



Produksi Biodiesel dari *Crude Palm Oil* (CPO) dengan Menggunakan Lipase dan Etanol Konsentrasi Rendah

Nova Rachmadona*, Fajriana S. Nurrusyda, Husain A. Sumeru, Hersandy D. Kusuma,
Dewa A. S. L. A. Dewi

Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran,
Jl. Raya Bandung-Sumedang km 21, Jatinangor, 45363, Jawa Barat, Indonesia.

*Alamat email penulis koresponden: n.rachmadona@unpad.ac.id

Abstrak

Di tengah masyarakat yang semakin bergantung pada bahan bakar fosil dan menghadapi potensi krisis energi, biodiesel muncul sebagai sumber energi alternatif yang menjanjikan. Namun, metode pembuatan biodiesel konvensional katalis asam-basa kurang efisien ketika menggunakan bahan baku dengan kandungan *free fatty acid* (FFA) yang tinggi, karena dapat membentuk reaksi penyabunan dan mengurangi *yield* produk. Solusi inovatif hadir melalui penggunaan katalis enzimatis yang dapat mengubah bahan baku dengan kandungan FFA dan trigliserida menjadi *fatty acid ethyl ester* (FAEE) melalui proses transesterifikasi. Penelitian ini menguji penggunaan minyak sawit mentah (CPO) dengan FFA $2,34 \pm 0,02\%$ sebagai bahan baku. Proses transesterifikasi dilakukan menggunakan lipase terimobilisasi pada suhu 30°C , kecepatan pengadukan 35 rpm, rasio molar etanol terhadap CPO 1:4 selama 48 jam dengan *yield* biodiesel yang mencapai 61,67%. Penelitian ini tidak hanya menegaskan viabilitas biodiesel sebagai alternatif energi yang berkelanjutan, tetapi juga menunjukkan potensi transesterifikasi enzimatis sebagai metode produksi yang efektif. Dengan mengandalkan katalis enzim yang diimobilisasi, proses ini membuka jalan bagi pendekatan yang lebih hijau dan menawarkan pengurangan energi serta penggunaan bahan kimia yang lebih efisien.

Kata kunci: biodiesel, enzimatis transesterifikasi, *free fatty acid*, *fatty acid ethyl ester*

PENDAHULUAN

Tidak dapat dipungkiri bahwa energi merupakan kebutuhan primer bagi manusia. Ketergantungan yang terus menerus terhadap bahan bakar fosil dapat menyebabkan penipisan bertahap pada cadangan bahan bakar fosil di bumi dan kerusakan terhadap lingkungan. Untuk mengatasi tantangan tersebut, saat ini banyak penelitian dan pengembangan dilakukan pada sumber energi alternatif. Salah satu opsi menarik adalah biodiesel, yang mendapatkan perhatian luas karena memiliki kegunaan yang beragam dan kemampuan biodegradabilitas yang baik. Selain itu, emisi biodiesel mengandung lebih sedikit partikulat, hidrokarbon dan karbon monoksida sehingga lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan bahan bakar berbasis fosil (Farobie *et al.*, 2023).

Biodiesel dapat dihasilkan dari minyak nabati, limbah organik dan lemak hewani. Bahan baku tersebut merupakan bahan terbarukan dan dapat terurai secara alami (Tan *et*

al., 2023). Secara konvensional, biodiesel diproduksi dengan proses esterifikasi atau transesterifikasi menggunakan katalis basa dan alkohol untuk membentuk trigliserida menjadi *fatty acid methyl esters* (FAEE) dan gliserol. Namun, keefektifan dari metode ini bergantung pada bahan baku yang digunakan. Kelemahan utama dari metode konvensional ini adalah bahan baku yang digunakan harus memiliki kandungan *free fatty acid* (FFA) dan air yang rendah. Jika tidak, maka akan mendukung proses penyabunan dan *yield* yang dihasilkan akan berkurang drastis. Oleh karena itu, penggunaan bahan baku berkualitas rendah, seperti limbah organik kurang efisien dalam proses ini karena membutuhkan banyak biaya untuk menurunkan kadar FFA (dos Santos *et al.*, 2019).

Untuk mengatasi masalah yang dihadapi pada metode konvensional, penggunaan enzim menawarkan alternatif yang lebih baik bagi produksi biodiesel. Enzim sebagai katalis akan membantu proses hidrolisis rantai panjang trigliserida menjadi FAEE. Jika dibandingkan dengan metode konvensional, optimasi pembuatan biodiesel melalui katalisis lipase menunjukkan keunggulan yang signifikan. Terutama, peningkatan selektivitas dari elemen-elemen ini mengurangi biaya produksi dan mengurangi dampak lingkungan (Santos *et al.*, 2020).

Berbagai sumber dapat digunakan sebagai bahan baku biodiesel seperti minyak olahan kedelai, minyak biji bunga matahari, dan limbah organik. Namun, *crude palm oil* (CPO) merupakan salah satu bahan baku yang cukup populer digunakan sebagai biodiesel, dengan komposisi asam lemak jenuh dan tak jenuh sebesar masing-masing 50,63% dan 49,93% (Sarip *et al.*, 2023). Ada dua produk utama yang dihasilkan dari biji kelapa sawit: minyak sawit mentah dan minyak inti kelapa sawit. Minyak sawit mentah cenderung memiliki kandungan asam lemak bebas dan air yang tinggi. Meskipun kondisi ini mungkin mempresentasikan tantangan dalam pengolahan, sebaliknya hal ini membuat sumber bahan baku CPO lebih mudah diperoleh, memberikan keuntungan ekonomis bagi industri kelapa sawit.

Penelitian ini berfokus pada pemanfaatan CPO dan penyelesaian tantangan dalam produksi biodiesel. Pemilihan metode transesterifikasi enzimatis didasarkan pada kelebihan selektivitas, efisiensi, dan dampak lingkungan yang lebih positif dibandingkan metode konvensional. Metode ini diharapkan dapat mengatasi kandungan asam lemak bebas yang tinggi dalam CPO dan meningkatkan efisiensi konversi menjadi biodiesel. Peran pelarut sebagai agen konversi CPO menjadi biodiesel juga diperhatikan dalam penelitian ini. Etanol memiliki viskositas yang lebih rendah dibandingkan dengan metanol, sehingga dapat membantu mengurangi viskositas campuran reaksi, serta konsentrasinya yang rendah digunakan agar lebih ekonomis dan meminimalkan reaksi penyabunan. Penelitian ini tidak hanya bertujuan untuk mengoptimalkan ekonomi industri kelapa sawit melalui pemanfaatan CPO, tetapi juga untuk meningkatkan aspek keberlanjutan dengan menghasilkan biodiesel yang lebih ramah lingkungan. Harapannya, hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi positif pada industri kelapa sawit, menguatkan keberlanjutan sumber daya, dan menciptakan solusi inovatif untuk memenuhi kebutuhan energi yang terus berkembang.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, neraca analitik, mikro pipet, *thermoblock rotator*, *bio shaker*, *orbital bio shaker*, dan *freeze dryer*. CPO disediakan oleh PT. Agrical (Bengkulu, Indonesia) dan disimpan di dalam kontainer pada suhu ruang. Karbon aktif dalam percobaan ini diperoleh dari Nacalai Tesque Inc (Kyoto, Jepang) dan dipilih berdasarkan ukuran 30-60 mesh. Formulasi cair *Thermomyces lanuginosus* lipase (TLL) didapatkan dari Novozymes (Bagsverd, Denmark). Larutan *buffer* yang digunakan adalah 20 mM fosfat pH 7,0, *buffer* tris 5 mM pH 7,0 mengandung 10 mM CaCl₂, dan 5 mM *buffer* bikarbonat pH 9,0. Bahan kimia lainnya diperoleh dari Nacalai Tesque, Inc. (Kyoto, Jepang) dan SigmaAldrich (Tokyo, Jepang). Adapun instrumen yang digunakan untuk analisis adalah *high-performance liquid chromatography* (HPLC) (LC-20AB, Shimadzu, Kyoto, Jepang) dan *gas chromatography flame ionization detector* (GC-FID, Shimadzu, Kyoto, Jepang).

Imobilisasi TLL Pada Karbon Aktif

Imobilisasi lipase dilakukan dalam tabung reaksi, dengan menimbang karbon aktif sebanyak 3 g yang kemudian dilarutkan dalam 9 mL larutan *buffer*. Proses imobilisasi lipase dilakukan pada suhu 25°C selama 6 jam menggunakan *bio shaker* dengan 200 osilasi per menit. Untuk mengevaluasi nilai adsorpsi, 200 µL supernatan diambil pada interval waktu 0, 1, 3, dan 6 jam. Pasca-imobilisasi, supernatan dibuang. Lipase yang telah diimobilisasi dicuci dua kali dengan 1 mL air deionisasi, lalu diliofilisasi menggunakan *freeze dryer* untuk menghasilkan biodiesel.

Produksi Biodiesel

Sebanyak 4 g CPO ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup ulir. Lipase yang telah diimobilisasi digunakan sebagai katalis reaksi dengan menambahkan sebanyak 500 mg bersama 0,62 mL etanol 45% pada interval waktu 0, 6, 12, dan 24 jam sehingga menghasilkan rasio molar total minyak terhadap etanol sebesar 1:4. Reaksi dilakukan di dalam inkubator *thermoblock rotator* pada suhu 30°C dan 35 rpm selama 48 jam. Jumlah FAEE diukur dengan mengambil 100 µL sampel pada 6, 12, 24, dan 48 jam

Analisis Biodiesel

Konsentrasi etanol pada sampel dianalisis menggunakan HPLC dengan kolom Coregel-87 H (7,8 mm LD × 300 mm, Transgenomic Inc., Omaha, NE) dan refractive index detector (RID-10A). Sebelum diinjeksikan, sebanyak 300 µL sampel disentrifugasi dan disaring (0,22 µm). Kolom diatur pada suhu 80°C dengan 0,005 mol L⁻¹ H₂SO₄ sebagai fase gerak, dan laju aliran sebesar 0,60 mL min⁻¹. Untuk analisis FAEE, digunakan GC-FID yang terhubung ke kolom kapiler Interfeno ZB-5HT (15 m x 0,25 mm x 0,15 mm, Phenomenex Inc., Torrance, CA). Suhu kromatografi gas dimulai pada 130°C selama 2 menit, dengan peningkatan suhu pada tingkat 10°C min⁻¹ hingga mencapai 350°C, diikuti oleh peningkatan hingga 370°C pada tingkat 7°C min⁻¹, dan dipertahankan

selama 10 menit. Tricaprylin ditambahkan ke setiap sampel sebagai standar internal untuk mengukur komposisi etil ester.

