



UNIVERSITAS INDONESIA

**SINTESIS BIODIESEL DARI MINYAK GORENG BEKAS
MELALUI RUTE NON ALKOHOL MENGGUNAKAN
BIOKATALIS TERIMMOBILISASI PADA REAKTOR
*PACKED BED***

SKRIPSI

**DYAH AYU PRAMESHWARI
0405060261**

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
KEKHUSUSAN TEKNIK KIMIA
DEPOK
JULI 2009**



UNIVERSITAS INDONESIA

**SINTESIS BIODIESEL DARI MINYAK GORENG BEKAS
MELALUI RUTE NON ALKOHOL MENGGUNAKAN
BIOKATALIS TERIMMOBILISASI PADA REAKTOR
*PACKED BED***

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik

**DYAH AYU PRAMESHWARI
0405060261**

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
KEKHUSUSAN TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2009**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

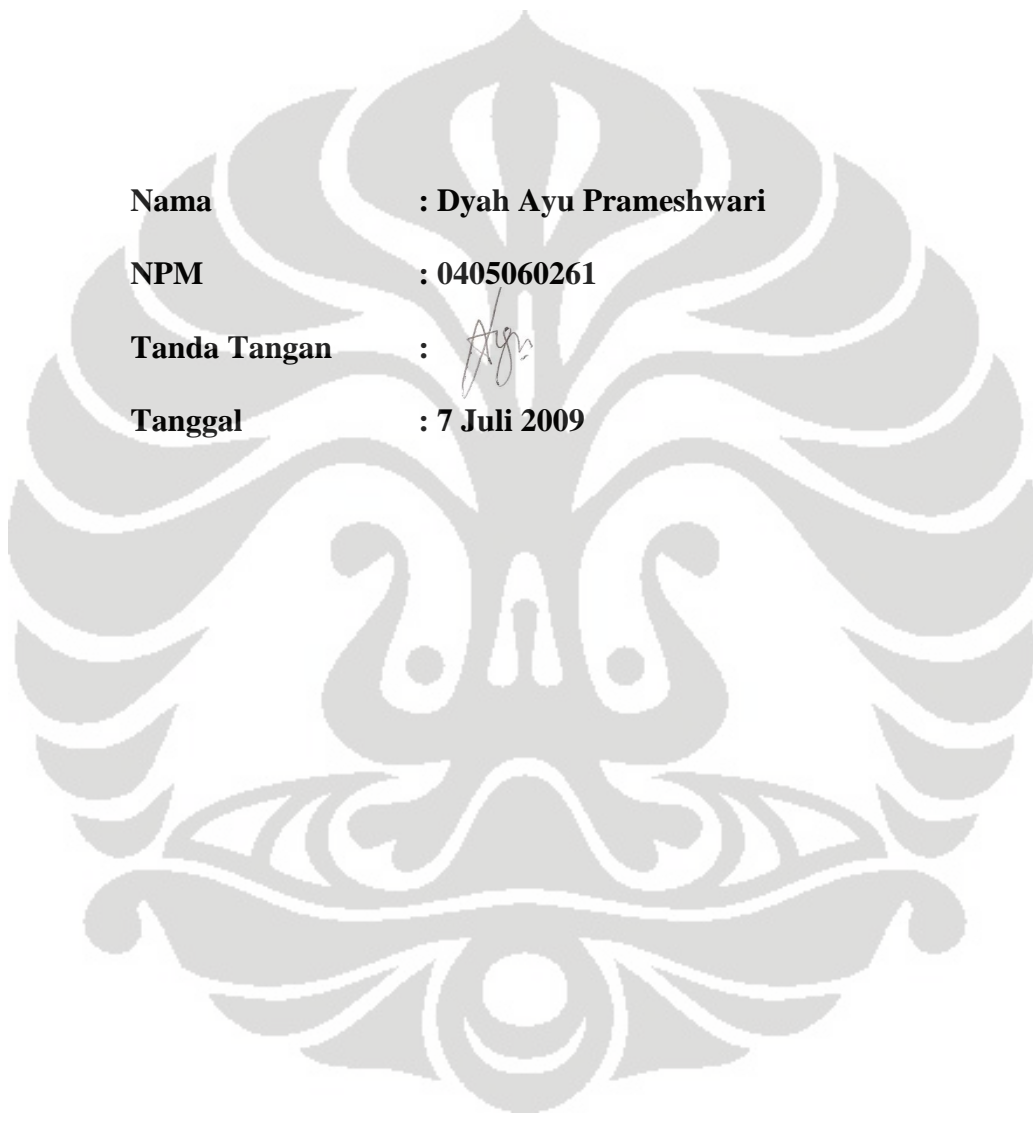
**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar**

Nama : Dyah Ayu Prameshwari

NPM : 0405060261

Tanda Tangan : 

Tanggal : 7 Juli 2009



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Dyah Ayu Prameshwari
NPM : 0405060261
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi :

Sintesis Biodiesel dari Minyak Goreng Bekas Melalui Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Terimmobilisasi pada Reaktor *Packed Bed*

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: Ir. Rita Arbianti, M.Si.	 (.....)
Pembimbing II	: Dr. Heri Hermansyah, S.T., M.Eng.	 (.....)
Penguji I	: Tania Surya Utami, S.T., M.T.	 (.....)
Penguji II	: Ir. Dianursanti, M.T.	 (.....)

Ditetapkan di : Depok, Jawa Barat, Indonesia

Tanggal : 7 Juli 2009

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas berkat dan rahmat-Nya skripsi ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Skripsi dengan judul **Sintesis Biodiesel dari Minyak Goreng Bekas Melalui Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Terimmobilisasi pada Reaktor *Packed Bed*** ini disusun untuk meraih gelar Sarjana Teknik di Program Studi Teknik Kimia Departemen Teknik Kimia FTUI.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan banyak bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Allah SWT karena atas segala kehendakNya saya diberi kesabaran dan kemampuan untuk dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Keluargaku atas kasih sayang, perhatian, doa, dan dukungan yang selalu diberikan selama ini.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Widodo Wahyu Purwanto, DEA selaku ketua Departemen Teknik Kimia FTUI.
4. Ibu Ir. Rita Arbianti, M.Si dan Bapak Dr. Heri Hermansyah, S.T., M.Eng selaku dosen pembimbing saya dalam skripsi ini. Terima kasih atas segala bantuan serta diskusinya.
5. Ibu Tania Surya Utami, S.T., MT atas bimbingan dan diskusi Ibu selama ini.
6. Wafa, Lila, Eja, Alba, Tika, Sutar, Ra, dan Arya sebagai "keluarga" satu perjuangan.
7. Haikal atas perhatian dan bantuannya dalam penyusunan skripsi ini. *Thanks for everything that you gave to me.*
8. Sera, Lila, Adel, Itheunk, and Yendha, *my bestfriends. How sweet of you girls always support me in time I need most.*
9. Seluruh kawan GP 2005 atas suka dan duka yang kita tanggung bersama selama ini. *Love you all.*
10. Mang Ijal, Kang Jajat, Mas Eko, Mas Heri, Pak Sriyono, Pak Mugeni yang selalu membantu penulis. Terimakasih atas bantuannya.

11. Pihak-pihak lainnya yang mendukung dan membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan tugas skripsi ini. Untuk itu, saran dan kritik sangat penulis harapkan untuk memperbaiki penulisan di masa yang akan mendatang.

Depok, Juli 2009

Penulis



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

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

Nama : Dyah Ayu Prameshwari
NPM : 0405060261
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 :

**Sintesis Biodiesel dari Minyak Goreng Bekas Melalui Rute Non Alkohol
Menggunakan Biokatalis Terimmobilisasi pada Reaktor *Packed Bed***

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 : 7 Juli 2009

Yang menyatakan



(Dyah Ayu Prameshwari)

ABSTRAK

Nama : Dyah Ayu Prameshwari
Program Studi : Teknik Kimia
Judul : Sintesis Biodiesel dari Minyak Goreng Bekas
Melalui Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis
Terimmobilisasi pada Reaktor *Packed Bed*

Candida rugosa lipase terimmobilisasi digunakan sebagai biokatalis dalam reaksi interesterifikasi minyak goreng bekas dengan metil asetat pada reaktor *packed bed*. Reaktan dan produk dianalisa menggunakan HPLC. Pengaruh waktu tinggal terhadap konversi biodiesel dan stabilitas dari biokatalis yang digunakan diteliti lebih lanjut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biokatalis ini dapat mengkonversi 71,5% trigliserida dari minyak kelapa sawit bekas. Uji stabilitas menunjukkan bahwa biokatalis terimmobilisasi ini masih memiliki aktivitas yang baik untuk 50 jam reaksi secara kontinu. Model kinetika berbasis Ping Pong Bi Bi mampu menggambarkan reaksi ini dengan ditandai hasil fitting yang cukup sesuai dengan data hasil eksperimen.

Kata kunci :

Biodiesel, Minyak goreng bekas, *Candida rugosa* lipase, Interesterifikasi, Rute non alkohol, Kinetika

ABSTRACT

Name : Dyah Ayu Prameshwari
Study Program: Chemical Engineering
Title : Synthesis of Biodiesel from Waste Cooking Oil
Through Non Alcohol Route Using Immobilized
Biocatalyst at Packed Bed Reactor

Immobilized *Candida rugosa* lipase is used as a biocatalyst in interesterification of used cooking oil with methyl acetate in packed bed reactor. The reactants and products were analyzed using HPLC. The effect of residence time and operational stability were investigated. The result showed that this biocatalyst can convert 71,5% fatty acid from triglyceride in used palm oil. Stability test showed that this immobilized biocatalyst had still good activity for 50 hour without appreciable loss in substrate conversion. Kinetic model based on Ping Pong Bi Bi Menten mechanism can describe this reaction with comparing experiment data result to fitting data result.

Keywords : Biodiesel, Used cooking oil, *Candida rugosa lipase*, Interesterifikasi, Non Alcohol Route, Kinetics

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vi
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Batasan Penelitian	5
1.5 Sistematika Penulisan	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Biodiesel	7
2.1.1 Bahan Baku	9
2.1.2 Kelebihan Biodiesel	12
2.2 Minyak Goreng Bekas	12
2.2.2 Perlakuan Awal Minyak Goreng Bekas sebagai Bahan Baku Biodiesel	13
2.3 Sintesis Biodiesel	13
2.3.1 Pengaruh Katalis	14
2.3.2 Pengaruh Temperatur.....	18
2.3.3 Pengaruh Kecepatan Pengadukan	20
2.3.4 Pengaruh Waktu Transesterifikasi	20
2.3.5 Pengaruh Rasio Molar Reaktan.....	20
2.3.6 Sintesis Biodiesel Melalui Rute Alkohol.....	21
2.3.7 Sintesis Biodiesel Melalui Rute Baru Non Alkohol	24
2.4 Lipase	27
2.4.1 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Lipase.....	29
2.5 Immobilisasi Enzim	29
2.5.1 Metode Immbolisasi Enzim	31
2.5.2 Zeolit Sebagai Material Penyangga	32
2.5.3 Metode Adsorpsi Biokatalis Menggunakan Zeolit sebagai Material Penyangga	33
2.6 Reaktor Packed Bed	36
2.7 Reaksi Michaelis-Menten	37
2.8 Pemodelan Reaksi Enzimatis	41
2.8.1 <i>Uniresponse</i> dan <i>Multiresponse</i>	41
2.9 State of The Art.....	42
2.9.1 Riset Rute Alkohol : Katalis Heterogen.....	42
2.9.2 Riset Rute Non Alkohol di Dunia	43

2.9.3 Riset Rute Non Alkohol di Indonesia	44
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN.....	48
3.1 Alur Penelitian	48
3.2 Bahan dan Alat.....	50
3.2.1 Bahan	50
3.2.2 Alat.....	52
3.3 Prosedur Percobaan.....	55
3.3.1 Rancang Reaktor Kontinyu.....	55
3.3.2 <i>Set Up</i> Reaktor Kontinyu	56
3.3.3 Preparasi Minyak Goreng Bekas.....	57
3.3.4 Percobaan Penentuan Enzim <i>Loading</i>	58
3.3.5 Percobaan Immobilisasi Biokatalis	60
3.3.6 Percobaan Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Terimmobilisasi pada Reaktor Kontinyu dengan Variasi Laju Alir	61
3.3.7 Percobaan Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi dengan Variasi 5 Jenis Minyak Goreng Bekas	63
3.3.8 Pemodelan Reaksi Enzimatis	65
3.3.9 Teknik Analisis Data.....	68
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	73
4.1 Hasil Perancangan Reaktor Kontinyu	73
4.2 Hasil Percobaan Penentuan Enzim Loading	75
4.2.1 Hasil Perhitungan Enzim <i>Loading</i>	76
4.3 Kurva Hasil HPLC	79
4.4 Pengaruh Waktu Tinggal Terhadap Konversi Biodiesel yang Dihasilkan ..	80
4.5 Hasil Percobaan Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi dengan Variasi Lima Jenis Minyak Goreng Bekas	84
4.5.1 Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi Menggunakan Substrat Minyak Kelapa Sawit Bekas	86
4.5.2 Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi Menggunakan Substrat Minyak Kacang Kedelai Bekas	91
4.5.3 Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi Menggunakan Substrat Minyak Jagung Bekas	94
4.5.4 Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi Menggunakan Substrat Minyak Kelapa Bekas	97
4.5.5 Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi Menggunakan Substrat Minyak Biji Bunga Canola Bekas	99
4.6 Pengaruh Jenis Minyak Bekas yang Digunakan sebagai Substrat	102
4.7 Pengaruh Immobilisasi Biokatalis pada Zeolit dengan Metode Adsorpsi .	105
4.8 Pengaruh Enzim Loading Terhadap Konversi Bioidesel yang Dihasilkan	107
4.9 Hasil Pemodelan Enzimatik	108
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	113
5.1 Kesimpulan	113
5.2 Saran	113
DAFTAR REFERENSI.....	115

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Spesifikasi biodiesel untuk mesin <i>diesel</i>	8
Tabel 2. 2 Spesifikasi standar biodiesel.....	8
Tabel 2. 3 Kandungan asam lemak yang terikat pada trigliserida minyak sawit...11	
Tabel 2. 4 Pengaruh temperatur pada transesterifikasi minyak kelapa sawit (Ma, 1999)	19
Tabel 2. 5 Perbandingan antara metode katalis basa dengan.....	24
Tabel 2. 6 Mikroorganisme penghasil lipase	29
Tabel 2. 7 Metode-metode immobilisasi enzim.....	31
Tabel 2. 8 Perbedaan adsorpsi fisik dan kimia.....	34
Tabel 2. 9 Keberadaan riset yang dilakukan.....	46
Tabel 2. 10 Rangkuman <i>state of the art</i>	47
Tabel 3. 1 Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian	50
Tabel 3. 2 Alat-alat yang digunakan dalam penelitian.....	52
Tabel 3. 3 Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian	58
Tabel 3. 4 Perbandingan volum untuk larutan buffer	59
Tabel 3. 5 Kondisi operasi untuk uji aktivitas variasi laju alir	62
Tabel 3. 6 Kondisi reaksi untuk uji stabilitas.....	64
Tabel 3. 7 Rumus-rumus pengolahan data.....	70
Tabel 4. 1 Data kinetika <i>batch</i>	73
Tabel 4. 2 Hasil perhitungan massa katalis.....	74
Tabel 4. 3 Presentase enzim <i>loading</i>	77
Tabel 4. 4 Hasil pengamatan waktu tinggal.....	80
Tabel 4. 5 Bilangan iodine untuk berbagai jenis minyak (Knothe et al., 2004) ..105	
Tabel 4. 6 Contoh hasil perhitungan metode Runga-Kutta-Felburg untuk model A	110
Tabel 4. 7 Contoh hasil perhitungan konsentrasi biodiesel untuk model A	111
Tabel 4. 8 Nilai parameter θ dan <i>error</i> untuk ketiga model.....	112

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur trigliserida pada minyak kelapa sawit.....	9
Gambar 2. 2 Struktur molekul asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh	9
Gambar 2. 3 Proses transesterifikasi secara umum.....	14
Gambar 2. 4 Mekanisme reaksi transesterifikasi dengan katalis asam (Schuchardt, 1998)	15
Gambar 2. 5 Mekanisme reaksi transesterifikasi dengan katalis basa (Sridharan et al., 1956)	16
Gambar 2. 6 Reaksi saponifikasi	17
Gambar 2. 7 Reaksi kalium karbonat dengan alkohol	17
Gambar 2. 8 Reaksi <i>overall</i> transesterifikasi minyak nabati dengan alkohol (Ma, 1999)	22
Gambar 2. 9 Reaksi bertingkat transesterifikasi minyak nabati dengan alkohol (Freedman, 1986).....	22
Gambar 2. 10 Kerangka konseptual.....	25
Gambar 2. 11 Reaksi interesterifikasi secara umum (Hamilton, 1989).....	26
Gambar 2. 12 Reaksi interesterifikasi minyak nabati dengan metil asetat (Xu et al., 2005)	26
Gambar 2. 13 Reaksi bertingkat interesterifikasi minyak nabati	27
Gambar 2. 14 Skema metode adsorpsi (<i>Immobilization of Enzyme and Cells</i> , 2006)	34
Gambar 2. 15 Grafik pengaruh temperatur terhadap jumlah zat teradsorp.....	36
Gambar 2. 16 Grafik model Michaelis Menten dalam menentukan nilai K_M	40
Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian.....	49
Gambar 3. 2 <i>Candida rugosa</i> lipase	50
Gambar 3. 3 Lima jenis minyak goreng bekas yang digunakan	50
Gambar 3. 4 Zeolit alam lampung	50
Gambar 3. 5 Metil asetat pro analisis	50
Gambar 3. 6 <i>Phosphate buffer</i> 0,05 M, pH 7	51
Gambar 3. 7 <i>Lowry reagent</i>	51
Gambar 3. 8 <i>Phenol reagent</i>	51
Gambar 3. 9 <i>Beaker glass</i>	52
Gambar 3. 10 Pipet volumetrik 10 mL	52
Gambar 3. 11 Termometer	52
Gambar 3. 12 Reaktor <i>packed bed</i>	52
Gambar 3. 13 Selang silikon.....	53
Gambar 3. 14 <i>Water bath</i>	53
Gambar 3. 15 <i>Microtube</i>	53
Gambar 3. 16 Timbangan digital	53
Gambar 3. 17 <i>Syringe auto transfepette</i>	53
Gambar 3. 18 Pompa air	53
Gambar 3. 19 <i>Stopwatch</i>	54
Gambar 3. 20 <i>Magnetic stirrer</i>	54
Gambar 3. 21 Cawan dan alat tumbuk keramik.....	54
Gambar 3. 22 Alat ayak	54

Gambar 3. 23 <i>Shaker</i>	54
Gambar 3. 24 <i>Syringe pump</i>	54
Gambar 3. 25 <i>Plastic syringe</i>	55
Gambar 3. 26 <i>Oven</i>	55
Gambar 3. 27 <i>UV spectrophotometer</i>	55
Gambar 3. 28 <i>HPLC</i>	55
Gambar 3. 29 Skematik diagram reaktor kontinyu interesterifikasi sintesis.....	57
Gambar 3. 30 Diagram alir preparasi material penyangga.....	60
Gambar 3. 31 Diagram alir prosedur immobilisasi biokatalis.....	61
Gambar 3. 32 Diagram alir percobaan sintesis biodiesel melalui rute non alkohol dengan variasi laju alir (substrat: minyak goreng bekas; laju alir = 1 mL/jam, 2 mL/jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam; T = 37 ⁰ C).....	63
Gambar 3. 33 Diagram alir uji stabilitas lipase terimmobilisasi reaksi interesterifikasi biodiesel (substrat: minyak goreng bekas; t = 50 jam; T = 37 ⁰ C).....	64
Gambar 3. 34 Diagram alir teknik analisis data percobaan immobilisasi enzim.....	71
Gambar 3. 35 Diagram alir teknik analisis pemodelan reaksi enzimatik.....	71
Gambar 3. 36 Diagram alir teknik analisis pemodelan reaksi enzimatik secara rinci.....	72
Gambar 4. 1 Disain reaktor beserta dimensinya.....	75
Gambar 4. 2 Konsentrasi enzim sebelum dan setelah immobilisasi dengan presentase enzim <i>loading</i> sebesar 97,70 %.....	78
Gambar 4. 3 Kurva standar HPLC.....	79
Gambar 4. 4 Profil HPLC untuk sintesis biodiesel menggunakan rute non-alkohol.....	79
Gambar 4. 5 Perbandingan waktu tinggal teoritis dengan eksperimen.....	81
Gambar 4. 6 Perbandingan konversi biodiesel yang dihasilkan dari tiap waktu tinggal yang berbeda.....	82
Gambar 4. 7 Perbandingan <i>yield</i> biodiesel yang dihasilkan dari tiap waktu tinggal yang berbeda.....	83
Gambar 4. 8 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu tinggal menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 1 mL/jam, 2 mL/jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	83
Gambar 4. 9 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu tinggal menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 1 mL/jam, 2 mL/jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	84
Gambar 4. 10 Uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan lima jenis minyak bekas berbeda sebagai substrat (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	85
Gambar 4. 11 Konversi biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kelapa sawit bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal selama 2 jam 45 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	86
Gambar 4. 12 <i>Yield</i> biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kelapa sawit bekas sebagai substrat dengan	

waktu tinggal selama 2 jam 45 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	87
Gambar 4. 13 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu dengan substrat minyak kelapa sawit bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	88
Gambar 4. 14 Konsentrasi metil oleat (biodiesel) dalam variasi waktu dengan substrat minyak kelapa sawit bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi(kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	88
Gambar 4. 15 Perbandingan konversi biodiesel dari rute alkohol dan non alkohol menggunakan minyak kelapa sawit bekas sebagai substrat.....	90
Gambar 4. 16 Perbandingan konversi biodiesel dari biokatalis terimmobilisasi berbeda dengan substrat yang sama (substrat : minyak kelapa sawit bekas, kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, t = 50 jam dan τ =2 jam 45 menit, dan T = 37 °C).....	91
Gambar 4. 17 Konversi biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kacang kedelai bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal selama 2 jam 20 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	92
Gambar 4. 18 <i>Yield</i> biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kacang kedelai bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal selama 2 jam 20 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	92
Gambar 4. 19 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu dengan substrat minyak kacang kedelai bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	93
Gambar 4. 20 Konsentrasi metil oleat (biodiesel) dalam variasi waktu dengan substrat minyak kacang kedelai bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi(kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	93
Gambar 4. 21 Konversi biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak jagung bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 15 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	94
Gambar 4. 22 <i>Yield</i> biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak jagung bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 15 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	95
Gambar 4. 23 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu dengan substrat minyak jagung bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	96
Gambar 4. 24 Konsentrasi biodiesel dalam variasi waktu dengan substrat minyak jagung bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi(kondisi	

operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	96
Gambar 4. 25 Konversi biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kelapa bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 15 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	97
Gambar 4. 26 <i>Yield</i> biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kelapa bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 15 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	98
Gambar 4. 27 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu dengan substrat minyak kelapa bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	98
Gambar 4. 28 Konsentrasi biodiesel dalam variasi waktu dengan substrat minyak kelapa bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi(kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	99
Gambar 4. 29 Konversi biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak biji bunga canola bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 10 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	100
Gambar 4. 30 <i>Yield</i> biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak biji bunga canola bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 10 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	101
Gambar 4. 31 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu dengan substrat minyak biji bunga canola bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	101
Gambar 4. 32 Konsentrasi biodiesel dalam variasi waktu dengan substrat minyak biji bunga canola bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi(kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	102
Gambar 4. 33 Hasil uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan lima jenis minyak bekas berbeda sebagai substrat pada kondisi <i>steady</i> , jam ke-25 (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C).....	103
Gambar 4. 34 Konsentrasi metil oleat (biodiesel) menggunakan biokatalis terimmobilisasi untuk lima jenis minyak bekas berbeda sebagai substrat (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)	103
Gambar 4. 35 Perbandingan konversi biodiesel menggunakan	106
Gambar 4. 36 Perbandingan konversi biodiesel yang dihasilkan dari minyak goreng baru dan bekas	107

Gambar 4. 37 Pengaruh jumlah enzim *loading* terhadap konversi biodiesel yang dihasilkan (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 1 mL/jam, 2 mL/jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)108
Gambar 4. 38 *Fitting* antara ketiga model dengan data eksperimen untuk konsentrasi ikatan gliserida yang tidak bereaksi.....110
Gambar 4. 39 *Fitting* antara ketiga model dengan data eksperimen untuk konsentrasi biodiesel.....111



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kenaikan harga bahan bakar minyak (BBM) dunia menginduksi terjadinya krisis energi belakangan ini. Dan hal tersebut membuat Indonesia perlu mencari sumber-sumber bahan bakar alternatif yang mungkin dikembangkan. Sumber daya energi yang berasal dari minyak bumi akan semakin menipis persediaannya seiring dengan bertambahnya industri pengguna mesin *diesel* yang akan mengakibatkan peningkatan konsumsi bahan bakar minyak, khususnya solar. Hal tersebut dapat mengakibatkan krisis, karena kebutuhan konsumsi solar tidak disertai dengan ketersediaan sumber daya energi yang memadai. Oleh karena itu, dibutuhkan bahan bakar alternatif untuk mengatasi permasalahan tersebut (Tahar, 2005).

Biodiesel merupakan salah satu bahan bakar alternatif ramah lingkungan yang terbuat dari minyak nabati dan minyak hewani yang berasal dari sumber daya yang dapat diperbarui. Beberapa bahan baku untuk pembuatan biodiesel antara lain minyak kelapa sawit (CPO), kedelai, bunga matahari, jarak pagar dan beberapa jenis tumbuhan lainnya (Knothe, 1996). Dari beberapa bahan baku tersebut di Indonesia yang memiliki prospek untuk diolah menjadi biodiesel adalah minyak kelapa sawit (CPO). Sayangnya, harga minyak kelapa sawit (CPO) sebagai bahan baku biodiesel semakin meningkat seiring dengan langkanya minyak bumi. Alternatif bahan baku biodiesel lain yang berpotensi adalah minyak goreng bekas atau minyak jelantah (Satria, 2005).

Minyak goreng bekas merupakan limbah yang sangat berbahaya apabila dikonsumsi, karena mengandung senyawa radikal yang bersifat karsinogenik. Sementara itu, apabila minyak goreng bekas ini dibuang ke lingkungan akan dapat mencemari lingkungan sekitar (Elizabeth, 2008). Tapi kini minyak goreng bekas atau minyak jelantah tidak akan lagi menjadi barang buangan. Minyak goreng bekas tersebut dapat digunakan sebagai bahan baku biodiesel. Hal ini dikarenakan minyak goreng bekas masih memiliki kandungan trigliserida.

Keunggulan energi biodiesel ini adalah reaksi pembentukan energi yang dihasilkan mesin *diesel* tersebut lebih sempurna dibandingkan solar. Biodiesel yang berasal dari minyak goreng bekas sifatnya ramah lingkungan, tidak mencemari air, udara, maupun tanah karena mudah terurai secara biologis dan bahan bakunya dapat diperbaharui.

Secara konvensional, biodiesel disintesis melalui reaksi transesterifikasi trigliserida dengan alkohol menggunakan bantuan katalis alkali (Xu et al., 2005). Namun, penggunaan katalis alkali dalam sintesis biodiesel ini menimbulkan beberapa masalah, diantaranya katalis alkali bercampur homogen dengan produk, sehingga proses pemurnian produknya relatif sulit. Selain itu, katalis alkali sendiri dapat menimbulkan reaksi samping, yakni reaksi penyabunan. Reaksi samping sangat tidak diinginkan hadir di dalam sintesis ini. Hal tersebut dikarenakan dapat membebani proses pemurnian produk dan menurunkan konversi biodiesel. Untuk mengatasi masalah di atas, diperlukan katalis yang tidak ikut bercampur secara homogen dan mampu mengarahkan reaksi secara spesifik menghasilkan produk yang diinginkan tanpa reaksi samping.

Belakangan ini penelitian enzim lipase sebagai biokatalis terus dikembangkan. Penggunaan enzim lipase sebagai biokatalis untuk sintesis biodiesel sangat menjanjikan karena mampu memperbaiki kelemahan katalis alkali, yakni mampu mengarahkan reaksi secara spesifik tanpa adanya reaksi samping yang tidak diinginkan (Vicente et al., 2004). Bagaimanapun juga, penggunaan lipase sebagai biokatalis untuk sintesis biodiesel masih menimbulkan masalah. Lingkungan beralkohol seperti metanol menyebabkan lipase terdeaktivasi secara cepat dan stabilitasnya dalam mengkatalisis reaksi menjadi buruk (Xu et al., 2005). Untuk itu, pada tahun 2004, Du melakukan suatu penelitian mengenai sintesis biodiesel dengan menggunakan metil asetat, pensuplai gugus metil (*acyl acceptor*) sebagai pengganti metanol (Xu et al., 2005). Lebih lanjut, Xu dkk menggunakan enzim lipase sebagai biokatalis dalam produksi biodiesel melalui rute non alkohol. Hasilnya, selain ramah lingkungan, lipase sebagai katalis dalam pembuatan biodiesel memiliki selektivitas dan efisiensi yang tinggi dalam mendapatkan produk. Namun demikian, perlu diperhatikan bahwa penggunaan lipase sebagai katalis juga memiliki kelemahan

yaitu harganya mahal dan juga enzim yang terlarut dalam media cair sangat sulit dipisahkan dari produk yang dihasilkan. Untuk memecahkan masalah ini dikembangkanlah teknik immobilisasi enzim, suatu teknik dimana enzim ditambahkan ke dalam suatu *support* (material penyangga) sehingga enzim tersebut terperangkap dalam *support* dan tidak bercampur dengan larutan reaksi (D'Souza, 2008). Dengan mengimmobilisasi enzim ke dalam *support* maka akan diperoleh keuntungan, yakni enzim tersebut dapat digunakan berulang-ulang. Tentunya hal tersebut dapat memangkas biaya produksi biodiesel yang relatif mahal jika menggunakan enzim sebagai katalis homogen.

Walaupun lipase sebagai biokatalis memiliki keunggulan dalam sintesis biodiesel, aplikasinya masih lambat dalam industri. Untuk penggunaannya yang lebih luas di industri, maka proses secara teknis maupun ekonomi harus lebih layak. Dengan mempertimbangkan kedua hal tersebut, maka *packed bed reactor* (PBR) dinilai sangat tepat penggunaannya dalam skala industri (Watanabe et al., 2001). *Packed bed reactor* merupakan salah satu jenis reaktor yang paling banyak digunakan untuk mengkontakan solid-fluida dalam penggunaan katalis heterogen, karena (Watanabe et al., 2001):

1. Biokatalis terimmobilisasi dapat digunakan secara berulang tanpa perlu dilakukan proses pemisahan terlebih dahulu
2. Cocok untuk penggunaan yang lama dan produksi dalam skala besar
3. Biaya produksi lebih efektif dibandingkan dengan reaktor *batch*
4. Rasio molar antara substrat dengan enzim lebih rendah dibanding menggunakan reaktor *batch*

Hal yang menarik adalah Xu dkk berpendapat bahwa penggantian alkohol dengan alkil asetat ini dapat menghasilkan produk samping, yakni *triacylglycerol* yang memiliki nilai jual lebih tinggi dibanding produk samping alkohol yaitu *glycerol* (Du et al., 2004), sehingga dapat diasumsikan bahwa sintesis biodiesel melalui rute non alkohol memiliki nilai lebih. Sementara itu, untuk menghemat biaya produksi biodiesel dan meningkatkan stabilitas biokatalis diperlukan penggunaan enzim yang diimmobilisasi sebagai biokatalis. Berangkat dari paparan di atas, maka perlu

dilakukan penelitian mengenai sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi pada reaktor kontinyu.

1.2 Rumusan Masalah

Minyak goreng bekas merupakan alternatif termurah sebagai bahan baku biodiesel. Oleh karena itu, dengan modifikasi sintesis biodiesel melalui rute non alkohol dengan penggunaan lipase terimmobilisasi sebagai katalis, diajukan beberapa rumusan masalah, yaitu:

1. Pada laju alir substrat berapakah diperoleh konversi biodiesel yang optimal dalam sintesis biodiesel melalui rute non alkohol pada reaktor *packed bed*?
2. Jenis minyak manakah yang menghasilkan konversi biodiesel yang paling optimal dalam sintesis biodiesel dari minyak goreng bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi sebagai katalis heterogen pada reaktor *packed bed*?
3. Hingga jam ke berapakah *Candida rugosa* lipase sebagai biokatalis masih memiliki aktivitas yang baik?
4. Bagaimanakah hubungan waktu tinggal dengan konversi biodiesel yang dihasilkan dalam sintesis biodiesel menggunakan biokatalis terimmobilisasi melalui rute non alkohol pada reaktor *packed bed*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan secara umum dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan rumusan terbaik dalam sintesis biodiesel dengan menggunakan minyak goreng bekas sebagai substrat melalui rute non alkohol dengan menggunakan enzim lipase terimmobilisasi sebagai katalis.

Sementara itu tujuan khusus yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk:

1. Menentukan laju alir substrat yang dapat menghasilkan konversi biodiesel optimal dalam sintesis biodiesel melalui rute non alkohol pada reaktor *packed bed*.

2. Menentukan jenis minyak yang dapat menghasilkan konversi biodiesel optimal dalam sintesis biodiesel dari minyak goreng bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi sebagai katalis heterogen pada reaktor *packed bed*.
3. Mengetahui stabilitas *Candida rugosa* lipase sebagai biokatalis pada sistem reaktor *packed bed*.
4. Mengetahui hubungan waktu tinggal dengan konversi biodiesel yang dihasilkan dalam sintesis biodiesel menggunakan biokatalis terimmobilisasi melalui rute non alkohol pada reaktor *packed bed*.

1.4 Batasan Penelitian

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

1. Biokatalis yang digunakan sebagai katalis dalam sintesis biodiesel pada penelitian ini adalah enzim *Candida rugosa* lipase.
2. Biokatalis diimmobilisasi pada zeolit sebagai *support* dengan menggunakan metode adsorpsi.
3. Substrat yang dipilih dalam mensistesis biodiesel adalah minyak goreng bekas dari berbagai jenis minyak nabati (minyak kelapa sawit, minyak kacang kedelai, minyak jagung, minyak kelapa, dan minyak biji bunga canola) yang berasal dari limbah rumah tangga dalam negeri.
4. Uji aktivitas yang dipilih dalam mensistesis biodiesel adalah dengan menggunakan reaktor *packed bed*.
5. Pensuplai gugus metil dalam sintesis biodiesel ini adalah metil asetat.
6. Variasi laju alir dilakukan dengan menggunakan substrat minyak kelapa sawit bekas.

1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan yang digunakan dalam skripsi ini adalah:

BAB I : PENDAHULUAN

Bab ini terdiri dari dari latar belakang, rumusan masalah, tujuan penelitian, pembatasan masalah, dan sistematika penulisan.

BAB II : TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini berisi mengenai prinsip dasar ilmu yang berkaitan dengan penelitian dari berbagai pustaka. Bab ini lebih menggali dalam *state of the art* dari penelitian yang dilakukan.

BAB III : METODE PENELITIAN

Bab ini terdiri dari penjelasan diagram alir penelitian, bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian, prosedur yang dilakukan pada percobaan, serta teknik analisis data.

BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini berisi mengenai hasil dan analisis-*analisis* dari hasil penelitian tersebut.

BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN

Bab ini berisi mengenai kesimpulan dari penelitian ini dan saran-saran yang diajukan untuk keberlangsungan penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biodiesel

Biodiesel didefinisikan sebagai bahan bakar yang terdiri dari senyawa mono alkil ester. Biodiesel telah disepakati oleh *Department of Energy (DOE)*, *Environmental Protection Agency (EPA)* dan *American Society of Testing Materials (ASTM)* sebagai energi alternatif yang berasal dari asam lemak yang bersumber dari *renewable lipid* (Howell, 2008). Biodiesel adalah salah satu jenis bahan bakar yang terbuat dari minyak nabati (The Biodiesel Handbook, 2007). Pada dasarnya, biodiesel merupakan senyawa asam lemak alkil ester yang dihasilkan dari reaksi antara minyak nabati dan alkohol berlebih dengan menggunakan suatu katalis. Biodiesel terbentuk melalui transesterifikasi. Proses transesterifikasi merupakan perubahan bentuk dari satu jenis ester menjadi bentuk ester yang lain (Nur Alamsyah, 2008). Biodiesel tersusun dari berbagai macam ester asam lemak yang dapat diproduksi dari minyak-minyak tumbuhan. Dibandingkan solar, biodiesel memiliki sifat yang ramah lingkungan sehingga mempunyai efek maksimum untuk daerah yang sensitif terhadap adanya tumpahan minyak. Pusat kota yang penuh dengan aktivitas manusia, ruangan yang tertutup seperti pergudangan, pabrik, pengolahan makanan, gedung bertingkat, pertambangan bawah tanah akan memperoleh manfaat yang sangat besar dengan adanya biodiesel (Nasiri, 2008).

Biodiesel atau *fatty acid methyl esters (FAME)* dapat dipergunakan dengan mudah karena dapat bercampur dengan segala komposisi dengan minyak solar sebab memiliki sifat-sifat fisik yang mirip dengan solar biasa sehingga dapat diaplikasikan langsung untuk mesin-mesin *diesel* tanpa perlu modifikasi yang signifikan terhadap mesin tersebut. Dengan hanya menggunakan campuran 20 persen dari biodiesel dan minyak bumi dapat digunakan untuk hampir semua mesin *diesel* (Supranto, 2002). Secara umum, karakteristik biodiesel untuk konsumsi mesin *diesel* adalah sebagai berikut (Nasiri, 2008):

Tabel 2. 1 Spesifikasi biodiesel untuk mesin *diesel*

Karakteristik Biodiesel	
Komposisi	Metil Ester
Bilangan Setana	55
Densitas, gram/mL	0,8624
Viskositas, cSt	5,55
Titik Kilat, °C	172
Energi yang dihasilkan, MJ/Kg	40,1

Penggunaan biodiesel dapat menurunkan fraksi karbon dari partikel padatan. Hal tersebut karena dalam biodiesel terdapat atom oksigen yang mendukung terjadinya oksidasi sempurna karbon monoksida menjadi karbon dioksida (CO₂). Dibandingkan solar, biodiesel memiliki sifat yang ramah lingkungan. Di bawah ini adalah spesifikasi standar dari biodiesel:

Tabel 2. 2 Spesifikasi standar biodiesel

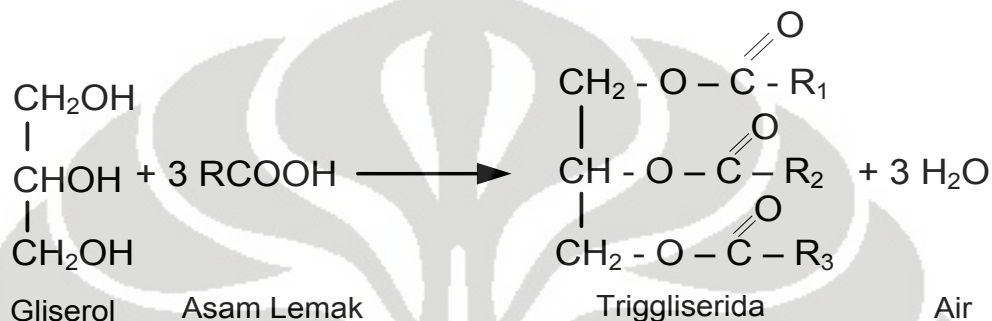
Karakteristik	Unit	Min.	Maks.	Metode ASTM
Bilangan setana		40	-	D 613
Indeks setana terhitung		43	-	D 976
Kinematika viskositas pada 40 °C		1,9	6	D 445
Titik tuang	°C	-15	16	D 97
Titik nyala api	°C	100	-	D 93
Kandungan sulfur	% wt	0	0,05	D 1551
Kandungan air	% wt	-	0,05	D 1796
Kandungan abu	% wt	-	0,02	D 482
Jumlah total asam	mg KOH/gr	-	0,8	D 664
Bilangan iodine		-	135	-

Sumber: U.S. Department of Energy (DOE) by The National Renewable Energy Laboratory, September 2001

2.1.1 Bahan Baku

2.1.1.1 Trigliserida

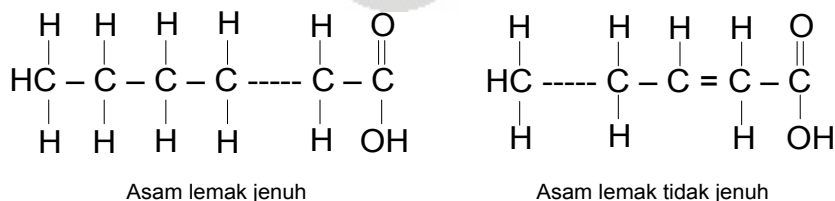
Seperti halnya lemak dan minyak lainnya, minyak kelapa sawit terdiri atas trigliserida yang merupakan ester dari gliserol dengan tiga molekul asam lemak menurut reaksi sebagai berikut :



Gambar 2. 1 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. R_1 , R_2 , dan R_3 disebut asam lemak yang 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. 2 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. Lipid merupakan senyawa yang penting bagi organisme, karena berperan sebagai komponen membran sel, menghasilkan energi yang tinggi untuk proses metabolisme, dan juga sebagai cadangan makanan.

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

Asam lemak adalah organik berantai panjang yang mempunyai 4-24 atom karbon. Asam lemak tersusun oleh gugus karboksil yang bersifat polar, dan rantai hidrokarbon panjang tersebut menyebabkan trigliserida tidak dapat larut dalam air.

Tabel 2. 3 Kandungan asam lemak yang terikat pada trigliserida minyak sawit

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

2.1.1.2 Minyak Nabati sebagai Sumber Trigliserida

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.

Minyak nabati seperti minyak kacang kedelai, minyak biji bunga matahari, minyak kelapa sawit dan lain sebagainya dapat digunakan sebagai bahan baku biodiesel. Kandungan asam lemak bebas mempengaruhi jenis proses produksi biodiesel yang digunakan dan konversi dari biodiesel tersebut. Dengan adanya kehadiran kontaminan lain maka diperlukan proses pemisahan lebih lanjut dari produk.

2.1.2 Kelebihan Biodiesel

Selain sebagai bahan bakar alternatif dari minyak bumi yang semakin menipis persediaannya, tujuan utama pengembangan biodiesel adalah menciptakan *green fuel* yang ramah lingkungan. Biodiesel sebagai bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan solar yang merupakan turunan dari minyak bumi. Adapun beberapa keunggulannya adalah sebagai berikut (The Biodiesel Handbook, 1996):

- ❖ Dapat terdegradasi dengan mudah (*biodegradable*)
- ❖ Sepuluh kali tidak beracun dibanding minyak solar
- ❖ Memiliki angka setana yang lebih baik dari minyak solar
- ❖ Asap buangan biodiesel tidak mengandung sulfur serta senyawa aromatik sehingga emisi pembakaran yang dihasilkan ramah lingkungan

2.2 Minyak Goreng Bekas

Biodiesel dapat disintesis dari minyak goreng. Minyak goreng yang dipergunakan dapat dalam berbagai bentuk, yaitu:

- ❖ Minyak goreng biasa
- ❖ Minyak goreng bekas
- ❖ Minyak goreng padat

Kelebihan dari bahan dasar minyak goreng ini adalah bahwa limbah dari minyak goreng juga dapat dipergunakan, sehingga dapat mengurangi beban lingkungan. Minyak goreng bekas adalah minyak nabati yang telah digunakan dan

telah mengalami pemanasan sehingga jumlah rantai karbonnya meningkat. Minyak goreng bekas sangat berbahaya apabila dikonsumsi karena dapat menimbulkan penyakit bagi manusia, antara lain kanker dan penyempitan pembuluh darah. Sedangkan bila minyak ini dibuang ke lingkungan, akan dapat menyebabkan pencemaran lingkungan (Elizabeth, 2008). Untuk dapat mencegah pencemaran ini, minyak goreng bekas tersebut dikonversi menjadi bahan yang lebih bermanfaat dan diharapkan dapat mengurangi pencemaran lingkungan (Suhartono, 2008).

2.2.2 Perlakuan Awal Minyak Goreng Bekas sebagai Bahan Baku Biodiesel

Ketika minyak digunakan untuk menggoreng terjadi peristiwa oksidasi dan juga hidrolisis yang memecah molekul minyak menjadi asam. Proses ini bertambah besar dengan pemanasan yang tinggi dan waktu yang lama selama penggorengan makanan.

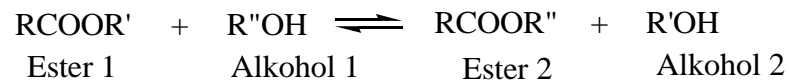
Proses pembuatan biodiesel dari minyak jelantah akan melewati tahap sebagai berikut (Ihwan, 2008):

1. Proses pemurnian minyak jelantah dari pengotor dan *water content*
2. Esterifikasi dari asam lemak bebas (*free fatty acids*) yang terdapat di dalam minyak jelantah,
3. Transesterifikasi molekul trigliserida ke dalam bentuk metil ester, dan
4. Pemisahan serta pemurnian

2.3 Sintesis Biodiesel

Biodiesel disintesis dengan mereaksikan minyak nabati dan alkohol, dengan bantuan katalis. Prosesnya disebut dengan nama transesterifikasi atau alkoholisis. Secara kimia organik, transesterifikasi didefinisikan sebagai proses pertukaran gugus alkoksi dari suatu ester dengan alkohol yang berbeda. Pada transesterifikasi minyak nabati, transesterifikasi tersebut merupakan proses menggunakan alkohol (seperti metanol dan etanol) dengan keberadaan katalis, baik asam atau basa, untuk memutuskan secara kimiawi molekul minyak nabati menjadi metil atau etil ester dari

minyak tersebut dengan gliserol sebagai produk sampingannya (Ritter, 1996). Secara umum proses transesterifikasi dapat ditulis sebagai berikut:



Gambar 2. 3 Proses transesterifikasi secara umum

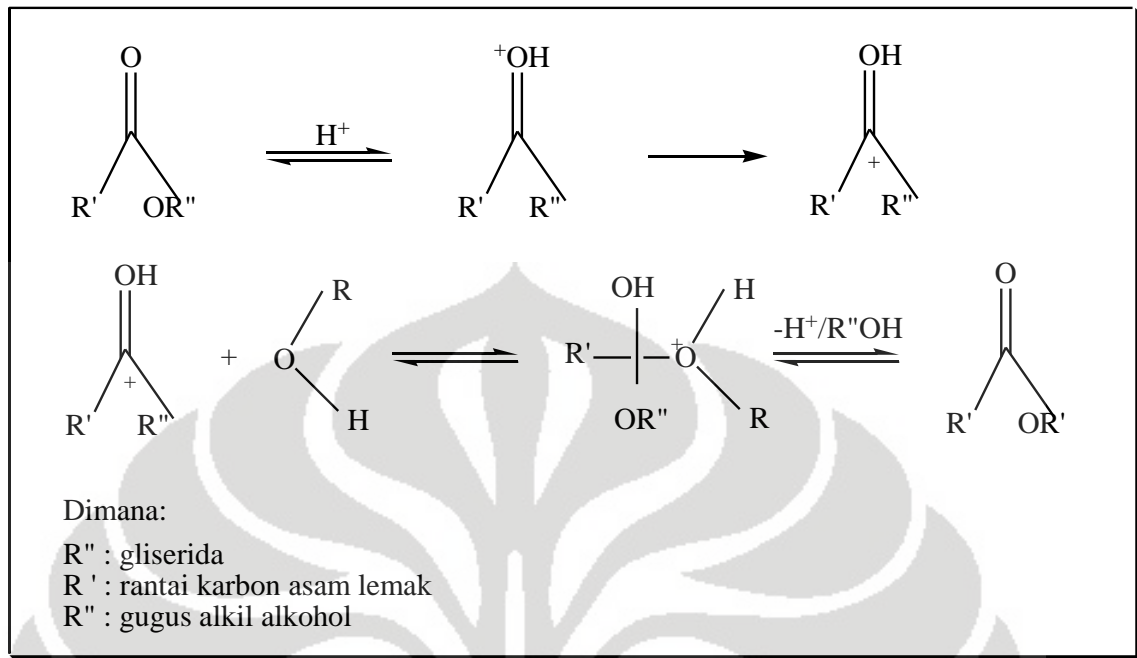
Reaksi transesterifikasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: jenis katalis (asam, basa, atau lipase), jumlah katalis, temperatur, waktu transesterifikasi, dan rasio mol reaktan.

2.3.1 Pengaruh Katalis

Jenis katalis sangat berpengaruh terhadap proses transesterifikasi. Dalam subbab ini akan dijelaskan pengaruh dari berbagai jenis katalis terhadap proses transesterifikasi.

1. Pengaruh Katalis Asam

Pada reaksi transesterifikasi, katalis asam berfungsi sebagai pemberi donor proton kepada gugus alkoksi. Hal ini dapat menyebabkan gugus tersebut menjadi lebih reaktif. Asam yang umum dipergunakan pada reaksi transesterifikasi adalah asam sulfonat dan asam sulfat. Mekanisme reaksi transesterifikasi monogliserida dengan menggunakan katalis asam ditunjukkan pada gambar berikut:



Gambar 2. 4 Mekanisme reaksi transesterifikasi dengan katalis asam (Schuchardt, 1998)

Walaupun mekanisme reaksi transesterifikasi menggunakan katalis asam lebih sederhana, tetapi waktu yang dibutuhkan lebih lama. Protonasi dari gugus karbonil ester mengarah pada terbentuknya karbokation. Kemudian setelah serangan nukleofilik terhadap alkohol menghasilkan intermediet tetrahedral yang mengeliminasi gliserol untuk membentuk ester baru dan sekaligus meregenerasi katalis H^+ .

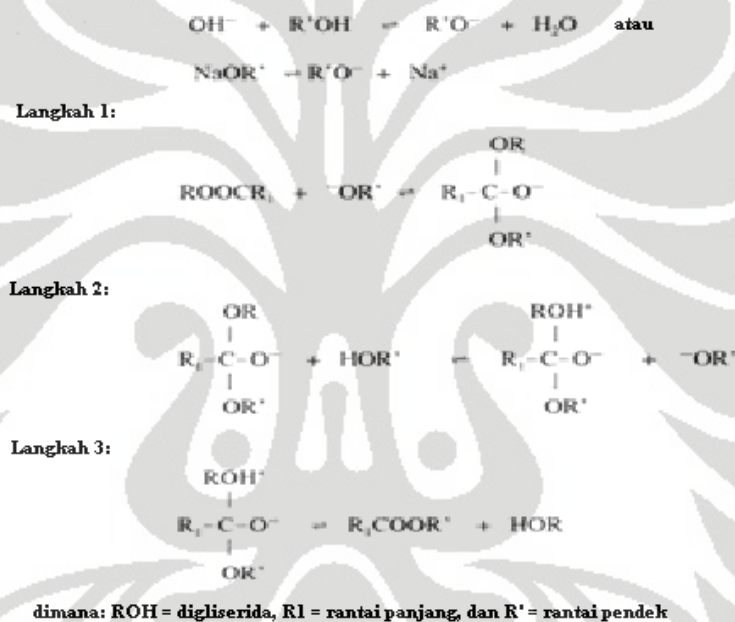
Berdasarkan mekanisme reaksi di atas, asam karboksilat dapat terbentuk dari reaksi karbokation dengan kehadiran air pada campuran reaksi. Fenomena ini menunjukkan bahwa pada reaksi transesterifikasi dengan katalis asam tidak boleh terdapat air. Hal tersebut bertujuan untuk menghindari reaksi pembentukan kompetitif dari asam karboksilat yang dapat menurunkan hasil dari alkil ester.

Katalis asam menghasilkan konversi biodiesel yang tinggi, namun reaksi relatif lambat dan membutuhkan temperatur yang tinggi. Temperatur reaksi menggunakan katalis ini di atas $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Penelitian yang dilakukan Pryde et al., menunjukkan bahwa transesterifikasi dari minyak kacang kedelai, dengan 1 mol %

H₂SO₄ dan rasio mol alkohol dengan alkohol sebesar 30:1 pada 65 °C berlangsung 50 jam untuk mencapai konversi minyak kacang kedelai lebih dari 99% (Freedman, 1986).

