



UNIVERSITAS INDONESIA

**PRODUKSI METIL ESTER DENGAN MENGGUNAKAN LIPASE
AMOBIL DARI *BURKHOLDERIA CEPACIA* PADA MEMBRAN
*POLYETHERSULFONE***

SKRIPSI

FLORENSIA INDAN STEPANI

0806321575

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI BIOPROSES
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PRODUKSI METIL ESTER DENGAN MENGGUNAKAN LIPASE
AMOBIL DARI *BURKHOLDERIA CEPACIA* PADA MEMBRAN
*POLYETHERSULFONE***

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik
program studi Teknologi Bioproses, Departemen Teknik Kimia**

FLORENSIA INDAN STEPANI

0806321575

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI BIOPROSES
DEPOK
JUNI 201**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Florensia Indan Stepani

NPM : 0806321575

Tanda tangan : 

Tanggal : 25 Juni 2012



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Dini Asyifa
NPM : 0806460465
Program Studi : Teknologi Bioproses
Judul Skripsi : Immobilisasi Lipase Dari *Pseudomonas flourescens*
Dalam Membran-mikroreaktor Untuk Transesterifikasi
Trigliserida Pada Minyak Sawit Menjadi *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME)

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Ing. Ir. Misri Gozan, M.Tech. ()
Pembimbing : Dr. Ir. Achmadin Luthfi, M.Eng ()
Penguji : Ir. Rita Arbianti, M.Si ()
Penguji : Ir. Dianursanti, MT ()
Penguji : Dr. Ir. Sukirno, M.Eng ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 25 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. Berkat rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan makalah skripsi dengan judul “ Produksi Metil Ester dengan Menggunakan Lipase Amobil dari *Burkholderia cepacia* pada Membran *Polyethersulfone* ” untuk memenuhi tugas mata kuliah ,sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan seminar ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan seminar ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- (1) Dr. Ing. Misri Gozan, M.Tech selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan seminar ini.
- (2) Dr. Ir Achmadin Lutfi, M.Eng selaku pembimbing ahli beserta asistennya Kak Ruby, Kak Kukuh Mbak Farida, Mbak Elok, Mbak Amelia, Mbak Renny, Mbak Wina yang telah menyediakan waktu untuk mengajarkan banyak hal yang saya kurang tidak mengerti dalam topik skripsi ini.
- (3) Ir. Rita Arbianti M.Si selaku dosen pembimbing akademik yang telah menyediakan waktu dan membantu permasalahan akademik perkuliahan selama ini.
- (4) Para dosen Departemen Teknik Kimia FTUI yang telah memberikan ilmu danawasannya.
- (5) Para peneliti, staf peneliti dan sesama mahasiswa di LAPTIB, PUSPITEK Serpong yang telah membantu saya dalam penelitian ini.
- (6) Orangtua (OD. Syahrial dan Susana, S.Pd) ,kedua kakak saya dan Thomas Tony Irawan yang selalu memberi dukungan, doa dan semangat selama mengerjakan skripsi.
- (7) Rekan satu bimbingan : Dini Asyifa (teman paralel penelitian), Nadia C.N, Agung Marssada, Chandra PB, Aditya Rinus yang sudah membantu

dalam pencarian sumber dan saling bertukar wawasan serta informasi yang ada.

- (8) Sahabat – sahabat dan teman – teman Bioproses 2008 yang telah membantu dalam memberikan informasi serta dukungan dalam menyelesaikan skripsi.
- (9) Teman – teman kos “Mawar” seperti Giska, Isa, Ratih, Mela, Silvi dan Wulandari yang telah memberikan dukungan serta semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.
- (10) Semua pihak yang telah membantu penyusunan makalah skripsi ini secara langsung maupun tidak langsung;

Penulis menyadari bahwa dalam makalah skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga dapat menyempurnakan skripsi ini dan melaksanakan perbaikan di masa yang akan datang. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan bagi dunia pendidikan dan ilmu pengetahuan.

Depok, 25 Juni 2011

Florensia Indan Stepani

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

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

Nama : Florensia Indan Stepani

NPM : 0806321575

Program Studi : Teknologi Bioproses

Departemen : Teknik Kimia

Fakultas : Teknik

Jenis Karya : Skripsi

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

PRODUKSI METIL ESTER DENGAN MENGGUNAKAN LIPASE AMOBIL
DARI *BURKHOLDERIA CEPACIA* PADA MEMBRAN *POLYETHERSULFONE*

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok, Jawa Barat, Indonesia

Pada tanggal : 25 Juni 2012

Yang menyatakan



(Florensia Indan Stepani)

ABSTRAK

Nama : Florensia Indan Stepani

Program Studi : Teknologi Bioproses

Judul : Produksi Metil Ester dengan Menggunakan Lipase Amobil dari
Burkholderia cepacia pada Membran *Polyethersulfone*

Penggunaan membran bioreaktor sebagai support untuk immobilisasi enzim sudah semakin berkembang dalam beberapa penelitian karena memiliki kelebihan utama yaitu proses transesterifikasi reaksi enzimatik dapat berlangsung secara satu tahap. Pada penelitian ini terdapat beberapa tujuan yaitu untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim terhadap enzyme loading, kondisi optimum sintesis biodiesel, distribusi enzim pada membran polyethersulfone dan untuk membandingkan produktivitas free enzim dan lipase amobil. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini ada 2 yaitu : perbandingan mol substrat dan suhu reaksi proses sintesis biodiesel. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini adalah kondisi optimum reaksi yang terjadi pada perbandingan mol substrat 1:3 dan suhu 35°C. Serta produktivitas yang dihasilkan oleh lipase amobil lebih tinggi 0,75 kali dibandingkan dengan free enzim. Pada konsentrasi enzim 30 mg/mL didapatkan hasil enzyme loading yang berbeda yaitu : 2,34 ; 1,72 dan 4,34 gram/m². Perbedaan enzyme loading yang dihasilkan disebabkan oleh beberapa faktor yaitu : (1) tidak adanya kesetimbangan antara enzim sebagai katalis dengan reaksi transesterifikasi , (2) penggunaan membran sebagai matrik, sehingga ikatan yang terjadi sangat lemah. Pada permukaan membran *polyethersulfone* , terjadi distribusi enzim yang merata dibagian support layer membran dan penambahan mol metanol pada substrat akan membersihkan gliserol sebagai produk samping pada permukaan membran.

Kata Kunci :

Lipase, *Burkholderia cepacia*, Biodiesel, Membran *Polyethersulfone*, reaksi transesterifikasi, *Scanning Electron Microscopy*

ABSTRACT

Name : Florensia Indan Stepani

Study Program: Teknologi Bioproses

Title : Methyl Ester Production with Immobilization Lipase from
Burkholderia cepacia in Polyethersulfone Membrane

Membrane bioreactor as a support for immobilizing enzymes become is growing because it has major advantages to process transesterification reaction in one step methanolysis. In this study there are several objectives : determine the effect of enzyme concentration on enzyme loading, optimum conditions of biodiesel synthesis, the distribution of enzyme in polyethersulfone membrane and compare the productivity of free enzyme and lipase immobilized. Variables used in this study is the optimum condition for transesterification reaction and reaction temperature. The results obtained is optimum condition that occur in the substrate mole ratio of 1:3 and temperature 35°C. The productivity of immobilized lipase 0,725 times higher than free enzyme. Enzyme concentration of 30 mg/mL obtained different results namely : 2,34 ; 1,72 and 4,34 gram/m². The resulting differences caused by several factors : (1) the lack of equilibrium between catalyst enzymes and mole substrate in transesterification reaction., (2) membrane as a matrix made the bonding that occurs very weak. Methanol mole on substrate can be cleaned glycerols as side product on polyethersulfone membrane surface section.

Keyword :

Lipase, *Burkholderia cepacia*, Biodiesel, membrane polyethersulfone, reaction transesterification, *Scanning Electron Microscopy*

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
HALAMAN PENYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Batasan Masalah	4
1.5 Sistematika Penulisan	4
BAB II	6
TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Trigliserida	6
2.2 Biodiesel	9
2.3 Proses Produksi Biodiesel	11
2.3.1 Produksi Biodiesel dengan Katalis Cair	14
2.3.2 Produksi Biodiesel dengan Katalis Padat	15
2.3.3 Produksi Biodiesel dengan Katalis Enzim	16
2.3.4 Produksi Biodiesel tanpa Katalis	17
2.4 Reaksi Transesterifikasi	19
2.4.1 Mekanisme Reaksi Kimia Transesterifikasi	19
2.4.2 Mekanisme Reaksi Enzimatik Transesterifikasi	20
2.5 Enzim Lipase	22
2.6 Immobilisasi Enzim	25
2.7 Teknologi Membran	30
2.7.1 Klasifikasi Membran	30

2.7.2	Material Membran.....	31
2.7.3	Membran <i>Polyethersulfone</i> (PES).....	32
2.7.4	Prinsip Dasar Operasi Membran Reaktor.....	33
2.8	State of The Arts.....	35
BAB III		37
METODOLOGI PENELITIAN.....		37
3.1	Diagram Alir Penelitian.....	37
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	38
3.3	Desain Penelitian.....	38
3.3.1	Kurva Standar Protein dengan Metode Bradford.....	38
3.3.2	Immobilisasi Stasioner pada Membran.....	38
3.3.3	Produktivitas Biodiesel.....	39
3.4	Alat dan Bahan.....	40
3.4.1	Alat.....	40
3.4.2	Bahan.....	41
3.5	Prosedur Penelitian.....	41
3.5.1	Pembuatan Kurva Standar Protein dengan Metode Bradford.....	41
3.5.2	Immobilisasi Stasioner pada Membran.....	42
3.5.3	Analisa Derajat Immobilisasi dan <i>Enzyme Loading</i>	43
3.5.4	Produksi Biodiesel.....	45
3.5.5	Metode Analisis.....	46
BAB IV		47
HASIL DAN PEMBAHASAN.....		47
4.1	Immobilisasi Enzim.....	47
4.1.1	Immobilisasi Lipase Fasa Stasioner.....	47
4.2	Produktivitas Biodiesel.....	49
4.2.1	Pengaruh Substrat dan Suhu terhadap Produktivitas Biodiesel.....	51
4.2.2	Peningkatan Produktivitas Lipase Amobil.....	53
4.3	Distribusi Enzim.....	55

BAB V	58
KESIMPULAN DAN SARAN.....	58
5.1 Kesimpulan	58
5.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA.....	60
LAMPIRAN.....	63



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Kandungan Asam Lemak dalam Minyak Kelapa Sawit	7
Tabel 2.2.	Kandungan Asa Lemak yang Terikat pada Trigliserida Minyak Sawit	8
Tabel 2.3.	Perbandingan Biodiesel dan Solar	9
Tabel 2.4.	Standar Nasional Biodiesel di Indonesia	10
Tabel 2.5.	Kelebihan dan Kekurangan Proses Pembuatan Biodiesel	13
Tabel 2.6.	Perbandingan antara Katalis Basa dengan Biokatalis untuk Sintesis Biodiesel	17
Tabel 2.7.	Perbandingan Katalis Kimia dan Nonkatalis Superkritikal Metanol untuk Produksi Biodiesel dari Minyak Nabati	18
Tabel 2.8.	Mikrobial Penghasil Lipase untuk Produksi Biodiesel	23
Tabel 2.9.	Perbandingan Preparasi dan Karakteristik Immobilisasi Enzim ...	29
Tabel 2.10.	Parameter Teknis Membran Polyethersulfone	33
Tabel 2.11.	State of The Arts Penelitian	36
Tabel 3.1.	Desain Eksperimen Kurva Standar Protein	38
Tabel 3.2.	Desain Eksperimen Immobilisasi Stasioner	38
Tabel 3.3.	Desain Eksperimen Pengaruh Substrat dan Suhu terhadap Produktivitas	39
Tabel 3.4.	Desain Eksperimen Produktivitas antara Free Enzim dan Lipase Amobil	40
Tabel 3.5.	Alat – Alat yang digunakan pada Penelitian	40

Tabel 3.6. Bahan yang digunakan pada Penelitian 41

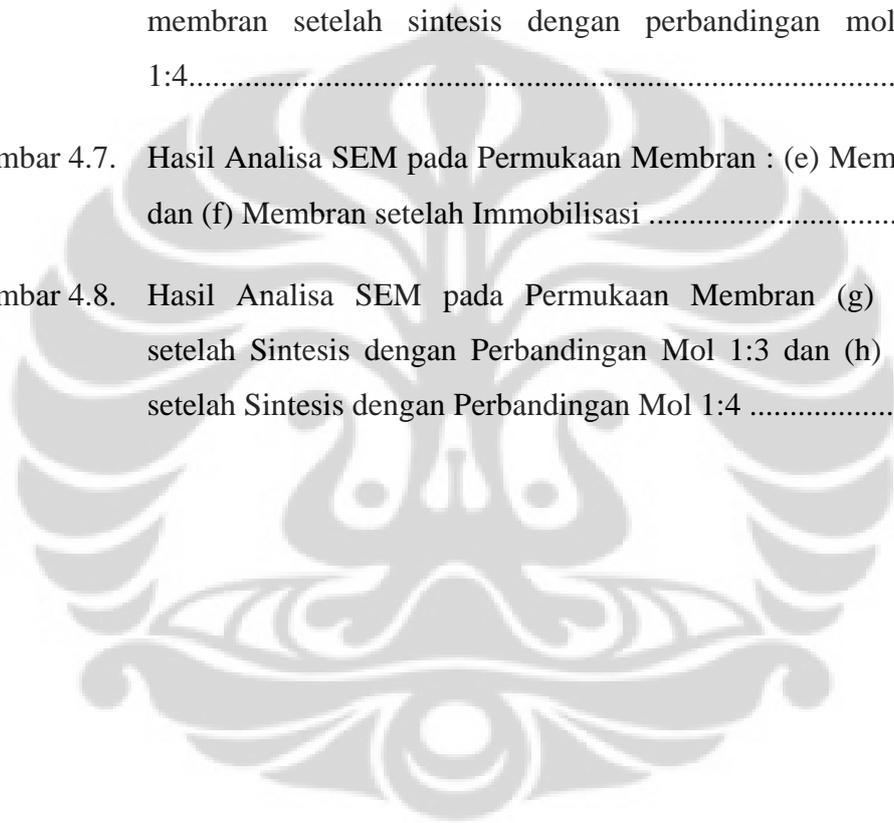
Tabel 4.1. Hasil Immobilisasi Fasa Stasioner Enzim Lipase 48



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Reaksi Pembentukan Trigliserida	6
Gambar 2.2.	Struktur Asam Lemak	7
Gambar 2.3.	Proses Reaksi Transesterifikasi Trigliserida dengan Metanol	12
Gambar 2.4.	Mekanisme Proses Pembuatan Biodiesel dengan Katalis Basa... ..	14
Gambar 2.5.	Pembuatan Biodiesel Tanpa Katalis	18
Gambar 2.6.	Reaksi Transesterifikasi dari Minyak Sayur Menggunakan Alkohol Menghasilkan Ester dan Gliserol	19
Gambar 2.7.	Skema Mekanisme Ping Pong Bi BI oleh Candida antarctica	21
Gambar 2.8.	Klasifikasi Immobilisasi Enzim	26
Gambar 2.9.	Jenis “carrier” enzim berdasarkan tipe dan ukuran (a) bead ; (b) fiber ; (c) kapsul ; (d) film dan (e) membran	27
Gambar 2.10.	Membran Polyethersulfone (PES)	32
Gambar 2.11.	Prinsip Dasar Proses Produksi Biodiesel dengan Membran Reaktor	34
Gambar 3.1.	Diagram Alir Penelitian	36
Gambar 3.2.	Rangkaian Ala untuk Proses Ultrafiltrasi	43
Gambar 3.3.	Rangkaian Alat untuk Proses Produksi Biodiesel	45
Gambar 4.1.	Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap <i>Enzyme Loading</i>	49
Gambar 4.2.	Hasil Analisa Menggunakan GC/MS (a) metil palmitat dan (b) metil oleat	51

Gambar 4.3. Produktivitas Lipase Amobil dengan Berbagai Perbandingan Substrat dan Suhu	52
Gambar 4.4. Perbandingan Produktivitas Free Enzim dan Lipase Amobil	53
Gambar 4.5. Hasil Analisa SEM pada sisi melintang membran (a) membran baru dan (b) membran setelah proses immobilisasi	55
Gambar 4.6. Hasil Analisa SEM membran sisi melintang pada (c) membran setelah sintesis dengan perbandingan mol substrat 1:3 dan (d) membran setelah sintesis dengan perbandingan mol substrat 1:4.....	56
Gambar 4.7. Hasil Analisa SEM pada Permukaan Membran : (e) Membran baru dan (f) Membran setelah Immobilisasi	56
Gambar 4.8. Hasil Analisa SEM pada Permukaan Membran (g) Membran setelah Sintesis dengan Perbandingan Mol 1:3 dan (h) Membran setelah Sintesis dengan Perbandingan Mol 1:4	57



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peningkatan konsentrasi CO₂ di bumi disebabkan oleh penggunaan bahan bakar fosil serta alih fungsi hutan menjadi lahan ekonomis (Utomo, 2007). Salah satu sumber yang cukup menjanjikan untuk terus dikembangkan adalah bahan bakar hayati, yaitu bahan bakar terbarukan yang dapat diproduksi dari biomassa seperti minyak nabati, lemak hewan serta biomassa lainnya (Demirbas, 2006). Biodiesel merupakan salah satu biomassa yang dapat dijadikan sebagai energi alternatif. Bahan bakar ini memiliki beberapa kelebihan jika dibandingkan dengan bahan bakar mesin disel antara lain : (1) merupakan bahan bakar yang tidak beracun dan dapat dibiodegradasi, (2) mempunyai bilangan setan, (3) mengurangi emisi karbon monoksida, hidrokarbon dan Nox, dan (4) terdapat dalam fase cair (Haryanto, 2002). Dari segi bahan baku negara Indonesia memiliki potensi yang tinggi untuk menghasilkan biodiesel, hal ini didasarkan data penyebaran perkebunan kelapa sawit di Indonesia pada tahun 2011 dengan luas 6,1 juta Ha (Nusantara, 2011).

Secara umum produksi biodiesel yang sekarang ini menggunakan proses transesterifikasi trigliserida. Transesterifikasi disebut juga alkoholis atau metanolis yaitu proses penggantian alkohol ester (gliserol) dengan alkohol lain (Sontaag, 1981). Alkoholis lemak umumnya menggunakan alkohol rantai pendek dengan katalis kimia (asam atau basa) atau biokatalis (enzimatik). Penggunaan katalis kimia dalam proses produksi biodiesel memiliki beberapa kelemahan, yaitu (1) memerlukan kemurnian bahan baku yang tinggi (kadar asam lemak bebas kurang dari 2%), (2) dapat menimbulkan limbah cair dan biaya pemurnian produk yang tinggi dan (3) penggunaan katalis kimia dapat mengakibatkan sulitnya dilakukan proses pemisahan katalis setelah proses.

Kelemahan dari katalis kimia ini, dapat di perkecil dengan penggunaan katalis enzim khususnya lipase. Katalis enzim memiliki beberapa kelebihan antara lain : (1) bersifat spesifik sehingga pembuatan produk samping dapat dihindari, (2) temperatur dan tekanan rendah untuk proses reaksi sehingga akan berpengaruh untuk pengurangan biaya produksi terutama utilitas, (3) katalis enzim lebih ramah lingkungan (Corneliasari and Komalasari, 2009) dan (4) proses pemisahan gliserol dapat dilakukan tanpa perlu dilakukan proses pemurnian.

Penggunaan katalis enzim memiliki beberapa kelebihan, akan tetapi memiliki kelemahan juga yaitu : (1) kelarutan alkohol rantai pendek, seperti metanol, dengan minyak adalah kecil dan keberadaannya mendorong terjadinya deaktivasi enzim (Shimada et al., 1999), (2) kelarutan gliserol yang kecil pada metanol menyebabkan gliserol yang terbentuk dapat melapisi enzim sehingga menurunkan aktivitas enzim (Dossat et al., 1999) dan (3) biaya pengadaan enzim tinggi sehingga menyebabkan proses ini kurang ekonomis. Oleh karena itu diperlukan suatu teknik reaksi tertentu yang dapat digunakan untuk mengatasi beberapa kelemahan katalis ini. Reaksi tersebut adalah immobilisasi enzim dengan bantuan *support* sebagai media pembantu yang dapat menahan enzim dalam struktur molekulnya, sehingga diharapkan enzim dapat digunakan kembali untuk dapat menekan biaya produksi reaksi enzimatik (Wulan et al.). Solusi agar dapat menekan biaya produksi secara enzimatik, maka enzim lipase yang digunakan dalam bentuk terimmobilisasi, sehingga keberhasilan dalam produksi biodiesel dipengaruhi oleh teknik immobilisasi (Balcao et al., 1996).

Enzim yang terimmobilisasi didefinisikan sebagai enzim yang spesifik ditempatkan dalam suatu ruang tertentu dengan tetap memiliki aktivitas katalitiknya dan dapat digunakan secara berulang atau terus menerus (Chibata, 1978a). Selain dapat menekan biaya produksi, kelebihan dari teknik immobilisasi ini adalah (1) proses reaksi dapat dijalankan secara kontinyu dan dapat dikontrol secara langsung dan (2) produk yang dihasilkan juga mudah untuk dipisahkan. Selama ini teknik yang paling sering digunakan adalah metode immobilisasi adsorpsi bertekanan dengan menggunakan berbagai macam *carrier*. Salah satu *carrier* yang digunakan untuk immobilisasi enzim adalah membran. Enzim yang

sudah terimmobilisasi dan menempel pada permukaan membran dapat dikembangkan menjadi biokatalisator pada bioreaktor membran. Kelebihan membran sebagai *carrier* ini adalah produk biodiesel yang dihasilkan dapat terpisah dari reaktan, pereaksi dan biokatalisator yang digunakan. Selain itu membran juga memiliki beberapa kelebihan yaitu : (1) dapat digunakan berulang, (2) penghentian proses cepat, (3) kestabilan lebih baik dengan adanya ikatan pada immobilisasi, (4) hasil tidak terkontaminasi enzim, (5) dapat digunakan untuk proses kontinyu serta (6) pengontrolan lebih baik. Kelebihan inilah yang akan memudahkan untuk proses pemurnian produk dan tidak membutuhkan energi atau biaya yang tinggi (Mediariska, *et al.*, 2007). Pada akhirnya dengan metode immobilisasi enzim dengan menggunakan membran sebagai bioreaktornya diharapkan dapat menekan biaya pengadaan bahan dan biaya produksi biodiesel sehingga dapat memperoleh kondisi optimum dari proses produksi tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka rumusan masalah yang akan diangkat dalam penelitian adalah :

1. Bagaimana hubungan konsentrasi enzim lipase terhadap *enzyme loading* pada metode immobilisasi adsorpsi-filtrasi pada membran polyethersulfone (PES) ?
2. Bagaimana pengaruh rasio mol substrat dan temperatur terhadap produktivitas enzim lipase ?
3. Bagaimana distribusi enzim lipase amobil dalam membran *polyethersulfone* (PES) ?
4. Bagaimana perbandingan produktivitas *free* enzim lipase dan lipase amobil ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun yang menjadi tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim lipase terhadap *enzyme loading* dalam proses produksi biodiesel.

2. Untuk mengetahui pengaruh rasio mol substrat dan suhu reaksi terhadap produktivitas enzim lipase dalam proses produksi metil ester.
3. Untuk mengetahui distribusi enzim lipase pada permukaan dan sisi melintang membran *polyethersulfone*.
4. Untuk membandingkan produktivitas produksi metil ester dengan menggunakan *free* enzim dan lipase amobil.

1.4 Batasan Masalah

Dalam penelitian ini, yang menjadi batasan masalah adalah :

1. Enzim lipase yang digunakan untuk proses immobilisasi dan sintesis adalah lipase dari *Burkholderia cepacia* yang dibeli dari Amano Enzyme (Nagoya, Japan).
2. Metode yang digunakan untuk proses immobilisasi enzim lipase adalah adsorpsi bertekanan yang telah dimodifikasi.
3. Uji aktivitas enzim lipase dilakukan pada bioreaktor membran semi-kontinyu.
4. Substrat yang digunakan untuk mensintesis biodiesel adalah minyak goreng kelapa sawit.

1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan dalam skripsi ini adalah sebagai berikut :

BAB I PENDAHULUAN

Bab ini 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 sintesis biodiesel, enzim lipase yang digunakan *Burkholderia cepacia*, reaksi yang terbentuk dan perlakuan enzim yang terImmobilisasi.

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

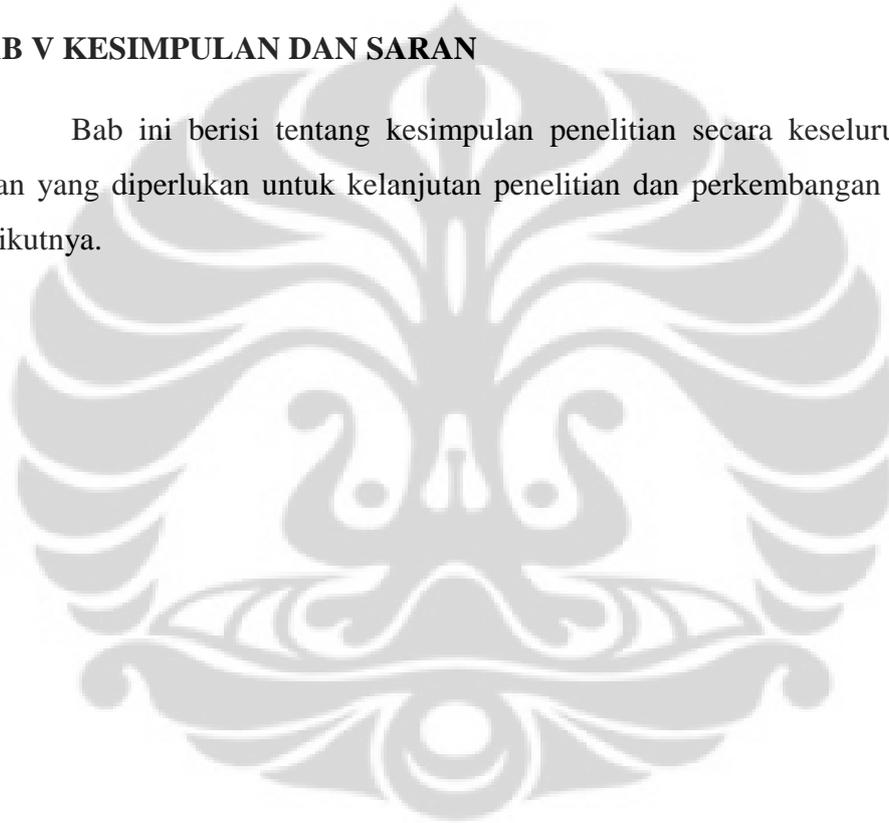
Bab ini berisi penjelasan diagram alir penelitian, bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian, serta prosedur yang dilakukan pada percobaan yakni uji aktivitas lipase, uji stabilitas lipase telah diimmobilisasi dengan membran.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini berisi tentang pengolahan data, pembahasan hasil dan analisa-analisa terhadap hasil penelitian yang telah dilakukan.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

Bab ini berisi tentang kesimpulan penelitian secara keseluruhan serta saran yang diperlukan untuk kelanjutan penelitian dan perkembangan penelitian berikutnya.

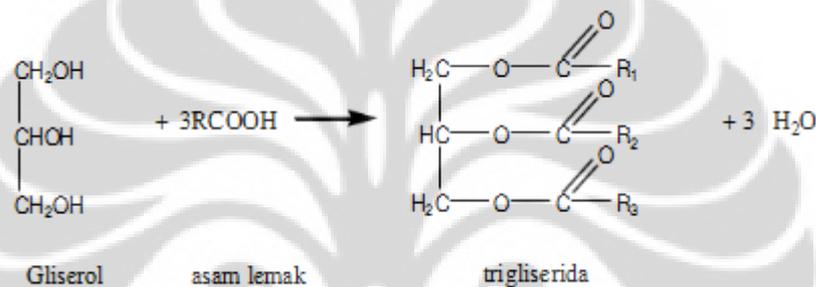


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Trigliserida

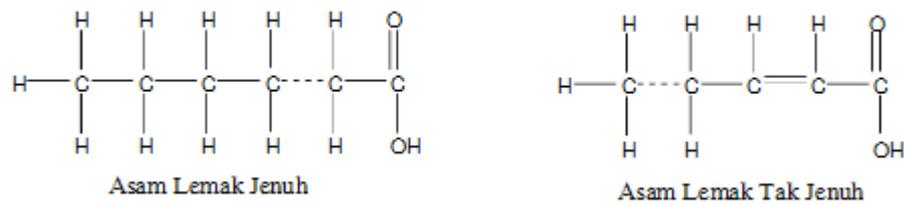
Minyak kelapa sawit terdiri dari trigliserida sebagaimana lemak dan minyak lainnya. minyak kelapa sawit merupakan ester dari gliserol dengan tiga molekul asam lemak berdasarkan reaksi sebagai berikut :



Gambar 2.1. Reaksi Pembentukan Trigliserida

(Sumber : Pasaribu, 2004)

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 disebut dengan asam lemak jenuh. Secara umum struktur asam lemak dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 2.2. Struktur Asam Lemak

(Sumber : Pasaribu, 2004)

Semakin jenuh molekul asam lemak dalam molekul trigliserida, semakin tinggi titik beku atau titik cair minyak tersebut. Pada suhu kamar biasanya berada pada fase padat, sebaliknya semakin titik jenuh asam lemak dalam molekul trigliserida maka makin rendah titik bek atau titik cair minyak tersebut sehingga pada suhu kamar berada pada fase cair. Berikut ini merupakan komposisi asam lemak yang terkandung dalam minyak sawit.

Tabel. 2.1. Kandungan Asam Lemak dalam Minyak Kelapa Sawit

Asam Lemak	% terhadap asam lemak total	
	Kisaran	Rata-rata
Laurat	0,1 – 1,0	0,2
Miristat	0,9 – 0,15	1,1
Palmitat	41,8 – 45,8	44,0
Oleat	37,3 – 40,8	39,2
Stearat	4,2 – 5,1	4,5

Sumber : (Hariyadi, 2010)

Tabel 2.2. Kandungan Asam Lemak yang Terikat pada Trigliserida Minyak Sawit.

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

Minyak sawit memiliki karakteristik asam lemak utama penyusunnya terdiri atas 31 – 45% asam palmitat, 37 – 40% oleat serta kandungan mikronutrientnya seperti karotenoid, tokoferol, tokotrienol dan filosterol. Selain itu keunggulan minyak sawit sebagai minyak makan adalah tidak perlu dilakukan parsial hidrogenasi untuk pembuatan margarin dan minyak goreng (*deep frying fat*), *trans-fatty acid* rendah, dan harganya murah. Klaim produk minyak sawit sebagai produk sehat telah banyak dilakukan penelitian mendasar, sehingga klaim unggulannya mempunyai dasar yang kuat. Meskipun minyak sawit mengandung *mono-unsaturated fatty acid* (omega 9) cukup tinggi, kandungan asam lemak jenuhnya (palmitat) juga tinggi yaitu 40%. Asam palmitat yang ada dalam minyak sawit mempunyai nilai positif karena dapat menurunkan kolesterol LDL (*low density lipoprotein*) (Muchtadi, 2000).

2.2 Biodiesel

Biodiesel merupakan monoalkil ester dari asam – asam lemak rantai panjang yang terkandung dalam minyak nabati atau lemak hewani untuk digunakan sebagai bahan bakar mesin diesel. Bahan bakar ini bersifat relatif stabil, cair pada suhu ruang (titik leleh antara 4 - 18°C), non-korosif dan titik didih rendah. Biodiesel ini merupakan bahan bakar yang ramah lingkungan karena menghasilkan emisi gas buang yang jauh lebih baik dibandingkan dengan diesel. Biodiesel diperoleh melalui reaksi transesterifikasi trigliserida dan atau reaksi esterifikasi asam lemak bebas tergantung dari kualitas minyak nabati yang digunakan sebagai bahan baku.

Biodiesel sebagai bahan bakar alternatif yang memiliki banyak keuntungan jika dibandingkan dengan solar atau diantaranya yang berasal dari bahan baku yang diperbaharui yaitu : (1) biodiesel memiliki emisi bahan bakar (gas buang) yang lebih baik seperti emisi CO dan SO₃ yang rendah ; (2) memiliki *cetane number* yang lebih tinggi sehingga pembakaran lebih sempurna (*clear burning*); (3) memiliki sifat pelumasan terhadap piston mesin, karena biodiesel memiliki titik nyala yang tinggi 150°C serta dapat memberikan sifat pelumasan yang dapat memperpanjang umur mesin (Zhang et al., 2003) dan dapat terurai (*biodegradable*) sehingga tidak menghasilkan racun (*non-toxic*); (4) memiliki bilangan asap (*smoke number*) yang rendah dan (5) mempunyai *flash point* yang tinggi sehingga mudah dalam penyimpanan. Dibawah ini terdapat tabel perbandingan antara biodiesel dan solar.

Tabel 2.3. Perbandingan Biodiesel dan Solar

Fisika Kimia	Biodiesel	Solar (Petrodiesel)
Kelembaban %	0,1	0,1
<i>Engine power</i>	Energi yang dihasilkan 128.000 BTU	Energi yang dihasilkan 130.000 BTU
<i>Engine torque</i>	Sama	Sama
Modifikasi <i>engine</i>	Tidak diperlukan	-
Konsumsi bahan bakar	Sama	Sama
Lubrikasi	Lebih tinggi	Lebih rendah

Fisika Kimia	Biodiesel	Solar (Petrodiesel)
Emisi	Co rendah, total hidrokarbon, sulfur dioksida dan nitroksida.	Co tinggi total hidrokarbon sulfur dioksida dan nitroksida.
Penanganan	Flamable lebih rendah	Flamable lebih tinggi
Lingkungan	Toxistas rendah	Toxistas lebih tinggi
Keberadaan	Terbarukan (renewable)	Tak terbarukan

Sumber : www.bexi.co.id

Berdasarkan Tabel 2.1 dapat dicermati bahwa biodiesel memiliki beberapa kelebihan baik dari sifat fisika kimia maupun perbandingan emisi dengan bahan bakar lainnya. Oleh karena itu bahan bakar ini sangat potensial jika dikembangkan di wilayah Indonesia. Dengan produksi *Crude Palm Oil* (CPO) sebesar 8 juta ton, pengembangan biodiesel di Indonesia dapat terlaksana dimana pengembangan ini tidak hanya berdampak positif bagi penurunan pencemaran udara tetapi juga akan berdampak langsung peningkatan kesejahteraan masyarakat.

Dengan mempertimbangkan aspek kelimpahan bahan baku, teknologi pembuatan, dan indenpedensi Indonesia terhadap energi diesel, maka selayaknya potensi pengembangan biodiesel sebagai suatu alternatif yang dapat dengan cepat diimplementasikan. Oleh karena itu ,sebagai langkah awal pemerintah Indonesia telah menetapkan Standar Nasional Indonesia tentang biodiesel, hal ini dilakukan sebagai bentuk dukungan pengembangan biodiesel di Indonesia (Riptek, 2012).

Tabel 2.4. Standar Nasional Biodiesel di Indonesia

No.	Parameter	Unit	Nilai	Metode
1.	Densitas (40°C)	Kg/m ³	850 – 890	ASTM D 1298
2.	Viskositas (40°C)	Mm ² /s (cSt)	2,3 – 6,0	ASTM D 445
3.	<i>Cetane Number</i>		Min 51	ASTM D 613
4.	<i>Flash Point</i> (close up)	°C		
5.	<i>Cloud point</i>	°C		
6.	<i>Coper Strip Corrosion</i> (3 jam, 50°C)		Max no.3	ASTM D 130
7.	Carbon Residu - Sample - 10% dist residu	% mass	Max 0,005 (max 0,3)	ASTM D 4530
8.	Air dan sedimen	% vol	Max 0,05*	ASTM D 2709 atau ASTM D 1160

No.	Parameter	Unit	Nilai	Metode
9.	Temperatur destilasi, 90% recovered	°C	Max 360	ASTM D 1160
10.	Sulfated ash	% mass	Max 0,02	ASTM D 874
11.	Sulfur	Ppm (mg/kg)	Max 100	ASTM D 5453 atau ASTM D 1266
12.	<i>Phosphorous content</i>	Ppm (mg/kg)	Max 10	AOCS Ca 14 – 56 atau ASTM D 6584
13.	Bilangan asam (N_A)	Mg-KOH/g	Max 0,8	AOCS Cd 3 – 36 atau ASTM D 664
14.	<i>Free</i> Gliserin	% mass	Max 0,02	AOCS Ca 14 – 56 atau ASTM D 6584
15.	Total Gliserin (G_{tot})	% mass	Max 0,24	AOCS Ca 14 – 56 atau ASTM D 6584
16.	Kandungan ester	% mass	Min 96,5	Dihitung **
17.	Bilangan iod	% mass (g I_2 /100 g)	Max 115	AOCS Cd 1 - 25
18.	<i>Halphen test</i>		Negative	AOCS Cd 1 - 25

Sumber : Standar Nasional Indonesia 04-7182-2006

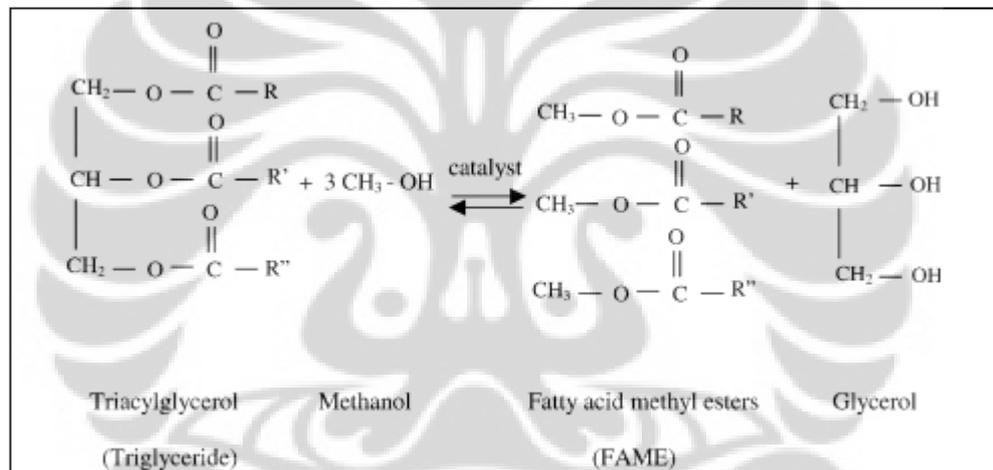
2.3 Proses Produksi Biodiesel

Biodiesel dapat diproduksi dari minyak trigliserida (minyak kelapa sawit, kedelai, kacang tanah, biji bunga matahari, jarak pagar, kapuk dan lain-lain). Viskositas kinematik minyak nabati lebih besar daripada bahan bakar diesel konvensional turunan minyak bumi. Viskositas yang tinggi menyebabkan rendahnya proses atomisasi bahan bakar pada ruang bakar mesin diesel dan menyebabkan masalah operasional seperti terbentuknya kerak/deposit pada mesin. Untuk mengatasi masalah viskositas yang tinggi pada minyak nabati, yaitu dengan cara transesterifikasi, pirolisis pencampuran dengan bahan bakar diesel turunan minyak bumi dan mikroemulsi. Dalam berbagai industri – industri penghasil biodiesel proses produksinya melalui reaksi esterifikasi katalis asam dan transesterifikasi katalis basa.

Reaksi transesterifikasi adalah proses mereaksikan trigliserida dalam minyak nabati atau lemak hewani dengan alkohol rantai pendek seperti metanol atau etanol sehingga menghasilkan metil ester asam lemak (*Fatty Acid Methyl Esters* / FAME) atau biodiesel dan gliserol (gliserin) sebagai produk samping. Dalam reaksi transesterifikasi rasio molar alkohol dengan minyak merupakan

salah satu faktor penting yang akan terjadi secara optimal apabila rasio molar metanol yang digunakan terhadap minyak lebih besar dari 3:1.

Penggunaan metanol dalam reaksi transesterifikasi dikarenakan harganya murah dan banyak dikembangkan dalam penelitian sekarang ini. Tujuan dari reaksi transesterifikasi ini adalah menurunkan viskositas minyak, sehingga dapat mendekati nilai viskositas solar. Hal ini dikarenakan jika viskositas biodiesel yang tinggi dapat menyebabkan kesulitan dalam pemompaan / pemasukan bahan bakar menuju ruang bakar dan menyebabkan atomisasi lebih sukar terjadi sehingga dapat mengakibatkan pembakaran kurang sempurna dan menimbulkan endapan pada nosel (Hambali et al., 2007). Dibawah ini merupakan gambaran yang menunjukkan reaksi transesterifikasi trigliserida dengan metanol.



Gambar 2.3. Proses Reaksi Transesterifikasi Trigliserida dengan Metanol

Sumber : (Zhang et al., 2003)

Proses pembuatan biodiesel secara umum dibagi menjadi dua, yaitu proses menggunakan katalis dan proses tanpa katalis. Katalis yang digunakan pada proses pembuatan biodiesel bisa berupa katalis kimia (asam atau basa) maupun katalis biologi (enzim). Proses yang pertama kali dikembangkan adalah dengan menggunakan katalis biologi, dan yang terbaru adalah pembuatan biodiesel tanpa katalis.

Ketiga proses tersebut memiliki beberapa kelebihan dan kekurangan. Kelebihan dan kekurangan tersebut dapat dilihat pada Tabel dibawah ini :

Tabel 2.5. Kelebihan dan Kekurangan Proses Pembuatan Biodiesel

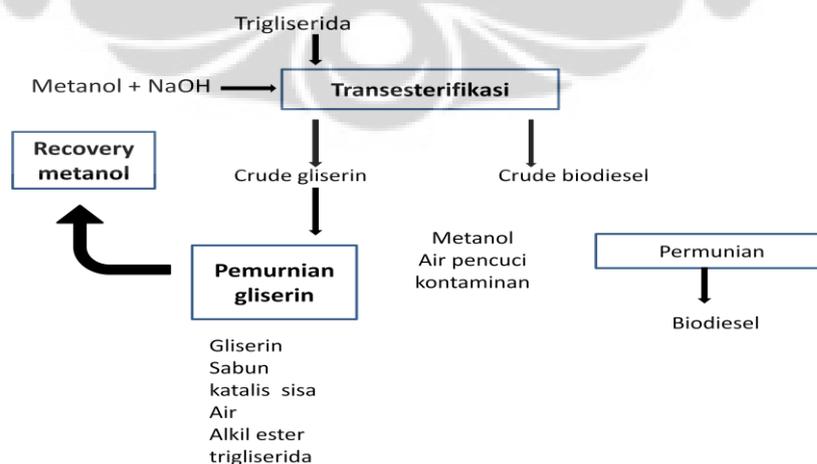
Proses Pembuatan Biodiesel	Kelebihan	Kekurangan
Katalis Asam	<ul style="list-style-type: none"> • Tidak menghasilkan produk samping berupa sabun • Mampu mengubah asam lemak bebas menjadi biodiesel • Reaksi terjadi pada suhu 65°C 	<ul style="list-style-type: none"> • Reaksi berjalan lebih lambat • Rasio metanol : trigliserida yang dibutuhkan lebih besar • Timbul pengotor (mono,di-) gliserida sebagai hasil reaksi intermediet.
Katalis basa	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur reaksi rendah 	<ul style="list-style-type: none"> • Sistem reaksi harus bebas air agar tidak terjadi hidrolisis trigliserida maupun alkil ester menjadi asam lemak bebas • Maksimum kandungan asam lemak bebas adalah 2% agar reaksi penyabunan dapat diminimalisasi. • Diperlukan air dalam jumlah besar untuk mentralkan produk dari sisa katalis. • Timbul pengotor (mono,di) gliserida sebagai hasil reaksi intermediet.
Katalis padat	<ul style="list-style-type: none"> • Katalis lebih mudah dipisahkan dengan produk • Katalis dapat digunakan kembali 	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur reaksi tinggi

Proses Pembuatan Biodiesel	Kelebihan	Kekurangan
Tanpa katalis	<ul style="list-style-type: none"> • Trigliserida dan asam lemak bebas direaksikan pada laju ekuivalen. • Fasa homogen menghilangkan masalah difusivitas • Proses dapat menoleransi kadar air dalam jumlah tinggi. • Tidak perlu unit pemisahan katalis • Jika rasio metanol : minyak tinggi reaksi dapat berlangsung hanya beberapa menit. 	<ul style="list-style-type: none"> • Proses dioperasikan pada tekanan sangat tinggi. • Temperatur tinggi mengakibatkan dibutuhkan biaya tinggi untuk pemanasan dan pendinginan • Tingginya rasio metanol : minyak (biasanya di set pada 42) mengakibatkan tingginya biaya pada evaporasi metanol sisa. • Unit pencucian gliserol tetap dibutuhkan.

Sumber : (Corneliasari and Komalasari, 2009)

2.3.1 Produksi Biodiesel dengan Katalis Cair

Reaksi transesterifikasi dilakukan dengan mereaksikan minyak nabati dengan alkohol sehingga menghasilkan alkil ester (biodiesel) dengan produk samping adalah gliserol. Berikut ini merupakan mekanisme proses pembuatan biodiesel dengan katalis basa.



Gambar 2.4. Mekanisme Proses Pembuatan Biodiesel dengan Katalis Basa

Sumber : (Tyson, 2003)

Dari gambar diatas dapat dijelaskan bahwa reaksi transesterifikasi dengan katalis basa dapat dilangsungkan secara *batch* maupun kontinyu dengan mereaksikan metanol dengan trigliserida pada suasana basa. Katalis yang digunakan dalam reaksi transesterifikasi dapat berupa katalis asam maupun basa.

Secara umum reaksi transesterifikasi dilangsungkan pada rasio alkohol : trigliserida adalah 6:1, pada temperatur 60°C selama 1 jam sengan penggunaan katalis 0,3 – 1,5% (Gerpen et al., 2004). Perolehan alkil ester yang bisa didapatkan dari reaksi tersebut mencapai 85-94%. Karena kelarutan gliserol pada alkil ester sangat kecil, pemisahan keduanya dapat dilakukan dengan mudah dan cepat dengan menggunakan metode sentrifugasi. *Crude* biodiesel yang sudah terpisah dicuci dengan air hangat untuk memisahkan sisa metanol dan garam yang masih terperangkap pada biodiesel, selanjutnya proses pengeringan untuk mendapatkan biodiesel yang lebih murni (Corneliasari and Komalasari, 2009).

Katalis yang biasa digunakan dalam reaksi transesterifikasi dapat berupa katalis asam maupun basa. pada proses katalis homogen, katalis basa (natrium /kalium hidroksida) memeberikan waktu yang cepat daripada reaksi dengan katalis asam (Gerpen et al., 2004).

2.3.2 Produksi Biodiesel dengan Katalis Padat

Secara umum pembuatan biodiesel menggunakan katalis cair berupa asam, basa maupun enzim pada proses mereaksikannya. Penggunaan katalis cair ini memiliki beberapa kelemahan yaitu proses pemisahan dan pemurnian biodiesel yang sulit. Oleh karena itu, dikembangkan suatu metode produksi biodiesel dengan menggunakan katalis padat. Proses mereaksikannya hampir sama dengan katalis cair hanya yang berbeda adalah fasa katalisnya. Jenis katalis padat yang digunakan untuk produksi biodiesel yaitu :

1. Katalis seng oksida yang ditambahkan pada aluminium untuk mengkatalis reaksi alkoholisis minyak dan lemak dengan rantai alkohol yan lebih panjang daripada metanol.
2. Katalis kalsium dan barium asetat untuk mengkatalis reaksi metanolisis pada minyak kedelai.

3. Katalis pada Cs-MCM-41 Cs-sepiolit dan hidrotalsit untuk mengkatalis reaksi alkoholisis trigliserida.
4. Katalis zeolit yang dimodifikasi dengan kation basa menggunakan ion exchange/ dekomposisi garam logam basa untuk mengkatalis reaksi alkoholisis minyak kedelai dengan metanol.

2.3.3 Produksi Biodiesel dengan Katalis Enzim

Penggunaan katalis alkali menyisakan masalah dalam hal pemurnian biodiesel, sehingga pada akhirnya diperlukan katalis heterogen dan mampu mengarahkan reaksi secara spesifik. Saat ini penelitian tentang penggunaan enzim sebagai katalis dijadikan sebagai solusi untuk mengatasi kekurangan dari katalis alkali. Akhir-akhir ini, beberapa penelitian sintesis biodiesel menggunakan enzim lipase untuk reaksi transesterifikasi pada produksi biodiesel. Beberapa penelitian sekarang ini menggunakan lipase untuk produksi biodiesel, dimana lipase tersebut dari berbagai sumber, yaitu :

- Lipase dari *Candida sp* ((Watanabe et al., 2000)
- Lipase dari *Pseudomonas sp* (Machsun, 2011)
- Lipase dari *Rizhopus sp* (Kaieda et al., 1999)
- Lipase dari *Carica Papaya* (Pinyaphong et al., 2011)

Penggunaan lipase sebagai katalis untuk produksi biodiesel sangat menguntungkan dibandingkan dengan katalis basa, yaitu :

1. Berbeda fasa dengan reaktan/produk baik dalam bentuk *free* atau terimmobilisasi sehingga biokatalis dapat dipisahkan dengan mudah.
2. Mampu mengarahkan reaksi secara spesifik tanpa adanya reaksi samping yang tak diinginkan seperti reaksi penyabunan.

Untuk lebih jelas, dibawah ini terdapat tabel perbandingan antara katalis basa, katalis asam dan superkritikal dengan biokatalis untuk sintesis biodiesel .

Tabel 2.6. Perbandingan antara Katalis Basa dengan Biokatalis untuk Sintesis Biodiesel

	Proses Alkali	Proses Biokatalis
Suhu reaksi	60 – 70 °C	30 – 40 °C
Rendemen biodiesel	Normal	Lebih tinggi
Pemisahan biodiesel dari katalis	Pencucian berulang (tahapannya sulit)	Filtrasi
Produk samping yan tak diinginkan	Asam lemak bebas	Asam lemak bebas

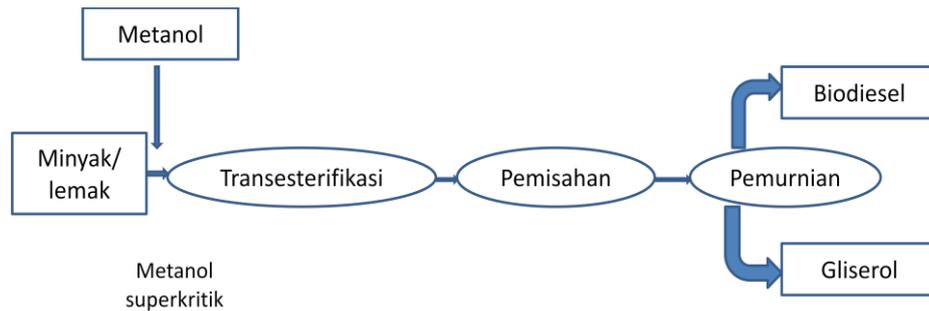
Sumber : (Fukuda et al., 2001)

Penggunaan lipase sebagai katalis untuk sintesis biodiesel juga mempunyai efek negatif terhadap lingkungan. Lingkungan beralkohol seperti metanol menyebabkan lipase terdeaktivasi secara cepat sehingga mengakibatkan stabilitas mengkatalisis menjadi menurun. Hal ini akan mengakibatkan biaya produksi yang tinggi, pada akhirnya penggunaan katalis ini tidak komersial (Wafa, 2009).

2.3.4 Produksi Biodiesel tanpa Katalis

Metode terbaru dalam perkembangan sintesis biodiesel adalah reaksi produksi tanpa menggunakan katalis, baik katalis kimia (asam maupun basa) maupun katalis biologi (enzim). pengembangan metode ini dilatar belakangi oleh beberapa kelemahan metode sebelumnya berupa kesulitan untuk pemisahan antara produk utama dan produk samping.

Metode produksi biodiesel tanpa katalis pertama kali diperkenalkan oleh peneliti Jepang, Professor Shiro Shaka (Kusdiana and Saka, 2000) . Proses ini terdiri dari transesterifikasi satu tahap dengan metanol superkritik. Pada temperatur superkritik 235°C, metanol membentuk fasa homogen dengan minyak sesuatu yang tidak mungkin terjadi pada pembuatan biodiesel secara konvensional (Corneliasari and Komalasari, 2009). Metode superkritikal melalui proses transesterifikasi minyak dengan metanol dan esterifikasi asam lemak bebas dengan metanol. Proses reaksi menggunakan metode ini dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 2.5. Pembuatan Biodiesel Tanpa Katalis

Sumber : (Kusdiana and Saka, 2000)

Untuk menyempurnakan metode ini, maka dikembangkan proses menggunakan metanol superkritik melalui dua tahap. Tahap pertama adalah proses hidrolisis trigliserida menggunakan air sub-kritik sehingga menghasilkan asam lemak, kemudian reaksi dilanjutkan ke tahap dua yaitu mengesterifikasi semua asam lemak dengan metanol superkritik untuk menghasilkan biodiesel. Keuntungan proses ini dibandingkan dengan proses sebelumnya adalah penggunaan temperatur dan tekanan yang lebih rendah akan mengurangi biaya produksi, selain itu kandungan gliserol pada akhir proses lebih kecil hal ini dikarenakan gliserol telah dipisahkan pada tahap awal. Berikut ini tabel perbandingan metode untuk produksi biodiesel dari minyak nabati.

Tabel 2.7. Perbandingan antara Katalis Kimia dan Nonkatalis Superkritikal Metanol untuk Produksi Biodiesel dari Minyak Nabati

	Metode		
	Katalis Alkali	Katalis Asam	Superkritikal
Suhu (°C)	30 - 65	65	250 - 300
Tekanan (bar)	1	1	100 - 250
Waktu Reaksi (menit)	60 - 360	4140	7 - 15
Yield Metil Ester (%)	96	90	98
Purifikasi	Gliserol, sabun	gliserol	-
Asam Lemak Bebas	Produk penyabunan	Metil ester, air	Metil ester, air

Sumber : (Al-Zuhair, 2007)

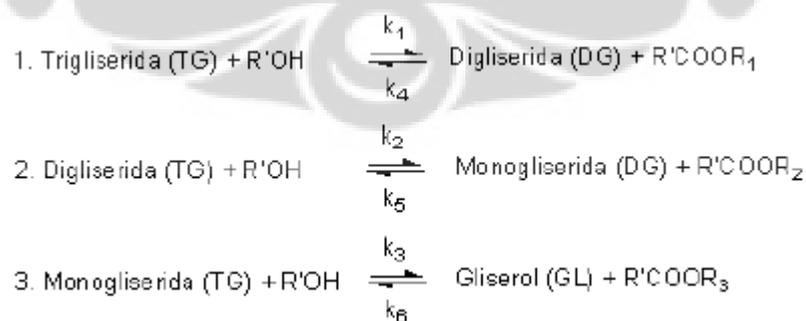
2.4 Reaksi Transesterifikasi

Biodiesel diproduksi dengan mereaksikan minyak nabati dan alkohol berserta penggunaan katalis. Prosesnya dinamakan transesterifikasi atau alkoholisis. Definisi transesterifikasi secara kimia organik adalah proses pertukaran gugus alkoksi suatu ester pada senyawa ester dengan senyawa alkohol yang berbeda. Dalam reaksi transesterifikasi ada beberapa faktor yang mempengaruhi yaitu :

- Jenis katalis (asam, basa atau lipase)
- Jumlah katalis
- Temperatur
- Kecepatan pengadukan (agitasi)
- Waktu transesterifikasi
- Rasio mol reaktan

2.4.1 Mekanisme Reaksi Kimia Transesterifikasi

Pada reaksi transesterifikasi ada beberapa reaksi yang berhubungan , yaitu reaksi reversibel. Triglisierida dikonversi menjadi diglisierida, monoglisierida dan akhirnya menjadi gliserol. Pada prosesnya satu mol ester terbentuk pada setiap proses. Reaksinya adalah reversibel reaksi kesetimbangan menuju pembentukan ester asam lemak dan gliserol.



Gambar 2.6. Reaksi Transesterifikasi dari Minyak Sayur Menggunakan Alkohol Menghasilkan Ester dan Gliserol

Sumber : (Ma et al., 1998)

Mekanisme reaksi dari reaksi transesterifikasi katalis basa dirumuskan menjadi 3 tahapan. Langkah-langkah reaksi tersebut adalah sebagai berikut :

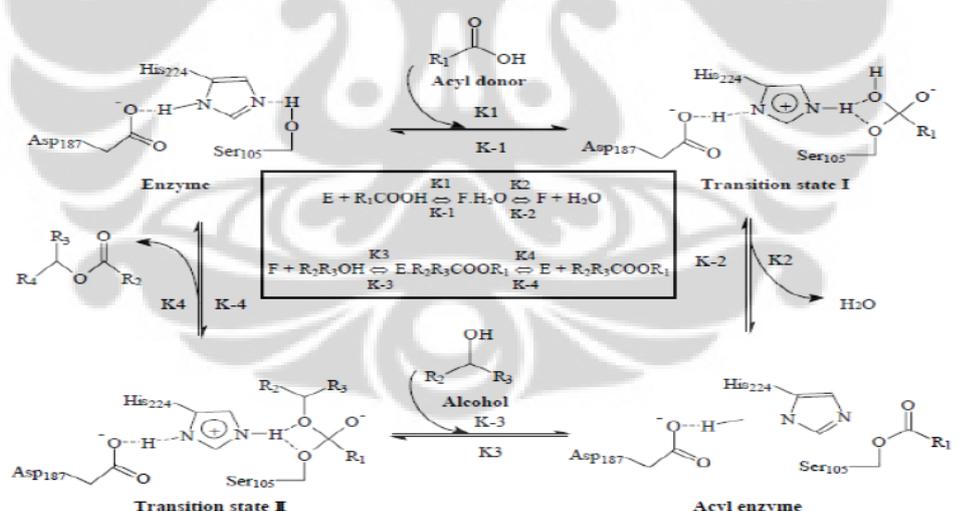
1. Penyerangan atom karbonil pada molekul trigliserida dengan anion dari alkohol (ion metoksida) untuk membentuk *tetrahedral intermediate*.
2. *Tetrahedral intermediate* akan bereaksi dengan alkohol (metanol) membentuk kembali anion pada alkohol (ion metoksida).
3. Tahapan terakhir adalah proses penyusunan kembali hasil *tetrahedral intermediate* pada permukaan ester asam lemak dan digliserida. Ketika NaOH, KOH, K_2CO_3 atau katalis lainnya dicampur dengan alkohol, alkoksida akan terbentuk. Sejumlah kecil air dihasilkan pada reaksi dan akan membentuk sabun selama reaksi transesterifikasi (Ma et al., 1998)

2.4.2 Mekanisme Reaksi Enzimatik Transesterifikasi

Mekanisme reaksi lipase dapat dibagi menjadi 4 langkah, yaitu : (1) adsorpsi lipase ke interfase, (2) pengikatan substrat untuk enzim lipase, (3) reaksi kimia dan (4) pelepasan produk. Adsorpsi lipase ke interfase merupakan proses interaktif, hal ini dikarenakan melibatkan perubahan konformasi enzim ke antarmuka akan menarik. Setelah adsorpsi dari enzim ke interfase, sisi aktif terbuka untuk mengikat substrat. Reaksi ini terjadi dengan serangan nukleofilik pada kompleks substrat. Terjadinya reaksi kimia adalah karena aksi dari rangkaian katalitik dalam gugus karbonil, yang mengikat dekat sisi aktif. Karena rangkaian katalitik bereaksi dengan gugus karbonil, rantai asil harus terletak dekat permukaan enzim. ukuran rantai asik yang paling penting dalam proses pengikatan. Setelah terikat, produk reaksi akan dilepaskan. Kemudian tempat tersebut akan diambil oleh substrat lain untuk reaksi dengan menggunakan mekanisme yang sama. Pembentukan kompleks asil enzim adalah karena interaksi hidrofobik.

Interaksi kompleks enzim asil merupakan gaya entropis yang cenderung untuk mengumpulkan kelompok - kelompok non-polar. Kompleks enzim dan substrat melibatkan buka tutup atau flap sisi aktif enzim. ketika menutup, sisi interfase hidrofobik dalam posisi terbuka. Sisi substrat hidrofilik masuk di rongga polar enzim. hasil permodelan molekuler menunjukkan bahwa konformasi tutup

terbuka distabilkan oleh ikatan hidrogen. Sisi Arg-86 terlibat dalam stabilisasi ini. sebuah ruang kosong terbentuk antara permukaan hidrofob tutup dan enzim selama aktivasi *interfase* untuk mengikat rantai asil. Interaksi antar residu nonpolar dari ruang kosng bertanggungjawab atas spesifisitas substrat. Ini menjelaskan kemampuan lipase untuk membedakan panjang rantai asilk, derajat jenuh dan lokasi ikatan ganda dalam rantai asikl. Oleh karena itu lipase menunjukkan sifat katalitik ketika memiliki konformasi sesuai dengan substrat Ping Pong atau mekanisme Bi-Bi ganda digunakan untuk menjelaskan reaksi secara keseluruhan terlibat. Ini adalah mekanisme reaksi dalam dua langkah, langkah pertama serangan nukleofilik gugus hidroksil serin pada ikatan ester dan hasil dalam pembentukan suatu asil enzim. setelah itu prosi alkohol dilepaskan dari molekul substrat, langkah kedua adalah hidrolisis dari enzim asil adalah unuk melepaskan enzim bebas. Reaksi ini melibatkan transfer donor untuk enzim, diikuti dengan transfer kedua dari enzim untuk substrat akseptor dalamdua reaksi. skema reaksinya dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



Gambar 2.7. Skema Mekanisme Ping Pong Bi Bi oleh *Candida antarctica*

Sumber : (Roticci, 2000 didalam Suan, 2005)

Keterangan :

E : enzim

F : asil enzim

R1COOH : asam lemak

R2R3OH : alkohol

R2R3COOR1 : ester

K_n : kecepatan konstan

n : positif untuk arah lanjut, negatif untuk arah sebaliknya.

2.5 Enzim Lipase

Enzim lipase (EC 3.1.1.3) merupakan jenis enzim yang dapat larut dalam air dan bekerja dengan mengkatalisis hidrolisis ikatan ester dalam substrat lipid yang tidak dapat larut didalam air. Sebagai contoh sisi aktif enzim ini dapat menghidrolisis triasilgliserol menjadi asam lemak dan gliserol. Enzim lipase dapat digunakan untuk menghasilkan emulsifier, surfaktant, mentega, coklat tiruan, protease untuk membantu pengempukan daging dan lainnya. Lipase merupakan enzim yang memiliki peran penting dalam bioteknologi modern. Banyak industri yang telah mengaplikasikan penggunaan enzim sebagai biokatalis (Wulan et al.).

Lipase dikenal memiliki aktivitas yang tinggi dalam reaksi hidrolisis dan dalam kiiia sintesis. Lipase juga dapat berperan sebagai biokatalis untuk berbagai reaksi seperti hidrolisis, alkoholisis, asidolisis, dan aminolisis. Sumber - sumber lipase sangat banyak, antara lain : bakteri (*S.aurens*), kapang(*Aspergillus niger*, *Rhizopus arrhizus*) dan untuk lebih lengkap dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 2.8. Mikrobial Penghasil Lipase untuk Produksi Biodiesel

Lipase	Sumber Minyak	Alkohol	Suhu Optimum (°C)	Referensi
Novozime 435	Minyak kedelai	Metanol		(Watanabe et al., 2001), (Samukawa et al., 2000), (Kaieda et al., 2001)
	minyak kedelai	Metil asetat		(Du et al., 2004)
	Minyak canola	Metanol	38	(Chang et al., 2004)
	Minyak rice bran	Metanol		(Lai et al., 2005)
	Minyak zaitun	Metanol	40	(Sanchez and Vasudevan, 2006)
	Minyak nabati	Metanol		(Shimada et al., 2001)
	Waste ABE	Metanol, etanol, 1-propanol, 1-butanol, iso-butanol, iso-amilaklohol dan n-oktanol		(Nuoreddini et al., 2004)
<i>R. delemar</i>	Minyak nabati	Metanol		(Shimada et al., 2001)
<i>R. miehei</i>	Minyak nabati	Metanol		(Shimada et al., 2001)
	Minyak palem	Metanol		(Al-Zuhair et al., 2006)
<i>R. rugosa</i>	Waste ABE	Metanol, etanol, 1-propanol, 1-butanol, iso-butanol, iso-amilaklohol dan n-oktanol		(Nuoreddini et al., 2004)
	Minyak jarak	Etanol		(Shah and Gupta, 2007)

Lipase	Sumber Minyak	Alkohol	Suhu Optimum (°C)	Referensi
<i>K. oxytoca</i>	Minyak kedelai	Metanol		(Kaieda et al., 2001)
<i>P. camemberti</i>	Minyak kedelai	Metanol		(Kaieda et al., 2001)
<i>P. fluorescens</i>	Minyak kedelai	Metanol		(Kaieda et al., 2001)
	Triolein	1-propanol	60	(Iso et al., 2001)
	Minyak jarak	Etanol		(Shah and Gupta, 2007)
<i>P. cepacia</i>	Minyak kedelai	Metanol dan etanol	40	(Kaieda et al., 2001) (Nuoreddini et al., 2004)
	Minyak jarak			(Shah and Gupta, 2007)

Sumber : (Al-Zuhair, 2007)

Lipase merupakan jenis enzim yang sifatnya tergantung pada substrat dan sumbernya. 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 reaksi. kestabilan lipase bergantung pada derajat keasaman (pH), jika kondisi faktor ini jauh dari optimum akan menyebabkan inaktivasi, karena terjadinya kerusakan struktur protein enzim. kondisi pH yang terlalu rendah mengakibatkan ion H^+ akan berikatan dengan $-NH_2$ membentuk NH_3^+ . Proses pengikatan tersebut menyebabkan ikatan hidrogen antara atom nitrogen dengan atom hidrogen terputus, sehingga enzim terdenaturasi. Kondisi pH yang tinggi mengakibatkan ion $-OH$ berikatan dengan atom hidrogen dan gugus $COOH$ enzim membentuk H_2O . Hal tersebut mengakibatkan rusaknya ikatan antara atom hidrogen dengan nitrogen atau oksigen, sehingga struktur enzim mengalami kerusakan.

Selain itu suhu juga faktor penentu kualitas enzim lipase. Kenaikan suhu dalam reaksi enzimatik akan meningkatkan laju reaksi, sehingga jumlah produk yang dihasilkan meningkat. Kenaikan suhu pada batas maksimum akan

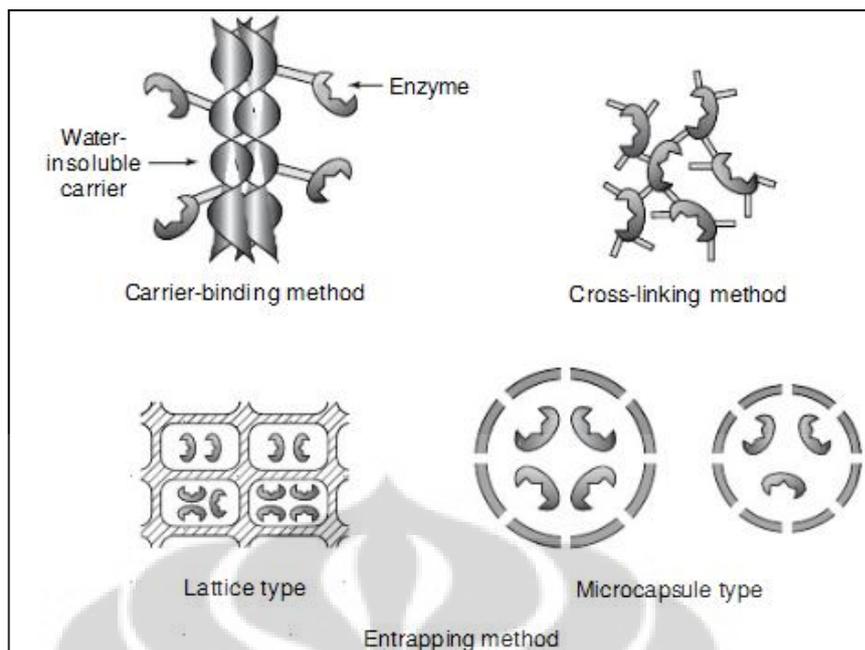
menyebabkan enzim terdenaturasi. Sebagai biokatalis enzim pada umumnya mempunyai aktivitas optimum pada suhu 30 - 40°C dan mulai terdenaturasi diatas suhu 45°C. Seperti yang telah dijelaskan pada teori sebelumnya, kekurangan katalis ini adalah harganya yang relatif mahal dan sulitnya merecovery terutama pada media cair.

2.6 Immobilisasi Enzim

Enzim terimmobilisasi merupakan enzim yang secara spesifik ditempatkan dalam suatu ruang tertentu dengan tetap memiliki aktivitas katalitiknya dan dapat digunakan secara berulang atau terus menerus (Chibata, 1978b). Metode ini merupakan suatu modifikasi untuk meniru keadaan semula dengan kondisi terikat pada membran atau partikel-partikel dalam sel. Immobilisasi enzim dapat dilakukan secara fisik, kimia maupun kombinasi keduanya. Teknik immobilisasi ini memiliki beberapa keuntungan :

- Dapat digunakan berulang
- Penghentian proses cepat (diambil dengan filtrasi dan laju alir)
- Kestabilan lebih baik dengan adanya ikatan pada immobilisasi.
- Hasil tidak terkontaminasi enzim (untuk pangan dan farmasi)
- Dapat digunakan untuk tujuan analisis, misalnya menentukan umur tengah enzim dan perkiraan penurunan aktivitas.
- Dapat digunakan untuk proses kontinyu
- Pengontrolan lebih baik

Metode untuk immobilisasi enzim dapat diklasifikasikan dalam 3 kelompok yaitu (Sato et al.) :



Gambar 2.8. Klasifikasi Immobilisasi Enzim

Sumber : (Sato et al.)

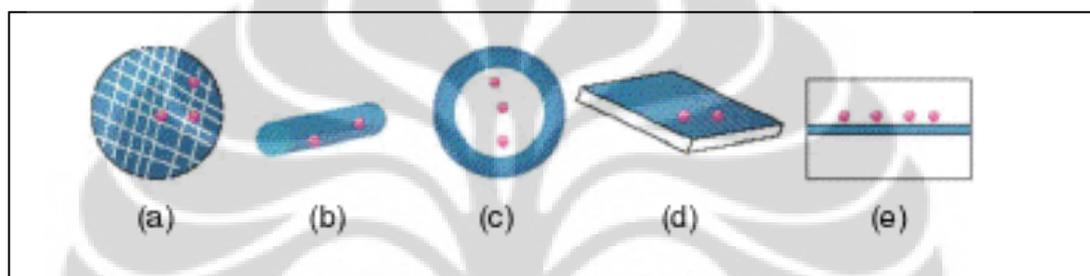
1. Metode *Carrier-Binding*

Pada metode ini pengikatan enzim terjadi pada matriks yang tidak dapat larut air seperti jenis polisakarida, polimer, sintesis dan lubang berpori. Metode ini merupakan metode yang lazim dan sudah lama digunakan untuk proses immobilisasi enzim. Dalam metode ini yang paling penting adalah pemilihan matriks sebagai *carriers* tersebut. Berdasarkan jenis proses pengikatan enzimnya, metode ini dibagi menjadi 3 yaitu :

- Adsorpsi fisik

Metode ini mudah dilakukan dan ekonomis, serta enzim diadsorpsi pada permukaan "*carrier*". Dalam metode ini terdapat gaya tarik menarik Van der Waals antar enzim dan permukaan "*carrier*". Kelebihan metode ini adalah dapat diregenerasi dan kondisi lunak sehingga aktivitas enzim tetap tinggi. Akan tetapi memiliki kekurangan yaitu kekuatan ikatan lemah (pH atau kekuatan ion berubah dan bocor) serta enzim mudah rusak.

- Ikatan ionik
Pada prosesnya metode ini terjadi ikatan ion antara enzim dengan “*carrier*” yang tidak larut air dan mengandung residu penukar ion. Untuk kelemahan dan kelebihan hampir sama dengan adsorpsi fisik.
- Ikatan kovalen
Pada prosesnya terbentuknya ikatan kovalen antara enzim dengan “*carrier*” yang tidak larut dalam air. Metode ini kelebihan yaitu memiliki ikatan yang kuat serta tidak mudah bocor. Untuk kekurangan metode ini adalah konformasi ikatan berubah sehingga menyebabkan aktivitas menurun bahkan sampai hilang.



Gambar 2.9. Jenis “*carrier*” enzim berdasarkan tipe dan ukuran (a) bead ; (b) fiber ; (c) kapsul ; (d) film dan (e) membran

Sumber : (Twyman, 2005)

2. Metode *Cross-Linking*

Metode *cross-linking*/ikatan silang pada proses immobilisasinya terjadi ikatan kimia, tetapi tidak digunakan “carrier” yang tidak larut dalam air. Pembentukan ikatan melintang intermolekul antara molekul enzim dengan pereaksi bifungsional atau multifungsional reagen seperti : glutaraldehid, diazobenzidine, etil khloroformat, N-N hexamethylene bisiodoasetat dan lainnya.

3. Metode *Entrapping*

Metode *entrapping* (penjeratan/penjebakan) merupakan metode yang melokalisasi enzim dalam kisi matriks atau mikrokapsul (membran semipermeabel). Metode ini memiliki kelebihan dimana enzim tidak terikat pada matriks gel atau membran. Metode ini terdapat dua jenis yaitu :

- Tipe *Lattice*
- Tipe mikrokapsul

Dalam immobilisasi enzim hal yang harus diperhatikan beberapa faktor yang dapat menentukan pemilihan metode yang tepat untuk proses immobilisasi. Faktor-faktor tersebut antara lain :

- Sifat bahan
- Reaksi kimia yang terjadi
- Biaya immobilisasi
- Stabilitas kimia-fisik reaktan & biokatalis
- Hasil dan kemurnian produk yang diinginkan.
- Berikut ini merupakan tabel perbandingan antara tiap metode dari segi preparasi dan karakteristik.

Tabel 2.9. Perbandingan Preparasi dan Karakteristik Immobilisasi Enzim

Karakteristik	Metode <i>Carrier Binding</i>			Metode <i>Cross Linking</i>	Metode <i>Entrapping</i>
	Adsorpsi fisik	Ikatan ion	Ikatan kovalen		
Preparasi	Mudah	Mudah	Sulit	Sulit	Sulit
Aktivitas enzim	Rendah	Tinggi	Tinggi	Sedang	Tinggi
Spesifikasi substrat	Tidak berubah	Tidak berubah	Berubah	Berubah	Tidak berubah
Kekuatan ikatan	Lemah	Sedang	Kuat	Kuat	Kuat
Regenerasi	Mungkin bisa terjadi	Mungkin bisa terjadi	Tidak mungkin	Tidak mungkin	Tidak mungkin
Aplikasi secara umum	Rendah	Sedang	Sedang	Rendah	Tinggi

Selain proses pemilihan metode, terdapat juga aspek penting dalam immobilisasi enzim. Terdapat 3 faktor penting yang harus diperhatikan secara detail dalam prosedur immobilisasi, yaitu (Worsfold, 1995) :

- Sifat – sifat dari enzim bebas itu sendiri
- Tipe dari *support* enzim yang digunakan memiliki tiga kategori : (1) hidrofilik bipolimer yang berasal dari polisakarida alami, (2) lipofilik polimer organik sintesis, dan (3) bahan inorganik seperti besi oksida dan gelas berpori.
- Metode aktivasi *support* dan pengikatan enzim

2.7 Teknologi Membran

Membran merupakan lapisan tipis semipermeabel yang digunakan sebagai alat pemisah untuk dua fasa sebagai transportasi pembatas selektivitas berbagai campuran kimia. Campuran tersebut dapat bersifat homogen atau heterogen, berstruktur simetrik atau asimetrik, padatan atau cairan, memiliki muatan positif atau negatif dan bersifat polar atau netral. Transportasi pada membran terjadi karena adanya *driving force* yang dapat berupa konveksi atau difusi dari masing-masing molekul, adanya tarik menarik antar muatan komponen atau konsentrasi larutan dan perbedaan suhu atau tekanan. Ketebalan membran bervariasi mulai 100 μm sampai beberapa milimeter (Rizvi et al., 2008).

2.7.1 Klasifikasi Membran

Membran dapat diklasifikasikan berdasarkan struktur dibagi menjadi 2 yaitu (Mulder, 1996) :

1. Membran berpori (*porous membrane*)

Prinsip pemisahan membran berpori didasarkan pada perbedaan ukuran partikel dengan ukuran pori membran. Ukuran pori membran memegang peranan penting dalam pemisahan. Membran dengan jenis ini biasanya digunakan untuk :

- Mikrofiltrasi (melewatkan air, menahan mikroba)
- Ultrafiltrasi (melewatkan air menahan garam mineral)

2. Membran non pori (*non-porous membrane*)

Pada membran tidak berpori ini prinsip pemisahannya didasarkan pada perbedaan kelarutan dan kemampuan berdifusi. Sifat intristik polimer membran mempengaruhi tingkat selektivitas dan permeabilitas. Membran dengan jenis ini digunakan untuk proses :

- Permeasi Gas
- Pervaporasi
- Dialisis
-

2.7.2 Material Membran

Berdasarkan material membran dapat dikalsifikasikan menjadi 3, yaitu (Mulder, 1996) :

1. Organik (polimer)

Jenis polimer yang dapat dijadikan sebagai material membran, yaitu :

- Membran berpori (*porous membrane*)
Contoh material : *polycarbonate, polyamide, polysulfone, cellulose ester, polyvinydenefluride, polytetrafluoroethylene* dan lainnya. material membran dapat digunakan untuk aplikasi mikrofiltrasi dan ultrafiltrasi.
- Membran tidak berpori (*non-porous membrane*)
Contoh material : *polyoxadiazoles, polytriazole*. Material ini bisa digunakan untuk aplikasi separasi gas dan uap dan pervaporasi.

2. Anorganik

Tipe material anorganik membran ada 4, yaitu :

- Membran keramik
Merupakan kombinasi dari logam (*aluminium, titanium, silicium* atau *zirconium*) dan non-logam (*oxide, nitride* atau *carbide*)
- Membran gelas
Berupa silika oksida / silika (SiO_2)
- Membran logam (termasuk karbon)
- Membran *zeolite*

3. Biologi

Merupakan material membran yang berasal dari makhluk hidup misalnya lipida (*phospholipid*). Struktur membran dari material ini sangat kompleks. Tiap molekul lipid terdapat bagian yang hidrofilik dan hidrofobik.

2.7.3 Membran *Polyethersulfone* (PES)

Pada penelitian ini digunakan ini digunakan membran sebagai “carrier” yang dimanfaatkan juga sebagai bioreaktor untuk produksi biodiesel. Membran yang digunakan adalah membran PES (*polyethersulfone*) hidropilik 300 KDa sebagai membran ultrafiltrasi. Dari fungsinya membran ultrafiltrasi merupakan teknik pemisahan dengan menggunakan membran untuk menghilangkan zat terlarut dengan bobot molekul tinggi, aneka koloid, mikroba sampai padatan tersuspensi dari air larutan.



Gambar 2.10. Membran *Polyethersulfone* (PES)

Sumber : www.membrane-solutions.com

Membran PES merupakan membran yang larut dengan air yang bisa menghilangkan partikel halus, bakteri, virus dan fungi. Membran PES merupakan membran dengan struktur berpori yang sangat asimetris, dapat menghilangkan kotoran – kotoran , serta dapat meningkatkan laju alir dibandingkan dengan membran simetris. Kelebihan dari membran ini yaitu : (1) laju alir yang tinggi dan sangat asimetris untuk struktur pori membran, (2) merupakan membran hidropilik, (3) lemah dalam mengikat protein, (4) sangat sesuai untuk bahan kimia dan (5) sangat baik dalam stabilitas suhu.

Aplikasi membran ini yang paling sering digunakan untuk proses filtrasi (contohnya : raki dan bir, reagen kimia yang khusus dan cairan dengan temperatur tinggi) serta digunakan juga untuk proses sterilisasi. Berikut ini adalah spesifikasi dari membran PES.

Tabel 2.10. Parameter Teknis Membran *Polyethersulfone*

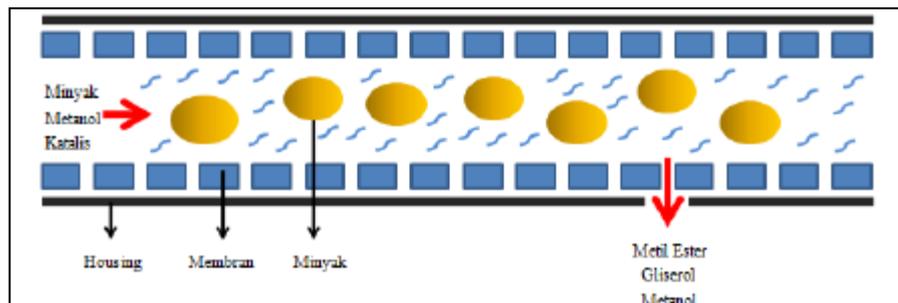
Tipe Produk	Ukuran Pori Membran (μm)	Bubble Point IPA		Min. TMF [ml/min cm^2 bar]
		[Bar]	[Psi]	
1F PH	0,04	2,8*	40,6	4
2F EL	0,1	2,8*	29,9	10
2F	0,2	4,3*	62,4	35
4F	0,45	3,0*	43,5	60
5F	0,5	2,3*	33,4	90
6F	0,65	1,9*	27,6	90
8F	0,8	1,4*	20,3	245
12F	1,2	1,0*	15,2	260

Sumber : www.membrane-solutions.com

2.7.4 Prinsip Dasar Operasi Membran Reaktor

Prinsip operasi membran reaktor dapat dilihat pada Gambar. 8. Pada gambar tersebut minyak akan berbentuk emulsi/tetes tersuspensi di dalam alkohol (Wenten and Nasution, 2010). Hal ini dikarenakan minyak dan alkohol tidak larut dan akibat adanya berbagai gaya permukaan. Menurut (Cao et al., 2008b) partikel minyak akan membentuk tetes dalam lingkungan yang hidrofilik dan reaksi transesterifikasi terjadi di permukaan tetes minyak. Pada proses ini tetesan minyak tersebut tidak dapat melewati membran permeabel karena ukurannya lebih besar daripada pori-pori membran (Dube et al., 2007).

Akan tetapi biodiesel dapat larut dalam alkohol pada temperatur reaksi transesterifikasi (umumnya pada suhu 60°C). Oleh karena itu biodiesel dapat melalui pori membran bersama dengan alkohol, gliserol dan katalis karena memiliki ukuran molekul yang lebih kecil daripada pori membran. Hal ini memungkinkan perolehan produk biodiesel dengan tingkat kemurnian tinggi sekalipun reaksi tidak berlangsung sempurna.



Gambar 2.11. Prinsip Dasar Proses Produksi Biodiesel dengan Membran Reaktor

Sumber : (Dube et al., 2007)

Berdasarkan uraian diatas, sistem reaksi transesterifikasi merupakan sistem heterogen karena terbentuk fasa polar (alkohol) dan nonpolar (trigliserida) yang saling tidak larut (Cao et al., 2008b, Dube et al., 2007). Pada operasi dengan menggunakan membran reaktor pembentukan sistem dua fasa tersebut merupakan hal yan penting untuk mencegah perpindahan trigliserida dan reaktan yang tidak bereaksi ke arah aliran produk. Oleh karena itu, transesterifikasi trigliserida menjadi biodiesel sesuai jika dioperasikan dengan menggunakan membran reaktor (Dube et al., 2007).

Membran reaktor memiliki beberapa keunggulan dibandingkan reaktor konvensional, diantaranya :

1. Integrasi proses reaksi dan pemisahan dalam satu tahap, sehingga akan menurunkan biaya pemisahan dan daur ulang reaktan yang tidak bereaksi (Cao et al., 2008b) (Cao et al., 2009) (Amor, 1998)
2. Peningkatan perolehan selama satu kali proses pada reaksi yang terbatas karena kondisi termodinamika atau hambatan produk (Dube et al., 2007) (Amor, 1998).
3. Pengaturan kontak reaktan yang saling tidak larut (Dube et al., 2007) (Amor, 1998).
4. Pemisahan produk samping hasil reaksi secara simultan (Amor, 1998)
5. Tidak terdapat air limbah karena tidak digunakan air pada pemurnian biodiesel (Wang et al., 2009).
6. Penyederhanaan proses-proses hilir pemurnian biodiesel yang umumnya terdiri dari beberapa tahap (Dube et al., 2007).

7. Membran reaktor dapat digunakan untuk berbagai macam bahan baku dengan kondisi operasi yang hampir sama untuk menghasilkan biodiesel (Cao et al., 2008a).

2.8 State of The Arts

Penelitian produksi metil ester dengan menggunakan bioreaktor membran sudah dilakukan di Indonesia. Pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Al-Chuarazmi *et al* (2008) telah melakukan screening jenis organisme enzim lipase yang menghasilkan kadar metil ester tertinggi. Dalam penelitian tersebut diperoleh organisme penghasil enzim lipase yang dapat mengkonversi menjadi metil ester adalah *Pseudomonas fluorescens* sebesar 2057,75 gram/liter dan *Burkholderia cepacia* sebesar 1044,79 gram/liter (Al-Chuarazmi and Sari, 2008).

Hasil screening ini yang dijadikan dasar penelitian ini untuk memilih organisme penghasil enzim lipase untuk produksi metil ester. Sedangkan pada penelitian lainnya yang dilakukan oleh Siti (2011) diperoleh dengan metode immobilisasi adsorpsi bertekanan diperoleh hasil maksimal enzyme loading dan derajat immobilisasi pada membran *polyethersulfone* dengan pori 500 kDa yaitu 1,41 gram/m² dan 46,95% derajat immobilisasi. Pada penelitian ini dilakukan juga pengaruh variasi konsentrasi enzim lipase untuk diimmobilisasi pada membran sebagai support. Sehingga didapatkan hasil 125 gram/liter merupakan konsentrasi maksimal dalam mengimmobilisasi enzim lipase dari *Burkholderia cepacia* pada membran 500 kDa dengan menggunakan metode adsorpsi bertekanan. (Khotijah, 2011)

Penelitian selanjutnya yang dilakukan oleh Machsun (2011) telah dikembangkan metode sederhana amobilisasi enzim pada membran asimetrik dengan menggunakan teknik adsorpsi pada area sponge layer yang kemudian dilanjutkan dengan filtrasi bertekanan melewati thin layer. Pada penelitian ini lipase yang digunakan adalah lipase dari *Pseudomonas fluorescens*. Pada penelitian ini diperoleh metode baru untuk produksi metil oleat dengan menggunakan bioreaktor. Metode ini memungkinkan enzim tidak langsung rusak

dan rontok karena bersentuhan langsung dengan substrat sehingga proses produksi dengan menggunakan membran bioreaktor dapat semakin efektif.

Dalam penelitian ini dilakukan sintesis metil ester dengan menggunakan membran bioreaktor dengan menggunakan enzim lipase dari *Burkholderia cepacia*. Penelitian ini merujuk pada terdahulu yang telah melakukan screening enzim serta pemilihan ukuran pori membran serta variasi konsentrasi enzim yang akan diimobilisasi. Akan tetapi yang membedakan penelitian ini dengan penelitian terdahulu adalah substrat yang digunakan berupa minyak goreng kelapa sawit serta dalam rangkaian proses produksi metil ester tidak menggunakan pompa peristikal dalam mengatur laju alirnya.

Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh data-data lanjutan dari proses screening enzim dan membran serta perbandingan produksi metil ester dari *Pseudomonas fluorescens* dengan lipase dari *Burkholderia cepacia* dan dapat diketahui perbandingan substrat berupa minyak goreng kelapa sawit dengan metanol serta suhu optimum yang dapat menghasilkan persentase (%) yield biodiesel yang lebih besar.

Tabel 2.11. *State of The Arts* Penelitian

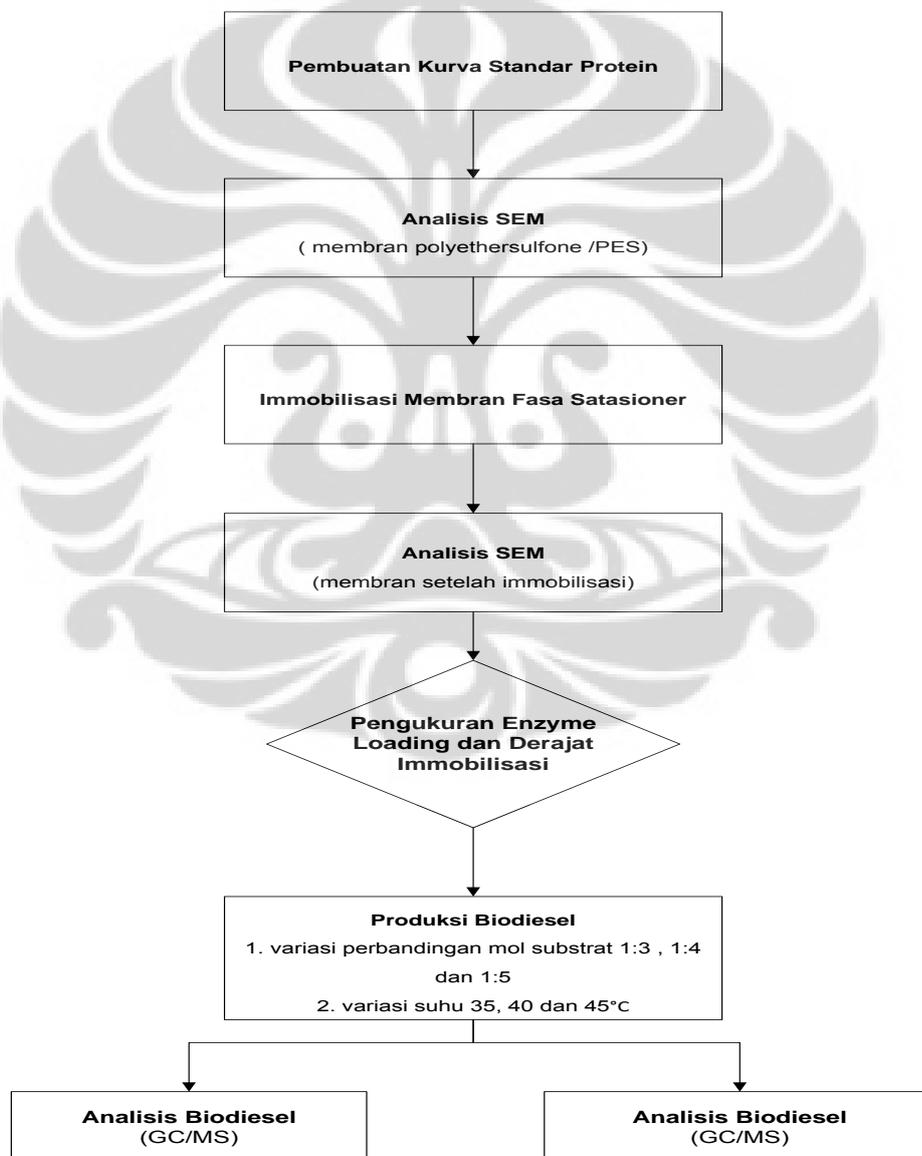
		Enzyme Lipase	
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
Substrat	Minyak Kelapa Sawit *Metanol	(Asyifa, 2012)	Penelitian ini
	Sunflower *Metanol	(Soumanou and Bornscheur, 2003)	-
	Triolein *Metanol	(Machsun, 2011)	-
	Grease *Ethanol	-	Hsu <i>et al.</i> , 2004

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Diagram Alir Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk produksi biodiesel atau metil ester dari minyak goreng kelapa sawit dengan lipase yang telah diimmobilisasi pada membran. Secara umum penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut :



Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Bioindustri, LAPTIAB –BPPT, Serpong, Tangerang, Banten dengan waktu penelitian dari bulan Januari hingga Juni 2012.

3.3 Desain Penelitian

3.3.1 Kurva Standar Protein dengan Metode Bradford

Tabel 3.1. Desain Eksperimen Kurva Standar Protein

Konsentrasi BSA ($\mu\text{g/L}$)	Absorbansi			Akhir
0				
0,03				
0,06				
0,09				
0,12				
0,15				
0,18				
0,21				
0,24				
0,27				
0,30				

3.3.2 Immobilisasi Stasioner pada Membran

Tabel 3.2. Desain Eksperimen Immobilisasi Stasioner

Ukuran Pori Membran (Kda)	Konsentrasi Lipase (g/L)	Derajat Immobilisasi (%)	Enzyme Loading (gram/m ²)
300 kDa	50		
300 kDa	50		
300 kDa	50		

3.3.3 Produktivitas Biodiesel

1. Pengamatan pengaruh perbandingan substrat dan suhu terhadap produktivitas.

Tabel 3.3. Desain Eksperimen Pengaruh Subtrat dan Suhu terhadap Produktivitas

Perbandingan trigliserida : metanol	Suhu (°C)	Produktivitas (Pcat)
1 : 3	35	
	40	
	45	
1 : 4	35	
	40	
	45	
1 : 5	35	
	40	
	45	

2. Pengamatan produktivitas antara lipase *free* enzim dan lipase amobil

Tabel 3.4. Desain Eksperimen Produktivitas antara Free Enzim dan Lipase Amobil

Jenis Reaktor	Residence Time (h)	Enzyme Loading Lipase		Produktivitas	Kelipatan
		g/m ²	mg		
Batch					
BMM					

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Keseluruhan peralatan yang dipakai dalam penelitian ini adalah milik Laboratorim Bioindustri BPPT. Alat-alat tersebut tercantum dalam tabel diawah ini.

Tabel 3.5. Alat – alat yang digunakan pada Penelitian

No.	Peralatan	Merek
1.	<i>Shaking Incubator</i>	Kuhner
2.	Timbangan Analitik	Radwag
3.	<i>Sentrifuge</i>	Hitachi
4.	<i>Hotplate stirrer</i>	Heindolph
5.	Microtube	Eppendorf
6.	Pipet Mikro	Thermo
7.	Tabung Sentrifusi	Nunc
8.	<i>Timer</i>	Keinzle
9.	<i>Magnetic Stirrer</i>	Cole Parmer
10.	<i>Stirrer Ultrafiltration Cell</i>	Amicon
11.	Erlenmeyer	Pyrex
12.	Beaker Glass	Pyrex
13.	<i>Syngee Auto Trasfette</i>	Nichiryo
14.	Oven	Memmert
15.	pH meter	Ino Lab
16.	Vortex	Snijders
17.	pH meter	Ino Lab
18.	Spektrofotometri UV-VIS	Hitachi
19.	HPLC	Shimadzu
20.	GC-MS	Hewlett-Packard

3.4.2 Bahan

Tabel 3.6. Bahan yang digunakan pada Penelitian

No.	Bahan	Merek
1.	Lipase <i>Burkholderia Cepacia</i>	Amano Enzyme Inc
2.	Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	Merck
3.	NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O	Merck
4.	Bradford	Bio- Rad Laboratoris Inc
5.	NaOH	Merck
6.	Bovin Serum Albumine	Sigma - Aldrich
7.	Metanol	Merck
8.	n-hexane	Merck

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Kurva Standar Protein dengan Metode Bradford

Kurva standar protein dibuat dengan menggunakan metode Bradford (Anna, 1994). Metode Bradford ini menggunakan prinsip kerja spektrofotometri dalam menentukan kadar protein dalam sampel. Pada prinsipnya penggunaan sinar UV maupun dengan sinar tampak setelah penambahan pereaksi warna yang intensitas warna dibentuknya sebanding dengan protein. Metode ini merupakan metode yang sangat praktis dan sensitif serta biasanya digunakan untuk sampel yang mengandung protein 0,01 mg/ml.

Langkah pertama metode Bradford ini adalah dengan menimbang 0,01 gram *Bovin Serum Albumin* (BSA) dan melarutkannya dalam 10 ml Buffer Fosfat 0,05 M pH 7. Setelah itu larutan BSA sebanyak 10 ml tersebut diencerkan dengan cara mengambil 3 ml larutan BSA dan menambahkan 7 ml Buffer Fosfat. Hasil pengenceran tersebut kemudian dibuat menjadi deret konsentrasi sebagai berikut 0,03 ; 0,06 ; 0,09... 0,30. Selanjutnya adalah membuat sampel untuk tiap deret konsentrasi menjadi triplo (3 data untuk setiap konsentrasinya).

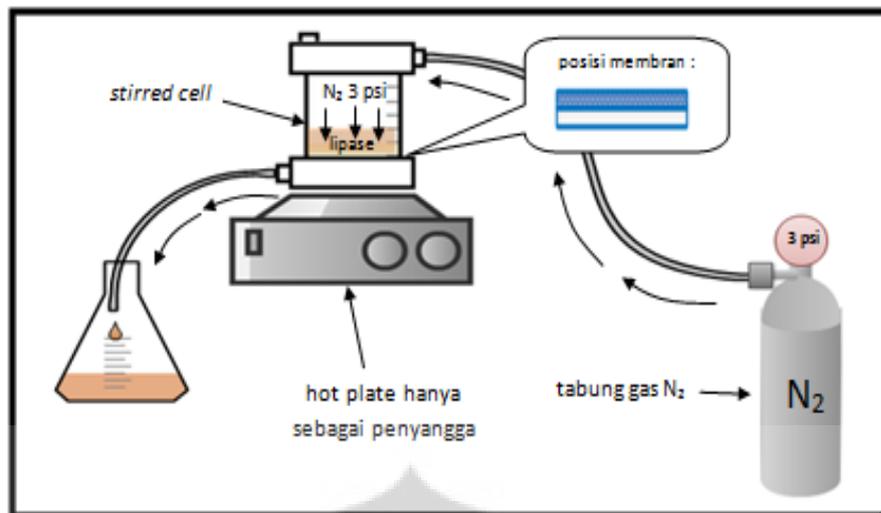
Untuk setiap deret konsentrasi diambil 30 μ l dan memasukkannya dalam setiap tabung reaksi. Setelah itu membuat larutan Bradford dengan pengenceran 5 kali. Larutan Bradford tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1,5 ml dan kemudian di vortex untuk dapat mencampurkan larutan tersebut. Sampel yang akan dianalisa diinkubasi selama 5 menit, jika lebih maka akan merusak protein yang akan dianalisa. Selanjutnya proses analisa menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang 595 nm.

3.5.2 Immobilisasi Stasioner pada Membran

Tahapan ini merupakan tahapan immobilisasi enzim lipase pada membran PES dengan pori-pori sebesar 300 kDa dengan menggunakan metode adsorpsi bertekanan. Langkah ini dilakukan dengan cara menuangkan larutan enzim lipase pada permukaan *sponge layer* membran yang sudah dirangkai pada *stirred cell*, sehingga terjadi kontak antara membran dan larutan lipase yang kemudian dilanjutkan dengan tahapan ultrafiltrasi dan diakhiri dengan proses pembilasan membran. Metode yang digunakan ialah adsorpsi-filtrasi merujuk pada metode Hilal (Hilal et al., 2006) yang telah dimodifikasi.

Proses immobilisasi pada penelitian ini dilakukan secara stasioner dengan waktu 24 jam. Sebelum memasuki tahapan immobilisasi dimulai dengan proses pencucian membran *Polyethersulfone* (PES). Proses pencucian membran dilakukan dengan menggunakan RO *water* sebanyak 2 kali dan tekanan sebesar 6 Psi. Setelah proses pencucian, membran dapat dikeringkan dalam cold room dengan suhu rendah (2 – 10°C) selama 24 jam.

Setelah membran dikeringkan selama 24 jam, selanjutnya membran dapat dirangkai pada *Ultrafiltration Strrired Cell* serta menuangkan larutan lipase diatas permukaan membran. *Strrired cell* tersebut kemudian disimpan dalam suhu rendah (2 - 10°C) selama 24 jam. Proses ini dinamakan immobilisasi fasa stasioner dimana enzim dibiarkan menempel dalam keadaan statis. Kemudian larutan lipase dalam alat tersebut diultrafiltrasi dengan bantuan gas N₂ dengan tekanan 3 Psi sehingga menghasilkan filtrat A dan residu lipase amobil pada membran.



Gambar 3.2 Rangkaian Alat untuk Proses Ultrafiltrasi

Membran yang telah diultrafiltrasi tersebut dikeringkan selama 24 jam dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin. Proses selanjutnya adalah pembilasan membran yang telah kering dengan Buffer Fosfat 0,05 M pH 7 sebanyak 2 kali sehingga menghasilkan filtrat B dan C serta membran yang telah terisi lipase amobil. Lipase amobil pada membran kemudian dikeringkan didalam lemari pendingin sebelum digunakan untuk produksi/sintesis biodiesel.

Larutan analit seperti filtrat A, B dan C dianalisa kandungan proteinnya dengan menggunakan metode Bradford sehingga menghasilkan derajat immobilisasi dan *enzyme loading*. Hasil immobilisasi dengan ukuran pori membran yang dapat mengikat enzim lipase paling banyak akan dilanjutkan pada tahapan penelitian selanjutnya.

3.5.3 Analisa Derajat Immobilisasi dan *Enzyme Loading*

Proses analisa ini bertujuan untuk mengetahui nilai persentase derajat immobilisasi lipase amobil yang tertempel dalam suatu membran. Selain menganalisa derajat immobilisasi, terdapat analisa *enzyme loading* yang merupakan jumlah massa protein yang terabsorb ke dalam membran. Dalam menganalisa digunakan gradien yang didapatkan dari kurva standar protein sebagai acuan perhitungan. Larutan yang dianalisa terdapat 4 jenis yaitu : larutan lipase sampel, filtrat A (hasil penyaringan), filtrat B (pembilasan pertama) dan filtrat C (pembilasan kedua).

Selanjutnya adalah proses analisis dengan cara mengambil 30 µl larutan analit serta Buffer Fosfat 0,05 M pH 7 (sebagai blanko) dan memasukkannya ke dalam masing-masing tabung reaksi secara triplo. Selanjutnya memasukkan 1,5 ml larutan Bradford yang telah diencerkan sebanyak 5 kali dan selanjutnya memasukan larutan ke dalam tabung reaksi yang telah terisi larutan analit. Langkah selanjutnya larutan tersebut di vortex dan diinkubasi selama 5 menit. Proses inkubasi tidak boleh melebihi 5 menit, hal ini dikarenakan akan merusak protein analit yang akan dianalisa. Indikator protein dalam larutan analit rusak adalah dengan perubahan warna sampel menjadi warna hijau. Selanjutnya adalah analisis menggunakan Spektrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang 595 nm.

Setelah proses analisa dengan menggunakan Spektrofotometri UV-VIS didapatkan data triplo untuk tiap sampelnya yang kemudian diolah dengan rumusan sebagai berikut :

- Derajat Immobilisasi

Rumus derajat immobilisasi adalah sebagai berikut :

$$\% DA = \frac{Xo - (Xa - Xb - Xc)}{Xo} \times 100\%$$

- *Enzyme Loading*

Rumus *enzyme loading* adalah sebagai berikut :

$$EL = \frac{[Xo - (Xa - Xb - Xc)] \times m \times V}{A}$$

Keterangan :

Xo = Absorbansi larutan lipase mula-mula

Xa = Absorbansi filtrat A (hasil penyaringan)

Xb = Absorbansi filtrat B (pembilasan pertama)

Xc = Absorbansi filtrat C (pembilasan kedua)

m = Gradien dari kurva standar protein

V = Volume larutan lipase (ml)

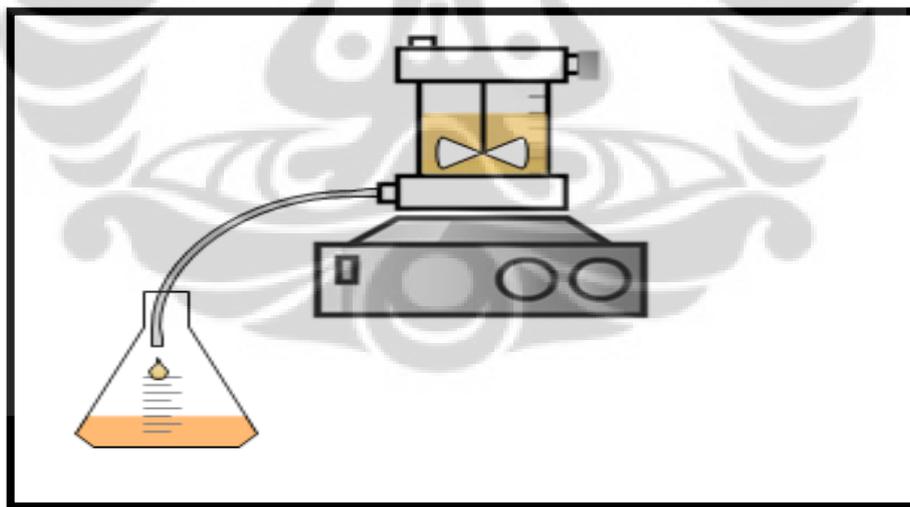
A = Luas Permukaan Membran (m^2)

DA = Derajat Immobilisasi (%)

EL = Enzyme Loading (mg/m^2 membran)

3.5.4 Produksi Biodiesel

Proses produksi biodiesel dari minyak goreng kelapa sawit menggunakan 2 variabel yaitu variabel suhu (35, 40 dan 45°C) dan variabel trigliserida : metanol. Perbandingan mol minyak goreng kelapa sawit dan mol metanol divariasikan dari 1:3, 1:4 dan 1:5. Pada prosesnya minyak kelapa sawit dengan volume tertentu dimasukkan ke dalam *Stirred Ultrafiltration Cell* yang terdapat membran yang telah terlapisi enzim lipase dan diatur suhunya hingga 35°C. Proses reaksi berlangsung dalam *Stirred Ultrafiltration Cell* pada suhu 35°C dengan kecepatan 250 rpm. Reaksi yang berlangsung untuk setiap variabelnya adalah 24 jam. Selama proses produksi biodiesel



Gambar 3.3 Rangkaian Alat untuk Proses Produksi Biodiesel

Dalam proses ini produk dan substrat dapat terpisah karena dibatasi oleh membran. Selanjutnya filtrat berupa produk biodiesel dianalisis dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk mengetahui konversi dan produktivitas metil ester.

3.5.5 Metode Analisis

Metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini bertujuan untuk menentukan produktivitas metil ester. Metode analisis yang digunakan, yaitu :

1. *Gas Chromatography/ Mass Spectrometry* (GC-MS)

Proses analisis metil ester dilakukan di Puslabfor Mabes Polri, Jakarta Selatan. Tujuan analisis ini untuk menentukan konsentrasi metil ester sebagai produk permeate dapat ditentukan dengan menggunakan *Gas Chromatography/Mass Spectrometry* (GC-MS) (Hewlett-Packard 5890) dilengkapi dengan detektor mMS dan kolom kapiler 15-m (DB-1 Agilent Technologies Inc, Palo Alto, CA). Tingkat aliran He (gas pembawa) H₂ sebesar 10 mL/menit. Suhu detektor MS sebesar 350°C dan suhu kolom akan meningkat dari 70 sampai 350°C pada 10°C menit. Penggunaan detektor MS dapat akan menghilangkan sifat ambiguitas dari bahan pelarut dalam produk (Knothe, 2001). Produktivitas enzim (P_{cat}) amobil ditentukan dengan rumus sebagai berikut :

$$P_{cat} = \left[\frac{mmol}{h \cdot mg_{lipase}} \right] = \frac{(C_p \times F)}{P_m}$$

Dimana C_p adalah konsentrasi produk metil ester (mmol/mL), dan F adalah laju alir larutan substrat (mL/h). P_m merupakan jumlah lipase amobil dalam membran (mg).

Dalam *batch reaction*, aktifitas lipase ditentukan sebagai laju laju pembentukan metil ester/miligram lipase (mol/(h.mg_{lipase})). Pada proses reaksi enzim lipase dilarutkan dalam trigliserida sebanyak 50 mL didalam erlenmeyer dan mengalami proses shaker selama 24 jam dengan kecepatan 200 rpm dan temperature 35±1°C.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Immobilisasi Enzim

4.1.1 Immobilisasi Lipase Fasa Stasioner

Enzim terimmobilisasi merupakan suatu enzim yang dibatasi atau ditempatkan secara fisik pada ruang tertentu yang memiliki aktivitas katalitik sehingga dapat digunakan secara berulang-ulang dan kontinyu (Kennedy and Cabral, 1987). Banyak faktor yang perlu diperhatikan dalam memilih metode immobilisasi, yaitu : sifat bahan, reaksi kimia yang terjadi, biaya, stabilitas kimia-fisika dari reaktan dan biokatalis serta hasil dan kemurnian produk yang dihasilkan (Chibata, 1978b).

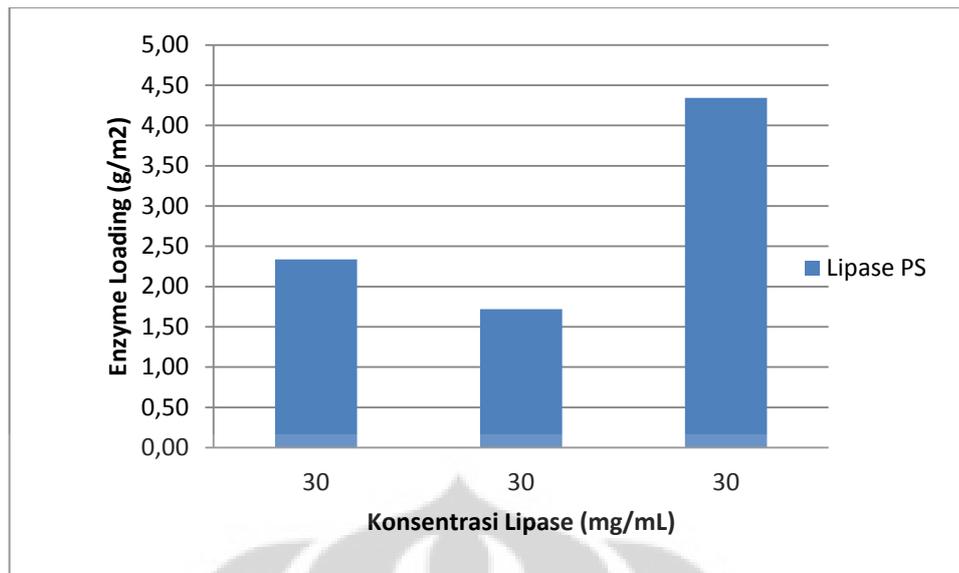
Pada penelitian ini enzim yang digunakan adalah lipase dari *Burkholderia Cepacia* (PS) yang berfungsi untuk mengkatalis reaksi transesterifikasi trigliserida menjadi metil ester. Jenis membran yang digunakan pada penelitian ini merupakan membran *polyethersulfone* yang bersifat hidrofobik. Pada prosesnya molekul makro lipase memiliki kemampuan untuk membentuk interaksi yang kompleks dengan permukaan membran melalui bagian polar dan non-polar membran. Menurut Hilal (2005) semakin bersifat hidrofobik permukaan membran mengakibatkan semakin mudahnya terikat protein dengan wilayah non-polar dari polimer membran. Sehingga pemilihan membran juga dapat dijadikan faktor penentu keberhasilan proses immobilisasi enzim pada suatu membran. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah sebesar 30 mg/mL dengan menggunakan membran PES 300 kDa. Hasil yang didapat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

Tabel 4.1 Hasil Immobilisasi Fasa Stasioner Enzim Lipase

No.	Ukuran Pori Membran (kDa)	Konsentrasi Lipase (mg/ml)	Enzyme Loading (gram/m ²)	Derajat Immobilisasi (%)
1.	300	30	2,33	60,99
2.	300	30	1,68	62,92
3.	300	30	4,34	62,65

Dari hasil Tabel 4.1 didapatkan bahwa parameter berupa *enzyme loading* dan derajat immobilisasi saling linear. Pada konsentrasi yang sama yaitu 30 mg/ml, luas permukaan 0,0028 m² dan pori membran yang sama didapatkan hasil secara berturut yaitu 2,33 g/m² dan 4,34 g/m². Perbedaan nilai *enzyme loading* ini dikarenakan pada percobaan 3 dilakukan proses immobilisasi sebanyak dua kali. Proses ini dilakukan karena pada awal immobilisasi lipase pada membran nilai *enzyme loading*nya < 2 gram/m². Pada percobaan ini didapatkan hasil bahwa waktu tinggal enzim/inkubasi maka akan semakin tinggi nilai *enzyme loading* (Machsun, 2011).

Akan tetapi pada percobaan kedua didapatkan *enzyme loading* yang rendah yaitu 1,68 gram/m² sedangkan derajat immobilisasinya sebesar 62,92%. Hal ini dikarenakan luas permukaan membran yang digunakan mempunyai diameter lebih besar yaitu 76 mm, sehingga jumlah enzim dengan konsentrasi yang sama akan lebih sedikit teradsorp pada permukaan membran dibandingkan dengan yang lainnya. Hal lain yang juga mempengaruhi besarnya nilai *enzyme loading* adalah konsentrasi enzim yang akan diimmobilisasi (Al-Chuarazmi and Sari, 2008) dan ukuran pori membran yang digunakan (Arianto, 2008). Jumlah *enzyme loading* yang mencapai > 2 gram/m² akan digunakan untuk proses sintesis biodiesel.



Gambar 4.1. Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap *Enzyme Loading*

Berdasarkan Gambar 4.1 menunjukkan pengaruh konsentrasi enzim lipase terhadap *enzyme loading* yang dihasilkan. Pada gambar diatas didapatkan hasil bahwa dengan konsentrasi enzim lipase yang sama akan menghasilkan *enzyme loading* yang berbeda. Hal ini dikarenakan beberapa faktor yaitu (1) pada reaksi transesterifikasi dengan katalis enzim tidak terdapat kesetimbangan mol reaksi, (2) gaya Van der Waals yang terjadi pada proses adsorpsi sangat lemah oleh karena itu pada prosesnya dibutuhkan gas N₂ untuk dapat menekan enzim lipase agar masuk ke dalam pori – pori membran sehingga pada akhirnya permukaan membran dapat tertutupi oleh lipase amobil.

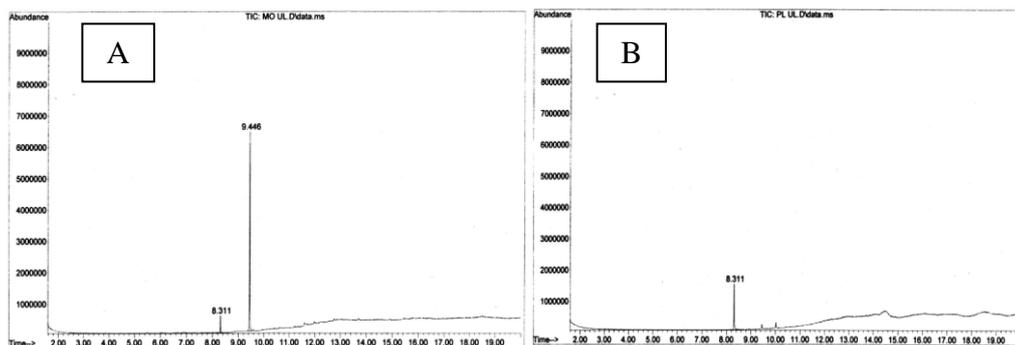
4.2 Produktivitas Biodiesel

Proses sintesis biodiesel pada penelitian ini menggunakan trigliserida dari minyak kelapa sawit. Secara alami trigliserida terdiri dari satu bagian asam lemak jenuh, sedangkan asam lemak tidak jenuhnya terdapat dua bagian. Trigliserida tersusun dari tiga molekul asam lemak yang terikat pada satu molekul gliserol. Adanya molekul gliserol pada trigliserida menyebabkan minyak sawit menjadi kental dan lengket, sehingga nilai viskositasnya menjadi tinggi. Trigliserida yang terdapat pada sawit merupakan trigliserida campuran, yaitu gliserol berikatan dengan asam lemak berbeda.

Untuk memproduksi biodiesel diperlukan nilai viskositas yang lebih rendah mendekati solar. Proses penurunan viskositas ini dengan mengganti molekul gliserol dengan alkohol yang selama ini dikenal dengan nama reaksi transesterifikasi. Pada penelitian ini proses transesterifikasi menggunakan membran bioreaktor didalam *stirrer ultrafiltration cell*. Reaksi transesterifikasi enzimatik antara minyak sawit dengan metanol, terjadi pemindahan gugus asam lemak dari molekul trigliserida ke gugus hidroksil pada molekul metanol oleh enzim lipase (Arianto, 2008).

Reaksi katalisis oleh enzim lipase berlangsung pada sisi aktif enzim dan sisi aktif enzim terdiri dari trio residu asam amino (serin-aspartat-histidin). Dalam struktur enzim, sisi aktif tersembunyi dibalik suatu tutup, yaitu polipeptida yang sering disebut *lid* pada enzim. Secara fisiologi, *lid* enzim berfungsi untuk mencegah kerusakan proteolitik asam-asam amino yang terdapat pada sisi aktif enzim. *Lid* mengandung residu triptofan yang non-polar, sehingga keadaan lingkungan hidrofobik (non-polar) disekitar enzim akan memberikan kesempatan bagi *lid* untuk membuka. Hal ini dikarenakan adanya interaksi yang lebih kuat antara area non-polar pada *lid* dengan lingkungan hidrofobik.

Pada penelitian ini reaksi transesterifikasi menghasilkan gugus metil ester-metil ester campuran yang berasal dari asam lemak yang terkandung dalam minyak goreng kelapa sawit. Asam yang dihasilkan berupa asam lemak jenuh (palmitat dan asam lemak jenuh lainnya) serta asam lemak tidak jenuh seperti metil oleat. Parameter terbentuknya biodiesel pada penelitian ini adalah dengan menganalisis gugus metil ester yang memiliki kandungan lebih tinggi dibandingkan dengan lainnya yaitu : metil palmitat 44% dan metil oleat 39%. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah suhu (35,40 dan 45°C) dan perbandingan substrat (1:3, 1:4 dan 1: 5). Berikut ini merupakan hasil analisa larutan standar (metil palmitat dan oleat) dengan menggunakan GC/MS.

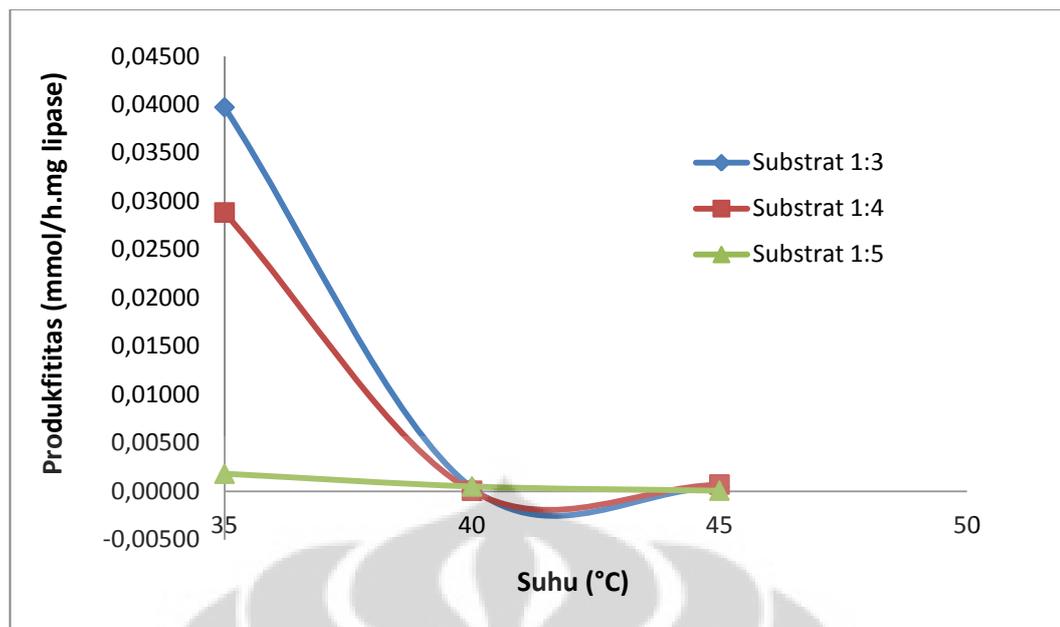


Gambar 4.2. Hasil Analisa Menggunakan GC/MS (a) Metil Palmitat, dan (b) metil oleat

Gambar 4.2 merupakan hasil analisa GC/MS larutan standar yaitu metil palmitat (gambar A) dan metil oleat (gambar B). konsentrasi larutan standar yang digunakan pada proses analisa GC/MS adalah 100 ppm serta dilarutkan pada piridin. Gambar A yang merupakan metil palmitat menunjukkan bahwa *peak* metil palmitat akan muncul pada *retention time* 8,31 dan metil oleat akan muncul pada *peak* dengan *retention time* 9,46. Pada produk biodiesel hasil analisa kecenderungan munculnya *peak* hampir sama yaitu didahului oleh metil palmitat dan diikuti oleh metil oleat.

4.2.1 Pengaruh Substrat dan Suhu terhadap Produktivitas Biodiesel

Produktivitas merupakan kemampuan maksimal dari suatu enzim untuk dapat mengkonversi metil ester dalam waktu atau skala tertentu. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui produktivitas enzim lipase dalam produksi biodiesel dengan perbandingan substrat dan suhu (35, 40 dan 45°). Hasil dari penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 4.3. Produktivitas Lipase Amobil dengan Berbagai Perbandingan Substrat dan Suhu

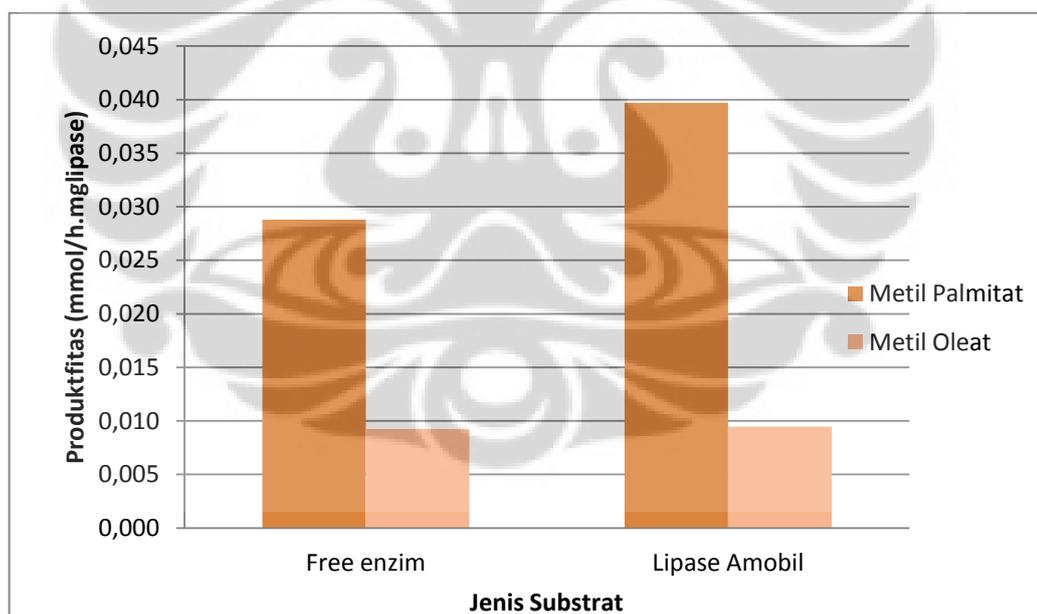
Dari gambar diatas terlihat bahwa ketiga perbandingan substrat memiliki kecenderungan penurunan produktivitas yang sama. Substrat dengan perbandingan 1:3 sampai 1:5 produktivitasnya menurun seiring dengan penambahan suhu reaksi. Hal ini dapat dikarenakan peningkatan suhu mengakibatkan enzim lipase deaktivasi/ penurunan aktivitas enzim, sehingga mengakibatkan produktivitas enzim dalam reaksi transesterifikasi juga menurun.

Berdasarkan Grafik 4.3 juga dapat disimpulkan bahwa kondisi optimal dalam proses reaksi transesterifikasi dengan menggunakan enzim lipase dari *Burkholderia cepacia* adalah substrat dengan perbandingan 1:3 suhu 35°C. Selain itu terdapat faktor lain yang mengakibatkan produktivitas enzim lipase dalam reaksi transesterifikasi menurun adalah penggunaan substrat berupa trigliserida dari minyak goreng kelapa sawit. Pengaruh kandungan substrat sebagai reaktan dalam reaksi sangat berperan penting, hal ini didasarkan atas penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Khotijah (2011) yang menggunakan triolein sebagai substrat yang menghasilkan produktivitas sebesar 3,8 kali dari *free* enzim.

4.2.2 Peningkatan Produktivitas Lipase Amobil

Pada studi awal immobilisasi lipase pada membran telah diketahui bahwa lipase dari *Burkholderia cepacia* merupakan penghasil persen konversi asam lemak kedua tertinggi setelah *Pseudomonas fluorescens*. Pada tahapan ini kita akan membandingkan produktivitas lipase amobil dengan *free enzim* dalam proses sintesis biodiesel. Untuk lipase amobil proses sintesisnya dilakukan menggunakan *stirred ultrafiltration cell* pada suhu 35°C dengan menggunakan perbandingan substrat trigliserida dan metanol adalah 1:3. Sedangkan pada *free enzim* reaksi transesterifikasi dilakukan secara batch dengan perbandingan substrat dan suhu yang sama dengan lipase amobil.

Produk yang dihasilkan dari kedua reaksi tersebut akan ditentukan produktivitas berdasarkan gugus metil ester berupa metil palmitat dan metil oleat dengan menggunakan gas kromatografi/spektrometri massa. Hasil yang didapat pada penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 4.4. Perbandingan Produktivitas Free Enzim dan Lipase Amobil

Dari Gambar 4.4 diatas didapatkan hasil bahwa produktivitas lipase amobil dalam waktu 24 jam lebih besar dibandingkan dengan *free enzim*. Untuk *free enzim* metil palmitat produktivitasnya sebesar 0,029 mmol, sedangkan lipase

amobil menghasilkan 0,040 mmol palmitat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa produktivitas lipase amobil 0,725 kali lebih tinggi dibandingkan *free* enzim. Hal ini juga berlaku sama untuk metil oleat baik *free* enzim maupun lipase amobil. Untuk *free* enzim metil oleat produktivitasnya sebesar 0,09 mol, dan lipase amobil sebesar 0,09 mol. Untuk metil oleat produktivitas lipase amobil tidak terlihat hal ini dikarenakan kandungan metil oleat di dalam substrat jumlahnya lebih sedikit jika dibandingkan dengan metil palmitat.

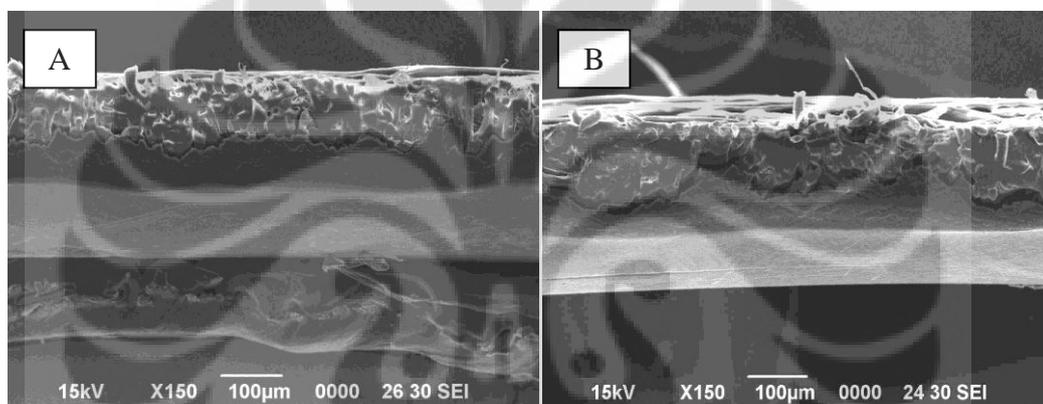
Berdasarkan hasil di atas dapat disimpulkan bahwa penggunaan membran sebagai biokatalis dapat meningkatkan produktivitas dan reaksi transesterifikasi meskipun hasilnya kurang maksimal. Hal ini sesuai dengan penjelasan (Murty et al., 2002) bahwa penggunaan lipase lebih efektif dalam bentuk amobil jika dibandingkan dalam bentuk *free* enzim. Faktor utama dalam peningkatan produktivitas enzim dalam bentuk amobil adalah penggunaan membran *polyethersulfone* sebagai matriks dalam proses reaksi transesterifikasi enzimatis. Membran memiliki beberapa kelebihan, yaitu : (1) laju alir yang tinggi, (2) sesuai untuk bahan kimia, (3) produk dan reaktan dapat terpisah secara langsung dan (4) proses reaksi dalam berlangsung dalam satu tahap. Pada proses penggunaan reaksi menggunakan membran sebagai bioreaktor memiliki kelebihan yaitu proses reaksinya berlangsung secara satu tahap yang artinya penambahan mol metanol dapat dilakukan satu tahap sehingga jumlah biodiesel yang terbentuk juga semakin banyak. Proses ini merupakan perbaikan dari proses sebelumnya yang dilakukan oleh (Shimada et al. 1999;2002) yang melakukan proses reaksi transesterifikasi 3 tahap. Kelemahan proses transesterifikasi 3 tahap adalah produk biodiesel yang dihasilkan memiliki produktivitas yang rendah karena pada prosesnya biodiesel yang terbentuk juga secara bertahap.

Akan tetapi pada pelaksanaannya banyak faktor yang menjadi penghambat pada proses produksi metil ester diantaranya adanya panas yang dapat merusak struktur enzim lipase dan penambahan metanol yang dapat mengakibatkan inaktivasi enzim (Cao, 2005). Selain itu pada penelitian ini penggunaan substrat berupa minyak goreng kelapa sawit dapat dijadikan faktor penghambat karena tidak terlalu efektif untuk meningkatkan produktivitas dari

enzim lipase. Hal ini dikarenakan substrat tersebut bukan merupakan senyawa trigliserida murni karena di dalamnya terdapat zat-zat lainnya.

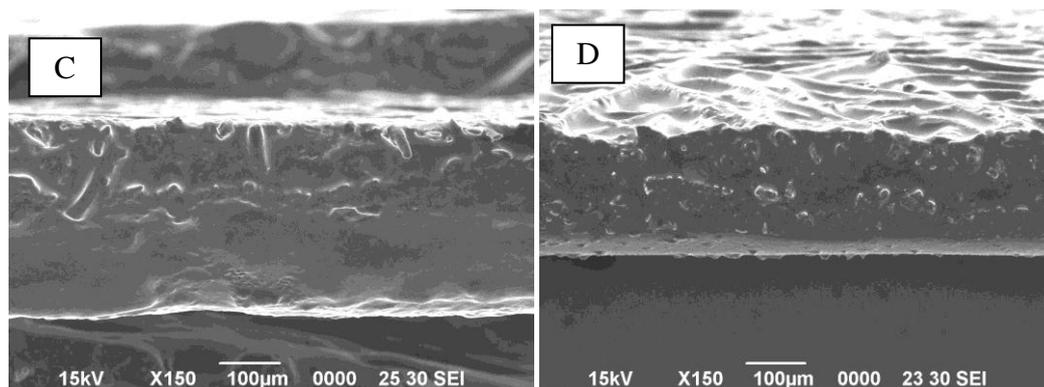
4.3 Distribusi Enzim

Analisa SEM (*Scanning Electron Microscopy*) dapat digunakan untuk mengetahui struktur morfologi membran. Hasil dari uji ini berupa foto kenampakan permukaan dan melintang membran dengan menggunakan mikroskop elektron (Mulder, 1996). Dalam penelitian ini dilakukan analisa SEM untuk 4 membran yaitu : membran baru, membran setelah proses immobilisasi, membran setelah sintesis dengan perbandingan mol 1:3 dan membran hasil sintesis dengan perbandingan mol 1:4.



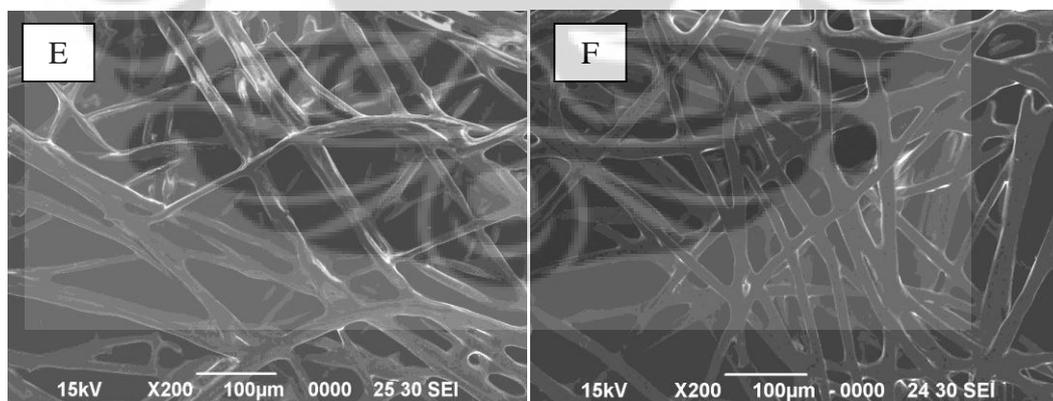
Gambar 4.5 Hasil Analisa SEM pada sisi melintang membran (a) membran baru dan (b) membran setelah proses immobilisasi.

Berdasarkan Gambar 4.5 dapat dilihat secara berurutan hasil analisa SEM pada sisi melintang membran PES yang baru dan membran PES setelah immobilisasi. Pada gambar A terlihat bahwa bagian *support layer* membran masih terdapat ruang kosong dan tipis karena belum dilakukan proses immobilisasi fasa stasioner, sedangkan pada gambar B terlihat bagian *support layer* membran PES sudah terlapisi oleh enzim lipase yang menempel pada pori-pori membran dengan metode adsorpsi bertekanan-ultrafiltrasi.



Gambar 4.6. Hasil Analisa SEM membran sisi melintang pada (c) membran setelah sintesis dengan perbandingan mol substrat 1:3 dan (d) membran setelah sintesis dengan perbandingan mol substrat 1:4

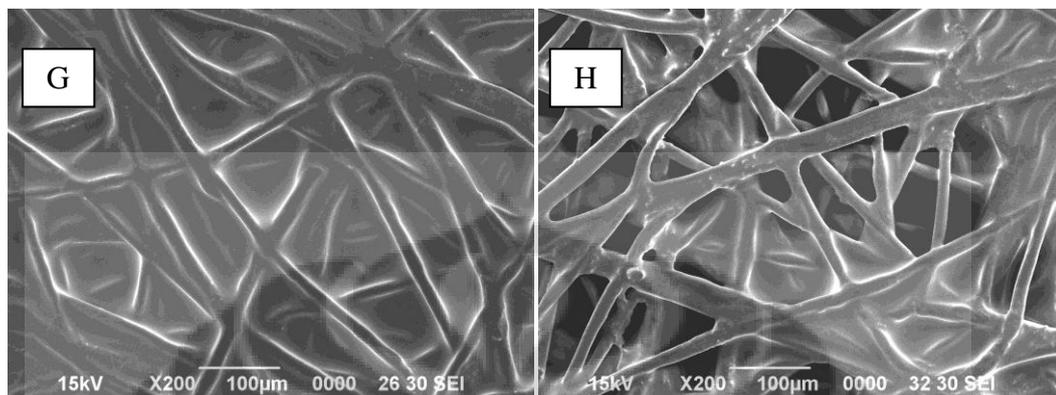
Pada gambar 4.6 merupakan hasil analisa SEM sisi melintang/*cross section* pada membran PES yang telah digunakan untuk sintesis biodiesel. Pada gambar C merupakan membran setelah sintesis dengan perbandingan mol substrat 1:3 dan gambar D membran dengan mol substrat 1:4. Gambar C dan D menunjukkan bahwa permukaan membran yang telah digunakan untuk sintesis terlihat padat terisi oleh enzim, gliserol (produk samping) serta substrat yang tidak bereaksi.



Gambar 4.7 Hasil Analisa SEM pada Permukaan Membran : (e) Membran baru dan (f) Membran setelah Immobilisasi

Gambar 4.7 diatas menunjukkan hasil SEM pada permukaan membran *polyethersulfone*. Secara konsep hasil permukaan membran dengan potongan melintang hampir sama. Membran baru terlihat lebih kosong dimana pori-porinya belum terisi oleh membran serta untuk membran yang telah diimmobilisasi sudah

terisi oleh enzim yang telah teradsorp. Gambar E merupakan hasil analisa SEM membran baru terlihat serat-serat membran sangat jelas terlihat hingga bagian belakang, akan tetapi pada Gambar F terlihat bahwa serat – serat membran sudah terlapisi oleh enzim sehingga batang serat membran terlihat lebih besar.



Gambar 4.8 Hasil Analisa SEM pada Permukaan Membran (g) Membran setelah Sintesis dengan Perbandingan Mol 1:3 dan (h) Membran setelah Sintesis dengan Perbandingan Mol 1:4

Gambar 4.8 merupakan hasil analisa SEM pada membran yang telah digunakan untuk sintesis biodiesel dengan perbandingan mol substrat 1:3 (gambar G) dan mol substrat 1:4 (gambar H). Pada Gambar G terlihat permukaan membran tertutupi seluruhnya oleh enzim, gliserol (produk samping) dan substrat yang tidak bereaksi, tetapi pada Gambar H terlihat permukaan membran lebih bersih dibandingkan dengan membran 1:3. Permukaan membran PES yang bersih dapat dikarenakan penggunaan mol metanol yang lebih tinggi dibandingkan Gambar G, sehingga metanol tersebut dapat membersihkan gliserol (produk samping reaksi) pada permukaan membran.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Pada konsentrasi enzim lipase 30 mg/mL dihasilkan *enzyme loading* yang berbeda yaitu 1,72 ; 2,34 ; dan 4,34 gram/m². Perbedaan *enzyme loading* pada penelitian ini dikarenakan beberapa faktor yaitu (1) tidak adanya kesetimbangan dalam reaksi enzimatik, (2) pengaruh penggunaan membran sebagai matriks, sehingga ikatan yang terjadi antara enzim dan permukaan membran lemah, dan (3) gaya Van der Waals yang terjadi pada permukaan membran sangat lemah sehingga mempengaruhi jumlah enzim yang teradsorpsi pada permukaan membran.
2. Kondisi optimum produktivitas enzim lipase yang tertinggi ditunjukkan oleh perbandingan mol substrat 1: 3 dengan suhu 35°C yaitu 0,03971 mmol/h.mg lipase.
3. Hasil Scanning Electron Microscopy (SEM) pada permukaan membran dan sisi melintang membran *polyethersulfone* (PES) menunjukkan bahwa enzim lipase akan masuk ke dalam bagian support layer dan menutupi permukaan membran. Serta pada membran yang digunakan untuk sintesis penggunaan mol metanol yang tinggi dapat membersihkan gliserol (produk samping dari reaksi) dan substrat yang tidak bereaksi.
4. Hasil produktivitas antara free enzim dan lipase amobil menunjukkan bahwa lipase amobil lebih produktif 0,725 kali dibandingkan dengan *free* enzim. Hal ini dikarenakan penggunaan membran sebagai bioreaktor sehingga produk biodiesel yang dihasilkan semakin tinggi.

5.2 Saran

Untuk penelitian sintesis biodiesel dengan metode immobilisasi adsorpsi bertekanan diharapkan semakin berkembang dan banyak penelitian – penelitian lain yang dapat memperbaiki kekurangan dari reaksi transesterifikasi dengan membran bioreaktor. Sehingga hasilnya dapat dioptimalkan dan diaplikasikan untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan industri.



DAFTAR PUSTAKA

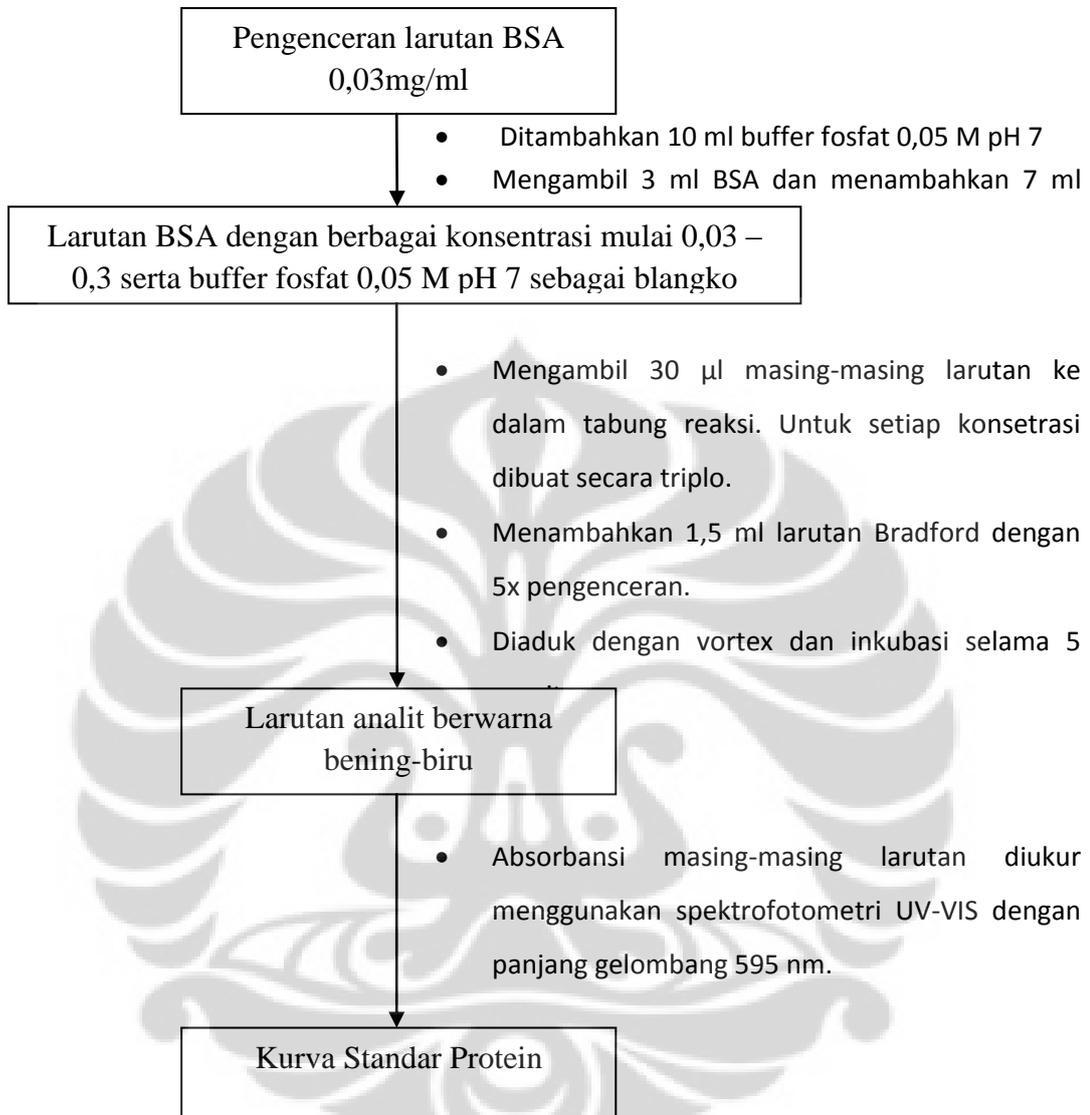
- AL-CHUARAZMI, F. & SARI, N. 2008. *Sintesis Biodiesel dari Minyak Sawit Menggunakan Reaktor Membran dengan Enzim Lipase*. Bachelor, Institut Teknologi Indonesia.
- AL-ZUHAIR, S. 2007. Production of biodiesel : possibilities and challenges *Biofuels Bioproduction Biorefinery*, 1, 57 -66.
- AL-ZUHAIR, S., JAYARAMAN, K. V., KRISHNAN, S. & CHAN, W.-H. 2006. The effect of fatty acid concentration and water content on the production of biodiesel by lipase. *Biochemical Engineering*, 30, 212-217.
- AMOR, J. N. 1998. Applications of catalytic inorganic membrane reactors to refinery products. *Membrane Science*, 147
- ANNA, P. 1994. *Dasar - Dasar Biokimia*, UI Press.
- ARIANTO, H. 2008. *Studi Awal Immobilisasi Enzim Lipase pada Membran dan Aplikasinya untuk Produksi Biodiesel*. Bachelor, Institut Pertanian Bogor.
- CAO, L. 2005. Carrier-Bound Immobilization Enzymes.
- CAO, P., DUBE, M. A. & TREMBLAY, A. Y. 2008a. High-purity fatty acid methyl ester production from canola, soybean, palm, and yellow grease lipids by means of a membrane reactor. *Biomass and Bioenergy*, 32, 1028-1036.
- CAO, P., DUDE, M. & TREMBLAY, A. 2008b. Methanol recycling in the production of biodiesel in a membrane reactor. *Biomass and Bioenergy*, 87, 825-833.
- CAO, P., TREMBLAY, A. Y., DUBE, M. A. & TREMBLAY, Y. 2009. Kinetics of Canola Oil Transesterification in a Membrane Reactor. *Engineering Chemical* 48, 2533-2541.
- CHANG, H.-M., LIAO, H.-F., LEE, C.-C. & SHIEH, C.-J. 2004. Optimized synthesis of lipase-catalyzed biodiesel by Novozym 435. *Chemical Technology and Biotechnology*, 80, 307-312.
- CHIBATA 1978a. Immobilization Enzyme : Research and Development. *John Wiley and Sons Inc*.
- CHIBATA, I. 1978b. *Immobilization Enzyme : Research and Development*, New York, Jhon Willey and Sons Inc.
- CORNELIASARI, K. & KOMALASARI, I. 2009. Biodiesel Sebagai Bahan Baku Alternatif. 58 - 59.
- DOSSAT, V., D, C. & A, M. 1999. Continuous enzymatic transesterification of high oleic sunflower oil in a packed bed reactor. *Enzyme and Microbial Technology*, 25, 194 - 2000(7).
- DU, W., XU, Y., LIU, D. & ZENG, J. 2004. Comparative study on lipase-catalyzed transformation of soybean oil for biodiesel production with different acyl acceptors. *Molecular Catalysis B:Enzymatic*, 30, 125-29.
- DUBE, M., TREMBLAY, A. & LIU, J. 2007. Biodiesel production using a membrane reactor. *Bioresoure Technology* 98, 639-47.
- FUKUDA, H., KONDO, A. & NODA, H. 2001. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Bioscience Bioengineering*, 92, 405 - 16.
- GERPEN, J. V., SHANKS, B., PRUSZKO, R., CLEMENTS, D. & KNOTHE, G. 2004. Biodiesel Production Technology. *In: REPORT*, S. (ed.). Colorado: Midwest Research Institute.
- HAMBALI, E., MUJDALIFAH, S., ARMANSYAH, H., PATTIWI, A. W. & HEDROKO, R. 2007. *Teknologi Bioenergi*. Jakarta: Agromedia.
- HARIYADI, P. 2010. Sepuluh Karater Unggul Minyak Sawit. 30 - 32.

- HARYANTO, B. 2002. Bahan Bakar Alternatif Biodiesel. [Accessed 23 Februari 2012].
- HILAL, N., KOCHKODAH, V., NIGMATULLIN, R., GONCHARUK, V. & AL-KHATIB, L. 2006. Lipase-immobilized biocatalytic membranes for enzymatic esterification: Comparison of various approaches to membrane preparation. *Membrane Science*, 268, 198 - 207.
- ISO, M., CHEN, B., EGUCHI, M., KUDO, T. & SHRESTHA, S. 2001. Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase. *Molecular Catalysis B:Enzymatic*, 16, 53 - 58.
- KAIEDA, T, S., T, M., K, B., A, K., Y, S., H, N., F, N., K, O., E, I. & H, F. 1999. Biodiesel fuel production from plant oil catalyzed by *Rhizopus oryzae* lipase in a water containing system without an organic solvent. *Bioscience Bioengineering*, 6.
- KAIEDA, M., SAMUKAWA, T., KONDO, A. & FUKUDA, H. 2001. Effect of Methanol and water contents on production of biodiesel fuel from plant oil catalyzed by various lipases in a solvent-free system. *Bioscience Bioengineering*, 91, 12 - 15.
- KENNEDY, J. F. & CABRAL, J. M. S. 1987. Enzyme Immobilization. *Enzyme Technology*, 7A.
- KHOTIJAH, S. 2011. *Immobilisasi Lipase pada Membran sebagai Mikroreaktor untuk Reaksi Esterifikasi*. Bachelor Skripsi, Universitas Negeri Jakarta.
- KNOTHE, G. 2001. Historical perspectives on vegetable oil-based diesel fuels. *Inform*, 12, 1103 - 1107.
- KUSDIANA, D. & SAKA, S. 2000. Methyl Esterification of Free Fatty Acids of Rapeseeds Oil as Treated in Supercritical Methanol. *Chemical Engineering*, 34, 383 - 387.
- LAI, C.-C., ZULLAIKAH, S., VALI, S. R. & JU, Y.-H. 2005. Lipase-catalyzed production of biodiesel from rice bran oil. *Chemical Technology Biotechnology* 80, 331 -337.
- MA, F., A, M. & HANNA 1998. Biodiesel production : a review. *Bioresource Technology*, 70.
- MACHSUN, A. L. 2011. *Immobilized of Lipase in Membrane Microreactor for Transesterification of Triolein to Metyl Oleate*. Doctor, University of Indonesia.
- MULDER, M. 1996. *Basic Principles of Membrane Technology* London, Kluwer Academic Publisgers.
- MURTY, V. R., BHAT, J. & MUNISWARAN, P. K. A. 2002. A Review :Hydrolysis of Oils by Using Immobilized Lipase Enzyme *Biotechnology Bioprocess Engineering*, 7, 57 - 66.
- NUOREDDINI, H., GAO, X. & PHILKANA, R. S. 2004. Immobilized Pseudomonas cepacia lipase for biodiesel fuel production from soybean oil,. *Chemical and Biomolecular Engineering Research and Publications*.
- NUSANTARA, P. M. M. 2011. Industri Hilir Kelapa Sawit Indonesia. [Accessed 6 Maret 2012].
- PINYAPHONG, P., SRIBURI, P. & PHUTRAKUL, S. 2011. Biodiesel Fuel Production by Methanolysis of Fish Oil Derived from the Discarded Parts of Fish Catalyzed by Carica papaya Lipase *Engineering and Technology*, 76.
- RIPTEK. 2012. *Potensi Pengembangan Biodiesel di Indonesia* [Online]. Gema Ripstek. Available: <http://gemaripstek.blogspot.com/2012/02/potensi-pengembangan-biodiesel-di.html> [Accessed 12 April 2012].
- RIZVI, S. S. H., REQUENA, A. M. S. & K.PABBY, A. 2008. *Handbook of Membrane Separations: Chemical, Pharmaceutical, Food, and Biotechnological Applications*, India, CRC Press.
- SAMUKAWA, T., KAIEDA, M., MATSUMOTO, T., BAN, K., KONDO, A., SHIMADA, Y., NODA, H. & FUKUDA, H. 2000. Pretreatment of immobilized *Candida antarctica* lipase for biodiesel fuel production from plant oil. *Bioscience Bioengineering*, 90, 180 - 183.

- SANCHEZ, F. & VASUDEVAN, P. T. 2006. Enzyme catalyzed production of biodiesel from olive oil. *Biochemistry and Biotechnology*, 135, 1 - 14.
- SATO, T., TOSA, T. & SEIYAKU, T. Enzymes, Immobilization Methods.
- SHAH, S. & GUPTA, M. N. 2007. Lipase catalyzed preparation of biodiesel from *Jatropha* oil in a solvent free system. *Process Biochemistry*, 42, 409 - 414.
- SHIMADA, Y., WANATABE, Y., SAMUKAWA, T., SUGIHARA, A., NODA, H., FUKUDA, H. & TOMINAGA, Y. 1999. Conversion of vegetable oil to biodiesel using immobilized *Candida antarctica* lipase. *Journal of The American Oil Chemist' Society*, 76, 789 - 793.
- SHIMADA, Y., WATANABE, Y., SUGIHARA, A. & TOMINAGA, Y. 2001. Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing. *Molecular Catalysis B:Enzymatic*, 17, 133 - 142.
- TWYMAN, R. M. 2005. Immobilized Enzymes. 1182-1187.
- TYSON, K. S. 2003. Biodiesel Technology and Feedstock.
- UTOMO, B. 2007. Peran Hutan Dalam Mereduksi Pemanasan Global. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- WAFI, A. 2009. Sintesis Biodiesel dari Berbagai Minyak Goreng Melalui Rute Non Alkohol Menggunakan Biokatalis Terimobilisasi pada Reaktor Packed Bed. Depok: Universitas Indonesia
- WANG, Y., WANG, X., LIU, Y., QU, S., TAN, Y. & TANG, S. 2009. Refining of biodiesel by ceramic membrane separation. *Fuel Processing Technology*, 90, 442-427.
- WATANABE, Y., SHIMADA, Y., SUGIHARA, A., NODA, H., FUKUDA, H. & TOMINAGA, Y. 2000. Continuous Production of Biodiesel Fuel from Vegetable Oil Using Immobilized *Candida antarctica* Lipase. *JAACS*, 77, 354 - 360.
- WATANABE, Y., SHIMADA, Y., SUGIHARA, A. & TOMINAGA, Y. 2001. Enzymatic conversion of waste edible oil to biodiesel fuel in a fixedbed bioreactor. *J.Am Oil*, 703 - 707.
- WENTEN, I. G. & NASUTION, M. H. 2010. Review Proses Produksi Biodiesel dengan Menggunakan Membran Reaktor.
- WORSFOLD, P. 1995. Classification and Chemical Characteristics of Immobilized Enzymes (technical report) *Chemical*, 67, 597-600.
- WULAN, P. P., REJOSO, M. T. & HERMANSYAH, H. Reaksi Hidrolisis Minyak Zaitn Menggunakan Lipase *Rhizopus oryzae* yang di Immobilisasi Melalui Matedo Adsorpsi. [Accessed 8 Maret 2012].
- ZHANG, Y., DUBE, M. A., MCLEAN, D. D. & KATES, M. 2003. Production from waste cooking oil : 1. Process design and technological assesment. *Bioresource Technology*, 89, 1 - 16.

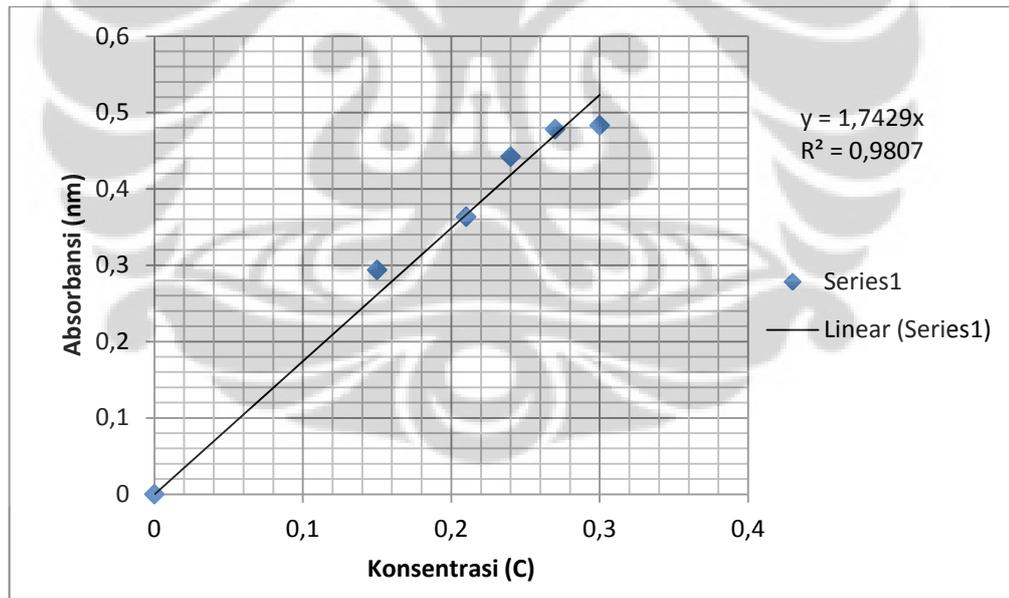
LAMPIRAN

1. Pembuatan Kurva Standar Protein dengan Metode Bradford



2. Kurva Standar Protein dengan Metode Bradford

Konsentrasi	Absorbansi			
	1	2	3	Akhir
Blanko	0,483	0,473	0,483	0,479
0	0,483	0,473	0,483	0
0,03	0,618	0,616	0,607	0,134
0,06	0,647	0,698	0,641	0,182
0,09	0,743	0,735	0,779	0,272
0,12	0,751	0,783	0,786	0,281
0,15	0,751	0,783	0,786	0,293
0,18	0,738	0,738	0,741	0,259
0,21	0,807	0,882	0,840	0,363
0,24	0,873	0,952	0,940	0,442
0,27	0,980	1,065	0,908	0,478
0,3	0,968	0,96	0,919	0,483



3. Pembuatan Larutan Lipase

Enzim lipase yang terdapat dalam laboratorium terdapat 2 jenis, yaitu lipase PS (*Burkholderia Cepacia*) dan lipase AK (*Pseudomonas flurescens*). cara membuat larutan adalah sebagai berikut :

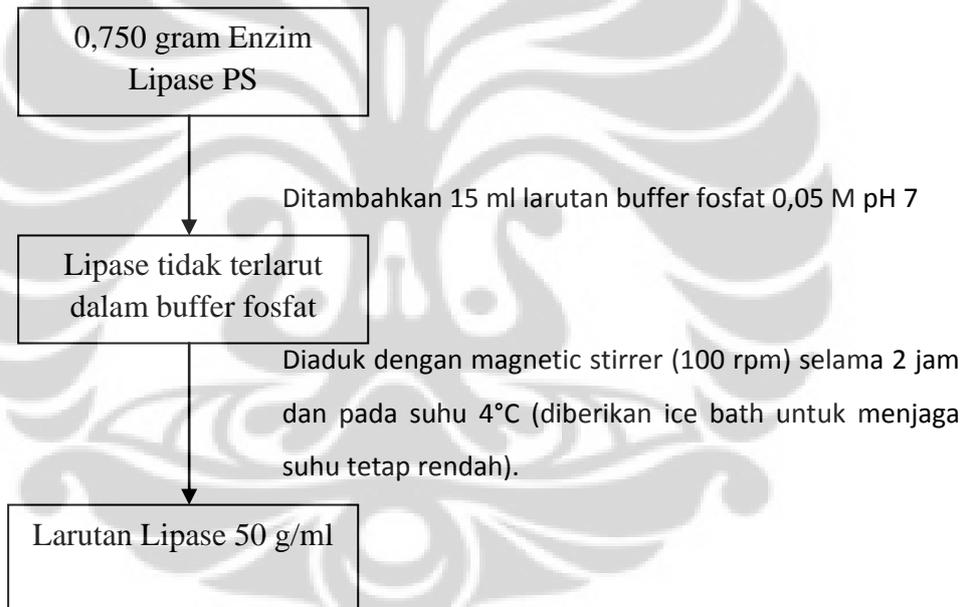
- Enzim AK 50 gram/liter → 300 KDA

Larutan AK (massa yang dibutuhkan)

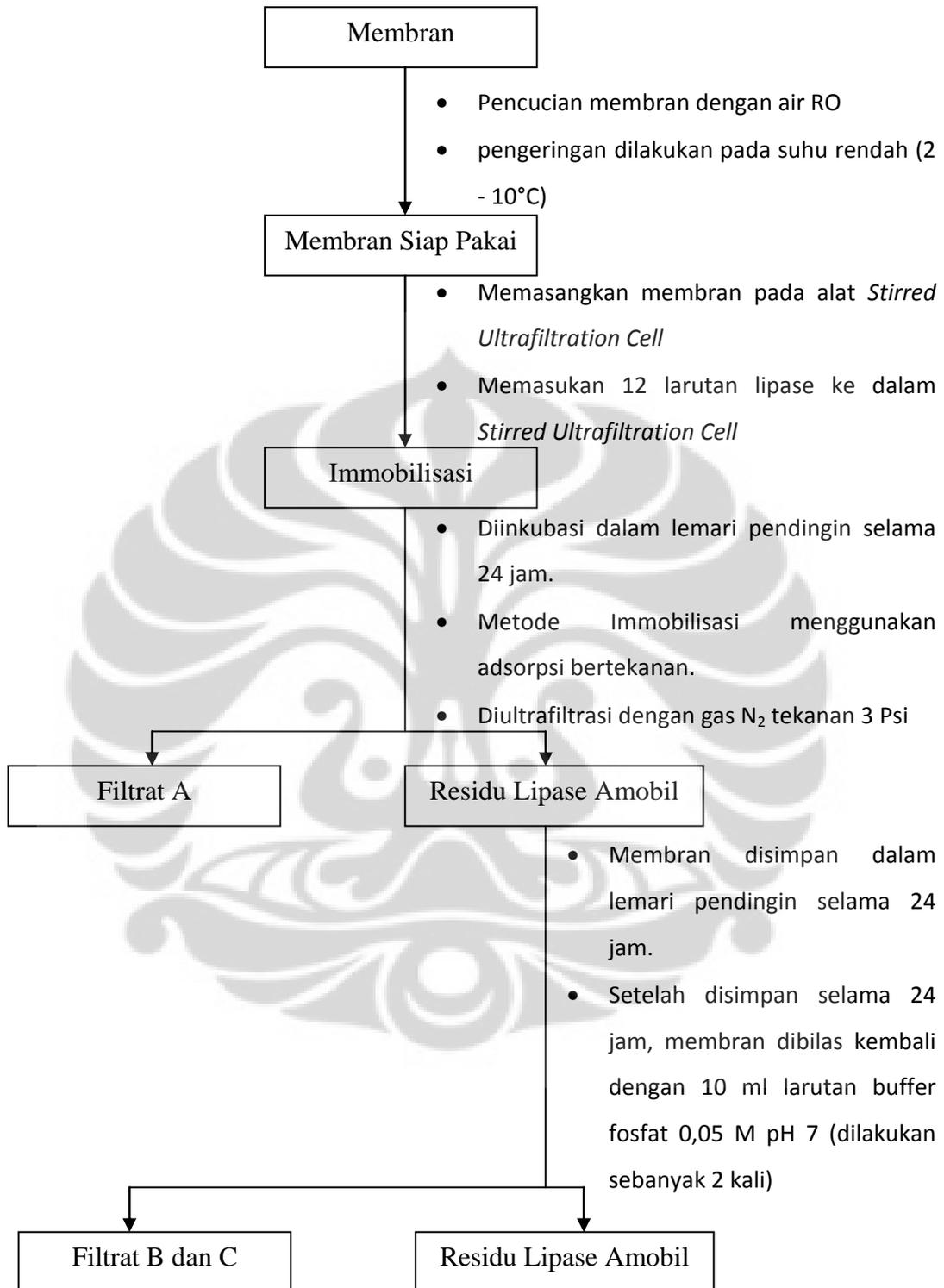
$$50 \text{ g/l} = \frac{50 \text{ mg}}{\text{ml}} \times 11 \text{ ml} = 550 \text{ mg atau } 0,55 \text{ gram}$$

- Enzim PS 125 gram/liter → 500 Kda

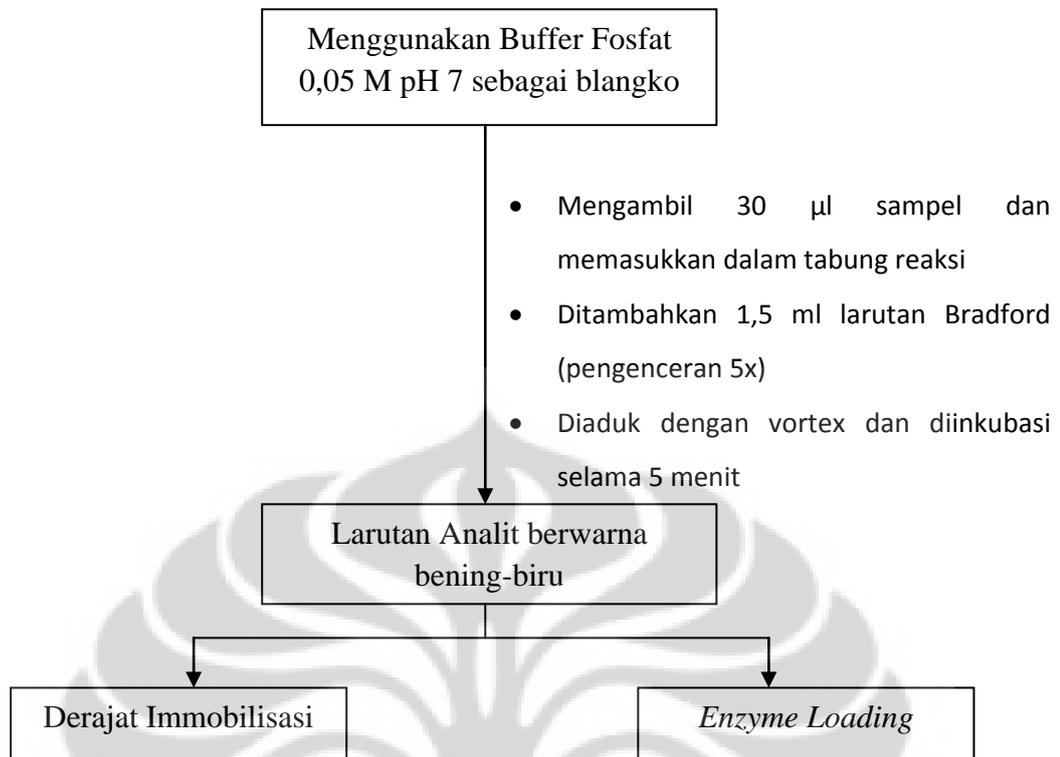
$$125 \text{ g/l} = \frac{125 \text{ mg}}{\text{ml}} \times 11 \text{ ml} = 1375 \text{ mg atau } 1,375 \text{ gram}$$



4. Immobilisasi Lipase pada Membran



5. Diagram Alir Analisa Derajat Immobilisasi dan *Enzyme Loading*



6. Immobilisasi Stasioner pada Membran PES 300 kDa

Lipase (g/L)	Analit	Absorbansi			DI (%)	EL (mg)	EL (g/m ²)
		1	2	Absorbansi rata-rata			
30	Blangko	0,448	0,449	0,4485	60,99	6,54	2,33
	Lipase	0,863	0,921	0,892			
	A	0,635	0,628	0,6315			
	B	0,451	0,458	0,4545			
	C	0,448	0,457	0,4525			
30	Blangko	0,420	0,421	0,4205	62,92	7,21	1,71
	Lipase	0,813	0,829	0,821			
	A	0,623	0,629	0,626			
	B	0,463	0,467	0,465			
	C	0,436	0,433	0,433			
30	Blangko	0,456	0,424	0,44	62,65	12,15	4,34
	Lipase	0,88	0,873	0,8765			
	A	0,62	0,627	0,6235			
	B	0,458	0,455	0,4565			
	C	0,444	0,444	0,444			

7. Produktivitas Lipase Amobil

Luas Membran : 0,0028 m²

Gradien : $y = 1,7429 x$

Sampel	Luas Area	Metil Palmitat (mol)	Laju Alir (mL.h⁻¹)	Enzyme Loading (mg)	Produktivitas (mmol.mg⁻¹.h⁻¹)
<i>Free Lipase</i>	850.710.339	0,0235	2,083	1,7	0,0288
Lipase Amobil	1.016.474.685	0,0280	9,259	6,54	0,0397

8. Produktivitas Lipase Amobil

A. Metil Palmitat

Sampel		Luas Area Sampel	Luas Area Standar	Cp (mg/mL)	Mol Metil Palmitat (mmol)	Flowrate (mL/h)	Pm mg	Pcat (mmol.mg ⁻¹ .h ⁻¹)
Perbandingan mol 1:3	35	1.016.474.685	13.381.120	7,596	0,0280	9,259	6,548	0,0397
	40	9.200.049	13.381.120	0,069	0,0002	9,6	6,548	0,0003
	45	7.791.839	13.381.120	0,058	0,0002	12,430	6,548	0,0004
Perbandingan mol 1:4	35	919.797.987	13.381.120	6,874	0,0254	8,185	7,215	0,0288
	40	4.574.235	13.381.120	0,034	0,0001	3,255	7,215	0,00005
	45	54.937.771	13.381.120	0,411	0,0015	3,329	7,215	0,0007
Perbandingan mol 1:5	35	508.743.509	13.381.120	3,802	0,0140	1,573	12,156	0,0018
	40	41.794.591	13.381.120	0,312	0,0011	5,300	12,156	0,0005
	45	4.608.333	13.381.120	0,034	0,0002	6,25	12,156	0,00006

B. Metil Oleat

Sampel		Luas Area Sampel	Luas Area Standar	Cp (mg/mL)	Mol Metil Oleat (mmol)	Flowrate (mL/h)	Pm mg	Pcat (mmol.mg ⁻¹ .h ⁻¹)
Perbandingan mol 1:3	35	702.836.358	38.764.096	1,8131	0,006	9,259	6,548	0,009
	40	8.852.111	38.764.096	0,022	8,44 . 10 ⁻⁵	9,6	6,548	0,0001
	45	8.453.553	38.764.096	0,021	8,06 . 10 ⁻⁵	12,430	6,548	0,00015
Perbandingan mol 1:4	35	799.895.765	38.764.096	2,063	0,007	8,185	7,215	0,008
	40	4.657.274	38.764.096	0,012	4,442	3,255	7,215	2 . 10 ⁻⁵
	45	30.854.568	38.764.096	0,079	0,0002	3,329	7,215	0,0001
Perbandingan mol 1:5	35	386.898.496	38.764.096	0,998	0,003	1,573	12,156	0,0004
	40	33.240.121	38.764.096	0,085	0,00031	5,300	12,156	0,0001
	45	4.509.528	38.764.096	0,011	4,31 . 10 ⁻⁵	6,25	12,156	2,21 . 10 ⁻⁵

9. Flowrate Sintesis Biodiesel

Membran : I

Enzyme Loading : 2,34 gram/m²

Perbandingan Mol Substrat : 1 : 3

Suhu	Waktu (menit)	Waktu (jam)	Flowrate (mL/h)	Flowrate rata-rata (mL/h)	Volume Membran (mL)	HRT (menit)		
35	13,11	0,21	4,57	4,45	0,784	10,55		
	12,5	0,20	4,8					
	15,01	0,25	3,99					
40	12,12	0,20	4,95	4,51		0,784	9,50	
	15,08	0,25	3,97					
	12,97	0,21	4,62					
45	10,71	0,17	5,60	4,62			0,784	8,39
	9,98	0,16	6,01					
	26,64	0,44	2,25					

Membran : II

Enzyme Loading : 1,72 gram/m²

Perbandingan Mol Substrat : 1 : 4

Suhu	Waktu (menit)	Waktu (jam)	Flowrate (mL/h)	Flowrate rata-rata (mL/h)	Volume Membran (mL)	HRT (menit)
35	8,06	0,13	14,88	8,36	1,17	4,71
	17,11	0,28	7,01			
	37,64	0,62	3,18			
40	12,3	0,20	4,87	3,65		14,39
	16,08	0,26	3,73			
	25,37	0,42	2,36			
45	15,38	0,25	3,90	3,38		17,99
	17,42	0,29	3,44			
	21,27	0,35	2,82			

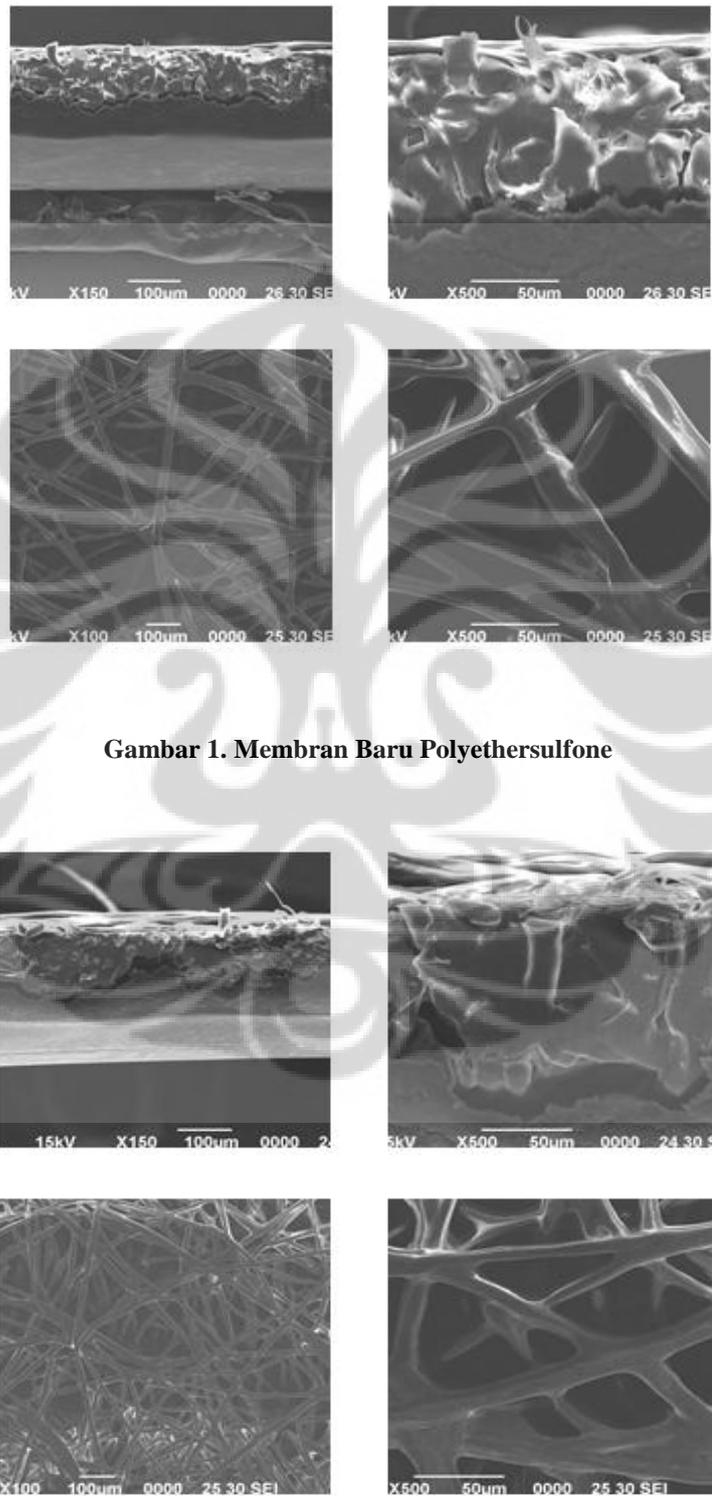
Membran : III

Enzyme Loading : 4,34 gram/m²

Perbandingan Mol Substrat : 1 : 5

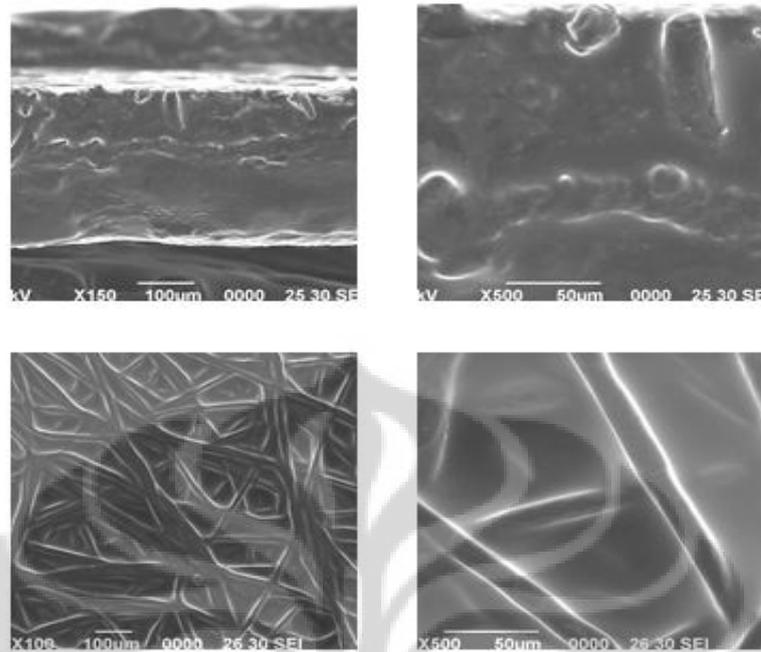
Suhu	Waktu (menit)	Waktu (jam)	Flowrate (mL/h)	Flowrate rata-rata (mL/h)	Volume Membran (mL)	HRT (menit)
35	50,77	0,84	1,18	2,28	0,784	39,80
	52,4	0,87	1,14			
	13,26	0,22	4,52			
40	10,23	0,17	5,86	5,50		8,02
	10,38	0,17	5,78			
	12,34	0,20	4,86			
45	6,51	0,10	9,21	7,61	5,10	
	10,88	0,18	5,51			
	7,4	0,12	8,10			

10. Analisa *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

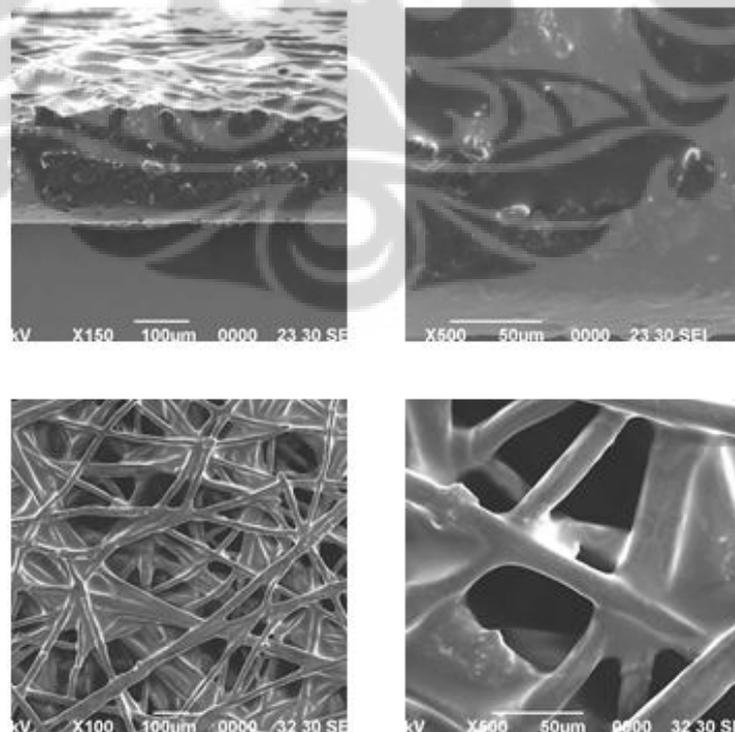


Gambar 1. Membran Baru Polyethersulfone

Gambar 2. Membran Polyethersulfone setelah Immobilisasi Fasa Stasioner



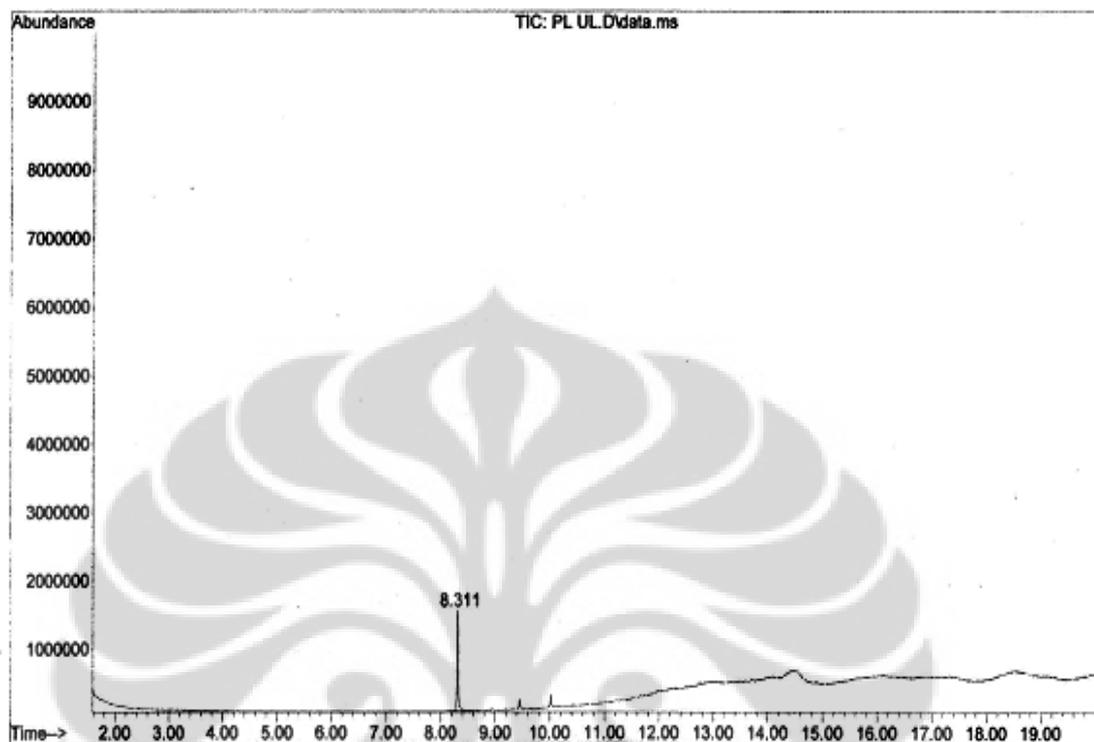
Gambar 3. Membran Polyethersulfone yang digunakan untuk Sintesis Perbandingan 1:3



Gambar 4. Membran Polyethersulfone yang digunakan untuk Sintesis Perbandingan 1:4

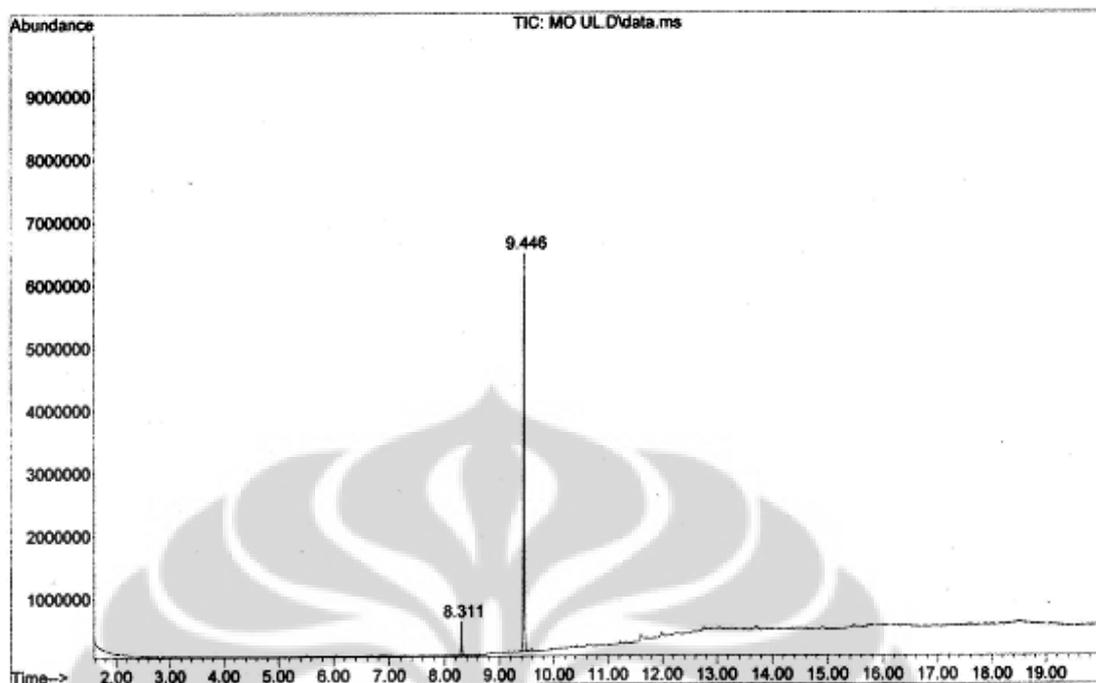
11. Data Analisis GC/MS

A. Larutan Standar Metil Palmitat



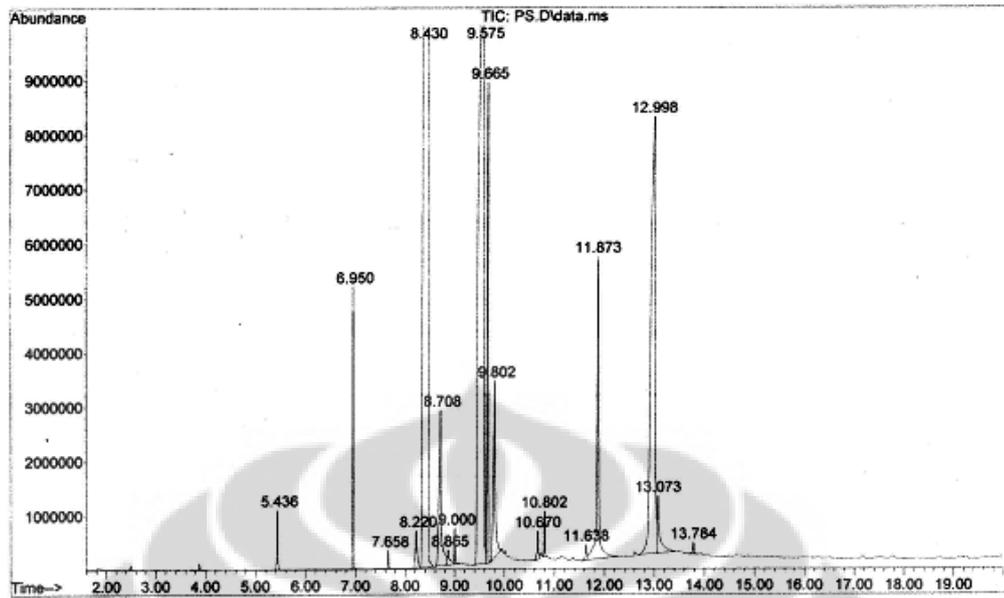
PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	8.315	100.00	C:\Database\wiley7n.1			
			Pentadecanoic acid, 14-methyl-, me	213935	005129-60-2	96
			thyl ester (CAS) \$\$ METHYL 14-METH			
			YL-PENTADECANOATE \$\$ 14-METHYL-PEN			
			TADECANSAEUREMETHYLESTER \$\$ methyl			
			14-methylpentadecanoate			
			Hexadecanoic acid, methyl ester (C	213888	000112-39-0	96
			AS) \$\$ Methyl palmitate \$\$ Methyl			
			hexadecanoate \$\$ Methyl n-hexadeca			
			noate \$\$ Uniphat A60 \$\$ Metholene			
			2216 \$\$ Palmitic acid methyl ester			
			\$\$ Palmitic acid, methyl ester \$\$			
			n-Hexadecanoic acid methyl ester			
			\$\$ PALMITIC ACID-			
			Hexadecanoic acid, methyl ester (C	213891	000112-39-0	95
			AS) \$\$ Methyl palmitate \$\$ Methyl			
			hexadecanoate \$\$ Methyl n-hexadeca			
			noate \$\$ Uniphat A60 \$\$ Metholene			
			2216 \$\$ Palmitic acid methyl ester			
			\$\$ Palmitic acid, methyl ester \$\$			
			n-Hexadecanoic acid methyl ester			
			\$\$ PALMITIC ACID-			

B. Larutan Standar Metil Oleat



Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	8.308	7.52	C:\Database\wiley7n.1 Hexadecanoic acid, methyl ester (C AS) \$\$ Methyl palmitate \$\$ Methyl hexadecanoate \$\$ Methyl n-hexadeca noate \$\$ Uniphat A60 \$\$ Metholene 2216 \$\$ Palmitic acid methyl ester \$\$ Palmitic acid, methyl ester \$\$ n-Hexadecanoic acid methyl ester \$\$ PALMITIC ACID- Hexadecanoic acid, methyl ester \$\$ Palmitic acid, methyl ester \$\$ n- Hexadecanoic acid methyl ester \$\$ Metholene 2216 \$\$ Methyl hexadecan oate \$\$ Methyl n-hexadecanoate \$\$ Methyl palmitate \$\$ Uniphat A60 Pentadecanoic acid, 14-methyl-, me thyl ester	213888	000112-39-0	98
2	9.444	92.48	C:\Database\wiley7n.1 13-Octadecenoic acid, methyl ester , (Z)- 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e ster (CAS) \$\$ Methyl oleate \$\$ Met hyl cis-9-octadecenoate \$\$ Oleic a cid methyl ester \$\$ Oleic acid, me thyl ester \$\$ Emery oleic acid est er 2301 \$\$ OLEIC ACID-METHYL ESTER \$\$ (Z)-9-OCTADECENOIC ACID, METHY L ESTER \$\$ (Z)-9- 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl e ster	245518	013058-55-4	99
				245469	000112-62-9	99
				245471	000112-62-9	99

C. Free Enzim



D. Lipase Amobil

