



UNIVERSITAS INDONESIA

**KINETIKA UNIRESPON BERBASIS MEKANISME  
PING PONG BI BI UNTUK SINTESIS BODIESEL  
MELALUI RUTE NON ALKOHOL PADA REAKTOR  
*PACKED BED***

**SKRIPSI**

**ARYA YUDISTIRA  
040506018Y**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**KINETIKA UNIRESPON BERBASIS MEKANISME  
PING PONG BI BI UNTUK SINTESIS BODIESEL  
MELALUI RUTE NON ALKOHOL PADA REAKTOR  
*PACKED BED***

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana  
Teknik**

**ARYA YUDISTIRA  
040506018Y**

**FAKULTAS TEKNIK  
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA  
KEKHUSUSAN TEKNIK KIMIA  
DEPOK  
DESEMBER 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 : Arya Yudistira**

**NPM : 040506018Y**

**Tanda Tangan :**

**Tanggal : 31 Desember 2009**



## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Arya Yudistira  
NPM : 040506018Y  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul Skripsi : Kinetika Unirespon Berbasis Mekanisme Ping Pong Bi Bi Untuk Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol 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 : Ir. Tania Surya Utami, M.T. (.....)

Penguji II : Prof. Dr. Ir. Anondho Wijanarko, M.Eng (.....)

Ditetapkan di : Depok, Jawa Barat, Indonesia

Tanggal : 31 Desember 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 **Kinetika Unirespon Berbasis Mekanisme Ping Pong Bi Bi Untuk Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non Alkohol 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 kepada :

1. Allah SWT karena atas segala kehendaknya saya diberi kesabaran dan kemampuan untuk dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Keluarga atas motivasi, perhatian, kasih sayang, doa yang tak pernah putus, dan dukungannya baik moril dan materil yang menjadi semangat untuk penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ir. Rita Arbianti, M.Si. selaku dosen pembimbing skripsi atas waktu, tenaga, dan pikiran serta masukan-masukan yang Ibu berikan untuk membimbing saya dalam pengerjaan skripsi ini. Terima kasih Bu.
4. Dr. Heri Hermansyah, S.T., M.Eng yang juga sebagai dosen pembimbing dalam penyusunan skripsi ini. Terima kasih atas segala bimbingan dan bantuannya serta masukannya yang bermanfaat. Terima kasih Pak.
5. Fajar “Ra” Achmadi Prianto, sebagai tempat konsultasi mengenai segala permasalahan yang penulis hadapi baik yang berhubungan dengan skripsi maupun tidak.
6. Fitri yang senantiasa memberikan semangat, perhatian, dan bantuan yang tak pernah putus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman-teman Teknik Kimia UI angkatan 2005 atas seluruh masukan, dukungan, dan bantuan yang diberikan pada penulis selama ini.
8. Keluarga besar Grup Riset Teknologi Bioproses atas kerjasamanya.
9. Keluarga besar Departemen Teknik Kimia UI kesediaannya menerima saya sebagai salah satu anggota keluarga.

Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Untuk ini, saran dan kritik sangat diharapkan penulis untuk memperbaiki penulisan di masa mendatang. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Depok, Desember 2009

Penulis



## HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

---

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

Nama : Arya Yudistira  
NPM : 040506018Y  
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 :

### **Kinetika Unirespon Berbasis Mekanisme Ping Pong Bi Bi Untuk Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol 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 : 31 Desember 2009

Yang menyatakan

(Arya Yudistira)

## ABSTRAK

Nama : Arya Yudistira  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul : Kinetika Unirespon Berbasis Mekanisme Ping Pong Bi Bi Untuk Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non Alkohol Pada Reaktor *Packed Bed*

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. Akhir-akhir ini, telah dilakukan penelitian sintesis biodiesel dari minyak goreng melalui rute non-alkohol menggunakan biokatalis lipase *Candida rugosa* yang terimobilisasi pada reaktor *packed bed*. Pada studi kali ini akan dibangun suatu model matematika yang dapat menggambarkan perilaku reaksi sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol. Karakteristik kinetika reaksi yang terjadi merupakan kinetika *uniresponse* dan mengikuti mekanisme Ping Pong Bi Bi. Tahapan pada penelitian ini meliputi penurunan persamaan laju, penentuan parameter reaksi, validasi melalui *fitting* kurva, serta simulasi sintesis biodiesel secara enzimatik. Hasil dari penelitian ini adalah konstanta laju reaksi dari setiap reaksi. *Fitting* kurva dilakukan menggunakan metode Runge-Kutta-Fehlberg. Hasil *fitting* terbaik menggunakan data eksperimen dengan bahan baku minyak goreng bekas mendapatkan parameter kinetika  $\theta_1 = 0,6485$  dan  $\theta_2 = 20,3453$  dengan *error* sebesar 0,0001145. Hasil analisis sensitivitas menunjukkan bahwa konstanta yang dihasilkan memiliki sensitivitas yang baik dengan deviasi terkecil sebesar 24,64%.

Kata Kunci:

biodiesel, *uniresponse*, mekanisme Ping Pong Bi Bi, reaktor *packed bed*, rute non-alkohol, Runge-Kutta-Fehlberg



## ABSTRACT

Name : Arya Yudistira  
Study Program : Chemical Engineering  
Title : Uniresponse Kinetics Based On Ping Pong Bi Bi Mechanism in Biodiesel Synthesis via Non Alcohol Route in Packed Bed Reactor

Biodiesel has become an alternative and environmental-friendly fuel made from vegetable and animal oils derived from renewable resources. Recently, a research of synthesis of biodiesel from used cooking oil through a non-alcoholic route using an immobilized *Candida rugosa* lipase biocatalyst in a packed bed reactor has been carried out. In this study, a mathematical model is built to describe the behavior of biodiesel synthesis reaction through a non-alcoholic route. Characteristics of the reaction is uniresponse kinetics and follows the Ping Pong Bi Bi mechanism. Stages in this study include derivation of reaction rate equation, determination of reaction parameters, validation through curve fitting, and simulation of the synthesis of biodiesel. The results of this study is the reaction rate constants. The best fitting using experimental data of used cooking oil resulting kinetics parameter  $\theta_1 = 0.6485$  dan  $\theta_2 = 20.3453$  with the error of 0.0001145. Sensitivity analysis showed that the resulting constants have good sensitivity with the smallest deviation is 24.64%.

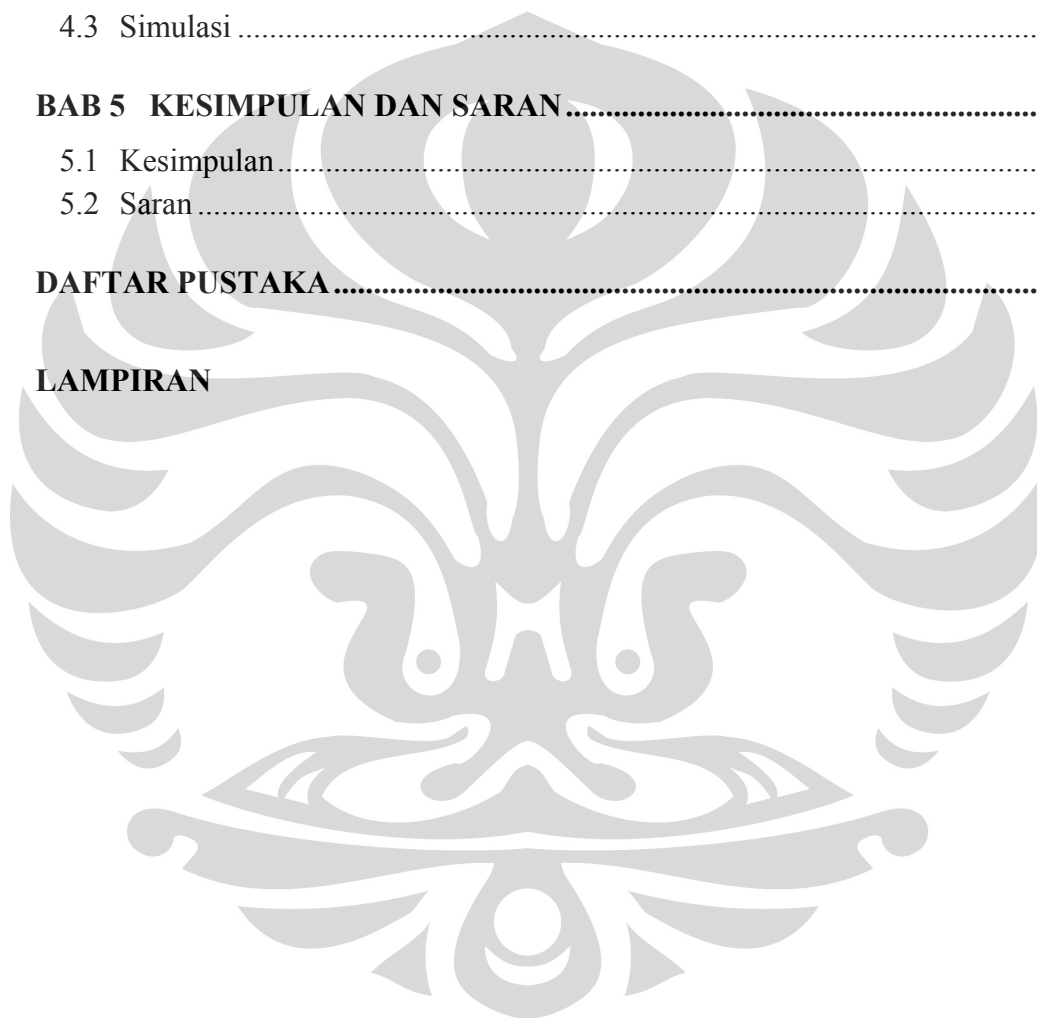
Keywords:

biodiesel, uniresponse, Ping Pong Bi Bi mechanism, packed bed reactor, non-alcoholic route, Runge-Kutta-Fehlberg

## DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Batasan Penelitian.....	3
1.5 Sistematika Penulisan.....	3
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Biodiesel.....	5
2.1.1 Sejarah Biodiesel.....	5
2.1.2 Definisi Biodiesel.....	5
2.2 Enzim Lipase.....	8
2.2.1 <i>Candida rugosa</i> lipase.....	11
2.2.2 Reaksi yang dikatalisis lipase.....	14
2.3 Kinetika Reaksi.....	16
2.3.1 Kinetika Michaelis–Menten.....	16
2.3.2 Mekanisme Ping Pong Bi Bi.....	19
2.4 <i>State of The Art</i> .....	20
2.4.1 Penelitian Sintesis Biodiesel Rute Alkohol.....	20
2.4.2 Penelitian Sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol.....	28
<b>BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>31</b>
3.1 Penurunan Model.....	32
3.1.1 Asumsi.....	32
3.1.2 Mekanisme Reaksi.....	32
3.1.3 Penurunan Persamaan Laju Reaksi.....	32

3.2 Validasi.....	35
3.2.1 Estimasi Parameter Kinetika.....	35
3.2.2 <i>Fitting</i> Kurva.....	36
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>38</b>
4.1 Validasi.....	39
4.1.1 Estimasi Parameter Kinetika.....	39
4.1.2 <i>Fitting</i> Kurva.....	41
4.2 Analisis Sensitivitas.....	46
4.3 Simulasi.....	47
<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>50</b>
5.1 Kesimpulan.....	50
5.2 Saran.....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN</b>	



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2. 1</b> Spesifikasi Biodiesel menurut ASTM (USA), EDIN (Eropa) dan SNI (Indonesia) .....	7
<b>Tabel 2. 2</b> Karakteristik Biodiesel menurut ASTM D6751-08 .....	8
<b>Tabel 2. 3</b> Aplikasi lipase di industri (Vulfson, 1994) .....	9
<b>Tabel 2. 4</b> Mikroba-mikroba penghasil lipase (Pandey dkk, 1999) .....	10
<b>Tabel 2. 5</b> Pemetaan kinetika sintesis biodiesel secara enzimatis .....	30
<b>Tabel 4. 1</b> Data eksperimen minyak goreng baru yang digunakan .....	38
<b>Tabel 4. 2</b> Data eksperimen minyak goreng bekas yang digunakan .....	39
<b>Tabel 4. 3</b> Nilai X dan Y hasil regresi untuk setiap jenis minyak goreng .....	39
<b>Tabel 4. 4</b> Nilai parameter kinetika hasil regresi .....	41
<b>Tabel 4. 5</b> Contoh hasil perhitungan metode Runga-Kutta-Fehlberg .....	42
<b>Tabel 4. 6</b> Contoh hasil perhitungan konsentrasi biodiesel .....	43
<b>Tabel 4. 7</b> Analisis sensitivitas untuk konstanta kinetika reaksi menggunakan bahan baku minyak goreng baru .....	46
<b>Tabel 4. 8</b> Analisis sensitivitas untuk konstanta kinetika reaksi menggunakan bahan baku minyak goreng bekas .....	46



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2. 1</b> Struktur lipase (Ward, 1985) .....	10
<b>Gambar 2. 2</b> <i>Candida rugosa</i> lipase .....	12
<b>Gambar 2. 3</b> Reaksi enzimatik dari candida rugosa lipase pada hidrolisis substrat trigliserol .....	13
<b>Gambar 2. 4</b> Reaksi interesterifikasi dan transesterifikasi trigliserida .....	14
<b>Gambar 2. 5</b> Mekanisme umum dalam penggunaan candida rugosa lipase sebagai katalis (a) asimetrik katalisis (b) kinetika penempatan <i>Candida rugosa</i> lipase pada pusat kiral .....	14
<b>Gambar 2. 6</b> Skema reaksi-reaksi yang dikatalisis oleh lipase .....	16
<b>Gambar 2. 7</b> Skema reaksi enzimatik dengan satu substrat .....	17
<b>Gambar 2. 8</b> Plot laju reaksi versus konsentrasi substrat untuk reaksi yang mengikuti kinetika Michaelis-Menten (House, 1997). .....	18
<b>Gambar 2. 9</b> Mekanisme Ping Pong Bi Bi .....	19
<b>Gambar 2. 10</b> Esterifikasi trigliserida berkatalis lipase dengan inhibisi kompetitif alkohol (Al-Zuhair dkk, 2005) .....	20
<b>Gambar 3.1</b> Diagram alir penelitian studi kinetika sintesis biodiesel rute non-alkohol .....	31
<b>Gambar 4. 1</b> Plot Regresi Linier data eksperimen dengan bahan baku minyak goreng baru .....	40
<b>Gambar 4. 2</b> Plot Regresi Linier data eksperimen dengan bahan baku minyak goreng bekas .....	40
<b>Gambar 4. 3</b> <i>Fitting</i> kurva antara data simulasi dengan data eksperimen untuk konsentrasi ikatan gliserida yang tidak bereaksi .....	43
<b>Gambar 4. 4</b> <i>Fitting</i> kurva antara data model dengan data eksperimen untuk konsentrasi biodiesel yang terbentuk .....	44
<b>Gambar 4. 5</b> <i>Fitting</i> kurva antara data simulasi dengan data eksperimen untuk persentase konversi gliserida menjadi biodiesel untuk tiap jenis minyak goreng .....	45
<b>Gambar 4. 6</b> Perbandingan konversi gliserida menjadi biodiesel untuk rasio awal gliserida : metil asetat yang berbeda pada reaksi dengan substrat minyak goreng bekas .....	47
<b>Gambar 4. 7</b> Perbandingan konversi ikatan gliserida untuk rasio awal gliserida : metil asetat yang berbeda untuk waktu tinggal 5 jam pada reaksi dengan substrat minyak goreng bekas .....	48
<b>Gambar 4. 8</b> Perbandingan <i>yield</i> biodiesel yang dihasilkan dengan rasio ikatan gliserida : metil asetat 1:12 untuk waktu tinggal yang berbeda .....	49

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Menipisnya cadangan minyak dunia menginduksi terjadinya krisis energi belakangan ini. Dan hal tersebut membuat Indonesia perlu mencari sumber-sumber bahan bakar alternatif yang mungkin dikembangkan. Hal ini diperparah 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. Keunggulan energi biodiesel ini adalah reaksi pembentukan energi yang dihasilkan mesin diesel tersebut lebih sempurna dibandingkan solar.

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, Xu 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.

Studi kinetika pada sintesis biodiesel sudah banyak dilakukan. Studi kinetika ini umumnya mempelajari kinetika reaksi transesterifikasi (alkoholisis). Kebanyakan studi masih memakai mekanisme orde dua reversibel. Namun, untuk reaksi transesterifikasi dengan biokatalis, beberapa peneliti menyarankan memakai mekanisme Ping Pong Bi Bi. Model Ping Pong Bi Bi merupakan model yang paling cocok untuk menggambarkan mekanisme reaksi dengan memakai biokatalis.

Studi kinetika untuk reaksi transesterifikasi dengan biokatalis pernah dilakukan, tetapi studi tersebut masih memakai mekanisme orde dua reversibel oleh Xu. Pada penelitian ini, dilakukan penyusunan model Ping Pong Bi Bi untuk reaksi kontinu dengan hanya mempertimbangkan gliserol *backbond* yang bereaksi dengan asam lemak saja. Biodiesel/ester yang terbentuk diasumsikan sebagai gliserol *backbond* yang telah berikatan dengan asam lemak.

Dari penelitian ini akan dihasilkan suatu pemodelan yang nantinya dapat menggambarkan profil konsentrasi dari biodiesel pada interesterifikasi biodiesel dengan biokatalis pada reaktor *packed bed*. Selain itu juga didapatkan nilai parameter-parameter kinetik yang berguna dalam memperkirakan tingkat reaksi pada setiap waktu dengan kondisi operasi yang telah ditentukan sebelumnya. Dengan demikian, pengembangan terhadap pemodelan kinetika ini bisa dijadikan sebagai dasar dalam mendesain proses interesterifikasi pada skala yang lebih besar bahkan skala industri.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan permasalahan dalam penelitian ini adalah bagaimana mendapatkan model beserta parameter kinetika untuk mensimulasikan perilaku substrat yang terlibat dalam sintesis biodiesel pada reaktor *packed bed*.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah:

- Membuat model kinetika unirespon reaksi sintesis biodiesel.
- Menentukan parameter kinetika reaksi sintesis biodiesel.
- Melakukan validasi model kinetika dengan data eksperimen.
- Menentukan sensitivitas parameter konstanta kinetika pada reaksi sintesis biodiesel.
- Melakukan simulasi perilaku substrat dalam reaksi sintesis biodiesel melalui reaksi interesterifikasi.

## 1.4 Batasan Penelitian

- Perhitungan perubahan konsentrasi substrat dan produk menggunakan metode Runge-Kutta-Fehlberg.
- Metode estimasi parameter kinetika yang digunakan adalah metode Regresi Linier.

## 1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan yang digunakan dalam skripsi ini adalah:



## BAB I : PENDAHULUAN

Bab ini terdiri atas latar belakang dilakukannya penelitian, rumusan masalah, tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian, pembatasan masalah, dan sistematika penulisan laporan.

## BAB II : TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menjelaskan *state of the art* penelitian mengenai biodiesel, model kinetika untuk reaksi sintesis biodiesel, fungsi yang menguntungkan dari biodiesel, serta teori lain yang berkaitan dengan penelitian ini.

## BAB III : METODE PENELITIAN

Bab ini terdiri atas mekanisme dan prosedur penelitian. Membahas asumsi – asumsi yang digunakan, skema reaksi model yang diajukan, serta penurunan persamaan kinetika.

## BAB IV: HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini terdiri atas pembahasan terhadap model yang dibuat, estimasi parameter kinetika, hasil validasi, analisis sensitivitas, serta simulasi yang dilakukan.

## BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN

Bab ini terdiri atas kesimpulan terhadap penelitian ini serta saran untuk penelitian yang akan dilakukan selanjutnya.

## DAFTAR PUSTAKA

## LAMPIRAN

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Biodiesel

##### 2.1.1 Sejarah Biodiesel

Transesterifikasi minyak nabati yang pertama kali dilakukan pada tahun 1853 oleh dua orang ilmuwan, yaitu E. Duffy dan J. Patrick. Hal ini terjadi sebelum mesin diesel pertama ditemukan. Baru pada tanggal 10 Agustus 1893, di Augsburg, Jerman, Rudolph Diesel mempertunjukkan model mesin diesel penemuannya (Ma, 1999). Pada World Fair tahun 1898 di Paris, Perancis, Rudolph Diesel memamerkan mesin dieselnnya yang menggunakan bahan bakar dari minyak kacang tanah. Dia mengira bahwa penggunaan bahan bakar biomassa memang masa depan bagi mesin ciptaannya. Namun, pada tahun 1920, mesin diesel diubah supaya dapat menggunakan bahan bakar fosil (*Petrodiesel*) dengan viskositas yang lebih rendah dari biodiesel. Penyebabnya karena pada waktu itu petrodiesel relatif lebih murah dari pada biodiesel.

##### 2.1.2 Definisi Biodiesel

Biodiesel (*fatty acid methyl esters*) adalah *cleaner-burner diesel replacement fuel* yang terbuat dari bahan-bahan alami dari sumber terbarukan seperti minyak makan dan lemak hewan. Seperti halnya solar dan minyak bumi, biodiesel merupakan bahan bakar mesin diesel (Turner, 2005).

Biodiesel memiliki gugus asam lemak di satu sisi dan gugus alkil pada sisi yang lainnya. Gugus alkil harus merupakan rantai alkil pendek seperti metil, atau ethyl. Umumnya pada sintesis biodiesel digunakan pendonor metil sehingga gugus alkil yang terdapat dalam biodiesel merupakan gugus metil.

Biodiesel dapat disintesis dari lemak hewani maupun minyak nabati melalui proses transesterifikasi. Beberapa minyak nabati yang sudah dan dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan biodiesel yaitu minyak kelapa sawit, minyak kelapa, minyak kedelai (*soybean*), minyak *rapeseed (canola)*, dan minyak bunga matahari (*sunflower*).

Penggunaan Biodiesel dapat dilakukan dalam keadaan murni atau sebagai campuran dengan petroleum diesel berdasarkan kebutuhan mesin. Dalam industri umumnya dicantumkan label B20 untuk bahan bakar campuran 20% biodiesel dan 80% petroleum diesel. Campuran antara 20% biodiesel dengan minyak bumi dapat digunakan untuk hampir semua mesin diesel baik transportasi maupun industri dan cocok dengan alat penyimpanan dan distribusi solar minyak bumi. Campuran yang lebih tinggi kadarnya, sampai biodiesel murni (100% biodiesel atau B100) dapat digunakan untuk banyak mesin diesel buatan mulai tahun 1994 dengan sedikit modifikasi (Turner, 2005).

Penggunaan biodiesel pada mesin diesel dapat mengurangi emisi hidrokarbon tak terbakar, karbon monoksida (CO), sulfat, hidrokarbon polisiklis aromatik, nitrat hidrokarbon polisiklis aromatik dan partikel padatan. Reduksi ini akan semakin tinggi dengan persentase biodiesel yang semakin tinggi. Reduksi terbaik adalah pada penggunaan biodiesel murni atau B 100. Penggunaan biodiesel akan menurunkan fraksi karbon dari partikel padatan karena dalam biodiesel telah terdapat atom oksigen yang mendukung terjadinya oksidasi sempurna karbon monoksida menjadi karbon dioksida (CO<sub>2</sub>). Penggunaan biodiesel juga menurunkan fraksi sulfat karena biodiesel hanya mengandung sulfur lebih sedikit, kurang dari 24 ppm belerang. Biodiesel dapat dibuat dari destilat asam lemak minyak sawit dengan proses transesterifikasi saja maupun proses pretreatment terhadap minyak dan asam lemak terlebih dahulu. Sekitar 55% dari biodiesel industri dapat menggunakan destilat asam lemak minyak sawit. Sebagian lainnya hanya menggunakan minyak nabati. Pemakaian minyak nabati yang diperkirakan akan semakin banyak adalah jenis minyak kedelai, minyak kacang dan minyak kelapa sawit.

