

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1. Persiapan Sampel

Penelitian ini menggunakan ekstrak usus ayam yang berfungsi sebagai biokatalis. Usus ayam diperoleh dari tempat pemotongan ayam yang terletak di Jalan Besi, Ngaglik, Sleman, Yogyakarta. Ekstrak usus ayam ini digunakan untuk mendapatkan ekstrak enzim lipase dengan teknik imobilisasi menggunakan karbon aktif. Imobilisasi dilakukan untuk menghindari rusaknya enzim lipase atau terdenaturasinya protein yang terdapat dalam ekstrak usus ayam. Karbon yang telah digunakan untuk mengimobilisasi ekstrak usus ini yang akan dicampurkan dengan metanol dan trigliserida agar terbentuk metil ester melalui proses reaksi hidrolisis dan reaksi esterifikasi.

1.2. Ekstraksi Sampel

Usus ayam yang digunakan dalam penelitian ini harus dilakukan treatment yaitu ekstraksi. Ekstraksi itu sendiri merupakan pemisahan 2 campuran larutan dengan menggunakan pelarut, sedang ekstrak merupakan hasil dari proses ekstraksi. Ekstraksi usus ayam dilakukan dengan mereaksikan antara usus dengan buffer posphat pH 7 untuk mengendalikan pH agar tetap dalam keadaan stabil. Pengendalian pH ini dilakukan agar tidak merusak enzim lipase yang terdapat didalam usus ayam. Kondisi pH yang terlalu rendah mengakibatkan ion H^+ akan berikatan dengan $-NH_3^+$ pada struktur asam amino protein membentuk $-NH_4^+$. Proses pengikatan tersebut menyebabkan ikatan antara atom nitrogen dengan atom hidrogen lainnya terputus, sehingga enzim terdenaturasi. Kondisi pH tinggi mengakibatkan ion $-OH$ berikatan dengan atom hidrogen dari gugus COO^- enzim, membentuk H_2O (Wulan, 2010). Hal tersebut mengakibatkan rusaknya ikatan antara atom hidrogen dengan nitrogen atau oksigen, sehingga struktur enzim mengalami kerusakan. Adapun yang dapat mempengaruhi rusaknya enzim lipase adalah suhu yang terlalu tinggi dapat merusak enzim, dan pH yang terlalu asam ataupun terlalu basa juga dapat merusak enzim. Penggunaan buffer dalam

pembuatan ekstrak usus ini juga dapat berpengaruh penting terhadap interaksi ionik dalam proses imobilisasi (Zhao, 2014).

Pemisahan ekstrak enzim lipase ini awalnya dilakukan dengan menggunakan 2 cara yaitu dengan cara ekstraksi dan dengan cara sentrifugasi. Sentrifugasi merupakan pemisahan campuran yang digunakan untuk mengganti filtrasi. Pemisahan ini dilakukan untuk memisahkan zat yang memiliki partikel kecil, sentrifugasi bekerja dengan memutar larutan dengan kecepatan tertentu sehingga larutan akan membentuk endapan. Penggunaan sentrifugasi pada penelitian ini tidak efektif dimana sampel yang dipisahkan dengan menggunakan sentrifugasi tidak dapat membentuk lapisan metil ester.

1.3. Imobilisasi Enzim Lipase

Imobilisasi enzim lipase merupakan suatu metode atau suatu cara yang digunakan sebagai perlindungan terhadap enzim dengan mengikat enzim lipase pada benda atau partikel padatan yang tidak dapat larut (Yücel, 2013). Imobilisasi enzim menjadi metode dan cara yang paling efektif dalam proses pembuatan biodiesel menggunakan enzim lipase ini, hal ini dikarenakan rentannya enzim lipase yang digunakan dalam proses pembuatan biodiesel ini yang menyebabkan sulitnya terjadi pemisahan antara biodiesel yang dihasilkan, dengan minyak bekas yang digunakan.

Sulitnya terbentuk biodiesel juga disebabkan karena terdenaturasinya enzim lipase yang ditandai dengan adanya penggumpalan pada bagian dasar botol sampel yang digunakan dalam proses pembuatan. Pembuatan biodiesel ini sebelumnya sudah dilakukan tanpa dengan menggunakan proses imobilisasi yang terjadi dalam proses inkubasi enzim mengalami denaturasi dengan ditandai adanya flok menyerupai lemak yang terbentuk bagian bawah gliserol sehingga metil ester tidak terbentuk.

