

PRODUKSI BIODIESEL DARI CRUDE PALM OIL MENGGUNAKAN KATALIS ENZIM LIPASE *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* AMOBIL

BIODIESEL PRODUCTION FROM CRUDE PALM OIL USING IMMOBILIZED LIPASE OF *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

Arba Susanty¹, Sukartin¹, Fitriani¹ dan Krishna Purnawan Candra²

¹Balai Riset dan Standardisasi Industri Samarinda

²Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Mulawarman Samarinda

Email: arbasusan@yahoo.com

Diajukan: 24/5/2013, Direvisi: 27/7/2013, Disetujui: 23/8/2013

ABSTRACT

*Biodiesel is a renewable fuel, which is usually produced through esterification followed by transesterification chemically. Biodiesel production using lipase catalyst has been developed. But the use of lipase enzyme is plagued with high prices and can only be use for one-time reaction. Immobilized lipase will increase productivity so lipase can be reused. The purpose of this study was to determine the condition of the production of biodiesel from CPO (Crude Palm Oil) and methanol, using immobilized lipase (*Pseudomonas fluorescens*). Biodiesel production is done by reacting methanol and CPO with the addition immobilized lipase. Immobilization of lipase using carrier kaolin and celite. The results of this study showed that for production biodiesel from CPO and methanol can be done by using immobilized lipase *Pseudomonas fluorescens* with molar ration 1:6 and temperatures above 50°C. Immobilization of lipase the best matrix based on the percentage of protein bound to the matrix using kaolin is 1.36 mg/mL. FAME is predominantly obtained methyl ester palmitate and methyl ester oleate. Metanolisis process using immobilized lipase *Pseudomonas fluorescens* is better when done at temperatures above 50°C.*

*Keywords: immobilized, lipase, *Pseudomonas fluorescens*, crude palm oil*

ABSTRAK

Biodiesel merupakan bahan bakar terbarukan, yang biasanya diproduksi melalui proses esterifikasi diikuti dengan transesterifikasi kimia. Produksi biodiesel menggunakan katalis enzim lipase telah mulai dikembangkan. Tetapi penggunaan enzim lipase terkendala dengan mahalnya harga lipase dan hanya dapat digunakan untuk satu kali reaksi. Dengan amobilisasi lipase akan meningkatkan produktivitas lipase sehingga lipase dapat digunakan kembali. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kondisi produksi biodiesel dari CPO (*Crude Palm Oil*) dan metanol sebagai bahan baku, menggunakan katalis enzim lipase (*Pseudomonas fluorescens*) amobil. Produksi biodiesel dilakukan dengan mereaksikan CPO dan metanol dengan penambahan enzim lipase amobil. Amobilisasi lipase menggunakan *carrier* / matrik kaolin dan celite. Hasil penelitian didapatkan bahwa untuk produksi biodiesel dengan bahan baku CPO dan metanol dapat dilakukan dengan menggunakan katalis enzim lipase *Pseudomonas fluorescens* amobil, menggunakan perbandingan molar CPO dan metanol adalah 1 : 6 dan suhu di atas 50°C. Amobilisasi lipase dengan matriks terbaik berdasarkan persentase protein yang terikat pada matriks menggunakan kaolin yaitu sebesar 1,36 mg/mL. FAME dominan yang diperoleh adalah metil eser palmitat dan metil ester oleat. yang masing-masing berasal dari asam palmitat dan asam oleat yang merupakan asam lemak utama penyusun CPO.

*Kata kunci: amobil, lipase, *Pseudomonas fluorescens*, crude palm oil*

PENDAHULUAN

Fatty Acid Methyl Ester (FAME) merupakan ester dari asam lemak. Karakteristik fisik dari ester-ester asam lemak lebih mendekati karakteristik bahan bakar diesel dibandingkan dengan minyak nabati murni, tetapi karkteristik ini sangat tergantung pada jenis minyak nabatinya. FAME ini biasanya disebut biodiesel,

merupakan bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan, mudah terdegradasi dan berasal dari bahan yang dapat diperbaharui.

