

**AKTIVITAS ESTERIFIKASI LIPASE EKSTRASELULER DARI
KAPANG *Aspergillus niger* 6515 YANG DIAMOBILISASI
MENGUNAKAN ALGINAT DARI *Sargassum sp***

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
untuk mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si.)



©
diajukan oleh

Vonivia

NIM : 31081141

**FAKULTAS BIOTEKNOLOGI
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
YOGYAKARTA**

2012

Skripsi yang berjudul

**AKTIVITAS ESTERIFIKASI LIPASE EKSTRASELULER DARI
KAPANG *Aspergillus niger* 6515 YANG DIAMOBILISASI
MENGUNAKAN ALGINAT DARI *Sargassum sp***

yang disusun oleh :

**Vonivia
NIM : 31.08.1141**

Telah dipertahankan di depan sidang penguji pada tanggal 20 Desember 2012

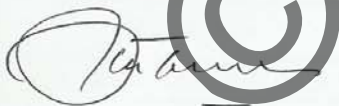
Skripsi tersebut telah diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S. Si)

Yogyakarta, 3 Januari 2013

Universitas Kristen Duta Wacana

Fakultas Bioteknologi

Dosen Pembimbing



Dr. Guntoro

Dekan



Drs. Kisworo, M.Sc.



**UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
FAKULTAS BIOTEKNOLOGI**

PROGRAM STUDI : BIOLOGI

Kompetensi : • Bioteknologi Lingkungan • Bioteknologi Industri • Bioteknologi Kesehatan

Jl. Dr. Wahidin S. 5-25, Yogyakarta 55224 Indonesia

Phone : (0274) 563929 (Ext. 459) Fax. : (0274) 513235

**BERITA ACARA
UJIAN SKRIPSI & PENDADARAN**

Nomor : 795/C.06/Bio/UKDW/XII/2012

Pada hari ini : Kamis 20 Desember 2012

Bertempat di Universitas Kristen Duta Wacana Jl. Dr. Wahidin 5 – 25 Yogyakarta

TELAH DISELENGGARAKAN UJIAN SKRIPSI

Nama Mahasiswa : Vonivia
Nomor Mahasiswa : 31081141
Program Studi/Jurusan : BIOLOGI
Fakultas : BIOTEKNOLOGI
Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA

Judul Skripsi : Karakterisasi Crude Lipase Ekstraseluler dari Kapang *Aspergillus niger* 6516 yang dimobilisasi menggunakan Alginat dari *Sargassum sp* untuk Produksi Biodiesel

Saudara tersebut dinyatakan : LULUS / ~~TIDAK LULUS~~

Dengan nilai : _____

Catatan : *Revisi Naskah*

SUSUNAN TIM PENGUJI

| No. | NAMA | Jabatan dlm Tim | Jabatan Akademik | Tanda Tangan |
|-----|----------------------------------|-----------------|------------------|--------------------|
| 1. | Dr. Charis Amarantini, M.Si | Ketua/ Anggota | Lektor | <i>[Signature]</i> |
| 2. | Dr. Guntoro | Anggota | Tenaga Pengajar | <i>[Signature]</i> |
| 3. | Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si | Anggota | Asisten Ahli | <i>[Signature]</i> |

Berita Acara ini dibuat dengan sesungguhnya untuk dapat dipergunakan seperlunya

Mengetahui Dekan,

[Signature]
Drs. Kisworo, M.Sc
Kv.ynt.pd

Yogyakarta, 20 Desember 2012

Ketua Tim Penguji

[Signature]
Dr. Charis Amarantini, M.Si

QADW-1200-PP-09.06.004

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Vonivia

NIM : 31081141

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dia di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 3 Januari 2013



Vonivia

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas penyertaan, hikmat dan kekuatan yang selalu diberikan kepada penulis selama ini hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**AKTIVITAS ESTERIFIKASI LIPASE EKSTRASELULER DARI KAPANG *Aspergillus niger* 6515 YANG DIAMOBILISASI MENGGUNAKAN ALGINAT DARI *Sargassum sp***” ini.

Skripsi ini disusun dan diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta. Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. Kisworo, M. Sc., selaku Dekan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana.
2. Dr. rer nat Guntoro, selaku Dosen Pembimbing atas bimbingan, kesabaran dan kepercayaan yang diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
3. Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si dan Dr. Charis Amarantini, M. Si., selaku dosen penguji atas masukan dan koreksi yang diberikan.
4. Drs. Guruh Prihatmo, M.Sc selaku dosen wali angkatan 2008.
5. Segenap Dosen Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis.

6. Segenap laboran dan karyawan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang telah membantu penulis, khususnya kepada Mas Hari, Mas Setyo dan Mbak Retno atas perhatian dan dukungannya selama penelitian.
7. Kedua orang tua penulis (Lay Ngok Lung dan Djap Khim Djan) atas cinta, doa, kesabaran dan dukungan yang luar biasa yang telah diberikan kepada penulis. *I can't stop loving you.*
8. Kedua kakakku tersayang (Lay Ai Lie dan Lay Ai Ling) yang selalu berbagi suka duka bersama serta selalu memberi kekuatan kepada penulis.
9. Memer, Ana (KBC), WeA, Atok, SiongNad, GioyNad, Arvid, Kezia, dan Willy Kiesin. Kalian adalah bukti bahwa persahabatan sejati tidak akan padam oleh jarak dan waktu.
10. Sancha, Lisa, Tika, sahabat penulis selama 4 tahun di keluarga Biologi ini dan akan terus menjadi sahabat penulis untuk selamanya.
11. Ciee..Ciee..Family : Acing (Lia), Ana, Icy, Sammy, Sakti, Steve, Nathan, Brother Yus, dan Jang2. Terima kasih untuk hari-hari indah yang kita lalui bersama. Seorang sahabat menaruh kasih setiap waktu, dan menjadi seorang saudara dalam kesukaran (Amsal 17:7).
12. Gara, Ana, Bibin, dan Tiwi. Teman sekerja di lab Mikrobiologi. Tawa dan air mata kalian mewarnai masa-masa penelitian penulis.
13. Kak Miki dan kak Melisa yang telah menjadi tempat bertukar pikiran dan memberikan banyak masukan.