2. Pengaruh Katalis Basa

Reaksi transesterifikasi dengan katalis basa membutuhkan waktu yang lebih cepat. Katalis basa juga bersifat tidak korosif apabila dibandingkan dengan katalis asam (Schuchardt, 1998). Mekanisme transesterifikasi dengan katalis basa adalah sebagai berikut:

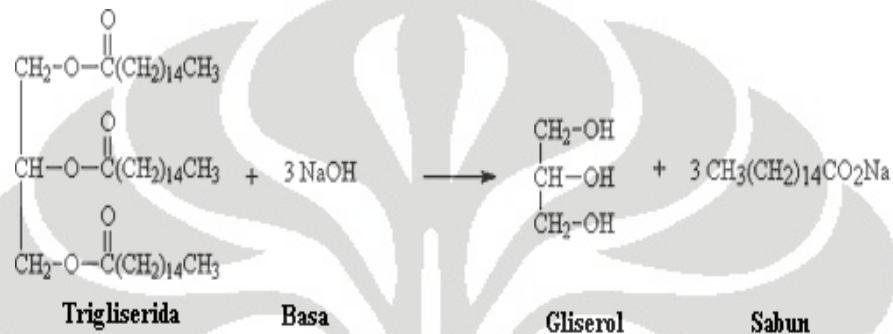


Gambar 2. 5 Mekanisme reaksi transesterifikasi dengan katalis basa (Sridharan et al., 1956)

Tahap pertama adalah reaksi antara basa dengan alkohol yang menghasilkan alkoksida dan katalis yang terprotonasi. Nukleofilik yang menyerang alkoksida pada gugus karbonil trigliserida kemudian akan membentuk intermediet tetrahedral, yang kemudian akan terbentuk alkil ester dan anion digliserida. Kemudian katalis diprotonasi, yang akan meregenerasi spesi aktif yang selanjutnya dapat bereaksi dengan molekul alkohol kedua dan memulai kembali siklus katalitik. Digliserida dan

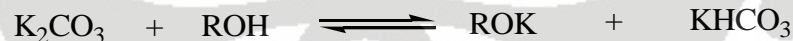
monogliserida juga dikonversi melalui mekanisme yang serupa menjadi alkil ester dan gliserol.

Hidrolisis asam lemak oleh adanya suasana basa dapat menimbulkan reaksi saponifikasi. Hal tersebut dapat mendorong terbentuknya sabun. Persamaan reaksinya dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2. 6 Reaksi saponifikasi

Reaksi saponifikasi ini akan menurunkan hasil reaksi dan dapat mempersulit pengambilan kembali gliserol karena terbentuknya emulsi. Penambahan kalium karbonat sebesar 2 hingga 3 persen mol dapat memberikan konversi alkil ester asam lemak yang besar serta mengurangi pembentukan sabun. Hal ini disebabkan karena kalium karbonat akan bereaksi membentuk bikarbonat dan bukan air. Apabila air tidak terbentuk, maka ester tidak akan terhidrolisis. Mekanisme pembentukan bikarbonat terjadi menurut persamaan reaksi sebagai berikut:



Gambar 2. 7 Reaksi kalium karbonat dengan alkohol

3. Pengaruh Lipase Sebagai Biokatalis

Belakangan ini enzim hidrolitik mulai banyak digunakan pada sintesis organik karena kemudahan dalam penanganannya. Enzim ini tidak memerlukan koenzim yang relatif stabil dan dapat mentoleransi adanya kehadiran pelarut organik. Selain itu, penggunaan katalis enzim memungkinkan untuk mensintesis alkil ester

yang diinginkan, memberi kemudahan dalam *recovery* gliserol dan juga transesterifikasi gliserida yang bebas asam lemak (Schuchardt, 1998).

Reaksi transesterifikasi dengan menggunakan enzim belum dikembangkan secara komersial karena harga enzim yang relatif mahal. Enzim lipase dapat dipergunakan sebagai katalis dalam sintesis *biodiesel* karena sifatnya yang dapat memecah lemak. Lipase yang digunakan akan menyerang semua gugus asam lemak sehingga rantai lemak dapat terputus dan selanjutnya berikatan dengan alkohol yang akan membentuk alkil ester.

2.3.2 Pengaruh Temperatur

Temperatur reaksi sangat berpengaruh terhadap laju reaksi transesterifikasi. Reaksi dapat berlangsung sempurna pada suhu kamar hanya apabila diberikan waktu reaksi yang cukup lama. Pada umumnya temperatur reaksi yang dipergunakan mengikuti suhu titik didih metanol pada tekanan atmosferik yaitu 60-70°C. Apabila reaksi berlangsung pada temperatur yang sedang, asam bebas dari CPO harus dihilangkan terlebih dahulu dengan melakukan *pretreatment* yang terdiri dari penghilangan kadar asam dan proses *degummed*. Apabila reaksi berlangsung pada tekanan tinggi (9,000 kPa) dan pada temperatur tinggi (240 °C) maka tahap *pretreatment* ini tidak perlu dilakukan. Pada kedua kondisi inilah reaksi esterifikasi dan transesterifikasi dapat berlangsung secara spontan (Ma, 1999). Tabel 2.4 memberikan data temperatur dan waktu yang diperlukan agar reaksi transesterifikasi pada CPO dapat berlangsung optimal.

Tabel 2. 4 Pengaruh temperatur pada transesterifikasi minyak kelapa sawit (Ma, 1999)

Temperatur, T ± 3 °C	Waktu (menit)
60	7
50	13
40	32
27-28 (<i>ambient</i>)	120
Kondisi operasi: minyak kelapa sawit : methanol = 1 : 15,6 ; laju pengadukan = 350 rpm; NaOH = 0,75% wt minyak	

Penelitian lain menyebutkan, hasil reaksi yang maksimum diperoleh pada kisaran temperatur reaksi antara 60-80 °C dengan perbandingan mol alkohol dengan minyak 6:1 (Feuge, 1949). Apabila terjadi kenaikan temperatur maka hal ini dapat mengurangi hasil reaksi. Kondisi reaksi di atas berlaku apabila menggunakan CPO sebagai bahan baku. Apabila menggunakan bahan baku minyak yang berbeda maka temperatur reaksinya juga akan berbeda. Misalnya saja pada reaksi metanolisis minyak jarak menjadi *methyl recinoleat*, temperature reaksinya 20-35 °C dengan perbandingan metanol/minyak sebesar 6:1 – 12:1 dengan berat katalis NaOH 0,005 – 0,35 persen dari berat minyak (Pandey et al., 1999).

Sedangkan temperatur sangat sensitif untuk kinerja lipase sebagai biokatalis. 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.

Heri Hermansyah et al., telah melakukan penelitian untuk mencari temperatur optimal dalam sintesis biodiesel melalui rute non alkohol. Heri Hermansyah et al., melakukan tiga variasi temperatur, yakni 25 °C, 50 °C, dan 37 °C. 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 (Hermansyah, 2008).

2.3.3 Pengaruh Kecepatan Pengadukan

Campuran reaktan (minyak dengan katalis) akan membentuk dua lapisan yang tidak saling larut, dengan minyak pada bagian bawah dan katalis yang terdapat pada bagian atas. Pengadukan merupakan hal yang penting dilakukan agar reaksi dapat berlangsung, baik dengan menggunakan pengaduk mekanik maupun *magnetic stirrer*. Kecepatan pengadukan berpengaruh terhadap kecepatan tercapainya fasa homogen antara minyak dengan alkohol. Pada saat campuran minyak-alkohol ini mencapai masa homogen, maka konversi serta lama pengadukan tidak lagi bergantung pada kecepatan pengadukan (Noureddini, 1997).

2.3.4 Pengaruh Waktu Transesterifikasi

Waktu yang diperlukan agar proses transesterifikasi berlangsung dengan optimal berbeda untuk tiap-tiap kondisi. Misalnya saja pada proses transesterifikasi dengan menggunakan substrat CPO dan minyak jarak., maka waktu yang diperlukan agar proses transesterifikasi dapat berlangsung optimal berbeda untuk masing-masing substrat tersebut.

2.3.5 Pengaruh Rasio Molar Reaktan

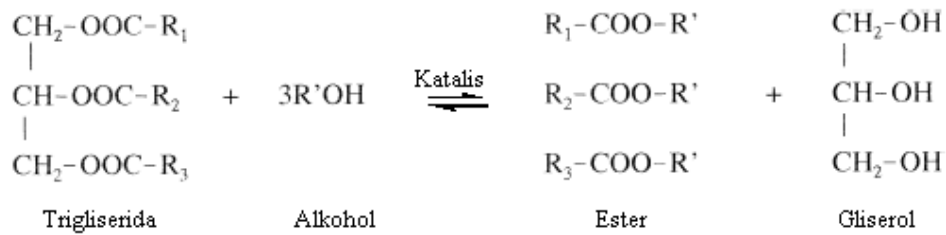
Rasio molar alkohol dengan minyak merupakan salah satu variabel terpenting yang mempengaruhi konversi alkil ester yang dihasilkan. Berdasarkan stokiometri, reaksi tersebut membutuhkan tiga mol alkohol untuk bereaksi dengan satu mol

trigliserida agar dihasilkan tiga mol ester dan satu mol gliserol. Penggunaan alkohol berlebih dimaksudkan agar kesetimbangan dapat bergerak ke arah kanan agar produk yang diinginkan dapat dipisahkan dari campuran yang terbentuk (Holman, 2001). Konsentrasi metil ester akan bertambah seiring dengan pertambahan rasio mol metanol dengan minyak sawit (Supranto, 2002). Dari percobaan Freedman, yang mempelajari pengaruh perbandingan mol reaktan dari 1:1 hingga 6:1, didapatkan perilaku yang sama untuk minyak kacang kedelai, minyak bunga matahari, dan minyak kacang tanah, bahwa konversi meningkat seiring peningkatan konversi mol. Konversi tertinggi diperoleh pada perbandingan mol 6:1 (Supranto, 2002).

Berdasarkan hasil studi saat ini, diamati bahwa metanol berlebih memiliki aspek yang penting, namun juga harus memperhatikan separasi fasa yang akan dilakukan. Ketika metanol berlebih (rasio molar 15:1) digunakan maka separasi alami antara lapisan ester dengan gliserol mungkin untuk dilakukan. Sementara pada rasio teoritis 3:1, kedua lapisan tidak dapat diamati dan produk yang dihasilkan merupakan produk semi solid. Pada rasio molar 4:1, separasi alami ester dan gliserol dapat diamati dengan adanya lapisan solid gliserol dan campuran reaksi semi solid selama reaksi berlangsung. Pada rasio molar 6:1, menunjukkan tersolidifikasi setelah penyimpanan selama semalam. Rasio molar 8:1 menunjukkan separasi yang lebih baik, setelah penyimpanan selama semalam campuran masih berupa fasa cair dan bersih. Jumlah minimum metanol yang dibutuhkan untuk mencapai konversi total adalah pada rasio molar 1:10 (Supranto, 2002).

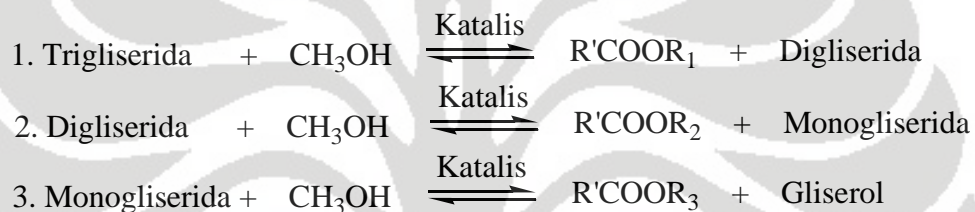
2.3.6 Sintesis Biodiesel Melalui Rute Alkohol

Biodiesel disintesis dengan mereaksikan minyak nabati dan alkohol, beserta penggunaan katalis. Prosesnya disebut dengan nama transesterifikasi atau alkoholisis seperti yang terlihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2. 8 Reaksi *overall* transesterifikasi minyak nabati dengan alkohol (Ma, 1999)

Reaksi transesterifikasi *overall* ditunjukkan oleh Gambar 2.8 dimana 1 mol trigliserida bereaksi dengan 3 mol alkohol menghasilkan 3 mol ester dan 1 mol gliserol.



Gambar 2. 9 Reaksi bertingkat transesterifikasi minyak nabati dengan alkohol (Freedman, 1986)

Reaksi transesterifikasi bertingkat ditunjukkan oleh Gambar 2.9 dimana trigliserida yang memiliki 3 rantai asam lemak bereaksi dengan metanol menjadi digliserida, monogliserida dan kemudian menjadi gliserol. Biodiesel diperoleh pada setiap tahap transesterifikasi.

R_1 , R_2 , dan R_3 yang merupakan asam lemak yang tergantung dari tipe minyak nabati. Rantainya bisa sama atau berlainan. Alkohol yang digunakan juga dapat berbeda. Jika etanol yang digunakan, maka akan menghasilkan asam lemak etil ester. Karena metanol memiliki rantai pendek yang reaktif, maka alkohol ini sering digunakan dalam proses produksi biodiesel.

Ada beberapa pilihan katalis yang dapat dipergunakan dalam sintesis biodiesel. Selama ini biodiesel komersial biasanya menggunakan alkali sebagai katalis dalam proses transesterifikasi. Meskipun demikian, proses transesterifikasi dengan katalis alkali mempunyai beberapa kelemahan, diantaranya (Fukuda et al., 1999):

1. Katalis alkali dalam bentuk cair bercampur sempurna dengan produk sehingga pemurnian produk dari katalis relatif sulit.
2. Digunakannya katalis alkali juga mengakibatkan terjadinya reaksi samping yang sangat mengganggu yaitu terjadinya reaksi saponifikasi membentuk produk samping yang tidak diinginkan sehingga menurunkan konversi biodiesel.

Kedua hal di atas mengakibatkan dibutuhkan proses pemurnian produk lebih lanjut yang relatif sulit dan mahal.

Penggunaan katalis alkali menyisakan masalah dalam hal pemurnian produk sehingga diperlukan katalis heterogen dan mampu mengarahkan reaksi secara spesifik. Belakangan ini, penelitian sintesis biodiesel menggunakan enzim lipase banyak dilakukan. Beberapa peneliti menggunakan lipase dari *Candida sp* (Shimada et al., 1999), *Rhizopus sp* (Kaieda, 1999), *Pseudomonas sp* (Kaieda, 2001).

Menurut Vicente pada tahun 2004, enzim lipase sebagai katalis untuk produksi biodiesel sangat menjanjikan karena mampu memperbaiki kelemahan dari katalis alkali, yaitu (Vicente, 2004):

- ❖ Berbeda fasa dengan reaktan atau produk baik dalam bentuk free atau terimmobilisasi sehingga biokatalis dapat dipisahkan dari sistem dengan mudah.
- ❖ Mampu mengarahkan reaksi secara spesifik tanpa adanya reaksi samping yang tidak diinginkan seperti reaksi penyabunan.

Perbandingan sintesis biodiesel menggunakan biokatalis lipase dan katalis basa dapat dilihat pada Tabel 2.5 berikut:

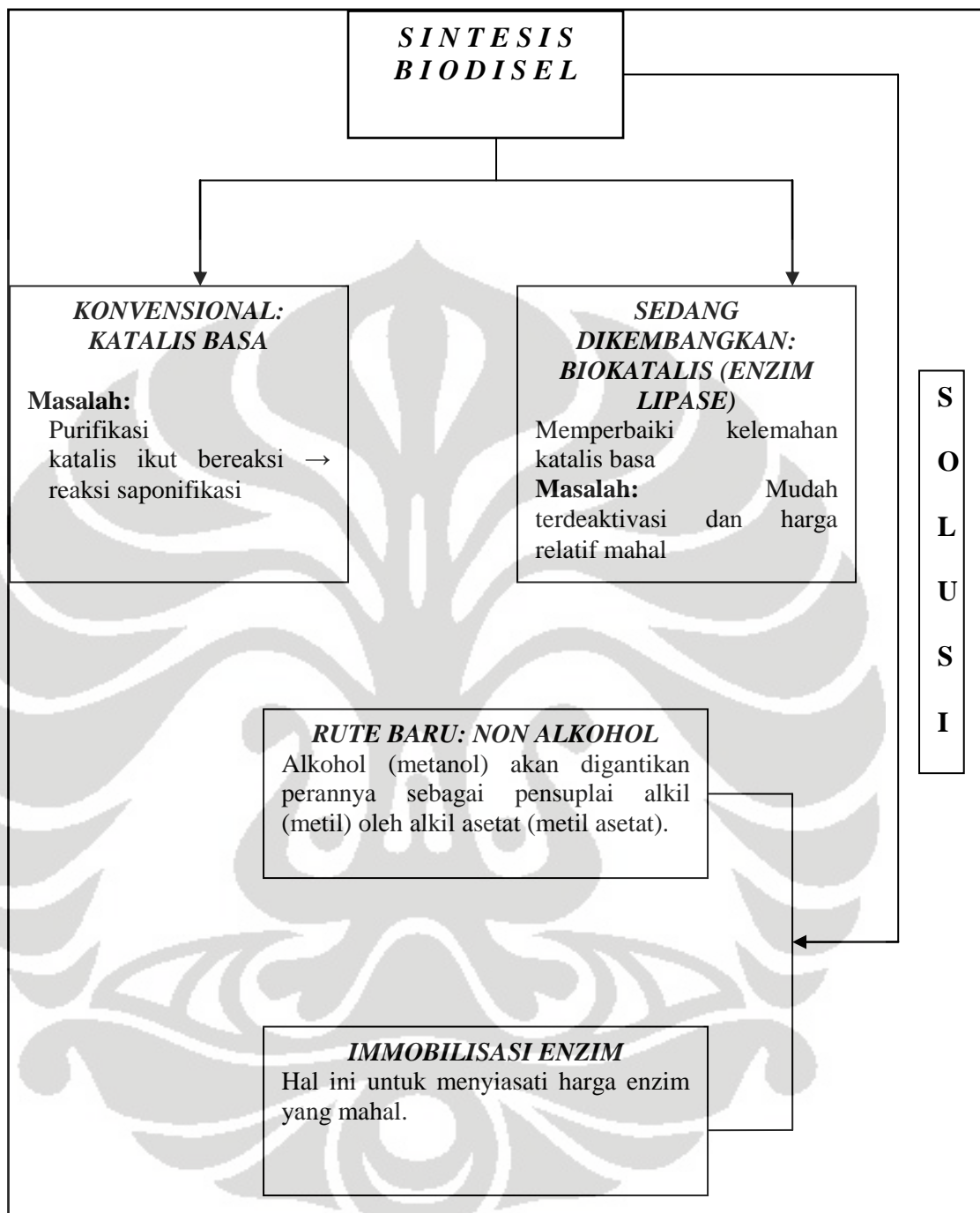
Tabel 2. 5 Perbandingan antara metode katalis basa dengan biokatalis dalam sintesis biodiesel

Variabel	Proses alkali	Proses biokatalis
Suhu reaksi	60 – 70 °C	30 – 40 °C
Pemisahan biodiesel dari katalis	Pencucian berulang	Filtrasi (sulit)
Produk samping yang tak diinginkan	Asam lemak bebas, sabun	Tidak ada

2.3.7 Sintesis Biodiesel Melalui Rute Baru Non Alkohol

Secara konvensional, biodiesel disintesis melalui reaksi transesterifikasi dari suatu trigliserida dengan alkohol menggunakan bantuan katalis alkali. Namun katalis alkali memiliki beberapa kelemahan, seperti yang telah disebutkan pada sub bab 2.3.6.

Oleh karena itu, belakangan ini dilakukan penelitian-penelitian mengenai sintesis biodiesel menggunakan biokatalis (enzim lipase) yang memiliki prospek bagus untuk memperbaiki kelemahan-kelemahan katalis alkali. Biokatalis dapat mengarahkan reaksi secara spesifik tanpa menimbulkan reaksi samping. Selain kelebihanannya, penggunaan enzim lipase dalam sintesis biodiesel juga masih menyisakan suatu masalah yang cukup besar. Lingkungan beralkohol, seperti metanol dapat mendeaktivasi enzim lipase dan juga dapat menurunkan stabilitas dari enzim tersebut. Untuk itu, diusulkanlah penelitian sintesis biodiesel melalui rute baru, yakni rute non alkohol dalam rangka untuk menjaga aktivitas dan stabilitas enzim lipase tetap tinggi selama reaksi berlangsung.



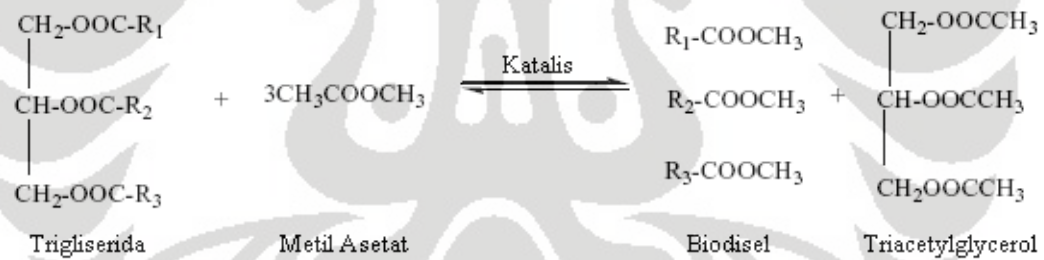
Gambar 2. 10 Kerangka konseptual

Dalam hal ini, metanol akan digantikan perannya oleh metil asetat sebagai pensuplai alkil. Selain dapat menjaga aktivitas dan stabilitas enzim, rute non alkohol juga dapat menghasilkan produk samping, yakni *triacetilglycerol* yang memiliki nilai jual lebih tinggi dibandingkan produk samping rute alkohol. Sintesis biodiesel melalui rute non alkohol ini termasuk ke dalam reaksi interesterifikasi. Dimana interesterifikasi dapat digambarkan sebagai pertukaran gugus antara dua buah ester, dimana hal ini hanya dapat terjadi apabila terdapat katalis. Secara umum reaksi interesterifikasi dapat dituliskan sebagai berikut:

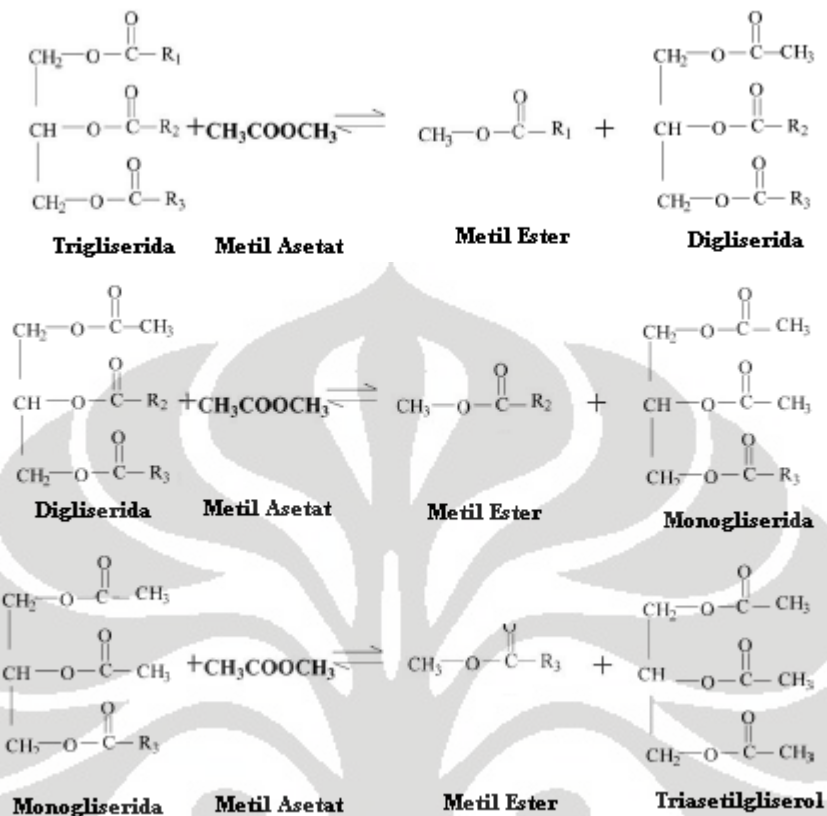


Gambar 2. 11 Reaksi interesterifikasi secara umum (Hamilton, 1989)

Reaksi interesterifikasi minyak nabati dapat dilihat pada Gambar 2.12 di bawah ini:



Gambar 2. 12 Reaksi interesterifikasi minyak nabati dengan metil asetat (Xu et al., 2005)



Gambar 2. 13 Reaksi bertingkat interesterifikasi minyak nabati dengan metil asetat (Xu et al., 2005)

Reaksi transesterifikasi bertingkat ditunjukkan oleh Gambar 2.13 dimana trigliserida yang memiliki 3 rantai asam lemak bereaksi dengan metanol menjadi digliserida, monogliserida dan kemudian menjadi gliserol. Biodiesel diperoleh pada setiap tahap transesterifikasi.

2.4 Lipase

Enzim mikroorganismenya yang banyak digunakan dalam industri umumnya merupakan enzim ekstraseluler, karena lebih mudah diisolasi dibandingkan enzim intraseluler. Metode untuk mengisolasi enzim intraseluler lebih rumit karena sel harus dilisiskan (pemecahan sel) terlebih dahulu. Jenis-jenis mikroba penghasil lipase dilihat pada Tabel 2.6.

Lipase adalah enzim yang memecah lemak. Nama lain dari lipase adalah asilgliserol hidrolase, triasilgliserol hidrolase atau gliserol ester hidrolase. Lipase

yang berasal dari mikroba merupakan enzim yang disekresikan oleh mikroba ke dalam medium pertumbuhannya untuk mencerna lemak atau minyak. Lipase mengkatalisis lemak atau minyak menjadi digliserida, monogliserida, asam lemak bebas, dan gliserol.

Jenis lipase yang mengkatalisis pemecahan ikatan ester trigliserida pada posisi satu atau tiga disebut lipase spesifik 1,3-digliserida. Pemecahan dengan lipase tersebut menghasilkan 1,2-digliserida, monogliserida, gliserol, dan asam lemak bebas. Produk 1,2-digliserida bersifat tidak stabil. Gugus asil pada posisi dua dapat mengalami migrasi ke posisi satu atau tiga sehingga menghasilkan produk 1,3-digliserida. Monogliserida yang di hasilkan berupa 1-monogliserida. Enzim lipase dapat mengkatalisis semua posisi asam lemak pada trigliserida dalam waktu yang lama.

Sifat-sifat lipase tergantung pada substrat dan asal perolehannya. Lipase yang berasal dari mikroba tertentu, mempunyai aktivitas optimum yang berbeda dengan mikroba lipolitik lainnya. Aktivitas lipase dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: pH, suhu, dan waktu. Kestabilan lipase bergantung pada derajat keasaman (pH). Kondisi pH yang jauh dari optimum akan menyebabkan inaktivasi, karena terjadi kerusakan struktur protein enzim. Kondisi pH yang terlalu rendah mengakibatkan ion H^+ akan berikatan dengan $-NH_2$ membentuk $-NH_3^+$. Proses pengikatan tersebut menyebabkan ikatan hidrogen antara atom nitrogen dengan atom hidrogen terputus, sehingga enzim terdenaturasi. Kondisi pH yang tinggi mengakibatkan ion $-OH$ berikatan dengan atom hidrogen dan gugus $COOH$ enzim membentuk H_2O . Hal tersebut mengakibatkan rusaknya ikatan antara atom hidrogen dengan nitrogen atau oksigen, sehingga struktur enzim mengalami kerusakan.

Tabel 2. 6 Mikroorganisme penghasil lipase

<i>Achromobacter</i> sp.	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Protaminobacter alboblavus</i>
<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Flavobacterium ferruginem</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>A. calcoaceticus</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Alcaligenes</i> sp.	<i>Glomus versiforme</i>	<i>P. cepacia</i>
<i>A. denitrificans</i>	<i>Hansenula anomala</i>	<i>P. fluorescens</i>
<i>Arthrobacter</i> sp.	<i>Humicola lanuginosa</i>	<i>P. fragi</i>
<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Microthrix parvicella</i>	<i>P. pseudoalcaligenes</i>
<i>A. niger</i>	<i>Mycobacterium chelonae</i>	<i>Rhizopus</i> sp.
<i>A. oryzae</i>	<i>Mucor javanicus</i>	<i>R. arrhizus</i>
<i>Bacillus laterosporus</i>	<i>M. miehei</i>	<i>Rhizomucor miehei</i>
<i>B. sphaericus</i>	<i>Neurospora sitophila</i>	<i>R. delemere</i>
<i>B. thermocatemulatus</i>	<i>Nocardia amarae</i>	<i>R. javanicus</i>
<i>B. thiaminolyticus</i>	<i>Penicillium camembertii</i>	<i>R. oligospora</i>
<i>Candida</i> sp.	<i>P. candidum</i>	<i>R. nigricans</i>
<i>C. antarctica</i>	<i>P. citrinum</i>	<i>R. oryzae</i>
<i>C. cylindracea</i>	<i>P. cyclospium</i>	<i>Rhodococcus rubra</i>
<i>C. lipolytica</i>	<i>P. expansum</i>	<i>S. warneri</i>
<i>C. rugosa</i>	<i>P. roquefortii</i>	<i>S. xylosus</i>
<i>C. viscosum</i>	<i>P. simplicissimum</i>	<i>Streptomyces</i> sp.
<i>Chromobacterium</i> sp	<i>P. solitum</i>	<i>Ustilago maydis</i>
<i>Coelomyceles</i>	<i>P. urticae</i>	<i>Yarrowia lipolyti</i>

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

2.4.1 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Lipase

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

2.5 Immobilisasi Enzim

Immobilisasi enzim disini maksudnya adalah menggabungkan suatu enzim dengan suatu matrik padat (*support*) secara fisik, sehingga dapat digunakan secara

berulang kali dan secara kontinyu (Worsfold, 1995). Teknik ini dikembangkan untuk memperbaiki beberapa kekurangan penggunaan enzim yang telah di sebutkan diatas. Ada beberapa keuntungan jika kita mengimmobilisasi enzim (D'Souza, 2008) yaitu :

- ❖ Enzim dapat digunakan berulang kali
- ❖ Dapat digunakan pada proses yang kontinyu
- ❖ Meningkatkan kestabilan enzim
- ❖ Produk yang dihasilkan memiliki kemurnian yang lebih tinggi
- ❖ Kontrol yang lebih besar terhadap reaksi enzimatis

Penggunaan lipase memiliki potensi yang bagus untuk menjadikan biaya produksi lebih efektif ketika enzim digunakan dalam bentuk terimmobilisasi dibanding dalam bentuk tersuspensi. Pada prinsipnya, teknik immobilisasi lipase ini ditujukan untuk mengembangkan produksi secara kontinyu dan komersil dalam skala besar yang memiliki efisiensi tinggi per unit volume reaktor (Malcata, 1991). Untuk lebih jauh, penggunaan immobilisasi lipase dapat mengurangi potensi produk terkontaminasi melalui sisa lipase. Hal tersebut tentu saja menguntungkan, karena dapat menghindari perlakuan tambahan untuk memurnikan produk.

Dengan immobilisasi, penggunaan lipase sebagai biokatalis dapat digunakan secara berulang. Selain itu juga dapat memberikan kontrol yang lebih baik pada proses maupun kualitas produk. Pada kenyataannya, biaya produksi biodiesel secara kontinyu menggunakan lipase terimmobilisasi lebih kecil 20 kali daripada penggunaan lipase dalam bentuk tersuspensi. Namun kekurangan dari immobilisasi adalah (Ramachandra, 2002):

- ❖ Kemungkinan terjadinya deaktivasi lipase selama proses immobilisasi
- ❖ Keterbatasan substrat dalam berdifusi
- ❖ Terdapatnya lipase yang tidak terikat oleh *support*

2.5.1 Metode Immbolisasi Enzim

Pada umumnya, enzim dapat diimmobilisasi dengan 4 teknik berikut:

Tabel 2. 7 Metode-metode immobilisasi enzim

No.	Metode	Penjelasan
1.	Adsorpsi	<p>Adsorpsi merupakan metode yang paling sering digunakan dalam proses immbobilisasi enzim. Penyerapan enzim ke dalam permukaan padatan bahan pendukung (<i>support</i>) 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 memiliki biaya lebih murah dibandingkan dengan metode yang lain, lebih mudah dilakukan, dan memberikan gangguan kestabilan protein yang rendah.</p>
2.	Sol-Gel	<p>Sol adalah sistem di mana enzim terjebak dalam jaringan partikel padat. Proses sol-gel itu sendiri terdiri dari reaksi hidrolisis dan kondensasi yang berlangsung secara simultan selama proses sintesis gel, meskipun ada kemungkinan salah satu reaksi tersebut berjalan dengan lebih dominan. Dari proses ini, ketika sol menjadi tidak stabil dan terhidrolisis lalu terkondensasi, ia berubah menjadi gel. Pembentukan sol menjadi gel dapat berlangsung dalam beberapa detik, namun dapat pula berjalan lama yaitu dalam beberapa hari. Pelapisan dengan metode sol-gel dapat dilakukan dengan melapisi <i>support</i> dengan sol, lalu menghidrolisis dan mengkondensasikannya sehingga</p>

		membentuk gel.
3.	Ikatan Kovalen	Enzim dihubungkan secara kovalen ke <i>support</i> melalui suatu gugus fungsi di dalam enzim, yang tak berpengaruh terhadap aktivitas katalitik. Gugus fungsi yang sering diinvestigasi adalah amino, karboksil, dan gugus fenol pada <i>tyrosine</i> . Ikatan kovalen sering menggunakan <i>support</i> inorganik. Jenis enzim seperti <i>glucose oxidase</i> , <i>peroxidase</i> , <i>invertase</i> telah berhasil diimmobilisasi menggunakan teknik ini.
4.	<i>Intermolecular Cross-Linking</i>	Proses immobilisasi enzim ini adalah 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 aktivitas sangat rendah.

2.5.2 Zeolit Sebagai Material Penyangga

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, mudah di dapat, zeolit mempunyai struktur kristal berpori sehingga dapat berfungsi sebagai bahan pengikat, dan zeolit mempunyai kestabilan yang baik. Teknik penempelan inti aktif ke dalam penyangga yang biasa digunakan adalah dengan cara impregnasi yang kemudian diaktivasi dengan

Universitas Indonesia

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.

2.5.3 Metode Adsorpsi Biokatalis Menggunakan Zeolit sebagai Material Penyangga

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 imobilisasi 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. 14 Skema metode adsorpsi (*Immobilization of Enzyme and Cells*, 2006)

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, adsorbent, dan temperatur.

Adsorpsi yang terjadi pada permukaan zeolit ada dua, yakni adsorpsi fisik dan kimia. Hal-hal yang membedakan keduanya dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2. 8 Perbedaan adsorpsi fisik dan kimia

Pembeda	Adsorpsi Fisik	Adsorpsi Kimia
Penyebab	Gaya Van Der Walls (tidak ada perpindahan elektron)	Perpindahan elektron
Adsorbent	Semua solid	Beberapa solid
Temperatur	Temperatur rendah	Temperatur tinggi
Panas reaksi	Rendah	Tinggi
Laju reaksi	Tinggi	Bergantung terhadap temperatur
Energi rktivasi	Rendah	Tinggi
Lapisan yang terbentuk	<i>Multilayer</i>	<i>Monolayer</i>
<i>Reversibility</i>	<i>Reversible</i>	Tidak <i>Reversible</i>

Sumber : (*Adsorption, surface area, and porosity, 1967*) *telah diolah kembali

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.

1. 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

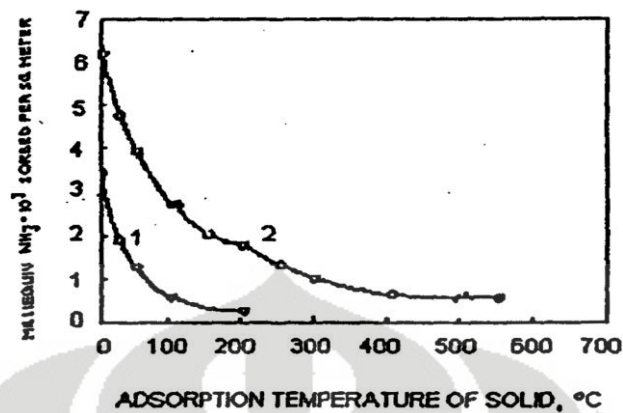
Jumlah molekul adsorbat yang dapat teradsorpsi meningkat seiring dengan bertambahnya luas permukaan zeolit (adsorben). Karena dengan bertambahnya luas permukaan, kemungkinan terjadinya kontak antara molekul adsorben dengan adsorbat semakin besar.

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 2.15.

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. 15 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.

Jika dibandingkan dengan penggunaan biokatalis dalam bentuk tersuspensi, maka konsentrasi biodiesel yang terbentuk menggunakan biokatalis metode adsorpsi mempunyai nilai yang lebih rendah. Dengan teknik immobilisasi terdapat enzim yang terbuang 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.

2.6 Reaktor *Packed Bed*

Reaktor *packed bed* (PBR) telah digunakan secara umum untuk reaksi katalitik dalam skala besar dikarenakan tingginya efisiensi, rendahnya biaya, dan mudah dalam konstruksi serta operasinya. Reaktor *packed bed* (PBR) menyediakan luas permukaan lebih besar untuk reaksi per unit volum dibanding jenis reaktor lainnya. Jenis reaktor ini telah banyak diaplikasikan untuk reaksi hidrolisis, transesterifikasi, dan interesterifikasi menggunakan lipase sebagai biokatalis (Ramachandra, 2002). Jika hanya terdapat satu fasa liquid yang digunakan, liquid ini dapat dipompakan ke arah atas supaya mengurangi kecenderungan aliran yang terlalu

besar atau dipompakan ke arah bawah untuk mengambil keuntungan dari gaya gravitasi. Sedangkan untuk sistem multi fasa liquid, dibuat dua aliran untuk melalui reaktor dengan aliran berlawanan maupun searah.

Terdapat dua hal yang harus dipertimbangkan ketika mengoperasikan reaktor *packed bed*, yakni:

1. Batasan difusi partikel dalam laju reaksi
2. Tingginya *pressure drop* sepanjang reaktor

Perpindahan eksternal dapat dikurangi pada penggunaan reaktor *packed bed* dengan meningkatkan laju alir dari substrat dan menggunakan rasio tinggi kolom dan diameter reaktor. O'Neill et al. telah mengamati konstanta kinetik dan menunjukkan bahwa efisiensi rendah dari reaktor *packed bed* untuk enzim dihasilkan dari perpindahan massa yang sedikit dikarenakan ketidakmampuan liquid untuk menyerap secara menyeluruh struktur penyangga dari reaktor *packed bed* pada laju alir yang rendah (O'Neill et al., 1971).

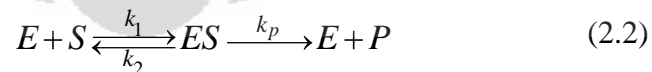
Partikel-partikel kecil diunggulkan dalam mengurangi difusi internal. Partikel-partikel kecil juga dapat mengurangi masalah tingginya *pressure drop* dalam reaktor *packed bed* (O'Neill et al., 1971).

Adapun *mol balance* untuk reaktor *packed bed* adalah sebagai berikut:

$$\frac{dX}{dW} = \frac{r_s}{F_{so}} \quad (2.1)$$

2.7 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. 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:

$$V = k_3 [ES] \quad (2.3)$$

Laju penguraian ES:

$$k_2 [ES], \text{ dan}$$

Laju penguraian ES:

$$k_3 [ES]$$

Sehingga laju penguraian ES total:

$$(k_2 + k_3) [ES] \quad (2.4)$$

Sedangkan laju pembentukan ES:

$$k_1 [E][S] \quad (2.5)$$

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.

Laju pembentukan = Laju penguraian

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

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

$$[ES] = \frac{[E][S]}{(k_2 + k_3) / k_1} \quad (2.6)$$

jika:

$$K_M = \frac{k_2 + k_3}{k_1}, \text{ maka}$$

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M} \quad (2.7)$$

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.

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

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_2[ES] + k_3[ES]$$

$$k_1[ET - ES][S] = k_2[ES] + k_3[ES]$$

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

$$[ES] \frac{k_2 + k_3}{k_1} = [ET][S] - [ES][S]$$

$$[ES] \frac{k_2 + k_3}{k_1} + [ES][S] = [ET][S]$$

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

$$[ES] = \frac{[ET][S]}{K_M + [S]}$$

$$v = k_3[ES]$$

$$v = \frac{k_3[ET][S]}{K_M + [S]} \quad (2.8)$$

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

dimana

$$k_3 [ET] \approx V_{maks}$$

sehingga:

$$v = \frac{V_{maks} [S]}{K_M + [S]} \quad (2.9)$$

ketika,

$$v = \frac{1}{2} V_{max} \quad (2.10)$$

maka:

$$\frac{V_{maks}}{2} = \frac{V_{maks} [S]}{K_M + [S]} \quad (2.11)$$

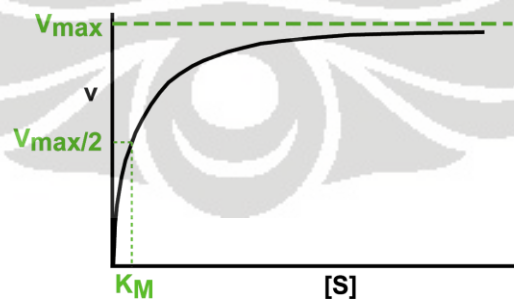
disederhanakan menjadi:

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad (2.12)$$

Sehingga persamaannya pada akhirnya membentuk:

$$K_M = [S] \quad (2.13)$$

Nilai K_M dari sebuah enzim merupakan konsentrasi substrat saat terjadinya reaksi pada $\frac{1}{2}$ kecepatan maksimalnya. Maka grafiknya dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2. 16 Grafik model Michaelis Menten dalam menentukan nilai K_M

(Textbook of Biochemistry, 1997)

Universitas Indonesia

Nilai K_M menyatakan indikator dari afinitas enzim terhadap substrat, dan menyatakan kestabilan enzim substrat kompleks. Pada nilai konsentrasi $[S]$ yang rendah kemampuan substrat menjadi faktor pembatasnya, sehingga penambahan lebih substrat secara cepat akan meningkatkan kecepatan awal reaksi dan substrat secara cepat akan membentuk produk. Saat sudah mencapai nilai K_M , maka 50% dari daerah aktif-*site*-nya sudah mengikat substrat. Pada nilai $[S]$ yang lebih tinggi lagi, maka telah dicapai kondisi dimana enzim telah mengikat semua substrat, kinerja enzim sudah jenuh dan berjalan datar. Oleh karena itu penambahan substrat yang sudah melewati batas K_M tidak akan meningkatkan kecepatan awal reaksi.

2.8 Pemodelan Reaksi Enzimatis

2.8.1 *Uniresponse* dan *Multiresponse*

Dalam melakukan suatu sintesis secara kimia maupun bioproses, proses yang kompleks dapat ditemui. Supaya kualitas dari proses maupun produk yang dihasilkan baik, maka penting untuk mengontrol perubahan-perubahan secara kimia maupun bio tersebut. Kinetika yang berhubungan dengan perubahan-perubahan tersebut perlu untuk dipelajari lebih lanjut, seperti konsentrasi reaktan, pH, dan temperatur. Perlu diingat, bahwa tidak semua sintesis memiliki reaksi yang sederhana. Jika terdapat reaksi yang berangkai atau paralel, maka masing-masing faktor perubahan tersebut akan mempengaruhi satu sama lain secara simultan. Contohnya jika di dalam suatu reaksi terbentuk asam organik hasil dari turunnya pH secara drastis, maka penurunan pH tersebut akan mengakibatkan reaksi lain terjadi secara simultan. Hal tersebut memungkinkan untuk mencoba merubah model dalam bentuk konsentrasi reaktan dan produk secara paralel sehingga diperoleh parameter yang diperlukan.

Pemodelan *uniresponse* merupakan metode untuk menganalisa hanya satu tahap pada waktu tertentu. Dengan mengaplikasikan pemodelan *multiresponse*, model-model yang lebih logis dan perkiraan parameter yang lebih akurat akan dapat diperoleh. Hal tersebut berarti akan menghasilkan kontrol yang lebih baik untuk

kualitas proses secara kimia maupun biologi. Konsep ini dapat diaplikasikan salah satunya untuk melihat hubungan waktu tinggal dengan konsentrasi yang diperoleh.

Contoh berikut dapat memperlihatkan perbedaan *uniresponse* dengan *multiresponse* secara definisi:

Jika terdapat sejumlah M jenis dari asam lemak sisa (*fatty acid residue*), maka bentuk umum dari laju yang menggambarkan perubahan konsentrasi terhadap waktu harus mengikutsertakan semua konsentrasi sejumlah M asam lemak tersebut, air, M monogliserida dari tiga tipe posisi berbeda, M^2 digliserida dari tiga posisi berbeda, dan M^3 trigliserida. Untuk menyederhanakan bentuk laju, maka perlu dibuat asumsi, yakni penyerangan terhadap masing-masing ikatan ester yang labil berhubungan dengan posisi reaksi esterifikasi pada *glycerol backbone*, dan keberadaan residu dari reaksi esterifikasi lainnya. Asumsi ini mengimplikasikan bahwa untuk model *uniresponse*, konsentrasi total asam lemak dari ikatan gliserida yang dapat bereaksi merupakan parameter yang dijadikan acuan. Sedangkan untuk *multiresponse* model, yang menjadi acuan merupakan konsentrasi dari masing-masing asam lemak dari ikatan gliserida yang dapat bereaksi.

2.9 State of The Art

2.9.1 Riset Rute Alkohol : Katalis Heterogen

Selain menggunakan biokatalis terimmobilisasi, penggunaan resin penukar ion juga berpotensi sebagai katalis heterogen untuk menyelesaikan masalah-masalah yang ditimbulkan oleh katalis basa homogen.

Belakangan ini, banyak dikembangkan resin penukar ion sebagai katalis heterogen dalam sintesis biodiesel. Pada tahun 2005, Kitakawa dkk telah melakukan eksperimen menggunakan resin penukar anion sebagai katalis heterogen dalam mensintesis minyak bunga matahari (*sunflower*) menggunakan reaktor *batch* dan *expanded bed reactor* secara kontinyu. Reaksi ini menghasilkan konversi biodiesel mencapai 90% dalam waktu 3 jam (Kitakawa, 2005).

Pada tahun 2008 Park dkk juga menggunakan resin penukar ion untuk memproduksi biodiesel dari *soapstock* (HAAO/*High Acid Acid Oil*) dengan kandungan FFA (*Free Fatty Acid*/asam lemak bebas) yang sangat tinggi. Proses ini berjalan pada suhu 80°C dengan molar rasio HAAO terhadap metanol adalah 1:9. Metode ini menghasilkan konversi biodiesel yang cukup tinggi, yaitu sekitar 92%. Park menyatakan bahwa penggunaan katalis ini memiliki beberapa keuntungan, diantaranya mudah untuk *direcovery* dan dapat digunakan berulang-ulang (Park, 2008).

Kim et al melakukan eksperimen dengan mengkombinasikan penggunaan katalis heterogen dan katalis homogen. Resin penukar anion yang digunakan sebagai katalis heterogen menunjukkan hasil yang bagus dalam produksi biodiesel, namun reaksi ini menghasilkan tri-, di-, dan monogliserida yang masih mengandung gliserol. Sedangkan menurut spesifikasi ASTM, kandungan maksimal gliserol dalam biodiesel adalah 0,24%. Kim menggunakan katalis homogen untuk mengatasi masalah ini. Kim menggunakan CH₃ONa untuk menetralisasi asam lemak bebasnya. Reaksi ini berjalan pada suhu 50°C dan menghasilkan konversi biodiesel sekitar 95% (Kim, 2008).

Pada tahun 2008 Talukder melakukan percobaan untuk membandingkan aktivitas biokatalis Novozym 435 dan resin penukar kation Amberlyst 15 dalam pembuatan biokatalis menggunakan minyak *Palm Fatty Acid Distillate* (PFAD). Reaksi ini berjalan dalam rentang temperatur 50-60°C. Novozym 435 menghasilkan konversi biodiesel 95% dalam waktu 2 jam. Amberlyst 15 menghasilkan konversi biodiesel 97% waktu 7 jam (Talukder, 2008).

2.9.2 Riset Rute Non Alkohol di Dunia

Penggunaan lipase sebagai biokatalis untuk sintesis biodiesel memiliki potensi yang baik untuk menggantikan katalis basa dan asam pada rute konvensional. Biasanya, metanol digunakan sebagai sebagai pendonor alkil untuk sintesis biodiesel. Namun, lingkungan beralkohol dapat membuat aktivitas enzim turun. Masalah ini

dapat menjadi bumerang untuk industri –industri yang memproduksi biodiesel dengan enzim sebagai biokatalis.

Belakangan ini, metil asetat sedang dikembangkan sebagai pendonor alkil pengganti metanol dalam sintesis biodiesel. Studi perbandingan telah dilakukan oleh tim peneliti dari Cina, yakni Du et al. (2004), dengan menggunakan Novozym 435 sebagai biokatalis dalam reaksi transesterifikasi kacang kedelai dengan metanol dan reaksi interesterifikasi dengan metil asetat. Dari penelitian ini diperoleh konversi biodiesel sebesar 92 % (Du et al., 2004). Sementara itu pada tahun 2005, Xu et al., melakukan studi dan penelitian tentang persamaan model kinetika sederhana untuk reaksi interesterifikasi menggunakan substrat trigliserida dengan metil asetat sebagai pendonor alkil untuk sintesis biodiesel (Xu et al., 2005).

Penggunaan etil asetat sebagai pendonor alkil dalam sintesis biodiesel telah dilakukan oleh Mukesh et al., dan Kim et al., pada tahun 2007. Mukesh et al melakukan penelitian tentang reaksi interesterifikasi antara *Jatropha curcas* (*jatropha*), *Pongamia pinnata* (*karanj*) dan *Helianthus annuus* (*sunflower*) dengan menggunakan biokatalis *Novozym-435*. Maksimum konversi biodiesel yang diperoleh sebesar 91.3%, 90% dan 92.7% dengan rasio mol etil acetat/ minyak 11:1 reaksi selama 12 jam pada suhu 50 °C (Modi,2007).

Dari paparan di atas, seluruh penelitian sintesis biodiesel melalui rute baru (rute non-alkohol) dilakukan pada reaktor *batch*. Sedangkan sintesis biodiesel secara kontinyu baru dilakukan melalui rute alkohol. Peneliti asal Malaysia, Fatimah et. al, melakukan sintesis biodiesel secara kontinyu di dalam reaktor *packed bed* dengan menggunakan *Novozyme 435* melalui rute alkohol. Penelitian tersebut dilakukan dengan memvariasikan laju alir dan tinggi *bed*. Konversi metil ester yang didapatkan berkisar antara 68,5 % sampai dengan 80 % dengan rasio mol minyak/metanol 1 : 4 pada suhu 40 °C (Fatimah et al., 2008).

2.9.3 Riset Rute Non Alkohol di Indonesia

Penelitian mengenai sintesis biodiesel menggunakan biokatalis melalui rute non alkohol di Indonesia baru dilakukan pada reaktor *batch*. Heri Hermansyah et.al.

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). Pengaruh biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel yang dihasilkan diselidiki. Untuk lipase yang terimmobilisasi akan di uji stabilitasnya. Reaksi dilakukan dalam reaktor *batch* dan analisa sampel menggunakan HPLC. Konversi metil ester yang didapatkan 86% untuk lipase dalam bentuk tersuspensi dan 82% untuk lipase yang terimmobilisasi, dengan kondisi konsentrasi biokatalis sebesar 4% wt substrat, rasio mol minyak:metil asetat 1:2 selama 50 jam reaksi. Immobilisasi lipase dilakukan dengan menggunakan metode adsorpsi dengan menggunakan material penyangga zeolit. 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 (Hermansyah, 2008).

Tabel 2. 9 Keberadaan riset yang dilakukan

Rute Non Alkohol	Heri H. (2008) Mukesh (2007) Kim (2007) Du (2004) Xu (2004)	Penelitian yang dilakukan
Rute Alkohol	Watanabe (2002) Shimada (2002) Iso (2001) Kaieda (2001)	Fatimah (2008)
<i>State of The Art</i>	Reaktor Batch	Reaktor Kontinyu

Dan untuk lebih mengembangkan penelitian sintesis biodiesel dengan menggunakan rute non-alkohol tersebut, maka diusulkan untuk melakukan sintesis biodiesel secara kontinyu di dalam reaktor *packed bed* menggunakan biokatalis yang terimmobilisasi.

