 \text{laju penguraian } ES &= k_2 [ES] \\
 \text{laju penguraian } ES &= k_3 [ES] \\
 \text{laju penguraian } ES &= (k_2 + k_3) [ES] \\
 \text{sedang laju pembentukan } ES &= k_1 [E][S]
 \end{aligned}
 \tag{2.2}$$

Dalam keadaan kesetimbangan jumlah ES tetap, yang berarti 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.

$$\begin{aligned}
 k_1 [E][S] &= (k_2 + k_3) ES \\
 [ES] &= \frac{k_1 [E][S]}{(k_2 + k_3)} = \frac{[E][S]}{(k_2 + k_3)/k_1} \\
 \text{bila } K_M &= \frac{k_2 + k_3}{k_1} \\
 \text{maka } [ES] &= \frac{[E][S]}{K_M}
 \end{aligned}
 \tag{2.3}$$

K_M = Konstanta Michaelis Menten

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

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

$$\begin{aligned}
 \frac{d[ES]}{dt} &= k_1 [ET - ES][S] \\
 \text{dan } \frac{d[ES]}{dt} &= k_2 [ES] + k_3 [ES], \text{ sehingga} \\
 k_1 [ET - ES][S] &= k_2 [ES] + k_3 [ES] \\
 [ES](k_2 + k_3) &= k_1 [ET - ES][S] \\
 [ES] \frac{k_2 + k_3}{k_1} &= [ET][S] - [ES][S] \\
 [ES] \frac{k_2 + k_3}{k_1} + [ES][S] &= [ET][S] \\
 [ES] \left(\frac{k_2 + k_3}{k_1} + S \right) &= [ET][S] \\
 \text{di dapat } [ES] &= \frac{[ET][S]}{K_M + [S]} \\
 \text{di mana } v &= k_3 [ES] \\
 \text{sehingga } v &= \frac{k_3 [ET][S]}{K_M + [S]}
 \end{aligned}
 \tag{2.4}$$

$$v = \frac{k_3 [ET][S]}{K_M + [S]} \quad k_3 [ET] = v_{maks} \quad [2.5]$$

$$v = \frac{k_3 [ET][S]}{K_M + [S]} = \frac{v_{maks} [S]}{K_M + [S]}$$

2.6. 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.

2.6.1. 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 menggunakan substrat trigliserida dengan metil asetat sebagai pendonor alkil untuk memproduksi biodiesel [24].

Pada tahun 2005 dilakukan juga penelitian tentang reaksi transesterifikasi dari penggantian etanol yang dilakukan oleh *Sunil 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 [28].

Research group dari India oleh *Mukesh Kumar 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 [27].

2.6.2. Riset Rute Non Alkohol di Indonesia

Universitas Indonesia juga melakukan penelitian sintesis biodiesel melalui rute non alkohol seperti yang dilaporkan oleh *Heri Hermansyah et al*, melakukan pengembangan rute sintesis biodiesel non alkohol menggunakan biokatalis (*state of the art*). Topik ini diikuti sertakan dalam seminar nasional di Universitas Diponegoro Semarang. Pada laporannya *Heri Hermansyah et al* melakukan sintesa biodiesel dengan mengganti metanol yang biasa digunakan dalam sintesa biodiesel dengan metil asetat 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 [26].

Heri Hermansyah et al di dalam laporannya juga melakukan penelitian sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit melalui rute baru non-alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi. *Heri Hermansyah et al* 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 *Heri Hermansyah et al* 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 laporannya 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 [30].

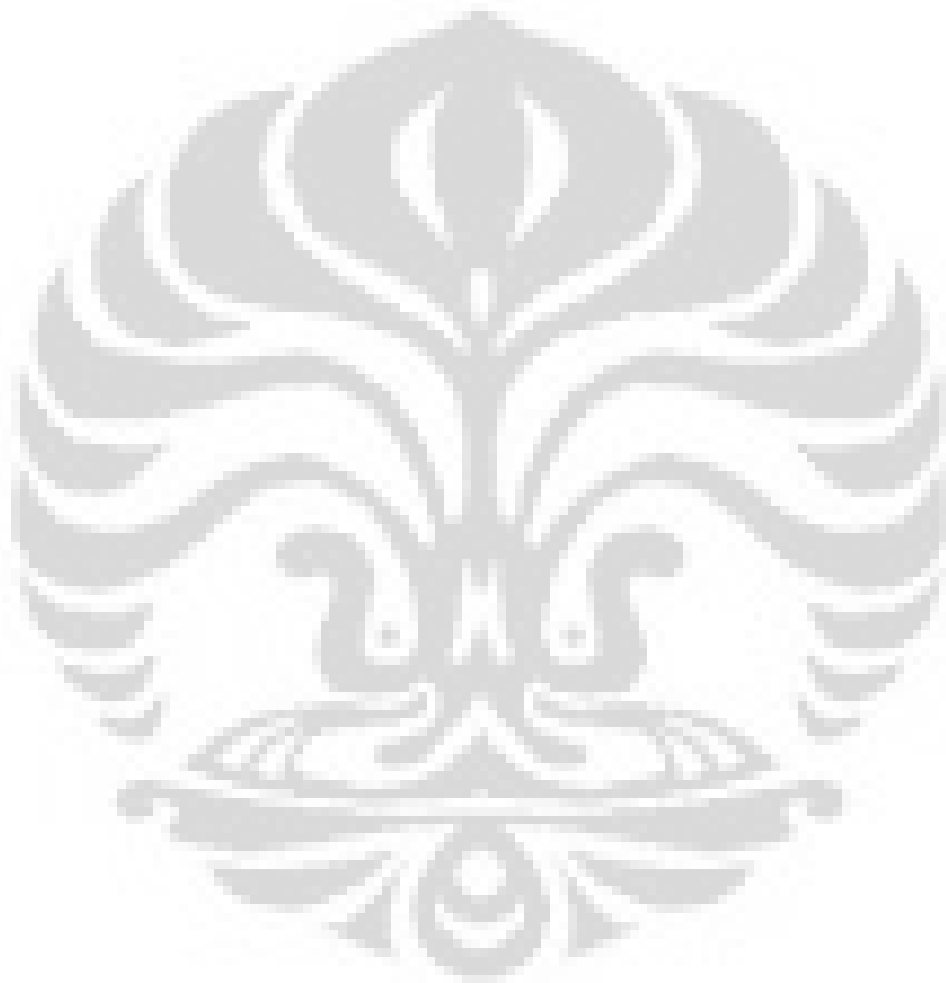
Sedangkan untuk penelitian *Heri Hermansyah et al* dengan topik sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan *Candida rugosa* lipase yang diimmobilisasi melalui metode adsorpsi telah diikut sertakan pada seminar nasional yang diselenggarakan di Institut Teknologi Bandung (ITB), pada laporannya 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 [29].

Dalam penelitian ini dilakukan sintesis biodiesel dengan menggunakan rute non-alkohol. Penelitian ini merujuk pada penelitian sebelumnya yang sudah dilakukan oleh *Heri Hermansyah et al* 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, Sunil S. Bhagwat et al, 2005,* dan *Mukesh Kumar Modi et al, 2007.* Dan untuk di Indonesia penelitian sintesis biodiesel dengan menggunakan rute non-alkohol baru pertama kali dilakukan oleh *Heri Hermansyah et al* dengan menggunakan substrat minyak sawit. Dan untuk menyempurnakan penelitian tersebut pada penelitian ini menggunakan minyak jelantah sebagai substrat untuk memperoleh perbedaan % *yield* biodiesel antara minyak kelapa sawit yang baru dengan minyak kelapa sawit bekas. Dan untuk lebih menyempurnakan penelitian sintesis biodiesel menggunakan rute non-alkohol ini dilakukan pula beberapa metode untuk mengetahui % *yield* biodiesel yang dihasilkan. Metode tersebut antara lain dengan melakukan percobaan efek inhibisi dengan penambahan asam palmitat kemudian pula dilakukan juga variasi temperatur yaitu pada 25⁰C dan 50⁰C. Percobaan tersebut dilakukan karena belum ada satu penelitian pun yang melakukan hal tersebut. Dengan kata lain penelitian ini merupakan penelitian yang pertama kali untuk menggunakan rute non-alkohol dengan melakukan percobaan efek inhibisi dengan penambahan asam palmitat kemudian pula dilakukan juga variasi temperatur yaitu pada 25⁰C dan 50⁰C. Penelitian efek inhibisi asam palmitat terhadap substrat minyak jelantah dilakukan untuk dapat mengetahui seberapa pengaruh asam palmitat untuk dapat menghambat reaksi antara substrat minyak jelantah dengan metil asetat. Kemudian untuk variasi temperatur dilakukan karena pada percobaan ini menggunakan biokatalis *Candida rugosa* lipase *powder* yang *lifetimenya* berada pada suhu 30-40⁰C. Oleh karena itu dilakukan percobaan terhadap suhu yang berada di bawah dan di atas *lifetimenya*, 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.

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 *Risan Aji Surendro* yang melakukan sintesis biodiesel dengan metil asetat melalui rute non-alkohol menggunakan biokatalis *porcine pancreatic lipase*.



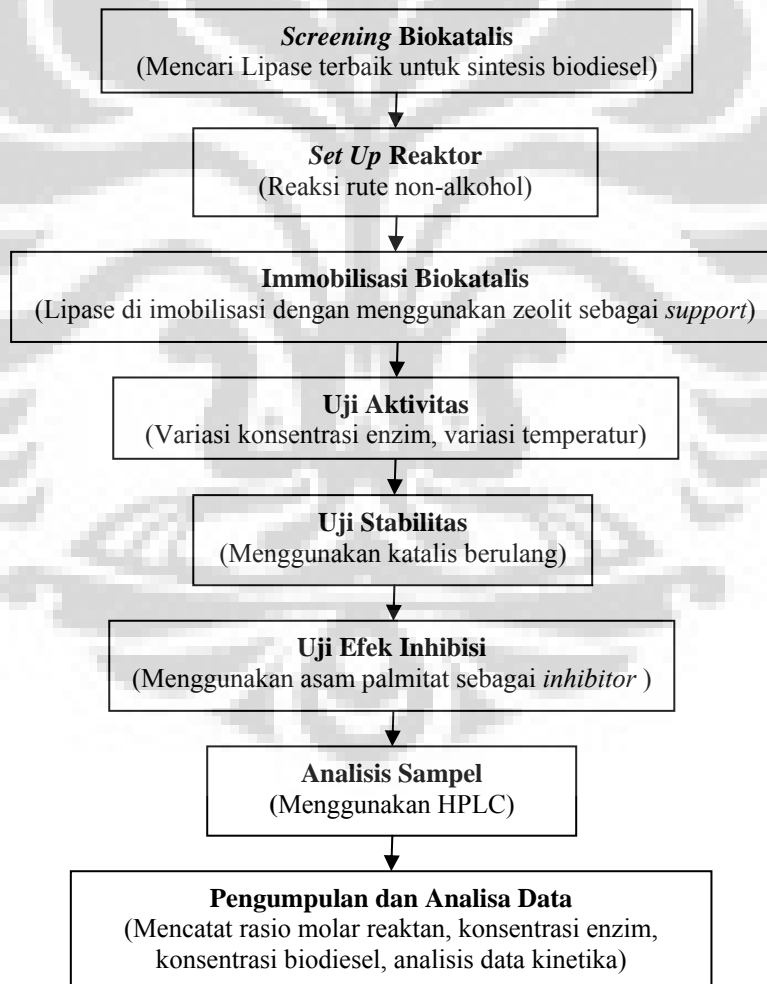
Tabel 2. 11 Summary Rute Non Alkohol

	<i>Du et al (2004)</i>	<i>Xu et al (2005)</i>	<i>Sunil et al (2005)</i>	<i>Mukesh Kumar et al (2006)</i>	<i>Heri Hermansyah et al (2008)</i>
Reaksi	Interesterifikasi	Interesterifikasi	Interesterifikasi	Interesterifikasi	Interesterifikasi
Biokatalis	Novozym 435	Persamaan kinetika/ <i>Kinetic Model</i>	<i>Porcine pancreatic lipase</i> 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 Reaktan	1:12	-	-	1: 11	1:12
Suhu reaksi	47 ⁰ C	40 ⁰ C	35 ⁰ C	50 ⁰ C	37 ⁰ 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, Japan

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

Dalam bab ini akan dibahas alur proses penelitian, peralatan dan bahan yang digunakan selama penelitian, variabel penelitian, dan prosedur penelitian. Sebagian besar penelitian dilakukan di Laboratorium Dasar Proses Kimia (DPK), Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. Untuk melakukan analisis sampel dengan menggunakan HPLC (*High Performace Liquid Chromatograph*) dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Teknologi (BPPT-Puspitek-Serpong).

3.1. Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat Percobaan

Peralatan yang digunakan pada percobaan ini adalah sebagai berikut :

- 1) Termometer digunakan untuk memastikan suhu pada reaksi yang sedang dilakukan. (Iwaki, Asahi Techno Glass, Japan)



Gambar 3. 2 Termometer

- 2) *Stop watch* digunakan sebagai pengukur waktu dalam pengambilan sampel. (Alba, China)



Gambar 3. 3 *Stop watch*

- 3) *Magnetic stirrer* sebagai alat pengaduk pada reaksi interesterifikasi-enzimatis. (Thermolyne, Medingen Sitz Freital, Germany)



Gambar 3. 4 *Magnetic stirrer*

- 4) *Waterbath* digunakan sebagai alat pemanas untuk memberikan sumber panas bagi reaksi yang terjadi didalam labu erlenmeyer dan didalamnya terdapat magnet yang dapat memutar *magnetic stirrer*. (Aquabath, Lade-line, USA)



Gambar 3. 5 *Waterbath*

- 5) Labu erlenmeyer 25 ml sebagai tempat reaksi. (Iwaki Glass, Underlic, Japan)



Gambar 3. 6 Labu Erlenmeyer 25 ml

- 6) *Syringe auto transfepette* digunakan untuk mengambil sampel berukuran mikron. (Transferpette, Brand, Germany)



Gambar 3. 7 *Syringe auto transfepette*

- 7) Botol plastik sebagai tempat menaruh sampel. (Plastic Screwcap, Iwaki Glass, Canada)



Gambar 3. 8 Botol plastik

- 8) *Beaker glass* sebagai tempat bahan penelitian. (Asahi Techno Glass, Iwaki, Japan)



Gambar 3. 9 *Beaker glass*

- 9) Gelas ukur untuk mengukur volume bahan yang dibutuhkan. (Asahi Techno Glass, Iwaki)



Gambar 3. 10 Gelas ukur

- 10) Cawan petri sebagai wadah menaruh bahan-bahan kimia. (Glass, Brand, Unknown made)



Gambar 3. 11 Cawan petri

- 11) Pompa air yang digunakan disini fungsinya untuk memompa air yang akan dialirkan kedalam wadah tempat menampung air hangat. (Yamano SP 1200, Shenzen, China)



Gambar 3. 12 Pompa air

- 12) Selang air digunakan untuk mengalirkan air yang akan melalui *condenser*. (Silicon, Unknown made)



Gambar 3. 13 Selang air *silicon*

13) HPLC yang digunakan sebagai alat untuk menganalisa sampel hasil sintesis biodiesel.

Tabel 3. 1 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



Gambar 3. 14 Unit HPLC yang digunakan untuk menganalisa Metil Ester

3.2.2. Bahan Percobaan

- 1) Enzim lipase *Candida Rugosa* lipase. (Sigma Aldrich Co. Ltd, Steinheim, Germany)



Gambar 3. 15 *Candida rugosa* lipase

- 2) Minyak jelantah hasil proses penggorengan ayam. (Bimoli, Indonesia)



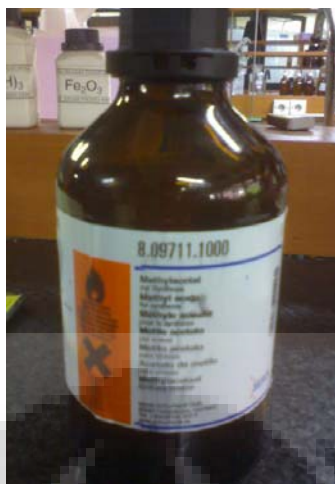
Gambar 3. 16 Minyak jelantah

- 3) Zeolit lampung yang akan digunakan sebagai material penyangga untuk mengimobilisasi biokatalis. (Unkown made)



Gambar 3. 17 Zeolit lampung

- 4) Metil asetat (Merck Schuchardt, Hohenbrunn, Germany)



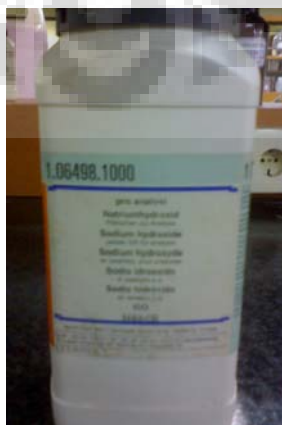
Gambar 3. 18 Asam asetat pro. analis

- 5) Asam palmitat (p.a) yang digunakan dalam proses inhibisi. (Merck Schuchardt, Hohenbrunn, Germany)



Gambar 3. 19 Asam palmitat

- 6) NaOH (Merck, Darmstadt, Germany)



Gambar 3. 20 NaOH padat

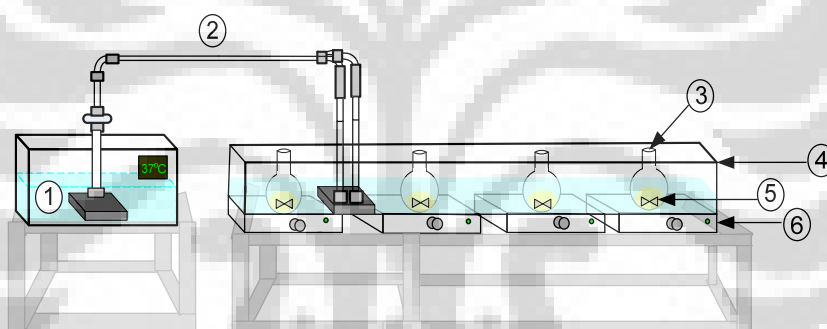
3.3. Prosedur Percobaan

3.3.1. *Screening* Biokatalis

Pada tahap *screening* biokatalis akan dikumpulkan literatur mengenai jenis-jenis lipase terbaik yang digunakan untuk sintesis biodiesel dengan menggunakan rute non-alkohol serta referensi mengenai kondisi operasi optimal untuk reaksi sintesis biodiesel dengan menggunakan 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

Pada tahap *set-up* reaktor dilakukan pengaturan alat-alat yang akan digunakan dalam percobaan sintesis biodiesel menggunakan rute non-alkohol.



Keterangan :

1. *Water bath*; 2. Rangkaian Pompa air;
3. Erlenmeyer 25 ml; 4. Wadah Air (*Tupper Ware*);
5. Bar stirer; 6. *Magnetic stirrer*

Gambar 3. 21 Skematik diagram reaktor *batch* interesterifikasi sintesis biodiesel secara enzimatik

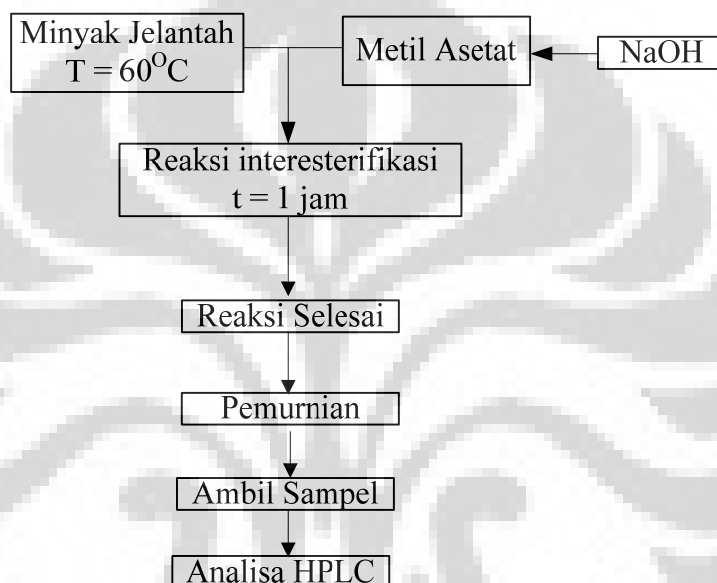
3.3.3. Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Katalis NaOH

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

kondisi operasi yang digunakan untuk reaksi rute non-alkohol menggunakan katalis NaOH.

Tabel 3. 2 Kondisi operasi sintesis biodiesel menggunakan katalis NaOH

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



Gambar 3. 22 Diagram alir reaksi interesterifikasi menggunakan katalis NaOH (substrat : minyak jelantah; T= 60⁰C; t = 1 jam)

Adapun prosedurnya adalah sebagai berikut :

1. Tahap persiapan bahan :

Mempersiapkan bahan-bahan yang diperlukan seperti NaOH, metil asetat, dan minyak jelantah sebagai substrat.

2. Tahap persiapan alat :

Mempersiapkan alat-alat yang dibutuhkan untuk penelitian seperti dua buah tabung erlenmeyer 25 ml sebagai tempat substrat, dan kaca arloji serta termometer untuk mencatat suhu, *magnetic stirrer*, *bar stirer*, *waterbath*, reaktor *batch*, dan *stopwatch*.

3. Tahap penelitian

Mengukur massa substrat minyak jelantah yang diperlukan untuk reaksi dengan perbandingan mol minyak jelantah : mol metil asetat = 1: 6

4. Mempersiapkan minyak jelantah ke dalam reaktor *batch*

- a. Memasukan minyak jelantah ke dalam tabung reaktor tumpak
- b. Menyalakan *stirer gigantor*
- c. Mengalirkan air pada kondenser
- d. Men-*setting* waterbath pada suhu 60°C, kemudian ukur suhunya menggunakan termometer
- e. Setelah suhu minyak sawit sudah mencapai 60°C

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 perbandingan mol yang digunakan, kemudian dituang ke dalam labu erlenmeyer 25 ml, lalu labu erlenmeyer ditutup dengan menggunakan sumbat kayu.

6. Mempersiapkan katalis NaOH

- a. Menghitung massa NaOH yang dibutuhkan secara stokiometrik. Asumsi massa NaOH yang dibutuhkan adalah 1% wt dari berat total minyak jelantah dan metil asetat.
- b. Massa NaOH yang dibutuhkan kemudian ditimbang dengan menggunakan timbangan *digital*.

7. Melarutkan NaOH ke dalam metil asetat

- a. Memasukan NaOH kedalam labu erlenmeyer dengan menggunakan corong.
- b. Melarutkan NaOH dengan metil asetat dengan menggunakan *magnetic stirer* dan tunggu hingga larut.

8. Memulai reaksi interesterifikasi

- a. Memasukan larutan NaOH dan metil asetat kedalam tabung reaktor *batch* yang telah berisi minyak jelantah pada suhu 60°C.
- b. Catat waktu reaksi dengan menggunakan *stopwatch*.
- c. Tunggu hingga 1 jam dan kemudian diambil sampelnya.

9. Tahap reaksi selesai

- Serelah reaksi selesai, waterbath dimatikan, refluks disiram dengan aquades, dan kemudian campuran metil ester dan triasetilgliserol dalam reaktor langsung didinginkan dalam air untuk menghentikan reaksi.
- Campuran metil ester dan triasetilgliserol (hasil reaksi) ini kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan dibiarkan semalaman pada suhu ruang untuk memisahkan metil ester dan triasetilgliserol.
- Ambil sampel dan analisis dengan menggunakan HPLC.