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

dan tidak mengandung senyawa sulfur dan aromatik (karsinogenik) sehingga tidak mengandung emisi gas buang yang berbahaya bagi kesehatan.

Produk biodiesel (metil ester) harus memenuhi persyaratan atau spesifikasi yang sudah ditetapkan oleh suatu negara untuk dapat dipakai sebagai bahan bakar setara solar. Amerika Serikat mempunyai spesifikasi berdasarkan standar ASTM D 6751-02, dan Eropa berdasarkan EDIN 51606 dan juga Indonesia mempunyai Standar Nasional Indonesia (SNI). Spesifikasi yang sudah ditetapkan berdasarkan standar tersebut disajikan pada Tabel 1 untuk menjamin konsistensi kualitas biodiesel untuk memenuhi spesifikasi tergantung pada kondisi proses pengolahan dan pemurnian produk setelah produksi.

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

<b>Karakteristik</b>	<b>ASTM D-6751</b>	<b>EDIN 51606</b>	<b>SNI</b>
Densitas @ 15 <sup>o</sup> C	0.875 – 0.9 g/mL	0.875 – 0.9 g/mL	0.85 – 0.89 g/mL
Viskositas @ 40 <sup>o</sup> C	1.9 – 6.0 mm <sup>2</sup> /sec	3.5 – 5.0 mm <sup>2</sup> /sec	2.3 -6.0 mm <sup>2</sup> /sec
Flashpoint	130 <sup>o</sup> C	110 <sup>o</sup> C	100 <sup>o</sup> C
Water & Sediment	0.050 max % vol	0.030 max % vol	0.050 max % vol
Acid Number	0.8	0.5	0.8
Free Glycerin	0.02	0.02	0.02 max
Total Glycerin	0.24	0.25	0.24 max
Cetane	47 min	49 min	51 min
Carbon Residue	0.05% maks	0.05% maks	0.05 % max
Cloud Point	Tidak terdefinisi	- 20 <sup>o</sup> C	18 <sup>o</sup> C max

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

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

**Tabel 2. 2** Karakteristik Biodiesel menurut ASTM D6751-08

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

## 2.2 Enzim Lipase

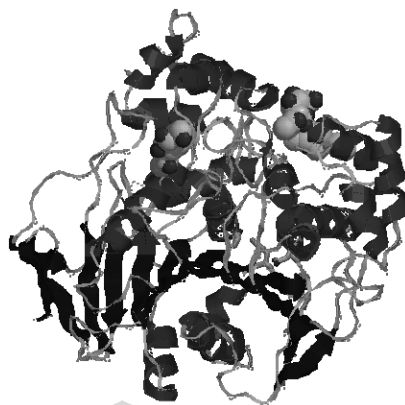
Enzim merupakan golongan protein yang paling banyak terdapat dalam sel hidup dan mempunyai fungsi penting sebagai katalisator reaksi biokimia yang secara kolektif membentuk metabolisme perantara dari sel (Wirahadikusumah, 1989). Enzim mempunyai kemampuan untuk meningkatkan kecepatan reaksi  $10^9$  hingga  $10^{20}$  kali dengan konsentrasi yang relatif rendah. Sifat enzim sebagai biokatalisator umumnya spesifik terhadap suatu substrat, mempercepat reaksi tanpa ikut bereaksi, dan tidak membentuk produk samping yang bersifat toksik (Bettelheim dkk, 1995).

Reaksi katalitik yang efektif yang dilakukan enzim mendorong dilakukannya aplikasi pada bidang industri dan bioteknologi seperti industri pangan, farmasi, kimia, dan farmasi. Industri pangan menggunakan enzim dalam proses pembuatan keju, minuman fermentasi, maupun sebagai pemanis buatan. Industri farmasi menggunakan enzim dalam proses obat-obatan. Industri kimia dapat menggunakan enzim sebagai katalis proses detergen, pengolahan oli dan minyak, dan juga untuk sintesis organik. Enzim juga dapat dijadikan alat untuk mendiagnosis suatu penyakit dalam bidang kedokteran (Kirk dkk, 2002).

**Tabel 2. 3** Aplikasi lipase di industri (Vulfson, 1994)

<b>Industri</b>	<b>Peran</b>	<b>Produk / aplikasi</b>
<b>Deterjen</b>	Hidrolisis lemak	Penghilangan noda minyak dari kain
<b>Susu</b>	Hidrolisis lemak susu, pematangan keju, modifikasi lemak pada mentega	Pemberi rasa pada susu, keju, dan mentega
<b>Roti dan kue</b>	Meningkatkan rasa dan aroma	Memperpanjang waktu sebelum basi
<b>Makanan sehat</b>	Transesterifikasi	Produksi makanan sehat
<b>Daging dan ikan</b>	Pemberi rasa	Produk – produk daging dan ikan, penghilangan lemak
<b>Lemak dan minyak</b>	Transesterifikasi, hidrolisis	Margarin, asam lemak, gliserol, mono- dan digliserol
<b>Farmasetika</b>	Transesterifikasi, hidrolisis	Produksi lemak khusus, pembantu pencernaan
<b>Kosmetik</b>	Sintesa	Pengemulsi, moisturizer
<b>Kulit</b>	Hidrolisis	Produk – produk kulit
<b>Kertas</b>	Hidrolisis	Peningkatan kualitas kertas

Lipase adalah enzim yang dapat memecah lemak. Lipase mikrobial (*glycerol ester hydrolases*; EC 3.1.1.3) memiliki peran yang penting dalam bioteknologi modern. Lipase tidak tergantikan dalam reaksi biokonversi gliserolisis lemak atau lipid (triasilgliserol) dalam satu organisme atau antar organisme. Lipase yang berasal dari mikroba merupakan enzim ekstraseluler, yang disekresikan oleh mikroba kedalam medium pertumbuhannya untuk mencerna lemak atau minyak.



**Gambar 2. 1** Struktur lipase (Ward, 1985)

Tabel berikut menunjukkan mikroba penghasil lipase yang sudah ditemukan sampai saat ini:

**Tabel 2. 4** Mikroba-mikroba penghasil lipase (Pandey dkk, 1999)

<i>Achromobacter</i> sp.	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Protaminobacter albobflavus</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. sphericus</i>	<i>Neurospora sitophila</i>	<i>R. delemer</i>
<i>B. thermocatenulatus</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. cyclopium</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>

Lipase bersifat aktif dalam pelarut organik dimana ia dapat berfungsi sebagai katalis dalam reaksi esterifikasi (Kiran dkk, 2001), transesterifikasi, sintesa peptida, dan bahan kimia lainnya (Liese dkk, 2000).

Aplikasi lain dari lipase yang adalah dalam industri pemrosesan bahan kimia organik, formulasi deterjen, sintesa biosurfaktan, industri oleokimia, produksi kertas, industri agrokimia, susu, nutrisi, kosmetik, dan farmasetika (Liese dkk, 2000). Dalam dunia kedokteran dan farmasi, lipase digunakan untuk diagnosis lipid dalam darah dan sebagai obat-obatan. Dalam proses penyamakan kulit, lipase digunakan sebagai penghilang lipid yang terkandung dalam kulit hewan. Lipase juga berperan dalam proses dekomposisi limbah, khususnya limbah yang mengandung minyak (Bettelheim dkk, 1995). Tabel 2.3 menyajikan beberapa aplikasi utama lipase dalam industri.

### 2.2.1 *Candida rugosa* lipase

*Candida* sp. merupakan organisme yang tergabung di dalam kingdom fungi. Kelas taksonomi lengkapnya sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Fungi</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Ascomycota</i>
<i>Subphylum</i>	: <i>Ascomycotina</i>
<i>Class</i>	: <i>Ascomycetes</i>
<i>Order</i>	: <i>Saccharomycetales</i>
<i>Family</i>	: <i>Saccharomycetaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Candida</i>
<i>Species</i>	: <i>Candida rugosa</i>

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





**Gambar 2. 2** *Candida rugosa* lipase

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

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

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

Pemurnian dan karakterisasi dari berbagai macam lipase yang berasal dari *yeast* (*Candida rugosa*, *Candida antarctica*) dapat menjadi lebih kompleks di dalam biologi molekuler. *Candida rugosa* lipase dan *G. Candidum* telah

dilakukan studi secara bersamaan sejak kedua jenis lipase tersebut menunjukkan persamaan-persamaan dalam berbagai aspek. Kedua lipase tersebut mempunyai perbedaan dalam *lipase encoding genes* (lipase pseudogene family), yang mana dapat dihitung untuk membedakan rangkaian urutan asam amino dan kemungkinan untuk sifat-sifat enzimatik dan biokimia.

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

*Non-specificity* dari *Candida rugosa* lipase sudah sangat jelas digambarkan pada jurnal-jurnal tentang enzim sebelumnya. Benzonna dan Esposito menemukan bahwa *Candida rugosa* lipase sangat aktif terhadap rantai panjang trigliserida pada pH 8.0 dan pada suhu 30<sup>0</sup>C. Di bawah kondisi tersebut, tiga rantai dari gliserol akan terhidrolisis secara sempurna seperti yang ditunjukkan pada gambar di bawah ini.

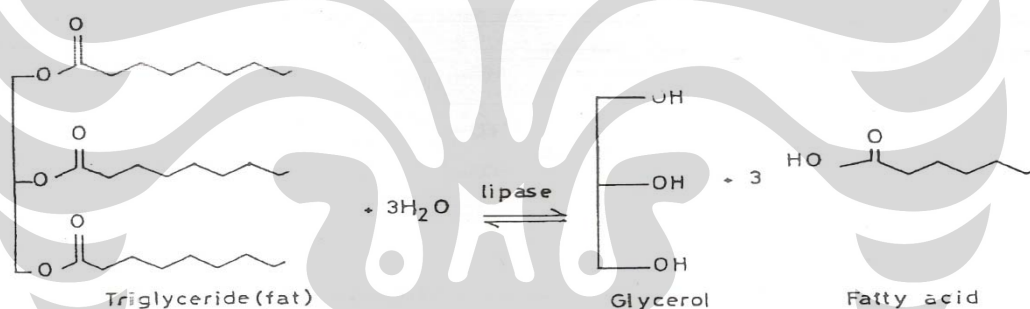
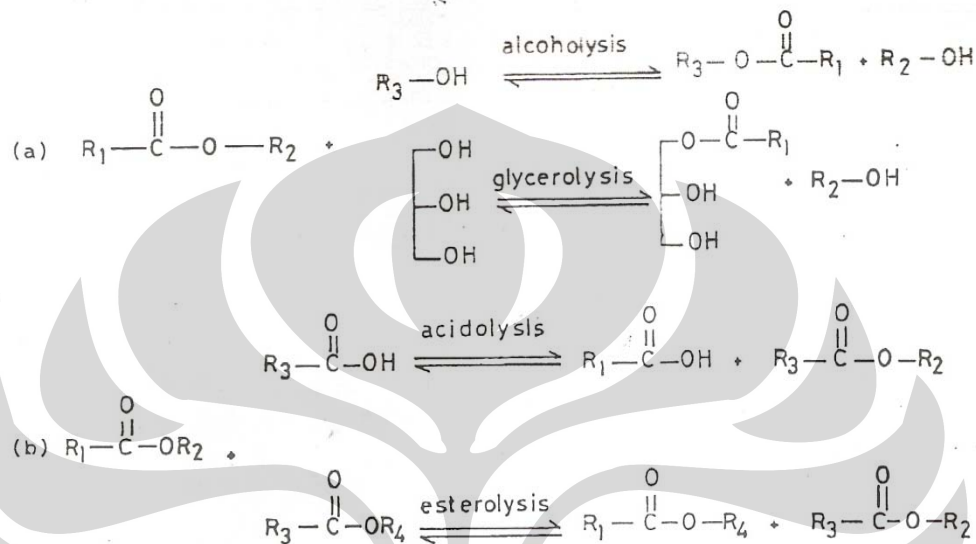


Figure 3. Enzymatic reaction of CRL catalysing hydrolysis or synthesis of a triglycerol substrate.

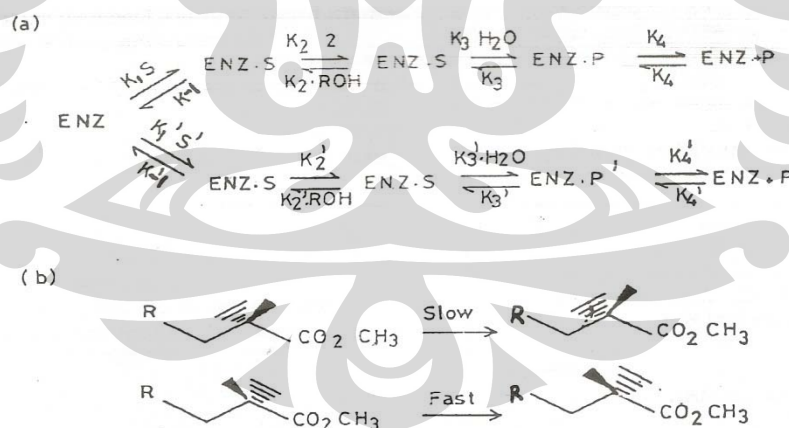
**Gambar 2. 3** Reaksi enzimatik dari *Candida rugosa* lipase pada hidrolisis substrat trigliserol

Aplikasi yang sangat potensial dari *Candida rugosa* lipase yaitu dalam hal memproduksi asam lemak dan gliserol melalui hidrolisis minyak dan lemak, modifikasi komposisi dan sifat-sifat fisika dari campuran trigliserida melalui reaksi interesterifikasi dan transesterifikasi seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.3 dan sintesis kimia dalam pelarut organik. Sifat-sifat non-hidrolitik (esterifikasi) dapat terjadi terutama dalam lingkungan perairan yang terbatas. Ikatan lipase pada *interface* antara larutan *aqueous* dan fasa organik akan mengkatalis pada reaksi hidrolisis pada *interface* yang sama. Ikatan tersebut tidak hanya menempatkan *Candida rugosa* lipase dekat dengan substrat, akan tetapi

juga meningkatkan kekuatan katalitik dari *Candida rugosa* lipase, dan peristiwa ini disebut dengan *interfacial activation*. Di dalam lingkungan yang terdapat pelarut-pelarut organik, *Candida rugosa* lipase mengkatalis sintesis ester baru dan juga modifikasi dari sakarida, peptida atau pembentukkan aktif enansiomer untuk produksi kimia.



Gambar 2. 4 Reaksi interesterifikasi dan transesterifikasi trigliserida



Gambar 2. 5 Mekanisme umum dalam penggunaan candida rugosa lipase sebagai katalis (a) asimetrik katalisis (b) kinetika penempatan *Candida rugosa* lipase pada pusat kiral

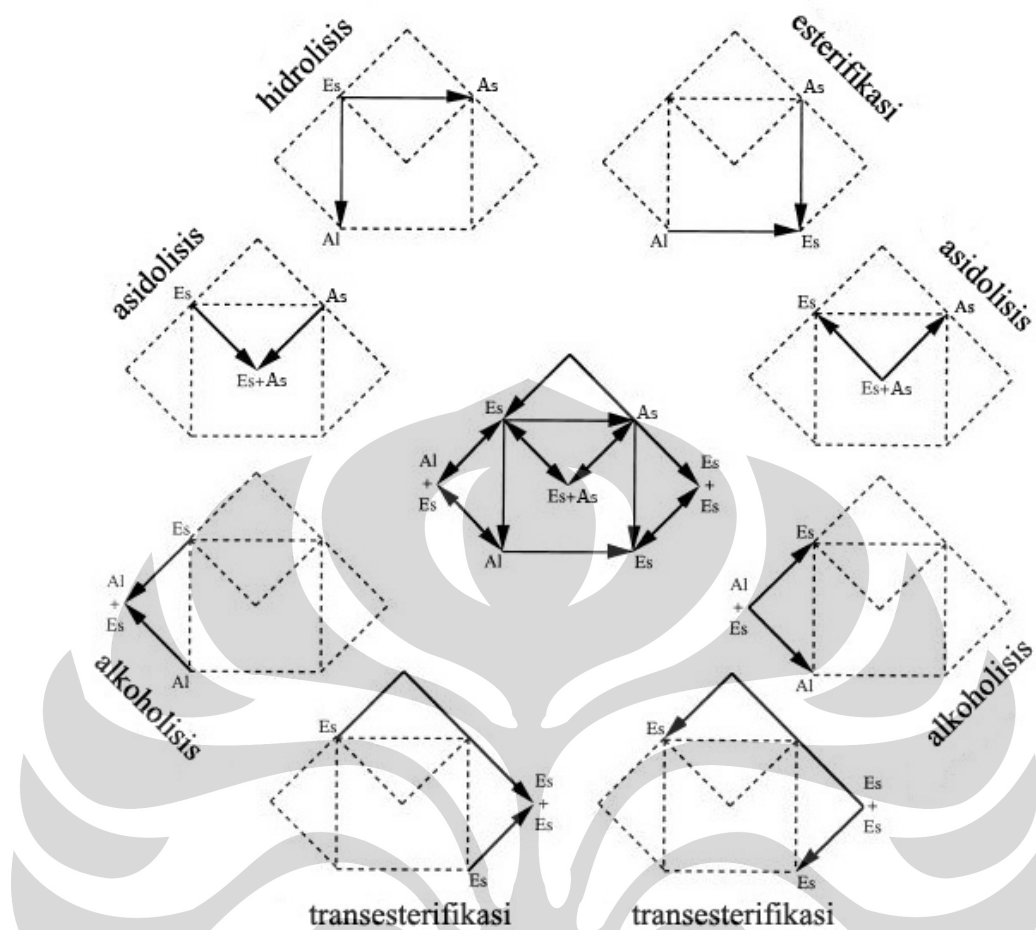
## 2.2.2 Reaksi yang dikatalisis lipase

Seperti katalis lainnya, lipase meningkatkan laju reaksi tanpa mempengaruhi posisi kesetimbangan kimia. Berdasarkan persamaan laju yang

berhubungan dengan sepasang reaktan/produk dan katalis, maka pada prinsipnya dimungkinkan untuk merancang suatu sistem reaksi, dan mengantisipasi kinerja yang sudah ada, berdasarkan hubungan mekanistik (atau empiris) antara variabel-variabel proses tersebut seperti waktu, suhu, pH, dan konsentrasi senyawa yang hadir dalam media reaksi.

Lipase awalnya dirancang oleh alam untuk mengkatalisis pemutusan ikatan ester melalui reaksi hidrolisis (dengan konsumsi molekul air) tetapi, seperti reaksi-reaksi kimia pada umumnya, karena prinsip mikroreversibilitas, reaksi sebaliknya (yaitu sintesis ester) juga berada di tingkat molekuler. Konversi kesetimbangan (tetapi bukan kesetimbangan konstan) tergantung pada kadar air dari campuran reaksi (seperti kandungan reaktan dan/atau produk lainnya); namun, karena senyawa ini dikendalikan dengan mudah dan dengan cara yang tidak mahal, reaksi hidrolisis akan terjadi pada sistem larutan makro dan reaksi sintesis ester akan terjadi pada sistem larutan mikro. Kedua proses dasar ini kemudian dapat digabungkan menjadi serangkaian reaksi yang disebut interesterifikasi; tergantung pada titik tertentu dalam hal substrat, suatu reaksi dapat berupa asidolisis (di mana grup asil antara ester dan asam karboksilat saling bertukar tempat), alkoholisis (di mana grup asil antara ester dan alkohol saling bertukar tempat), dan transesterifikasi (di mana dua kelompok asil saling bertukar tempat antara dua senyawa ester). Pada semua proses tersebut, air diperlukan baik untuk menjaga integritas struktural enzim dan untuk mengkatalisis produk samping, di mana molekul-molekul air dikonsumsi dan terbentuk secara berurutan, atau sebaliknya, tanpa konsumsi atau pembentukan dalam kasus interesterifikasi.

Jenis reaksi yang dikatalisis oleh lipases secara skematik digambarkan pada Gambar 2.6. Meskipun hidrolisis, esterifikasi, dan interesterifikasi sering ditangani dengan cara yang independen, perlu ditekankan bahwa semua reaksi tersebut dinyatakan sebagai kombinasi hidrolisis reversibel reaktan/produk yang berbeda.



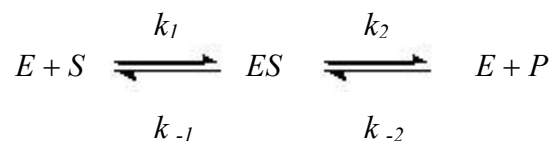
Gambar 2. 6 Skema reaksi-reaksi yang dikatalisis oleh lipase

## 2.3 Kinetika Reaksi

### 2.3.1 Kinetika Michaelis–Menten

Kasus paling sederhana dari sebuah reaksi yang berkatalis enzim adalah saat hanya terdapat satu substrat tunggal saja, contohnya pada proses hidrolisis ester.

Laju reaksi bervariasi secara linear terhadap konsentrasi substrat pada saat konsentrasi rendah (kinetika orde satu), kemudian menjadi independen terhadap konsentrasi substrat (kinetika orde nol) saat konsentrasi tinggi. Perilaku semacam ini, yang mirip dengan perilaku reaksi permukaan unimolekular, pertama kali dijelaskan oleh Michaelis & Menten dalam bentuk mekanisme:



**Gambar 2. 7** Skema reaksi enzimatik dengan satu substrat

Di sini E dan S adalah substrat dan enzim, P merupakan produk, dan ES merupakan sebuah kompleks enzim-substrat. Dalam banyak kasus, setidaknya pada tahapan awal, konsentrasi produk sangat rendah sehingga reaksi balik yang dikarakterisasi dengan konstanta  $k_{-2}$  dapat diabaikan. Pada akhirnya, laju reaksi  $k_2 C_{ES}$  dan dekomposisi  $k_{-1} C_{ES}$  dari kompleks enzim-substrat akan setara dengan laju pembentukan  $k_1 C_E C_S$  sehingga

$$k_1 C_E C_S = k_{-1} C_{ES} + k_2 C_{ES} \quad (2.1)$$

Konsentrasi enzim total,  $C_{E, Total}$ , setara dengan jumlah konsentrasi dari enzim bebas,  $C_E$ , dan enzim yang terikat dengan substrat,  $C_{ES}$ .

$$C_{E, Total} = C_E + C_{ES} \quad (2.2)$$

$$\text{Dapat ditulis juga sebagai } C_E = C_{E, Total} - C_{ES}$$

Dan dengan mensubstitusikan hasil ini kepada persamaan (2.1) diperoleh

$$k_1 (C_{E, Total} - C_{ES}) C_S = k_{-1} C_{ES} + k_2 C_{ES} \quad (2.3)$$

Yang dengan pengaturan ulang diperoleh

$$C_{ES} = \frac{k_1 C_S C_{E, Total}}{k_{-1} + k_2 + k_1 C_S} \quad (2.4)$$

Karena laju pembentukan produk, dituliskan sebagai  $v$ , adalah  $k_2 C_{ES}$  maka

$$v = k_2 C_{ES} = \frac{k_1 k_2 C_S C_{E, Total}}{k_{-1} + k_2 + k_1 C_S} \quad (2.5)$$

$$v = \frac{k_2 C_S C_{E, Total}}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + C_S} \quad (2.6)$$

$$\text{Atau } v = \frac{k_2 C_S C_{E, Total}}{K_m + C_S} \quad (2.7)$$

Persamaan (2.7) dikenal sebagai persamaan Michaelis-Menten dan konstanta  $K_m$ , setara dengan  $(k_1+k_2)/k_1$ , disebut konstanta Michaelis.