Tabel 2. 10 Rangkuman *state of the art*

No.	Penulis/Tahun	Minyak / Pendorong Alkil / Biokatalis	Reaktor	Konversi (%)	Teknik
1.	Du et al. (2004)	Minyak kacang kedelai / Metil asetat / Novozyme 435	<i>Batch</i>	92	Metil asetat sebagai pendonor alkil terbaru digunakan dalam sintesis biodiesel.
2.	Xu et al. (2004)	Minyak kacang kedelai / Metil asetat / Novozym 435	<i>Batch</i>	98	Studi kinetika terhadap persamaan interesterifikasi.
3.	Modi et al. (2007)	Minyak jatropha / Etil asetat / Novozym 435	<i>Batch</i>	91,3	Etil asetat sebagai pendonor alkil terbaru digunakan dalam reaksi interesterifikasi.
4.	Hery Hermansyah (2008)	Minyak kelapa sawit / Metil asetat / <i>Candida rugosa</i> lipase terimmobilisasi pada zeolit dan Novozym 435	<i>Batch</i>	86 (tersuspensi) dan 82 (terimmobilisasi)	Metode adsorpsi dan sol-gel digunakan dalam mengimmobilisasi enzim.
5.	Fatimah et al. (2008)	Minyak kelapa sawit bekas / Metanol / Novozym 435	Reaktor <i>packed bed</i>	79	Melakukan reaksi transesterifikasi dari minyak kelapa sawit bekas dan metanol menggunakan biokatalis terimmobilisasi pada reaktor kontinyu.

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

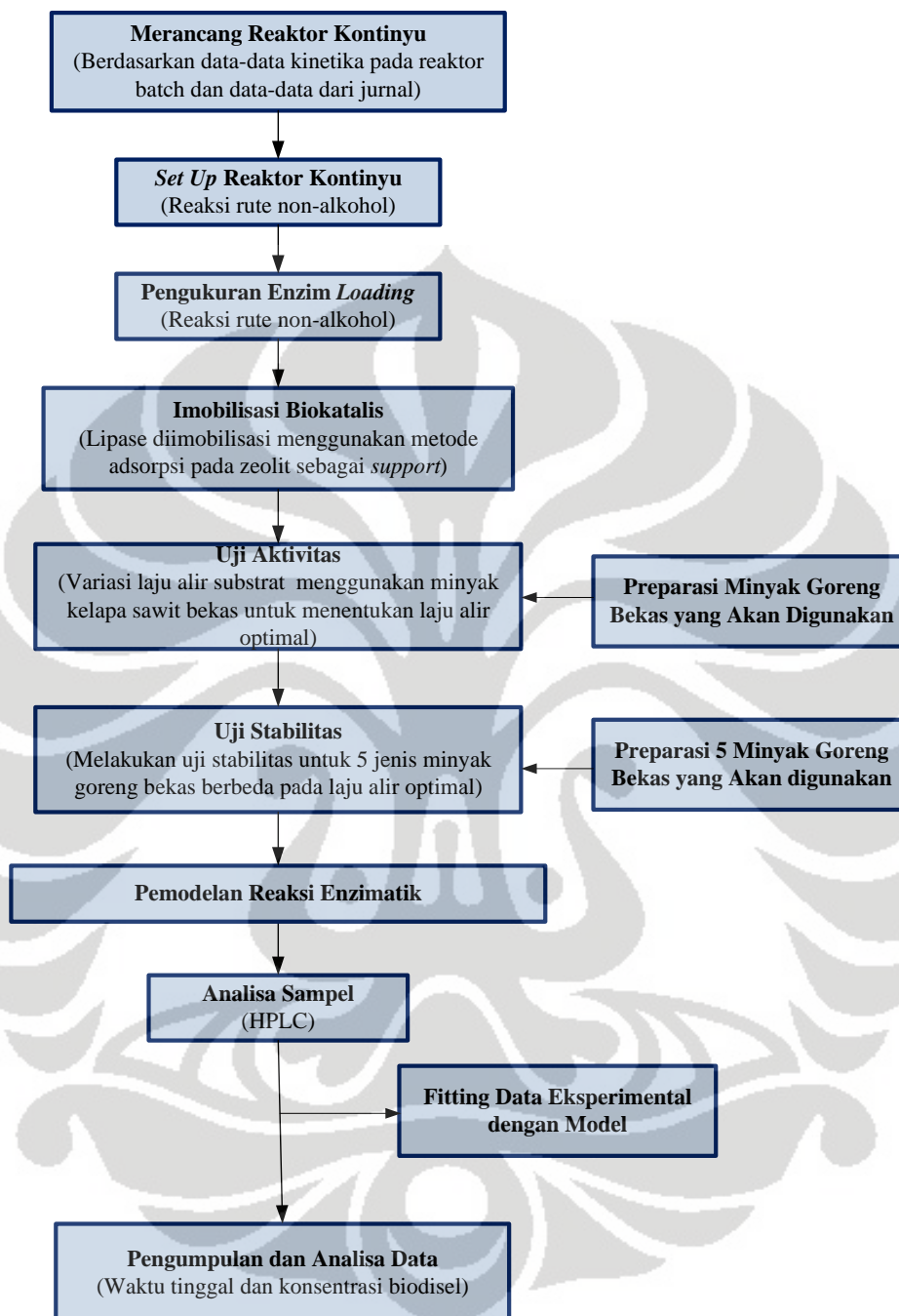
Dalam bab ini akan dibahas secara menyeluruh mengenai alur proses penelitian, bahan dan peralatan yang digunakan, variabel penelitian, dan prosedur penelitian. Sebagian besar penelitian ini dilakukan di Laboratorium dasar Proses Kimia, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Untuk melakukan analisis produk dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dilakukan di Lab TIAB PUSPIPTEK Serpong.

3.1 Alur Penelitian

Inti pekerjaan dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Merancang reaktor kontinu berdasarkan data-data kinetika reaktor *batch*.
2. Biokatalis yang terpilih akan diimmobilisasi dengan menggunakan metode adsorpsi. Dimana konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi diukur untuk menentukan enzim *loading* (konsentrasi enzim yang terimmobilisasi).
3. Preparasi minyak goreng bekas.
4. Uji aktivitas dalam reaktor kontinu dengan variasi laju alir akan dilakukan untuk menentukan laju alir optimal.
5. Uji stabilitas dengan menggunakan lima jenis minyak goreng bekas dengan laju alir optimal yang telah ditentukan pada tahap sebelumnya.
6. Pemodelan reaksi enzimatik menggunakan *uniresponse*

Diagram alir penelitian ini dapat dilihat pada gambar di bawah ini:





Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian




3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1 berikut:

Tabel 3. 1 Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian


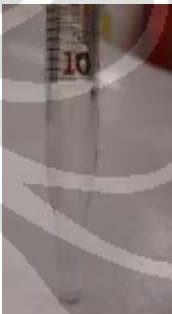


No.	Bahan yang Digunakan	Gambar
1.	Biokatalis yang digunakan <i>Candida rugosa</i> lipase (Sigma Co.)	 <p data-bbox="922 797 1313 831">Gambar 3. 2 <i>Candida rugosa</i> lipase</p>
2.	Lima jenis minyak goreng bekas (minyak kelapa sawit (Bimoli), kacang kedelai (Happy Oil), minyak jagung (Mazola), minyak kelapa (Barco), dan minyak biji bunga canola (Dougo)) yang berasal dari limbah rumah tangga dalam negeri.	 <p data-bbox="898 1267 1337 1339">Gambar 3. 3 Lima jenis minyak goreng bekas yang digunakan</p>
3.	Zeolit yang digunakan sebagai material penyangga (<i>support</i>) untuk mengimmobilisasi biokatalis.	 <p data-bbox="927 1570 1305 1603">Gambar 3. 4 Zeolit alam lampung</p>
4.	Metil asetat pro analis (Merck Schuchardt, Hohenbrunn, Germany)	 <p data-bbox="922 1917 1313 1951">Gambar 3. 5 Metil asetat pro analis</p>

5.	Phosphate Buffer 0,05 M; pH 7 (membuat sendiri)	 Gambar 3. 6 <i>Phosphate buffer 0,05 M, pH 7</i>
6.	Lowry Reagent (membuat sendiri)	 Gambar 3. 7 <i>Lowry reagent</i>
7.	Phenol Reagent (membuat sendiri)	 Gambar 3. 8 <i>Phenol reagent</i>







3.2.2 Alat







Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.2 berikut:

Tabel 3. 2 Alat-alat yang digunakan dalam penelitian

No.	Alat yang Digunakan	Gambar
1.	Beaker Glass sebagai wadah bahan penelitian (Asahi Techno Glass, Iwaki, Japan)	 <p data-bbox="975 712 1262 745">Gambar 3. 9 Beaker glass</p>
2.	Pipet volumetrik 10 mL	 <p data-bbox="906 1126 1326 1160">Gambar 3. 10 Pipet volumetrik 10 mL</p>
3.	Termometer digunakan untuk memastikan suhu pada reaksi yang sedang dilakukan. (Iwaki, Asahi Techno Glass, Japan)	 <p data-bbox="970 1339 1265 1373">Gambar 3. 11 Termometer</p>
4.	Reaktor <i>packed bed</i> (PBR)	 <p data-bbox="930 1973 1307 2007">Gambar 3. 12 Reaktor <i>packed bed</i></p>

Universitas Indonesia

5.	Selang silikon (Silicon, Unknown made)	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 13 Selang silikon</p>
6.	<i>Water bath</i>	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 14 <i>Water bath</i></p>
7.	<i>Microtube</i> sebagai tempat menyimpan sampel yang akan diuji (Plastic Screwcap, Iwaki Glass, Canada)	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 15 <i>Microtube</i></p>
8.	Timbangan digital untuk pengukuran massa bahan (Kern)	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 16 Timbangan digital</p>
9.	<i>Syringe auto transfepette</i> digunakan untuk mengambil sampel berukuran mikron. (Transferpette, Brand, Germany)	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 17 <i>Syringe auto transfepette</i></p>
10.	Pompa air untuk mengalirkan air pemanas ke dalam jaket reaktor (Yamano SP 1200, Shenzen, China)	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 18 Pompa air</p>

11.	<i>Stopwatch</i> untuk mengukur waktu reaksi dan pengambilan sampel (Alba, China)	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 19 <i>Stopwatch</i></p>
12.	<i>Magnetic stirrer</i> sebagai alat pengaduk untuk immobilisasi biokatalis.	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 20 <i>Magnetic stirrer</i></p>
13.	Cawan dan alat tumbuk keramik untuk menumbuk zeolit	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 21 Cawan dan alat tumbuk keramik</p>
14.	Alat ayak digunakan untuk mengayak zeolit sesuai ukuran yang diinginkan.	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 22 Alat ayak</p>
15.	<i>Shaker</i> untuk proses immobilisasi.	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 23 <i>Shaker</i></p>
16.	<i>Syringe pump</i> untuk mengalirkan substrat ke dalam reaktor hingga produk terbentuk. (KD Scientific Inc. , Holliston)	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 24 <i>Syringe pump</i></p>

17.	<i>Plastic syringe</i> sebagai tempat substrat yang akan dialirkan menggunakan <i>syringe pump</i> .	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 25 <i>Plastic syringe</i></p>
18.	Oven untuk mengeringkan zeolit dan alat-alat setelah dicuci. (Memert, Germany)	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 26 Oven</p>
19.	UV <i>spectrophotometer</i> digunakan untuk mengukur konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi.	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 27 <i>UV spectrophotometer</i></p>
20.	HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>) digunakan untuk mengukur konsentrasi substrat dan produk.	 <p style="text-align: center;">Gambar 3. 28 HPLC</p>

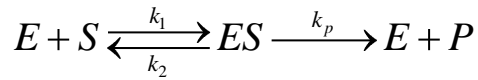
3.3 Prosedur Percobaan

3.3.1 Rancang Reaktor Kontinyu

Rancang reaktor kontinyu dilakukan berdasarkan data-data kinetika reaktor *batch* yang sudah ada untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol. Dengan data-data kinetika tersebut diharapkan nantinya dimensi dari reaktor kontinyu dapat ditentukan. Adapun tahapan penyelesaian dari perancangan ini adalah sebagai berikut:

- Mol balance untuk reaktor *packed bed*:

$$\frac{dX}{dW} = \frac{r_s}{F_{s0}} \quad (3.1)$$



- Laju reaksi substrat [S] (Michaelis-Menten):

$$-r_s = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad (3.2)$$

- Menghubungkan persamaan [3.1] dan [3.2]:

$$\frac{dX}{dW} = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \times \frac{1}{F_{s0}} \quad (3.3)$$

$$dW = F_{s0} \frac{K_m + C_{s0}(1-X)}{V_{\max} C_{s0}(1-X)} dX$$

dimana:

$$[S] = C_s = C_{s0} (1-X)$$

X = konversi

- Dengan mengintegrasikan kedua ruas maka diperoleh:

$$\int_0^W dW = F_{s0} \int_0^X \frac{K_m + C_{s0}(1-X)}{V_{\max} C_{s0}(1-X)} dX \quad (3.4)$$

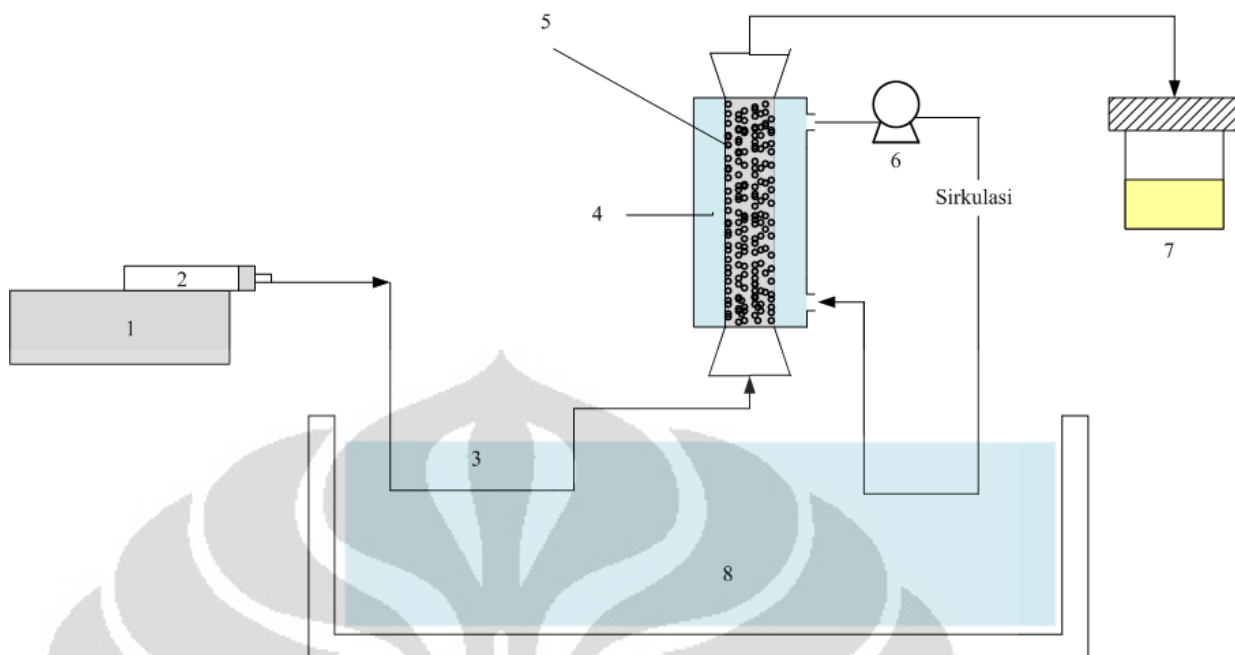
$$W = C_{s0} \cdot v_0 \int_0^X \frac{K_m + C_{s0}(1-X)}{V_{\max} C_{s0}(1-X)} dX$$

Penyelesaian bentuk integral di atas menggunakan metode numerik (*Simpson Rule*):

$$\int_0^X \frac{K_m + C_{s0}(1-X)}{V_{\max} C_{s0}(1-X)} dX = \frac{h}{3} [f_0 + 4f_1 + f_2] \quad (3.5)$$

3.3.2 Set Up Reaktor Kontinyu

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



Gambar 3. 29 Skematik diagram reaktor kontinyu interesterifikasi sintesis biodiesel secara enzimatis

Keterangan gambar:

- 1 : *Syringe pump*
- 2 : *Syringe* plastik berisi substrat (Minyak + Metil asetat)
- 3 : Selang silikon
- 4 : Jaket pemanas
- 5 : Kolom reaktor
- 6 : Pompa
- 7 : Wadah produk
- 8 : *Water bath*, 100 spm 37 °C

3.3.3 Preparasi Minyak Goreng Bekas

Minyak goreng bekas yang akan digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil perlakuan menggoreng 1 kilogram ayam dengan 1 liter minyak. Ketika minyak digunakan untuk menggoreng terjadi peristiwa oksidasi dan juga hidrolisis yang memecah molekul minyak menjadi asam. Untuk itu perlu dilakukan perlakuan khusus terhadap minyak goreng bekas sebelum digunakan sebagai substrat dalam sintesis biodiesel. Adapun preparasi minyak goreng bekas tersebut adalah dengan menyaring pengotor dengan kertas saring sebanyak 2 kali.

3.3.4 Percobaan Penentuan Enzim *Loading*

3.3.4.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar

Tujuan dari pembuatan kurva kalibrasi ini adalah untuk mengukur konsentrasi protein dalam larutan. Metode yang digunakan adalah metode Lowry. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam metode Lowry ini adalah sebagai berikut:

- 1) Lowry Reagent (48 mL larutan A + 1 mL larutan B + 1 mL larutan C),
dimana:
 - ❖ Larutan A : 2 gram Na_2CO_3 dalam 100 mL 0,1 N NaOH (0,4 gram NaOH dalam 100 mL aquadest)
 - ❖ Larutan B : 0,1 gram NaK Tartrate dalam 10 mL aquadest
 - ❖ Larutan C : 0,1 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 20 mL aquadest
- 2) Phenol reagent (5 mL Follin Ciocalteu phenol reagent + 5 mL aquadest)

Prosedurnya adalah sebagai berikut:

- 1) Larutan BSA dengan konsentrasi 0,01 gram/mL (1 gram BSA dalam 100 mL larutan *phosphate buffer*).
- 2) Memvariasikan konsentrasi BSA menjadi beberapa konsentrasi dengan cara mengencerkan 0,01 gram/mL larutan BSA yang telah dibuat pada tahap 1. Kemudian menyiapkan tiap-tiap larutan pada tabung reaksi.

Tabel 3. 3 Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian

Konsentrasi awal	Konsentrasi akhir	Volume akhir	Volume awal	<i>Phosphate Buffer</i> yang ditambahkan
0,01 gr/mL	0,0002 gr/mL	10 mL	0,2 mL	9,8 mL
0,01 gr/mL	0,0005 gr/mL	10 mL	0,5 mL	9,5 mL
0,01 gr/mL	0,001 gr/mL	10 mL	1 mL	9 mL
0,01 gr/mL	0,005 gr/mL	10 mL	5 mL	5 mL

- 3) Menambahkan 2 mL Lowry Reagent ke setiap sampel konsentrasi BSA.
- 4) Menginkubasi selama 10 menit pada suhu ruang.
- 5) Menambahkan 0,2 mL larutan phenol reagent pada setiap tabung.
- 6) Vortex (melakukan pencampuran dengan bantuan vibrator) segera setiap tabung tersebut.
- 7) Menginkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.
- 8) Mengambil tiap sampel ke dalam kuvet.

- 9) Menentukan absorbansi setiap sampel menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. (Sampel dibuat triplo dan blanko menggunakan larutan *phosphate buffer*)
- 10) Memplot absorbansi vs gram/mL BSA untuk memperoleh kurva kalibrasi standar.

Phosphate buffer dalam percobaan ini digunakan untuk melarutkan enzim atau protein dan untuk menjaga pH reaksi. Berikut adalah cara pembuatan *phosphate buffer*:

Larutan A : 0.2 M larutan NaH_2PO_4 27.8 g dalam 1000 mL

Larutan B : 0.2 M larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 35.6 g dalam 1000 mL

Komposisi larutan: X mL larutan A + Y mL larutan B → larutan sampai 200 mL

Tabel 3. 4 Perbandingan volum untuk larutan buffer

NaH_2PO_4	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	pH
87.7	12.3	6
39	61	7
16	84	7.5
5.3	94.7	8

3.3.4.2 Pengukuran Enzim *Loading*

Sebanyak 0,4 gram serbuk lipase dilarutkan ke dalam 40 mL *buffer phosphate* (0,01 M, pH 7) pada erlenmeyer, kemudian di stirrer (500 rpm) selama 60 menit untuk melarutkan enzim. Larutan enzim tersebut dicampurkan dengan 0,651 gram *support* (zeolit), kemudian campuran tersebut di stirrer kembali selama empat jam pada suhu ruang.

Sebelum diimmobilisasi *free* enzim diukur absorbansinya. Mengukur absorbansi tiap sampel dengan menggunakan metode Lowry. Sampelnya dibuat triplo. Enzim *loading* dihitung dengan menggunakan rumus :

$$C_E = C_0 - C_t$$

dimana :

C_E = konsentrasi enzim ter-immobilisasi (gr/mL)

C_0 = konsentrasi enzim sebelum immobilisasi, t = 0 (gr/mL)

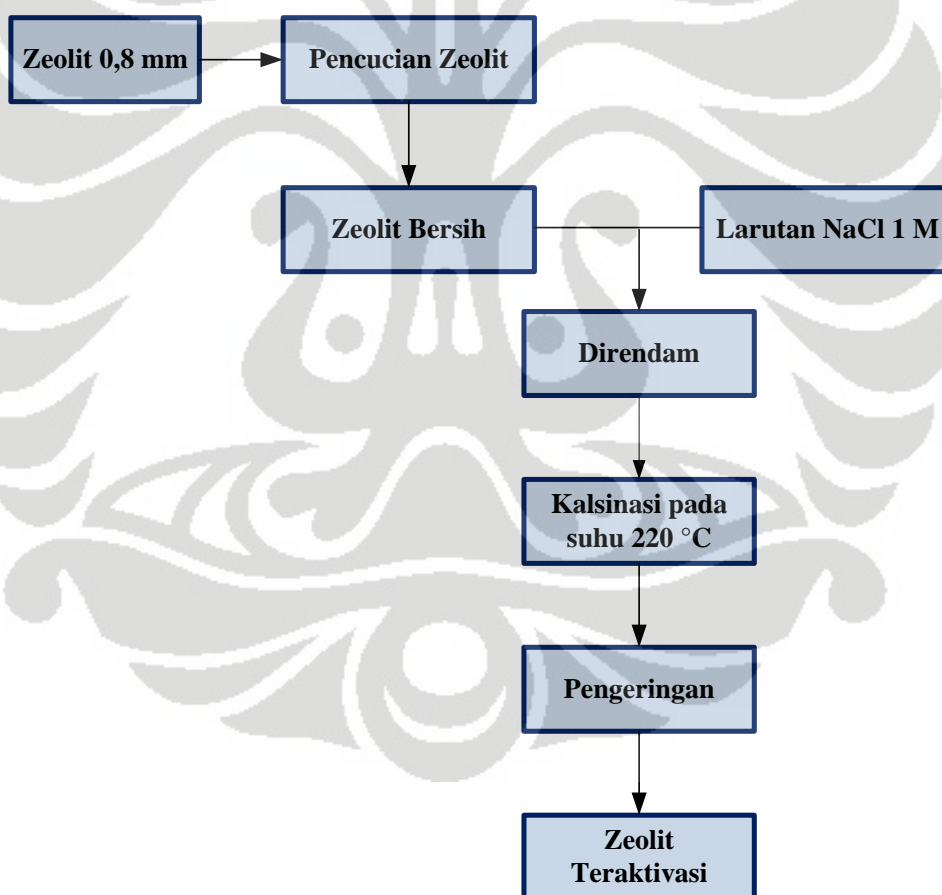
C_t = konsentrasi enzim pada waktu t (gr/mL)

3.3.5 Percobaan Immobilisasi Biokatalis

Prosedur proses immobilisasi biokatalis dapat dibuat diagram alirnya seperti pada Gambar 3.31. Adapun penjelasan dari tiap-tiap tahapan immobilisasi biokatalis adalah sebagai berikut:

a. Preparasi Material Penyangga

Menyiapkan zeolit ukuran partikel 0,8 mm dengan cara ditumbuk kemudian diayak. Zeolit yang sudah diayak kemudian dicuci dengan air untuk dibersihkan. Selanjutnya zeolit direndam pada NaCl 1 M selama 12 jam dengan penggantian larutan sebanyak dua 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.



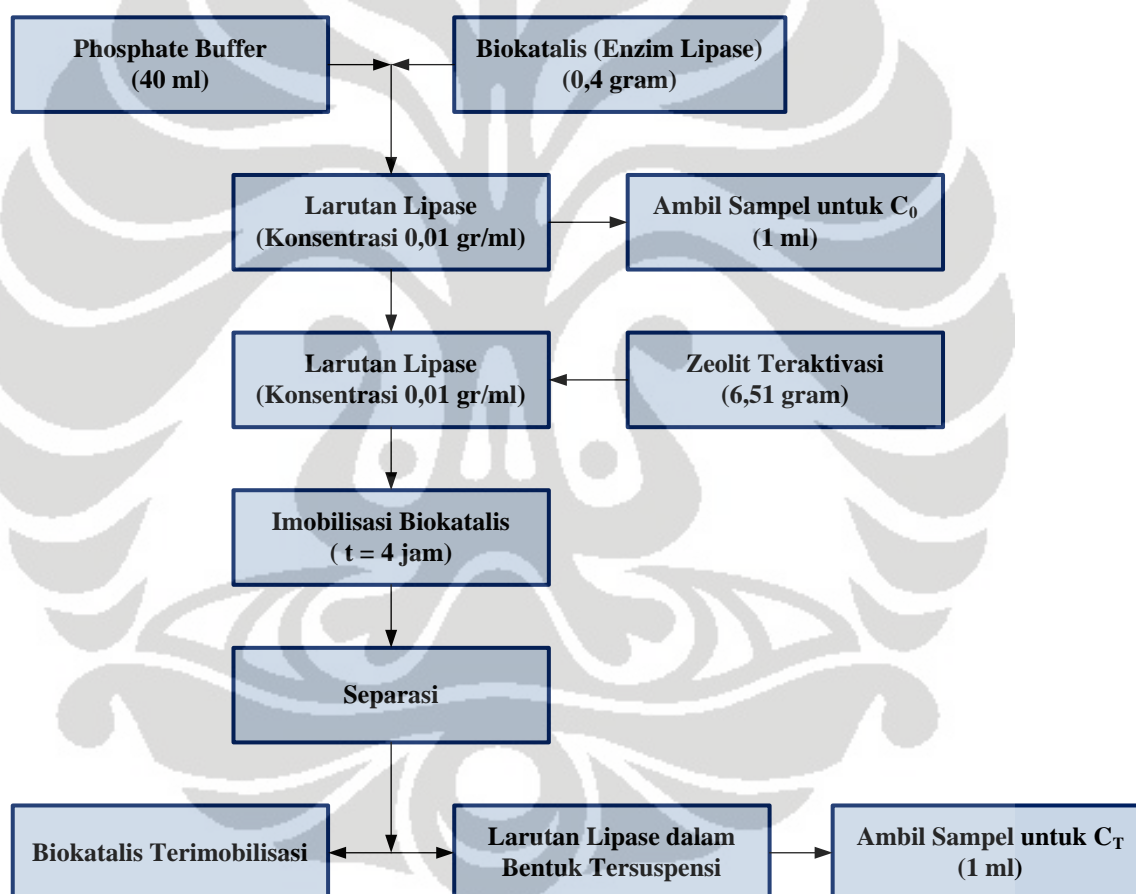
Gambar 3. 30 Diagram alir preparasi material penyangga

b. Preparasi Biokatalis

0,4 gram serbuk *Candida rugosa* lipase dilarutkan dalam 40 mL *phosphate buffer*. Konsentrasi enzim di larutan lipase diukur menggunakan UV *spectrophotometer*.

c. Immobilisasi Biokatalis

Membuat larutan lipase dengan memasukkan 0,4 gram serbuk lipase ke dalam 40 mL larutan *phosphate buffer*. Selanjutnya mengambil 1 mL larutan tersebut untuk diukur konsentrasi awal enzimnya menggunakan UV *spectrophotometer*. Kemudian 6,51 gram zeolit yang telah dipreparasi dimasukkan ke dalam larutan lipase untuk diimmobilisasi selama 4 jam. Zeolit selanjutnya dipisahkan dari larutan lipase, dikeringkan dan siap dipakai.



Gambar 3. 31 Diagram alir prosedur immobilisasi biokatalis

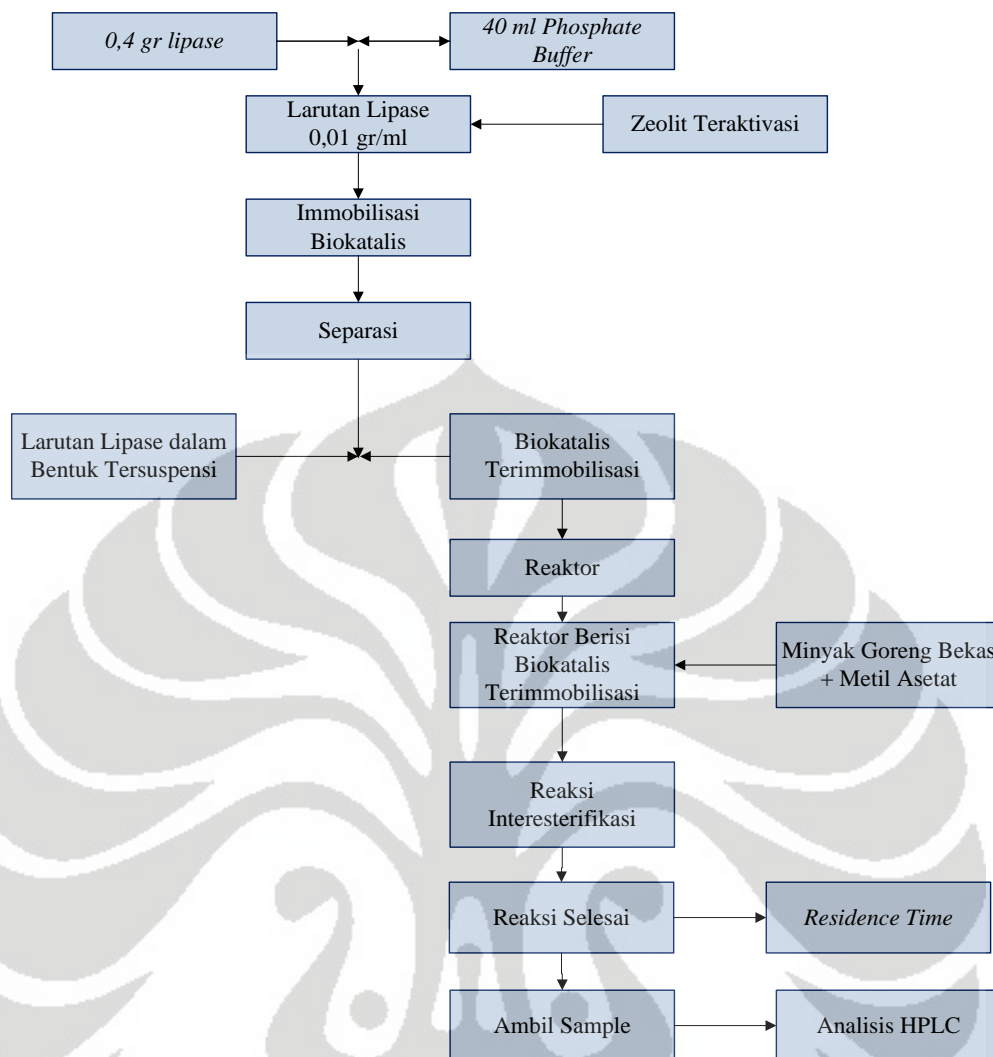
3.3.6 Percobaan Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Terimmobilisasi pada Reaktor Kontinyu dengan Variasi Laju Alir

Reaksi akan dilangsungkan dalam *packed bed reactor* (PBR), dimana zeolit yang telah diimmobilisasi dimasukkan ke dalam reaktor hingga penuh.

Substrat dicampur secara homogen terlebih dahulu di dalam *beaker glass*, dimana perbandingan mol substrat minyak kelapa sawit bekas terhadap metil asetat yang digunakan adalah 1:12. Setelah dicampur, substrat dimasukkan ke dalam *syringe* untuk selanjutnya dialirkan menggunakan pompa *syringe* dengan laju alir tertentu. Sebelum reaksi dimulai, reaktor dipanaskan terlebih dahulu hingga mencapai 37°C dengan cara mengalirkan air pemanas bersuhu 37°C di dalam jaket reaktor. Hal ini dilakukan agar saat terjadi proses sintesis, lipase sebagai biokatalis sudah mencapai suhu optimalnya. Percobaan uji aktivitas ini direaksikan pada suhu 37°C, dengan variasi 4 laju alir, yakni: 1 mL/jam, 2 mL/jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam. Waktu tinggal dicatat untuk tiap laju alir.

Tabel 3. 5 Kondisi operasi untuk uji aktivitas variasi laju alir

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	0,01 gram lipase/mL <i>buffer phosphate</i>
Rasio mol minyak goreng bekas : metil asetat	1:12
Temperatur reaksi	37 °C
Laju alir	1 mL/jam, 2 mL/jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam



Gambar 3. 32 Diagram alir percobaan sintesis biodiesel melalui rute non alkohol dengan variasi laju alir (substrat: minyak goreng bekas; laju alir = 1 mL/jam, 2 mL.jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)

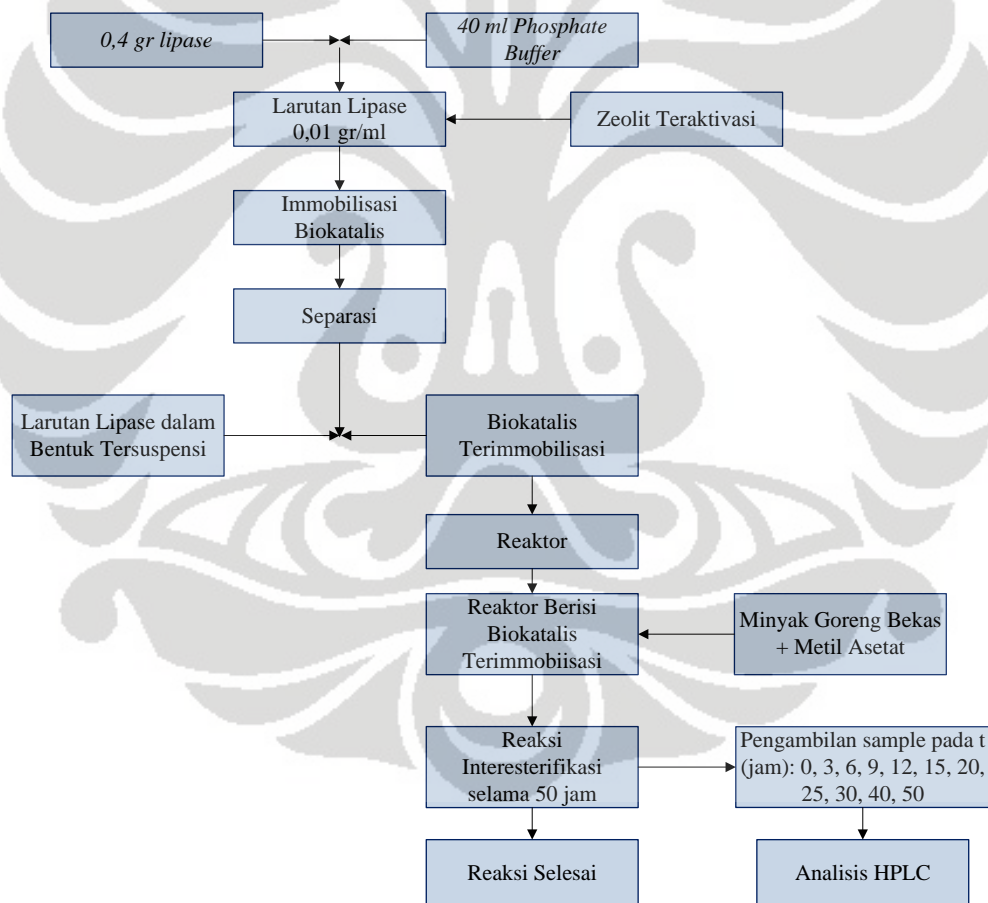
3.3.7 Percobaan Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi dengan Variasi 5 Jenis Minyak Goreng Bekas

Lima jenis minyak goreng bekas digunakan dalam percobaan ini untuk melihat stabilitas masing-masing minyak dalam sintesis biodiesel menggunakan biokatalis terimmobilisasi. Reaksi akan dilangsungkan dalam reaktor *packed bed* (PBR), dimana zeolit yang telah terimmobilisasi dimasukkan ke dalam reaktor hingga penuh. Perbandingan mol substrat minyak goreng bekas terhadap metil asetat yang digunakan adalah 1:12. Setelah dicampur, substrat dimasukkan ke dalam *syringe* untuk selanjutnya dialirkan menggunakan pompa *syringe* dengan laju alir tertentu. Percobaan uji aktivitas ini direaksikan dengan laju alir 2 mL/jam

dan pada suhu 37°C. Uji stabilitas dilakukan secara kontinyu selama 50 jam. Untuk waktu proses pengambilan sampel dilakukan pada t (jam) : 0, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50.

Tabel 3. 6 Kondisi reaksi untuk uji stabilitas

Kondisi Reaksi	
Konsentrasi awal enzim	0,01 gram lipase/mL <i>buffer phosphate</i>
Jenis minyak bekas yang digunakan	1.) Minyak kelapa sawit 2.) Minyak kacang kedelai 3.) Minyak jagung 4.) Minyak kelapa 5.) Minyak biji bunga canola.
Rasio mol Minyak jelantah : metil asetat	1:12
Temperatur reaksi	37 °C
Laju alir	2 mL/jam



Gambar 3. 33 Diagram alir uji stabilitas lipase terimmobilisasi reaksi interesterifikasi biodiesel (substrat: minyak goreng bekas; t = 50 jam; T = 37°C)

Tiap waktu pengambilan sampel, sampel minyak sebanyak 1 μ L dipisahkan dari larutan reaksi kemudian dianalisis dengan menggunakan HPLC untuk mengukur konsentrasi biodiesel yang terbentuk. Selanjutnya, konversi biodiesel tersebut dibandingkan tiap waktu untuk melihat bagaimana stabilitas minyak dalam sintesis biodiesel. Selain itu, percobaan ini ditujukan untuk melihat stabilitas biokatalis yang digunakan dalam melakukan sintesis biodiesel.

3.3.8 Pemodelan Reaksi Enzimatis

Neraca massa untuk bioreaktor yang melibatkan reaksi enzimatik secara umum dituliskan dalam bentuk:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} + \vec{\nabla} \cdot (C_i \vec{v}) - \vec{\nabla} \cdot (D_{c,i} \vec{\nabla} C_i + L_p \vec{\nabla} p + L_T \vec{\nabla} T) + \dots + a_c (K_c \Delta \mu_i + K_p \Delta P + K_T \Delta T) - \sum_j v_j r_j = 0 \quad (3.6)$$

Sedangkan perubahan entalpi, perpindahan panas disekitar dinding reaktor, viskositas fluida, dan kesetimbangan energi tidak dipertimbangkan dalam penurunan model ini.

Persamaan kimia yang menggambarkan proses interesterifikasi dapat dituliskan sebagai berikut:



dimana S_1 , S_2 , S_3 , dan S_4 masing-masing mewakili komponen trigliserida, metil asetat, FAME, dan triasetilgliserol.

Persamaan kimia yang menggambarkan proses deaktivasi adalah sebagai berikut:



dimana E_1 dan E_2 merupakan bentuk aktif dari lipase, sedangkan E_3 dan E_4 merupakan bentuk terdeaktivasi dari lipase.

Dengan asumsi sebagai berikut:

- 1.) Vektor kecepatan dianggap konstan sepanjang reaktor
- 2.) Material dinding reaktor bersifat inert sehingga pengaruh reaksi kimia dianggap tidak ada.
- 3.) Kecepatan linear sangat kecil, sehingga \vec{v}_p dianggap nol
- 4.) Tidak ada *pressure drop* sepanjang reaktor

Reaktor dioperasikan secara isothermal

persamaan 3.6 dapat disederhanakan menjadi:

$$\frac{\partial C_{Si}}{\partial t} + v_z \frac{\partial C_{Si}}{\partial z} - v_{si} r_{int} \left[\vec{F}_S \cdot \vec{C}_E \right] = 0, \quad i = 1, 2, 3, 4 \quad (3.11)$$

dimana:

kondisi awal: $t = 0, 0 \leq z \leq L, \vec{C}_S = \vec{C}_{S,0}$ dan

kondisi batas: $t \geq 0, z = 0, \vec{C}_S = \vec{C}_{S,0}$

dimana \vec{C}_S merupakan vektor konsentrasi seluruh substrat, \vec{C}_E merupakan vektor konsentrasi seluruh enzim, dan r_{int} merupakan laju reaksi interesterifikasi pada waktu t .

Asumsi bahwa fasa enzim adalah tetap:

$$\vec{\nabla} \cdot \left(\vec{C}_i \vec{v} \right) = 0, \quad \vec{\nabla} \cdot \left(\vec{C}_c \vec{v}_{\mu i} + L_p \vec{v}_p + L_T \vec{v}_T \right) = 0, \quad \text{dan} \quad a \left(\vec{C}_c \Delta \mu_i + K_p \Delta P + K_T \Delta T \right) = 0$$

Maka persamaan (3.6) menjadi:

$$\frac{\partial C_{Ei}}{\partial t} - v_{Ei} r_{d,i} \left[\vec{F}_E \right] = 0, \quad i = 1, 2, 3, 4 \quad (3.12)$$

dimana:

kondisi awal: $t = 0, 0 \leq z \leq L, \vec{C}_S = \vec{C}_{S,0}$

Integrasi persamaan [3.12] membuat $\vec{C}_{Ei} = \vec{C}_{Ei} \left(\vec{C}_S \right)$, sehingga persamaan (3.11)

dapat dituliskan dalam bentuk:

$$\frac{\partial C_{Si}}{\partial t} + v_z \frac{\partial C_{Si}}{\partial z} - v_{si} a_t \left(r_{int} \right) \left[\vec{F}_S \right] = 0, \quad i=1,2,3,4 \quad (3.13)$$

dimana r_{int} adalah laju interesterifikasi untuk $t = 0$ dan a_t merupakan aktivitas enzim saat waktu t .

Model ke-2 dianggap sebagai deaktivasi *irreversible* dari E₁ ke E₃ dengan adanya penyusunan paralel E₁ ke E₂. Sedangkan model pertama dianggap sebagai deaktivasi *irreversible* dari E₁ ke E₃. Hubungan laju pembentukan E₁ (r_{d,1}) dan E₂ (r_{d,2}) dapat dituliskan sebagai berikut:

$$r_{d,1} = -\mu_{dn} + k_r \zeta_{E1} \quad (3.14)$$

$$r_{d,1} = -k_{dn} C_{E1} \quad (3.15)$$

$$t = 0, \quad C_{E1} = C_{E1,0} \quad (3.16)$$

Untuk model A,

$$r_{d,A} = -\mu_{dn} + k_r \zeta_{E1} \quad (3.17)$$

$$r_{d,B} = -k_r C_{E1} \quad (3.18)$$

$$t = 0, \quad C_{E1} = C_{E1,0}, \quad C_{E2} = C_{E2,0} \quad (3.19)$$

Untuk model B,

$$r_{d,A} = -\mu_{dn} + k_r \zeta_{E1} \quad (3.20)$$

$$r_{d,B} = \mu_r C_{E1} - k_{dr} C_{E2}, \quad t = 0, \quad C_{E1} = C_{E1,0}, \quad C_{E2} = C_{E2,0} \quad (3.21)$$

Model C merupakan kombinasi persamaan (3.14) sampai dengan (3.21) dengan menggabungkannya ke persamaan (3.12):

$$a_{t,A} = \frac{C_{E1}}{C_{E1,0}} = \exp(-\lambda_{11} t) \quad (3.22)$$

$$a_{t,B} = \frac{C_{E1} + \alpha C_{E2}}{C_{E1,0} + \alpha C_{E2,0}} = \lambda_{21} \exp(-\lambda_{22} t) + (-\lambda_{21}) \quad (3.23)$$

$$a_{t,C} = \frac{C_{E1} + \alpha C_{E2}}{C_{E1,0} + \alpha C_{E2,0}} = \lambda_{31} \exp(-\lambda_{32} t) + (-\lambda_{31}) \exp(-\lambda_{33} t) \quad (3.24)$$

Mengikuti persamaan Ping Pong Bi Bi diperoleh persamaan:

$$r_{i_{nt,C}} = \frac{\mu_{\max, \text{int}} f v_{\max, \text{int}} C_{S2} \zeta_{S1}}{v_{\max, \text{int}} K_{m,2} C_{S1} + v_{\max, \text{int}} K_{m,1} C_{S2} + \frac{v_{\max f} K_{m,4}}{K_{eq}} C_{S3} + \dots} \quad (3.25)$$

$$\dots \frac{v_{\max f} K_{m,3}}{K_{eq}} C_{S4} + v_{\max, \text{int}} C_{S1} C_{S2} + \dots$$

$$\dots \frac{v_{\max f} K_{m,4}}{K_{eq} K_{i,1}} C_{S2} C_{S3} + \frac{v_{\max f} K_{m,A}}{K_{i,4}} C_{S2} C_{S4} + \frac{v_{\max f}}{K_{eq}} C_{S3} C_{S4}$$

Menggunakan persamaan 3.7, persamaan neraca triasetilgliserol dan FAME dapat dituliskan dalam bentuk:

$$C_{S1,0} - C_{S1} = C_{S3} - C_{S3,0} = C_{S4} - C_{S4,0} \quad (3.26)$$

Sedangkan fasa minyak dapat diasumsikan menjadi jenuh setiap waktu terhadap konsentrasi metil asetat $C_{S2,sat}$. Jika $C_{S1} = [G]$, yang merupakan ikatan gliserida yang tidak bereaksi, maka kombinasi persamaan (3.25) dan 3.26 menghasilkan:

$$r_{int,C} = \frac{\theta_{C1}[G]}{1 + \theta_{C2}[G] + \theta_{C3}[G]^2} \quad (3.27)$$

Persamaan di atas merupakan model ke-3 dari interesterifikasi.

$$r_{int,B} = \frac{\theta_{B1}[G]}{1 + \theta_{B2}[G]} \quad (3.28)$$

Persamaan 3.28 merupakan model ke-2 interesterifikasi yang mengacu pada mekanisme Ping Pong Bi Bi, dimana asilasi merupakan laju reaksi pembatas. Dan persamaan berikut merupakan model pertama dari reaksi interesterifikasi:

$$r_{int,A} = \theta_{A1}[G] \quad (3.29)$$

Sedangkan persamaan 3.29 merupakan model ke-1 interesterifikasi yang mengacu pada mekanisme Ping Pong Bi Bi, dimana diasilasi merupakan laju reaksi pembatas.

Model A, B, dan C dari reaksi interesterifikasi di atas nantinya akan digunakan untuk *fitting* terhadap data eksperimen. Pada akhirnya, dipilih salah satu model yang dapat memberikan *fitting* terbaik terhadap data eksperimen.

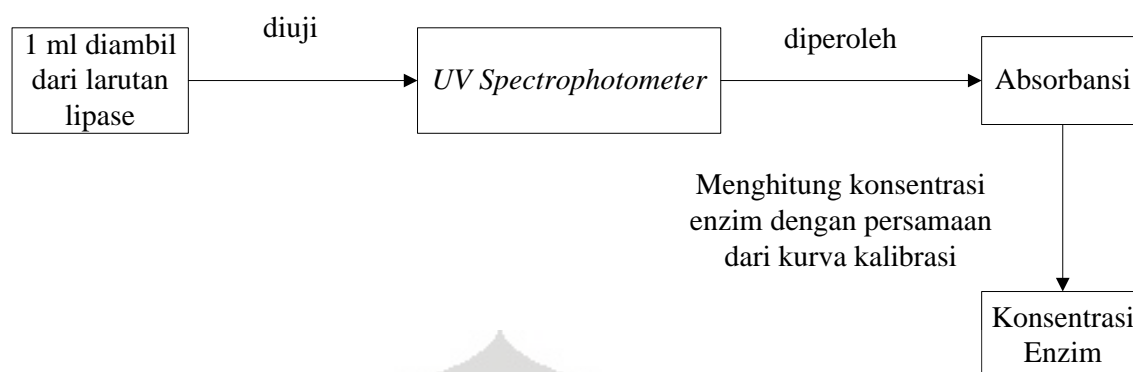
3.3.9 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.3.9.1 Percobaan Immobilisasi Enzim

Dari tahapan ini akan didapatkan data konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi. Selanjutnya, data tersebut akan diolah untuk menentukan enzim *loading*, yakni banyaknya biokatalis yang teradsorp oleh zeolit.