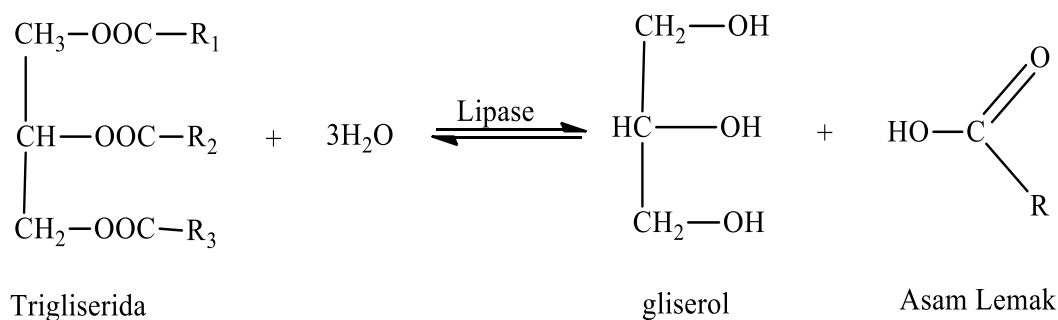
Proses imobilisasi ini berlangsung dengan menggunakan padatan berupa karbon, penggunaan karbon dalam penelitian ini dikarenakan karbon memiliki potensi serap yang tinggi, Menurut teori Brunauer-Emmet-Teller (BET) dan teori

Barret-Joyner-Halenda (BJH) mengemukakan bahwa padatan berpori dapat menyerat sebagian besar gas atau senyawa yang dapat dikondensasi setelah larutan atau molekul gas dapat masuk kedalam meterial berpori yang ditandai dengan penurunan tekanan larutan atau tekanan gas dimana penurunan ini sebanding dengan jumlah larutan atau gas yang teradsorpsi (Zhao, 2014). selain itu juga karbon aktif telah banyak digunakan sebagai padatan penyerap dalam proses daur ulang limbah dan banyak pula di manfaatkan sebagai dukungan katalis bahan maju serta bioteknologi (Mohd Basyaruddin Abdul Rahman*, 2013).

Imobilisasi dilakukan dengan mengembankan ekstrak enzim lipase yang dilakukan kurang lebih 12 jam hal ini dikarenakan agar enzim lipase yang terdapat dalam ekstrak usus dapat terserap secara maksimal. Karbon aktif yang telah terimobilisasi ini dikeringkan dengan dilakukan pemisahan terlebih dahulu menggunakan proses pemisahan filtrasi dan pengeringan dilakukan dengan suhu 40°C , hal ini dilakukan agar ekstrak enzim lipase tidak rusak karena suhu yang tinggi.

1.4. Proses Pembentukan Metil Ester Dari Minyak Jelantah

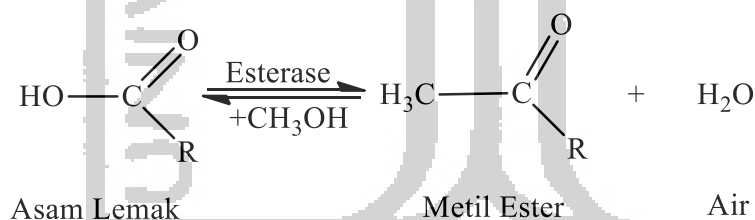
Pembentukan biodiesel dilakukan dengan mengubah trigliserida yang bereaksi dengan alkohol dan biokatalis dalam hal ini ekstrak enzim lipase yang nantinya akan membentuk metil ester dengan melalui dua tahapan proses reaksi yaitu proses reaksi hidrolisis dan proses reaksi esterifikasi. Proses hidrolisis merupakan proses yang dilakukan untuk mengubah trigliserida dengan katalis menjadi glyserol dan asam lemak (Moentamaria, 2016).



Gambar 1. Reaksi Hidrolisis

Gambar 4 menunjukkan proses reaksi hidrolisis dimana trigliserida yang berperan sebagai substrat dengan enzim lipase yang telah diimobilisasi dalam karbon aktif dengan suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C} - 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ membentuk gliserol dan asam lemak. Asam lemak yang dihasilkan dari proses hidrolisis ini akan dijadikan sebagai bahan dasar dalam proses esterifikasi.

Tahap ke dua dalam proses pembuatan metil ester ini yaitu tahapan proses esterifikasi. Esterifikasi merupakan reaksi yang digunakan untuk memperoleh ester atau reaksi pembentukan ester. Reaksi ini dilakukan dengan mengubah gliserol dan asam lemak bebas yang di reaksikan dengan alkohol sehingga akan membentuk senyawa ester (Fakhry, p. 2016).



Gambar 2. Reaksi Esterifikasi

Reaksi esterifikasi dalam penelitian ini sebagaimana reaksi di atas terjadi dalam tempat yang sama dengan mereaksikan secara langsung trigliserida, enzim lipase dan alkohol dengan suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C} - 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ dalam 6 rpm. Pada proses pembentukan biodiesel ini harus dilakukan dengan suhu yang stabil, hal ini dikarenakan rentannya proses penguapan alkohol sebelum terjadinya proses esterifikasi sehingga biodiesel tidak terbentuk yang artinya proses tersebut gagal.