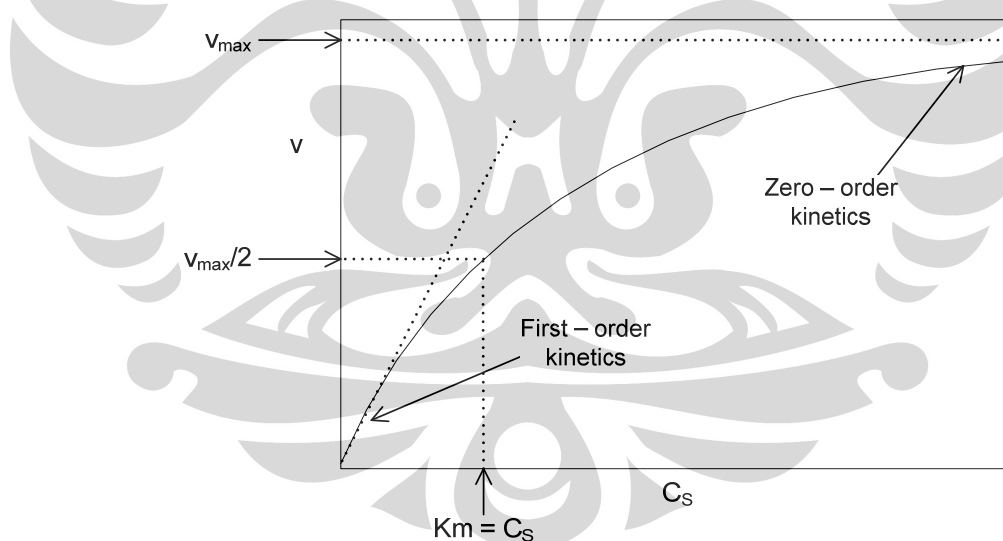
Saat  $C_S$  jauh sangat kecil, nilainya dapat diabaikan sebagai penyebut dalam perbandingan dengan  $K_m$ , sehingga persamaan (2.7) menjadi

$$v = \frac{k_2 C_S C_{E,Total}}{K_m} \quad (2.8)$$

Sehingga reaksi akan mengikuti kinetika orde pertama terhadap konsentrasi substrat. Sebaliknya saat konsentrasi substrat jauh lebih besar dibandingkan  $K_m$ ,  $C_S \gg K_m$ , maka

$$v = k_2 C_{E,Total} \quad (2.9)$$

Sehingga reaksi akan berjalan dengan kinetika reaksi orde nol. Enzim kemudian akan jenuh terhadap substrat, dan lebih jauh kenaikan konsentrasi substrat tidak akan berdampak lagi terhadap laju reaksi. Semua fenomena ini ditunjukkan pada Gambar 2.7.



**Gambar 2. 8** Plot laju reaksi versus konsentrasi substrat untuk reaksi yang mengikuti kinetika Michaelis-Menten (House, 1997).

Persamaan (2.4) dapat ditulis sebagai

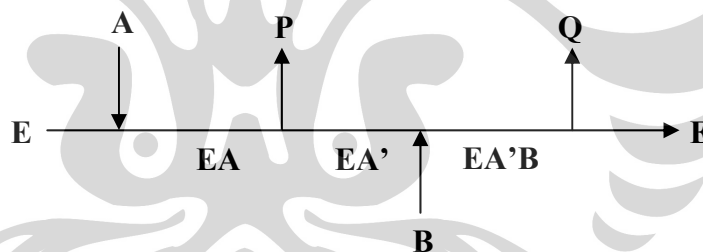
$$v = \frac{v_{max} C_S}{K_m + C_S} \quad (2.10)$$

dimana  $v_{\max}$ , setara dengan  $k_2 C_{E, \text{Total}}$ , merupakan laju reaksi tercepat pada konsentrasi substrat yang tinggi. Saat  $C_S$  setara dengan  $K_m$ , maka persamaan (2.7) dapat ditulis ulang menjadi

$$v = \frac{v_{\max} C_S}{C_S + C_S} = \frac{v_{\max}}{2} \quad (2.11)$$

### 2.3.2 Mekanisme Ping Pong Bi Bi

Mekanisme keempat yang mungkin terjadi untuk reaksi dengan dua substrat disebut sebagai mekanisme Ping Pong Bi Bi. Dalam mekanisme ini pertama kali substrat A akan berikatan dengan enzim untuk membentuk kompleks EA yang kemudian akan menghasilkan produk pertama reaksi yaitu P sebelum terjadi reaksi kembali dengan B. B kemudian bereaksi dengan kompleks EA' untuk membentuk produk kedua yaitu Q. Secara eksperimen, mekanisme ini disebut sebagai mekanisme Ping Pong Bi Bi. "Bi" yang pertama mengindikasikan bahwa terdapat dua rektan pada reaksi ini, dan "Bi" yang kedua adalah untuk dua produk yang dihasilkan.



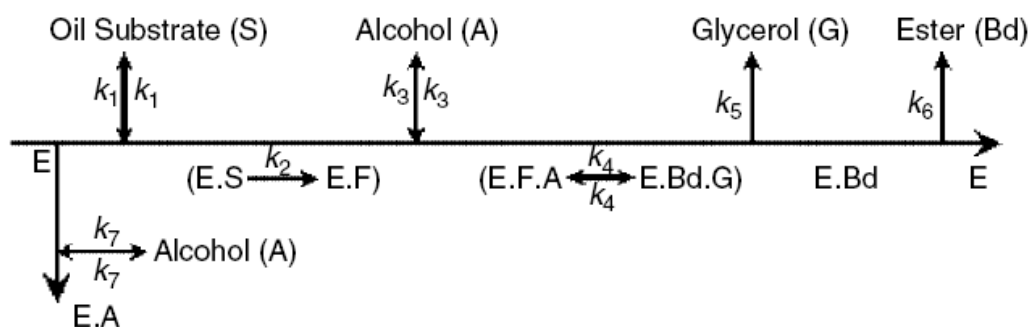
Gambar 2. 9 Mekanisme Ping Pong Bi Bi

Dengan mengaplikasikan kondisi *steady-state* pada mekanisme ini diperoleh persamaan laju berbentuk

$$v = \frac{V C_A C_B}{K_{mB} C_A + K_{mA} C_B + C_A C_B} \quad (2.12)$$

Mekanisme Ping Pong Bi Bi dapat dimodifikasi pada esterifikasi trigliserida berkatalis lipase dengan inhibisi kompetitif alkohol (Al-Zuhair dkk, 2005). Skema keseluruhan yang diusulkan adalah sebagai berikut.





**Gambar 2. 10** Esterifikasi trigliserida berkatalis lipase dengan inhibisi kompetitif alkohol (Al-Zuhair dkk, 2005)

Persamaan yang menyatakan laju reaksi trigliserida untuk mekanisme seperti di atas adalah sebagai berikut:

$$v = k_6 [E.Bd] = \frac{V_{\max} [S]}{1 + K_{IS} [S] + \frac{K_S}{[S]} \left( 1 + \frac{[A]}{K_{IA}} \right) + \frac{K_A}{[A]}} \quad (2.13)$$

## 2.4 State of The Art

Riset mengenai sintesis biodiesel yang telah dilakukan di dunia sampai saat ini didominasi oleh sintesis rute alkohol baik melalui reaksi transesterifikasi dan esterifikasi. Sedangkan studi untuk rute non alkohol sampai saat ini masih sedikit dilakukan. Berikut akan dijelaskan beberapa penelitian sintesis biodiesel dengan menggunakan lipase sebagai katalisnya.

### 2.4.1 Penelitian Sintesis Biodiesel Rute Alkohol

#### 2.4.1.1 Reaktor batch

Studi sintesis biodiesel dari minyak nabati yang dikatalisis oleh lipase dilakukan oleh Kaieda dkk pada tahun 1999. Penelitian ini menggunakan lipase dari *Rhizopus oryzae* dan reaksi yang terjadi adalah reaksi transesterifikasi minyak nabati oleh metanol (metanolisis) pada medium bebas pelarut organik. Kadar metil ester yang terdapat pada produk berkisar antara 80-90% berat campuran. Mekanisme reaksi yang terjadi meliputi reaksi hidrolisis dan esterifikasi. Minyak nabati pada awalnya mengalami hidrolisis oleh air dan kemudian asam lemak

yang terbentuk mengalami reaksi esterifikasi dengan alkohol (Kaieda, 1999). Kemudian dua tahun berikutnya, Ban dalam tulisannya juga melaporkan hasil studi sintesis biodiesel dari minyak nabati dengan metanol menggunakan biokatalis sel utuh dari *Rhizopus oryzae*. Reaksi terjadi secara *batch* dan produk metil ester yang dihasilkan mencapai 90% (Ban, 2001). Hasil yang diperoleh kedua peneliti ini tidak jauh berbeda dalam hal persentase konversi biodiesel yang terbentuk dikarenakan metode serta substrat yang digunakan hampir sama.

Pada tahun 2001 dilakukan studi sintesis biodiesel dari minyak biji bunga matahari yang kaya akan oleat oleh Dossat dkk. Reaksi berlangsung pada campuran fasa tunggal antara minyak biji bunga matahari yang kaya akan oleat, butanol, dan lipase yang terimobilisasi. Konversi asam oleat maksimum yang dihasilkan pada saat kesetimbangan termodinamik adalah sebesar 60%. Komposisi produk akhir bergantung pada konsentrasi substrat pada awal reaksi. Model yang diajukan merupakan model berbasis mekanisme Ping Pong Bi Bi dengan inhibisi kompetitif alkohol yang disederhanakan dari reaksi bertahap menjadi reaksi tunggal yaitu, satu mol trigliserida menjadi tiga mol ester. Dari model tersebut, didapatkan persamaan laju yang kemudian digunakan untuk keperluan *scale up* menjadi skala industri baik reaktor *batch* maupun kontinyu. Kecocokan antara laju eksperimen dan model sudah cukup baik dengan penyimpangan rata-rata yaitu sebesar 10%. Penyimpangan terbesar terjadi pada reaksi dengan konsentrasi substrat yang rendah di mana kesalahan eksperimental bernilai relatif besar. Konstanta Michaelis untuk trigliserida bernilai rendah, sedikit lebih baik daripada untuk asam oleat. Konstanta Michaelis untuk butanol juga terlihat lebih baik daripada konstanta Michaelis untuk etanol. (Dossat, 2001).

Iso dkk kemudian melakukan studi produksi biodiesel dari trigliserida dan alkohol menggunakan katalis lipase. Pada penelitian ini, lipase dari *Pseudomonas fluorescens* menunjukkan aktivitas tertinggi dalam reaksi. Lipase diimmobilisasi pada partikel kaolinit berpori. Konversi biodiesel yang dihasilkan tidak kurang dari 95% (Iso, 2001).

Penggunaan lipase dari *Candida antarctica* mulai dipelajari pada tahun 2002 oleh Kose dkk. Kose dkk melaporkan studi tentang reaksi alkoholisis minyak biji kapas pada medium bebas pelarut menggunakan lipase dari *Candida*

*antarctica* komersial Novozym 435. Pada penggunaan metanol sebagai akseptor asil serta pada temperatur 50 °C dan waktu reaksi 7 jam, konversi biodiesel yang didapat sebesar 91,5%. Pada kondisi yang sama, konversi minyak biji kapas dengan alkohol primer rantai pendek dan alkohol sekunder mencapai 72% dan 94%. Hasil studi ini membuktikan bahwa produk alkoholisis minyak biji kapas dapat digunakan sebagai hasil samping yang bernilai pada industri oleokimia (Kose, 2002). Pada tahun yang sama, Watanabe dkk menggunakan minyak kedelai yang telah diolah sebagai substrat untuk reaksi metanolisis dengan menggunakan lipase yang sama yaitu dari *Candida antarctica*. Hasil konversi biodiesel yang didapatkan mencapai 93,8%. Lipase tersebut dapat digunakan sampai 25 kali dan tidak terlihat pengurangan aktivitas enzim (Watanabe, 2002). Kemudian, Wang dkk pada tahun 2007 melakukan studi sintesis biodiesel menggunakan minyak goreng bekas sebagai substrat. Wang memproduksi biodiesel dari minyak goreng bekas yang memiliki nilai asam tinggi dengan bantuan ultrasonik. Lipase dari *Candida antarctica* kembali digunakan sebagai katalis dalam proses tersebut. Pada frekuensi ultrasonik sebesar 28 kHz dan daya sebesar 100 W dengan temperatur 40-50 °C, dicapai hasil konversi biodiesel sebesar 94,86% dalam waktu 50 menit. Hasil yang didapat dengan menggunakan metode ini jauh lebih tinggi dibandingkan pada pengadukan dengan metode konvensional yang hanya sebesar 84,43% (Wang, 2007). Sistem terbaik dalam penggunaan lipase *Candida antarctica* seperti yang telah dijelaskan di atas yaitu dengan menggunakan substrat dari minyak goreng bekas yang dibantu pengadukan ultrasonik. Hal ini dikarenakan dengan cara tersebut didapatkan *yield* biodiesel tertinggi.

Pada tahun 2004, Nouredini dkk melakukan eksperimen reaksi transesterifikasi enzimatis minyak kedelai dengan menggunakan lipase dari *Pseudomonas cepacia* sebagai katalis. Minyak kedelai direaksikan dengan metanol dan etanol. Hasil biodiesel yang didapat adalah sebesar 67% untuk reaksi metanolisis dan 65% untuk reaksi etanolisis (Nouredini, 2005). Pada tahun 2006, Shah dkk melakukan studi sintesis biodiesel melalui proses alkoholisis minyak jarak (*jatropha oil*) dengan katalis lipase. Shah dkk melakukan optimasi proses dengan cara melakukan pemilihan proses preparasi lipase yang tepat, variasi pH,

imobilisasi enzim, pengaruh jumlah air pada medium reaksi, variasi jumlah enzim yang digunakan, serta variasi temperatur reaksi. Produk biodiesel yang optimum, sebesar 98% berat, didapatkan dengan menggunakan enzim lipase dari *Pseudomonas cepacia* yang diimobilisasi pada *celite* pada temperatur 50 °C dengan kandungan air 4-5% berat selama 8 jam. Hal ini menunjukkan bahwa *yield* biodiesel tidak terpengaruh penggantian jenis alkohol yang digunakan dan biokatalis dapat digunakan sampai empat kali reaksi (Shah, 2006). Torres dkk melakukan studi kinetika untuk reaksi etanolisis minyak nabati yang dikatalisis lipase dari *Pseudomonas cepacia*. Metodologi yang digunakan berdasarkan waktu reaksi pseudo yang mengindikasikan berapa lama campuran reaksi harus tetap berada dalam reaktor untuk mendapatkan konversi yang dapat dicapai jika enzim belum terdeaktivasi. Waktu reaksi untuk mencapai penurunan aktivitas enzim sebesar 38% diverifikasi dengan data eksperimen etanolisis minyak bunga biji matahari dan hasil yang didapatkan cocok dengan data eksperimen tersebut (Torres, 2008).

Selanjutnya, pada tahun 2005, Al Zuhair dkk juga melakukan studi kinetika transesterifikasi enzimatik minyak nabati menjadi biodiesel. Data yang digunakan untuk validasi merupakan data eksperimen reaksi alkoholisis minyak biji bunga matahari yang dikatalisis oleh dua jenis lipase yaitu dari *Rhizomucor miehei* (RM) dan *Thermomyces lanuginosa* (TL). Reaksi digambarkan mengikuti mekanisme Ping Pong Bi Bi dengan inhibisi oleh alkohol. Model kinetika dimodifikasi di mana substrat tidak diasumsikan sebagai asam lemak bebas melainkan sebagai trigliserida di mana proses pembebasan asam lemak bebas diperhitungkan di sini. Pada penelitian ini, diketahui bahwa laju reaksi maksimum dengan menggunakan lipase RM lebih besar daripada dengan lipase TL. Hal ini dikarenakan lipase RM memiliki aktivitas metanolisis yang lebih besar dibandingkan lipase TL. Efek inhibisi alkohol yang lebih besar terjadi pada reaksi menggunakan lipase RM dikarenakan nilai  $K_{iA}$  lipase RM lebih besar daripada lipase TL. Pada konsentrasi substrat yang tinggi, laju reaksi awal meningkat seiring bertambahnya konsentrasi substrat dan/atau alkohol. Menaikkan konsentrasi awal substrat dapat mengurangi peluang terikatnya enzim dengan alkohol, sehingga pada konsentrasi substrat yang tinggi keseluruhan enzim akan

terikat dengan substrat. Sedangkan pada konsentrasi alkohol yang tinggi, akan menyebabkan enzim terikat seluruhnya dengan alkohol sehingga nilai inhibisi meningkat secara signifikan (Al Zuhair, 2005).

Studi kinetika juga dilakukan oleh Cheirsilp dkk. pada tahun 2008 untuk reaksi transesterifikasi minyak kelapa sawit dengan etanol yang dikatalisis oleh lipase dari *Pseudomonas sp.* Tiga model berbasis Ping Pong Bi Bi diajukan dengan perbedaan pada laju reaksi pembatas dan titik-titik di mana etanol terlibat dalam reaksi. Pada model pertama diasumsikan reaksi terjadi melalui dua tahap yaitu hidrolisis dan esterifikasi. Proses hidrolisis yang terjadi merupakan reaksi bertahap triasilgliserol, diasilgliserol, dan monoasilgliserol. Sedangkan reaksi esterifikasi asam-asam lemak bebas hasil hidrolisis merupakan reaksi pembentukannya. Model ini membutuhkan jalan masuk dan keluar reaktan dan produk sehingga mirip dengan mekanisme Ping Pong. Model kedua berbeda dengan model pertama pada tahap dekompleksasi enzim dan produk samping hasil hidrolisis. Sejatinya ketika substrat berikatan dengan enzim, terjadi reaksi hidrolisis dari ikatan ester dan membentuk kompleks asil campuran dari asam lemak bebas dan enzim. Pada model kedua, tahap ini diasumsikan berlangsung sangat cepat sehingga dapat diabaikan dan konstanta laju yang terlibat dapat dikurangi. Pada model ketiga, perbedaan terletak pada titik di mana molekul etanol terlibat dalam reaksi. Pada model ketiga, reaksi katalitik dibagi menjadi dua pola reaksi yaitu proses hidrolisis yang menghasilkan asam lemak bebas untuk selanjutnya mengalami reaksi esterifikasi dan proses etanolisis yang langsung membentuk etil ester. Kedua reaksi tersebut terjadi secara simultan sehingga terbentuk jaringan reaksi paralel untuk tiap-tiap kompleks asilgliserol (TAG, DAG, dan MAG). Simulasi menunjukkan bahwa reaksi cenderung mengikuti model ketiga daripada kedua model lainnya. (Cheirsilp, 2008).

Penggunaan minyak goreng bekas sebagai bahan baku pembuatan biodiesel mulai menjadi pertimbangan dikarenakan memiliki kejenuhan yang lebih tinggi dibandingkan minyak kelapa sawit sehingga mempermudah dalam proses konversi menjadi biodiesel. Shimada dkk melakukan metanolisis tiga tahap dari minyak goreng bekas dengan menggunakan lipase. Pada prosesnya, sepertiga bagian alkohol diumpankan saat awal reaksi, sepertiga berikutnya pada 10 jam

reaksi berjalan dan sepertiga terakhir pada 24 jam reaksi berjalan. Hasilnya menunjukkan bahwa terjadi pengurangan energi aktivasi pada penggunaan lipase (Shimada, 2003).

Bahaya akan limbah minyak goreng bekas juga menjadi salah satu pertimbangan dalam penggunaannya sebagai bahan baku. Nie dkk melakukan tiga langkah transesterifikasi dengan metanol dengan menggunakan serangkaian kolom mengandung dengan lipase *Candida sp.* 99-125. Sebagai substrat dalam reaksi tahap pertama, limbah minyak (dengan FFA, 46,75%; monogliserida, 1,44%; digliserida, 5,71%; dan trigliserida, 46,10%) digunakan bersama-sama dengan sekitar 1/3 molar metanol terhadap total asam lemak dalam minyak. Campuran yang pertama kedua-langkah dan 1/3 molar setara dengan metanol yang digunakan untuk langkah-langkah kedua dan ketiga reaksi. Lipase yang terimobilisasi memiliki temperatur optimal yang rendah dan menghasilkan produk tertinggi berada pada 40°C. Rasio konversi FAME pada kondisi optimal yaitu 92%. Namun, sekitar 15% kadar airnya penting bagi rasio konversi metil ester (Nie, 2006).

Pada tahun yang sama, Yagiz dkk melakukan sintesis biodiesel yang juga menggunakan minyak goreng bekas sebagai substratnya. Reaksi dikatalisis oleh lipase dari *Thermomyces lanuginosa* yang diimobilisasi pada hidrotalsit dan zeolit. Hasil yang memuaskan didapat pada reaksi metanolisis dengan menggunakan lipase yang diimobilisasi pada hidrotalsit yaitu sebesar 92,8% (Yagiz, 2007). Kemudian pada tahun 2009, Dizge dkk melakukan perbandingan proses produksi biodiesel dengan substrat minyak bunga matahari, minyak kedelai, dan minyak goreng bekas. Metode yang digunakan yaitu reaksi transesterifikasi dengan metanol (metanolisis) juga menggunakan katalis lipase dari *Thermomyces lanuginosa*, namun kali ini diimobilisasi pada polimer mikroporous. Hasil konversi biodiesel tertinggi dicapai oleh substrat minyak bunga matahari yaitu sebesar 97%, sedangkan substrat minyak goreng bekas mengalami konversi yang lebih rendah sebesar 90,2%. Hal ini dikarenakan kontaminan yang terdapat pada substrat minyak goreng bekas menghambat kinerja enzim (Dizge, 2009).

Studi kinetika untuk reaksi transesterifikasi enzimatis minyak goreng bekas dilakukan oleh De Paola dkk. Data yang digunakan untuk validasi yaitu data reaksi minyak zaitun dengan etanol menggunakan katalis lipase dari *Rhizomucor miehei*. Studi kinetika dilakukan menggunakan metode *response surface* berdasarkan model orde satu dan orde dua linier dengan pendekatan solusi optimal. Hasilnya adalah bahwa model dapat memprediksi kinerja reaksi pada rentang laju pengadukan dan jumlah enzim yang digunakan. Kinerja terbaik didapatkan pada pengadukan dan jumlah enzim yang tinggi (De Paola, 2009).

