

**INTERESTERIFIKASI MINYAK KELAPA SAWIT
dengan METIL ASETAT MENGGUNAKAN
BIOKATALIS untuk MEMPRODUKSI BIODIESEL**

SKRIPSI

Oleh

SEPTIAN MARNO
04 04 06 056 X



**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA
GENAP 2007/2008**

**INTERESTERIFIKASI MINYAK KELAPA SAWIT
dengan METIL ASETAT MENGGUNAKAN
BIOKATALIS untuk MEMPRODUKSI BIODIESEL**

SKRIPSI

Oleh

SEPTIAN MARNO
04 04 06 056 X



**SKRIPSI INI DIAJUKAN UNTUK MELENGKAPI SEBAGIAN
PERSYARATAN MENJADI SARJANA TEKNIK**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA
GANJIL 2007/2008**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul,

INTERESTERIFIKASI MINYAK KELAPA SAWIT dengan METIL ASETAT MENGUNAKAN BIODKATALIS untuk MEMPRODUKSI BIODIESEL

Yang dibuat untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia, sejauh yang saya ketahui bukan merupakan tiruan atau duplikasi dari skripsi yang sudah dipublikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar kesarjanaan di lingkungan Universitas Indonesia maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali bagian yang sumber informasinya dicantumkan sebagaimana mestinya.

Depok, 29 Juli 2008

Septhian Marno
040406056X

PENGESAHAN

Skripsi dengan judul,

INTERESTERIFIKASI MINYAK KELAPA SAWIT dengan METIL ASETAT MENGUNAKAN BIODKATALIS untuk MEMPRODUKSI BIODIESEL

Dibuat untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia dan disetujui untuk diajukan dalam sidang ujian skripsi.

Depok, 29 Juli 2008

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Dr. HERI HERMANSYAH S.T., M.Eng.

NIP. 132 233 211

Ir. Rita Arbianti M.Si

NIP. 131 627 864

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

Dr. Heri Hermansyah, S.T., M. Eng

dan

Ir. Rita Arbianti M.Si

selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberi pengarahan, diskusi dan bimbingan serta persetujuan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.

Septhian Marno
NPM 040406056X
Departemen Teknik Kimia

Dosen Pembimbing:
Dr. Heri Hermansyah, S.T., M. Eng.
Ir. Rita Arbianti M.Si

INTERESTERIFIKASI MINYAK KELAPA SAWIT dengan METIL ASETAT MENGUNAKAN BIOKATALIS untuk MEMPRODUKSI BIODIESEL

ABSTRAK

Biodiesel (*fatty acid methyl ester*) telah diproduksi secara komersial melalui reaksi transesterifikasi minyak nabati dengan metanol menggunakan katalis alkali. Tetapi katalis alkali ini mempunyai beberapa kelemahan, seperti terjadinya reaksi pembentukan sabun, katalis yang bercampur homogen, dan proses pemurnian produk inilah yang menyebabkan harga biodiesel menjadi cukup mahal. Untuk mengatasi hal tersebut dikembangkan sintesis biodiesel menggunakan enzim lipase sebagai biokatalis. Biokatalis ini merupakan katalis heterogen, sehingga pemisahannya dari produk setelah reaksi berakhir dapat dilakukan dengan mudah. Namun, lipase terdeaktivasi oleh alkohol. Oleh karena itu, perlu dikembangkan metode baru untuk meningkatkan aktivitas dan stabilitas lipase dalam proses sintesis biodiesel. Metode baru yang akan dikembangkan adalah dengan cara mengganti alkohol dengan alkil asetat yang sama-sama berfungsi sebagai pensuplai alkil.

Pada skripsi ini, penulis akan meneliti konsentrasi biodiesel (mol/L) yang terbentuk dari reaktan alkil asetat menggunakan biokatalis *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi, lipase terimmobilisasi metode adsorpsi, dan lipase terimmobilisasi dalam bentuk sol-gel (Novozym 435). Menyelidiki pengaruh biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel yang dihasilkan. Untuk lipase yang terimmobilisasi akan di uji stabilitasnya. Reaksi dilakukan dalam reaktor *batch* dan analisa sampel menggunakan HPLC. Berikutnya adalah melakukan pemodelan secara sederhana terhadap laju konsentrasi biodiesel yang terbentuk untuk menentukan nilai K_m dan V_{max} reaksi menggunakan persamaan Michaelis-Menten.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi biodiesel terbesar yang dihasilkan adalah 15.02 (mol/L) menggunakan biokatalis Novozym 435. Namun untuk % yield biodiesel terbesar adalah 86.55 % yang dihasilkan menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi dengan rasio mol minyak : metil asetat adalah 1:12. Konsentrasi biokatalis terbesar yang digunakan yaitu 4 (% wt) terbukti menghasilkan konsentrasi biodiesel yang terbesar pula. Untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi, dilihat dari % yield biodiesel terbentuk setelah 3 kali penggunaan reaksi, maka immobilisasi metode adsorpsi mempunyai stabilitas yang lebih baik dibandingkan dengan immobilisasi metode sol-gel (Novozym 435), dengan nilai % yield biodiesel terbentuk adalah 17.79% untuk metode adsorpsi dan 11.82 % untuk Novozym 435. Hasil penelitian kemudian dimodelkan menggunakan metode linierisasi Michaelis-Menten dengan nilai V_{max} terbesar yaitu 0.0784 dan nilai K_m terbentuk yaitu 12.975 yang didapat dari hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi pada sol-gel (Novozym 435)

Kata kunci : Enzim lipase, Transesterifikasi, Katalis Alkali, Fatty Acid Alkyl Ester (FAME), Rute Baru Non-Alkohol, Immobilisasi, Adsorpsi, V_{max} , K_m , Interesterifikasi.

Septian Marno
NPM 040406056X
Chemical Engineering Department

Project Supervisor:
Dr. Heri Hermansyah, S.T., M. Eng.
Ir. Rita Arbianti M.Si

**INTERESTERIFICATION OF PALM OIL with METHYL ACETATE USING BIOCATALYST
for BIODIESEL PRODUCTION**

ABSTRACT

The current biodiesel production processed commercially through transesterification of vegetable oil with methanol using alkaline catalysts. Although conventional chemical technology using alkaline catalysts has been applied to biodiesel fuel production, there are several drawbacks to this approach, including saponification reaction occurs, the need for removal of catalyst, and difficulties of this purity process at the end makes biodiesel price become expensive. The utilization of lipase in biodiesel production is considered as an effective means of circumventing these problems. However, effective methanolysis reactions using lipase have been developed, excess methanol would lead to inactivation of lipase and the lipase stability was poor. Hence, that's needed a new method to enhance the activity and stability of the lipase significantly. In this paper, a new method is developed by replacing alcohol reaction route to non-alcohol reaction route. Methanol as acyl acceptor would be substituted by methyl acetate for biodiesel production.

In this paper, biodiesel concentration (mol/L) that formed with alkyl acetate using different biocatalyst, *Candida rugosa* lipase in suspension form, immobilized lipase with adsorption method, and immobilized lipase on acrylic resin (Novozym 435), will be observed. Then, the effect of biocatalyst to biodiesel concentration (mol/L) formed will be studied too. Moreover, the stability of immobilized lipase will be tested. This experimental do in batch reactor and sample analyzed by HPLC. Additionally, result of this research will be modeled with Michaelis-Menten mechanism through linearization method to find V_{max} and K_m value.

The result of this research shows that the highest biodiesel concentration is 15.02 (mol/L) which's obtained from Novozym 435 as biocatalyst. However, the highest % yield biodiesel formed is 86.55 % achieved from lipase in suspension form as biocatalyst with molar ratio oil to methyl acetate is 1:12. The highest biocatalyst concentration which used in this research is 4 (%wt) resulting the highest biodiesel concentration formed. For stability test toward immobilized lipase which have number of cycles 3 times for reaction, analyzed through % yield biodiesel resulted, shows that immobilized lipase with adsorption method have better stability than Novozym 435, which % yield biodiesel resulted is 17.79% for immobilized lipase with adsorption method and 11.82 % for Novozym 435. Then, result of this research is modeled by Michaelis-Menten mechanism with the highest value of $V_{max} = 0.0784$ dan $K_m = 12.975$ which's obtained from Novozym 435 as biocatalyst

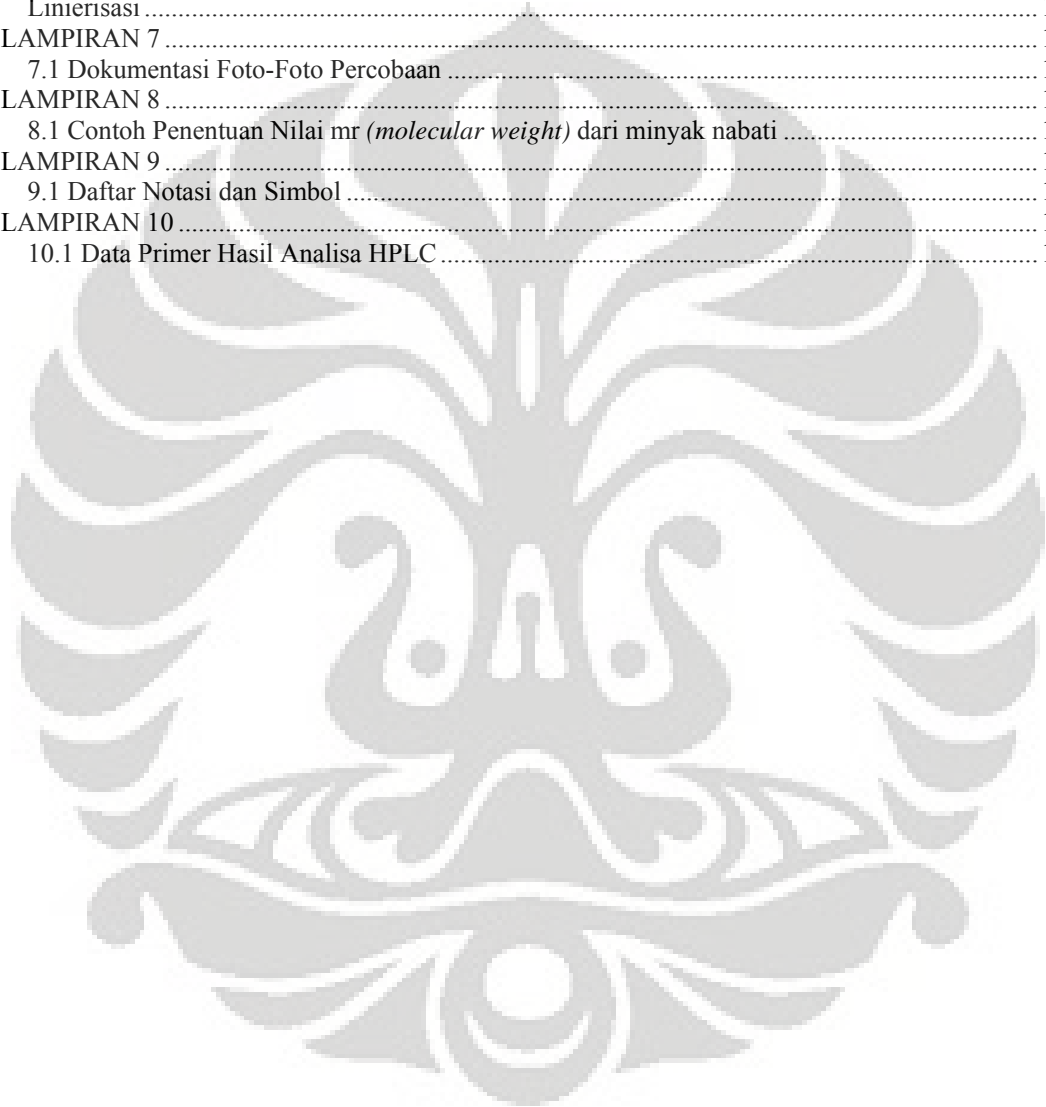
Key Word : Lipase, Novozym 435, Immobilization, Biocatalyst, Biodiesel, Adsorption V_{max} , K_m , Interesterification, Michaelis-Menten, Linearization, HPLC, Suspension

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	i
PENGESAHAN	ii
UCAPAN TERIMA KASIH	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang Masalah	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
I.4 Batasan Masalah	4
I.5 Sistematika Penulisan	5
BAB II	6
TINJAUAN PUSTAKA	6
II.1 State of The Art	6
II.2 Biodiesel	7
II.2.1 Perbandingan Biodiesel dengan Solar	8
II.2 Minyak Kelapa Sawit, Crude Palm Oil (CPO)	10
II.2.1 Kandungan Minyak pada Kelapa Sawit	11
II.2.1.1 Kandungan Trigliserida Minyak Kelapa Sawit	11
II.2.1.2 Kandungan non-Trigliserida Minyak Kelapa Sawit	12
II.2.2 Mutu Minyak Kelapa Sawit	13
II.2.2.1 Pengaruh Asam Lemak Bebas Terhadap Konversi Biodiesel	14
II.3 Proses Pembuatan Biodiesel	14
II.3.1 Transesterifikasi	15
II.3.2 Interesterifikasi	15
II.3.2.1 Pengaruh Katalis	16
II.3.2.2 Pengaruh Katalis Asam	16
II.3.2.3 Pengaruh Katalis Basa	18
II.3.2.4 Pengaruh Katalis Lipase	19
II.3.3 Pengaruh Temperatur	19
II.3.4 Pengaruh Kecepatan Pengadukan (Agitasi)	20
II.3.5 Pengaruh Waktu Transesterifikasi	20
II.3.6 Pengaruh Rasio Mol Reaktan	20
II.3.7 Transesterifikasi Metil Ester dari Rute Alkohol	21
II.3.8 Intersesterifikasi Metil Ester dari Rute Non Alkohol	23
II.4 Lipase	24
II.4.1 Klasifikasi Lipase	26
II.4.2 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Lipase	26
II.4.3 Candida rugosa	27
II.5 Immobilisasi Enzim Lipase	28
II.5.1 Bahan <i>Support</i> Enzim	30
II.5.2 Zeolit	30
II.5.2.1 Struktur Zeolit	30
II.5.2.2 Sifat-sifat Zeolit	31
II.5.2.3 Dehidrasi dan Adsorpsi	31
II.5.2.4 Sifat Penukar Ion	33
II.6 Kinetika Reaksi Enzimatik	33
II.6.1 Pemodelan Reaksi Enzimatik Michaelis-Menten	34
II.6.2 Penjelasan Mekanisme Reaksi Michaelis-Menten	38
II.6.3 Aplikasi Model Michaelis Menten Terhadap Data Percobaan	40
BAB III	44
METODE PENELITIAN	44
III.1 Alur Penelitian	44
III.2 Alat dan Bahan	45

III.2.1 Bahan Percobaan	45
III.2.2 Alat Percobaan.....	46
III.3 Prosedur Percobaan	46
III.3.1 Skrining Biokatalis	46
III.3.2 Pre-Eliminary Eksperimen.....	47
III.3.2.1 Sintesis Biodiesel Melalui Rute alkohol dan Rute Non-Alkohol Menggunakan Katalis NaOH.....	47
III.3.2.2.1 Viskositas Kinematik.....	50
III.3.2.2.2 Densitas	50
III.3.2.2.3 Kadar Air	51
III.3.2.3 Penentuan Tetapan Kimia.....	51
III.3.2.3.1 Bilangan Asam	51
III.3.3 Percobaan Immobilisasi Enzim	52
III.3.4 Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi.....	54
III.3.6 Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi pada <i>acrylic resin</i> dalam bentuk Sol-Gel (Novozym 435).....	57
III.3.8 Teknik Analisis Data	61
III.3.9 Pemodelan Reaksi Enzimatik Michaelis-Menten	62
BAB IV	64
HASIL DAN PEMBAHASAN	64
IV.1 Pre-Eliminary Eksperimen	64
IV.1.1 Penentuan Tetapan Fisika dan Kimia dari Berbagai Sumber Triglisierida.....	64
IV.1.1.1 Penentuan Viskositas Kinematik dari Berbagai Sumber Triglisierida.....	64
IV.1.1.2 Penentuan Densitas dari Berbagai Sumber Triglisierida	68
IV.1.1.3 Kadar Air dari Minyak Sawit dan Minyak Jelantah	71
IV.1.1.4 Penentuan Bilangan Asam dari Berbagai Sumber Triglisierida	72
IV.1.2 Hasil Reaksi Sintesis Biodiesel Menggunakan Katalis NaOH.....	74
IV.2 Hasil Sintesis Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Candida Rugosa Lipase dalam Bentuk Tersuspensi	81
IV.3 Hasil Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Candida Rugosa Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi	87
IV.3.1 Uji Stabilitas Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi	94
IV.4 Hasil Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Candida Antartica Lipase yang Terimmobilisasi dalam Acrylic Resin Menggunakan Metode Sol-Gel (Novozym 435).	96
IV.4.1 Uji Stabilitas Novozym 435	102
IV.5 Hasil Fitting Kurva Mekanisme Reaksi Michaelis-Menten	103
BAB V	111
KESIMPULAN	111
DAFTAR PUSTAKA	115
LAMPIRAN 1	119
1.1 Penentuan Tetapan Fisika Dan Kimia dari Berbagai Sumber Triglisierida	119
1.2 Data Luas Area dan Konsentrasi Standar	122
1.3 Pengolahan Data Menggunakan Interpolasi Standar.....	124
1.4 Contoh Perhitungan Interpolasi.....	124
1.5 Rumus Perhitungan % Mol Balance.....	125
Lampiran 2	127
2.1 Data Hasil Reaksi Sintesis Biodiesel Rute Alkohol dan Rute Non-Alkohol Menggunakan katalis NaOH	127
2.2 Perhitungan menggunakan % mol balance Rute Alkohol dengan Katalis NaOH	127
2.3 Data Hasil Reaksi Sintesis Biodiesel Rute Non-Alkohol Menggunakan katalis NaOH.....	129
2.4 Perhitungan Menggunakan % Mol Balance Rute Non Alkohol Katalis NaOH	129
Lampiran 3	132
3.1 Data Hasil Reaksi sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Candida rugosa Lipase dalam Bentuk Tersuspensi.....	132
3.2 Data Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Candida rugosa Lipase dalam bentuk Tersuspensi dengan Variasi Waktu.....	137
Lampiran 4	141
4.1 Data Hasil Reaksi sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi	141

4.2 Data Hasil Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi dengan Variasi Waktu.....	146
4.3 Data Perhitungan Uji Stabilitas Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi.....	149
Lampiran 5.....	152
5.1 Data Hasil Reaksi sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol Menggunakan Lipase Terimmobilisasi pada Acrylic Resin dalam Bentuk Sol-Gel (Novozym 435).....	152
5.2 Data Hasil Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Lipase Terimmobilisasi pada Acrylic Resin dalam Bentuk Sol-Gel (Novozym 435) dengan Variasi Waktu.....	155
5.3 Data Perhitungan Uji Stabilitas Novozym 435.....	158
Lampiran 6.....	161
6.1 Pemodelan Hasil Percobaan Menggunakan Mekanisme Reaksi Michaelis-Menten Metode Linierisasi.....	161
LAMPIRAN 7.....	166
7.1 Dokumentasi Foto-Foto Percobaan.....	166
LAMPIRAN 8.....	168
8.1 Contoh Penentuan Nilai m_r (<i>molecular weight</i>) dari minyak nabati.....	168
LAMPIRAN 9.....	169
9.1 Daftar Notasi dan Simbol.....	169
LAMPIRAN 10.....	170
10.1 Data Primer Hasil Analisa HPLC.....	170

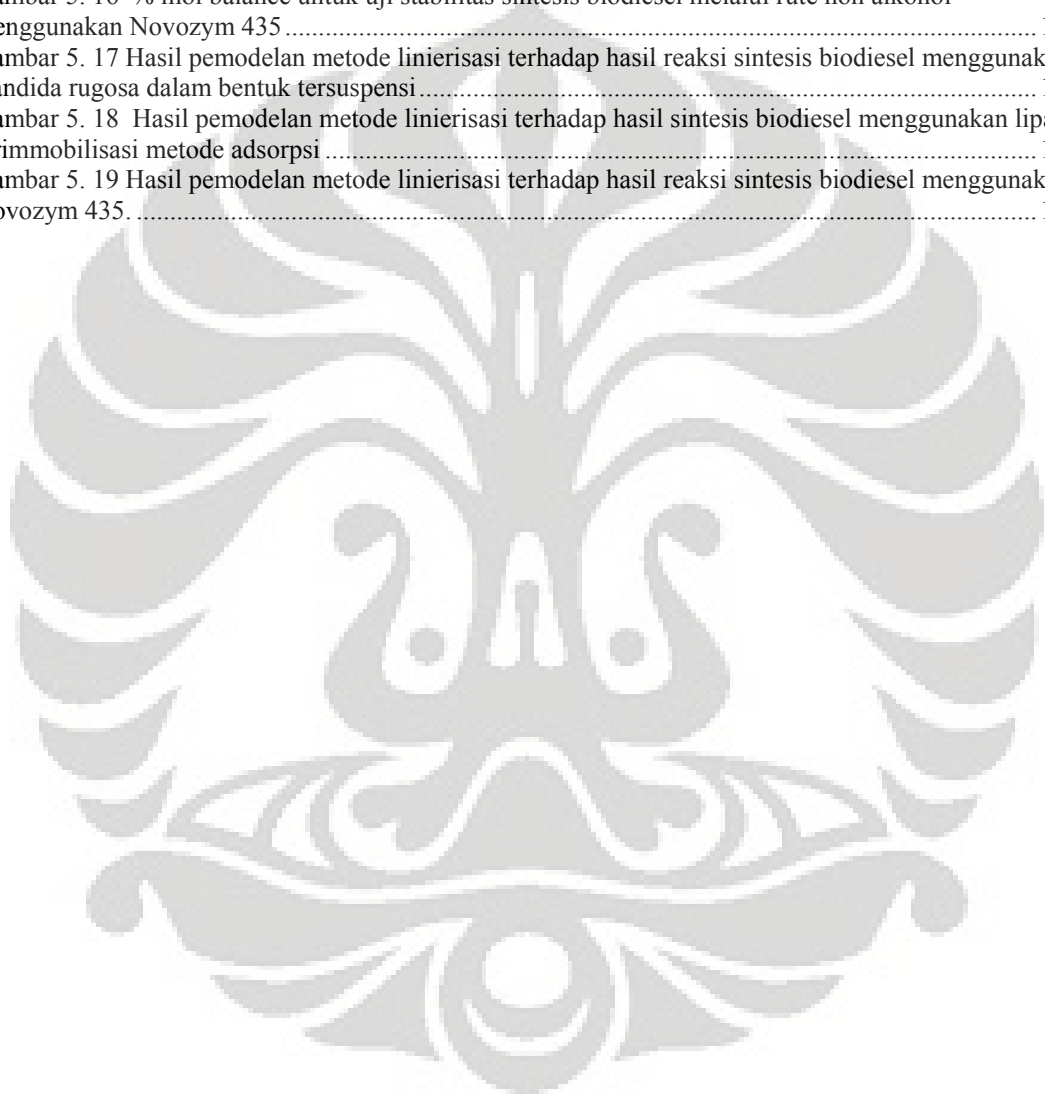


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Skematik diagram penelitian pengembangan sintesis biodiesel rute non alkohol	6
Gambar 2. 2 Struktur trigliserida pada minyak kelapa sawit.....	11
Gambar 2. 3 Struktur molekul asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh	12
Gambar 2. 4 Reaksi Transesterifikasi Menggunakan Alkohol	15
Gambar 2. 5 Mekanisme reaksi interesterifikasi	16
Gambar 2. 6 Mekanisme reaksi transesterifikasi dengan katalis asam	17
Gambar 2.7 Mekanisme reaksi transesterifikasi dengan katalis basa	18
Gambar 2. 8 Reaksi saponifikasi atau hidrolisis basa.....	19
Gambar 2.9 Reaksi keseluruhan transesterifikasi trigliserida dari minyak nabati dengan alkohol.....	21
Gambar 2.10 Reaksi bertingkat transesterifikasi trigliserida dari minyak nabati dengan alkohol.....	21
Gambar 2.11 Reaksi interesterifikasi minyak nabati melalui rute reaksi non alkohol.....	23
Gambar 2. 12 Struktur lipase (Ward, 1985)	25
Gambar 2. 13 <i>Candida</i> sp ^[24]	27
Gambar 2. 14 Kerangka dasar tetrahedral pada struktur zeolit.....	31
Gambar 2. 15 Grafik Pengaruh Temperatur terhadap Jumlah Zat Teradsorp.....	33
Gambar 2. 16 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju awal reaksi	38
Gambar 2. 17 Grafik Model Michaelis Menten Dalam Menentukan Nilai Km	40
Gambar 2. 18 reaksi sederhana sintesis biodiesel secara stoikiometrik.....	40
Gambar 3.1 Diagram Alir penelitian	45
Gambar 3. 2 Diagram alir reaksi transesterifikasi menggunakan katalis NaOH	50
Gambar 3. 3 Diagram alir aktivasi Penyangga	53
Gambar 3.4 Bagan alir prosedur immobilisasi	54
Gambar 3.5 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi	55
Gambar 3.6 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	57
Gambar 3.7 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan Novozym 435	58
Gambar 3. 8 Diagram alir uji stabilitas lipase terimmobilisasi reaksi interesterifikasi biodiesel	60
Gambar 3. 9 Skematik diagram reaktor <i>batch</i> intereseterifikasi sintesis biodiesel secara enzimatik	60
Gambar 3. 10 Unit HPLC yang digunakan untuk menganalisa Metil Ester	62
Gambar 3. 11 Diagram alir pemodelan Michaelis-Menten	63
Gambar 4. 1 Profil Viskositas Kinematik dari Minyak Sawit dan Minyak Jelantah	65
Gambar 4. 2 Rangkaian unit peralatan untuk mengukur viskositas kinematik.....	67
Gambar 4.3 Profil Densitas dari Minyak Sawit dan Minyak Goeng Bekas.....	68
Gambar 4. 4 Rangkaian unit peralatan untuk mengukur densitas (gr/mL).....	70
Gambar 4. 5 Kandungan air dari minyak sawit dan minyak jelantah	71
Gambar 4. 6 Bilangan Asam dari Minyak Sawit dan Minyak Jelantah	73
Gambar 4. 7 Tahap penentuan bilangan asam	74
Gambar 4. 8 Substrat minyak sawit saat sebelum reaksi (t = 0 menit)	75
Gambar 4. 9 Substrat minyak jelantah saat sebelum reaksi (t = 0 menit).....	75
Gambar 4. 10 Hasil reaksi transesterifikasi melalui rute alohol dengan substrat minyak sawit	76
Gambar 4. 11 Produk metil ester yang terbentuk setelah dilakukan proses pencucian	77
Gambar 4. 12 Hasil reaksi transesterifikasi melalui rute alkohol dengan substrat minyak jelantah	78
Gambar 4. 13 Hasil pemurnian metil ester dengan menggunakan air hangat.....	78
Gambar 4. 14 Produk metil ester hasil pemurnian dengan menghilangkan kandungan airnya.	79
Gambar 4. 15 Konsentrasi Biodiesel yang terbentuk menggunakan katalis NaOH.....	80
Gambar 4. 16 NaOH yang sulit larut dalam metil asetat	81
Gambar 4.17 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel (mol/L) yang dihasilkan pada perbedaan rasio reaktan menggunakan <i>Candida rugosa</i> dalam bentuk tersuspensi.....	82
Gambar 4. 18 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> dalam bentuk tersuspensi.	83
Gambar 4. 19 Laju reaksi dioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> dalam bentuk tersuspensi	83

Gambar 4. 20 Laju reaksi monooleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> dalam bentuk tersuspensi	84
Gambar 4.21 Laju reaksi Biodiesel (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan <i>Candida rugosa</i> dalam bentuk tersuspensi.	84
Gambar 4. 22 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam raksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersuspensi	85
Gambar 4. 23 Persiapan tahapan pembuatan larutan lipase.....	86
Gambar 4. 24 Tahap Reaksi Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis..	86
Gambar 4. 25 Hasil Reaksi Interesterifikasi Rute Alkohol dengan <i>Candida rugosa</i> dalam sistem tersuspensi saat t =50 jam.....	87
Gambar 4. 26 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap biodiesel yang dihasilkan pada perbedaan rasio reaktan menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	88
Gambar 4. 27 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	89
Gambar 4. 28 Laju reaksi dioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	90
Gambar 4.29 Laju reaksi monooleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	90
Gambar 4.30 Laju reaksi biodiesel (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	91
Gambar 4. 31 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam raksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	91
Gambar 4. 32 Zeolit Teraktivasi.....	93
Gambar 4. 33 Tahap Imobilisasi Lipase <i>Candida rugosa</i> powder pada zeolit.....	93
Gambar 4. 34 Tahap pemisahan lipase terimmobilisasi	93
Gambar 4. 35 Pencampuran awal antara minyak sawit dan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	94
Gambar 4. 36 Hasil reaksi interesterifikasi menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	94
Gambar 4. 37 Uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi setelah di- <i>recycle</i> 3 kali	95
Gambar 4. 38 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel yang dihasilkan menggunakan Novozym 435.....	96
Gambar 4. 39 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Novozym 435	97
Gambar 4. 40 Laju reaksi dioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Novozym 435	98
Gambar 4. 41 Laju reaksi monooleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Novozym 435.....	98
Gambar 4. 42 Laju reaksi Biodiesel (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Novozym 435	99
Gambar 4. 43 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam raksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi pada <i>acrylic resin</i> dalam bentuk sol-gel (Novozym 435)	99
Gambar 4. 44 Pencampuran antara Novozym 435 dengan Minyak Jelantah saat t = 0 jam	101
Gambar 4. 45 Tahap sintesis Biodiesel Menggunakan Biokatalis Novozym 435	101
Gambar 4. 46 Hasil reaksi antara Novozym 435 dan Minyak Jelantah saat t = 50 jam.....	102
Gambar 4. 47 Uji stabilitas Novozym 435 setelah direcycle sebanyak 3 kali	102
Gambar 4.48 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan <i>Candida rugosa</i> dalam bentuk tersuspensi.....	104
Gambar 4.49 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	107
Gambar 4.50 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Novozym 435.	108
Gambar 5. 1 Kurva standar untuk trioleat	122
Gambar 5. 2 Kurva standar untuk dioleat.....	123
Gambar 5. 3 Kurva standar untuk mono-oleat.....	123
Gambar 5. 4 Kurva standar untuk biodiesel	123
Gambar 5. 5 % mol balance sintesis biodiesel melalui rute alkohol menggunakan katalis NaOH.....	129
Gambar 5. 6 % mol balance sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan katalis NaOH	131
Gambar 5. 7 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersupensi	134
Gambar 5. 8 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersupensi	136
Gambar 5. 9 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan <i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersupensi dengan variasi waktu.....	140

Gambar 5. 10 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	143
Gambar 5. 11 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	145
Gambar 5. 12 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu.....	149
Gambar 5. 13 % mol balance untuk uji stabilitas sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	151
Gambar 5. 14 % mol balance untuk variasi konsentrasi biokatalis Novozym 435 hasil sintesis biodiesel melalui rute non alkohol.....	154
Gambar 5. 15 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Novozym 435 dengan variasi waktu	158
Gambar 5. 16 % mol balance untuk uji stabilitas sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Novozym 435.....	160
Gambar 5. 17 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Candida rugosa dalam bentuk tersuspensi.....	162
Gambar 5. 18 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	164
Gambar 5. 19 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Novozym 435.....	165

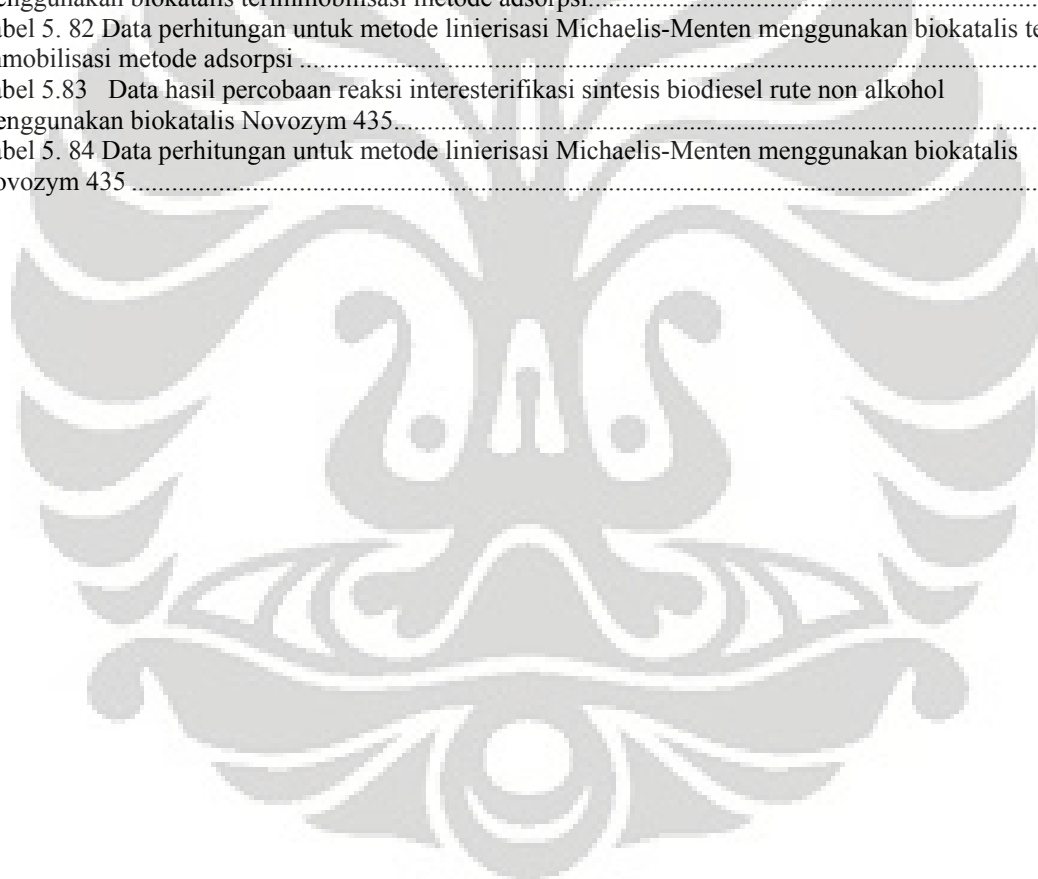


DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Karakteristik Biodiesel ^[5]	8
Tabel 2. 2 Perbandingan karakteristik biodiesel dengan bahan bakar solar ^[7]	9
Tabel 2. 3 Komposisi asam lemak dalam minyak sawit ^[6]	12
Tabel 2. 4 Kandungan non-Trigliserida Minyak Kelapa Sawit ^[6]	12
Tabel 2. 5 Perbandingan antara metode katalis basa dengan biokatalis untuk produksi biodiesel ^[11]	23
Tabel 2. 6 Mikroba-mikroba penghasil lipase (Pandey, 1999)	25
Tabel 3. 1 Kondisi Operasi Reaksi Menggunakan Katalis NaOH	47
Tabel 3. 2 Kondisi operasi untuk reaksi lipase dalam bentuk suspensi	55
Tabel 3. 3 Kondisi operasi untuk uji aktivitas menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	56
Tabel 3. 4 Kondisi operasi untuk uji aktivitas menggunakan Novozym 435	58
Tabel 3.5 Kondisi operasi untuk uji stabilitas menggunakan lipase terimmobilisasi metode	59
Tabel 3. 6 Spesifikasi Alat HPLC	61
Tabel 4.1 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi	103
Tabel 4.2 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi	104
Tabel 4.3 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi	106
Tabel 5. 1 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi	106
Tabel 5.2 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Novozym 435	107
Tabel 5. 3 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis Novozym 435	108
Tabel 5. 4 Nilai V_{max} dan K_m untuk masing-masing grafik hasil fitting metode linierisasi	109
Tabel 5. 5 Profil Densitas, Viskositas kinematik, dan Fasa dari Minyak Sawit	119
Tabel 5. 6 Profil Densitas, Viskositas kinematik, dan Fasa dari Minyak Sawit Bekas	120
Tabel 5.7 Bilangan Asam Minyak Sawit	120
Tabel 5.8 Bilangan Asam Minyak Sawit Bekas	120
Tabel 5. 9 <i>Water Content</i> (%) dari Minyak Sawit	121
Tabel 5. 10 <i>Kandungan air</i> (%) dari Minyak Sawit Bekas	121
Tabel 5. 11 Data luas area dan konsentrasi standar	122
Tabel 5. 12 Luas Area dan konsentrasi standar yang digunakan	124
Tabel 5. 13 Konsentrasi sampel yang diperoleh setelah di-interpolasi dengan data standar	125
Tabel 5. 14 Konsentrasi sampel rute alkohol yang diperoleh setelah di-interpolasi dengan data standar	125
Tabel 5. 15 Data saat $t = 0$ jam untuk minyak sawit	Tabel 5. 16 Data saat $t = 0$ jam minyak jelantah
	127
Tabel 5. 17 Data saat $t = 1$ jam untuk minyak sawit	Tabel 5. 18 Data saat $t = 1$ jam minyak jelantah
	127
Tabel 5. 19 % mol balance sintesis biodiesel rute alkohol menggunakan katalis NaOH dari minyak sawit	127
Tabel 5. 20 % mol balance sintesis biodiesel rute alkohol menggunakan katalis NaOH dari minyak jelantah	128
Tabel 5. 21 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk	128
Tabel 5. 22 Data saat $t = 1$ jam minyak sawit	Tabel 5. 23 Data saat $t = 1$ jam minyak jelantah
	129
Tabel 5. 24 % mol balance sintesis biodiesel rute non alkohol dengan katalis NaOH dari minyak sawit	129
Tabel 5. 25 % mol balance sintesis biodiesel rute non alkohol dengan katalis NaOH dari minyak jelantah	130
Tabel 5. 26 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk	130
Tabel 5. 27 Data saat $t = 0$ jam untuk minyak sawit	132
Tabel 5. 28 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi	132

Tabel 5. 29 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt	132
Tabel 5. 30 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt	132
Tabel 5. 31 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt	133
Tabel 5. 32 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi.....	133
Tabel 5. 33 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi.....	134
Tabel 5. 34 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt	135
Tabel 5. 35 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt	135
Tabel 5. 36 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt	135
Tabel 5. 37 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi.....	135
Tabel 5. 38 Luas area yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu	137
Tabel 5. 39 Konsentrasi yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu	137
Tabel 5. 40 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan Candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu.....	138
Tabel 5. 41 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu	139
Tabel 5. 42 Data saat t = 0 jam untuk minyak sawit.....	141
Tabel 5. 43 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	141
Tabel 5. 44 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt	141
Tabel 5. 45 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt	141
Tabel 5. 46 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt	142
Tabel 5. 47(%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	142
Tabel 5. 48 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	143
Tabel 5. 49 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt	144
Tabel 5. 50 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt	144
Tabel 5. 51 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt	144
Tabel 5. 52 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	144
Tabel 5. 53 Luas area yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu	146
Tabel 5. 54 Konsentrasi yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu	146
Tabel 5. 55 Perhitungan % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu	147
Tabel 5. 56 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu	148
Tabel 5. 57 Data uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	149
Tabel 5. 58 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 1	149
Tabel 5. 59 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 2	150
Tabel 5. 60 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 3	150
Tabel 5. 61(%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji stabilitas menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi.....	150
Tabel 5. 62 Data saat t = 0 jam untuk minyak jelantah	152
Tabel 5. 63 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Novozym 435 sebagai biokatalis.....	152
Tabel 5. 64 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt	152
Tabel 5. 65 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt	153
Tabel 5. 66 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt	153
Tabel 5. 67 (%) Konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen hasil sintesis biodiesel melalui rute non alkohol dengan variasi konsentrasi biokatalis Novozym 435.....	153

Tabel 5. 68 Luas area yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan Novozym 435 dengan variasi waktu	155
Tabel 5. 69 Konsentrasi yang terbentuk hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan Novozym 435 dengan variasi waktu	155
Tabel 5. 70 Perhitungan % mol balance untuk hasil sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Novozym 435 dengan variasi waktu	156
Tabel 5. 71 (%) konversi trielast dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk hasil sintesis biodiesel menggunakan Novozym 435 dengan variasi waktu	157
Tabel 5. 73 Data uji stabilitas Novozym 435	158
Tabel 5. 74 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas Novozym 435 cycle 1	158
Tabel 5. 75 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas Novozym 435 cycle 2	159
Tabel 5. 76 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas Novozym 435 cycle 3	159
Tabel 5. 77 (%) konversi trielast dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji stabilitas menggunakan Novozym 435	159
Tabel 5. 79 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi	161
Tabel 5. 80 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi	161
Tabel 5.81 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi	163
Tabel 5. 82 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi	163
Tabel 5.83 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Novozym 435	164
Tabel 5. 84 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis Novozym 435	165





BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang Masalah

Kebutuhan bahan bakar yang tinggi akibat pertambahan jumlah penduduk dan kemajuan ekonomi yang pesat di beberapa negara tidak diimbangi dengan persediaan minyak bumi sebagai sumber utama bahan bakar yang semakin menipis persediannya. Oleh karena itu, pencarian terhadap energi alternatif selain minyak bumi merupakan sebuah isu besar dalam kaitannya dengan politik dan menjadi salah satu primadona permasalahan lingkungan global di dunia internasional.

Peluang di Indonesia adalah usaha eksploitasi sumber daya alam yang sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan bakar alternatif, mengingat Indonesia memiliki beragam sumber energi alternatif terbarukan. Salah satu sumber energi alternatif yang terbarukan adalah biodiesel. Biodiesel merupakan substitusi yang unggul untuk pengganti kebutuhan bahan bakar minyak nasional, Selain itu teknologi produksi biodiesel relatif tak rumit dan mudah dikembangkan serta dikuasai bangsa kita. Dilain hal, Negara Indonesia juga kaya dengan sumber bahan mentahnya dan salah satu penghasil minyak sawit dan kelapa terbesar di dunia^[1].

Biodiesel dihasilkan dari minyak nabati, seperti kelapa sawit, jarak pagar, kacang tanah, kelapa, dan lain sebagainya. Pemanfaatan minyak nabati sebagai bahan bakar diesel bukan suatu hal yang baru. **Rudolph Diesel** seorang ilmuwan berkebangsaan jerman pencipta mesin diesel, telah menggunakan minyak kacang tanah sebagai bahan bakar untuk menjalankan mesinnya di *world fair* paris pada tahun 1900.

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) merupakan salah satu sumber bahan baku minyak nabati yang prospektif dikembangkan sebagai bahan baku biodiesel di Indonesia, mengingat produksi CPO Indonesia cukup besar dan meningkat tiap tahunnya^[2]. Selain itu, hampir seluruh produk CPO dapat diolah menjadi biodiesel, dari yang terbaik dengan kadar *Free Fatty Acid* (FFA) kurang dari 5 persen hingga *Palm Fatty Acid Distillate* (PFAD) berkadar FFA lebih dari 70 persen^[3].



Pada kenyataannya pemanfaatan minyak kelapa sawit sebagai bahan mentah pembuatan biodiesel menyisakan banyak masalah. Pengolahan biodiesel dari minyak kelapa sawit pada umumnya melalui reaksi transesterifikasi. Reaksi transesterifikasi dari minyak kelapa sawit tanpa katalis memang memungkinkan pada suhu diatas 250°C. namun bisa dipastikan konsumsi energi yang begitu besar menjadi keputusan untuk tidak memilih cara ini. Katalisator Asam seperti H₂SO₄ dan HCL dapat menurunkan suhu reaksi sehingga dapat beroperasi pada suhu 100°C. Tetapi suhu reaksi itu masih bisa diturunkan bahkan sampai suhu kamar (30°C) dengan memakai katalisator basa seperti NaOH dan KOH ^[4].

Ternyata penggunaan katalis asam atau basa pada reaksi sintesis biodiesel ini dapat membentuk reaksi penyabunan. Terbentuknya reaksi penyabunan (*sodium soap*) merupakan reaksi samping yang tidak dikehendaki. Dengan adanya reaksi samping yang berupa penyabunan inilah konversi minyak menjadi ester (biodiesel) menjadi kecil

Reaksi samping yang tidak diinginkan ini juga pada akhirnya membebani proses pemurnian produk dan menurunkan *yield* biodiesel yang pada akhirnya mengakibatkan biaya produksi yang tinggi. Untuk mengatasi masalah di atas, maka diperlukan katalis yang tidak bercampur homogen dan mampu mengarahkan reaksi secara spesifik menghasilkan produk yang diinginkan tanpa reaksi samping.

Akhir-akhir ini, penelitian sintesis biodiesel menggunakan enzim lipase semakin banyak dilakukan. Penggunaan enzim lipase sebagai biokatalis untuk sintesis biodiesel sangat menjanjikan karena mampu memperbaiki kelemahan katalis alkali, yaitu tidak bercampur homogen, sehingga pemisahannya mudah dan mampu mengarahkan reaksi secara spesifik tanpa adanya reaksi samping yang tak diinginkan. Selain kelebihanannya, penggunaan lipase sebagai katalis untuk sintesis biodiesel masih menyisakan masalah yang cukup besar. Lingkungan beralkohol seperti metanol menyebabkan lipase terdeaktivasi secara cepat dan stabilitasnya dalam mengkatalisis reaksi menjadi buruk. Untuk menyelesaikan masalah tersebut, dalam penelitian ini diusulkan melakukan sintesis biodiesel menggunakan rute non alkohol untuk menjaga agar aktivitas dan stabilitas enzim tetap tinggi selama reaksi berlangsung.



Dalam penelitian ini, metanol akan digantikan dengan metil asetat sebagai pensuplai gugus metil. Penggantian alkohol dengan alkil asetat ini diharapkan mampu mencegah deaktivasi dan meningkatkan stabilitas enzim lipase selama proses reaksi secara signifikan. Disamping itu, produk samping rute non alkohol ini yaitu *triasetilgliserol* mempunyai nilai jual yang lebih tinggi dibanding produk samping rute alkohol, yaitu gliserol.

Dalam penelitian ini, penggunaan enzim lipase sebagai biokatalis akan diimmobilisasi. Immobilisasi enzim disini maksudnya adalah menggabungkan suatu enzim dengan suatu matrik padat (*support*) secara fisik, sehingga enzim dapat digunakan secara berulang kali dan secara kontinyu. Teknik ini dikembangkan untuk memperbaiki beberapa kekurangan penggunaan enzim, seperti: harga enzim yang mahal, ketidak-stabilan enzim, ketersediaan enzim yang sangat sedikit, dan mahalnya biaya untuk *recovery* enzim yang digunakan pada reaksi dalam media cair karena sifat enzim yang larut dalam media cair.



I.2 Rumusan Masalah

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

1. Berapakah % *yield* dan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan dari substrat minyak kelapa sawit melalui rute non-alkohol dengan biokatalis *Candida rugosa powder* dalam bentuk tersuspensi, lipase terimmobilisasi metode adsorpsi, dan lipase terimmobilisasi pada *acrylic resin* dalam bentuk sol-gel (*Novozym 435*)?
2. Pengujian stabilitas biokatalis untuk sintesis biodiesel dari substrat minyak kelapa sawit dan minyak jelantah.
3. Berapakah nilai V_{max} dan K_m yang terbentuk selama reaksi sintesis biodiesel rute non alkohol?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui berapa banyak % *yield* dan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan .
2. Mengetahui uji stabilitas biokatalis dalam proses sintesis biodiesel.
3. Mengetahui nilai K_m dan V_{max} yang terbentuk selama reaksi enzimatik sintesis biodiesel rute non-alkohol menggunakan mekanisme reaksi Michaelis-Menten dengan metode liniersasi.