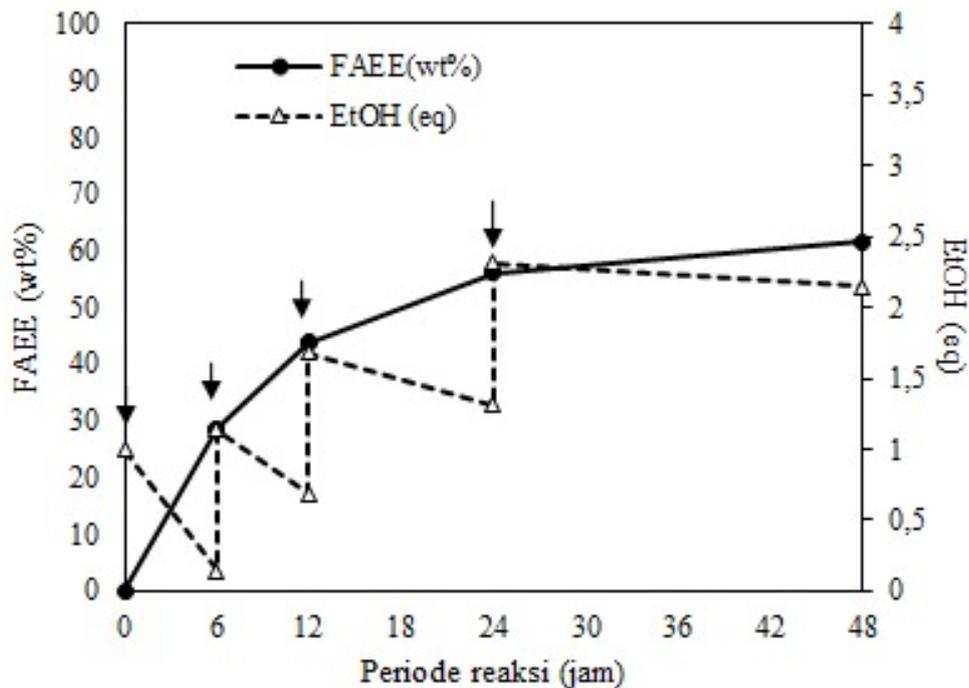
HASIL DAN PEMBAHASAN

CPO yang diperoleh dari buah sawit memiliki kadar asam lemak tinggi karena adanya enzim hidrolitik di bagian luar buah. Enzim ini berperan dalam memecah minyak menjadi FFA dan sebagian gliserol, terutama saat terjadi kerusakan pada buah atau dalam proses ekstraksi. Sebagai hasilnya, minyak mentah atau CPO dari buah sawit memiliki tingkat keasaman yang tinggi, terutama saat terdapat kelembaban yang mendukung proses enzimatik. Tingkat keasaman yang tinggi ini akan menghambat proses transesterifikasi biodiesel jika hanya dilakukan dengan katalis alkali (dos Santos *et al.*, 2019). Sebagai solusinya, dalam penelitian ini katalis yang digunakan adalah enzim. Lipase, juga dikenal sebagai triasilgliserol asil hidrolase, adalah enzim yang dapat memecah asilgliserol rantai panjang dari hewan, tumbuhan, bakteri, jamur, dan ragi. Lipase dianggap sebagai biokatalis penting dalam berbagai industri, seperti kosmetik, farmasi, industri makanan, dan biofuel, karena berhasil dalam berbagai reaksi industri, seperti transesterifikasi, esterifikasi, interesterifikasi, hidrolisis, alkoholisis, asidolisis, dan aminolisis (Christopher *et al.*, 2014). Metode enzimatik memerlukan biaya energi yang lebih rendah, serta dapat dilakukan di lingkungan yang mudah (30–60°C dan pH 4–9). Untuk membuat proses ini tahan terhadap korosi, tidak memerlukan reaktor khusus. Kelebihan lainnya adalah lipase memiliki spesifisitas substrat yang tinggi, selektivitas, regioselektivitas, dan enantioselektivitas, yang berarti minim produk sampingan, sehingga meningkatkan hasil reaksi secara keseluruhan (Rabbani *et al.*, 2023).

Imobilisasi enzim dilakukan dengan pengikatan enzim ke permukaan karbon aktif, baik melalui adsorpsi fisik atau pengikatan kovalen. Proses ini dipilih karena akan meningkatkan stabilitas enzim dan melindungi strukturnya dari perubahan yang dapat menyebabkan denaturasi. Enzim yang diimobilisasi pada karbon aktif juga memiliki efisiensi katalitik yang lebih baik dan dapat digunakan kembali. Selain itu, pemisahan enzim dari produk reaksi menjadi lebih mudah (Shahedi *et al.*, 2021). Dalam penelitian (Rachmadona *et al.*, 2021), *palm oil mill effluent* (POME) digunakan sebagai sumber karbon imobilisasi enzim lipase *A. oryzae*. Hasilnya menunjukkan bahwa produksi FAEE mencapai 95%. Karbon aktif dipilih karena menawarkan kekosongan permukaan yang efektif penyerapan lipase dan tingkat adsorpsi protein, yaitu sekitar 90%. (Lee *et al.*, 2019) melakukan produksi biodiesel secara enzimatik dengan lipase yang diimobilisasi bersama dari *Candida rugosa* (CRL) dan *Rhizopus oryzae* (ROL) pada karbon aktif. Hasil akhir biodiesel dari minyak kedelai, minyak jelantah, dan minyak alga adalah 94–99% .

Karakterisasi CPO yang dilakukan oleh (dos Santos *et al.*, 2019) menunjukkan nilai FFA, bilangan asam dan kadar air masing-masing adalah $2,34 \pm 0,02\%$; $4,65 \pm 0,07$ mg NaOH/g; dan $1,50 \pm 0,01\%$. Efektivitas transesterifikasi dapat dilihat pada Gambar 1, dimana FAEE akan dihasilkan dari reaksi antara trigliserida dan alkohol. Setiap periode reaksi yang diiringi penambahan konsentrasi enzim dan etanol akan menghasilkan FAEE berbeda. Penambahan etanol 45% dan periode reaksi berpengaruh signifikan terhadap

FAEE yang dihasilkan. FAEE tertinggi dihasilkan dalam periode 48 jam dengan *yield* 61,67%. Dalam proses transesterifikasi, FFA dapat terlibat reaksi dengan etanol untuk membentuk FAEE, serupa dengan reaksi transesterifikasi trigliserida. Gugus asam pada FFA digantikan oleh gugus alkohol dari etanol, membentuk FAEE dan gliserol sebagai produk sampingan. Namun, reaksi transesterifikasi FFA lebih lambat dan kurang efisien dibandingkan dengan reaksi transesterifikasi trigliserida. Kondisi ini disebabkan karena FFA tidak memiliki kerangka molekul trigliserida yang kompleks, sehingga kurang reaktif dan membutuhkan kondisi reaksi yang lebih ketat untuk konversi yang efisien.



Gambar 1. Produksi FAEE dengan menggunakan CPO sebagai bahan baku dengan menggunakan lipase amobil sebagai katalis pada etanol konsentrasi rendah.

Hal inilah yang mungkin mempengaruhi *yield* dari penelitian ini, dimana dapat terbentuknya reaksi lain dalam proses yaitu hidrolisis trigliserida yang menghasilkan gliserol dan asam lemak bebas (FFA). Reaksi ini terjadi karena adanya air, yang secara alami hadir dalam lingkungan reaksi atau berasal dari etanol yang digunakan. Reaksi hidrolisis dapat mengurangi rendemen biodiesel dan menghasilkan produk samping yang tidak diinginkan. Berdasarkan stoikiometri, proses transesterifikasi 3 mol alkohol yang bereaksi dengan 1 mol trigliserida untuk menghasilkan 3 mol FAEE. Farobie *et al.* (2023) pada penelitiannya menyimpulkan bahwa peningkatan rasio molar metanol terhadap CPO dari 5:1 hingga 20:1, menghasilkan peningkatan FAEE dari 60,40% menjadi 91,41% .

Peningkatan konsentrasi alkohol, akan menimbulkan tumbukan antara trigliserida dan alkohol. Efeknya, reaksi bergeser ke arah kanan sehingga meningkatkan konversi trigliserida menjadi FAEE. Namun, jika meningkatkan rasio molar alkohol, maka hasil biodiesel tidak meningkat sama sekali. Hal ini sesuai dengan hasil dari penelitian ini di

mana konsentrasi etanol yang digunakan cukup rendah 45%, menghasilkan penurunan katalis konsentrasi, sehingga menghalangi akses menarik molekul trigliserida (transesterifikasi) dan meningkatkan laju konversi FFA. CPO mengandung FFA yang cukup tinggi, tetapi tidak cukup untuk mencegah reaksi hidrolisis terjadi. Sebaliknya, alkohol konsentrasi rendah lebih baik digunakan dalam produksi biodiesel dari bahan baku dengan kadar FFA lebih tinggi. Hal ini didukung oleh penelitian Rachmadona *et al.* (2022) yang menggunakan alkohol konsentrasi rendah dengan bahan baku PAO FFA 93,3% menghasilkan *yield* biodiesel sebesar 98,6%. Oleh karena itu, diperlukan penyesuaian parameter utamanya konsentrasi dan rasio etanol terhadap bahan baku lebih lanjut.

KESIMPULAN

Penggunaan lipase ter-imbobilisasi dalam produksi biodiesel telah menunjukkan hasil yang baik dengan memperoleh *yield* FAEE sebesar 61,67%. Kondisi operasional seperti suhu 30°C, kecepatan pengadukan 35 rpm, rasio molar etanol terhadap CPO 1:4, dan durasi reaksi selama 48 jam, telah terbukti mendukung proses ini. Namun, terdapat kendala dalam bentuk proses hidrolisis yang diperparah oleh kandungan air yang tinggi, mengganggu konversi FFA menjadi FAEE. Sebagai langkah perbaikan, menyesuaikan rasio etanol terhadap CPO dan meningkatkan konsentrasi etanol dapat menjadi strategi untuk meningkatkan *yield* biodiesel. Optimalisasi ini dapat mengurangi gangguan hidrolisis dan memfasilitasi proses transesterifikasi, sehingga potensi lipase ter-imbobilisasi sebagai katalis dalam produksi biodiesel lebih optimal dan efisien.

DAFTAR PUSTAKA

- Christopher, L.P., Kumar, H. & Zambare, V.P. 2014. Enzymatic biodiesel: Challenges and opportunities. *Applied Energy*. 119: 497-520.
- dos Santos, L.K., Hatanaka, R.R., de Oliveira, J.E. & Flumignan, D.L. 2019. Production of biodiesel from crude palm oil by a sequential hydrolysis/esterification process using subcritical water. *Renewable Energy*. 130: 633-640.
- Farobie, O., Sutarlan, I.F.I., Sucahyo, L., Bayu, A. & Hartulistiyoso, E. 2023. Biodiesel production from crude palm oil under subcritical methanol conditions: Experimental investigation and kinetic model. *Bioresource Technology Reports*. 22: 101441.
- Lee, J.H., Lee, J.H., Kim, D.S., Yoo, H.Y., Park, C. & Kim, S.W. 2019. Biodiesel production by lipases co-immobilized on the functionalized activated carbon. *Bioresource Technology Reports*. 7: 100248.
- Rabbani, G., Ahmad, E., Ahmad, A. & Khan, R.H. 2023. Structural features, temperature adaptation and industrial applications of microbial lipases from psychrophilic, mesophilic and thermophilic origins. *International Journal of Biological Macromolecules*. 225: 822-839.
- Rachmadona, N., Quayson, E., Amoah, J., Alfaro-Sayes, D.A., Hama, S., Aznury, M., Kondo, A. & Ogino, C. 2021. Utilizing palm oil mill effluent (POME) for the

- immobilization of *Aspergillus oryzae* whole-cell lipase strains for biodiesel synthesis. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 15(3): 804-814.
- Rachmadona, N., Harada, Y., Amoah, J., Quayson, E., Aznury, M., Hama, S., Kondo, A. & Ogino, C. 2022. Integrated bioconversion process for biodiesel production utilizing waste from the palm oil industry. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 10(3): 107550.
- Santos, S., Puna, J. & Gomes, J. 2020. A review on bio-based catalysts (immobilized enzymes) used for biodiesel production. *Energies*. 13(11): 3013.
- Sarip, M.S.M., Morad, N.A., Abd Aziz, M.K.T., Saparin, N. & Nawi, M.A.H.M. 2023. Composition of crude palm oil extracted using hot compressed water extraction. *Journal of Oleo Science*. 72(1): 33-38.
- Shahedi, M., Habibi, Z., Yousefi, M., Brask, J. & Mohammadi, M. 2021. Improvement of biodiesel production from palm oil by co-immobilization of *Thermomyces lanuginosa* lipase and *Candida antarctica* lipase B: Optimization using response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*. 170: 490-502.
- Tan, D., Wu, Y., Lv, J., Li, J., Ou, X., Meng, Y., Lan, G., Chen, Y. & Zhang, Z. 2023. Performance optimization of a diesel engine fueled with hydrogen/biodiesel with water addition based on the response surface methodology. *Energy*. 263: 125869.