#### 2.4.1.2 Reaktor kontinyu

Profil reaksi reaktor kontinyu yang lebih baik dibandingkan reaktor *batch* membuat beberapa peneliti tertarik untuk melakukan reaksi pada reaktor *packed bed*. Reaktor *packed bed* digunakan untuk mengembangkan sintesis biodiesel menggunakan lipase yang diimobilisasi. Penelitian yang dilakukan oleh Hama ini menggunakan biokatalis sel keseluruhan (*whole-cell*) dari *Rhizopus oryzae* untuk mengkatalisis reaksi metanolisis minyak nabati. Biokatalis yang berupa sel aktif penghasil lipase *Rhizopus oryzae* diimobilisasi pada busa poliuretan. Proses emulsifikasi campuran reaktan meningkatkan performa laju reaksi metanolisis.. Pada laju campuran reaktan yang tinggi, terjadi pengelupasan sel-sel yang terimobilisasi pada medium imobilisasi, sedangkan pada laju reaksi rendah terjadi pencampuran yang tidak sempurna pada reaktan yang menyebabkan medium imobilisasi dilapisi lapisan hidrofilik sehingga aktivitas enzim mengalami penurunan yang cukup signifikan. *Yield* metil ester pada reaksi pertama pada laju alir sebesar 20 L/jam yaitu lebih 90% dan mencapai 80% pada siklus reaksi yang kesepuluh. Jika dibandingkan dengan reaksi pada botol yang dikocok, reaktor *packed bed* dapat meningkatkan performa reaksi dengan melindungi sel-sel terimobilisasi dari kerusakan dan kelebihan metanol (Hama, 2007).

Peneliti asal Malaysia juga melakukan studi mengenai sintesis biodiesel secara kontinyu pada reaktor *packed bed*. Halim dkk melakukan optimasi sintesis biodiesel dari minyak goreng bekas menggunakan metode *response surface* untuk mendapatkan prosedur yang optimal dalam memproduksi biodiesel dari minyak goreng bekas. *Yield* biodiesel yang diprediksi oleh metode ini 80,3% di mana nilai yang sebenarnya adalah 79%.. Hasil pemodelan yang cukup mewakili hasil

eksperimen tersebut menunjukkan bahwa pada reaksi sintesis biodiesel tersebut, *yield* biodiesel dikontrol oleh transfer massa (Halim, 2008).

Rosa dkk melakukan sintesis biodiesel dari FAEE pada fluida bertekanan secara kontinyu menggunakan reaktor *packed bed*. Fluida yang digunakan dalam reaksi ini meliputi karbondioksida, propana, dan n-butana dengan katalis Novozym 435. Pada penelitian ini dievaluasi pengaruh temperatur pada 30-70 °C, tekanan pada 50-100 bar, rasio minyak dengan metanol sebesar 1:6-1:18, dan rasio berat pelarut dengan substrat 4:1-10:1. Konversi biodiesel tertinggi (sekitar 65%) yang dicapai pada penelitian ini adalah dengan menggunakan fluida propana pada tekanan operasi sebesar 60 bar dan pada temperatur 70 °C (Rosa, 2009).

Optimasi sintesis biodiesel dengan katalis lipase telah dilakukan oleh Shieh dkk pada tahun 2002. Reaksi yang dioptimasi adalah reaksi transesterifikasi minyak kedelai dengan metanol menggunakan lipase dari *Rhizomucor miehei*. Metode yang digunakan dalam studi ini adalah metode *response surface* di mana hal-hal yang mempengaruhi jalannya reaksi seperti waktu reaksi, temperatur, jumlah enzim, rasio molar metanol minyak dengan kedelai dan kadar air yang ditambahkan diperhitungkan. Kondisi optimum yang didapat dari metode ini adalah pada waktu reaksi 6,3 jam, temperatur 36,5 °C, jumlah enzim 0,9 BAUN, rasio molar substrat 3,4:1, dan penambahan air sebesar 5,8%. Pada kondisi tersebut, konversi biodiesel yang dicapai adalah sebesar 92,2% berat (Shieh, 2002).

Optimasi juga dilakukan oleh Li dkk untuk reaksi transesterifikasi minyak goreng bekas menjadi biodiesel yang dikatalisis lipase dari *Rhizomucor miehei*. Pada reaksi ini, diketahui bahwa kandungan air hasil esterifikasi asam lemak bebas dengan metanol dapat mengurangi konversi biodiesel, sehingga diperlukan suatu cara agar air yang tersebut dapat dihilangkan. Silika gel menjadi salah satu alternatif adsorben yang digunakan. Hasil yang didapatkan yaitu tercapainya konversi biodiesel sebesar 92,8% setelah 7 jam, serta aktivitas enzim setelah 10 kali pemakaian yaitu sebesar 68,4% (Li, 2008).

Sintesis biodiesel pada reaktor *fixed bed* kemudian dilakukan oleh Chen dkk di mana minyak goreng bekas digunakan sebagai salah satu reaktannya. Campuran minyak goreng bekas, air, metanol, dan pelarut n-heksana dilewatkan



pada reaktor *fixed bed* tiga tahap. Pada reaktor tersebut sebelumnya telah diimobilisasikan enzim lipase dari *Candida sp.* Untuk selanjutnya digunakan untuk mengkonversi minyak goreng bekas menjadi biodiesel. Hasil biodiesel yang didapat adalah sebesar 91,08% pada kondisi optimum di mana sebagian besar biodiesel adalah metil oleat (Chen, 2008).

Selanjutnya, Maceiras dkk melakukan studi mengenai efek metanol pada produksi biodiesel dari minyak goreng bekas menggunakan lipase Novozym 435. Rasio molar metanol minyak yang optimal yaitu sebesar 25:1 dengan konsentrasi enzim sebesar 10% dari berat minyak yang digunakan. Konversi biodiesel optimum sebesar 89,1% tercapai setelah 4 jam reaksi pada temperatur 50 °C (Maceiras, 2009).

Pada tahun 2009, Varma dkk melakukan studi sintesis biodiesel nonkatalitik pada alkohol superkritis dan secara enzimatik karbondioksida superkritis. Hasil yang didapatkan adalah bahwa reaksi pada alkohol superkritis menghasilkan *yield* yang lebih besar daripada sintesis secara enzimatik pada karbondioksida superkritis yang hanya sebesar 70%. Model kinetika berbasis mekanisme Ping Pong Bi Bi digunakan untuk menggambarkan jalannya reaksi secara enzimatik (Varma, 2009).

#### **2.4.2 Penelitian Sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol**

Penelitian terhadap sintesis biodiesel secara enzimatik melalui rute non alkohol telah dilakukan oleh Du dkk pada tahun 2004. Du dkk melakukan komparasi produksi biodiesel dengan akseptor asil yang berbeda. Metanol dan metil asetat dibandingkan kinerjanya sebagai akseptor asil pada penelitian tersebut. Hal ini dikarenakan pada sintesis biodiesel pada umumnya merupakan reaksi transesterifikasi yang melibatkan alkohol, sedangkan alkohol itu sendiri merupakan zat yang dapat menghambat kinerja enzim dalam mengkatalisis reaksi sehingga digunakanlah metil asetat sebagai akseptor asil alternatif. Hasil yang didapatkan cukup memuaskan yaitu tercapainya konversi sebesar 92% dengan menggunakan metil asetat. Hasil yang dicapai menggunakan metanol tidak sebesar hasil dengan menggunakan metil asetat (Du, 2004).

Pada tahun berikutnya, Xu dkk melakukan studi kinetika reaksi transesterifikasi biodiesel. Xu menggunakan metil asetat sebagai akseptor asil

menggantikan peran metanol dalam reaksi interesterifikasi. *Yield* biodiesel yang didapatkan adalah 92%. Model kinetika stokiometrik orde dua dengan persamaan diferensial nonlinier digunakan untuk memprediksi perilaku sintesis biodiesel (Xu, 2004).

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 asetat/minyak 11:1 reaksi selama 12 jam pada suhu 50 °C (Modi, 2007).

Pada tahun 2009, Mendes dkk melakukan studi kinetika interesterifikasi biodiesel secara enzimatik trigliserida dengan metil asetat menggunakan lipase dari *Candida antarctica* pada reaktor *fluidized bed* kontinyu. Kinetika reaksi mengikuti mekanisme Ping Pong Bi Bi dengan inhibisi kompetitif substrat (Mendes, 2009).

Ognjanovic dkk melakukan penelitian tentang transesterifikasi minyak biji bunga matahari dengan metanol sebagai akseptor asil menjadi biodiesel menggunakan lipase dari *Candida antarctica* pada reaktor *packed-bed*. Reaksi terjadi pada medium bebas pelarut dengan konsentrasi enzim sebesar 3% berat minyak dan temperatur 45 °C serta rasio molar metanol terhadap minyak adalah 3:1. Pada kondisi reaksi ini, tercapai konversi minyak menjadi biodiesel sebesar >99% dengan waktu reaksi selama 50 jam. Penurunan aktivitas enzim terlihat jelas pada reaksi tersebut yang diakibatkan oleh penggunaan metanol. Oleh karena penurunan aktivitas enzim tersebut, dilakukan optimasi untuk stabilitas enzim dengan cara mengganti akseptor asil dari metanol menjadi metil asetat. Reaksi yang berlangsung antara minyak dan metil asetat merupakan reaksi interesterifikasi yang menghasilkan konversi sebesar 95,65%. Keunggulan reaksi interesterifikasi ini yaitu bahwa enzim memiliki waktu paruh yang lebih lama, sebesar 20,1 kali waktu paruh enzim untuk reaksi transesterifikasi. Reaksi yang berlangsung pada reaktor *packed bed* memiliki profil reaksi sedikit lebih baik daripada menggunakan reaktor *batch* (Ognjanovic, 2009).

Penelitian yang akan dilakukan akan melengkapi penelitian yang sudah ada dengan model kinetika unirespon berbasis Ping Pong Bi Bi pada interesterfikasi trigliserida untuk menghasilkan biodiesel melalui rute non alkohol.

Dengan orisinalitas dan pembaruan yang ada maka model kinetik ini sangat berpeluang untuk dipublikasikan dalam jurnal berskala nasional maupun internasional.

Hasil penelitian diharapkan mampu menggambarkan perilaku reaksi interesterfikasi biodiesel rute non alkohol dalam persamaan diferensial nonlinier. Bentuk persamaan diferensial nonlinier dapat menggambarkan jalannya reaksi dengan validitas yang cukup baik.

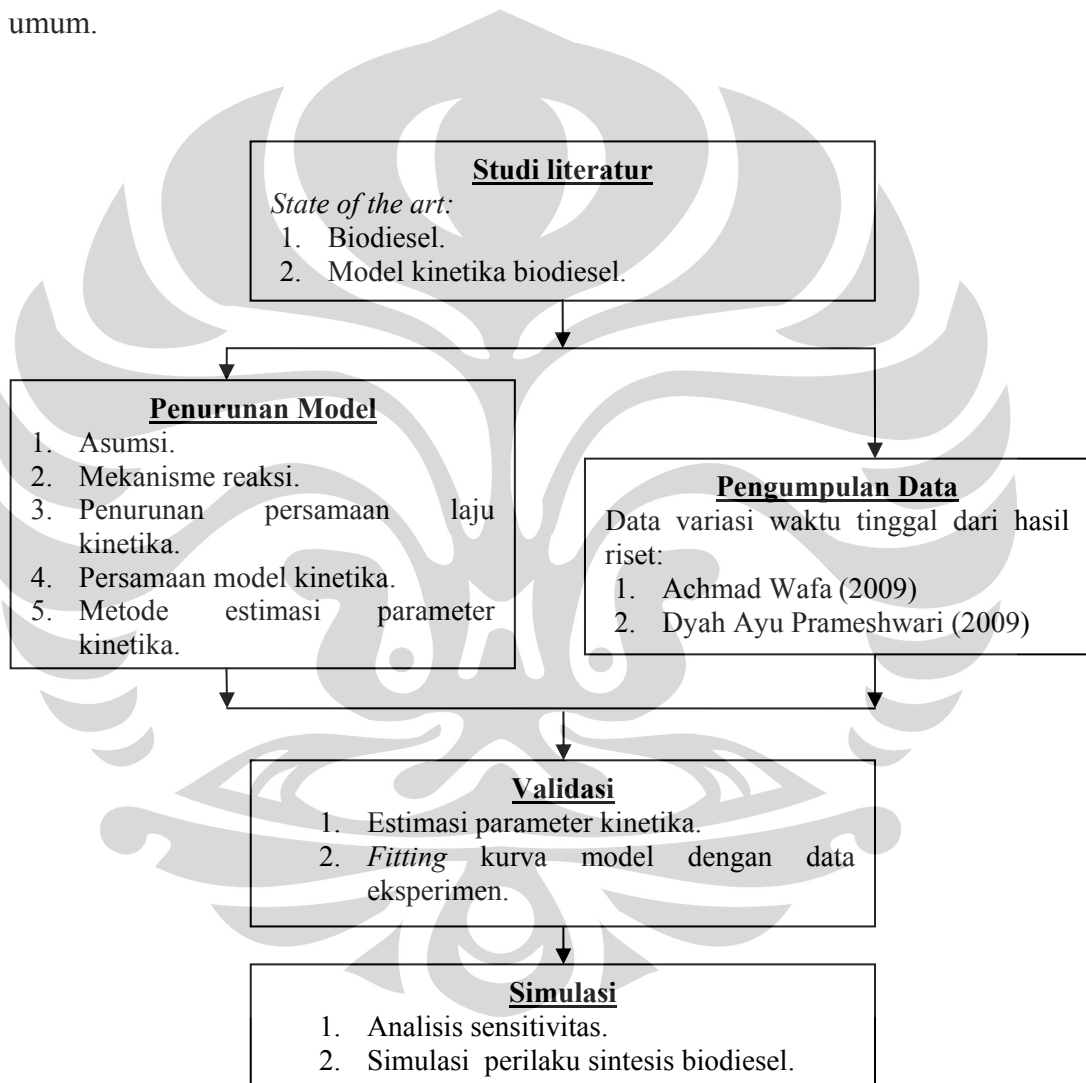
**Tabel 2. 5** Pemetaan studi sintesis biodiesel secara enzimatis

	Rute Alkohol		Rute Non Alkohol	
	Eksperimen	Model	Eksperimen	Model
<i>Batch</i>	Kaieda (1999) Dossat (2001) Iso (2001) Ban (2001) Kose (2002) Watanabe (2002) Nouredini (2005) Shah (2007) Wang (2007) Yagiz (2007) Maceiras (2009) Dizge (2009) Li (2009)	Dossat (2001) Shieh (2002) Al Zuhair (2005) Al Zuhair (2007) Cheirsilp (2008) De Paola (2009) Varma (2009)	Du (2004) Modi (2007)	Xu (2004)
<i>Kontinyu</i>	Nie (2006) Hama (2007)	Chen (2008) Halim (2008) Rosa (2009)	Ognjanovic (2009)	Mendes (2009) <b>Riset ini</b>

### BAB 3

## METODOLOGI PENELITIAN

Metode yang dilakukan dalam penelitian ini akan dibagi menjadi empat tahap utama yaitu studi literatur, penurunan model dan pengumpulan data, validasi model, dan simulasi. Gambar 3.1 memperlihatkan alur penelitian secara umum.



**Gambar 3.1** Diagram alir penelitian studi kinetika sintesis biodiesel rute non-alkohol

### 3.1 Penurunan Model

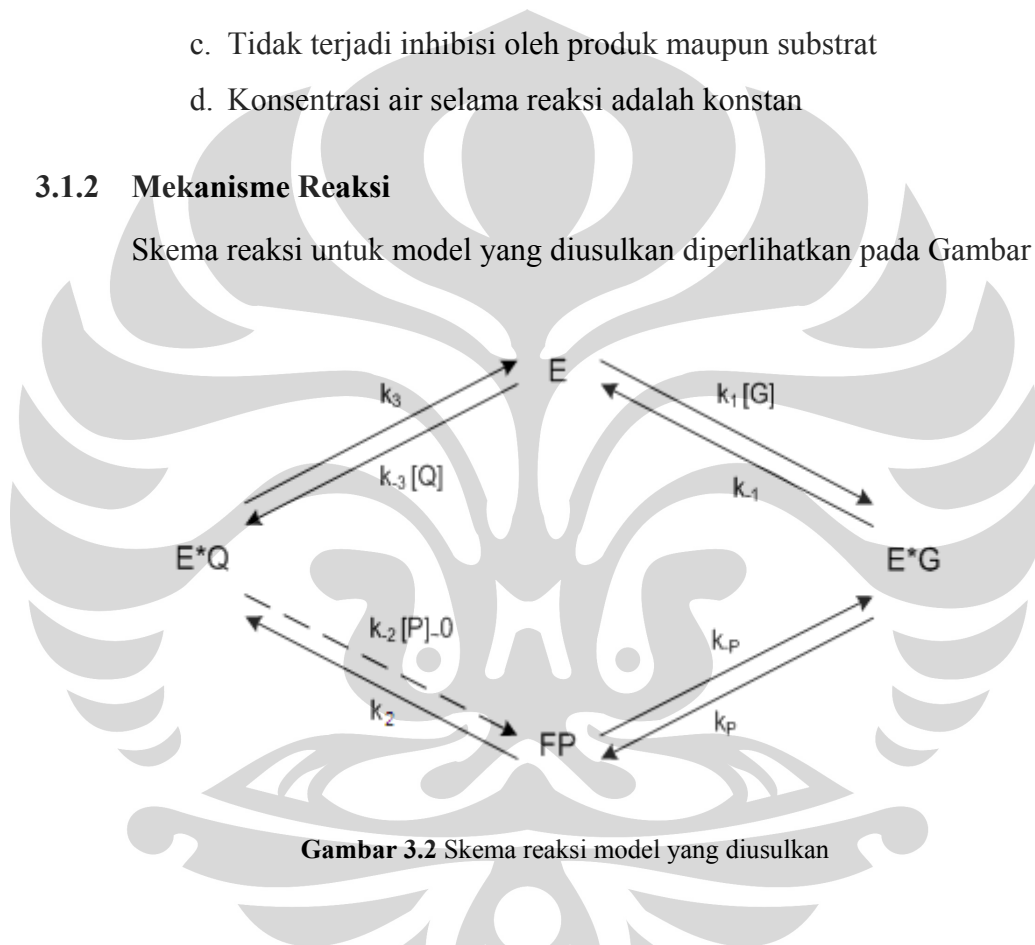
#### 3.1.1 Asumsi

Pada penelitian ini, asumsi untuk model yang diusulkan adalah:

- Reaksi interesterifikasi antara asam lemak dan gliserol terjadi secara enzimatis sesuai dengan mekanisme yang diajukan.
- Reaksi mengikuti kinetika orde 1 terhadap setiap substansi yang terlibat.
- Tidak terjadi inhibisi oleh produk maupun substrat
- Konsentrasi air selama reaksi adalah konstan

#### 3.1.2 Mekanisme Reaksi

Skema reaksi untuk model yang diusulkan diperlihatkan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema reaksi model yang diusulkan

#### 3.1.3 Penurunan Persamaan Laju Reaksi

Konsentrasi tiap kompleks enzim-substrat:

$$\bullet \quad [EG] = \frac{k_1}{k_{-1}} [E][G] \quad (3.1)$$

$$\bullet \quad [FP] = \frac{k_p k_1}{k_{-p} k_{-1}} [E][G] \quad (3.2)$$

$$\bullet \quad [EQ] = \frac{k_{-3}}{k_3} [E][Q] \quad (3.3)$$

Neraca material enzim keseluruhan:

$$[E]_{tot} = [E] + [EG] + [FP] + [EQ] \quad (3.4)$$

Kombinasi Persamaan 3.1 sampai Persamaan 3.4:

$$[E]_{tot} = [E] + [EG] + [FP] + [EQ] = [E] + \frac{k_1}{k_{-1}}[E][G] + \frac{k_p k_1}{k_{-p} k_{-1}}[E][G] + \frac{k_{-3}}{k_3}[E][Q]$$

$$[E]_{tot} = [E] \left[ 1 + \left( \frac{k_1}{k_{-1}} + \frac{k_p k_1}{k_{-p} k_{-1}} \right) [G] + \frac{k_{-3}}{k_3} [Q] \right]$$

sehingga,

$$[E] = \frac{[E]_{tot}}{1 + \left( \frac{k_1}{k_{-1}} + \frac{k_p k_1}{k_{-p} k_{-1}} \right) [G] + \frac{k_{-3}}{k_3} [Q]} \quad (3.5)$$

Laju reaksi untuk reaksi interesterifikasi, yaitu:

$$r_{int} = -\frac{d[G]}{dt} = k_2 [FP] \quad (3.6)$$

Substitusi Persamaan 3.2 ke Persamaan 3.6:

$$r_{int} = -\frac{d[G]}{dt} = k_2 \frac{k_p k_1}{k_{-p} k_{-1}} [E][G] \quad (3.7)$$

Substitusi Persamaan 3.5 ke Persamaan 3.7:

$$r_{int} = -\frac{d[G]}{dt} = \frac{k_2 \frac{k_p k_1}{k_{-p} k_{-1}} [E]_{tot} [G]}{1 + \left( \frac{k_1}{k_{-1}} + \frac{k_p k_1}{k_{-p} k_{-1}} \right) [G] + \frac{k_{-3}}{k_3} [Q]} \quad (3.8)$$

Penyusunan ulang Persamaan 3.8 menghasilkan Persamaan 3.9 dan 3.10:

$$r_{int} = -\frac{d[G]}{dt} = \frac{\left( \frac{k_2 k_p k_1 [E]_{tot}}{k_{-p} k_{-1}} \right) \left( \frac{k_p + k_{-p}}{k_p + k_{-p}} \right) [G]}{1 + \left( \frac{k_1 (k_{-p} + k_p)}{k_{-p} k_{-1}} \right) [G] + \frac{k_{-3}}{k_3} [Q]}$$

$$r_{\text{int}} = \frac{\left( \frac{k_2 k_p [E]_{\text{tot}}}{k_p + k_{-p}} \right) [G]}{\left( \frac{k_{-p} k_{-1}}{k_1 (k_p + k_{-p})} \right) [G] + \frac{[Q]}{\left( \frac{k_3}{k_{-3}} \right)}} \quad (3.9)$$

$$r_{\text{int}} = \frac{\frac{v_{\text{max}}}{K_{m,G}} [G]}{1 + \frac{[G]}{K_{m,G}} + \frac{[Q]}{K_{i,Q}}} \quad (3.10)$$

Di mana:

$$v_{\text{max}} = \frac{k_2 k_p [E]_{\text{tot}}}{k_p + k_{-p}} \quad (3.11)$$

$$K_{m,G} = \frac{k_{-p} k_{-1}}{k_1 (k_p + k_{-p})} \quad (3.12)$$

$$K_{i,Q} = \frac{k_3}{k_{-3}} \quad (3.13)$$

Diketahui:

$$[Q] = [G]_0 - [G] \quad (3.14)$$

Penyusunan ulang Persamaan 3.10 dengan menggunakan Persamaan 3.14:

$$r_{\text{int}} = \frac{\frac{v_{\text{max}}}{K_{m,G}} [G]}{1 + \frac{[G]}{K_{m,G}} + \frac{[G]_0 - [G]}{K_{i,Q}}}$$

$$r_{\text{int}} = \frac{\frac{v_{\text{max}}}{K_{m,G}} [G]}{K_{m,G} K_{i,Q} + K_{i,Q} [G] + K_{m,G} ([G]_0 - [G])} = \frac{v_{\text{max}} K_{i,Q} [G]}{K_{m,G} K_{i,Q} + K_{i,Q} [G] + K_{m,G} [G]_0 - K_{m,G} [G]}$$

$$r_{\text{int}} = \frac{v_{\text{max}} K_{i,Q} [G]}{K_{m,G} K_{i,Q} + K_{m,G} [G]_0 + (K_{i,Q} - K_{m,G}) [G]} \left( \frac{K_{m,G} K_{i,Q} + K_{m,G} [G]_0}{K_{m,G} K_{i,Q} + K_{m,G} [G]_0} \right)$$

$$r_{\text{int}} = \frac{\frac{v_{\text{max}} K_{i,Q} [G]}{K_{m,G} (K_{i,Q} + [G]_0)}}{1 + \frac{(K_{i,Q} - K_{m,G}) [G]}{K_{m,G} (K_{i,Q} + [G]_0)}} \quad (3.15)$$

$$r_{\text{int}} = \frac{\theta_1 [G]}{1 + \theta_2 [G]} \quad (3.16)$$

Di mana:

$$\theta_1 = \frac{v_{\text{max}} K_{i,Q}}{K_{m,G} (K_{i,Q} + [G]_0)} \quad (3.17)$$

$$\theta_2 = \frac{(K_{i,Q} - K_{m,G})}{K_{m,G} (K_{i,Q} + [G]_0)} \quad (3.18)$$

## 3.2 Validasi

### 3.2.1 Estimasi Parameter Kinetika

Metode estimasi parameter kinetika (konstanta reaksi) ditentukan dengan menggunakan metode Regresi Linier. Persamaan 3.16 dimodifikasi sedemikian rupa sehingga mengikuti bentuk umum persamaan Regresi Linier.

$$r_{\text{int}} = \frac{\theta_1 [G]}{1 + \theta_2 [G]} = - \frac{d[G]}{dt}$$

$$- \frac{dt}{d[G]} = \frac{1}{\theta_1 [G]} + \frac{\theta_2}{\theta_1}$$

$$- \frac{dt}{d[G]} = \frac{1}{\theta_1} \cdot \frac{1}{[G]} + \frac{\theta_2}{\theta_1} \quad (3.19)$$



Persamaan 3.19 kemudian diubah menjadi persamaan Regresi Linier.

$$Y = aX + b \quad (3.20)$$

Di mana

$$Y = -\frac{dt}{d[G]} \quad (3.21)$$

$$X = \frac{1}{[G]} \quad (3.22)$$

$$a = \frac{1}{\theta_1} \quad (3.23)$$

$$b = \frac{\theta_2}{\theta_1} \quad (3.24)$$

Nilai X dan Y di atas kemudian diplot ke dalam grafik untuk mendapatkan nilai  $a$  dan  $b$  sehingga didapatkan nilai parameter  $\theta_1$  dan  $\theta_2$  yang optimal. Nilai  $[G]$  yang digunakan pada persamaan di atas adalah nilai  $[G]$  hasil eksperimen.