Berikut merupakan diagram alir dari teknik analisis data percobaan immobilisasi enzim:



Gambar 3. 34 Diagram alir teknik analisis data percobaan immobilisasi enzim

3.3.9.2 Percobaan Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Terimmobilisasi pada Reaktor Kontinyu

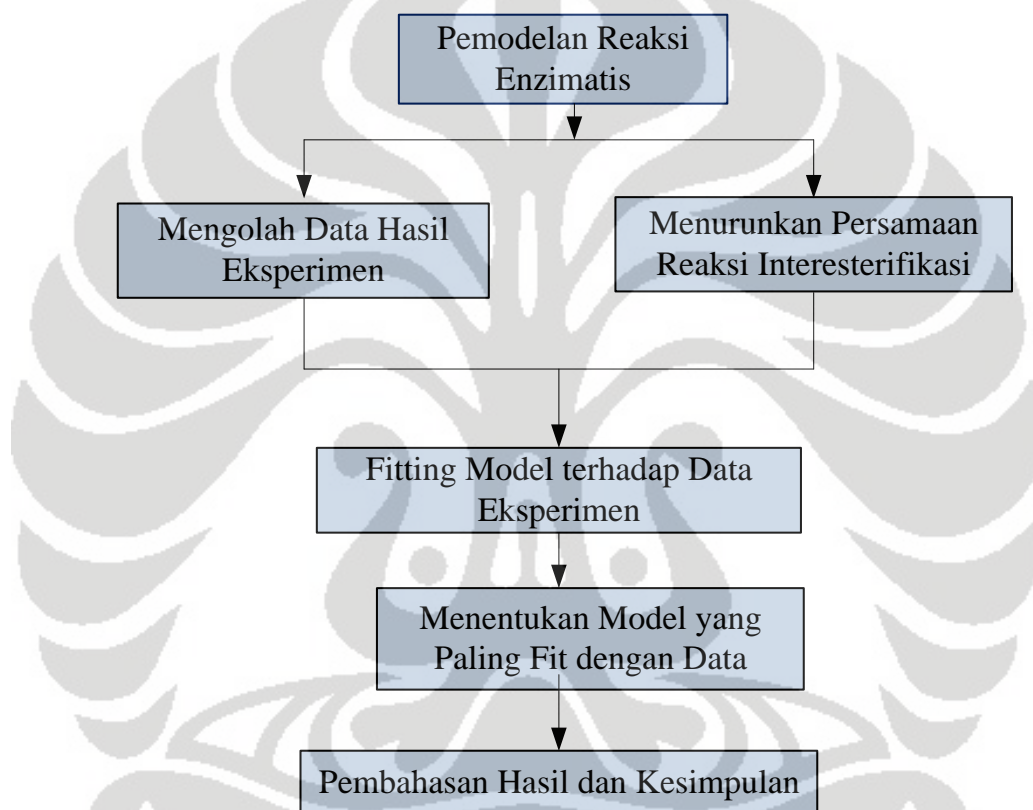
Untuk mengetahui % konversi biodiesel yang dihasilkan maka analisa dilakukan menggunakan HPLC (*high performance liquid chromatograph*). Penggunaan HPLC didasari oleh sifat fasa sampel yang berbentuk liquid. Banyaknya (%) konversi biodiesel yang terbentuk dilihat dari kandungan metil-oleatnya. Komponen 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 berikut ini:

Tabel 3. 7 Rumus-rumus pengolahan data

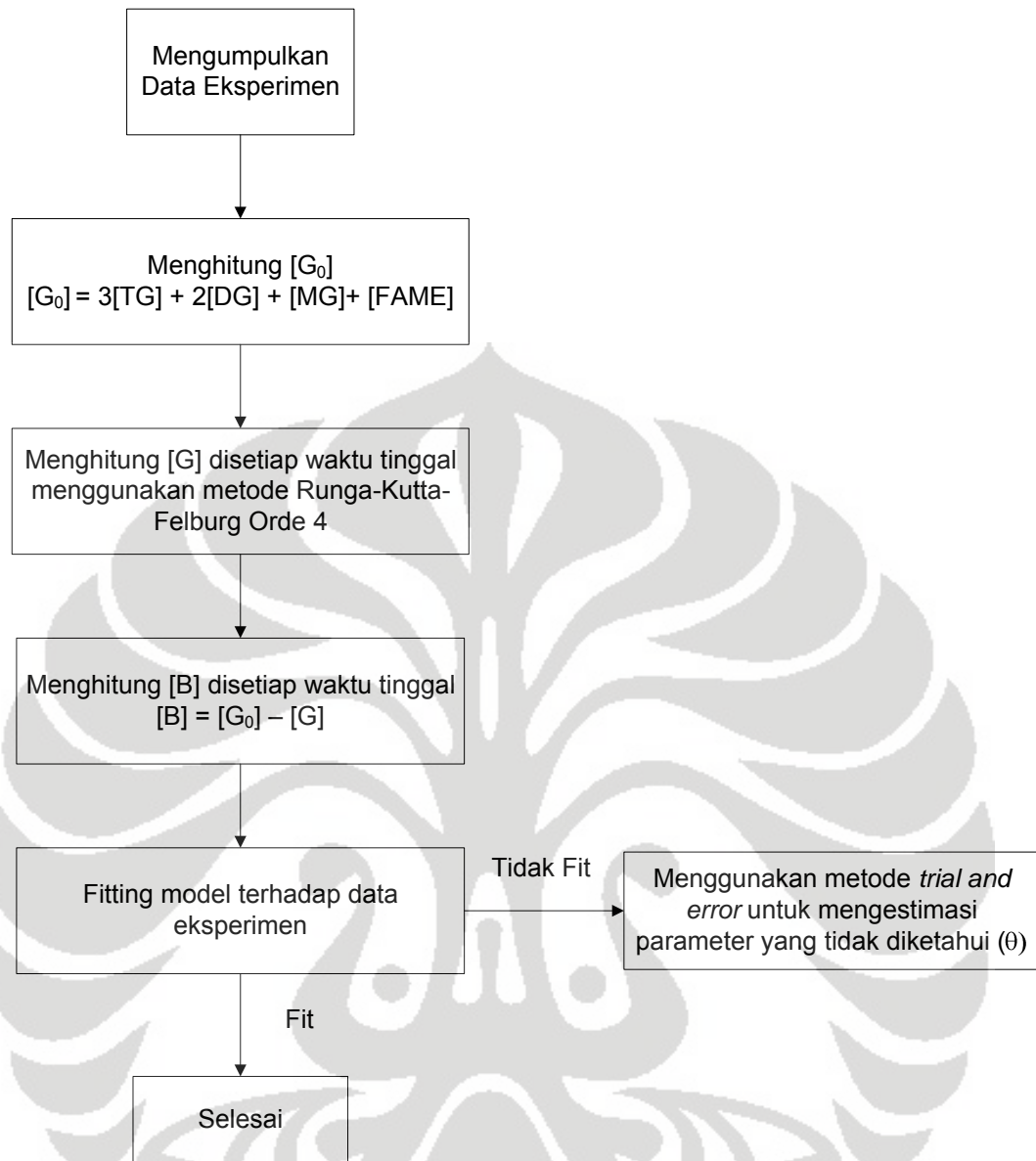
No.	Langkah Pengolahan Data	Rumus
1.	Menghitung konsentrasi standar masing-masing komponen. (mol/L)	$T = \frac{\text{Konsentrasi mg / L Trioleat}}{Mr \text{ Trioleat}}$ $D = \frac{\text{Konsentrasi mg / L Dioleat}}{Mr \text{ Dioleat}}$ $M = \frac{\text{Konsentrasi mg / L Monooleat}}{Mr \text{ Monooleat}}$ $F = \frac{\text{Konsentrasi mg / L FAME}}{Mr \text{ FAME}} \quad (3.30)$
2.	Menghitung konsentrasi sampel (mol/L) dengan melakukan interpolasi terhadap luas area yang diperoleh dari percobaan terhadap luas area standar yang digunakan.	$C_{\text{Sampel}} = \frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Luas area std}} \times C_{\text{std}} \quad (3.31)$
3.	Menghitung <i>mol balance</i> untuk memperoleh konsentrasi biodiesel yang terbentuk pada waktu tertentu.	$\text{mol balance} = \frac{3 \times C_{T,t=t} + 2 \times C_{D,t=t} + C_{M,t=t} + C_{B,t=t}}{3 \times C_{T,t=0} + 2 \times C_{D,t=0} + C_{M,t=0} + C_{B,t=0}} \quad (3.32)$ <p>Dari persamaan tersebut diperoleh konsentrasi biodiesel saat $t = t$. Untuk mendapatkan % konversi biodiesel yang terbentuk maka konsentrasi biodiesel yang terbentuk dibandingkan dengan konsentrasi awal substrat. Pengertian % konversi konsentrasi disini merupakan perbandingan konsentrasi produk terhadap konsentrasi awal substrat.</p>
4.	Menghitung % konversi masing-masing komponen.	$\% \text{ konversitrioleat} = \frac{C_{T,t=0} - C_{T,t=t}}{C_{T,t=0}} \times 100\%$ $\% \text{ konversidioleat} = \frac{2 \times C_{D,t=t}}{3 \times C_{T,t=0}} \times 100\%$

		$\% \text{ konversimono oleat} = \frac{C_{M,t=t}}{3 \times C_{T,t=0}} \times 100\%$ $\% \text{ konversibiodiesel} = \frac{C_{B,t=t}}{3 \times C_{T,t=0}} \times 100\%$ <p>(3.33)</p>
--	--	--

3.3.9.3 Pemodelan Reaksi Enzimatis



Gambar 3. 35 Diagram alir teknik analisis pemodelan reaksi enzimatis



Gambar 3. 36 Diagram alir teknik analisis pemodelan reaksi enzimatis secara rinci

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Perancangan Reaktor Kontinyu

Dengan menggunakan data-data kinetika yang telah diperoleh dari percobaan sintesis biodiesel pada reaktor *batch*, diharapkan reaktor *packed bed* dapat dirancang secara optimal. Data-data kinetika reaktor *batch* diperoleh dari penelitian-penelitian yang dilakukan oleh mahasiswa Universitas Indonesia (Marno, 2008; Rizkiyadi, 2008; Surendro, 2008). Berikut data-data kinetika reaktor *batch*:

Tabel 4. 1 Data kinetika *batch*

Biokatalis yang Digunakan	Persamaan garis	a (Intersep)	B (Slope)	V max	Km
<i>Candida rugosa</i> lipase yang diimmobilisasi menggunakan metode adsorpsi	$y = 150,66x + 84,445$	84,445	150,66	0,0118	1,7841
Novozym 435	$y = 165,55x + 12,759$	12,759	165,55	0,0784	12,9752
<i>Porcine pancreatic</i> lipase yang diimmobilisasi menggunakan metode adsorpsi	$y = 2838,9x - 1759,4$	-1759,400s	2838,9	-0,0006	-1,6136

Berikut merupakan hasil perhitungan berat katalis yang diperuntukkan untuk reaktor *packed bed* sesuai data kinetika reaktor *batch*:

Tabel 4. 2 Hasil perhitungan massa katalis

Biokatalis yang Digunakan	Massa Katalis (W)
Candida rugosa lipase yang diimmobilisasi menggunakan metode adsorpsi	0,0124 gram
Novozym 435	0,0126 gram
<i>Porcine pancreatic</i> lipase yang diimmobilisasi menggunakan metode adsorpsi	0,1165 gram

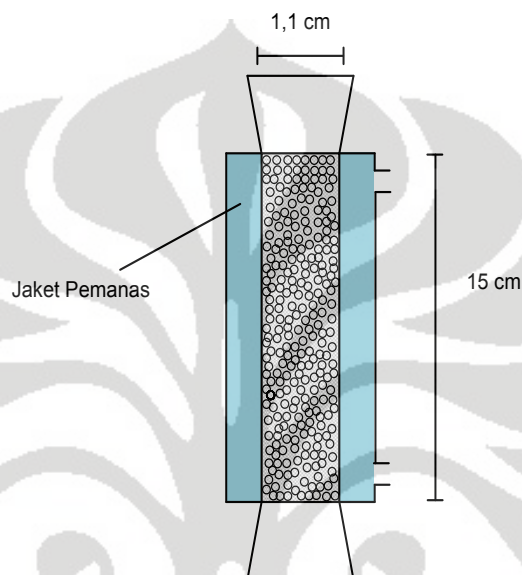
Dengan menetapkan konversi sebesar 90%, massa katalis yang dihasilkan dari perhitungan berkisar 0,01-0,12 gram. Hasil perhitungan ini belum dapat diaplikasikan langsung dalam disain reaktor *packed bed*, dikarenakan massa katalis berhubungan langsung dengan tinggi *packed bed*. Banyaknya jumlah katalis sebanding dengan tinggi *packed bed*. Kedua parameter ini dapat menggambarkan konversi biodiesel yang akan dihasilkan. Semakin sedikit jumlah katalis yang digunakan, maka tinggi *packed bed* juga semakin kecil.. Hal tersebut membuat kontak antara substrat dengan katalis semakin cepat, sehingga konversi yang dihasilkan semakin kecil (Kitakawa et al., 2005).

Pada tahun 2005, Kitakawa et al., melakukan penelitian mengenai hubungan tinggi *packed bed* dengan massa katalis, yakni resin dalam produksi biodiesel secara kontinyu. Kitakawa et al. menggunakan reaktor *packed bed* dengan diameter dalam sebesar 1,1 cm dan tinggi reaktor divariasikan dari 15-75 cm. Tinggi reaktor divariasikan untuk melihat hubungan antara jumlah katalis yang digunakan dengan tinggi *packed bed*. Dari penelitian ini diperoleh hubungan linear antara massa katalis dengan tinggi *packed bed* yang optimum.

Fatimah et al. (2008) telah melakukan penelitian mengenai hubungan disain tinggi *packed bed* dengan konversi biodiesel yang dihasilkan menggunakan pemodelan *multiresponse*. Fatimah et al., melihat hubungan laju alir substrat dan tinggi *packed bed* secara simultan terhadap konversi biodiesel yang dihasilkan.

Dari penelitian tersebut diperoleh kondisi optimum dari tinggi *packed bed* dan laju alir substrat masing-masing sebesar 10,53 cm dan 0,57 ml/menit. Dari kondisi tersebut diperoleh konversi biodiesel sebesar 79,1%.

Pada akhirnya, reaktor didesain berdasarkan penelitian Kitakawa et al., yakni reaktor *packed bed* berdiameter dalam 1,1 cm dan panjang 15 cm. Berikut merupakan desain reaktor yang digunakan pada penelitian ini:



Gambar 4. 1 Desain reaktor beserta dimensinya

Tujuan reaktor didesain berselubung jaket pemanas adalah untuk menjaga kondisi temperatur reaksi selalu tetap. Temperatur pemanas yang digunakan sekitar 37 °C, yang merupakan temperatur optimal enzim yang digunakan sebagai biokatalis dalam reaksi interesterifikasi (Rizkiyadi,2008).

4.2 Hasil Percobaan Penentuan Enzim *Loading*

Untuk menentukan enzim loading diperlukan kurva kalibrasi. Pembuatan kurva kalibrasi bertujuan untuk mengukur konsentrasi protein yang terdapat di dalam larutan. Sampel yang diambil akan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis kemudian dicatat nilai absorbansinya. Metode yang digunakan adalah Metode *Lowry*. Metode ini didasari pada reaksi antara protein dengan Folin-Ciocalteu yang menyebabkan perubahan fisis pada larutan. Perubahan fisis ini meliputi perubahan larutan dari bening menjadi berwarna biru.

Semakin banyak kadar protein di dalam larutan, warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat.

Sampel protein yang digunakan dalam pembuatan kurva kalibrasi ini adalah BSA (*Bovine Serum Albumin*) dimana kadar kandungan proteinnya mendekati kemurnian. Konsentrasi protein BSA ini divariasikan sebanyak 5 variasi konsentrasi, yakni: 0,01 gr/mL, 0,005 gr/mL, 0,001 gr/mL, 0,0005 gr/mL, dan 0,0002 gr/mL. Sedangkan pengambilan nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan secara triplo untuk masing-masing konsentrasi sampel.

4.2.1 Hasil Perhitungan Enzim *Loading*

Dari kurva kalibrasi standar protein yang dibuat diperoleh persamaan garis linear $y = 0,0804x - 0,0034$, dimana y merupakan konsentrasi protein (gr/mL) dan x adalah absorbansi. Persamaan linear tersebut nantinya digunakan untuk mengukur konsentrasi enzim lipase dari nilai absorbansinya (kurva kalibrasi terdapat pada lampiran).

Banyaknya lipase yang dapat teradsorp ke dalam zeolit dapat dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\%X_L = \frac{C_o - C_t}{C_o} \times 100\% \quad (4.1)$$

dimana :

$\%X_L$ = presentase enzim yang ter-immobilisasi

C_0 = konsentrasi enzim sebelum immobilisasi, $t = 0$ (gr/mL)

C_t = konsentrasi enzim pada waktu t (gr/mL)

Dari persamaan di atas dapat disimpulkan bahwa setelah immobilisasi, konsentrasi enzim akan semakin berkurang. Hal tersebut nantinya dapat ditunjukkan oleh *slope* yang bernilai negatif. Berikut merupakan hasil perhitungan enzim *loading* dari sembilan percobaan yang dilakukan dalam penelitian ini:

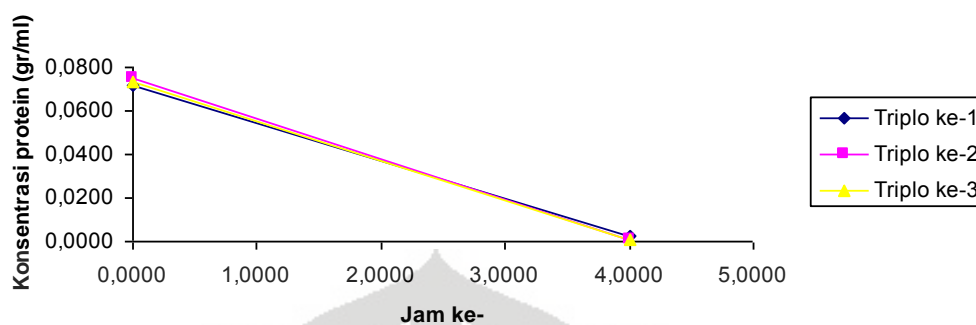
Tabel 4. 3 Presentase enzim *loading*

No.	Uji Aktivitas	Laju Alir	% Enzim yang Terimmobilisasi	Kemiringan (-)
1.	Minyak kelapa sawit bekas	1 mL/jam	70,18 %	0,0158
2.	Minyak kelapa sawit bekas	2 mL/jam	68,40 %	0,0154
3.	Minyak kelapa sawit bekas	4 mL/jam	67,64 %	0,0146
4.	Minyak kelapa sawit bekas	5 mL/jam	44,44 %	0,0092
No.	Uji Stabilitas	Laju Alir	% Enzim yang Terimmobilisasi	Kemiringan (-)
1.	Minyak kelapa sawit bekas	2 mL/jam	71,45 %	0,0084
2.	Minyak kacang kedelai bekas	2 mL/jam	97,70 %	0,0180
3.	Minyak jagung bekas	2 mL/jam	75,08 %	0,0178
4.	Minyak kelapa bekas	2 mL/jam	62,87 %	0,0150
5.	Minyak biji bunga canola bekas	2 mL/jam	60,66 %	0,0163

Keterangan: Kolom ke-2 dan ke-3 tidak memiliki hubungan langsung dengan besarnya enzim yang terimmobilisasi. Kedua kolom tersebut merupakan percobaan interesterifikasi yang menggunakan immobilisasi enzim dengan sejumlah enzim *loading* yang ditunjukkan oleh kolom ke-4.

Hasil presentase lipase yang dapat diadsorp oleh *support* zeolit bervariasi untuk sembilan percobaan immobilisasi yang dilakukan. Dimana, presentase terbesar diperoleh pada immobilisasi enzim untuk uji stabilitas menggunakan minyak kacang kedelai bekas, yaitu sebesar 97,70 %. Sedangkan presentase terkecil diperoleh pada immobilisasi enzim untuk uji aktivitas laju alir 5 mL/jam, sebesar 44,44 %.

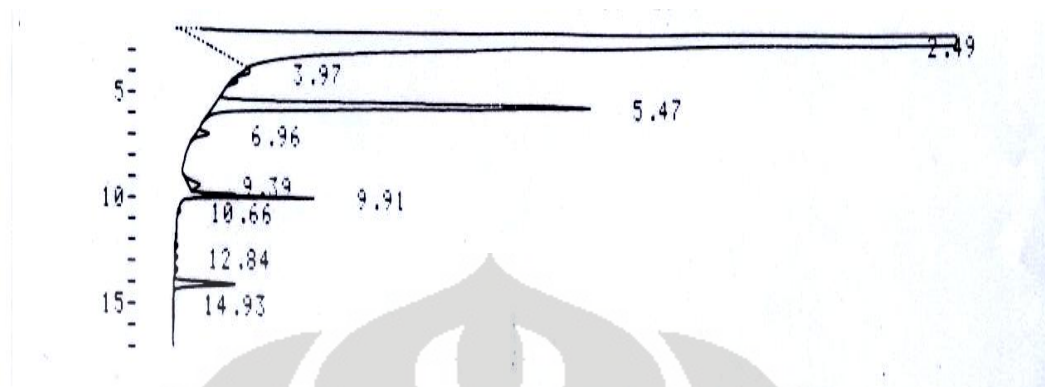
Seperti yang disebutkan sebelumnya, bahwa penurunan konsentrasi enzim dapat digambarkan oleh *slope* dari persamaan linear yang merupakan hasil pengolahan data. Semakin banyak enzim yang teradsorp ke dalam zeolit, maka *slope* yang dihasilkan juga akan semakin besar. Hal tersebut dapat dilihat saat presentase enzim *loading* terbesar menghasilkan *slope* terbesar pula pada persamaan $y = -0,018x + 0,0735$. Sedangkan presentase terkecil memberikan *slope* terkecil pula, yakni ditunjukkan oleh persamaan $y = -0,0092x + 0,0832$.



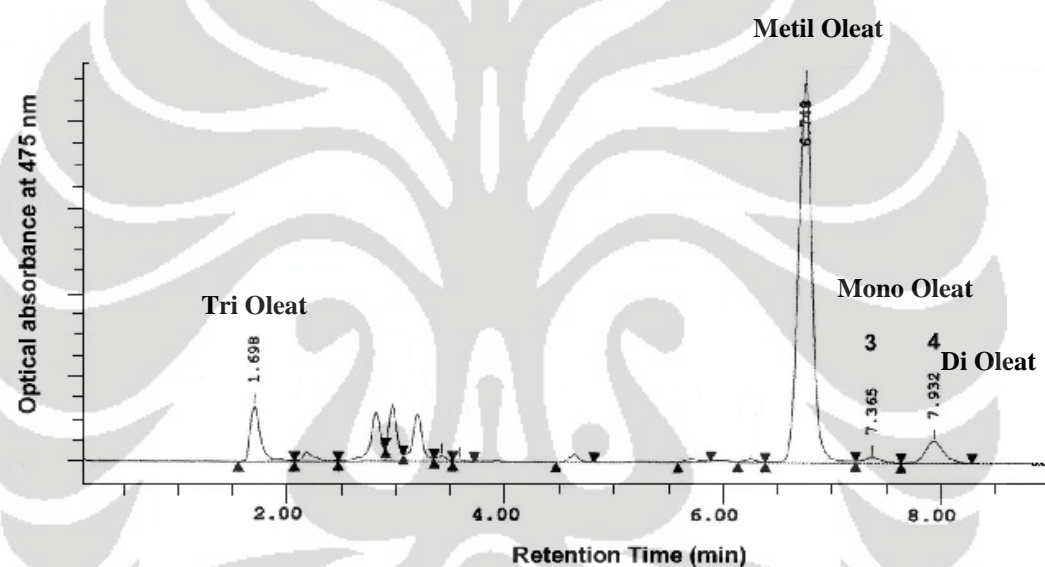
Gambar 4. 2 Konsentrasi enzim sebelum dan setelah immobilisasi dengan presentase enzim *loading* sebesar 97,70 %

Hasil enzim *loading* masih ada yang cukup rendah, yakni 44,44 %. Hasil yang masih cukup rendah ini kemungkinan disebabkan teknik immobilisasi yang dilakukan yaitu adsorpsi fisik masih cukup lemah dalam mengimmobilisasi, karena metode ini hanya bergantung pada kemampuan dari kontak enzim dengan permukaan *support*.

4.3 Kurva Hasil HPLC



Gambar 4.3 Kurva standar HPLC



Gambar 4.4 Profil HPLC untuk sintesis biodiesel menggunakan rute non-alkohol

Dari dua gambar di atas, dapat terlihat profil kurva standar HPLC dan profil HPLC untuk sintesis biodiesel menggunakan rute non-alkohol. Standar yang digunakan dalam analisa HPLC adalah oleat, sehingga produk biodiesel yang dihasilkan akan diwakili oleh metil oleat. Komponen oleat digunakan karena mewakili jumlah komponen asam lemak terbesar di dalam kandungan trigliserida. Pada Gambar 4.3 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, mono oleat dan metil oleat.

Perhitungan konsentrasi biodiesel (metil oleat) yang dihasilkan diperoleh dengan membandingkan *retention time* standar terhadap sampel.

4.4 Pengaruh Waktu Tinggal Terhadap Konversi Biodiesel yang Dihasilkan

Pada percobaan ini, substrat dialirkan melalui reaktor *packed bed* dengan variasi 4 laju alir, yakni: 1 mL/jam, 2 mL/jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam. Tujuan dari percobaan ini adalah untuk melihat hubungan waktu tinggal dengan konversi biodiesel yang dihasilkan. Selain itu dari percobaan ini dapat diperoleh laju alir optimal dalam sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi pada reaktor *packed bed*.

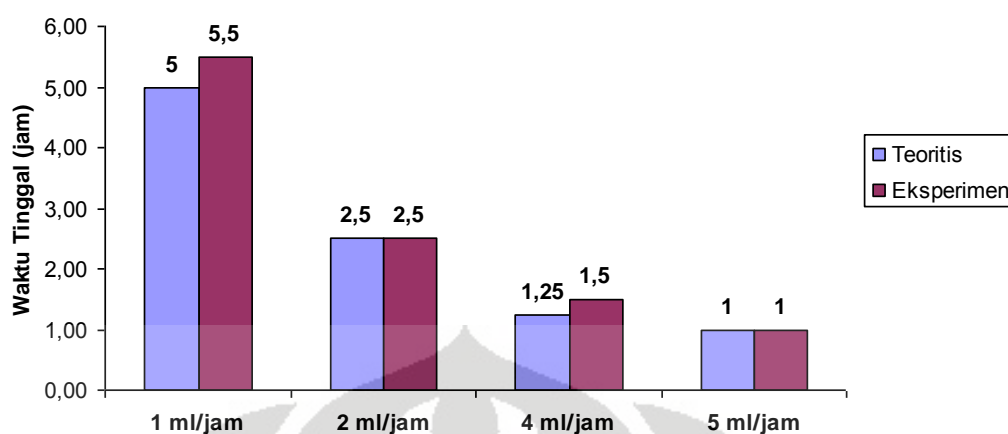
Setelah dilakukan percobaan, diperoleh waktu tinggal untuk tiap laju alir yang digunakan. Berikut merupakan hasil pengamatan waktu tinggal dari percobaan variasi laju alir:

Tabel 4. 4 Hasil pengamatan waktu tinggal

Laju alir (mL/jam)	Waktu Tinggal (jam)
1	5,5
2	2,5
4	1,5
5	1

Secara teoritis, waktu tinggal untuk masing-masing laju alir dapat dihitung menggunakan persamaan ini:

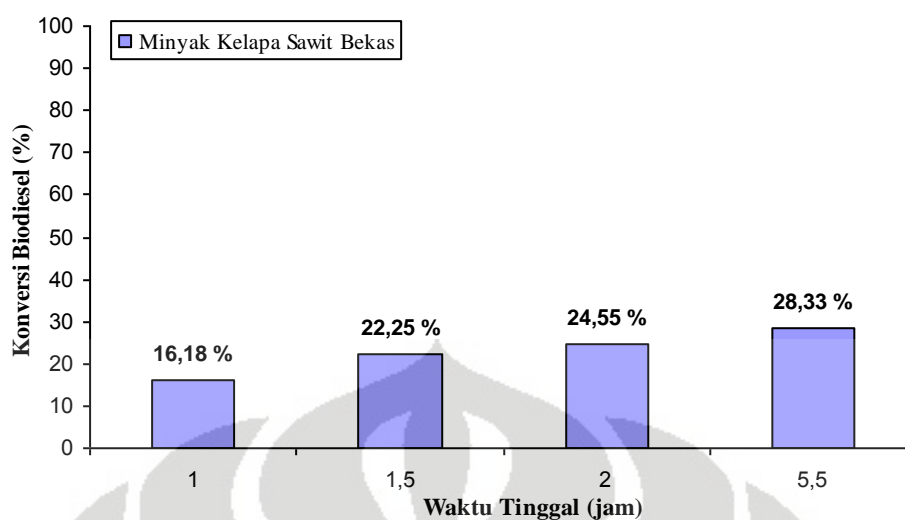
$$\tau = \frac{Vol.bed(mL)}{F (mL / jam)} \quad (4.2)$$



Gambar 4.5 Perbandingan waktu tinggal teoritis dengan eksperimen

Perbedaan waktu tinggal secara teoritis dengan eksperimen dapat disebabkan oleh adanya ketahanan hidrodinamik. Dapat dilihat pada Gambar 4.5 bahwa waktu tinggal yang diperoleh dari eksperimen lebih lama dibanding waktu tinggal teoritis.

Konversi biodiesel terbesar diperoleh saat laju alir 1 mL/jam atau waktu tinggal selama 5 jam 30 menit, yakni 28,33 %. Sedangkan konversi terendah diperoleh pada laju alir terbesar (5 mL/jam), yakni 16,18 %. Konversi *terkecil* diperoleh pada laju alir terbesar karena laju alir yang besar dapat membuat gesekan yang besar pula antara substrat dengan biokatalis. Lipase diimmobilisasi pada zeolit menggunakan metode adsorpsi fisik. Ikatan yang terbentuk dari metode ini relatif lemah, sehingga ketika laju alir yang digunakan besar, lipase dapat terlepas dari zeolit (Hama, 2007).



Gambar 4. 6 Perbandingan konversi biodiesel yang dihasilkan dari tiap waktu tinggal yang berbeda

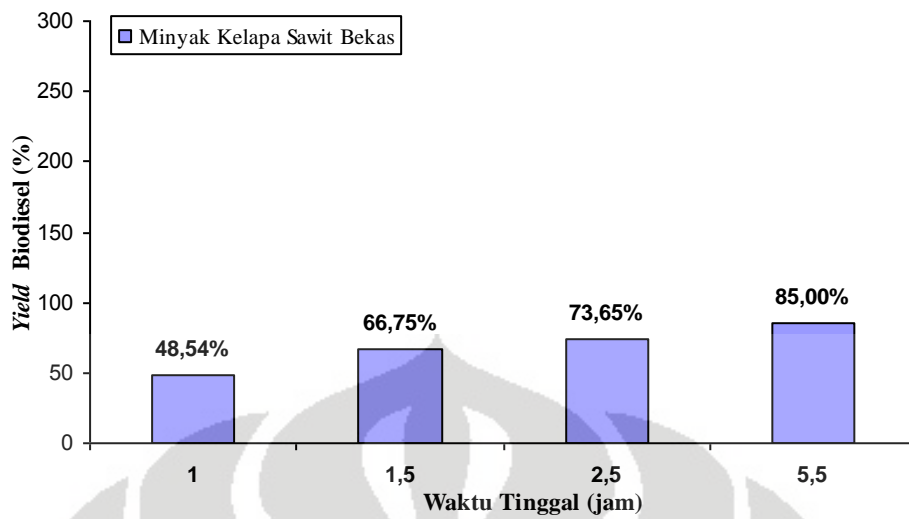
Selain konversi, parameter dalam sintesis ini yang mewakili keberadaan biodiesel sebagai produk dapat dituliskan dalam bentuk % *yield*. Pada prinsipnya *yield* merupakan parameter yang menggambarkan sejumlah x produk yang terbentuk dari y reaktan dengan mengabaikan neraca massa. Sedangkan konversi merupakan parameter yang menggambarkan seberapa besar produk yang terbentuk dari sejumlah reaktan dengan memperhitungkan neraca massa. Perbedaan antara konversi dan *yield* dapat dilihat dari rumus-rumus berikut:

$$3[TG]_0 = 3 [TG] + 2 [DG] + [MG] + [FAME] \quad (4.3)$$

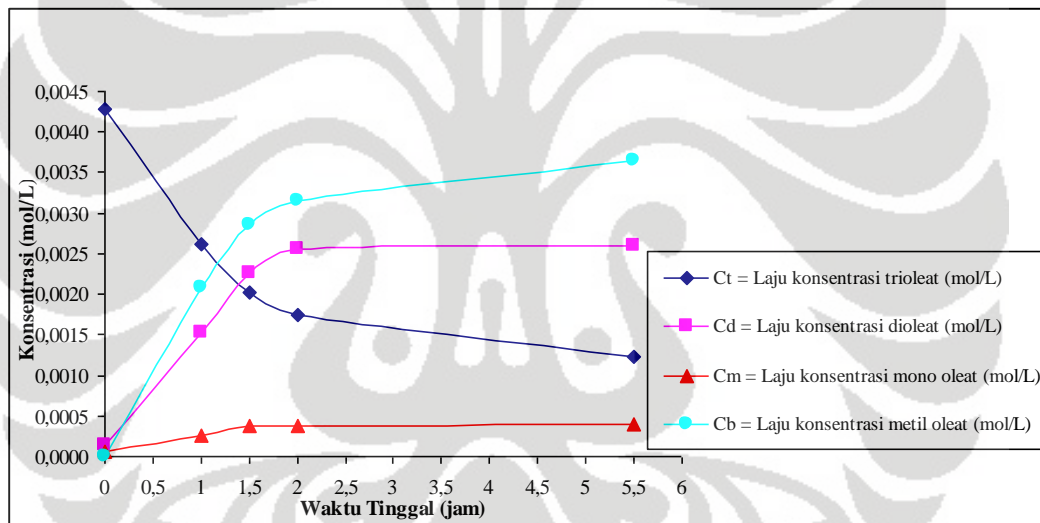
$$\% \text{ konversibiodiesel} = \frac{C_{B,t=t}}{3 \times C_{T,t=0}} \times 100\% \quad (4.4)$$

$$\% \text{ yield biodiesel} = \frac{C_{B,t=t}}{C_{T,t=0}} \times 100\% \quad (4.5)$$

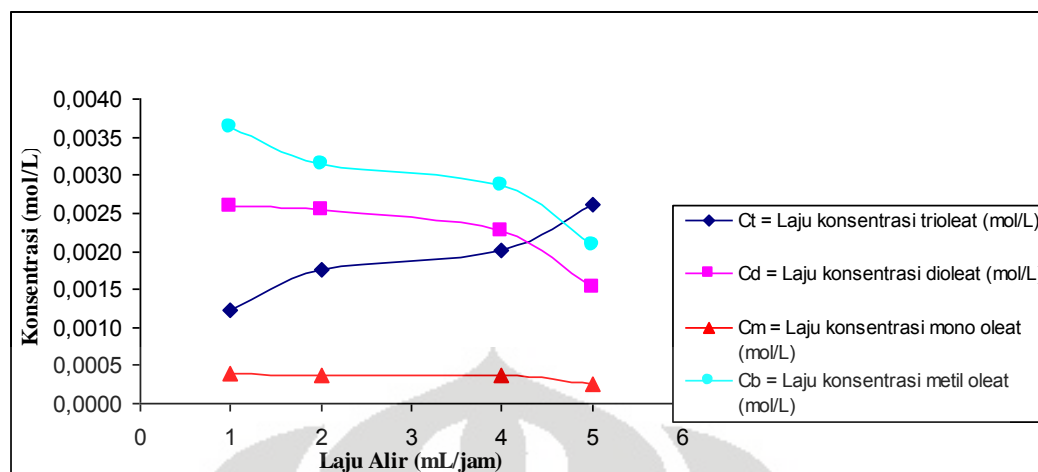
Berikut merupakan kurva perbandingan *yield* biodiesel yang dihasilkan dari setiap waktu tinggal berbeda:



Gambar 4. 7 Perbandingan *yield* biodiesel yang dihasilkan dari tiap waktu tinggal yang berbeda



Gambar 4. 8 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu tinggal menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 1 mL/jam, 2 mL/jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)



Gambar 4. 9 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu tinggal menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 1 mL/jam, 2 mL/jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)

Dari kurva di atas dapat dilihat bahwa semakin lama waktu tinggal, maka konsentrasi biodiesel yang dihasilkan semakin tinggi. Hal tersebut disebabkan kontak antara substrat dengan biokatalis berlangsung lebih lama, sehingga kemungkinan biokatalis mengkatalisis reaksi semakin besar.

4.5 Hasil Percobaan Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi dengan Variasi Lima Jenis Minyak Goreng Bekas

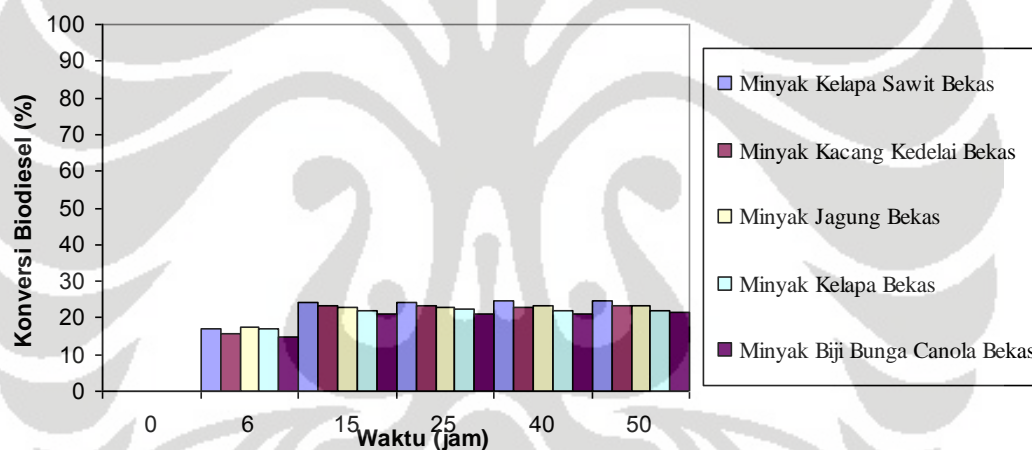
Masalah utama yang dapat timbul dari penggunaan biokatalis adalah besarnya kemungkinan lipase kehilangan kemampuannya dalam mengkatalisis selama reaksi berlangsung. Fenomena ini telah dikenal secara baik di dalam bioteknologi dengan nama deaktivasi biokatalis. Walaupun penggunaan biokatalis dapat dimanfaatkan secara berulang-ulang, biokatalis pasti akan terdeaktivasi secepatnya. Durasi katalitik suatu biokatalis dalam operasi secara kontinu disebut stabilitas operasi. Stabilitas operasi dari biokatalis diperkirakan setengah dari durasi penggunaannya (Ramachandra, 2002). Periode ini merupakan parameter yang sangat penting untuk mencapai kelayakan ekonomi dalam dunia bioproses.

Pada percobaan ini dilakukan uji stabilitas terhadap biokatalis yang terimmobilisasi dengan menggunakan metode adsorpsi. Pengujian stabilitas yang dimaksud dalam percobaan ini yaitu penggunaan enzim yang dilakukan secara

kontinyu dan berulang-ulang dari reaksi sebelumnya. Hal ini dilakukan untuk mengetahui stabilitas operasional lipase terimmobilisasi dengan metode adsorpsi sebagai biokatalis dalam sintesis biodiesel.

Percobaan uji stabilitas ini dilakukan dengan menggunakan substrat berbagai minyak goreng bekas. Tujuan utama dari percobaan ini percobaan ini adalah untuk melihat kestabilan biokatalis yang terimmobilisasi dalam sintesis biodiesel secara kontinyu selama 50 jam.

Reaksi dilakukan pada kondisi optimal yaitu pada temperatur 37 °C, perbandingan mol substrat 1:12 untuk minyak dengan metil asetat, dan kondisi pH 7. Kurva dibawah ini menjelaskan hasil pengujian stabilitas terhadap lipase terimmobilisasi dengan menggunakan berbagai jenis minyak goreng bekas sebagai substrat:



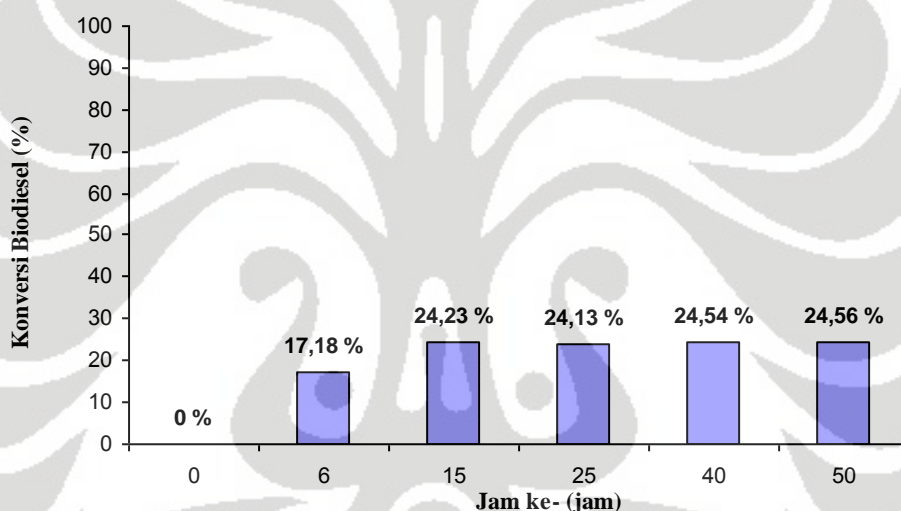
Gambar 4. 10 Uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan lima jenis minyak bekas berbeda sebagai substrat (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)

Berdasarkan kurva di atas, dapat dilihat dengan jelas bahwa konversi biodiesel yang dihasilkan dari kelima substrat minyak yang digunakan terus naik di awal-awal waktu reaksi hingga jam ke- 15. Selanjutnya konversi biodiesel terlihat stabil, tanpa ada peningkatan yang signifikan. Untuk mengetahui kestabilan biokatalis yang digunakan maka perlu dilihat seberapa stabil konversi biodiesel yang dihasilkan dari waktu ke waktu.

4.5.1 Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi Menggunakan Substrat Minyak Kelapa Sawit Bekas

Untuk mengetahui stabilitas dari biokatalis terimmobilisasi yang digunakan, konversi biodiesel dapat dijadikan acuan. Jika konversi biodiesel masih terlihat stabil tanpa ada penurunan dari waktu ke waktu secara signifikan, maka biokatalis dinilai masih memiliki aktivitas yang baik dalam mengkatalisis reaksi.

Setelah dilakukan penggunaan lipase terimmobilisasi secara kontinyu selama 50 jam menggunakan minyak kelapa sawit bekas sebagai substrat, konversi biodiesel yang dihasilkan meningkat dari waktu ke waktu. Peningkatan konversi biodiesel tersebut dapat dilihat pada kurva berikut:

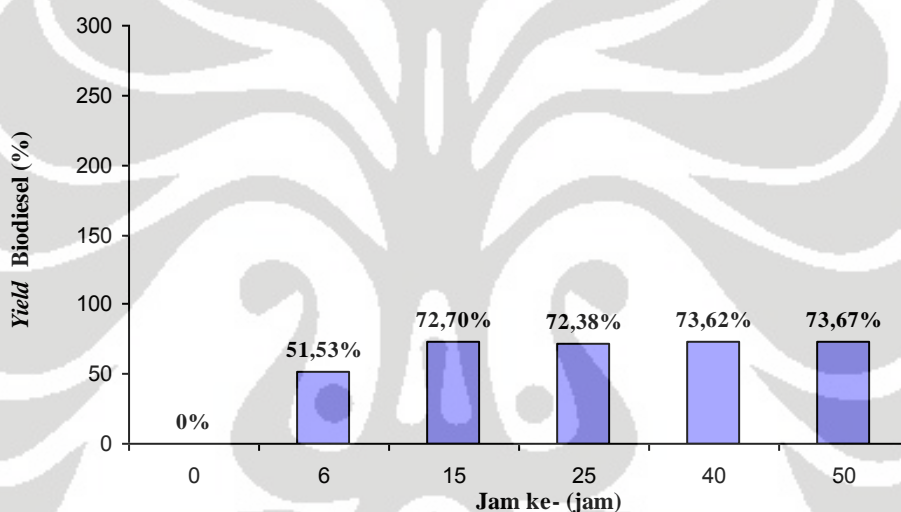


Gambar 4. 11 Konversi biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kelapa sawit bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal selama 2 jam 45 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

Awalnya konversi biodiesel meningkat sebesar 17,18 %. Selanjutnya pada jam ke- 15, terdapat peningkatan konversi menjadi 24,23%. Peningkatan konversi yang cukup signifikan tersebut menunjukkan bahwa aktivitas lipase terimmobilisasi yang digunakan masih baik dalam mengkatalisis reaksi. Peningkatan konversi biodiesel yang cukup signifikan tersebut hanya berlangsung hingga jam ke-15. Sedangkan setelah jam ke-15, konversi biodiesel terlihat stabil untuk jam ke-25, jam ke-40, dan jam ke-50. Hal tersebut menunjukkan bahwa reaksi interesterifikasi ini mencapai kesetimbangan pada jam ke-15.

Dapat dilihat pada kurva bahwa lipase terimmobilisasi yang digunakan masih memiliki stabilitas yang baik hingga akhir percobaan, walaupun terdapat penurunan konversi biodiesel yang dihasilkan pada waktu-waktu akhir. Pada jam ke- 25 terjadi penurunan konversi sebesar 0,41%. Sedangkan pada jam ke-40 dan 50 terjadi kenaikan % konversi biodiesel menjadi 24,54% dan 24,56%. Penurunan konversi yang sangat kecil pada jam ke-25 tersebut dinilai tidak signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa biokatalis terimmobilisasi yang digunakan memiliki stabilitas operasi lebih dari 50 jam.

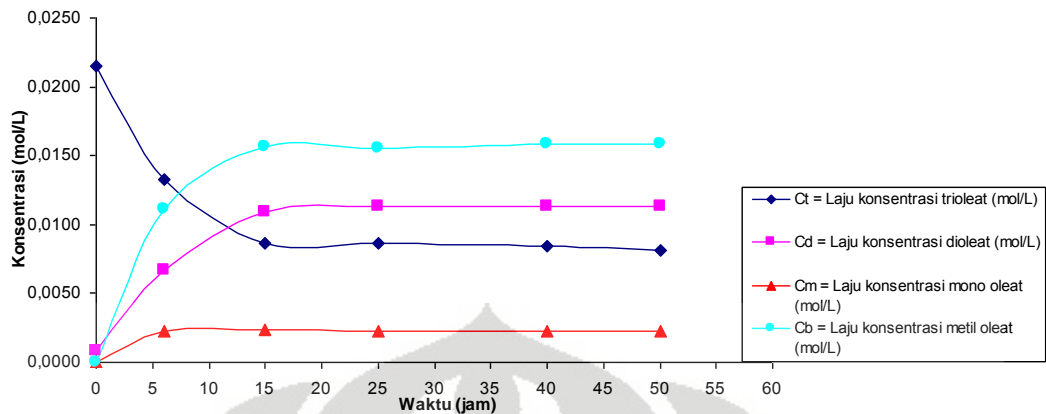
Sedangkan besar *yield* yang dihasilkan dari waktu ke waktu dapat dilihat pada grafik berikut:



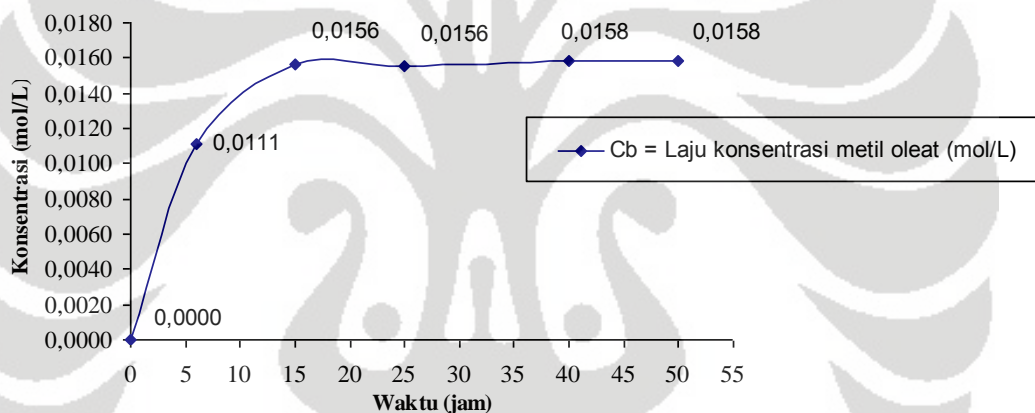
Gambar 4. 12 *Yield* biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kelapa sawit bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal selama 2 jam 45 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)

Sama halnya seperti konversi, *yield* biodiesel yang dihasilkan terlihat stabil mulai dari jam ke-15 hingga jam ke-50. Diperoleh *yield* terbesar yakni 73,67 % pada kondisi *steady* jam ke-50.

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



Gambar 4.13 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu dengan substrat minyak kelapa sawit bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)



Gambar 4.14 Konsentrasi metil oleat (biodiesel) dalam variasi waktu dengan substrat minyak kelapa sawit bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)

Dari profil laju reaksi konsentrasi trioleat (mol/L) yang terbentuk maka didapatkan *trend* profil konsentrasi yang terus menurun. Penurunan konsentrasi tiroleat 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.

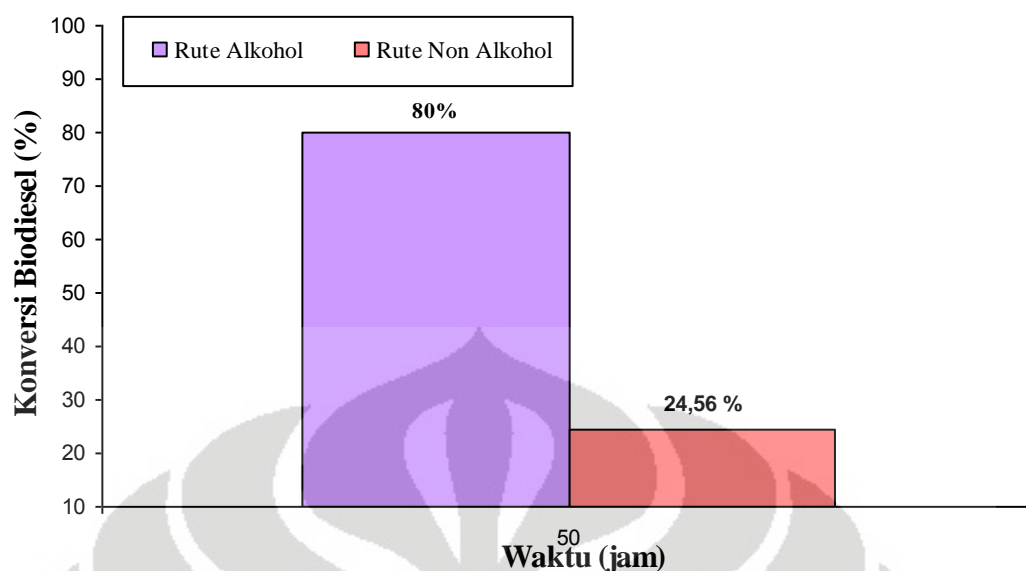
$$\frac{d B}{dt} = \frac{k_p T E_0}{T + k_m} \quad (4.6)$$

Berdasarkan persamaan (4.6) maka kurva yang terbentuk pada Gambar 4.15 mengikuti aturan persamaan tersebut. Produk yang dihasilkan akan semakin besar seiring bertambahnya waktu. Dari kurva diatas terlihat bahwa peningkatan laju pembentukan produk berlangsung sangat cepat di waktu awal reaksi. Hal ini mengindikasikan bahwa di waktu awal akan terjadi peningkatan laju produk yang sangat signifikan.

Dari profil konsentrasi biodiesel yang terbentuk dapat dilihat bahwa peningkatan konsentrasi terbesar terjadi saat $t = 15$ jam dengan nilai konsentrasi sebesar $0,0156 \text{ mol/L}$. Saat inilah peningkatan produk dipastikan tidak terlalu tinggi karena adanya keterbatasan aktivitas enzim dalam mengkatalisis reaksi. Ketika kurva sudah mengikuti orde nol maka kecepatan reaksi sudah mencapai kecepatan maksimalnya sehingga peningkatan laju pembentukan produk tidak akan berlangsung signifikan. Hal tersebut dapat ditunjukkan dengan kecilnya peningkatan konsentrasi biodiesel dari jam ke 15 hingga jam ke-50.

Konsentrasi zat intermediet, mono oleat, selama reaksi selalu relatif rendah. Hal ini karena zat intermediet tersebut tidak terakumulasi tetapi langsung bereaksi kembali untuk membentuk zat baru, yaitu triasetilgliserol. Konsentrasi dioleat cukup menunjukkan kenaikan pada awal reaksi hingga jam ke- 25 untuk kemudian menurun kembali setelahnya. Konsentrasi dioleat yang cukup tinggi menunjukkan bahwa terjadi akumulasi dioleat sebelum akhirnya zat tersebut terkonversi menjadi monogliserida.

Penelitian sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas secara enzimatis pada reaktor kontinyu juga telah dilakukan oleh riset grup dari Malaysia. Yang membedakan penelitian yang dilakukan dengan penelitian riset grup Malaysia adalah rute sintesis, laju alir, dan juga jenis biokatalisnya. Fatimah et al., melakukan sintesis biodiesel melalui rute alkohol menggunakan Novozym 435 pada reaktor *packed bed* sebagai biokatalis terimmobilisasi dengan laju alir substrat sebesar $0,57 \text{ mL/menit}$ atau $34,2 \text{ mL/jam}$. Sedangkan penelitian yang dilakukan merupakan sintesis biodiesel dari rute non alkohol menggunakan *Candida rugosa* lipase terimmobilisasi dengan laju alir substrat sebesar 2 mL/jam .

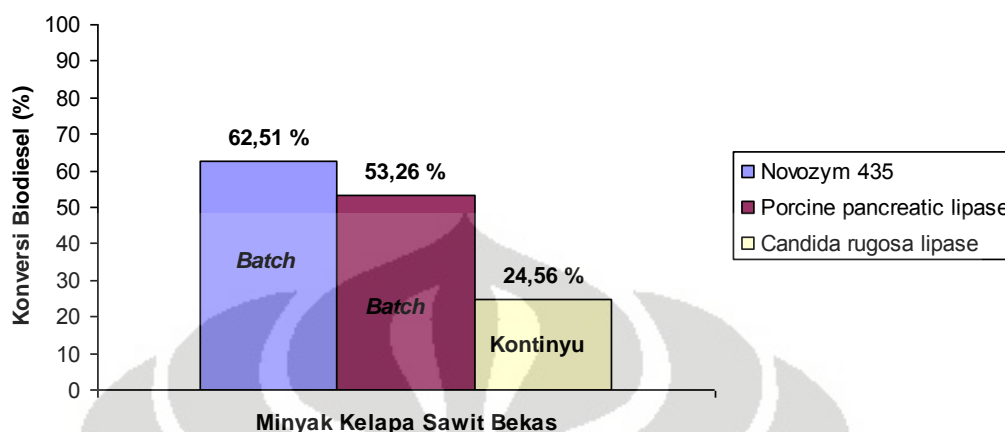


Gambar 4. 15 Perbandingan konversi biodiesel dari rute alkohol dan non alkohol menggunakan minyak kelapa sawit bekas sebagai substrat

Dari Gambar 4.15 terlihat perbedaan konversi yang cukup besar antara dua rute berbeda. Dimana konversi biodiesel yang dihasilkan dari penelitian ini sebesar 24,56%, sedangkan konversi biodiesel yang dihasilkan oleh riset grup Malaysia adalah sebesar 80%. Kedua konversi biodiesel merupakan konversi optimal yang diperoleh dari tiap-tiap penelitian, yakni uji stabilitas pada jam ke-50.