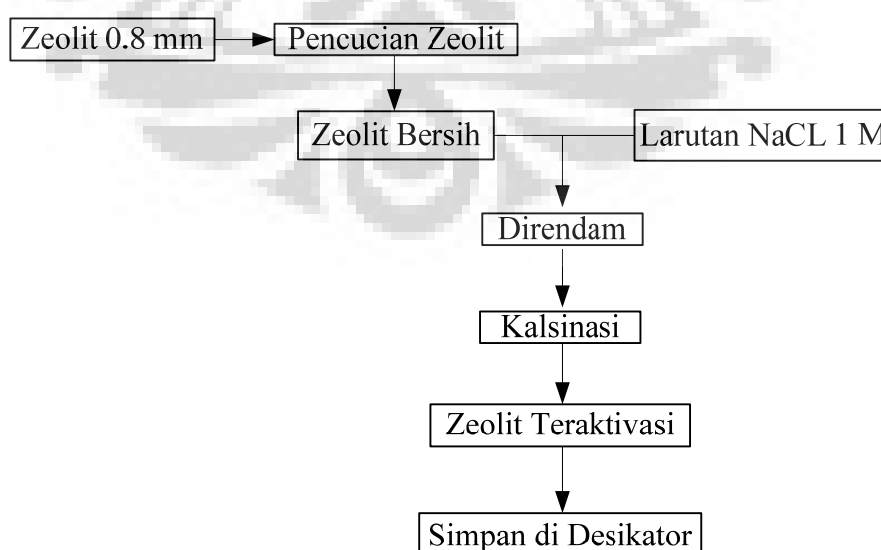
3.3.4. Percobaan Immobilisasi Enzim

Enzim *Candida rugosa* diimmobilisasi. Bagan alir prosedur untuk proses immobilisasi biokatalis bisa dilihat pada gambar 3.4.

a. Aktivasi Penyangga

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

Mengaktivasi zeolit dengan 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. 23 Diagram alir aktivasi penyangga

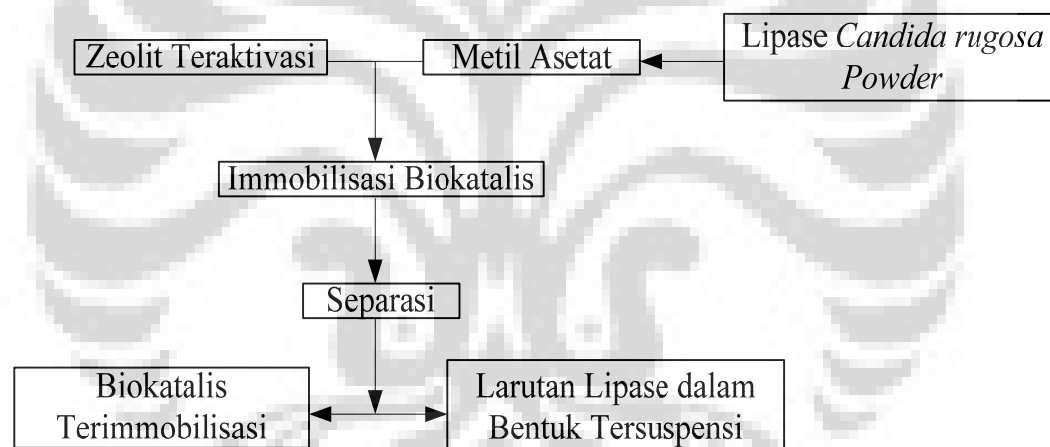
b. Preparasi Biokatalis

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

c. 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. 24 Bagan alir prosedur immobilisasi

Dari tahapan percobaan ini akan didapatkan biokatalis diimmobilisasi sehingga bisa digunakan berulang-ulang.

d. Separasi Larutan Lipase

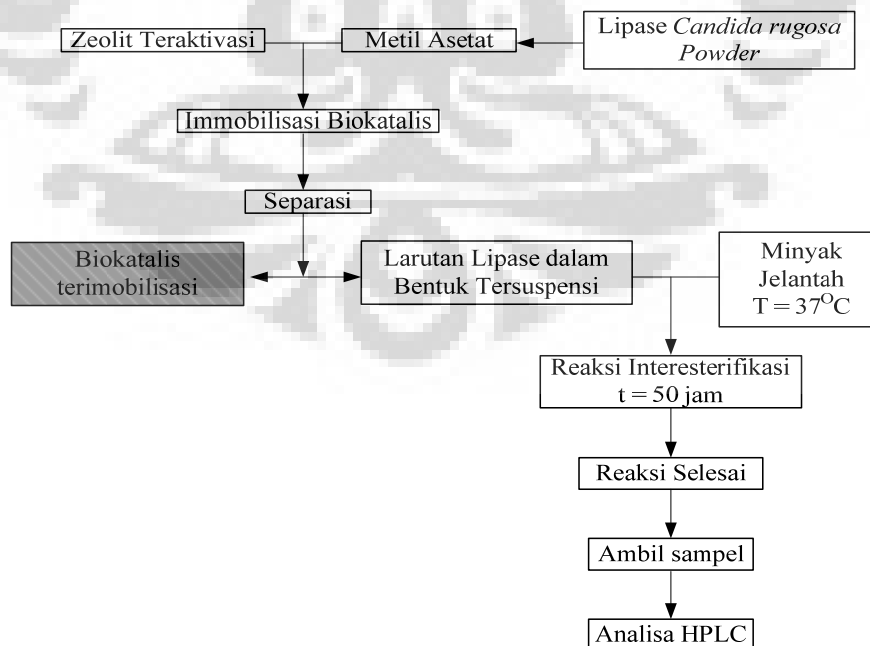
Separasi larutan lipase dilakukan menggunakan saringan jeruk atau *molekular sieve* dengan diameter lubang berukuran 0.8 mm. Larutan lipase yang lolos saring digunakan sebagai *free* lipase dan lipase yang tersaring digunakan sebagai lipase yang terimmobilisasi.

3.3.5. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi pada $T = 37^{\circ}\text{C}$

Reaksi akan dilangsungkan 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 jelantah didalam 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.

Tabel 3. 3 Kondisi operasi untuk lipase dalam bentuk tersuspensi

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	1, 2 dan 4 [%wt campuran reaktan]
Rasio mol Minyak jelantah : metil asetat	1:3 dan 1:12
Temperatur reaksi	50°C
Waktu reaksi	50 jam



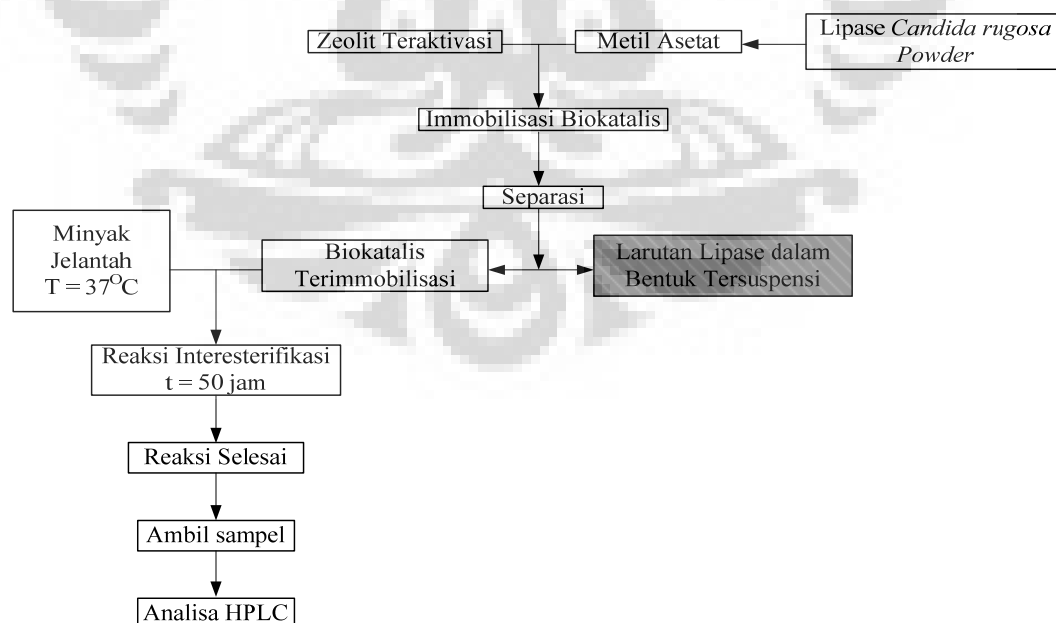
Gambar 3. 25 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi (substrat: minyak jelantah; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)

3.3.6. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi pada $T = 37^{\circ}\text{C}$

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. 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. 4 Kondisi operasi untuk reaksi lipase terimmobilisasi metode adsorpsi

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	1, 2 dan 4 [%wt campuran reaktan]
Rasio mol Minyak jelantah : metil asetat	1:3 dan 1:12
Temperatur reaksi	37°C
Waktu reaksi	50 jam



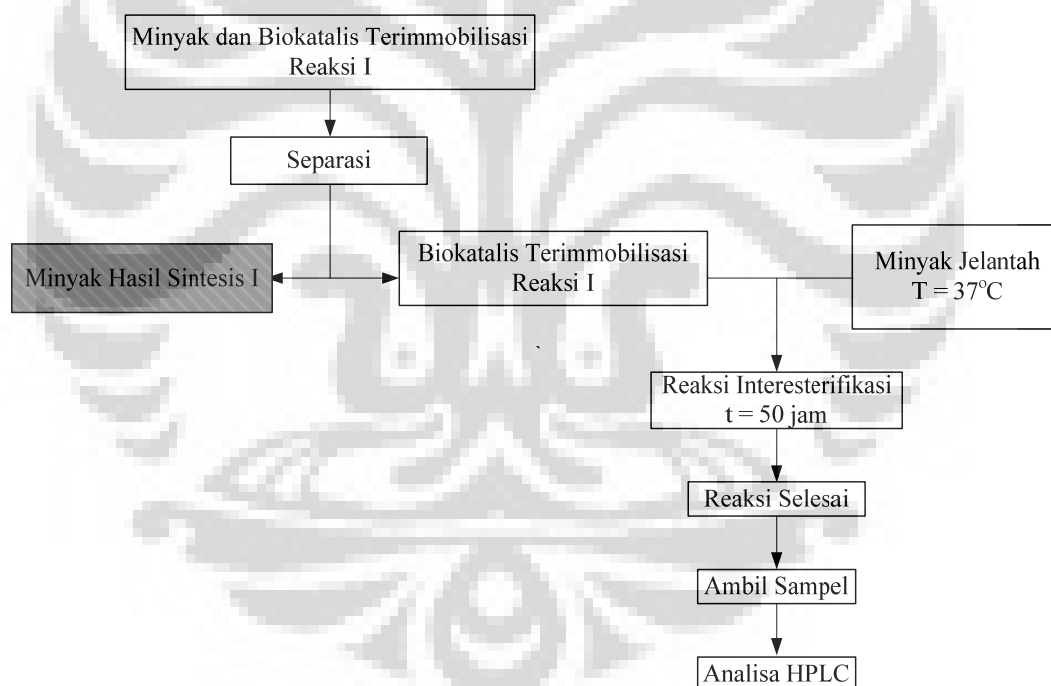
Gambar 3. 26 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat: minyak jelantah; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)

3.3.7. Percobaan Uji Stabilitas

Uji stabilitas dilakukan dengan menggunakan *Candida Rugosa* lipase. Reaksi dilangsungkan dalam reaktor *batch* yang berisi campuran minyak jelantah dan metil asetat menggunakan konsentrasi enzim 4% *wt* substrat, dengan perbandingan mol substrat minyak jelantah : metil asetat adalah 1:12. Uji stabilitas direaksikan pada suhu 37°C dan dilakukan secara berulang sebanyak 2 kali.

Tabel 3. 5 Kondisi reaksi untuk uji stabilitas

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	4 [%wt campuran reaktan]
Rasio mol Minyak jelantah : metil asetat	1:12
Temperatur reaksi	37°C
Waktu reaksi	50 jam



Gambar 3. 27 Diagram alir uji stabilitas lipase terimmobilisasi reaksi interesterifikasi biodiesel (substrat: minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37°C)

Sample minyak sebanyak 1µL dipisahkan dari larutan reaksi kemudian dianalisis dengan menggunakan HPLC untuk mengukur konsentrasi biodiesel yang terbentuk. Setelah reaksi selesai, biokatalis tersebut kemudian disaring dan dipisahkan dari larutannya kemudian dikeringkan di dalam oven. Reaksi kemudian diulangi sebanyak dua kali dengan prosedur yang sama menggunakan

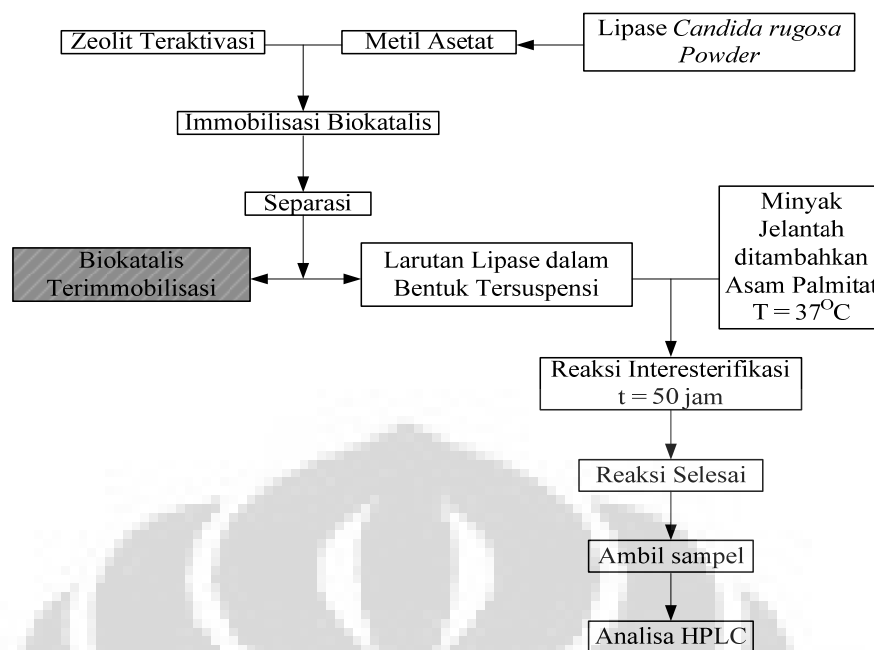
biokatalis bekas tersebut. *Yield* biodiesel kemudian dibandingkan untuk melihat bagaimana stabilitas biokatalis tersebut dalam melakukan sintesis biodiesel. Dari tahapan percobaan ini akan diketahui stabilitas biokatalis dalam melakukan sintesis biodiesel melalui rute non alkohol.

3.3.8. Percobaan Sintesis Biodiesel dengan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi dengan Penambahan Asam Palmitat sebagai *Inhibitor*

Reaksi akan dilangsungkan dalam reaktor *batch* (labu erlenmeyer 25 ml) yang berisi campuran minyak jelantah yang sudah ditambahkan asam palmitat sebagai inhibitor dan metil asetat, dengan perbandingan mol substrat minyak jelantah : metil asetat adalah 1:12. Percobaan uji aktivitas ini direaksikan pada suhu 50°C. Konsentrasi *free* enzim yang digunakan 4% wt dari substrat campuran minyak jelantah dan metil asetat. Sebelum reaksi dimulai, minyak jelantah didalam 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, 0.5, 2, 6, 12, 20, 50.

Tabel 3. 6 Kondisi operasi untuk lipase tersuspensi dengan penambahan *inhibitor*

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	4 [%wt campuran reaktan]
Rasio mol Minyak jelantah : metil asetat	1:12
Temperatur reaksi	37 ⁰ C
Waktu reaksi	50 jam



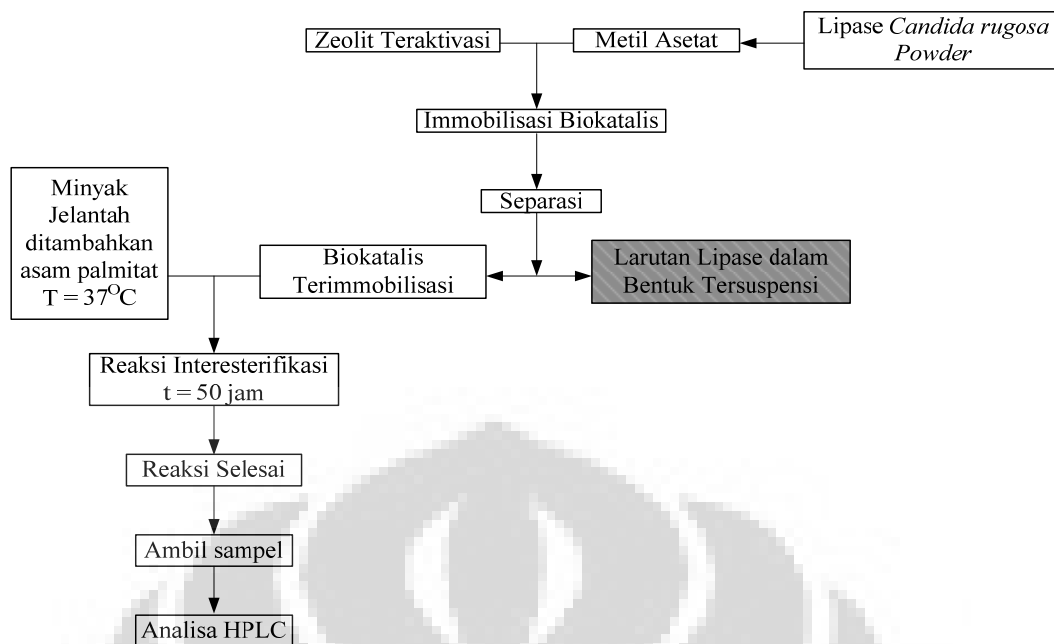
Gambar 3. 28 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi dengan penambahan asam palmitat sebagai inhibitor (substrat: minyak jelantah; $t = 50$ jam; $T = 50^{\circ}\text{C}$)

3.3.9. Percobaan Sintesis Biodiesel dengan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi dengan Penambahan Asam Palmitat sebagai *Inhibitor*

Reaksi akan dilangsungkan dalam reaktor *batch* (labu erlenmeyer 25 ml) yang berisi campuran minyak jelantah yang sudah ditambahkan asam palmitat untuk membuat efek inhibisi dan metil asetat, dengan perbandingan mol substrat minyak jelantah : metil asetat adalah 1:12. Percobaan uji aktivitas ini direaksikan pada suhu 37°C . Konsentrasi *free* enzim yang digunakan 4% wt dari substrat campuran minyak jelantah dan metil asetat. Sebelum reaksi dimulai, minyak jelantah didalam labu erlenmeyer direndam terlebih dulu dalam air hangat pada suhu 50°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, 0.5, 2, 6, 12, 20, 50.

Tabel 3. 7 Kondisi operasi untuk lipase terimmobilisasi dengan penambahan *inhibitor*

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	4 [%wt campuran reaktan]
Rasio mol Minyak jelantah : metil asetat	1:12
Temperatur reaksi	37°C
Waktu reaksi	50 jam



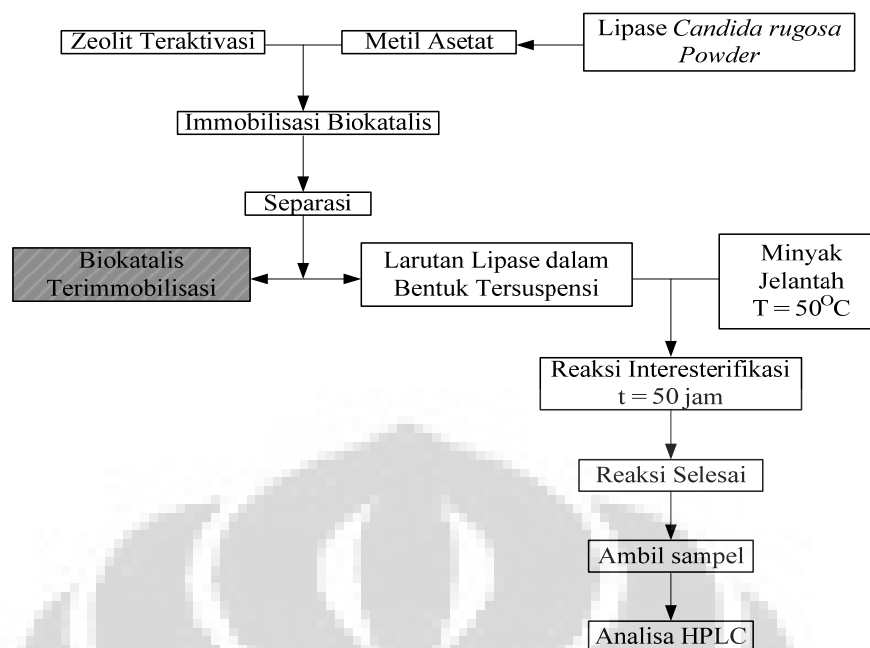
Gambar 3. 29 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi dengan penambahan asam palmitat sebagai *inhibitor* (substrat: minyak jelantah; $t = 50$ jam; $T = 50^{\circ}\text{C}$)

3.3.10. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi pada $T = 50^{\circ}\text{C}$

Reaksi akan dilangsungkan dalam reaktor *batch* (labu erlenmeyer 25 ml) yang berisi campuran minyak jelantah dan metil asetat, dengan perbandingan mol substrat minyak jelantah : metil asetat adalah 1:12. Percobaan uji aktivitas ini direaksikan pada suhu 50°C . Konsentrasi *free* enzim yang digunakan 4% wt dari substrat campuran minyak jelantah dan metil asetat. Sebelum reaksi dimulai, minyak jelantah didalam labu erlenmeyer direndam terlebih dulu dalam air hangat pada suhu 50°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, 0.5, 2, 6, 12, 20, 50.

Tabel 3. 8 Kondisi operasi untuk lipase dalam bentuk tersuspensi pada $T = 50^{\circ}\text{C}$

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	4 [%wt campuran reaktan]
Rasio mol Minyak jelantah : metil asetat	1:12
Temperatur reaksi	50°C
Waktu reaksi	50 jam



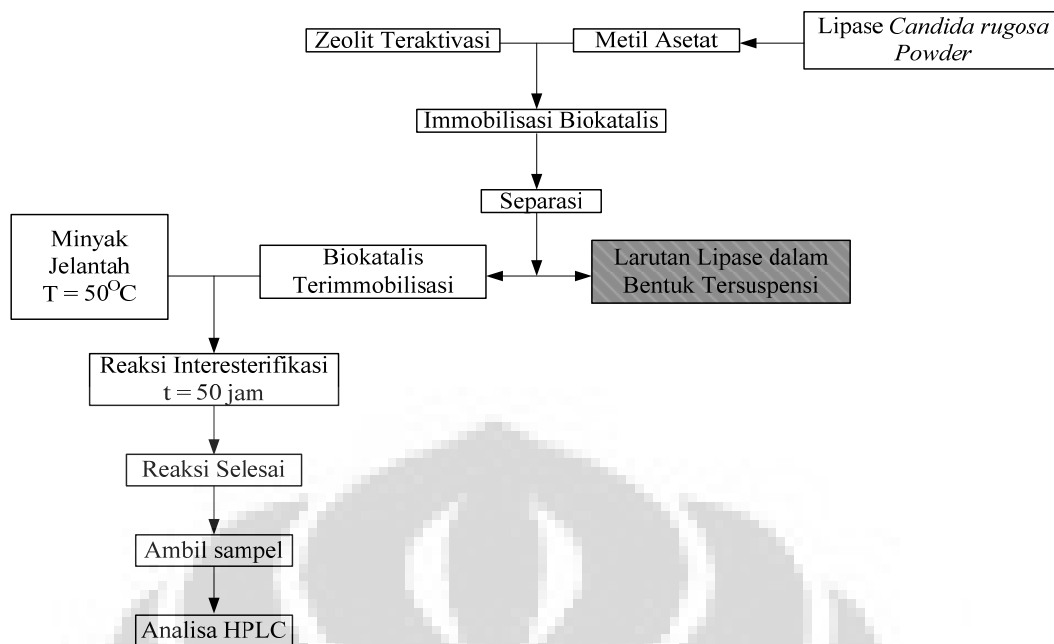
Gambar 3. 30 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi (substrat: minyak jelantah; $t = 50$ jam; $T = 50^{\circ}\text{C}$)

3.3.11. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi pada $T = 50^{\circ}\text{C}$

Reaksi akan dilangsungkan dalam reaktor *batch* (labu erlenmeyer 25 ml) yang berisi campuran minyak jelantah dan metil asetat, dengan perbandingan mol substrat minyak jelantah : metil asetat adalah 1:12. Percobaan uji aktivitas ini direaksikan pada suhu 50°C . Konsentrasi *free* enzim yang digunakan 4% wt dari substrat campuran minyak jelantah dan metil asetat. Sebelum reaksi dimulai, minyak jelantah didalam labu erlenmeyer direndam terlebih dulu dalam air hangat pada suhu 50°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, 0.5, 2, 6, 12, 20, 50.

Tabel 3. 9 Kondisi operasi untuk lipase terimmobilisasi pada $T = 50^{\circ}\text{C}$

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	4 [%wt campuran reaktan]
Rasio mol Minyak jelantah : metil asetat	1:12
Temperatur reaksi	50°C
Waktu reaksi	50 jam



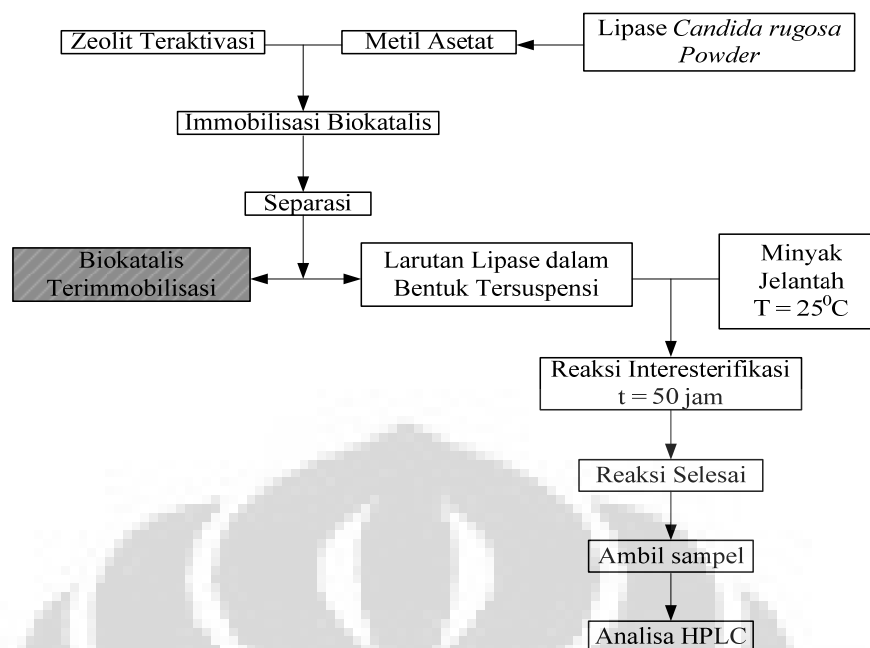
Gambar 3. 31 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat: minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37°C)

3.3.12. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi pada T= 25°C

Reaksi akan dilangsungkan dalam reaktor *batch* (labu erlenmeyer 25 ml) yang berisi campuran minyak jelantah dan metil asetat, dengan perbandingan mol substrat minyak jelantah : metil asetat adalah 1:12. Percobaan uji aktivitas ini direaksikan pada suhu 25°C. Konsentrasi *free* enzim yang digunakan 4% wt dari substrat campuran minyak jelantah dan metil asetat. Sebelum reaksi dimulai, minyak jelantah didalam labu erlenmeyer direndam terlebih dulu dalam air hangat pada suhu 25°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, 0.5, 2, 6, 12, 20, 50.

Tabel 3. 10 Kondisi operasi untuk lipase dalam bentuk tersuspensi pada T=25°C

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	4 [%wt campuran reaktan]
Rasio mol Minyak jelantah : metil asetat	1:12
Temperatur reaksi	25°C
Waktu reaksi	50 jam



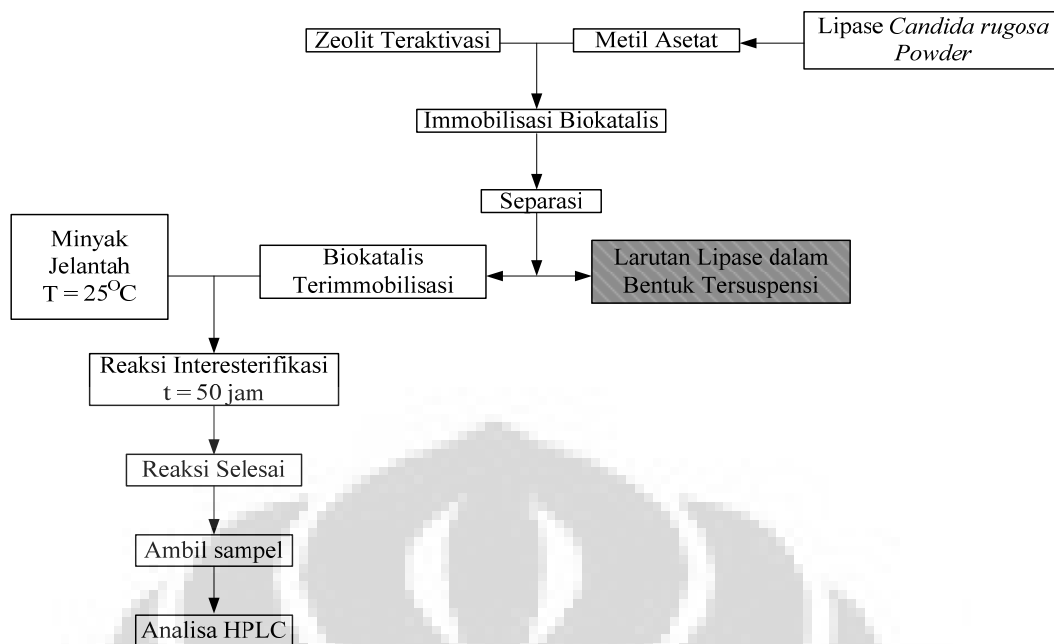
Gambar 3. 32 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi (substrat: minyak jelantah; $t = 50$ jam; $T = 25^{\circ}\text{C}$)

3.3.13. Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi pada $T = 25^{\circ}\text{C}$

Reaksi akan dilangsungkan dalam reaktor *batch* (labu erlenmeyer 25 ml) yang berisi campuran minyak jelantah dan metil asetat, dengan perbandingan mol substrat minyak jelantah : metil asetat adalah 1:12. Percobaan uji aktivitas ini direaksikan pada suhu 25°C . Konsentrasi *free* enzim yang digunakan 4% wt dari substrat campuran minyak jelantah dan metil asetat. Sebelum reaksi dimulai, minyak jelantah didalam labu erlenmeyer direndam terlebih dulu dalam air hangat pada suhu 25°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, 0.5, 2, 6, 12, 20, 50.

Tabel 3. 11 Kondisi operasi untuk lipase terimmobilisasi pada $T = 25^{\circ}\text{C}$

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	4 [%wt campuran reaktan]
Rasio mol Minyak jelantah : metil asetat	1:12
Temperatur reaksi	25°C
Waktu reaksi	50 jam



Gambar 3. 33 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat: minyak jelantah; $t = 50$ jam; $T = 25^{\circ}\text{C}$)

3.3.14. Teknik 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. Data-data yang diperoleh dengan menggunakan HPLC kemudian dilakukan pengolahan data dengan menggunakan rumus-rumus seperti di bawah ini :

Tabel 3. 12 Data standar HPLC untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol

Standar	Rute non Alkohol			
	Zat	Luas Area	Konsentrasi mg/l	Konsentrasi mol/l
T		836486	186.9500	0.183216057
D		534017	127.5875	0.17964504
M		1829086	62.6875	0.156148807
F		4085094	546.6250	1.600846366

Keterangan :

T (Trioleat) , D (Diolate) , M (Mono-oleat), F (*Fatty Acid Metyl Ester*)

$$\text{Konsentrasi (Trioleat)} = \frac{\text{Konsentrasi mg/L (Trioleat)}}{\text{Mr Trioleat}}$$

$$\text{Konsentrasi (Diolate)} = \frac{\text{Konsentrasi mg/L (Diolate)}}{\text{Mr Diolate}}$$

$$\text{Konsentrasi (Mono-oleat)} = \frac{\text{Konsentrasi mg/L (Mono-oleat)}}{\text{Mr Mono-oleat}}$$

$$\text{Konsentrasi (Fatty Acid Metyl Ester)} = \frac{\text{Konsentrasi mg/L (Fatty Acid Metyl Ester)}}{\text{Mr Trioleat (Fatty Acid Metyl Ester)}}$$

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:

$$\text{Konsentrasi sampel (mol/L)} = \frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Luas area standar}} \times \text{konsentrasi standar (mol/L)}$$

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

$$\% \text{ mol balance} = \frac{3 \times C_{T,t=t} + 2 \times C_{D,t=t} + C_{M,t=t} + C_{B,t=t}}{3 \times C_{T,t=0} + 2 \times C_{D,t=0} + C_{M,t=0} + C_{B,t=0}} \times 100\% \quad (3.1)$$

Dari persamaan 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 trioleat dan % yield untuk masing-masing komponen dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$\% \text{ konversi Trioleat} = \frac{C_{T,t=0} - C_{T,t=t}}{C_{T,t=0}} \times 100\% \quad (3.2)$$

$$\% \text{ yield diolate} = \frac{C_{D,t=t} \times 2}{(C_{T,t=0}) \times 3} \times 100\% \quad (3.3)$$

$$\% \text{ yield mono-oleat} = \frac{C_{M,t=t}}{(C_{T,t=0})} \times 100\% \quad (3.4)$$

$$\% \text{ yield Biodiesel} = \frac{C_{B,t=t}}{C_{T,t=0}} \times 100\% \quad (3.5)$$

3.3.15. Pemodelan Reaksi Enzimatik

Dalam setiap reaksi yang berlangsung terhadap pembentukan produk, reaksi tersebut akan membentuk mekanisme reaksinya tersendiri yang dapat dirumuskan atau dimodelkan menggunakan persamaan parametrik tertentu. Adanya pengaruh jumlah substrat dan katalis yang digunakan terhadap pembentukan produk dalam rentang waktu tertentu membuat setiap reaksi dapat dianalisa menggunakan pemodelan sederhana secara aljabar. Oleh karena itu, untuk mengetahui sifat dan perilaku dari reaksi sintesa biodiesel berkatalis enzim, maka dalam penelitian ini dilengkapi dengan pemodelan sederhananya menggunakan mekanisme reaksi Michaelis-Menten.

Reaksi enzimatik sintesis biodiesel diasumsikan mengikuti mekanisme Michaelis-Menten sebagai berikut:



Notasi E dan S adalah enzim dan substrat, P merupakan produk, dan notasi ES merupakan enzim-substrat kompleks.

Dalam hubungan dengan penelitian ini, karena substrat yang digunakan adalah trigliserida, maka notasi S diganti oleh notasi T yang artinya trigliserida. Produk yang terbentuk adalah biodiesel, maka notasi P diganti oleh notasi B yang artinya biodiesel. Sehingga reaksinya ditulis ulang sebagai berikut:



Keterangan : E = Enzim; T = Trigliserida; ET = enzim-substrat kompleks. dan B = Biodiesel.

Dengan menambahkan asumsi Pseudo-steady state, diperoleh persamaan laju produksi biodiesel sebagai berikut:

$$\frac{d[B]}{dt} = \frac{V_{\max} [T]}{[T] + k_m} \quad [3.8]$$

dimana k_m disebut sebagai konstanta Michaelis-Menten dan V_{\max} merupakan konstanta laju maksimal.

Nilai k_m dan V_{\max} diestimasi melalui metode linierisasi seperti berikut:

$$\frac{1}{\frac{d[B]}{dt}} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{k_m}{V_{\max}} \left(\frac{1}{[T]} \right) \quad [3.9]$$

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

$$y = a + b x$$

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:

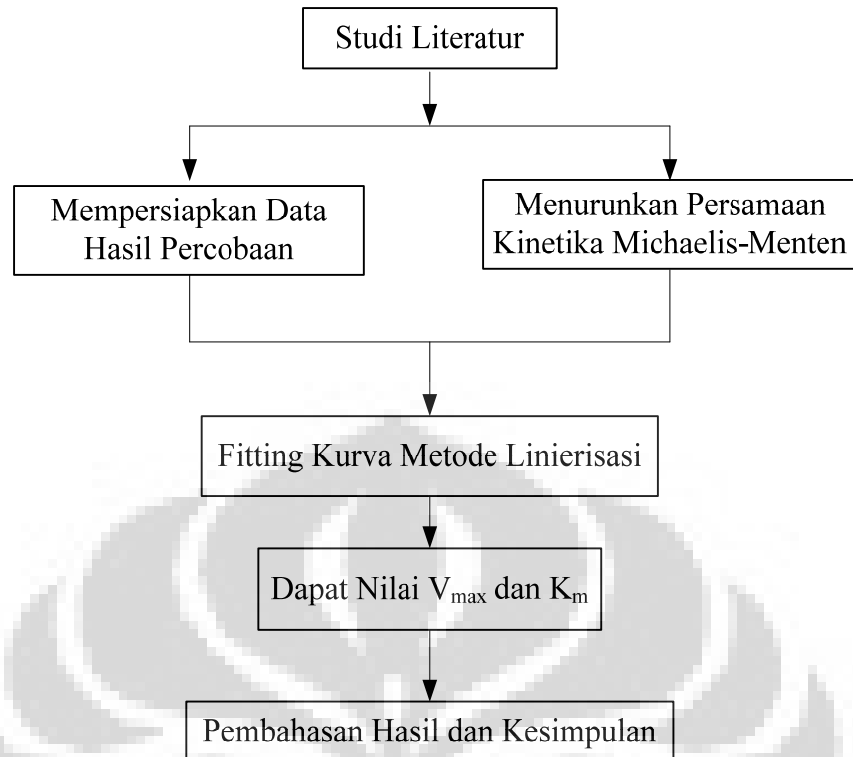
$$a = \frac{1}{V_{\max}}$$

Pada penelitian ini terdapat 4 pekerjaan utama yang harus dilakukan, yaitu:

1. Mempersiapkan data hasil interesterifikasi sintesis biodiesel selama penelitian.
2. Melakukan penurunan rumus secara aljabar dari persamaan reaksi enzimatik Michaelis-Menten.
3. Melakukan *fitting* kurva dengan metode linierisasi.

Pada proses *fitting* kurva, dilakukan penyesuaian antara data – data hasil percobaan dengan model reaksi Michaelis-Menten menggunakan metode linierisasi yang telah diturunkan persamaannya. Tujuannya adalah untuk mencari nilai V_{\max} dan K_m yang belum diketahui pada persamaan model reaksi.

4. Pembahasan hasil penelitian dan pembuatan kesimpulan.

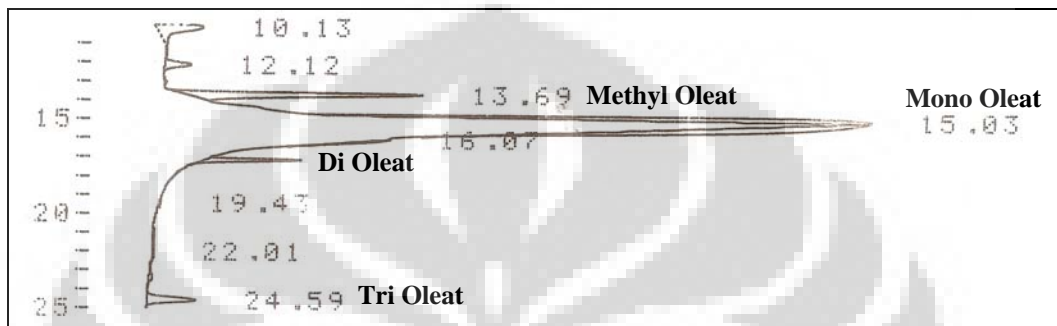


Gambar 3. 34 Diagram alir pemodelan Michaelis-Menten

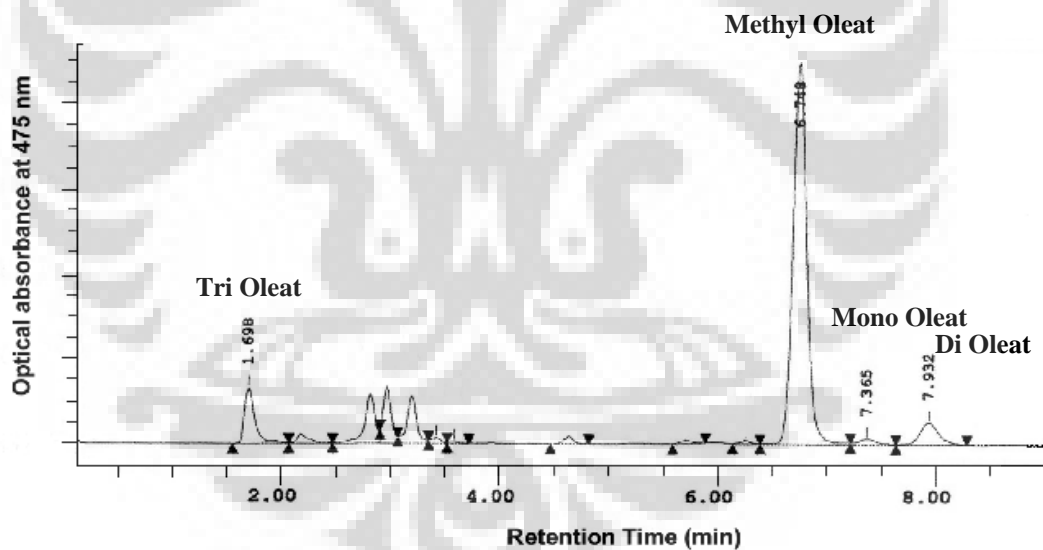
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui *yield* biodiesel yang dihasilkan melalui rute baru non-alkohol menggunakan variasi konsentrasi biokatalis, waktu, temperatur, substrat, dan pengaruh inhibisi asam palmitat.

4.1. Hasil HPLC



Gambar 4. 1 Kurva standar HPLC



Gambar 4. 2 Profil HPLC untuk sintesis biodiesel menggunakan rute non-alkohol

Dari gambar 4.1 dan 4.2 dapat terlihat profil kurva standar HPLC dan profil HPLC untuk sintesis biodiesel menggunakan rute non-alkohol. Pada gambar 4.1 tersebut menjelaskan tentang data standar HPLC yang digunakan sebagai pembandingan terhadap data percobaan yang dihasilkan. Dari gambar tersebut terlihat bahwa komponen yang terdapat di dalam sampel biodiesel tersebut antara lain trioleat, dioleat, monooleat dan methyl oleat. Pada gambar 4.2 tersebut menjelaskan tentang data hasil percobaan sintesis biodiesel menggunakan rute

non alcohol. Dari gambar tersebut terlihat bahwa konversi biodiesel (methyl oleat) yang dihasilkan sangat tinggi sekitar 94 %, yang berarti trigliserida terkonversi secara sempurna menjadi biodiesel.

4.2. Hasil Sintesis Biodiesel Menggunakan Katalis NaOH

Kelapa sawit merupakan sumber *fine chemicals* yang dapat dihilirkan ke berbagai bentuk bahan komoditas. Di samping itu, sumber bahan karbohidrat seperti ubi kayu dapat diubah menjadi sorbitol dan glukosa yang dapat diesterifikasi dan diinteresterifikasi dengan asam lemak untuk digunakan sebagai bahan surfaktan yang luas penggunaannya pada industri pangan, farmasi, kosmetika maupun bahan bakar.

Minyak kelapa sawit dan inti sawit segera terinteresterifikasi oleh metanol/NaOH pada suhu kamar dengan pengadukan kuat selama 30 menit untuk menghasilkan *fatty acid methyl ester* (FAME, 98%) serta gliserol yang terpisah dalam dua fase. Bahan pewarna karotenoid yang terlarut bersama FAME dapat dipisahkan dengan cara penyabunan yang diikuti ekstraksi. FAME dapat digunakan sebagai bahan bakar diesel dan bahan dasar oleokimia atau melalui interesterifikasi dengan turunan karbohidrat untuk membentuk surfaktan.



Gambar 4.3 Substrat minyak jelantah saat sebelum reaksi ($t = 0$ menit)

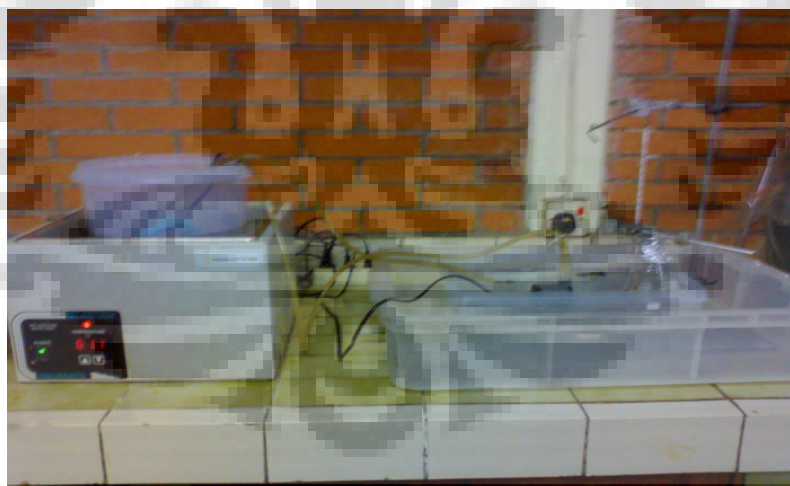
Reaksi interesterifikasi terhadap minyak nabati lebih efisien serta efektif dilakukan dengan alkohol/NaOH (30 menit, suhu kamar) dibandingkan dengan alkohol/ H_2SO_4 , biarpun dengan bantuan pelarut aromatik toluena (2 jam, refluks). Pemisahan FAME campuran jauh lebih efektif dibandingkan dengan pemisahan asam lemak bebas campuran ke dalam bentuk fraksi tunggalnya masing-masing. Pemisahan karotenoid tidak menimbulkan emulsi apabila dilakukan melalui

interesterifikasi, asalkan pemisahan baru dilakukan setelah FAME yang mengandung karotenoid disabunkan lalu dipisahkan secara ekstraksi pelarut organik.

Dalam percobaan ini reaksi intersesterifikasi dilakukan dengan menggunakan katalis NaOH. Tujuan dari percobaan ini adalah untuk mengetahui konsentrasi biodiesel (mol/L) yang dihasilkan dari reaksi antara substrat minyak nabati dengan metil asetat yang nantinya akan digunakan sebagai pembanding terhadap konsentrasi biodiesel (mol/L) yang dihasilkan dengan menggunakan biokatalis.

Reaksi sintesis biodiesel ini dilakukan menggunakan substrat yang berasal dari minyak nabati yaitu minyak jelantah sebagai sumber trigliserida. Reaksi ini dilakukan melalui rute non-alkohol dengan menggunakan katalis NaOH.

Rute non-alkohol merupakan reaksi untuk membentuk *fatty acid methyl ester* (FAME) dari minyak jelantah dengan menggunakan ester berantai pendek (metil asetat) sebagai penuplai gugus alkilnya. Pada reaksi interesterifikasi ini alkohol diganti dengan alkil asetat dan diharapkan mampu meningkatkan stabilitas kerja katalis yang digunakan selama proses reaksi secara signifikan.



Gambar 4. 4 Reaktor batch untuk sintesis biodiesel menggunakan katalis NaOH

Pada penelitian ini percobaan yang dilakukan hanya menggunakan satu jenis substrat. Substrat yang dipakai sebagai sumber trigliserida adalah minyak jelantah.

Variabel kondisi operasi yang digunakan didasari oleh kondisi optimum untuk menghasilkan konversi metil ester yang terbesar. Freedman *et al.*,

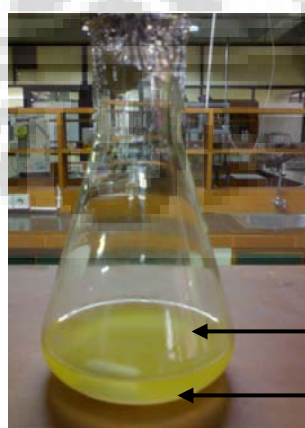
melaporkan bahwa dengan kondisi operasi tersebut konversi metil ester yang dihasilkan bisa mencapai 93-98%.

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. 5 Proses sintesis biodiesel menggunakan katalis NaOH

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



Metil ester

Triasetilgliserol

Gambar 4. 6 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 didasar reaktor. Setelah dipisahkan dari triasetilgliserol, metil ester yang terbentuk langsung dicuci dengan air hangat secara perlahan-lahan menggunakan botol 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.

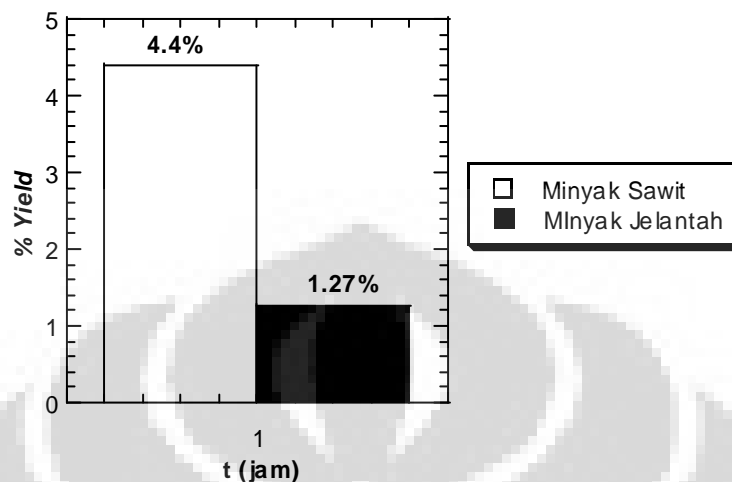


Metil Ester
dari Minyak jelantah

Gambar 4. 7 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. 8 Konsentrasi Biodiesel yang terbentuk menggunakan katalis NaOH (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:6, t = 1 jam; T= 60⁰C)

Dilihat dari gambar 4.8 terlihat bahwa konsentrasi biodiesel yang terbentuk dari rute non alkohol dengan katalis basa cukup kecil. Hal ini disebabkan oleh sifat metil asetat yang kurang polar sehingga NaOH sukar larut dalam metil asetat. Sulit larutnya NaOH dalam metil asetat menyebabkan kemampuan NaOH sebagai katalis untuk reaksi sintesis biodiesel tidak bisa dilakukan. Sukar larutnya NaOH dalam metil asetat disebabkan oleh sifat kelarutan NaOH yang sangat rendah dalam metil asetat. Penjelasan ini bisa dikarenakan oleh NaOH lebih sulit melepaskan atom H dari gugus karboksil metil asetat. Dalam reaksi tranesterifikasi rute alkohol menggunakan katalis basa, ikatan antara R-OH (methanol), dimana atom H terikat pada O, katalis basa seperti NaOH lebih mudah mengambil atom H dari O. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan elektonegatifan antara O dan H yang lebih besar sehingga lepasnya H pada atom O lebih mudah daripada hilangnya atom O pada gugus karboksilnya.

Dari gambar 4.8 konsentrasi biodiesel yang diperoleh dengan rute non alkohol dengan substrat minyak jelantah, yaitu sebesar 0.065 mol/L sebelum di konversi ke dalam % *yield*. Nilai ini sedikit lebih rendah dari pada konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit hasil penelitian yang dilakukan oleh *Septian*

Marno sebelumnya, yaitu sebesar 0.24 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.



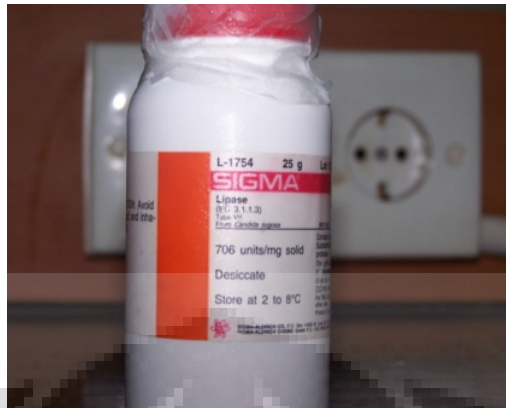
Gambar 4. 9 NaOH yang sulit larut dalam metil asetat

4.3. Hasil Sintesis Biodiesel Menggunakan *Candida rugosa* lipase

Pada percobaan kali ini dilakukan pengujian terhadap kemampuan aktivitas lipase yang akan digunakan sebagai biokatalis dalam mensintesis biodiesel (*fatty acid methyl ester*). Penggunaan lipase sebagai biokatalis disebabkan oleh kemampuan lipase yang sangat efektif dalam memecah minyak dan lemak, selain itu lipase juga dapat digunakan sebagai biokatalis yang sangat aktif untuk meningkatkan laju reaksi dan jumlah *yield* produk dalam proses reaksi transesterifikasi, alkoholis, dan esterifikasi serta interesterifikasi.

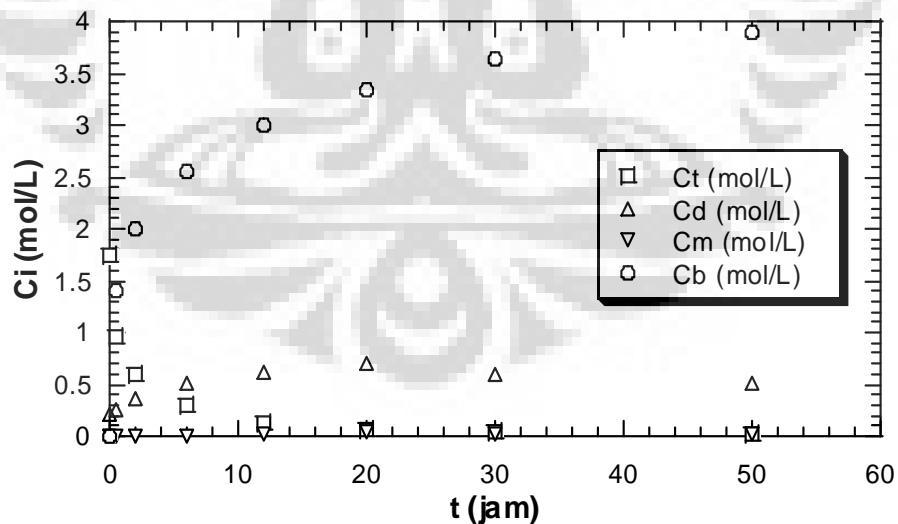
Tipe lipase yang digunakan dalam percobaan ini adalah *Candida rugosa* powder. Penggunaan lipase jenis *Candida rugosa* powder didasari oleh laporan Linko *et al.* yang telah berhasil untuk memproduksi *biodegradable* ester dan polyester dengan menggunakan enzim *Candida rugosa* lipase dalam bentuk powder sebagai biokatalis. Dalam reaksi transesterifikasinya menggunakan minyak kedelai (*soy bean*) konversi yang dihasilkan dengan menggunakan *Candida rugosa* lipase mencapai 97%. Dalam percobaan kali ini reaksi yang dilakukan berlangsung melalui rute non-alkohol, yaitu minyak jelantah sebagai

substrat akan direaksikan dengan metil asetat sebagai pensuplai gugus alkil dalam reaksi interesterifikasi.

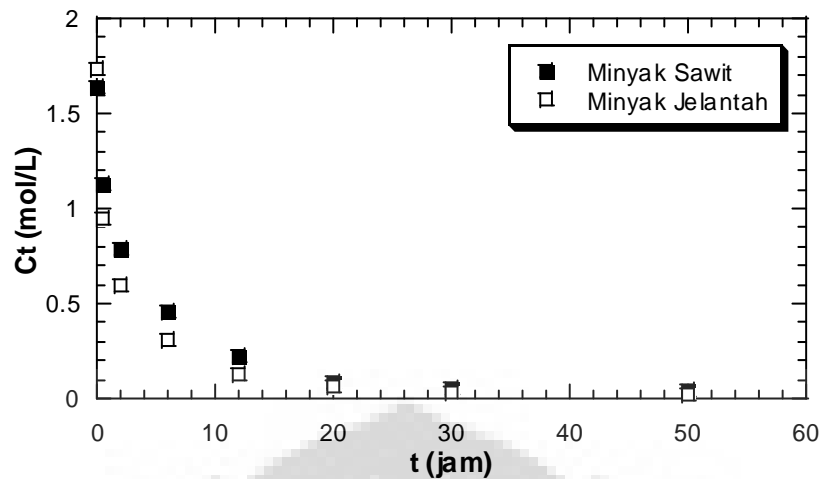


Gambar 4. 10 Enzim *Candida rugosa* lipase dalam bentuk *powder* yang digunakan untuk mensintesis biodiesel dalam bentuk tersuspensi

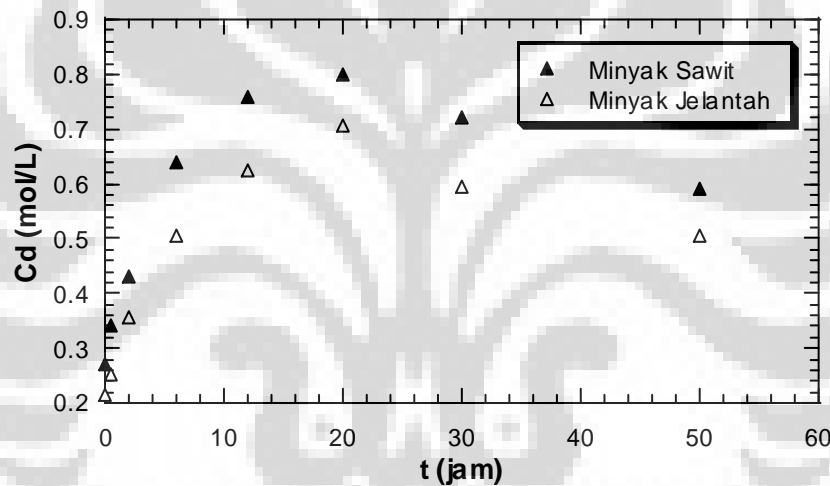
Untuk mengetahui laju reaksi pembentukan produk terhadap waktu, maka dalam penelitian ini dilakukan variasi waktunya, banyaknya jumlah konsentrasi biodiesel yang terbentuk dalam waktu tertentu juga dapat menunjukkan kinerja optimal dari enzim sebagai biokatalis. Hasilnya ditunjukkan oleh kurva dibawah ini:



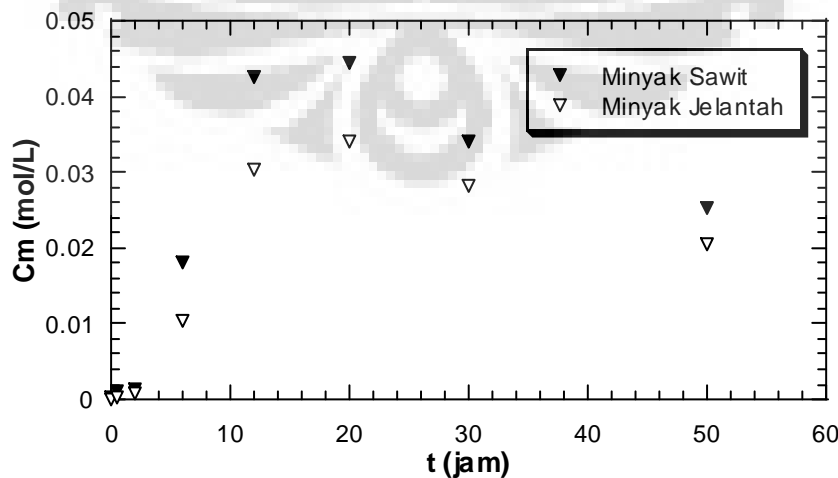
Gambar 4. 11 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam reaksi sintesis biodiesel dengan substrat minyak jelantah menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



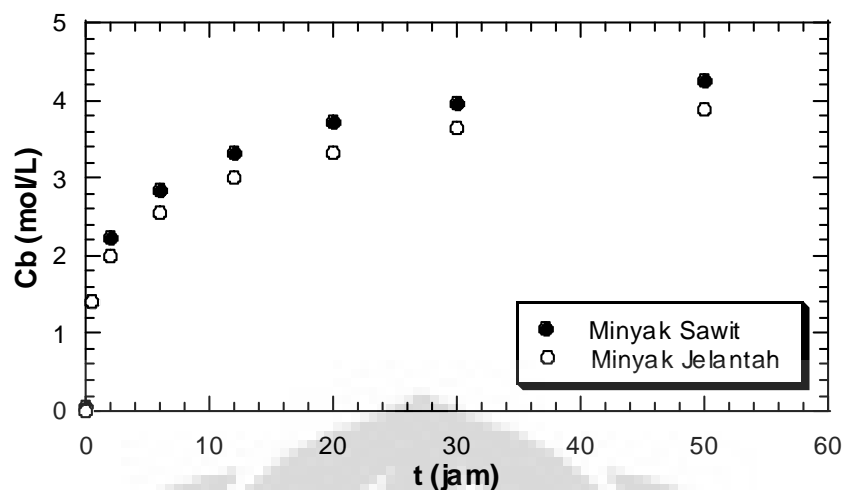
Gambar 4.12 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



Gambar 4.13 Laju reaksi dioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



Gambar 4.14 Laju reaksi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



Gambar 4.15 Laju reaksi metil oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)

Dari kurva laju reaksi tri oleat yang dihasilkan, dapat terlihat bahwa konsentrasi dari trioleat (mol/L) akan semakin mengalami penurunan seiring meningkatnya waktu reaksi. Penurunan konsentrasi trioleat 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.

Dari gambar 4.15 terlihat bahwa konsentrasi biodiesel yang terbentuk paling besar terjadi pada saat $t = 50$ jam, yaitu mencapai 3.88 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-kurva hasil percobaan sintesis biodiesel dengan menggunakan rutenon alkohol yang terbentuk diatas hampir seluruhnya mengikuti bentuk kurva *linier sigmoid* seperti pada umumnya mekanisme reaksi enzimatik yang pernah dilakukan. Peningkatan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan pada saat $t = 50$ jam masih terlihat berbeda dengan saat $t = 30$ jam. Terdapat peningkatan yang cukup signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa kemampuan enzim untuk mengikat substrat minyak jelantah 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.

Hasil penelitian ini jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh *Septian Marno* pada tahun 2008 yang sama-sama menggunakan enzim *Candida rugosa* lipase dalam bentuk *free* (tersuspensi), maka penelitian ini mempunyai nilai konversi untuk membentuk metil oleat yang lebih rendah yaitu sebesar 74.68%. Dalam penelitian *Septian Marno* yang mereaksikan minyak sawit (*palm oil*) dengan metil asetat menggunakan *free* enzim *Candida rugosa* lipase menghasilkan konversi metil oleat sekitar 86.55 %.

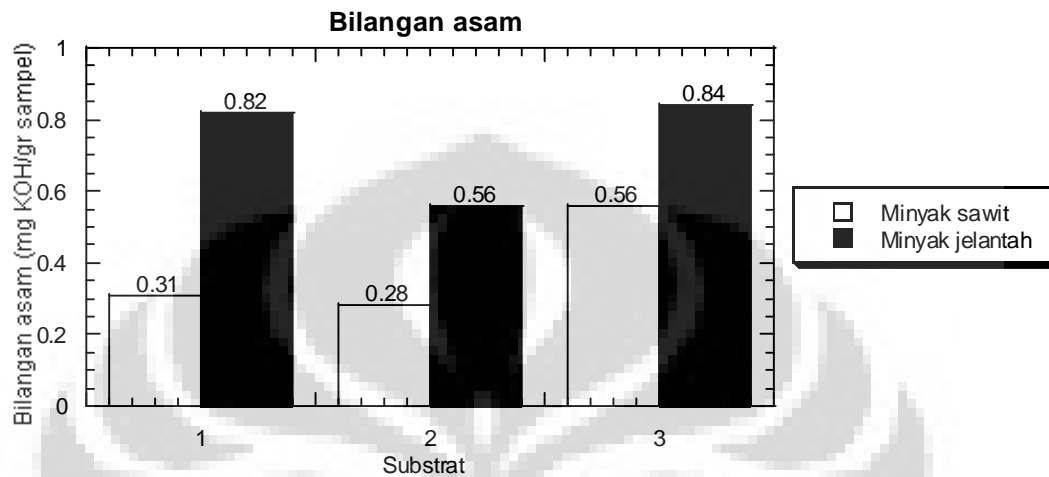


Gambar 4. 16 Tahap reaksi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis *Candida rugosa* lipase

Hasil tersebut tidak terlalu jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan saat ini terhadap penelitian yang dilakukan oleh *Septian Marno*, hal ini dikarenakan perbedaannya hanya terdapat pada substratnya saja. Untuk penelitian kali ini digunakan substrat minyak jelantah sedangkan pada penelitian *Septian Marno* menggunakan substrat minyak sawit. Konversi yang dihasilkan dari minyak sawit lebih besar dari pada konversi yang dihasilkan dari substrat minyak jelantah, karena pada minyak jelantah bilangan asam atau angka asamnya lebih tinggi jika dibandingkan dengan minyak kelapa sawit. Hal ini dapat dipahami karena minyak jelantah telah mengalami proses penggunaan yang berulang-ulang sehingga memiliki asam lemak bebas yang lebih tinggi dan telah mengalami pengotoran/banyak terdapat *impurities*.

Universitas Indonesia

Besarnya bilangan asam menunjukkan kandungan *Free Fatty Acid* (FFA) di dalam minyak. Keberadaan FFA ini tidak diinginkan karena dapat menghidrolisis minyak. Kurva dibawah ini merupakan hasil penelitian yang dilakukan oleh *Septhian Marno* untuk mengetahui perbedaan bilangan asam antara minyak kelapa sawit baru dengan minyak jelantah.



Gambar 4. 17 Bilangan asam minyak kelapa sawit dan minyak jelantah

Keterangan :

No	Zat
1	Minyak Sawit atau minyak jelantah sebelum reaksi
2	Biodiesel yang terbentuk melalui sintesis rute alkohol
3	Reaksi antara minyak sawit atau minyak jelantah dengan metil asetat menggunakan katalis NaOH berlangsung pada suhu 60°C selama 1 jam

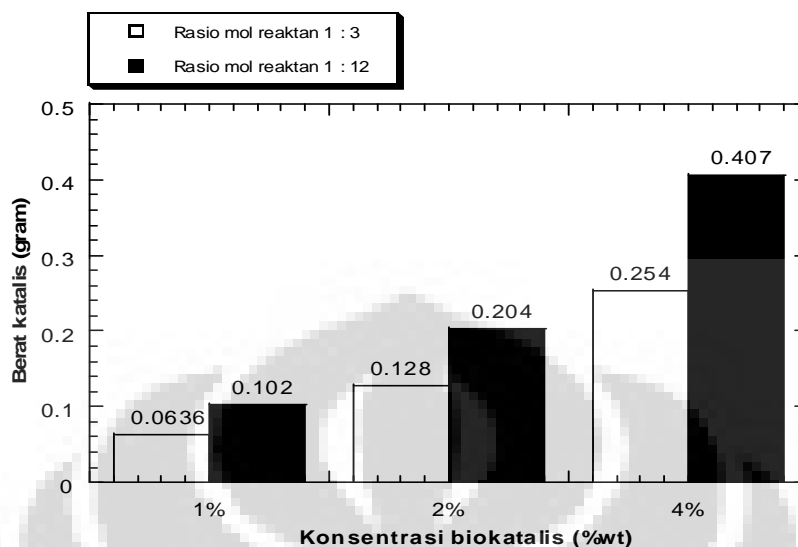
Dari kurva diatas dapat terlihat bahwa biodiesel yang terbentuk dari percobaan dengan menggunakan substrat minyak jelantah harus mengalami proses *treatment* lanjutan terlebih dahulu untuk menetralkan asam lemak bebas (*free fatty acid*) untuk mendapatkan konversi yang lebih besar.



Gambar 4. 18 Persiapan pembuatan larutan lipase

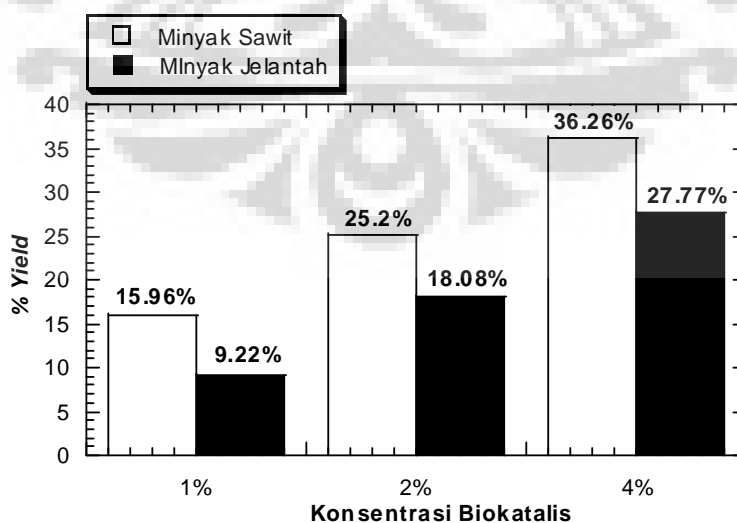
4.4. Pengaruh Konsentrasi Enzim

4.4.1. *Candida rugosa* Lipase dalam Bentuk Tersuspensi

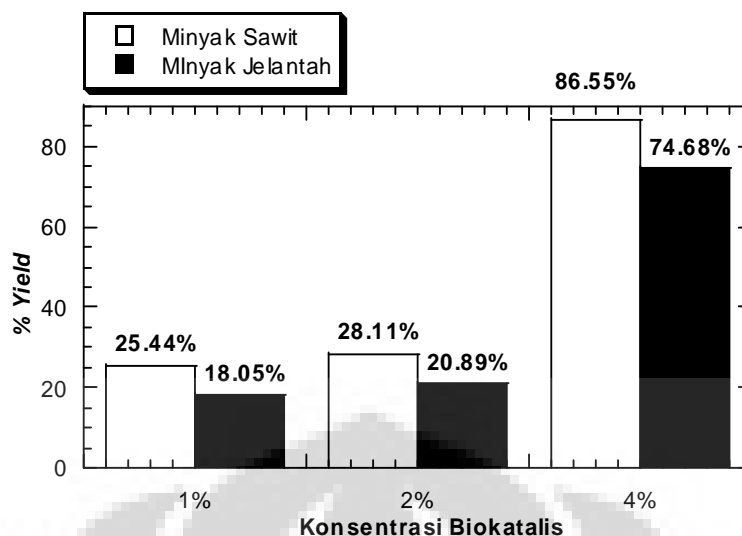


Gambar 4. 19 Berat biokatalis yang digunakan untuk sintesis biodiesel menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3 dan 1:12, t = 50 jam, T= 37⁰C)

Dari kurva diatas dapat terlihat bahwa dengan semakin meningkatnya konsentrasi biokatalis yang digunakan maka akan meningkatkan jumlah dari berat biokatalis yang digunakan untuk percobaan sintesis biodiesel dengan menggunakan enzim *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi. Berat biokatalis yang digunakan untuk percobaan ini diperoleh dari besarnya persentase konsentrasi biokatalis terhadap rasio mol reaktan.



Gambar 4. 20 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1 : 3 menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3, t = 50 jam; T= 37⁰C)

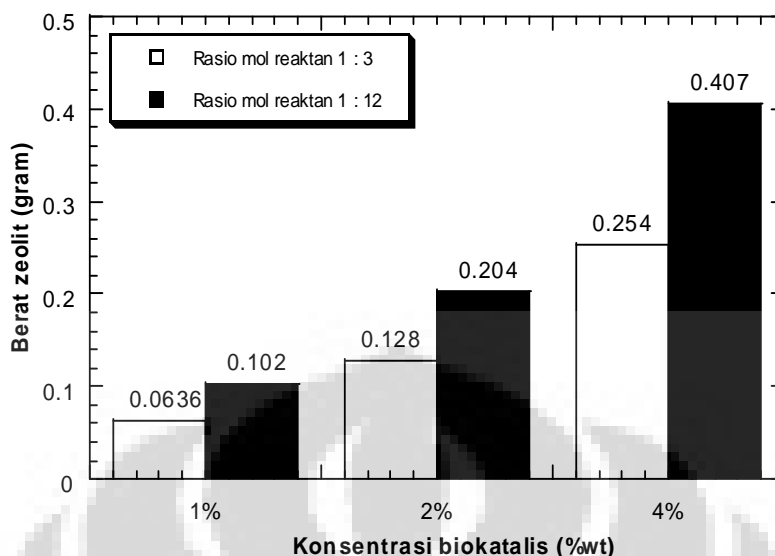


Gambar 4. 21 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1 : 12 menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C)

Dari kurva perbandingan konsentrasi biokatalis (%wt) dengan konsentrasi biodiesel (mol/L) diatas terlihat bahwa dengan semakin besarnya konsentrasi biokatalis yang digunakan maka produk biodiesel yang dihasilkan akan semakin besar. Hasil ini sesuai terhadap prinsip dalam mekanisme reaksi enzimatik pada umumnya dimana jumlah konsentrasi biokatalis (enzim) selalu berbanding lurus terhadap produk yang dihasilkan. Dari kurva tersebut juga terlihat bahwa dengan penggunaan jumlah konsentrasi enzim yang semakin lebih besar maka produk yang dihasilkan juga akan semakin besar sehingga % yield yang dihasilkan juga menjadi semakin besar seperti terlihat pada gambar di atas yang menunjukkan bahwa dengan konsentrasi biokatalis sebesar 4% wt maka dihasilkan % yield yang terbesar yaitu sebesar 74.68%.

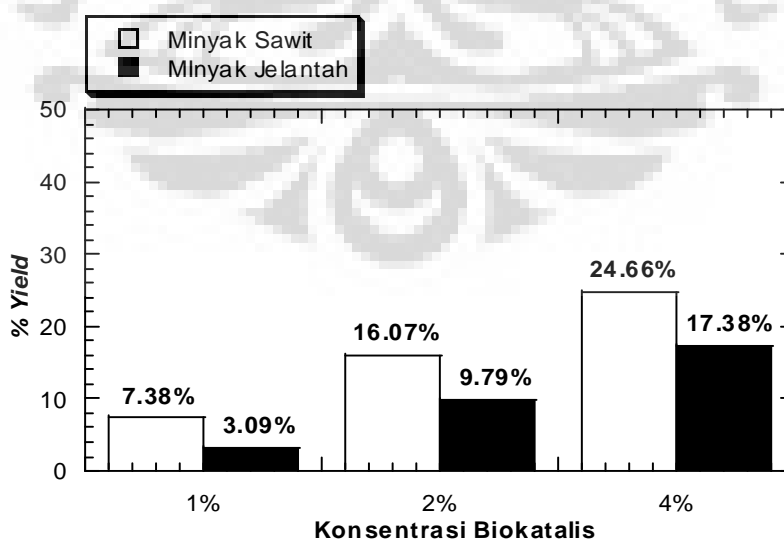
Sisi aktif suatu enzim dapat digunakan berulang kali oleh banyak substrat. Substrat yang berikatan dengan sisi aktif enzim akan membentuk produk. Pelepasan produk menyebabkan sisi aktif enzim bebas untuk berikatan dengan substrat yang lainnya. Oleh karenanya hanya dibutuhkan sejumlah kecil enzim untuk mengkatalis sejumlah besar substrat.

4.4.2. Lipase Terimobilisasi dengan Metode Adsorpsi

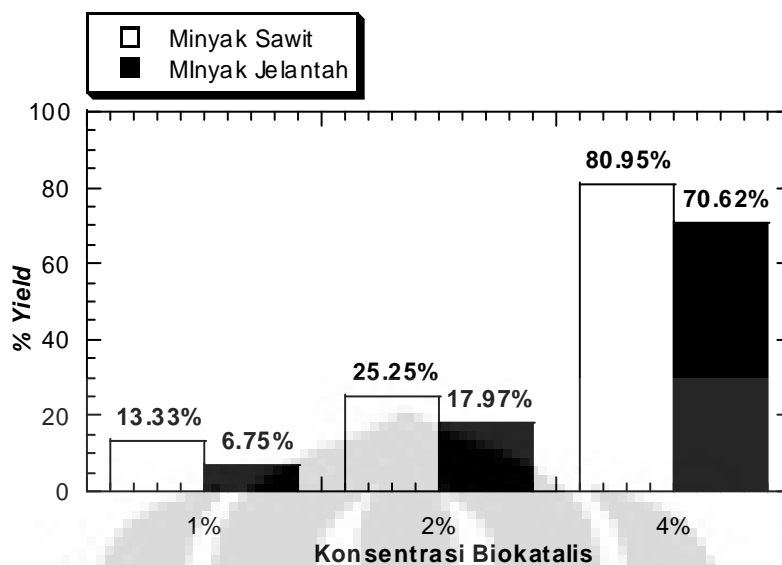


Gambar 4. 22 Berat zeolit yang digunakan untuk sintesis biodiesel menggunakan *Candida rugosa* lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3 dan 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)

Dari kurva diatas dapat terlihat bahwa dengan semakin meningkatnya konsentrasi biokatalis yang digunakan maka akan meningkatkan jumlah dari berat zeolit yang akan digunakan untuk percobaan sintesis biodiesel dengan menggunakan enzim *Candida rugosa* lipase terimobilisasi dengan metode adsorpsi. Berat zeolit yang digunakan untuk percobaan ini diperoleh dari besarnya persentase konsentrasi biokatalis terhadap rasio mol reaktan.



Gambar 4. 23 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1 : 3 menggunakan *Candida rugosa* lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3, t = 50 jam; T= 37⁰C)

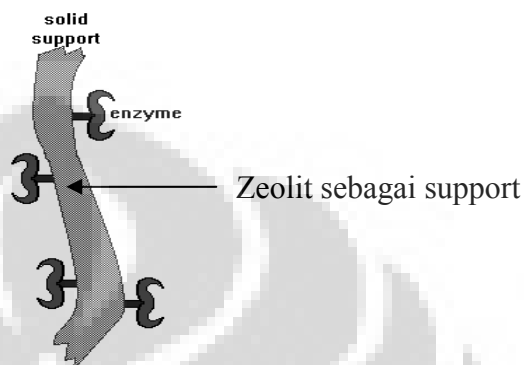


Gambar 4. 24 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1 : 12 menggunakan *Candida rugosa* lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)

Dari gambar 4.23 dan 4.24 diatas dapat terlihat bahwa konsentrasi biodiesel yang terbentuk dari hasil sintesis menggunakan rute non-alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi mempunyai kecenderungan yang terus meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi biokatalis yang digunakan pada percobaan. Hal tersebut disebabkan oleh laju reaksi enzimatik tergantung pada konsentrasi enzim yang berfungsi sebagai katalisator di dalam reaksi sintesis biodiesel tersebut. Dengan kata lain konsentrasi enzim yang digunakan akan mempengaruhi laju pembentukan produk. Dari kurva diatas akan terlihat adanya pengaruh penambahan konsentrasi biokatalis terhadap meningkatnya produk biodiesel yang dihasilkan. Hal ini dapat ditunjukkan dengan % *yield* terbesar yang terbentuk, yaitu 70.62 % atau sama dengan konsentrasi biodiesel yang terbentuk sebesar 3.67 mol/L.

Pengaruh penambahan biokatalis dapat menyebabkan laju reaksi dari pembentukan produk akan menjadi semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi enzim yang digunakan. Dari percobaan yang dilakukan kali ini terlihat bahwa peningkatan konsentrasi enzim secara umum berhasil meningkatkan konsentrasi biodiesel yang terbentuk. Hasil ini sesuai dengan prinsip reaksi enzimatik pada umumnya yaitu adanya pengaruh konsentrasi enzim (biokatalis) terhadap meningkatnya laju awal reaksi dalam pembentukan produk.

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 ada enzim yang terbangun atau tidak terikat oleh penyangga selama proses immobilisasi. Hal ini juga terlihat pada percobaan yang dilakukan oleh Nouredini *et al* dimana enzim tidak terikat sempurna pada zeolit.

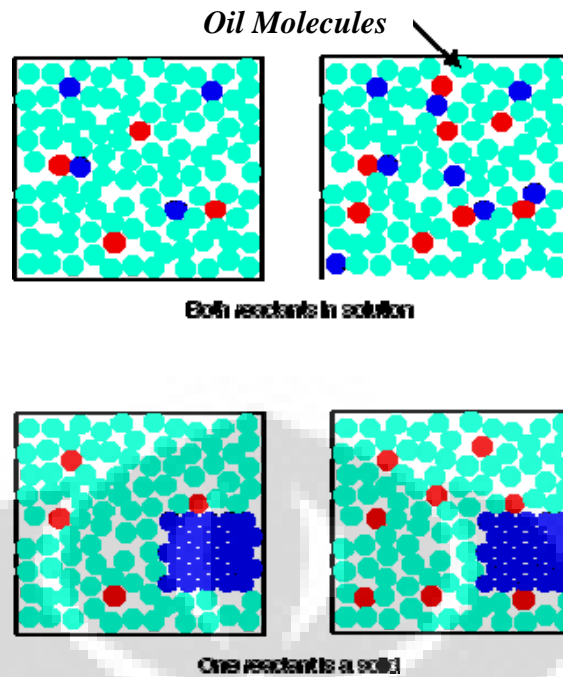


Gambar 4. 25 Enzim terikat pada zeolit dalam metode immobilisasi

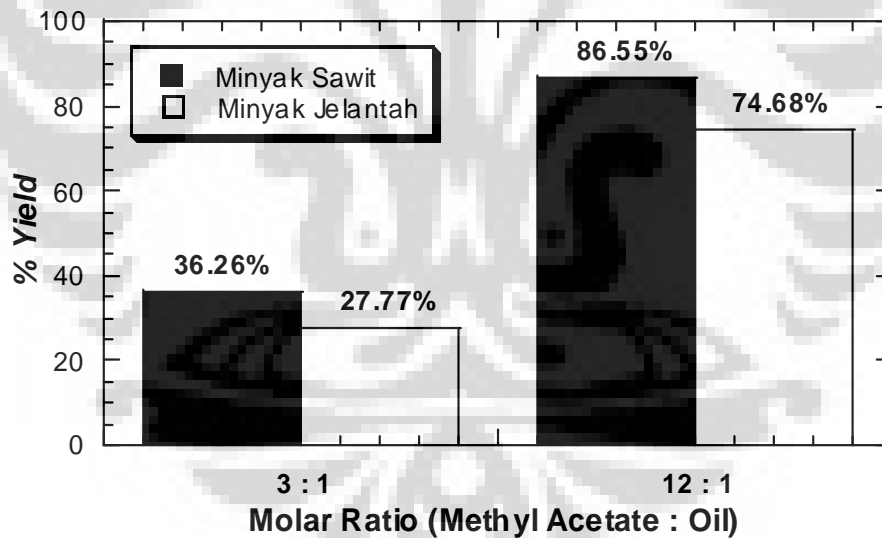
Dalam laporan Nouredini *et al*, penggunaan teknik immobilisasi mempunyai keterbatasan terhadap kemampuannya untuk mengikat enzim. Di dalam laporannya, disebutkan bahwa pengujian derajat immobilisasinya berhasil mencapai 95%. Dalam pengukurannya di dapatkan enzim loading dari 3 gr sol-gel setara dengan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

4.5. Pengaruh Rasio Substrat

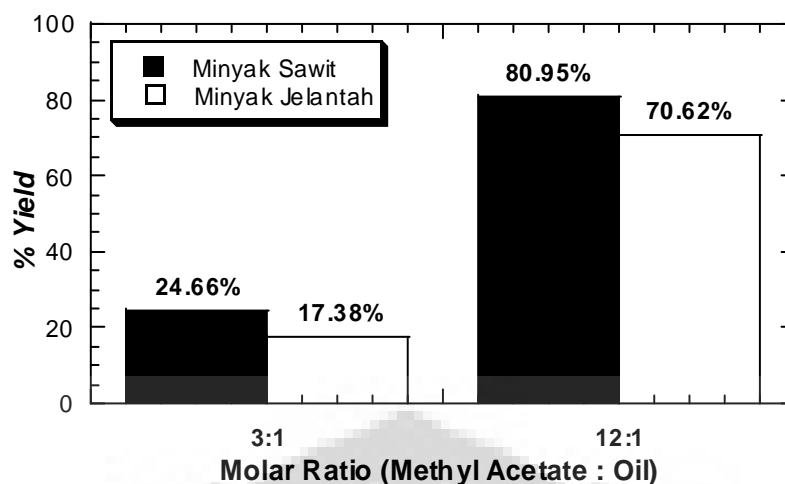
Dari stokiometri reaksi interesterifikasi terlihat bahwa dibutuhkan tiga mol metil asetat untuk bereaksi dengan satu mol trigliserida agar dihasilkan tiga mol *fatty acid methyl ester* dan satu mol triasetilgliserol. Penggunaan metil asetat yang berlebih dimaksudkan agar kesetimbangan reaksi dapat bergerak ke arah kanan agar produk yang diinginkan dapat dipisahkan dari campuran yang terbentuk. Konsentrasi metil ester akan bertambah seiring dengan pertambahan rasio mol metil asetat dan minyak jelantah.



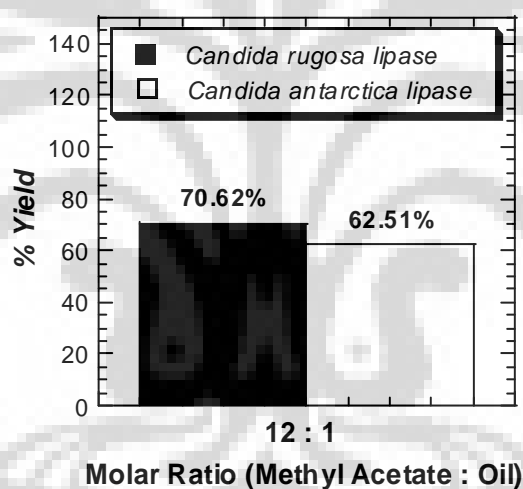
Gambar 4. 26 Pengaruh konsentrasi substrat



Gambar 4. 27 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1:3 dan 1:12 menggunakan *Candida rugosa* lipase (4%wt) dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3 dan 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



Gambar 4. 28 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak sawit dan minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1:3 dan 1:12 menggunakan *Candida rugosa* lipase (4%wt) terimobilisasi dengan metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:3 dan 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



Gambar 4. 29 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap konsentrasi biodiesel dari substrat minyak jelantah (mol/L) yang dihasilkan pada rasio reaktan 1:12 menggunakan *Candida rugosa* lipase dan *Candida antarctica* lipase (4%wt) terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)

Dari gambar-gambar diatas dapat terlihat bahwa konsentrasi biodiesel yang terbentuk dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan *Candida rugosa* lipase mempunyai kecenderungan yang terus meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi substrat yang digunakan pada percobaan. Rasio molar 1:12 memberikan % yield yang lebih besar jika dibandingkan dengan rasio molar 1:3. Dengan kata lain konsentrasi substrat yang digunakan akan mempengaruhi laju pembentukan produk.

Dari percobaan ini dapat terlihat bahwa adanya pengaruh penggunaan substrat minyak jelantah yang digunakan terhadap jumlah produk biodiesel yang dihasilkan % *yield*. Dari hal tersebut dapat dijelaskan bahwa dengan adanya penambahan jumlah rasio molar substrat yang digunakan dalam reaksi insteresterifikasi ini belum menurunkan kemampuan enzim dalam mengkatalisis pembentukan produk, hal ini menunjukkan bahwa kemampuan enzim untuk mengikat substrat belum mencapai titik jenuhnya sehingga dengan kata lain terdapat kemungkinan produk biodiesel yang dihasilkan akan dapat semakin besar seiring dengan bertambahnya substrat.

4.6. Pengaruh Temperatur

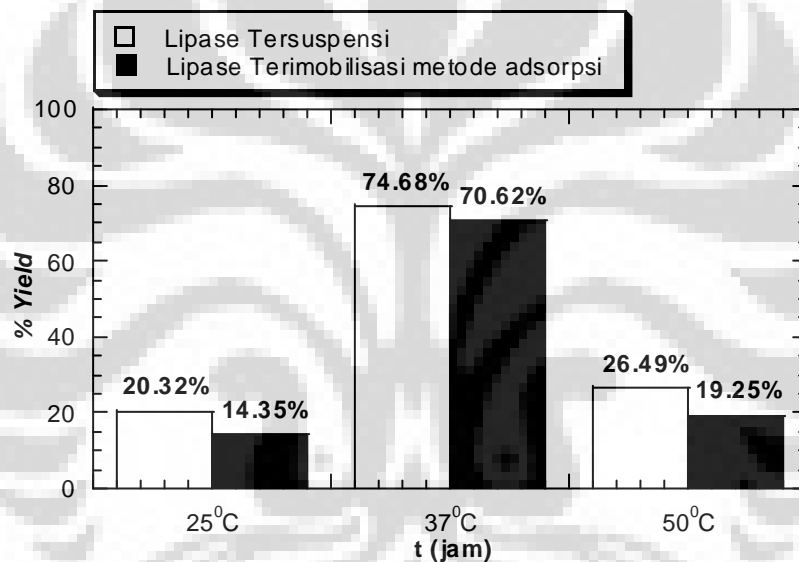
Seperti halnya perubahan kondisi pH, enzim memiliki kondisi optimal dengan adanya perubahan temperatur. Laju reaksi akan meningkat sejalan dengan kenaikan temperatur sampai pada batas optimalnya, kemudian aktivitas akan menurun setelah melewati kondisi tersebut karena enzim akan mengalami denaturasi. Denaturasi adalah rusaknya bentuk tiga dimensi enzim yang menyebabkan enzim tidak dapat lagi berikatan dengan substratnya. Denaturasi menyebabkan aktivitas suatu enzim menurun atau hilang. Denaturasi umumnya bersifat *irreversible* (tidak dapat kembali). Namun, enzim-enzim yang langka seperti RNAase dapat mengalami denaturasi setelah mengalami denaturasi. Renaturasi adalah kembalinya bentuk enzim yang rusak ke bentuk sebelum rusak. Suhu yang terlalu rendah atau yang terlalu tinggi akan menyebabkan aktivitas enzim kurang baik.



Gambar 4. 30 Tahap reaksi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol untuk uji variasi temperatur pada $T = 50^{\circ}\text{C}$



Gambar 4. 31 Tahap reaksi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol untuk uji variasi temperatur pada $T = 25^{\circ}\text{C}$



Gambar 4. 32 Perbandingan konversi biodiesel yang dihasilkan dari lipase dalam bentuk tersuspensi dan lipase terimobilisasi metode adsorpsi pada temperature 25°C dan 50°C (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, $t = 50$ jam; $T = 50^{\circ}\text{C}$ dan 25°C)

Dari gambar 4.32 diatas terlihat bahwa aktivitas lipase menurun seiring naik dan turunnya temperatur. Konversi tertinggi untuk lipase dalam bentuk tersuspensi pada temperatur 50°C dan 25°C masing-masing yaitu sebesar 26.49% dan 20.32 %. Hasil tersebut sangat jauh berbeda dengan konversi yang dihasilkan pada temperatur 37°C yaitu sebesar 74.68%. Hal ini dapat disimpulkan bahwa lipase ini memiliki kondisi temperatur optimal yaitu pada 37°C . Tidak terdapat perbedaan signifikan antara free lipase dengan lipase terimobilisasi.

4.7. Pengaruh Inhibitor

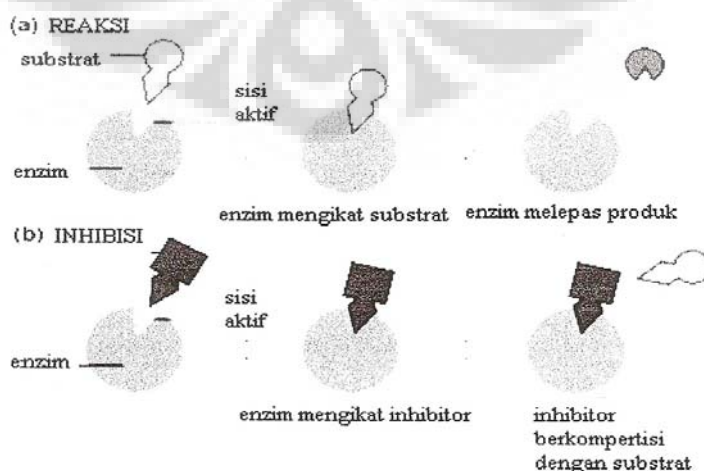
Beberapa senyawa dapat mengurangi atau bahkan menghentikan aktivitas katalitik enzim dalam suatu reaksi biokimia. Senyawa ini dapat menghalangi atau mengganggu *active site*. Senyawa ini disebut sebagai inhibitor.

Inhibitor yang menempati *active site* dan mencegah molekul substrat untuk terikat pada enzim disebut dengan *active site-directed* (atau senyawa kompetitif, dimana mereka “berkompetisi” dengan substrat untuk berikatan dengan *active site*).

Jenis inhibitor lainnya menempel bukan pada *active site* enzim, namun menempel pada bagian enzim lainnya yang mampu mengubah bentuk enzim, sehingga substrat tidak mampu “mengenal” enzim. Inhibitor jenis ini disebut *non-active site-directed* (atau non-kompetitif). Gambar dibawah ini menunjukkan perbandingan antara reaksi enzimatik biasa dengan reaksi terinhibisi.

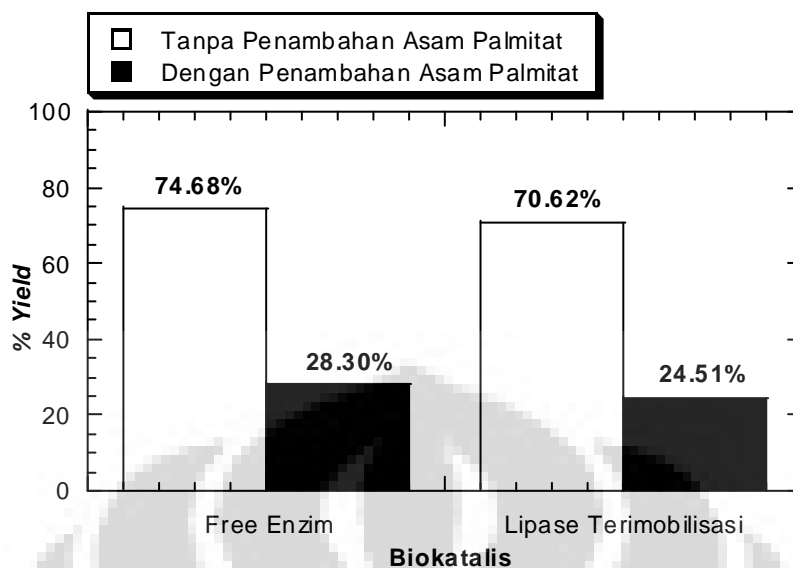


Gambar 4. 33 Tahap reaksi uji efek inhibisi dengan asam palmitat sebagai inhibitor



Gambar 4. 34 Reaksi enzimatik dengan kehadiran inhibitor

Dari percobaan sintesis biodiesel ini diperoleh hasil sebagai berikut :



Gambar 4. 35 Perbandingan konversi pada uji inhibisi untuk lipase dalam bentuk tersuspensi dan lipase terimobilisasi dengan metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)

Dari kurva diatas diperoleh nilai konversi untuk masing-masing percobaan. Untuk percobaan uji inhibisi pada sintesis biodiesel dengan lipase dalam bentuk tersuspensi diperoleh nilai konversi sebesar 28.30% sedangkan untuk percobaan uji inhibisi pada sintesis biodiesel dengan lipase terimobilisasi metode adsorpsi diperoleh nilai konversi sebesar 24.51%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan asam palmitat pada substrat minyak jelantah dapat mengurangi atau bahkan menghentikan aktivitas katalitik enzim.

4.8. Pengaruh Imobilisasi

Pada percobaan kali ini dilakukan pengujian terhadap kemampuan aktivitas lipase yang akan digunakan sebagai biokatalis dalam mensintesis biodiesel (*fatty acid methyl ester*). Penggunaan lipase sebagai biokatalis disebabkan oleh kemampuan lipase yang sangat efektif dalam memecah lemak, selain itu lipase juga dapat digunakan sebagai katalis yang sangat aktif untuk meningkatkan laju reaksi dan jumlah *yield* produk dalam proses reaksi transesterifikasi, alkoholisis, dan esterifikasi. Lipase yang digunakan dalam penelitian ini di immobilisasi dengan metode adsorpsi.



Gambar 4. 36 Tahap reaksi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis *Candida rugosa* lipase terimmobilisasi metode adsorpsi

Immobilisasi enzim disini maksudnya adalah menggabungkan suatu enzim dengan suatu matrik padat (*support*) secara fisik, sehingga dapat digunakan secara berulang kali dan secara kontinyu. Teknik ini dikembangkan untuk memperbaiki beberapa kekurangan penggunaan enzim tersebut. Kelebihan enzim yang terimmobilisasi dari pada enzim yang terlarut yaitu: sejumlah mikro protein yang terlarut akan lebih cepat bereaksi, hasil akhir reaksi hanya pelarut dan produk itu sendiri, produk lebih mudah dipisahkan, katalis dapat digunakan secara berulang sehingga dapat menghemat pembuatan biokatalis yang mahal, dan enzim yang terimmobilisasi mempunyai kestabilan yang lebih baik dibandingkan dengan katalis yang terlarut.

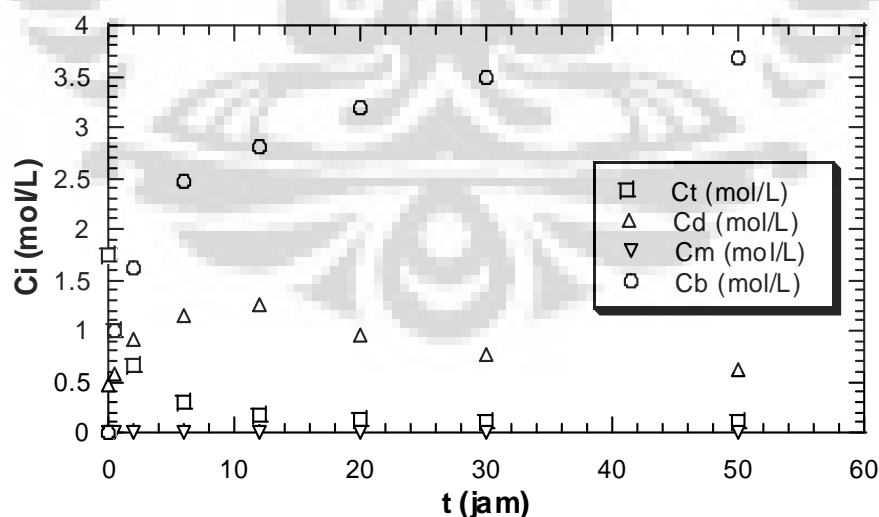
Adsorpsi didasari pada kontak antara enzim dengan permukaan support. Bergantung dengan sifat alami permukaan tersebut, ikatan enzim boleh jadi merupakan hasil dari interaksi ionik, adsorpsi fisik, ikatan hidrofobik atau gaya *van der waals* (atau kontaminasi dari semuanya). Prosedurnya didasarkan pada 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.

Keuntungan penggunaan metode adsorpsi ini adalah pada kemudahannya dalam menempatkan enzim pada material support (zeolit), adsorbent yang bisa digunakan juga bisa bervariasi serta bisa dipakai berulang kali. Kerugian

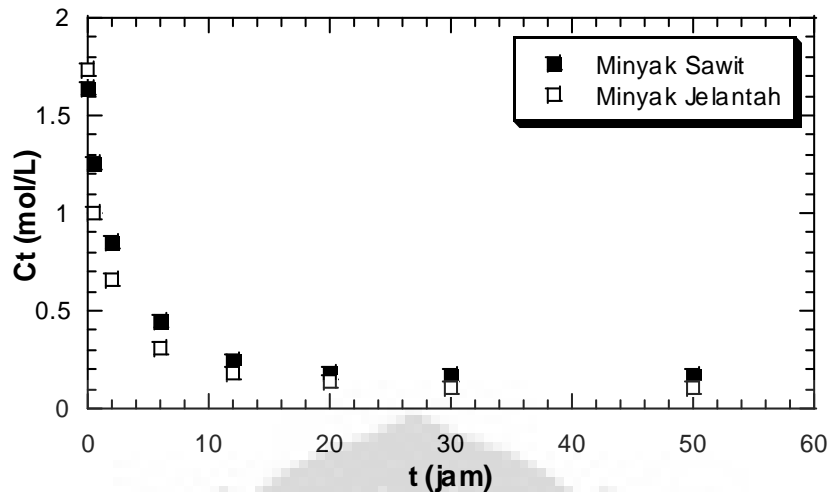
menggunakan metode ini adalah yaitu terjadinya desorpsi pada enzim karena gaya ikatan antara enzim dengan support umumnya rendah.

Tipe lipase yang digunakan dalam percobaan ini adalah *Candida rugosa powder*. Penggunaan lipase jenis *Candida rugosa powder* didasari oleh laporan Linko *et al.* yang telah berhasil untuk memproduksi *biodegradable* ester dan polyester dengan menggunakan enzim *Candida rugosa* lipase dalam bentuk *powder* sebagai biokatalis. Dalam reaksi transesterifikasinya menggunakan minyak kedelai (*soy bean*) konversi yang dihasilkan dengan menggunakan *Candida rugosa* lipase mencapai 97%. Dalam percobaan kali ini reaksi yang dilakukan berlangsung melalui rute non-alkohol, yaitu minyak jelantah akan direaksikan dengan metil asetat sebagai pensuplai gugus alkil dalam reaksi interesterifikasi.

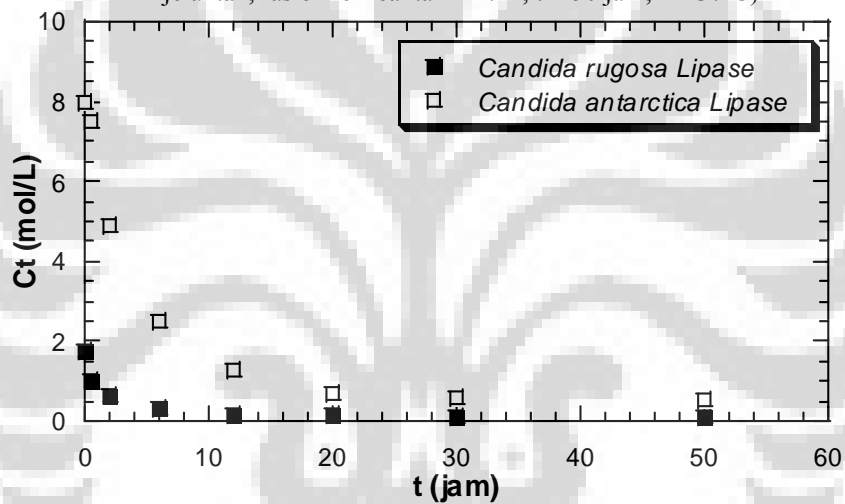
Untuk mengetahui laju pembentukan dari masing-masing komponen terhadap waktu maka di dalam penelitian ini dilakukan variasi waktunya. Banyaknya jumlah konsentrasi biodiesel yang terbentuk dalam waktu tertentu dapat menunjukkan kinerja optimal dari suatu enzim sebagai biokatalis. Kurva dibawah ini menunjukkan pengaruh kerja enzim sebagai biokatalis dalam reaksi interesterifikasi minyak jelantah dengan metil asetat untuk memproduksi biodiesel.



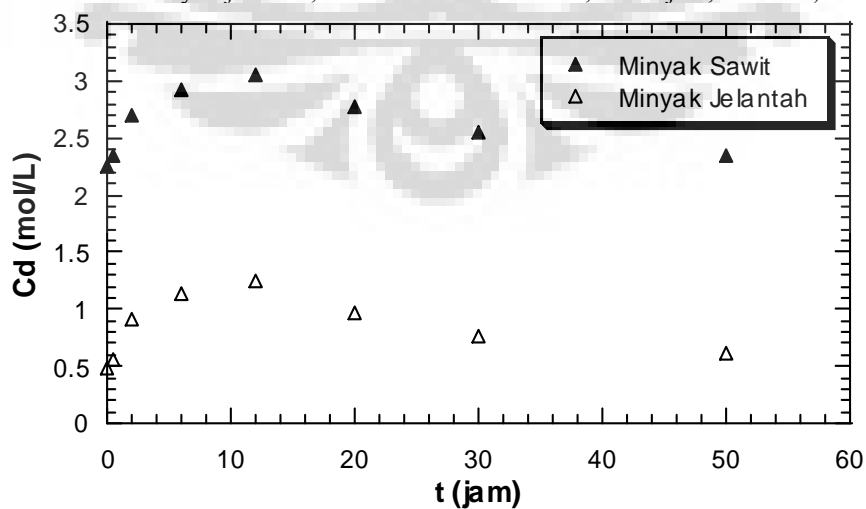
Gambar 4.37 Laju reaksi masing-masing komponen (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



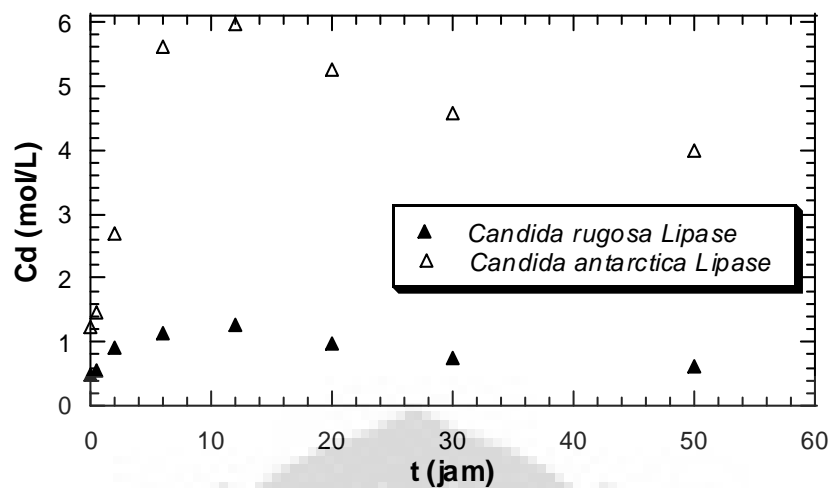
Gambar 4.38 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



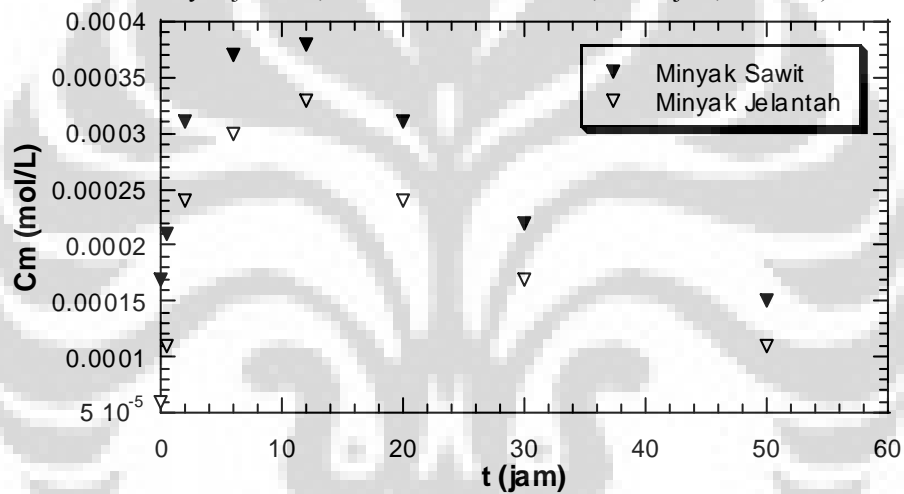
Gambar 4.39 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase dan *Candida antarctica* lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



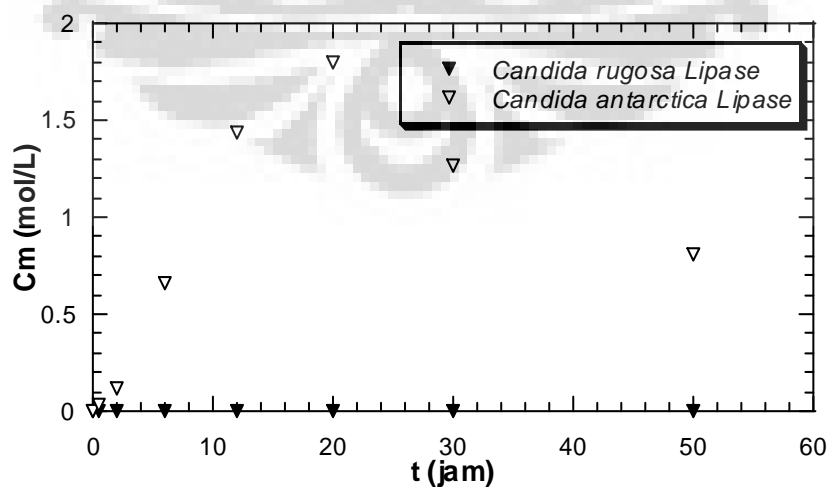
Gambar 4.40 Laju reaksi di oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



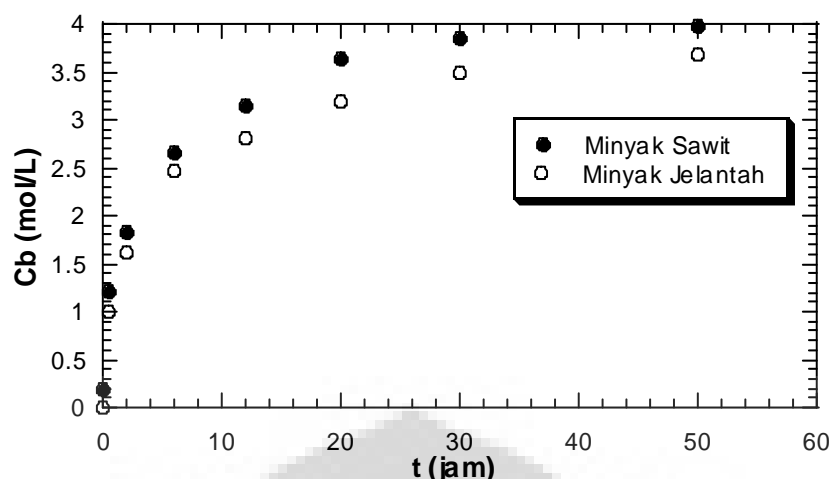
Gambar 4.41 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase dan *Candida antarctica* lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C)



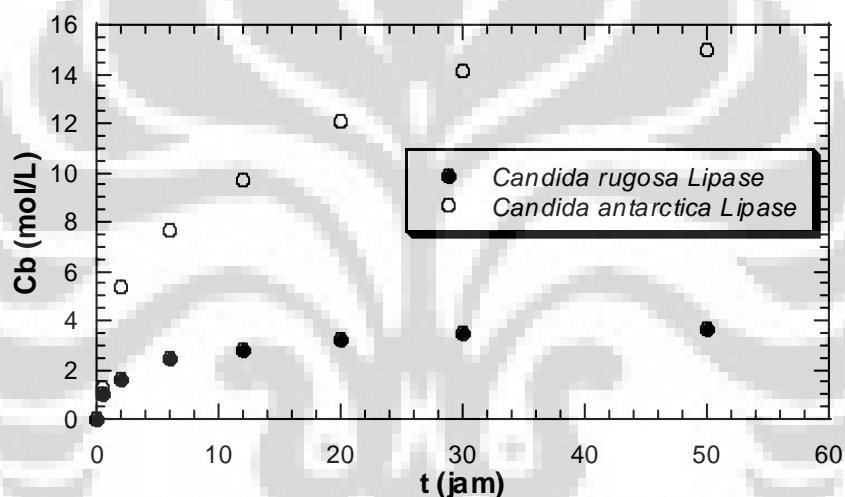
Gambar 4.42 Laju reaksi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C)



Gambar 4.43 Laju reaksi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase dan *Candida antarctica* lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C)



Gambar 4.44 Laju reaksi methyl oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C)



Gambar 4.45 Laju reaksi mono oleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* lipase dan *Candida antarctica* lipase terimobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C)

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 semakin terus meningkat seiring dengan meningkatnya waktu. Berdasarkan teori laju reaksi dengan semakin lamanya waktu reaksi maka produk yang dihasilkan akan semakin besar. Dari kurva laju pembentukan biodiesel dengan lipase terimobilisasi metode adsorpsi terlihat bahwa konsentrasi terbesar terbentuk saat t = 50 jam dengan nilai 3.67 mol/L. Jika dibandingkan dengan nilai konsentrasi biodiesel yang dihasilkan dengan menggunakan *Candida rugosa* tersuspensi saat t = 50 jam, yaitu sebesar

3.88 mol/L maka nilai konsentrasi menggunakan lipase teradsorpsi ini lebih rendah. Hal ini disebabkan oleh adanya sebagian *free* lipase yang tidak terikat secara sempurna pada zeolit (*support*). 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.

Pada penelitian yang dilakukan oleh *Septian Marno* konsentrasi biodiesel yang dihasilkan untuk percobaan sintesis biodiesel dari substrat minyak sawit dengan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dan lipase tersuspensi adalah masing-masing sebesar 3.98 mol/L dan 4.25 mol/L untuk $t = 50$ jam. Dari konsentrasi yang terbentuk dapat diperoleh *yield* biodiesel yaitu masing-masing sebesar 80.95 % dan 86.55 %. Hasil tersebut lebih besar jika dibandingkan dengan *yield* biodiesel yang didapatkan dari percobaan kali ini yaitu masing-masing sebesar 70.62 % untuk lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dan 74.68 % untuk lipase dalam bentuk tersuspensi. Hal ini disebabkan karena substrat yang digunakan pada percobaan ini yaitu minyak jelantah dimana minyak jelantah mempunyai bilangan asam yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan bilangan asam yang dimiliki oleh minyak sawit sehingga Bilangan asam tersebut akan mempengaruhi konversi produk yang dihasilkan.

Disamping itu hasil penelitian ini juga dibandingkan dengan penelitian *Septian Marno* untuk lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi menggunakan biokatalis *Candida antarctica* lipase. Dari hasil penelitian diperoleh data bahwa konsentrasi biodiesel yang dihasilkan oleh *Candida rugosa* lipase terimmobilisasi lebih kecil jika dibandingkan dengan *Candida antarctica* lipase terimmobilisasi. Hal tersebut berbeda jika yang diperbandingkan yaitu % *yield* biodiesel yang dihasilkan dari reaksi sintesis biodiesel. Untuk % *yield* biodiesel yang dihasilkan dengan menggunakan biokatalis *Candida antarctica* lipase (saat rasio mol reaktan 1:12 dan konsentrasi biokatalis = 4% wt) mempunyai nilai % *yield* yang lebih rendah dibandingkan dengan sintesis biodiesel menggunakan *Candida rugosa* lipase terimmobilisasi sebagai biokatalis. Untuk sintesis biodiesel menggunakan *Candida rugosa* lipase diperoleh % *yield* sebesar 70.62% sedangkan untuk yang menggunakan *Candida antarctica* lipase didapatkan % *yield* sebesar 62.51%. Hal

tersebut disebabkan oleh pengaruh substrat yang digunakan dan *support* yang digunakan. Substrat minyak jelantah yang digunakan untuk sintesis biodiesel menggunakan *Candida rugosa* lipase dilakukan *pre treatment* terlebih dahulu sebelum digunakan dalam proses sintesis biodiesel sehingga pengotor-pengotor dan kandungan air yang masih ada di dalam minyak jelantah kemungkinan besar sudah terminimalisasi. Kemudian % *yield* yang dihasilkan juga dapat dipengaruhi oleh *support* yang digunakan. Untuk sintesis biodiesel dengan *Candida rugosa* lipase menggunakan zeolit sebagai *support* sedangkan untuk sintesis biodiesel dengan *Candida antarctica* lipase menggunakan *acrylic* resin sebagai *support*. Dengan perbedaan tersebut dapat menyebabkan % *yield* yang dihasilkan berbeda dikarenakan pada zeolit luas kontak permukaan enzim dengan substrat lebih besar jika dibandingkan dengan yang menggunakan *acrylic* resin. Disamping itu juga zeolit mempunyai kestabilan yang baik dan dapat terdidpersi secara merata ke seluruh permukaan dan pori penyangga sehingga dapat mempengaruhi % *yield* yang dihasilkan.

Jika dibandingkan dengan penelitian Mamoru Iso *et al* (2001) yang melakukan teknik immobilisasi yang sama yaitu menggunakan metode adsorpsi, maka penelitian ini diperkirakan mempunyai konversi trioleat yang lebih tinggi yaitu sebesar 93.99%, sedangkan dalam laporan Mamoru iso *et al* yang mereaksikan triolein dengan alkohol (perbandingan mol triolein : mol alkohol = 1:3) menggunakan *immobilized P. fluorescens* (0.1 gr *free lipase*) mampu mendapatkan konversi membentuk metil oleat mencapai 75%.

Konsentrasi zat intermediet, dioleat dan monooleat, 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 dioleat hanya menunjukkan kenaikan sedikit pada saat awal reaksi untuk kemudian menurun kembali setelahnya

Jika dibandingkan, umumnya kurva dioleat pada kebanyakan data eksperimen menunjukkan konsentrasi tertingginya lebih diatas dari konsentrasi tertinggi mono oleat, artinya terjadi akumulasi dioleat sebelum akhirnya zat tersebut akan terkonversi menjadi monogliserida. Sedangkan monooleat sendiri

konsentrasinya selalu rendah selama reaksi, artinya setiap monooleat yang terbentuk langsung bereaksi kembali dengan cepat untuk membentuk produk.



Gambar 4. 46 Zeolit teraktivasi



Gambar 4. 47 Tahap Imobilisasi Lipase *Candida rugosa* lipase powder pada zeolit

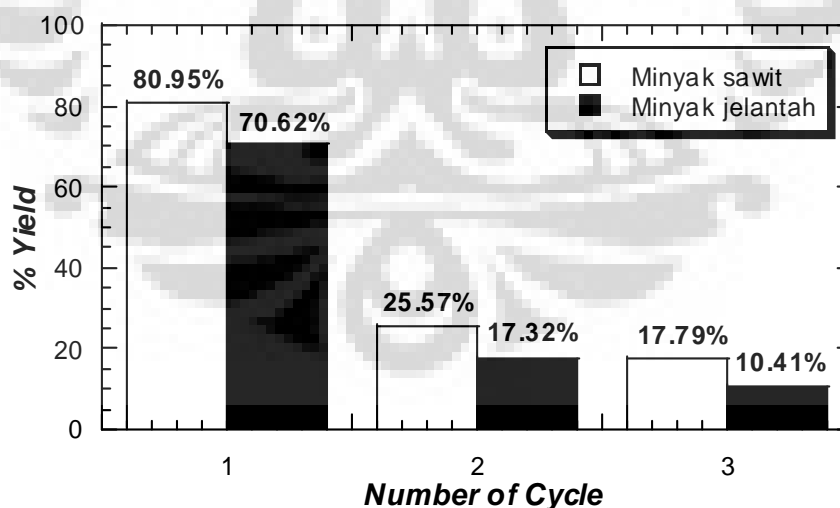
4.9. Hasil Uji Stabilitas

Pada percobaan ini dilakukan uji stabilitas terhadap lipase yang terimmobilisasi dengan menggunakan metode adsorpsi. Pengujian stabilitas yang dimaksud dalam percobaan ini yaitu penggunaan enzim yang dilakukan secara berulang-ulang dari reaksi sebelumnya. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kestabilan lipase yang terimmobilisasi dengan metode adsorpsi sebagai biokatalis dalam proses sintesis biodiesel.

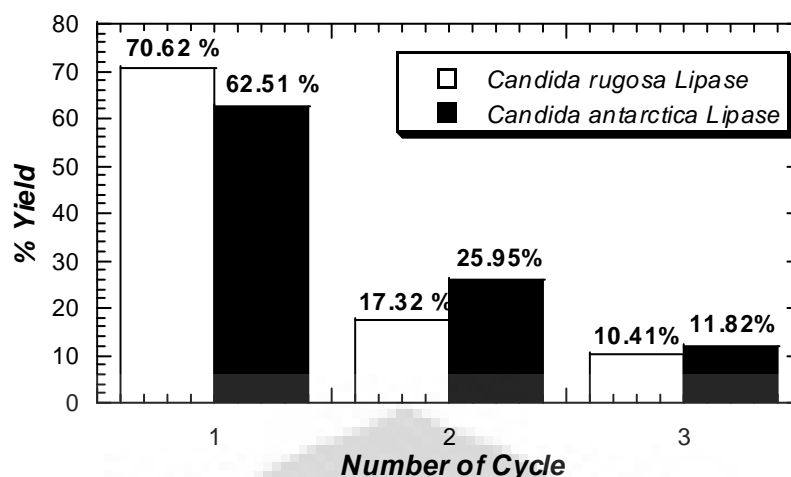


Gambar 4. 48 Tahap reaksi uji stabilitas lipase terimobilisasi metode adsorpsi

Disamping itu tujuan utama dilakukannya pengujian stabilitas ini adalah untuk melihat apakah enzim tersebut dapat digunakan kembali dalam reaksi selanjutnya (*reuse*). Enzim yang dapat dipakai ulang inilah yang akan membedakannya dengan reaksi *free* enzim, dimana pada aplikasi *free* enzim, enzim yang dipakai akan ikut terbuang dan tidak bisa diregenerasi kembali, dan cenderung sulit dipisahkan dan mengotori produk akhir. Reaksi dilakukan pada kondisi optimal yaitu pada temperatur 37°C dan kondisi pH 7. Kurva dibawah ini menjelaskan hasil pengujian stabilitas terhadap lipase terimobilisasi dengan menggunakan metode adsorpsi :



Gambar 4. 49 Uji stabilitas *Candida rugosa* lipase terimobilisasi metode adsorpsi setelah di-*recycle* 3 kali (Kondisi operasi : substrat= minyak sawit dan minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C)



Gambar 4. 50 Uji stabilitas *Candida rugosa* lipase dan *Candida antarctica* lipase (Kondisi operasi : substrat= minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C)

Setelah dilakukan penggunaan kembali lipase dalam *support* zeolit, terdapat penurunan aktivitas yang cukup drastis dimana konversi menurun dari reaksi pertama sebesar 70.62 % menjadi 17.32 % pada penggunaan kedua dan menjadi 10.41 % pada penggunaan ketiga. Penurunan konversi biodiesel dari reaksi yang sebelumnya, dapat diartikan bahwa enzim yang teradsorb dalam zeolit terlarut atau terbawa oleh substrat minyak jelantah pada saat pemisahan sebelum digunakan kembali. Penurunan % *yield* biodiesel ini juga disebabkan oleh daya ikat *support* dalam mengikat enzim semakin lemah. Hal ini mengakibatkan ketidakstabilan pada lipase dalam mengkatalis suatu reaksi. Penggunaan yang efisien hanya dapat terjadi pada reaksi ke-3, dan untuk reaksi selanjutnya, konversi yang lebih kecil dari 5% dianggap sudah tidak ekonomis lagi.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh *Septian Marno* yang menggunakan minyak sawit sebagai substratnya dalam reaksi interesterifikasi, juga diperoleh konversi yang menurun. Penggunaan lipase untuk pertama kalinya dapat menghasilkan konsentrasi biodiesel sebesar 3.98 mol/L. Terjadi penurunan yang cukup signifikan setelah direcycle untuk ke-dua kalinya, nilai konsentrasinya menjadi 1.26 mol/L, Kemudian kembali turun saat di recycle untuk ketiga kalinya, nilai konsentrasinya menjadi 0.87 mol/L. Disamping itu *Septian Marno* juga melakukan uji stabilitas terhadap *Candida antarctica* lipase. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil penggunaan lipase untuk pertama kalinya dapat menghasilkan konsentrasi biodiesel yang cukup besar yaitu sebesar 15.02 mol/L. Terjadi penurunan yang cukup signifikan setelah direcycle untuk ke-dua kalinya,

nilai konsentrasinya menjadi 6.23 mol/L, Kemudian kembali turun saat di recycle untuk ketiga kalinya, nilai konsentrasinya menjadi 2.84 mol/L

Dari penelitian Wei du *et al* (tahun 2004), penggunaan enzim secara berulang tidak dapat lagi meningkatkan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan, dengan kata lain konsentrasi biodiesel yang dihasilkan cenderung menurun. Dalam laporannya terlihat bahwa *residual activity* lipase terus berkurang setelah di recycle untuk percobaan berikutnya. Pengurangan aktivitas lipase juga dikemukakan oleh Shimada *et al* (tahun 2001), dalam laporannya pengurangan aktivitas lipase setelah direcycle terlihat dari konversi biodiesel melalui reaksi ethanolisis menggunakan substrat minyak tuna yang terus berkurang. Hal ini disebabkan oleh aktivitas enzim yang semakin berkurang dalam mengkatalisis suatu reaksi ketika sudah digunakan secara berulang.

Penurunan aktivitas enzim juga dilaporkan oleh Mamoru iso *et al* yang menggunakan teknik immobilisasi metode adsorpsi. Dalam laporannya enzim mengalami penurunan aktivitas sebanyak 2/3 dari aktivitas awalnya selama 1 jam. Penurunan aktivitas ini dilihat dari semakin turunnya konversi propil-oleat setelah satu jam. Setelah melakukan 1 kali diulang % konversinya hanya mencapai 80% dari awalnya mencapai 95% konversi ke propil-oleat.

4.10. Hasil Kurva Fitting

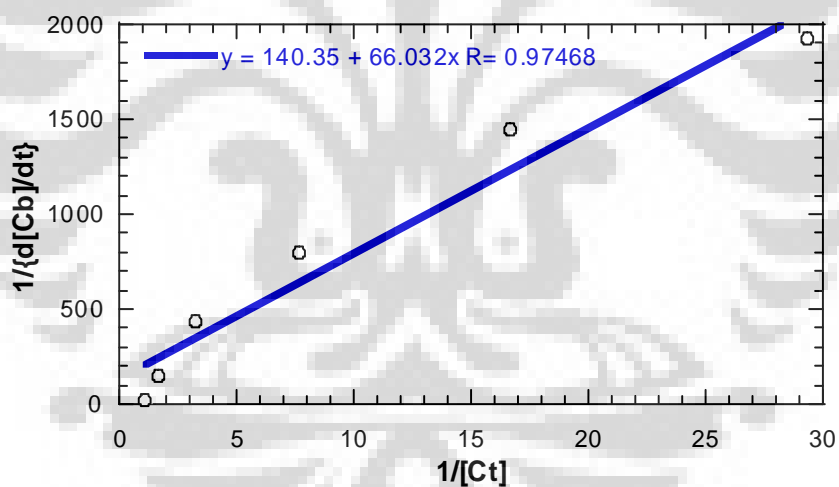
Fitting kurva dilakukan bertujuan untuk mengestimasi nilai parameter – parameter yang tak diketahui pada persamaan model. Pada mekanisme reaksi michaelis-menten, parameter tersebut adalah konsentrasi awal trigliserida (mol/L), konsentrasi biodiesel yang terbentuk (mol/L), dan waktu reaksi. Hasil plot antara 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 *Candida rugosa powder* dalam bentuk tersuspensi, hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi. Data yang diperoleh melalui fitting kurva adalah sebagai berikut:

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

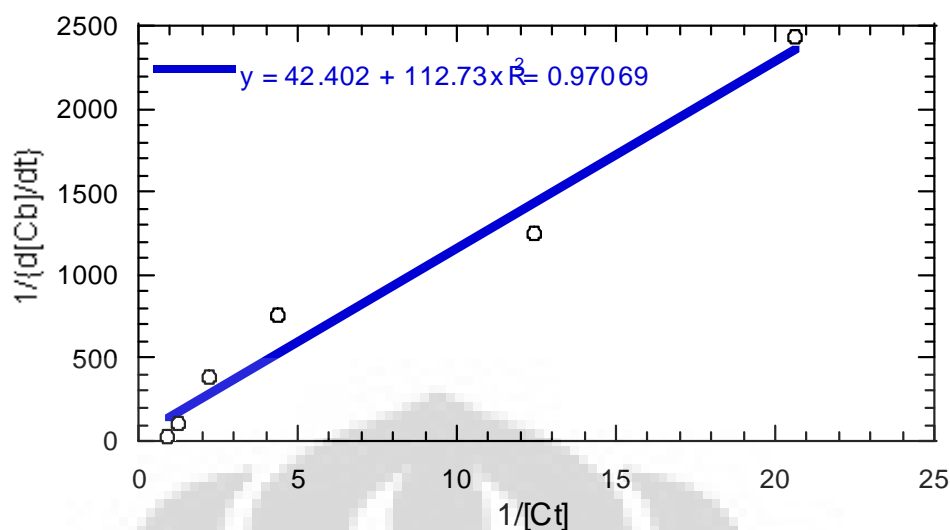
t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)
		T		D		M		F
0	7924714	1.73575511	634536	0.21345996	61148	0.00522020	1811	0.00070969
0.5	4585866	0.95056359	755456	0.25413783	5055	0.00043154	3602976	1.41191636
2	3006811	0.60010253	1064341	0.35804774	9975	0.00085156	5105086	2.00055577
6	1409364	0.30431327	1506941	0.50693981	120364	0.01027546	6500327	2.54731589
12	826984	0.13075778	1851998	0.62301809	355662	0.03036281	7655123	2.99985161
20	619634	0.06001133	2099863	0.70640068	399931	0.03414205	8500068	3.33096447
30	485931	0.03409299	1763641	0.59329452	329264	0.02810922	9296497	3.64306511
50	475936	0.02116624	1502623	0.50548722	240631	0.02054263	9923163	3.88863988

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

Reaction time (h)	Trigliserida Reaction product (mol/l)	Biodiesel 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	1.73575511	0.00070969	0					
0.5	0.95056359	1.41191636	30	1.41120667	30	0.047040222	21.25840292	1.052007472
2	0.60010253	2.00055577	120	0.588639413	90	0.006540438	152.8949608	1.666381901
6	0.30431327	2.54731589	360	0.54676012	240	0.002278167	438.9493516	3.286087347
12	0.13075778	2.99985161	720	0.452535726	360	0.001257044	795.5173022	7.64772835
20	0.06001133	3.33096447	1200	0.331112854	480	0.000689818	1449.6568	16.66352099
30	0.03409299	3.64306511	1800	0.312100644	600	0.000520168	1922.45678	29.33153958
50	0.02116624	3.88863988	3000	0.245574762	1200	0.000204646	4886.495616	47.24503768



Gambar 4. 51 Hasil Pemodelan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi
(Kondisi operasi : substrat = minyak sawit, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)



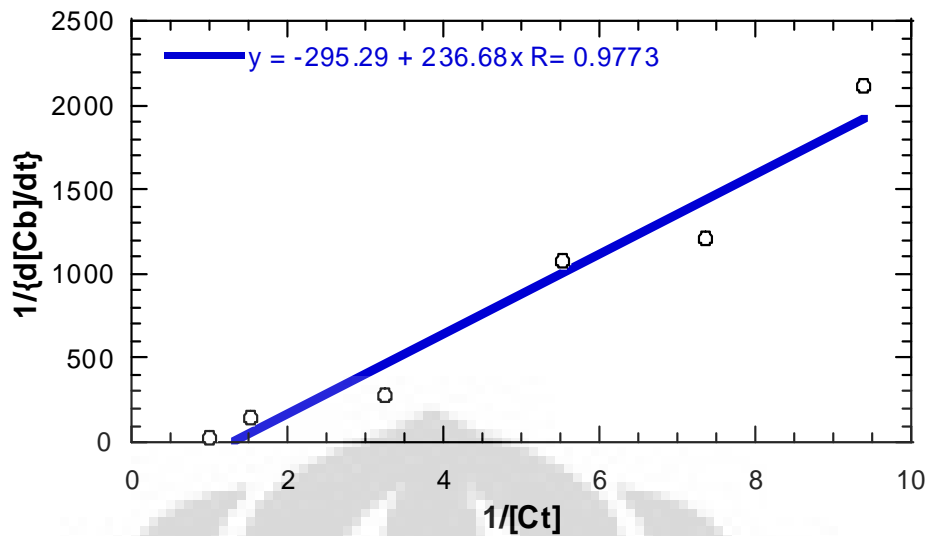
Gambar 4. 52 Hasil pemodelan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi
(Kondisi operasi : substrat = minyak sawit, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37°C)

Tabel 4. 3 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi

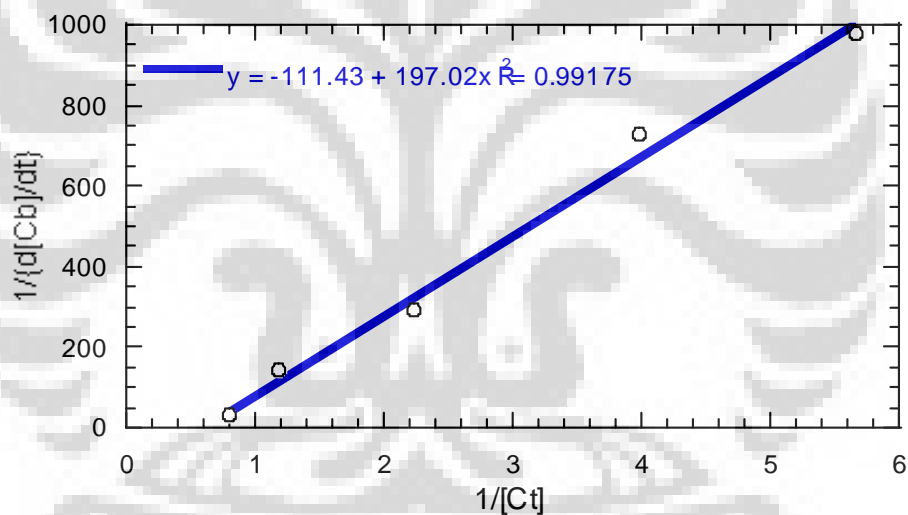


Tabel 4. 4 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi

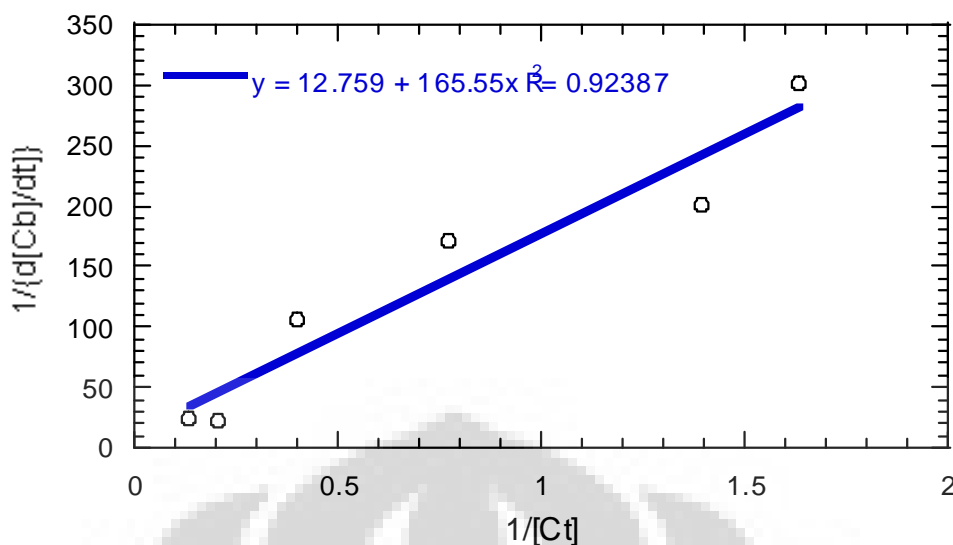
Reaction time (h)	Trigliserida Reaction product (mol/l)	Biodiesel Reaction product (mol/l)	Reaction time (min)	d[B] (mol/l)	dT (menit)	d[B]/dt	Y = 1/(d[B]/dt)	X = 1/[T]
0	1.73575511	0.00070969	0					
0.5	1.00444513	1.00044757	30	0.999737881	30	0.033324596	30.00786564	0.995574546
2	0.65858371	1.60835861	120	0.607911044	90	0.006754567	148.0479767	1.518409857
6	0.30869389	2.46894088	360	0.860582271	240	0.003585759	278.8809485	3.239455145
12	0.18113483	2.80391410	720	0.334973215	360	0.000930481	1074.712795	5.520749448
20	0.13571883	3.19912830	1200	0.395214205	480	0.000823363	1214.531244	7.368174537
30	0.10643377	3.48239713	1800	0.28326883	600	0.000472115	2118.129266	9.395513892
50	0.10424456	3.67721506	3000	0.194817932	1200	0.000162348	6159.597262	9.592826475



Gambar 4. 53 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi
(Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, $t = 50$ jam; $T = 37^\circ\text{C}$)



Gambar 4. 54 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi
(Kondisi operasi : substrat = minyak sawit, rasio mol reaktan = 1:12, $t = 50$ jam; $T = 37^\circ\text{C}$)



Gambar 4. 55 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan *Candida antarctica* lipase.
(Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T= 37⁰C)

Dari hasil *fitting* kurva sederhana yang dilakukan terhadap data percobaan sintesis biodiesel 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 selama reaksi maka laju pembentukan produk (biodiesel) 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 dibawah ini nilai V_{\max} yang diperoleh akan menghasilkan nilai K_m . Berikut adalah hasilnya:

$$\frac{1}{\frac{d[Cb]}{dt}} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{k_m}{V_{\max}} \left(\frac{1}{[Ct]} \right) \quad (4.1)$$

$$\begin{array}{cccc} \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow \\ y & = & a + b & x \end{array}$$

Tabel 4. 5 Nilai V_{\max} dan K_m untuk masing-masing grafik hasil fitting metode linierisasi

Substrat	Biokatalis	Metode	Persamaan garis	a (intersep)	b (slope)	V_{\max}	K_M
Minyak Sawit	<i>Candida rugosa</i> lipase	Suspensi	$y = 112.73x + 42.402$	42.402	112.73	0.023584	2.658601
	<i>Candida rugosa</i> lipase	Imobilisasi	$y = 197.02x - 111.43$	-111.43	197.02	-0.00897	-1.7681
Minyak Jelantah	<i>Candida rugosa</i> lipase	Suspensi	$y = 140.35 + 66.032x$	140.35	66.032	0.00712	0.47015
	<i>Candida rugosa</i> lipase	Imobilisasi	$y = -295.29 + 236.68x$	-295.29	236.68	-0.00338	-0.79998
	<i>Candida antarctica</i> lipase	Imobilisasi	$y = 165.55x + 12.759$	12.759	165.55	0.078376	12.97515

Dari hasil pemodelan reaksi enzimatik menggunakan mekanisme reaksi Michaelis-Menten didapat nilai V_{\max} dari reaksi sintesis biodiesel menggunakan *Candida rugosa powder* dalam sistem tersuspensi mempunyai nilai V_{\max} yang lebih besar dari pada lipase terimmobilisasi metode adsorpsi, dengan nilai $V_{\max} = 0.00712$. Hasil ini dapat memberikan petunjuk bahwa kemampuan aktivitas dari *Candida rugosa* dalam sistem tersuspensi lebih baik daripada biokatalis lipase metode adsorpsi. Dan dari tabel di atas dapat terlihat perbandingan nilai V_{\max} dan K_M yang dihasilkan dari percobaan sintesis biodiesel yang menggunakan substrat minyak sawit dan minyak jelantah. Dari data tersebut menunjukkan bahwa nilai V_{\max} dan K_M minyak sawit lebih besar dibandingkan dengan nilai V_{\max} dan K_M minyak jelantah karena minyak jelantah sudah dipakai berulang-ulang sehingga mutunya lebih rendah dibandingkan dengan minyak sawit baru.

Dari tabel 4.5 juga dapat terlihat bahwa nilai V_{\max} terbesar terdapat pada reaksi sintesis biodiesel menggunakan biokatalis *Candida antarctica* lipase yang dilakukan sebelumnya oleh *Septian Marno* yang menghasilkan nilai $V_{\max} = 0.078$. 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* lipase sebagai biokatalis mempunyai aktivitas yang lebih baik dari pada *Candida rugosa* lipase powder dalam sistem tersuspensi dan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi. Disamping itu nilai K_M terbesar juga terdapat pada reaksi sintesis biodiesel yang

menggunakan biokatalis *Candida antarctica* lipase 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.

Ada hal yang tidak lazim dari data yang dihasilkan ketika ditemukannya nilai persamaan garis dengan intersep negatif untuk pemodelan reaksi enzimatik Michaelis-Menten dari sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi. Hal ini akan memberikan nilai V_{Max} 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 linier 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.

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. Selain itu, adanya faktor inhibisi yang tidak digunakan dalam mekanisme reaksi Michaelis-Menten tersebut.

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah

1. Untuk percobaan sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis pada saat $t = 50$ jam dengan konsentrasi biokatalis 4% wt, (rasio mol minyak : metil asetat = 1:12.) diperoleh % *yield* yang terbesar yaitu pada sintesis biodiesel dengan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi yaitu sebesar 74.68%.
2. Untuk percobaan sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan katalis NaOH (rasio mol minyak jelantah : methanol = 1:6 ; $t = 1$ jam; $T = 60^{\circ}\text{C}$), diperoleh % *Yield* biodiesel sebesar 1.27 %.
3. Pengaruh biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel yang terbentuk melalui rute non alkohol menggunakan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi dengan substrat minyak sawit ($t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$) akan mempengaruhi % *yield* biodiesel yang dihasilkan. Dari percobaan yang dilakukan diperoleh % yield terbesar pada rasio konsentrasi biokatalis 4% wt yaitu sebesar 74.68% untuk lipase dalam bentuk tersuspensi dan sebesar 70.62% untuk lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi.
4. Uji stabilitas untuk lipase terimmobilisasi dari sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menunjukkan hasil % *yield* yang semakin lama semakin menurun. Hal tersebut disebabkan karena ikatan antara enzim dan support semakin lemah sehingga lipase menjadi tidak stabil dan jenuh untuk mengikat substrat.
5. Peningkatan jumlah konsentrasi biokatalis (%wt) berpengaruh terhadap peningkatan konsentrasi produk (biodiesel) yang dihasilkan. Semakin besar jumlah biokatalis yang digunakan pada sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol maka produk (biodiesel) yang dihasilkan akan menjadi semakin besar.
6. Laju awal reaksi secara enzimatik dipengaruhi oleh peningkatan jumlah konsentrasi biokatalis yang digunakan pada percobaan.
7. Semakin lama waktu reaksi untuk mensintesis biodiesel maka laju pembentukan ke arah produk yang dihasilkan akan menjadi semakin besar.

8. Semakin tinggi suhu yang digunakan untuk mensintesis biodiesel maka laju pembentukan ke arah produk yang dihasilkan akan menjadi semakin besar akan tetapi jika suhu tersebut telah melewati kondisi optimum dari biokatalis maka akan menyebabkan enzim tersebut terdenaturasi.
9. Enzim akan mengalami deaktivasi setelah penggunaannya dilakukan secara berulang-ulang hal ini disebabkan karena sudah jenuhnya enzim dalam mengikat substrat sehingga daerah aktif enzim berkurang.
10. Adanya pengurangan aktivitas dari lipase yang terjadi disebabkan oleh semakin lemahnya *support* dalam mengikat biokatalis yang menyebabkan ketidakstabilan pada biokatalis dalam mengkatalis suatu reaksi.
11. Peningkatan jumlah produk yang dihasilkan tidak akan meningkat secara signifikan jika waktu reaksi yang dilakukan berlangsung melewati batas dari aktivitas lipase atau dengan kata lain biokatalis sudah mulai jenuh.
12. Pada reaksi yang menggunakan biokatalis tidak terjadi suatu reaksi penyabunan.

5.2. Saran

Untuk penelitian sintesis biodiesel yang akan datang diharapkan semakin banyak penelitian yang menggunakan biokatalis karena dapat memperbaiki kekurangan dari katalis alkali yang pada suatu reaksi tidak dapat bercampur secara homogen, sehingga dapat dipisahkan secara mudah dan tidak menghasilkan reaksi samping. Penelitian sintesis biodiesel melalui rute non alkohol harus terus dilakukan pada masa yang akan datang karena melalui rute non alkohol aktivitas dan stabilitas biokatalis tetap tinggi selama berlangsungnya suatu reaksi.

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 H. *Biodiesel dari Minyak 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. 2002. “*Pengaruh suhu dan perbandingan reaksi pada pembuatan metil ester biodiesel dari destilat asam lemak minyak sawit*”, Pusat Studi Energi Universitas Gajah Mada.
- [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, Xu Y, Liu D, Zeng J, “*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, Shimada Y, Sugihara A, Noda H, Fukuda H, Tominga Y, “*Continuous Production of Biodiesel Fuel from Vegetable Oil using Immobilized Candida Antarctica Lipase*” *JAACS*, 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 dan Tri Harjanti, “*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]. Zandy, Adustinus. 2002. *Intensifikasi Proses Produksi Biodiesel*, Institut Teknologi Bandung.
- [16]. Nasiri, Johan. 2008. *Biodiesel : Upaya Mengurangi Ketergantungan Minyak Bumi*, <http://www.sentrapolimer.com> diakses tanggal 03 Agustus 2008
- [17]. Sukara, Endang. *Pemanfaatn Biodiversity*. <http://www.biotek.lipi.go.id> diakses tanggal 22 Juli 2008
- [18]. Marno, Septian. 2008. “*Interesterifikasi minyak kelapa sawit dengan metil aasetat menggunakan biokatalis untuk memproduksi biodiesel*”, Skripsi, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok.
- [19]. Anonim, <http://www.proteindatabank.com> diakses 15 Desember 2008
- [20]. Anonim. *Tips Memilih Enzim Sebagai Ingridien Pangan*, <http://pipimm.org/cetak> diakses tanggal 26 Juli 2007
- [21]. Anonim, *Lipase*, <http://en.wikipedia.org/lipase>, 24 Juli 2008
- [22]. Anonim. *Ilustrasi Metode Immobilisasi Enzim*. <http://www.lsbu.ac.uk/biology/enztech/immmethod.html> diakses tanggal 25 November 2008
- [23]. Benjamin, Sailas. 1998. *Candida rugosa Lipase : Molecular Biology and Versatility in Biotechnology*. Biotechnology Division, Regional Research Laboratory, Trivandrium – 695 019, India
- [24]. Xu , Yuanyuan, “*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
- [25]. Hendartono, Tomi. 2005. *Pemanfaatan Minyak Dari Tumbuhan Untuk Pembuatan Biodiesel*. Diakses Tanggal: 28 maret 2007
- [26]. Hermasnyah, Heri. 2008. *Pengembangan Rute Sintesis Biodiesel Non Alkohol Menggunakan Biokatalis : State of The Arts*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

- [27]. Modi, Mukesh Kumar. 2007. *Lipase-mediated conversion of vegetable oils into biodiesel using ethyl acetate as acyl acceptor*. Bioresource Technology 98 (2007) 1260-1264.
- [28]. Bhagwat, S. Sunil. 2005. *Transesterification of Substituted ethanols-modelling studies*. Biochemical Engineering Journal 22 (2005) 253-259.
- [29]. Hermasnyah, Heri. 2008. *Sintesis Biodiesel Rute Nonalkohol Menggunakan Candida rugosa lipase yang diimmobilisasi melalui Metode Adsorpsi*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.
- [30]. Hermasnyah, Heri. 2008. *Sintesis Biodiesel Rute Nonalkohol Menggunakan Candida rugosa lipase dalam Bentuk Tersuspensi*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.
- [31]. Watanabe, Takaaki, et al. *Optimization of Reaction Conditions for the Production of DAG Using Immobilized 1,3-Regiospecific Lipase Lipozyme RM IM*. JAOCS 80 (2003): 1201-1207.
- [32]. Anonim, Inhibitor, <http://books.google.co.id/books>. diakses pada tanggal 25 desember 2008
- [33]. Anonim. <http://elearning.unej.ac.id/courses/document/enzim/kinetika.ppt>. diakses pada tanggal 25 Desember 2008
- [34]. Deng, li. 2003. *Enzymatic production of Fatty Acid Alkyl Esters with a Lipase Preparation from Candida Sp.* 99-125. Department of Biochemical Engineering, Beijing Bioprocess Key Lab, Beijing University of Chemical Technology, Beijing, China.

Lampiran 1

1.1. Data Hasil Reaksi Sintesis Biodiesel Rute Non-Alkohol Menggunakan katalis NaOH

Lamp. 1. 1 Data saat $t = 0$ jam minyak jelantah

$t = 0$	Minyak Jelantah	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	7924714	1.735755111
D	1424536	0.479218501
M	61148	0.005220196
F	1811	0.000709686

Lamp. 1. 2 Data saat $t = 1$ jam minyak jelantah

$t = 60$ menit	Minyak goreng bekas	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	5750892	1.26
D	763671	0.26
M	88174	0.01
F	7278	0.00

1.2. Perhitungan menggunakan % mol balance Rute Non-Alkohol dengan Katalis NaOH

Lamp. 1. 3 % mol balance sintesis biodiesel melalui rute non alkohol dengan katalis NaOH dari substrat minyak jelantah

Minyak Goreng Bekas	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) T	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) D	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) M	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) F	% mol Balance
	0	7924714	1.74	1424536	0.48	61148	0.01	1811	0.00	100.00
1	7277883	1.59	1951391	0.66	902365	0.08	168202	0.0659	101.08	

Lamp. 1. 4 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk

Komponen	Zat	
	Minyak Sawit	Minyak goreng Jelantah
3*CT, t=0	5.21	5.21
2*CD, t=0	0.96	0.96
CM, t=0	0.01	0.01
CB, t=0	0.00	0.00
3*CT, t=t	5.00	4.78
2*CD, t=t	0.88	1.31
CM, t=t	0.03	0.08
CB, t=t	0.23	0.065
% konversi trigliserida	4.01	8.16
% Yield digliserida	16.82	25.21
% Yield monogliserida	0.10	0.10
% Yield biodiesel	4.40	1.27

Lampiran 2

2.1. Data Hasil Reaksi sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis *Candida rugosa* Lipase dalam Bentuk Tersuspensi

Lamp 2. 1Data saat t = 0 jam untuk minyak jelantah

t = 0	Minyak Jelantah	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	7924714	1.735755111
D	1424536	0.479218501
M	61148	0.005220196
F	1811	0.000709686

Lamp 2. 2 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi (kondisi operasi = rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; t=50 jam; T = 37°C)

Free	Perbandingan mol = 1:3					
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim = 1%		Konsentrasi Enzim = 2%		Konsentrasi Enzim = 4%	
Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l	Luas Area	Konsentrasi mol/l	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	565455	0.123851966	100943	0.022109609	4204252	0.92085997
D	697166	0.234528889	1465207	0.492900356	5880	0.001978051
M	2766	0.000236133	356339	0.030420609	196011	0.016733431
F	782863	0.306784468	100943	0.039557042	106776	0.041842849

Lamp 2. 3 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt

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	0.0007	100.00
50.00	6004714	1.32	2508150	0.84	86823	0.0074	1224600	0.48	99.17

Lamp 2. 4Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt

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	
50.00	5803624.00	1.2712	2057414	0.6921	608253	0.0519	2402234	0.9414	100.31

Lamp 2. 5 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt

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	
50.00	4903624	1.0740	2209640	0.7433	677152	0.0578	3690730	1.4463	100.67

Lamp 2. 6 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (kondisi operasi = rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; t =50 jam; T = 37°C)

Free	Perbandingan mol = 1:3		
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim		
Komponen	1%	2%	4%
3*CT, t=0	5.21		
2*CD, t=0	0.96		
CM, t=0	0.01		
CB, t=0	0.00		
3*CT, t=t	3.95	3.81	3.22
2*CD, t=t	1.69	1.38	1.49
CM, t=t	0.01	0.05	0.06
CB, t=t	0.48	0.94	1.45
% konversi trigliserida	24.23	26.77	38.12
% Yield digliserida	32.41	26.58	28.55
% Yield monogliserida	0.14	1.00	1.11
% Yield biodiesel	9.22	18.08	27.77

Lamp 2. 7 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (kondisi operasi = rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t =50 jam; T = 37°C)

Free	Perbandingan mol = 1:12					
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim = 1%		Konsentrasi Enzim = 2%		Konsentrasi Enzim = 4%	
Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l	Luas Area	Konsentrasi mol/l	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	978479	0.214316873	103	2.25602E-05	22935	0.005023468
D	68200	0.0229427	1000602	0.336605737	17891	0.00601859
M	364879	0.031149667	80050	0.006833857	636571	0.054343974
F	4687974	1.837099988	1562110	0.612151915	1651860	0.6473227

Lamp 2. 8 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt

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	
0.00	7924714	1.7358	1424536	0.4792	61148	0.0052	1811	0.0007	100.00
50.00	6869541	1.5046	1026534	0.3453	67963	0.0058	2397974	0.9397	99.65

Lamp 2. 9 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt

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	
50.00	5603215	1.2273	1993654	0.6707	70212	0.0060	2776478	1.0880	99.12

Lamp 2. 10 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt

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	
50.00	205636	0.0450	1912623	0.6434	729631	0.0623	9923163	3.8886	98.96

Lamp 2. 11 (%) konversi triolat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (kondisi operasi = rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t =50 jam; T = 37°C)

Free	Perbandingan mol = 1:12		
	Konsentrasi Enzim		
t = 50 jam	1%	2%	4%
Komponen			
3*CT, t=0	5.21		
2*CD, t=0	0.96		
CM, t=0	0.01		
CB, t=0	0.00		
3*CT, t=t	4.51	3.68	0.14
2*CD, t=t	0.69	1.34	1.29
CM, t=t	0.01	0.01	0.06
CB, t=t	0.94	1.09	3.89
% konversi trigliserida	13.31	29.29	97.41
% Yield digliserida	13.26	25.76	24.71
% Yield monogliserida	0.11	0.12	1.20
% Yield biodiesel	18.05	20.89	74.68

2.2. Data Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan *Candida rugosa* Lipase dalam bentuk Tersuspensi dengan Variasi Waktu

Lamp 2. 12 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 biokatais = 4% wt; t=50 jam; T = 37°C)

Free	Perbandingan mol = 1:12							
Konsentrasi enzim = 4%	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	261429	82653	2312959	1166209	2271435	697527	22935
D	1424536	1263650	3005685	1405740	59748	1504310	17891	19244351
M	61148	212670	2093873	1592529	5417699	6160695	636571	11618405
F	1811	20108124	23734	3452327	3911794	4384626	1651860	1229086

Lamp 2. 13 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 biokatais = 4% wt; t=50 jam; T = 37°C)

Free	Perbandingan mol = 1:12							
Konsentrasi enzim = 4%	Konsentrasi sampel (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	0.0573	0.0181	0.5066	0.2554	0.4975	0.1528	0.0050
D	0.4792	0.4251	1.0111	0.4729	0.0201	0.5061	0.0060	6.4739
M	0.0052	0.0182	0.1788	0.1360	0.4625	0.5259	0.0543	0.9919
F	0.0004	4.4043	0.0052	0.7562	0.8568	0.9604	0.3618	0.2692

Lamp 2. 14 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatais = 4% wt; t=50 jam; T = 37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) T	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) D	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) M	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) F	% mol Balance
0	7924714	1.73575511	634536	0.21345996	61148	0.00522020	1811	0.00070969	100.00
0.5	4339866	0.95056359	755456	0.25413783	5055	0.00043154	3602976	1.41191636	99.55
2	2739811	0.60010253	1064341	0.35804774	9975	0.00085156	5105086	2.00055577	99.66
6	1389364	0.30431327	1506941	0.50693981	120364	0.01027546	6500327	2.54731589	100.01
12	596984	0.13075778	1851998	0.62301809	355662	0.03036281	7655123	2.99985161	100.03
20	273986	0.06001133	2099863	0.70640068	399931	0.03414205	8500068	3.33096447	100.22
30	155654	0.03409299	1763641	0.59329452	329264	0.02810922	9296497	3.64306511	100.10
50	96636	0.02116624	1502623	0.50548722	240631	0.02054263	9923163	3.88863988	99.98

Lamp 2. 15 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t =50 jam; T = 37°C)

IM	Perbandingan mol =1:12							
	Waktu							
Konsentrasi enzim = 4% wt	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
Komponen								
3*CT, t=0	5.21							
2*CD, t=0	0.43							
CM, t=0	0.01							
CB, t=0	0.00							
3*CT, t=t		2.85	1.80	0.91	0.39	0.18	0.10	0.06
2*CD, t=t		0.51	0.72	1.01	1.25	1.41	1.19	1.01
CM, t=t		0.00	0.00	0.01	0.03	0.03	0.03	0.02
CB, t=t		1.41	2.00	2.55	3.00	3.33	3.64	3.89
% konversi trigliserida		45.24	65.43	82.47	92.47	96.54	98.04	98.78
% Yield digliserida		9.76	13.75	19.47	23.93	27.13	22.79	19.41
% Yield monogliserida		0.01	0.02	0.20	0.58	0.66	0.54	0.39
% Yield biodiesel		27.11	38.42	48.92	57.61	63.97	69.96	74.68

Lampiran 3

3.1. Data Hasil Reaksi sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi

Lamp. 3. 1 Data saat t = 0 jam untuk minyak jelantah

t = 0	Minyak Jelantah	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	7924714	1.735755111
D	1424536	0.479218501
M	61148	0.005220196
F	1811	0.000709686

Lamp. 3. 2 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi = rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:3; t = 50 jam; T = 37°C)

IM-ADS	Perbandingan mol = 1:3					
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim = 1%		Konsentrasi Enzim = 2%		Konsentrasi Enzim = 4%	
Zat	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)
T	2766	0.000605839	2951252	0.64641459	404293	0.08855255
D	697166	0.234528889	234255	0.07880414	10188	0.00342728
M	2766	0.000236133	5291745	0.45175550	8300923	0.70864859
F	45957	0.018009401	1907500	0.74750163	6673618	2.61522431

Lamp. 3. 3 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt

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
50.00	6804714	1.4904	2253048	0.7579	52221	0.0045	410957	0.1610	99.69

Lamp. 3. 4 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2 % wt

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	
50.00	6404714	1.4028	2153048	0.7243	55521	0.0047	1300957	0.5098	100.00

Lamp. 3. 5 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt

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	
50.00	5162129	1.1307	2061613	0.6935	5521351	0.4714	2310018	0.9052	99.74

Lamp. 3. 6 Konversi trioelat 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)

IM	Perbandingan mol = 1:3		
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim		
Komponen	1%	2%	4%
3*CT, t=0	5.21		
2*CD, t=0	0.96		
CM, t=0	0.01		
CB, t=0	0.00		
3*CT, t=t	4.47	4.21	3.39
2*CD, t=t	1.52	1.45	1.39
CM, t=t	0.00	0.00	0.47
CB, t=t	0.16	0.51	0.91
% konversi trigliserida	14.13	19.18	34.86
% Yield digliserida	29.11	27.82	26.64
% Yield monogliserida	0.09	0.09	9.05
% Yield biodiesel	3.09	9.79	17.38

Lamp. 3. 7 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)

IM-ADS	Perbandingan mol = 1:12					
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim = 1%		Konsentrasi Enzim = 2%		Konsentrasi Enzim = 4%	
Zat	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)
T	2328312	0.509971648	840994	0.18420345	1336418	0.292716478
D	1396463	0.469774653	7267	0.00244464	1336858	0.449723339
M	4447	0.00037964	1228	0.00010483	92515	0.007897992
F	311108	0.121915459	14818050	5.80682390	39041	0.015299193

Lamp. 3. 8 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt

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
50	6265426	1.3723	2391366	0.8045	96365	0.0082	896353	0.3513	98.60

Lamp. 3. 9 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) T	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) D	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) M	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) F	% mol Balance
50	5465363	1.1971	2202341	0.7409	1012121	0.0864	2388058	0.9358	98.76

Lamp. 3. 10 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) T	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) D	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) M	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) F	% mol Balance
50	1758936	0.3853	1852623	0.6232	62236	0.0053	9383642	3.6772	98.59

Lamp. 3. 11 (%) konversi trioelat 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)

IM-ADS	Perbandingan mol = 1:12		
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim		
Komponen	1%	2%	4%
3*CT, t=0	5.21		
2*CD, t=0	0.96		
CM, t=0	0.01		
CB, t=0	0.00		
3*CT, t=t	4.12	3.59	1.16
2*CD, t=t	1.61	1.48	1.25
CM, t=t	0.01	0.09	0.01
CB, t=t	0.35	0.94	3.68
% konversi trigliserida	20.94	31.03	77.80
% Yield digliserida	30.90	28.46	23.94
% Yield monogliserida	0.16	1.66	0.10
% Yield biodiesel	6.75	17.97	70.62

3.2. Data Hasil Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi dengan Variasi Waktu

Lamp. 3. 12 Luas area yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatais = 4% wt; t = 50 jam; T = 37°C)

IM	Perbandingan mol = 1:12							
Konsentrasi enzim = 4%	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	60113	79187	122892	1534403	3314978	910319	17
D	1424536	16854520	264	1138023	1482799	3443821	13102	11136988
M	61148	10765673	1136234	1567425	7295	12216	2747870	40822
F	1811	1944389	2253759	2376838	28496	42898	1572038	1240776

Lamp. 3. 13 Konsentrasi yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatais = 4% wt; t = 50 jam; T = 37°C)

IM	Perbandingan mol = 1:12								
Konsentrasi enzim = 4%	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	0.0132	0.0173	0.0269	0.3361	0.7261	0.1994	0.0000	
D	0.4792	5.6699	0.0001	0.3828	0.4988	1.1585	0.0044	3.7465	
M	0.0052	0.9191	0.0970	0.1338	0.0006	0.0010	0.2346	0.0035	
F	0.0007	0.7620	0.8832	0.9314	0.0112	0.0168	0.6160	0.4862	

Lamp. 3. 14 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 biokatais = 4% wt; 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	1.73575511	1424536	0.47921850	61148	0.00522020	1811	0.00070969	100.00
0.5	4585866	1.00444513	1685456	0.56699283	1242	0.00010603	2552976	1.00044757	99.76
2	3006811	0.65858371	2708977	0.91130859	2816	0.00024040	4104264	1.60835861	99.43
6	1409364	0.30869389	3386941	1.13937787	3564	0.00030426	6300327	2.46894088	99.67
12	826984	0.18113483	3718933	1.25106104	3889	0.00033200	7155123	2.80391410	98.89
20	619634	0.13571883	2869863	0.96543116	2853	0.00024356	8163644	3.19912830	99.21
30	485931	0.10643377	2253641	0.75813209	1995	0.00017031	8886499	3.48239713	100.03
50	475936	0.10424456	1852623	0.62322835	1294	0.00011047	9383642	3.67721506	100.00

Lamp. 3. 15 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)

IM-ADS Konsentrasi enzim = 4% wt	Perbandingan mol =1:12							
	Waktu							
Komponen	t=0	t=0.5	t=2	t=6	t=12	t=20	t=30	t=50
3*CT, t=0	5.21							
2*CD, t=0	0.96							
CM, t=0	0.01							
CB, t=0	0.00							
3*CT, t=t		3.01	1.98	0.93	0.54	0.41	0.32	0.31
2*CD, t=t		1.13	1.82	2.28	2.50	1.93	1.52	1.25
CM, t=t		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CB, t=t		1.00	1.61	2.47	2.80	3.20	3.48	3.68
% konversi trigliserida		42.13	62.06	82.22	89.56	92.18	93.87	93.99
% Yield digliserida		21.78	35.00	43.76	48.05	37.08	29.12	23.94
% Yield monogliserida		0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
% Yield biodiesel		19.21	30.89	47.41	53.85	61.44	66.88	70.62

3.3. Data Perhitungan Uji Stabilitas Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi

Lamp. 3. 16 Data uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatalis 4% wt ; t=50 jam; T = 37°C)

IM	Perbandingan mol = 1:12					
	Uji stabilitas 1x		Uji stabilitas 2x		Uji stabilitas 3x	
t = 50 jam	Luas Area	Konsentrasi mol/l	Luas Area	Konsentrasi mol/l	Luas Area	Konsentrasi mol/l
Zat						
T	1336418	0.293	26335329	5.768	2865149	0.628
D	1336858	0.450	4184467	1.408	558978	0.188
M	92515	0.008	22444	0.002	31138	0.003
F	39041	0.015	1198095	0.470	674465	0.264

Lamp. 3. 17 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 1

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
50	1758936	0.3853	1852623	0.6232	62236	0.0053	9383642	3.6772	98.59

Lamp. 3. 18 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 2

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	
50	5800007	1.2704	2029549	0.6827	1269	0.0001	2302027	0.9021	98.50

Lamp. 3. 19 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 3

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	
50	5658936	1.2395	2662623	0.8957	62236	0.0053	1383642	0.5422	98.15

Lamp. 3. 20 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji stabilitas menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t = 50 jam; T = 37°C)

IM-ADS	Perbandingan mol = 1:12		
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim		
Komponen	IM	IM2X	IM3X
3*CT, t=0	5.21	5.21	5.21
2*CD, t=0	0.96	0.96	0.96
CM, t=0	0.01	0.01	0.01
CB, t=0	0.00	0.00	0.00
3*CT, t=t	1.16	3.81	3.72
2*CD, t=t	1.25	1.37	1.79
CM, t=t	0.01	0.00	0.01
CB, t=t	3.68	0.90	0.54
% konversi trigliserida	77.80	26.81	11.56
% Yield digliserida	23.94	26.22	34.40
% Yield monogliserida	0.10	0.00	0.10
% Yield biodiesel	70.62	17.32	10.41

Lampiran 4

4.1. Uji Efek Inhibisi Asam Palmitat

Lamp. 4. 1 Data uji efek inhibisi

IM-ADS	Perbandingan mol = 1:12			
t = 50 jam	Imobilize		Free enzim	
Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	27429759	6.008	26997469	5.913
D	7101868	2.389	277940	0.093
M	251048	0.021	1620153	0.138
F	536526	0.210	277266	0.109

Lamp. 4. 2 Perhitungan % mol balance untuk Immobilized

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) T	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) D	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) M	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) F	% mol Balance
0	7924714	1.736	1424536	0.479	61148	0.00522	1811	0.001	100.00
50	6389759	1.40	1002868	0.34	251048	0.02143	3256526	1.28	99.99

Lamp. 4. 3 Perhitungan % mol balance untuk Free enzim

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) T	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) D	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) M	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) F	% mol Balance
50	5589759	1.22	1466868	0.49	251048	0.02143	3760526	1.47	99.73

Lamp. 4. 4 (%) konversi triolat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji efek inhibisi (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)

IM	Perbandingan Mol 1 : 12	
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim	
Komponen	IMOB	FREE
3*CT, t=0	5.21	5.21
2*CD, t=0	0.96	0.96
CM, t=0	0.01	0.01
CB, t=0	0.00	0.00
3*CT, t=t	4.20	3.67
2*CD, t=t	0.67	0.99
CM, t=t	0.02	0.02
CB, t=t	1.28	1.47
% konversi trigliserida	19.37	29.46
% Yield digliserida	12.96	18.95
% Yield monogliserida	0.41	0.41
% Yield biodiesel	24.51	28.30

Lampiran 5

5.1. Uji Variasi Temperatur = 50°C

Lamp. 5. 1 Data variasi temperature immobilized dan free enzim

IM-ADS	Perbandingan mol = 1:12			
t = 50 jam	Imobilized		Free enzim	
Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	3841601	0.841	27831597	6.096
D	701228	0.236	221572	0.075
M	13	0.000	1276193	0.109
F	557549	0.218	547150	0.214

Lamp. 5. 2 Perhitungan % mol balance untuk immobilized

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) T	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) D	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) M	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) F	% mol Balance
0	7924714	1.736	1424536	0.479	61148	0.00522	1811	0.001	100.00
50	5841601	1.28	1801228	0.61	89313	0.00762	2557549	1.00	98.19

Lamp. 5. 3 Perhitungan % mol balance untuk free enzim

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) T	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) D	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) M	Luas Area	Konsentrasi (mol/l) F	% mol Balance
50	5389759	1.18	1812264	0.61	89313	0.00762	3520526	1.38	99.62

Lamp. 5. 4 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji efek variasi temperatur (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 50°C)

IM	Perbandingan Mol 1 : 12	
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim	
Komponen	IMOB	FREE
3*CT, t=0	5.21	5.21
2*CD, t=0	0.96	0.96
CM, t=0	0.01	0.01
CB, t=0	0.00	0.00
3*CT, t=t	3.84	3.54
2*CD, t=t	1.21	1.22
CM, t=t	0.01	0.01
CB, t=t	1.00	1.38
% konversi trigliserida	26.29	31.99
% Yield digliserida	23.27	23.42
% Yield monogliserida	0.15	0.15
% Yield biodiesel	19.25	26.49

5.2. Uji Variasi Temperatur = 25°C

Lamp. 5. 5 Data variasi temperature immobilized dan free enzim

IM	Perbandingan mol = 1:12			
t = 50 jam	Imobilize		Free enzim	
Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/l	Luas Area	Konsentrasi mol/l
T	27429759	6.008	26997469	5.913
D	7101868	2.389	277940	0.093
M	251048	0.021	1620153	0.138
F	536526	0.210	277266	0.109

Lamp. 5. 6 Perhitungan % mol balance untuk Immobilized

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	1.736	1424536	0.479	61148	0.00522	1811	0.001	100.00
50	7189759	1.57	1002868	0.34	251048	0.02143	1906526	0.75	99.93

Lamp. 5. 7 Perhitungan % mol balance untuk Immobilize

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	
50	6259759	1.37	1466868	0.49	251048	0.02143	2700526	1.06	100.13

Lamp. 5. 8 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji efek variasi temperatur (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 25°C)

IM	Perbandingan Mol 1 : 12	
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim	
Komponen	IMOB	FREE
3*CT, t=0	5.21	5.21
2*CD, t=0	0.96	0.96
CM, t=0	0.01	0.01
CB, t=0	0.00	0.00
3*CT, t=t	4.72	4.11
2*CD, t=t	0.67	0.99
CM, t=t	0.02	0.02
CB, t=t	0.75	1.06
% konversi trigliserida	9.27	21.01
% Yield digliserida	12.96	18.95
% Yield monogliserida	0.41	0.41
% Yield biodiesel	14.35	20.32

Lampiran 6

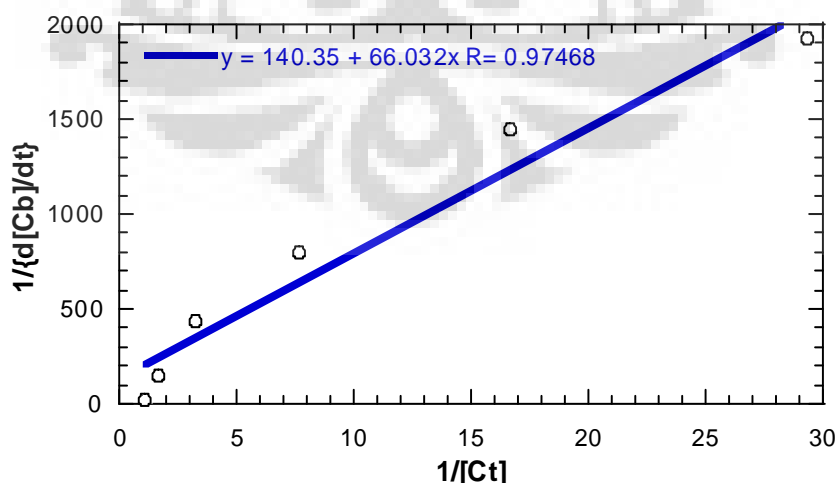
6.1. Pemodelan Hasil Percobaan Menggunakan Mekanisme Reaksi Michaelis-Menten Metode Linierisasi

Lamp. 6. 1 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi

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
0	7924714	1.73575511	634536	0.21345996	61148	0.00522020	1811	0.00070969
0.5	4585866	0.95056359	755456	0.25413783	5055	0.00043154	3602976	1.41191636
2	3006811	0.60010253	1064341	0.35804774	9975	0.00085156	5105086	2.00055577
6	1409364	0.30431327	1506941	0.50693981	120364	0.01027546	6500327	2.54731589
12	826984	0.13075778	1851998	0.62301809	355662	0.03036281	7655123	2.99985161
20	619634	0.06001133	2099863	0.70640068	399931	0.03414205	8500068	3.33096447
30	485931	0.03409299	1763641	0.59329452	329264	0.02810922	9296497	3.64306511
50	475936	0.02116624	1502623	0.50548722	240631	0.02054263	9923163	3.88863988

Lamp. 6. 2 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi

Reaction time (h)	Trigliserida Reaction product (mol/l)	Biodiesel 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	1.73575511	0.00070969	0					
0.5	0.95056359	1.41191636	30	1.41120667	30	0.047040222	21.25840292	1.052007472
2	0.60010253	2.00055577	120	0.588639413	90	0.006540438	152.8949608	1.666381901
6	0.30431327	2.54731589	360	0.54676012	240	0.002278167	438.9493516	3.286087347
12	0.13075778	2.99985161	720	0.452535726	360	0.001257044	795.5173022	7.64772835
20	0.06001133	3.33096447	1200	0.331112854	480	0.000689818	1449.6568	16.66352099
30	0.03409299	3.64306511	1800	0.312100644	600	0.000520168	1922.45678	29.33153958
50	0.02116624	3.88863988	3000	0.245574762	1200	0.000204646	4886.495616	47.24503768



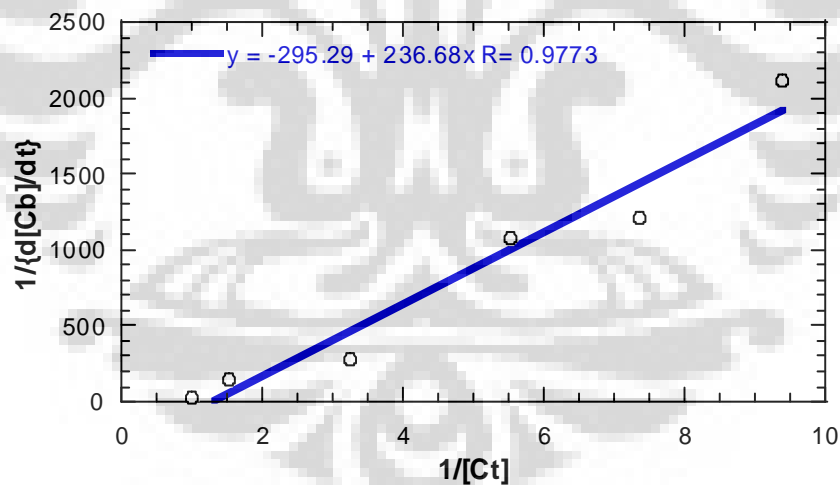
Lamp. 6. 3 Kurva perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T = 37°C)

Lamp. 6. 4 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi

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
0	7924714	1.73575511	1424536	0.47921850	61148	0.00522020	1811	0.00070969
0.5	4585866	1.00444513	1685456	0.56699283	1242	0.00010603	2552976	1.00044757
2	3006811	0.65858371	2708977	0.91130859	2816	0.00024040	4104264	1.60835861
6	1409364	0.30869389	3386941	1.13937787	3564	0.00030426	6300327	2.46894088
12	826984	0.18113483	3718933	1.25106104	3889	0.00033200	7155123	2.80391410
20	619634	0.13571883	2869863	0.96543116	2853	0.00024356	8163644	3.19912830
30	485931	0.10643377	2253641	0.75813209	1995	0.00017031	8886499	3.48239713
50	475936	0.10424456	1852623	0.62322835	1294	0.00011047	9383642	3.67721506

Lamp. 6. 5 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis ter-immobilisasi metode adsorpsi

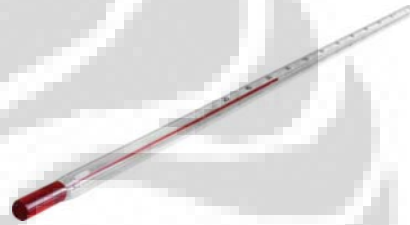
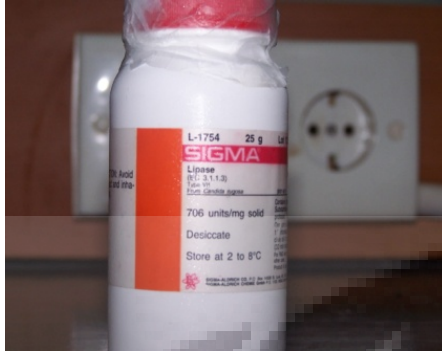
Reaction time (h)	Trigliserida Reaction product (mol/l)	Biodiesel Reaction product (mol/l)	Reaction time (min)	d[B] (mol/l)	dT (menit)	d[B]/dt	Y = 1/{d[B]/dt}	X = 1/[T]
0	1.73575511	0.00070969	0					
0.5	1.00444513	1.00044757	30	0.999737881	30	0.033324596	30.00786564	0.995574546
2	0.65858371	1.60835861	120	0.607911044	90	0.006754567	148.0479767	1.518409857
6	0.30869389	2.46894088	360	0.860582271	240	0.003585759	278.8809485	3.239455145
12	0.18113483	2.80391410	720	0.334973215	360	0.000930481	1074.712795	5.520749448
20	0.13571883	3.19912830	1200	0.395214205	480	0.000823363	1214.531244	7.368174537
30	0.10643377	3.48239713	1800	0.28326883	600	0.000472115	2118.129266	9.395513892
50	0.10424456	3.67721506	3000	0.194817932	1200	0.000162348	6159.597262	9.592826475

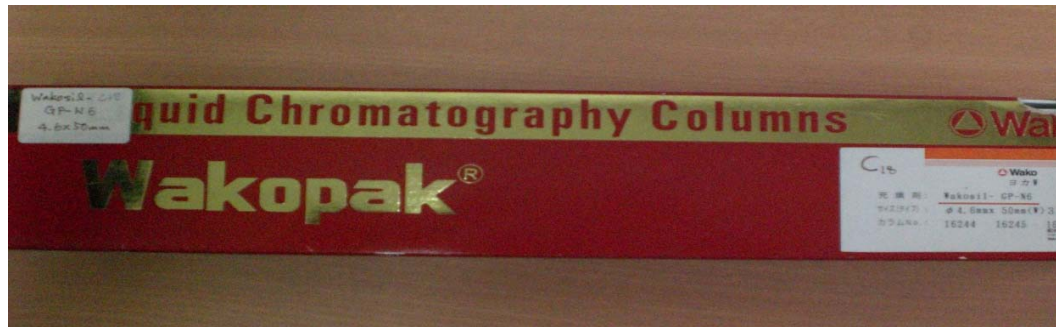


Lamp. 6. 6 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (Kondisi operasi : substrat = minyak jelantah, rasio mol reaktan = 1:12, t = 50 jam; T = 37°C)

Lampiran 7

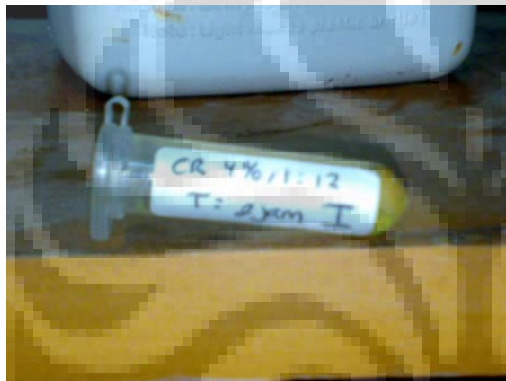
7.1. Dokumentasi Foto-foto











Lampiran 8

8.1. Contoh Penentuan Nilai *mr* (*molecular weight*) dari minyak nabati

Sumber: Adam Karl Khan

Table 11. Molecular weight of lipids

			Oil		Tallow	
			% as triglycerides	FFA	% as triglycerides	FFA
Palmitic	16:0	256.41	3.49	8.94	0.28	71.79
Stearic	18:0	284.47	0.85	2.41	0.22	62.58
Oleic	18:1	281.46	64.4	181.26	0.45	126.65
Linoleic	18:2	279.45	22.3	62.31	0.03	8.38
Linolenic	18:3	277.43	8.23	22.83	0	0
Myristic	14:0	229.35	0	0	0.02	4.58
Average molecular weights			847.40	277.77	836.09	274.01
Triglycerides						
Prime		847.40	~100% Triglycerides			
SaveAll		588.82	44% FFA and 66% Triglycerides			
Rapeseed Oil		847.40				

Sumber : Ketaren

Tabel 1. Komposisi Trigliserida Dalam Minyak Kelapa Sawit.

Trigliserida	Jumlah (%)
Tripalmitin	3 – 5
Dipalmito – Stearine	1 – 3
Oleo – Miristopalmitin	0 – 5
Oleo – Dipalmitin	21 – 43
Oleo- Palmitostearine	10 – 11
Palmito – Diolein	32 – 48
Stearo – Diolein	0 – 6
Linoleo - Diolein	3 – 12

Sumber : Ketaren , S . 1986.

Tabel 2. komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit.

Asam Lemak	Jumlah (%)
Asam Kaprilat	-
Asam kaproat	-
Asam Miristat	1,1 – 2,5
Asam Palmitat	40 – 46
Asam Stearat	3,6 – 4,7
Asam Oleat	30 – 45
Asam Laurat	-
Asam Linoleat	7 – 11

Lampiran 9

9.1. 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 triolet
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>)