### 3.2.2 Fitting Kurva

Prosedur yang digunakan dalam melakukan validasi adalah melalui *fitting* (pencocokan) antara data perhitungan yang mengacu pada model dan data eksperimen. Metode Runge-Kutta-Fehlberg digunakan dalam mengintegrasikan persamaan diferensial biasa yang mewakili persamaan laju substrat.

$$k_1 = \Delta t f(t^n, y^n) \quad (3.25)$$

$$k_2 = \Delta t f\left(t^n + \frac{\Delta t}{4}, y^n + \frac{k_1}{4}\right) \quad (3.26)$$

$$k_3 = \Delta t f\left(t^n + \frac{3}{8}\Delta t, y^n + \frac{3}{32}k_1 + \frac{9}{32}k_2\right) \quad (3.27)$$

$$k_4 = \Delta t f\left(t^n + \frac{12}{13}\Delta t, y^n + \frac{1932}{2197}k_1 - \frac{7200}{2197}k_2 + \frac{7296}{2197}k_3\right) \quad (3.28)$$

$$k_5 = \Delta t f\left(t^n + \Delta t, y^n + \frac{439}{216}k_1 - 8k_2 + \frac{3680}{513}k_3 - \frac{845}{4104}k_4\right) \quad (3.29)$$

$$k_6 = \Delta t f\left(t^n + \frac{\Delta t}{2}, y^n - \frac{8}{27}k_1 + 2k_2 - \frac{3544}{2565}k_3 + \frac{1859}{4104}k_4 - \frac{11}{40}k_5\right) \quad (3.30)$$

$$y^{n+1} = y^n + \frac{25}{216}k_1 + \frac{1408}{2565}k_3 + \frac{2197}{4104}k_4 - \frac{1}{5}k_5 \quad (3.31)$$

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

$$r_{\text{int}} = \frac{\theta_1[G]}{1 + \theta_2[G]} \quad (3.32)$$

Data yang didapatkan dari hasil metode Runge-Kutta-Fehlberg ini nantinya akan diplot untuk dibandingkan dengan data hasil eksperimen.



## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan variasi laju alir dilakukan untuk melihat pengaruh waktu tinggal terhadap total konsentrasi biodiesel yang dihasilkan. Model yang telah diperoleh pada Bab 3 disesuaikan terhadap data eksperimen menggunakan metode numerik. Metode numerik yang digunakan adalah Runge-Kutta-Fehlberg (Hoffman, 1992). Metode Regresi Linier juga digunakan guna memprediksi parameter yang tidak diketahui untuk memperoleh *fitting* terbaik untuk model.

Data penelitian yang digunakan untuk fitting kurva berasal dari penelitian sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol yang dilakukan oleh Dyah Ayu dan Achmad Wafa. Kondisi reaksi pada penelitian tersebut adalah sebagai berikut:

1. Substrat yang digunakan adalah minyak kelapa sawit baru dan bekas pakai.
2. Konsentrasi awal ikatan gliserida adalah 0,055952 M
3. Perbandingan molar metil asetat dan minyak kelapa sawit adalah 12:1.
4. Temperatur reaksi 37°C.
5. Enzim yang digunakan adalah *Candida rugosa* Lipase yang diimmobilisasi pada zeolit alam Lampung.
6. Konsentrasi enzim yang terimmobilisasi pada zeolit adalah 75,04%.

Pada model interesterifikasi, parameter yang harus dilakukan penyesuaian untuk memberikan *fitting* terbaik adalah  $\theta_1$  dan  $\theta_2$ .  $\theta_1$  dan  $\theta_2$  merupakan parameter yang berhubungan terhadap model Michaelis-Menten, yakni konstanta Michaelis ( $K_M$ ), konstanta inhibisi, dan  $v_{max}$ .

**Tabel 4. 1** Data eksperimen minyak goreng baru yang digunakan

$\tau$	Konsentrasi (mol/L)				
	Ct	Cd	Cm	Cb	G
0	0,0182	0,0005	0,0003	0,0000	0,0560
1	0,0101	0,0078	0,0009	0,0092	0,0467
1,8	0,0064	0,0113	0,0011	0,0128	0,0429
2,5	0,0053	0,0122	0,0011	0,0140	0,0414
5	0,0030	0,0129	0,0012	0,0212	0,0360

**Tabel 4. 2** Data eksperimen minyak goreng bekas yang digunakan

$\tau$	Konsentrasi (mol/L)				
	Ct	Cd	Cm	Cb	G
0	0,0182	0,0005	0,0003	0,0000	0,0560
1	0,0101	0,0061	0,0009	0,0126	0,0433
1,8	0,0054	0,0063	0,0011	0,0233	0,0297
2,5	0,0023	0,0068	0,0011	0,0352	0,0215
5	0,0016	0,0071	0,0012	0,0402	0,0203

## 4.1 Validasi

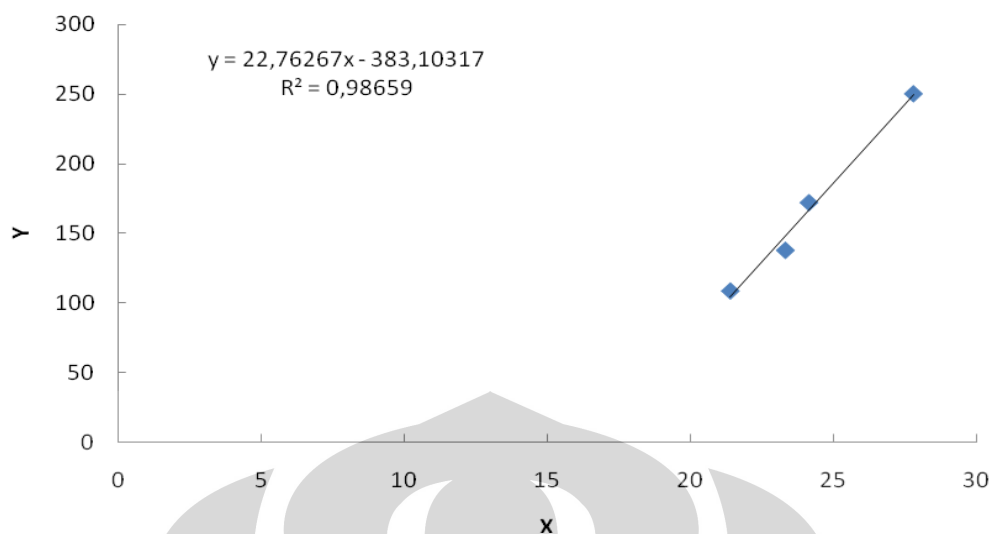
### 4.1.1 Estimasi Parameter Kinetika

Untuk mendapatkan *error* yang kecil perlu dilakukan estimasi parameter kinetika. Estimasi ini dilakukan menggunakan metode Regresi Linier dengan melakukan sedikit modifikasi pada Persamaan 3.16 yang telah dilakukan pada Bab 3.

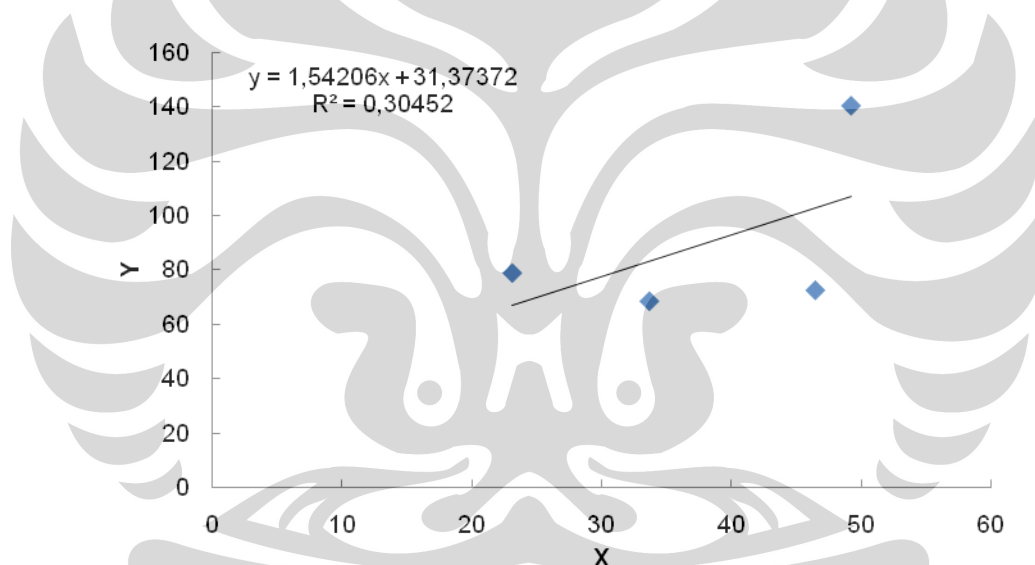
**Tabel 4. 3** Nilai X dan Y hasil regresi untuk setiap jenis minyak goreng

Y		X	
Baru	Bekas	Baru	Bekas
108,2797	78,9418	21,4055	23,1029
137,5995	68,5990	23,3259	33,6555
171,9123	72,6268	24,1488	46,4475
250,3451	140,3448	27,7934	49,1988

Dari data X dan Y di atas kemudian dibuat plot grafik untuk mendapatkan persamaan regresi sehingga didapatkan nilai konstanta-konstanta regresi.



**Gambar 4. 1** Plot Regresi Linier data eksperimen dengan bahan baku minyak goreng baru



**Gambar 4. 2** Plot Regresi Linier data eksperimen dengan bahan baku minyak goreng bekas

Dari plot regresi di atas, didapatkan persamaan regresi  $Y = 22,7627X - 383,1032$  dengan derajat kelinieran garis  $R^2 = 0,9866$  untuk eksperimen dengan bahan baku minyak goreng baru dan  $Y = 1,5421X + 31,3737$  dengan derajat kelinieran garis  $R^2 = 0,3045$  untuk eksperimen dengan bahan baku minyak goreng bekas. Nilai-nilai ini kemudian disubstitusikan ke dalam Persamaan 3.21 sampai Persamaan 3.24 untuk mendapatkan nilai parameter-parameter kinetika, yaitu nilai  $\theta_1$  dan  $\theta_2$  yang optimal.

Tabel 4. 4 Nilai parameter kinetika hasil regresi

Parameter	Nilai	
	Minyak Goreng Baru	Minyak Goreng Bekas
$\theta_1$	0,0439	0,6485
$\theta_2$	-16,8303	20,3453

Jika ditinjau dari persamaan masing-masing parameter kinetika, di mana pada parameter  $\theta_1$  terdapat variabel  $v_{max}$  sebagai numerator, maka dapat diketahui dari nilai  $\theta_1$  yang lebih kecil daripada nilai  $\theta_2$  bahwa nilai kecepatan maksimum reaksi bernilai lebih kecil daripada selisih antara konstanta inhibisi produk dan konstanta Michaelis substrat. Nilai  $v_{max}$  inilah yang nantinya akan mempengaruhi produk biodiesel yang terbentuk untuk setiap waktu tinggal.

Parameter untuk reaksi dengan substrat minyak goreng baru bernilai negatif yang menunjukkan bahwa model kurang sesuai untuk jenis substrat tersebut sehingga untuk reaksi dengan jenis substrat tersebut tidak dilakukan simulasi.

#### 4.1.2 Fitting Kurva

Setelah mendapatkan nilai parameter-parameter kinetika dari reaksi sintesis biodiesel ini, tahap selanjutnya yang dilakukan adalah *fitting* kurva. Metode numerik, yakni metode Runge-Kutta-Fehlberg digunakan untuk memperoleh nilai konsentrasi biodiesel untuk disetiap waktu tinggal. *Increment* yang digunakan dalam metode ini adalah 0,1 jam, dengan rentang waktu tinggal 0 hingga 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:

$$[G]_0 = 3 [TG] + 2 [DG] + [MG] + [FAME] \quad (4.1)$$

Sedangkan nilai  $y(t)$  dihitung menggunakan metode Runge-Kutta-Fehlberg. 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:

$$[B] = [G]_0 - [G] \quad (4.2)$$

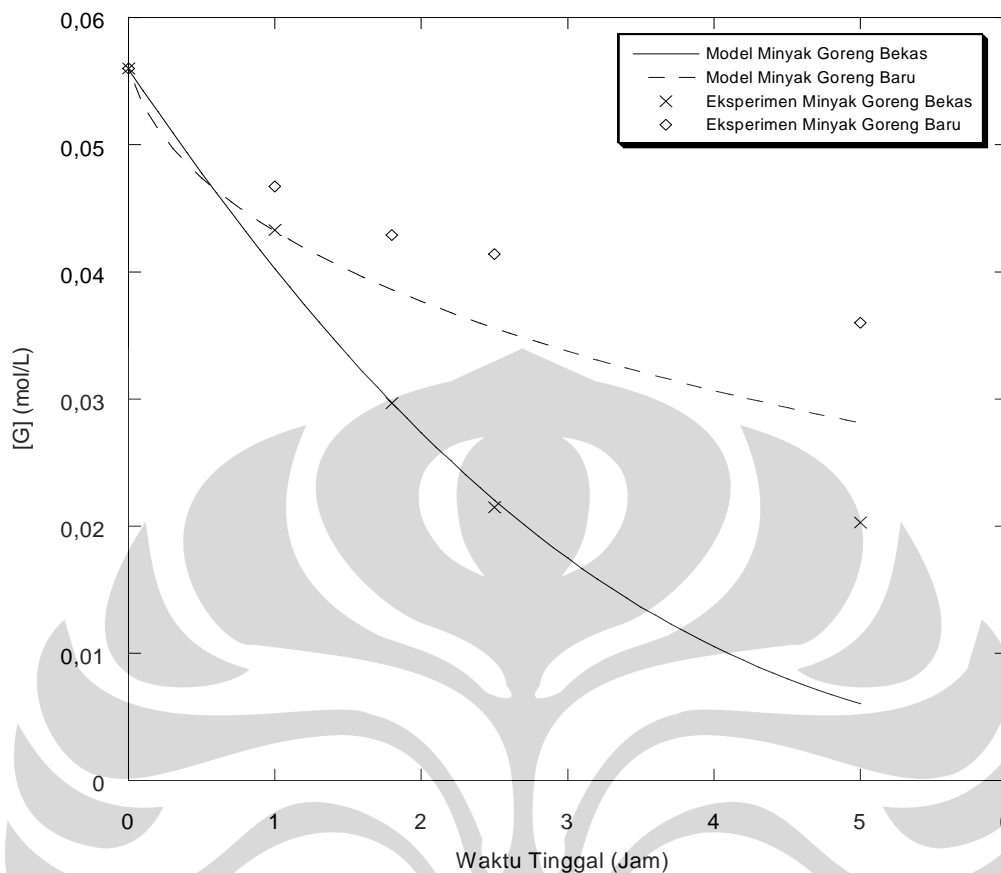
Berikut merupakan contoh dari hasil perhitungan menggunakan metode Runga-Kutta-Fehlberg:

**Tabel 4. 5** Contoh hasil perhitungan metode Runga-Kutta-Fehlberg

x	y	k1	k2	k3	k4	k5	k6
0	0,0559522	-0,00169	-0,00169	-0,00168	-0,00167	-0,00167	-0,00168
0,1	0,0542675	-0,00162	-0,00166	-0,00166	-0,00164	-0,00164	-0,00166
0,2	0,0526073	-0,00147	-0,00164	-0,00163	-0,00162	-0,00162	-0,00163
0,3	0,050972	-0,00162	-0,00161	-0,00161	-0,00159	-0,00159	-0,00160
0,4	0,0493621	-0,00159	-0,00159	-0,00158	-0,00157	-0,00157	-0,00158
0,5	0,047778	-0,00157	-0,00156	-0,00156	-0,00154	-0,00154	-0,0015
1,1	0,0388372	-0,00140	-0,00139	-0,00139	-0,00138	-0,00137	-0,00139
1,2	0,0374446	-0,00137	-0,00137	-0,00136	-0,00135	-0,00134	-0,00136
1,3	0,0360808	-0,00134	-0,00134	-0,00133	-0,00132	-0,00132	-0,00133
1,4	0,0347461	-0,00132	-0,00131	-0,0013	-0,00129	-0,00129	-0,00130
1,5	0,0334408	-0,00129	-0,00128	-0,00127	-0,00126	-0,00126	-0,00127
1,6	0,032165	-0,00126	-0,00125	-0,00125	-0,00123	-0,00123	-0,00125
1,7	0,030919	-0,00123	-0,00122	-0,00122	-0,0012	-0,0012	-0,00122
1,8	0,029704	-0,00121	-0,00119	-0,00119	-0,00117	-0,00117	-0,00119
1,9	0,028518	-0,00117	-0,00116	-0,00116	-0,00114	-0,00114	-0,00116
2	0,027363	-0,00114	-0,00113	-0,00113	-0,00111	-0,00111	-0,00112
2,1	0,026238	-0,00111	-0,0011	-0,0011	-0,00108	-0,00108	-0,00109
2,2	0,025144	-0,00108	-0,00107	-0,00107	-0,00105	-0,00105	-0,00106
2,3	0,024081	-0,00105	-0,00104	-0,00104	-0,00102	-0,00102	-0,00103
2,4	0,023048	-0,00102	-0,00101	-0,00101	-0,00099	-0,00099	-0,001
2,5	0,022046	-0,00099	-0,00098	-0,00098	-0,00096	-0,00096	-0,00097
2,6	0,021074	-0,00096	-0,00095	-0,00095	-0,00093	-0,00093	-0,00094
2,7	0,020133	-0,00093	-0,00092	-0,00091	-0,0009	-0,0009	-0,00091
2,8	0,019222	-0,0009	-0,00089	-0,00088	-0,00087	-0,00087	-0,00088
2,9	0,018341	-0,00087	-0,00086	-0,00086	-0,00084	-0,00084	-0,00085
3	0,017489	-0,00084	-0,00083	-0,00083	-0,00081	-0,00081	-0,00082

\*Keseluruhan perhitungan terdapat pada lampiran

Gambar 4.3 di bawah ini merupakan hasil *fitting* kurva konsentrasi ikatan gliserida yang tidak bereaksi dengan nilai parameter  $\theta_1$  dan  $\theta_2$  hasil regresi untuk kedua jenis substrat. Dapat terlihat bahwa hasil antara simulasi dan eksperimen memiliki perbedaan yang tidak terlalu besar.



**Gambar 4.3** Fitting kurva antara data simulasi dengan data eksperimen untuk konsentrasi ikatan gliserida yang tidak bereaksi

Pada gambar di atas dapat dilihat bahwa konsentrasi ikatan gliserida yang tidak bereaksi pada kedua data mengalami penurunan seiring bertambahnya waktu tinggal. Semakin lama waktu tinggal, maka kontak antara substrat dan enzim juga akan semakin lama sehingga akan semakin banyak pula ikatan gliserida yang bereaksi.

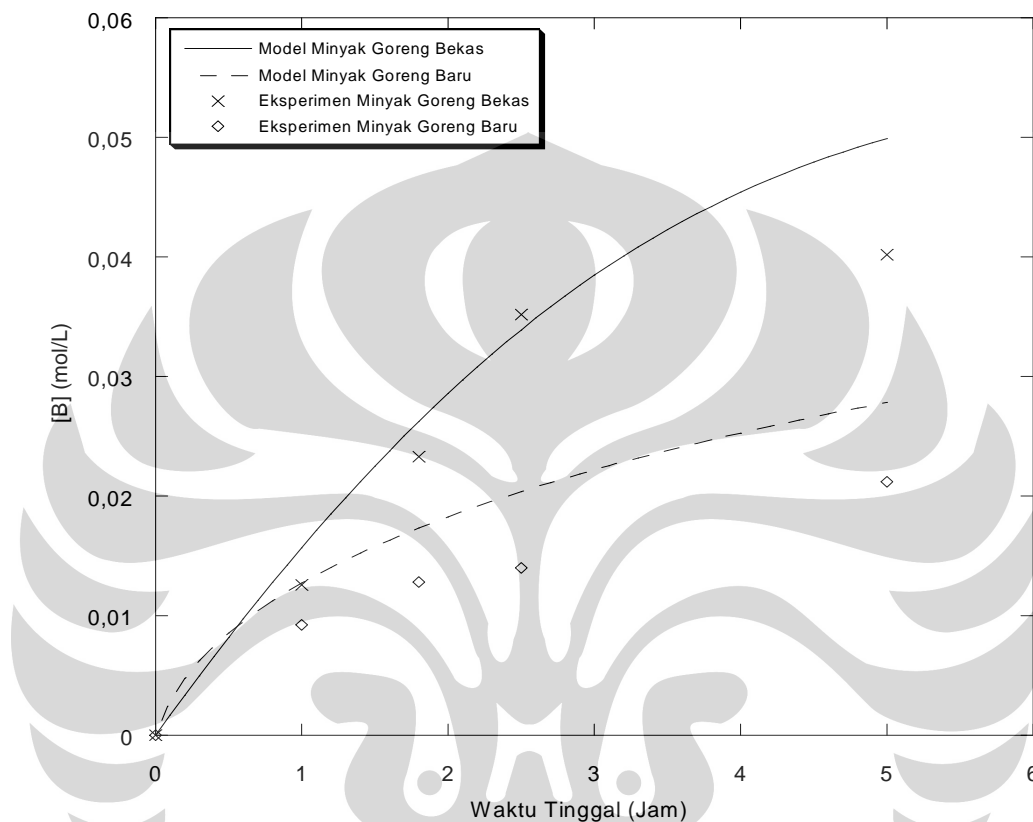
Kemudian konsentrasi biodiesel setiap waktu tinggal dihitung dari nilai  $y(0)$  dan  $y(t)$ .