Perbedaan tersebut mungkin dikarenakan adanya perbedaan laju alir yang digunakan secara signifikan. Dimana Fatimah et. al. melakukan uji stabilitas dengan laju alir sebesar 34,3 mL/jam yang sangat jauh perbedaannya dengan laju alir dalam penelitian ini, yakni 2 mL/jam. Secara teori, semakin kecil laju alir, maka waktu tinggal semakin lama. Hal tersebut berarti kontak antara substrat dengan biokatalis terimmobilisasi semakin lama. Berdasarkan pernyataan tersebut, seharusnya konversi biodiesel yang dihasilkan dari penelitian ini lebih tinggi dibanding konversi biodiesel yang dihasilkan dari penelitian riset grup Malaysia. Lebih rendahnya konversi biodiesel yang dihasilkan dari penelitian yang dilakukan disebabkan oleh adanya pengaruh penggunaan biokatalis yang berbeda. Jika kita meninjau kembali *state of the art* dari penelitian ini, yakni mengenai aktivitas beberapa jenis lipase dalam mengkatalisis reaksi, maka diperoleh Novozym 435 memiliki aktivitas lebih tinggi dibandingkan enzim

Candida rugosa lipase dan *Porcine pancreatic* lipase (Surendro, 2008). Hal tersebut dapat dilihat dari konsentrasi biodiesel yang dihasilkan berikut ini:

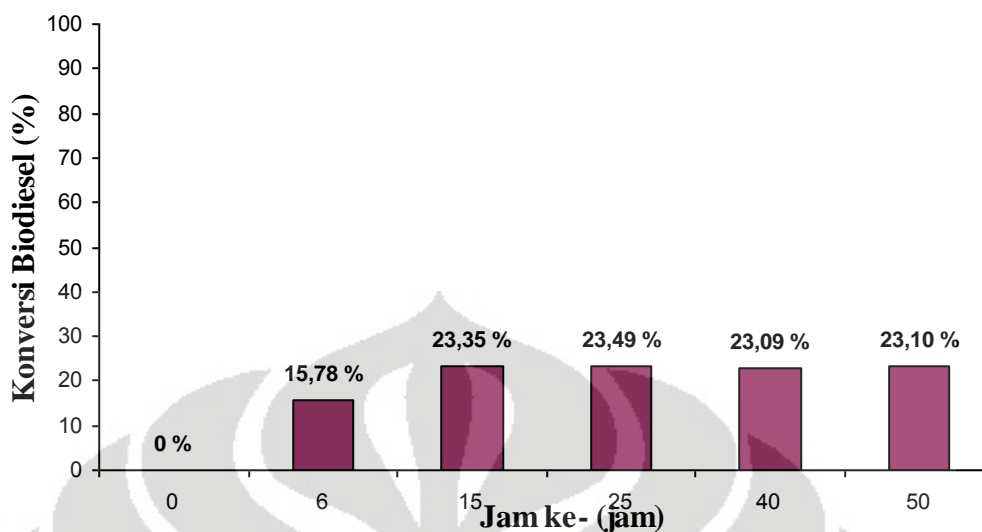


Gambar 4. 16 Perbandingan konversi biodiesel dari biokatalis terimmobilisasi berbeda dengan substrat yang sama (substrat : minyak kelapa sawit bekas, kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, $t = 50$ jam dan $\tau = 2$ jam 45 menit, dan $T = 37$ °C)

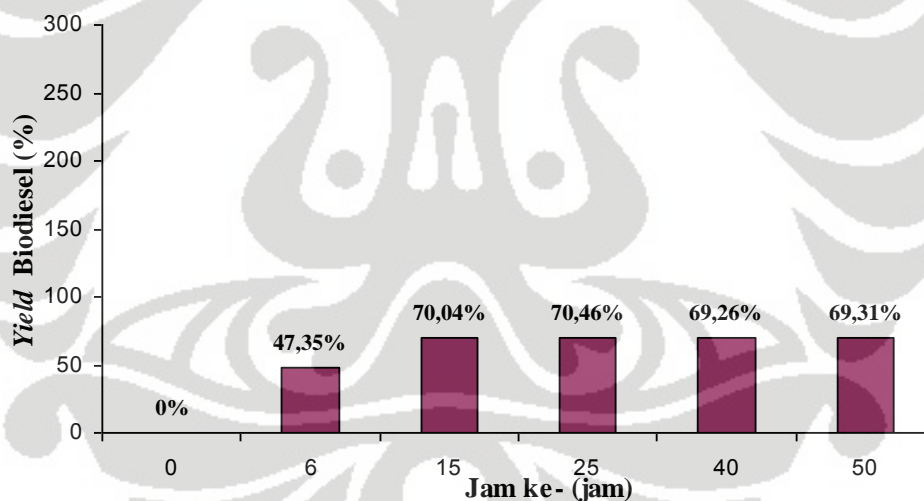
Perbedaan konversi yang dihasilkan bukan hanya dapat terjadi karena faktor perbedaan biokatalis yang digunakan. Perbedaan yang sangat signifikan terjadi karena adanya perbedaan dalam penggunaan jenis reaktor dalam sintesis biodiesel ini. Penggunaan biokatalis jenis Novozym 435 dan *Porcine pancreatic* lipase dilakukan pada reaktor *batch*. Sedangkan biokatalis jenis *Candida rugosa* lipase digunakan dalam sintesis biodiesel menggunakan reaktor kontinyu. Konversi dari reaktor *batch* cenderung besar, hal tersebut dikarenakan waktu reaksi lebih lama, yakni 50 jam. Sedangkan konversi dari reaktor kontinyu lebih kecil karena substrat hanya memiliki waktu 2 jam 45 menit untuk kontak dengan biokatalis.

4.5.2 Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi Menggunakan Substrat Minyak Kacang Kedelai Bekas

Minyak kacang kedelai bekas digunakan sebagai substrat dalam percobaan uji stabilitas lipase terimmobilisasi ini. Dari percobaan ini diperoleh kurva perbandingan konversi dan *yield* biodiesel dari waktu ke waktu:



Gambar 4. 17 Konversi biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kacang kedelai bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal selama 2 jam 20 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)



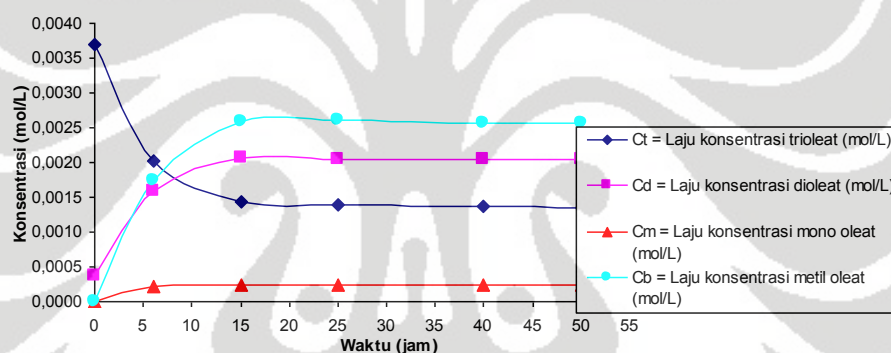
Gambar 4. 18 Yield biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kacang kedelai bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal selama 2 jam 20 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)

Dari kurva di atas dapat dilihat bahwa pada jam ke-6 terdapat peningkatan % konversi biodiesel yang cukup signifikan, yakni 47,35%. Kenaikan konversi biodiesel secara signifikan terus berlangsung hingga jam ke-15. Peningkatan konversi yang cukup berarti di waktu-waktu awal menunjukkan kondisi *unsteady*.

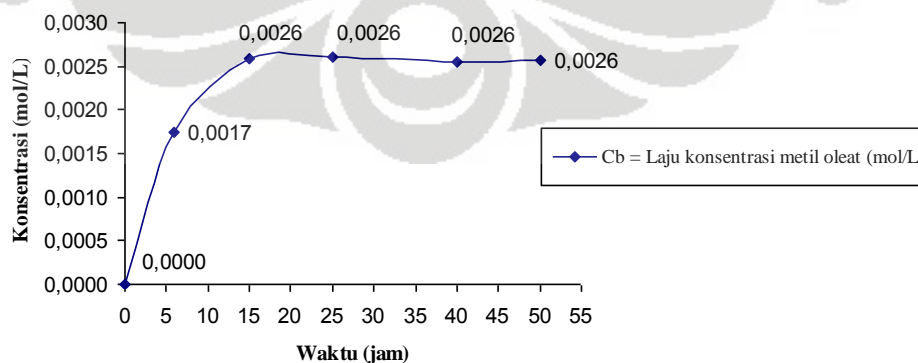
Dimana kondisi *unsteady* di sini dapat didefinisikan sebagai adanya perubahan konversi biodiesel yang relatif besar karena adanya perubahan waktu. Pada saat ini, aktivitas biokatalis masih belum stabil.

Dapat terlihat jelas pada kurva bahwa setelah jam ke-15, konversi biodiesel yang dihasilkan cenderung stabil. Pada kondisi ini lah, reaksi telah mencapai kesetimbangan, atau disebut dengan keadaan yang *steady*.

Pada jam ke-40, terjadi penurunan konversi biodiesel, yakni sebesar 1,70% dari konversi sebelumnya. Penurunan konversi yang relatif kecil ini menunjukkan bahwa biokatalis terimmobilisasi yang digunakan masih memiliki aktivitas yang baik dalam mengkatalisis reaksi. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa penggunaan lipase terimmobilisasi secara kontinyu menggunakan minyak kacang kedelai bekas sebagai substrat masih dianggap efisien hingga lebih dari 50 jam.



Gambar 4.19 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu dengan substrat minyak kacang kedelai bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

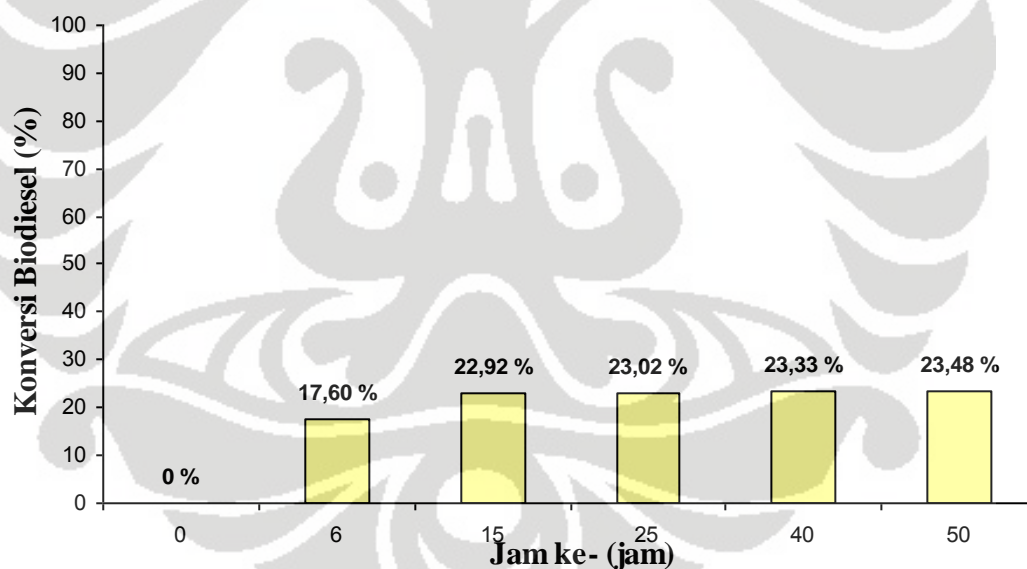


Gambar 4.20 Konsentrasi metil oleat (biodiesel) dalam variasi waktu dengan substrat minyak kacang kedelai bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

Laju konsentrasi biodiesel dapat pula menjadi acuan dalam melihat stabilitas biokatalis. Dari profil konsentrasi biodiesel yang terbentuk dapat dilihat bahwa konsentrasi terbesar terjadi saat $t = 15$ jam dengan nilai konsentrasi sebesar $0,0026 \text{ mol/l}$. Saat inilah peningkatan produk dipastikan tidak terlalu tinggi karena adanya keterbatasan aktivitas enzim dalam mengkatalisis reaksi. Ketika kurva sudah mengikuti orde nol maka kecepatan reaksi sudah mencapai kecepatan maksimalnya sehingga peningkatan laju pembentukan produk tidak akan berlangsung signifikan.

4.5.3 Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi Menggunakan Substrat Minyak Jagung Bekas

Setelah dilakukan penggunaan lipase terimmobilisasi secara kontinyu selama 50 jam menggunakan minyak jagung bekas sebagai substrat, konversi biodiesel yang dihasilkan semakin meningkat dari awal hingga jam ke-50. Hal tersebut dapat dilihat pada kurva berikut:



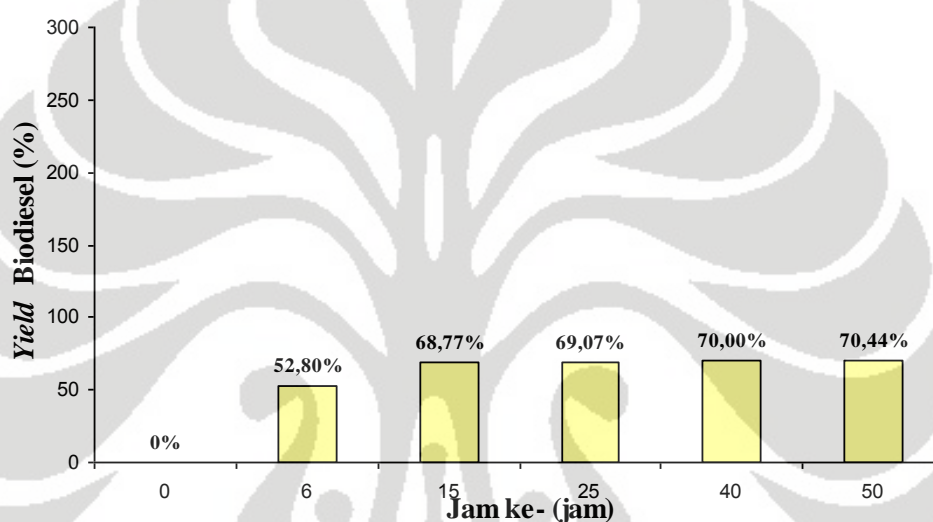
Gambar 4. 21 Konversi biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak jagung bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 15 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam , $t = 50 \text{ jam}$, dan $T = 37 \text{ }^\circ\text{C}$)

Peningkatan konversi biodiesel secara signifikan terjadi pada jam ke- 6 dan 15. Pada jam ke- 6 konversi meningkat sebesar 17,60%. Sedangkan konversi biodiesel yang diperoleh pada jam ke-15 adalah sebesar 22,92%. Peningkatan

konversi yang cukup signifikan tersebut menunjukkan bahwa aktivitas lipase terimmobilisasi yang digunakan masih baik.

Kondisi *steady* dimulai pada waktu 15 jam hingga jam ke-50. Hal tersebut ditunjukkan dengan kenaikan konversi yang sangat kecil dari waktu ke waktu. Penggunaan lipase terimmobilisasi secara kontinyu dianggap masih efisien hingga jam ke-50.

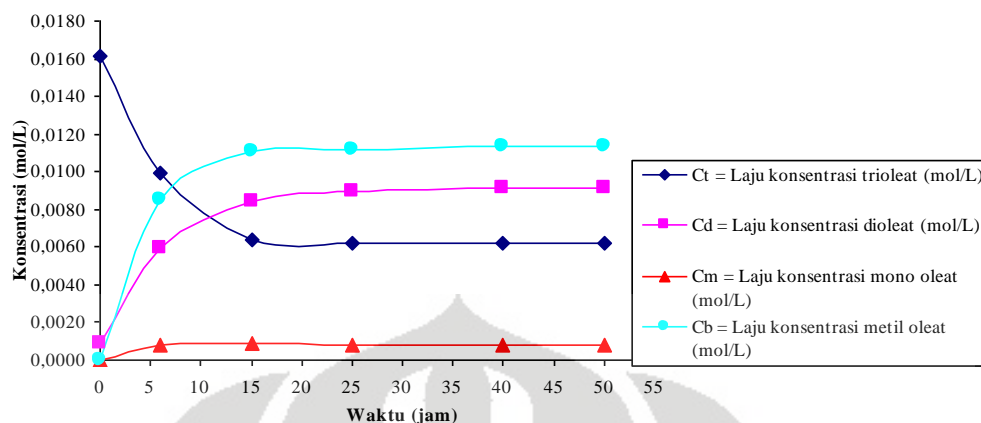
Yield yang dihasilkan dari waktu ke waktu dapat dilihat pada grafik berikut:



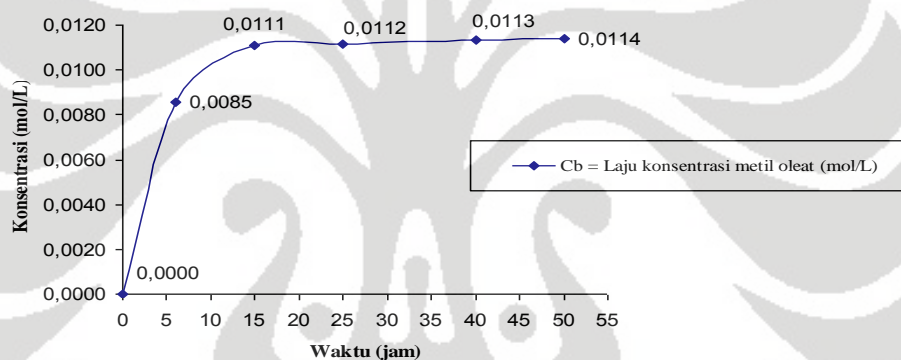
Gambar 4. 22 *Yield* biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak jagung bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 15 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)

Sama halnya seperti konversi, *yield* biodiesel yang dihasilkan terlihat stabil mulai dari jam ke-15 hingga jam ke-50. Diperoleh *yield* terbesar yakni 70,44 % pada kondisi *steady* jam ke-50.

Untuk mengetahui kinerja optimal dari lipase terimmobilisasi, maka jumlah konsentrasi biodiesel yang terbentuk dalam waktu tertentu perlu diketahui. Berikut merupakan kurva laju konsentrasi masing-masing komponen dari reaksi interesterifikasi:



Gambar 4.23 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu dengan substrat minyak jagung bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

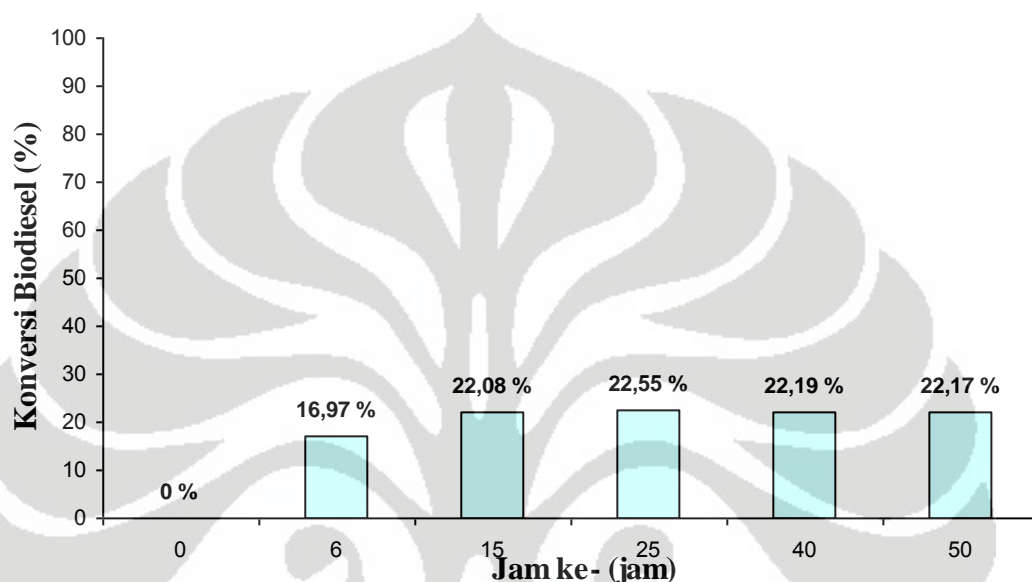


Gambar 4.24 Konsentrasi biodiesel dalam variasi waktu dengan substrat minyak jagung bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

Dari kurva diatas terlihat bahwa peningkatan laju pembentukan produk berlangsung sangat cepat di waktu awal reaksi. Hal tersebut juga ditunjukkan oleh penurunan laju dari trioleat. Hal ini mengindikasikan bahwa di waktu awal akan terjadi peningkatan laju produk yang sangat signifikan. Di waktu-waktu awal reaksi laju pembentukan produk mengikuti persamaan laju reaksi orde satu, setelah $t > 15$ jam laju pembentukan produk mengikuti laju reaksi orde nol. Kurva yang terbentuk seperti inilah yang pada umumnya terjadi pada reaksi enzimatik.

4.5.4 Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi Menggunakan Substrat Minyak Kelapa Bekas

Setelah dilakukan penggunaan lipase terimmobilisasi secara kontinyu selama 50 jam menggunakan minyak kelapa bekas sebagai substrat, konversi biodiesel yang dihasilkan semakin meningkat dari awal hingga jam ke-50. Hal tersebut dapat dilihat pada kurva berikut:



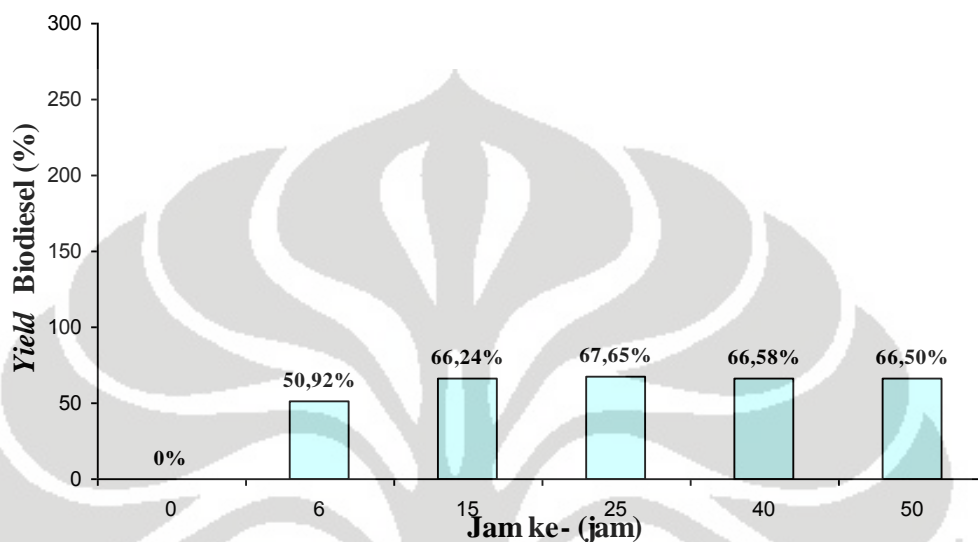
Gambar 4. 25 Konversi biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kelapa bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 15 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

Awalnya konversi biodiesel meningkat sebesar 16,97%. Selanjutnya terdapat peningkatan konversi yang cukup drastis pada jam ke-15 dari jam ke-6. Peningkatan konversi yang cukup signifikan tersebut menunjukkan bahwa aktivitas lipase terimmobilisasi yang digunakan masih baik.

Kondisi *steady* terjadi setelah $t > 15$ jam. Setelah kondisi *steady* tercapai, terjadi kenaikan dan penurunan konversi biodiesel. Namun kenaikan dan penurunan konversi tersebut relatif kecil. Penurunan konversi dapat diartikan bahwa aktivitas dari lipase terimmobilisasi menurun. Namun pada kondisi penurunan konversi pada jam ke-40 dan 50 tidak dapat langsung dikatakan sebagai petunjuk stabilitas lipase terimmobilisasi menurun. Hal tersebut dikarenakan penurunan konversi cenderung kecil. Sehingga dapat disimpulkan dari uji stabilitas ini, bahwa penggunaan lipase terimmobilisasi secara kontinyu

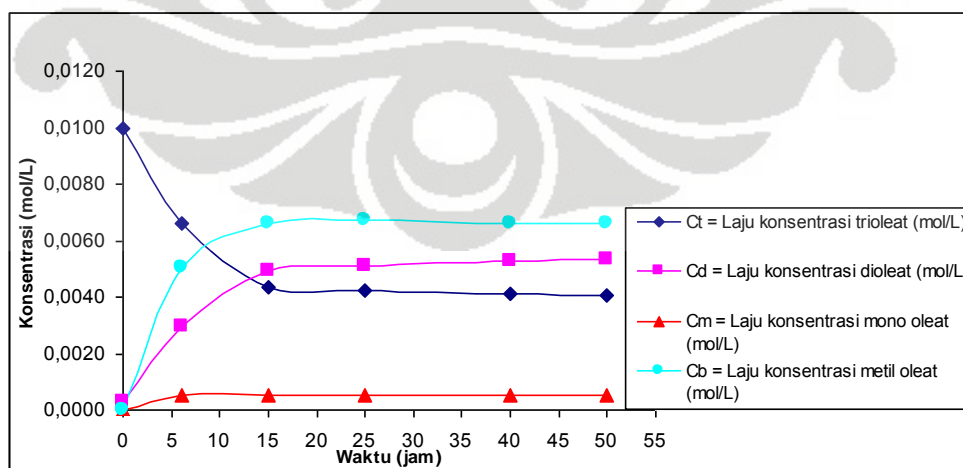
masih efisien hingga jam ke-50, karena biokatalis masih dapat menghasilkan konversi yang stabil.

Sedangkan besar *yield* yang dihasilkan dari waktu ke waktu dapat dilihat pada grafik berikut:

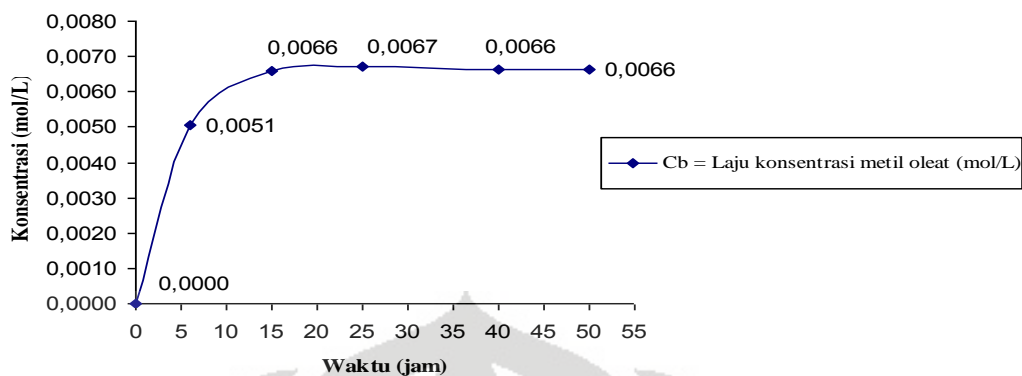


Gambar 4. 26 *Yield* biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak kelapa bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 15 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

Sama halnya seperti konversi, *yield* biodiesel yang dihasilkan terlihat stabil mulai dari jam ke-15 hingga jam ke-50. Diperoleh *yield* terbesar yakni 67,65 % pada kondisi *steady* jam ke-25.



Gambar 4. 27 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu dengan substrat minyak kelapa bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

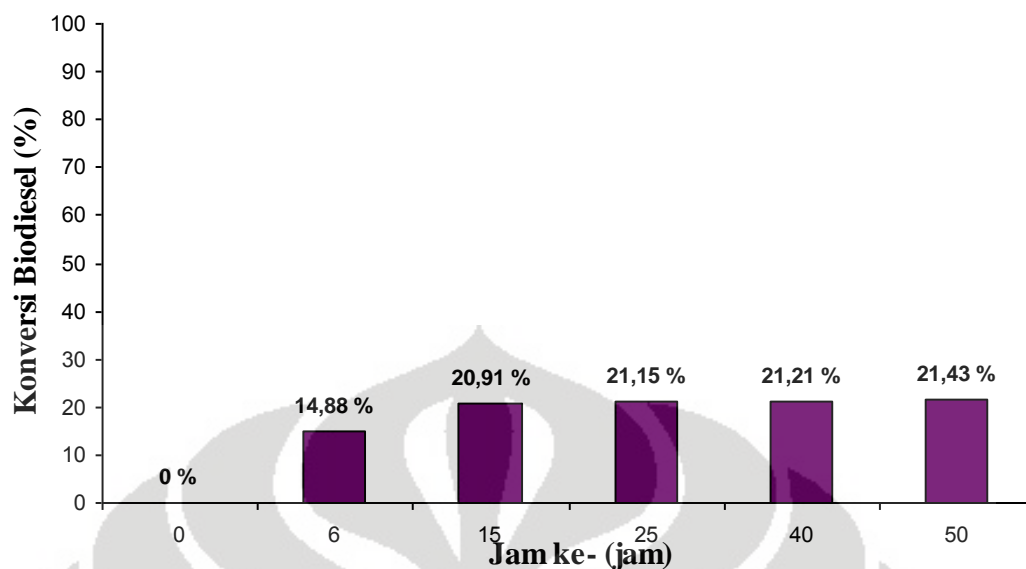


Gambar 4. 28 Konsentrasi biodiesel dalam variasi waktu dengan substrat minyak kelapa bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

Dapat dilihat pada Gambar 4.29, bahwa konsentrasi biodiesel yang dihasilkan cenderung stabil mulai saat $t = 25$ jam. Kestabilan konsentrasi tersebut dikarenakan adanya keterbatasan aktivitas enzim dalam mengkatalisis reaksi. Ketika kurva sudah mulai terlihat datar, maka kecepatan reaksi sudah mencapai kecepatan maksimalnya sehingga peningkatan laju pembentukan produk tidak akan berlangsung signifikan. Hal tersebut dapat ditunjukkan dengan kecilnya peningkatan konsentrasi biodiesel dari jam ke 25 hingga jam ke-50.

4.5.5 Uji Stabilitas Biokatalis Terimmobilisasi Menggunakan Substrat Minyak Biji Bunga Canola Bekas

Minyak biji bunga canola bekas digunakan sebagai substrat dalam percobaan uji stabilitas lipase terimmobilisasi ini. Dari percobaan ini diperoleh kurva perbandingan konversi biodiesel dari tiap waktu:

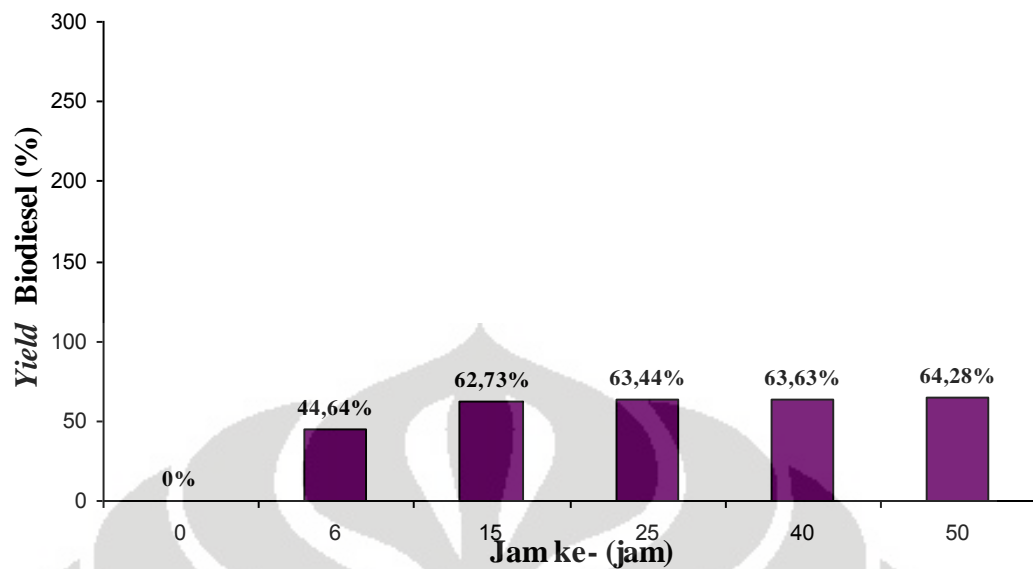


Gambar 4. 29 Konversi biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak biji bunga canola bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 10 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

Konversi biodiesel meningkat sebesar 14,88% pada jam ke-6. Selanjutnya terdapat peningkatan konversi yang cukup signifikan pada jam ke-15 dari jam ke-6, yakni menjadi 20,91%. Pada waktu-waktu awal reaksi ini lah yang disebut keadaan *unsteady*, dimana terjadi perubahan konversi yang signifikan karena adanya perubahan waktu. Peningkatan konversi yang cukup signifikan tersebut menunjukkan bahwa aktivitas lipase terimmobilisasi yang digunakan masih baik.

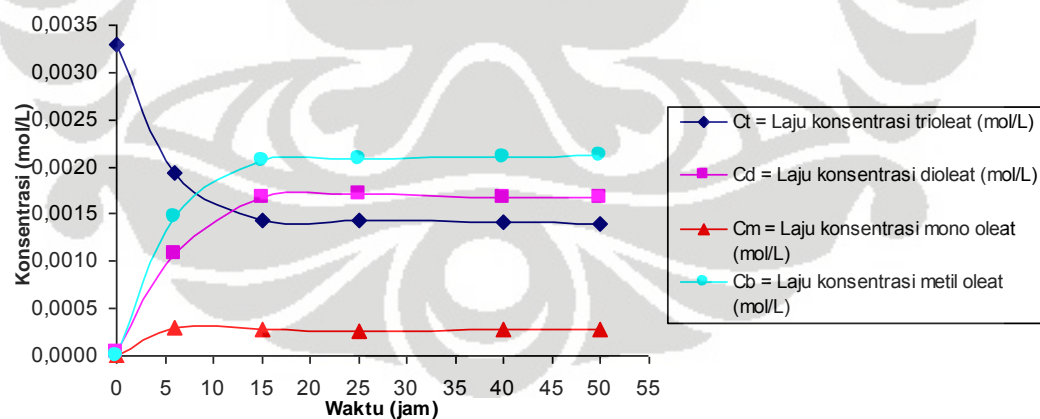
Pada jam ke-15, kondisi *steady* mulai tercapai. Pada waktu-waktu selanjutnya, konversi biodiesel yang dihasilkan cenderung serupa. Terdapat kenaikan konversi biodiesel, namun peningkatan tersebut relatif kecil. Sehingga dapat disimpulkan, bahwa penggunaan lipase terimmobilisasi secara kontinyu menggunakan substrat minyak canola masih efisien hingga 50 jam.

Sedangkan besar *yield* yang dihasilkan dari waktu ke waktu dapat dilihat pada grafik berikut:

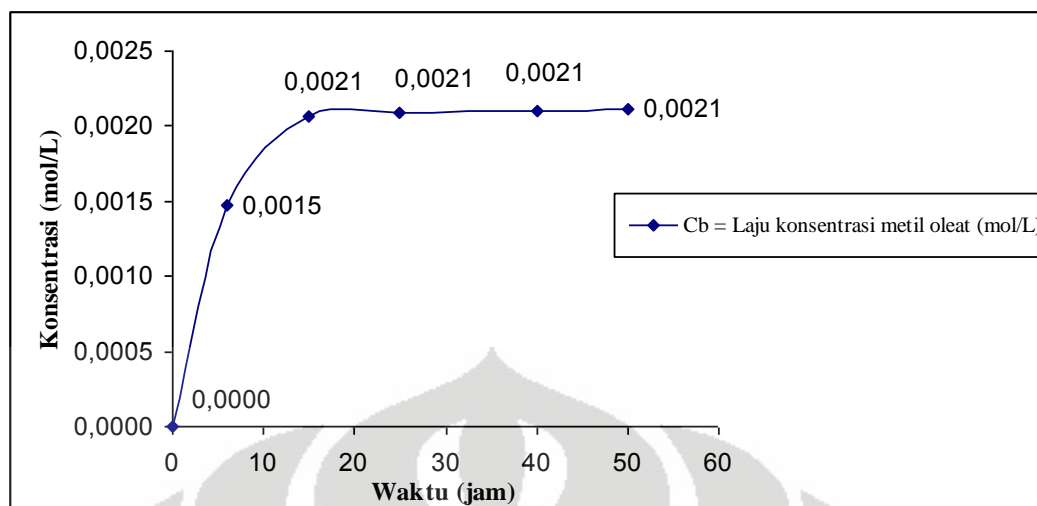


Gambar 4. 30 Yield biodiesel yang dihasilkan dalam uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan minyak biji bunga canola bekas sebagai substrat dengan waktu tinggal 2 jam 10 menit (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

Sama halnya seperti konversi, keadaan *steady* dimulai pada jam ke-15 hingga akhir waktu jam ke-50. Yield biodiesel terbesar diperoleh pada kondisi *steady* jam ke-50, yakni sebesar 64,28 %.



Gambar 4. 31 Konsentrasi masing-masing komponen dalam variasi waktu dengan substrat minyak biji bunga canola bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

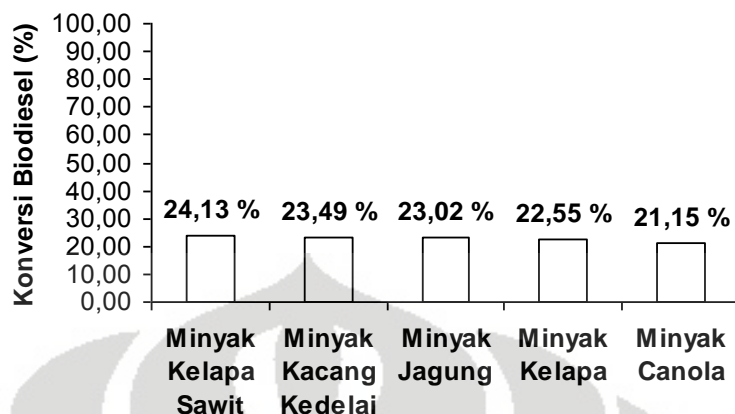


Gambar 4. 32 Konsentrasi biodiesel dalam variasi waktu dengan substrat minyak biji bunga canola bekas menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

Dapat dilihat pada Gambar 4.31, bahwa peningkatan konsentrasi biodiesel yang drastis terlihat pada jam ke-6. Peningkatan konsentrasi biodiesel tersebut juga diiringi dengan penurunan konsentrasi trioleat secara signifikan. Kecepatan reaksi akan mencapai maksimal sebelum mencapai kondisi *steady*. Dapat terlihat pada gambar di atas, kesetimbangan telah tercapai saat $t = 15$ jam. Setelah $t = 15$ jam ini lah kemampuan biokatalis sudah terlihat jenuh, sehingga peningkatan konsentrasi biodiesel pun hanya sedikit untuk waktu-waktu selanjutnya. Namun penggunaan lipase terimmobilisasi masih dianggap efisien hingga jam ke-50, karena belum terjadinya penurunan konsentrasi secara signifikan.

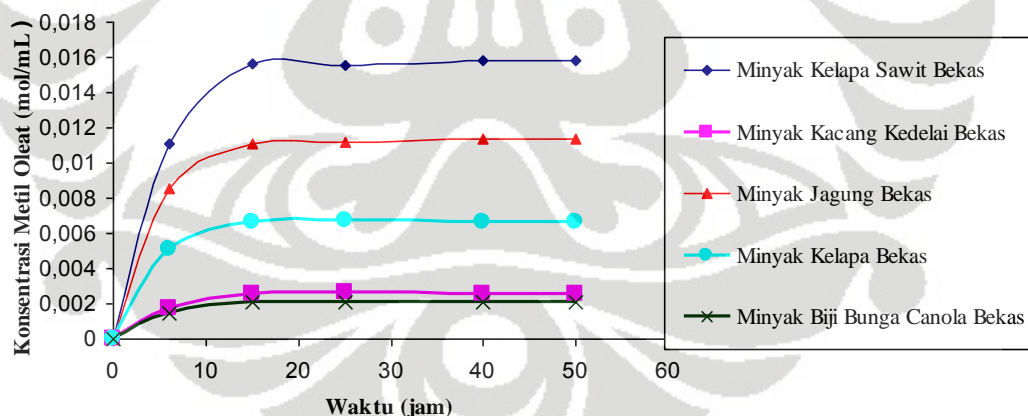
4.6 Pengaruh Jenis Minyak Bekas yang Digunakan sebagai Substrat

Terdapat lima jenis minyak goreng bekas yang digunakan dalam penelitian ini, yakni: minyak kelapa sawit bekas, minyak kacang kedelai bekas, minyak jagung bekas, minyak kelapa bekas, dan minyak biji bunga canola bekas. Kelima jenis minyak goreng bekas tersebut digunakan dalam penelitian ini dengan kondisi operasi yang sama. Berikut merupakan kurva perbandingan konversi biodiesel yang dihasilkan dari lima jenis substrat minyak yang berbeda pada kondisi *steady*:



Gambar 4. 33 Hasil uji stabilitas biokatalis terimmobilisasi menggunakan lima jenis minyak bekas berbeda sebagai substrat pada kondisi *steady*, jam ke-25 (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)

Dapat dilihat pada kurva bahwa konversi tertinggi dihasilkan dari substrat minyak kelapa sawit bekas, yakni sebesar 24,13%. Sedangkan konversi terkecil dihasilkan dari substrat minyak biji bunga canola, yakni sebesar 21,15%.



Gambar 4. 34 Konsentrasi metil oleat (biodiesel) menggunakan biokatalis terimmobilisasi untuk lima jenis minyak bekas berbeda sebagai substrat (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 2 mL/jam, t = 50 jam, dan T = 37 °C)

Gambar di atas memberikan visualisasi konsentrasi biodiesel yang dihasilkan untuk tiap lima jenis minyak yang digunakan dalam penelitian ini. Terlihat pada kurva, bahwa dengan penggunaan biokatalis dan kondisi operasi

yang sama, dihasilkan konsentrasi biodiesel berbeda-beda untuk tiap jenis minyak. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya perbedaan jumlah asam lemak yang terkandung di dalamnya.

Trend konsentrasi biodiesel tertinggi dihasilkan dari substrat minyak kelapa sawit bekas, lalu diikuti oleh minyak kacang kedelai bekas, minyak jagung bekas, minyak kelapa bekas, dan yang terendah adalah minyak biji bunga canola bekas.

Secara umum, jenis minyak nabati yang digunakan tidak begitu berpengaruh terhadap konversi biodiesel yang diperoleh. Jenis minyak yang digunakan lebih berpengaruh terhadap kualitas biodiesel yang digunakan sebagai bahan bakar. Hal tersebut dapat dilihat dengan membandingkan konversi biodiesel yang dihasilkan dari penelitian ini dengan karakteristik standar dari biodiesel.

Salah satu karakteristik umum biodiesel adalah harus memiliki total komponen asam lemak tak jenuh yang relatif rendah. Bilangan iodine merupakan derajat dari ketidakjenuhan total asam lemak di dalam minyak. Tingginya bilangan iodine menggambarkan semakin banyak komponen tak-jenuh yang hadir. Contohnya adalah asam linoleat memiliki bilangan iodine yang lebih tinggi dari oleat. Asam oleat merupakan *monounsaturated*, yang berarti salah satu pasang atom karbon dari 18 atom karbon yang ada saling berikatan rangkap (ditulis 18:1). Sedangkan asam linoleat merupakan *polyunsaturated*, yang berarti terdapat dua pasang atom karbon yang saling berikatan rangkap (ditulis 18:2) (Knothe et al., 2004).

Bilangan iodine tersebut nantinya akan memberikan gambaran dari kualitas biodiesel yang dihasilkan. Semakin tinggi bilangan iodine, maka peluang terjadinya deposit dan kerak pada mesin karena adanya proses oksidasi akan semakin besar. Hal tersebut dikarenakan ikatan rangkap akan mudah bereaksi dengan oksigen saat pembakaran.

Tabel 4. 5 Bilangan iodine untuk berbagai jenis minyak (Knothe et al., 2004)

Jenis Minyak	Bilangan Iodine
Minyak kelapa sawit	35-61
Minyak kacang kedelai	117-143
Minyak jagung	103-140
Minyak kelapa	6-12
Minyak biji bunga canola	94-120

Dari tabel di atas dapat disimpulkan bahwa minyak kelapa merupakan substrat terbaik untuk sintesis biodiesel jika dilihat dari segi kualitas yang dihasilkan. Rendahnya bilangan iodine pada minyak kelapa dapat menunjukkan bahwa minyak kelapa tersusun atas asam lemak jenuh, yakni sekitar 90 % (Knothe et al., 2004).

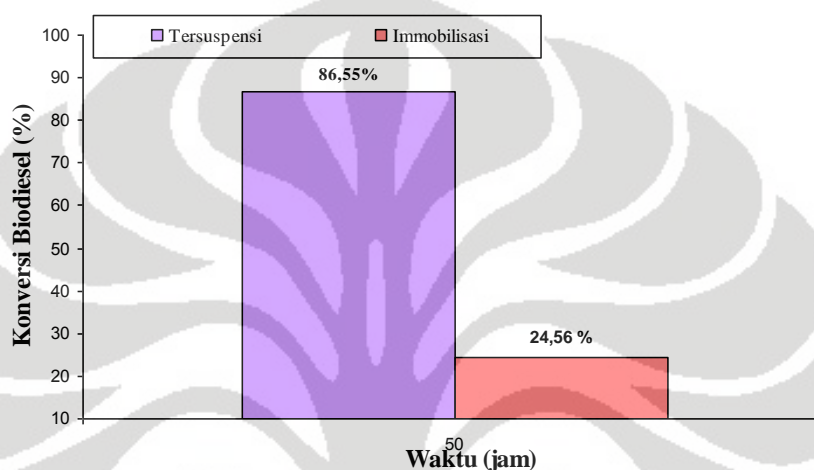
Maka dari segi kualitas biodiesel sebagai bahan bakar yang dihasilkan, minyak kelapa merupakan jenis minyak yang paling baik digunakan dalam sintesis biodiesel, mengingat minyak kelapa memiliki mayoritas kandungan asam lemak jenuh.

4.7 Pengaruh Immobilisasi Biokatalis pada Zeolit dengan Metode Adsorpsi

Untuk melihat pengaruh immobilisasi metode adsorpsi, maka dilakukan perbandingan dari hasil yang diperoleh dari penelitian ini dengan suatu hasil dari penelitian-penelitian sebelumnya. Data eksperimen nantinya akan dibandingkan dengan data eksperimen dari *M.Ekky Rizkiyadi*. Dalam penelitiannya, *M. Ekky Rizkiyadi* menggunakan biokatalis *Candida rugosa*, metode immobilisasi adsorpsi, dan dengan menggunakan substrat yang sama yaitu minyak jelantah.

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

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

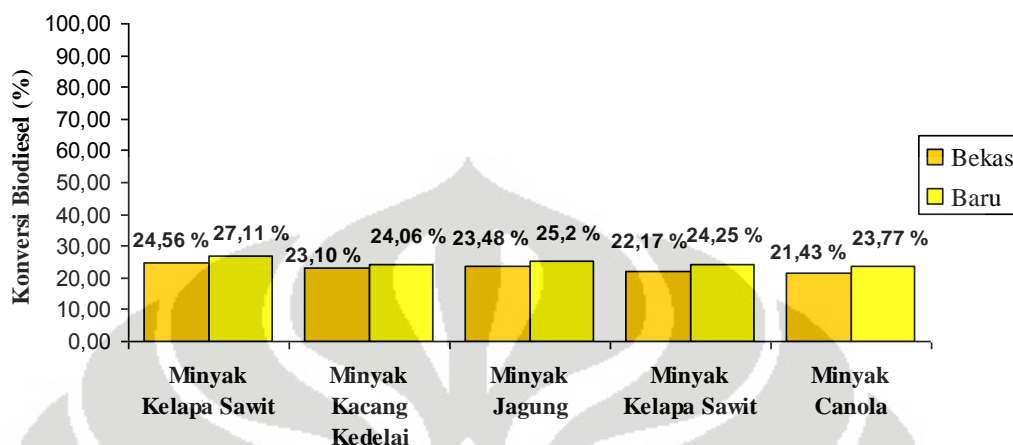


Gambar 4. 35 Perbandingan konversi biodiesel menggunakan biokatalis tersuspensi dan terimmobilisasi

Jika dibandingkan konversi biodiesel dengan metode tersuspensi maka konversi biodiesel lipase terimmobilisasi metode adsorpsi lebih rendah. Pada penelitian yang dilakukan oleh *Septhian Marno* konversi biodiesel dari substrat minyak kelapa sawit *fresh* dengan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi adalah sebesar 86,55% (Marno, 2008). Sedangkan konversi yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebesar 24,56%. Lebih rendahnya konversi biodiesel dari biokatalis terimmobilisasi dibandingkan dalam bentuk tersuspensi salah satu kemungkinannya disebabkan oleh adanya sebagian *free* lipase yang tidak terikat secara sempurna pada zeolit. Selain itu pengaruh luas kontak biokatalis dipermukaan zeolit untuk mengikat substrat juga menjadi salah satu faktor lebih rendahnya konsentrasi biodiesel yang terbentuk dari immobilisasi metode adsorpsi.

Selain itu, kondisi awal substrat mungkin juga mempengaruhi konversi dari biodiesel yang dihasilkan. Hasil uji stabilitas biokatalis yang digunakan akan

dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh *Achmad Wafa*. Berikut merupakan kurva perbandingan konversi biodiesel yang dihasilkan dari minyak goreng yang masih baru dan minyak goreng bekas:

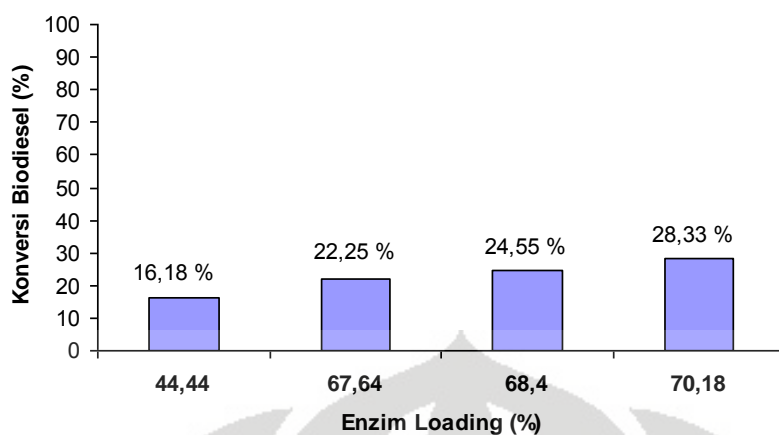


Gambar 4. 36 Perbandingan konversi biodiesel yang dihasilkan dari minyak goreng baru dan bekas

Terlihat pada kurva bahwa konversi biodiesel yang dihasilkan oleh substrat minyak goreng bekas selalu lebih rendah dari konversi biodiesel yang dihasilkan oleh substrat minyak goreng baru. Hal ini disebabkan karena minyak goreng bekas memiliki bilangan asam yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan bilangan asam yang dimiliki oleh minyak sawit. Bilangan asam tersebut akan mempengaruhi konversi produk yang dihasilkan. Ada juga kemungkinan substrat minyak goreng bekas yang digunakan masih mengandung pengotor sehingga menurunkan aktivitas dari enzim dan enzim tidak dapat bekerja secara maksimal.

4.8 Pengaruh Enzim *Loading* Terhadap Konversi Bioidesel yang Dihasilkan

Selain waktu tinggal, banyaknya enzim *loading* juga merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi hasil konversi produk dari sintesis biodiesel. Berikut merupakan grafik yang memperlihatkan hubungan jumlah enzim yang teradsorpsi pada zeolit dengan konversi biodiesel yang dihasilkan:



Gambar 4. 37 Pengaruh jumlah enzim *loading* terhadap konversi biodiesel yang dihasilkan (kondisi operasi: rasio mol substrat = 1:12, laju alir = 1 mL/jam, 2 mL/jam, 4 mL/jam, dan 5 mL/jam, $t = 50$ jam, dan $T = 37$ °C)

Dari Gambar 4.37, dapat dilihat bahwa jumlah enzim yang dapat teradsorp oleh *support* berbanding lurus dengan besarnya konversi biodiesel yang dihasilkan. Semakin banyak enzim yang dapat teradsorp oleh zeolit, maka konversi biodiesel yang dihasilkan semakin besar. Hal tersebut dapat terjadi karena semakin banyaknya enzim yang dapat mengkatalisis reaksi.

Namun enzim *loading* bukanlah faktor mutlak yang dapat menentukan besarnya konversi yang dihasilkan. Mungkin saja dengan enzim *loading* yang besar dapat menghasilkan konversi yang kecil. Hal tersebut mungkin terjadi karena adanya kerusakan enzim, sehingga enzim tidak dapat mengkatalisis reaksi secara optimal. Kondisi operasi, seperti temperatur, sangat menentukan kinerja dari enzim sebagai biokatalis.