1.5. Masa Jenis

Pengukuran masa jenis dilakukan dengan tujuan agar diketahui apakah dalam masa jenis produk yang dihasilkan masuk kedalam range masa jenis dari metil ester. Hasil pengukuran masa jenis produk disajikan dalam tabel 4. Berikut :

Tabel 1 Berat Jenis Metil Ester

No	Variasi	Berat Jenis Kg/m ³
1	60 Menit	0,8594
2	90 Menit	0,8562
3	120 Menit	0,8546
4	20 Gram 60 Menit	0,8079
5	25 Gram 60 Menit	0,8822
6	30 Gram 60 Menit	0,8854

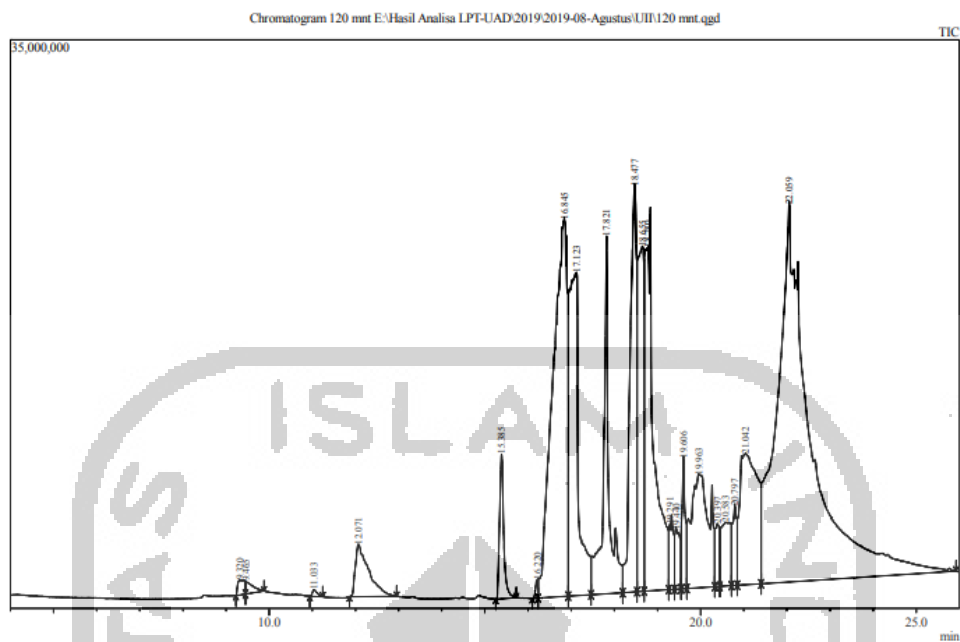
Masa jenis atau berat jenis dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) memiliki *range* antara 0,850 kg/m³ – 0,890 kg/m³ (BSN, 2017). Standar yang ada dalam SNI jika kita bandingkan dengan hasil perhitungan berat jenis dalam tabel 1 sebagian besar variasi masih memiliki rentan jarak yang diberikan artinya dalam larutan yang akan dianalisis dalam GC-MS bisa dimungkinkan terdapat senyawa metil ester.

1.6. Hasil Analisis GC-MS

Analisis Gas Kromatografi Spektrometri Massa (GC-MS) ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar metil ester maupun senyawa lain yang terbentuk dalam proses pembentukan metil ester dengan menggunakan biokatalis ekstrak enzim lipase.

5.6.1. Hasil analisis Variasi Waktu

Hasil analisis dengan variasi waktu yang bertujuan untuk mengetahui waktu inkubasi maksimum dalam proses pembuatan biodiesel menggunakan ekstrak enzim lipase dalam usus ayam yang ditunjukkan dengan besarnya yield yang dihasilkan. Hasil analisis GC-MS berupa kromatogram sesuai dengan gambar yang tersaji di bawah ini:



Gambar 5. Kromatogram Variasi Waktu Inkubasi 120 Menit ketiga gambar diatas merupakan kromatogram yang dihasilkan dari proses analisis yang diterjemahkan dalam tabel dibawah ini.

Tabel 2. Tabel Hasil Analisis GC-MS Variasi Waktu

NO	R. TIME	NAMA SENYAWA	% Area		
			60 menit	90 menit	120 menit
1	11,120	Methyl Ester (CAS) metil nonanoat	0,02	-	-
2	15,365 – 15,389	Methyl Ester (CAS) Methyl palmitate	1,61	1,79	1,48
3	17,781	Methyl Ester (CAS) Methyl Octadec-8-enoate	4,82	-	-
4	18,035	Methyle Ester (CAS) Methyl Isostearate	0,82	-	-
5	19,070	Methyl ester (CAS) Methyl 5,8,11-eicosatrienoate	0,02	-	-
6	19,405 – 19,440	Methyl Ester (CAS) Methyl 10-oxooctadecanoat	0,10	0,95	0,78
7	19,572 – 19,608	Methyl Ester (CAS) Methyl 10-hydroxystearate	1,52	2,16	-
8	20,570	Arachidic Acid Methyl Ester	0,25	-	-
9	11,033 – 11,076	Methyl Ester(CAS) Methyl myristate	-	0,07	0,08
10	14,897	Methyl Ester (CAS) Methyl II-Octadecanoate		0,03	

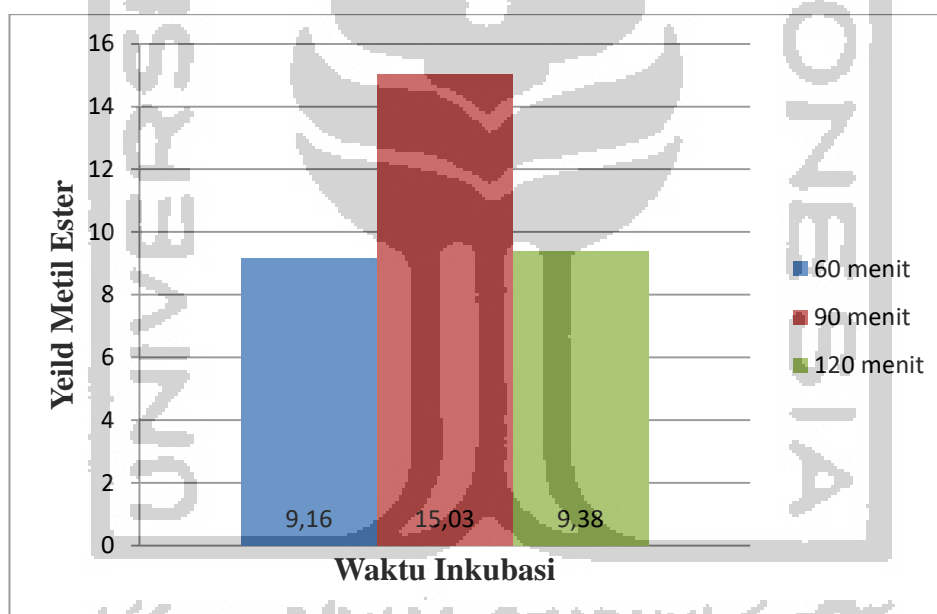
11	17,794 – 17,821	Methyle Ester (CAS) Methyl Octadec-9-enoate	-	5,55	5,07
12	18,024	Methyle Ester (CAS) Stearate	-	1,07	-
13	19,075	Methyle Ester (CAS) Methyl 4,7,10-hexadecatrienoate	-	1,42	-
14	20,696	Methyle Ester (CAS) Methyl Beta-hydroxypalmitate	-	0,36	-
15	20,797 – 20,809	Methyle Ester (CAS) Methyl Beta-hydroxystearate	-	0,83	0,87
16	21,215	Methyle Ester (CAS) Methyl 3-oxooctadecanoate	-	0,80	-
17	19,606	Methyle Ester (CAS) Methyl 10-hydroxyoctadecanoate	-	-	1,10
18	16,668 – 17,656	Palmitic Acid	39,82	38,86	21,59
19	12,071 – 12,159	Myristic Acid	0,27	0,91	1,76
20	12,375	4-Cycloocten-1-a	0,04	-	-
21	16,255-18,404	Heptadecene-(18)-Carbonic acid	29,92	-	-
22	16,298	Bicyclo[4,1,0] heptane	0,35	-	-
23	16,215 – 19,974	9-Octadecynoic acid (Z)-(cas) oleic acid	1,77	3,12	0,12
24	18,525	Stearoc Acid	13,38	-	-
25	19,240 – 19,255	Cyclo Pentolate	0,07	0,86	-
26	19,839	1,1-diethoxy-2-ethylhexane	0,15	-	-
27	20,230	2-Propenoic Acid	0,66	-	-
28	20,367	1,3-dioxolan-4-on	0,71	-	-
29	20,780	1,2-Benzenedicarboxylic Acid	0,36	-	-
30	19,806 – 21,013	Decane	0,6	1,67	-
31	21,445	Silane	1,26	-	-
32	22,287	2-Heptadec-5"-en-1-yloxy tetrahydrofuran	0,03	-	-
34	22,400	Tetradecanoate	0,04	-	-
35	22,663 – 22,685	2,6,10,14,18,22-tetracosahexane	0,02	0,13	-
36	11,185	Borane	-	0,01	-
37	12,410	4-dimethylaminbut-2-yn-1-ol	-	0,08	-
38	16,248	Solution	-	0,13	-
39	18,464	Linoleic Acid	-	18,68	-
40	18,548-18,780	Octadec-9-Enoic Acid	-	14,38	8,81
41	17,465	4-Decanol	-	0,34	-
42	20,238	Cyclohexaneethanamine	-	0,79	-
43	20,377	2,3-bis[(trimethylsilyloxy) propyl ester	-	1,56	-
44	21,445 – 21,653	1,3-dioxolan	-	2,18	-

45	21,515	Heptanoic Acid	-	0,59	-
46	22,213	Nonane	-	0,19	-
47	22,304	Dodecanoic Acid	-	0,37	-
48	22,567	Oleic Acid	-	0,16	-
49	9,320	Lauric Acid	-	-	0,25
50	9,465	Dodecanamide	-	-	0,23
51	18,477 – 18,655	9-Octadecanal	-	-	11,73
52	19,291	1,3,5-Tricyclaclohexane	-	-	0,78
53	19,963	2,2-Dideutero Octade Canal	-	-	5,1
54	20,397	Methyl N	-	-	0,68
55	20,583	1-H-Indole	-	-	1,57
56	21,042 – 22,059	2-monopalmitin	-	-	37,99
% Area Metil Ester			9,16	15,03	9,38

Setelah dilakukan analisis GC-MS diperoleh hasil sesuai dengan tabel 5. Dimana metil ester sudah terbentuk, metil ester yang terbentuk antara lain: metil nonanoat, metil palmitate, metil steoctadec-8-enoate, metil isostearate, metil 5,8,11-eicosatrienoate, metil 10-hydroxy stearate, aracydic acid metil ester, metil miristate, metil II-octadecanoat, metil octadec-9-enoate, metil ester stearate, metil 4,7,10-hexadecatrienoate, metil beta-hidroxy stearate, metil beta-hidroksipalmitate, metil 3-oxooctadecanoat, dan metil 10-hidroxi octadecanoat. namun dari hasil metil ester yang dihasilkan di atas masih terdapat asam lemak yang terbentuk dalam proses pembuatan metil ester ini.

Asam lemak yang terbentuk dalam pembuatan metil ester ini antara lain adalah : asam palmitate, asam miristate, asam octadec-9-enoic, 2-monopalmitin, asam 9-octadecynoic, dan 9-octadecanal. Masih terbentuknya asam lemak dalam proses pembuatan metil ester ini dikarenakan trigliserida yang digunakan dalam penelitian ini sudah mengalami proses reaksi hidrolisis dengan menggunakan biokatalis ekstrak enzim lipase, namun pada proses pembuatan metil ester ini, reaksi esterifikasi belum terjadi secara sempurna. Asam lemak lainnya seperti asam 2-propenoic, asam 1,2-benzenedicarboxylic, asam linoleic, asam heptanoic, asam oleic, asam stearic dan dodecanamide dimungkinkan berasal dari asam lemak bebas makanan yang mengalami penggorengan.

Produksi metil ester menggunakan ekstrak enzim lipase ini menggunakan 30 gram trigliserida, 7,5 ml methanol dan 20% air. Methanol yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan perbandingan trigliserida:methanol masing-masing 1:4. Perbandingan ini juga dimungkinkan sebagai salah satu faktor tidak terjadinya reaksi esterifikasi secara sempurna. Metil ester (biodiesel) biasanya di produksi dengan menggunakan perbandingan trigliserida : methanol masing-masing 1:12. Nur dkk (2017) melakukan penelitian untuk memperoleh biodiesel dengan menggunakan perbandingan trigliserida:methanol masing-masing 1:9, 1:12, 1:15 diperoleh hasil terbesar pada perbandingan trigliserida:methanol 1:12 dengan besarnya %yeild metil ester (biodiesel) sebesar 95%, sedang pada perbandingan 1:9, 1:15 masing-masing sebesar 25,9 % dan 53,1%. (Nur, 2017)



Gambar 6. Grafik Perbandingan Yield Metil Ester Variasi Waktu

Gambar 8 menunjukkan besarnya %yeild metil ester tertinggi ditunjukkan pada variasi waktu inkubasi 90 menit dengan suhu pemanasan yang sama atau stabil, hal ini mungkin disebabkan karena sedikitnya trigliserida yang bereaksi dengan metanol sehingga penambahan waktu yang di berikan tidak meningkatkan besarnya yield secara signifikan bahkan cenderung tidak stabil. Penyebab lain

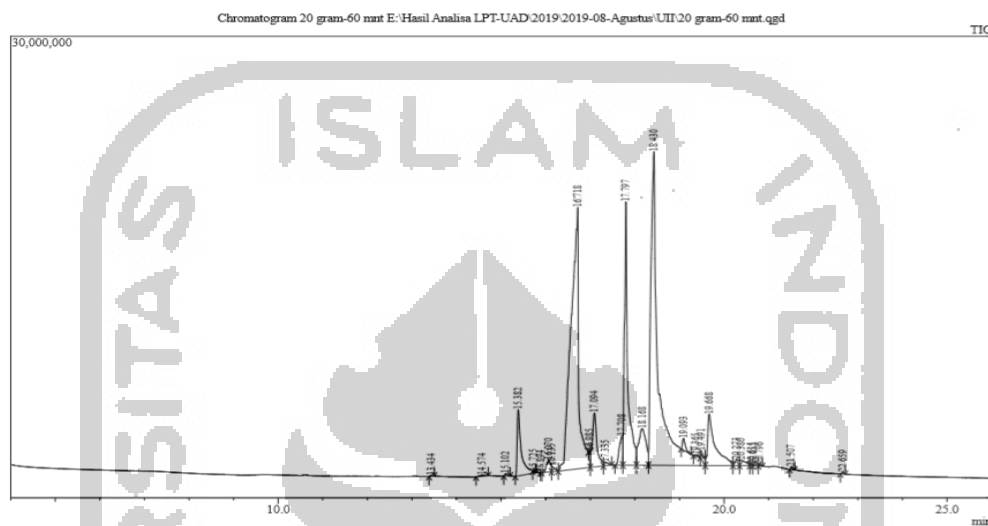
yang juga berpengaruh terhadap besarnya yield metil ester dalam penelitian ini juga dimungkinkan karena proses esterifikasi berlangsung sangat lambat (Fakhry, 2016). Proses reaksi esterifikasi berjalan dengan sangat lambat sehingga digunakan katalis untuk membantu mempercepat reaksi sehingga katalis sangat berperan penting pada proses esterifikasi. Pembentukan metil ester dalam penelitian menggunakan biokatalis enzim lipase yang sebelumnya dilakukan imobilisasi ekstrak enzim dengan menggunakan karbon aktif. Proses imobilisasi yang dilakukan dalam penelitian ini dimungkinkan belum sempurna sehingga ekstrak enzim yang digunakan tidak dapat terembankan secara sempurna atau ekstrak enzim lipase belum melekat secara sempurna pada karbon aktif.

Adapun hal yang dapat mempengaruhi proses esterifikasi yaitu pH yang terlalu asam atau terlalu basa dapat menghambat proses esterifikasi, selain itu suhu juga sangat memiliki pengaruh penting, untuk mengubah asam lemak menjadi metil ester yang dilakukan melalui tahap esterifikasi, terlebih dahulu suhu harus mencapai titik didih asam lemak. Hasil di atas juga menunjukkan asam lemak terbesar yang muncul dalam adalah asam palmitate. Menurut (Hasibuan, 2017) dalam penelitiannya tentang esterifikasi pada minyak kelapa sawit titik didih metil palmitate diketahui 63°C sedang enzim lipase akan mengalami kerusakan pada suhu $>60^{\circ}\text{C}$.

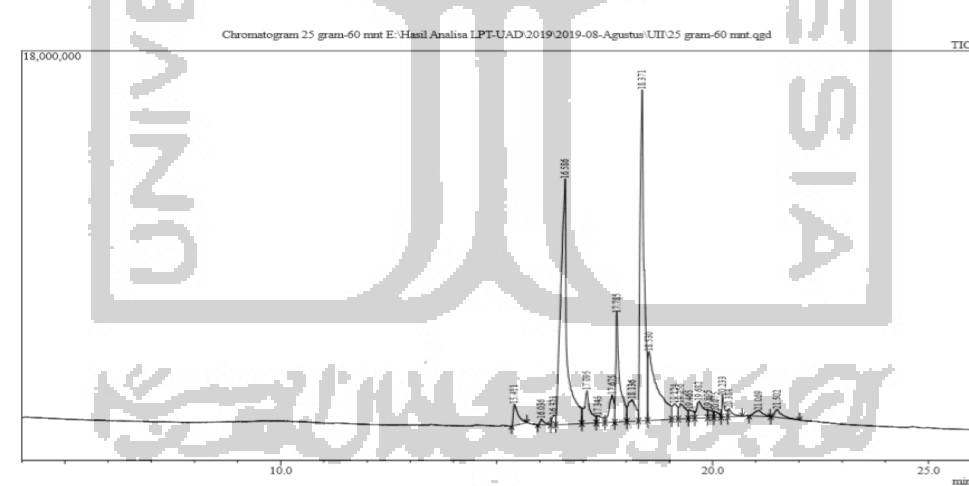
Selain dari itu penggunaan air dalam proses ini terlalu banyak sedang kan dalam proses esterifikasi sendiri akan menghasilkan air sehingga reaksi kembali pada proses hidrolisis dan tidak mengalami proses esterifikasi secara sempurna. Hal ini menyebabkan belum terjadinya proses esterifikasi atau belum terpecahnya asam palmitate menjadi metil ester, sehingga asam palmitate yang dihasilkan lebih besar yang dapat kita lihat pada tabel 2 besarnya asam palmitate yang dihasilkan dalam variasi waktu 60 menit, 90 menit dan 120 menit masing masing 39,82%, 38,86%, dan 21,59%.

5.6.2. Hasil analisis Variasi Jumlah Substrat

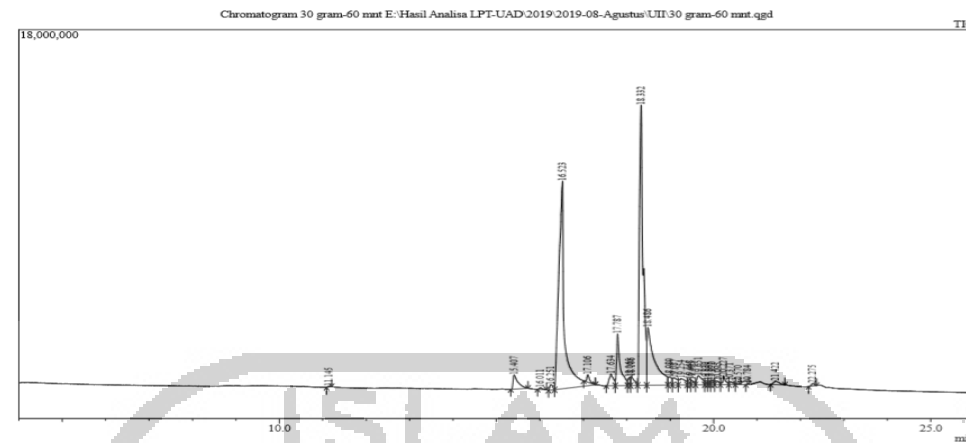
Hasil analisis variasi jumlah substrat ini dilakukan agar dapat diketahui bagaimana pengaruh jumlah substrat yang digunakan dengan besarnya yeild metil ester yang diperoleh. Setelah dilakukan analisis dengan menggunakan GC-MS dan diperoleh hasil kromatogram dari variasi jumlah substrat dibawah ini



Gambar 7. Kromatogram Substrat 20 gram



Gambar 8. Kromatogram Substrat 25 gram



Gambar 9. Kromatogram Substrat 30 gram

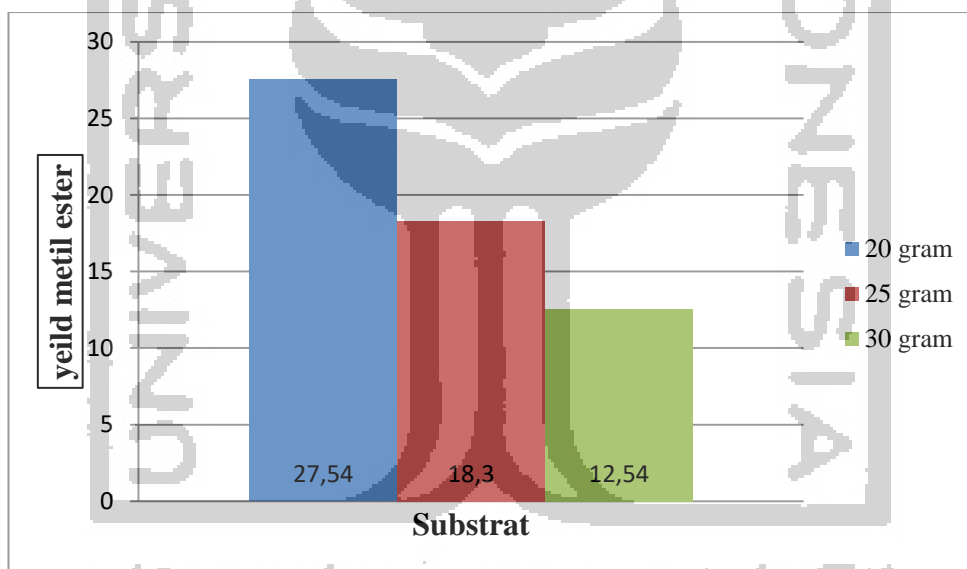
Ketiga kromatogram diatas merupakan hasil dari analisis GC-MS yang diterjemahkan dalam tabel dibawah ini.

Tabel 3. Hasil Analisis GC-MS Variasi Jumlah Substrat

NO	R.TIME	NAMA SENYAWA	% Area		
			20 GRAM	25 GRAM	30 GRAM
1	11,145	Methyl Ester (CAS) Methyl Nonanoat	-	-	0,07
2	15,102	Methyl Ester (Cas) Methyl Palmitolate	0,09	-	-
3	15,382 – 16,070	Methyl Ester (CAS) Methyl palmitate	4,62	2,42	2,34
4	15,725	Methyl Ester (CAS) Methyl Tridecanoat	0,01	-	-
5	16,135	Methyl Ester (CAS) Methyl Laurat	0,22	-	-
6	16,985	Methyl Ester (CAS) Methyl Tricosanoat	0,02	-	-
7	17,797	Methyl Ester (CAS) Methyl Octadec-9-enoate	12,81	-	-
8	18,168	Methyl Ester (CAS) Methyl Oleate	3,93	-	-
9	19,491	Methyl Ester (CAS) Methyl 10-oxooctade canoat	0,14	-	-
10	19,651 – 19,682	Methyl Ester (CAS) Methyl 10-hydroxystearat	5,70	2,29	1,50
11	17,785 – 17,787	Methyl Ester (CAS) Methyl octadec-7-enoate	-	8,12	5,65
12	18,136	Methyl Ester (CAS) Methyl 13-Cyclopentanyltridecanoate	-	3,18	-
13		Methyl Ester (CAS) Methyl Hexadecadienoate	-	1,48	-
14	19,465	Arachidic acid metyl ester	-	0,81	-
15	11,145	Methyl Ester (CAS) methyl	-	-	0,07

		nonanoate			
16	18,065	Methyl Ester (CAS) Methyl Isostearate	-	-	0,56
17	19,254 – 20,227	Methyl Ester dimethyl aminoethyl metacrylate	-	-	1,95
18	19,448	Methyl ester (CAS) Methyl 9-Methyl Heptadecanoate	-	-	0,47
19	14,574 – 17,675	Palmitic Acid	34,07	36,86	38,19
20	18,332 – 18,430	Carbonic Acid	35,12	24,65	29,59
21	17,335 – 17,708	penta decydecilic acid	1,65	-	-
22	19,093	glycerol	0,46	-	-
23	19,365	2-methyl-10-undecenal	0,07	-	-
24	20,233 – 20,273	cyclohexaneethanamine	8,37	1,08	-
25	20,380	cyclocarbosilane	0,47	-	-
26	20,615	diacetate	0,05	-	-
27	20,655	1H-1,2,4, triazole	0,03	-	-
28	20,796 – 20,784	1,2-Benzenedicarboxylic acid	0,04	-	0,03
29	21,507	chyclohexanol	0,05	-	-
30	22,659	2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene	0,04	-	-
31	16,251 -16,321	9-Hexadecanoic acid	-	0,64	0,58
32	18,486 – 18,530	stearic acid	-	12,76	13,06
33	19,256	cyclopentolate	-	1,91	-
34	19,895	Hexane	-	0,67	-
35	19,970 – 20,075	Oleoamide	-	0,55	0,41
36	20,384	2,3,7-trimethyloctanal	-	0,62	-
37	21,069	nonane	-	0,89	-
38	20,502	1,3-Dioxolane	-	1,05	-
39	18,106	9-Octadecen-1-ol	-	-	1,02
40	18,980	4-dimethylaminibut-2-yn-1-ol	-	-	0,89
41	19,087	9,12-Octadecadienoic acid	-	-	0,97
42	19,495	Trans-2-isopropyl-cis-5-methyl-1-cyclohexanol-trans-3-D	-	-	0,45
43	19,820	8,9,9,10,10,11-Hexafluoro-4	-	-	0,29
44	19,885	Hexanedioic acid	-	-	0,3
45	20,095	3-Decanol	-	-	0,5
46	20,371	Methyl N	-	-	0,321
47	20,570	1,2-Diformylhydrazine	-	-	0,05
48	21,422	Silane	-	-	0,57
49	22,275	Dodecanoic acid	-	-	0,21
Yield Metil Ester			27,54	18,3	12,54

Hasil analisis GC-MS pada variasi jumlah substrat juga menunjukkan telah terbentuk metil ester, namun hasil yang diperoleh juga masih banyak ditemukan adanya senyawa asam lemak. Senyawa asam lemak yang dihasilkan antara lain: asam palmitate, dodecanoic acid, hexanedioic acid, penta decydecilic acid, Diacetate, 9-Hexadecanoic acid, 9,12-Octadecadienoic acid, dan nonane. Terbentuknya asam lemak yang tinggi ini membuktikan bahwa trigliserida telah mengalami proses reaksi hidrolisis oleh ekstrak enzim lipase, namun tingginya senyawa asam lemak ini juga membuktikan reaksi esterifikasi belum terjadi secara sempurna. Asam lemak yang terbentuk tidak hanya asam lemak hasil reaksi hidrolisis tetapi terdapat senyawa asam lemak lainnya seperti : asam stearik, asam hedodecanoic acid, asam karbonik. Asam lemak lainnya ini dimungkinkan berasal dari asam lemak bebas pada makanan dan minyak goreng yang mengalami proses penggorengan.



Gambar 10. Hasil GC-MS Variasi Substrat

Gambar 10 menunjukkan besarnya %yield terbesar pada variasi substrat ditunjukkan pada variasi substrat 20 gram sebesar 27,54 %, kemudian pada variasi 25 gram 18,3%, dan pada variasi 30 gram sebesar 12,54%. Ketiga variasi yang digunakan dapat dilihat dalam gambar 10 bahwa semakin kecil atau semakin sedikit jumlah substrat yang kita gunakan maka akan semakin besar metil ester yang dihasilkan. Hal ini masih dimungkinkan karena reaksi esterifikasi tidak

berjalan sempurna sehingga yeild asam lemak masih jauh lebih tinggi dibandingkan yeild metil ester. Belum terjadinya proses tahapan esterifikasi juga di mungkinkan karena pengaruh suhu, dimana besarnya titik leleh asam palmitad yang lebih besar dibanding besarnya suhu maksimum ketahanan enzim mengakibatkan asam palmitad yang dihasilkan dari proses hidrolisis tidak mengalami pemecahan menjadi methyl ester. Selain dari itu penggunaan air dalam proses ini terlalu banyak sedang kan dalam poroses esterifikasi sendiri akan menghasilkan air sehingga reaksi kembali pada proses hidrolisis dan tidak mengalami proses esterifikasi secara sempurna.

Variasi substrat dalam penelitian menggunakan variasi 20 gram, 25 gram, dan 30 gram juga menggunakan perbandingan antara trigliserida dan metanol masing-masing 1:4, sedangkan dalam penelitian yang ada perbandingan yang digunakan untuk memproduksi biodiesel ini sebesar 1:12.