**Tabel 4.6** Contoh hasil perhitungan konsentrasi biodiesel

$\tau$ (jam)	[B](mol/L)
0	0,0000
0,1	0,0017
0,2	0,0033
0,3	0,0050
0,4	0,0066
0,5	0,0082



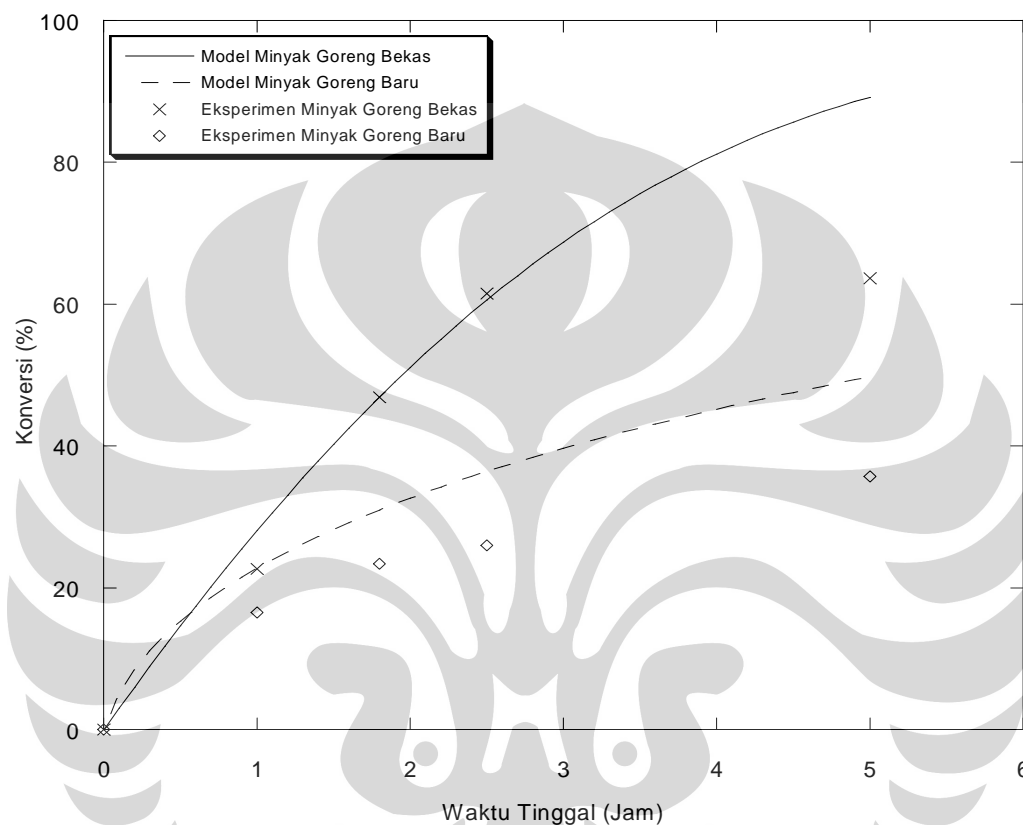
Pada Gambar 4.4, yang merupakan profil konsentrasi biodiesel, juga terlihat perbedaan yang tidak terlalu besar antara data simulasi dan data eksperimen.



**Gambar 4.4** *Fitting* kurva antara data model dengan data eksperimen untuk konsentrasi biodiesel yang terbentuk

Konversi yang didapat untuk substrat minyak goreng baru lebih rendah dibandingkan konversi pada minyak goreng baru dikarenakan jumlah asam lemak bebas pada minyak goreng bekas lebih banyak sehingga mempercepat reaksi esterifikasi dengan metil asetat. Sedangkan pada minyak goreng baru yang memiliki kandungan asam lemak bebas rendah, asam lemak yang masih terikat dengan struktur gliserol harus mengalami reaksi hidrolisis terlebih dahulu sehingga waktu reaksi yang dibutuhkan lebih lama daripada minyak goreng bekas. Hal ini didasarkan pada asumsi kinetika reaksi interesterifikasi mirip dengan kinetika reaksi transesterifikasi yang meliputi dua tahap reaksi yakni reaksi hidrolisis dan esterifikasi (Cheirsilp, 2008).

Bentuk kurva data hasil simulasi sudah menunjukkan *trend* yang sesuai dengan data hasil eksperimen. Nilai *error* yang ada sudah mencapai nilai yang diinginkan yaitu  $<10^{-3}$ , sehingga model dapat dikatakan sesuai dengan hasil eksperimen dan layak digunakan untuk simulasi.



**Gambar 4. 5** *Fitting* kurva antara data simulasi dengan data eksperimen untuk persentase konversi gliserida menjadi biodiesel untuk tiap jenis minyak goreng

Sekilas, terlihat bahwa deaktivasi enzim sama sekali tidak berefek dalam konversi. Namun setelah menyimak Gambar 4.5 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.

#### 4.2 Analisis Sensitivitas

Setelah nilai konstanta diperoleh, dilakukan analisis sensitivitas dilakukan untuk memeriksa sensitivitas parameter yang telah didapatkan sebelumnya. Analisis sensitivitas ini dilakukan dengan cara mengubah nilai parameter yang telah diperoleh sebelumnya menjadi dua kali dan setengah kalinya, kemudian melihat kesalahan yang dihasilkan.

Konstanta kinetika dikatakan baik jika cukup sensitif, yaitu perubahan nilai konstanta tersebut menghasilkan *error* yang signifikan.

**Tabel 4. 7** Analisis sensitivitas untuk konstanta kinetika reaksi menggunakan bahan baku minyak goreng baru

Konstanta	Nilai	Error	% deviasi
$\theta_1$	0,0220	$1,8412 \cdot 10^{-6}$	98,43
	0,0439	$1,1764 \cdot 10^{-4}$	0
	0,0659	$3,5787 \cdot 10^{-4}$	204,20
$\theta_2$	-8,4152	$8,8663 \cdot 10^{-5}$	24,64
	-16,8303	$1,1764 \cdot 10^{-4}$	0
	-25,2455	$3,2114 \cdot 10^{-3}$	2629,72

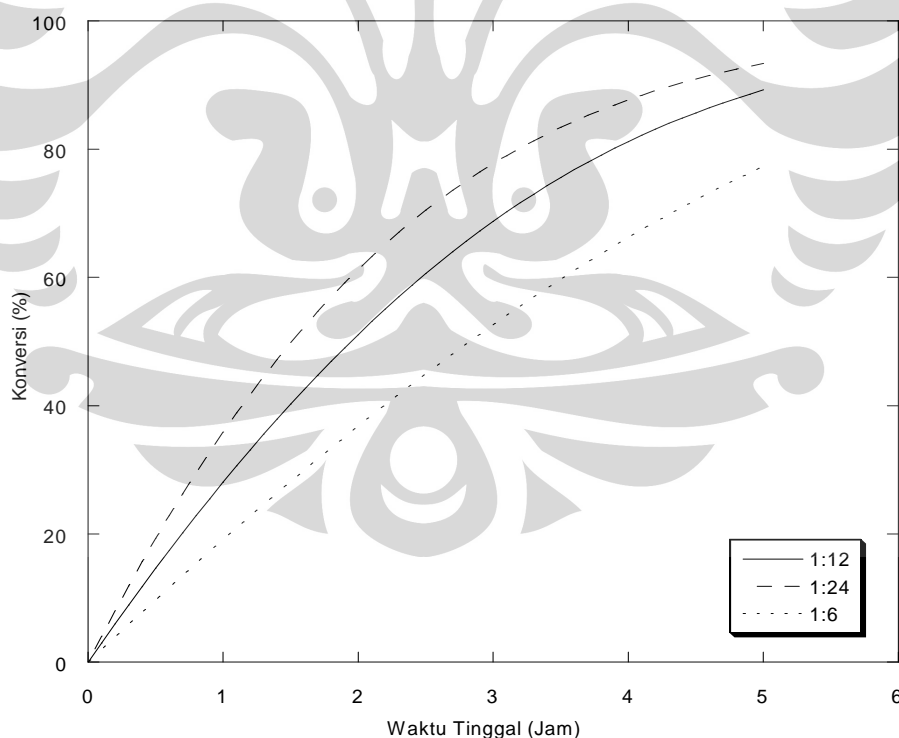
**Tabel 4. 8** Analisis sensitivitas untuk konstanta kinetika reaksi menggunakan bahan baku minyak goreng bekas

Konstanta	Nilai	Error	% deviasi
$\theta_1$	0,3242	$3,9691 \cdot 10^{-4}$	246,75
	0,6485	$1,1452 \cdot 10^{-4}$	0
	0,9727	$5,4021 \cdot 10^{-4}$	371,94
$\theta_2$	10,1727	$2,9233 \cdot 10^{-4}$	155,40
	20,3453	$1,1452 \cdot 10^{-4}$	0
	30,5180	$8,3134 \cdot 10^{-5}$	27,39

Pada Tabel 4.7 terlihat bahwa kedua parameter kinetika bersifat sensitif. Persentase deviasi yang didapatkan jika nilai masing-masing konstanta nilainya dinaikkan atau diturunkan sebesar 50% memperlihatkan nilai yang besar kecuali pada parameter  $\theta_2$  yang hanya sedikit mengalami penyimpangan jika nilainya diturunkan hingga 50%. Nilai *error* yang didapatkan pun lebih kecil daripada nilai *error* yang diberikan oleh nilai parameter yang digunakan.

### 4.3 Simulasi

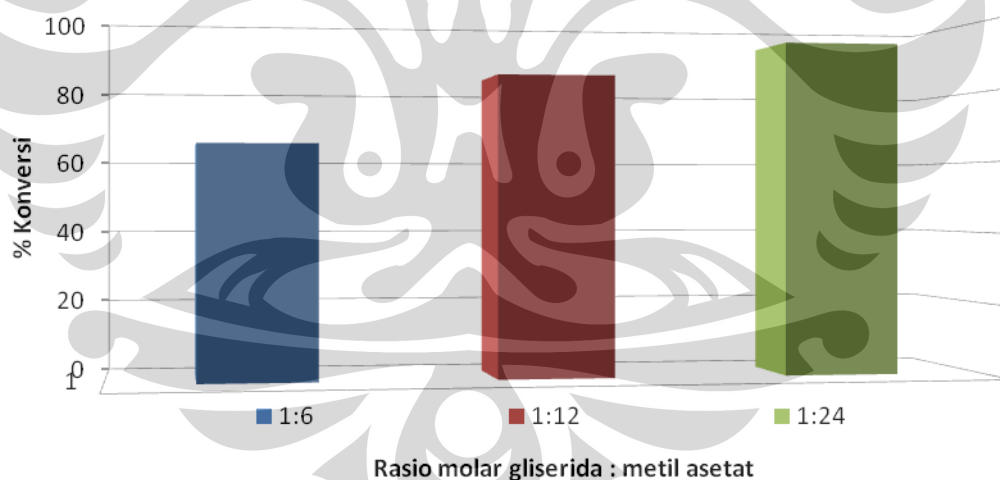
Simulasi dengan menggunakan model yang telah divalidasi dilakukan untuk mengetahui perilaku reaksi pada sintesis biodiesel. Komponen yang disimulasikan adalah ikatan gliserida yang tidak bereaksi dan biodiesel. Tujuan utama dari simulasi ini adalah untuk mendapatkan prediksi *yield* biodiesel tertinggi dengan mengubah kondisi operasi, dalam hal ini yang dilakukan adalah dengan melakukan variasi rasio konsentrasi awal ikatan gliserida yang tidak bereaksi dengan konsentrasi metil asetat.



**Gambar 4.6** Perbandingan konversi gliserida menjadi biodiesel untuk rasio awal gliserida : metil asetat yang berbeda pada reaksi dengan substrat minyak goreng bekas

Gambar di atas memperlihatkan konversi ikatan gliserida untuk setiap rasio molar awal gliserida dan metil asetat yang digunakan. Pada gambar dapat dilihat bahwa semakin besar rasio molar awal gliserida dan metil asetat yang digunakan, konversi yang didapatkan akan semakin kecil. Hal ini dikarenakan aktivitas enzim yang digunakan untuk masing-masing reaksi adalah sama. Jumlah ikatan gliserida yang lebih banyak akan membuat enzim membutuhkan waktu lebih banyak untuk mengkonversi ikatan gliserida tersebut.

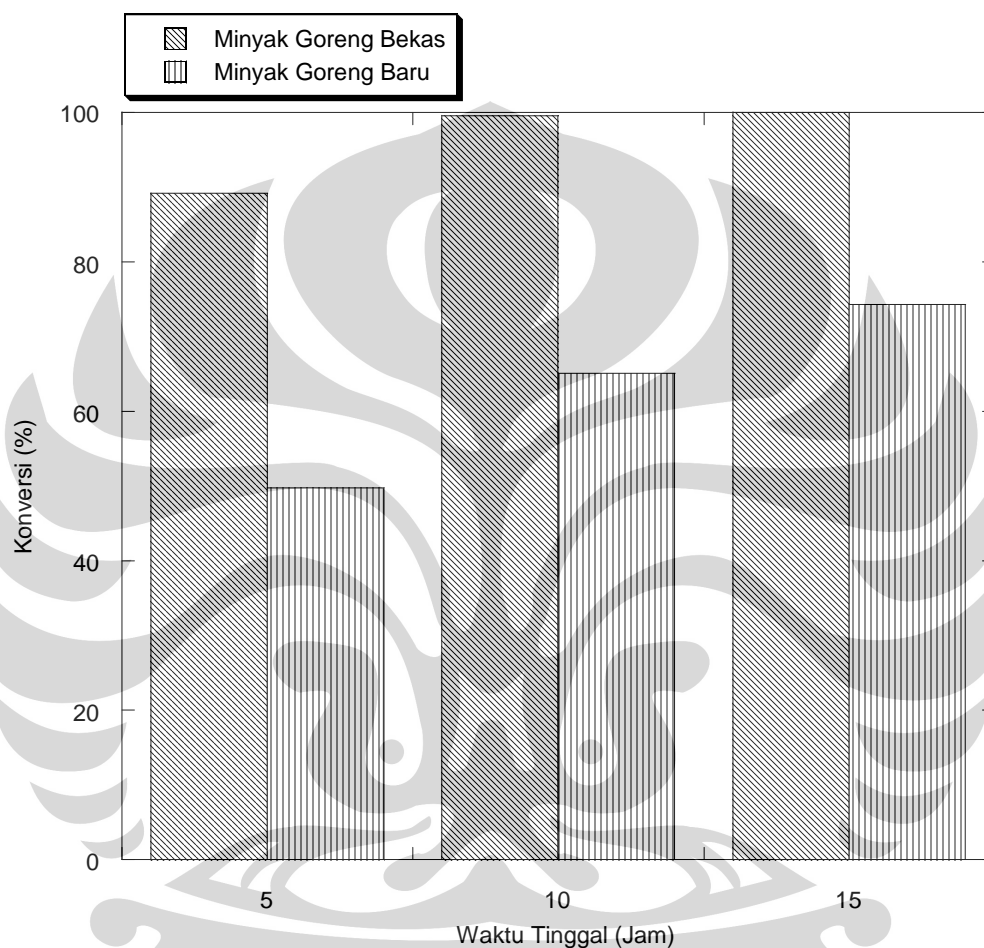
Gambar 4.7 memperlihatkan konversi akhir gliserida untuk tiap-tiap rasio molar awal gliserida dan metil asetat pada waktu tinggal 5 jam. Dapat dilihat bahwa konversi tertinggi dicapai pada rasio molar 1:24. Hal ini menandakan ikatan gliserida yang tidak bereaksi setelah reaksi hanya sedikit. Sedangkan pada rasio molar yang paling besar yaitu 1:6, nilai konversi yang dicapai paling kecil dikarenakan masih banyak ikatan gliserida yang tidak bereaksi setelah reaksi selesai.



**Gambar 4. 7** Perbandingan konversi ikatan gliserida untuk rasio awal gliserida : metil asetat yang berbeda untuk waktu tinggal 5 jam pada reaksi dengan substrat minyak goreng bekas

Selain melakukan simulasi pada konversi ikatan gliserida, dilakukan juga simulasi waktu tinggal reaktan pada reaktor. Gambar 4.8 berikut menunjukkan konversi akhir biodiesel yang dicapai untuk rasio molar ikatan gliserida : metil asetat 1:12 pada waktu tinggal reaktan pada reaktor yang berbeda. Nilai tertinggi yang dicapai untuk kedua jenis substrat yakni minyak goreng baru dan bekas

dengan konversi 74,3% dan 99,98% adalah pada waktu tinggal reaktan sebesar 15 jam. Hal ini dikarenakan semakin lama waktu tinggal, maka kontak antara substrat dan enzim juga akan semakin lama sehingga akan semakin banyak pula ikatan gliserida yang bereaksi.



**Gambar 4. 8** Perbandingan *yield* biodiesel yang dihasilkan dengan rasio ikatan gliserida : metil asetat 1:12 untuk waktu tinggal yang berbeda

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Parameter kinetika yang digunakan pada model adalah

Parameter	Nilai	
	Minyak Goreng Baru	Minyak Goreng Bekas
$\theta_1$	0,043931577	0,648483198
$\theta_2$	-16,83032658	20,34533027

2. *Error* yang dicapai untuk parameter sudah sesuai dengan yang diinginkan yaitu sebesar 0,0013312 untuk minyak goreng baru dan 0,0001145 untuk minyak goreng bekas.
3. Parameter kinetika yang digunakan memiliki sensitivitas yang cukup baik.
4. Semakin banyak ikatan gliserida yang digunakan, semakin kecil konversi yang dicapai.
5. Rasio molar awal ikatan gliserida : metil asetat yang optimal adalah 1:24.
6. Semakin lama waktu tinggal reaktan di dalam reaktor, semakin tinggi konversi yang akan dicapai.

#### 5.2 Saran

1. Untuk penelitian selanjutnya, data yang digunakan agar lebih diperbanyak untuk meningkatkan akurasi model sehingga *error* yang didapat akan bernilai lebih kecil.
2. Metode estimasi parameter kinetika untuk penelitian selanjutnya disarankan menggunakan metode numerik yang lebih akurat.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Al-Zuhair, S. 2005. *Production of Biodiesel by Lipase-Catalyzed Transesterification of Vegetable Oils : A Kinetic Study*. Biotechnol. Prog. 21: 1442-1448.
- Al-Zuhair, S. 2007. *The effect of substrate concentrations on the production of biodiesel by lipase-catalysed transesterification of vegetable oils*. J Chem Technol Biotechnol 81: 299-305.
- Baghwat, S.S., H.S. Bevinakatti, Mukesh D. 2005. *Transesterification of substituted ethanols – modelling studies*. Biochemical Engineering Journal 22: 253-259.
- Bajaj, A., Purva L., Phrabat N.J., Rajesh M., 2009. *Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview*. Journal of Molecular Catalyst B; Enzymatic 62: 9-14.
- Ban, K., Masaru K., Takeshi M., Akihiko K., dan Hideka F. 2001. *Whole cell biocatalyst for biodiesel fuel production utilizing Rhizopus oryzae cells immobilized within biomass support particles*. Biochemical Engineering Journal 8: 39-43.
- Cheirsilp, B., Aran H.K., dan Suchart L. 2008. *Impact of transesterification mechanism on the kinetic modeling of biodiesel production by immobilized lipase*. Biochemical Engineering Journal.
- De Paola, M.G., E. Ricca, V. Calabro, S. Curcio, G. Lorio. 2009. *Factor analysis of transesterification reaction of waste oil for biodiesel production*. Bioresource Technology 100: 5126-5131.
- Dizge, N., C. Aydiner, D.Y. Imer, M. Bayramoglu, A. Tanriseven, B. Keskinler. 2009. *Biodiesel production from sunflower, soybean, and waste cooking oils by transesterification using lipase immobilized onto a novel microporous polymer*. Bioresource Technology 100: 1983-1991.
- Dossat, V., Didier C., Alain M. 2002. *Lipase-catalysed transesterification of high oleic sunflower oil*. Enzyme and Microbial Technology 30: 90-94.
- Du W., Y. Xu, D. Liu, dan Zeng J. 2004. *Comparative Study on Lipase-Catalyzed Transformation of Soybean Oil for Biodiesel Production with*



- Different Acyl Acceptors*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 30:125-129.
- Enweremadu, C.C., M.M. Mbarawa. 2009. *Technical aspects of production and analysis of biodiesel from used cooking oil—A review*. Renew Sustain Energy Rev 13: 2205–2224.
- Fukuda, H., Kondo A., dan Noda H. 2001. *Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils*. J. Biosci. Bioeng. 92:405-416.
- Halim, S.F.A., A.H. Kamaruddin, dan W.J.N. Fernando. 2009. *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. 710-716.
- Hama, S., H. Yamaji, T. Fukumizu, T. Numata, S. Tamalampudi, A. Kondo, H. Nodac, H. Fukuda. 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.
- Ihwan, Firdaus, *Usulan Teknis Pembuatan Biodiesel dari Minyak Jelantah*, <http://www.migas-indonesia.com>. Diakses tanggal 29 November 2009.
- Iso, M., B. Chen, M. Eguchi, T. Kudo, S. Shrestha. 2001. *Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 16: 53-58.
- Kaieda, M., Samukawa T, Kondo A, Fukuda H. 2001. *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, 91: 12-5.
- Kaieda, M., T. Samukawa, T. Matsumoto, K. Ban, Kondo, Y. Shimada, H. Noda, F. Nomoto, K. Ohtuka, E. Izumoto, dan A.H. Fukuda. 1999. *Biodiesel Fuel Production from Plant Oil Catalyzed by Rhizopus oryzae Lipase in a Water-Containing System without an Organic Solvent*. J. Biosci. Bioeng., 88: 627-631.
- Kim Sok Joong, Sang-Ming Jung, Yong-cheol Pane. 2007. *Lipase Catalyzed transesterification of Soybean Oil Using Ethyl Acetate, an Alternative*

- Acyl Acceptor*, Journal of Biotechnology and Bioprocess Engineering. 12 : 441-445. Kyungmoon Park.
- Kim, M., Salley, S.O., Ng, K.Y.S. 2008. *Transesterification of Glycerides Using a Heterogeneous Resin Catalyst Combined with a Homogeneous Catalyst*. Energy Fuels, 22 (6), 3594-3599.
- Knothe, Gerard, Robert, O., Dunn., Bagby, Marvin, O. 1996. *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.
- Knothe, J., Krahl, J., Van Gerpen (Eds.). 2007. *The Biodiesel Handbook*. AOCS Press. Champaign. IL/USA.
- Kose, O., Tuter, M., Aksoy, H.A., 2002. *Immobilized Candida antarctica lipasecatalyzed alcoholysis of cotton seed oil in a solvent-free medium*. Bioresour. Technol. 83, 125–129.
- Ma, Fangrui, dan Milford A. Hanna. 1999. *Biodiesel Production: a Review*. ELSEVIER.
- Modi, M.K., J.R.C. Reddy, B.V.S.K. Rao, R.B.N. Prasad. 2007. *Lipase-mediated conversion of vegetable oils into biodiesel using ethyl acetate as acyl acceptor*. Bioresour. Technol. 98: 1260–1264.
- Maceiras, R., M. Vega, C. Costa, P. Ramos, dan M.C. Márquez. 2009. *Effect of methanol content on enzymatic production of biodiesel from waste frying oil*. Fuel 88: 2130–2134.
- Mendes, J.S., Jouciane S. Silva, Andrea L.O. Ferreira, Giovanilton F. Silva. 2009. *Simulation of Process Interesterification in Fluidized Bed Bioreactor for Production of Biodiesel*. Computer Aided Chemical Engineering 27: 1803-1808.
- Nasiri, Johan, *Biodiesel: Upaya Mengurangi Ketergantungan Minyak Bumi*, <http://www.sentrapolimer.com>. Diakses tanggal 6 November 2009.
- Nie K., Feng Xie, Fang Wang, Tianwei Tan. 2006. *Lipase catalyzed methanolysis to produce biodiesel: Optimization of the biodiesel production*. J. Mol. Catal.B: Enzym.

- Noureddini, H dan D. Zhu. 1997. *Kinetics of Transesterification of Soybean Oil*. Biocatalyst Articles, JAOCS, Vol 74, no. 11.
- Nur Alamsyah, Andi. *Potensi Biodiesel*. <http://www.kompas.com>. Diakses tanggal 15 November 2009.
- Ognjanovic, N., D. Bezbradica, Z. Knezevic-Jugovic. 2009. *Enzymatic conversion of sunflower oil to biodiesel in a solvent-free system: Process optimization and the immobilized system stability*. Bioresour. Technol. 100: 5146–5154.
- Paiva, A.L., V.M. Balcão, F.X. Malcata. 2000. *Kinetics and mechanisms of reactions catalyzed by immobilized lipases*. Enzyme Microb Technol 27: 187-204.
- Pandey, A., Benjamin, S., Soccol, C.R., Nigam, P., Krieger, N. and Soccol, V.T. 1999. *The Realm of Microbial Lipases in Technology*. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 29, 119-131.
- Park, J.Y., Kim, D.K., Wang, Z.M., Lee, J.P., Park, S.C., Lee, J.S. 2008. *Production of Biodiesel From Soapstock Using an Ion-Exchange Resin Catalyst*. Korean J. Chem. Eng., 25 (6), 1350-1354.
- Rosa, C.D., M.B. Morandim, J.L. Ninow, D. Oliveira, H. Treichel, dan J.V. Oliveira. 2009. *Continuous lipase-catalyzed production of fatty acid ethyl esters from soybean oil in compressed fluids*. Bioresource Technology 100: 5818-5826.
- Schuchardt, Ulf, dan Sercheli Ricardo. 1998. *Transesterification of Vegetable Oil: a Review*, J. Braz. Chem Sec. Vol. 9.
- Shah, S., Munishwar N. Gupta. 2007. *Lipase catalyzed preparation of biodiesel from Jatropha oil in a solvent free system*. Process Biochemistry 42: 409-414.
- Shieh, C.-J., H.-F. Liao, C.-C. Lee. 2003. *Optimization of lipase-catalyzed biodiesel by response surface methodology*. Bioresour. Technol. 88: 103-106.
- Shimada, Y., Watanabe, Y., Samukawa, T., Sugihara, A., Noda, H., Fukuda, H. 1999. *Conversion of Vegetable Oil to Biodiesel Using Immobilized Candida Antartica Lipase*. JAOCS, 76 (7): 789-793.

- Tahar, Adrisman., 2005, *Kajian Kebijakan dan Kumpulan Artikel Penelitian Biodiesel*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Torres, C.F., Charles G. Hill Jr., dan Christina Otero. 2004. *Lipase-Catalyzed Ethanolysis of Borage Oil: A Kinetic Study*. *Biotechnol Prog.* 20: 756-763.
- Torres, C.F., Tiziana F., Daniel T., Fransisco J.S., dan Guillermo R. 2008. *A predictive kinetic study of lipase-catalyzed ethanolysis reactions for the optimal reutilization of the biocatalyst*. *Biochemical Engineering Journal* 42: 105-110.
- Varma, M.N., Parag A.D., Giridhar M. 2009. *Synthesis of biodiesel in supercritical alcohols and supercritical carbon dioxide*. *Fuel*.
- Wang Jian-Xun et al. 2007. *Lipase-catalyzed production of biodiesel from high acid value waste oil using ultrasonic assistant*. *Chin J Biotech* 23 (6): 1121-1128.
- Watanabe, Y., Shimada Y., Sugihara A., Noda H., Fukuda H., Tominaga Y. 2000. *Continuous Production of Biodiesel Fuel from Vegetable Oil Using Immobilized Candida Antartica Lipase*. *JAACS* :7:355-8.
- Worsfold, P.J. 1995. *Classification and Chemical Characteristic of Immobilized Enzymes*. *Pure & Appl. Chem.* 67 : 597-600.
- Xu, Y., Du W., Liu D. 2005. *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*, 32:241-245.
- Yagiz, F., D. Kazan, A. Nilgun Akin. 2007. *Biodiesel production from waste oils by using lipase immobilized on hydrotalcite and zeolites*. *Chemical Engineering Journal* 134: 262-267.

## LAMPIRAN

### 1. Data simulasi menggunakan metode Runge-Kutta-Fehlberg untuk substrat minyak goreng baru

x	y	k1	k2	k3	k4	k5	k6
0	0,0559522	-0,004215841	-0,00317154	-0,003003	-0,00203644	-0,0017316	-0,0029333
0,1	0,053072	-0,002183481	-0,001989823	-0,0019207	-0,00164854	-0,0016071	-0,0018553
0,2	0,0512039	-0,001627435	-0,001538296	-0,0015018	-0,00135623	-0,0013366	-0,0014663
0,3	0,0497324	-0,00134049	-0,001286923	-0,0012637	-0,00116944	-0,0011569	-0,0012409
0,4	0,0484889	-0,001158248	-0,001121611	-0,0011052	-0,00103782	-0,0010289	-0,001089
0,5	0,0473984	-0,001029461	-0,001002405	-0,0009901	-0,0009388	-0,000932	-0,0009778
0,6	0,0464196	-0,000932274	-0,000911252	-0,0009015	-0,00086086	-0,0008554	-0,0008919
0,7	0,0455271	-0,000855593	-0,000838658	-0,0008307	-0,00079746	-0,000793	-0,0008229
0,8	0,0447037	-0,000793105	-0,000779088	-0,0007725	-0,00074461	-0,0007409	-0,0007659
0,9	0,0439374	-0,000740922	-0,000729074	-0,0007235	-0,00069966	-0,0006965	-0,0007179
1	0,0432193	-0,000696498	-0,000686314	-0,0006815	-0,00066085	-0,0006581	-0,0006766
1,1	0,0425424	-0,00065809	-0,000649215	-0,000645	-0,00062689	-0,0006244	-0,0006407
1,2	0,0419015	-0,000624457	-0,000616635	-0,0006129	-0,00059685	-0,0005947	-0,0006091
1,3	0,0412922	-0,00059469	-0,000587728	-0,0005844	-0,00057004	-0,0005681	-0,000581
1,4	0,0407111	-0,000568104	-0,000561856	-0,0005588	-0,00054592	-0,0005442	-0,0005558
1,5	0,0401551	-0,000544173	-0,000538526	-0,0005358	-0,00052408	-0,0005225	-0,0005331
1,6	0,039622	-0,000522486	-0,000517349	-0,0005149	-0,00050417	-0,0005027	-0,0005124
1,7	0,0391095	-0,000502713	-0,000498016	-0,0004957	-0,00048593	-0,0004846	-0,0004935
1,8	0,038616	-0,000484593	-0,000480275	-0,0004782	-0,00046914	-0,0004679	-0,0004761
1,9	0,0381399	-0,000467907	-0,000463921	-0,000462	-0,00045362	-0,0004525	-0,00046
2	0,0376798	-0,000452478	-0,000448784	-0,000447	-0,00043922	-0,0004382	-0,0004452
2,1	0,0372345	-0,000438157	-0,000434721	-0,000433	-0,00042581	-0,0004248	-0,0004314
2,2	0,0368031	-0,000424818	-0,000421612	-0,00042	-0,00041328	-0,0004124	-0,0004185
2,3	0,0363846	-0,000412355	-0,000409355	-0,0004079	-0,00040155	-0,0004007	-0,0004064
2,4	0,0359782	-0,000400678	-0,000397862	-0,0003965	-0,00039053	-0,0003897	-0,0003951
2,5	0,035583	-0,000389707	-0,000387058	-0,0003858	-0,00038015	-0,0003794	-0,0003845
2,6	0,0351985	-0,000379376	-0,000376878	-0,0003757	-0,00037036	-0,0003696	-0,0003744
2,7	0,0348241	-0,000369625	-0,000367264	-0,0003661	-0,00036109	-0,0003604	-0,000365
2,8	0,0344591	-0,000360403	-0,000358167	-0,0003571	-0,00035232	-0,0003517	-0,000356
2,9	0,0341031	-0,000351663	-0,000349543	-0,0003485	-0,00034399	-0,0003434	-0,0003475
3	0,0337556	-0,000343367	-0,000341352	-0,0003404	-0,00033607	-0,0003355	-0,0003394
3,1	0,0334162	-0,000335477	-0,000333559	-0,0003326	-0,00032853	-0,000328	-0,0003317
3,2	0,0330845	-0,000327964	-0,000326135	-0,0003252	-0,00032134	-0,0003208	-0,0003243
3,3	0,0327602	-0,000320797	-0,000319052	-0,0003182	-0,00031447	-0,000314	-0,0003173
3,4	0,0324428	-0,000313952	-0,000312283	-0,0003115	-0,0003079	-0,0003074	-0,0003106
3,5	0,0321322	-0,000307405	-0,000305808	-0,000305	-0,00030161	-0,0003011	-0,0003042
3,6	0,0318279	-0,000301136	-0,000299606	-0,0002989	-0,00029558	-0,0002951	-0,0002981
3,7	0,0315298	-0,000295127	-0,000293659	-0,0002929	-0,00028979	-0,0002894	-0,0002922
3,8	0,0312376	-0,000289359	-0,00028795	-0,0002873	-0,00028424	-0,0002838	-0,0002866
3,9	0,030951	-0,000283818	-0,000282464	-0,0002818	-0,00027889	-0,0002785	-0,0002811
4	0,0306699	-0,00027849	-0,000277186	-0,0002765	-0,00027375	-0,0002734	-0,0002759
4,1	0,030394	-0,000273361	-0,000272105	-0,0002715	-0,00026879	-0,0002684	-0,0002709
4,2	0,0301231	-0,000268419	-0,000267209	-0,0002666	-0,00026401	-0,0002637	-0,000266

4,3	0,0298571	-0,000263655	-0,000262487	-0,0002619	-0,0002594	-0,0002591	-0,0002613
4,4	0,0295958	-0,000259056	-0,000257929	-0,0002574	-0,00025495	-0,0002546	-0,0002568
4,5	0,0293389	-0,000254616	-0,000253527	-0,000253	-0,00025065	-0,0002503	-0,0002525
4,6	0,0290865	-0,000250324	-0,000249271	-0,0002488	-0,00024649	-0,0002462	-0,0002482
4,7	0,0288382	-0,000246172	-0,000245154	-0,0002447	-0,00024246	-0,0002422	-0,0002441
4,8	0,0285941	-0,000242155	-0,000241168	-0,0002407	-0,00023856	-0,0002383	-0,0002402
4,9	0,0283539	-0,000238264	-0,000237308	-0,0002368	-0,00023478	-0,0002345	-0,0002364
5	0,0281175	-0,000234493	-0,000233567	-0,0002331	-0,00023111	-0,0002308	-0,0002327
5,1	0,0278849	-0,000230837	-0,000229938	-0,0002295	-0,00022756	-0,0002273	-0,0002291
5,2	0,0276558	-0,00022729	-0,000226418	-0,000226	-0,00022411	-0,0002238	-0,0002256
5,3	0,0274302	-0,000223846	-0,000222999	-0,0002226	-0,00022076	-0,0002205	-0,0002222
5,4	0,0272081	-0,000220502	-0,000219679	-0,0002193	-0,0002175	-0,0002173	-0,0002189
5,5	0,0269892	-0,000217252	-0,000216452	-0,0002161	-0,00021433	-0,0002141	-0,0002157
5,6	0,0267735	-0,000214092	-0,000213314	-0,0002129	-0,00021125	-0,000211	-0,0002125
5,7	0,026561	-0,000211018	-0,000210261	-0,0002099	-0,00020825	-0,000208	-0,0002095
5,8	0,0263515	-0,000208027	-0,00020729	-0,0002069	-0,00020534	-0,0002051	-0,0002066
5,9	0,0261449	-0,000205115	-0,000204398	-0,000204	-0,00020249	-0,0002023	-0,0002037
6	0,0259412	-0,000202279	-0,00020158	-0,0002012	-0,00019972	-0,0001995	-0,0002009
6,1	0,0257403	-0,000199515	-0,000198834	-0,0001985	-0,00019703	-0,0001968	-0,0001982
6,2	0,0255422	-0,000196821	-0,000196157	-0,0001958	-0,00019439	-0,0001942	-0,0001955
6,3	0,0253467	-0,000194193	-0,000193546	-0,0001932	-0,00019183	-0,0001916	-0,0001929
6,4	0,0251538	-0,000191631	-0,000190998	-0,0001907	-0,00018932	-0,0001891	-0,0001904
6,5	0,0249634	-0,000189129	-0,000188512	-0,0001882	-0,00018687	-0,0001867	-0,0001879
6,6	0,0247755	-0,000186688	-0,000186085	-0,0001858	-0,00018448	-0,0001843	-0,0001855
6,7	0,02459	-0,000184303	-0,000183715	-0,0001834	-0,00018215	-0,000182	-0,0001831
6,8	0,0244069	-0,000181973	-0,000181399	-0,0001811	-0,00017987	-0,0001797	-0,0001808
6,9	0,024226	-0,000179697	-0,000179135	-0,0001789	-0,00017764	-0,0001775	-0,0001786
7	0,0240475	-0,000177472	-0,000176922	-0,0001767	-0,00017546	-0,0001753	-0,0001764
7,1	0,0238711	-0,000175296	-0,000174759	-0,0001745	-0,00017333	-0,0001732	-0,0001742
7,2	0,0236968	-0,000173168	-0,000172642	-0,0001724	-0,00017124	-0,0001711	-0,0001721
7,3	0,0235247	-0,000171085	-0,000170571	-0,0001703	-0,0001692	-0,000169	-0,0001701
7,4	0,0233547	-0,000169048	-0,000168544	-0,0001683	-0,0001672	-0,0001671	-0,000168
7,5	0,0231866	-0,000167053	-0,00016656	-0,0001663	-0,00016525	-0,0001651	-0,0001661
7,6	0,0230205	-0,0001651	-0,000164617	-0,0001644	-0,00016333	-0,0001632	-0,0001641
7,7	0,0228564	-0,000163186	-0,000162714	-0,0001625	-0,00016146	-0,0001613	-0,0001622
7,8	0,0226942	-0,000161312	-0,000160849	-0,0001606	-0,00015962	-0,0001595	-0,0001604
7,9	0,0225338	-0,000159476	-0,000159022	-0,0001588	-0,00015781	-0,0001577	-0,0001586
8	0,0223752	-0,000157675	-0,00015723	-0,000157	-0,00015605	-0,0001559	-0,0001568
8,1	0,0222184	-0,000155911	-0,000155474	-0,0001553	-0,00015431	-0,0001542	-0,000155
8,2	0,0220634	-0,00015418	-0,000153752	-0,0001535	-0,00015261	-0,0001525	-0,0001533
8,3	0,02191	-0,000152483	-0,000152063	-0,0001519	-0,00015094	-0,0001508	-0,0001516
8,4	0,0217584	-0,000150817	-0,000150406	-0,0001502	-0,00014931	-0,0001492	-0,00015
8,5	0,0216084	-0,000149184	-0,000148779	-0,0001486	-0,0001477	-0,0001476	-0,0001484
8,6	0,02146	-0,00014758	-0,000147183	-0,000147	-0,00014613	-0,000146	-0,0001468
8,7	0,0213132	-0,000146006	-0,000145616	-0,0001454	-0,00014458	-0,0001445	-0,0001452
8,8	0,021168	-0,00014446	-0,000144078	-0,0001439	-0,00014306	-0,0001429	-0,0001437
8,9	0,0210243	-0,000142943	-0,000142567	-0,0001424	-0,00014157	-0,0001415	-0,0001422
9	0,0208821	-0,000141452	-0,000141083	-0,0001409	-0,0001401	-0,00014	-0,0001407
9,1	0,0207414	-0,000139988	-0,000139625	-0,0001394	-0,00013866	-0,0001385	-0,0001393
9,2	0,0206021	-0,000138549	-0,000138192	-0,000138	-0,00013724	-0,0001371	-0,0001378

9,3	0,0204643	-0,000137135	-0,000136785	-0,0001366	-0,00013585	-0,0001357	-0,0001364
9,4	0,0203278	-0,000135745	-0,000135401	-0,0001352	-0,00013448	-0,0001344	-0,0001351
9,5	0,0201928	-0,000134379	-0,00013404	-0,0001339	-0,00013314	-0,000133	-0,0001337
9,6	0,0200591	-0,000133035	-0,000132703	-0,0001325	-0,00013182	-0,0001317	-0,0001324
9,7	0,0199267	-0,000131715	-0,000131387	-0,0001312	-0,00013051	-0,0001304	-0,0001311
9,8	0,0197956	-0,000130415	-0,000130094	-0,0001299	-0,00012924	-0,0001291	-0,0001298
9,9	0,0196659	-0,000129137	-0,000128821	-0,0001287	-0,00012798	-0,0001279	-0,0001285
10	0,0195373	-0,00012788	-0,000127569	-0,0001274	-0,00012674	-0,0001266	-0,0001273
10,1	0,0194101	-0,000126643	-0,000126337	-0,0001262	-0,00012552	-0,0001254	-0,000126
10,2	0,0192841	-0,000125426	-0,000125124	-0,000125	-0,00012432	-0,0001242	-0,0001248
10,3	0,0191592	-0,000124227	-0,00012393	-0,0001238	-0,00012314	-0,000123	-0,0001236
10,4	0,0190356	-0,000123048	-0,000122755	-0,0001226	-0,00012198	-0,0001219	-0,0001225
10,5	0,0189131	-0,000121887	-0,000121599	-0,0001215	-0,00012083	-0,0001207	-0,0001213
10,6	0,0187918	-0,000120743	-0,00012046	-0,0001203	-0,0001197	-0,0001196	-0,0001202
10,7	0,0186716	-0,000119617	-0,000119338	-0,0001192	-0,00011859	-0,0001185	-0,0001191
10,8	0,0185526	-0,000118508	-0,000118233	-0,0001181	-0,0001175	-0,0001174	-0,000118
10,9	0,0184346	-0,000117416	-0,000117145	-0,000117	-0,00011642	-0,0001163	-0,0001169
11	0,0183177	-0,000116339	-0,000116073	-0,0001159	-0,00011536	-0,0001153	-0,0001158
11,1	0,0182019	-0,000115279	-0,000115016	-0,0001149	-0,00011431	-0,0001142	-0,0001148
11,2	0,0180872	-0,000114234	-0,000113975	-0,0001138	-0,00011328	-0,0001132	-0,0001137
11,3	0,0179735	-0,000113204	-0,000112949	-0,0001128	-0,00011227	-0,0001122	-0,0001127
11,4	0,0178608	-0,00011219	-0,000111938	-0,0001118	-0,00011127	-0,0001112	-0,0001117
11,5	0,0177491	-0,000111189	-0,000110941	-0,0001108	-0,00011028	-0,0001102	-0,0001107
11,6	0,0176384	-0,000110203	-0,000109958	-0,0001098	-0,0001093	-0,0001092	-0,0001097
11,7	0,0175287	-0,000109231	-0,000108989	-0,0001089	-0,00010835	-0,0001083	-0,0001087
11,8	0,0174199	-0,000108272	-0,000108034	-0,0001079	-0,0001074	-0,0001073	-0,0001078
11,9	0,0173121	-0,000107326	-0,000107092	-0,000107	-0,00010647	-0,0001064	-0,0001069
12	0,0172053	-0,000106394	-0,000106162	-0,000106	-0,00010554	-0,0001055	-0,0001059
12,1	0,0170993	-0,000105474	-0,000105246	-0,0001051	-0,00010464	-0,0001046	-0,000105
12,2	0,0169943	-0,000104567	-0,000104342	-0,0001042	-0,00010374	-0,0001037	-0,0001041
12,3	0,0168902	-0,000103672	-0,00010345	-0,0001033	-0,00010286	-0,0001028	-0,0001032
12,4	0,016787	-0,000102789	-0,000102569	-0,0001025	-0,00010198	-0,0001019	-0,0001024
12,5	0,0166846	-0,000101917	-0,000101701	-0,0001016	-0,00010112	-0,0001011	-0,0001015
12,6	0,0165831	-0,000101057	-0,000100844	-0,0001007	-0,00010027	-0,0001002	-0,0001006
12,7	0,0164825	-0,000100209	-9,99979E-05	-9,989E-05	-9,9435E-05	-9,937E-05	-9,979E-05
12,8	0,0163827	-9,93709E-05	-9,9163E-05	-9,906E-05	-9,8607E-05	-9,854E-05	-9,896E-05
12,9	0,0162837	-9,85441E-05	-9,83388E-05	-9,824E-05	-9,779E-05	-9,773E-05	-9,813E-05
13	0,0161856	-9,77279E-05	-9,75252E-05	-9,742E-05	-9,6984E-05	-9,692E-05	-9,732E-05
13,1	0,0160883	-9,6922E-05	-9,6722E-05	-9,662E-05	-9,6187E-05	-9,613E-05	-9,652E-05
13,2	0,0159918	-9,61264E-05	-9,59288E-05	-9,583E-05	-9,5401E-05	-9,534E-05	-9,573E-05
13,3	0,015896	-9,53407E-05	-9,51457E-05	-9,505E-05	-9,4624E-05	-9,456E-05	-9,495E-05
13,4	0,0158011	-9,45649E-05	-9,43723E-05	-9,428E-05	-9,3857E-05	-9,38E-05	-9,418E-05
13,5	0,0157069	-9,37987E-05	-9,36085E-05	-9,351E-05	-9,31E-05	-9,304E-05	-9,342E-05
13,6	0,0156135	-9,3042E-05	-9,28541E-05	-9,276E-05	-9,2352E-05	-9,229E-05	-9,267E-05
13,7	0,0155208	-9,22945E-05	-9,21089E-05	-9,202E-05	-9,1613E-05	-9,156E-05	-9,192E-05
13,8	0,0154289	-9,15562E-05	-9,13728E-05	-9,128E-05	-9,0883E-05	-9,083E-05	-9,119E-05
13,9	0,0153377	-9,08267E-05	-9,06456E-05	-9,056E-05	-9,0161E-05	-9,011E-05	-9,047E-05
14	0,0152472	-9,01061E-05	-8,99271E-05	-8,984E-05	-8,9449E-05	-8,939E-05	-8,975E-05
14,1	0,0151575	-8,93941E-05	-8,92172E-05	-8,913E-05	-8,8744E-05	-8,869E-05	-8,904E-05
14,2	0,0150684	-8,86905E-05	-8,85157E-05	-8,843E-05	-8,8048E-05	-8,8E-05	-8,834E-05

14,3	0,0149801	-8,79952E-05	-8,78225E-05	-8,774E-05	-8,7361E-05	-8,731E-05	-8,765E-05
14,4	0,0148924	-8,73081E-05	-8,71375E-05	-8,705E-05	-8,6681E-05	-8,663E-05	-8,697E-05
14,5	0,0148055	-8,66291E-05	-8,64604E-05	-8,638E-05	-8,6009E-05	-8,596E-05	-8,629E-05
14,6	0,0147192	-8,59579E-05	-8,57911E-05	-8,571E-05	-8,5345E-05	-8,529E-05	-8,563E-05
14,7	0,0146336	-8,52945E-05	-8,51296E-05	-8,505E-05	-8,4689E-05	-8,464E-05	-8,497E-05
14,8	0,0145486	-8,46386E-05	-8,44757E-05	-8,439E-05	-8,404E-05	-8,399E-05	-8,431E-05
14,9	0,0144643	-8,39903E-05	-8,38292E-05	-8,375E-05	-8,3398E-05	-8,335E-05	-8,367E-05
15	0,0143806	-8,33493E-05	-8,319E-05	-8,311E-05	-8,2764E-05	-8,272E-05	-8,303E-05

## 2. Data simulasi menggunakan metode Runge-Kutta-Fehlberg untuk substrat minyak goreng bekas

x	y	k1	k2	k3	k4	k5	k6
0	0,0559522	-0,001696813	-0,001690773	-0,0016878	-0,00167441	-0,0016725	-0,0016847
0,1	0,0542675	-0,001672531	-0,001666382	-0,0016633	-0,00164973	-0,0016478	-0,0016602
0,2	0,0526073	-0,001647816	-0,001641558	-0,0016384	-0,00162462	-0,0016227	-0,0016353
0,3	0,050972	-0,001622671	-0,001616306	-0,0016131	-0,00159908	-0,0015971	-0,0016099
0,4	0,0493621	-0,001597101	-0,001590629	-0,0015874	-0,00157312	-0,0015711	-0,0015842
0,5	0,047778	-0,00157111	-0,001564534	-0,0015613	-0,00154675	-0,0015447	-0,001558
0,6	0,04622	-0,001544708	-0,001538029	-0,0015347	-0,00151998	-0,0015179	-0,0015314
0,7	0,0446887	-0,001517901	-0,001511123	-0,0015077	-0,00149281	-0,0014907	-0,0015044
0,8	0,0431844	-0,001490702	-0,001483827	-0,0014804	-0,00146526	-0,0014631	-0,001477
0,9	0,0417074	-0,001463122	-0,001456152	-0,0014527	-0,00143734	-0,0014352	-0,0014492
1	0,0402582	-0,001435175	-0,001428115	-0,0014246	-0,00140906	-0,0014069	-0,0014211
1,1	0,0388372	-0,001406876	-0,00139973	-0,0013962	-0,00138046	-0,0013782	-0,0013926
1,2	0,0374446	-0,001378243	-0,001371016	-0,0013674	-0,00135153	-0,0013493	-0,0013638
1,3	0,0360808	-0,001349295	-0,001341991	-0,0013384	-0,00132231	-0,00132	-0,0013347
1,4	0,0347461	-0,001320053	-0,001312679	-0,001309	-0,00129282	-0,0012905	-0,0013053
1,5	0,0334408	-0,001290541	-0,001283103	-0,0012794	-0,00126308	-0,0012608	-0,0012757
1,6	0,0321651	-0,001260784	-0,001253287	-0,0012496	-0,00123312	-0,0012308	-0,0012458
1,7	0,0309193	-0,001230808	-0,00122326	-0,0012195	-0,00120297	-0,0012006	-0,0012157
1,8	0,0297036	-0,001200643	-0,001193051	-0,0011893	-0,00117265	-0,0011703	-0,0011855
1,9	0,0285181	-0,001170319	-0,001162692	-0,0011589	-0,00114221	-0,0011399	-0,0011551
2	0,027363	-0,001139868	-0,001132214	-0,0011284	-0,00111167	-0,0011093	-0,0011246
2,1	0,0262384	-0,001109325	-0,001101652	-0,0010979	-0,00108108	-0,0010787	-0,001094
2,2	0,0251443	-0,001078725	-0,001071043	-0,0010672	-0,00105046	-0,0010481	-0,0010634
2,3	0,0240809	-0,001048105	-0,001040423	-0,0010366	-0,00101985	-0,0010175	-0,0010328
2,4	0,0230481	-0,001017503	-0,001009831	-0,001006	-0,0009893	-0,000987	-0,0010022
2,5	0,0220459	-0,000986958	-0,000979306	-0,0009755	-0,00095884	-0,0009565	-0,0009717
2,6	0,0210742	-0,00095651	-0,000948888	-0,0009451	-0,00092852	-0,0009262	-0,0009413
2,7	0,0201328	-0,0009262	-0,000918618	-0,0009149	-0,00089838	-0,0008961	-0,0009111
2,8	0,0192217	-0,000896068	-0,000888536	-0,0008848	-0,00086844	-0,0008661	-0,0008811
2,9	0,0183406	-0,000866156	-0,000858684	-0,000855	-0,00083877	-0,0008365	-0,0008513
3	0,0174893	-0,000836503	-0,000829102	-0,0008255	-0,00080939	-0,0008071	-0,0008218
3,1	0,0166675	-0,00080715	-0,000799831	-0,0007962	-0,00078035	-0,0007781	-0,0007926
3,2	0,0158749	-0,000778137	-0,000770908	-0,0007674	-0,00075169	-0,0007495	-0,0007638
3,3	0,0151111	-0,000749503	-0,000742373	-0,0007389	-0,00072343	-0,0007213	-0,0007353
3,4	0,0143758	-0,000721283	-0,000714263	-0,0007108	-0,00069563	-0,0006935	-0,0007073



3,5	0,0136684	-0,000693514	-0,000686612	-0,0006832	-0,00066831	-0,0006662	-0,0006798
3,6	0,0129886	-0,000666231	-0,000659455	-0,0006561	-0,0006415	-0,0006395	-0,0006528
3,7	0,0123358	-0,000639464	-0,000632822	-0,0006296	-0,00061524	-0,0006132	-0,0006263
3,8	0,0117095	-0,000613244	-0,000606743	-0,0006036	-0,00058954	-0,0005876	-0,0006004
3,9	0,0111091	-0,000587598	-0,000581245	-0,0005781	-0,00056445	-0,0005625	-0,000575
4	0,0105341	-0,000562551	-0,000556351	-0,0005533	-0,00053998	-0,0005381	-0,0005503
4,1	0,0099838	-0,000538125	-0,000532084	-0,0005291	-0,00051614	-0,0005143	-0,0005262
4,2	0,0094576	-0,000514341	-0,000508463	-0,0005056	-0,00049296	-0,0004912	-0,0005027
4,3	0,0089549	-0,000491214	-0,000485504	-0,0004827	-0,00047046	-0,0004687	-0,0004799
4,4	0,0084749	-0,00046876	-0,00046322	-0,0004605	-0,00044863	-0,000447	-0,0004578
4,5	0,0080171	-0,000446988	-0,000441621	-0,000439	-0,0004275	-0,0004259	-0,0004364
4,6	0,0075807	-0,000425909	-0,000420716	-0,0004182	-0,00040706	-0,0004055	-0,0004156
4,7	0,0071651	-0,000405527	-0,00040051	-0,0003981	-0,00038733	-0,0003858	-0,0003956
4,8	0,0067694	-0,000385846	-0,000381005	-0,0003786	-0,0003683	-0,0003669	-0,0003763
4,9	0,0063931	-0,000366866	-0,000362201	-0,0003599	-0,00034996	-0,0003486	-0,0003576
5	0,0060355	-0,000348586	-0,000344097	-0,0003419	-0,00033233	-0,000331	-0,0003397
5,1	0,0056957	-0,000331002	-0,000326686	-0,0003246	-0,00031538	-0,0003141	-0,0003225
5,2	0,0053732	-0,000314108	-0,000309963	-0,0003079	-0,00029911	-0,0002979	-0,0003059
5,3	0,0050673	-0,000297894	-0,00029392	-0,000292	-0,00028352	-0,0002823	-0,00029
5,4	0,0047772	-0,000282352	-0,000278545	-0,0002767	-0,00026859	-0,0002675	-0,0002748
5,5	0,0045024	-0,000267471	-0,000263827	-0,0002621	-0,0002543	-0,0002532	-0,0002603
5,6	0,0042421	-0,000253236	-0,000249752	-0,0002481	-0,00024065	-0,0002396	-0,0002464
5,7	0,0039957	-0,000239633	-0,000236307	-0,0002347	-0,00022762	-0,0002266	-0,0002331
5,8	0,0037626	-0,000226648	-0,000223474	-0,0002219	-0,00021519	-0,0002143	-0,0002204
5,9	0,0035422	-0,000214264	-0,000211239	-0,0002098	-0,00020335	-0,0002025	-0,0002083
6	0,0033339	-0,000202464	-0,000199582	-0,0001982	-0,00019207	-0,0001912	-0,0001968
6,1	0,0031371	-0,000191229	-0,000188487	-0,0001872	-0,00018134	-0,0001805	-0,0001858
6,2	0,0029512	-0,000180542	-0,000177935	-0,0001767	-0,00017114	-0,0001704	-0,0001754
6,3	0,0027758	-0,000170385	-0,000167908	-0,0001667	-0,00016146	-0,0001607	-0,0001655
6,4	0,0026103	-0,000160737	-0,000158386	-0,0001572	-0,00015226	-0,0001516	-0,0001561
6,5	0,0024542	-0,000151581	-0,00014935	-0,0001483	-0,00014355	-0,0001429	-0,0001472
6,6	0,002307	-0,000142897	-0,000140782	-0,0001398	-0,00013528	-0,0001347	-0,0001387
6,7	0,0021682	-0,000134666	-0,000132662	-0,0001317	-0,00012745	-0,0001269	-0,0001307
6,8	0,0020375	-0,00012687	-0,000124972	-0,0001241	-0,00012004	-0,0001195	-0,0001231
6,9	0,0019144	-0,000119489	-0,000117693	-0,0001168	-0,00011303	-0,0001125	-0,000116
7	0,0017984	-0,000112506	-0,000110808	-0,00011	-0,0001064	-0,0001059	-0,0001092
7,1	0,0016892	-0,000105903	-0,000104298	-0,0001035	-0,00010013	-9,966E-05	-0,0001027
7,2	0,0015865	-9,96628E-05	-9,81458E-05	-9,741E-05	-9,4207E-05	-9,376E-05	-9,667E-05
7,3	0,0014898	-9,37676E-05	-9,23349E-05	-9,164E-05	-8,8616E-05	-8,82E-05	-9,095E-05
7,4	0,0013988	-8,82011E-05	-8,68486E-05	-8,62E-05	-8,3339E-05	-8,294E-05	-8,554E-05
7,5	0,0013133	-8,29473E-05	-8,16711E-05	-8,105E-05	-7,836E-05	-7,799E-05	-8,043E-05
7,6	0,0012328	-7,79906E-05	-7,67869E-05	-7,621E-05	-7,3664E-05	-7,331E-05	-7,562E-05
7,7	0,0011572	-7,33162E-05	-7,21812E-05	-7,163E-05	-6,9237E-05	-6,891E-05	-7,108E-05
7,8	0,0010861	-6,89095E-05	-6,78397E-05	-6,732E-05	-6,5066E-05	-6,475E-05	-6,68E-05
7,9	0,0010193	-6,47566E-05	-6,37486E-05	-6,326E-05	-6,1135E-05	-6,084E-05	-6,277E-05
8	0,0009565	-6,08442E-05	-5,98948E-05	-5,944E-05	-5,7434E-05	-5,716E-05	-5,898E-05
8,1	0,0008975	-5,71595E-05	-5,62655E-05	-5,583E-05	-5,3948E-05	-5,369E-05	-5,54E-05
8,2	0,0008421	-5,36903E-05	-5,28487E-05	-5,244E-05	-5,0668E-05	-5,042E-05	-5,203E-05
8,3	0,0007901	-5,04249E-05	-4,96328E-05	-4,925E-05	-4,7581E-05	-4,735E-05	-4,887E-05
8,4	0,0007412	-4,7352E-05	-4,66068E-05	-4,625E-05	-4,4676E-05	-4,446E-05	-4,589E-05

8,5	0,0006953	-4,44611E-05	-4,37601E-05	-4,342E-05	-4,1944E-05	-4,174E-05	-4,308E-05
8,6	0,0006522	-4,1742E-05	-4,10828E-05	-4,076E-05	-3,9375E-05	-3,918E-05	-4,044E-05
8,7	0,0006118	-3,91851E-05	-3,85652E-05	-3,827E-05	-3,696E-05	-3,678E-05	-3,797E-05
8,8	0,0005738	-3,67811E-05	-3,61983E-05	-3,592E-05	-3,4689E-05	-3,452E-05	-3,563E-05
8,9	0,0005382	-3,45213E-05	-3,39736E-05	-3,371E-05	-3,2555E-05	-3,24E-05	-3,344E-05
9	0,0005047	-3,23975E-05	-3,18828E-05	-3,163E-05	-3,055E-05	-3,04E-05	-3,138E-05
9,1	0,0004733	-3,04019E-05	-2,99183E-05	-2,969E-05	-2,8666E-05	-2,852E-05	-2,945E-05
9,2	0,0004439	-2,8527E-05	-2,80727E-05	-2,785E-05	-2,6897E-05	-2,676E-05	-2,763E-05
9,3	0,0004162	-2,67657E-05	-2,6339E-05	-2,613E-05	-2,5234E-05	-2,511E-05	-2,593E-05
9,4	0,0003903	-2,51114E-05	-2,47107E-05	-2,452E-05	-2,3673E-05	-2,356E-05	-2,432E-05
9,5	0,000366	-2,35579E-05	-2,31816E-05	-2,3E-05	-2,2207E-05	-2,21E-05	-2,282E-05
9,6	0,0003432	-2,20991E-05	-2,17458E-05	-2,158E-05	-2,0831E-05	-2,073E-05	-2,14E-05
9,7	0,0003218	-2,07295E-05	-2,03978E-05	-2,024E-05	-1,9539E-05	-1,944E-05	-2,008E-05
9,8	0,0003017	-1,94437E-05	-1,91323E-05	-1,898E-05	-1,8326E-05	-1,824E-05	-1,883E-05
9,9	0,0002828	-1,82368E-05	-1,79445E-05	-1,78E-05	-1,7188E-05	-1,71E-05	-1,766E-05
10	0,0002652	-1,71039E-05	-1,68296E-05	-1,67E-05	-1,612E-05	-1,604E-05	-1,656E-05
10,1	0,0002486	-1,60408E-05	-1,57833E-05	-1,566E-05	-1,5117E-05	-1,504E-05	-1,553E-05
10,2	0,0002331	-1,5043E-05	-1,48014E-05	-1,468E-05	-1,4176E-05	-1,411E-05	-1,457E-05
10,3	0,0002185	-1,41068E-05	-1,38801E-05	-1,377E-05	-1,3294E-05	-1,323E-05	-1,366E-05
10,4	0,0002048	-1,32284E-05	-1,30157E-05	-1,291E-05	-1,2465E-05	-1,24E-05	-1,281E-05
10,5	0,000192	-1,24042E-05	-1,22047E-05	-1,211E-05	-1,1688E-05	-1,163E-05	-1,201E-05
10,6	0,00018	-1,1631E-05	-1,14438E-05	-1,135E-05	-1,096E-05	-1,09E-05	-1,126E-05
10,7	0,0001687	-1,09057E-05	-1,07301E-05	-1,065E-05	-1,0276E-05	-1,022E-05	-1,056E-05
10,8	0,0001582	-1,02253E-05	-1,00606E-05	-9,981E-06	-9,6345E-06	-9,586E-06	-9,901E-06
10,9	0,0001483	-9,58711E-06	-9,43261E-06	-9,358E-06	-9,033E-06	-8,988E-06	-9,283E-06
11	0,000139	-8,98853E-06	-8,84362E-06	-8,774E-06	-8,4688E-06	-8,426E-06	-8,703E-06
11,1	0,0001303	-8,42711E-06	-8,29121E-06	-8,226E-06	-7,9397E-06	-7,9E-06	-8,16E-06
11,2	0,0001221	-7,90059E-06	-7,77314E-06	-7,712E-06	-7,4435E-06	-7,406E-06	-7,65E-06
11,3	0,0001145	-7,40681E-06	-7,28729E-06	-7,23E-06	-6,9781E-06	-6,943E-06	-7,172E-06
11,4	0,0001073	-6,94376E-06	-6,83167E-06	-6,778E-06	-6,5418E-06	-6,509E-06	-6,723E-06
11,5	0,0001006	-6,50954E-06	-6,40443E-06	-6,354E-06	-6,1326E-06	-6,102E-06	-6,303E-06
11,6	9,428E-05	-6,10237E-06	-6,00381E-06	-5,956E-06	-5,7489E-06	-5,72E-06	-5,908E-06
11,7	8,837E-05	-5,72057E-06	-5,62816E-06	-5,584E-06	-5,3891E-06	-5,362E-06	-5,539E-06
11,8	8,283E-05	-5,36258E-06	-5,27593E-06	-5,234E-06	-5,0518E-06	-5,027E-06	-5,192E-06
11,9	7,764E-05	-5,02692E-06	-4,94568E-06	-4,907E-06	-4,7356E-06	-4,712E-06	-4,867E-06
12	7,277E-05	-4,71221E-06	-4,63604E-06	-4,599E-06	-4,439E-06	-4,417E-06	-4,562E-06
12,1	6,821E-05	-4,41715E-06	-4,34574E-06	-4,311E-06	-4,161E-06	-4,14E-06	-4,277E-06
12,2	6,393E-05	-4,14052E-06	-4,07356E-06	-4,041E-06	-3,9004E-06	-3,881E-06	-4,009E-06
12,3	5,992E-05	-3,88116E-06	-3,81839E-06	-3,788E-06	-3,6561E-06	-3,638E-06	-3,758E-06
12,4	5,616E-05	-3,63802E-06	-3,57917E-06	-3,551E-06	-3,427E-06	-3,41E-06	-3,522E-06
12,5	5,264E-05	-3,41008E-06	-3,35491E-06	-3,328E-06	-3,2122E-06	-3,196E-06	-3,302E-06
12,6	4,934E-05	-3,19639E-06	-3,14467E-06	-3,12E-06	-3,0109E-06	-2,996E-06	-3,095E-06
12,7	4,624E-05	-2,99606E-06	-2,94758E-06	-2,924E-06	-2,8222E-06	-2,808E-06	-2,901E-06
12,8	4,334E-05	-2,80827E-06	-2,76282E-06	-2,741E-06	-2,6453E-06	-2,632E-06	-2,719E-06
12,9	4,062E-05	-2,63223E-06	-2,58962E-06	-2,569E-06	-2,4794E-06	-2,467E-06	-2,548E-06
13	3,808E-05	-2,4672E-06	-2,42727E-06	-2,408E-06	-2,324E-06	-2,312E-06	-2,389E-06
13,1	3,569E-05	-2,31251E-06	-2,27508E-06	-2,257E-06	-2,1783E-06	-2,167E-06	-2,239E-06
13,2	3,345E-05	-2,16751E-06	-2,13241E-06	-2,116E-06	-2,0417E-06	-2,031E-06	-2,098E-06
13,3	3,135E-05	-2,03158E-06	-1,99869E-06	-1,983E-06	-1,9136E-06	-1,904E-06	-1,967E-06
13,4	2,938E-05	-1,90417E-06	-1,87334E-06	-1,858E-06	-1,7936E-06	-1,785E-06	-1,844E-06

13,5	2,754E-05	-1,78474E-06	-1,75584E-06	-1,742E-06	-1,6811E-06	-1,673E-06	-1,728E-06
13,6	2,581E-05	-1,67279E-06	-1,6457E-06	-1,633E-06	-1,5756E-06	-1,568E-06	-1,62E-06
13,7	2,419E-05	-1,56786E-06	-1,54247E-06	-1,53E-06	-1,4768E-06	-1,469E-06	-1,518E-06
13,8	2,267E-05	-1,4695E-06	-1,4457E-06	-1,434E-06	-1,3842E-06	-1,377E-06	-1,423E-06
13,9	2,125E-05	-1,37731E-06	-1,355E-06	-1,344E-06	-1,2973E-06	-1,291E-06	-1,333E-06
14	1,991E-05	-1,2909E-06	-1,26999E-06	-1,26E-06	-1,2159E-06	-1,21E-06	-1,25E-06
14,1	1,866E-05	-1,20991E-06	-1,19031E-06	-1,181E-06	-1,1396E-06	-1,134E-06	-1,171E-06
14,2	1,749E-05	-1,13399E-06	-1,11562E-06	-1,107E-06	-1,0681E-06	-1,063E-06	-1,098E-06
14,3	1,64E-05	-1,06283E-06	-1,04561E-06	-1,037E-06	-1,0011E-06	-9,961E-07	-1,029E-06
14,4	1,537E-05	-9,9614E-07	-9,80001E-07	-9,722E-07	-9,3827E-07	-9,336E-07	-9,644E-07
14,5	1,44E-05	-9,33629E-07	-9,18502E-07	-9,112E-07	-8,7939E-07	-8,75E-07	-9,039E-07
14,6	1,35E-05	-8,75038E-07	-8,6086E-07	-8,54E-07	-8,242E-07	-8,201E-07	-8,472E-07
14,7	1,265E-05	-8,20122E-07	-8,06833E-07	-8,004E-07	-7,7247E-07	-7,686E-07	-7,94E-07
14,8	1,186E-05	-7,68651E-07	-7,56196E-07	-7,502E-07	-7,2399E-07	-7,204E-07	-7,442E-07
14,9	1,111E-05	-7,20409E-07	-7,08735E-07	-7,031E-07	-6,7855E-07	-6,751E-07	-6,974E-07
15	1,041E-05	-6,75194E-07	-6,64252E-07	-6,59E-07	-6,3596E-07	-6,328E-07	-6,537E-07