4.9 Hasil Pemodelan Enzimatik

Percobaan variasi laju alir dilakukan untuk melihat pengaruh waktu tinggal terhadap total konsentrasi biodiesel yang dihasilkan. Tiga model yang telah diperoleh pada Bab 3 disesuaikan terhadap data eksperimen menggunakan metode numerik. Metode numerik yang digunakan adalah Runge-Kutta-Felburg Orde 4 (Hoffman, 1992). Metode *trial and error* juga digunakan guna memprediksi parameter yang tidak diketahui untuk memperoleh *fitting* terbaik untuk ketiga model. Berikut merupakan metode Runge-Kutta-Felburg Orde 4:

$$\begin{aligned}
k_1 &= \Delta t f(t^n, y^n) \\
k_2 &= \Delta t f\left(t^n + \frac{\Delta t}{4}, y^n + \frac{k_1}{4}\right) \\
k_3 &= \Delta t f\left(t^n + \frac{3}{8}\Delta t, y^n + \frac{3}{32}k_1 + \frac{9}{32}k_2\right) \\
k_4 &= \Delta t f\left(t^n + \frac{12}{13}\Delta t, y^n + \frac{1932}{2197}k_1 - \frac{7200}{2197}k_2 + \frac{7296}{2197}k_3\right) \\
k_5 &= \Delta t f\left(t^n + \Delta t, y^n + \frac{439}{216}k_1 - 8k_2 + \frac{3680}{513}k_3 - \frac{845}{4104}k_4\right) \\
k_6 &= \Delta t f\left(t^n + \frac{\Delta t}{2}, y^n - \frac{8}{27}k_1 + 2k_2 - \frac{3544}{2565}k_3 + \frac{1859}{4104}k_4 - \frac{11}{40}k_5\right) \\
y^{n+1} &= y^n + \frac{25}{216}k_1 + \frac{1408}{2565}k_3 + \frac{2197}{4104}k_4 - \frac{1}{5}k_5
\end{aligned} \tag{4.7}$$

Nilai k_1 sampai dengan k_6 dihitung menggunakan rumus di atas berdasarkan ketiga model yang diajukan:

$$r_{\text{int},A} = \theta_{A1}[G] \tag{4.8}$$

$$r_{\text{int},B} = \frac{\theta_{B1}[G]}{1 + \theta_{B2}[G]} \tag{4.9}$$

$$r_{\text{int},C} = \frac{\theta_{C1}[G]}{1 + \theta_{C2}[G] + \theta_{C3}[G]^2} \tag{4.10}$$

Pada ketiga model interesterifikasi, parameter yang harus dilakukan penyesuaian untuk memberikan *fitting* terbaik adalah θ . θ merupakan parameter yang berhubungan terhadap model Michaelis-Menten, yakni konstanta Michaelis (K_M), konstanta inhibisi, dan V_{max} .

Awalnya, metode numerik, yakni Runge-Kutta Felburg Orde 4 digunakan untuk memperoleh nilai konsentrasi biodiesel untuk disetiap waktu tinggal. *Increment* yang digunakan dalam metode ini adalah 0,1 jam, dengan *range* waktu tinggal 0 hingga 5,5 jam. Nilai $y(0)$ merupakan konsentrasi awal dari ikatan gliserida yang dapat bereaksi pada reaksi interesterifikasi. Dengan mengikuti neraca massa, maka konsentrasi awal dari ikatan gliserida yang dapat bereaksi adalah:

$$[G]_0 = 3[TG] + 2[DG] + [MG] + [FAME] \tag{4.10}$$

Sedangkan nilai $y(t)$ dihitung menggunakan metode Runge-Kutta-Felburg. Nilai $y(t)$ merupakan konsentrasi dari ikatan gliserida yang tidak bereaksi (*fatty*

acid residue). Pada akhirnya, konsentrasi biodiesel di plot terhadap waktu tinggal, dimana konsentrasi biodiesel merupakan pengurangan konsentrasi awal ikatan gliserida yang dapat bereaksi dengan ikatan gliserida yang tidak bereaksi:

$$[B] = [G]_0 - [G] \quad (4.11)$$

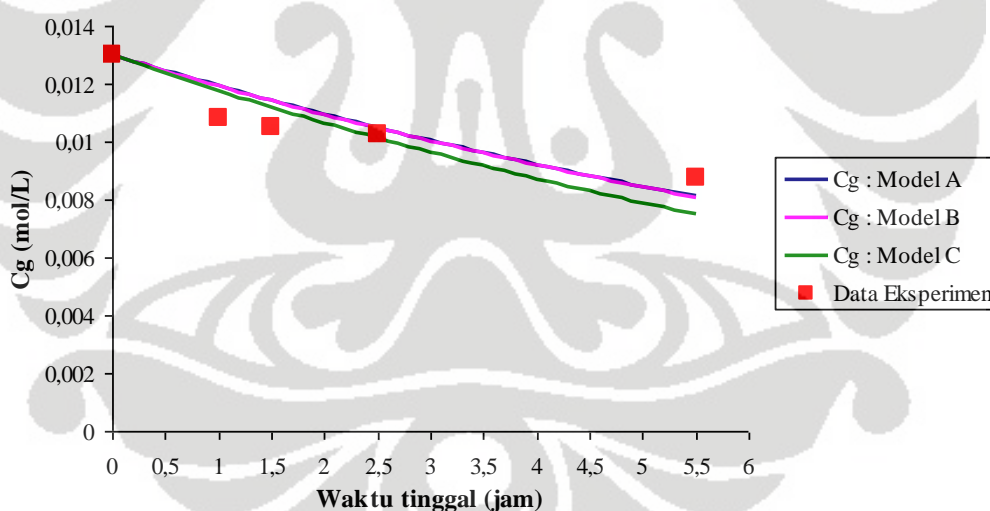
Berikut merupakan contoh dari hasil perhitungan menggunakan metode Runga-Kutte-Felburg:

Tabel 4. 6 Contoh hasil perhitungan metode Runga-Kutta-Felburg untuk model A

x	y	k1	k2	k3	k4	k5	k6
0	0,013	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012
0,1	0,012884	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00011	-0,00011	-0,00012
0,2	0,012768	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
0,3	0,012654	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
0,4	0,01254	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
0,5	0,012428	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011

*Keseluruhan perhitungan terdapat pada lampiran

Dari Tabel 4.6 diperoleh *trend* nilai y yang semakin turun seiring bertambahnya nilai x (waktu tinggal). $y(t)$ merupakan konsentrasi ikatan gliserida yang tidak bereaksi, sehingga semakin lama konsentrasinya semakin berkurang.



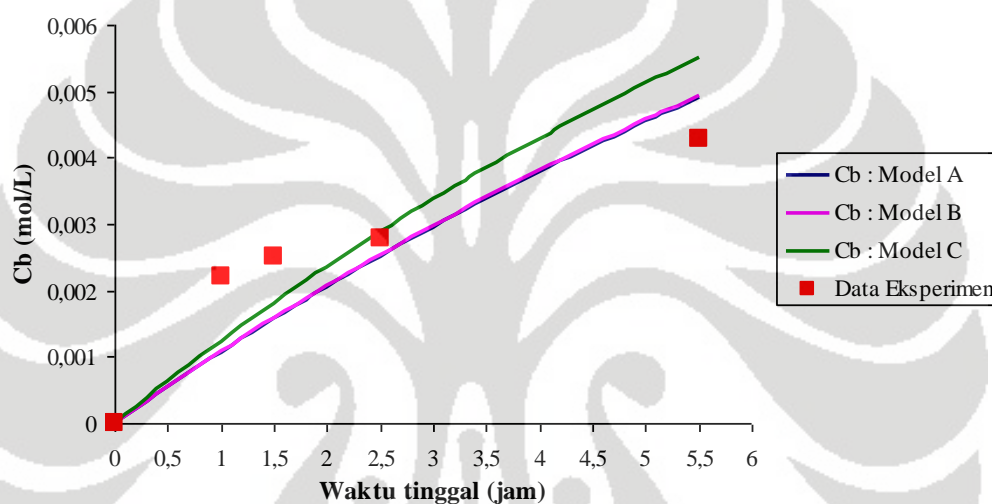
Gambar 4. 38 Fitting antara ketiga model dengan data eksperimen untuk konsentrasi ikatan gliserida yang tidak bereaksi

Kemudian konsentrasi biodiesel setiap waktu tinggal dihitung dari nilai $y(0)$ dan $y(t)$.

Tabel 4. 7 Contoh hasil perhitungan konsentrasi biodiesel untuk model A

τ (jam)	C_b (mol/L)
0	0
0,1	0,000116
0,2	0,000232
0,3	0,000346
0,4	0,00046
0,5	0,000572

Hasil plot antara data hasil eksperimen dengan data yang diperoleh lewat pemodelan diberikan pada gambar di bawah ini:

**Gambar 4. 39** *Fitting* antara ketiga model dengan data eksperimen untuk konsentrasi biodiesel

Dari hasil *fitting* kurva di atas terlihat bahwa kurva berwarna biru dan merah muda memperlihatkan *fitting* terbaik dari data eksperimen tiap waktu tinggal terhadap model A dan B. Kedua model selalu menghasilkan konsentrasi biodiesel yang konsisten dengan hasil percobaan.

Dari *fitting* terbaik pada Gambar 4.39 tersebut mengindikasikan maksimum konsentrasi biodiesel dihasilkan pada waktu tinggal terbesar, yakni 5,5 jam. Semakin lama waktu tinggal, maka kontak antara substrat dengan biokatalis semakin lama pula, sehingga hal tersebut dapat memperbesar peluang lipase untuk mengkatalisis reaksi.

Prediksi nilai parameter θ dan *error* untuk tiap model dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 4. 8 Nilai parameter θ dan *error* untuk ketiga model

Model	Nilai parameter θ	Total <i>Error</i>
A	$\theta_{A1} = -0,086$	$5,4636 \times 10^{-6}$
B	$\theta_{B1} = -0,086$ $\theta_{B2} = -0,7$	$5,4494 \times 10^{-6}$
C	$\theta_{C1} = -0,1$ $\theta_{C2} = -0,09$ $\theta_{C3} = -0,0001$	$5,9043 \times 10^{-6}$

Error merupakan kuadrat selisih antara model dengan data eksperimen. Total *error* terkecil menunjukkan semakin sesuai model dengan data eksperimen. Total *error* terkecil diperoleh dari *fitting* model B, yakni sebesar $5,4494 \times 10^{-6}$.

Jika kita meninjau nilai θ , maka terdapat beberapa parameter yang dapat dianalisa. Salah satunya adalah Konstanta Michaelis-Menten (K_M). Nilai θ diperoleh bernilai negatif menggunakan *trial and error*, sehingga nilai K_M diprediksi bernilai negatif. Hal tersebut berarti terjadi penurunan kecepatan reaksi pada waktu tertentu.

Sebenarnya, model C cenderung menghasilkan nilai yang lebih tinggi untuk konversi terbesar, namun hal tersebut tidak dapat dihasilkan secara efisien, karena kedua model tersebut membutuhkan waktu tinggal yang lebih lama. Tentunya hal tersebut tidak efektif. Berbeda dengan model A dan B, dimana model ini selalu mendekati nilai asimtot dari konversi.

Sekilas, terlihat bahwa deaktivasi enzim sama sekali tidak berefek dalam konversi. Namun setelah menyimak Gambar 4.39 lebih lanjut terlihat adanya sedikit efek dari deaktivasi enzim. Hal tersebut ditunjukkan oleh data-data distribusi peningkatan konversi yang cenderung menurun setelah melewati beberapa titik awal. Efek deaktivasi enzim tersebut membuat kondisi *steady* lebih cepat terjadi. Jika tidak terjadi deaktivasi enzim, maka konversi maksimal akan diperoleh dengan waktu tinggal yang lebih lama.

Dari hasil pemodelan enzimatik ini, diperoleh kesimpulan bahwa data yang diperoleh dari percobaan sesuai dengan mekanisme Ping Pong Bi Bi, dimana asilasi merupakan laju reaksi pembatas.

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Konversi terbesar yang diperoleh penelitian ini adalah sebesar 28,33%, yang diperoleh dari percobaan variasi laju alir. Konversi terbesar ini didapatkan dari kondisi operasi optimal (kondisi operasi: rasio mol minyak: metil asetat = 1:12, $T = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$) dan laju alir 1 mL/jam, menggunakan kelapa sawit bekas sebagai substrat.
2. Uji stabilitas untuk lipase terimmobilisasi dari sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menunjukkan % konversi pada jam-jam awal mengalami kondisi *unsteady*, dimana kecepatan reaksi terus meningkat hingga mencapai kecepatan maksimalnya. Setelah mencapai titik kesetimbangan, peningkatan laju pembentukan produk tidak akan berlangsung signifikan.
3. Setelah kondisi *steady* berlangsung, stabilitas biokatalis mulai menurun. Hal tersebut ditunjukkan oleh tidak signifikannya peningkatan produk yang terjadi.
4. Seluruh biokatalis terimmobilisasi yang digunakan pada setiap percobaan masih memiliki stabilitas operasi yang baik hingga 50 jam.
5. Menurunnya stabilitas biokatalis dikarenakan melemahnya ikatan antara enzim dan *support*, sehingga lipase menjadi tidak stabil dan jenuh untuk mengikat substrat.
6. Minyak kelapa sawit bekas memberikan % konversi terbesar dalam sintesis biodiesel ini.
7. Semakin lama waktu tinggal, maka % konversi biodiesel yang dihasilkan semakin tinggi.

5.2 Saran

Mengingat metode immobilisasi adsorpsi memiliki kelemahan, yakni lemahnya ikatan yang terbentuk antara enzim dengan *support*, maka diharapkan untuk penelitian selanjutnya perlu dicari dan dilakukan metode immobilisasi yang

lebih baik dari metode adsorpsi. Hal ini penting dilakukan karena immobilisasi memiliki peranan yang besar dalam menghasilkan konsentrasi biodiesel yang tinggi.



DAFTAR REFERENSI

Aji Surendro, Risan., 2008, “*Reaksi Interesterifikasi Minyak Jelantah dengan Metil Asetat Menggunakan Biokatalis Porcine pancreatic lipase untuk Memproduksi Biodiesel*”, Skripsi, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok.

C.G. Hill, Jr., S. Ghannouchi, and H.S. Garcia., “*Lipolysis of Butter Oil Immobilized Lamb Pregastric Esterase: I. Uniresponse Kinetics-pH and Temperature Effects*”, *Journal of Dairy Science* Vol. 84, No. 5, 2001.

Du W, Xu Y, Liu D, Zeng J., “*Comparative Study on Lipase-Catalyzed Transformation of Soybean Oil for Biodiesel Production with Different Acyl Acceptors*”, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2004, 30:125-129.

D’Souza, S.F. *Immobilized Enzymes in Bioprocess*. Style sheet. www.ias.ac.in. Diakses tanggal 20 April 2008.

Ekky Rizkiyadi, M., 2008, “*Reaksi Interesterifikasi Minyak Jelantah dengan Metil Asetat Menggunakan Biokatalis Candida rugosa lipase untuk Memproduksi Biodiesel*”, Skripsi, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok.

Elizabeth, Jenny., *Biodiesel Jelantah dan Pelumas Sawit*, <http://www.kompas.com> Diakses tanggal 15 April 2008.

Fatimah et al., *Continuous Biosynthesis of Biodiesel from Waste Cooking Oil in a Packed Bed Reactor: Optimization Using Response Surface Methodology (RSM) and mass transfer studies*. *Bioresource Technology* , 2009 710-716.

Feuge, R.O., Grose, T., 1949. “*Modification of Vegetables Oils. VII. Alkali Catalyzed Interesterification of Peanut Oil with Ethanol*”. *JAOCS* 26, 97-102.

Freedman, B., Butterfield, R.O., Pryde, E.H., 1986. “*Transesterification Kinetics of Soybean Oil*”. *JAOCS* 63, 1375-1380.

Fukuda, H, Kondo A, and Noda H., “*Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils*”. *J. Biosci. Bioeng.*, 2001, 92:405-416.

Hama, S., et al., 2007, “*Biodiesel Fuel Production in a Packed Bed Reactor Using Lipase-Producing Rhizopus Oryzae Cells Immobilized within Biomass Support Particles*”. *Biochem. Eng. J.* 34, 273-278.

Hamilton, R.J., 1989, *Esterification and Interesterification*, in Proc. of Palm Oil Development Conference Chemistry Technology and Marketing, PORIM, Kuala Lumpur, Malaysia.

Hermasnyah, Heri., 2008, *Pengembangan Rute Sintesis Biodiesel Non Alkohol Menggunakan Biokatalis : State of The Arts*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

Hoffman, J.D., 1992, *Numerical Method for engineers and Scientist*. New Yorl: Marcel Dekker, Inc.

Holman, J. *Chemistry. Second Edition*. York: University of York, 2001.

Howell., *Biodiesel: An Alternative Energy*, <http://www.tutor.com>. Diakses tanggal 20 April 2008.

Ihwan, Firdaus., *Usulan Teknis Pembuatan Biodiesel dari Minyak Jelantah*, <http://www.migas-indonesia.com>. Diakses tanggal 29 Mei 2008.

Kaieda, M., T. Samukawa, T. Matsumoto, K. Ban, Kondo, Y. Shimada, H. Noda, F. Nomoto, K. Ohtuka, E. Izumoto, and A.H. Fukuda, “*Biodiesel Fuel Production from Plant Oil Catalyzed by Rhizopus oryzae Lipase in a Water-Containing System without an Organic Solvent*”. J. Biosci. Bioeng., 1999, 88: 627-631.

Kaieda, M., Samukawa T, Kondo A, Fukuda H., “*Effect of Methanol and Water Contents on Production of Biodiesel Fuel from Plant Oil Catalyzed by Various Lipases in a Solvent-Free System*”. J. Biosci. Bioeng., 2001, 91: 12-5.

Kim, M., Salley, S. O., Ng, K. Y. S., *Transesterification of Glycerides Using a Heterogeneous Resin Catalyst Combined with a Homogeneous Catalyst*. Energy Fuels, 2008, 22 (6), 3594-3599.

Kim Sok Joong, Sang-Ming Jung, Yong-cheol Pane, *Lipase Catalyzed transesterification of Soybean Oil Using Ethyl Acetate, an Alternative Acyl Acceptor*, Journal of Biotechnology and Bioprocess Engineering. 12 : 441-445. Kyungmoon Park. 2007.

Knothe, Gerard, Robert, O., Dunn., Bagby, Marvin, O. *Biodiesel: The Use of Vegetable Oils and Their Derivates as Alternative Diesel Fuels Oil Research*. National Center for Agricultural Utilization Research, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture. Peoria. 1996.

Knothe, J., Krahl, J., Van Gerpen (Eds.). *The Biodiesel Handbook*. AOCS Press. Champaign. IL/USA. 2007.

Ma, Fangrui and Milford A. Hanna, “*Biodiesel Production: a Review*”, ELSEVIER (1999).

Marno, Septian., 2008. “*Interesterifikasi minyak kelapa sawit dengan metil asetat menggunakan biokatalis untuk memproduksi biodiesel*”, Skripsi, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok.

Nasiri, Johan., *Biodiesel: Upaya Mengurangi Ketergantungan Minyak Bumi*, <http://www.sentrapolimer.com>. Diakses tanggal 6 Mei 2007.

Noureddini, H dan D. Zhu, “*Kinetics of Transesterification of Soybean Oil*”. Biocatalyst Articles, JAOCS, Vol 74, no. 11. (1997).

Nur Alamsyah, Andi., *Potensi Biodiesel*, <http://www.kompas.com>. Diakses tanggal 15 April 2008.

Pandey, A., Benjamin, S., Soccol, C. R., Nigam, P., Krieger, N. and Soccol, V. T. *The Realm of Microbial Lipases in Technology*. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 29, 119-131. 1999.

Park, J. Y.; Kim, D. K.; Wang, Z. M.; Lee, J. P. ; Park, S. C.; Lee, J.S. *Production of Biodiesel From Soapstock Using an Ion-Exchange Resin Catalyst*. *Korean J. Chem. Eng.*, 2008, 25 (6), 1350-1354.

Ramachandra Murty, V., “*Hydrolysis of Oils by Using Immobilized Lipase Enzyme: A Review*”, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 2002, 7:57-66.

Ritter, P. 1996. *Biochemistry*. Brooks/Cole Publishing Co. California: xxvii+822 hlm.

Satria, Beni., *Minyak Jelantah: Sumber Energi Ramah Lingkungan*, <http://ganto-online.com>. Diakses tanggal 28 Maret 2008.

Schuchardt, Ulf and Sercheli Ricardo, “*Transesterification of Vegetable Oil: a Review*”, *J. Braz. Chem Sec.* Vol. 9. (1998).

Shimada, Y., Watanabe, Y., Samukawa, T., Sugihara, A., Noda, H., Fukuda, H., “*Conversion of Vegetable Oil to Biodiesel Using Immobilized Candida Antartica Lipase*,” *JAOCS*, 1999, 76 (7): 789-793.

Suhartono, *Bahaya Minyak Jelantah*, <http://www.kompas.com>. Diakses tanggal 15 April 2008.

Tahar, Adrisman., 2005, *Kajian Kebijakan dan Kumpulan Artikel Penelitian Biodiesel*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.

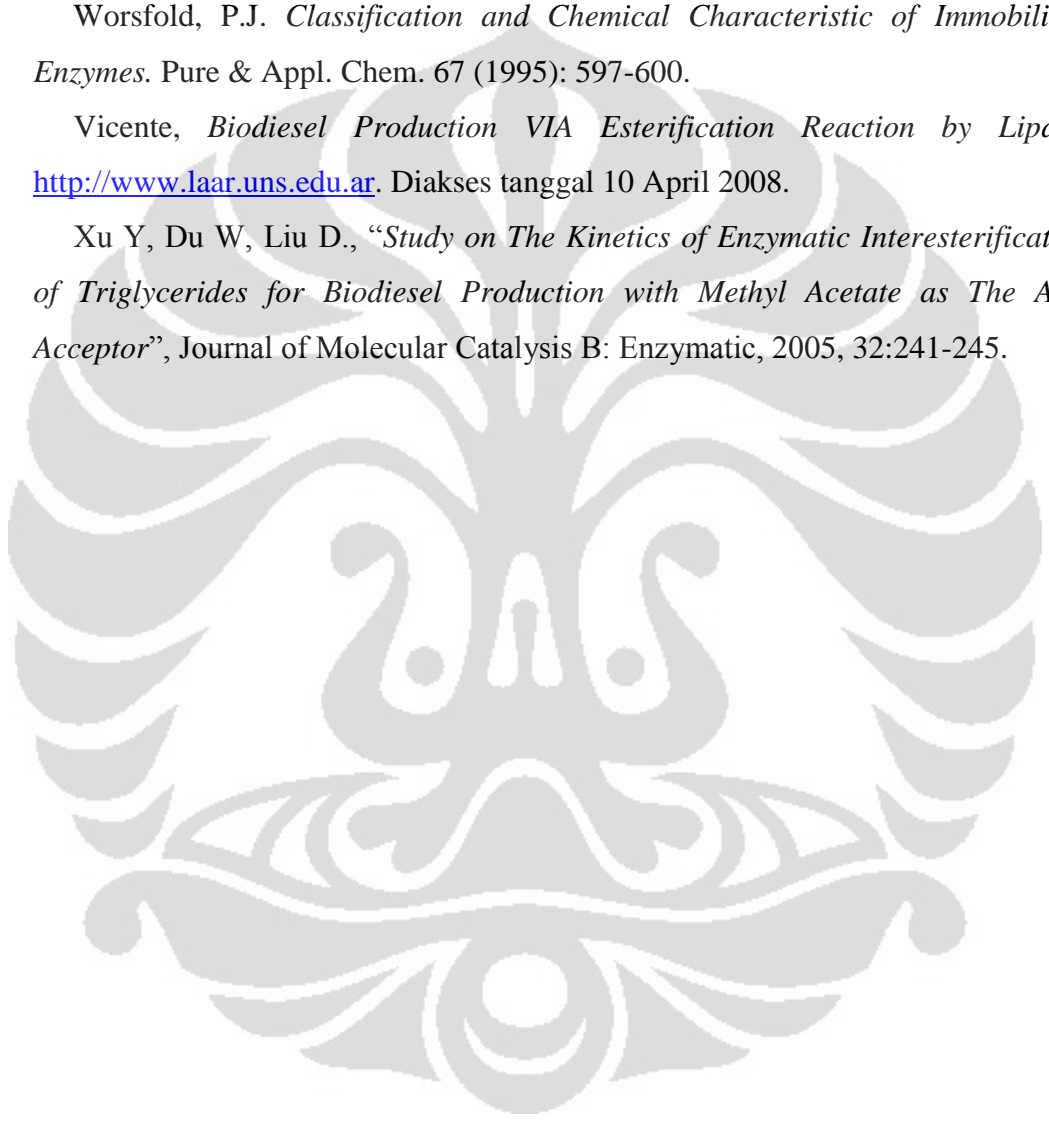
Walker, M. *Immobilization Enzymes and Cells. Second Edition.* 2006.

Watanabe Y, Shimada Y, Sugihara A, Noda H, Fkuda H, Tominaga Y., “*Continuous Production of Biodiesel Fuel from Vegetable Oil Using Immobilized Candida Antartica Lipase*”, *JAOCS* 2000:7:355-8.

Worsfold, P.J. *Classification and Chemical Characteristic of Immobilized Enzymes.* *Pure & Appl. Chem.* 67 (1995): 597-600.

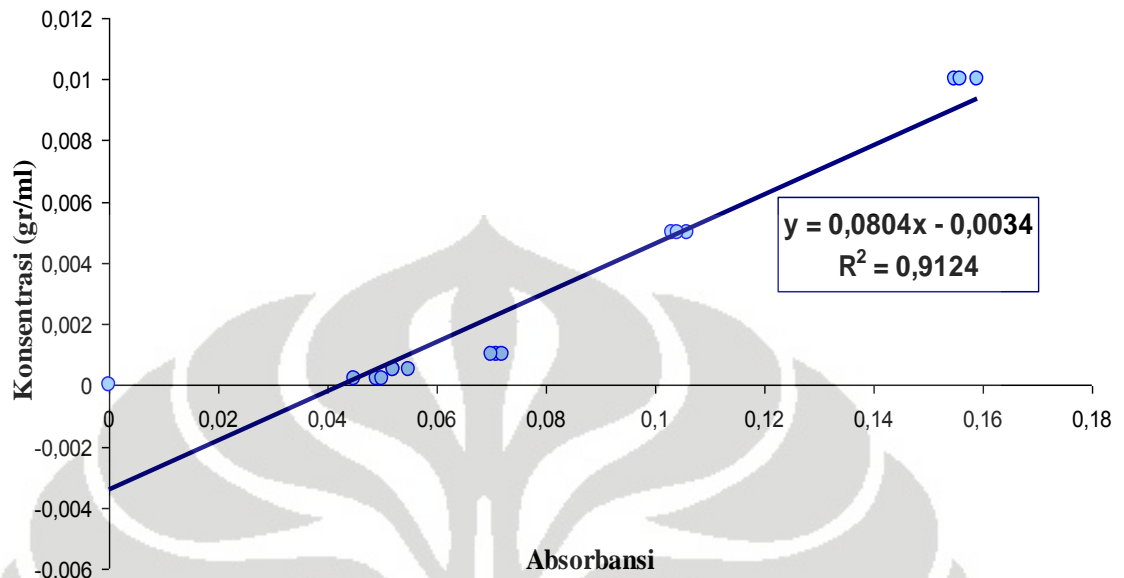
Vicente, *Biodiesel Production VIA Esterification Reaction by Lipase*, <http://www.laar.uns.edu.ar>. Diakses tanggal 10 April 2008.

Xu Y, Du W, Liu D., “*Study on The Kinetics of Enzymatic Interesterification of Triglycerides for Biodiesel Production with Methyl Acetate as The Acyl Acceptor*”, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2005, 32:241-245.



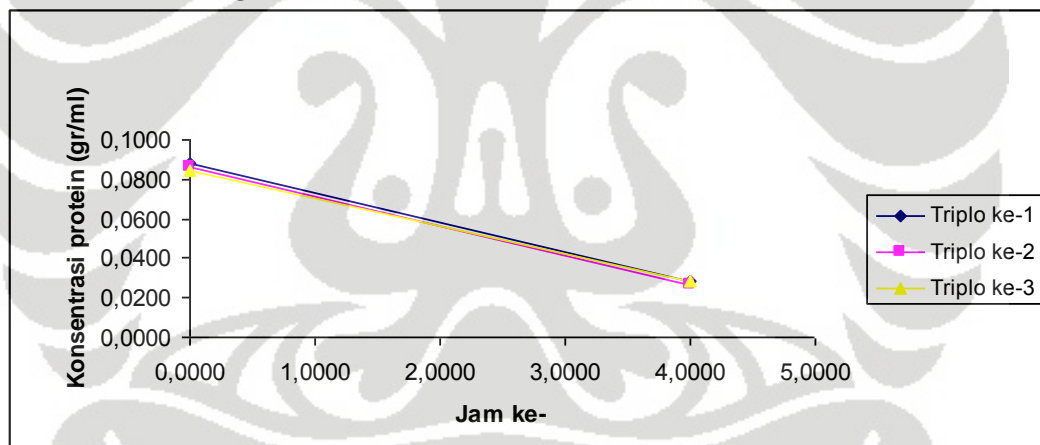
Lampiran 1 : Enzim Loading

1.1 Kurva Kalibrasi BSA



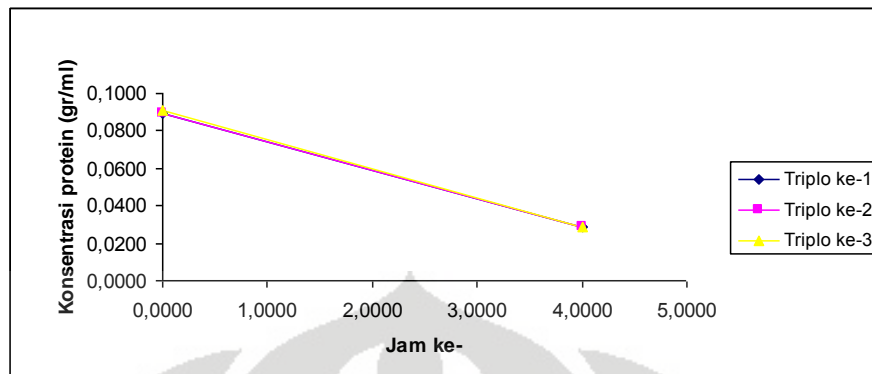
Gambar A. 1 Kurva kalibrasi standar BSA

1.2 Enzim Loading

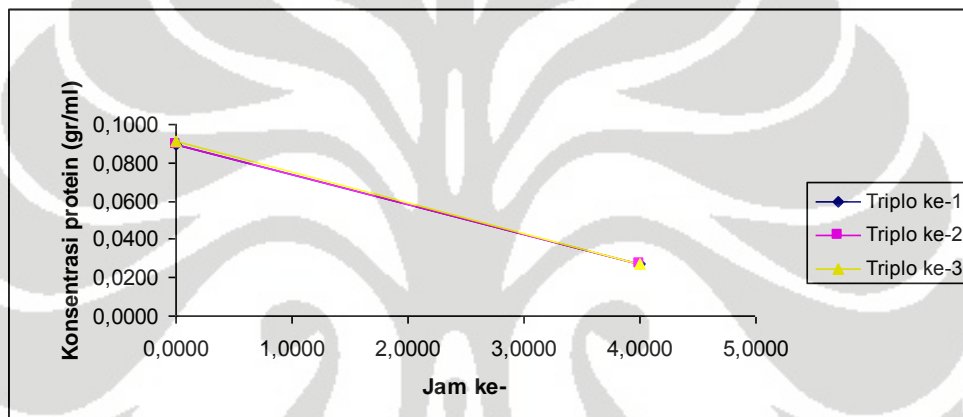


Gambar A. 2 Kurva konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi (enzim loading = 67,64%)

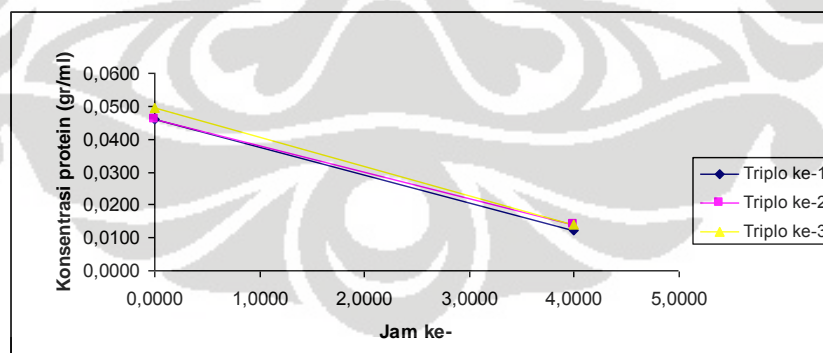
(lanjutan)



Gambar A.3 Kurva konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi
(enzim loading = 68,40%)

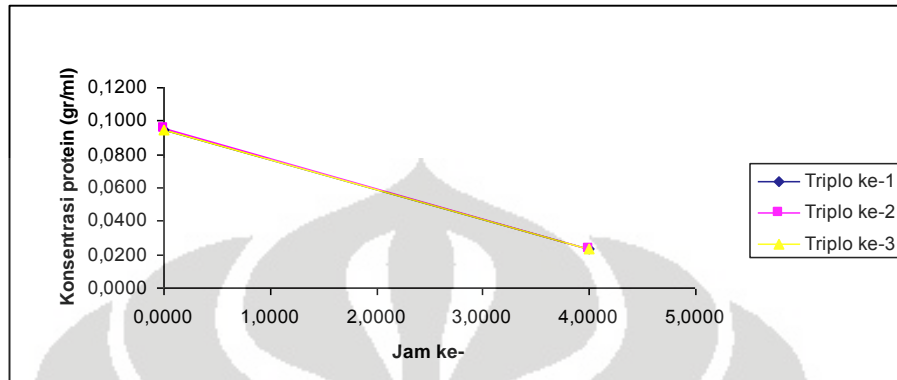


Gambar A.4 Kurva konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi
(enzim loading = 70,18%)

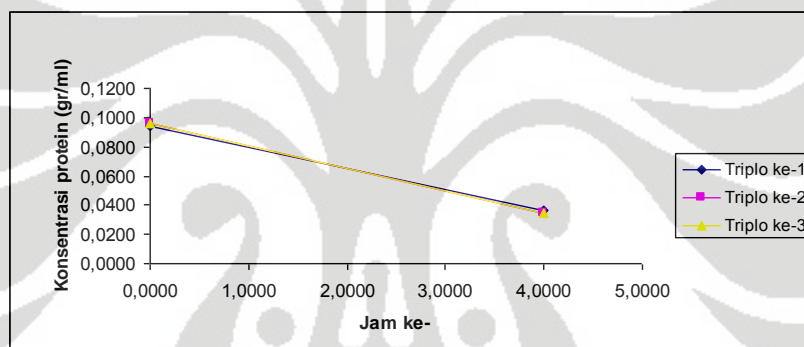


Gambar A.5 Kurva konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi (enzim loading = 71,45%)

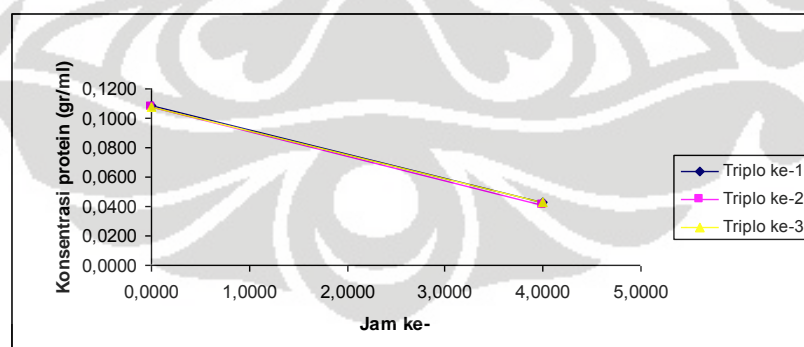
(lanjutan)



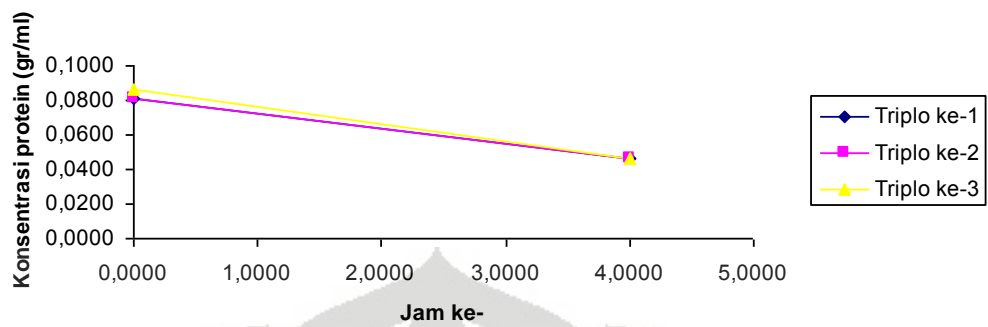
Gambar A.6 Kurva konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi (*enzim loading* = 75,08%)



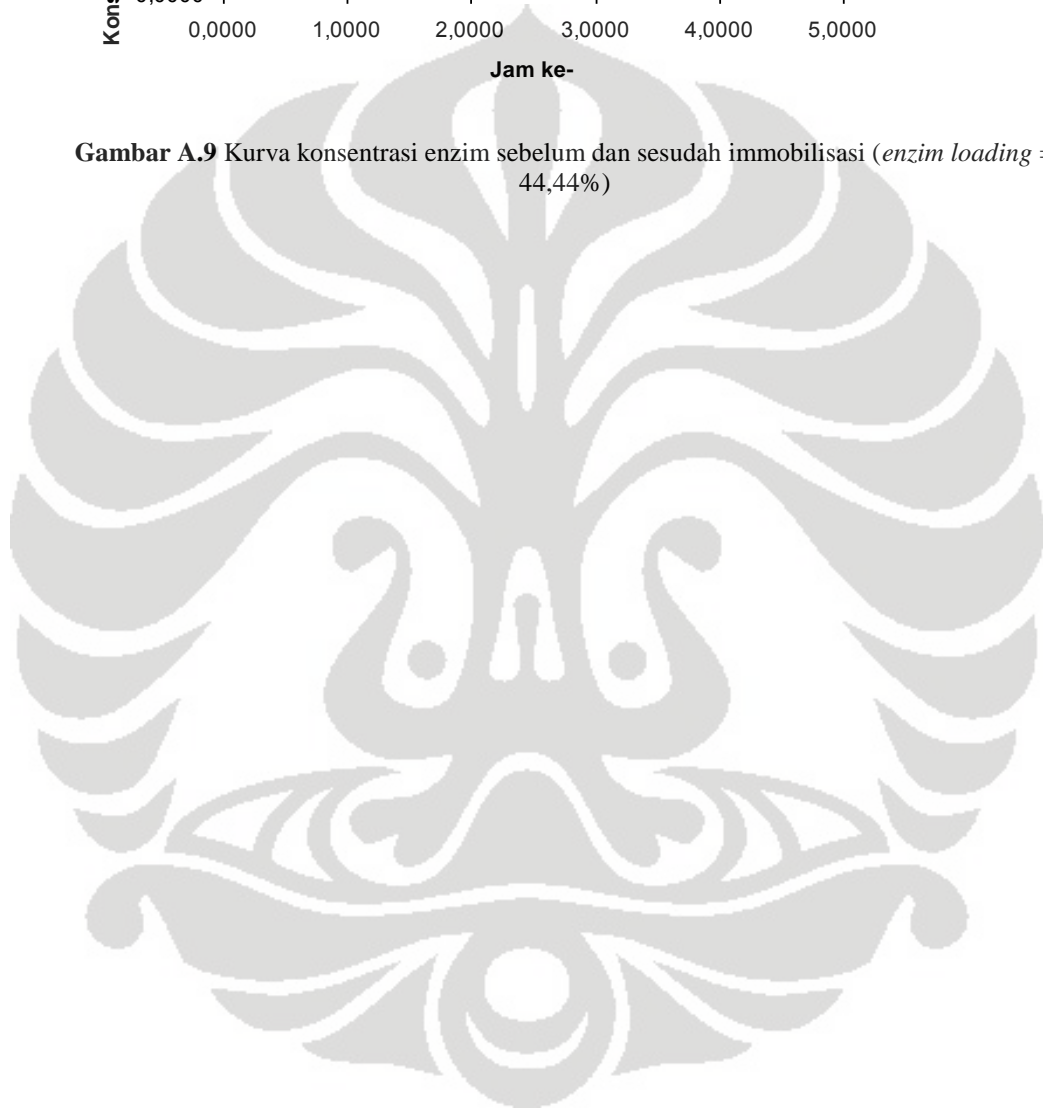
Gambar A.7 Kurva konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi (*enzim loading* = 62,87%)



Gambar A.8 Kurva konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi (*enzim loading* = 60,66%)



Gambar A.9 Kurva konsentrasi enzim sebelum dan sesudah immobilisasi (*enzim loading* = 44,44%)



Lampiran 2 : Standar**2.1 Data Luas Area dan Konsentrasi Standar****Tabel 2.1** Standar biodiesel yang digunakan dalam analisa HPLC

Standar	Rute non Alkohol		
Zat	Luas Area	Konsentrasi mg/L	Konsentrasi mol/L
T	1476245	1,0000	0,000980027
D	1049092	1,0000	0,001408014
M	8725071	1,0000	0,002490908
F	262496	10,0000	0,029286007

Keterangan:

Notasi T menyatakan Trioelat, D menyatakan Dioelat, M menyatakan mono oleat, dan F menyatakan *Fatty Acid Methyl Ester* (Biodiesel).



Lampiran 3 : Variasi Laju Alir

3.1 Percobaan Variasi Laju Alir

Tabel 3.1 Perhitungan *mol balance* untuk percobaan variasi laju alir menggunakan minyak kelapa sawit bekas

Laju Alir	Tri Oleat		Di Oleat		Mono Oleat		FAME		<i>Mol Balance</i>
	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	
	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	
0	4911211	0,0043	91729	0,0001	209710	0,0001	0	0,0000	1,00
1	1401292	0,0012	1694473	0,0026	1388835	0,0004	187212	0,0036	0,98
2	2009351	0,0018	1668515	0,0026	1300455	0,0004	162212	0,0032	1,05
4	2316308	0,0020	1480245	0,0023	1306093	0,0004	147016	0,0029	1,05
5	3006008	0,0026	997443	0,0015	902726	0,0003	106906	0,0021	1,00

Tabel 3.2 % konversi dan konversi masing-masing komponen

Uji Stabilitas Minyak Kelapa Sawit Bekas				
% Konversi	1 ml/jam	2 ml/jam	4 ml/jam	5 ml/jam
Trioleat	71,46748531	59,08644528	52,83632	38,7929372
Diroleat	40,3596274	39,7413495	35,25706	23,7574915
Mono Oleat	3,093376433	2,896526117	2,909084	2,01065737
Biodiesel	28,33221991	24,54877922	22,24905	16,1789004

Lampiran 4 : Minyak Kelapa Sawit Bekas

4.1 Uji Stabilitas Biokatalis : Minyak Kelapa Sawit Bekas

Tabel 4.1 Perhitungan *mol balance* untuk percobaan variasi laju alir menggunakan minyak kelapa sawit bekas

t (jam)	Tri Oleat		Di Oleat		Mono Oleat		FAME		Mol Balance
	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	
	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	
0	24650764	0,0215	520933	0,0008	994	0,0000	0	0,0000	1,00
6	20043510	0,0133	5009181	0,0067	8026021	0,0023	99300	0,0111	1,01
15	12996058	0,0086	8090291	0,0109	8137410	0,0023	140097	0,0156	0,99
25	12963204	0,0086	8417291	0,0113	8097100	0,0023	139494	0,0156	1,00
40	12703131	0,0084	8398844	0,0113	8103907	0,0023	141869	0,0158	1,00
50	12181615	0,0081	8396070	0,0113	8019710	0,0023	141964	0,0158	0,98

Tabel 4.2 % konversi masing-masing komponen

Uji Stabilitas Minyak Kelapa Sawit Bekas					
% Konversi	t = 6 jam	t = 15 jam	t = 25 jam	t = 40 jam	t = 50 jam
Trioleat	38,11	59,87	59,97	60,78	62,39
Diroleat	20,85	33,67	35,03	34,95	34,94
Mono Oleat	3,55	3,60	3,58	3,59	3,55
Biodiesel	17,18	24,23	24,13	24,54	24,56

Lampiran 5 : Minyak Kacang Kedelai Bekas

5.1 Uji Stabilitas Biokatalis : Minyak Kacang Kedelai Bekas

Tabel 5. 1 Perhitungan *mol balance* untuk percobaan variasi laju alir menggunakan minyak kacang kedelai bekas

t (jam)	Tri Oleat		Di Oleat		Mono Oleat		FAME		Mol Balance
	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	
	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	
0	3770748	0,0037	190482	0,0004	0	0,0000	0	0,0000	1,00
6	2072196	0,0020	808864	0,0016	810090	0,0002	6150	0,0017	0,95
15	1455354	0,0014	1048864	0,0021	922158	0,0002	9096	0,0026	0,95
25	1422793	0,0014	1041308	0,0020	920222	0,0002	9151	0,0026	0,94
40	1399874	0,0014	1039680	0,0020	921225	0,0002	8995	0,0026	0,93
50	1384856	0,0014	1039583	0,0020	919249	0,0002	9002	0,0026	0,93

Tabel 5.2 % konversi masing-masing komponen

Uji Stabilitas Minyak Kacang Kedelai Bekas					
% Konversi	t = 6 jam	t = 15 jam	t = 25 jam	t = 40 jam	t = 50 jam
Trioleat	45,05	61,40	62,27	62,88	63,27
Diroleat	28,62	37,11	36,84	36,79	36,78
Mono Oleat	1,98	2,25	2,25	2,25	2,25
Biodiesel	15,78	23,35	23,49	23,09	23,10

Lampiran 6 : Minyak Jagung Bekas

6.1 Uji Stabilitas Biokatalis : Minyak Jagung Bekas

Tabel 6.1 Perhitungan *mol balance* untuk percobaan variasi laju alir menggunakan minyak jagung bekas

t (jam)	Tri Oleat		Di Oleat		Mono Oleat		FAME		Mol Balance
	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	
	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	
0	16503633	0,0162	470390	0,0009	13396	0,0000	0	0,0000	1,00
6	10128106	0,0099	3049392	0,0060	3000631	0,0008	30015	0,0085	1,01
15	6519915	0,0064	4304462	0,0084	3123674	0,0008	39092	0,0111	0,95
25	6322222	0,0062	4552358	0,0089	3107932	0,0008	39262	0,0112	0,96
40	6306825	0,0062	4666705	0,0092	2904931	0,0008	39791	0,0113	0,97
50	6290234	0,0062	4653166	0,0091	3002329	0,0008	40040	0,0114	0,97

Tabel 6.2 % konversi masing-masing komponen

Uji Stabilitas Minyak Jagung Bekas					
% Konversi	t = 6 jam	t = 15 jam	t = 25 jam	t = 40 jam	t = 50 jam
Trioleat	38,63	60,49	61,69	61,79	61,89
Diroleat	24,65	34,80	36,80	37,73	37,62
Mono Oleat	1,67	1,74	1,73	1,62	1,68
Biodiesel	17,60	22,92	23,02	23,33	23,48

Lampiran 7 : Minyak Kelapa Bekas

7.1 Uji Stabilitas Biokatalis : Minyak Kelapa Bekas

Tabel 7.1 Perhitungan *mol balance* untuk percobaan variasi laju alir menggunakan minyak kelapa bekas

t (jam)	Tri Oleat		Di Oleat		Mono Oleat		FAME		Mol Balance
	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	
	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	
0	10160442	0,0100	154216	0,0003	3402	0,0000	0	0,0000	1,00
6	6761948	0,0066	1507494	0,0030	1847780	0,0005	17820	0,0051	1,03
15	4455300	0,0044	2515647	0,0049	1982282	0,0005	23179	0,0066	0,99
25	4304251	0,0042	2596187	0,0051	1982720	0,0005	23673	0,0067	0,99
40	4174652	0,0041	2683013	0,0053	1868332	0,0005	23298	0,0066	0,98
50	4159082	0,0041	2728603	0,0054	1897292	0,0005	23273	0,0066	0,99

Tabel 7.2 % konversi masing-masing komponen

Uji Stabilitas Minyak Kelapa Bekas					
% Konversi	t = 6 jam	t = 15 jam	t = 25 jam	t = 40 jam	t = 50 jam
Trioleat	33,45	56,15	57,64	58,91	59,07
Diroleat	19,80	33,03	34,09	35,23	35,83
Mono Oleat	1,68	1,80	1,80	1,69	1,72
Biodiesel	16,97	22,08	22,55	22,19	22,17

Lampiran 8 : Minyak Canola Bekas

8.1 Uji Stabilitas Biokatalis : Minyak Canola Bekas

Tabel 8.1. Perhitungan *mol balance* untuk percobaan variasi laju alir menggunakan minyak canola bekas

t (jam)	Tri Oleat		Di Oleat		Mono Oleat		FAME		Mol Balance
	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	Luas	Konsentrasi	
	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	Area	(mol/L)	
0	3236209	0,0033	36253	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	1,00
6	1909020	0,0019	882935	0,0011	1020036	0,0003	6951	0,0015	0,98
15	1404130	0,0014	1371185	0,0017	948494	0,0003	9767	0,0021	1,00
25	1399867	0,0014	1396088	0,0017	904949	0,0003	9878	0,0021	1,01
40	1388848	0,0014	1369122	0,0017	932022	0,0003	9908	0,0021	1,00
50	1369463	0,0014	1362784	0,0017	923794	0,0003	10008	0,0021	0,99

Tabel 8.2. % konversi masing-masing komponen

Uji Stabilitas Minyak Biji Bunga Canola Bekas					
% Konversi	t = 6 jam	t = 15 jam	t = 25 jam	t = 40 jam	t = 50 jam
Trioleat	41,01	56,61	56,74	57,08	57,68
Diroleat	21,90	34,00	34,62	33,95	33,80
Mono Oleat	3,08	2,86	2,73	2,81	2,79
Biodiesel	14,88	20,91	21,15	21,21	21,43

Lampiran 9 : Pemodelan Reaksi Enzimatis

9.1 Pemodelan Reaksi Enzimatis

Tabel 9. 1 Perhitungan Metode Runga-Kutta-Felburg Orde 4

x	y	k1	k2	k3	k4	k5	k6
0	0,013	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,013	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,013	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013
0,1	0,012889	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,012888	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,01287	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013
0,2	0,012778	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,012776	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,012742	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013
0,3	0,012669	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,012666	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,012615	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013	-0,00013
0,4	0,01256	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,012557	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,01249	-0,00013	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012
0,5	0,012453	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,012448	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,012365	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012
0,6	0,012346	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,012341	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,012242	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012
0,7	0,01224	-0,00011	-0,00011	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
	0,012234	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
	0,01212	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012
0,8	0,012136	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
	0,012128	-0,00011	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
	0,011999	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012
0,9	0,012032	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
	0,012024	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
	0,01188	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012
1	0,011929	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
	0,01192	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
	0,011762	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012
1,1	0,011827	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
	0,011817	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
	0,011644	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012	-0,00012
1,2	0,011725	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-1E-04	-0,0001
	0,011715	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
	0,011528	-0,00012	-0,00012	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011

(lanjutan)