I.4 Batasan Masalah

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

1. Substrat yang dipakat berasal dari minyak kelapa sawit dan minyak jelantah
2. Minyak jelantah yang digunakan dibeli dari *supplier* (penyedia) minyak jelantah
3. Menggunakan biokatalis lipase *Candida rugosa powder* dan *Novozym 435*
4. Menggunakan metil asetat sebagai pensuplai gugus metil.
5. Menentukan nilai k_m dan V_{max} berdasarkan mekanisme reaksi michaelis-menten menggunakan metode linierisasi
6. Reaksi dilakukan dalam reaktor *batch*



I.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan dalam skripsi ini adalah sebagai berikut:

BAB I : PENDAHULUAN

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

BAB II : TINJAUAN PUSTAKA

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

BAB III : METODOLOGI PENELITIAN

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

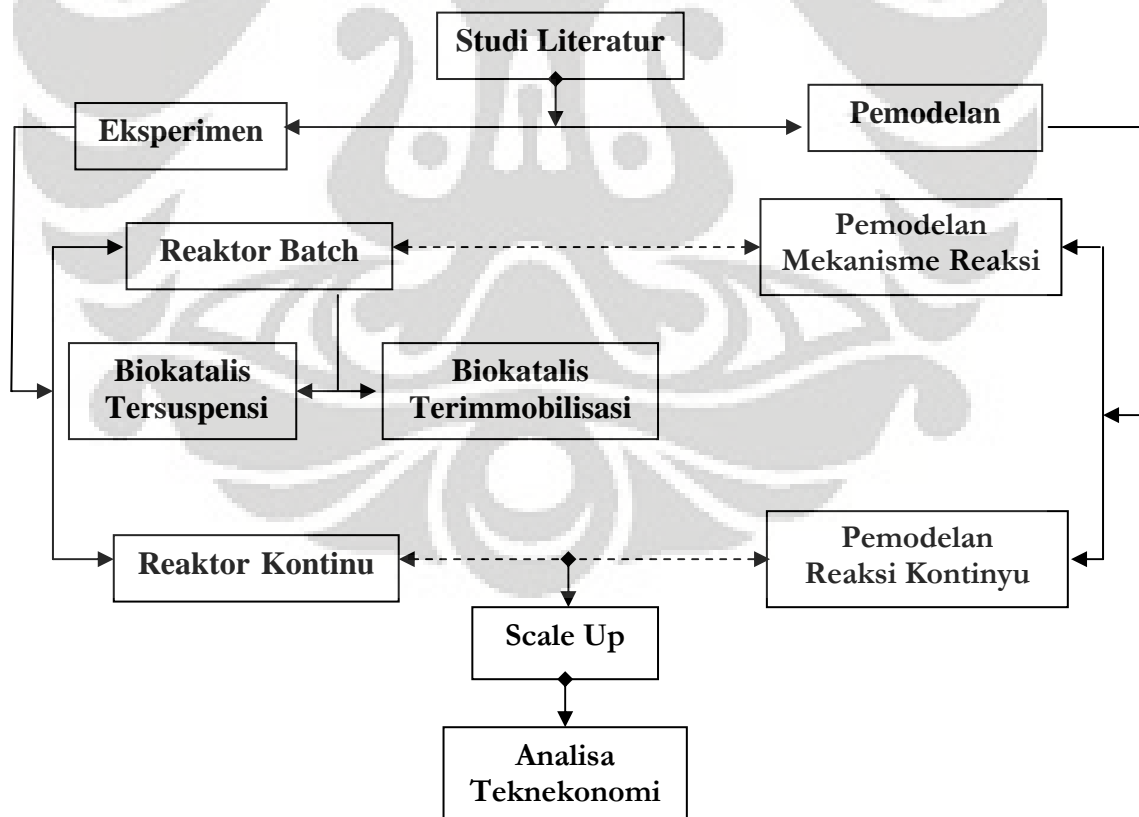


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 State of The Art

Tahun 2002 Shimada et.al. melakukan sintesis biodiesel menggunakan minyak sawit bekas dan Novozym 435 sebagai katalis melalui rute alkohol dengan metanol sebagai pendonor alkil (*acyl acceptor*) dan diperoleh konversi 90%. Baru tahun 2004 riset sintesis biodiesel melalui rute non alkohol ini dilakukan oleh riset grup dari China dengan hasil 2 publikasi internasional (Du et al, 2004 dan Xu et al., 2004). Pada tahun 2004 Xu et.al. melakukan studi perbandingan antara sintesis biodiesel melalui rute alkohol dan rute non alkohol menggunakan substrat minyak kedelai dan Novozym 435 sebagai biokatalis. Diperoleh % yield metil ester mencapai 92%. Dilanjuti oleh Wei Du et al pada tahun 2004 dengan melakukan pemodelan kinetika terhadap lipase dalam mengkatalis reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non-alkohol menggunakan pemodelan Ping Pong Bi Bi



Gambar 2. 1 Skematik diagram penelitian pengembangan sintesis biodiesel rute non alkohol



Dalam penelitian ini reaksi sintesis biodiesel yang dilakukan adalah dari minyak sawit dan minyak jelantah melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis lipase *Candida rugosa powder* dalam bentuk tersuspensi, lipase terimmobilisasi metode adsorpsi, dan lipase *Candida antartica* terimmobilisasi dalam sol-gel (Novozym 435). Jika dilihat dari gambar 2.1, penelitian yang dilakukan ini terbagi menjadi dua bagian, yaitu pada bagian eksperimen dan bagian pemodelan. Untuk bagian eksperimen penelitian ini berada pada tahap reaktor *batch* dengan menggunakan biokatalis tersuspensi dan biokatalis terimmobilisasi. Pada bagian pemodelan, penelitian ini berada pada tahap pemodelan mekanisme reaksi untuk reaktor *batch*. Pemodelan yang dilakukan menggunakan persamaan reaksi enzimatik Michaelis-Menten dengan metode linierisasi. Berikutnya setelah penelitian ini sudah dilakukan maka diharapkan selanjutnya telah memasuki tahap reaktor kontinu

II.2 Biodiesel

Biodiesel (*fatty acid methyl esters*) merupakan bahan bakar dari minyak nabati yang memiliki sifat menyerupai minyak diesel atau solar. Bahan bakar ini ramah lingkungan karena menghasilkan emisi gas buang yang jauh lebih baik dibandingkan dengan diesel atau solar, yaitu bebas sulfur (*free sulphur*), bilangan asap (*smoke number*) yang rendah; memiliki cetane number yang lebih tinggi sehingga pembakaran lebih sempurna (*clear burning*); memiliki sifat pelumasan terhadap piston mesin; dan dapat terurai (*biodegradable*) sehingga tidak menghasilkan racun (*non toxic*).

Secara kimia, biodiesel didefinisikan sebagai *mono alkyl ester* dari asam lemak rantai panjang yang diturunkan dari sumber lipida yang dapat diperbaharui. Biodiesel dapat dihasilkan melalui reaksi antara minyak nabati dengan alkohol (methanol atau etanol) dengan bantuan katalis untuk menghasilkan biodiesel (metil atau etil ester) dan gliserol sebagai produk sampingnya. Sebagai bahan bakar mesin diesel, biodiesel dapat digunakan langsung atau terlebih dahulu dicampur dengan minyak diesel, karena karakteristiknya yang serupa dengan minyak diesel. 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.



Penggunaan Biodiesel 100% pada mesin diesel dapat mengurangi emisi gas CO₂ sebanyak 75% diatas minyak solar, tetapi penggunaan 100% biodiesel tidak dianjurkan karena dapat menimbulkan kerak atau kotoran yang dapat menyumbat pipa saluran pembakaran mesin diesel. Untuk bahan campuran penggunaan 20% Biodiesel dan 80% bahan bakar solar pada mesin diesel dapat mengurangi emisi gas CO₂ sebanyak 15%. Biodiesel juga menghasilkan lebih sedikit partikulat, CO, CO₂ dan SO_x.

Tabel 2. 1 Karakteristik Biodiesel ^[5]

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

II.1.2 Perbandingan Biodiesel dengan Solar

Bila dibandingkan dengan solar, maka biodiesel memiliki beberapa kelebihan. Adapun perbandingan karakteristik antara biodiesel dengan bahan bakar fosil solar dapat dilihat pada Tabel 2.1 berikut. Berdasarkan Tabel 2.1, beberapa kelebihan biodiesel dibandingkan dengan bahan bakar solar diantaranya yaitu biodiesel mempunyai bilangan setana yang lebih tinggi daripada solar sehingga memiliki sifat relatif lebih mudah terbakar sendiri (tanpa harus dipicu dengan percikan api busi) jika disemprotkan ke dalam udara panas bertekanan. Tolak ukur dari sifat ini adalah bilangan setana yang didefinisikan sebagai % volume n-setana di dalam bahan bakar yang berupa campuran n-setana dan α -metil naftalena. N-setana (suatu hidrokarbon berantai lurus) sangat mudah terbakar sendiri dan diberi nilai bilangan setana 100 sedangkan α -metil naftalena (suatu hidrokarbon aromatik bercincin ganda) sangat sukar terbakar dan diberi nilai bilangan setana nol sehingga semakin tinggi bilangan setana, maka bahan bakar akan semakin mudah dan sempurna terbakar.



Kelebihan lainnya yaitu biodiesel memiliki kadar belerang yang lebih rendah daripada bahan bakar solar sehingga dapat mengurangi resiko keausan pada dinding silinder mesin diesel. Biodiesel juga memiliki sifat pelumasan terhadap mesin diesel karena kandungan fosfor yang dimilikinya. Selain itu, biodiesel juga merupakan bahan bakar yang tidak beracun dan dapat dibiodegradasi, serta dapat mengurangi emisi karbon monoksida, hidrokarbon, dan NOx [7].

Tabel 2. 2 Perbandingan karakteristik biodiesel dengan bahan bakar solar [7]

No	Parameter	Satuan	BBM Solar	Biodiesel
1	Densitas	kg/m ³	820 - 870 (15°C)	850 – 890 (40°C)
2	Viskositas kinematika (40 °C)	Mm ² /s (cSt)	1.6 - 5,8	2,3 – 6,0
3	Angka setana	°C	min. 45	min. 51
4	Titik nyala	°C	min. 60	min. 100
5	Titik embun	°C		maks. 18
6	Titik tuang	Rating	maks. 18	
7	Korosi garis tembaga	(3 jam pada 50°C)	maks. no 1	maks. no 3
8	Residu karbon			
	- dalam sampel yang tidak terdistilasi	% (m/m)	-	maks. 0,05
	- dalam 10% residu yang terdistilasi	% (m/m)	maks. 0.1	maks. 0,30
9	Sedimen dan air	%-vol.	maks. 0,05	maks. 0,05
10	90% (v/v) kembali pada suhu distilasi	°C	-	maks. 360
11	95% (v/v) kembali pada suhu distilasi	°C	maks. 370	-
12	Kandungan debu (debu sulfat)	% (m/m)	maks.0,01	maks.0,02
13	Kandungan sulfur	ppm-m (mg/kg)	maks.. 5000	maks. 100
14	Kandungan fosfor	ppm-m (mg/kg)	-	maks. 10
15	Tingkat keasamaan	mg-KOH/g	maks.0,6	maks.0,8
16	Gliserol bebas	% (m/m)	-	maks. 0,02
17	Gliserol total	% (m/m)	-	maks. 0,24
18	Kandungan ester	% (m/m)	-	min. 96,5
19	Angka yodium	% (m/m) (g-I ₂ /100g)	-	maks. 115
20	Tes halphen		-	Negatif

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

Dalam penggunaannya biodiesel dapat dicampur dengan bahan bakar solar ataupun murni. Campuran 5% sampai 20% biodiesel dengan solar berhasil digunakan di segala macam mesin diesel kendaraan, maupun genset yang juga tanpa



modifikasi [8]. Biodiesel yang tidak dicampur dengan bahan bakar solar dikenal dengan nama B100. Biodiesel 100% ini dapat digunakan di dalam mesin tanpa modifikasi, tetapi memerlukan perhatian khusus. B100 ini dapat melarutkan atau mengembangkan karet neoprena sehingga perlu waspada terhadap selang karet (*hose*) di mesin. Pada suhu di bawah 5°C, biodiesel dapat menimbulkan gel yang bisa memblok filter [9].

II.2 Minyak Kelapa Sawit, Crude Palm Oil (CPO)

Minyak sawit atau minyak kelapa sawit diperoleh dari ekstraksi terhadap mesokarp buah kelapa sawit. Kelapa sawit merupakan *monocotyledon* yang termasuk genus *Elaeis*. Genus *Elaeis* terdiri atas dua spesies, yaitu *E. Guineensis* dan *E. Oleifera*. Memiliki nama binomial *Elaeis jacq.* Bunga dan buahnya berupa tandan dan bercabang banyak. Bagian buahnya terdiri atas tiga lapisan yaitu:

1. *eksokarp* : bagian kulit buah yang berwarna kemerahan dan licin.
2. *mesokarp*: bagian serabut buah
3. *endokarp* : bagian cangkang pelindung inti

Minyak yang dihasilkan dari spesies *Elaeis* terdiri dari dua tipe. Minyak yang biasa kita sebut *Palm Oil* atau minyak kelapa sawit adalah minyak yang diambil dari *mesokarp* kelapa sawit. Minyak ini digunakan terutama untuk tujuan pangan. Tipe kedua adalah *Palm Kernel Oil*, yaitu minyak yang diambil dari bagian *kernel* atau lazim disebut minyak inti sawit.

Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) berasal dari Guinea di pesisir Afrika Barat, kemudian diperkenalkan ke bagian Afrika lainnya, Asia Tenggara dan Amerika Latin sepanjang garis equator (antara garis lintang utara 15° dan lintang selatan 12°).

- Kelapa sawit dapat diklasifikasikan atas beberapa varietas antara lain :
 1. Dura : Cangkangnya tebal, daging buah tipis, intinya besar, dan hasil ekstraksi minyaknya rendah, yaitu berkisar 17-18%.
 2. Pisifera: Tidak mempunyai cangkang, serat tebal mengelilingi inti yang kecil. Jenis ini tidak dikembangkan untuk tujuan komersil.
 3. Tenera: Suatu hibrida yang berasal dari penyilangan Dura dan Pisifera. Cangkangnya tipis, mempunyai cincin dikelilingi biji dan hasil ekstraksi minyaknya tinggi, yaitu berkisar 23-26%.



Kelapa sawit tumbuh baik pada daerah iklim tropis, dengan suhu antara 24°C - 32°C dengan kelembaban yang tinggi dan curah hujan 200 mm per tahun. Kelapa sawit mengandung kurang lebih 80% perikarp dan 20% buah yang dilapisi kulit yang tipis. Kandungan minyak dalam perikarp sekitar 30% – 40%. Kelapa sawit menghasilkan dua macam minyak yang sangat berlainan sifatnya, yaitu:

1. Minyak sawit (CPO), yaitu minyak yang berasal dari sabut kelapa sawit
2. Minyak inti sawit (CPKO), yaitu minyak yang berasal dari inti kelapa sawit

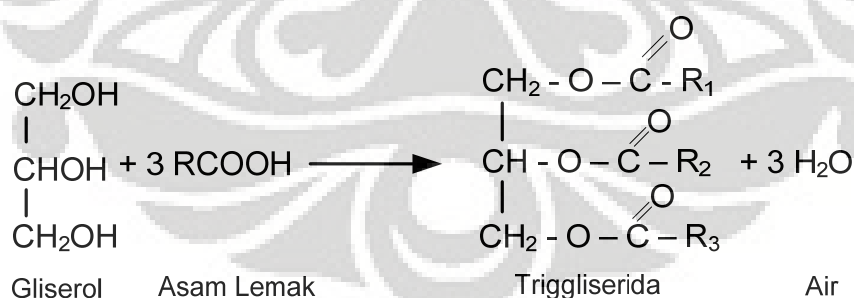
Pada umumnya minyak sawit mengandung lebih banyak asam-asam palmitat, oleat dan linoleat jika dibandingkan dengan minyak inti sawit. Minyak sawit merupakan gliserida yang terdiri dari berbagai asam lemak, sehingga titik lebur dari gliserida tersebut tergantung pada kejenuhan asam lemaknya. Semakin jenuh asam lemaknya semakin tinggi titik lebur dari minyak sawit tersebut.

II.2.1 Kandungan Minyak pada Kelapa Sawit

Komponen penyusun minyak sawit terdiri dari trigliserida dan non trigliserida. Asam-asam lemak penyusun trigliserida terdiri dari asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh

II.2.1.1 Kandungan Trigliserida Minyak Kelapa Sawit

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



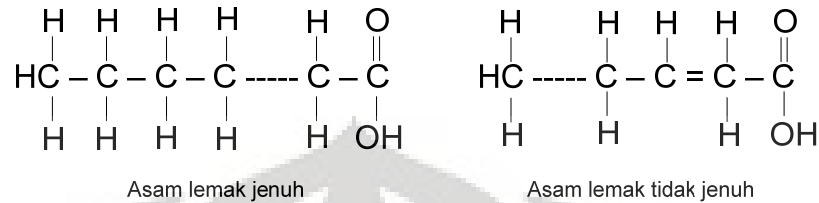
Gambar 2. 2 Struktur trigliserida pada minyak kelapa sawit

Bila $R_1 = R_2 = R_3$ atau ketiga asam lemak penyusunnya sama maka trigliserida ini disebut trigliserida sederhana, dan apabila salah satu atau lebih asam lemak penyusunnya tidak sama maka disebut trigliserida campuran. Asam lemak merupakan rantai hidrokarbon; yang setiap atom karbonnya mengikat satu atau dua atom hidrogen ; kecuali atom karbon terminal mengikat tiga atom hidrogen, sedangkan atom karbon terminal lainnya mengikat gugus karboksil. Asam lemak



yang pada rantai hidrokarbonnya terdapat ikatan rangkap disebut asam lemak tidak jenuh, dan apabila tidak terdapat ikatan rangkap pada rantai hidrokarbonnya karbonnya disebut dengan asam lemak jenuh.

Secara umum struktur asam lemak dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2. 3 Struktur molekul asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh

Tabel 2. 3 Komposisi asam lemak dalam minyak sawit ^[6]

Nama umum	Nama sistematis	Simbol	Persentase dari berat total
<i>Asam lemak jenuh</i>			
Laurat	n-Dodekanoat	C12:0	<1
Miristat	n-Tetradekanoat	C14:0	1-6
Palmitat	n-Hexadekanoat	C16:0	32-47
Stearat	n-Oktadekanoat	C18:0	1-6
Arakhidat	n-Eikosanoat	C20:0	<1
<i>Asam lemak tak jenuh</i>			
Palmitat	n-Hexadek-9-enoat	C16:1	<1
Oleat	n-Oktadek-9-enoat	C18:1	40-52
Gadoleat	n-Eikos-9-anoat	C20:1	<1
<i>Asam lemak poly-tak jenuh</i>			
Linoleat	n-Oktadek-9,12-dienoat	C20:2	5-7

II.2.1.2 Kandungan non-Trigliserida Minyak Kelapa Sawit

Komponen non-trigliserida penyusun minyak sawit merupakan komponen yang menyebabkan rasa, aroma dan warna kurang baik. Kandungan minyak sawit yang terdapat dalam jumlah sedikit ini, sering memegang peranan penting dalam menentukan mutu minyak.

Tabel 2. 4 Kandungan non-Trigliserida Minyak Kelapa Sawit ^[6]

Komponen	ppm	Komponen	ppm
Karoten	500-700	Besi (Fe)	10
Tokoferol	400-600	Tembaga (Cu)	0,5
Sterol	Mendekati 300	Air	0,07-0,18
Phospatida	500	Kotoran-kotoran	0,01



a. Karoten

Senyawa ini menimbulkan warna oranye tua pada CPO. Karoten larut dalam asam lemak, minyak, lemak dan pelarut minyak serta pelarut lemak, tetapi tidak larut dalam air. Senyawa ini dapat dihilangkan dengan proses adsorpsi dengan tanah pemucat. Fraksi karoten yang paling berpengaruh dalam CPO adalah β -carotein, pigmen ini juga tidak stabil terhadap pemanasan.

b. Tokoferol

Tokoferol merupakan antioksidasi di dalam minyak sawit (CPO). Tokoferol dapat dibedakan atas α , β , θ tokoferol.

c. Senyawa Sterol

Sterol adalah komponen karakteristik dari semua minyak. Senyawa ini merupakan senyawa unsaponifiable. Pengambilan senyawa ini dari minyak banyak dilakukan karena senyawa ini penting untuk pembentukan vitamin D dan untuk membuat obat-obat lain. Senyawa sterol yang berasal dari tumbuh-tumbuhan disebut phytosterol. Dua senyawa phytosterol yang telah dapat diidentifikasi karakteristiknya adalah β -sitosterol dan α -stigmasterol.

d. Senyawa Phospatida

Senyawa ini dapat dianggap sebagai senyawa trigliserida yang salah satu asam lemaknya digantikan oleh asam phosphoric. Senyawa phospatida yang terpenting dalam CPO ialah lesitin. Senyawa ini larut dalam alkohol.

II.2.2 Mutu Minyak Kelapa Sawit

Warna minyak kelapa sawit sangat dipengaruhi oleh kandungan karoten dalam minyak tersebut. Karoten dikenal sebagai sumber vitamin A, pada umumnya terdapat pada tumbuhan yang berwarna hijau dan kuning termasuk kelapa sawit, tetapi para konsumen tidak menyukainya. Oleh karena itu para produsen berusaha untuk menghilangkannya dengan berbagai cara. Salah satu cara yang digunakan ialah dengan menggunakan bleaching earth.

Mutu minyak sawit juga dipengaruhi oleh kadar asam lemak bebasnya, karena jika kadar asam lemaknya bebasnya tinggi, maka akan timbul bau tengik di samping juga dapat merusak peralatan karena mengakibatkan timbulnya korosi. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan naiknya kadar asam lemak bebas dalam CPO antara lain adalah :



- Kadar air dalam CPO.
- Enzim yang berfungsi sebagai katalis dalam CPO tersebut.

Kadar air dapat mengakibatkan naiknya kadar asam lemak bebas karena air pada CPO dapat menyebabkan terjadinya hidrolisa pada trigliserida dengan bantuan enzim lipase dalam CPO tersebut.

II.2.2.1 Pengaruh Asam Lemak Bebas Terhadap Konversi Biodiesel

Jika kandungan asam lemak bebas terlalu tinggi atau jika terdapat air dalam bahan baku CPO, sabun akan terbentuk terlebih dahulu membentuk emulsi dengan metanol dan minyak, sehingga reaksi metanolisis tidak dapat terjadi. Karena itu minyak yang digunakan harus diolah sedemikian rupa untuk membuang asam lemak bebas dan semua laju umpan masuk dijaga agar bebas air.

Biasanya dalam pembuatan biodiesel digunakan metanol berlebih supaya minyak ataupun lemak yang digunakan terkonversi secara total membentuk ester. Kelebihan metanol dapat dipisahkan dengan proses destilasi. Metanol yang diperoleh kembali ini dapat digunakan lagi untuk proses pembuatan biodiesel selanjutnya. Pada tahap ini juga perlu dijaga agar air tidak terakumulasi pada alur pengeluaran metanol.

II.3 Proses Pembuatan Biodiesel

Bahan baku utama pembuatan biodiesel adalah CPO atau olein dengan bahan pendukung methanol dan katalis NaOH. Metanol adalah alkohol yang digunakan dalam proses transesterifikasi dilihat dari segi harganya yang murah, sifatnya yang polar dan merupakan rantai alkohol terpendek. Metanol dapat bereaksi cepat dengan trigliserida dan NaOH dapat dengan mudah larut didalamnya. Untuk menyelesaikan reaksi transesterifikasi secara stoikiometri diperlukan rasio molar alkohol : trigliserida = 3:1. Pada praktiknya, karena reaksi transesterifikasi ini reversible maka dibutuhkan alkohol lebih banyak dari pada stoikiometrinya. Katalis yang digunakan adalah NaOH karena lebih murah dibanding dengan KOH.

Dalam pembuatan biodiesel digunakan metanol berlebih supaya minyak ataupun lemak yang digunakan terkonversi secara total membentuk ester. Kelebihan metanol dapat dipisahkan dengan proses destilasi. Metanol yang diperoleh kembali ini dapat digunakan lagi untuk proses pembuatan biodiesel selanjutnya. Pada tahap ini juga perlu dijaga agar air tidak terakumulasi pada alur pengeluaran metanol.



Selanjutnya adalah tahap pencucian yang bertujuan untuk membuang sabun yang terbentuk dan melarutkan metanol sisa reaksi. Hal ini dilakukan agar pada tahap akhir pemurnian biodiesel tidak ditemukan bahan pengotor (impurities) yang dapat menurunkan kualitas biodiesel. Pada proses pencucian, sejumlah air panas ditambahkan ke dalam campuran yang dikeluarkan dari reaktor esterifikasi

II.3.1 Transesterifikasi

Biodiesel diproduksi dengan mereaksikan minyak nabati dan alkohol, beserta penggunaan katalis. Prosesnya disebut dengan nama transesterifikasi atau alkoholisis.

Dalam kimia organik, transesterifikasi didefinisikan sebagai proses pertukaran gugus alkoksi suatu ester pada senyawa ester dengan alkohol yang berbeda. Pada transesterifikasi minyak tumbuhan, transesterifikasi tersebut merupakan proses menggunakan alkohol (seperti metanol dan etanol) dengan keberadaan katalis, baik asam atau basa, untuk memutuskan secara kimiawi molekul minyak nabati menjadi metil atau etil ester dari minyak tersebut dengan gliserol sebagai produk sampingnya ^[9]. Secara umum proses transesterifikasi dapat ditulis sebagai berikut:



Gambar 2. 4 Reaksi Transesterifikasi Menggunakan Alkohol

Reaksi transesterifikasi banyak digunakan untuk mengurangi viskositas dari trigliserida agar dapat digunakan pada biodiesel ^[7]. Seperti diketahui, semua jenis minyak nabati kandungan utamanya adalah trigliserida. Lebih dari 95% minyak kelapa sawit terdiri dari campuran trigliserida, yaitu molekul gliserol, masing-masing diesterifikasi dengan tiga asam lemak ^[7].

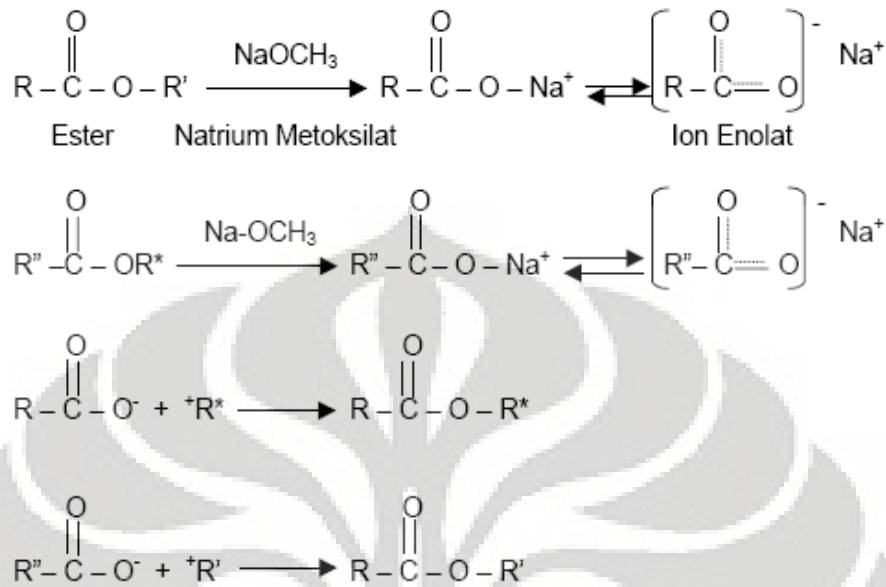
Dalam reaksi transesterifikasi juga dipengaruhi oleh beberapa aspek antara lain jenis katalis (asam, basa atau lipase), jumlah katalis, temperatur, kecepatan pengadukan (agitasi), waktu transesterifikasi, dan rasio mol reaktan. Beberapa aspek ini akan dibahas nantinya.

II.3.2 Interesterifikasi

Interesterifikasi dapat digambarkan sebagai pertukaran gugus antara dua buah ester dimana hal ini hanya dapat terjadi apabila terdapat katalis. Katalis yang sering digunakan untuk reaksi ini adalah logam natrium atau kalium dalam bentuk metoksilat atau etoksilat. Dalam reaksi ini ion logam natrium atau kalium akan



menyebabkan terbentuknya ion enolat yang selanjutnya diikuti dengan pertukaran gugus alkil.



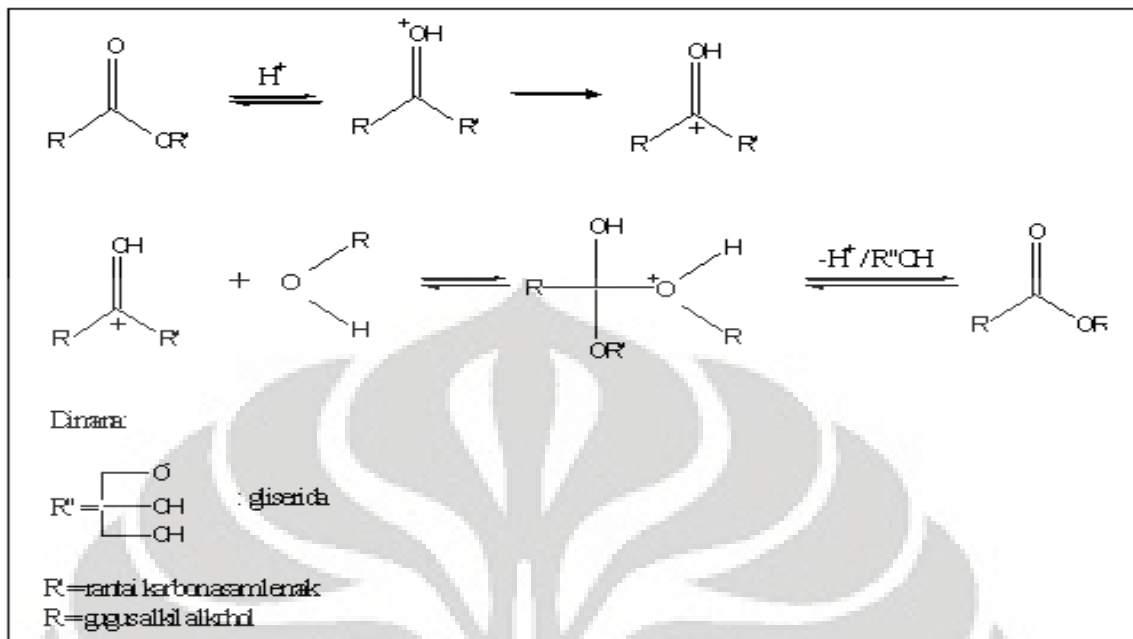
Gambar 2.5 Mekanisme reaksi transesterifikasi

II.3.2.1 Pengaruh Katalis

Proses transesterifikasi sangat dipengaruhi oleh jenis katalis. Dalam sub-bab ini akan dijelaskan pengaruh dari berbagai jenis katalis terhadap proses transesterifikasi.

II.3.2.2 Pengaruh Katalis Asam

Asam dapat menjadi katalis pada reaksi transesterifikasi dengan memberikan donor berupa sebuah proton kepada gugus alkoksi. Hal ini akan menyebabkan gugus tersebut menjadi lebih reaktif. Asam yang digunakan pada reaksi transesterifikasi biasanya berupa asam sulfonat dan asam sulfat. Mekanisme reaksi transesterifikasi monogliserida dengan menggunakan katalis asam ditunjukkan pada gambar 2.6



Gambar 2.6 Mekanisme reaksi transesterifikasi dengan katalis asam

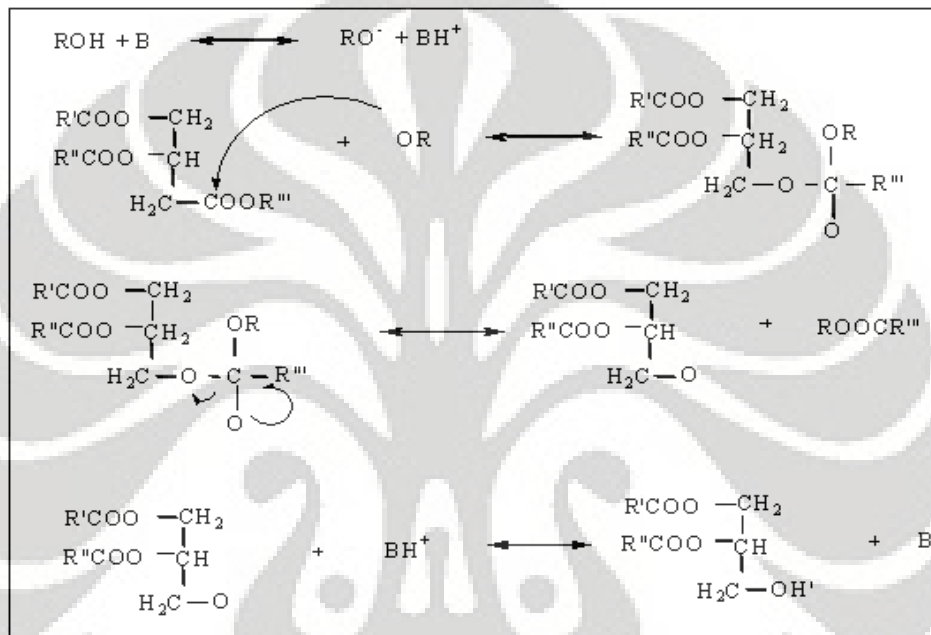
Reaksi transesterifikasi yang dikatalis oleh asam Bronsted, biasanya oleh asam sulfonat dan asam sulfat^[7]. Katalis ini memberikan hasil yang tinggi pada alkil ester tetapi reaksinya berlangsung lama sekitar lebih dari 3 jam untuk mencapai reaksi sempurna pada temperatur di atas 100°C^[7]. Sebagai contoh reaksi menggunakan katalis asam yaitu pada reaksi metanolisis kacang kedelai dengan menggunakan 1 mol % dari H₂SO₄, perbandingan mol alkohol/minyak adalah 30:1 pada 65°C memerlukan waktu reaksi selama 50 jam dengan mendapatkan konversi sebesar 99%^[7]. Sedangkan untuk reaksi butanolisis (pada suhu 117°C) memerlukan waktu reaksi 3 jam dan pada reaksi etanolisis (suhu 78°C) memerlukan waktu selama 18 jam. Pada reaksi butanolisis dan etanolisis ini menggunakan jumlah katalis dan alkohol yang sama dengan reaksi metanolisis^[7].

Protonasi dari gugus karbonil ester mengarah kepada terbentuknya karbokation. Kemudian setelah serangan nukleofilik terhadap alkohol menghasilkan intermediet tetrahedral yang mengeliminasi gliserol untuk membentuk ester yang baru dan sekaligus meregenerasi katalis H⁺. Menurut mekanisme reaksi pada gambar 2.6, asam karboksilat dapat dibentuk dari reaksi karbokation dengan kehadiran air pada campuran reaksi. Kenyataan ini mengungkapkan bahwa pada reaksi dengan katalis asam tidak boleh ada kehadiran air agar dapat menghindari

reaksi pembentukan kompetitif dari asam karboksilat yang dapat menurunkan hasil dari alkil ester.

II.3.2.3 Pengaruh Katalis Basa

Basa dapat menjadi katalis pada reaksi transesterifikasi dengan mengambil proton dari alkohol sehingga reaksi terjadi lebih cepat. Mekanisme reaksi transesterifikasi dengan menggunakan katalis basa dapat dilihat pada gambar 2.7. berikut ini:



Gambar 2.7 Mekanisme reaksi transesterifikasi dengan katalis basa

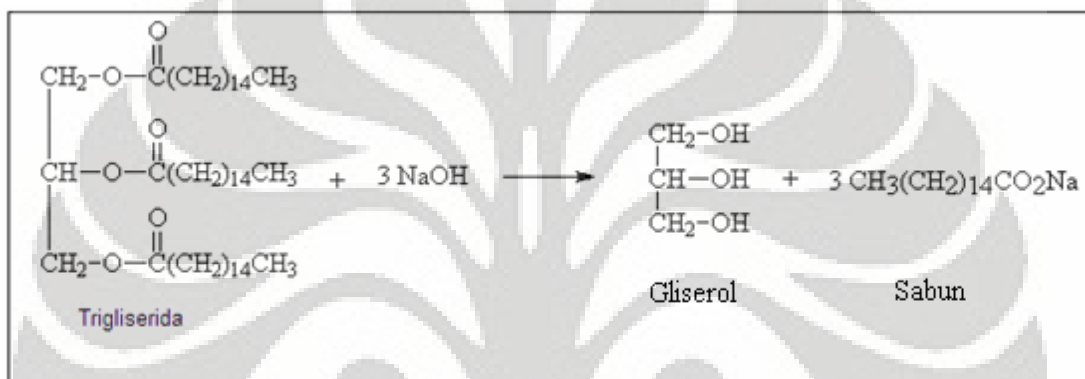
Pada tahap pertama adalah reaksi alkohol dengan katalis basa yang menghasilkan alkoksida dan katalis yang terprotonkan. Nukleofilik alkoksida menyerang gugus karbonil dan trigliserida menghasilkan intermediet tetrahedral. Dengan pemutusan ikatan disertai penyusunan elektron dari intermediet tetrahedral maka akan terbentuk digliserida. Kemudian dilanjutkan dengan reaksi antara katalis yang terprotonkan dengan digliserida yang menghasilkan spesies aktif, yang sekarang dapat bereaksi dengan molekul alkohol yang kedua yang kemudian dimulai lagi siklus katalitiknya. Digliserida dan monogliserida dirubah menjadi alkil ester dan gliserol melalui mekanisme reaksi yang sama.

Logam alkali alkoksida (seperti CH_3ONa untuk metanolisis) adalah katalis yang paling aktif dengan memberikan hasil yang sangat tinggi (>98%) pada waktu reaksi yang singkat yaitu selama 30 menit bahkan bila reaksi juga dilakukan pada



konsentrasi molar katalis yang rendah (0.5% mol)^[7]. Logam alkali hidroksida (KOH dan NaOH) lebih mudah dibandingkan logam alkoksida tetapi kurang aktif. Namun logam hidroksida ini menjadi alternatif yang bagus dengan memberikan hasil reaksi yang sama hanya dengan meningkatkan konsentrasi katalisnya menjadi 1-2% mol.

Walaupun pada reaksi dengan katalis basa ini dilakukan dengan tanpa kehadiran air, namun air akan dihasilkan pada reaksi antara hidroksida dengan alkohol. Terbentuknya air ini akan mendorong terjadinya reaksi hidrolisis pada ester yang dihasilkan yang akibatnya akan terbentuk sabun menurut reaksi pada gambar 2.8, berikut ini:



Gambar 2. 8 Reaksi saponifikasi atau hidrolisis basa

Reaksi saponifikasi yang tidak diinginkan ini akan menurunkan hasil reaksi dan akan menyulitkan dalam mendapatkan gliserol karena terbentuknya emulsi. Natrium karbonat dapat digunakan untuk mencegahnya terjadinya saponifikasi.

II.3.2.4 Pengaruh Katalis Lipase

Enzim hidrolitik saat ini mulai banyak digunakan pada sintesis organik karena penanganannya yang mudah. Enzim ini tidak membutuhkan koenzim yang relatif stabil dan dapat mentoleransi kehadiran pelarut organik^[7].

Walaupun reaksi transesterifikasi dapat menggunakan enzim belum dikembangkan untuk komersial tapi beberapa artikel dan paten dalam hal ini telah cukup banyak. Aspek yang umum yang dipelajari dalam katalisis enzimatik ini untuk menjadikannya dapat digunakan pada aplikasi di industri adalah mengenai pelarut, pH, dan jenis mikroorganisme yang menghasilkan enzim.

II.3.3 Pengaruh Temperatur

Laju reaksi transesterifikasi sangat dipengaruhi oleh temperatur reaksi. Sebenarnya reaksi dapat berlangsung sempurna pada suhu kamar hanya jika



diberikan waktu reaksi yang cukup lama. Umumnya temperatur reaksi yang terjadi mengikuti suhu titik didih metanol ($60-70^{\circ}\text{C}$) pada tekanan atmosferik ^[8]. Waktu reaksi berlangsung pada temperatur yang sedang ini, namun tetap mampu untuk menghilangkan asam bebas dari CPO, yaitu dengan cara melakukan *pretreatment* dengan penghilangan kadar asam dan proses *degummed*. Tahap *pretreatment* ini tidak perlu dilakukan apabila reaksi berlangsung pada tekanan tinggi (9,000 kPa) dan pada temperatur tinggi (240°C). Pada kedua kondisi inilah reaksi esterifikasi dan transesterifikasi dapat berlangsung secara spontan ^[9].

Hasil reaksi yang maksimum didapatkan pada kisaran temperatur reaksi antara $60-80^{\circ}\text{C}$ dengan perbandingan mol alkohol dengan minyak 6:1 ^[8]. Apabila terjadi kenaikan temperatur maka hal ini dapat mengurangi hasil reaksi. Kondisi reaksi di atas berlaku apabila menggunakan CPO sebagai bahan baku. Apabila menggunakan bahan minyak yang berbeda maka temperatur reaksinya juga akan berbeda. Pada reaksi metanolisis minyak jarak menjadi *methyi recinoleat*, temperatur reaksinya $20-35^{\circ}\text{C}$ dengan perbandingan metanol/minyak sebesar 6:1 – 12:1 dengan berat katalis NaOH 0.005-0.35% dari berat minyak ^[10].

II.3.4 Pengaruh Kecepatan Pengadukan (Agitasi)

Dari penelitian tentang reaksi transesterifikasi di atas, juga diperoleh bahwa kecepatan pengadukan (*rate of agitation*) mempengaruhi kecepatan tercapainya fasa homogen antara minyak dengan alkohol. Fasa homogen ini terbentuk pada saat pengadukannya sangat cepat hingga menimbulkan cipratan di awal reaksi. Saat campuran minyak-alkohol ini homogen, maka konversi serta lama pengadukan tidak lagi bergantung pada kecepatan pengadukan ^[7].

II.3.5 Pengaruh Waktu Transesterifikasi

Dari sumber yang sama dengan penelitian transesterifikasi pada minyak sawit di atas ^[7], diperoleh hasil bahwa waktu reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi metil ester yang dihasilkan, hingga pada waktu mencapai 30 menit. Setelahnya, perubahan konsentrasi metil ester tidak berubah secara signifikan, walaupun tetap mengalami kenaikan.

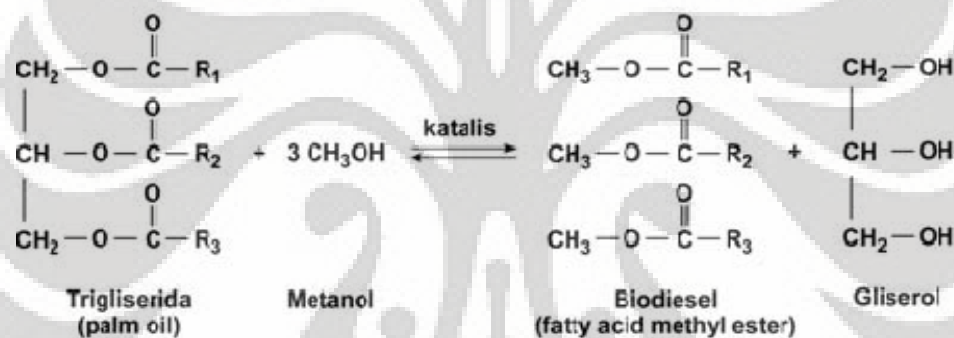
II.3.6 Pengaruh Rasio Mol Reaktan

Dari stokiometri transesterifikasi terlihat bahwa dibutuhkan tiga mol alkohol untuk bereaksi dengan satu mol trigliserida agar dihasilkan tiga mol ester dan satu mol gliserol. Penggunaan alkohol berlebih dimaksudkan agar kesetimbangan dapat

bergerak ke arah kanan agar produk yang diinginkan dapat dipisahkan dari campuran yang terbentuk ^[9]. Konsentrasi metil ester akan bertambah seiring dengan penambahan rasio mol metanol/minyak sawit ^[10]. Dari percobaan Freedman, yang mempelajari pengaruh perbandingan mol reaktan dari 1:1 hingga 6:1, didapatkan perilaku yang sama untuk minyak kacang kedelai, minyak bunga matahari, dan minyak kacang tanah, bahwa konversi meningkat seiring peningkatan konversi mol. Konversi tertinggi diperoleh pada perbandingan mol 6:1 ^[10].

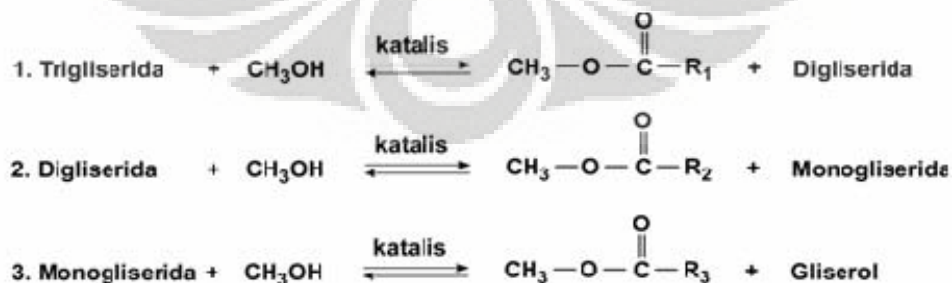
II.3.7 Transesterifikasi Metil Ester dari Rute Alkohol

Biodiesel diproduksi dengan mereaksikan minyak nabati dan alkohol, beserta penggunaan katalis. Produk dari reaksi campuran dan asam lemak alkil ester, yang dikenal dengan nama biodiesel, dan gliserol. Prosesnya disebut dengan nama transesterifikasi atau alkoholisis seperti yang terlihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2.9 Reaksi keseluruhan transesterifikasi trigliserida dari minyak nabati dengan alkohol

Reaksi transesterifikasi *overall* ditunjukkan oleh gambar 2.9. Dimana 1 mol trigliserida bereaksi dengan 3 mol metanol menghasilkan 3 mol *fatty acid methyl ester* (FAME) yang dikenal dengan sebutan biodiesel dan 1 mol gliserol.



Gambar 2.10 Reaksi bertingkat transesterifikasi trigliserida dari minyak nabati dengan alkohol

Reaksi transesterifikasi bertingkat ditunjukkan oleh gambar 2.10, dimana trigliserida yang mempunyai 3 rantai asam lemak bereaksi dengan metanol menjadi



diglisierida, monoglisierida dan kemudian menjadi gliserol. Biodiesel diperoleh pada setiap tahap transesterifikasi.

R_1 , R_2 , dan R_3 yang merupakan asam lemak yang tergantung dari tipe minyak nabati. Rantainya bisa sama atau berlainan. Alkohol yang digunakan juga dapat berbeda. Jika metanol yang digunakan, maka akan dihasilkan asam lemak metil ester, dan jika etanol yang digunakan, maka akan menghasilkan asam lemak etil ester. Karena harga metanol lebih murah dari segi biaya, maka alkohol ini lebih sering digunakan dalam proses produksi biodiesel.

Ada beberapa pilihan katalis reaksi yang dapat digunakan. Selama ini biodiesel komersial biasanya menggunakan proses dengan katalis alkali untuk proses transesterifikasi. Meskipun demikian, proses transesterifikasi dengan katalis alkali mempunyai beberapa kelemahan, diantaranya ^[11].

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

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

Penggunaan katalis alkali menyisakan masalah dalam hal pemurnian produk sehingga diperlukan katalis heterogen dan mampu mengarahkan reaksi secara spesifik. Akhir-akhir ini, penelitian sintesis biodiesel menggunakan enzim lipase banyak dilakukan. Beberapa peneliti menggunakan lipase dari *Candida sp* ^[12], *Pseudomonas sp* ^[13] dan *Rhizopus sp* ^[14].

Menurut Vincente pada tahun 2004, enzim lipase sebagai katalis untuk produksi biodiesel sangat menjanjikan karena mampu memperbaiki kelemahannya katalis alkali yaitu:

1. Berbeda fasa dengan reaktan/produk baik dalam bentuk free atau teriimobilisasi sehingga Biokatalis dapat dipisahkan dari sistem dengan mudah
2. Mampu mengarahkan reaksi secara spesifik tanpa ada nya reaksi samping yang tak diinginkan seperti reaksi penyabunan

Perbandingan sintesis biodiesel menggunakan biokatalis lipase dan katalis basa dapat dilihat pada tabel 2.5

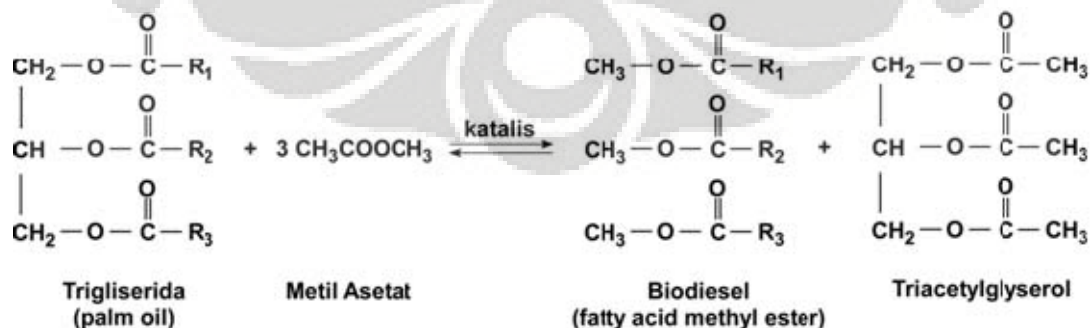
Tabel 2. 5 Perbandingan antara metode katalis basa dengan biokatalis untuk produksi biodiesel^[11]

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

II.3.8 Interesterifikasi Metil Ester dari Rute Non Alkohol

Meskipun penggunaan lipase memiliki banyak kelebihan, penggunaan lipase sebagai katalis untuk sintesis biodiesel juga masih menyisakan masalah yang cukup besar. Lingkungan beralkohol seperti metanol menyebabkan lipase terdeaktivasi secara cepat dan stabilitasnya dalam mengkatalisis reaksi menjadi buruk. Akibatnya biokatalis tersebut tidak bisa dipakai ulang. Hal ini mengakibatkan biaya produksi yang tinggi sehingga sintesis biodiesel menggunakan biokatalis belum bisa dilakukan secara komersial.

Dari uraian diatas kita bisa mengetahui bahwa lipase mempunyai potensi besar sebagai katalis untuk sintesis biodiesel menggantikan katalis alkali. Tetapi, alkohol berantai pendek seperti metanol yang biasa digunakan sebagai pensuplai gugus alkil mempunyai pengaruh buruk bagi aktivitas dan stabilitas lipase. Untuk menyelesaikan masalah tersebut, dalam penelitian ini akan diusulkan rute baru untuk mensintesis biodiesel menggunakan rute non alkohol.



Gambar 2.11 Reaksi interesterifikasi minyak nabati melalui rute reaksi non alkohol

Dalam sintesis biodiesel rute alkohol, alkohol (metanol) berfungsi untuk mensuplai gugus alkil (metil). Sementara itu, dalam sintesis biodiesel rute non

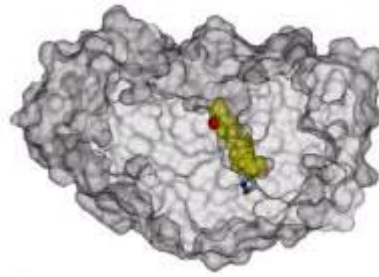


alkohol, metanol bisa digantikan dengan metil asetat sebagai pensuplai gugus metil seperti yang diperlihatkan dalam gambar 2.11. Penggantian alkohol dengan alkil asetat ini diharapkan mampu meningkatkan stabilitas enzim lipase selama proses reaksi secara signifikan. Disamping itu, produk samping rute non alkohol ini yaitu triasetilgliserol mempunyai nilai jual yang lebih tinggi dibanding produk samping rute alkohol yaitu gliserol ^[15]. Peningkatan stabilitas enzim dan produk samping yang bernilai lebih tinggi diharapkan mampu membuat enzimatik sintesis biodiesel bisa lebih kompetitif di level industri dan layak untuk dikomersialkan di masa depan nanti.