14. Ce Mustika, Kak Vira dan teman-teman komsel “*Ladies of Lord*” yang luar biasa. Terima kasih atas kekuatan dan doanya bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi.
15. Steve, yang telah banyak membantu di saat-saat terakhir ketika penulis hampir menyerah. Terima kasih telah membangkitkan kepercayaan diri penulis.
16. Dior, Christin, Lita, Carol, Mega, Sumpeni, Devita dan semua teman-teman Fakultas Bioteknologi khususnya angkatan 2008, dan semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna karena keterbatasan pengetahuan dan kemampuan penulis. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat dibutuhkan oleh penulis. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi pihak-pihak yang membutuhkan.

Yogyakarta, Januari 2013

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | ii |
| BERITA ACARA | iii |
| LEMBAR PERNYATAAN..... | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| DAFTAR TABEL..... | x |
| DAFTAR GAMBAR..... | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xii |
| ABSTRAK | xiii |
| BAB I . PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1.Latar Belakang | 1 |
| 1.2.Rumusan Masalah | 6 |
| 1.3.Tujuan Penelitian | 6 |
| 1.4.Manfaat Penelitian | 6 |
| BAB II . TINJAUAN PUSTAKA | 7 |
| 2.1.Krisis Energi di Indonesia | 7 |
| 2.2.Biodiesel Sebagai Sumber Energi Terbarukan | 9 |
| 2.2.1. Reaksi Pembentukan Biodiesel..... | 11 |
| 2.3. Enzim Lipase | 11 |
| 2.3.1. Struktur Enzim Lipase | 12 |
| 2.3.2. Aktivitas Enzim Lipase dan Faktor – Faktor yang Mempengaruhinya | 15 |
| 2.3.3. Produksi Biodiesel Menggunakan Enzim Lipase | 18 |
| 2.4. Produksi Lipase Ekstraseluler dari <i>Aspergillus niger</i> melalui <i>Solid State Fermentation</i> (SSF) | 21 |
| 2.5. Enzim Amobil | 22 |
| 2.5.1. Teknik Penjeratan | 23 |
| 2.6. Alginat | 23 |
| 2.6.1. Sifat Alginat..... | 24 |
| 2.6.2. Hidrogel dari Alginat..... | 26 |
| 2.7. Rumput Laut <i>Sargassum</i> sp..... | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 2.7.1. Komposisi Kimia <i>Sargassum</i> sp | 30 |
| BAB III . METODE PENELITIAN | 30 |
| 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian | 30 |
| 3.2. Alat dan Bahan | 30 |
| 3.2.1. Alat | 30 |
| 3.2.2. Bahan | 30 |
| 3.3. Metode Penelitian | 31 |
| 3.3.1. Variabel Penelitian | 31 |
| 3.3.2. Desain Penelitian | 32 |
| 3.3.3. Produksi Crude Lipase dari <i>Aspergillus niger</i> Melalui <i>Solid State Fermentation</i> (SSF) | 33 |
| 3.3.4. Ekstraksi Crude Lipase | 34 |
| 3.3.5. Penentuan Enzim <i>Loading</i> | 35 |
| 3.3.6. Aktivitas Esterifikasi oleh Lipase | 36 |
| 3.3.7. Uji Kandungan Protein..... | 37 |
| 3.3.8. Aktivitas Esterifikasi Enzim Lipase Bebas dan Amobil | 37 |
| 3.3.9. Uji Penggunaan Berulang | 38 |
| BAB IV . HASIL DAN PEMBAHASAN | 39 |
| 4.1. Produksi Crude Lipase dari <i>Aspergillus niger</i> 6516 Melalui <i>Solid State Fermentation</i> (SSF) | 39 |
| 4.2. Penentuan Konsentrasi Enzim <i>Loading</i> Untuk Amobilisasi Crude Lipase..... | 40 |
| 4.3. Aktivitas Esterifikasi Lipase Amobil | 41 |
| 4.3.1. Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Crude Lipase Bebas dan Amobil | 44 |
| 4.3.2. Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Crude Lipase Bebas dan Amobil | 47 |
| 4.4. Penggunaan Crude Lipase Amobil Secara Berulang | 49 |
| BAB V . SARAN DAN SIMPULAN | 52 |
| A. SIMPULAN | 52 |
| B. SARAN | 52 |
| DAFTAR PUSTAKA | 53 |
| LAMPIRAN | |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| TABEL 2.1. Rasio Cadangan dan Produksi Energi Fosil di Indonesia | 8 |
| TABEL 2.2. Emisi biodiesel dibandingkan dengan Petroleum Diesel | 10 |
| TABEL 2.3. Temperatur dan pH Optimum Beberapa Mikroorganisme Penghasil Lipase | 16 |
| TABEL 2.4. Komposisi Kimia <i>Sargassum</i> sp Kepulauan Seribu..... | 29 |
| TABEL 4.1. Enzim <i>Loading Crude</i> Lipase dengan Komposisi Lipase 10%, 30%, 50% dan 70% (v/v) dari Total Volume Larutan Alginat 3% | 40 |
| TABEL 4.2. Tabel Aktivitas Enzim Lipase | 42 |
| TABEL 4.3. Penurunan Aktivitas <i>Crude</i> Lipase Selama 3 kali Penggunaan | 52 |



DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| GAMBAR 2.1. Reaksi Transesterifikasi Trigliserida menjadi Metil Ester | 11 |
| GAMBAR 2.2. Struktur Lipase Dalam Bentuk Tertutup dan Terbuka ... | 14 |
| GAMBAR 2.3. Produksi Biodiesel Menggunakan Katalis Kimia | 19 |
| GAMBAR 2.4. Produksi Biodiesel Secara Enzimatik | 20 |
| GAMBAR 2.5. Struktur Alginat | 24 |
| GAMBAR 2.6. Model “egg-box” atau Ikatan Silang | 26 |
| GAMBAR 2.7. Pembentukan Gel Alginat dengan Cara Difusi | 27 |
| GAMBAR 4.1. Loading Efisiensi pada Penjeratan <i>Crude</i> Lipase dengan Alginat dari <i>Sargassum</i> sp | 41 |
| GAMBAR 4.2. Aktivitas Spesifik dari <i>Crude</i> Lipase Bebas dan <i>Crude</i> Lipase Amobil pada pH 3, 7, dan 8 | 44 |
| GAMBAR 4.3. Aktivitas Spesifik dari <i>Crude</i> Lipase Bebas dan <i>Crude</i> Lipase Amobil pada Suhu 4°C, 37°C, dan 90°C.. | 47 |
| GAMBAR 4.4. Aktivitas <i>Crude</i> Lipase Amobil pada Penggunaan Berulang | 49 |

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN I

- A. Kurva Standar Protein Terlarut Lowry
- B. Kurva Standar Asam Oleat

LAMPIRAN II

- A. Uji Kadar Protein Terlarut
- B. Pembuatan Substrat Esterifikasi
- C. Buffer Universal (pH 3; 7; 8; 11)
- D. Buffer Tris-HCl 0,05 M pH 7,2 (Volume 100 ml)
- E. Larutan CaCl₂ 0,1 M (Volume 100ml)
- F. Larutan CAP 5 % pH 6

LAMPIRAN III

- A. Penentuan Enzim *Loading*
- B. Perhitungan Aktivitas Lipase

LAMPIRAN IV

- A. Tabel Pengaruh pH terhadap Aktivitas Lipase Amobil
- B. Tabel Pengaruh pH terhadap Aktivitas Lipase Amobil
- C. Tabel Aktivitas Lipase Amobil pada Penggunaan Berulang

LAMPIRAN V

- A. Produksi Lipase Ekstraseluler
- B. Penentuan Enzim *Loading*

AKTIVITAS ESTERIFIKASI LIPASE EKSTRASELULER DARI KAPANG
Aspergillus niger 6515 YANG DIAMOBILISASI MENGGUNAKAN ALGINAT
DARI *Sargassum sp*

Oleh : Vonivia

ABSTRAK

Biodiesel merupakan sumber energi yang tengah dikembangkan sebagai energi alternatif mengingat langkanya energi fosil saat ini. Pembentukan biodiesel menggunakan katalis kimia memiliki kekurangan yang menyebabkan biaya produksi biodiesel menjadi mahal. Enzim lipase dapat mengkatalisis reaksi esterifikasi asam lemak menjadi senyawa alkil ester atau biodiesel tanpa menimbulkan produk samping yang mengganggu seperti pada penggunaan katalis kimia. Untuk memaksimalkan potensi lipase ekstraseluler dari *Aspergillus niger* 6516 sebagai biokatalisator dalam pembentukan biodiesel, maka dilakukan amobilisasi *crude* ekstrak lipase menggunakan alginat dari alga *Sargassum sp*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh amobilisasi lipase terhadap aktivitas enzim dalam berbagai kondisi pH dan temperatur serta mengetahui frekuensi maksimum penggunaan lipase amobil dalam mengkatalisis reaksi esterifikasi asam oleat menjadi alkil ester.

Amobilisasi *crude* lipase diawali dengan menentukan enzim *loading* dengan konsentrasi *crude* 10%; 20%; 30%; 40% (b/v) dalam larutan alginat 3% untuk mengetahui komposisi *crude* yang tepat untuk diamobil. *Beads* alginat dengan kandungan *crude* lipase 30% didapati memiliki efisiensi enzim *loading* tertinggi. *Crude* lipase amobil direaksikan dengan substrat berupa asam oleat pada kondisi pH 3, 7, dan 11. *Crude* lipase amobil memiliki aktivitas yang lebih stabil. Aktivitas tertinggi terdapat pada pH 11, dengan aktivitas spesifik 4,67 U.mg⁻¹ protein untuk *crude* lipase bebas dan 4,83 U.mg⁻¹ protein untuk *crude* lipase amobil. Pada karakterisasi suhu, *crude* lipase bebas dan amobil direaksikan dengan suhu lingkungan 4°C, 37°C, dan 90°C. *Crude* lipase amobil lebih stabil terhadap suhu tinggi dan memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 90°C yaitu sebesar 2,94 U.mg⁻¹ protein dan *crude* lipase bebas mengalami penurunan aktivitas yang signifikan sebesar 1,54 U.mg⁻¹ protein dari 1,79 U.mg⁻¹ protein pada suhu 37°C menjadi 0,25 U.mg⁻¹ protein pada suhu 90°C. Terjadi penurunan aktivitas sebesar 4,77% pada aktivitas kedua dan 8,4% pada aktivitas ketiga dari penggunaan *crude* lipase amobil.

Kata Kunci : biodiesel, *crude* lipase amobil, alginat, aktivitas esterifikasi

AKTIVITAS ESTERIFIKASI LIPASE EKSTRASELULER DARI KAPANG
Aspergillus niger 6515 YANG DIAMOBILISASI MENGGUNAKAN ALGINAT
DARI *Sargassum sp*

Oleh : Vonivia

ABSTRAK

Biodiesel merupakan sumber energi yang tengah dikembangkan sebagai energi alternatif mengingat langkanya energi fosil saat ini. Pembentukan biodiesel menggunakan katalis kimia memiliki kekurangan yang menyebabkan biaya produksi biodiesel menjadi mahal. Enzim lipase dapat mengkatalisis reaksi esterifikasi asam lemak menjadi senyawa alkil ester atau biodiesel tanpa menimbulkan produk samping yang mengganggu seperti pada penggunaan katalis kimia. Untuk memaksimalkan potensi lipase ekstraseluler dari *Aspergillus niger* 6516 sebagai biokatalisator dalam pembentukan biodiesel, maka dilakukan amobilisasi *crude* ekstrak lipase menggunakan alginat dari alga *Sargassum sp*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh amobilisasi lipase terhadap aktivitas enzim dalam berbagai kondisi pH dan temperatur serta mengetahui frekuensi maksimum penggunaan lipase amobil dalam mengkatalisis reaksi esterifikasi asam oleat menjadi alkil ester.