1,3	0,011625	-1E-04	-1E-04	-0,00010	-9,9E-05	-9,9E-05	-1E-04
	0,011614	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-1E-04	-1E-04	-0,0001
	0,011414	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
1,4	0,011525	-9,9E-05	-9,9E-05	-0,00010	-9,8E-05	-9,8E-05	-9,9E-05
	0,011513	-1E-04	-1E-04	-0,00010	-9,9E-05	-9,9E-05	-9,9E-05
	0,0113	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
1,5	0,011427	-9,8E-05	-9,8E-05	-0,00010	-9,7E-05	-9,7E-05	-9,8E-05
	0,011414	-9,9E-05	-9,9E-05	-0,00010	-9,8E-05	-9,8E-05	-9,9E-05
	0,011187	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
1,6	0,011329	-9,7E-05	-9,7E-05	-0,00010	-9,7E-05	-9,7E-05	-9,7E-05
	0,011315	-9,8E-05	-9,8E-05	-0,00010	-9,7E-05	-9,7E-05	-9,8E-05
	0,011076	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
1,7	0,011232	-9,7E-05	-9,6E-05	-0,00010	-9,6E-05	-9,6E-05	-9,6E-05
	0,011218	-9,7E-05	-9,7E-05	-0,00010	-9,6E-05	-9,6E-05	-9,7E-05
	0,010966	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
1,8	0,011136	-9,6E-05	-9,6E-05	-0,00010	-9,5E-05	-9,5E-05	-9,5E-05
	0,011121	-9,6E-05	-9,6E-05	-0,00010	-9,6E-05	-9,6E-05	-9,6E-05
	0,010856	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
1,9	0,011104	-9,5E-05	-9,5E-05	-0,00009	-9,4E-05	-9,4E-05	-9,5E-05
	0,011025	-9,6E-05	-9,5E-05	-0,00010	-9,5E-05	-9,5E-05	-9,5E-05
	0,010748	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
2	0,010946	-9,4E-05	-9,4E-05	-0,00009	-9,3E-05	-9,3E-05	-9,4E-05
	0,01093	-9,5E-05	-9,5E-05	-0,00009	-9,4E-05	-9,4E-05	-9,4E-05
	0,010641	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,00011
2,1	0,010852	-9,3E-05	-9,3E-05	-0,00009	-9,3E-05	-9,3E-05	-9,3E-05
	0,010836	-9,4E-05	-9,4E-05	-0,00009	-9,3E-05	-9,3E-05	-9,3E-05
	0,010535	-0,00011	-0,00011	-0,00011	-0,0001	-0,0001	-0,0001
2,2	0,010759	-9,3E-05	-9,2E-05	-0,00009	-9,2E-05	-9,2E-05	-9,2E-05
	0,010742	-9,3E-05	-9,3E-05	-0,00009	-9,2E-05	-9,2E-05	-9,3E-05
	0,01043	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
2,3	0,010667	-9,2E-05	-9,2E-05	-0,00009	-9,1E-05	-9,1E-05	-9,1E-05
	0,010649	-9,2E-05	-9,2E-05	-0,00009	-9,2E-05	-9,1E-05	-9,2E-05
	0,010326	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
2,4	0,010576	-9,1E-05	-9,1E-05	-0,00009	-9E-05	-9E-05	-9,1E-05
	0,010558	-9,1E-05	-9,1E-05	-0,00009	-9,1E-05	-9,1E-05	-9,1E-05
	0,010224	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001
2,5	0,010485	-9E-05	-9E-05	-0,00009	-8,9E-05	-8,9E-05	-9E-05
	0,010466	-9,1E-05	-9E-05	-0,00009	-9E-05	-9E-05	-9E-05
	0,010122	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-0,0001	-0,0001	-0,0001

(lanjutan)

2,6	0,010395	-8,9E-05	-8,9E-05	-0,00009	-8,9E-05	-8,9E-05	-8,9E-05
	0,010376	-9E-05	-9E-05	-0,00009	-8,9E-05	-8,9E-05	-8,9E-05
	0,010021	-0,0001	-0,0001	-0,00010	-9,9E-05	-9,9E-05	-1E-04
2,7	0,010306	-8,9E-05	-8,8E-05	-0,00009	-8,8E-05	-8,8E-05	-8,8E-05
	0,010287	-8,9E-05	-8,9E-05	-0,00009	-8,8E-05	-8,8E-05	-8,9E-05
	0,009921	-9,9E-05	-9,9E-05	-0,00010	-9,8E-05	-9,8E-05	-9,9E-05
2,8	0,010218	-8,8E-05	-8,8E-05	-0,00009	-8,7E-05	-8,7E-05	-8,7E-05
	0,010198	-8,8E-05	-8,8E-05	-0,00009	-8,8E-05	-8,8E-05	-8,8E-05
	0,009822	-9,8E-05	-9,8E-05	-0,00010	-9,7E-05	-9,7E-05	-9,8E-05
2,9	0,01013	-8,7E-05	-8,7E-05	-0,00009	-8,6E-05	-8,6E-05	-8,7E-05
	0,01011	-8,8E-05	-8,7E-05	-0,00009	-8,7E-05	-8,7E-05	-8,7E-05
	0,009725	-9,7E-05	-9,7E-05	-0,00010	-9,6E-05	-9,6E-05	-9,7E-05
3	0,010044	-8,6E-05	-8,6E-05	-0,00009	-8,6E-05	-8,6E-05	-8,6E-05
	0,010023	-8,7E-05	-8,7E-05	-0,00009	-8,6E-05	-8,6E-05	-8,6E-05
	0,009628	-9,6E-05	-9,6E-05	-0,00010	-9,5E-05	-9,5E-05	-9,6E-05
3,1	0,009958	-8,6E-05	-8,5E-05	-0,00009	-8,5E-05	-8,5E-05	-8,5E-05
	0,009936	-8,6E-05	-8,6E-05	-0,00009	-8,5E-05	-8,5E-05	-8,6E-05
	0,009532	-9,5E-05	-9,5E-05	-0,00010	-9,5E-05	-9,4E-05	-9,5E-05
3,2	0,009872	-8,5E-05	-8,5E-05	-0,00008	-8,4E-05	-8,4E-05	-8,5E-05
	0,009851	-8,5E-05	-8,5E-05	-0,00009	-8,5E-05	-8,5E-05	-8,5E-05
	0,009437	-9,4E-05	-9,4E-05	-0,00009	-9,4E-05	-9,4E-05	-9,4E-05
3,3	0,009788	-8,4E-05	-8,4E-05	-0,00008	-8,4E-05	-8,3E-05	-8,4E-05
	0,009766	-8,5E-05	-8,4E-05	-0,00008	-8,4E-05	-8,4E-05	-8,4E-05
	0,009343	-9,4E-05	-9,3E-05	-0,00009	-9,3E-05	-9,3E-05	-9,3E-05
3,4	0,009704	-8,3E-05	-8,3E-05	-0,00008	-8,3E-05	-8,3E-05	-8,3E-05
	0,009682	-8,4E-05	-8,4E-05	-0,00008	-8,3E-05	-8,3E-05	-8,3E-05
	0,00925	-9,3E-05	-9,2E-05	-0,00009	-9,2E-05	-9,2E-05	-9,2E-05
3,5	0,009621	-8,3E-05	-8,3E-05	-0,00008	-8,2E-05	-8,2E-05	-8,2E-05
	0,009598	-8,3E-05	-8,3E-05	-0,00008	-8,2E-05	-8,2E-05	-8,3E-05
	0,009158	-9,2E-05	-9,1E-05	-0,00009	-9,1E-05	-9,1E-05	-9,1E-05
3,6	0,009539	-8,2E-05	-8,2E-05	-0,00008	-8,1E-05	-8,1E-05	-8,2E-05
	0,009515	-8,2E-05	-8,2E-05	-0,00008	-8,2E-05	-8,2E-05	-8,2E-05
	0,009067	-9,1E-05	-9,1E-05	-0,00009	-9E-05	-9E-05	-9E-05
3,7	0,009457	-8,1E-05	-8,1E-05	-0,00008	-8,1E-05	-8,1E-05	-8,1E-05
	0,009433	-8,2E-05	-8,1E-05	-0,00008	-8,1E-05	-8,1E-05	-8,1E-05
	0,008976	-9E-05	-9E-05	-0,00009	-8,9E-05	-8,9E-05	-8,9E-05
3,8	0,009376	-8,1E-05	-8E-05	-0,00008	-8E-05	-8E-05	-8E-05
	0,009352	-8,1E-05	-8,1E-05	-0,00008	-8E-05	-8E-05	-8,1E-05
	0,008887	-8,9E-05	-8,9E-05	-0,00009	-8,8E-05	-8,8E-05	-8,8E-05
3,9	0,009296	-8E-05	-8E-05	-0,00008	-7,9E-05	-7,9E-05	-8E-05
	0,009271	-8E-05	-8E-05	-0,00008	-8E-05	-8E-05	-8E-05
	0,008798	-8,8E-05	-8,8E-05	-0,00009	-8,7E-05	-8,7E-05	-8,8E-05

(lanjutan)

4	0,009216	-7,9E-05	-7,9E-05	-0,00008	-7,9E-05	-7,9E-05	-7,9E-05
	0,009192	-8E-05	-7,9E-05	-0,00008	-7,9E-05	-7,9E-05	-7,9E-05
	0,008711	-8,7E-05	-8,7E-05	-0,00009	-8,6E-05	-8,6E-05	-8,7E-05
4,1	0,009137	-7,9E-05	-7,8E-05	-0,00008	-7,8E-05	-7,8E-05	-7,8E-05
	0,009112	-7,9E-05	-7,9E-05	-0,00008	-7,8E-05	-7,8E-05	-7,9E-05
	0,008624	-8,6E-05	-8,6E-05	-0,00009	-8,6E-05	-8,5E-05	-8,6E-05
4,2	0,009059	-7,8E-05	-7,8E-05	-0,00008	-7,7E-05	-7,7E-05	-7,8E-05
	0,009034	-7,8E-05	-7,8E-05	-0,00008	-7,8E-05	-7,8E-05	-7,8E-05
	0,008538	-8,5E-05	-8,5E-05	-0,00009	-8,5E-05	-8,5E-05	-8,5E-05
4,3	0,008981	-7,7E-05	-7,7E-05	-0,00008	-7,7E-05	-7,7E-05	-7,7E-05
	0,008956	-7,8E-05	-7,7E-05	-0,00008	-7,7E-05	-7,7E-05	-7,7E-05
	0,008453	-8,5E-05	-8,4E-05	-0,00008	-8,4E-05	-8,4E-05	-8,4E-05
4,4	0,008904	-7,7E-05	-7,6E-05	-0,00008	-7,6E-05	-7,6E-05	-7,6E-05
	0,008879	-7,7E-05	-7,7E-05	-0,00008	-7,6E-05	-7,6E-05	-7,7E-05
	0,008369	-8,4E-05	-8,4E-05	-0,00008	-8,3E-05	-8,3E-05	-8,3E-05
4,5	0,008828	-7,6E-05	-7,6E-05	-0,00008	-7,5E-05	-7,5E-05	-7,6E-05
	0,008802	-7,6E-05	-7,6E-05	-0,00008	-7,6E-05	-7,6E-05	-7,6E-05
	0,008286	-8,3E-05	-8,3E-05	-0,00008	-8,2E-05	-8,2E-05	-8,3E-05
4,6	0,008753	-7,5E-05	-7,5E-05	-0,00008	-7,5E-05	-7,5E-05	-7,5E-05
	0,008726	-7,6E-05	-7,5E-05	-0,00008	-7,5E-05	-7,5E-05	-7,5E-05
	0,008203	-8,2E-05	-8,2E-05	-0,00008	-8,1E-05	-8,1E-05	-8,2E-05
4,7	0,008678	-7,5E-05	-7,4E-05	-0,00007	-7,4E-05	-7,4E-05	-7,4E-05
	0,008651	-7,5E-05	-7,5E-05	-0,00007	-7,4E-05	-7,4E-05	-7,5E-05
	0,008121	-8,1E-05	-8,1E-05	-0,00008	-8,1E-05	-8E-05	-8,1E-05
4,8	0,008603	-7,4E-05	-7,4E-05	-0,00007	-7,3E-05	-7,3E-05	-7,4E-05
	0,008577	-7,4E-05	-7,4E-05	-0,00007	-7,4E-05	-7,4E-05	-7,4E-05
	0,008041	-8E-05	-8E-05	-0,00008	-8E-05	-8E-05	-8E-05
4,9	0,00853	-7,3E-05	-7,3E-05	-0,00007	-7,3E-05	-7,3E-05	-7,3E-05
	0,008503	-7,4E-05	-7,3E-05	-0,00007	-7,3E-05	-7,3E-05	-7,3E-05
	0,007961	-8E-05	-7,9E-05	-0,00008	-7,9E-05	-7,9E-05	-7,9E-05
5	0,008457	-7,3E-05	-7,3E-05	-0,00007	-7,2E-05	-7,2E-05	-7,2E-05
	0,00843	-7,3E-05	-7,3E-05	-0,00007	-7,2E-05	-7,2E-05	-7,3E-05
	0,007881	-7,9E-05	-7,9E-05	-0,00008	-7,8E-05	-7,8E-05	-7,8E-05
5,1	0,008384	-7,2E-05	-7,2E-05	-0,00007	-7,2E-05	-7,1E-05	-7,2E-05
	0,008357	-7,2E-05	-7,2E-05	-0,00007	-7,2E-05	-7,2E-05	-7,2E-05
	0,007803	-7,8E-05	-7,8E-05	-0,00008	-7,7E-05	-7,7E-05	-7,8E-05
5,2	0,008312	-7,1E-05	-7,1E-05	-0,00007	-7,1E-05	-7,1E-05	-7,1E-05
	0,008285	-7,2E-05	-7,2E-05	-0,00007	-7,1E-05	-7,1E-05	-7,1E-05
	0,007725	-7,7E-05	-7,7E-05	-0,00008	-7,7E-05	-7,7E-05	-7,7E-05
5,3	0,008241	-7,1E-05	-7,1E-05	-0,00007	-7E-05	-7E-05	-7,1E-05
	0,008214	-7,1E-05	-7,1E-05	-0,00007	-7E-05	-7E-05	-7,1E-05
	0,007648	-7,7E-05	-7,6E-05	-0,00008	-7,6E-05	-7,6E-05	-7,6E-05
5,4	0,008171	-7E-05	-7E-05	-0,00007	-7E-05	-7E-05	-7E-05
	0,008143	-7E-05	-7E-05	-0,00007	-7E-05	-7E-05	-7E-05
	0,007572	-7,6E-05	-7,6E-05	-0,00008	-7,5E-05	-7,5E-05	-7,5E-05
5,5	0,008101	-7E-05	-7E-05	-0,00007	-6,9E-05	-6,9E-05	-6,9E-05
	0,008073	-7E-05	-7E-05	-0,00007	-6,9E-05	-6,9E-05	-7E-05
	0,007497	-7,5E-05	-7,5E-05	-0,00007	-7,4E-05	-7,4E-05	-7,5E-05

(lanjutan)

Tabel 9. 2 Data plot konsentrasi biodiesel untuk ketiga model

t	Cb		
	A	B	C
0	0	0	0
0,1	0,000116	0,000112	0,000158302
0,2	0,000232	0,000224	0,000314596
0,3	0,000346	0,000334	0,00046891
0,4	0,00046	0,000444	0,000621272
0,5	0,000572	0,000552	0,000771708
0,6	0,000683	0,00066	0,000920247
0,7	0,000794	0,000767	0,001066914
0,8	0,000903	0,000872	0,001211735
0,9	0,001011	0,000977	0,001354736
1	0,001119	0,001081	0,001495941
1,1	0,001225	0,001184	0,001635376
1,2	0,001331	0,001286	0,001773065
1,3	0,001435	0,001388	0,001909031
1,4	0,001539	0,001488	0,002043297
1,5	0,001642	0,001588	0,002175887
1,6	0,001743	0,001686	0,002306823
1,7	0,001844	0,001784	0,002436126
1,8	0,001944	0,001881	0,00256382
1,9	0,002043	0,001977	0,002689925
2	0,002141	0,002072	0,002814463
2,1	0,002239	0,002167	0,002937453
2,2	0,002335	0,00226	0,003058915
2,3	0,002431	0,002353	0,003178871
2,4	0,002525	0,002445	0,003297339
2,5	0,002619	0,002536	0,003414339
2,6	0,002712	0,002627	0,003529888
2,7	0,002804	0,002716	0,003580321
2,8	0,002896	0,002805	0,003630435
2,9	0,002986	0,002893	0,003680229
3	0,003076	0,002981	0,003729701

(lanjutan)

3,1	0,003165	0,003067	0,003778851
3,2	0,003253	0,003153	0,003827677
3,3	0,003293	0,003238	0,003876177
3,4	0,00338	0,003323	0,003924348
3,5	0,003466	0,003406	0,003972189
3,6	0,003551	0,003489	0,004019695
3,7	0,003636	0,003571	0,004066862
3,8	0,00372	0,003653	0,004113687
3,9	0,003803	0,003733	0,004160162
4	0,003885	0,003813	0,004206283
4,1	0,003967	0,003893	0,00425204
4,2	0,004048	0,003971	0,004297425
4,3	0,004128	0,004049	0,004342428
4,4	0,004208	0,004127	0,004387035
4,5	0,004286	0,004203	0,004431233
4,6	0,004365	0,004279	0,004475005
4,7	0,004442	0,004355	0,004518331
4,8	0,004519	0,004429	0,004561192
4,9	0,004595	0,004503	0,004603566
5	0,00467	0,004577	0,004645436
5,1	0,004745	0,004649	0,004686793
5,2	0,004818	0,004722	0,004727665
5,3	0,004892	0,004793	0,004768165
5,4	0,004964	0,004864	0,004808652
5,5	0,005036	0,004934	0,004850272

Tabel 9. 3 *Sum square error* untuk Cb

τ	EA	EB	EC
0	0	0	0
1	9,22E-07	9,96E-07	3,4E-07
1,5	1,48E-06	1,62E-06	4,67E-07
2,5	1,03E-06	1,17E-06	1,16E-07
5,5	1,95E-06	1,67E-06	1,46E-06
SSE	5,38E-06	5,46E-06	2,39E-06

Tabel 9. 4 Data plot konsentrasi ikatan gliserida yang tidak bereaksi untuk ketiga model

t	Cg		
	A	B	C
0	0,013	0,013	0,013
0,1	0,012889	0,0128877	0,01287
0,2	0,012778	0,0127763	0,012742
0,3	0,012669	0,0126659	0,012615
0,4	0,01256	0,0125565	0,01249
0,5	0,012453	0,012448	0,012365
0,6	0,012346	0,0123405	0,012242
0,7	0,01224	0,0122339	0,01212
0,8	0,012136	0,0121283	0,011999
0,9	0,012032	0,0120235	0,01188
1	0,011929	0,0119197	0,011762
1,1	0,011827	0,0118168	0,011644
1,2	0,011725	0,0117148	0,011528
1,3	0,011625	0,0116136	0,011414
1,4	0,011525	0,0115134	0,0113
1,5	0,011427	0,011414	0,011187
1,6	0,011329	0,0113155	0,011076
1,7	0,011232	0,0112178	0,010966
1,8	0,011136	0,011121	0,010856
1,9	0,01104	0,011025	0,010748
2	0,010946	0,0109299	0,010641
2,1	0,010852	0,0108356	0,010535
2,2	0,010759	0,0107421	0,01043
2,3	0,010667	0,0106494	0,010326
2,4	0,010576	0,0105575	0,010224
2,5	0,010485	0,0104665	0,010122
2,6	0,010395	0,0103762	0,010021
2,7	0,010306	0,0102867	0,009921
2,8	0,010218	0,010198	0,009822
2,9	0,01013	0,01011	0,009725
3	0,010044	0,0100228	0,009628
3,1	0,009958	0,0099364	0,009532
3,2	0,009872	0,0098507	0,009437
3,3	0,009788	0,0097658	0,009343
3,4	0,009704	0,0096816	0,00925
3,5	0,009621	0,0095981	0,009158
3,6	0,009539	0,0095154	0,009067
3,7	0,009457	0,0094334	0,008976
3,8	0,009376	0,0093521	0,008887
3,9	0,009296	0,0092714	0,008798
4	0,009216	0,0091915	0,008711
4,1	0,009137	0,0091123	0,008624
4,2	0,009059	0,0090338	0,008538
4,3	0,008981	0,008956	0,008453
4,4,	0,008904	0,0088788	0,008369
4,5	0,008828	0,0088023	0,008286

(lanjutan)

4,6	0,008753	0,0087264	0,008203
4,7	0,008678	0,0086513	0,008121
4,8	0,008603	0,0085767	0,008041
4,9	0,00853	0,0085028	0,007961
5	0,008457	0,0084296	0,007881
5,1	0,008384	0,008357	0,007803
5,2	0,008312	0,008285	0,007725
5,3	0,008241	0,0082137	0,007648
5,4	0,008171	0,0081429	0,007572
5,5	0,008101	0,0080728	0,007497

Tabel 9. 5 *Sum square error* untuk Cg

τ	EA	EB	EC
0	0	0	0
1	1,28E-06	1,26E-06	9,33E-07
1,5	8,51E-07	8,28E-07	4,67E-07
2,5	5,11E-07	4,89E-07	1,69E-07
5,5	3,85E-07	4,21E-07	1,50E-06
SSE	3,03E-06	3,00E-06	3,07E-06

Lampiran 10 : Dokumentasi Percobaan**10.1 Dokumentasi Percobaan**

Gambar 10.1 Rangkaian reaktor yang digunakan dalam penelitian



Gambar 10.2 Reaktor *packed bed* yang terisi penuh biokatalis terimmobilisasi



Gambar 10.3 Proses immobilisasi biokatalis



Gambar 10.4 Proses immobilisasi biokatalis

Lampiran 11 : Notasi dan Simbol

11.1 Daftar Notasi dan Simbol

Tabel 11. 1 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 (Mono oleat)
[B]	Notasi untuk Biodiesel (Metil oleat)
[F]	Notasi untuk FAME (<i>Fatty Acid Methyl Ester</i>)
[ET]	Notasi untuk enzim-substrat kompleks
mg/L	miligram/Liter
[G]	Ikatan gliserida yang tidak bereaksi
$[G]_0$	Ikatan gliserida yang bereaksi
gr/mL	gram/Liter
mol/L	Mol/Liter
T (°C)	Suhu (°C)
t (jam)	Waktu (jam)
T (detik)	Waktu (detik)
τ	Waktu tinggal (jam)
F	Laju alir (ml/jam)
C _t	Konsentrasi triolet
C _d	Konsentrasi dioleat
C _m	Konsentrasi mono oleat
C _b	Konsentrasi biodiesel (metil oleat)
$D C_B$	Selisih konsetrasi biodiesel
dt	Selisih waktu
X	Konsversi
C _i	Konsentrasi spesi i
\vec{v}	Vektor kecepatan
L _c	Konduktansi yang berhubungan dengan perpindahan massa spesi i
E ₁	Bentuk aktif dari lipase
E ₂	Bentuk aktif dari lipase
E ₃	Bentuk terdeaktivasi dari lipase
E ₄	Bentuk terdeaktivasi dari lipase

Lampiran 12 : Data Analisa HPLC**12.1 Data Primer Hasil Analisa HPLC****Tabel 12. 1** Data-data Analisa HPLC

Notasi	Keterangan
A1	Data HPLC untuk Standar
A2	t = 0, minyak kelapa sawit bekas
A3	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, dengan laju alir substrat = 1 mL/jam
A4	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, dengan laju alir substrat = 3 mL/jam
A5	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, dengan laju alir substrat = 4 mL/jam
A6	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, dengan laju alir substrat = 5 mL/jam
A7	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 6 jam
A8	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 15 jam
A9	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 25 jam
A10	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 40 jam
A11	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa sawit bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 50 jam
A12	t = 0, minyak kacang kedelai bekas
A13	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kacang kedelai bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 6 jam
A14	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kacang kedelai bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 15 jam
A15	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kacang kedelai bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 25 jam

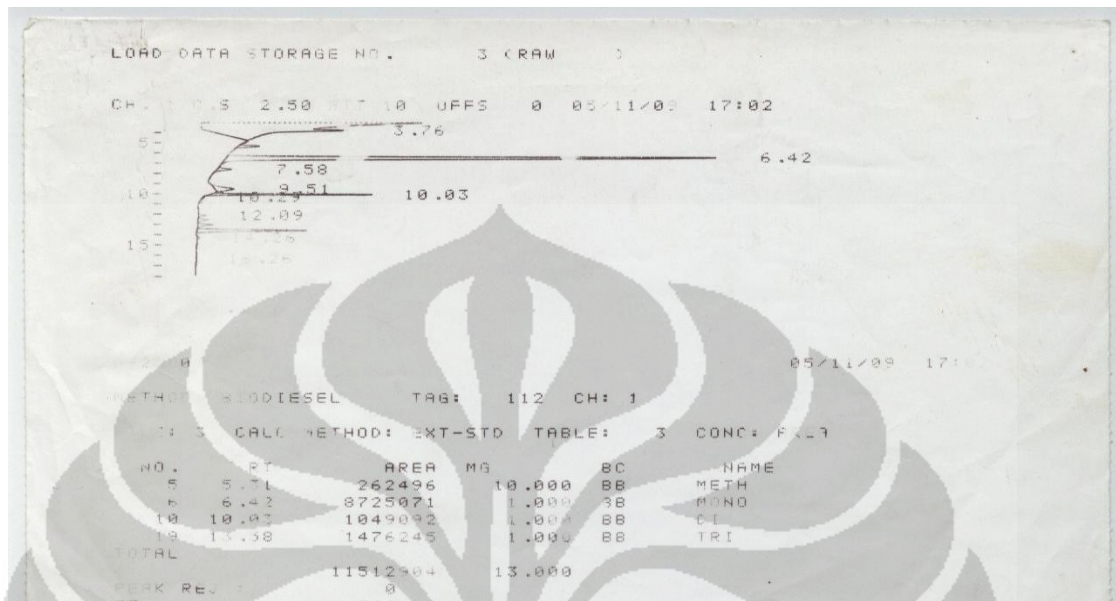
(lanjutan)

Universitas Indonesia

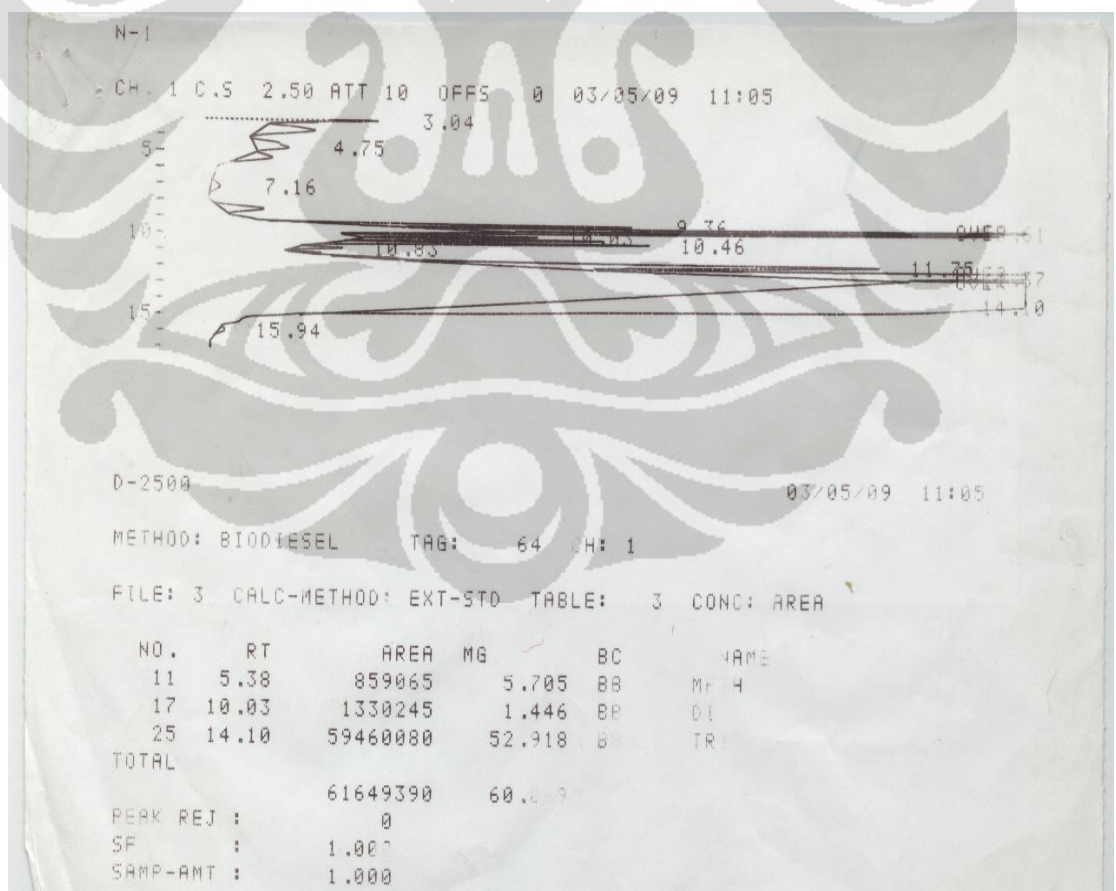
A16	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kacang kedelai bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 40 jam
A17	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kacang kedelai bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 50 jam
A18	t = 0, minyak jagung bekas
A19	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak jagung bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 6 jam
A20	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak jagung bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 15 jam
A21	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak jagung bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 25 jam
A22	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak jagung bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 40 jam
A23	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak jagung bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 50 jam
A24	t = 0, minyak kelapa bekas
A25	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 6 jam
A26	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 15 jam
A27	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 25 jam
A28	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 40 jam
A29	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak kelapa bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 50 jam
A30	t = 0, minyak canola
A31	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak canola bekas bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 6 jam
A32	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak canola bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 15 jam
A33	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak canola bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 25 jam
A34	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak canola melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 40 jam
A35	Data sampel hasil sintesis biodiesel dari minyak canola bekas melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi, t = 50 jam

(lanjutan)

A1

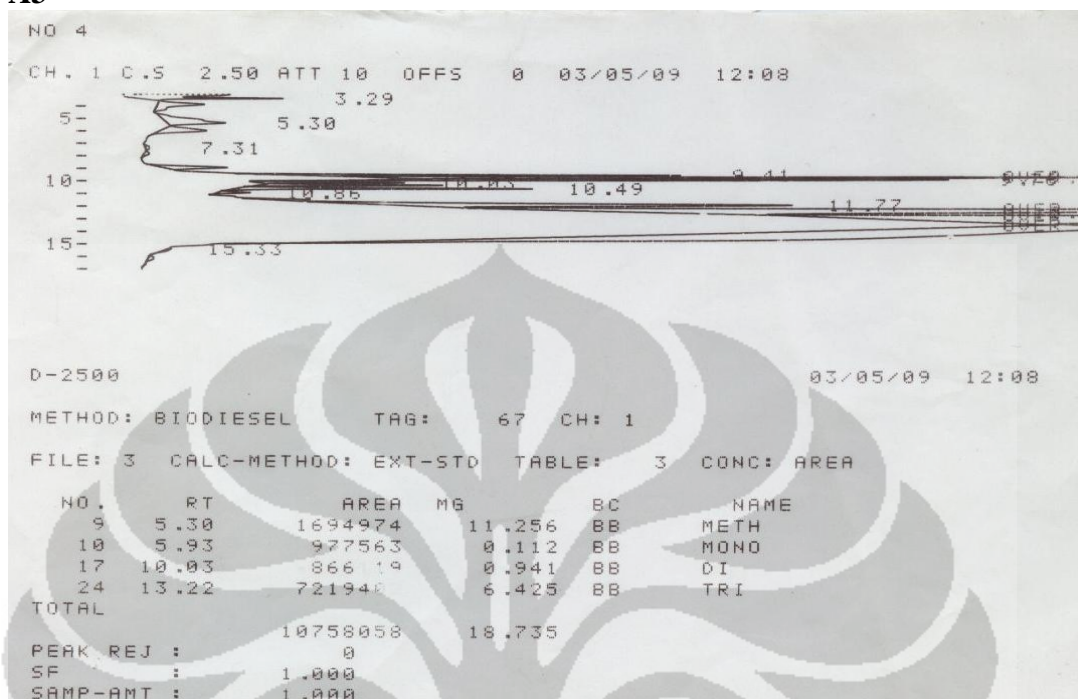


A2

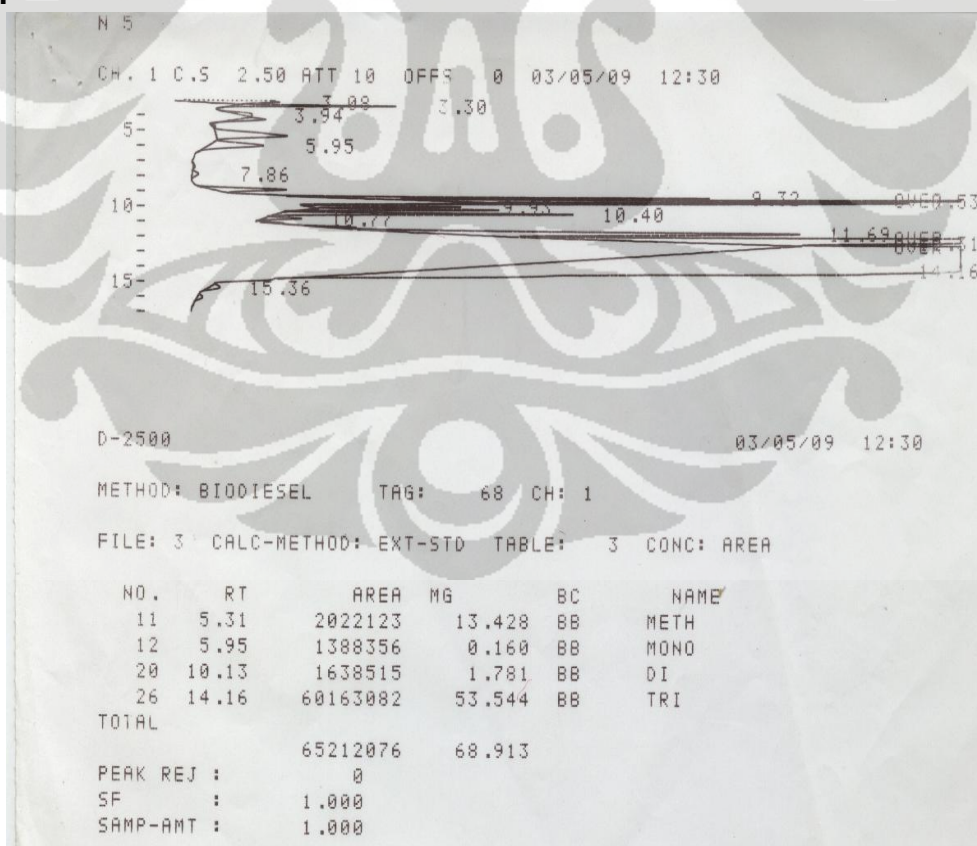


(lanjutan)

A3

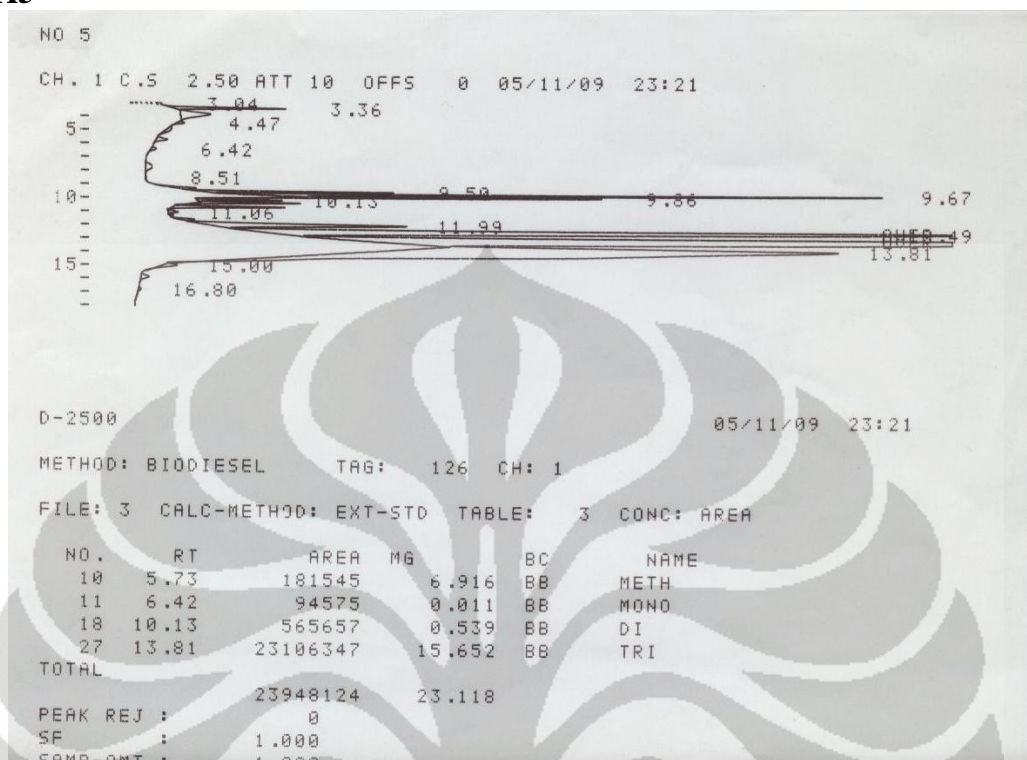


A4

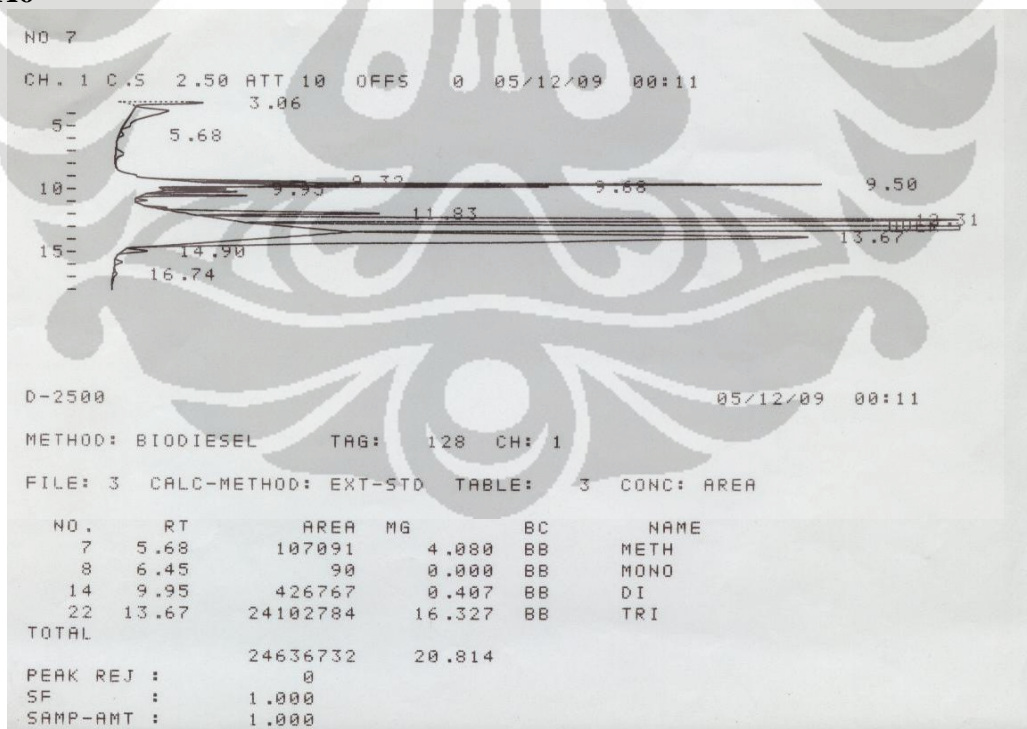


(lanjutan)

A5

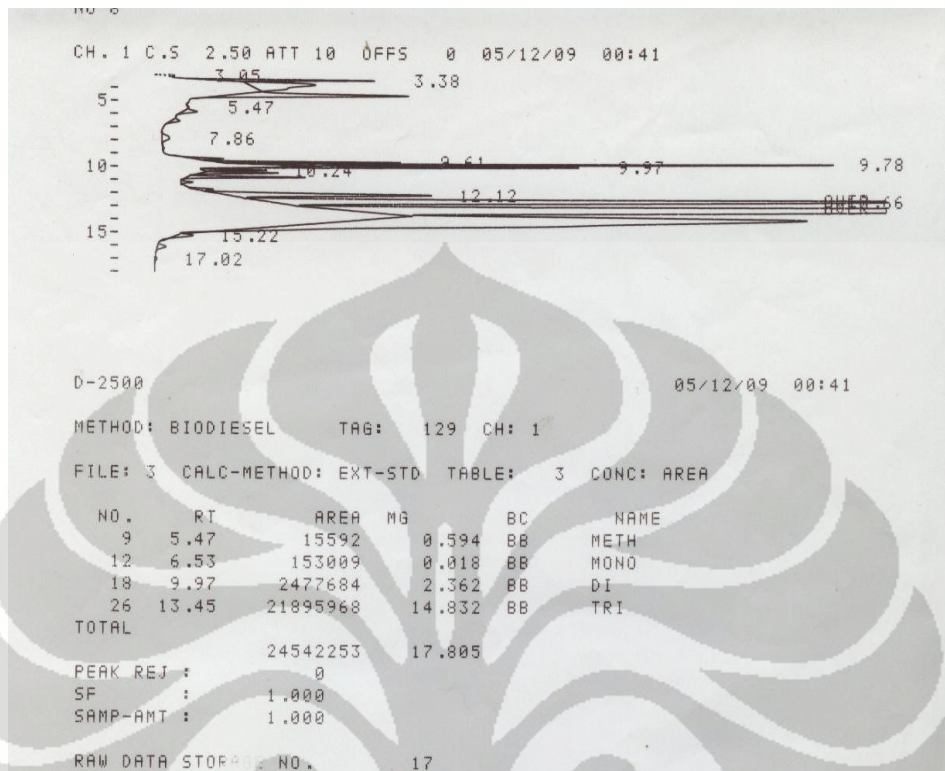


A6

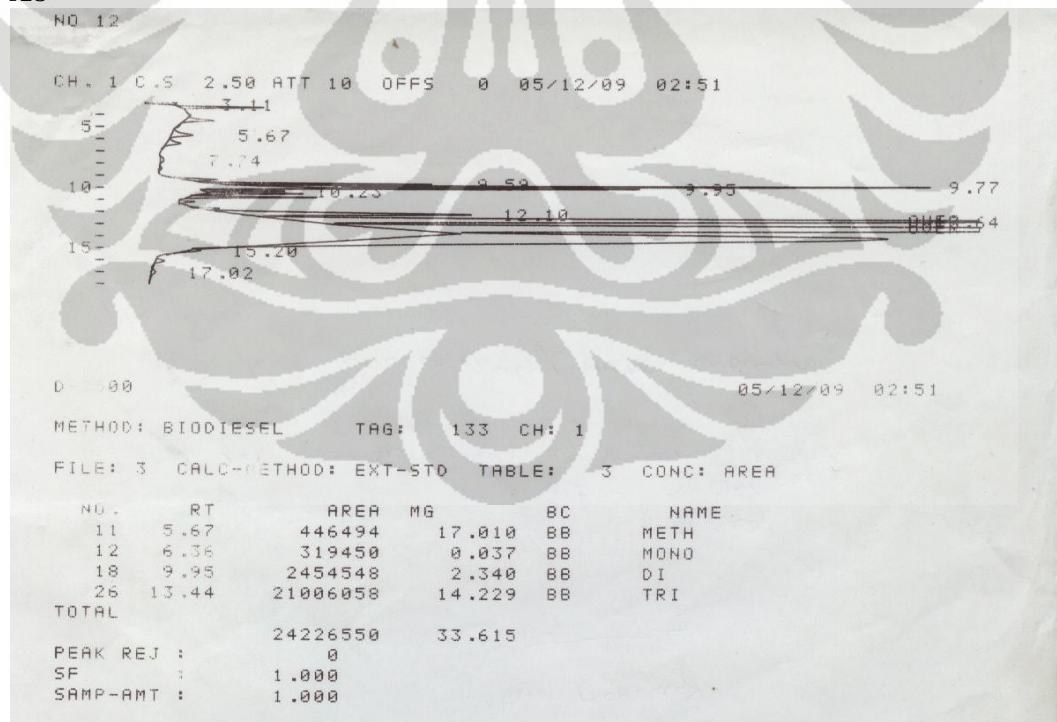


(lanjutan)

A7

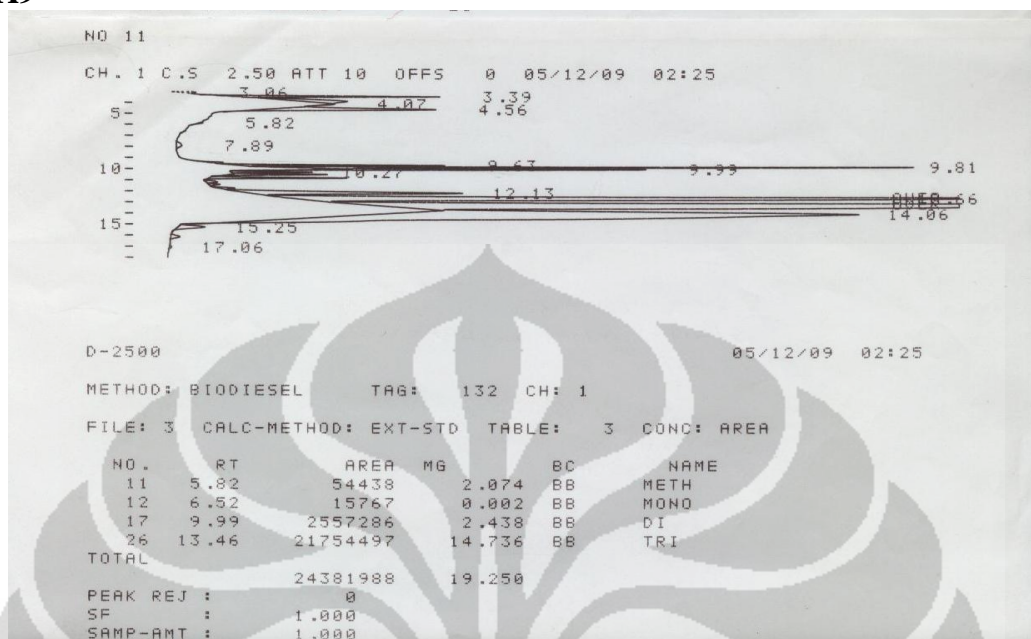


A8

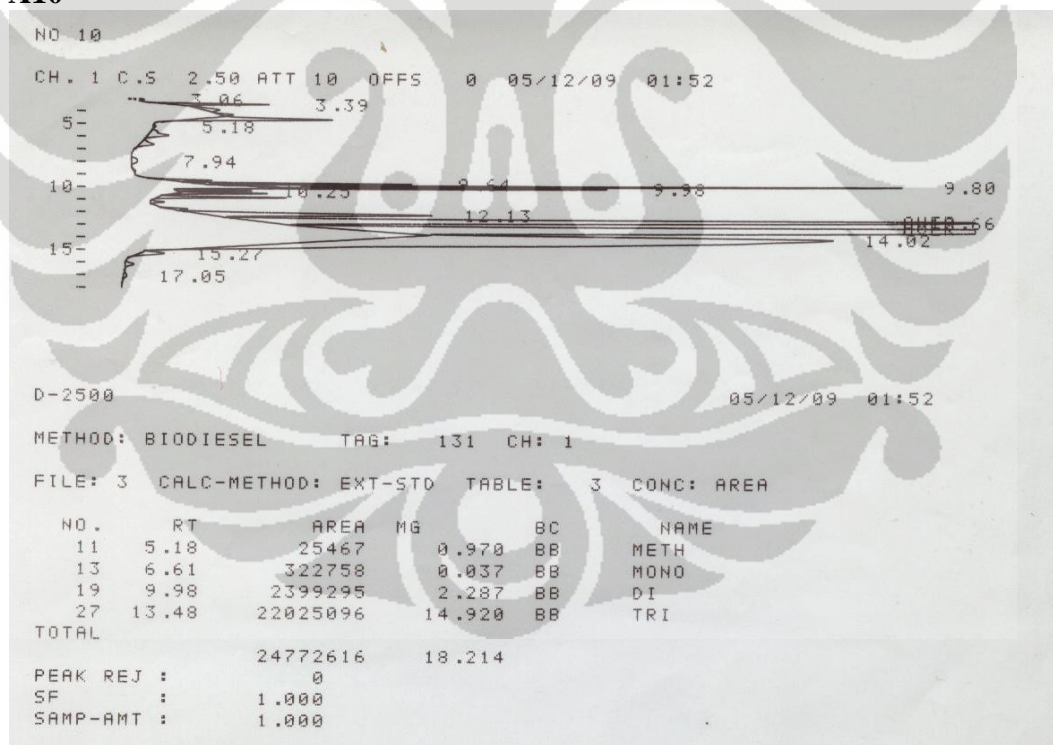


(lanjutan)

A9

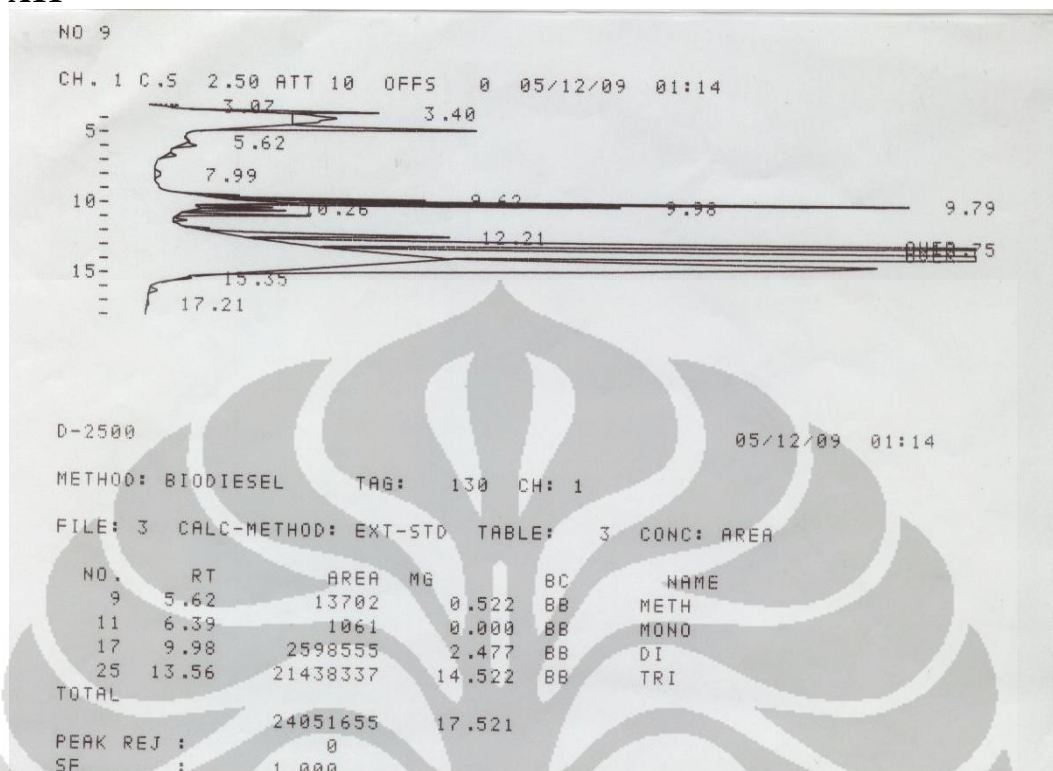


A10

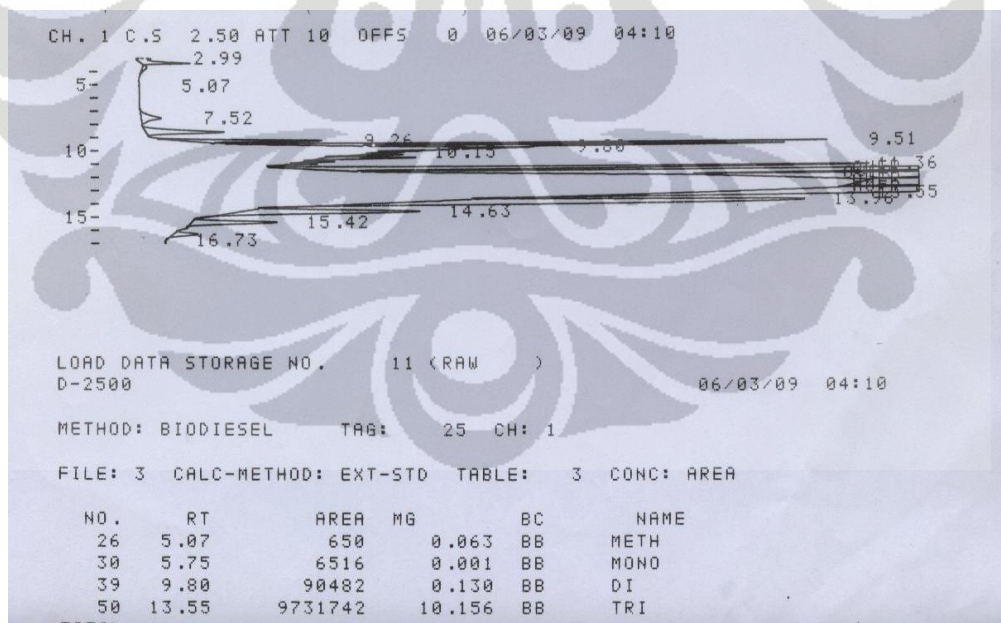


(lanjutan)