Penelitian sintesis biodiesel melalui rute non alkohol ini belum banyak dilakukan. Sejauh ini, penelitian ini baru dilakukan oleh *research group* dari Cina dengan hasil 2 publikasi internasional. *Research group* ini baru melakukan penelitian reaksi interesterifikasi antara minyak kedelai dengan metil asetat menggunakan *Candida antarctica* lipase. Du et. Al., melakukan studi komparasi antara rute alkohol dan non alkohol, sementara itu Xu et al., menurunkan persamaan model kinetika sederhana. Oleh karena itu, penelitian sintesis biodiesel melalui rute non alkohol ini membuka peluang besar dan celah yang lebar untuk berkompetisi di tingkat dunia dalam melakukan eksplorasi dan menemukan originalitas yang bisa dipatenkan.

II.4 Lipase

Lipase adalah enzim yang dapat memecah lemak. Nama lain dari lipase adalah asilgliserol hidrolase, triasilgliserol hidrolase atau gliserol ester hidrolase. Lipase yang berasal dari mikroba merupakan enzim yang disekresikan oleh mikroba ke dalam medium pertumbuhannya untuk mencerna lemak atau minyak. Lipase mengkatalisis lemak atau minyak menjadi diasilgliserol, monoasilgliserol, asam lemak bebas, dan gliserol ^[17].

**Gambar 2. 12** Struktur lipase (Ward, 1985)

Enzim mikroorganisme yang banyak digunakan dalam industri umumnya adalah enzim ekstraselular, karena lebih mudah diisolasi dibandingkan enzim intraselular. Metode untuk mengisolasi enzim intraselular lebih rumit karena harus dilisiskan terlebih dahulu^[18].

Berikut adalah jenis-jenis mikroba penghasil lipase yang sudah ditemukan sampai saat ini^[19]:

Tabel 2. 6 Mikroba-mikroba penghasil lipase (Pandey, 1999)

<i>Achromobacter</i> sp.	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Protaminobacter alboflavus</i>
<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Flavobacterium ferruginem</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>A. calcoacetitus</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. delemere</i>
<i>B. thermocatenuatus</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. xylosum</i>
<i>C. viscosum</i>	<i>P. simplicissium</i>	<i>Streptomyces</i> sp.
<i>Chromobacterium</i> sp.	<i>P. solitum</i>	<i>Ustilago maydis</i>
<i>Coelomyces</i>	<i>P. urticae</i>	<i>Yarrowia lipolyi</i>

Multi-faceted lipase mikrobal (*glycerol ester hydrolases*; EC 3.1.1.3) memiliki peran 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 ekstraselular, yang disekresikan mikroba ke dalam medium pertumbuhannya untuk mencerna lemak atau minyak.

II.4.1 Klasifikasi Lipase

Lipase yang diisolasi dari mikroba dapat digolongkan menjadi tiga kelompok^[17]. Kelompok tersebut antara lain:

1. Lipase yang menghidrolisis triasilgliserol (TAG) secara acak terhadap posisi asam lemak pada triasilgliserol menjadi asam lemak. Kelompok mikroba tersebut antara lain *Candida* sp. dan *Pseudomonas* sp. Enzim dapat menghidrolisis ikatan ester secara sempurna, menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol
2. Lipase yang menghidrolisis spesifik pada posisi 1 dan 3 dari triasilgliserol. Contoh mikroba penghasil tersebut adalah *A. niger* dan *M. miehei*. Produk yang dihasilkan berupa asam lemak bebas, 1,2-diasilgliserol, dan 2-monoasilgliserol
3. Lipase yang menghidrolisis secara spesifik asam lemak tertentu dari triasilgliserol. Contoh mikroba penghasil lipase tersebut adalah *G. candidum* yang mempunyai spesifitas terhadap asam lemak rantai panjang.

II.4.2 Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Lipase

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



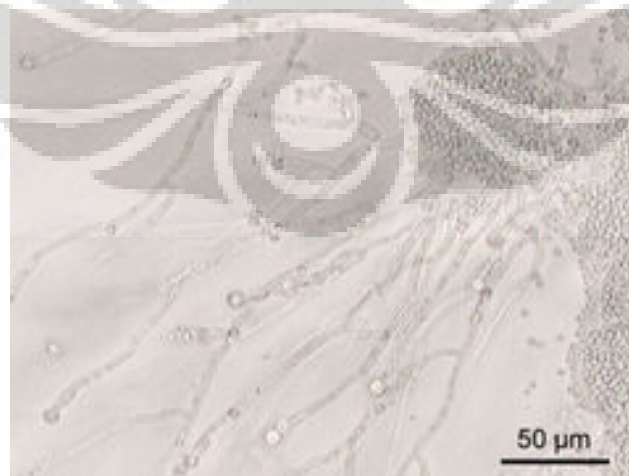
didiefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghidrolisis 1 μmol ikatan ester per menit pada kondisi pengujian tertentu.

Sifat-sifat lipase tergantung pada substrat dan asal perolehannya. Lipase yang berasal dari mikroba tertentu, mempunyai aktivitas optimum yang berbeda dengan mikroba lipolitik lainnya. Aktivitas lipase dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: pH, suhu, dan waktu ^[20]. Kestabilan lipase bergantung pada derajat keasaman (pH). Kondisi pH yang jauh dari optimum akan menyebabkan inaktivasi, karena terjadi kerusakan struktur protein enzim. Kondisi pH yang terlalu rendah mengakibatkan ion H^+ akan berikatan dengan $-\text{NH}_2$ membentuk $-\text{NH}_3^+$. Proses pengikatan tersebut menyebabkan ikatan hidrogen antara atom nitrogen dengan atom hidrogen terputus, sehingga enzim terdenaturasi. Kondisi pH yang tinggi mengakibatkan ion OH^- berikatan dengan atom hidrogen dari gugus COOH enzim membentuk H_2O . Hal tersebut mengakibatkan rusaknya ikatan antara atom hidrogen dengan nitrogen atau oksigen, sehingga struktur enzim mengalami kerusakan ^[20].

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

II.4.3 *Candida rugosa*

Candida sp. merupakan organisme yang tergabung di dalam kingdom fungi. Kelas taksonomi lengkapnya sebagai berikut ^[24].



Gambar 2. 13 *Candida* sp^[24]



<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 lusitanae*. Infeksi yang disebabkan *Candida* adalah *Candidiasis*.

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

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

II.5 Immobilisasi Enzim Lipase

Enzim atau disebut juga fermentasi merupakan suatu golongan biologis yang sangat penting dari protein. Enzim disebut biokatalisator karena semua perombakan zat makanan dalam organisme hanya dapat terjadi jika didalamnya terdapat enzim^[6]. Zat-zat yang diuraikan oleh enzim digolongkan sebagai substrat. Fungsi enzim pada



umumnya dapat merombak sesuatu zat dalam bentuk yang lebih kecil untuk kemudian diuraikan menjadi zat-zat yang siap diresorpsi.

Penggunaan Enzim sebagai biokatalis mempunyai beberapa kelemahan yang diantaranya yaitu harga enzim yang sangat mahal, ketidak-stabilan enzim, ketersediaan enzim yang sangat sedikit, dan mahalnya biaya untuk recovery enzim yang digunakan pada reaksi dalam media cair karena sifat enzim yang larut dalam media cair

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

Metode yang digunakan dalam imobilisasi enzim pada umumnya dapat dilakukan dengan 4 cara, yaitu: *Adsorpsi*, *Entrapment*, *Cross linking*, dan *Covalent binding*.

1. Metode *entrapment* sudah banyak digunakan dalam proses imobilisasi sel tapi metode ini tidak digunakan dalam proses imobilisasi katalis. Kelemahan utama dari metode ini adalah adanya kemungkinan terjadinya kebocoran secara perlahan jika digunakan secara terus menerus (kontinu) karena ukuran partikel sel lebih kecil daripada ukuran partikel katalis.
2. Metode *covalent binding* sudah sering digunakan dalam proses imobilisasi yaitu dengan pembentukan ikatan kovalen antara enzim dengan bahan pendukung (*support*). Keterbatasannya yaitu jika terjadi reaksi antar protein yang tidak terlarut, maka reaksi harus dilakukan dibawah kondisi yang tidak menyebabkan hilangnya aktivitas enzim dan daerah aktif enzim belum tersentuh oleh pereaksinya (*reagents*).
3. *Cross linking*: Proses imobilisasi enzim dengan menghubungkan secara silang ikatan kovalen antar molekul protein.



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

II.5.1 Bahan *Support* Enzim

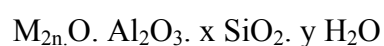
Bahan *support* untuk enzim merupakan bahan tambahan yang digunakan untuk mengikat enzim agar enzim tidak larut didalam air, yang biasanya bahan *support* enzim ini berupa polimer. Bahan *support* untuk enzim ini sangat mempengaruhi sekali efek dari kestabilan dan keefektifan penggunaan enzim. Bagian paling penting dari media *support* ini adalah media (bahan) harus mempunyai kekuatan yang baik untuk mengikat enzim, tidak larut dalam air, inert secara kimia, dan mempunyai kestabilan yang bagus^[25]. Kekuatan pengikatan enzim tergantung dari daerah permukaannya, baik secara internal (ukuran pori *support*) dan eksternal (dari ukuran diameter butiran enzimnya)

II.5.2 Zeolit

Zeolit merupakan mineral yang terdiri dari kristal aluminosilikat terhidrasi yang mengandung kation alkali dan alkali tanah dalam kerangka tiga dimensinya. Ion-ion logam dan molekul air dalam zeolit dapat bergerak bebas sehingga memungkinkan terjadinya pertukaran ion tanpa merusak struktur zeolit, dan penyerapan air oleh zeolit terjadi secara reversibel.

II.5.2.1 Struktur Zeolit

Struktur zeolit mengandung kerangka tiga dimensi tetrahedral SiO_4 dan AlO_4 , masing-masing mengandung atom silikon atau alumina di pusatnya dan saling berhubungan melalui atom O. Struktur ini kadang-kadang disebut tetrahedral TO_4^- dimana T adalah silikon atau alumina. Atom-atom oksigen merupakan bagian bersama diantara tetrahedral, yang dapat hadir dalam beberapa variasi rasio dan terbentuk dalam beberapa macam cara. Zeolit dapat direpresentasikan dengan rumus empiris berikut :



dimana :

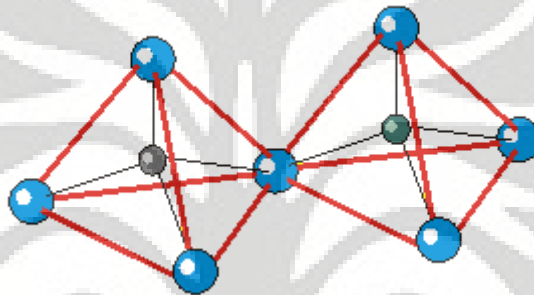
M = kation alkali atau alkali tanah

n = valensi logam alkali

x = bilangan tertentu (dari 2 sampai 10)

y = bilangan tertentu (dari 2 sampai 7)

Jika dilihat dari rumus empirisnya, secara garis besar zeolit tersusun dari tiga komponen utama yaitu kation-kation yang dipertukarkan, kerangka aluminosilikat, dan beberapa molekul air. Ikatan ion Al – Si – O membentuk struktur kristal, sedangkan logam alkali merupakan sumber kation yang mudah dipertukarkan.



Gambar 2. 14 Kerangka dasar tetrahedral pada struktur zeolit

II.5.2.2 Sifat-sifat Zeolit

Zeolit memiliki struktur berongga dan biasanya rongga ini berisi air dan kation-kation yang dapat dipertukarkan dan memiliki ukuran pori tertentu. Oleh karena itu zeolit dapat dimanfaatkan sebagai penyaring molekuler, penukar ion, dan katalisator. Sifat-sifat zeolit meliputi:

II.5.2.3 Dehidrasi dan Adsorpsi

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

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



a. Adsorpsi Fisika

Adsorpsi fisika terjadi bila molekul-molekul adsorbat terikat tanpa disertai terjadinya reaksi pada permukaan zeolit (adsorben). Molekul adsorbat ini dapat terikat akibat adanya gaya *Van der Waals*, yaitu gaya tarik menarik yang relatif lemah dengan permukaan adsorben. Gaya ini memungkinkan adsorbat bergerak dari suatu bagian ke bagian lain pada permukaan adsorben. Adsorpsi jenis ini berlangsung dengan cepat, reversibel dan memiliki panas adsorpsi rendah.

b. Adsorpsi Kimia

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

Faktor-faktor yang mempengaruhi daya adsorpsi zeolit :

1. Sifat Adsorbat

a. Ukuran molekul

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

b. Kepolaran

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

2. Luas Permukaan Zeolit

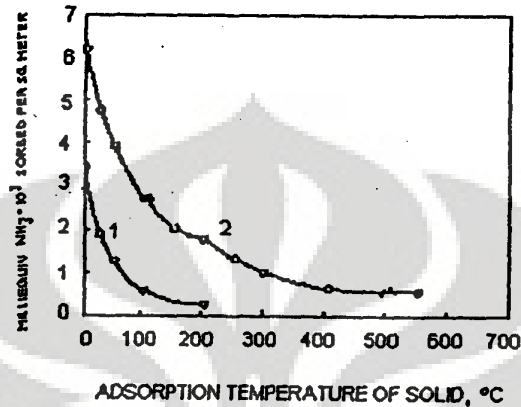
Jumlah molekul adsorbat yang dapat teradsorpsi meningkat seiring dengan bertambahnya luas permukaan zeolit (adsorben). Karena dengan bertambahnya luas permukaan, kemungkinan terjadinya kontak antara molekul adsorben dengan adsorbat semakin besar.

3. Temperatur

Proses adsorpsi merupakan proses eksotermis, yang berarti bahwa jumlah senyawa yang akan diadsorpsi akan berkurang seiring dengan kenaikan temperatur berdasarkan prinsip *Le Chatelier*. Kurva hubungan antara jumlah senyawa yang teradsorpsi dengan temperatur dapat dilihat pada gambar 2.15.

4. Tekanan

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



Gambar 2. 15 Grafik Pengaruh Temperatur terhadap Jumlah Zat Teradsorp

II.5.2.4 Sifat Penukar Ion

Kemampuan zeolit sebagai penukar ion bergantung pada banyaknya pertukaran kation pada zeolit. Pada zeolit yang mengandung air, kationnya dapat bergerak dan digantikan oleh kation lain. Sifat ini yang mendukung fungsi zeolit sebagai penukar kation. Sifat penukar ion dari zeolit sangat bermanfaat dalam proses modifikasi zeolit yang akan digunakan sebagai adsorben atau katalis. Contoh reaksi pertukaran kation pada zeolit :



dimana K adalah logam alkali.

II.6 Kinetika Reaksi Enzimatik

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

Sejarahnya, hal ini ditemukan bahwa kinetika reaksi enzimatik sebagai katalis menunjukkan keistimewahan, dimana reaksi tunggal sederhana tidak dapat ditemukan. *Invertase*, yang digunakan sebagai katalis pada reaksi hidrolisis

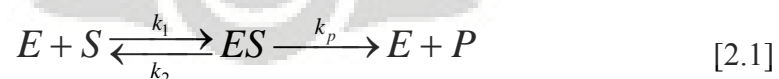


sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, telah diperlihatkan oleh *Brown* pada tahun 1902 yang menunjukkan kinetika orde pertama dari reaktan sukrosa berada pada konsentrasi yang rendah, tetapi mempunyai konsentrasi yang tinggi pada orde nol. Hasil ini bertentangan dengan orde pertama konsentrasi sukrosa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

II.6.1 Pemodelan Reaksi Enzimatik Michaelis-Menten

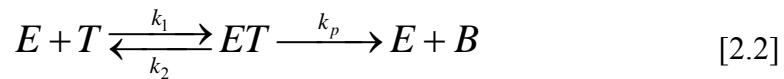
Penjelasan untuk observasi dari *Brown* dan yang lainnya telah dirumuskan oleh *Henri* pada tahun 1903 dan secara lebih lengkap oleh *L. Michaelis* dan *M.L. Menten* pada tahun 1913. *Michaelis* dan *Menten* memperoleh perumusan yang sangat baik dari data percobaan yang mendukung analisis mereka terhadap adanya ketergantungan laju awal reaksi substrat dan konsentrasi enzim. Mereka mengemukakan bahwa enzim dan substrat awal dikombinasikan akan memberikan sebuah enzim-substrate yang kompleks, diasumsikan reaksinya bersifat reversible dan berlangsung sangat cepat, dengan tidak adanya perubahan kimia yang ditemukan pada substrat.

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



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

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



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

Dalam banyak kasus, setidaknya pada tahapan awal, konsentrasi produk sangat rendah sehingga reaksi balik yang dikarakterisasi dengan konstanta k_2 dapat

diabaikan. Jika laju reaksi pembentukan produk adalah $v = \frac{dB}{dt}$, maka laju reaksi

untuk masing-masing komponennya adalah sebagai berikut:

$$\frac{d[T]}{dt} = -k_1[E][T] + k_2[ET] \quad [2.3]$$

$$\frac{d[ET]}{dt} = k_1[E][T] - k_2[ET] - k_p[ET] \quad [2.4]$$

$$\frac{d[B]}{dt} = k_p[ET] \quad [2.5]$$

Tahap penurunan mekanisme reaksi enzimatik Michaelis Menten:

1. Asumsi keadaan *steady state* ($t \rightarrow \infty$), $\frac{d[B]}{dt} = 0$ dan $[ET] = 0$

Pada saat terjadi kesetimbangan, tidak akan terjadi perubahan konsentrasi, sehingga perubahan konsentrasi terhadap waktunya adalah 0, dan jika menggunakan persamaan diferensial, pada keadaan *steady state* menunjukkan $[ET] = 0$ Penunjukan bahwa jumlah $[E] + [ET]$ tidak berubah terhadap waktu adalah sebagai berikut:

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_1[E][T] + k_2[ET] + k_p[ET] \quad [2.6]$$

$$\frac{d[E]}{dt} + \frac{d[ET]}{dt} = -k_1[E][T] + k_2[ET] + k_p[ET] + (k_1[E][T] - k_2[ET] - k_p[ET]) \quad [2.7]$$

$$\frac{d[E]}{dt} + \frac{d[ET]}{dt} = 0 \quad [2.8]$$

Jika konsentrasi awal dari $[E]_{t=0} = E_0$ dan $[ET]_{t=0} = 0$ dan $\frac{d[E]}{dt} + \frac{d[ET]}{dt} = 0$, maka:

$$[E] + [ET] = \text{konstant} \quad [2.9]$$

$$[E] + [ET] = [E_0] + 0 \quad [2.10]$$

$$[E] = [E_0] - [ET] \quad [2.11]$$



Persamaan [2.11], disubstitusi ke persamaan [2.4]

$$\frac{d[ET]}{dt} = k_1([E_0] - [ET])[T] - k_2[ET] - k_p[ET] \quad [2.12]$$

$$\frac{d[ET]}{dt} = k_1[T][E_0] - k_1[T][ET] - k_2[ET] - k_p[ET] \quad [2.13]$$

2. *Pseudo-steady state*, dengan asumsi: $\frac{d[ET]}{dt} = 0$, sehingga:

$$0 = k_1[T][E_0] - k_1[T][ET] - k_2[ET] - k_p[ET] \quad [2.13]$$

$$k_1[T][ET] + k_2[ET] + k_p[ET] = k_1[T][E_0] \quad [2.14]$$

$$[ET](k_1[T] + k_2 + k_p) = k_1[T][E_0] \quad [2.15]$$

$$[ET] = \frac{k_1[T][E_0]}{k_1[T] + k_2 + k_p} \quad [2.16]$$

Substitusi ke persamaan [2.5]:

$$\frac{d[B]}{dt} = k_p \frac{k_1[T][E_0]}{k_1[T] + k_2 + k_p} \quad [2.17]$$

$$\frac{d[B]}{dt} = \frac{k_p k_1 [T][E_0]}{k_1 [T] + k_2 + k_p} \quad [2.18]$$

$$\frac{d[B]}{dt} = \frac{k_p [T][E_0]}{[T] + \frac{k_2 + k_p}{k_1}} \quad [2.19]$$

Jika $k_m = \frac{k_2 + k_p}{k_1}$; K_m disebut sebagai konstanta Michaelis-Menten, maka laju reaksi pembentukan produk adalah:

$$\frac{d[B]}{dt} = \frac{k_p [T][E_0]}{[T] + k_m} \quad [2.20]$$

dan ketika $V_{\max} = k_p E_0$; persamaan laju reaksi pembentukan produk adalah sebagai berikut:

$$\frac{d[B]}{dt} = \frac{V_{\max} [T]}{[T] + k_m} \quad [2.21]$$

Laju pembentukan konsentrasi biodiesel sama dengan laju reaksi penguraian konsentrasi triglicerida terhadap waktu, penurunan persamaan laju reaksi penguraian triglicerida dapat dituliskan sebagai berikut:

Substitusi persamaan [2.11] ke persamaan [2.3]

$$\frac{d[T]}{dt} = -k_1([E_0] - [ET])[T] - k_2[ET] - k_p[ET] \quad [2.22]$$



$$\frac{d[T]}{dt} = -k_1[E_0][T] + k_1[ET][T] - k_2[ET] - k_p[ET] \quad [2.23]$$

Substitusi persamaan [2.16] ke persamaan [2.23]

$$\begin{aligned} \frac{d[T]}{dt} = & -k_1[E_0][T] + k_1 \left(\frac{k_1[T][E_0]}{k_1[T] + k_2 + k_p} \right) [T] - k_2 \left(\frac{k_1[T][E_0]}{k_1[T] + k_2 + k_p} \right) \\ & - k_p \left(\frac{k_1[T][E_0]}{k_1[T] + k_2 + k_p} \right) \end{aligned} \quad [2.24]$$

$$\begin{aligned} \frac{d[T]}{dt} = & -k_1[E_0][T] + k_1 \left(\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} \left(\frac{k_2 + k_p}{k_1} \right)} \right) [T] - k_2 \left(\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} \left(\frac{k_2 + k_p}{k_1} \right)} \right) \\ & - k_p \left(\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} \left(\frac{k_2 + k_p}{k_1} \right)} \right) \end{aligned} \quad [2.25]$$

$$\begin{aligned} \frac{d[T]}{dt} = & -k_1[E_0][T] + k_1 \left(\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} (k_m)} \right) [T] - k_2 \left(\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} (k_m)} \right) \\ & - k_p \left(\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} (k_m)} \right) \end{aligned} \quad [2.26]$$

$$\frac{d[T]}{dt} = -k_1[E_0][T] + k_1 \left(\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} (k_m)} \right) [T] - k_2 \left(\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} (k_m)} \right) - k_p \left(\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} (k_m)} \right) \quad [2.27]$$

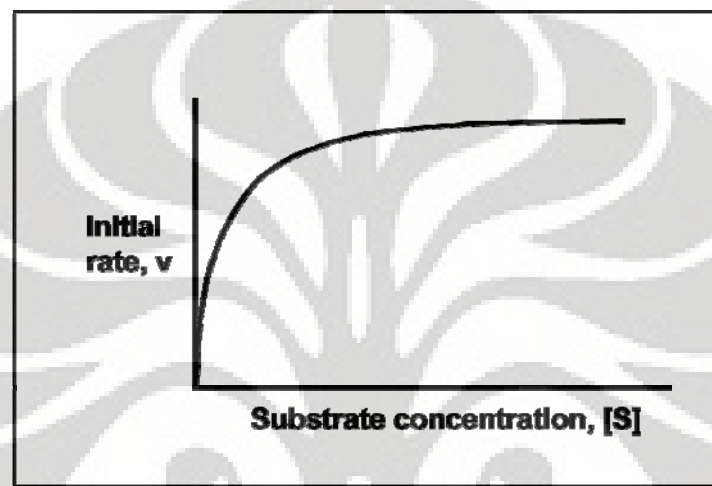
Sehingga laju penguraian konsentrasi trigliserida terhadap waktu adalah sebagai berikut:

$$\frac{d[T]}{dt} = k_1[T] \left[\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} (k_m)} \right] - \left(k_1[E_0][T] + k_2 \left(\frac{[E_0]}{1 + \frac{1}{[T]} (k_m)} \right) + \left(\frac{V_{\max}}{1 + \frac{1}{[T]} (k_m)} \right) \right) \quad [2.28]$$



II.6.2 Penjelasan Mekanisme Reaksi Michaelis-Menten

Pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju awal reaksi yang berkataliskan enzim merupakan konsep utama dari kinetika enzimatik. Ketika data percobaan reaksi secara enzimatik didapat, lalu di plot antara laju awal reaksi (sumbu-y) terhadap konsentrasi substrat (sumbu-x), maka kebanyakan reaksi secara enzimatik cenderung menunjukkan kurva hiperbola yang *rectangular*. Kurva yang dihasilkan terlihat seperti gambar dibawah ini:



Gambar 2. 16 Pengaruh konsentrasi substrat terhadap laju awal reaksi

Adanya kecenderungan pembentukan kurva seperti gambar 2.16 membuat *Leonor Michaelis* dan *Maud Menten* membuat persamaannya dan menurunkan persamaannya secara aljabar atas nama mereka sendiri.

Nilai k_1 , k_2 dan k_p merupakan konstanta laju reaksi. Nilai k_1 merupakan konstanta laju reaksi untuk pembentukan enzim-substrat kompleks, k_2 merupakan konstanta laju reaksi untuk penguraian substrat yang tidak berubah dalam enzim, dan k_p konstanta laju reaksi untuk pembentukan produk yang terpisah dari enzim. Secara teori ada kemungkinan reaksi balik, dengan [ET] membentuk [E] dan [B], tapi hal ini dapat diabaikan karena dilihat dari laju awal reaksinya, ketika enzim bereaksi diawal reaksi, maka seharusnya tidak ada produk lain yang terbentuk oleh enzim.

Kecepatan reaksi keseluruhan (v) dibatasi oleh kecepatan [ET] membentuk [E] dan [B] dan hal ini juga akan tergantung dari dua faktor yaitu laju reaksi di k_p dan konsentrasi enzim yang mengikat substrat [ET], yang kemudian dapat dituliskan seperti persamaan [2.5].



Pada bagian ini kita harus memperhatikan dua asumsi yang digunakan. Asumsi yang pertama adalah ketersediaan substrat dalam jumlah yang sangat besar, sehingga $[T] \gg [E]$. Asumsi yang kedua adalah sistemnya adalah *steady-state*, sehingga kecepatan pembentukan $[ET]$ kompleks dan penguraiannya mempunyai kecepatan yang sama, sehingga secara keseluruhan konsentrasi $[ET]$ konstant. Pembentukan $[ET]$ akan tergantung pada konstanta laju reaksi k_1 . Pemecahan $[ET]$ dapat terjadi dalam dua cara, yaitu konversi substrat menjadi produk atau penguraian non-reaktif substrat dari kompleks. Kedua contoh ini membuat $[ET]$ menjadi sangat signifikan, sehingga dalam keadaan steady state bisa dituliskan sebagai berikut:

$$k_1[ET] = k_2[ET] + k_p[ET] \quad [2.29]$$

Total jumlah konsentrasi enzim dalam sistem dipastikan sama pada keseluruhan percobaan, sehingga dapat ditemukan ada enzim bebas yang tidak mengikat substrat $[E]$ atau membentuk kompleks dengan substrat, $[ET]$. Jika kita membentuk persamaannya total enzim $[E_0]$ adalah seperti persamaan [2.10]

Kecepatan maksimum (V_{\max}) dapat diperoleh ketika semua molekul enzim telah mengikat substratnya. Saat kondisi konsentrasi $[T]$ lebih banyak daripada $[E]$, adalah wajar jika mengasumsikan bahwa semua $[E]$ akan berubah bentuk menjadi $[ET]$, oleh karena itu $[E_0] = [ET]$.

Persamaan untuk V_{\max} bisa disubstitusikan $[ET]$ menjadi $[E_0]$ sehingga membentuk seperti persamaan [2.21]. Ketika

$$v = \frac{1}{2} V_{\max} \quad [2.30]$$

Maka:

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} [T]}{K_m + [T]} \quad [2.31]$$

Disederhanakan menjadi:

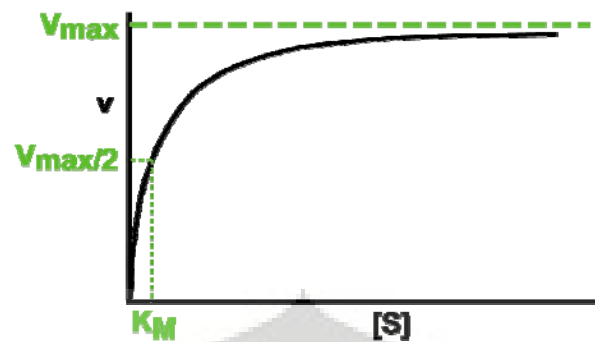
$$\frac{1}{2} = \frac{[T]}{K_m + [T]} \quad [2.32]$$

Sehingga persamaannya pada akhirnya membentuk:

$$K_m = [T] \quad [2.33]$$

Nilai K_m dari sebuah enzim merupakan konsentrasi substrat saat terjadinya reaksi pada $\frac{1}{2}$ kecepatan maksimalnya. Jika melihat kembali ke gambar 2.16 maka grafiknya akan dapat

digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2. 17 Grafik Model Michaelis Menten Dalam Menentukan Nilai Km.

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

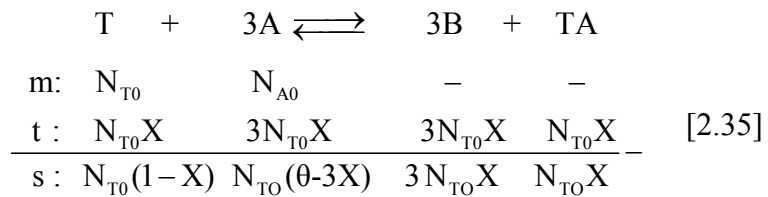
II.6.3 Aplikasi Model Michaelis Menten Terhadap Data Percobaan

Terlihat pada gambar 2.11, reaksi sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol secara stoikiometri diperlukan rasio molar trigliserida : metil asetat adalah 1:3. Reaksi sederhananya dapat dituliskan sebagai berikut:



Gambar 2. 18 reaksi sederhana sintesis biodiesel secara stoikiometrik

Sebagai substrat adalah T yang merupakan trigliserida dan A merupakan asam (metil asetat) akan menghasilkan produk yang dinotasikan sebagai B yang merupakan biodiesel dan produk sampingnya adalah triasetilgliserol yang dinotasikan sebagai TA. Penjelasan reaksinya adalah sebagai berikut:



Dari persamaan [2.30], secara stoikiometri produk biodiesel yang terbentuk merupakan konversi mol dari konsentrasi awal trigliserida. Notasi X menyatakan konversi. Jika θ menyatakan perbandingan mol substrat, maka θ secara matematik dapat dituliskan sebagai berikut:

$$\theta = \frac{N_{A0}}{N_{T0}} \quad [2.36]$$

sehingga:

$$N_{A0} = N_{T0} \times \theta \quad [2.37]$$

karena pada awal reaksi mol biodiesel dan triasetilgliserol belum terbentuk maka:

$$\theta = \frac{N_{B0}}{N_{T0}} = 0 \quad [2.38]$$

$$\theta = \frac{N_{TA0}}{N_{T0}} = 0 \quad [2.39]$$

Dari persamaan [2.30] maka kita dapat menghitung % *yield* biodiesel yang terbentuk. Jika *yield* biodiesel yang terbentuk dalam (% mol), maka rumusnya dapat ditulis sebagai berikut:

$$\text{Yield (\% mol)} = \frac{3N_{T0}X}{N_{T0}} = 3X \quad [2.40]$$

Jika % *yield* biodiesel dikonversi menjadi % *wt*, maka rumusnya dapat ditulis sebagai berikut:

$$\text{Yield (\% wt)} = \frac{3N_{T0}X \cdot \text{mr B}}{N_{T0} \cdot \text{mr T}} = \frac{3 \cdot \text{mr B}}{\text{mr T}} X \quad [2.41]$$

Dengan cara yang sama, maka *methyl esters content* yang terbentuk dalam % mol adalah:

$$\text{ME content (\% mol)} = \frac{3N_{T0}X}{N_{T0}(1-X) + N_{T0}(\theta-3X) + 3N_{T0}X + N_{T0}X} \quad [2.42]$$



$$\text{ME content (\% mol)} = \frac{3N_{T_0} X}{N_{T_0}(1+\theta)} = \frac{3X}{(1+\theta)} \quad [2.43]$$

Jika *methyl esters content* dari (% mol) dikonversi menjadi (% wt), persamaannya dapat ditulis ulang menjadi sebagai berikut:

$$\text{ME content (\% wt)} : \frac{3N_{T_0} X \cdot \text{mr B}}{N_{T_0}(1-X) \cdot \text{mr T} + N_{T_0}(\theta-3X) \cdot \text{mr A} + 3N_{T_0} X \cdot \text{mr B} + 3N_{T_0} X \cdot \text{mr TA}} \quad [2.44]$$

Persamaannya dibentuk kembali menjadi sebagai berikut:

$$\text{ME content (\% wt)} = \frac{3N_{T_0} X \cdot \text{mr B}}{N_{T_0} [\text{mr T} + \text{mr A} \cdot \theta + X(3 \cdot \text{mr B} + \text{mr TA} - \text{mr T})]} \quad [2.45]$$

Sehingga persamaannya akhirnya menjadi:

$$\text{ME content (\% wt)} = \frac{3 \cdot X \cdot \text{mr B}}{[\text{mr T} + \text{mr A} \cdot \theta + X \cdot (3 \cdot \text{mr B} + \text{mr TA} - \text{mr T})]} \quad [2.46]$$

Penurunan persamaan michaelis-menten menghasilkan persamaan [2.21], dimana untuk mencari nilai K_m dan V_{\max} dapat diselesaikan secara sederhana menggunakan metode linierisasi. Jika laju pembentukan produk adalah:

$$\frac{d[B]}{dt} = \frac{V_{\max} [T]}{[T] + k_m} \quad [2.47]$$

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

$$\frac{1}{\frac{d[B]}{dt}} = \frac{[T] + k_m}{V_{\max} [T]} \quad [2.48]$$

Disederhanakan lagi menjadi:

$$\frac{1}{\frac{d[B]}{dt}} = \frac{[T]}{V_{\max} [T]} + \frac{k_m}{V_{\max} [T]} \quad [2.49]$$

Lalu disusun ulang menjadi sebagai berikut:



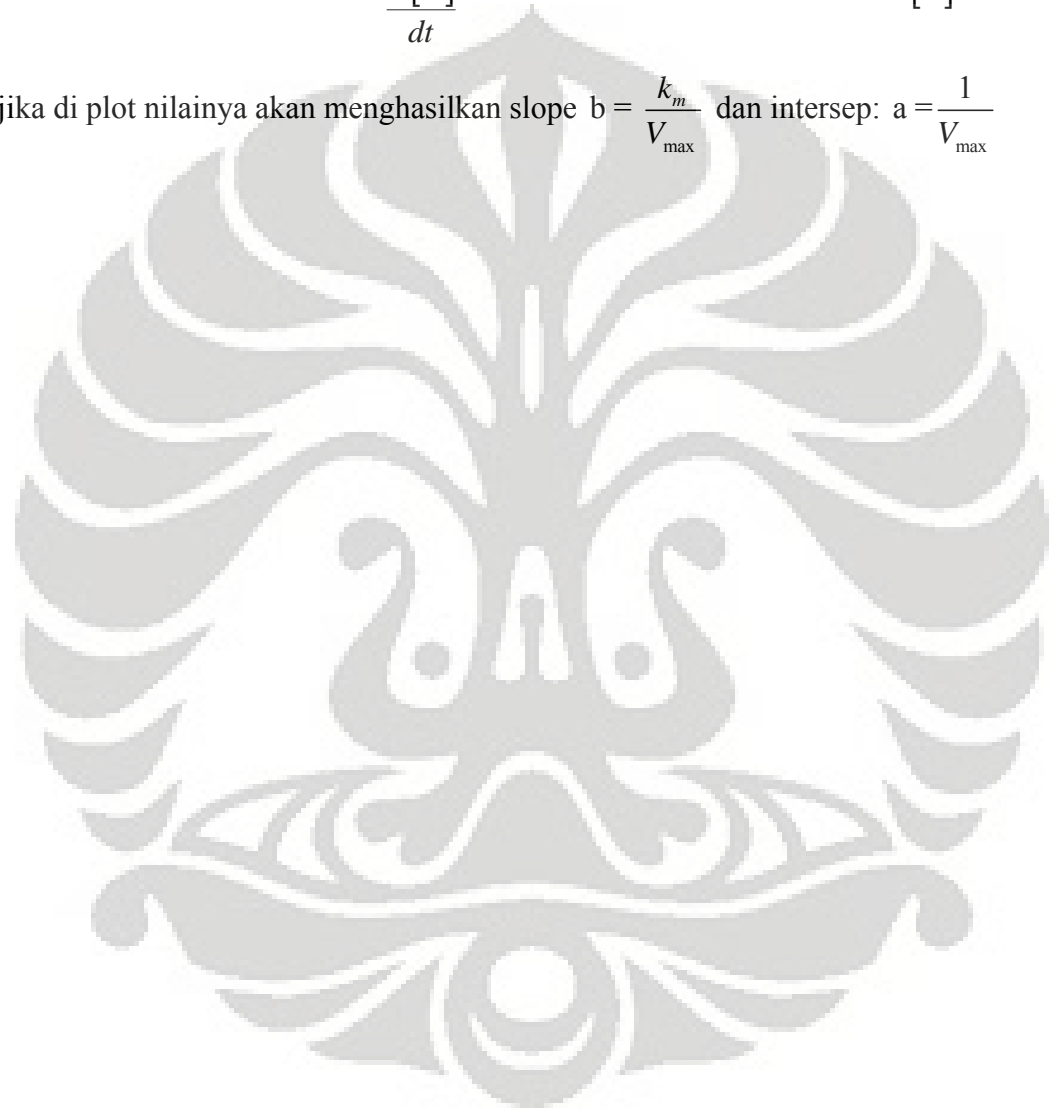
$$\frac{1}{\frac{d[B]}{dt}} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{k_m}{V_{\max}} \left(\frac{1}{[T]} \right)$$

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

$$y = a + b x$$
[2.50]

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

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





BAB III

METODE PENELITIAN

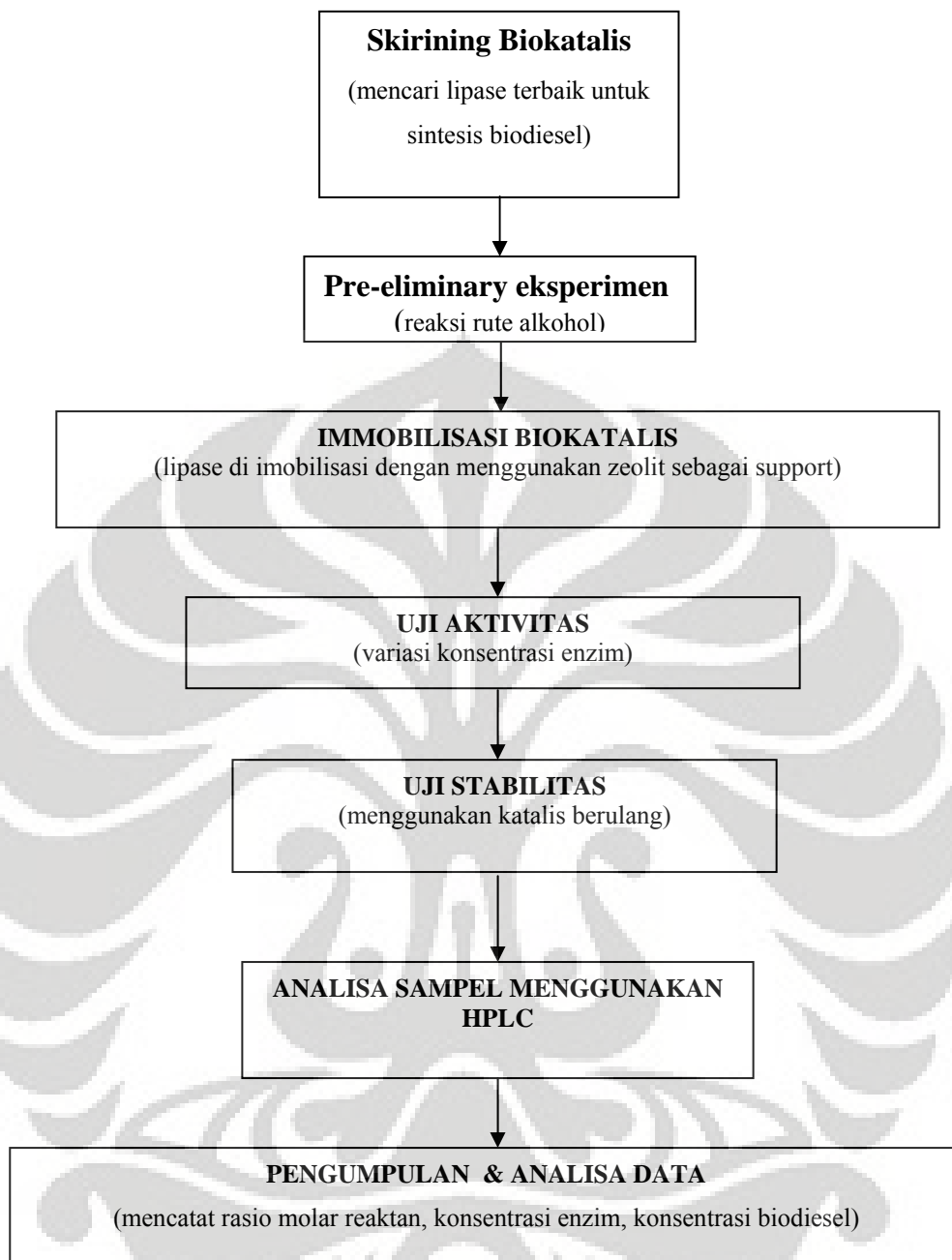
Dalam bab ini akan dibahas alur proses penelitian, peralatan dan bahan yang digunakan, variabel penelitian, dan prosedur penelitian. Sebagian besar penelitian dilakukan di Laboratorium Dasar Proses Kimia (DPK), Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. Untuk melakukan analisis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

III.1 Alur Penelitian

Penelitian yang dilakukan dalam sintesis biodiesel rute non-alkohol dibagi dalam 8 pekerjaan utama, yaitu:

1. Pre-*eliminatory* eksperimen
2. Skrining biokatalis
3. Aktivasi penyangga
4. Peparasi larutan lipase
5. Immobilisasi biokatalis
6. Uji aktivitas lipase
7. Uji stabilitas lipase
8. Analisa sampel HPLC
9. Pembahasan dan kesimpulan

Penelitian ini dilakukan seperti diagram alir proses yang dapat dilihat pada gambar di bawah ini. Untuk langkah-langkah yang lebih jelas dan lebih detail dapat dilihat pada bagian prosedur penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir penelitian

III.2 Alat dan Bahan

III.2.1 Bahan Percobaan

Bahan Percobaan yang digunakan dalam penelitian ini:

- Enzim lipase *Candida rugosa* lipase dan Lipase terimmobilisasi pada *acrylic resin* dalam bentuk sol-gel (Novozym 435) (Sigma Co.)
- Minyak kelapa sawit Indonesia yang berasal dari pasar lokal dalam negeri.
- Minyak jelantah



- Zeolit lampung akan digunakan sebagai material penyangga untuk mengimobilisasi biokatalis.
- Metil asetat
- Methanol
- NaOH
- Na₂SO₄ anhidrat

III.2.2 Alat Percobaan

Peralatan yang digunakan dalam percobaan ini adalah:

- Termometer digunakan untuk memastikan suhu pada reaksi yang sedang dilakukan.
- *Stop watch* digunakan untuk pengukur waktu dalam pengambilan sampel.
- *Magnetic stirrer* sebagai alat pengaduk pada reaksi interesterifikasi-enzimatis.
- *Waterbath* digunakan sebagai alat pemanas untuk memberikan sumber panas bagi reaksi yang terjadi didalam labu erlenmeyer dan didalamnya terdapat magnet yang dapat memutar magnetic stirrer.
- Labu erlenmeyer 25 ml sebagai tempat reaksi.
- Syringe auto *transfepette* digunakan untuk mengambil sample berukuran mikron
- *Bottle plastic cap* Iwaki sebagai tempat menaruh sampel
- *Beaker glass* sebagai tempat bahan penelitian.
- Gelas ukur untuk mengukur volume bahan yang dibutuhkan.
- Cawan petri sebagai wadah menaruh bahan-bahan kimia.
- Pompa air yang digunakan disini fungsinya untuk memompa air yang akan dialirkan kedalam wadah tempat menampung air hangat.
- Selang air digunakan untuk mengalirkan air yang akan melalui kondenser
- HPLC yang digunakan sebagai alat untuk menganalisa sampel.

III.3 Prosedur Percobaan

III.3.1 Skrining Biokatalis

Pada tahap skrining biokatalis akan dikumpulkan literatur mengenai jenis lipase terbaik yang digunakan untuk sintesis biodiesel rute non-alkohol serta



referensi mengenai kondisi operasi optimal untuk reaksi sintesis biodiesel rute non-alkohol baik dari buku, jurnal, maupun artikel. Dari hasil studi literatur ini diharapkan diperoleh tinjauan pustaka yang dapat digunakan sebagai dasar dari reaksi sintesis biodiesel rute non-alkohol.

III.3.2 Pre-Eliminary Eksperimen

Dalam percobaan awal ini reaksi yang dilakukan adalah reaksi sintesis biodiesel secara konvensional yaitu menggunakan katalis alkali (NaOH). Reaksi sintesis biodiesel dilakukan melalui rute alkohol dan rute non alkohol. Dalam tahapan ini dilakukan juga penentuan tetapan fisika dan kimia dari minyak sawit dan Biodiesel yang dihasilkan.

III.3.2.1 Sintesis Biodiesel Melalui Rute alkohol dan Rute Non-Alkohol Menggunakan Katalis NaOH

Pada tahapan ini reaksi sintesis biodiesel dilakukan menggunakan katalis NaOH. Minyak sawit dan minyak jelantah digunakan sebagai sumber trigliserida yang direaksikan dengan metanol dan metil asetat sebagai reaktan pensuplai alkil. Hasil yang didapat dari percobaan ini nantinya akan digunakan sebagai perbandingan terhadap reaksi sintesis biodiesel menggunakan biokatalis. Berikut adalah kondisi operasi yang digunakan untuk reaksi rute alkohol dan non-alkohol menggunakan katalis NaOH

Tabel 3. 1 Kondisi Operasi Reaksi Menggunakan Katalis NaOH

Kondisi Reaksi	
Suhu	60 ⁰ C
Waktu Reaksi	1 Jam
Perbandingan molar Minyak: Methanol	1:6
Konsetrasi katalis NaOH	1% wt minyak

Adapun prosedurnya adalah sebagai berikut

1. Tahap persiapan bahan:

Mempersiapkan bahan yang diperlukan seperti NaOH, metanol, metil asetat, dan minyak sawit serta minyak jelantah.



2. Tahap persiapan alat:

Mempersiapkan alat yang dibutuhkan untuk penelitian seperti dua buah tabung erlenmeyer 200 ml sebagai tempat substrat, dan kaca arloji serta termometer untuk mencatat suhu, stirer pengaduk, waterbath, reaktor tumpak, dan *stopwatch*.

3. Tahap Penelitian

Mengukur massa substrat yang diperlukan untuk reaksi dengan perbandingan mol minyak sawit : mol methanol = : 1:6

4. Mempersiapkan minyak sawit kedalam reaktor

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

5. Mempersiapkan larutan methanol

- a. Mengukur volume methanol yang dibutuhkan sesuai perbandingan stokiometrik menggunakan gelas ukur 100 ml.
- b. Mengambil methanol yang dibutuhkan sesuai perbandingan mol yang digunakan, kemudian dituang ke labu erlenmeyer 250 ml, lalu labu erlenmeyer ditutup.

6. Mempersiapkan katalis NaOH

- a. Menghitung massa NaOH yang dibutuhkan secara stokiometrik. Asumsi massa NaOH yang dibutuhkan adalah 1% wt dari berat total minyak sawit dan methanol.
- b. Massa NaOH yang dibutuhkan kemudian ditimbang menggunakan timbangan digital.

7. Melarutkan NaOH ke dalam methanol

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

8. Memulai reaksi transesterifikasi

- a. Memasukan larutan NaOH dan methanol kedalam tabung reaktor yang telah berisi minyak sawit pada suhu 60°C

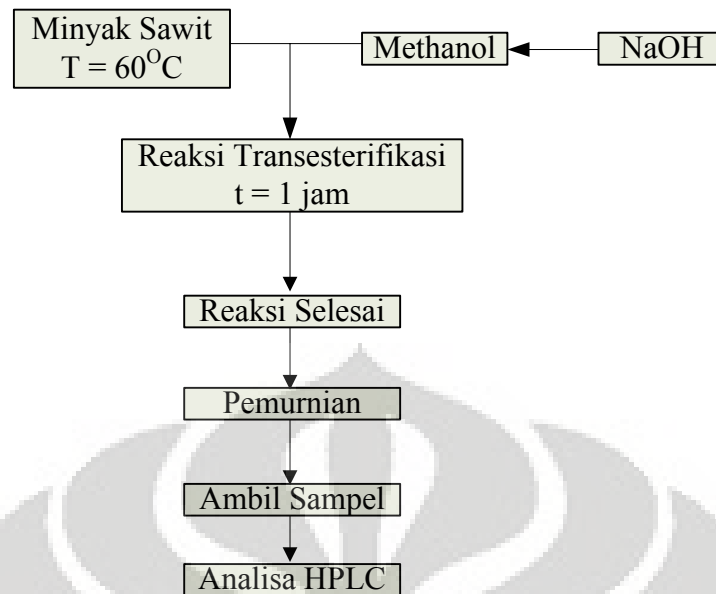


- b. Catat waktu reaksi menggunakan *stopwatch*
- c. Tunggu hingga 1 jam dan kemudian diambil sampelnya.

9. Tahap reaksi selesai

- a. Serelah reaksi selesai, waterbath dimatikan, refluks disiram dengan aquades, dan kemudian campuran ester dan gliserol dalam reaktor langsung didinginkan dalam air untuk menghentikan reaksi.
- b. Campuran metil ester dan gliserol (hasil reaksi) ini kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan dibiarkan semalaman pada suhu ruang untuk memisahkan ester dan gliserol
- c. Setelah gliserol yang terbentuk pada bagian bawah corong pisah dibuang, ester yang diperoleh dicuci dua kali dengan aquades dan satu kali dengan H_3PO_4
- d. Terakhir ditambahkan Na_2SO_4 untuk menghilangkan air yang masih tersisa, dan kemudian disentrifugasi dan disaring.
- e. Metil ester yang diperoleh kemudian dipisahkan dari metanol dan sisa air yang masih tersisa dengan dicelupkan kembali pada waterbath pada suhu $100^{\circ}C$ selama 15 menit hingga jernih kembali
- f. Ambil sampel dan analisa menggunakan HPLC.

Untuk prosedur percobaan reaksi interesterifikasi dengan reaktan metil asetat sebagai alkil aseptor menggunakan katalis NaOH dilakukan hal yang sama seperti menggunakan methanol, namun dalam reaksi menggunakan metil asetat tidak dilakukan pemurnian. Jika substrat yang digunakan adalah minyak jelantah maka dilakukan pemanasan dan penyaringan terlebih dahulu sebelum reaksi transesterifikasi dimulai. Pemanasan dilakukan pada suhu $100^{\circ}C$ selama 30 menit dan penyaringan dilakukan menggunakan kertas saring.



Gambar 3. 2 Diagram alir reaksi transesterifikasi menggunakan katalis NaOH
(substrat : minyak sawit; T= 60°C; t = 1 jam)

III.3.2.2 Penentuan Tetapan Fisika

III.3.2.2.1 Viskositas Kinematik

1. Memasukkan minyak sawit ke dalam viskometer melalui ujung reservoir besar sampai terisi $\frac{3}{4}$ bagian
2. Menghisap minyak sawit melalui ujung reservoir kecil dengan menggunakan karet penghisap sampai batas atas reservoir kecil, kemudian tahan.
3. Lepaskan karet penghisap setelah fluida mencapai batas atas reservoir kecil, kemudian catat waktu sampai dengan fluida mencapai batas bawah reservoir
4. Menghitung viskositas fluida dengan rumus :

$$C = 0.0943 \text{ pada suhu } 40^{\circ}$$

Viskositas kinematik,

$$v \text{ (mm}^2\text{/sec)} = C \times t \text{ (sekon)} \quad [3.1]$$

$$\text{Dimana : } 1 \text{ mm}^2\text{/s} = 1 \text{ cSt} = 10^{-2}\text{cm}^2\text{/s}$$

III.3.2.2.2 Densitas

Penentuan densitas dilakukan dengan menggunakan piknometer 10 ml, dengan prosedur analisa sebagai berikut:

1. Memastikan bahwa piknometer harus benar-benar dalam keadaan kering dan bersih.



2. Menimbang bahwa piknometer kosong dan mencatat massanya
3. Memasukkan larutan ke dalam piknometer sampai penuh
4. Menimbang piknometer berisi sampel dan mencatat massanya
5. Menghitung densitas dari sampel dengan rumus:

$$\rho = \frac{m}{v} \quad [3.2]$$

III.3.2.2.3 Kadar Air

Prosedur untuk penentuan kadar air adalah sebagai berikut]:

1. Sampel yang sudah diaduk ditimbang sebanyak 5 gram
2. Minyak sawit seberat 5 gram diletakkan di dalam cawan penguap dan dipanaskan di dalam oven selama 30 menit pada suhu 105 °C
3. Setelah dipanaskan, minyak sawit didinginkan di dalam desikator selama lebih kurang 10 menit sampai mencapai suhu kamar (24-25 °C)
4. Dari desikator berat sampel minyak sawit ditimbang dan prosedur di atas diulangi sampai perbedaan berat 2 interval pengukuran tidak lebih dari 0,05%

Kadar air dapat dihitung dengan rumus berikut ini:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Minyak}_{\text{awal}} - \text{Minyak}_{\text{akhir}}}{\text{Minyak}_{\text{awal}}} \times 100\% \quad [3.3]$$

III.3.2.3 Penentuan Tetapan Kimia

III.3.2.3.1 Bilangan Asam

Bilangan asam didefinisikan sebagai jumlah miligram KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam lemak bebas dalam satu gram minyak atau lemak ^[18]. Berikut ialah prosedur untuk menentukan bilangan asam ^[18]:

1. Membuat larutan KOH 0,1 N dalam etanol.
2. Melakukan titrasi 10 ml larutan KOH 0,1 N dengan menggunakan larutan HCl 0,1 N sebagai titran, dengan penambahan indikator phenolphthalein 1% sebanyak 2 tetes. Titrasi dilakukan hingga terjadi perubahan warna larutan KOH 0,1 N dari ungu menjadi bening. Titrasi tersebut merupakan standarisasi larutan titran yang akan digunakan.



3. Melakukan titrasi 15 ml etanol dengan menggunakan larutan KOH 0,1 N sebagai titran, dengan penambahan indikator phenolphthalein 1% sebanyak 2 tetes. Titrasi dilakukan hingga terjadi perubahan warna etanol dari bening menjadi keunguan.
4. Menambahkan 1 gram sampel ke dalam larutan etanol yang telah dititrasi dan menambahkan indikator phenolphthalein 1% sebanyak 2 tetes.
5. Melanjutkan titrasi etanol dengan menggunakan larutan KOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna larutan etanol dari bening menjadi keunguan.

Selanjutnya, bilangan asam dihitung dengan menggunakan persamaan berikut ^[18]:

$$\text{Bilangan asam} = \frac{56,11 \times T \times N}{W} \quad [3.4]$$

dengan:

T : volum larutan KOH 0,1 N yang digunakan dalam titrasi sampel (dalam mL)

N : normalitas larutan KOH yang digunakan setelah terstandarisasi (dalam N)

W: berat sampel yang dititrasi (dalam gram)

56,11: berat molekul KOH

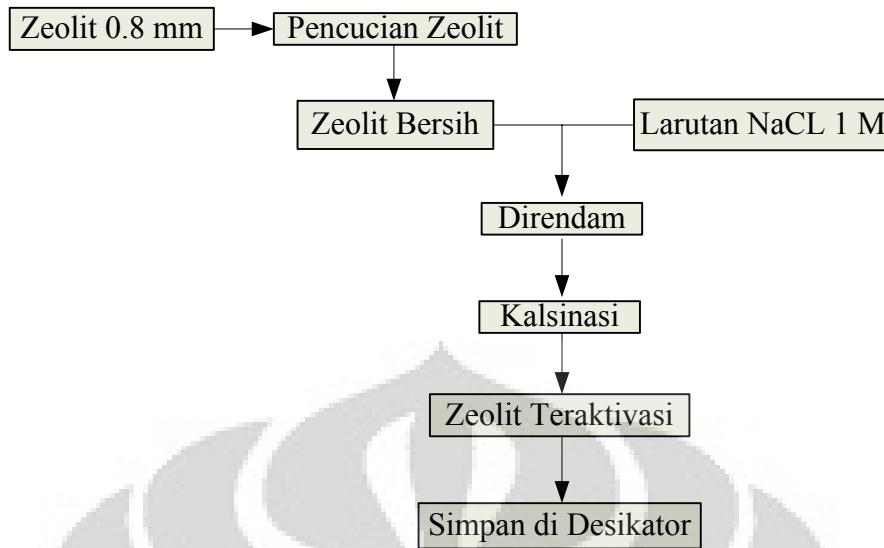
III.3.3 Percobaan Immobilisasi Enzim

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

a. Aktivasi Penyangga

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

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



Gambar 3. 3 Diagram alir aktivasi Penyangga

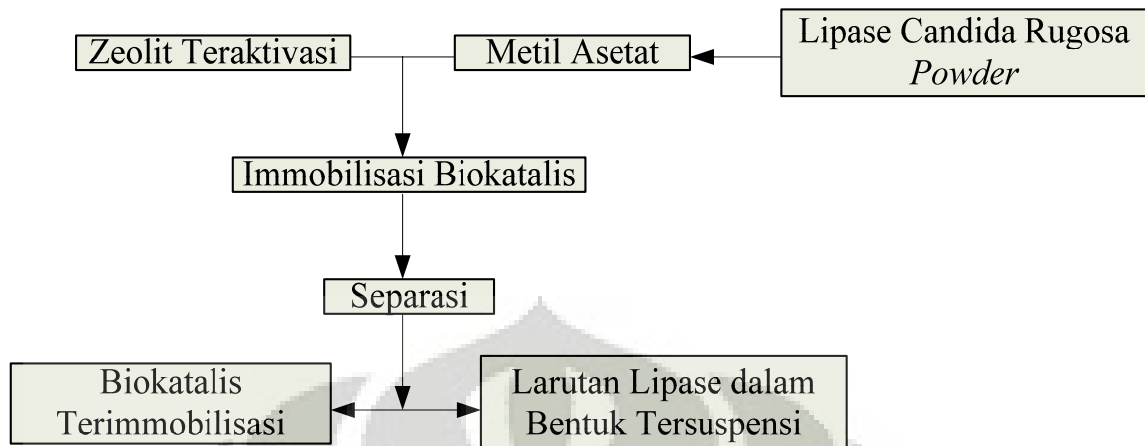
b. Preparasi Biokatalis

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

c. Immobilisasi Biokatalis

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

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



Gambar 3.4 Bagan alir prosedur immobilisasi

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

d. Separasi Larutan Lipase

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

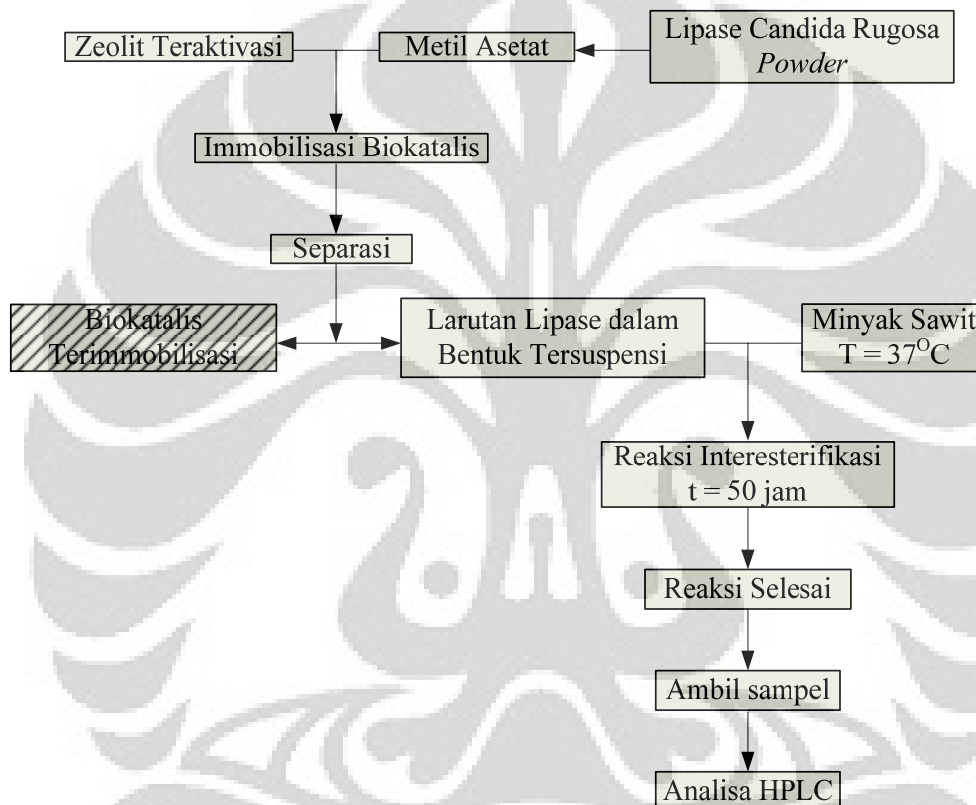
III.3.4 Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase dalam Bentuk Tersuspensi

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



Tabel 3. 2 Kondisi operasi untuk reaksi lipase dalam bentuk suspensi

Konsentrasi awal enzim	: 1, 2 dan 4 [%wt campuran reaktan]
Rasio molar minyak sawit : metal acetat	: 1:3 dan 1:12
Temperatur reaksi	: 37 °C
Waktu reaksi	: 50 jam



Gambar 3.5 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase dalam bentuk tersuspensi (substrat: minyak sawit; t = 50 jam; T = 37°C)



III.3.5 Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi

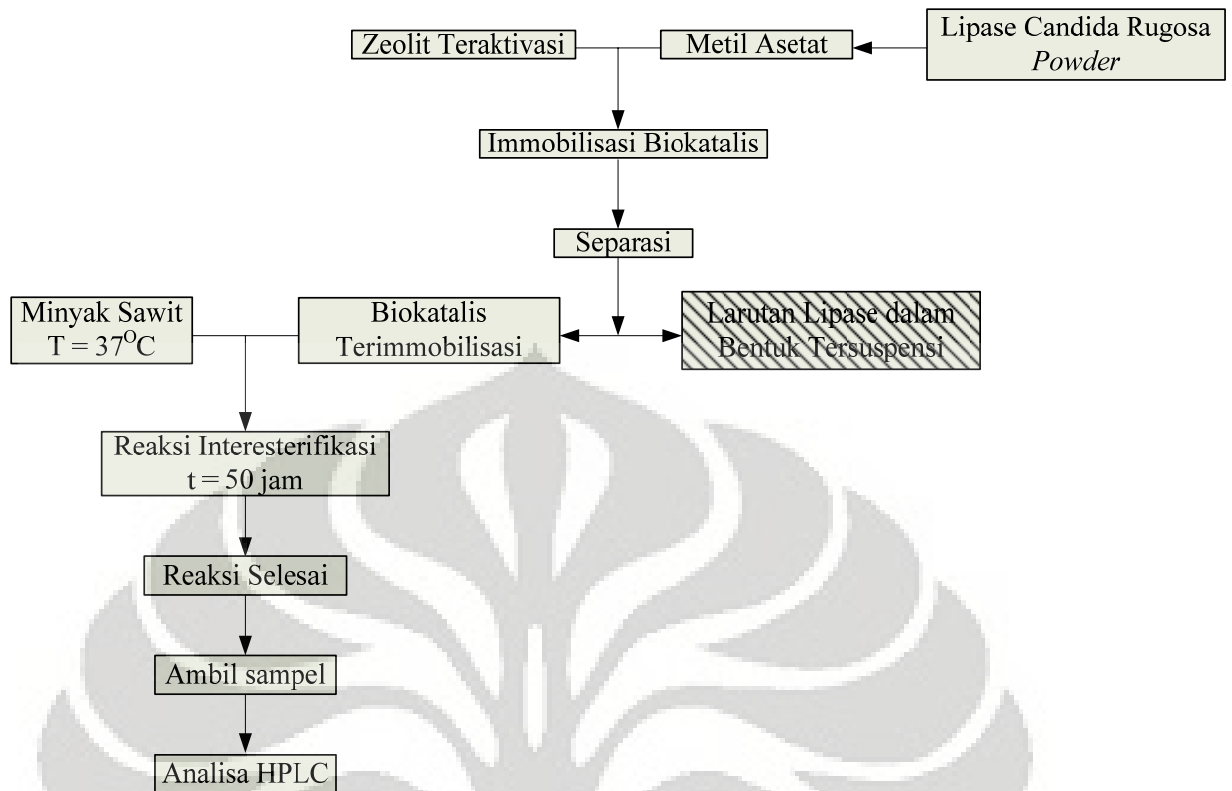
Reaksi akan dilangsungkan dalam reaktor *batch* (labu erlenmeyer 25 ml) yang berisi campuran minyak kelapa sawit dan metil asetat dengan perbandingan mol yang berbeda-beda. *Immobilized* lipase yang digunakan adalah 1%, 2%, dan 4% wt dari substrat campuran minyak sawit dan metil asetat. Percobaan uji aktivitas akan dilakukan juga adalah variasi mol substrat dengan perbandingan mol minyak sawit terhadap metil setat adalah 1:3 dan 1:12.

Untuk variasi waktu proses pengambilan sampel dilakukan pada t (jam) : 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9,12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50.

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

Tabel 3. 3 Kondisi operasi untuk uji aktivitas menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi

Konsentrasi awal enzim	: 1, 2 dan 4 [%wt campuran reaktan]
Rasio molar minyak sawit : metil asetat	: 1:3 dan 1:12
Temperatur reaksi	: 37 °C
Waktu reaksi	: 50 jam



Gambar 3.6 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat: minyak sawit; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)

III.3.6 Percobaan Sintesis Biodiesel Menggunakan Lipase Terimmobilisasi pada *acrylic resin* dalam bentuk Sol-Gel (Novozym 435)

Reaksi akan dilangsungkan dalam reaktor *batch* (labu erlenmeyer 25 ml) yang berisi campuran minyak kelapa sawit dan metil asetat dengan perbandingan mol yang berbeda-beda. Enzim langsung dimasukkan secara langsung kedalam metil asetat. Minyak direndam terlebih dahulu kedalam air hangat selama 15 menit dengan suhu 37°C . Kemudian larutan metil asetat dan enzim langsung dimasukkan kedalam minyak.

Konsentrasi *immobilized* lipase yang digunakan adalah 1%, 2%, dan 4% wt dari substrat campuran minyak sawit dan metil asetat. Percobaan uji aktivitas akan dilakukan juga adalah variasi mol substrat dengan perbandingan mol minyak sawit terhadap metil setat adalah 1:3 dan 1:12.

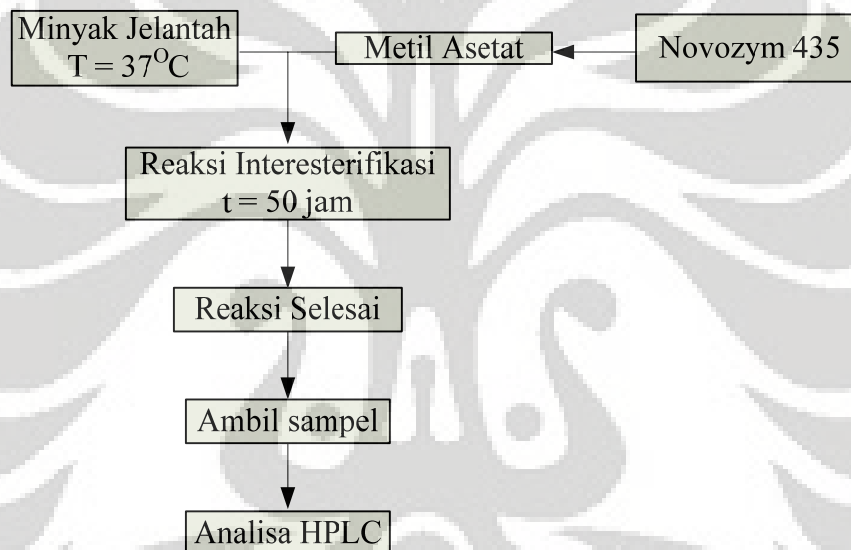
Untuk variasi waktu proses pengambilan sampel dilakukan pada t (jam) : 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50.



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

Tabel 3. 4 Kondisi operasi untuk uji aktivitas menggunakan Novozym 435

Konsentrasi awal enzim	: 1, 2 dan 4 [%wt campuran reaktan]
Rasio molar minyak sawit : metil asetat	: 1:12
Temperatur reaksi	: 37 °C
Waktu reaksi	: 50 jam



Gambar 3.7 Diagram alir reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan Novozym 435 (substrat: minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37°C)



III.3.7 Percobaan Uji Stabilitas

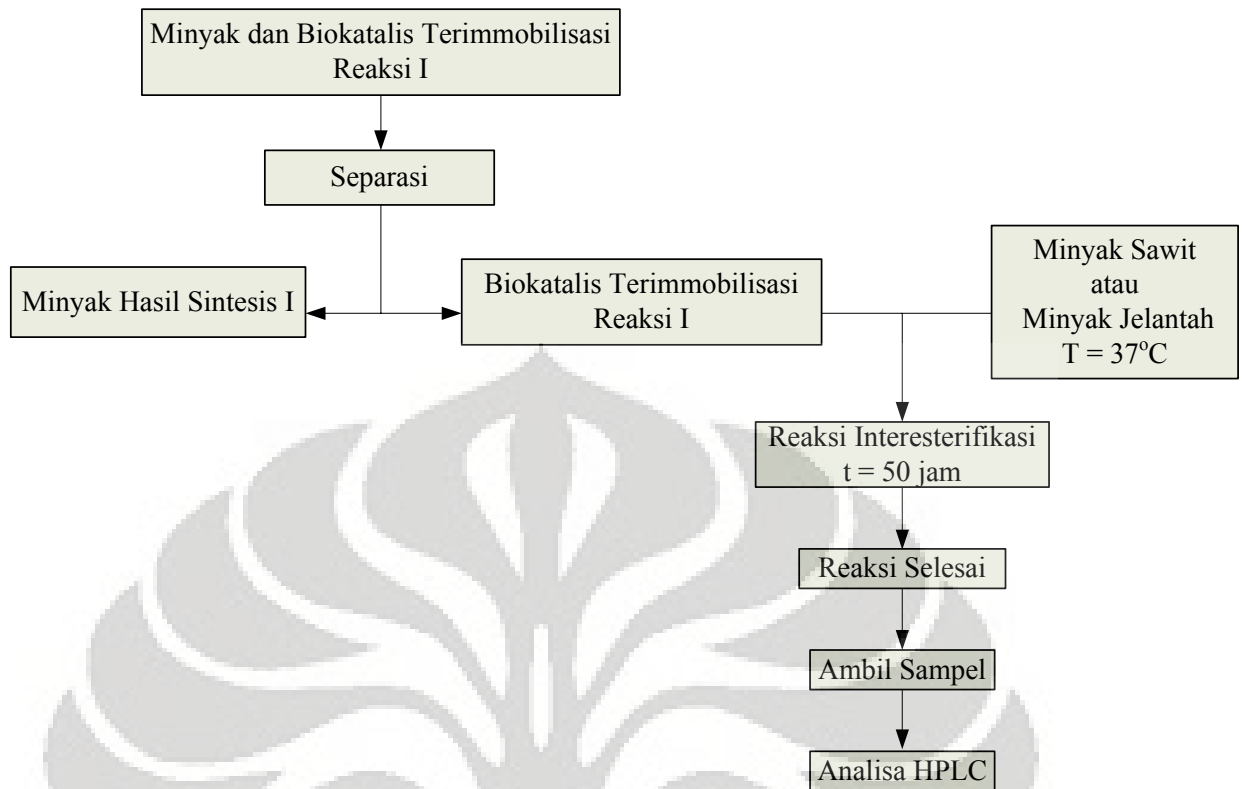
Uji stabilitas juga dilakukan dengan menggunakan Novozym 435 (enzim yang sudah terimmobilisasi pada *acrylic resin*) dan enzim yang diimmobilisasi menggunakan metode adsorpsi.. Reaksi dilangsungkan dalam reaktor *batch* yang berisi campuran minyak kelapa sawit dan metil asetat menggunakan konsentrasi enzim 4% *wt* substrat, dengan perbandingan mol substrat minyak sawit : metil asetat adalah 1:12. Uji stabilitas direaksikan pada suhu 37°C dan dilakukan secara berulang sebanyak 2 kali .

Tabel 3.5 Kondisi operasi untuk uji stabilitas menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dan Novozym 435

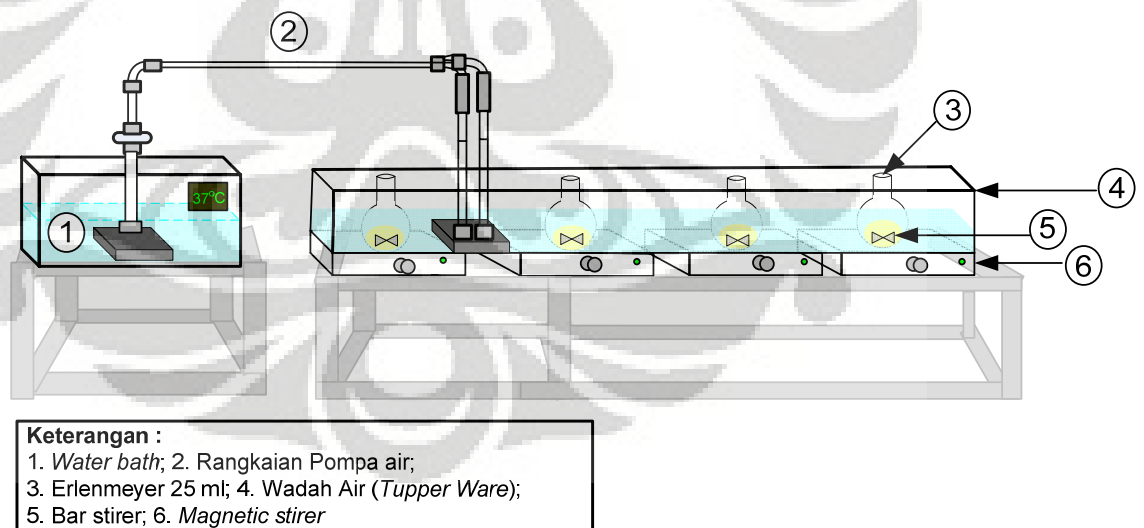
Konsentrasi awal enzim	: 4 (%wt) campuran reaktan
Rasio molar minyak sawit : metil asetat	: 1:12
Temperatur reaksi	: 37 °C
Waktu reaksi	: 50 jam

Untuk percobaan uji stabilitas ini, substrat yang digunakan adalah berbeda pada minyaknya. Untuk uji stabilitas menggunakan lipase terimmobilisasi, minyak yang digunakan adalah minyak sawit komersil yang baru dan untuk uji stabilitas menggunakan Novozym 435, substrat yang digunakan adalah minyak jelantah.

Sample minyak sebanyak 1 μ L dipisahkan dari larutan reaksi kemudian dianalisis menggunakan HPLC untuk mengukur konsentrasi biodiesel yang terbentuk. Setelah reaksi selesai, biokatalis tersebut kemudian disaring dan dipisahkan dari larutannya dan dikeringkan. Reaksi kemudian diulangi sebanyak dua kali dengan prosedur yang sama menggunakan biokatalis bekas tersebut. *Yield* biodiesel kemudian dibandingkan untuk melihat bagaimana stabilitas biokatalis tersebut dalam melakukan sintesis biodiesel. Dari tahapan percobaan ini akan diketahui stabilitas biokatalis dalam melakukan sintesis biodiesel melalui rute non alkohol..



Gambar 3. 8 Diagram alir uji stabilitas lipase terimmobilisasi reaksi interesterifikasi biodiesel (substrat: minyak sawit atau jelantah; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$)



Gambar 3. 9 Skematik diagram reaktor *batch* interesterifikasi sintesis biodiesel secara enzimatik



III.3.8 Teknik Analisis Data

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

Tabel 3. 6 Spesifikasi Alat HPLC

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



Gambar 3. 10 Unit HPLC yang digunakan untuk menganalisa Metil Ester

III.3.9 Pemodelan Reaksi Enzimatik Michaelis-Menten

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

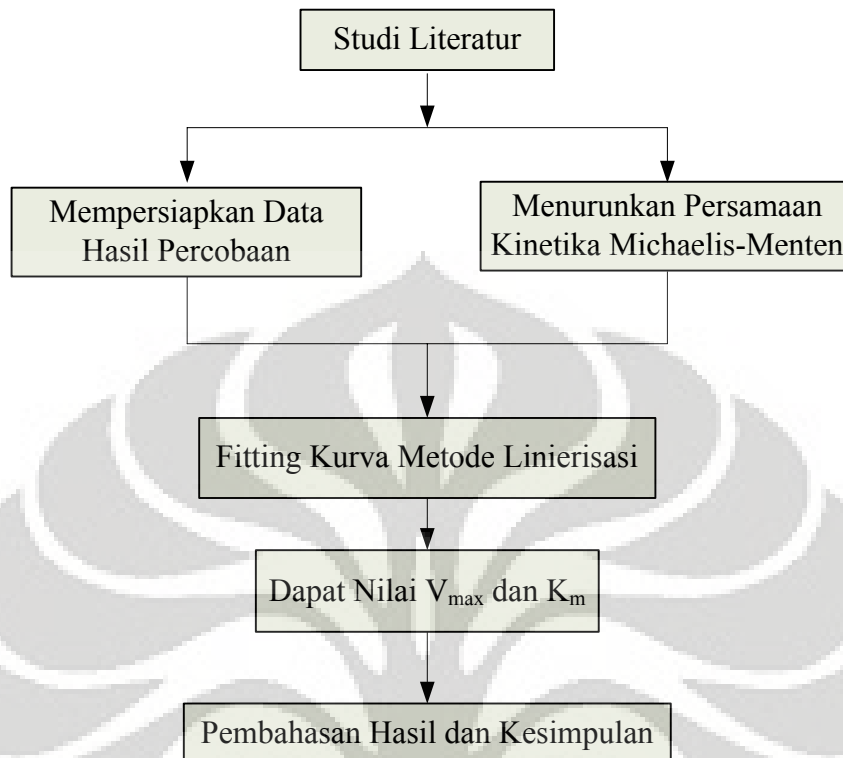
Pada penelitian ini terdapat 4 pekerjaan utama yang harus dilakukan, yaitu:

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

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



4. Pembahasan hasil penelitian dan pembuatan kesimpulan



Gambar 3. 11 Diagram alir pemodelan Michaelis-Menten



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui *yield* biodiesel yang dihasilkan melalui rute baru non-alkohol menggunakan variasi konsentrasi biokatalis, waktu, dan substrat disertai oleh sifat fisika-kimia dari *yield* biodiesel yang dihasilkan.

IV.1 Pre-*Eliminary* Eksperimen

Pada tahap ini, penelitian dilakukan untuk mengetahui perbandingan sifat fisik dan kimia yang dihasilkan dari reaksi sintesis biodiesel melalui rute alkohol (menggunakan katalis basa) yang hasilnya akan digunakan sebagai perbandingan terhadap reaksi menggunakan rute non-alkohol. Perbandingan yang didapat dari rute alkohol akan menjadi dasar untuk memasuki tahap reaksi rute non alkohol yang telah menggunakan biokatalis.

IV.1.1 Penentuan Tetapan Fisika dan Kimia dari Berbagai Sumber

Trigliserida

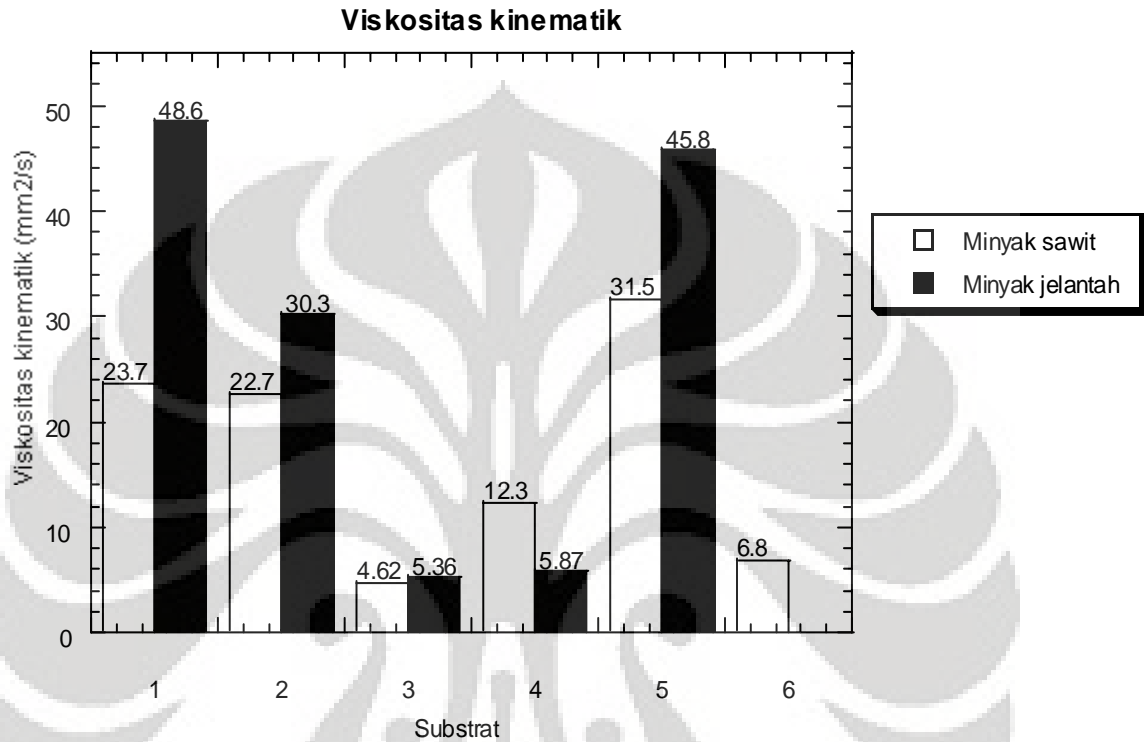
Sebelum menggunakan minyak sawit atau minyak jelantah untuk pembuatan biodiesel, perlu dilakukan pengujian standar. Pengujian standar yang dilakukan terhadap sawit atau pun minyak jelantah lainnya adalah untuk menentukan sifat-sifat fisik dan sifat kimia dari minyak sawit atau minyak jelantah, di lain hal untuk mengetahui kualitas dari minyak sawit atau minyak jelantah itu sendiri.

Dilihat dari sifat fisiknya, minyak sawit yang digunakan mempunyai kualitas yang sangat baik. Ini terlihat dari warna minyak sawit yang berwarna jernih kuning terang. Hal berbeda ditunjukkan oleh kualitas minyak jelantah yang mempunyai warna minyak cokelat kemerahan. Kualitas fisik yang dimiliki oleh minyak jelantah menunjukkan kualitas yang kurang baik, dimana terdapat gumpalan-gumpalan putih yang padat pada minyak. Hal ini mengindikasikan kandungan FFA yang tinggi.

IV.1.1.1 Penentuan Viskositas Kinematik dari Berbagai Sumber Trigliserida

Pada umumnya pengujian yang dilakukan meliputi penentuan bilangan asam, penentuan kandungan air (*water content*), bilangan saponifikasi, bilangan peroksida, bilangan iod, dan lain-lain. Dalam penelitian ini pengujian yang dilakukan hanya penentuan bilangan asam dan kandungan air. Tujuan dari penentuan sifat fisik ini adalah untuk mengetahui apakah perlu atau tidaknya pengeringan terhadap minyak

sawit dan penetralan untuk minyak sawit yang mempunyai kadar FFA yang tinggi, untuk proses sintesis biodiesel. Kandungan FFA yang tinggi pada minyak dilihat dari bilangan asam yang terbentuknya. Dari percobaan yang dilakukan, didapat hasil sebagai berikut:



Gambar 4. 1 Profil Viskositas Kinematik dari Minyak Sawit dan Minyak Jelantah

Keterangan:

No	Zat
1	Minyak Sawit atau Minyak Jelantah saat $t = 0$
2	Minyak Sawit atau Minyak Jelantah yang dicampur dengan methanol kemudian di-stirer selama 30 menit
3	Biodiesel yang terbentuk hasil reaksi antara minyak sawit atau minyak jelantah yang direaksikan dengan methanol berkataliskan NaOH selama 1 jam pada suhu 60°C
4	Minyak sawit atau minyak jelantah yang dicampur dengan metil asetat kemudian di stirer selama 30 menit
5	Biodiesel yang terbentuk hasil reaksi antara minyak sawit dan minyak jelantah yang direaksikan dengan metil-asetat berkataliskan NaOH selama 1 jam
6	Biodiesel Referensi



Dari kurva diatas, terlihat bahwa biodiesel yang terbentuk hasil percobaan mempunyai viskositas yang lebih rendah dengan minyak sawit sebelum reaksi. Hal ini menunjukkan bahwa biodiesel yang terbentuk berhasil beraksi dengan methanol dan mengalami penurunan viskositas kinematik yang cukup drastis. Jika dibandingkan dengan viskositas kinematik biodiesel menurut referensi, viskositas kinematik biodiesel hasil percobaan telah memenuhi spesifikasi biodiesel referensi yaitu $4.62 \text{ mm}^2/\text{s}$, dan viskositas kinematik ini masih berada direntang viskositas biodiesel referensi yaitu dengan rentang $3.7\text{-}6.8 \text{ mm}^2/\text{s}$.

Dilihat dari gambar 4.1, untuk substrat minyak sawit yang dicampurkan dengan methanol mempunyai viskositas kinematik yang hampir sama dengan minyak sawit sebelum reaksi. Hal ini disebabkan oleh methanol yang tidak bercampur dengan minyak sawit sehingga viskositas yang terukur merupakan campuran minyak sawit dan methanol dalam keadaan dua fasa. Tidak bercampurnya minyak sawit dan methanol disebabkan oleh sifat kepolarannya. Minyak sawit yang bersifat non-polar tidak bercampur dengan methanol yang bersifat polar.

Untuk substrat minyak sawit yang dicampur dengan metil asetat juga menunjukkan hal yang sama, dimana minyak sawit tidak bercampur dengan metil asetat sehingga membentuk dua fasa pada campurannya. Dilihat dari kepolarannya, metil asetat lebih kurang polar dibandingkan dengan methanol. Adanya sifat kurang polar dari metil asetat inilah yang menyebabkan sebagian metil asetat larut pada minyak sawit sehingga viskositas kinematik campuran minyak dengan metil asetat mengalami penurunan yaitu $12.28 \text{ mm}^2/\text{s}$.

Sifat kurang polar dari metil asetat ini menyebabkan NaOH sulit larut dengan metil asetat. Sulit larutnya NaOH dalam metil asetat menyebabkan NaOH tidak dapat menurunkan energi aktivasi untuk mensintesis minyak sawit menjadi biodiesel. Hasil yang didapat secara fisik adalah viskositas kinematik reaksi antara minyak sawit dengan metil asetat berkataliskan NaOH menunjukkan viskositas kinematik yang lebih tinggi yaitu $31.53 \text{ mm}^2/\text{s}$, viskositas kinematik ini hampir sama dengan viskositas minyak sawit sebelum reaksi yaitu $22.7 \text{ mm}^2/\text{s}$ dan jauh diluar standar viskositas kinematik biodiesel referensi. Hal ini menunjukkan bahwa reaksi antara minyak sawit dengan metil asetat berkataliskan NaOH tidak berjalan sempurna.



Gambar 4. 2 Rangkaian unit peralatan untuk mengukur viskositas kinematik ($T = 40^{\circ}\text{C}$; substrat: minyak sawit atau minyak jelantah)

Untuk substrat minyak jelantah, viskositas kinematik yang terbentuk hasil sintesis biodiesel melalui rute alkohol mengalami penurunan cukup signifikan yaitu dari $48.61 \text{ mm}^2/\text{s}$ ($t = 0$ menit) menjadi sebesar $5.36 \text{ mm}^2/\text{s}$ ($t = 60$ menit). Adanya penurunan viskositas kinematik ini mengindikasikan adanya reaksi yang terbentuk antara minyak jelantah dengan methanol menggunakan katalis NaOH. Viskositas kinematik hasil sintesis biodiesel rute alkohol ini juga masih berada dalam batas relevan biodiesel referensi yaitu masih berada dalam rentang $3.7\text{-}6.8 \text{ mm}^2/\text{s}$.

Dari gambar 4.1, terlihat bahwa substrat minyak jelantah yang dicampur dengan methanol tidak mengalami penurunan viskositas kinematik yang cukup signifikan. Hal ini dikarenakan oleh sifat methanol yang tidak bercampur dalam minyak jelantah. Tidak bercampurnya methanol dalam minyak jelantah menyebabkan viskositas kinematik yang terukur merupakan viskositas kinematik campuran antara minyak jelantah dengan methanol yang berada dalam dua fasa. Tidak bercampurnya methanol dalam minyak jelantah dikarenakan sifat kepolarannya. Methanol yang berifat polar tidak bercampur dengan minyak jelantah yang bersifat non-polar.

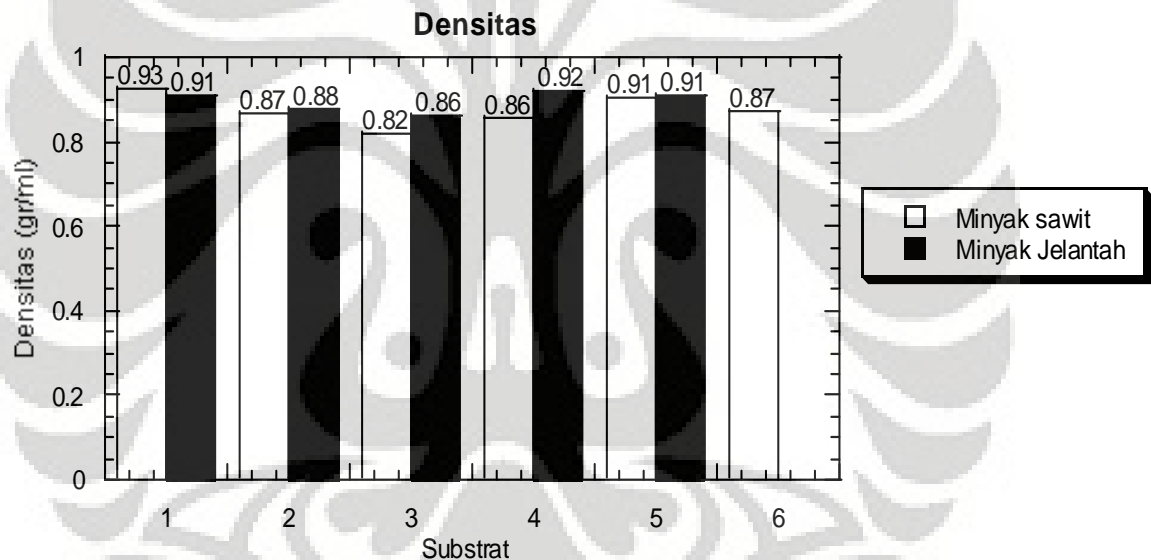
Terjadi sedikit kejanggalan saat pengukuran viskositas minyak jelantah yang dicampur dengan metil asetat. Viskositas kinematik yang terukur mengalami perubahan yang cukup signifikan yaitu sebesar $5.87 \text{ mm}^2/\text{s}$. Hal ini mungkin

disebabkan oleh adanya dua fasa yang terbentuk antara minyak jelantah dengan metil asetat sehingga viskositas kinematik yang terukur adalah viskositas kinematik dari metil asetat.

Untuk minyak jelantah yang direaksikan dengan metil asetat menggunakan katalis NaOH menunjukkan viskositas kinematik yang hampir sama dengan minyak jelantah saat $t = 0$ menit, yaitu $45.77 \text{ mm}^2/\text{s}$. Dilihat dari sifat fisiknya, hal ini mengindikasikan bahwa reaksi antara minyak jelantah dengan metil asetat menggunakan katalis NaOH tidak mengalami reaksi.

IV.1.1.2 Penentuan Densitas dari Berbagai Sumber Trigliserida

Uji berikutnya adalah penentuan profil densitas dari minyak sawit dan minyak jelantah dengan berbagai perlakuan.



Gambar 4.3 Profil Densitas dari Minyak Sawit dan Minyak Goeng Bekas

Keterangan:

No	Zat
1	Minyak Sawit atau Minyak Jelantah saat $t = 0$
2	Minyak Sawit atau Minyak Jelantah yang dicampur dengan methanol kemudian di-stirer selama 30 menit
3	Biodiesel yang terbentuk hasil reaksi antara minyak sawit atau minyak jelantah yang direaksikan dengan methanol berkataliskan NaOH selama 1 jam pada suhu 60°C
4	Minyak sawit atau minyak jelantah yang dicampur dengan metil asetat kemudian di stirer selama 30 menit

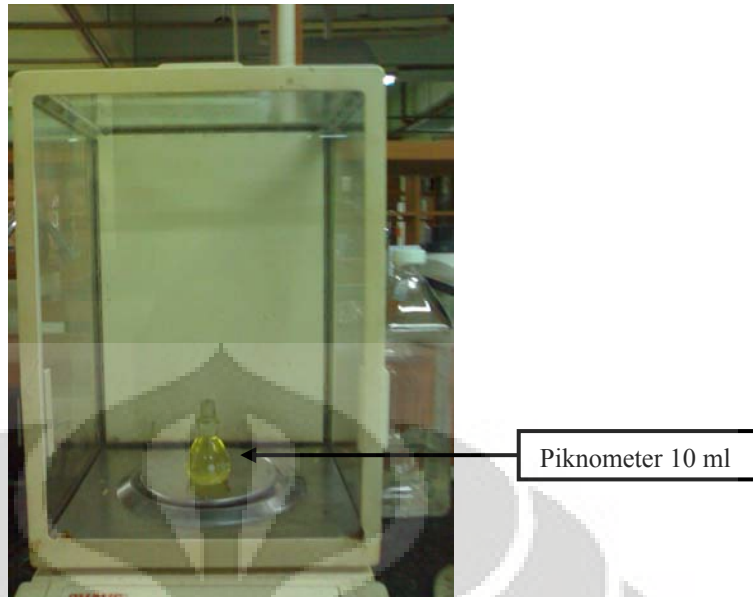


5	Biodiesel yang terbentuk hasil reaksi antara minyak sawit dan minyak jelantah yang direaksikan dengan metil-asetat berkataliskan NaOH selama 1 jam
6	Biodiesel Referensi

Dilihat dari gambar 4.3, hasil reaksi antara minyak sawit dengan methanol berkataliskan NaOH mengalami penurunan densitas yang cukup drastis. Densitas minyak sawit sebelum reaksi adalah 0.928 gr/mL dan setelah reaksi melalui rute alkohol menjadi 0.821 gr/mL. Hal ini menunjukkan adanya reaksi pembentukan biodiesel antara minyak sawit dengan methanol menggunakan katalis NaOH.

Untuk reaksi antara minyak sawit dengan metil asetat menggunakan katalis NaOH menunjukkan profil densitas yang hampir sama dengan minyak sawit sebelum reaksi, densitasnya adalah 0.907 gr/mL. Hal ini disebabkan oleh minyak sawit yang tidak bercampur dengan metil asetat sehingga larutan berada dalam keadaan dua fasa. Dilihat dari profil densitasnya yang hampir sama dengan minyak sawit sebelum reaksi, maka reaksi antara minyak sawit dengan metil asetat berkataliskan NaOH tidak berjalan dengan sempurna. Dalam percobaan juga terlihat masih adanya NaOH yang tidak larut dalam metil asetat sehingga dalam larutan terdapat tiga fasa yaitu NaOH yang berfasa padat yang mengendap didasar larutan, fasa cair metil asetat yang berada diatas permukaan larutan, dan fasa.cair dari minyak sawit yang berada ditengah-tengah larutan.

Kesimpulannya adalah reaksi antara minyak sawit dengan methanol berkataliskan NaOH secara fisik, dilihat dari profil viskositas kinematik dan densitasnya, telah berhasil membentuk biodiesel yang sesuai dengan spesifikasi standar biodiesel referensi.



Gambar 4. 4 Rangkaian unit peralatan untuk mengukur densitas (gr/mL)

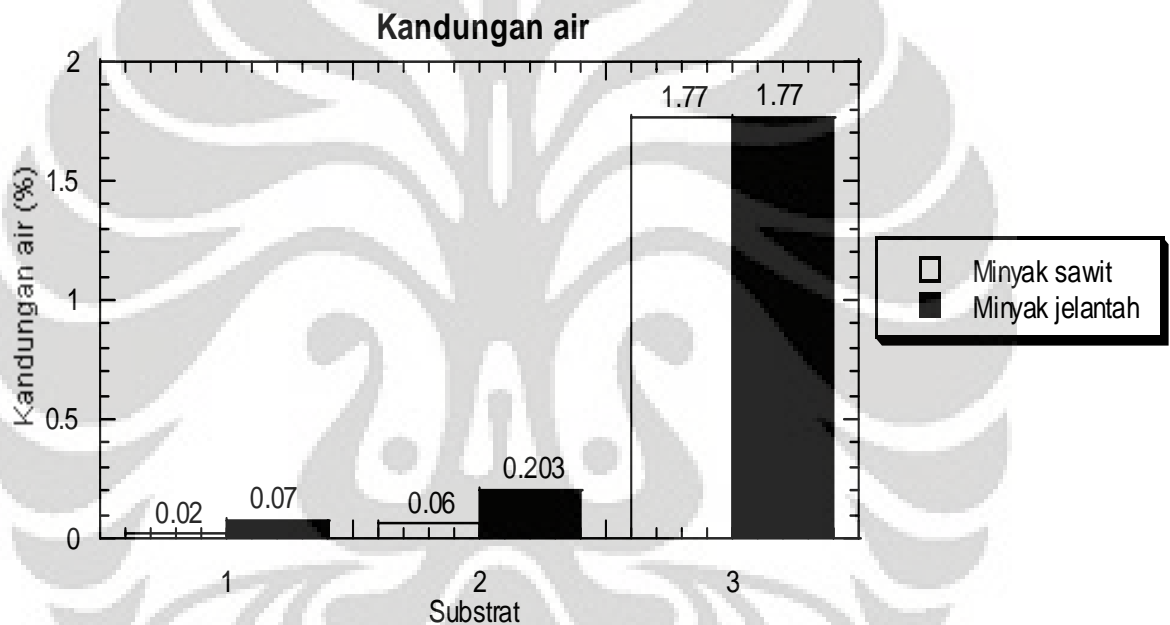
Untuk substrat minyak jelantah, densitas hasil sintesis biodiesel rute alkohol mengalami penurunan densitas yang cukup signifikan yaitu dari 0.91 gr/mL ($t = 0$ menit) menjadi menjadi 0.86 gr/mL saat $t = 60$ menit. Adanya penurunan densitas ini mengindikasikan adanya reaksi yang terbentuk antara minyak jelantah dengan methanol menggunakan katalis NaOH. Densitas yang terbentuk hasil sintesis biodiesel rute alkohol sebesar 0.86 gr/mL juga telah mendekati spesifikasi biodiesel referensi yaitu 0.87-0.89 gr/mL.

Untuk substrat minyak jelantah yang dicampur dengan metil asetat mempunyai densitas yang hampir sama dengan minyak jelantah yaitu sebesar 0.92 gr/ ml. Tidak berubahnya profil densitas ini terjadi juga saat minyak jelantah direaksikan dengan metil asetat menggunakan katalis NaOH yang tidak mengalami perubahan densitas, densitas yang terbentuk tetap 0.91 gr/mL. Tidak berubahnya profil densitas ini menunjukkan bahwa reaksi antara minyak sawit dengan metil asetat menggunakan katalis NaOH tidak mengalami reaksi.

Kesimpulannya adalah reaksi antara minyak jelantah dengan methanol berkataliskan NaOH secara fisik, dilihat dari profil viskositas kinematik dan densitasnya, telah berhasil membentuk biodiesel yang sesuai dengan spesifikasi standar biodiesel referensi.

IV.1.1.3 Kadar Air dari Minyak Sawit dan Minyak Jelantah

Kadar air dari biodiesel menunjukkan jumlah air yang terdapat pada substrat tersebut. Kandungan air dalam biodiesel ini akan mempengaruhi kinerja katalis pada proses transesterifikasi. Kehadiran air akan menghidrolisis metil ester yang terbentuk menjadi asam lemak bebas. Asam yang terbentuk ini akan bereaksi dengan katalis membentuk sabun. Hal ini tidak diinginkan karena dapat menurunkan *yield* metil ester yang terbentuk. Karena itu, ada batasan kadar air dalam minyak yang ditetapkan, agar tidak mengganggu reaksi transesterifikasi secara signifikan. Hasil yang diperoleh dari percobaan adalah sebagai berikut:



Gambar 4. 5 Kandungan air dari minyak sawit dan minyak jelantah

Keterangan :

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

Sebelum digunakan dalam reaksi, kadar air dalam minyak sawit harus diuji terlebih dahulu dengan menggunakan oven suhu 105°C. Digunakan suhu 105°C untuk memastikan semua air yang ada telah teruapkan karena suhu ini berada diatas



titik didih air. Selisih kandungan air dalam minyak sawit untuk transesterifikasi adalah 0.1%. gambar 4.5, menunjukkan bahwa kandungan air (%) dari minyak sawit sebelum reaksi ($t = 0$ jam) adalah 0.02 %, oleh karena itu proses pengeringan tidak perlu dilakukan pada minyak sawit.

Terlihat dari hasil percobaan bahwa kandungan air pada minyak jelantah lebih tinggi daripada minyak sawit komersil . Hal ini sesuai dengan kandungan FFA pada minyak jelantah yang lebih besar daripada minyak sawit komersil. Dikarenakan selisih kandungan air pada minyak sawit dan jelantah terhadap batas kandungan air untuk reaksi transesterifikasi masih dibawah 0,1% maka untuk minyak sawit dengan kandungan air = 0,02% dan minyak jelantah dengan kandugan air = 0,07% proses pengeringan tidak perlu dilakukan.

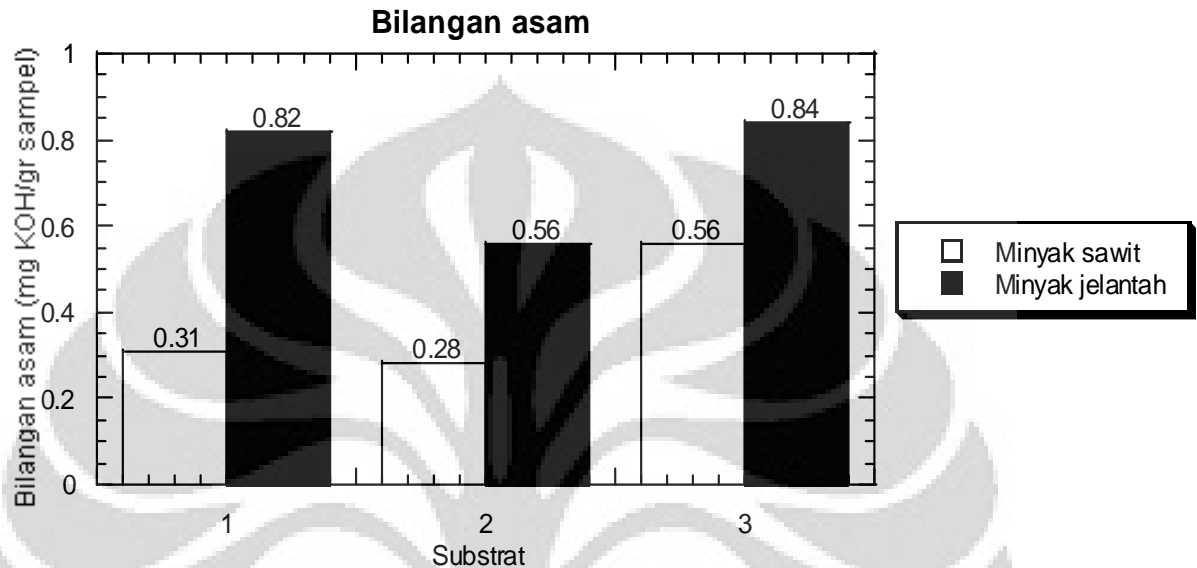
Pada reaksi pembuatan metil ester dengan menggunakan katalis basa, adanya kandungan air dalam minyak sawit sangat memberikan efek negatif terhadap hasil reaksi, bahkan efek negatifnya lebih besar dibandingkan adanya FFA. Kadar air harus dijaga dibawah 0.06% ^[4]. Dari percobaan diperoleh bahwa kandungan air dari metil ester yang terbentuk dengan substrat minyak sawit mempunyai kandungan air yang masih memenuhi standar baku dari metil ester yaitu 0,06%. Hal berbeda ditunjukkan pada metil ester dari substrat minyak jelantah yang mempunyai kandungan air mencapai 0.2%.

Kehadiran air ini dapat dapat mendorong terjadinya reaksi hidrolisis minyak menjadi gliserol dan asam lemak, dan selain itu juga akan mempersulit pemisahan antara metil ester dengan gliserol, Oleh karena itu untuk metil ester yang terbentuk menggunakan substrat minyak jelantah perlu dilakukan *treatment* lanjutan untuk mengurangi kandungan airnya.

IV.1.1.4 Penentuan Bilangan Asam dari Berbagai Sumber Trigliserida

Bilangan asam dinyatakan sebagai jumlah mililiter KOH yang diperlukan untuk menetralsir asam lemak bebas yang terdapat dalam setiap gram minyak atau lemak. Besarnya bilangan asam menunjukkan kandungan *Free Fatty Acid* (FFA) di dalam minyak. Keberadaan FFA ini tidak diinginkan karena dapat menghidrolisis minyak. Selain itu, keberadaan FFA selama proses transesterifikasi akan menyebabkan terbentuknya sabun karena FFA bereaksi dengan katalis basa. Karena itulah, ada batasan kandungan FFA, yang dinyatakan dengan besaran bilangan asam, yang terkandung dalam minyak agar tidak mengganggu reaksi transesterifikasi

secara signifikan. Batas relevan yang di iijinkan untuk bilangan asam biodiesel yang terbentuk adalah maksimal 0.5 mg KOH/g , sedangkan untuk substrat minyak sawit awal (t = 0 menit) batas maksimal yang di iijinkan adalah 1 mg KOH/ gr minyak . Hasil yang diperoleh dalam percobaan:



Gambar 4. 6 Bilangan Asam dari Minyak Sawit dan Minyak Jelantah

Keterangan :

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

Dari gambar 4.6 terlihat bahwa bilangan asam biodiesel yang terbentuk hasil sintesis rute alkohol yaitu 0.28 mg KOH/ gr sampel masih berada dibawah batas maksimal bilangan asam biodiesel referensi 0.5 mg KOH/ gr. Hal ini menunjukkan bahwa biodiesel yang terbentuk sudah memenuhi spesifikasi standar biodiesel referensi dan tidak dibutuhkan lagi proses *treatment* untuk penetralan asam lemak pada produk biodiesel.

Untuk substrat minyak sawit saat t = 0 menit terlihat bahwa bilangan asam minyak sawit sebelum reaksi adalah 0.31 mg KOH/ gr sampel atau masih berada dibawah 1 mg KOH/ gr sampel. Hal ini menunjukkan bahwa minyak sawit yang



digunakan untuk proses sintesis biodiesel tidak dibutuhkan proses *treatment* terlebih dahulu dan minyak sawit langsung bisa digunakan.

Hasil berbeda ditunjukkan oleh bilangan asam yang dimiliki oleh minyak jelantah. Minyak jelantah mempunyai nilai bilangan asam yang lebih tinggi daripada minyak sawit baru. Hal ini wajar karena minyak jelantah telah mengalami proses penggunaan sehingga memiliki asam lemak bebas yang lebih tinggi dan telah mengalami pengotoran.

Dari kurva diatas, dapat dilihat bahwa bilangan asam yang terkandung pada minyak jelantah lebih tinggi dari minyak sawit baru. Bilangan asam menunjukkan besarnya miligram KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan 1 gram asam lemak yang terdapat dalam minyak sawit [18]. Bilangan asam yang terbentuk hasil sintesis biodiesel melalui rute alkohol adalah 0.56 mg KOH/ gr sampel atau berada diatas batas relevan bilangan asam biodiesel yang diijinkan yaitu 0.5 mg KOH/ gr sampel. Hal ini menunjukkan bahwa biodiesel yang terbentuk dari percobaan menggunakan minyak jelantah harus mengalami proses *treatment* lanjutan untuk menetralkan asam lemak bebas.



Gambar 4. 7 Tahap penentuan bilangan asam

IV.1.2 Hasil Reaksi Sintesis Biodiesel Menggunakan Katalis NaOH

Dalam bagian ini reaksi transesterifikasi dilakukan menggunakan katalis NaOH. Tujuannya adalah untuk mengetahui konsentrasi biodiesel (mol/L) yang



dihasilkan yang nantinya akan digunakan sebagai pembanding terhadap konsentrasi biodiesel (mol/L) yang dihasilkan menggunakan biokatalis

Reaksi sintesis biodiesel dilakukan menggunakan dua substrat, yaitu minyak sawit dan minyak jelantah sebagai sumber trigliserida. Reaksi dilakukan melalui rute alkohol dan rute non-alkohol yang kedua-duanya menggunakan katalis NaOH.

Rute alkohol merupakan reaksi untuk membentuk metil ester dari minyak sawit dengan menggunakan alkohol berantai pendek (seperti: methanol) sebagai pensuplai gugus alkilnya. Pada reaksi transesterifikasi ini digunakan methanol karena sifat fisik dan sifat kimia methanol yang bersifat polar dan memiliki rantai karbon yang pendek. Selain itu, methanol juga cepat bereaksi dengan trigliserida dan juga mudah melarutkan NaOH.

Pada penelitian ini variasi yang dilakukan hanya variasi jenis substrat. Substrat yang dipakai sebagai sumber trigliserida adalah minyak sawit baru dan minyak jelantah.



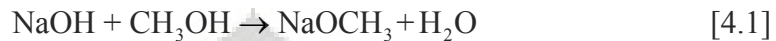
Gambar 4. 8 Substrat minyak sawit saat sebelum reaksi ($t = 0$ menit)



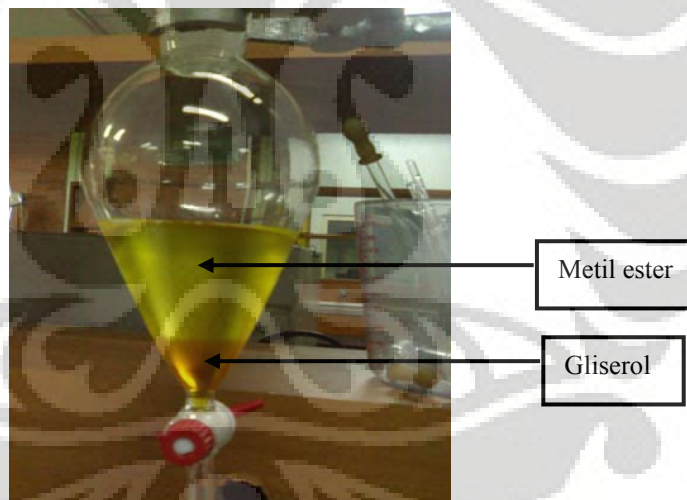
Gambar 4. 9 Substrat minyak jelantah saat sebelum reaksi ($t = 0$ menit)

Variabel kondisi operasi yang digunakan didasari oleh kondisi optimum untuk menghasilkan konversi metil ester yang terbesar. *Freedman et al.*, melaporkan bahwa dengan kondisi operasi tersebut konversi metil ester yang dihasilkan bisa mencapai 93-98% .

Dalam melakukan reaksi transesterifikasi, NaOH dilarutkan dalam methanol membentuk sodium metoksida menurut reaksi



Katalis sodium metoksida (NaOCH_3) lebih sering digunakan daripada sodium hidroksida (NaOH) karena dengan pencampuran NaOH dengan MeOH terlebih dahulu, air yang dihasilkan lebih sedikit dibandingkan apabila NaOH ditambahkan langsung kedalam reaksi. Setelah itu katalis sodium metoksida lebih reaktif dan merupakan katalis yang biasa digunakan untuk proses transesterifikasi. Hasil reaksi yang terbentuk berupa dua fasa yaitu lapisan atas metil ester berwarna kuning bening, sedangkan lapisan bawah berwarna kuning kecokelatan.



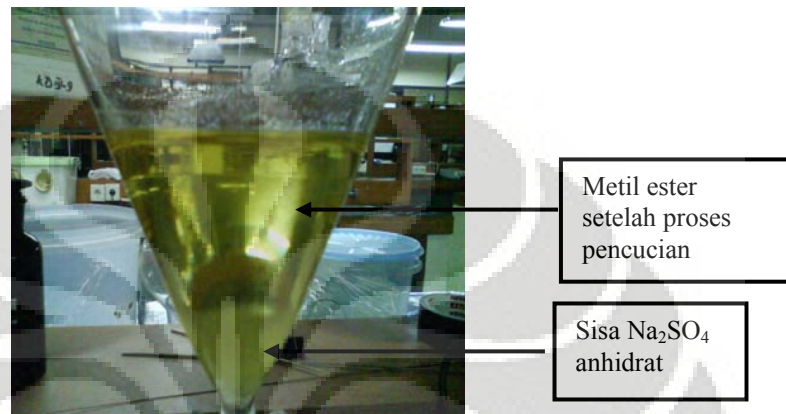
Gambar 4. 10 Hasil reaksi transesterifikasi melalui rute alohol dengan substrat minyak sawit

Setelah reaksi selesai, dilakukan pemisahan secara sederhana menggunakan perbedaan fasa, lapisan atas metil ester dipisahkan dengan cara dituang dan gliserol dibiarkan mengendap didasar reaktor. Setelah dipisahkan dari gliserol, metil ester yang terbentuk langsung dicuci dengan air hangat. Tujuan pencucian ini adalah untuk menghilangkan sisa metanol dan sisa katalis yang masih terdapat dalam produk. Air merupakan pelarut polar sehingga akan dapat melarutkan senyawa polar seperti methanol dan sisa katalis NaOH.. Setelah dilakukan pencucian dengan air



maka ditambahkan 1% volume Na_2SO_4 anhidrat, tujuannya adalah untuk mengikat air dari metil ester sehingga metil ester yang terbentuk menjadi bening.

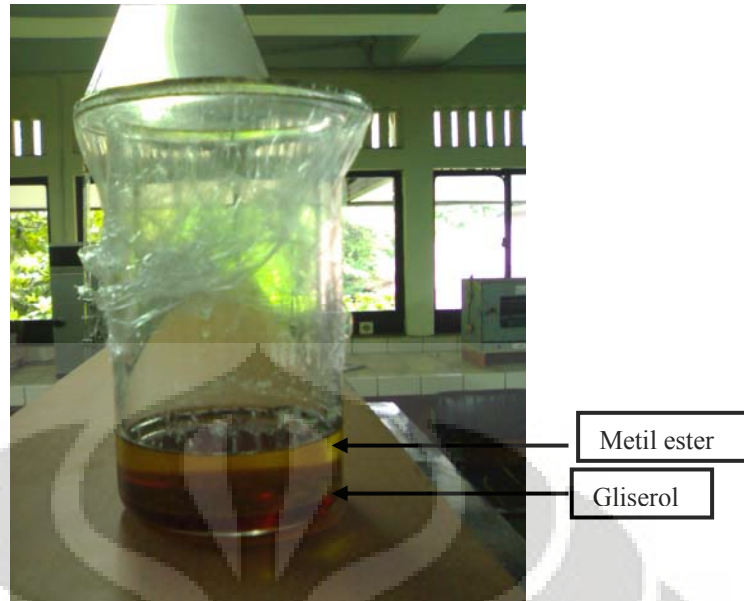
Untuk mendapatkan pemisahan sempurna, pemisahan dilakukan semalaman dalam corong pisah. Setelah terpisah sempurna sisa anhidrat, sisa katalis NaOH , dan methanol terbentuk dibagian bawah yang mengendap secara sempurna berupa padatan



Gambar 4. 11 Produk metil ester yang terbentuk setelah dilakukan proses pencucian

Reaksi transesterifikasi menggunakan minyak jelantah tidak bisa dilakukan secara langsung. Perlu dilakukan *treatment* awal terlebih dahulu terhadap minyak jelantah. *Treatment* yang dilakukan berupa proses penyaringan minyak sawit menggunakan kertas saring. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan pengotor yang terkandung dalam minyak jelantah dan proses penghilangan kandungan air dari minyak jelantah menggunakan oven pada suhu 105°C selama 15 menit. Proses pengurangan kandungan minyak jelantah dimaksudkan untuk mengurangi reaksi saponifikasi selama proses transesterifikasi.

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



Gambar 4. 12 Hasil reaksi transesterifikasi melalui rute alkohol dengan substrat minyak jelantah

Hasil reaksi yang terbentuk berupa dua fasa yaitu lapisan atas metil ester berwarna kuning bening agak cokelat, sedangkan lapisan bawah berwarna merah kecokelatan. Setelah reaksi selesai, dilakukan pemisahan secara sederhana menggunakan perbedaan fasa, lapisan atas metil ester dipisahkan dengan cara dituang dan gliserol dibiarkan mengendap didasar reaktor. Setelah dipisahkan dari gliserol, metil ester yang terbentuk langsung dicuci dengan air hangat secara perlahan-lahan menggunakan botol aquades. Tujuan pencucian ini adalah untuk menghilangkan sisa metanol dan sisa katalis yang masih terdapat dalam produk. Air merupakan pelarut polar sehingga akan dapat melarutkan senyawa polar seperti methanol dan sisa katalis NaOH..



Gambar 4. 13 Hasil pemurnian metil ester dengan menggunakan air hangat

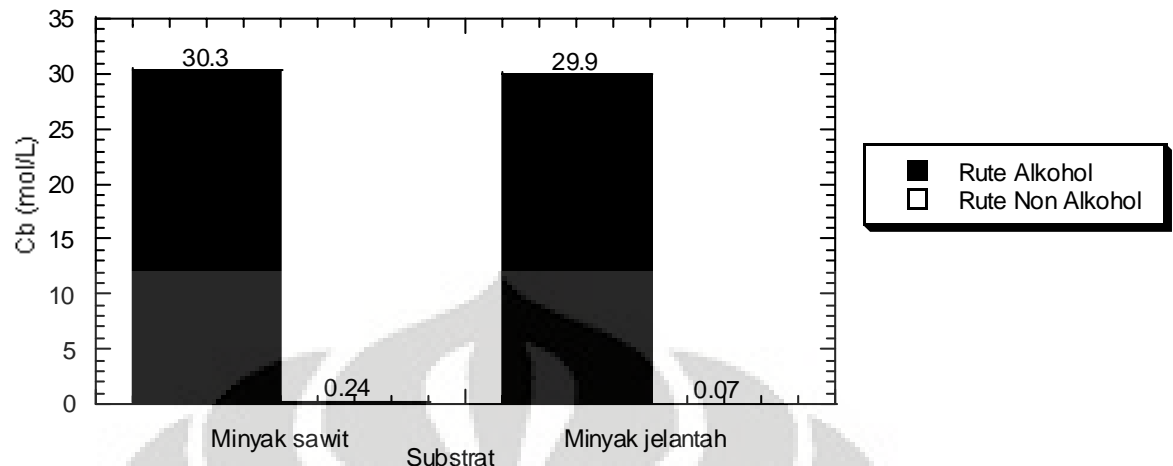


Setelah dilakukan pencucian dengan air hangat, proses *treatment* berikutnya adalah penghilangan kandungan air dari produk metil ester yang terbentuk. Proses penghilangan kandungan air ini dimaksudkan untuk mencegah terjadi reaksi penyabunan berkelanjutan. Reaksi penyabunan mungkin terjadi jika masih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



Gambar 4. 14 Produk metil ester hasil pemurnian dengan menghilangkan kandungan airnya.

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



Gambar 4.15 Konsentrasi Biodiesel yang terbentuk menggunakan katalis NaOH ($t = 1$ jam; $T = 60^{\circ}\text{C}$)

Dilihat dari gambar 4.15 terlihat bahwa konsentrasi biodiesel yang terbentuk dari rute alkohol mempunyai nilai yang lebih tinggi daripada rute non alkohol dengan katalis basa. Hal ini disebabkan oleh sifat metil asetat yang kurang polar dibandingkan dengan methanol sehingga NaOH sukar larut dalam metil asetat. Sulit larutnya NaOH dalam metil asetat menyebabkan kemampuan NaOH sebagai katalis untuk reaksi sintesis biodiesel tidak bisa dilakukan. Sukar larutnya NaOH dalam metil asetat disebabkan oleh sifat kelarutan NaOH yang sangat rendah dalam metil asetat. Penjelasan ini bisa dikarenakan oleh NaOH lebih sulit melepaskan atom H dari gugus karboksil metil asetat. Dalam reaksi transesterifikasi rute alkohol menggunakan katalis basa, ikatan antara R-OH (methanol), dimana atom H terikat pada O, katalis basa seperti NaOH lebih mudah mengambil atom H dari O. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan elektonegatifan antara O dan H yang lebih besar sehingga lepasnya H pada atom O lebih mudah daripada hilangnya atom O pada gugus karboksilnya. Penjelasan tentang mekanisme reaksinya tertera pada gambar 2.7 di bab pembahasan.

Dari gambar 4.15 diperoleh konsentrasi biodiesel tertinggi adalah dari reaksi rute alkohol dengan substrat minyak sawit, yaitu sebesar 30.34 mol/L. Nilai ini lebih tinggi daripada konsentrasi biodiesel dari substrat minyak jelantah, yaitu sebesar 29.94 mol/L. Hal ini disebabkan oleh lebih banyaknya kandungan asam lemak bebas dan kandungan air yang terdapat pada minyak jelantah. Adanya kandungan asam



lemak bebas dan kandungan air mendorong terjadinya reaksi hidrolisis yang dapat menurunkan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan.

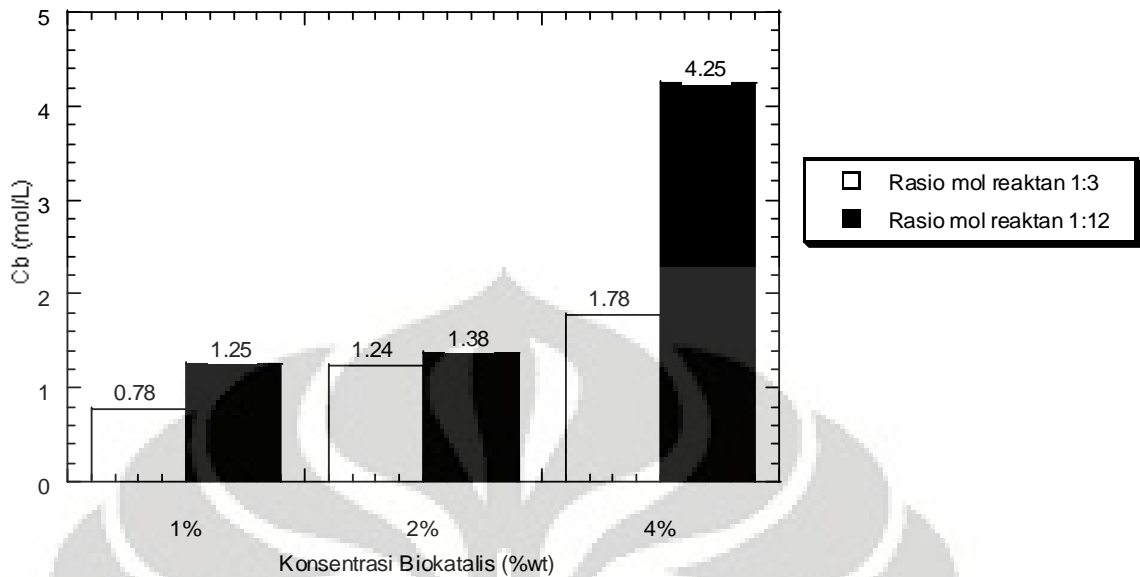


Gambar 4. 16 NaOH yang sulit larut dalam metil asetat

IV.2 Hasil Sintesis Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan *Candida Rugosa Lipase* dalam Bentuk Tersuspensi

Pada bagian ini adalah akan dilakukan uji aktivitas terhadap kemampuan lipase sebagai biokatalis dalam memproduksi biodiesel. Penggunaan lipase sebagai biokatalis dikarenakan oleh kemampuan lipase dalam memecah lemak, selain itu lipase dapat digunakan sebagai katalis yang sangat aktif dalam reaksi transesterifikasi, alkoholisis, dan esterifikasi.

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

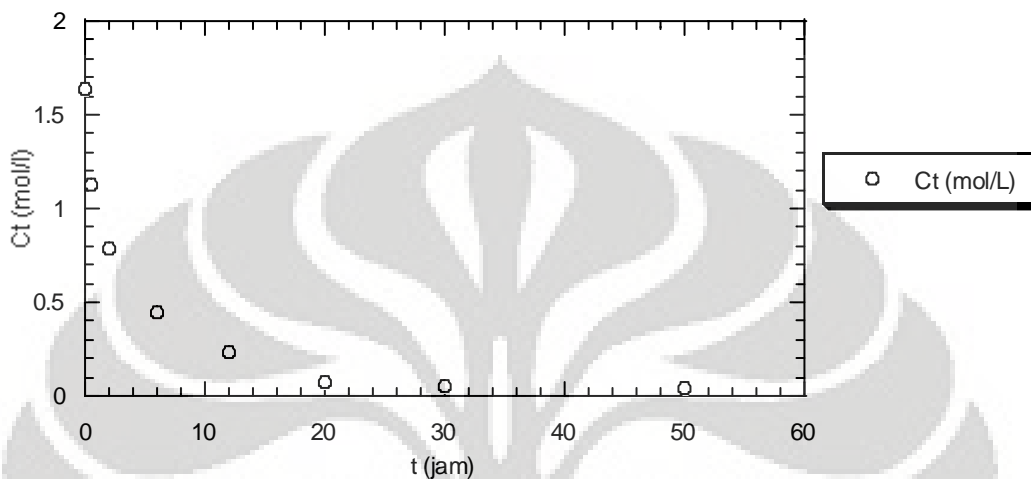


Gambar 4.17 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel (mol/L) yang dihasilkan pada perbedaan rasio reaktan menggunakan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi (t = 50 jam; T = 37°C)

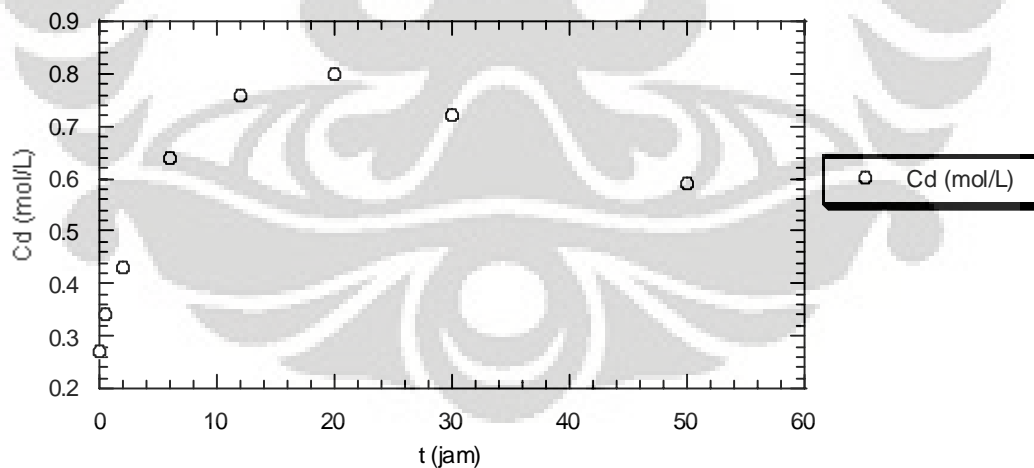
Dari kurva diatas terlihat bahwa semakin besar konsentrasi biokatalis yang digunakan maka produk yang dihasilkan akan semakin besar. Hasil ini sesuai terhadap prinsip mekanisme reaksi enzimatik pada umumnya dimana jumlah konsentrasi biokatalis (enzim) berbanding lurus terhadap produk yang dihasilkan. Dari kurva tersebut juga terlihat bahwa dengan penggunaan substrat yang lebih besar maka produk yang dihasilkan juga akan semakin besar.

Dari profil konsentrasi yang terbentuk maka dapat dilihat nilai konsentrasi biodiesel yang tertinggi, yaitu sebesar 4.25 mol/L, terbentuk saat rasio mol reaktan 1:12 dan konsentrasi biokatalis adalah 4% wt. Dari tahapan ini akan terlihat bahwa ada pengaruh penggunaan substrat dan biokatalis yang digunakan terhadap jumlah produk yang dihasilkan. Dengan kata lain, adanya penambahan substrat dalam reaksi interesterifikasi ini belum menurunkan kemampuan enzim dalam mengkatalisis pembentukan produk, ini berarti kemampuan enzim untuk mengikat substrat belum mencapai titik jenuhnya sehingga dengan kata lain ada kemungkinan produk yang dihasilkan akan semakin besar seiring dengan bertambahnya substrat.

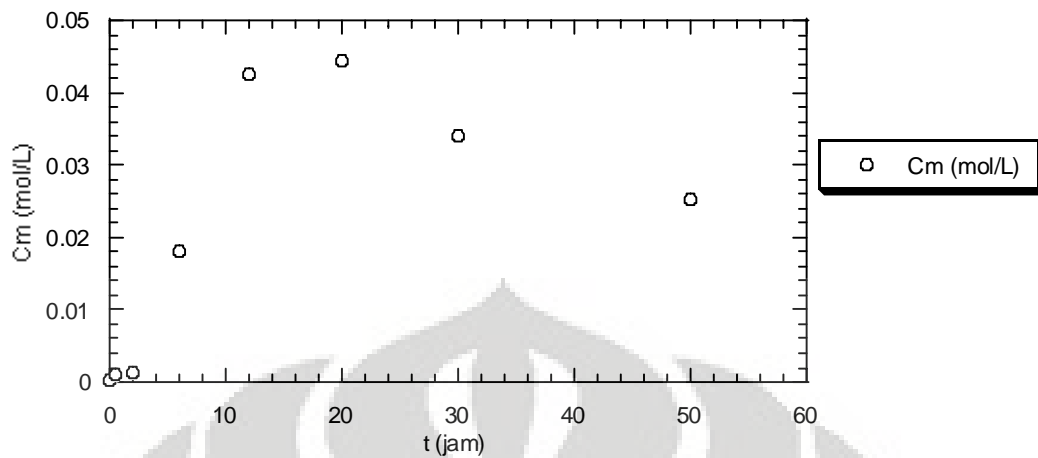
Untuk mengetahui laju pembentukan produk terhadap waktu, maka dalam penelitian ini dilakukan variasi waktunya, banyaknya jumlah konsentrasi biodiesel yang terbentuk dalam waktu tertentu juga dapat menunjukkan kinerja optimal dari eznim sebagai biokatalis. Berikut adalah hasilnya:



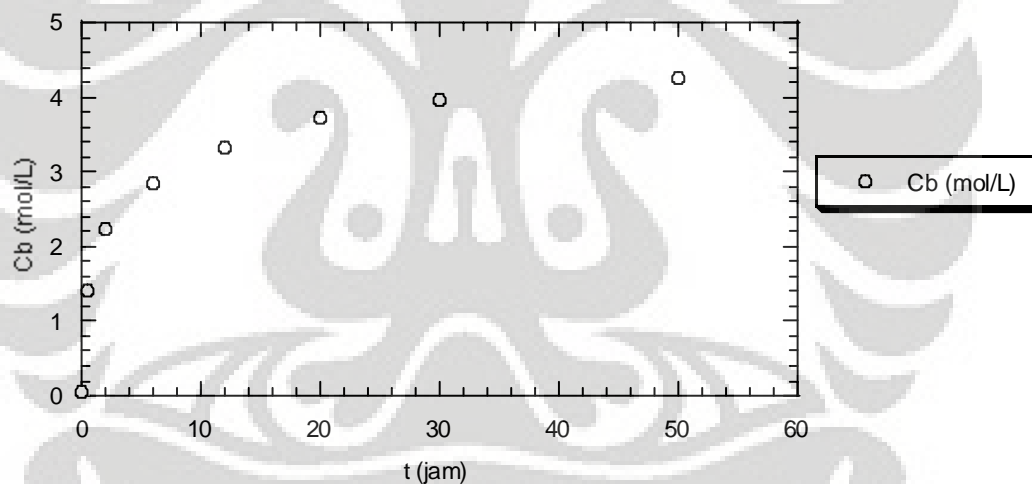
Gambar 4. 18 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi.
($t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$; Rasio mol reaktan = 1:12)



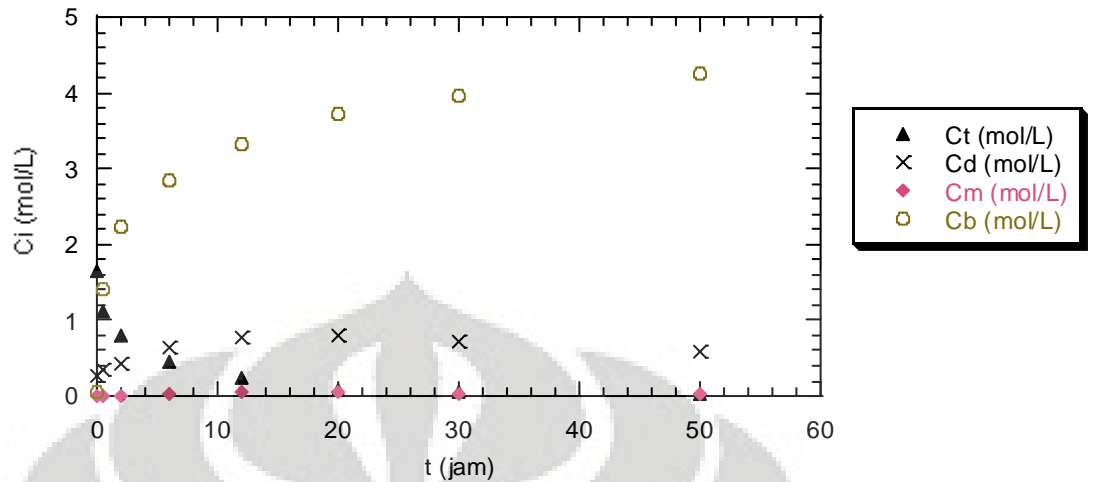
Gambar 4. 19 Laju reaksi dioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi
($t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$; Rasio mol reaktan = 1:12)



Gambar 4. 20 Laju reaksi monooleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi .
(t = 50 jam; T = 37°C; Rasio mol reaktan = 1:12)



Gambar 4.21 Laju reaksi Biodiesel (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi.
(t = 50 jam; T = 37°C; Rasio mol reaktan = 1:12)



Gambar 4. 22 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam raksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi ($t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$; Rasio mol reaktan = 1:12)

Dari gambar 4.18 terlihat bahwa dari laju reaksi trioleat yang terbentuk maka terlihat bahwa konsentrasi dari trioleat (mol/L) mengalami penurunan seiring meningkatnya waktu. Penurunan konsentrasi trioleat dikarenakan adanya sejumlah substrat yang membentuk menjadi produk (biodiesel). Peningkatan jumlah produk yang terbentuk terlihat dari meningkatnya konsentrasi dari biodiesel (mol/L) seiring bertambahnya waktu.

Dari gambar 4.21 terlihat bahwa konsentrasi biodiesel yang terbentuk paling besar terjadi saat $t = 50$ jam, yaitu mencapai 4.25 mol/L. Menurut persamaan [2.21] tentang laju reaksi pembentukan produk maka produk yang terbentuk seharusnya akan semakin besar jika waktu reaksi yang digunakan semakin lama.

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



Hasil penelitian ini jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh *PD Desai et al* tahun 2004 yang sama-sama menggunakan lipase dalam bentuk *free* (tersuspensi), maka penelitian ini mempunyai nilai konversi untuk membentuk metil oleat yang lebih tinggi yaitu sebesar 97.42%. Dalam laporan *PD Desai et al* yang mereaksikan 0.5 Mm minyak salicornia (*salicornia oil*) dengan 0.5-3.0 mM methanol menggunakan 0.125 gr *free porcine pancreatic lipase* menghasilkan konversi metil oleat sekitar 48 %.



Gambar 4. 23 Persiapan tahapan pembuatan larutan lipase



Gambar 4. 24 Tahap Reaksi Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis



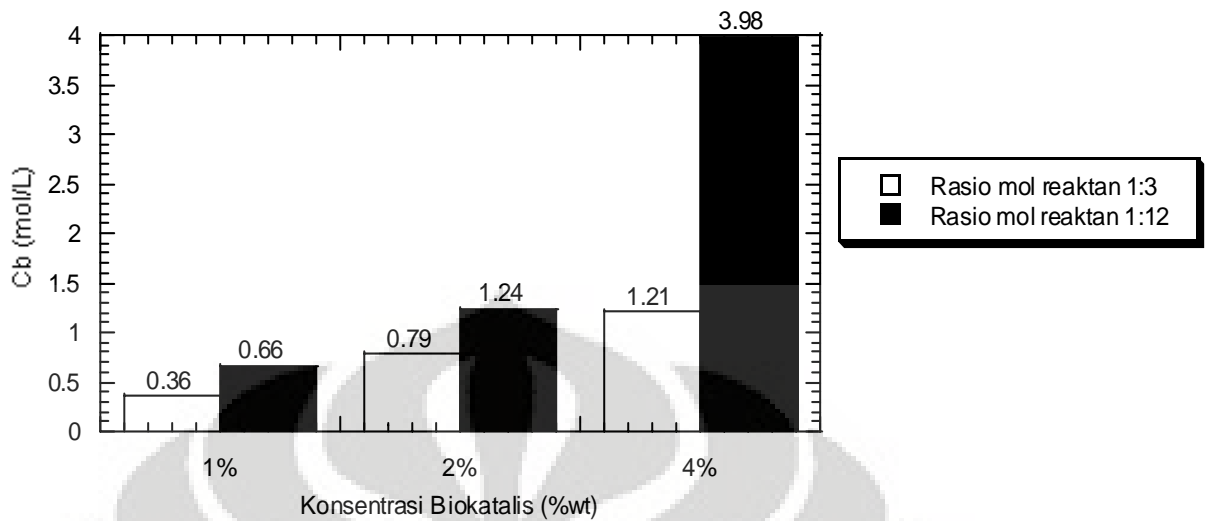
Gambar 4. 25 Hasil Reaksi Interesterifikasi Rute Alkohol dengan *Candida rugosa* dalam sistem tersuspensi saat $t=50$ jam

IV.3 Hasil Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan *Candida Rugosa Lipase* Terimmobilisasi Metode Adsorpsi

Pada bagian ini adalah uji aktivitas terhadap kemampuan lipase sebagai biokatalis dalam memproduksi biodiesel. Lipase yang digunakan dalam penelitian ini di immobilisasi dengan metode adsorpsi.

Tipe lipase yang digunakan dalam percobaan ini adalah *Candida rugosa powder* yang di immobilisasi dengan metode adsorpsi. Penggunaan lipase jenis *Candida rugosa powder* didasari oleh laporan Linko *et al.* yang telah berhasil memproduksi *biodegradable* ester dan *polyester* dengan menggunakan *Candida rugosa powder* sebagai biokatalis. Dalam reaksi transesterifikasinya menggunakan minyak kedelai konversi yang dihasilkan mencapai 97%.

Dalam percobaan kali ini reaksi yang dilakukan berlangsung melalui rute non-alkohol, yaitu minyak sawit akan direaksikan dengan metil asetat sebagai pensuplai gugus alkil dalam reaksi interesterifikasi. Berikut adalah hasilnya:



Gambar 4. 26 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap biodiesel yang dihasilkan pada perbedaan rasio reaktan menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat: minyak sawit; $t=50$ jam; $T=37^{\circ}\text{C}$)

Dari gambar 4.26 diatas terlihat bahwa konsentrasi biodiesel yang terbentuk mempunyai trend yang terus meningkat seiring bertambahnya konsentrasi biokatalis yang digunakan. juga semakin besar. Hal ini dikarenakan oleh kecepatan reaksi enzimatik tergantung pada konsentrasi enzim yang berperan sebagai katalisator di dalam reaksi. Dengan kata lain konsentrasi enzim dan substrat mempengaruhi laju pembentukan produk. Dari kurva diatas akan terlihat adanya pengaruh penambahan substrat dan konsentrasi biokatalis terhadap meningkatnya produk yang dihasilkan. Hal ini terlihat dari konsentrasi biodiesel yang terbentuk terbesar, yaitu 3.98 mol/L

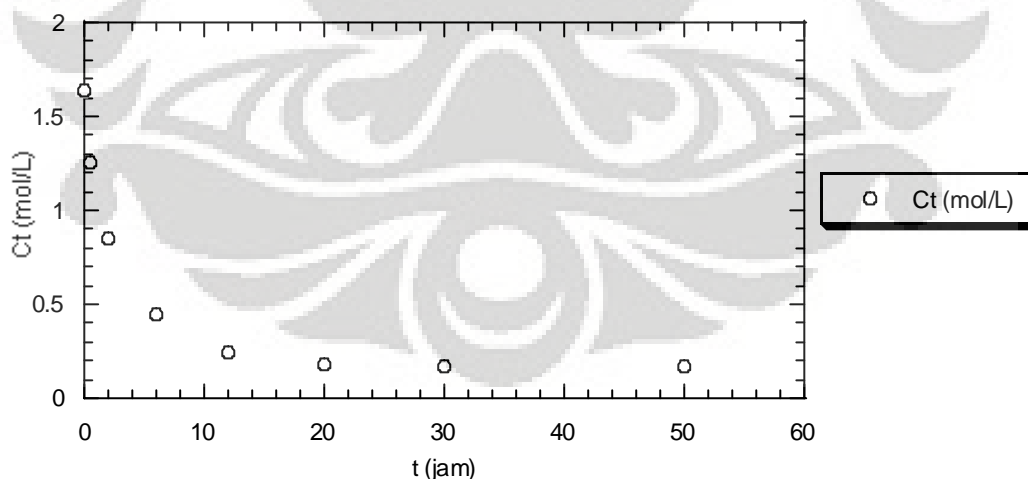
Pengaruh penambahan biokatalis dapat menyebabkan laju reaksi pembentukan produk akan semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi enzim. Dengan semakin besarnya laju pembentukan produk, maka konstanta laju reaksi pembentukan produk (k_p) mempunyai nilai yang lebih besar dari pada nilai reaksi baliknya (k_{-1}).

Dari tahapan ini terlihat bahwa peningkatan konsentrasi enzim secara umum berhasil meningkatkan konsentrasi biodiesel yang terbentuk. Hasil ini sesuai dengan prinsip reaksi enzimatik pada umumnya yaitu adanya pengaruh konsentrasi enzim (biokatalis) terhadap meningkatnya laju awal reaksi dalam pembentukan produk.

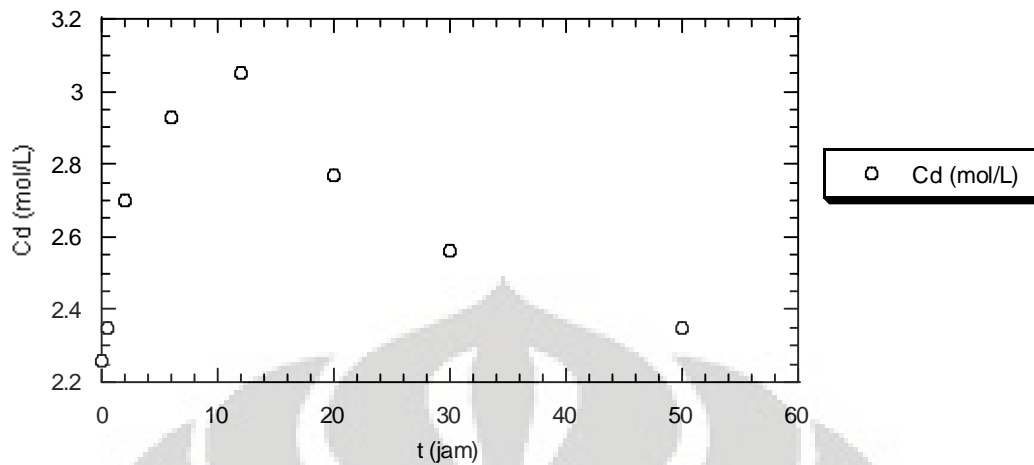
Jika dibandingkan dengan penggunaan lipase dalam bentuk tersuspensi sebagai biokatalis, maka konsentrasi biodiesel yang terbentuk menggunakan biokatalis metode adsorpsi mempunyai nilai yang lebih rendah. Dengan teknik immobilisasi ada enzim yang terbuang atau tidak terikat oleh penyangga selama proses immobilisasi. Hal ini juga terlihat pada percobaan yang dilakukan oleh peneliti dimana enzim tidak terikat sempurna pada zeolit.