Amobilisasi *crude* lipase diawali dengan menentukan enzim *loading* dengan konsentrasi *crude* 10%; 20%; 30%; 40% (b/v) dalam larutan alginat 3% untuk mengetahui komposisi *crude* yang tepat untuk diamobil. *Beads* alginat dengan kandungan *crude* lipase 30% didapati memiliki efisiensi enzim *loading* tertinggi. *Crude* lipase amobil direaksikan dengan substrat berupa asam oleat pada kondisi pH 3, 7, dan 11. *Crude* lipase amobil memiliki aktivitas yang lebih stabil. Aktivitas tertinggi terdapat pada pH 11, dengan aktivitas spesifik 4,67 U.mg⁻¹ protein untuk *crude* lipase bebas dan 4,83 U.mg⁻¹ protein untuk *crude* lipase amobil. Pada karakterisasi suhu, *crude* lipase bebas dan amobil direaksikan dengan suhu lingkungan 4°C, 37°C, dan 90°C. *Crude* lipase amobil lebih stabil terhadap suhu tinggi dan memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 90°C yaitu sebesar 2,94 U.mg⁻¹ protein dan *crude* lipase bebas mengalami penurunan aktivitas yang signifikan sebesar 1,54 U.mg⁻¹ protein dari 1,79 U.mg⁻¹ protein pada suhu 37°C menjadi 0,25 U.mg⁻¹ protein pada suhu 90°C. Terjadi penurunan aktivitas sebesar 4,77% pada aktivitas kedua dan 8,4% pada aktivitas ketiga dari penggunaan *crude* lipase amobil.

Kata Kunci : biodiesel, *crude* lipase amobil, alginat, aktivitas esterifikasi

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kebutuhan akan energi tidak pernah habis bahkan terus meningkat dari waktu ke waktu seiring dengan berkembangnya kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi sekarang ini. Menurut catatan *World Economic Review* (2007), sektor transportasi dan industri merupakan konsumen terbesar untuk kebutuhan minyak dunia. Namun hal tersebut tidak diimbangi dengan ketersediaan bahan bakar fosil yang sampai saat ini menjadi sumber energi utama bagi masyarakat dunia terutama bagi negara-negara di kawasan Asia yang merupakan negara industri berkembang dan padat penduduk seperti Republik Rakyat Cina, Indonesia, India dan Vietnam.

Di sisi lain, dunia juga sedang menghadapi masalah yang cukup serius mengenai pemanasan global. Bertambahnya jumlah kendaraan bermotor dan berkembangnya sektor industri meningkatkan penggunaan bahan bakar fosil yang pada akhirnya menghasilkan emisi seperti CO₂ ke atmosfer. Hal ini menyebabkan timbulnya efek rumah kaca sehingga panas matahari terperangkap di bumi dan menyebabkan naiknya suhu bumi secara global. Jika pemanasan global terjadi dalam kurun waktu yang cukup lama, maka hal ini memicu es di daerah kutub mencair sehingga volume air laut akan bertambah dan menyebabkan berbagai masalah lingkungan serta perubahan iklim yang ekstrim.

Kelangkaan bahan bakar fosil dan maraknya isu lingkungan mengenai pemanasan global ini kemudian mendorong dikembangkannya suatu sumber energi generasi baru yang dikenal dengan istilah energi alternatif. Energi alternatif merupakan sumber energi yang dapat diperbaharui sehingga ketersediaan cadangan energi ini tetap terjaga dibandingkan dengan cadangan energi fosil yang terbatas dan tidak dapat diperbarui.

Energi alternatif pada dasarnya terbagi menjadi dua berdasarkan sumber energinya yaitu sumber energi alternatif berbasis biomassa dan sumber energi alternatif berbasis non-biomassa. Energi alternatif berbasis non-biomassa telah dikenal dan digunakan sejak lama, misalnya energi gelombang, energi panas bumi, energi cahaya matahari (solar sel) dan masih banyak lagi. Namun, energi alternatif berbasis non-biomassa ini memiliki beberapa kekurangan di antaranya sifat sumber energi ini yang sangat tergantung dengan kondisi lingkungan seperti perubahan cuaca dan iklim.

Sementara itu, energi alternatif berbasis biomassa semakin banyak diteliti dan dikembangkan sebagai bahan bakar yang diharapkan dapat menggantikan bahan bakar fosil di masa depan. Salah satu energi alternatif berbasis biomassa yang sedang berkembang adalah biodiesel. Biodiesel merupakan bahan bakar yang diformulasikan khusus untuk mesin diesel dan terbuat dari minyak nabati melalui reaksi transesterifikasi. Energi yang dihasilkan oleh biodiesel tidak jauh berbeda dari energi yang dihasilkan oleh petroleum diesel. Rantai hidrokarbon biodiesel terdiri dari 12 hingga 20 ikatan karbon dan mengandung oksigen. Dengan adanya oksigen, *flash point* biodiesel menjadi lebih tinggi sehingga tidak

mudah terbakar. Emisi yang dihasilkan biodiesel tidak mengandung uap berbahaya pada suhu kamar dan tidak menambah efek rumah kaca karena CO₂ yang dikeluarkan masuk ke dalam siklus karbon dari biomassa bahan baku pembentuk biodiesel. Di samping itu bahan bakar ini tidak mengandung sulfur dan senyawa benzena yang karsinogenik, sehingga biodiesel merupakan bahan bakar yang lebih bersih dan aman dibandingkan dengan petroleum diesel.

Sebagai negara yang kaya akan hasil alam, Indonesia memiliki beragam tumbuhan yang berpotensi menjadi bahan baku untuk menghasilkan biodiesel. Namun ironisnya, produksi biodiesel di Indonesia justru masih belum banyak dilakukan sehingga masyarakat masih sangat tergantung pada bahan bakar fosil yang telah umum diproduksi dan memiliki harga yang relatif lebih terjangkau dibandingkan biodiesel. Biaya produksi biodiesel yang cukup tinggi merupakan salah satu kendala yang menyebabkan pengembangan bahan bakar ini kurang diperhatikan di Indonesia.