Diantara beberapa bahan baku pembuatan biodiesel, yang memiliki potensi sangat besar adalah minyak sawit (*Crude Palm Oil* disingkat CPO). Pada tahun 2012 Indonesia menghasilkan produksi CPO sebesar 23,52 ton, dimana potensi ini dapat

dikembangkan sebagai sumber energi terbarukan (*renewable energy*). Selama ini biodiesel diproduksi melalui proses esterifikasi diikuti dengan transesterifikasi secara kimia. Dalam satu dekade terakhir ini telah dikembangkan produksi biodiesel secara enzimatik menggunakan katalis lipase. Sintesis secara enzimatik mempunyai banyak keunggulan dibanding sintesis secara kimia antara lain prosesnya dilakukan dengan suhu yang lebih rendah, hasilnya lebih tinggi, dalam bentuk enzim amobil, katalisnya dapat digunakan secara berulang, menghemat bahan kimia dan pemisahan gliserol lebih mudah

Lipase merupakan enzim yang sangat luas peranannya di dunia industri antara lain industri farmasi, kosmetik, pangan dan *waste treatment* (Joseph *et al.*, 2007). Lipase adalah enzim hidrolitik yang sekaligus mempunyai aktivitas esterase, sehingga dapat digunakan untuk produksi alkil ester dengan bahan baku trigliserida dan alkohol. Lipase yang dapat digunakan dalam pembuatan FAME adalah lipase yang mempunyai aktivitas esterase, dapat melakukan esterifikasi dan transesterifikasi. Mikroba yang menghasilkan lipase jenis ini antara lain *Pseudomonas fluorescens* dan *Pseudomonas cepacia* (Noureddini *et al.*, 2005).

Namun penggunaan enzim lipase sebagai biokatalis memiliki beberapa kelemahan antara lain mahalnya lipase dan hanya dapat digunakan untuk satu kali reaksi. Salah satu cara untuk mengatasi kelemahan ini adalah dengan penggunaan enzim amobil (Mukesh Kumar Modi *et al.*, 2006). Amobilisasi enzim bertujuan untuk meningkatkan stabilitas dan produktivitas enzim tersebut sehingga lipase dapat digunakan kembali (Cao, 2005 *dalam* Setyahadi, 2011). Keuntungan enzim amobil ini adalah partikel enzim dapat diperoleh kembali setelah proses produksi untuk kemudian digunakan lagi.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kondisi produksi biodiesel dari CPO (*Crude Palm Oil*) dan metanol sebagai bahan baku, menggunakan katalis enzim lipase (*Pseudomonas fluorescens*) amobil.

METODE

Bahan dan alat penelitian

CPO sebagai sumber asam lemak diperoleh dari PTPN XIII Longkali Kab. Pasir, methanol (pa), sebagai sumber alkil, natrium sulfat anhidrat, dan heksan diperoleh dari Merck, lipase dari *Pseudomonas fluorescens* sebagai katalisator diperoleh dari Wako, kaolin dan celite 545 sebagai carrier enzim amobil diperoleh dari Merck, minyak goreng komersial (Bimoli), standar alkil ester untuk C14:0, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2, dan C18:3, kalium dihidrogen fosfat dan kalium hidrogen fosfat diperoleh dari Merck, kit analisis protein diperoleh dari Bio-Rad.

Alat yang digunakan terdiri dari Khromatografi gas (Hawlett-Packard) dengan kolom kapiler dari Innowax digunakan untuk analisis FAME, spektrofotometer digunakan untuk pengukuran protein, dan alat-alat lain untuk proses pembuatan biodiesel seperti penangas air bergoyang, corong pemisah, sentrifius, mikropipet, dan timbangan analitik.

Prosedur penelitian

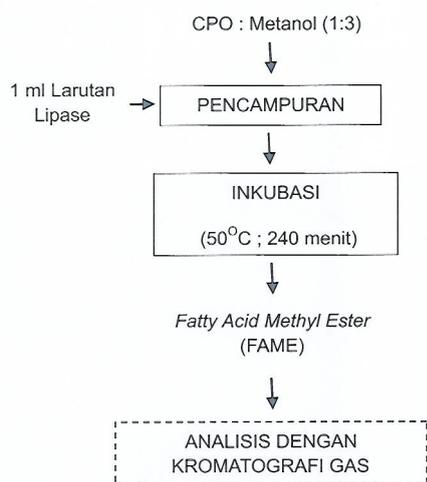
Penelitian ini dilakukan dalam 4 tahapan yaitu :

- 1) Pengujian aktivitas esterase dari lipase
- 2) Penentuan perbandingan molar antara CPO dan metanol
Prosedur penentuan perbandingan molar antara CPO dan metanol, dilakukan seperti pada Gambar 1, dengan 3 variasi rasio CPO dan metanol yaitu (1:3), (1:6) dan (1:9).