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

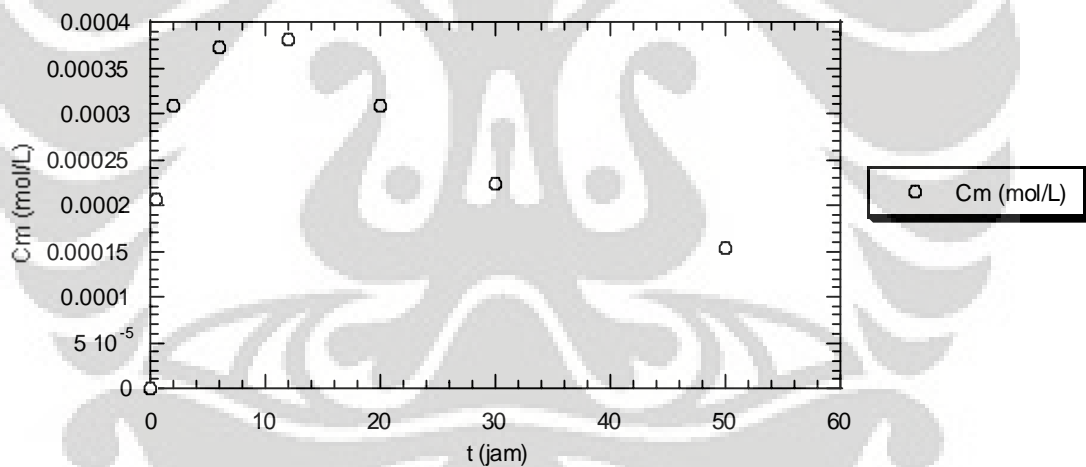
Untuk mengetahui laju pembentukan masing-masing komponen terhadap waktu maka dalam penelitian ini dilakukan variasi waktunya. Banyaknya jumlah konsentrasi biodiesel yang terbentuk dalam waktu tertentu dapat menunjukkan kinerja optimal dari enzim sebagai biokatalis. Berikut adalah hasilnya:



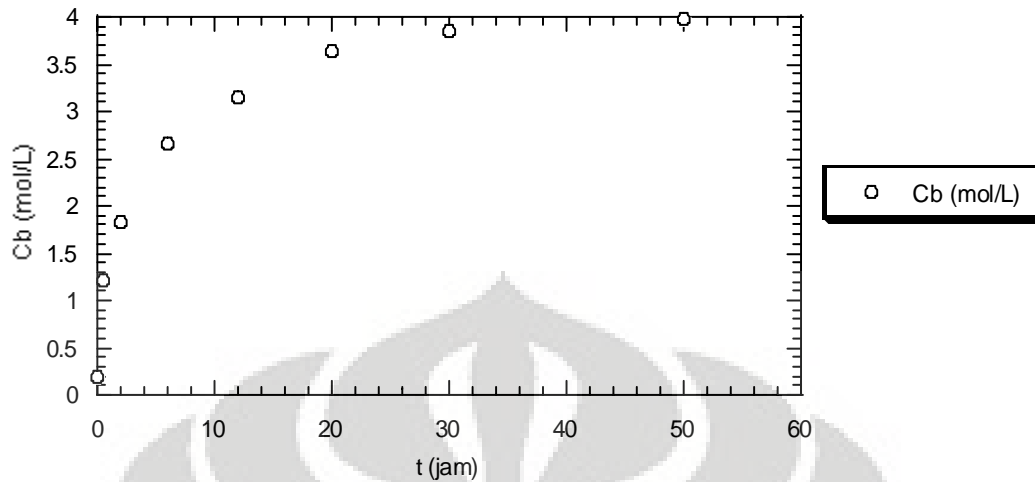
Gambar 4. 27 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi
(substrat : minyak sawit; t = 50 jam; T = 37⁰C; Rasio mol reaktan = 1:12;
Konsentrasi biokatalis = 4% wt)



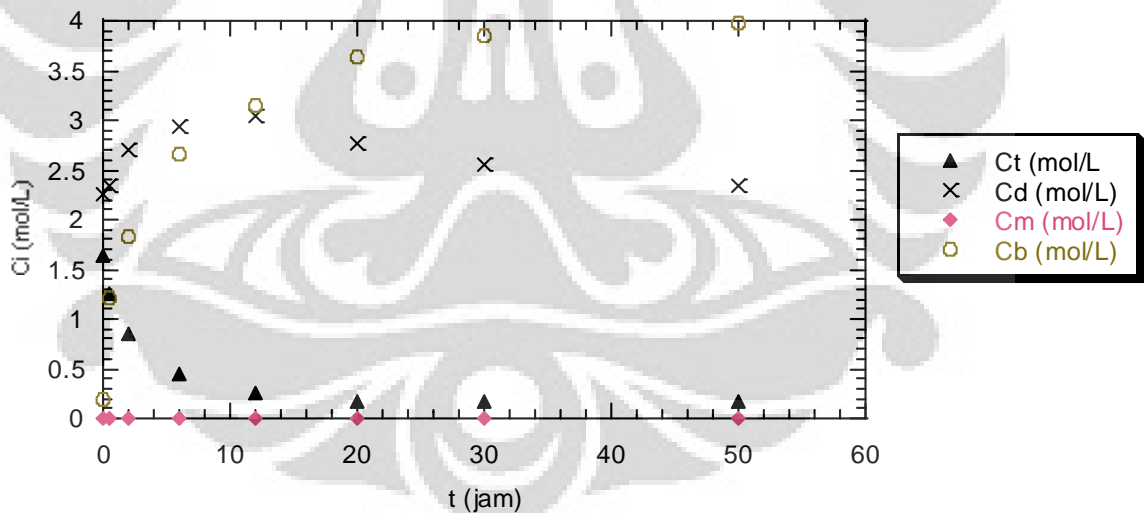
Gambar 4. 28 Laju reaksi dioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat: minyak sawit; t = 50 jam; T = 37°C; Rasio mol reaktan = 1:12; Konsentrasi biokatalis = 4% wt)



Gambar 4.29 Laju reaksi monooleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat: minyak sawit; t = 50 jam; T = 37°C; Rasio mol reaktan = 1:12; Konsentrasi biokatalis = 4% wt)



Gambar 4.30 Laju reaksi biodiesel (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substrat : minyak sawit; t = 50 jam; T = 37⁰C; Rasio mol reaktan = 1:12 Konsentrasi biokatalis = 4% wt }



Gambar 4.31 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (t = 50 jam; T = 37⁰C; Konsentrasi biokatalis = 4% wt; Rasio mol reaktan = 1:12)

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



trioleat menunjukkan adanya laju reaksi pembentukan produk selama reaksi. Hal ini terlihat dari profil konsentrasi biodiesel yang terus meningkat seiring meningkatnya waktu. Berdasarkan persamaan laju reaksi [2.24], dengan semakin lamanya waktu reaksi maka produk yang dihasilkan akan semakin besar. Dari kurva laju pembentukan biodiesel terlihat bahwa konsentrasi terbesar terbentuk saat $t = 50$ jam dengan nilai 3.98 mol/L. Jika dibandingkan dengan nilai konsentrasi biodiesel yang dihasilkan menggunakan *Candida rugosa* tersuspensi saat $t = 50$ jam, yaitu sebesar 4.25 mol/L maka nilai konsentrasi menggunakan lipase teradsorpsi ini lebih rendah.. Hal ini disebabkan oleh adanya sebagian *free* lipase yang tidak terikat secara sempurna pada zeolit. Selain itu pengaruh luas kontak biokatalis dipermukaan zeolit untuk mengikat substrat juga menjadi salah satu faktor lebih rendahnya konsentrasi biodiesel yang terbentuk dari immobilisasi metode adsorpsi.

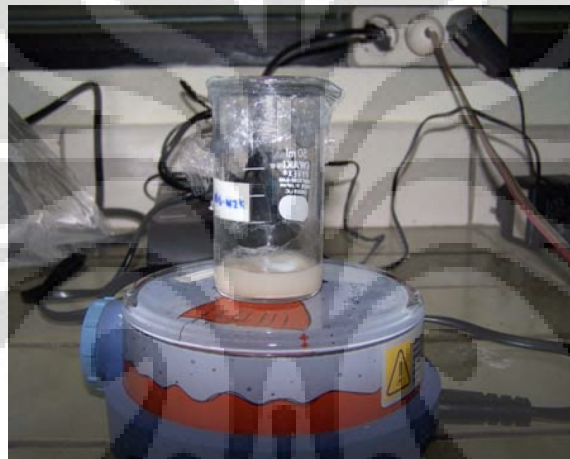
Jika dibandingkan dengan penelitian *Mamoru Iso et al* (2001) yang melakukan teknik immobilisasi yang sama yaitu menggunakan metode adsorpsi, maka penelitian ini diperkirakan mempunyai konversi trioleat yang lebih tinggi yaitu sebesar 89.79%, sedangkan dalam laporan *Mamoru iso et al* yang mereaksikan triolein dengan alkohol (perbandingan mol triolein : alkohol = 1:3) menggunakan *immobilized P. fluorescens* (0.1 gr *free lipase*) mampu mendapatkan konversi membentuk metil oleat mencapai 75%.

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

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



Gambar 4. 32 Zeolit Teraktivasi



Gambar 4. 33 Tahap Imobilisasi Lipase *Candida rugosa* powder pada zeolit



Gambar 4. 34 Tahap pemisahan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan lipase *Candida rugosa* powder dalam bentuk tersuspensi



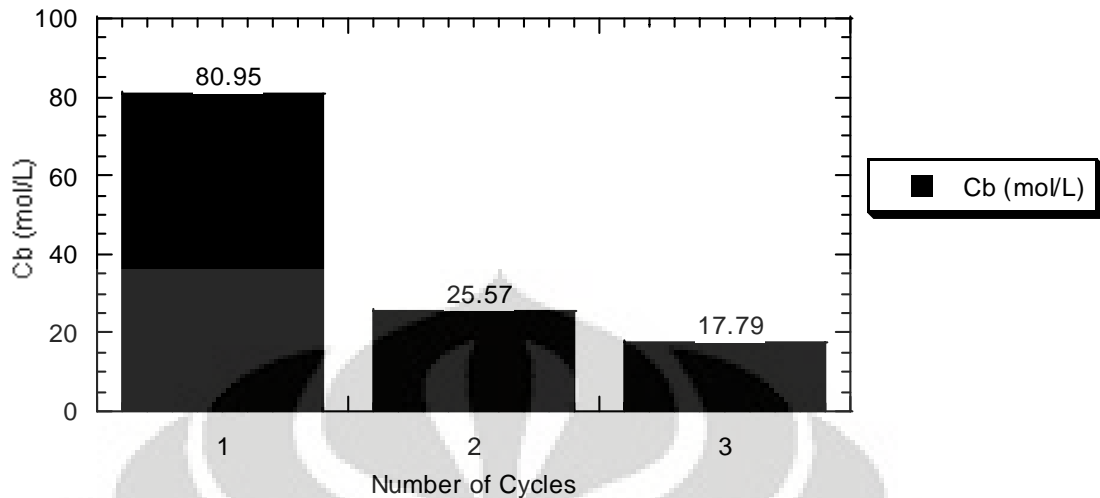
Gambar 4. 35 Pencampuran awal antara minyak sawit dan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi



Gambar 4. 36 Hasil reaksi interesterifikasi menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi

IV.3.1 Uji Stabilitas Menggunakan Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi

Dalam bagian ini dilakukan uji stabilitas terhadap lipase yang terimmobilisasi dengan metode adsorpsi. Uji stabilitas yang dimaksud dalam bagian ini adalah penggunaan enzim secara berulang dari reaksi sebelumnya Hal ini dilakukan untuk mengetahui kestabilan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi sebagai biokatalis dalam memproduksi biodiesel. Selain itu uji stabilitas juga dilakukan untuk melihat kemampuan metode adsorpsi dalam mengikat enzim. Berikut adalah hasilnya:



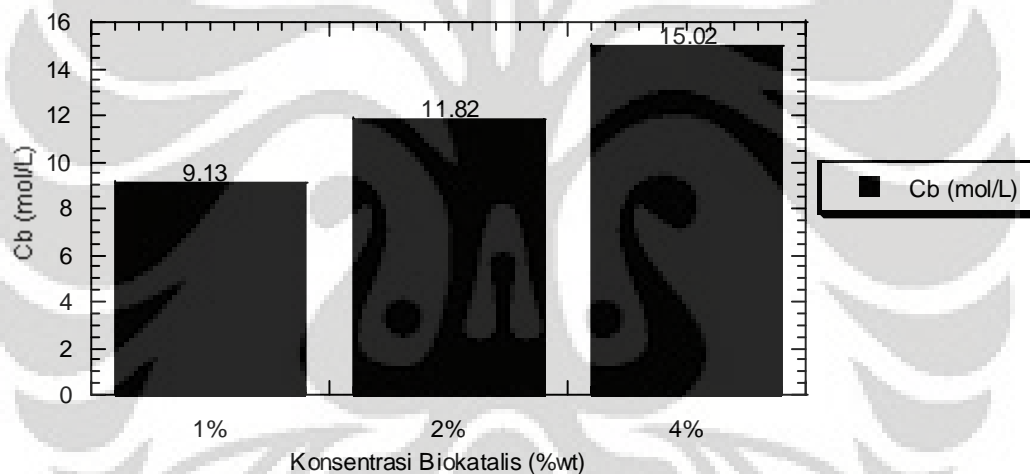
Gambar 4.37 Uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi setelah di-*recycle* 3 kali (substrat : minyak sawit; t = 50 jam; T = 37⁰C; Rasio mol reaktan = 1:12}

Dilihat dari gambar 4.37, maka terlihat bahwa konsentrasi biodiesel yang terbentuk mengalami penurunan setelah di *recycle* untuk ke dua dan ketiga kalinya. Penurunan konsentrasi biodiesel ini disebabkan oleh daya ikat support dalam mengikat enzim yang semakin melemah. Hal ini mengakibatkan ketidak-stabilan pada lipase dalam mengkatalisis reaksi. Indikasi lain yang terjadi adalah berkurangnya aktifitas enzim akibat sudah jenuhnya enzim dalam mengikat substrat sehingga daerah aktif enzim berkurang.

Penggunaan lipase untuk pertama kalinya dapat menghasilkan konsentrasi biodiesel sebesar 3.98 mol/L. Terjadi penurunan yang cukup signifikan setelah direcycle untuk ke-dua kalinya, nilai konsentrasinya menjadi 1.26 mol/L, Kemudian kembali turun saat di recycle untuk ketiga kalinya, nilai konsentrasinya menjadi 0.87 mol.l. Penurunan konsentrasi biodiesel bisa disebabkan oleh larutnya zeolit ketika akan digunakan untuk kedua dan ketiga kalinya. Penurunan aktivitas enzim juga dilaporkan oleh Mamoru iso et al yang menggunakan teknik immobilisasi metode adsorpsi. Dalam laporannya enzim mengalami penurunan aktivitas sebanyak 2/3 dari aktivitas awalnya selama 1 jam. Penurunan aktivitas ini dilihat dari semakin turunnya konversi propil-oleat setelah satu jam. Setelah melakukan 1 kali diulang % konversinya hanya mencapai 80% dari awalnya mencapai 95% konversi ke propil-oleat.

IV.4 Hasil Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan *Candida Antartica* Lipase yang Terimmobilisasi dalam *Acrylic Resin* Menggunakan Metode Sol-Gel (Novozym 435).

Dalam bagian ini uji aktivitas yang dilakukan adalah menggunakan Novozym 435. Novozym 435 merupakan jenis enzim lipase *Candida antartica* yang sudah terimmobilisasi pada *acrylic resin*. Tujuan dari percobaan dalam bagian ini adalah untuk mengetahui aktivitas dari Novozym 435 sebagai biokatalis dalam memproduksi biodiesel. Hasil akhir yang didapat adalah % yield biodiesel. Hasil yang diperoleh ini nantinya akan dibandingkan dengan % yield biodiesel yang dihasilkan dari metode immobilisasi metode adsorpsi dan *free* enzim. Substrat yang digunakan dalam percobaan kali ini adalah minyak jelantah. Berikut adalah hasilnya:



Gambar 4. 38 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel yang dihasilkan menggunakan Novozym 435

(Substrat: minyak jelantah; Rasio mol reaktan = 1:12; t = 50 jam; T = 37°C)

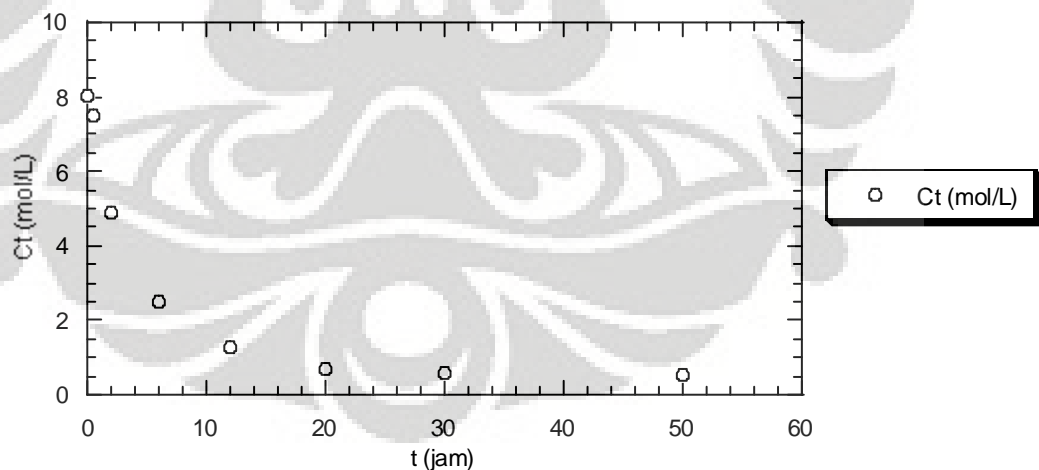
Adanya pengaruh penambahan jumlah produk yang dihasilkan seiring bertambahnya konsentrasi enzim terlihat pada gambar 4.38. Dari data yang didapat konsentrasi biodiesel tertinggi yang terbentuk adalah saat konsentrasi biokatalis = 4% wt, yaitu nilai konsentrasinya sebesar = 15.02 mol/L. Hal ini sesuai dengan persamaan reaksi enzimatik yang dijelaskan oleh Michaelis-Menten dimana produk yang dihasilkan akan semakin besar dengan bertambahnya jumlah konsentrasi



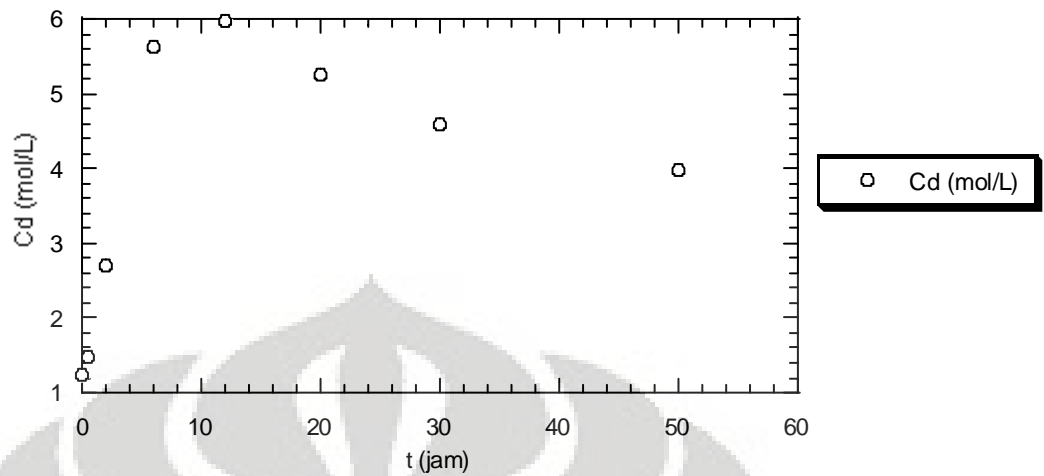
biokatalis (enzim) yang digunakan. Indikasi lain adalah peningkatan laju reaksi pembentukan produk akan terus meningkat seiring bertambahnya konsentrasi enzim.

Hasil ini jika dibandingkan dengan konsentrasi biodiesel yang terbentuk menggunakan *Candida rugosa* dalam bentuk suspensi, maka nilai konsentrasi biodiesel menggunakan Novozym 435 mempunyai nilai yang lebih tinggi. Berbeda jika yang dibandingkan adalah % yield biodiesel yang terbentuk. Untuk % yield biodiesel yang dihasilkan menggunakan biokatalis Novozym 435 (saat rasio mol reaktan 1:12 dan konsentrasi biokatalis = 4% wt) maka nilai % yield biodiesel yang dihasilkan mempunyai nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan biokatalis *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi. Lebih rendahnya % yield biodiesel yang dihasilkan menggunakan Novozym 435 disebabkan oleh adanya pengaruh penggunaan substrat yang berbeda. Untuk reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan Novozym 435 substrat yang digunakan adalah minyak jelantah, sedangkan untuk reaksi yang menggunakan *Candida rugosa* lipase, substrat yang digunakan adalah minyak sawit.

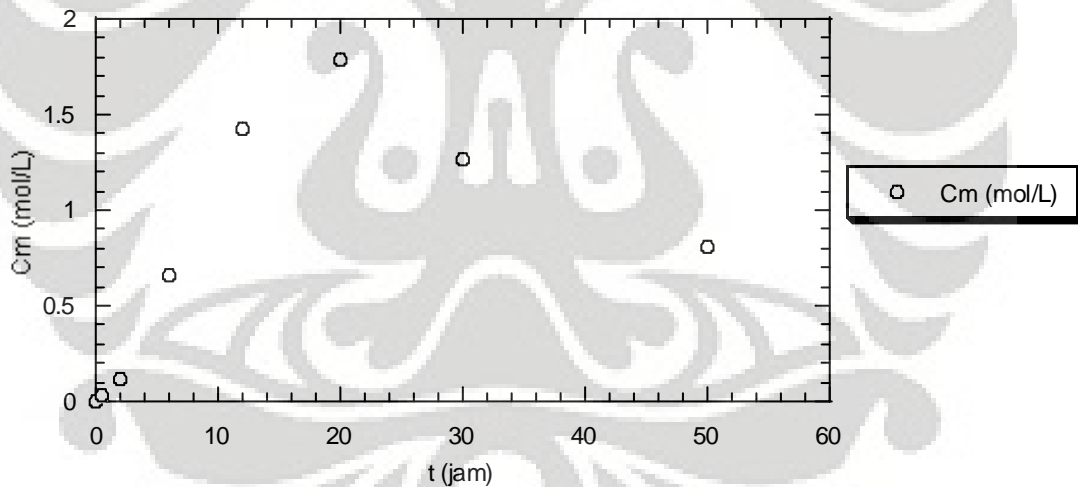
Untuk mengetahui laju pembentukan masing-masing komponen terhadap waktu, berikut adalah hasilnya:



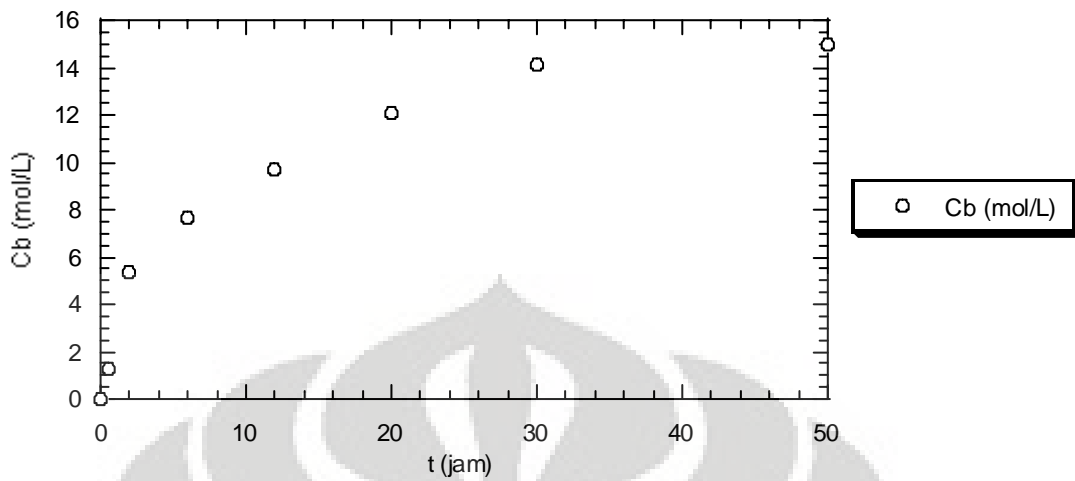
Gambar 4. 39 Laju reaksi trioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Novozym 435 (Substrat : minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37⁰C; Rasio mol reaktan = 1:12; Konsentrasi biokatalis = 4% wt)



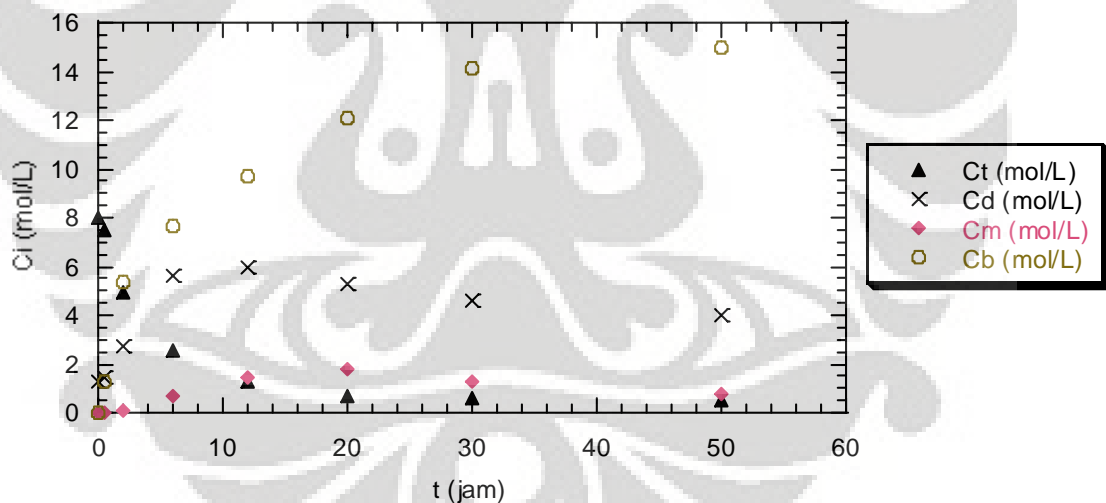
Gambar 4. 40 Laju reaksi dioleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Novozym 435 (Substrat : minyak jelantah; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$; Rasio mol reaktan = 1:12; Konsentrasi biokatalis = 4% wt)



Gambar 4. 41 Laju reaksi monooleat (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Novozym 435 (Substrat : minyak jelantah; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$; Rasio mol reaktan = 1:12; Konsentrasi biokatalis = 4% wt)



Gambar 4.42 Laju reaksi Biodiesel (mol/L) dalam variasi waktu menggunakan Novozym 435 (Substrat : minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37⁰C; Rasio mol reaktan = 1:12; Konsentrasi biokatalis = 4% wt)



Gambar 4.43 Laju konsentrasi masing-masing komponen (mol/L) dalam reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi pada *acrylic resin* dalam bentuk sol-gel (Novozym 435) (Substrat = minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37⁰C; Konsentrasi biokatalis = 4% wt; Rasio mol reaktan = 1:12)

Berdasarkan persamaan [2.20] maka kurva yang terbentuk pada gambar 4.42 mengikuti aturan persamaan tersebut. Produk yang dihasilkan akan semakin besar



seiring bertambahnya waktu. Dari kurva diatas terlihat bahwa peningkatan laju pembentukan produk berlangsung sangat cepat di menit-menit awal reaksi. Hal ini mengindikasikan bahwa di menit-menit awal akan terjadi peningkatan laju produk yang sangat signifikan. Dimenit-menit awal reaksi laju pembentukan produk mengikuti persamaan laju reaksi orde satu, setelah $t > 30$ jam laju pembentukan produk mengikuti laju reaksi orde nol. Kurva yang terbentuk seperti inilah yang pada umumnya terjadi pada reaksi enzimatik.

Dari profil konsentrasi biodiesel yang terbentuk dapat dilihat bahwa konsentrasi terbesar terjadi saat $t = 50$ jam dengan nilai konsentrasi sebesar 15.02 mol/L. Saat inilah peningkatan produk dipastikan tidak terlalu tinggi karena adanya keterbatasan aktivitas enzim dalam mengkatalisis reaksi. Ketika kurva sudah mengikuti orde nol maka kecepatan reaksi sudah mencapai kecepatannya maksimum sehingga peningkatan laju pembentukan produk tidak akan berlangsung signifikan.

Jika dibandingkan % yield biodiesel yang dihasilkan saat $t = 50$ jam maka biokatalis dari Novozym 435 memiliki % yield yang lebih rendah dibandingkan dengan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi.. Dilihat dari konversi yang dihasilkan maka Novozym 435 mampu mengkonversi trioleat sebesar 93.24%. Nilai konversi ini lebih besar dari pada biokatalis *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi yang hanya mencapai 86.55%. Besarnya nilai konversi pada biokatalis Novozym 435 menyebabkan % yield dioleat yang dihasilkan, yaitu sebesar 33.22%, lebih besar daripada % yield dioleat dari biokatalis *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi, yaitu sebesar 23.89%. Hal inilah yang menyebabkan nilai % yield biodiesel dari Novozym 435 lebih rendah daripada % yield biodiesel yang dihasilkan dari *Candida rugosa* dalam bentuk suspensi.

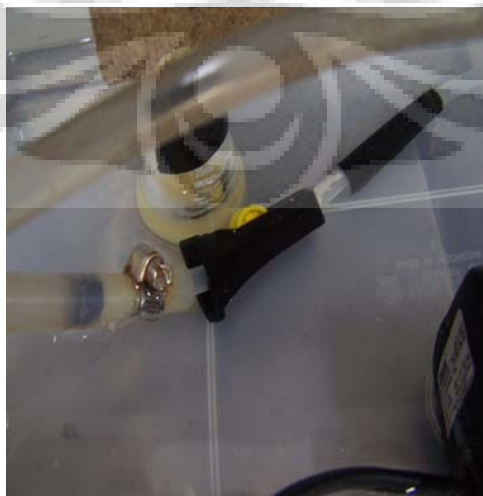
Hal ini bisa disebabkan oleh adanya pengaruh luas kontak permukaan enzim dengan substrat. Lipase yang terimobilisasi seharusnya mempunyai kontak luas permukaan yang lebih kecil daripada *free* enzim (lipase dalam bentuk tersuspensi). Salah satu faktor inilah yang menyebabkan kemampuan enzim sebagai biokatalis menjadi berkurang. Pengaruh lainnya adalah adanya perbedaan substrat yang digunakan. Ada kemungkinan substrat minyak jelantah yang digunakan masih mengandung pengotor sehingga menurunkan aktivitas dari enzim dan enzim tidak dapat bekerja secara maksimal.



Hasil ini jika dibandingkan dengan percobaan yang dilakukan oleh *We Du et al* pada tahun 2004, maka dilihat dari % yield biodiesel yang dihasilkannya penelitian ini menghasilkan % yield biodiesel yang lebih rendah dibandingkan dengan peneliti sebelumnya. *We Du et al* dalam penelitiannya melaporkan bahwa % yield metil ester yang dihasilkan mencapai nilai 92% ($T = 40^{\circ}\text{C}$; rasio mol minyak kedelai: metil asetat = 1:12 ; konsentrasi Novozym 435 = 30% wt) dalam waktu 14 jam. Namun jika dibandingkan dengan hasil penelitian *Yuji Shimada et al* (2001) dalam laporannya yang mereaksikan campuran minyak sayur dengan methanol (rasio mol minyak : methanol = 1:3) menggunakan Novozym 435 konsentrasi 4% wt, mampu menghasilkan konversi metil ester mencapai 97.3% dalam waktu 48 jam. Dalam penelitian ini dengan substrat minyak jelantah menggunakan Novozym 435 konsentrasi 4 % wt, konversi dari trioleat yang dihasilkan hanya mencapai 93.24 %.



Gambar 4. 44 Pencampuran antara Novozym 435 dengan Minyak Jelantah saat $t = 0$ jam



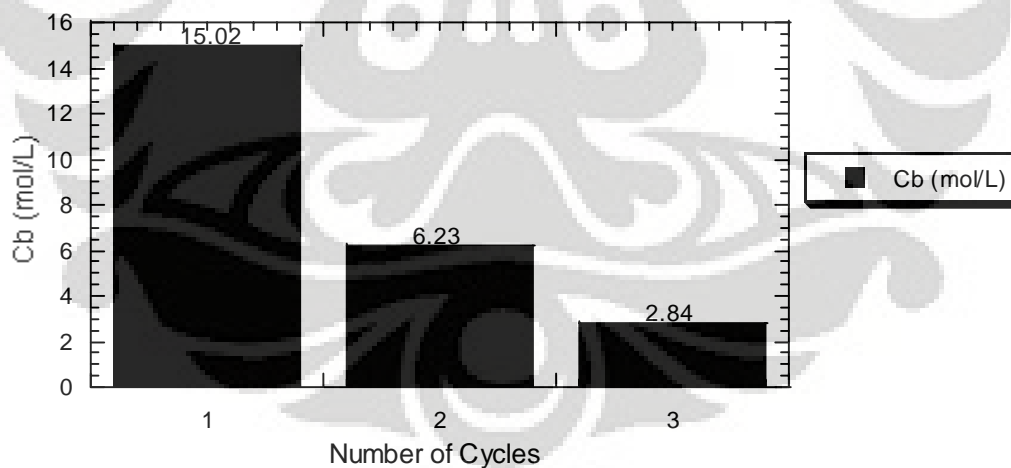
Gambar 4. 45 Tahap sintesis Biodiesel Menggunakan Biokatalis Novozym 435



Gambar 4. 46 Hasil reaksi antara Novozym 435 dan Minyak Jelantah saat $t = 50$ jam

IV.4.1 Uji Stabilitas Novozym 435

Dalam bagian ini dilakukan uji stabilitas terhadap *immobilized lipase Novozym 435*. Uji stabilitas yang dimaksud dalam bagian ini adalah penggunaan enzim secara berulang dari reaksi sebelumnya. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kestabilan *immobilized lipase Novozym 435* sebagai biokatalis dalam memproduksi biodiesel menggunakan metil asetat. Berikut adalah hasilnya:



Gambar 4. 47 Uji stabilitas Novozym 435 setelah direcycle sebanyak 3 kali

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

Dilihat dari gambar 4.47, maka terlihat bahwa konsentrasi biodiesel yang dihasilkan mengalami penurunan setelah di *recycle* untuk ke dua dan ketiga kalinya. Penurunan konsentrasi biodiesel ini disebabkan oleh daya ikat support dalam mengikat enzim yang semakin melemah. Hal ini mengakibatkan ketidak-stabilan



pada enzim dalam mengkatalisis reaksi. Indikasi lain yang terjadi adalah berkurangnya aktifitas enzim akibat sudah jenuhnya enzim dalam mengikat substrat sehingga daerah aktif enzim berkurang.

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

IV.5 Hasil Fitting Kurva Mekanisme Reaksi Michaelis-Menten

Fitting kurva dilakukan guna mengestimasi nilai parameter – parameter yang tak diketahui pada persamaan model. Pada mekanisme reaksi michaelis-menten, parameter tersebut adalah konsentrasi awal trigliserida (mol/L), konsentrasi biodiesel yang terbentuk (mol/L), dan waktu reaksi. Hasil plot antara data hasil eksperimen dengan data yang diperoleh lewat pemodelan diberikan pada gambar – gambar di bawah yang secara berurutan menunjukkan hasil pemodelan pada data hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan biokatalis *Candida rugosa powder* dalam bentuk tersuspensi, hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi, dan hasil reaksi sintesis sintesis biodiesel menggunakan *Novozym 435*. Data yang diperoleh melalui fitting kurva adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi

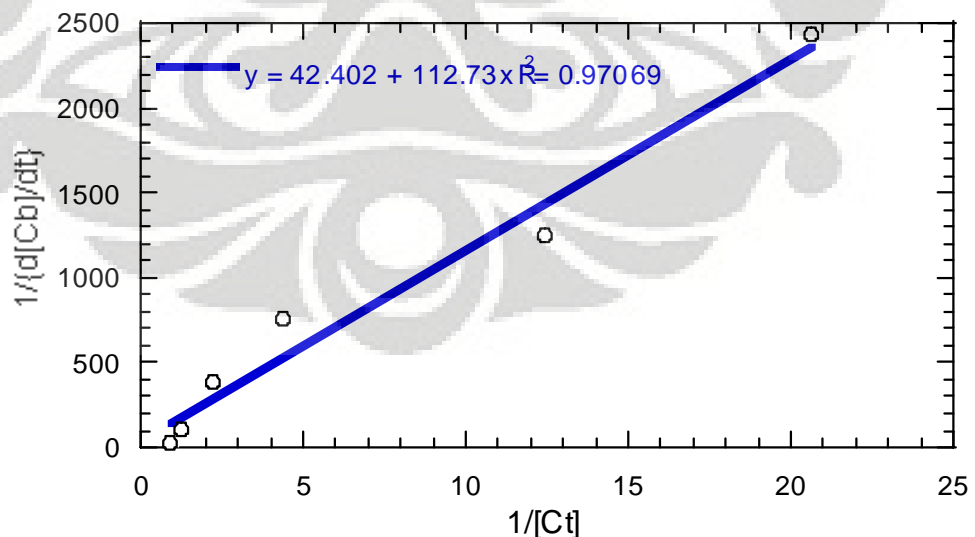
t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)
		T		D		M		F
0	3296360	1.6376	258945	0.2715	9440	0.0002	122807	0.0593
0.5	2280168	1.1328	328602	0.3446	55055	0.0010	2902976	1.4012



2	159150 7	0.7906	409643	0.4295	70688	0.0013	465008 6	2.2445
6	912959	0.4535	605740	0.6352	100252 9	0.0180	592032 7	2.8576
12	460020	0.2285	721998	0.7571	237066 2	0.0425	690512 3	3.3330
20	162006	0.0805	758472	0.7953	247519 8	0.0444	770006 8	3.7167
30	97507	0.0484	690341	0.7239	190548 8	0.0342	821004 0	3.9628
50	85118	0.0423	559700	0.5869	140339 7	0.0252	880925 3	4.2521

Tabel 4.2 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi

Waktu reaksi (jam)	Ct (mol/L)	Cb (mol/L)	Waktu reaksi (min)	d[Cb] (mol/L)	dt (menit)	d[Cb]/dt	Y = 1/{d[Cb]/dt}	X = 1/[Ct]
0	1.6376	0.0593	0					
0.5	1.1328	1.4012	30	1.3419	30	0.0447	22.3557	0.8828
2	0.7906	2.2445	120	0.8433	90	0.0094	106.7235	1.2648
6	0.4535	2.8576	360	0.6131	240	0.0026	391.4379	2.2049
12	0.2285	3.3330	720	0.4753	360	0.0013	757.3454	4.3758
20	0.0805	3.7167	1200	0.3837	480	0.0008	1250.9556	12.4251
30	0.0484	3.9628	1800	0.2462	600	0.0004	2437.4890	20.6441
50	0.0423	4.2521	3000	0.2892	1200	0.0002	4148.9458	23.6488



Gambar 4.48 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi (substansi = minyak sawit; t = 50 jam; T = 37°C; Rasio mol reaktan = 1:12).



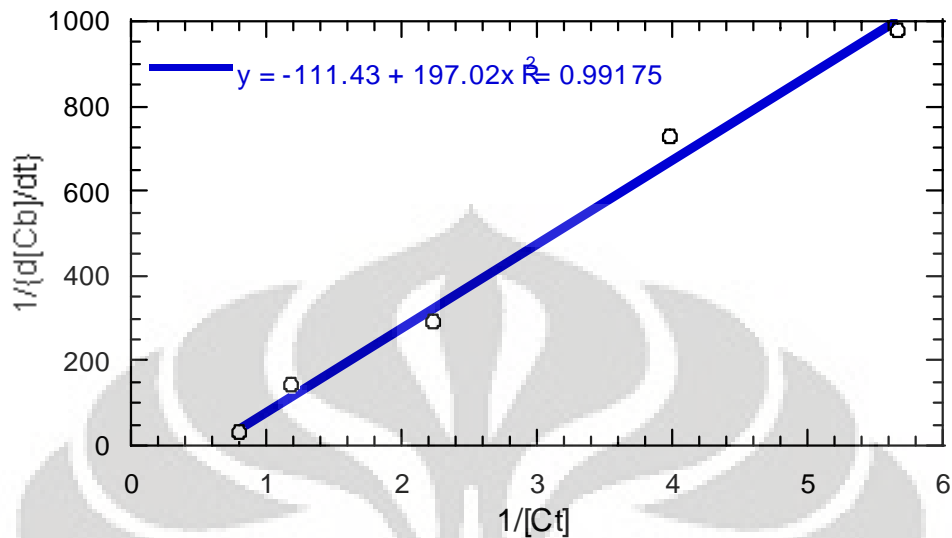


Tabel 4.3 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)
		T		D		M		F
0	3296360	1.638	2158945	2.264	9440	0.00017	422807	0.204
0.5	2533593	1.259	2243154	2.352	11521	0.00021	2525460	1.219
2	1706987	0.848	2572091	2.697	17271	0.00031	3810732	1.839
6	901000	0.448	2792035	2.928	20789	0.00037	5502040	2.656
12	504403	0.251	2912799	3.054	21295	0.00038	6528496	3.151
20	354978	0.176	2643821	2.772	17216	0.00031	7542898	3.641
30	343613	0.171	2440670	2.559	12471	0.00022	7974087	3.849
50	336418	0.167	2236858	2.346	8515	0.00015	8239041	3.977

Tabel 5. 1 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi

Waktu reaksi (jam)	Ct (mol/L)	Cb (mol/L)	Waktu reaksi (min)	d[Cb] (mol/L)	dt (menit)	d[Cb]/dt	Y = 1/{d[Cb]/dt}	X = 1/[Ct]
0	1.638	0.204	0					
0.5	1.259	1.219	30	1.015	30	0.0338	29.559	0.795
2	0.848	1.839	120	0.620	90	0.0069	145.073	1.179
6	0.448	2.656	360	0.816	240	0.0034	293.986	2.234
12	0.251	3.151	720	0.495	360	0.0014	726.608	3.991
20	0.176	3.641	1200	0.490	480	0.0010	980.322	5.671
30	0.171	3.849	1800	0.208	600	0.0003	2882.845	5.858
50	0.167	3.977	3000	0.128	1200	0.0001	9383.147	5.983



Gambar 4.49 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substansi = minyak sawit; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$; Rasio mol reaktan = 1:12).

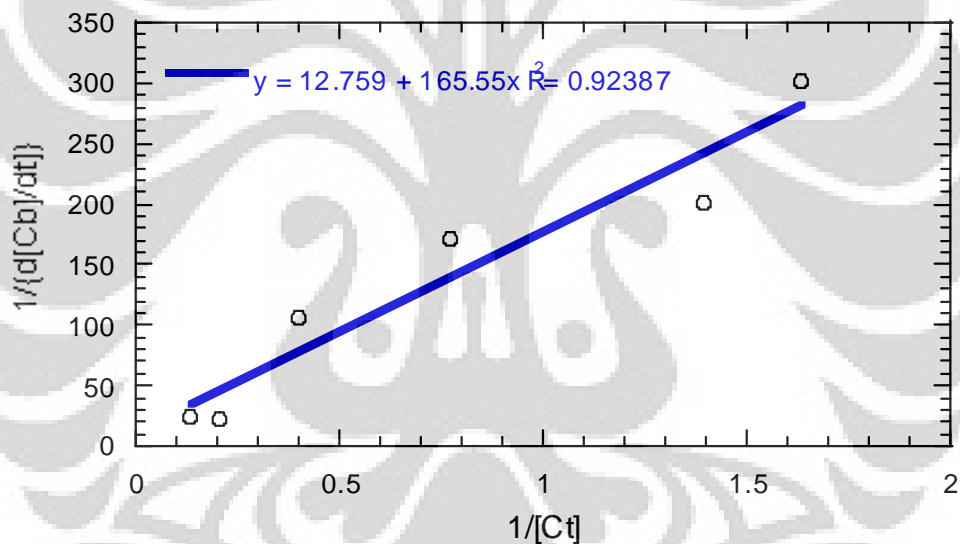
Tabel 5.2 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Novozym 435.

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)
		T		D		M		F
0	16118573	8.01	1188750	1.25	80776	0.00	55649	0.03
0.5	15114535	7.51	1397196	1.47	1814033	0.03	2608927	1.26
2	9880365	4.91	2583666	2.71	6528049	0.12	11155141	5.38
6	5063364	2.52	5361685	5.62	37000245	0.66	15811294	7.63
12	2612512	1.30	5699431	5.98	80046659	1.43	20186350	9.74
20	1443194	0.72	5011215	5.25	100110591	1.79	25111271	12.12
30	1233706	0.61	4373396	4.59	70599024	1.27	29235883	14.11
50	1090288	0.54	3805581	3.99	45353687	0.81	31111904	15.02



Tabel 5. 3 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis Novozym 435

Waktu reaksi (jam)	Ct (mol/L)	Cb (mol/L)	Waktu reaksi (min)	d[Cb] (mol/L)	dt (menit)	d[Cb]/dt	Y = 1/{d[Cb]/dt}	X = 1/[Ct]
0	8.01	0.03	0					
0.5	7.51	1.26	30	1.232	30	0.0411	24.342	0.133
2	4.91	5.38	120	4.125	90	0.0458	21.818	0.204
6	2.52	7.63	360	2.247	240	0.0094	106.788	0.398
12	1.30	9.74	720	2.112	360	0.0059	170.473	0.771
20	0.72	12.12	1200	2.377	480	0.0050	201.920	1.395
30	0.61	14.11	1800	1.991	600	0.0033	301.374	1.632
50	0.54	15.02	3000	0.906	1200	0.0008	1325.200	1.846



Gambar 4.50 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Novozym 435.
(substansi = minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37°C; Rasio mol reaktan = 1:12)

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



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

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

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

$$y = a + b x \quad [2.45]$$

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

Biokatalis	Persamaan garis	a (interse p)	b (slope)	V_{\max}	K_M
Candida rugosa dalam bentuk tersuspensi	$y = 112.73x + 42.402$	42.402	112.73	0.023584	2.658601
Lipase terimmobilisasi Metode adsorpsi	$y = 197.02x - 111.43$	-111.43	197.02	-0.00897	-1.7681
Novozym 435	$y = 165.55x + 12.759$	12.759	165.55	0.078376	12.97515

Dari tabel 4.1 terlihat bahwa nilai V_{\max} terbesar terdapat pada reaksi sintesis biodiesel menggunakan biokatalis Novozym 435 dengan nilai $V_{\max} = 0.078$. Nilai V_{\max} yang didapat menunjukkan nilai kecepatan maksimal yang dicapai dari reaksi sintesis biodiesel selama rentang waktu 50 jam. Hal ini mengindikasikan kemampuan *Novozym 435* sebagai biokatalis mempunyai aktivitas yang lebih baik dari pada *Candida rugosa powder* dalam sistem tersuspensi dan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi. Sedangkan nilai K_m terbesar juga terdapat pada reaksi sintesis biodiesel yang menggunakan biokatalis Novozym 435 dengan nilai K_m sebesar 12.975. Ketika dilakukan penambahan substrat sesudah melewati nilai K_m tersebut maka hampir dipastikan kecepatan awal reaksi tidak akan meningkat secara signifikan dengan bertambahnya substrat.

Dari hasil pemodelan reaksi enzimatik menggunakan mekanisme reaksi Michaelis-Menten didapat nilai V_{\max} dari reaksi sintesis biodiesel menggunakan *Candida rugosa powder* dalam sistem tersuspensi mempunyai nilai V_{\max} yang lebih



besar daripada lipase terimmobilisasi metode adsorpsi, dengan nilai $V_{\max} = 0.0236$. Hasil ini dapat memberikan petunjuk bahwa kemampuan aktivitas dari *Candida rugosa* dalam sistem tersuspensi lebih baik daripada biokatalis lipase metode adsorpsi.

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

Untuk kelemahan dari metode linierisasi ini adalah mekanisme reaksi enzimatik oleh Michaelis-Menten terlalu sederhana untuk menjelaskan reaksi enzimatik terhadap reaksi pembentukan biodiesel yang berlangsung secara bertahap dan pada umumnya menghasilkan produk samping. Selain itu, adanya faktor inhibisi yang tidak digunakan dalam mekanisme reaksi Michaelis-Menten tersebut.



BAB V

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah

1. Untuk percobaan sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan biokatalis yang didapat saat $t = 50$ jam dengan konsentrasi biokatalis 4% wt, (rasio mol minyak : metil asetat = 1:12.) hasilnya adalah sebagai berikut:

Substrat	Biokatalis	Cb (mol/L)	% Yield Biodiesel	% Konversi Trioleat
Minyak Sawit	<i>Candida rugosa</i> lipase dalam bentuk tersuspensi	4.25	86.55 %	86.55 %
Minyak Sawit	lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	3.98	80.95 %	89.79 %
Minyak Jelantah	<i>Candida antarctica</i> lipase yang terimmobilisasi pada <i>acrylic resin</i> dalam bentuk sol-gel (Novozym 435)	15.02	62.51 %	93.24 %

2. Untuk percobaan sintesis biodiesel melalui rute alkohol menggunakan katalis NaOH (rasio mol minyak : methanol = 1:6 ; $t = 1$ jam; $T = 60^{\circ}\text{C}$), didapat hasil sebagai berikut:

Substrat	Katalis	Cb (mol/L)	% Yield Biodiesel	% Konversi Trioleat
Minyak sawit	NaOH	30.34	111.12%	99.89%
Minyak jelantah	NaOH	29.94	106.28%	95.51%

3. Untuk percobaan sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan katalis NaOH (rasio mol minyak : methanol = 1:6 ; $t = 1$ jam; $T = 60^{\circ}\text{C}$), didapat hasil sebagai berikut:

Substrat	Katalis	Cb (mol/L)	% Yield Biodiesel	% Konversi Trioleat
Minyak sawit	NaOH	0.24	0.88 %	1.7 %
Minyak jelantah	NaOH	0.07	0.26 %	4.37 %



4. Pengaruh biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel yang terbentuk melalui rute non alkohol menggunakan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi dengan substrat minyak sawit ($t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$) adalah sebagai berikut:

Konsentrasi Biokatalis (%wt)	Rasio mol reaktan = 1:3			Rasio mol reaktan = 1:12		
	Cb (mol/L)	% Yield biodiesel	% Konversi trioleat	Cb (mol/L)	% Yield biodiesel	% Konversi trioleat
1%	0.78	15.96 %	12.66	1.25	25.44	23.99
2%	1.24	25.17 %	21.17	1.38	28.11	45.20
4%	1.78	36.26 %	38.78	4.25	86.55	97.42

5. Pengaruh biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel yang terbentuk melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan substrat minyak sawit ($t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$) adalah sebagai berikut:

Konsentrasi Biokatalis (%wt)	Rasio mol reaktan = 1:3			Rasio mol reaktan = 1:12		
	Cb (mol/L)	% Yield biodiesel	% Konversi trioleat	Cb (mol/L)	% Yield biodiesel	% Konversi trioleat
1%	0.36	7.38 %	7.33 %	0.66	13.33	15.06
2%	0.79	16.07 %	11.77 %	1.24	25.25	18.24
4%	1.21	24.66 %	18.33 %	3.98	80.95	89.79



6. Uji stabilitas untuk lipase terimmobilisasi dari sintesis biodiesel melalui rute non alkohol dengan hasil sebagai berikut:

Number of Cycles	Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi			Candida antartica lipase yang terimmobilisasi pada acrylic resin dalam bentuk sol-gel (Novozym 435)		
	Cb (mol/L)	% Yield biodiesel	% Konversi trioleat	Cb (mol/L)	% Yield biodiesel	% Konversi trioleat
1	3.98	80.95	89.79	15.02	62.51	93.24
2	1.26	25.75	15.06	6.23	25.95	33.61
3	0.87	17.79	5.12	2.84	11.82	13.05

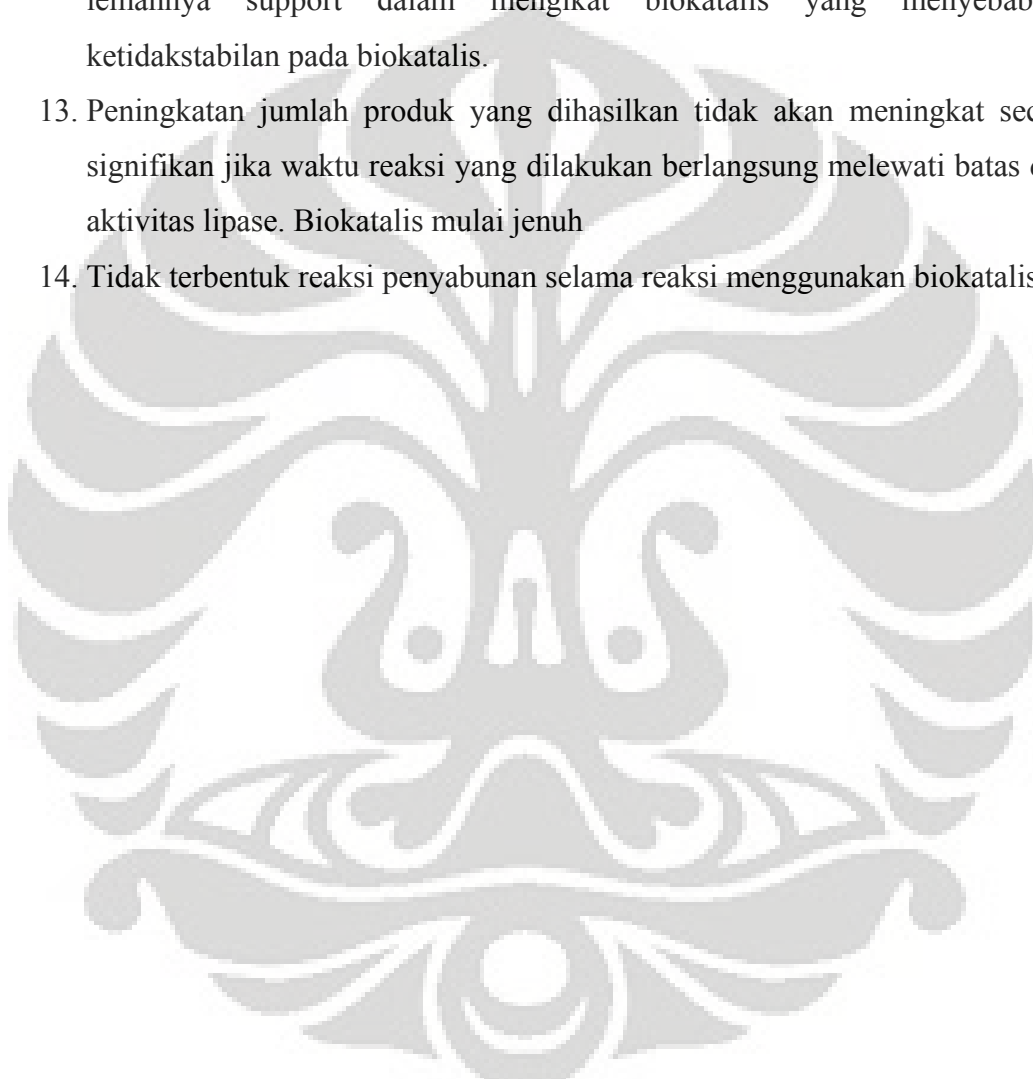
7. Pemodelan terhadap hasil penelitian menggunakan persamaan reaksi enzimatik Michaelis-Menten dengan metode linierisasi, hasilnya adalah sebagai berikut:

Biokatalis	K_M	V_{Max}
Candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi	0.023584	2.658601
Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	-0.00897	-1.7681
Candida antartica lipase yang terimmobilisasi pada acrylic resin dalam bentuk sol-gel (Novozym 435)	0.078376	12.97515

8. Peningkatan jumlah konsentrasi biokatalis berpengaruh terhadap peningkatan konsentrasi biodiesel yang dihasilkan. Sehingga semakin besar jumlah biokatalis yang digunakan maka produk (biodiesel) yang dihasilkan akan semakin besar



9. Laju awal reaksi secara enzimatik dipengaruhi oleh peningkatan jumlah konsentrasi biokatalis
10. Semakin lama waktu reaksi maka laju pembentukan ke arah produk yang dihasilkan akan semakin besar
11. Enzim akan terdeaktivasi setelah penggunaannya dilakukan secara berulang
12. Adanya pengurangan aktivitas lipase yang terjadi disebabkan oleh semakin lemahnya support dalam mengikat biokatalis yang menyebabkan ketidakstabilan pada biokatalis.
13. Peningkatan jumlah produk yang dihasilkan tidak akan meningkat secara signifikan jika waktu reaksi yang dilakukan berlangsung melewati batas dari aktivitas lipase. Biokatalis mulai jenuh
14. Tidak terbentuk reaksi penyabunan selama reaksi menggunakan biokatalis



**DAFTAR PUSTAKA**

- [1]. Soerawidjaja, Tatang H. 2005 “*Membangun Industri Biodiesel Di Indonesia, beberapa skenario dan persoalan pengembangan yang perlu dicermati*”. Bandung: 16 Desember 2005.
- [2]. Suryana, A., *et al*, 2005, *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Kelapa Sawit di Indonesia*, Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian Republik Indonesia.
- [3]. Shintawaty, Amalia. 2006. *Prospek Pengembangan Biodiesel Dan Bioetanol Sebagai Bahan Bakar Alternatif di Indonesia*. Jakarta : Economic Review.
- [4]. Permadi, Adi. “*Pemilihan katalis untuk reaksi transesterifikasi*” Artikel dari <http://www.blog.lipi.go.id/index.php>. Diakses tanggal 28 maret 2007
- [5]. Hendartono, Tomi. 2005. *Pemanfaatan Minyak Dari Tumbuhan Untuk Pembuatan Biodiesel*. Diakses Tanggal: 28 maret 2007
- [6]. Tambun, Rondang, ST. 2002. *Proses Pembuatan Asam Lemak Secara Langsung Dari Buah Kelapa Sawit*. Sumatera: USU digital library
- [7]. Schuchardt, Ulf dan Sercheli Ricardo, “*Transesterification of Vegetable Oil: a Review*”, J. Braz. Chem Sec. Vol. 9. (1998)
- [8]. Srivastava, Anjana dan Prasad Ram, “*Triglycerides-Based Diesel Fuels*”, PERGAMON (1999)
- [9]. Ma, Fangrui dan Milford A. Hanna, “*Biodiesel Production: a Review*”, ELSEVIER (1999)
- [10]. Supranto, “*Pengaruh Suhu dan Perbandingan Reaksi pada Pembuatan Metil Ester Biodiesel dari Destilat Asam Lemak Minyak Sawit*”, Pusat Studi Energi Universitas Gadjah Mada. (2002)
- [11]. Fukuda, H, Kondo A, and Noda H., “*Biodiesel fuel production by transesterification of oils*”. J. Biosci. Bioeng., 2001, 92:405–416.
- [12]. Shimada, Y., Watanabe, Y., Samukawa, T., Sugihara, A., Noda, H., Fukuda, H., “*Conversion of Vegetable Oil to Biodiesel Using Immobilized Candida Antarctica Lipase*,” JAOCS, 1999, 76(7):789-793.



- [13]. Kaieda, M., Samukawa T, Kondo A, Fukuda H., “*Effect of methanol and water contents on production of biodiesel fuel from plant oil catalyzed by various lipases in a solvent-free system*”. J Biosci. Bioeng., 2001, 91:12–5.
- [14]. Kaieda, M., T. Samukawa, T. Matsumoto, K. Ban, Kondo, Y. Shimada, H. Noda, F. Nomoto, K. Ohtuka, E. Izumoto, and A. H. Fukuda, “*Biodiesel fuel production from plant oil catalyzed by Rhizopus oryzae lipase in a water-containing system without an organic solvent*”. J. Biosci. Bioeng., 1999, 88:627–631.
- [15]. Xu Y, Du W, Liu D., “*Study on the kinetics of enzymatic interesterification of triglycerides for biodiesel production with methyl acetate as the acyl acceptor*”, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2005, 32: 241–245.
- [16]. Du W, Xu Y, Liu D, Zeng J, “*Comparative study on lipase-catalyzed transformation of soybean oil for biodiesel production with different acyl acceptors*”, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2004, 30: 125–129.
- [17]. MacRae, A.R. *Lipase Catalysed Interesterification of Oil and Fats*. JAOAC. 60(2):291-294. 1983
- [18]. Ritonga, M. Yusuf, *Pengaruh Bilangan Asam Terhadap Hidrolisa Minyak Kelapa Sawit*, Sumatera Utara: Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sumatera Utara, 2004.
- [19]. Knothe, Gerard, Robert, O., Dunn., Bagby, Marvin, O. *Biodiesel: The Use of Vegetable Oils and Their Derivatives as Alternative Diesel Fuels Oil Research. National Center for Agricultural Utilization Research, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture. Peoria. 1996*
- [20]. Pandey, A., Benjamin, S., Soccol, C. R., Nigam, P., Krieger, N. and Soccol, V. T. *The Realm of Microbial Lipases in Technology. Biotechnol. Appl. Biochem.*, 29, 119-131. 1999
- [21]. Timotius, 1982. *Mikrobiologi Dasar*. Univeristas Kristen Satya Wacana. Salatiga
- [22]. Ward. O. P. *Hydrolitic Enzyme*. 1985 *Dalam: Moo-Young, M. (ed). Comprehensive Biotechnology: The Principles, Application, and Regulation*



- of Biotechnology in Industry, Agriculture and Medicine*. Pergamon Press, Oxford: 830-835. 1985
- [23]. Kouker, G & K. E. Jaegar. 1987. *Specific and Sensitive Plate Assay for Bacterial Lipases*. J appl. Environ. Microbiol. 53 (1):211-213
- [24]. Jarvis, N. G. & J. H. Thiele. 1997. *Qualitative Rhodamin B Assay Which Uses Tallow as a Substrate for Lytolytic Obligately Anaerobic Bacteria*. J. Microbiol Methods 29 (1): 41-47.
- [25]. Anonim, *Candida*, <http://en.wikipedia.org/Candida>, 29 Mei 2007
- [26]. Worsfold, P. J. 1995. “*Classification And Chemical Characteristic Of Immobilized Enzymes*”. UK: Department of Environmental Sciences, University of Plymouth, Plymouth, Devon
- [27]. Tri-Panji, K. Syamsu, Suharyanto & Gunawan (2005). Biokonversi minyak sawit kasar menggunakan desaturase amobil sistem curah pada skala semipilot.. *Menara Perkebunan*,73(2), 63-73.
- [28]. Blanch W, Harvey & Douglas Clarck S. 1997. *Biochemical Engineering*, Marcel Decker, Inc, New York
- [29]. Scott Fogler, H. *Elements of Chemical Reaction Engineering third edition*. Prentice Hall PTR, New Jersey, 1999.
- [30]. Dewi Kusuma, Andita.. *Simulasi Daur Hidup Energi Dan Rantai Suplai Biodiesel Untuk Sektor Transportasi Di Propinsi DKI Jakarta*. Skripsi, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok 2008
- [31]. Desai, P.D, A.M Dave, Surekha Devi, *Alcoholysis od salirconia oil using free anda covalenty bound lipase on chitosan beads*. 2004. *Food Chemsitry* 95 (2006)193-199
- [32]. Kaieda, Masaru et al, *Biodiesel Fuel Production from Plant Oil Catalyzed by Rhizopus oryzae Lipae on a Water-containing System without an Organic Solvent*. *Journal Of Bioscience And Bioengineering*. Vol. 88, No. 6, 627-631.1999
- [33]. Noureddini et al, H. *Immobilized Pseudomonas cepacia lipase for biodiesel fuel production from soybean oil*. *Bioresource Technology* 96 (2005) 769-777.
-



- [34]. Linko et al, Yu-Yen. *Biodegradable product by lipase biocatalyst*. Journal Of Biotechnology 66(1998) 41-50.
- [35]. Schuchardt et al, Ulf. *Tranesterification of Vegetable Oils: a Review*. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 9 No. 1, 199-210, 1998
- [36]. KHAN Karl, Adam *Kinetics and Catalyst Development*, Departement of Chemical Engineering University of Queensland, Brisbane –Queensland, 2002
- [37]. Pasaribu, Nurhida *Minyak Buah Kelapa Sawit* Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam .Universitas Sumatera Utara. 2004
- [38]. Departemen Pertanian. *Gambaran Sekilas Industri Minyak Kelapa Sawit* 2007
- [39]. Tarigan Br, juliati. *Ester Asam Lemak*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Jurusan Kimia. Universitas Sumatera Utara
- [40]. Fessenden, Ralp J., Fessenden, Joan S., *Kimia Organik Jilid 1, Edisi Ketiga*, Jakarta: Penerbit Erlangga, 1995.
- [41]. N, Astri. “Pengaruh Kondisi Operasi Reaksi Tranesterifikasi VCO Terhadap Produk Metil Laurat dengan Metode Pemisahan Berdasarkan Perbedaan Titik Leleh”, Skripsi, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok 2007.
- [42]. Nurhasman Dody, ”Pengaruh Kondisi Reaksi Transesterifikasi CPO terhadap Produk Metil Palmitat dalam Reaktor Tumpak” Skripsi, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Indonesia, Depok 2004.



LAMPIRAN 1

1.1 Penentuan Tetapan Fisika Dan Kimia dari Berbagai Sumber Trigliserida

Tabel 5. 5 Profil Densitas, Viskositas kinematik, dan Fasa dari Minyak Sawit

Substrat	t (menit) Percobaan	t (sekon) Waktu viskositas kinematik	Viskositas Kinematik (mm ² /s)	Densitas (gr/mL)	Fasa
1	0	251.40	23.71	0.928	1
2	30	240.68	22.70	0.868	2
3	60	48.95	4.62	0.821	1
4	30	130.23	12.28	0.855	2
5	60	334.39	31.53	0.907	3
6	-	-	3.7-6.8	0.87-0.89	1

Keterangan:

No	Zat
1	Minyak Sawit saat t = 0
2	Minyak Sawit yang dicampur dengan methanol kemudian di-stirer selama 30 menit
3	Biodiesel yang terbentuk hasil reaksi antara minyak sawit yang direaksikan dengan methanol berkataliskan NaOH selama 1 jam pada suhu 60°C
4	Minyak sawit yang dicampur dengan metil asetat kemudian di stirer selama 30 menit
5	Biodiesel yang terbentuk hasil reaksi antara minyak sawit yang direaksikan dengan metil-asetat berkataliskan NaOH selama 1 jam
6	Biodiesel Referensi

**Tabel 5.6** Profil Densitas, Viskositas kinematik, dan Fasa dari Minyak Sawit Bekas

No	t (menit)	t (sekon)	Viskositas kinematik (mm ² /s)	Densitas (gr/mL)	Fasa
	Percobaan	Waktu viskositas kinematik			
1	0	515.48	48.61	0.91	1
2	30	321.64	30.33	0.88	2
3	60	56.84	5.36	0.86	1
4	30	62.22	5.87	0.92	2
5	60	485.40	45.77	0.91	3
6	-	-	3.7-6.8	0.87-0.89	-

Keterangan:

No	Zat
1	Minyak Sawit bekas saat t = 0
2	Minyak Sawit bekas yang dicampur dengan methanol kemudian di-stirer selama 30 menit, pada suhu t = 28°C
3	Biodiesel yang terbentuk hasil reaksi antara minyak sawit bekas yang direaksikan dengan methanol berkataliskan NaOH selama 1 jam pada suhu 60°C
4	Minyak sawit bekas yang dicampur dengan metil asetat kemudian di stirer selama 30 menit, pada suhu t = 28°C
5	Biodiesel yang terbentuk hasil reaksi antara minyak sawit bekas yang direaksikan dengan metil-asetat berkataliskan NaOH selama 1 jam
6	Biodiesel Referensi

Tabel 5.7 Bilangan Asam Minyak Sawit

No	t (menit)	Bilangan Asam (mg KOH/ gr sampel)
	Percobaan	
1	0	0.31
2	60	0.28
3	60	0.56

Keterangan :

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

Tabel 5.8 Bilangan Asam Minyak Sawit Bekas



No	t (menit) Percobaan	Bilangan Asam (mg KOH/ gr sampel)
1	0	0.82
2	60	0.56
3	60	0.84

Keterangan:

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

Tabel 5. 9 *Water Content (%)* dari Minyak Sawit

No	t (menit) Percobaan	Kandungan air (%)
1	0	0.02
2	60	0.06
3	60	1.77

Keterangan :

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

Tabel 5. 10 *Kandungan air (%)* dari Minyak Sawit Bekas

No	t (menit) Percobaan	Kandungan air (%)
1	0	0.07
2	60	0.203
3	60	1.771



Keterangan:

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

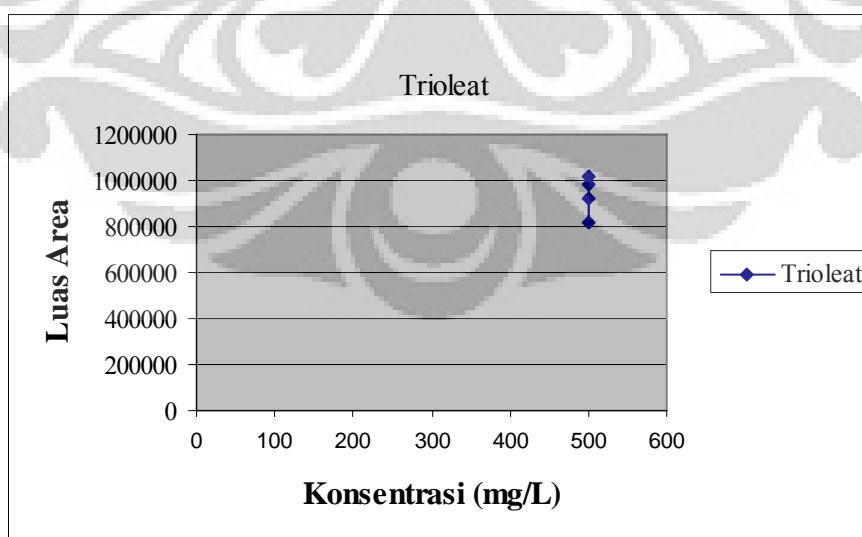
1.2 Data Luas Area dan Konsentrasi Standar

Tabel 5. 11 Data luas area dan konsentrasi standar

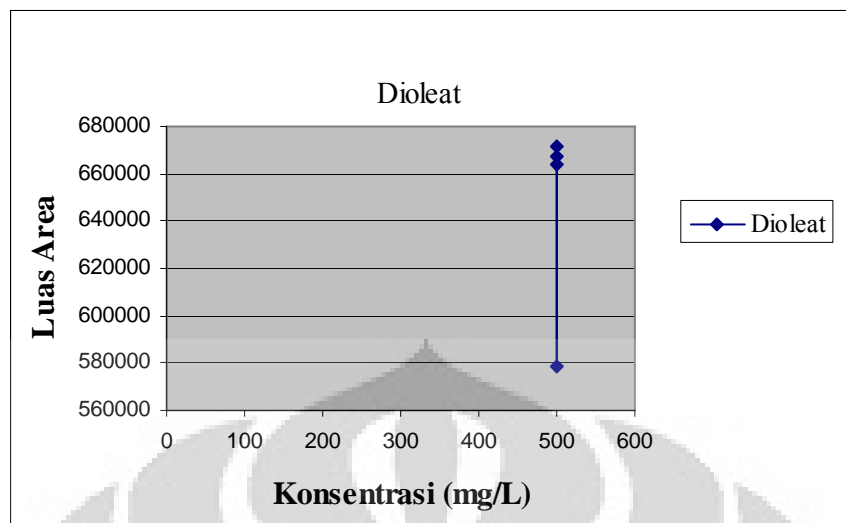
Zat	Luas Area				Konsentrasi (mg/L)	Konsentrasi (mol/L)
	Standar 1	Standar 2	Standar 3	Standar 4		
T	920959	986369	819333	1020239	500	0.49001352
D	667437	671386	578892	664303	500	0.70400721
M	39819010	69483239	48916207	71643076	500	1.24545409
F	1904673	2121140	1849155	2064245	349.6	1.02383881

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

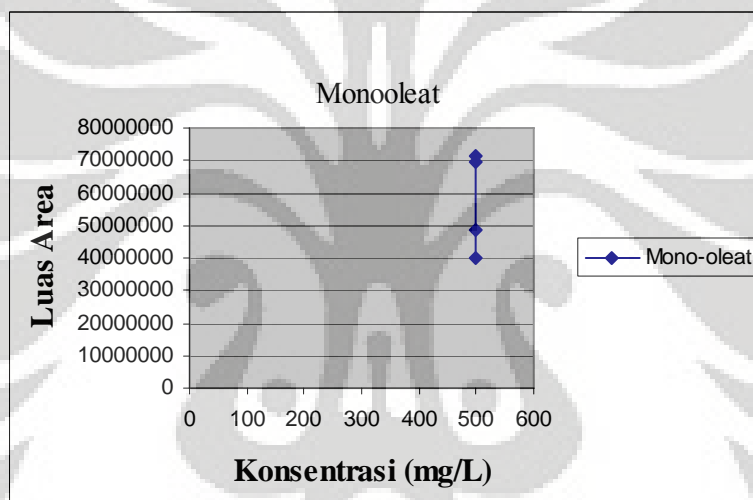
Untuk mendapatkan data yang akurat maka dibuat kurva standar dengan melakukan kalibrasi terhadap luas area (sebagai sumbu-y) dengan konsentrasi masing-masing komponen (sebagai sumbu-x).



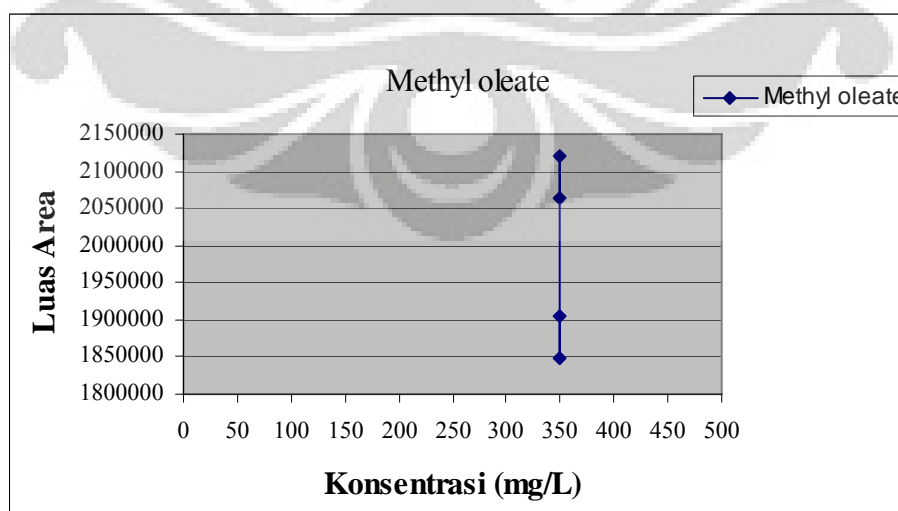
Gambar 5. 1 Kurva standar untuk trioelat



Gambar 5. 2 Kurva standar untuk dioleat



Gambar 5. 3 Kurva standar untuk mono-oleat



Gambar 5. 4 Kurva standar untuk biodiesel



Dari hasil kalibrasi kurva standar tersebut diperoleh garis yang tegak lurus terhadap sumbu x. Kurva standar yang diperoleh menunjukkan luas area yang berbeda-beda dengan konsentrasi yang sama. Hal ini akan menyebabkan error yang sangat besar terhadap data yang diperoleh, oleh karena itu kurva standar yang dipakai adalah kurva standar dua, yang diasumsikan telah mewakili konsentrasi standar trioelat, dioleat, monooleat, dan Methyloleat. Pengambilan kurva standar yang ke dua didasari oleh trend-nya yang cenderung berada direntang luas area dan konsentrasi yang terbentuk untuk masing-masing komponen.

Tabel 5. 12 Luas Area dan konsentrasi standar yang digunakan

Zat	Standar 2		
	Luas Area	Konsentrasi (mg/L)	Konsentrasi (mol/L)
Trioelat	986369	500	0.490013524
Dioleat	671386	500	0.704007209
Mono-oleat	69483239	500	1.245454093
FAME	2121140	349.6	1.02383881

1.3 Pengolahan Data Menggunakan Interpolasi Standar:

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

$$\text{Konsentrasi sampel (mol/L)} = \frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Luas area standar}} \times \text{konsentrasi standar (mol/L)} \quad [5. 1]$$

1.4 Contoh Perhitungan Interpolasi

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

**Tabel 5. 13** Konsentrasi sampel yang diperoleh setelah di-interpolasi dengan data standar

t = 0 menit	Substrat			
	Minyak Sawit		Minyak Sawit Bekas	
zat	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)
T	18318188	9.10	18904198	9.39
D	1734548	1.82	2102898	2.21
M	144	0.00	91626	0.00
F	6419	0.00	5709	0.00

Tabel 5. 14 Konsentrasi sampel rute alkohol yang diperoleh setelah di-interpolasi dengan data standar

t = 60 menit	Substrat			
	Minyak sawit		Minyak sawit bekas	
zat	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)
T	519604	0.26	848541	0.42
D	162938	0.17	393136	0.41
M	27690271	0.50	22227289	0.40
F	45846769	22.13	37034461	17.88

1.5 Rumus Perhitungan % mol Balance

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

$$\% \text{ mol balance} = \frac{3 \times C_{T,t=t} + 2 \times C_{D,t=t} + C_{M,t=t} + C_{B,t=t}}{3 \times C_{T,t=0} + 2 \times C_{D,t=0} + C_{M,t=0} + C_{B,t=0}} \times 100\% \quad [5.2]$$

Dari persamaan [5.2] tersebut diperoleh konsentrasi biodiesel saat $t = t$. Untuk mendapatkan % yield biodiesel yang terbentuk maka konsentrasi biodiesel yang terbentuk dibandingkan dengan konsentrasi awal substrat. Pengertian % *yield* konsentrasi disini merupakan perbandingan konsentrasi produk terhadap konsentrasi awal substrat.



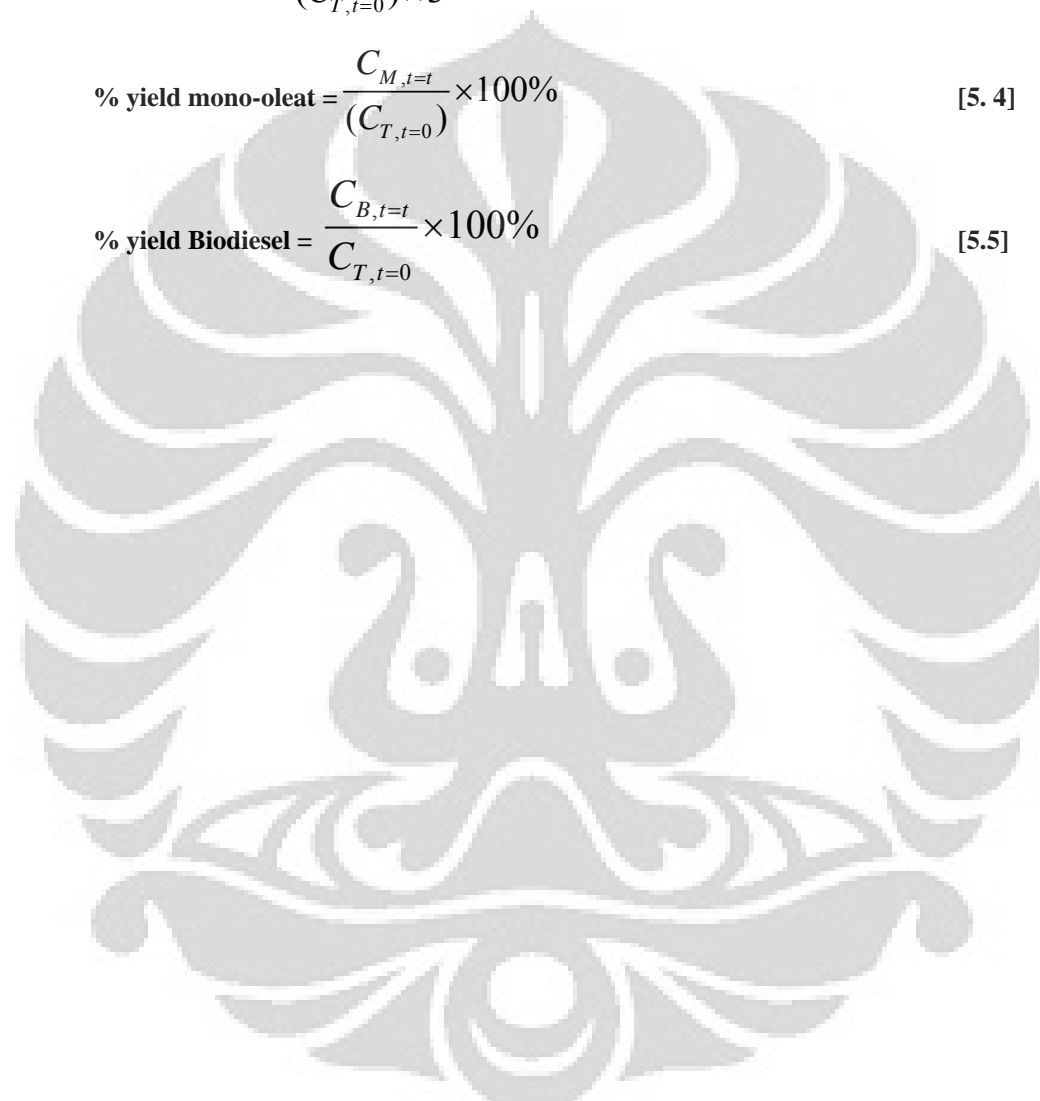
Untuk mengetahui % konversi trioelat dan % yield untuk masing-masing komponen dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$\% \text{ konversi Trioelat} = \frac{C_{T,t=0} - C_{T,t=t}}{C_{T,t=0}} \times 100\% \quad [5.2]$$

$$\% \text{ yield dioleat} = \frac{C_{D,t=t} \times 2}{(C_{T,t=0}) \times 3} \times 100\% \quad [5.3]$$

$$\% \text{ yield mono-oleat} = \frac{C_{M,t=t}}{(C_{T,t=0})} \times 100\% \quad [5.4]$$

$$\% \text{ yield Biodiesel} = \frac{C_{B,t=t}}{C_{T,t=0}} \times 100\% \quad [5.5]$$





Lampiran 2

2.1 Data Hasil Reaksi Sintesis Biodiesel Rute Alkohol dan Rute Non-Alkohol Menggunakan katalis NaOH

Tabel 5. 15 Data saat t = 0 jam untuk minyak sawit **Tabel 5. 16** Data saat t = 0 jam minyak jelantah

t = 0 jam	Minyak sawit	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	18318188	9.10
D	1734548	1.82
M	144	0.00
F	6419	0.00

t = 0 jam	Minyak Jelantah	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	18904198	9.39132585
D	2102898	2.205073314
M	91626	0.001642353
F	5709	0.002755639

Tabel 5. 17 Data saat t = 1 jam untuk minyak sawit **Tabel 5. 18** Data saat t = 1 jam minyak jelantah

t = 1 jam	Minyak sawit	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	519604	0.26
D	162938	0.17
M	27690271	0.50
F	45846769	22.13

t = 60 menit	Minyak jelantah	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	848541	0.42
D	393136	0.41
M	22227289	0.40
F	37034461	17.88

2.2 Perhitungan menggunakan % mol balance Rute Alkohol dengan Katalis NaOH

Tabel 5. 19 % mol balance sintesis biodiesel rute alkohol menggunakan katalis NaOH dari minyak sawit

Minyak Sawit	t (Jam)	Konsentrasi (mol/L)		Konsentrasi (mol/L)		Konsentrasi (mol/L)		Konsentrasi (mol/L)		% mol Balance
		Luas Area		Luas Area		Luas Area		Luas Area		
			T		D		M		F	
	0	18318188	9.10	1734548	1.82	144	0.00	6419	0.00	100
	1	19604	0.01	162938	0.17	15690271	0.28	62846769	30.34	100.15

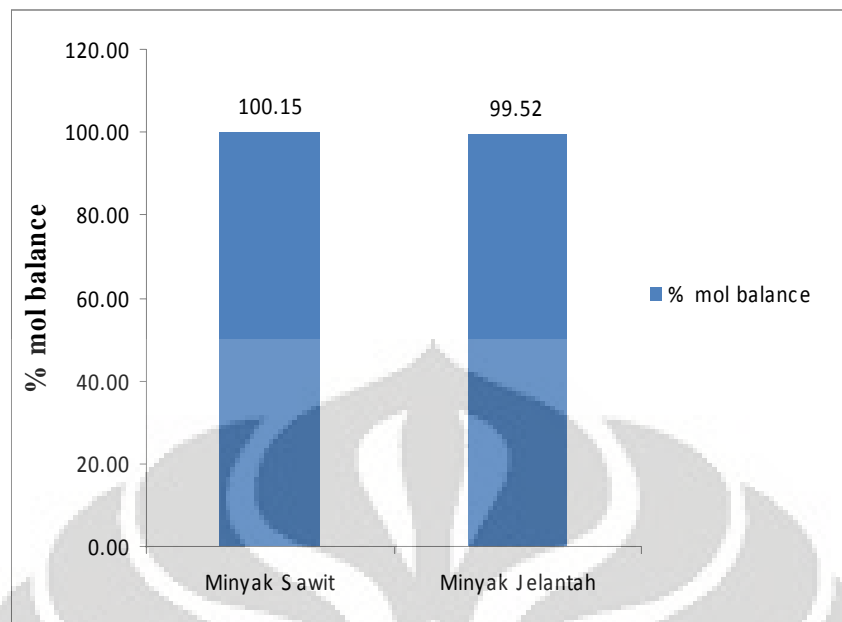


Tabel 5. 20 % mol balance sintesis biodiesel rute alkohol menggunakan katalis NaOH dari minyak jelantah

Minyak Jelantah	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	0	18904198	9.39	2102898	2.21	91626	0.00	5709	0.00	100
	1	848541	0.42	393136	0.41	22227289	0.40	62034461	29.94	99.52

Tabel 5. 21 (%) konversi trioleat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk

Komponen	Substrat	
	Minyak Sawit	Minyak Jelantah
	Konsentrasi (mol/L)	Konsentrasi (mol/L)
$3 \times C_{T, t=0}$	27.30	28.17
$2 \times C_{D, t=0}$	3.64	4.41
$C_{M, t=0}$	0.00	0.00
$C_{B, t=0}$	0.00	0.00
$3 \times C_{T, t=t}$	0.03	1.26
$2 \times C_{D, t=t}$	0.34	0.82
$C_{M, t=t}$	0.28	0.40
$C_{B, t=t}$	30.34	29.94
% konversi trioleat	99.89	95.51
% Yield dioleat	1.25	2.93
% Yield mono-oleat	1.03	1.41
% Yield biodiesel	111.12	106.28



Gambar 5.5 % mol balance sintesis biodiesel melalui rute alkohol menggunakan katalis NaOH

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

Tabel 5.22 Data saat t = 1 jam minyak sawit

t = 1 jam	Minyak goreng	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	19646837	9.76
D	157593	0.17
M	478191	0.01
F	346278	0.17

Tabel 5.23 Data saat t = 1 jam minyak jelantah

t = 1 jam	Minyak Jelantah	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	17477883	8.68
D	171391	0.18
M	512365	0.01
F	7202	0.00

2.4 Perhitungan Menggunakan % Mol Balance Rute Non Alkohol Katalis NaOH

Tabel 5.24 % mol balance sintesis biodiesel rute non alkohol dengan katalis NaOH dari minyak sawit

Minyak sawit	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	0	18318188	9.10	1734548	1.82	144	0.00	6419	0.00	100
	1	18006837	8.95	1851593	1.94	408191	0.01	496278	0.24	100.08

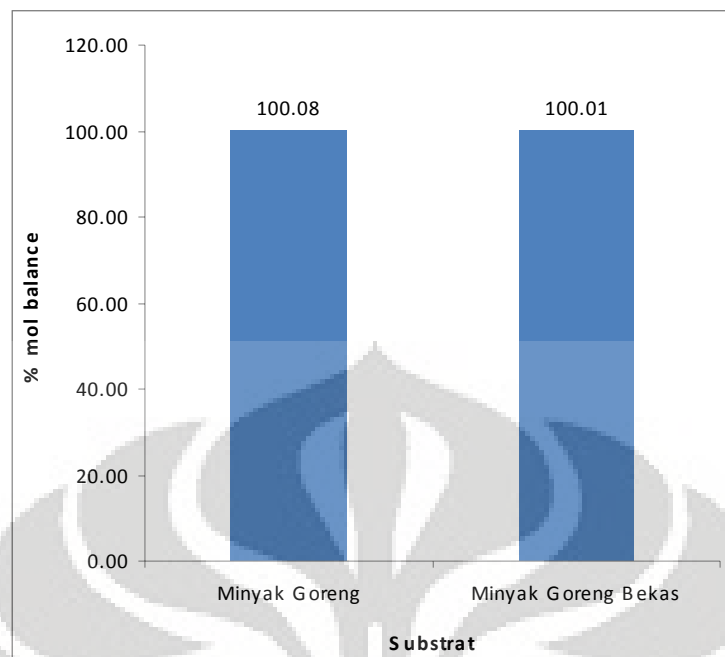


Tabel 5. 25 % mol balance sintesis biodiesel rute non alkohol dengan katalis NaOH dari minyak jelantah

Minyak Jelantah	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	0	18904198	9.39	2102898	2.21	91626	0.00	5709	0.00	100.00
	1	18077883	8.98	2651391	2.78	902365	0.02	150202	0.07	100.01

Tabel 5. 26 (%) konversi trioleat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk

Komponen	Substrat	
	t = 1 jam	
	Minyak Sawit	Minyak Jelantah
	Konsentrasi (mol/L)	Konsentrasi (mol/L)
$3 \times C_{T, t=0}$	27.30	28.17
$2 \times C_{D, t=0}$	3.64	4.41
$C_{M, t=0}$	0.00	0.00
$C_{B, t=0}$	0.00	0.00
$3 \times C_{T, t=t}$	26.84	26.94
$2 \times C_{D, t=t}$	3.88	5.56
$C_{M, t=t}$	0.01	0.02
$C_{B, t=t}$	0.24	0.07
% konversi trioleat	1.70	4.37
% Yield dioleat	14.22	19.74
% Yield mono-oleat	0.00	0.01
% Yield biodiesel	0.88	0.26



Gambar 5. 6 % mol balance sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan katalis NaOH



Lampiran 3

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

Tabel 5. 27 Data saat $t = 0$ jam untuk minyak sawit

t = 0 Jam		Minyak Goreng	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L	
T	3296360	1.64	
D	2158945	2.26	
M	9440	0.00	
F	422807	0.20	

Tabel 5. 28 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan *Candida rugosa* lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; $t = 50$ jam; $T = 37^\circ\text{C}$)

Biokatalis tersuspensi	Perbandingan mol = 1:3						
	Konsentrasi Enzim = 1% wt		Konsentrasi Enzim = 2% wt		Konsentrasi Enzim = 4% wt		
t = 50 jam	Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L	Luas Area	Konsentrasi mol/L	Luas Area	Konsentrasi mol/L
	T	3079110	1.530	2448465	1.216	2518030	1.251
	D	1978150	2.074	757414	0.794	2439640	2.558
	M	86823	0.002	918253	0.016	677152	0.012
	F	633600	0.306	1466234	0.708	2225733	1.074

Tabel 5. 29 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt

1% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	0.	3296360	1.64	2158945	2.26	9440	0.00	422807	0.20	100.00
	50	2879110	1.43	2178150	2.28	86823	0.00	1624600	0.78	100.00

Tabel 5. 30 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt

2% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	2598465	1.29	2157414	2.26	608253	0.01	2562234	1.24	100.00

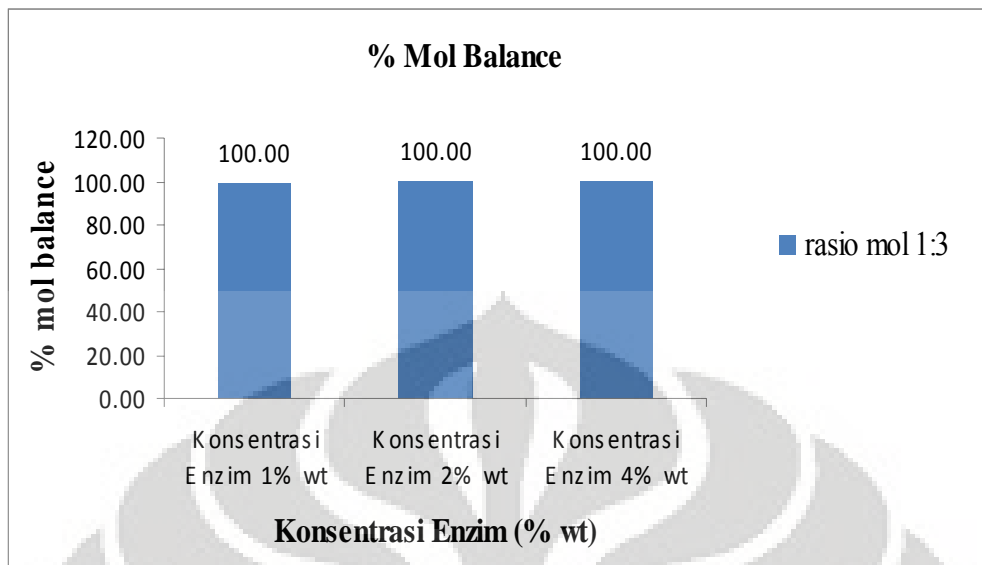


Tabel 5. 31 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt

4% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	2018030	1.00	2309640	2.42	677152	0.01	3690730	1.78	100.00

Tabel 5. 32 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; t =50 jam; T = 37°C)

Biokatalis dalam bentuk tersuspensi	Perbandingan mol = 1:3		
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim		
Komponen	1%	2%	4%
$3 \times C_{T, t=0}$	4.91	4.91	4.91
$2 \times C_{D, t=0}$	4.53	4.53	4.53
$C_{M, t=0}$	0.00	0.00	0.00
$C_{B, t=0}$	0.20	0.20	0.20
$3 \times C_{T, t=t}$	4.29	3.87	3.01
$2 \times C_{D, t=t}$	4.57	4.52	4.84
$C_{M, t=t}$	0.00	0.01	0.01
$C_{B, t=t}$	0.78	1.24	1.78
% konversi Trioelat	12.66	21.17	38.78
% Yield Dioleat	92.98	92.10	98.59
% Yield Mono-oleat	0.03	0.22	0.25
% Yield Biodiesel	15.96	25.17	36.26



Gambar 5. 7 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; t =50 jam; T = 37°C)

Tabel 5. 33 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t =50 jam; T = 37°C)

Biokatalis tersuspensi	Perbandingan mol = 1:12					
	Konsentrasi Enzim = 1% wt		Konsentrasi Enzim = 2% wt		Konsentrasi Enzim = 4% wt	
t = 50 jam	Zat	Konsentrasi mol/L	Zat	Konsentrasi mol/L	Zat	Konsentrasi mol/L
	T	1.29447718	T	1.37	T	0.8490645
	D	1.17684588	D	0.81	D	1.4215706
	M	0.00087968	M	0.00	M	0.0036458
	F	0.09598978	F	0.58	F	0.3182104



Tabel 5. 34 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt

1% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	0	3296360	1.64	2158945	2.26	9440	0.00	422807	0.20	100.00
	50	2505708	1.24	2222315	2.33	49077	0.00	2588867	1.25	100.01

Tabel 5. 35 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt

2% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	1806312	0.90	2657822	2.79	43023	0.00	2860944	1.38	100.03

Tabel 5. 36 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt

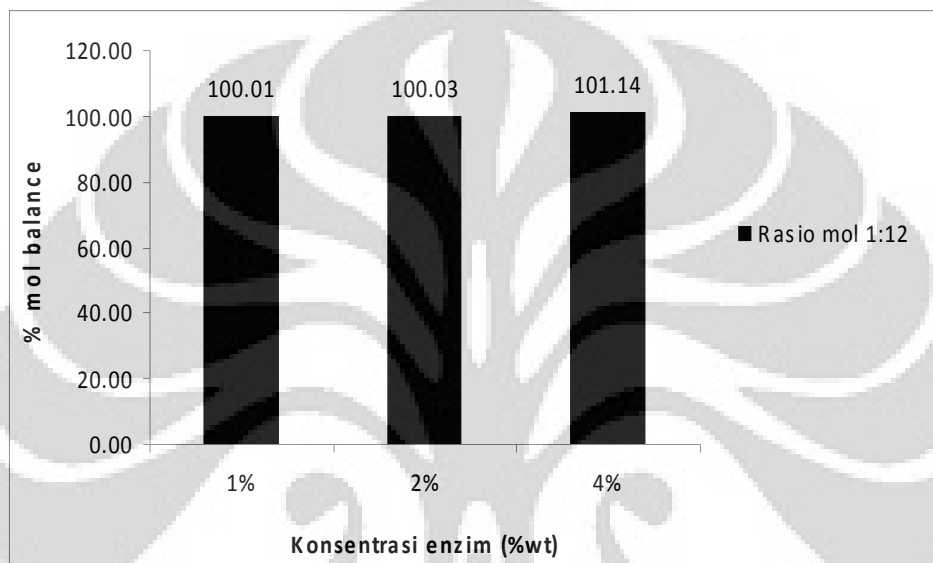
4% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	85118	0.04	559700	0.59	1403397	0.03	8809253	4.25	101.14

Tabel 5. 37 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)

Biokatalis dalam bentuk tersuspensi	Perbandingan mol = 1:12		
	Konsentrasi Enzim		
t = 50 jam	1%	2%	4%
Komponen			
3 x C _{T, t=0}	4.91	4.91	4.91
2 x C _{D, t=0}	4.53	4.53	4.53
C _{M, t=0}	0.00	0.00	0.00
C _{B, t=0}	0.20	0.20	0.20
3 x C _{T, t=t}	3.73	2.69	0.13
2 x C _{D, t=t}	4.66	5.57	1.17
C _{M, t=t}	0.00	0.00	0.03



$C_{B, t=t}$	1.25	1.38	4.25
% konversi Trioelat	23.99	45.20	97.42
% Yield Dioleat	94.87	113.46	23.89
% Yield Mono-oleat	0.02	0.02	0.51
% Yield Biodiesel	25.44	28.11	86.55



Gambar 5. 8 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)



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

Waktu

Tabel 5. 38 Luas area yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu

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

Biokatalis tersuspensi	Rasio mol reaktan = 1:12							
Konsentrasi biokatalis = 4% wt	Luas Area							
Zat	t = 0 jam	t = 0.5 jam	t = 2 jam	t = 6 jam	t =12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
T	3296360	3180168	2201507	2312959	2883020	2100506	1807507	1709118
D	2158945	1078602	259643	1405740	521998	2568472	1250341	1355700
M	9440	4217255	26688	1592529	2070662	2995198	25488	203397
F	422807	5840876	548686	3452327	3875123	4899068	644640	659253

Tabel 5. 39 Konsentrasi yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu

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

Biokatalis tersuspensi	Perbandingan mol = 1:12							
Konsentrasi biokatalis = 4% wt	Konsentrasi sampel (mol/L)							
Zat	t = 0 jam	t = 0.5 jam	t = 2 jam	t = 6 jam	t =12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
T	1.64	1.58	1.09	1.15	1.43	1.04	0.90	0.85
D	2.26	1.13	0.27	1.47	0.55	2.69	1.31	1.42
M	0.00	0.08	0.00	0.03	0.04	0.05	0.00	0.00
F	0.21	2.90	0.27	1.72	1.93	2.43	0.32	0.33



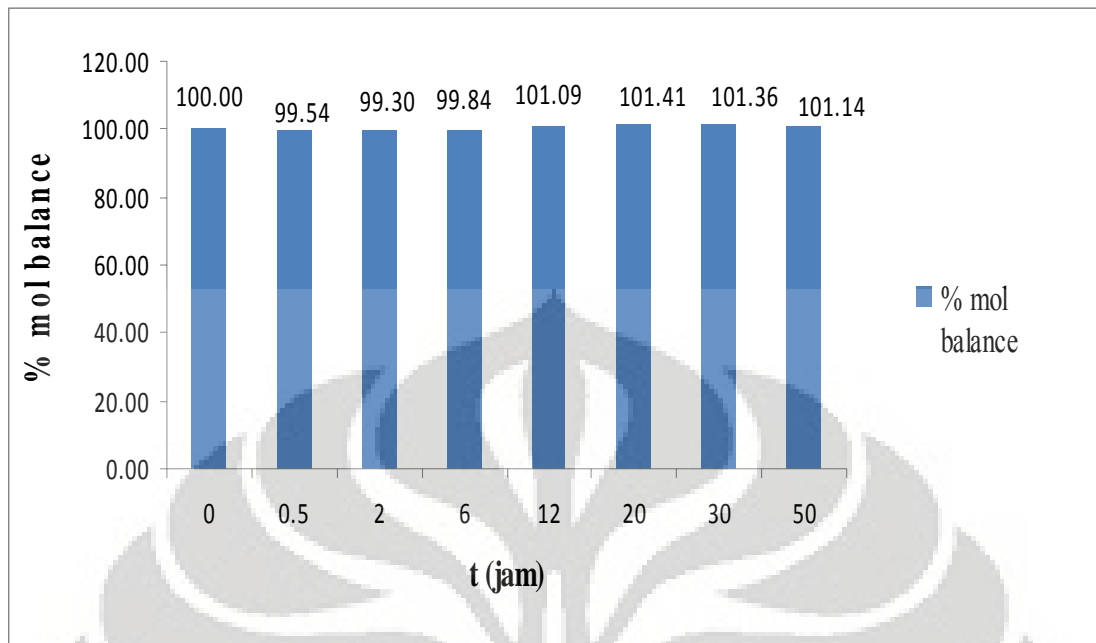
Tabel 5. 40 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan *Candida rugos* lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatalis = 4% wt; t =50 jam; T = 37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
		T		D		M		F	
0	3296360	1.64	258945	0.27	9440	0.0001692	122807	0.06	100.00
0.5	2280168	1.13	328602	0.34	55055	0.0009868	2902976	1.40	99.54
2	1591507	0.79	409643	0.43	70688	0.0012670	4650086	2.24	99.30
6	912959	0.45	605740	0.64	1002529	0.0179699	5920327	2.86	99.84
12	460020	0.23	721998	0.76	2370662	0.0424930	6905123	3.33	101.09
20	162006	0.08	758472	0.80	2475198	0.0443667	7700068	3.72	101.41
30	97507	0.05	690341	0.72	1905488	0.0341550	8210040	3.96	101.36
50	85118	0.04	559700	0.59	1403397	0.0251552	8809253	4.25	101.14



Tabel 5. 41 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)

Biokatalis tersuspensi	Perbandingan mol =1:12							
Konsentrasi Biokatalis = 4% wt	Waktu							
Komponen	t = 0 jam	t = 0.5 jam	t = 2 jam	t = 6 jam	t = 12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
$3 \times C_{T, t=0}$	4.91							
$2 \times C_{D, t=0}$	0.54							
$C_{M, t=0}$	0.00							
$C_{B, t=0}$	0.06							
$3 \times C_{T, t=t}$		3.40	2.37	1.36	0.69	0.24	0.15	0.13
$2 \times C_{D, t=t}$		0.69	0.86	1.27	1.51	1.59	1.45	1.17
$C_{M, t=t}$		0.00	0.00	0.02	0.04	0.04	0.03	0.03
$C_{B, t=t}$		1.40	2.24	2.86	3.33	3.72	3.96	4.25
% konversi Trioelat		30.83	51.72	72.30	86.04	95.09	97.04	97.42
% Yield Dioleat		14.03	17.49	25.86	30.82	32.38	29.47	23.89
% Yield mono-oleat		0.02	0.03	0.37	0.86	0.90	0.70	0.51
% Yield Biodiesel		28.52	45.69	58.17	67.84	75.65	80.66	86.55



Gambar 5.9 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu
(rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t =50 jam; T = 37°C)



Lampiran 4

4.1 Data Hasil Reaksi sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol Menggunakan

Biokatalis Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi

Tabel 5. 42 Data saat $t = 0$ jam untuk minyak sawit

t = 0 Jam	Minyak Goreng	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	3296360	1.64
D	2158945	2.26
M	9440	0.00
F	422807	0.20

Tabel 5. 43 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; $t = 50$ jam; $T = 37^\circ\text{C}$)

Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Perbandingan mol = 1:3					
	t = 50 jam	Konsentrasi Enzim = 1% wt		Konsentrasi Enzim = 2% wt		Konsentrasi Enzim = 4% wt
Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L	Luas Area	Konsentrasi mol/L	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	3163021	1.571	2108511.00	1.047	3292129	1.635
D	1953048	2.048	194664.00	0.204	2761613	2.896
M	2221	0.000	130165.00	0.002	5521351	0.099
F	450957	0.218	95273.00	0.046	9873618	4.766

Tabel 5. 44 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt

1% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	0.	3296360	1.64	2158945	2.26	9440	0.00	422807	0.20	100.00
	50	3054821	1.52	2253048	2.36	2221	0.00	750957	0.36	99.95

2% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	2908511	1.44	2154664	2.26	130165	0.00	1635273	0.79	100.00

Tabel 5. 45 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt

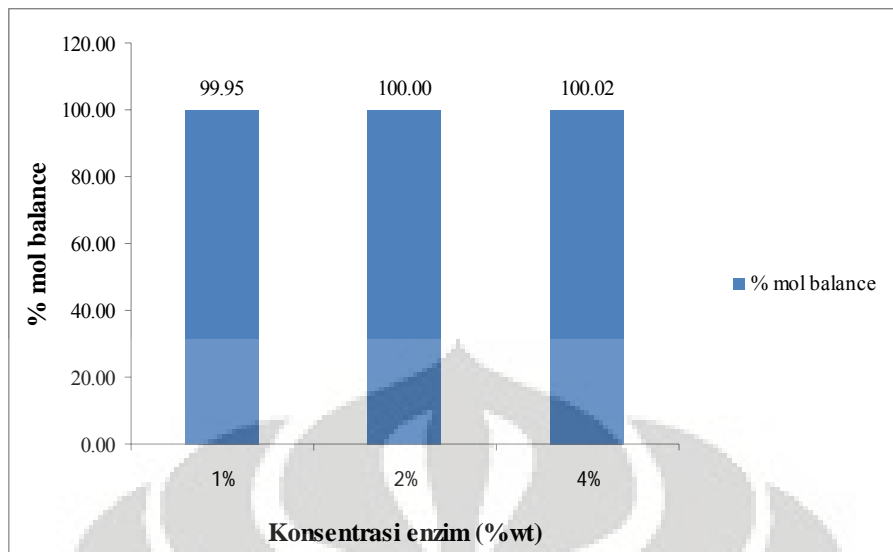


Tabel 5. 46 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt

4% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	2692129	1.34	2061613	2.16	5521351	0.10	2510018	1.21	100.02

Tabel 5. 47(%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; t=50 jam; T = 37°C)

Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Perbandingan mol = 1:3		
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim		
Komponen	1%	2%	4%
$3 \times C_{T, t=0}$	4.91	4.91	4.91
$2 \times C_{D, t=0}$	4.53	4.53	4.53
$C_{M, t=0}$	0.00	0.00	0.00
$C_{B, t=0}$	0.20	0.20	0.20
$3 \times C_{T, t=t}$	4.29	3.87	3.01
$2 \times C_{D, t=t}$	4.57	4.52	4.84
$C_{M, t=t}$	0.00	0.01	0.01
$C_{B, t=t}$	0.78	1.24	1.78
% konversi Trioelat	12.66	21.17	38.78
% Yield Dioleat	92.98	92.10	98.59
% Yield Mono-oleat	0.03	0.22	0.25
% Yield Biodiesel	15.96	25.17	36.26



Gambar 5. 10 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi
(rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; t=50 jam; T = 37°C)

Tabel 5. 48 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi
(rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)

Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Perbandingan mol = 1:12					
	Konsentrasi Enzim = 1% wt		Konsentrasi Enzim = 2% wt		Konsentrasi Enzim = 4% wt	
t = 50 jam	Zat	Konsentrasi mol/L	Zat	Konsentrasi mol/L	Zat	Konsentrasi mol/L
	T	1.16	T	1.14	T	0.66
	D	0.69	D	0.07	D	1.40
	M	0.00	M	0.00	M	0.00
	F	0.15	F	0.14	F	0.02



Tabel 5. 49 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt

1% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	0	3296360	1.64	2158945	2.26	9440	0.00	422807	0.20	100.00
	50	2800012	1.39	2296463	2.41	4447	0.00	1357108	0.66	100.00

Tabel 5. 50 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt

2% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	2695005	1.34	2092341	2.19	5000	0.00	2570058	1.24	100.00

Tabel 5. 51 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt

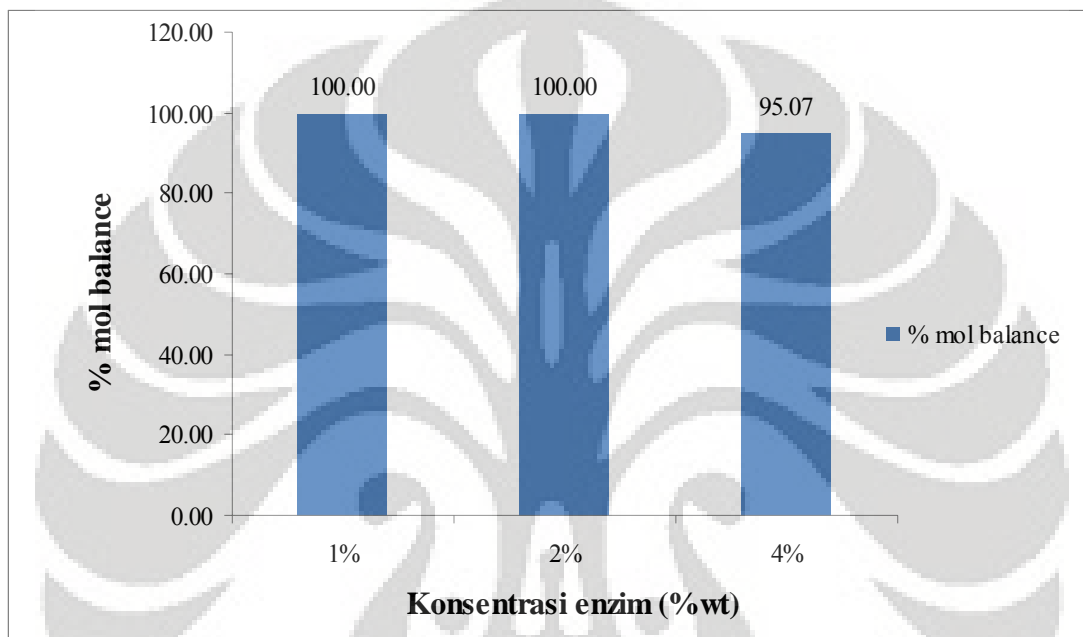
4% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	336418	0.17	2236858	2.35	8515	0.00	8239041	3.98	95.07

Tabel 5. 52 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)

lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Perbandingan mol = 1:12		
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim		
Komponen	1%	2%	4%
$3 \times C_{T, t=0}$	4.91		
$2 \times C_{D, t=0}$	4.53		
$C_{M, t=0}$	0.00		
$C_{B, t=0}$	0.20		
$3 \times C_{T, t=t}$	4.17	4.02	0.50
$2 \times C_{D, t=t}$	4.82	4.39	4.69
$C_{M, t=t}$	0.00	0.00	0.00



$C_{B, t=t}$	0.66	1.24	3.98
% konversi Trioelat	15.06	18.24	89.79
% Yield Dioleat	98.03	89.32	95.49
% Yield Mono-oleat	0.00	0.00	0.00
% Yield Biodiesel	13.33	25.25	80.95



Gambar 5. 11 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t =50 jam; T = 37°C)



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

Tabel 5. 53 Luas area yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu
(rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatalis = 4% wt; t=50 jam; T = 37°C)

Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Rasio mol reaktan = 1:12							
	Luas Area							
Zat	t = 0 jam	t = 0.5 jam	t = 2 jam	t = 6 jam	t = 12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
T	3296360	9503993	17576987	4091570	1534403	3314978	3148613	1336418
D	2158945	243154	472091	4232035	1482799	3443821	3940670	1336858
M	9440	521	11271	3789	7295	12216	6139471	92515
F	422807	1155460	371732	972040	28496	42898	12274087	39041

Tabel 5. 54 Konsentrasi yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol dengan variasi waktu
(rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatalis = 4% wt; t=50 jam; T = 37°C)

Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Perbandingan mol = 1:12							
	Konsentrasi sampel (mol/L)							
Zat	t = 0 jam	t = 0.5 jam	t = 2 jam	t = 6 jam	t = 12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
T	1.6376	4.7214	8.7320	2.0326	0.7623	1.6468	1.5642	0.6639
D	2.2638	0.2550	0.4950	4.4377	1.5548	3.6111	4.1321	1.4018
M	0.0002	0.0000	0.0002	0.0001	0.0001	0.0002	0.1100	0.0017
F	0.2041	0.5577	0.1794	0.4692	0.0138	0.0207	5.9245	0.0188



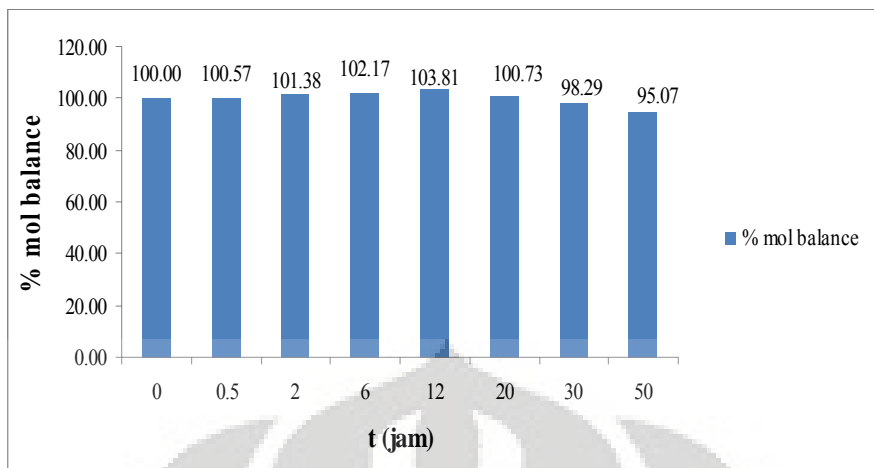
Tabel 5. 55 Perhitungan % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatais = 4% wt; t =50 jam; T = 37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
		T		D		M		F	
0	3296360	1.64	2158945	2.26	9440	0.00017	422807	0.20	100.00
0.5	2533593	1.26	2243154	2.35	11521	0.00021	2525460	1.22	100.57
2	1706987	0.85	2572091	2.70	17271	0.00031	3810732	1.84	101.38
6	901000	0.45	2792035	2.93	20789	0.00037	5502040	2.66	102.17
12	504403	0.25	2912799	3.05	21295	0.00038	6528496	3.15	103.81
20	354978	0.18	2643821	2.77	17216	0.00031	7542898	3.64	100.73
30	343613	0.17	2440670	2.56	12471	0.00022	7974087	3.85	98.29
50	336418	0.17	2236858	2.35	8515	0.00015	8239041	3.98	95.07



Tabel 5. 56 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)

Biokatalis tersuspensi	Perbandingan mol =1:12							
Konsentrasi Biokatalis = 4% wt	Waktu							
Komponen	t = 0 jam	t = 0.5 jam	t = 2 jam	t = 6 jam	t = 12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
$3 \times C_{T, t=0}$	4.91							
$2 \times C_{D, t=0}$	4.53							
$C_{M, t=0}$	0.00							
$C_{B, t=0}$	0.20							
$3 \times C_{T, t=t}$		3.78	2.54	1.34	0.75	0.53	0.51	0.50
$2 \times C_{D, t=t}$		4.70	5.39	5.86	6.11	5.54	5.12	4.69
$C_{M, t=t}$		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
$C_{B, t=t}$		1.22	1.84	2.66	3.15	3.64	3.85	3.98
% konversi Trioelat		23.14	48.22	72.67	84.70	89.23	89.58	89.79
% Yield Dioleat		95.76	109.80	119.19	124.34	112.86	104.19	95.49
% Yield mono-oleat		0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00
% Yield Biodiesel		24.81	37.44	54.06	64.14	74.11	78.35	80.95



Gambar 5.12 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu

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

4.3 Data Perhitungan Uji Stabilitas Lipase Terimmobilisasi Metode Adsorpsi

Tabel 5.57 Data uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi

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

Perbandingan mol reaktan = 1:12						
t = 50 jam	Cycle 1		Cycle 2		Cycle 3	
Zat	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)
T	1336418	0.664	2349407	1.167	2865149	1.423
D	1336858	1.402	2429549	2.548	558978	0.586
M	92515	0.002	1269	0.000	31138	0.001
F	39041	0.019	32027	0.015	674465	0.326

Tabel 5.58 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 1

Cycle 1	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	0	3296360	1.638	2158945	2.264	9440	0.00017	422807	0.204	100.00
	50	336418	0.167	2236858	2.346	8515	0.00015	8239041	3.977	95.07



Tabel 5. 59 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 2

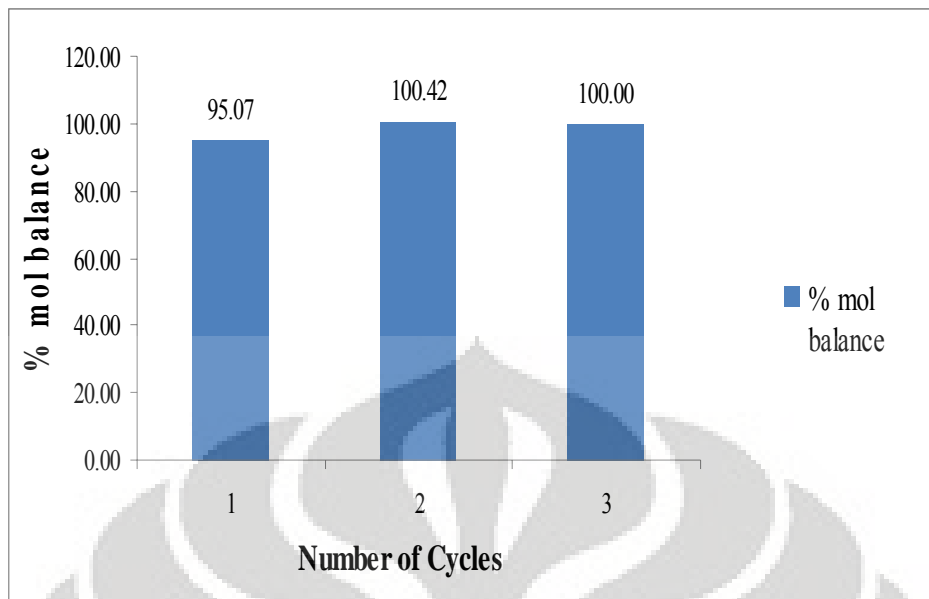
Cycle 2	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	2800007	1.391	2029549	2.128	1269	0.000023	2602027	1.256	100.42

Tabel 5. 60 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas lipase terimmobilisasi metode adsorpsi cycle 3

Cycle 3	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	3127749	1.554	1958978	2.054	31138	0.00056	1810465	0.874	100.00

Tabel 5. 61(%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji stabilitas menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)

Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Rasio mol reaktan 1:12		
	Number of Cycle		
t = 50 jam	1	2	4
Komponen			
3 x C _{T, t=0}	4.91	4.91	4.91
2 x C _{D, t=0}	4.53	4.53	4.53
C _{M, t=0}	0.00	0.00	0.00
C _{B, t=0}	0.20	0.20	0.20
3 x C _{T, t=t}	0.50	4.17	4.66
2 x C _{D, t=t}	4.69	4.26	4.11
C _{M, t=t}	0.00	0.00	0.00
C _{B, t=t}	3.98	1.26	0.87
% konversi Trioelat	89.79	15.06	5.12
% Yield Dioleat	95.49	86.64	83.63
% Yield Mono-oleat	0.00	0.00	0.01
% Yield Biodiesel	80.95	25.57	17.79



Gambar 5. 13 % mol balance untuk uji stabilitas sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; t =50 jam; T = 37°C)



Lampiran 5

5.1 Data Hasil Reaksi sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol Menggunakan Lipase Terimmobilisasi pada Acrylic Resin dalam Bentuk Sol-Gel (Novozym 435).

Tabel 5. 62 Data saat t = 0 jam untuk minyak jelantah

t = 0	Minyak Jelantah	
zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	16118573	9836.40
D	2188750	1890.46
M	80776	0.83
F	55649	10.52

Tabel 5. 63 Pengaruh konsentrasi biokatalis terhadap konsentrasi biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Novozym 435 sebagai biokatalis

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

Novozym 435	Perbandingan mol = 1:12					
t = 50 jam	Konsentrasi Enzim = 1% wt		Konsentrasi Enzim = 2% wt		Konsentrasi Enzim = 4% wt	
Zat	Luas Area	Konsentrasi mol/L	Luas Area	Konsentrasi mol/L	Luas Area	Konsentrasi mol/L
T	244562	0.121	1195341	0.594	350288	0.174
D	4318916	4.529	3473680	3.642	2675581	2.806
M	822115	0.015	1379871	0.025	11353687	0.204
F	3257426	1.572	4615523	2.228	3935904	1.900

Tabel 5. 64 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 1% wt

1% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	0	16118573	8.007	1188750	1.247	80776	0.001	55649	0.027	100.00
	50	9820562	4.879	1318916	1.383	822115	0.015	18910426	9.128	100.00



Tabel 5. 65 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 2% wt

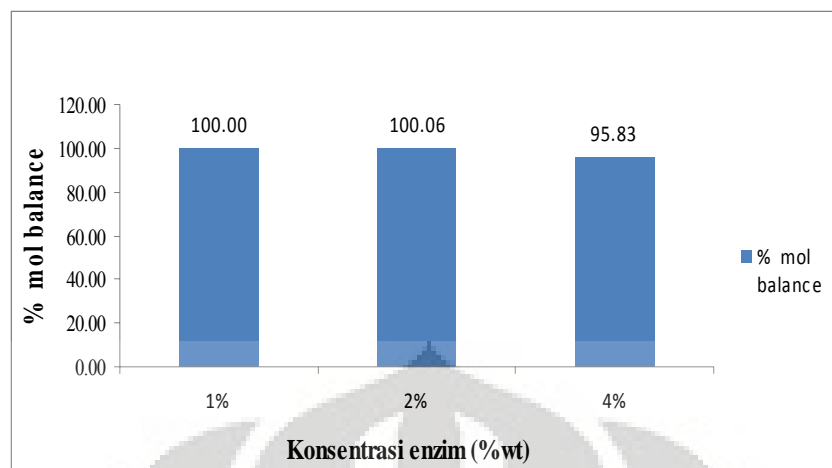
2% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	7095341	3.525	1973680	2.070	1379871	0.025	24490523	11.821	100.06

Tabel 5. 66 Perhitungan % mol balance untuk konsentrasi biokatalis 4% wt

4% wt	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	1090288	0.542	3805581	3.990	45353687	0.813	31111904	15.017	95.83%

Tabel 5. 67 (%) Konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen hasil sintesis biodiesel melalui rute non alkohol dengan variasi konsentrasi biokatalis Novozym 435. (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)

Biokatalis dalam bentuk tersuspensi	Perbandingan mol = 1:12		
	Konsentrasi Enzim		
t = 50 jam	1%	2%	4%
Komponen	1%	2%	4%
3 x C _{T, t=0}	24.02	24.02	24.02
2 x C _{D, t=0}	2.49	2.49	2.49
C _{M, t=0}	0.00	0.00	0.00
C _{B, t=0}	0.03	0.03	0.03
3 x C _{T, t=t}	14.64	10.57	1.62
2 x C _{D, t=t}	2.77	4.14	7.98
C _{M, t=t}	0.01	0.02	0.81
C _{B, t=t}	9.13	11.82	15.02
% konversi Trioelat	39.07	55.98	93.24
% Yield Dioleat	11.51	17.23	33.22
% Yield Mono-oleat	0.06	0.10	3.38
% Yield Biodiesel	38.00	49.21	62.51



Gambar 5. 14 % mol balance untuk variasi konsentrasi biokatalis Novozym 435 hasil sintesis biodiesel melalui rute non alkohol (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatalis 4% wt; t =50 jam; T = 37°C)



5.2 Data Hasil Sintesis Biodiesel Melalui Rute Non-Alkohol Menggunakan Lipase Terimmobilisasi pada Acrylic Resin dalam Bentuk Sol-Gel (Novozym 435) dengan Variasi Waktu

Tabel 5. 68 Luas area yang didapat hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan Novozym 435 dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatais = 4% wt; t=50 jam; T = 37°C)

Novozym 435	Perbandingan Mol 1:12							
Konsentrasi biokatalis = 4% wt	Luas Area							
Zat	t= 0 Jam	t= 0.5 jam	t=2 Jam	t=6 Jam	t=12 Jam	t=20 Jam	t=30 Jam	t=50 Jam
T	16118573	12114535	5080365	7063364	3612512	1443194	1233706	350288
D	2188750	497196	1883666	5361685	5699431	4811215	4983396	2675581
M	80776	1814033	3928049	7416245	10046659	110110591	14599024	11353687
F	55649	2748927	4955141	11211294	15286350	3411271	23235883	3935904

Tabel 5. 69 Konsentrasi yang terbentuk hasil analisa HPLC dari sintesis biodiesel melalui rute non-alkohol menggunakan Novozym 435 dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatais = 4% wt; t=50 jam; T = 37°C)

Novozym 435	Perbandingan Mol 1:12							
Konsentrasi biokatalis = 4% wt	Konsentrasi (mol/l)							
Zat	t = 0 Jam	t = 0.5 Jam	t = 2 Jam	t = 6 Jam	t =12 Jam	t = 20 Jam	t = 30 Jam	t = 50 Jam
T	8.007	6.018	2.524	3.509	1.795	0.717	0.613	0.174
D	2.295	0.521	1.975	5.622	5.976	5.045	5.226	2.806
M	0.001	0.033	0.070	0.133	0.180	1.974	0.262	0.204
F	0.027	1.327	2.392	5.412	7.378	1.647	11.216	1.900

**Tabel 5. 70** Perhitungan % mol balance untuk hasil sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Novozym 435 dengan variasi waktu

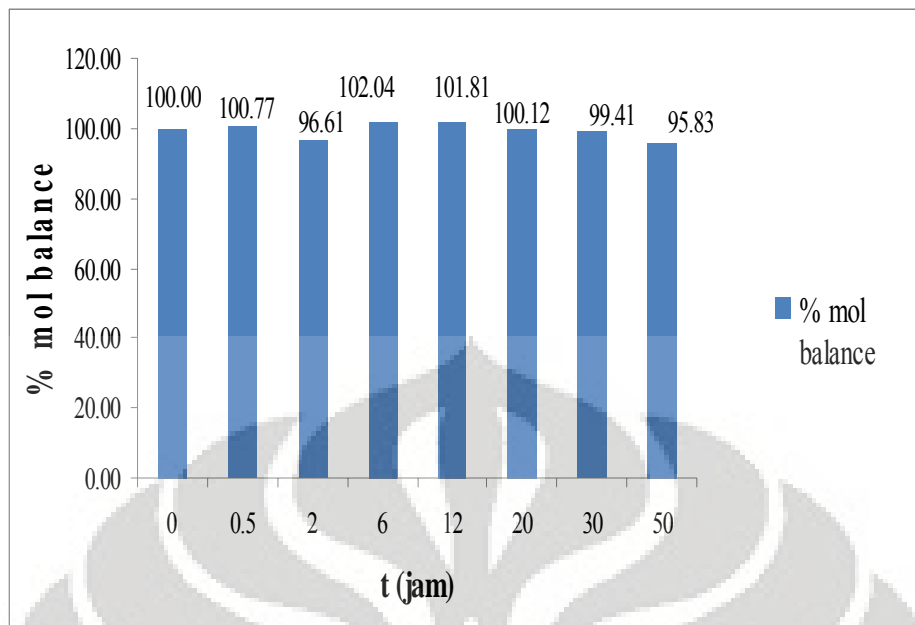
(rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; konsentrasi biokatalis 4% wt; t =50 jam; T = 37°C)

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	Luas Area	Konsentrasi (mol/l)	% mol Balance
		T		D		M		F	
0	16118573	8.007	1188750	1.247	80776	0.001	55649	0.027	100.00
0.5	15114535	7.509	1397196	1.465	1814033	0.033	2608927	1.259	100.77
2	9880365	4.908	2583666	2.709	6528049	0.117	11155141	5.384	96.61
6	5063364	2.515	5361685	5.622	37000245	0.663	15811294	7.632	102.04
12	2612512	1.298	5699431	5.976	80046659	1.435	20186350	9.744	101.81
20	1443194	0.717	5011215	5.255	100110591	1.794	25111271	12.121	100.12
30	1233706	0.613	4373396	4.586	70599024	1.265	29235883	14.112	99.41
50	1090288	0.542	3805581	3.990	45353687	0.813	31111904	15.017	95.83



Tabel 5.71 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk hasil sintesis biodiesel menggunakan Novozym 435 dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; t=50 jam; T = 37°C)

Biokatalis tersuspensi	Perbandingan mol =1:12							
Konsentrasi Biokatalis = 4% wt	Waktu							
Komponen	t = 0 jam	t = 0.5 jam	t = 2 jam	t = 6 jam	t = 12 jam	t = 20 jam	t = 30 jam	t = 50 jam
3 x C _{T, t=0}	24.02							
2 x C _{D, t=0}	2.49							
C _{M, t=0}	0.00							
C _{B, t=0}	0.03							
3 x C _{T, t=t}		22.53	14.73	7.55	3.89	2.15	1.84	1.62
2 x C _{D, t=t}		2.93	5.42	11.24	11.95	10.51	9.17	7.98
C _{M, t=t}		0.03	0.12	0.66	1.43	1.79	1.27	0.81
C _{B, t=t}		1.26	5.38	7.63	9.74	12.12	14.11	15.02
% konversi Trioelat		6.23	38.70	68.59	83.79	91.05	92.35	93.24
% Yield Dioleat		12.20	22.56	46.81	49.76	43.75	38.18	33.22
% Yield mono-oleat		0.14	0.49	2.76	5.97	7.47	5.27	3.38
% Yield Biodiesel		5.24	22.41	31.77	40.56	50.46	58.74	62.51



Gambar 5.15 % mol balance untuk sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Novozym 435 dengan variasi waktu

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

5.3 Data Perhitungan Uji Stabilitas Novozym 435

Tabel 5.72 Data uji stabilitas Novozym 435

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

Perbandingan mol reaktan = 1:12						
t = 50 jam	Cycle 1		Cycle 2		Cycle 3	
Zat	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)
T	350288	0.174	5791085	2.877	13415139	6.664
D	2675581	2.806	3978949	4.172	1331006	1.396
M	11353687	0.204	6535977	0.117	1357888	0.024
F	3935904	1.900	9731622	4.697	405653	0.196

Tabel 5.73 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas Novozym 435 cycle 1

Cycle I	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	0	16118573	8.007	1188750	1.247	80776	0.001	55649	0.027	100.00
	50	1090288	0.542	3805581	3.990	45353687	0.813	31111904	15.017	95.83



Tabel 5. 74 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas Novozym 435 cycle 2

Cycle 2	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	10701085	5.316	2078949	2.180	1269	0.000	12915653	6.234	100.00

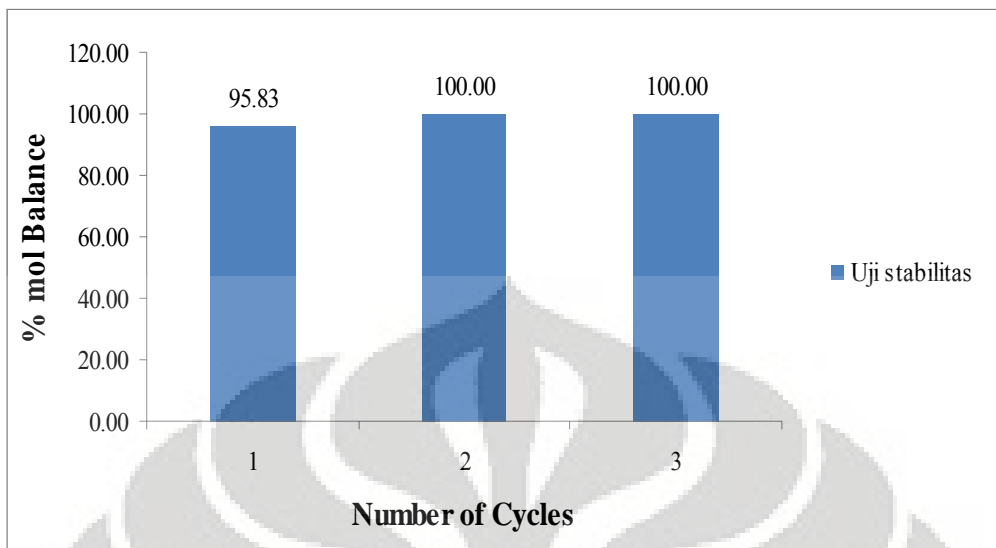
Tabel 5. 75 Perhitungan % mol balance untuk uji stabilitas Novozym 435 cycle 3

Cycle 3	t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	% mol Balance
			T		D		M		F	
	50	14015139	6.963	1331006	1.396	1357888	0.024	5882565	2.839	100.00

Tabel 5. 76 (%) konversi trioelat dan (%) yield masing-masing komponen yang terbentuk untuk uji stabilitas menggunakan Novozym 435

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

Lipase terimmobilisasi metode adsorpsi	Rasio mol reaktan 1:12		
t = 50 jam	Number of Cycle		
Komponen	1	2	4
$3 \times C_{T, t=0}$	24.02	24.02	24.02
$2 \times C_{D, t=0}$	2.49	2.49	2.49
$C_{M, t=0}$	0.00	0.00	0.00
$C_{B, t=0}$	0.03	0.03	0.03
$3 \times C_{T, t=t}$	1.62	15.95	20.89
$2 \times C_{D, t=t}$	7.98	4.36	2.79
$C_{M, t=t}$	0.81	0.00	0.02
$C_{B, t=t}$	15.02	6.23	2.84
% konversi Trioelat	93.24	33.61	13.05
% Yield Dioleat	33.22	18.15	11.62
% Yield Mono-oleat	3.38	0.00	0.10
% Yield Biodiesel	62.51	25.95	11.82



Gambar 5. 16 % mol balance untuk uji stabilitas sintesis biodiesel melalui rute non alkohol menggunakan Novozym 435



Lampiran 6

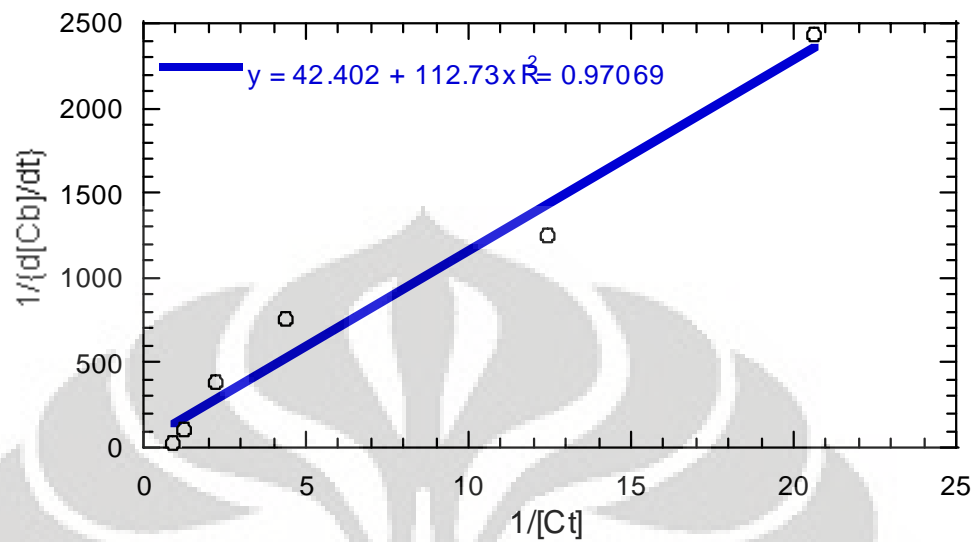
6.1 Pemodelan Hasil Percobaan Menggunakan Mekanisme Reaksi Michaelis-Menten Metode Linierisasi

Tabel 5. 77 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi

t (Jam)	Konsentr asi (mol/L)		Konsentr asi (mol/L)		Konsentr asi (mol/L)		Konsentr asi (mol/L)	
	Luas Area	T	Luas Area	D	Luas Area	M	Luas Area	F
0	3296360	1.6376	258945	0.2715	9440	0.0002	122807	0.0593
0.5	2280168	1.1328	328602	0.3446	55055	0.0010	2902976	1.4012
2	1591507	0.7906	409643	0.4295	70688	0.0013	4650086	2.2445
6	912959	0.4535	605740	0.6352	1002529	0.0180	5920327	2.8576
12	460020	0.2285	721998	0.7571	2370662	0.0425	6905123	3.3330
20	162006	0.0805	758472	0.7953	2475198	0.0444	7700068	3.7167
30	97507	0.0484	690341	0.7239	1905488	0.0342	8210040	3.9628
50	85118	0.0423	559700	0.5869	1403397	0.0252	8809253	4.2521

Tabel 5. 78 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis dalam bentuk tersuspensi

Waktu reaksi (jam)	Ct (mol/L)	Cb (mol/L)	Waktu reaksi (min)	d[Cb] (mol/L)	dt (menit)	d[Cb]/dt	Y = 1/{d[Cb]/dt}	X = 1/[Ct]
0	1.6376	0.0593	0					
0.5	1.1328	1.4012	30	1.3419	30	0.0447	22.3557	0.8828
2	0.7906	2.2445	120	0.8433	90	0.0094	106.7235	1.2648
6	0.4535	2.8576	360	0.6131	240	0.0026	391.4379	2.2049
12	0.2285	3.3330	720	0.4753	360	0.0013	757.3454	4.3758
20	0.0805	3.7167	1200	0.3837	480	0.0008	1250.9556	12.4251
30	0.0484	3.9628	1800	0.2462	600	0.0004	2437.4890	20.6441
50	0.0423	4.2521	3000	0.2892	1200	0.0002	4148.9458	23.6488



Gambar 5. 17 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan *Candida rugosa* dalam bentuk tersuspensi (substansi = minyak sawit; $t = 50$ jam; $T = 37^{\circ}\text{C}$; Rasio mol reaktan = 1:12).

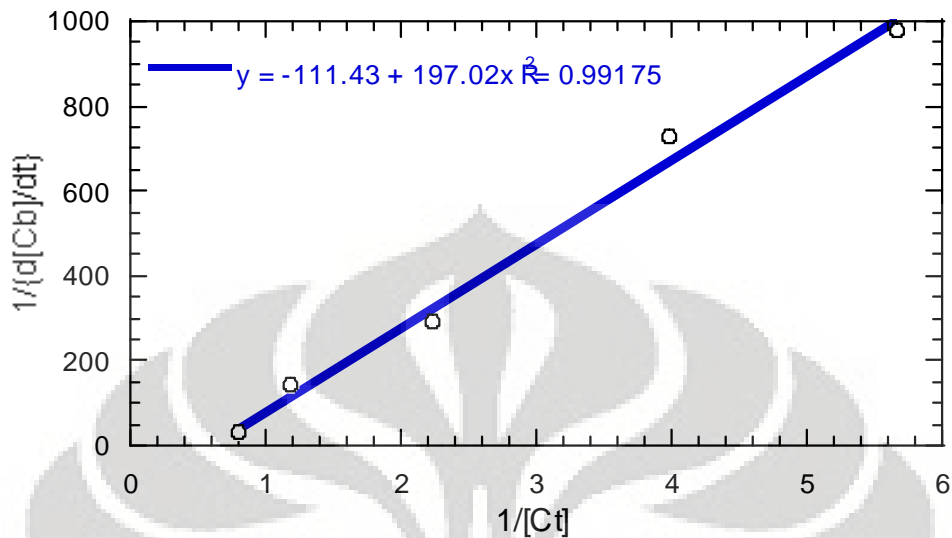


Tabel 5.79 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)
		T		D		M		F
0	3296360	1.638	2158945	2.264	9440	0.00017	422807	0.204
0.5	2533593	1.259	2243154	2.352	11521	0.00021	2525460	1.219
2	1706987	0.848	2572091	2.697	17271	0.00031	3810732	1.839
6	901000	0.448	2792035	2.928	20789	0.00037	5502040	2.656
12	504403	0.251	2912799	3.054	21295	0.00038	6528496	3.151
20	354978	0.176	2643821	2.772	17216	0.00031	7542898	3.641
30	343613	0.171	2440670	2.559	12471	0.00022	7974087	3.849
50	336418	0.167	2236858	2.346	8515	0.00015	8239041	3.977

Tabel 5.80 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis terimmobilisasi metode adsorpsi

Waktu reaksi (jam)	Ct (mol/L)	Cb (mol/L)	Waktu reaksi (min)	d[Cb] (mol/L)	dt (menit)	d[Cb]/dt	Y = 1/{d[Cb]/dt}	X = 1/[Ct]
0	1.638	0.204	0					
0.5	1.259	1.219	30	1.015	30	0.0338	29.559	0.795
2	0.848	1.839	120	0.620	90	0.0069	145.073	1.179
6	0.448	2.656	360	0.816	240	0.0034	293.986	2.234
12	0.251	3.151	720	0.495	360	0.0014	726.608	3.991
20	0.176	3.641	1200	0.490	480	0.0010	980.322	5.671
30	0.171	3.849	1800	0.208	600	0.0003	2882.845	5.858
50	0.167	3.977	3000	0.128	1200	0.0001	9383.147	5.983



Gambar 5. 18 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil sintesis biodiesel menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (substansi = minyak sawit; t = 50 jam; T = 37°C; Rasio mol reaktan = 1:12).

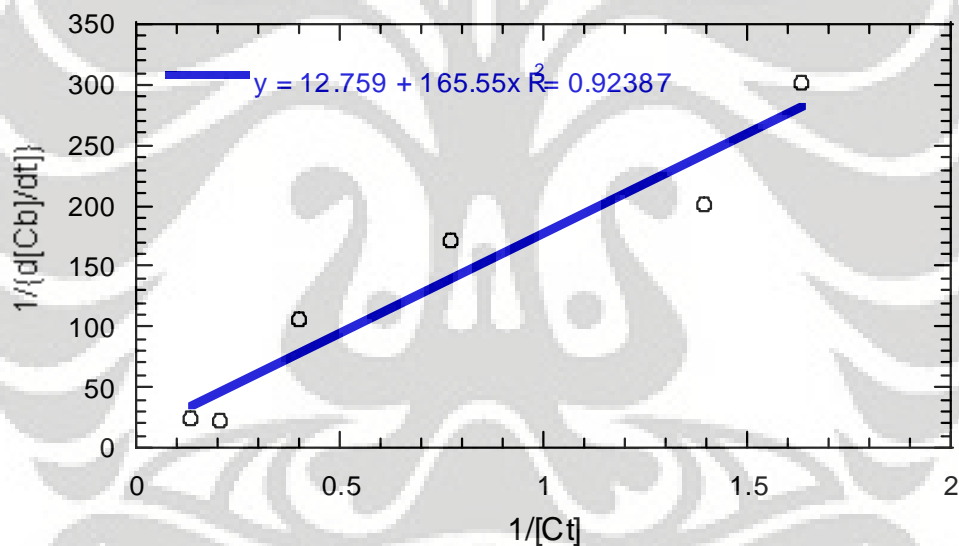
Tabel 5.81 Data hasil percobaan reaksi interesterifikasi sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Novozym 435.

t (Jam)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)	Luas Area	Konsentrasi (mol/L)
		T		D		M		F
0	16118573	8.01	1188750	1.25	80776	0.00	55649	0.03
0.5	15114535	7.51	1397196	1.47	1814033	0.03	2608927	1.26
2	9880365	4.91	2583666	2.71	6528049	0.12	11155141	5.38
6	5063364	2.52	5361685	5.62	37000245	0.66	15811294	7.63
12	2612512	1.30	5699431	5.98	80046659	1.43	20186350	9.74
20	1443194	0.72	5011215	5.25	100110591	1.79	25111271	12.12
30	1233706	0.61	4373396	4.59	70599024	1.27	29235883	14.11
50	1090288	0.54	3805581	3.99	45353687	0.81	31111904	15.02



Tabel 5. 82 Data perhitungan untuk metode linierisasi Michaelis-Menten menggunakan biokatalis Novozym 435

Waktu reaksi (jam)	Ct (mol/L)	Cb (mol/L)	Waktu reaksi (min)	d[Cb] (mol/L)	dt (menit)	d[Cb]/dt	Y = 1/{d[Cb]/dt}	X = 1/[Ct]
0	8.01	0.03	0					
0.5	7.51	1.26	30	1.232	30	0.0411	24.342	0.133
2	4.91	5.38	120	4.125	90	0.0458	21.818	0.204
6	2.52	7.63	360	2.247	240	0.0094	106.788	0.398
12	1.30	9.74	720	2.112	360	0.0059	170.473	0.771
20	0.72	12.12	1200	2.377	480	0.0050	201.920	1.395
30	0.61	14.11	1800	1.991	600	0.0033	301.374	1.632
50	0.54	15.02	3000	0.906	1200	0.0008	1325.200	1.846



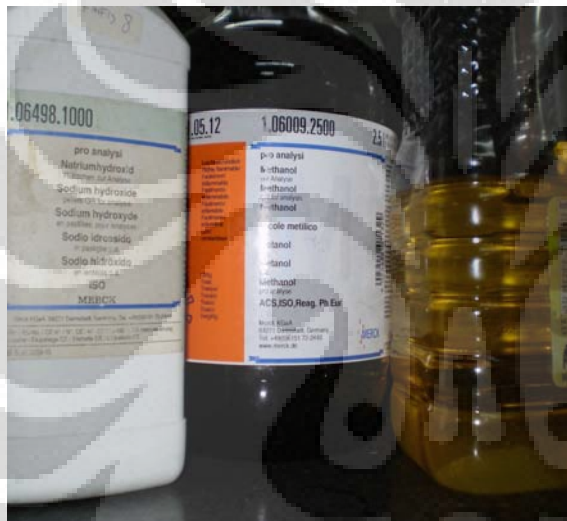
Gambar 5. 19 Hasil pemodelan metode linierisasi terhadap hasil reaksi sintesis biodiesel menggunakan Novozym 435.

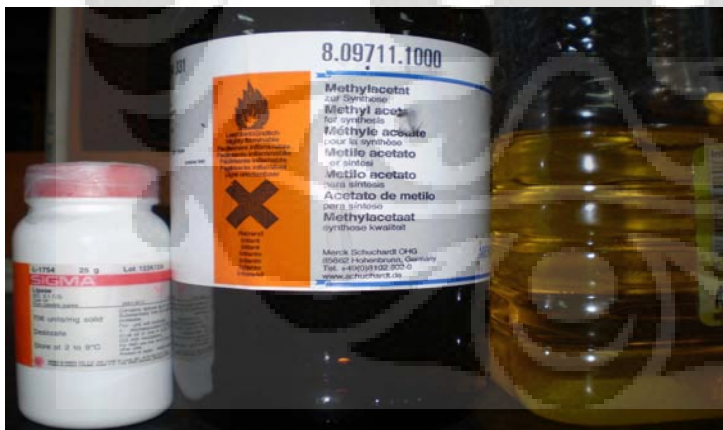
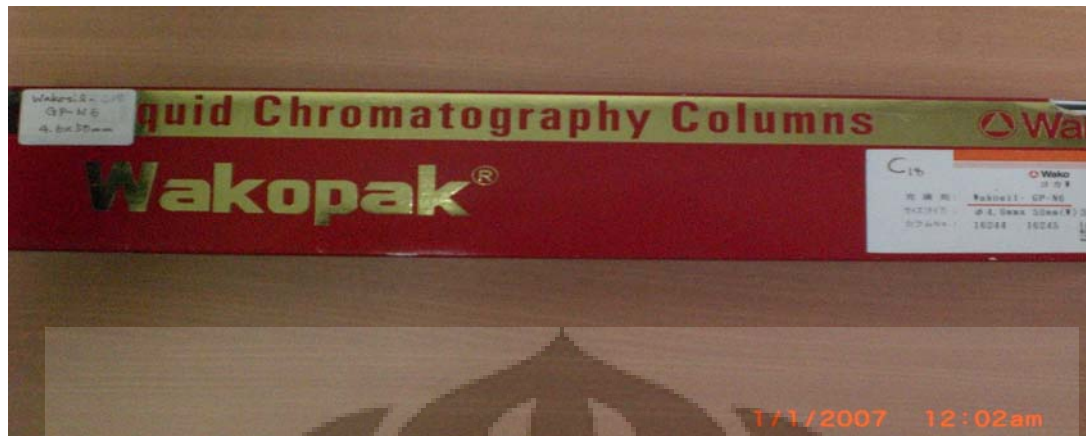
(substansi = minyak jelantah; t = 50 jam; T = 37°C; Rasio mol reaktan = 1:12)



LAMPIRAN 7

7.1 Dokumentasi Foto-Foto Percobaan







LAMPIRAN 8

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

Sumber: Adam Karl Khan

Table 11. Molecular weight of lipids

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

Sumber : Ketaren

Tabel 1. Komposisi Trigliserida Dalam Minyak Kelapa Sawit.

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

Sumber : Ketaren , S . 1986.

Tabel 2. komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit.

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

**LAMPIRAN 9****9.1 Daftar Notasi dan Simbol**

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

**LAMPIRAN 10****10.1 Data Primer Hasil Analisa HPLC**

Notasi	Keterangan
S1	Data HPLC untuk Standar 1
S2	Data HPLC untuk Standar 2
S3	Data HPLC untuk Standar 3
S4	Data HPLC untuk Standar 4
R1	t = 0 jam untuk minyak jelantah rute alkohol menggunakan katalis NaOH
R2	Biodiesel hasil sintesis antara minyak jelantah + Methanol + NaOH (t =1jam T=60°C)
R3	Minyak hasil sintesis antara minyak jelantah + Metil asetat + NaOH (t =1jam T=60°C)
R4	t = 0 jam untuk minyak sawit rute alkohol menggunakan katalis NaOH
R5	Biodiesel hasil sintesis antara minyak jelantah + Methanol + NaOH (t =1jam T=60°C)
R6	Minyak hasil sintesis antara minyak sawit + Metil asetat + NaOH (t =1jam T=60°C)
F 1.1	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; Konsentrasi bokatalis 1% wt; T=37°C; t = 50 jam)
F 1.2	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; Konsentrasi bokatalis 2 % wt; T=37°C; t = 50 jam)
F 1.3	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; Konsentrasi bokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)
F 2.1	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 1% wt; T=37°C; t = 50 jam)
F 2.2	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 2 % wt; T=37°C; t = 50 jam)
F 2.3	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 4 % wt; T=37°C; t = 50 jam)
F 3	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis candida rugosa lipase dalam bentuk tersuspensi dengan variasi waktu (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 4 % wt; T=37°C)
IM 1.1	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; Konsentrasi bokatalis 1% wt; T=37°C; t = 50 jam)
IM 1.2	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; Konsentrasi bokatalis 2% wt; T=37°C; t = 50 jam)
IM 1.3	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:3; Konsentrasi bokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)
IM 2.1	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 1% wt; T=37°C; t = 50 jam)
IM 2.2	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 2% wt; T=37°C; t = 50 jam)
IM 2.3	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)
IM 3	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis lipase terimmobilisasi metode adsorpsi dengan variasi waktu (rasio mol minyak sawit : metil asetat



	= 1:12; Konsentrasi bokatalis 4 % wt; T=37°C)
IM 4.1	Data sampel hasil uji stabilitas number of cycle 2 dari hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)
IM 4.2	Data sampel hasil uji stabilitas number of cycle 3 dari hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan lipase terimmobilisasi metode adsorpsi (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)
N 1.1	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Novozym 435 (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 1% wt; T=37°C; t = 50 jam)
N 1.2	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Novozym 435 (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 2% wt; T=37°C; t = 50 jam)
N 2	Data sampel hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan biokatalis Novozym 435 dengan variasi waktu (rasio mol minyak jelantah : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 4 % wt; T=37°C)
N 3.1	Data sampel hasil uji stabilitas number of cycle 2 dari hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan Biokatalis Novozym 435 (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)
N 3.2	Data sampel hasil uji stabilitas number of cycle 3 dari hasil sintesis biodiesel rute non alkohol menggunakan Biokatalis Novozym 435 (rasio mol minyak sawit : metil asetat = 1:12; Konsentrasi bokatalis 4% wt; T=37°C; t = 50 jam)