Produksi biodiesel dilakukan melalui reaksi trans-esterifikasi minyak nabati oleh senyawa alkohol seperti metanol menjadi asam lemak bebas. Kemudian dilanjutkan dengan reaksi esterifikasi asam lemak bebas menjadi senyawa alkil ester atau biodiesel. Katalisator sebagai agen yang mempercepat laju reaksi kimia juga memiliki peranan penting dalam menentukan tinggi rendahnya biaya produksi biodiesel. Katalis yang umum digunakan dalam produksi biodiesel di antaranya adalah senyawa asam seperti H₂SO₄ atau senyawa basa seperti NaOH dan KOH. Namun menurut Sharma dan Singh (2008), penambahan katalis kimia memiliki banyak kelemahan, misalnya penggunaan

katalis basa seperti NaOH dan KOH terutama pada bahan baku yang mengandung asam lemak bebas yang tinggi memiliki risiko terjadinya reaksi samping berupa pembentukan sabun apabila katalis basa bereaksi dengan asam lemak bebas pada proses esterifikasi. Adanya produk samping ini membuat purifikasi biodiesel menjadi lebih sulit dilakukan. Sementara itu, penggunaan katalis asam seperti H_2SO_4 memerlukan energi kalor yang cukup tinggi serta menuntut pemeliharaan alat-alat produksi dari risiko korosif. Kendala-kendala tersebut pada akhirnya membuat harga produksi biodiesel meningkat.

Penggunaan katalis biologi berupa enzim lipase yang dapat melangsungkan reaksi trans/esterifikasi lemak atau asam lemak menjadi senyawa alkil ester merupakan jalan alternatif yang cukup menarik untuk dilakukan. Menurut Fowler dan Baker (1988), keunggulan enzim sebagai katalis terletak pada aktivitasnya yang spesifik terhadap substrat serta kemampuannya dalam menurunkan energi aktivasi sehingga reaksi berjalan lebih cepat dan berlangsung pada kondisi normal tanpa memerlukan suhu dan tekanan yang tinggi. Dengan enzim lipase, produk biodiesel yang dihasilkan memiliki tingkat kemurnian yang lebih tinggi karena bebas dari produk samping seperti sabun serta lebih ramah lingkungan karena tidak mengandung senyawa kimia yang berbahaya.

Namun, penggunaan enzim lipase sebagai katalis juga memiliki kelemahan mengingat sifat enzim yang tidak stabil dan mudah dipengaruhi berbagai kondisi lingkungan seperti pH dan suhu yang ekstrim. Selain itu, pemisahan enzim dari medium reaksi cukup sulit dilakukan sehingga enzim hanya dapat digunakan dalam satu kali proses produksi. Hal ini membuat proses

produksi memerlukan biaya yang cukup mahal. Untuk itu, berbagai cara telah dipelajari di antaranya adalah penerapan teknik amobilisasi enzim. Dalam bentuk yang amobil, enzim akan lebih stabil terhadap kondisi ekstrim dan dapat digunakan hingga berulang kali. Salah satu metode amobilisasi enzim lipase yang umum dilakukan adalah dengan penjeratan (*entrapment*). Pada metode ini, enzim bersifat bebas karena tidak terikat pada matriks, namun pergerakannya terbatas karena terperangkap dalam suatu kerangka penjerat berupa gel atau polimer (Prazer *et al*, 1993). Metode penjeratan merupakan metode amobilisasi enzim yang cukup mudah dilakukan dan tidak membutuhkan biaya yang terlalu tinggi.

Metode penjeratan enzim umumnya menggunakan polimer sebagai bahan baku matriks untuk menjerat lipase. Berbagai macam polimer telah digunakan dalam penjeratan enzim, salah satu diantaranya adalah alginat. Alginat merupakan senyawa polisakarida yang banyak terkandung dalam alga coklat seperti *Sargassum sp*. Sebagai negara kepulauan dengan kawasan pesisir dan lautan yang luas, Indonesia menyimpan kekayaan hayati yang berlimpah, diantaranya adalah alga *Sargassum sp* yang masih jarang dimanfaatkan oleh masyarakat setempat menjadi produk yang memiliki nilai jual tinggi. Penelitian ini memanfaatkan alginat yang diisolasi dari *Sargassum sp* sebagai bahan penjerat (*supporting matrix*) dalam mengamobilisasi enzim lipase untuk mengkatalisis reaksi esterifikasi asam lemak menjadi senyawa alkil ester (biodiesel).

1.2. Perumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh amobilisasi lipase terhadap aktivitas enzim lipase dalam pH dan temperatur yang berbeda-beda?
2. Berapa besar penurunan aktivitas esterifikasi *crude* lipase amobil yang digunakan secara berulang kali?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh amobilisasi lipase terhadap aktivitas enzim lipase dalam kondisi pH dan temperatur yang berbeda-beda.
2. Mengetahui seberapa besar penurunan aktivitas esterifikasi *crude* lipase amobil yang digunakan secara berulang kali.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai :

1. Referensi dan masukan bagi penelitian berikutnya mengenai pemanfaatan alga coklat *Sargassum sp* sebagai bahan pengamobil enzim.
2. Informasi kepada masyarakat industri mengenai pengembangan produksi biodiesel menggunakan enzim lipase yang diamobilisasi dengan mengoptimalkan manfaat dari *Sargassum sp* sebagai bahan pengamobil enzim lipase.
3. Pengetahuan bagi masyarakat khususnya di daerah pesisir pantai mengenai potensi alga coklat *Sargassum sp* yang hingga saat ini belum banyak dimanfaatkan secara optimal.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

1. Teknik amobilisasi *crude* lipase dengan alginat dari *Sargassum* sp cukup efisien untuk mempertahankan aktivitas *crude* lipase pada kondisi perubahan pH dan suhu yang signifikan
2. Penggunaan *crude* lipase yang telah diamobilisasi dengan alginat dari *Sargassum* sp cukup stabil untuk digunakan hingga 3 kali penggunaan
3. Alginat dari *Sargassum* sp memiliki potensi untuk digunakan sebagai matriks amobilisasi enzim lipase