3) Amobilisasi lipase

Amobilisasi Lipase diujicobakan pada dua jenis carrier / matriks yaitu celite dan kaolin. Sebelumnya dilakukan analisis kadar protein larutan lipase menggunakan metode protein assay dari *Bio-Rad*. Amobilisasi lipase

dilakukan dengan prosedur seperti pada Gambar 2. Jumlah lipase yang termobilisasi dihitung berdasarkan perbedaan protein yang terikat pada matriks tersebut, yang diketahui dengan cara mengukur kadar protein fase cair campuran larutan lipase dan matriks setelah inkubasi (proses amobilisasi).



Gambar 1. Proses metanolisis

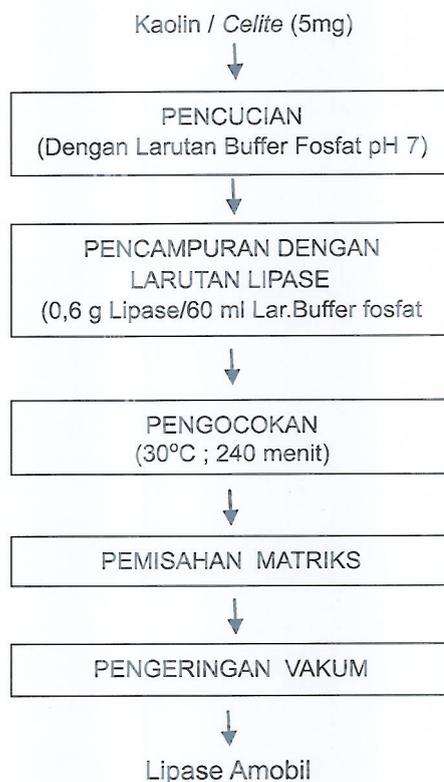
4) *Metode produksi biodiesel menggunakan enzim lipase amobil*

Proses produksi biodiesel menggunakan enzim amobil dilakukan seperti pada Gambar 1, menggunakan perbandingan molar antara CPO dan metanol yang terbaik pada tahap 2). Produksi biodiesel dilakukan pada suhu 40, 50, 60, dan 70°C. Setiap perlakuan suhu kemudian dianalisis kandungan FAME-nya pada waktu inkubasi 4, 6, 8, dan 10 jam.

5) *Penentuan prosentase FAME*

Prosentase FAME diketahui dengan membandingkan tinggi peak kromatogram sampel dan larutan standar. Untuk analisis FAME menggunakan gas kromatografi dengan menyuntikkan sebanyak 1 L contoh menggunakan metode split, dengan kondisi uji adalah suhu inlet 220°C, suhu detector 275°C, sedangkan suhu kolom diatur secara gradient, yaitu

150°C selama 1,0 menit, suhu dinaikkan 15°C per menit ke 240°C, dinaikkan lagi 5°C per menit ke 260°C, kemudian suhu dipertahankan pada 260°C selama 8 menit.



Gambar 2. Proses amobilisasi lipase

HASIL DAN PEMBAHASAN

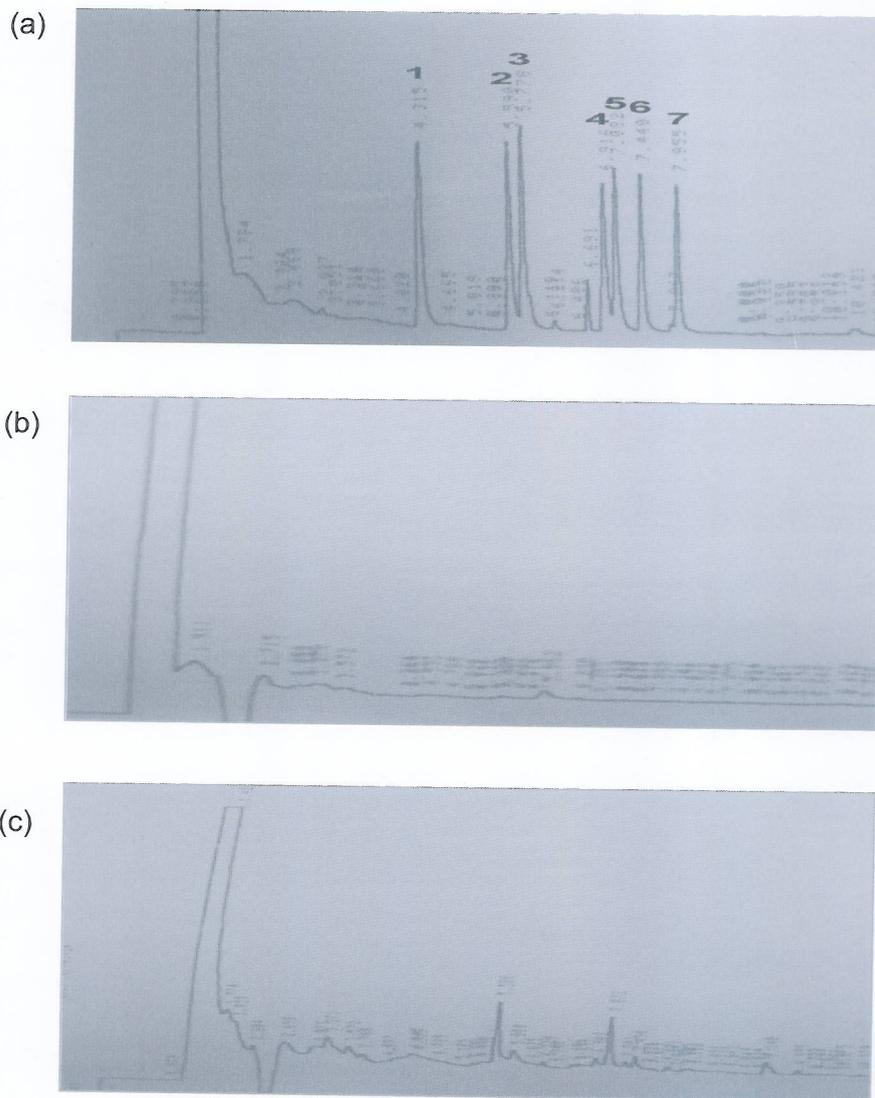
Pengujian aktivitas esterase

Gambar 1(a) menunjukkan kromatogram dari standar FAME yang digunakan yaitu metil ester untuk C:14 (asam miristat), C:16 (asam palmitat), C:16:1 (asam palmitoleat), C18:0 (asam stearat), C18:1 (asam oleat), C18:2 (asam linoleat), C18:3 (asam linolenat). Sedangkan gambar 1(b) dan 1(c) menunjukkan kromatogram dari minyak goreng komersial dan CPO, dimana dari gambar tersebut dapat dilihat pada minyak goreng komersial maupun CPO tidak mengandung metil ester, tetapi kedua minyak ini dapat membentuk metil ester melalui proses metanolisis. Gambar 2 menunjukkan metil ester yang terbentuk

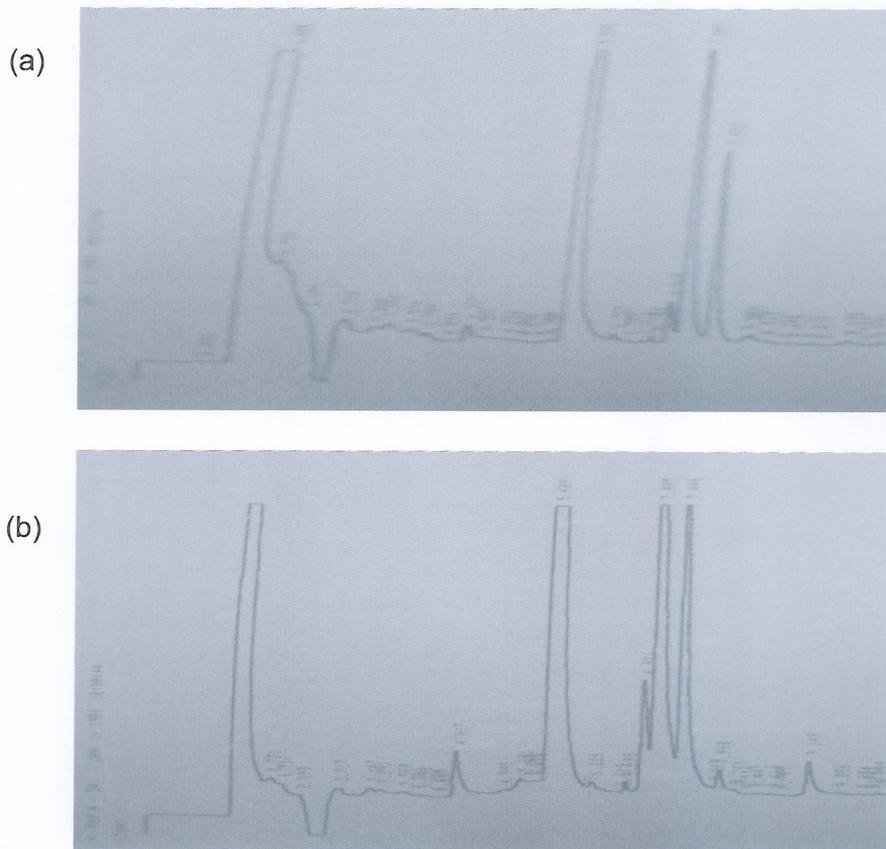
dari proses metanolisis menggunakan katalis enzim lipase dari *Pseudomonas fluorescens* pada (a) minyak goreng komersial maupun (b) CPO. Abigor *et al.* (2000) telah melaporkan bahwa minyak inti sawit (PKO) dapat digunakan sebagai substrat pembuatan biodiesel disamping minyak kelapa. Sedangkan lipase yang dapat digunakan dalam proses pembuatan FAME adalah lipase yang mempunyai aktivitas esterase, dapat melakukan esterifikasi dan transesterifikasi. Menurut

Sokoto *et al.*, (2011), profil FAME merupakan salah satu faktor kunci yang menentukan ketersediaan atau bahan baku biodiesel.

Dari kedua gambar dapat diketahui bahwa enzim lipase dari *Pseudomonas fluorescens* memiliki aktivitas esterase dan CPO merupakan minyak yang potensial sebagai substrat (bahan baku) pembuatan biodiesel menggunakan katalis enzim lipase *Pseudomonas fluorescens*.



Gambar 1. (a) Standar FAME; (b) Minyak goreng komersial; (c) Minyak sawit / CPO Keterangan gambar: 1. asam miristat (C14:0), (2) asam palmitat (C16:0), (3) asam palmitoleat (C16:1), (4) asam stearat (C18:0), (5) asam oleat (C18:1), (6) asam linoleat (C18:2), (7) asam linolenat (C:18:3)



Gambar 2. Metil ester setelah proses metanolisis dengan katalis enzim lipase dari : (a) minyak goreng komersial (Bimoli) ; (b) CPO

Penentuan perbandingan molar antara CPO dan metanol

Secara teoritis perbandingan molar antara minyak dan alkohol adalah 1:3, tetapi perbandingan molar ini ternyata sangat bervariasi pada setiap proses tergantung jenis minyak dan alkohol yang digunakan. Pada penelitian ini dicoba perbandingan molar minyak dan metanol sebanyak 1:3, 1:6, dan 1:9. Pada Tabel 1, perbandingan molar minyak dan metanol (1:6) memberikan prosentase FAME lebih besar baik pada CPO maupun Minyak goreng komersial sebagai pembanding yaitu 3.33% dan 4.55%. Pada perbandingan (1:3), prosentase FAME lebih rendah. Hal ini kemungkinan karena jumlah mol metanol yang tersedia dapat berkurang selama proses karena adanya penguapan.

Sedangkan perbandingan yang tinggi (1:9) dapat menghambat kerja lipase, karena protein termasuk enzim dapat mengendap dalam alkohol.

Tabel 1. Prosentase FAME dari bahan baku

Perbandingan (Minyak : Metanol)	% FAME	
	CPO	Minyak Goreng Komersial (Bimoli)
1 : 3	0.81	4.23
1 : 6	3.33	4.55
1 : 9	2.76	1.15

Sebagai pembanding digunakan minyak goreng komersial (Bimoli) yang berasal dari minyak sawit yang telah mengalami proses

pemurnian. Pada minyak goreng komersial prosentase FAME yang diperoleh pada rasio (1:3) dan (1:6) lebih besar dibandingkan dengan CPO. Hal ini disebabkan minyak goreng komersial, telah mengalami beberapa tahapan proses pemurnian sehingga dapat mengurangi adanya *impurities* atau pengotor-pengotor dalam minyak. Dengan berkurangnya *impurities* maka akan meningkatkan reaksi terbentuknya FAME dalam minyak goreng komersial (Bimoli).

Ammobilisasi lipase

Amobilisasi enzim lipase menggunakan metode *carrier binding*, dengan dua macam matriks yaitu kaolin dan celite. Kemampuan kedua matriks tersebut dalam mengikat protein disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kemampuan matriks dalam mengikat protein

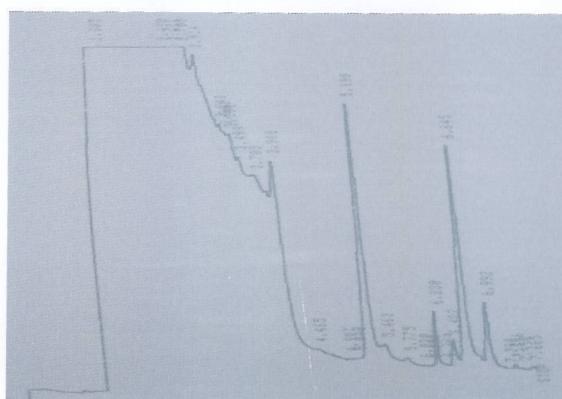
Jenis matriks	Kadar protein Larutan enzim (mg/mL)		Protein yang terikat pada matriks (mg/mL)
	awal	akhir	
Kaolin	1,73	0,37	1,36
Celite	1,71	0,96	0,75

Apabila dilihat dari ukuran partikelnya, kaolin mempunyai ukuran partikel 0,1 – 2 m sedangkan celite 20 – 200 m. Pada proses imobilisasi, kaolin yang memiliki ukuran lebih halus dapat tersebar secara merata selama pengocokan, sedangkan celite cenderung berada pada dasar tabung sehingga penyebarannya tidak merata. Hal ini menyebabkan kaolin mempunyai kontak antara matrik dengan protein yang lebih besar dibanding celite. Dari hasil ini maka kaolin kemudian digunakan sebagai matriks dalam pembuatan enzim amobil.

Produksi biodiesel menggunakan enzim lipase amobil

enzim amobil yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim amobil yang

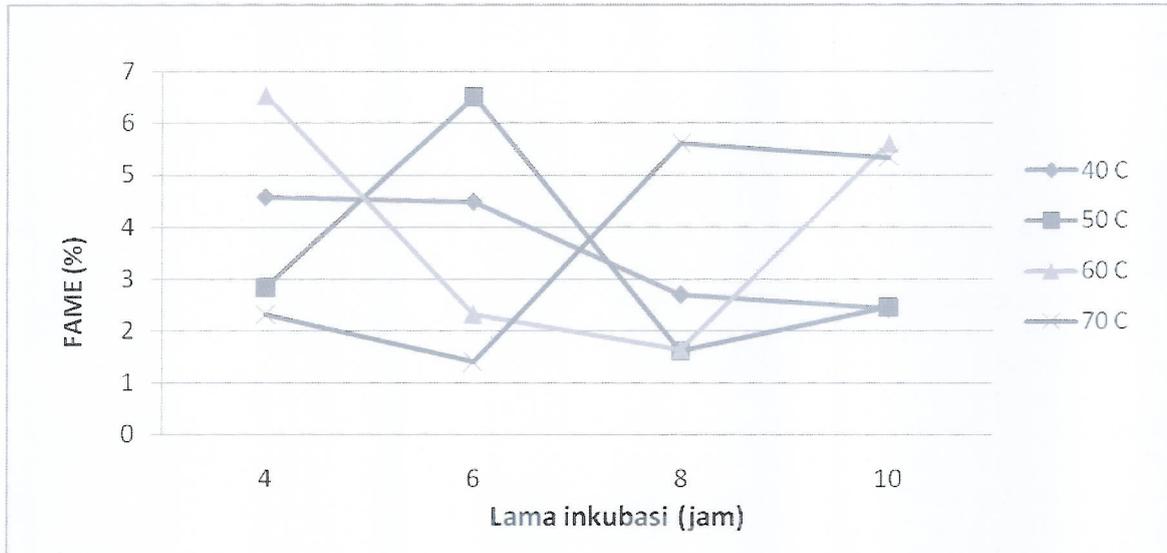
menggunakan kaolin sebagai matriksnya. Berbeda dengan pengujian sebelumnya yang menggunakan larutan enzim, pada pengujian FAME yang dilakukan dari proses metanolisis menggunakan enzim amobil ini hanya diperoleh dua macam FAME yaitu metil ester palmitat dan metil ester oleat, yang masing-masing berasal dari asam palmitat dan asam oleat, seperti terlihat pada Gambar 3. Asam palmitat dan asam oleat merupakan dua asam lemak utama yang menyusun CPO, dengan konsentrasi masing-masing 32-45% dan 38-52% (www.chempro.in/fattyacid.htm, 2013).



Gambar 3. FAME hasil metanolisis dengan enzim amobil

Terikatnya enzim lipase ini pada matrik dapat menyebabkan konformasinya berubah sehingga hanya mengenal asam palmitat dan asam oleat saja. Walaupun demikian, karena kandungan kedua asam lemak ini dalam CPO mencapai 83 %, maka proses metanolisis menggunakan enzim lipase amobil dengan matriks kaolin sangat potensial untuk digunakan.

Berdasarkan prosentase FAME dari proses metanolisis menggunakan enzim lipase amobil dari *Pseudomonas fluorescens* ini baik bila dilakukan pada suhu diatas 50°C (Gambar 4). Hal ini sangat menguntungkan untuk proses pembuatan biodiesel dengan bahan baku CPO karena CPO mempunyai titik cair pada suhu 31-41°C, sehingga pada suhu diatas 50°C CPO dalam keadaan cair sehingga proses reaksinya menjadi lebih baik.



Gambar 4. Pengaruh suhu dan waktu inkubasi terhadap prosentase FAME

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Amobilisasi lipase *Pseudomonas fluorescens* yang terbaik menggunakan carrier / matriks kaolin. Penggunaan katalis enzim lipase *Pseudomonas fluorescens* amobil, dalam proses produksi FAME (Biodiesel) dapat dilakukan dengan menggunakan perbandingan CPO dan metanol (1:6) dengan suhu diatas 50°C dengan lama masa inkubasi 10 jam.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai proses produksi yang optimum dengan perlakuan lama waktu inkubasi di atas 10 jam dengan suhu diatas 50°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Abigor RD, Uadia PO, Foglia TA, Haas MJ, Jones KC, Okpefa E, Obibuzor JU, Bafor ME .2000. Lipase-catalysed production of biodiesel fuel from some Nigerian lauric oils. *Bochemical Society Transaction* 28(6): 978-981.
- Fukuda,H., Kondo,A., dan Noda,H. 2001. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Biosciences and Bioengineering* 92(5): 405-416
- www.chempro.in/fattyacid.htm. 2013. Fatty acids composition of some major oils (29 April 2013)
- Joseph B, Ramteke PW, Thomas G, Shrivastava N . 2007. Standard review cold-active microbial lipases: a versatile tool for industrial application. *Biotechnology and molecular Biology Review* 2(2): 39-48.
- Kaieda M, Samukawa T, Kondo A, Fukuda H .2001. (*J Biosci Bioeng* 91(1):12-15
- Macrae, A.R. 1983. Lipase catalyzed interesterification of oils and fats. *JAOCS* 60(2):291-294.
- Mayordomo, I., randez_Gil, F., dan Prieto, J.A. 2000. Isolation, purification and characterization of a cold-active lipase from *Aspergillus nidulan*. *J. Agric. Food Chem.* 48:105-109
- www.beranda.miti.or.id Potensi Biodiesel di Indonesia.(diakses tanggal 15 Juli 2013)
- Miranda, O.A., Salguiero, A.A., Pimentel, M.C.B., Lima Filho, J.L., Melo, E.H.M., dan Duran, N. 1999. Lipase production by Brazillian starin of *Penicillium citrinum* using an industrial

- residue. *Bioresource Technology* 36:145-147.
- Mukesh Kumar Modi, Reddy JRC, Rao BVSK, Prasad RBN .2006. Lipase-mediated Transformation of Vegetable Oils into Biodiesel using Propan-2-ol as Acyl Acceptor *Biotechnology Letters* 28(9): 637-640
- Noureddini H, Gao X, Philkana RS .2005. Immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase for biodiesel fuel production from soybean oil. *Bioresource technology* 96(7): 769-777.
- Setyahadi S, Machsum AL, Mokodongan RS,. 2011. Kitin sebagai Penopang untuk amobilisasi lipase pada proses trans-esterifikasi trigliserida. Prosiding seminar nasional teknik Kimia "Kejuangan" B04.1–B04.5.