A11



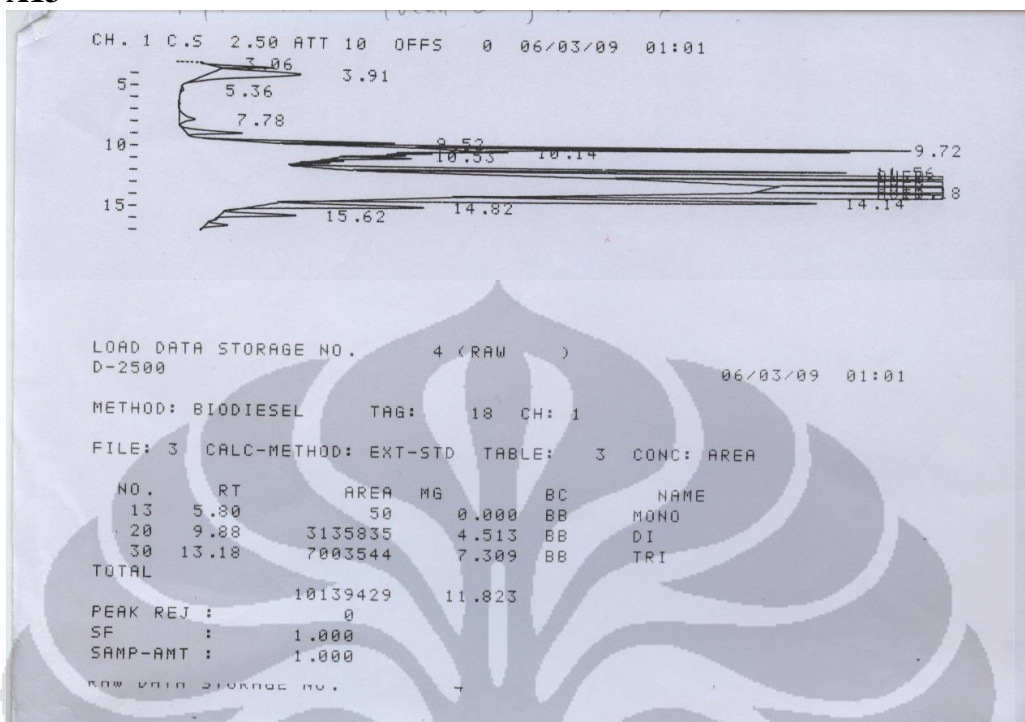
A12



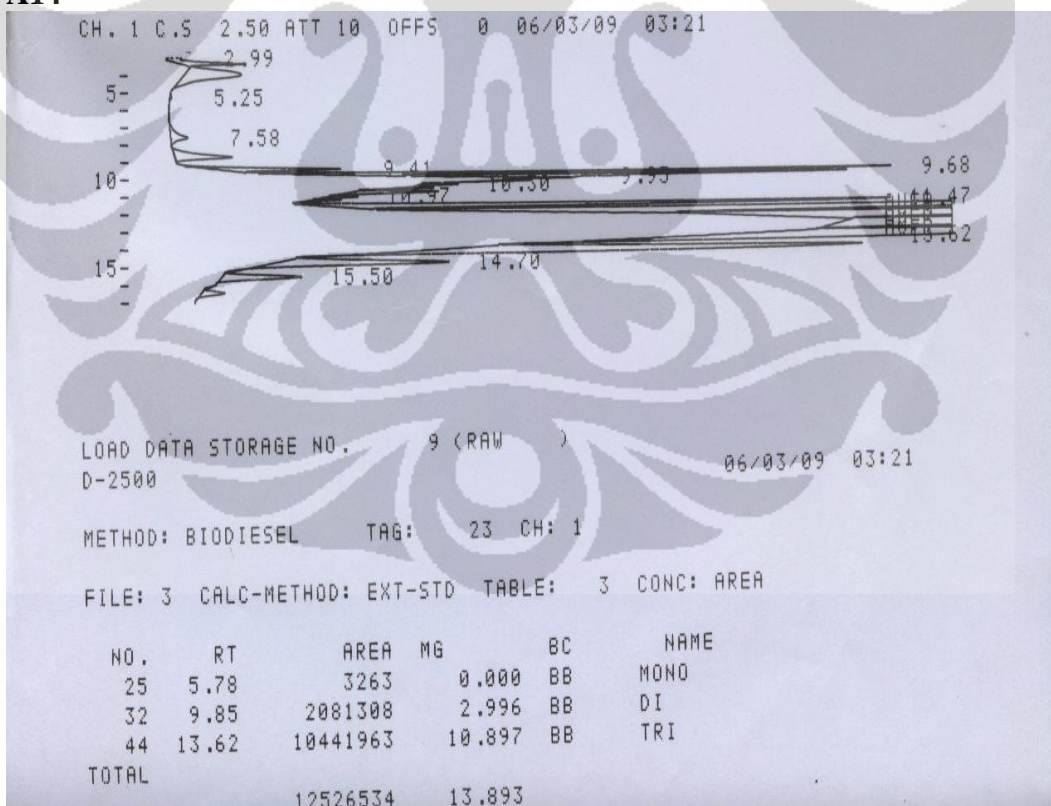
(lanjutan)

Universitas Indonesia

A13

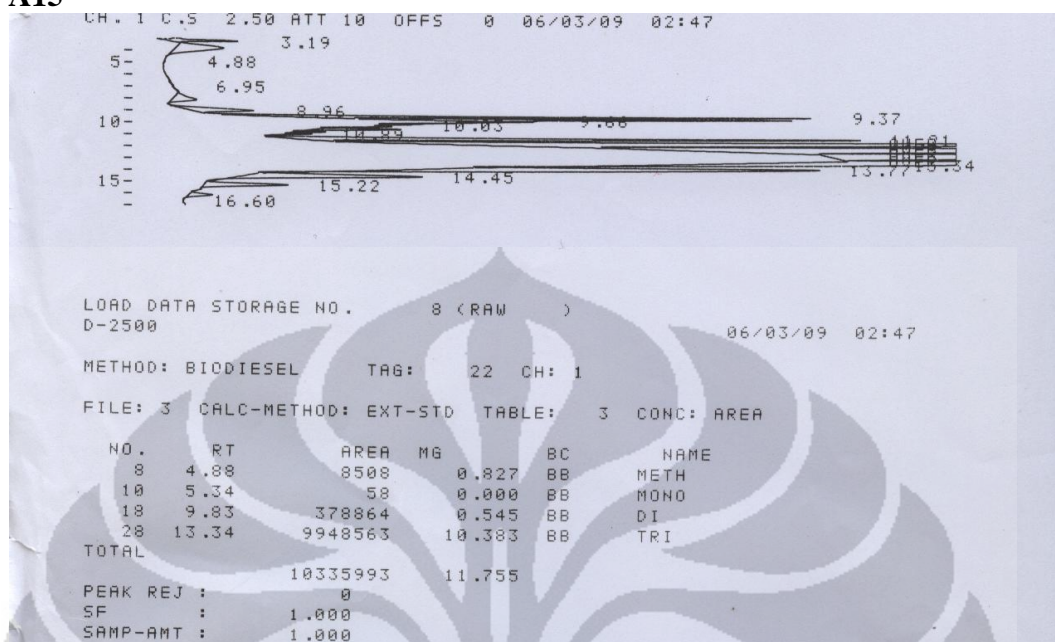


A14

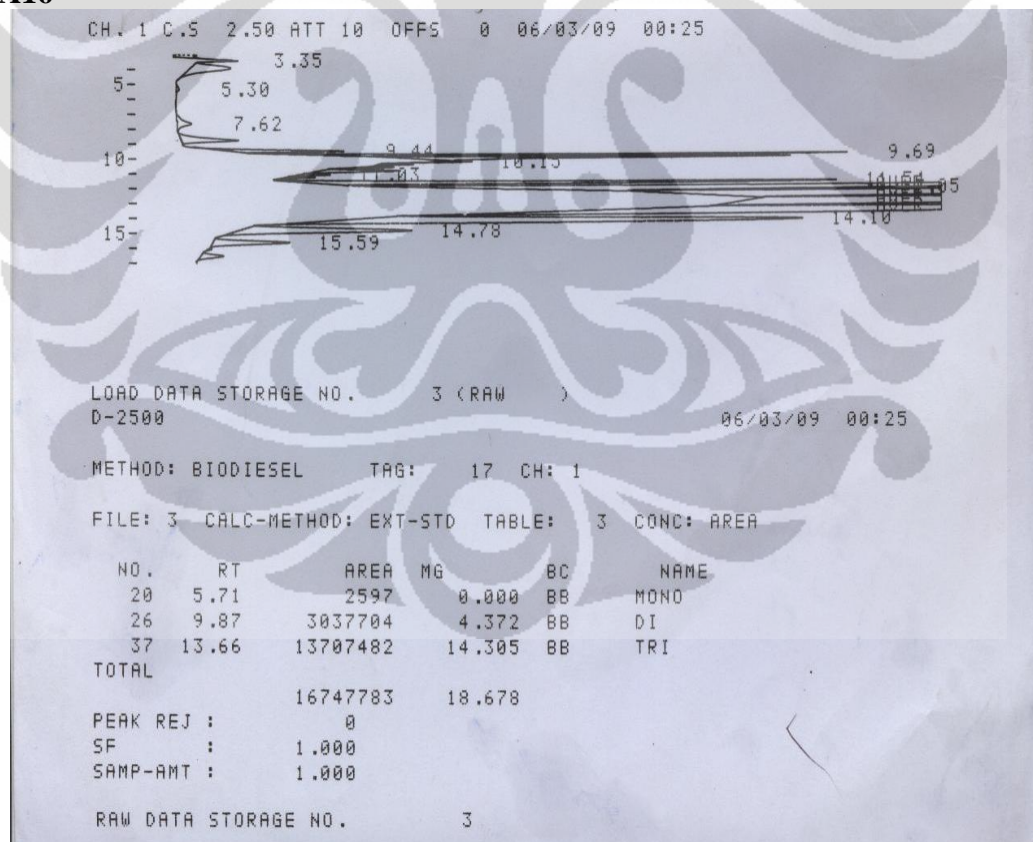


(lanjutan)

A15

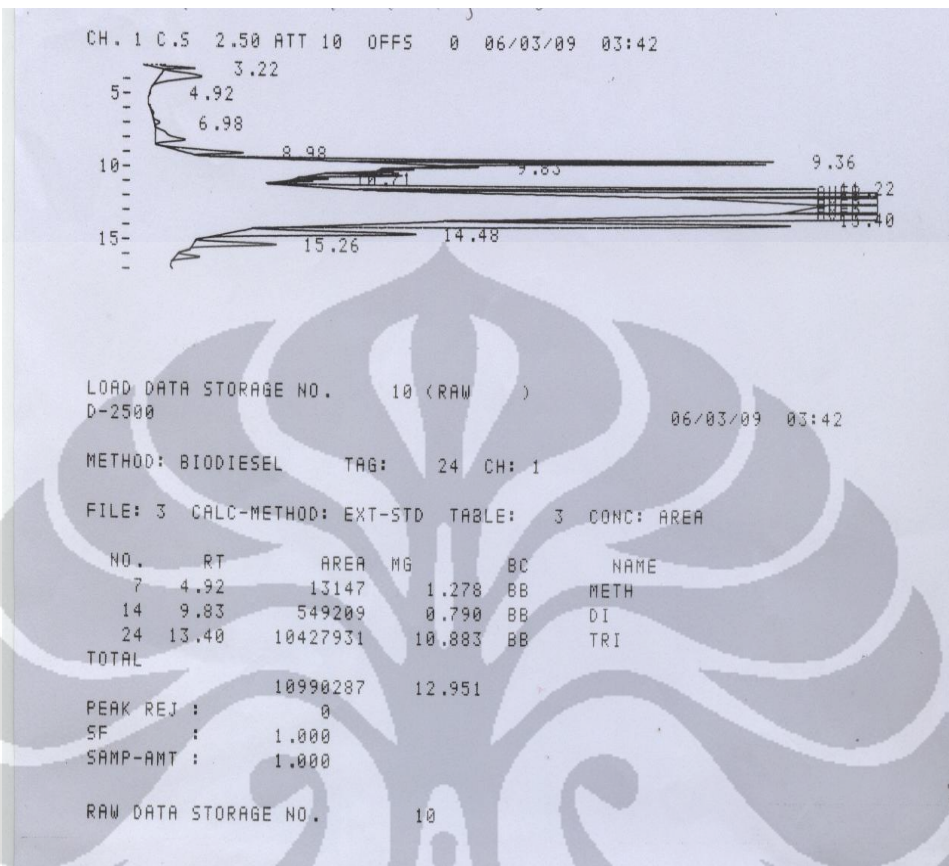


A16

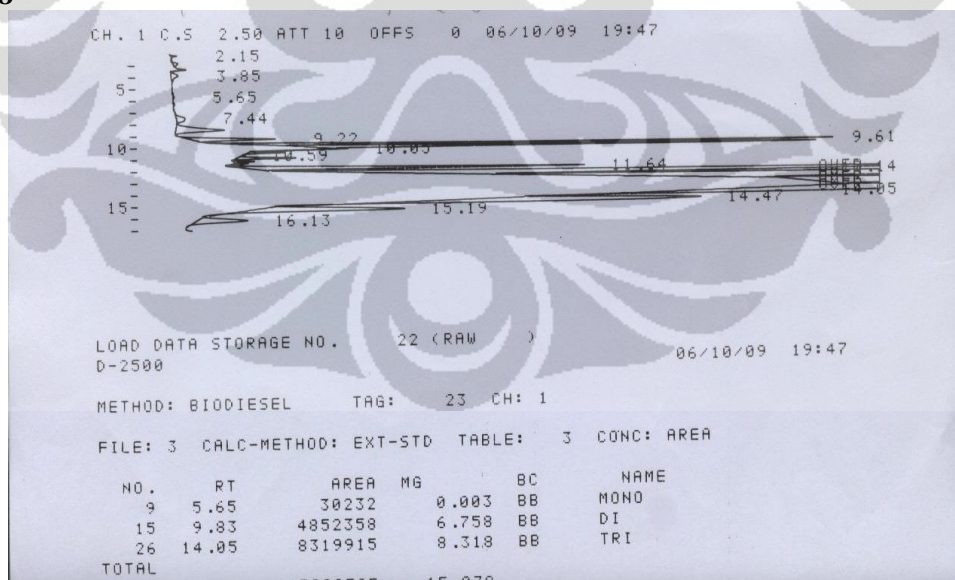


(lanjutan)

A17

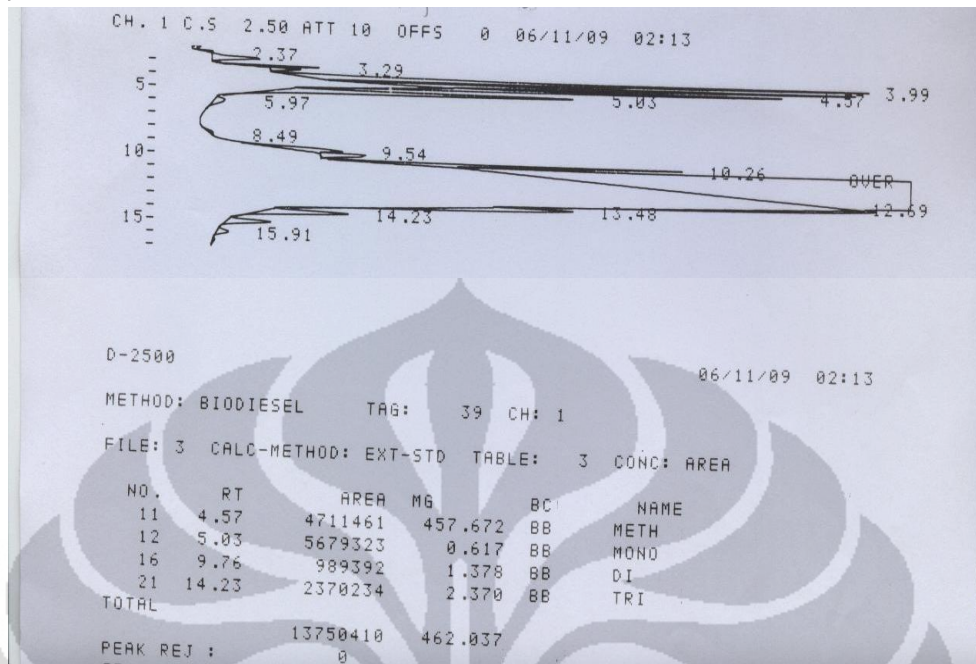


A18

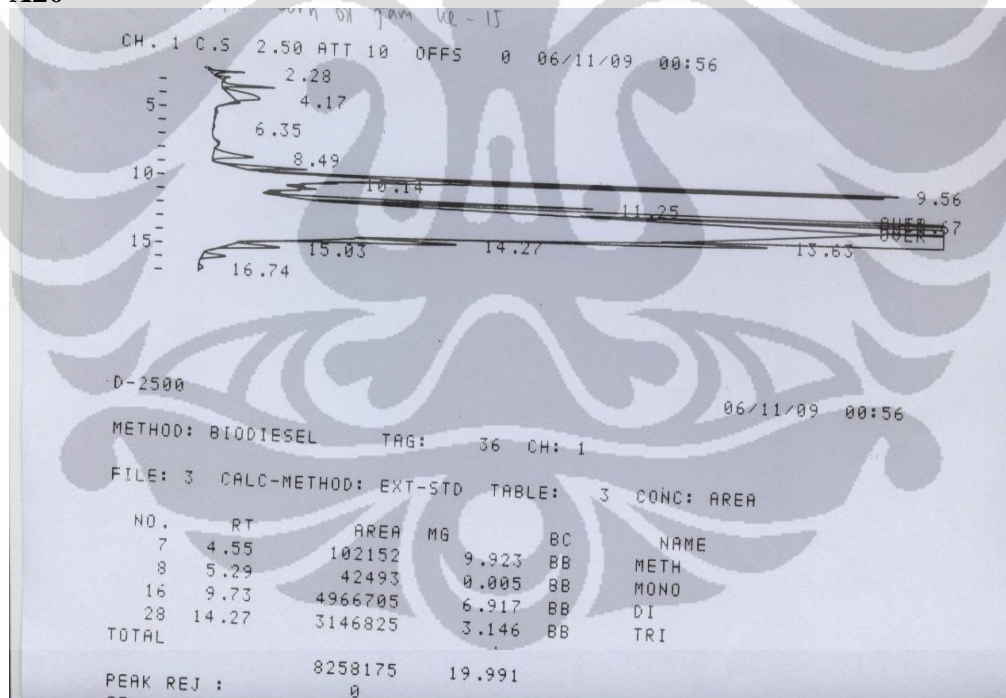


(lanjutan)

A19

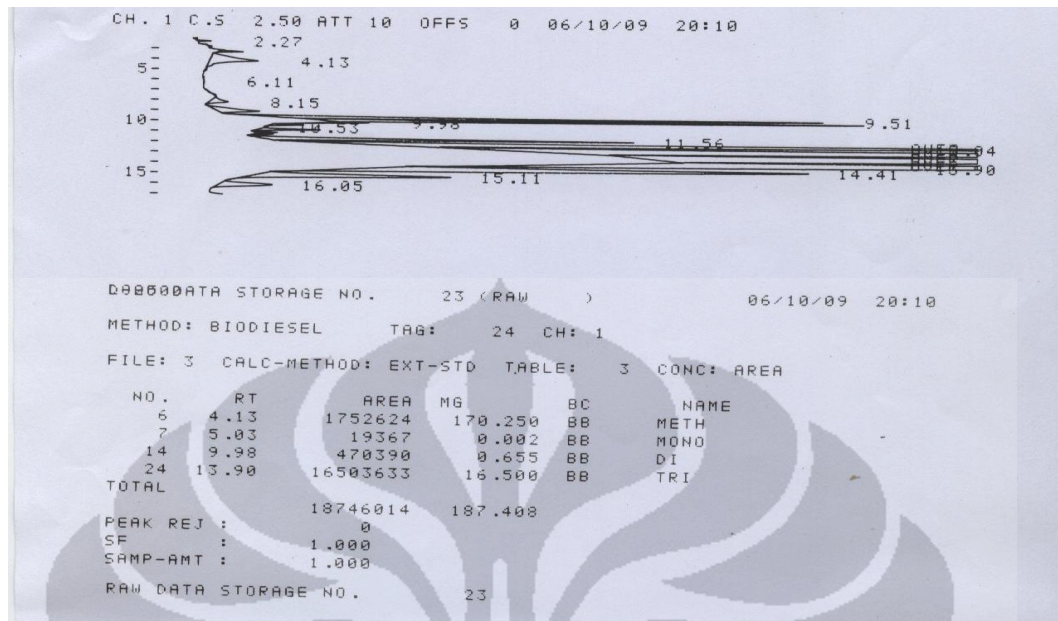


A20

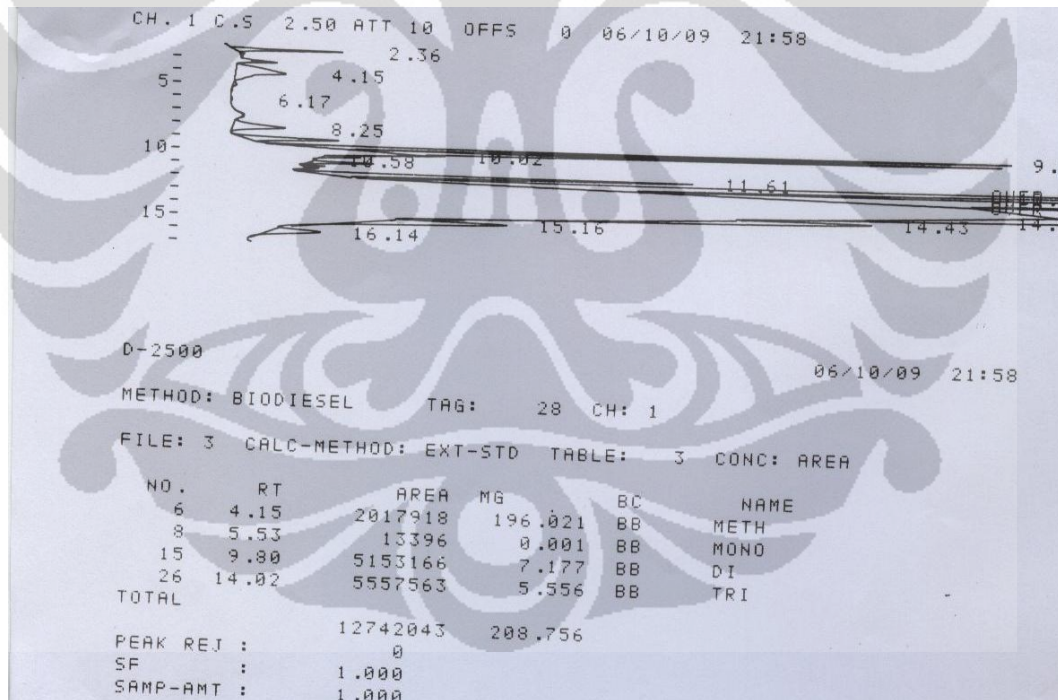


(lanjutan)

A21

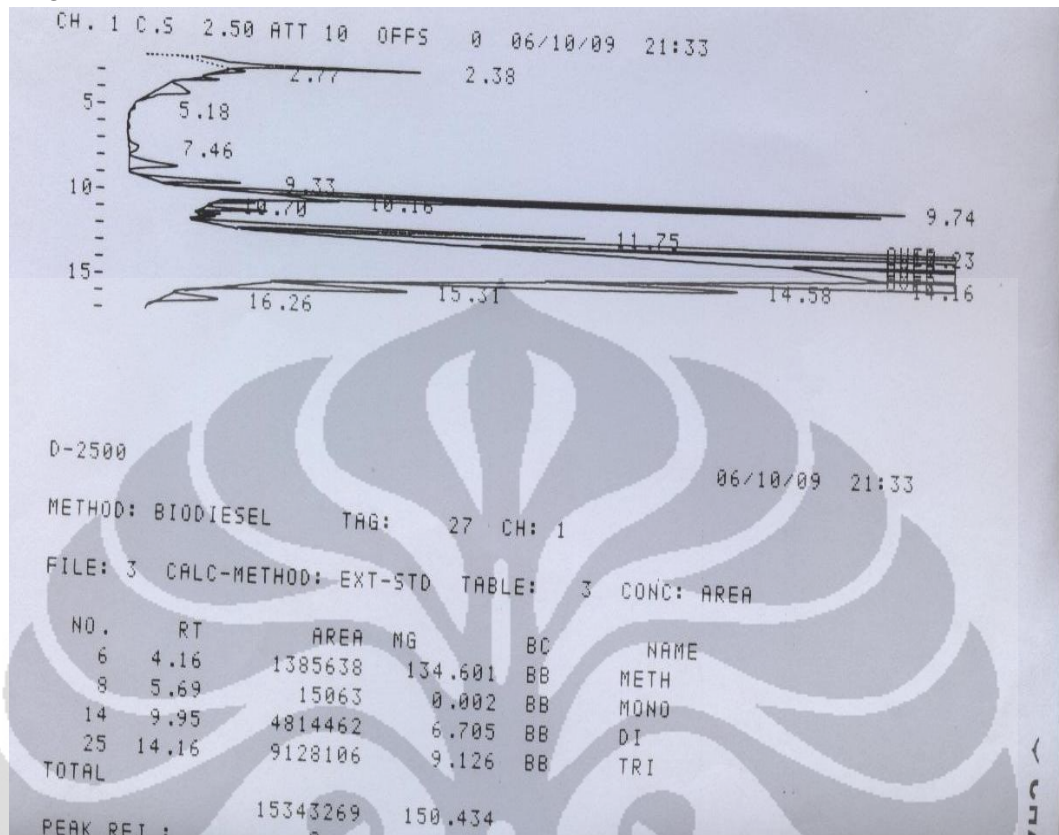


A22

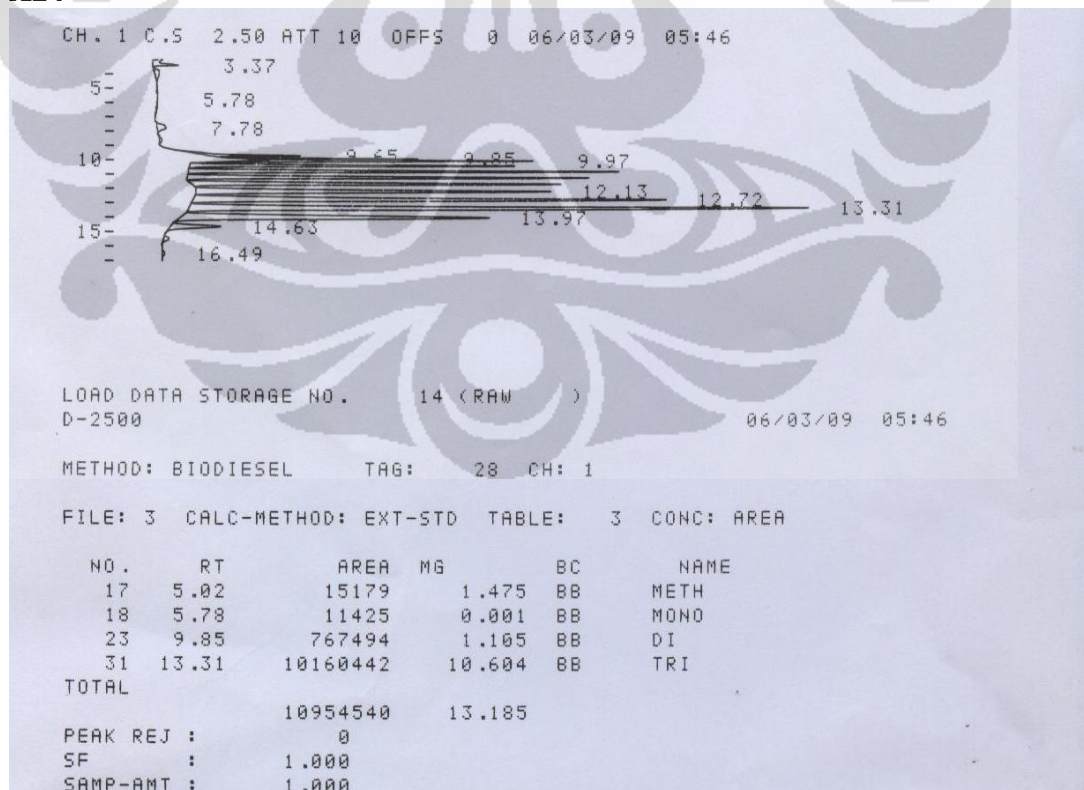


(lanjutan)

A23

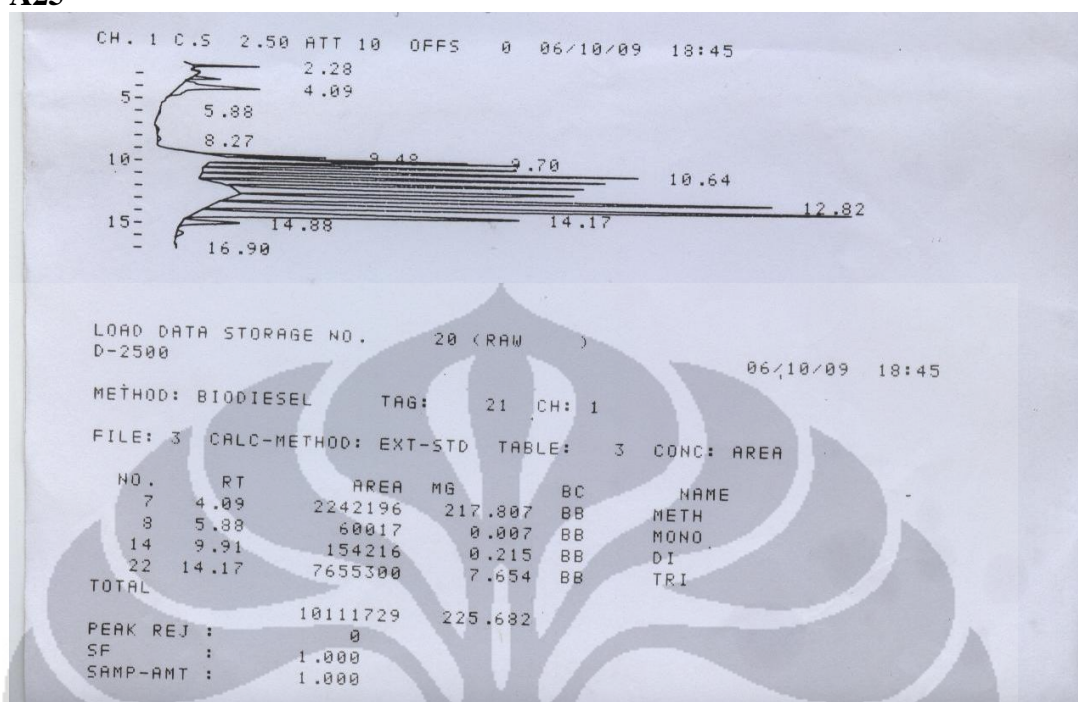


A24

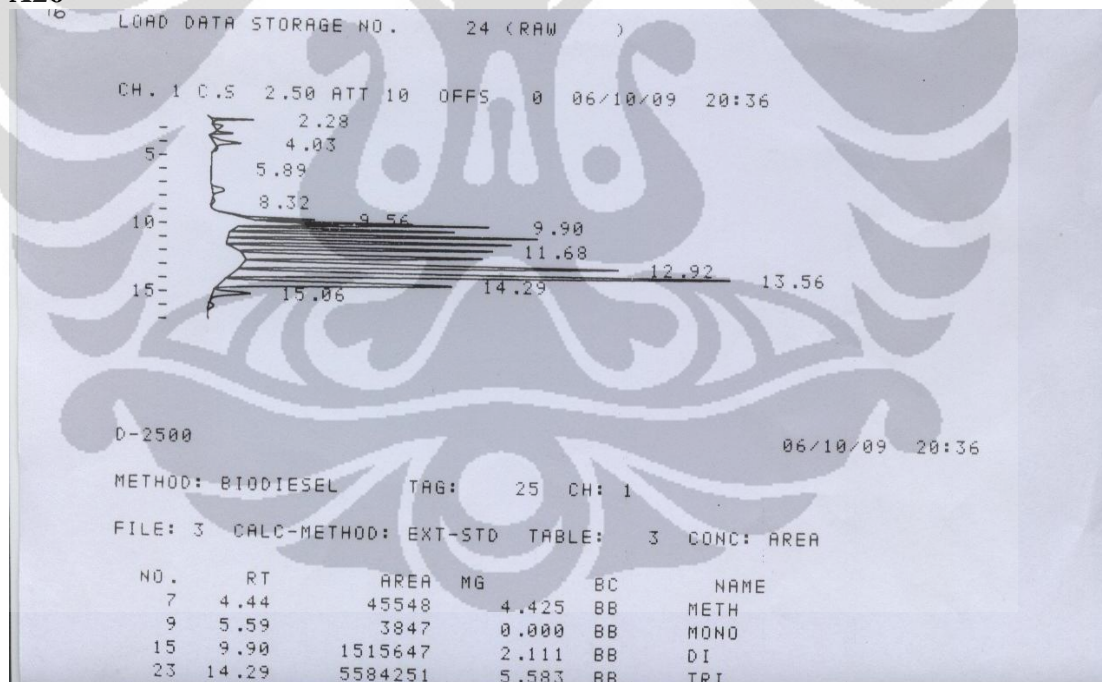


(lanjutan)

A25

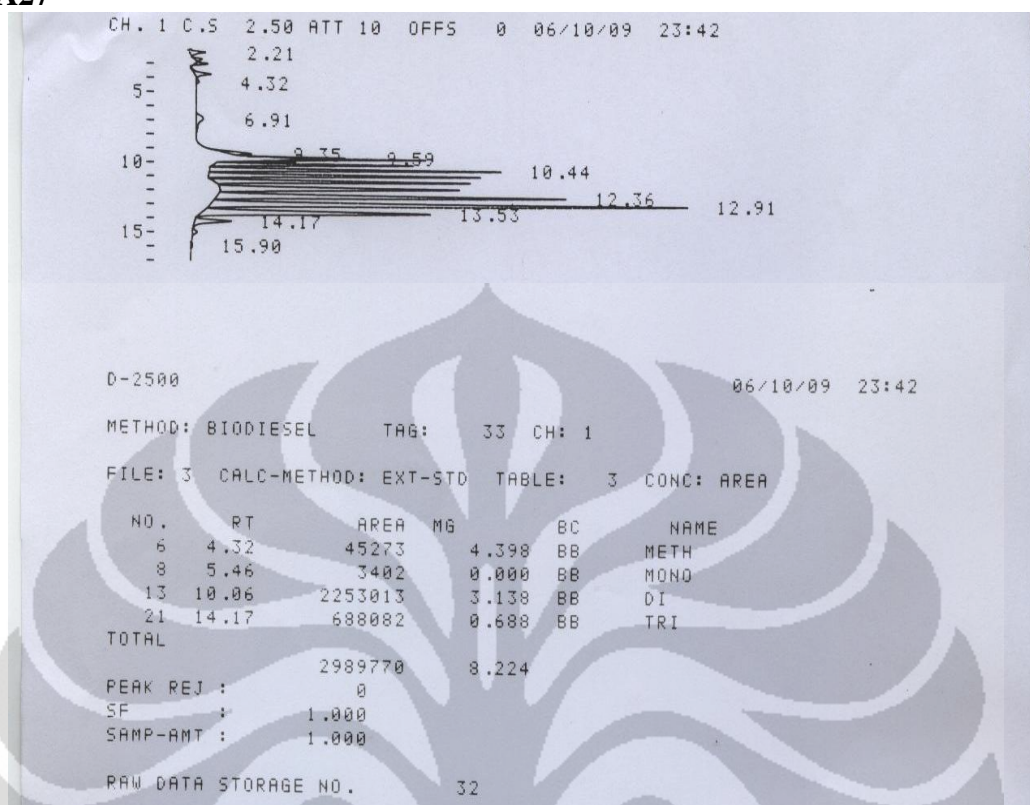


A26

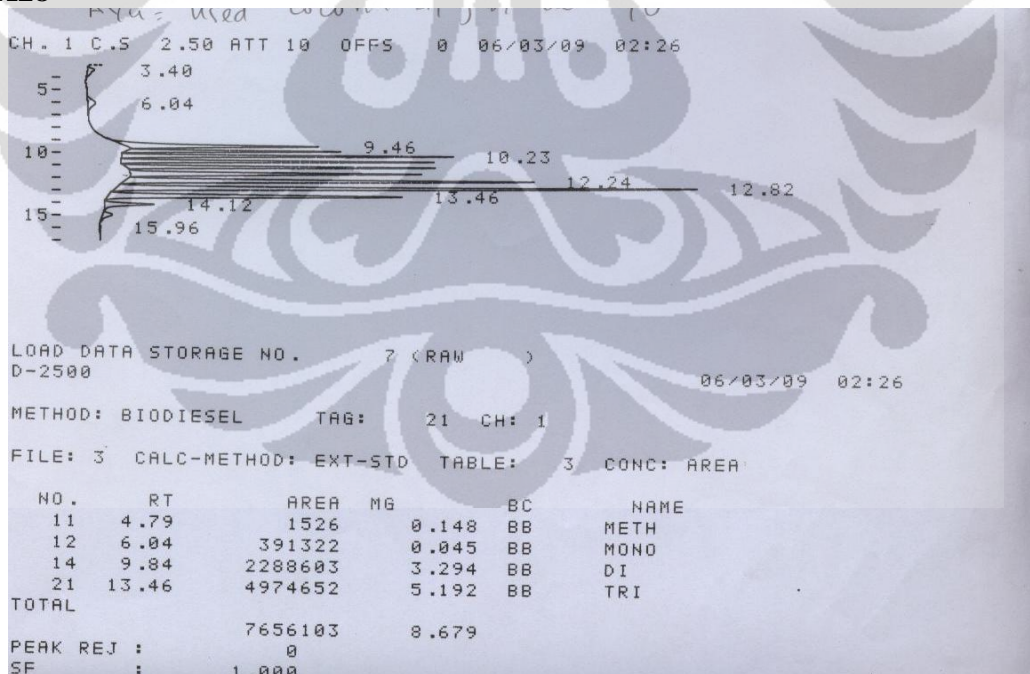


(lanjutan)

A27

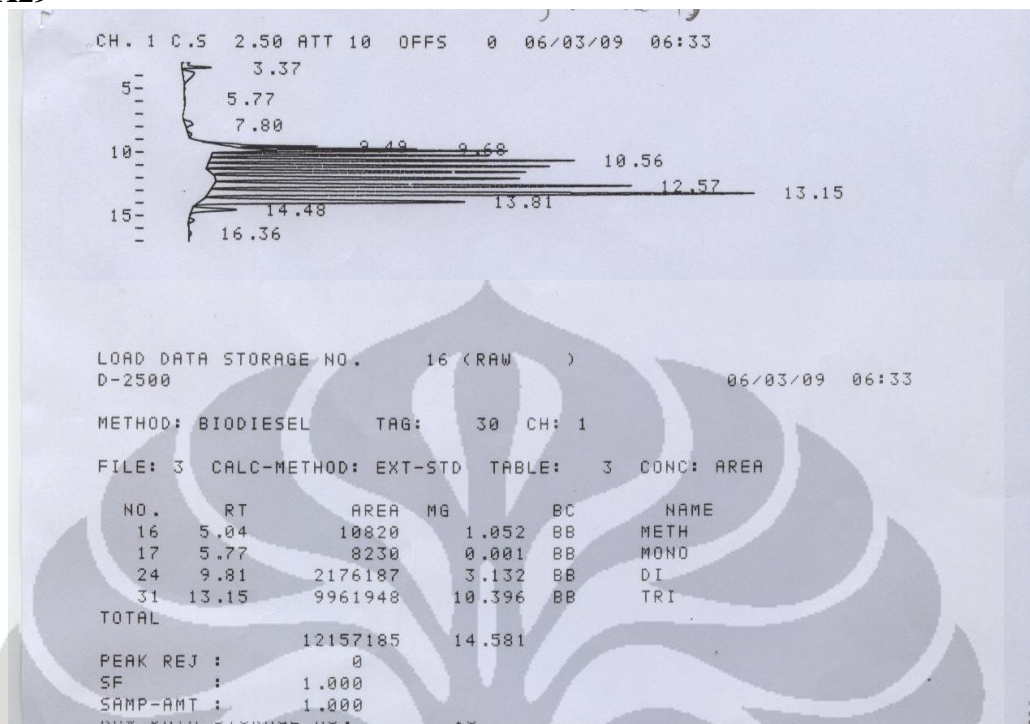


A28

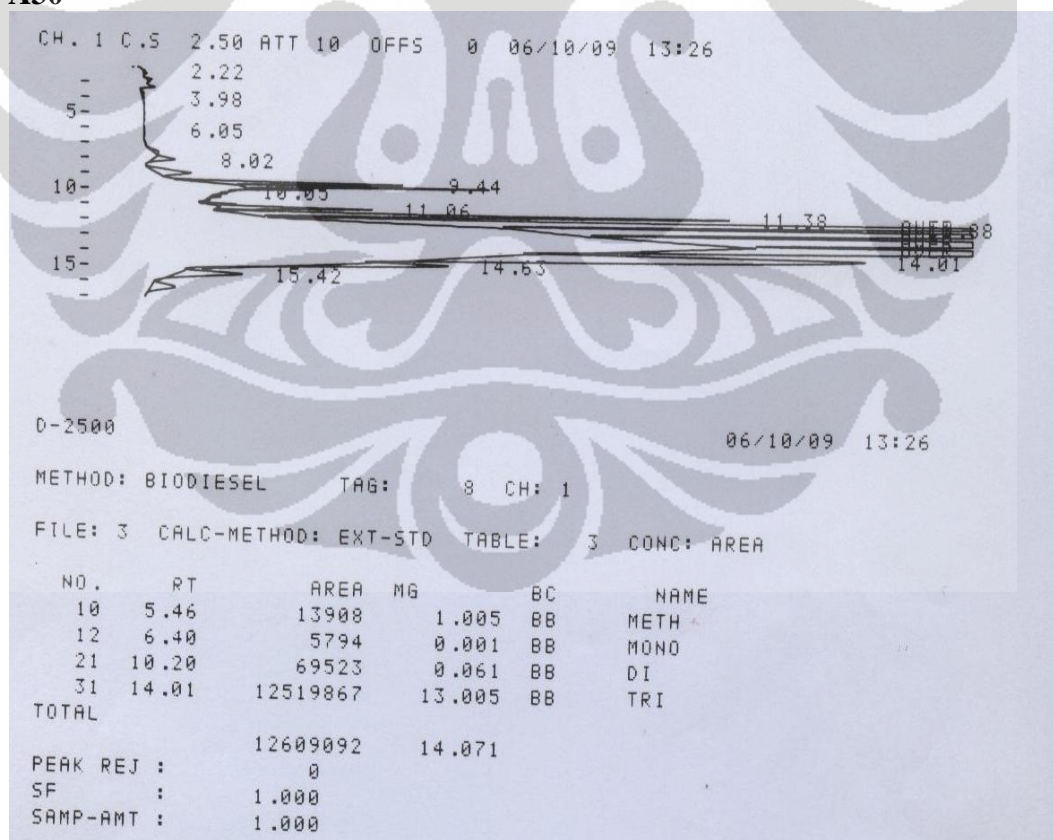


(lanjutan)

A29

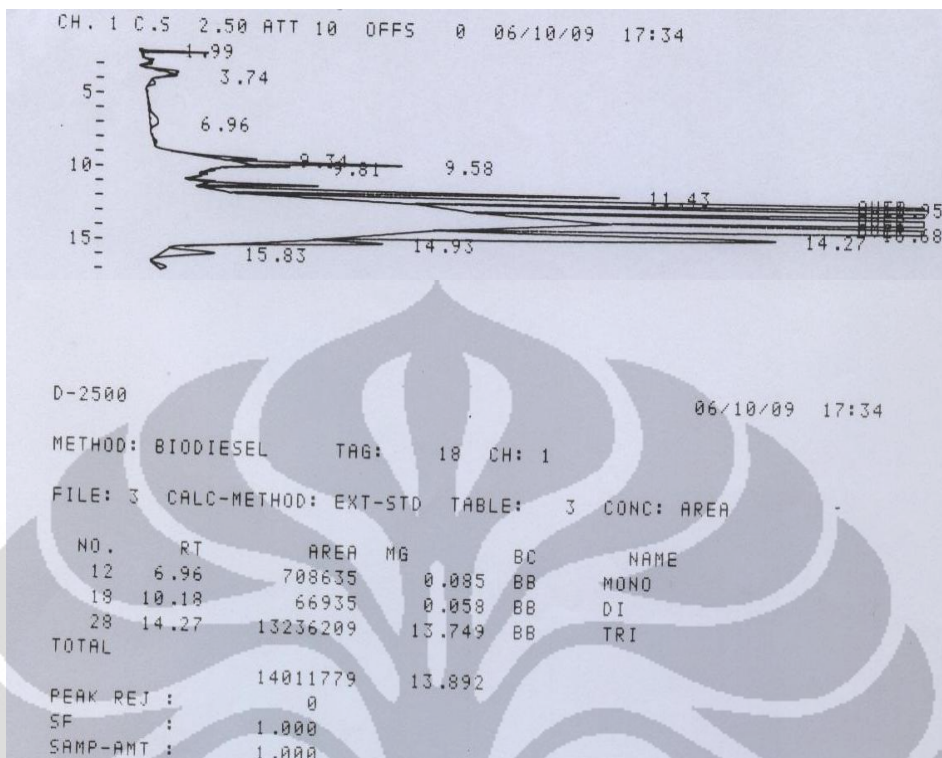


A30

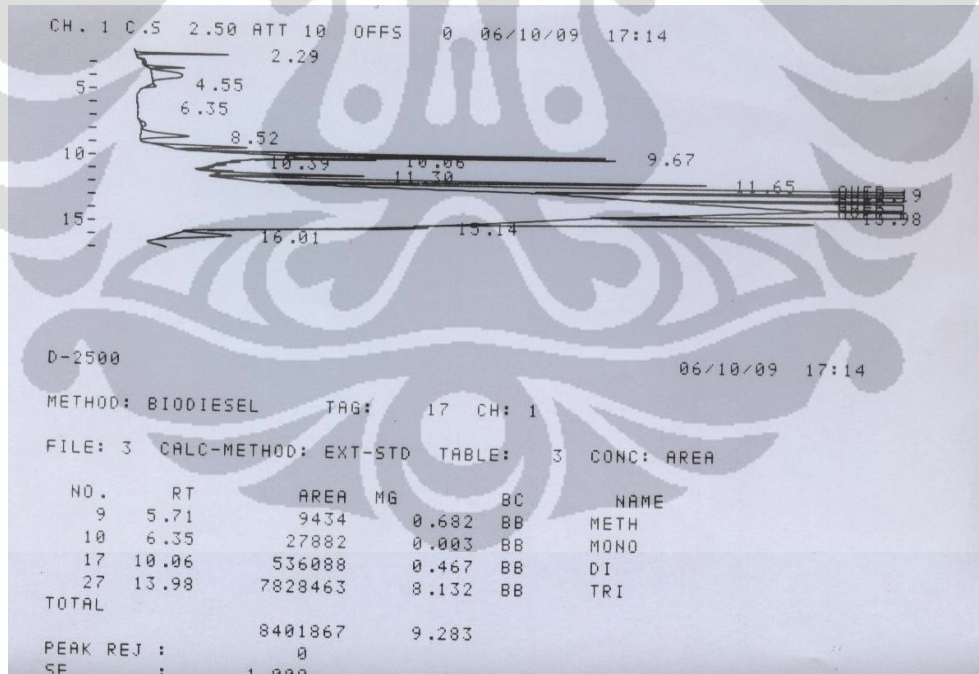


(lanjutan)

A31

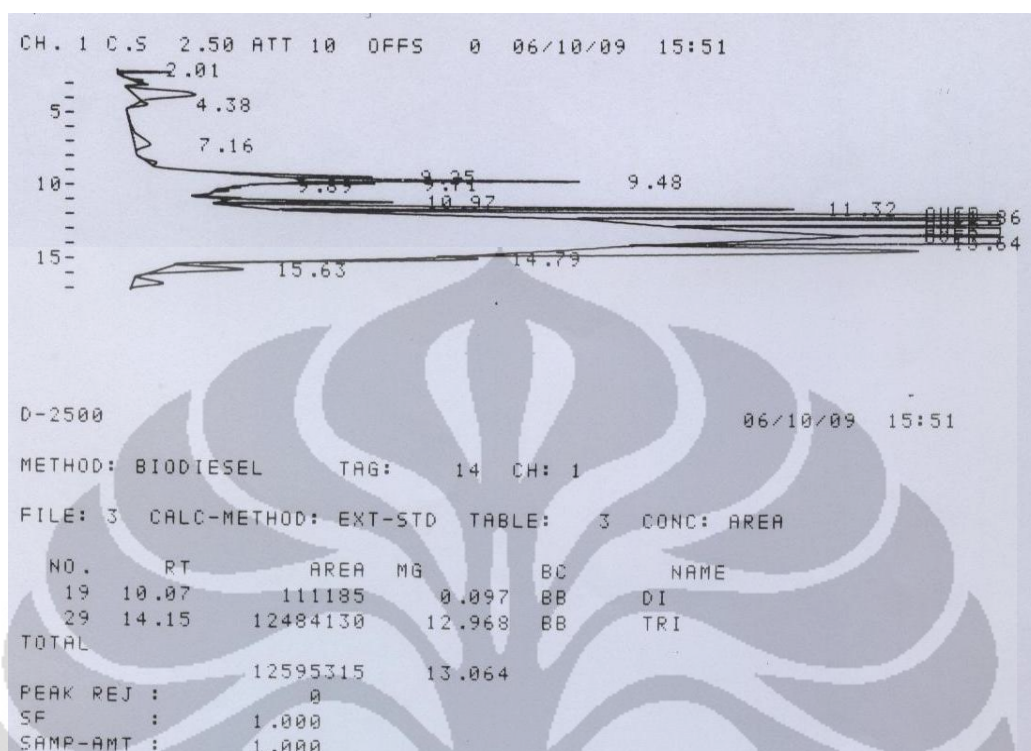


A32

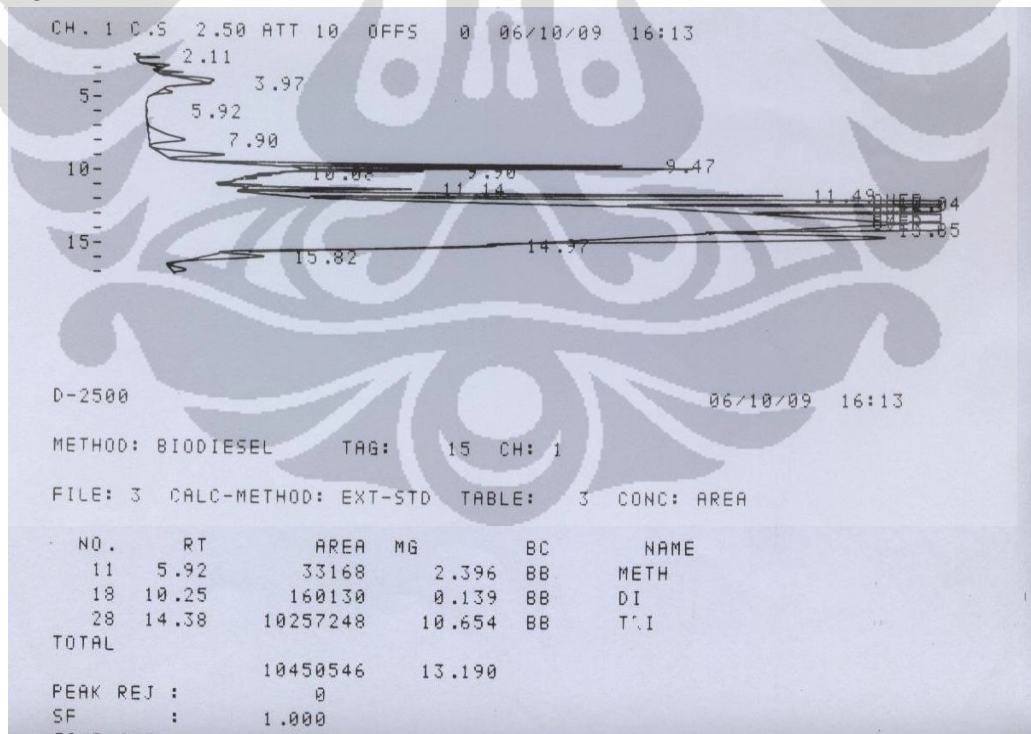


(lanjutan)

A33



A34



(lanjutan)

A35