5.2. Saran

1. Adanya penelitian lanjut mengenai optimasi penggunaan *Sargassum* sp sebagai bahan baku pembuatan alginat untuk amobilisasi enzim lipase
2. Perlu dilakukan uji karakterisasi mengenai lamanya waktu penyimpanan lipase amobil untuk mengetahui umur *beads* yang optimum
3. Perlu dilakukan penelitian mengenai penggunaan berulang pada enzim lipase yang diamobilisasi dengan alginat dari *Sargassum* sp dengan frekuensi yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abigor, R., Marmer, W., Foglia, T., Jones, K., DiCiccio, R., Ashby, R. dan Uadia, P. 2003. Production of cocoa butter-like fats by the lipase –catalyzed esterification of palm oil and hydrogenated soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 80: 1193 – 1196.
- Amekan, Y. 2011. Pemanfaatan Alginat dari Algae *Sargassum binderi* (Sonder) Sebagai Matriks Amobilisasi *Sel Saccharomyces cerevisiae* D-01 Untuk Produksi Bioetanol Pada Reaktor Batch Dengan Sirkulasi. [Skripsi]. Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.
- Anggadiredja, J T., Zatnika, A., Heri Purwoto, dan Istini, S., 2006. *Rumput Laut Pembudidayaan, Pengolahan dan Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial*. Penebar Swadaya, Informasi Dunia Pertanian : Jakarta.
- Angkawidjaja, C., Matsumura H, Koga Y, Takano K, Kanaya S. 2010. X-ray crystallographic and MD simulation studies on the mechanism of interfacial activation of a family L3 lipase with two lids. *Journal of Molecular Biology* 400(1):82–95.
- An Ullman's encyclopedia. 1998. *Industrial Organic chemicals*. Vol. 7, wiley-VCH. New York.
- Aslan, L.M. 1999. *Budidaya Rumput Laut*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Atmadja, W.S. 1996. *Pengenalan Jenis Algae Coklat (Phaeophyta)*. Di dalam :*Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia*. Jakarta : Puslitbang Oseanologi-LIPI.
- Atmadja, W.S dan Soelistijo. 1988. *Beberapa Aspek Vegetasi dan Habitat Tumbuhan Laut Bentik di Pulau-Pulau Seribu*. Jakarta : Pusat Penelitiandan Pengembangan Oseanologi-LIPI.
- August, E. G. 2000. *Kajian lipase amobil dari Aspergillus niger pada pembuatan MAG yang bersifat antibakteri dari minyak kelapa*. Tesis. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Balashov K, Jensen TR, Kjaer K, Bjornholm T. 2001. Novel methods for studying lipids and lipases and their mutual interaction at interfaces: Part I. *Atomic force microscopy*. *Biochimie* ;83:387–97.
- Balcao VM, Paiva AL, Malcata FX. 1996. Bioreactors with immobilized lipases: State of the art. *Enzyme Microb Technol* 18(6):392–416.
- Bender, M. 1999. Economic Feasibility Review for Community-Scale Farmer Cooperatives for Biodiesel. *Bioresource Technology*, 70, 81-87.

- Biselli M, Kragl U, Wandrey C. 2002. Reaction engineering for enzymecatalyzed biotransformations. In: Drauz K, Waldmann H, editors. Enzyme catalysis in organic synthesis. Weinheim, Germany: Wiley- VCH. p 185–257.
- Broderick, E., Lyons, H., Pembroke, T., Byrne, H., Murray, B., & Hall, M. 2006. The characterisation of a novel, covalently modified, amphiphilic alginate derivative, which retains gelling and non-toxic properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 298, 154–161.
- Cardias, H.C.T. Grininger, C.C., Trevisan, H.C., Guisan, J.M dan Giordano, R.I.C. 1999. Influence of Activation on Macroporous Silica. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 16:141 – 148.
- Carr, P and Bowers, L. 1990. *Immobilized Enzyme In Analytical and Clinical Chemistry : Fundamental and Application*. Wiley-Interscience Publication, New York.
- Castro, H.F., Silva, M.L.C.P and Silva, G.L.J.P. 2000. Evaluation of Inorganic Matrixes as Support for Immobilization of Microbial Lipase. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 17: 4 – 7.
- Chapman, VJ. 1970. *Seaweeds and Their Uses*. London : Metheun & Co. LTD.
- Chibata, I. 1982. *Immobilized Enzymes*. Tokyo : Kodansha, Ltd.
- Crueger, W. dan A. Crueger. 1990. *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology, 2nd edition*. Sinauer Associates : Sunderland, MA 357 pp.
- Kardono. 2008. Potensi Pengembangan Biofuel Sebagai Bahan Bakar Alternatif. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Pertanian*. Yogyakarta : Direktorat Pusat Teknologi Lingkungan BPPT
- Dossat V, Combes D, Marty A. 2002. Lipase-catalysed transesterification of high oleic sunflower oil. *Enzyme Microb Technol* 30(1):90–94.
- Draget, K.I., O. Smidsrod., Gudmund, S.B. 2005. Alginate from Algae. *Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry. Properties, Production, and Patents*. WILEY-VCH GmbH&Co. KgaA. ISBN. 3-527-31345-1.
- Efendi, S. 2001. Karakterisasi Enzim Lipase Intraseluler dengan Aktivitas Esterifikasi Kapang *Rhizopus Oryzae* TR 32. [Thesis]. Institut Pertanian Bogor.
- Ericsson, D.J., Kasrayan A, Johansson P, Bergfors T, Sandström AG, Bäckvall JE, Mowbray SL. 2008. X-ray structure of *Candida antarctica* lipase A

shows a novel lid structure and a likely mode of interfacial activation. *Journal of Molecular Biology* 376(1):109119.

- Falony, G., J. Coca Armas, J. C. Dustet Mendoza, J. L. Martinez Hernandez. 2006. Production of Extracellular Lipase from *Aspergillus niger* by Solid-State Fermentation. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (2):235–240.
- Faria, W.L.S., Carvalho, L.M., Junior, N.M., Viera, G.C., Constantino, A.M., Silva, C.M., Aranda, D.A.G. 2003. Esterificacao de Acido Graxo para Producao de Biodiesel. In *Anais do 12° Congresso Brasileiro de Catalise Angra dos Reis-RJ*. Brazil, 2, 943-946.
- Ferreiro, M. G., Tillman, L., Hardee, G., & Bodmeier, R. 2002. Characterization of alginate/poly-L-lysine particles as antisense oligonucleotide carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, 239, 47–59.
- Fjerbaek, L., Christensen, K.V., Norddahl, B. 2008. A Review of the Current State of Biodiesel Production Using Enzymatic Transesterification: Review. *Biotech and Bioengineering*.
- Fowler, M.W dan Baker, W.E 1988. Rubber Toughening of Polystyrene Trough. Reactive Blending. *Polymer Engineering and Science*. 28: 1427-1433.
- Fukuda, H., Kondo, A., Noda, H. 2001. Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils. *Journal Bioscience, Bioengineering.*, 92, 405-416.
- Gandhi, N., 1997, Application of Lipases. *Journal American Oil Chemist Society*, 74(6), 621 629.
- Gao, B., Xu T., Lin J., Zhang L., Su E., Jiang Z., Wei D. 2011. Improving the catalytic activity of lipase LipK107 from *Proteus* sp. by site-directed mutagenesis in the lid domain based on computer simulation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 68(3-4):286–291.
- Gerpen, J. V. 2005. Biodiesel Processing and Production. *Fuel Processing Technology* 86 (2005) 1097– 1107.
- Grant, G.T., Morris, E.R., Rees, D.A., Smith, P.J.C., Thom, D. 1973. Biological Interactions between polysaccharides and divalent cations: *The egg-box model*, *FEBS Lett.* 32, 195-198.
- Grasdalen, H. (1983). High-field 1H-n.m.r. spectroscopy of alginate: Sequential structure and linkage conformations. *Carbohydrate Research*, 118, 255 – 260.
- Handayani R., Joko S. 2005. *Transesterifikasi ester asam lemak melalui pemanfaatan teknoogi lipase*. Bogor : LIPI.

- Handhito, G. 2012. Pengaruh Tween 80 Terhadap Produksi Lipase Oleh *Aspergillus niger* 6516 Melalui Solid State Fermentation.[Skripsi]. Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.
- Hariyadi, P. 1995. Synthesis of Monoester and Mono- and Diacylglycerol from Butteroil by Lipase-Catalyzed Esterification in Microaqueous Media. [Disertasi]. Graduate School of University of Wisconsin Madison USA
- Jaeger, K.E., Dijkstra BW, Reetz MT. 1999. Bacterial biocatalysts: molecular biology, three-dimensional structures, and biotechnological applications of lipases. *Annual Review of Microbiology* 53:315–351.
- J. Sheehan, V. Camobreco, J. Duffield, M. Graboski, and H. Shapouri. 1998. Life cycle inventory of biodiesel and petroleum diesel for use in an urban bus, final report for U.S. Dept. of Energy's Office of Fuel Development and the U.S. Dept. of Agriculture's Office of Energy, by the National Renewable Energy Laboratory, NREL/SR-580-24089.
- Kaieda, M., Samukawa T, Matsumoto T, Ban K, Kondo A, Shimada Y, Noda H, Nomoto F, Ohtsuka K, Izumoto E, Fukuda H. 1999. Biodiesel fuel production from plant oil catalyzed by *Rhizopus oryzae* lipase in a water-containing system without an organic solvent. *J Biosci Bioeng* 88(6):627–631.
- Knezevic, Z., Mojovic L., Adnadjevic B. 1998. Palm oil hydrolysis by lipase from *Candida cylindracea* immobilized on zeolite type Y. *Enzyme Microbial Technology*, 22(4):275–280.
- Kose, O.; Tuter, M.; Aksoy, H.A. 2002. Immobilized *Candida antarctica* Lipase-Catalyzed Alcoholysis of Cotton Seed Oil in a Solvent-Free Medium. *Bioresource Technology*, 83, 125-129.
- Kulkarni, N. dan Gadre, R. V. (2002). Production and properties of an alkaline, thermophilic lipase from *Pseudomonas fluorescens* NS2W. *Journal of Industrial and Food Microbiology* 28, 344-348.
- Kvam, B. 1987. *Conformational conditions and ionic interaction of charged polysaccharides application of NMR techniques and the poisson-Boltzmann equation*. Thesis, Norwegian Institute of Technology, Trondheim.
- Lai, CC, Zullaikah S, Vali SR, Ju YH. 2005. Lipase-catalyzed production of biodiesel from rice bran oil. *Journal Chemistry Technol Biotechnol*, 80(3):331– 337.
- Lehninger, A.L. 1995. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta :Erlangga.
- Littlecott, G. W. 1982. Food Gels The Role of Alginates Food Tech. In Australia 34(9):412-418

- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. dan Randall, R. J. 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 265-275.
- Ma, F., M.A.1999. Biodiesel Production : a Review. *Bioresource Technology.*, 70, 1-15.
- Malcata, F. X. dan C. G. Hill. 1991. Use of A Lipase Immobilized in A Membrane Reactor to Hydrolyze The Glycerides of Butter Oil. *Biotechnol. Bioeng.* 38: 853 – 868.
- Marseno, D.W., R. Indarti dan Y. Ohta. 1998. A Simplified Method for Determination of Free Fatty Acids for Soluble and Immobilized Lipase Assay. *Indonesian Food and Nutrition progress.* 5 : 79 – 83.
- McHugh, D.J. 2003. A guide to seaweed industry. FAO Fisheries Technical Paper 441. Food and agriculture organization of the the Inited Nations, Rome : 105 pp.
- McNelly, W. H. dan D. J. Petit. 1973. Algin. Dalam R. L. Whistler (ed.). *Industrial Gums. 2nd Ed.* New York-San Fransisco-London : Academic Press.
- Miller, C., Austin H., Posorske L., Gonzlez J. 1988. Characteristics of an immobilized lipase for the commercial synthesis of esters. *J Am Oil Chem Soc* 65(6):927–931.
- Minovska, Vilma., Winkelhausen, Eleonora., dan Kuzmanova, Slobodan. 2007. *Lipase immobilized by different terchiques in various support material applied in oil hydrolisis.* University St Cyril and Methodious. Faculty of Technology and Metalurgy.
- Mittelbach, M. 1990. Lipase Catalyzed Alcoholysis of Sunflower Oil. *Journal American, Oil Chemistry Society*, 67, 168-170.
- Montero S, Blanco A, Virto MD, Carlos LL, Agud I, Solozabal R, Lascaray JM, de Renobales M, Llama MJ, Serra JL. 1993. Immobilization of Candida rugosa lipase and some properties of the immobilized enzyme. *Enzyme Microb Technol* 15(3):239–247.
- Morris, E. R., Rees, D. A., & Thom, D. (1980). Characterization of alginate composition and block-structure by circular dichroism. *Carbohydrate Research*, 81, 305–314.
- Murty, V. Ramachandra ., Jayadev Bhat, dan P.K.A. Muniswaran. 2002. Hydrolysis of Oils by Using Immobilized Lipase Enzyme: A Review. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 2002, 7: 57-66.

- Nahara, H., Y. Koyama, T. Yoshida, S. Pichangkura, R. Ueda, H. Taguchi. 1982. Growth and Enzyme Production in Solid State Culture of *Aspergillus oryzae*. *J. Ferment. Technol.* 60:311–319.
- Paiva, AL., Balcao VM., Malcata FX. 2000. Kinetics and mechanisms of reactions catalyzed by immobilized lipases. *Enzyme Microbial Technology*, 27(3–5):187–204.
- Pera, L. M., C. M. Romero, M. D. Baigori and G. R. Castro. 2006. Catalytic Properties of Lipase Extracts from *Aspergillus niger*. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (2) 247–252.
- Posorske, LH, LeFebvre GK, Miller CA, Hansen TT, Glenvig BL. 1988. Process considerations of continuous fat modification with an immobilized lipase. *J Am Oil Chem Soc* 65(6):922–926.
- Prazer, D. M. F., F.A.P. Gracia, dan J. M. S. Cabral. 1993. And Ultrafiltration Membrane Bioreactor for The Lipolysis of Olive Oil in Reversed Miceller Media. *Biotechnol. Bioeng.* 41: 761 – 770.
- Rahmat, Ahmad. 1999. *Morfologi Makro Alga*. Jakarta : Gramedia.
- Rastello, D. B., M., Leonard, M., Hubert, P., Marchal, P., Stequert, A., Castel, C., et al. 2004. Physical alginate hydrogels based on hydrophobic or dual hydrophobic/ionic interactions: Bead formation, structure, and stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 273, 131–139.
- Riaz, Aliya., Shah Ali Ul Qader, Abida Anwar, Samina Iqbal. 2009. Immobilization of a Thermostabil α -amylase on Calcium Alginate Beads from *Bacillus subtilis* KIBGE-HAR. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 3(3): 2883-2887. ISSN 1991-8178
- Rinaudo, M. 2008. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International*, 57(3), 397–430.
- Satyanarayana, T. 1994. *Production of Bacterial Extracellular Enzymes by Solid-State Fermentation dalam A. Pandey (Ed.).. Solid-State Fermentation*. Wiley Eastern Ltd., New Delhi, India pp. 122–129.
- Schmid, Rolf D and R.Verger. 1998. Review. Lipases: Interfacial Enzymes with Attractive Applications. *Angew. Chem. Int. Ed.* 37, 1608 ± 1633.
- Seema, S., Betiger., Steven .H., Neu*. 2002. Immobilization of Lipase Using Hydrophilic Polymers in the Form of Hydrogel Beads.. *Biomaterials* 23(2002) 3627-3636.
- Shahani, K.M. 1975. *Lipases and esterases*. p. 181–217. In G. Reed (ed.) *Enzymes in food processing*. New York : Academic Press.

- Sharma, Y.C dan Singh B . 2008. Development of biodiesel from karanja, a tree found in rural India. *Fuel*. 87, 1740– 1742.
- Simpson, N. E., Grant, S. C., Gustavsson, L., Peltonen, V. M., Blackband, S. J., & Constantinidis, I. (2006). Biochemical consequences of alginate encapsulation: A NMR study of insulin-secreting cells. *Biomaterials*, 27, 2577–2586.
- Son, E.H., Moon, E.Y., Rhee, D.K., and Pyo, S. 2001. Stimulation of various functions in murine peritoneal macrophages by high mannuronic acidcontaining alginate (HMA) exposure *in vivo*. *Int. Immunopharmacol.*, 1:147.
- Srivastava, A., Prasad, R. 2000. Triglycerides-Based Diesel Fuelas. *Renewable Sustainability Energy Review.*, 4, 111-133.
- Tjondronegoro, P.D., Natasaputra M, Kusumaningrat T, Gunawan AW, Jaelani M, Suwanto A. 1989. *Botani Umum II*. Bogor: Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat, Institut Pertanian Bogor.
- Widmann, M., Juhl P.B., Pleiss J. 2010. Structural classification by the Lipase Engineering Database: a case study of *Candida antarctica* lipase A. *BMC Genomics*, 11:123.
- Washington Metropolitan Transit Authority. 2002. Biodiesel Fuel Comparison Final Data Report. *National Research Center for Alternative Fuels, Engine and Emissions*, West Virginia University.
- Winarno, F.G. 1986. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : PT. Gramedia. 253 p.
- Xu, X. 2000. *Modification of oils and fats by lipase-catalyzed interesterification: Aspects of process engineering*. In: Bornscheuer UT, editor. *Enzymes in lipid modification*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH. p 190–215.
- Yunizal. 2004. *Teknik Pengolahan Alginat*. Jakarta : Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan.