

Optimasi Sintesis Alkildietanolamida Menggunakan *Response Surface Methodology* pada Reaksi Enzimatis Minyak Inti Buah Ketapang dan Dietanolamina

Optimization Synthesis of Alkyldiethanolamide Using Response Surface Methodology in the Enzymatic Reaction of Ketapang Kernel Oil and Diethanolamine

Sonia Larasati Datun, Dedy Suhendra, Erin Ryantin Gunawan*
Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram
*E-mail: erinryantin@unram.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.26874/jkk.v3i2.64>

Received: 7 Nov 2020, Revised: 30 Nov 2020, Accepted: 30 Nov 2020, Online: 30 Nov 2020

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kondisi optimum reaksi yang dapat menghasilkan persentase *yield* maksimal dan interaksi antar variabel pada sintesis alkildietanolamida secara enzimatis menggunakan *lipozyme* TL IM. Metode yang digunakan yaitu *Response surface methodology* (RSM) yang terdapat pada *software design expert* v.7. Hasil yang diperoleh yaitu kondisi optimum pada waktu reaksi 1,13 jam, suhu reaksi 32,05 °C, rasio dietanolamina : minyak (1 g : 9,57 mmol) dan rasio enzim : minyak (1 : 0,12) g dengan persen hasil prediksi sebesar 62,4542% dan persen hasil aktual sebesar 62,0000%. Interaksi antar variabel dapat diamati melalui model *quadratic*.

Kata kunci: Surfaktan, Alkildietanolamida, RSM, *Design expert* v.7, *Lipozyme*

Abstract

The purpose of this study was to determine the optimum conditions for the reaction that could produce the maximum yield percentage and the interaction between variables in the enzymatic synthesis of alkyldiethanolamide using *lipozyme* TL IM. The method used is the *Response Surface Methodology* (RSM) contained in the *expert design software* v.7. The results obtained are the optimum conditions at the reaction time 1.13 hours, reaction temperature 32.05 °C, the ratio of diethanolamine: oil (1 g: 9.57 mmol), and the ratio of enzymes: oil (1: 0.12) g with percent prediction results of 62.4542% and the percent of actual results of 62.0000%. The interaction between variables can be observed through a *quadratic* model.

Keywords: Surfactant, Alkyldiethanolamide, RSM, *Design expert* v.7, *Lipozyme*

1 Pendahuluan

Surfaktan adalah senyawa yang memiliki dua gugus, yaitu hidrofobik (lipofilik) dan hidrofilik (lipofobik) dalam satu molekul. Gugus ini sangat membantu untuk menurunkan tegangan permukaan cairan sehingga banyak digunakan sebagai bahan tambahan dalam industri detergen, kosmetik, makanan, tekstil, industri minyak bumi dan farmasi. Dikarenakan kegunaannya dalam berbagai bidang industri, kebutuhan akan

surfaktan di Indonesia terus meningkat setiap tahunnya. Kebutuhan penggunaan surfaktan di Indonesia sekitar 95.000 ton per tahun, sedangkan kapasitas produksi dalam negeri sekitar 55.000 ton per tahun dan 45.500 ton masih diimpor dan diproduksi dari bahan petroleum yang tidak dapat diperbaharui. Selain itu harga surfaktan mencapai US\$16 per liter yang harganya terus menanjak. Salah satu



surfaktan yang banyak dibutuhkan yaitu alkildietanolamida [1].

Alkildietanolamida atau asam lemak dietanolamida dapat berperan sebagai surfaktan karena memiliki sifat menyerupai detergen karena memiliki molekul ampifilik. Alkildietanolamida merupakan senyawa amida yang banyak digunakan dalam industri kimia, kosmetik, maupun otomotif [2]. Surfaktan alkildietanolamida biasanya dibuat dengan menggunakan bahan dasar berupa minyak nabati yang diperoleh dari minyak kelapa sawit dan minyak kelapa karena mengandung rantai karbon C12-C18. Minyak kelapa sawit dan minyak kelapa merupakan komoditas pangan sehingga digunakan untuk memenuhi kebutuhan primer manusia [3], oleh karena itu diperlukan alternatif lain untuk pembuatan surfaktan ini. Salah satu minyak nabati lain yang mengandung C12-C18 dan tidak digunakan sebagai bahan pangan adalah minyak inti buah ketapang.

Biji ketapang memiliki kandungan minyak (trigliserida) yang tinggi, yaitu sekitar 54%. Minyak ketapang mengandung asam palmitat (25-31%), oleat (31-38%), stearat (3-4%), dan linoleat (12-21%) [4]. Kandungan minyak inti ketapang hampir sama dengan asam lemak yang terdapat pada minyak kelapa sawit dan minyak kelapa sehingga memiliki prospek yang tinggi untuk dijadikan pilihan baru bahan dasar pembuatan surfaktan alkildietanolamida.

Sintesis alkildietanolamida dari minyak inti buah ketapang yang dikatalisis menggunakan *Lipozyme TL IM* dengan metode optimasi *one variable at time* telah dilakukan sebelumnya untuk melihat interaksi antara satu variabel uji terhadap respon. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi reaksi optimal adalah 2 jam waktu reaksi, dengan rasio massa minyak (g) terhadap dietanolamina (mmol) 1 : 5, rasio massa minyak terhadap enzim (g) 1 : 0,075, dan suhu reaksi 40 °C memperoleh persentase alkildietanolamida sebesar 56% [5]. Hasil tersebut belum mencapai hasil maksimum. Selain itu, metode *one variable at time* memiliki kekurangan, yaitu tidak dapat melihat pengaruh lebih dari satu variabel dan interaksi yang terjadi antar variabel yang dapat mempengaruhi perolehan *yield*. Oleh karena itu, diperlukan metode optimasi yang dapat melakukan optimasi dengan lebih baik yaitu salah satunya dengan metode *Response Surface Methodology* (RSM).

RSM adalah teknik statistik yang efektif untuk mengetahui proses yang kompleks. Ide utama dari metode ini adalah untuk menentukan pengaruh antar variabel independen terhadap respons (*yield*), mendapatkan model hubungan antara variabel independen dan respons serta mendapatkan kondisi optimum yang menghasilkan respons terbaik. Selain itu keunggulan metode ini adalah tidak memerlukan data eksperimental dalam jumlah besar [6], hanya diperlukan 30 data eksperimen yang sudah ditentukan oleh *software* dengan mempertimbangkan variabel-variabel independen yang digunakan jika menggunakan metode ini.

Berdasarkan uraian di atas, pada penelitian ini akan dilakukan optimasi sintesis alkildietanolamida menggunakan RSM pada reaksi enzimatik minyak inti buah ketapang dan dietanolamina.

2 Metode Penelitian

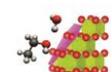
2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat gelas yang ada di laboratorium oleokimia, timbangan analitik (DC-600A), pH meter (PH-009(I)A), kromatografi lapis tipis, *stirer water bath* (Biosan WB-4MS), statif dan klem, desikator, *bunchner*, *vaccum filtration*, *rotary evaporator* (B-ONE RE-1000VN), spektrofotometer FT-IR (ParkernElmer-Spectrum Two, AS).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan yang berderajat p.a, yaitu *n*-heksan dan dietanolamina (Sigma Aldrich, German), Na₂S₂O₄ anhidrat (Merck, German), biji ketapang, *Lipozyme TL IM* (Novozymes 2A330045, Denmark), *n*-heksan teknis (Merck, German), metanol (Merck, German), etanol (Merck, German), HCl (Merck, German), NaOH (Merck, German), silika gel, Na₂S₂O₃ (Merck, German), *virgin coconut oil* (VCO) (Al amin, Indonesia), indikator PP (Merck, German), aquades.

2.2 Optimasi dengan RSM

Data kondisi optimum *one variable at time* yang telah diperoleh sebelumnya dijadikan sebagai acuan untuk memperoleh 30 keadaan optimum reaksi yang akan dilakukan. Dimasukkan *range* data kondisi optimum ke dalam *Software Design Expert v.7* dari masing-masing faktor, yaitu waktu reaksi (jam), temperatur (°C), jumlah dietanolamina (mmol)



dan massa enzim (g) dengan data optimum sebagai pusat data.

Untuk waktu reaksi optimum pada 2 jam maka dimasukkan data 0; 1; 3; dan 4 jam. Untuk temperatur reaksi optimum diperoleh pada suhu 40°C maka data yang dimasukkan adalah 20; 30; 50; dan 60°C. Untuk mmol dietanolamina diperoleh kondisi optimum 10 mmol maka data yang dimasukkan adalah 0; 5; 15; dan 20 mmol. Sedangkan untuk massa enzim dengan kondisi optimum 0,15 g maka dimasukkan data adalah 0,05; 0,1; 0,20; dan 0,25 g. Setelah data-data yang diperoleh dimasukkan, maka diperoleh 30 data eksperimen optimum untuk diketahui data mana yang memiliki prediksi *yield* paling tinggi setelah disintesis di laboratorium.

Yield sampel hasil optimasi kemudian di masukkan ke dalam *Software Design Expert v.7* untuk dianalisis model matematikanya, ANOVA (analisis varian), dan kondisi optimum reaksi, serta prediksi *yield* optimum berdasarkan model matematika yang sudah diperoleh.

2.3 Sintesis dan Analisis

Alkildietanolamida disintesis dengan menggunakan metode yang dikembangkan dengan modifikasi dan penyesuaian pada kondisi dari masing-masing reaksi yang dilakukan. Reaksi secara umum, yaitu campuran reaksi yang terdiri dari trigliserida minyak ketapang, pelarut *n*-heksan dan dietanolamida sebagai substrat yang sudah dinetralkan pada pH 7 direaksikan sesuai dengan kondisi reaksi yang diperoleh dari aplikasi *design expert v.7*.

Pemurnian alkildietanolamida dapat dilakukan dalam empat tahap. Pertama, pemisahan enzim dari campuran produk dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring. Kedua, pemisahan fraksi *n*-heksan dari lapisan air menggunakan corong pisah. Ketiga, untuk mendapatkan alkildietanolamida padat, fraksi *n*-heksana didinginkan dalam *freezer* (<-5°C) selama 5 jam kemudian difiltrasi. Keempat, alkildietanolamida yang didapat pada kertas saring dicuci dengan *n*-heksana dan dikeringkan dalam desikator yang telah diisi dengan fosfor pentaoksida selama 24 jam untuk memperoleh alkildietanolamida murni.

Hasil alkildietanolamida yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis, *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dan uji Kjeldahl.

3 Hasil dan Diskusi

Pengolahan data dilakukan menggunakan aplikasi *design expert v.7* dengan RSM. RSM merupakan suatu metode gabungan antara teknik matematika dan teknik statistik, digunakan untuk membuat model dan menganalisa suatu respon, y yang dipengaruhi oleh beberapa variabel bebas/faktor x guna mengoptimalkan respon tersebut [7].

Pertimbangan penting dalam RSM adalah bagaimana menentukan faktor dan level yang dapat cocok dengan model yang akan digunakan. Jika faktor atau level yang dipilih dalam suatu penelitian tidak tepat, maka kemungkinan terjadinya ketidakcocokan model akan sangat besar dan akan bersifat bias. Oleh karena itu, dalam menggunakan metode RSM peneliti menentukan suatu rancangan percobaan, memperkirakan parameter yang diperlukan untuk mendapatkan model yang sesuai, memeriksa kesesuaian model uji (uji *Lack of Fit*), menentukan atau menduga di mana peningkatan respons akan terjadi, kemudian melakukan percobaan dengan titik-titik rancangan yang terkonsentrasi di sekitar daerah yang dicurigai terjadi peningkatan. Persen hasil dari ke-30 sampel yang telah dicobakan diperoleh setelah sintesis alkildietanolamida dilakukan (Tabel 3.1). Hasil yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam kolom respons pada aplikasi *design expert v.7* untuk memperoleh hasil prediksi. Hasil prediksi dapat diketahui dengan menggunakan perhitungan statistik sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Yield (\%)} = & 52,33 - 1,42A - 4,25B + 4,42C - \\ & 0,25D + 2,50AB + 2,13AC + \\ & 3,62AD - 0,13BC + 3,37BD + \\ & 0,75CD - 2,38A^2 + 1,12B^2 - \\ & 7,25C^2 + 2,25D^2 \end{aligned}$$

Berdasarkan pengujian kecocokan model, analisis regresi dan uji *lack of fit* model diperoleh data persen hasil prediksi menggunakan *software design expert v.7*. Hasil tersebut kemudian dibandingkan dengan hasil aktual yang diperoleh dengan melakukan sintesis di laboratorium. Hasil aktual dan prediksi *yield* alkildietanolamida dapat dilihat pada Tabel 1

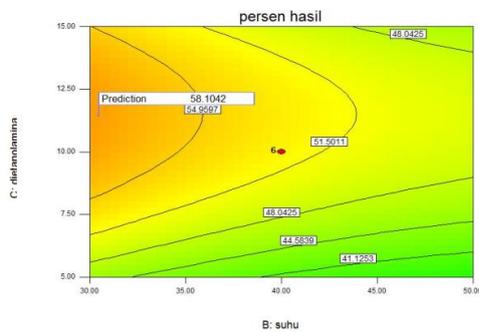
Data Tabel 1 dapat dilihat bahwa baik secara aktual maupun prediksi, persen hasil alkildietanolamida yang diperoleh cukup signifikan dilihat dari nilai *Prediction Error Sum of Square* (PRESS) atau prediksi error yang diperoleh pada model memiliki nilai terendah yaitu 6254,20. Hal ini menunjukkan terdapat korelasi antara hasil perhitungan menggunakan



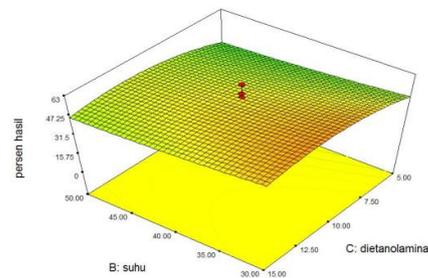
software design expert v.7 dengan hasil yang diperoleh secara nyata di laboratorium.

Tabel 1. Hasil sintesis alkildietanolamida

No	Waktu (jam)	Suhu (°C)	Dietanolamina (mmol)	Enzim (g)	Hasil (%)	
					Aktual	Prediksi
1	1	30	5	0,1	61,00	59,83
2	3	30	5	0,1	42,00	40,50
3	1	50	5	0,1	37,00	39,83
4	3	50	5	0,1	38,00	30,50
5	1	30	15	0,1	64,00	63,17
6	3	30	15	0,1	45,00	52,33
7	1	50	15	0,1	38,00	42,67
8	3	50	15	0,1	32,00	41,83
9	1	30	5	0,2	52,00	43,83
10	3	30	5	0,2	46,00	39,00
11	1	50	5	0,2	47,00	37,33
12	3	50	5	0,2	40,00	42,50
13	1	30	15	0,2	45,00	50,17
14	3	30	15	0,2	55,00	53,83
15	1	50	15	0,2	40,00	43,17
16	3	50	15	0,2	58,00	56,83
17	0	40	10	0,15	44,00	45,67
18	4	40	10	0,15	41,00	40,00
19	2	20	10	0,15	62,00	65,33
20	2	60	10	0,15	51,00	48,33
21	2	40	0	0,15	0,00	14,50
22	2	40	20	0,15	46,00	32,17
23	2	40	10	0,05	69,00	61,83
24	2	40	10	0,25	53,00	60,83
25	2	40	10	0,15	56,00	52,33
26	2	40	10	0,15	47,00	52,33
27	2	40	10	0,15	63,00	52,33
28	2	40	10	0,15	50,00	52,33
29	2	40	10	0,15	53,00	52,33
30	2	40	10	0,15	45,00	52,33



(a)



(b)

Gambar 1. Grafik pengaruh suhu dan dietanolamina terhadap respon alkildietanolamida kontur plot (a) dan grafik 3D (b)

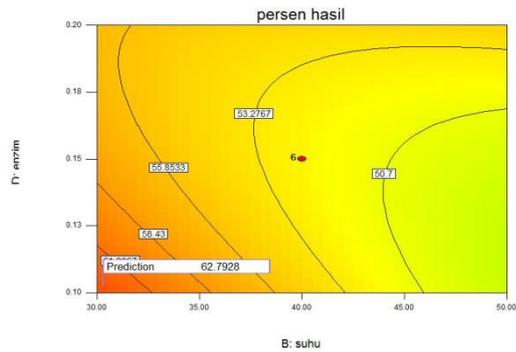
Interaksi Antar Variabel

Kontur pada Gambar 3.1 memperlihatkan hubungan antara variasi suhu dan jumlah dietanolamina. Penambahan suhu cenderung mengurangi *yield* yang dihasilkan, sedangkan penambahan dietanolamina meningkatkan nilai dari *yield*. Suhu yang berlebih atau diatas 30 °C tidak berkontribusi terhadap peningkatan persen *yield* dari produk yang dihasilkan. Hal ini karena peningkatan temperatur mengakibatkan substrat mengalami perubahan konformasi sehingga sisi aktif substrat tidak dapat lagi atau mengalami

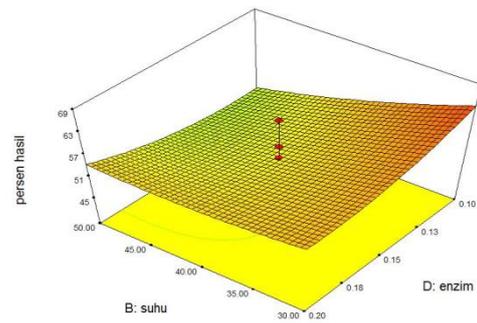
hambatan dalam memasuki sisi aktif enzim [8]. Reaksi kimia akan berlangsung lambat pada suhu rendah, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi reaksi kimia berlangsung cepat. Berdasarkan Gambar 3.2 terlihat hubungan antara variasi suhu dan enzim. *Yield* optimum diperoleh pada keadaan suhu 30 °C dan 0,1 g enzim. *Yield* alkildietanolamida mengalami penurunan seiring bertambahnya suhu. Hal ini dikarenakan peningkatan temperatur mengakibatkan enzim mengalami denaturasi [9]. Sebagian besar enzim manusia memiliki suhu optimum sekitar 35-40

°C. Apabila terjadi proses denaturasi, maka bagian aktif enzim akan terganggu sehingga

konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang dan terjadi penurunan kecepatan reaksi.

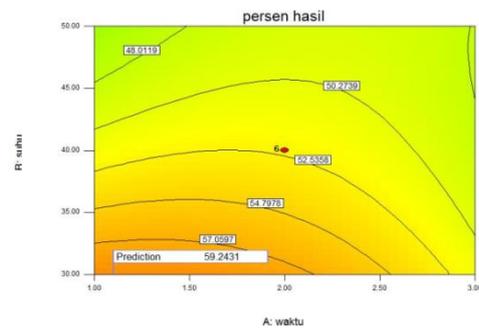


(a)

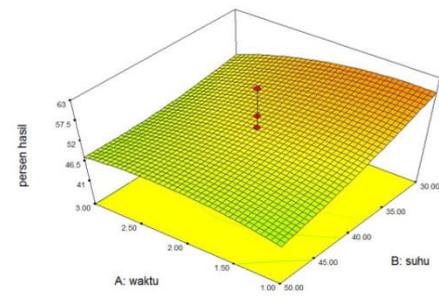


(b)

Gambar 2. Grafik pengaruh suhu dan enzim terhadap respon alkildietanolamida kontur plot (a) dan grafik 3D (b)

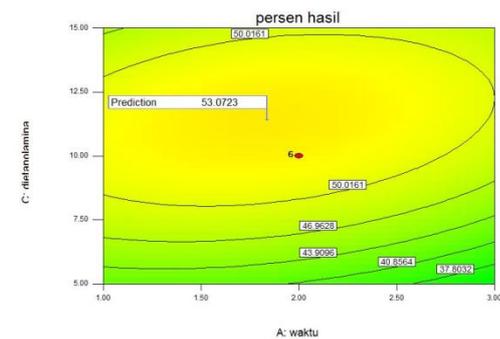


(a)

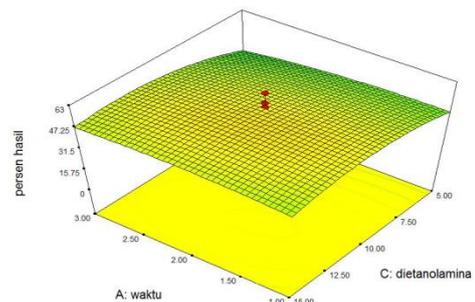


(b)

Gambar 3. Grafik pengaruh waktu dan suhu terhadap respon alkildietanolamida kontur plot (a) dan grafik 3D (b)



(a)



(b)

Gambar 4. Grafik pengaruh waktu dan dietanolamina terhadap respon alkildietanolamida kontur plot (a) dan grafik 3D (b)

Berdasarkan Gambar 3.3 terlihat hubungan antara waktu dan suhu dengan *yield* yang diperoleh. Permukaan kontur pada Gambar 3.3 menunjukkan bahwa *yield* maksimum dapat diperoleh pada waktu 1-2 jam, sedangkan suhu yang digunakan 30-32,5 °C. Pada kondisi ini,

dapat diperoleh *yield* alkildietanolamida sebesar 59,2331%. Hal ini sesuai dengan teori laju reaksi, dimana semakin lama waktu reaksi maka reaksi akan berlangsung makin sempurna [10].

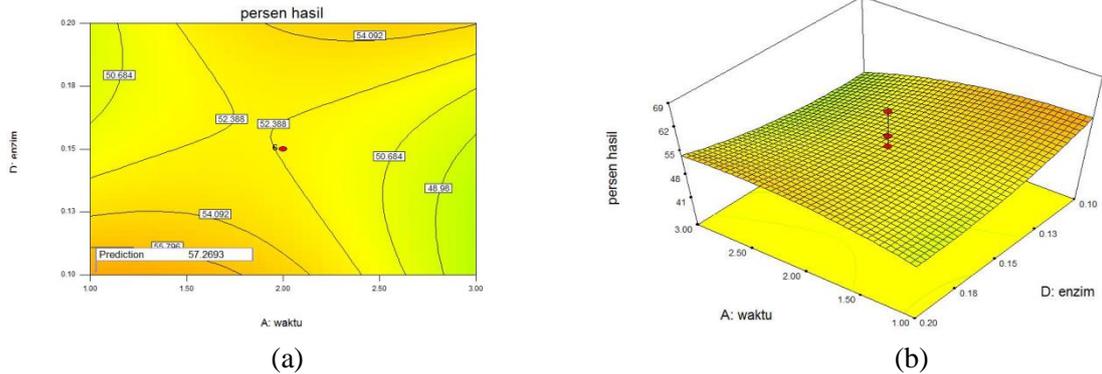
Berdasarkan kontur pada Gambar 3.4, dapat diketahui bahwa dengan kondisi waktu 1-3 jam



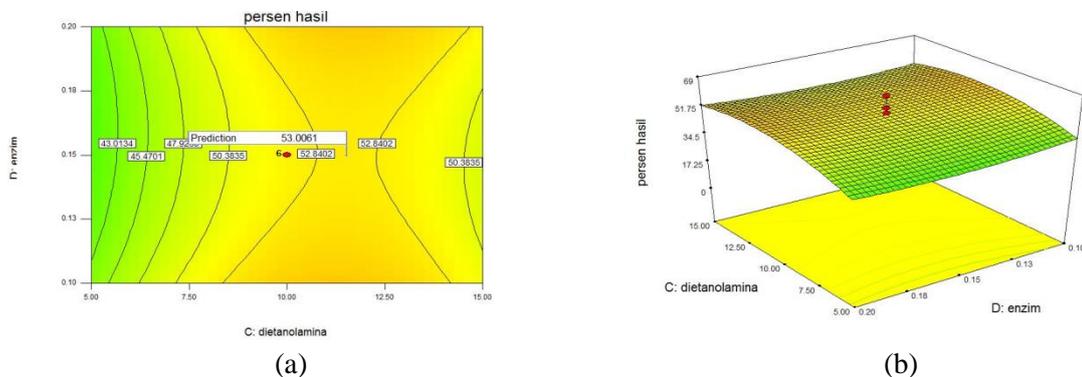
dan jumlah dietanolamina 10-12,5 mmol didapatkan persen *yield* sebesar 53,0723%. Gambar tersebut menunjukkan penambahan jumlah substrat akan meningkatkan nilai *yield*, begitu pula sebaliknya. Konsentrasi substrat terlalu tinggi dapat meningkatkan viskositas larutan sehingga interaksi antar reaktan menjadi tidak efektif dan dapat menghambat reaksi [11].

Berdasarkan Gambar 3.5 terlihat hubungan antara variasi waktu dan jumlah enzim dengan *yield* yang dihasilkan. Pada gambar tersebut

terlihat bahwa dengan melakukan penambahan pada jumlah enzim, *yield* yang dihasilkan akan semakin rendah. Sedangkan waktu reaksi antara 1-1,5 jam akan meningkatkan *yield*. Rendahnya produk yang dihasilkan ini disebabkan oleh penghentian reaksi kearah produk dikarenakan terbatasnya jumlah substrat yang dapat diubah oleh enzim lipase menjadi produk sehingga peningkatan konsentrasi enzim tidak disertai dengan jumlah substrat yang tidak memadai akan meningkatkan jumlah produk [12].



Gambar 5. Grafik pengaruh waktu dan enzim terhadap respon alkildietanolamida kontur plot (a) dan grafik 3D (b)



Gambar 6. Grafik pengaruh dietanolamina dan enzim terhadap respon alkildietanolamida kontur plot (a) dan grafik 3D (b)

Berdasarkan Gambar 6 dengan kondisi optimum dietanolamina sebesar 10-12,5 mmol dan 0,15 g enzim terlihat hubungan keduanya dengan *yield* yang diperoleh. Meningkatnya jumlah dietanolamina akan meningkatkan *yield* alkildietanolamida yang dihasilkan. Gambar juga menunjukkan grafik mengalami penurunan dengan penambahan enzim. Hal ini disebabkan karena pada jumlah enzim sebanyak 0,15 g masih mampu untuk mengikat banyak substrat dan pada kondisi tersebut sudah terjadi kesetimbangan reaksi. Sedangkan apabila dilakukan penambahan enzim maka jumlah enzim akan lebih banyak dibandingkan substrat. Selain itu, untuk suatu

konsentrasi enzim, tingkat reaksi meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat sampai satu titik jenuh. Hal ini disebabkan karena pada keadaan jenuh seluruh molekul enzim yang ada telah mengikat substrat, sehingga penambahan substrat tidak akan meningkatkan laju reaksi menjadi lebih cepat [10].

Kondisi Optimum Sintesis Alkildietanolamida

Optimasi dengan RSM pada *Design Expert v.7* melalui persamaan orde 2 diperoleh solusi optimasi dengan kombinasi dan prediksi persen hasil yang dapat dilihat pada Tabel 3.2. Berdasarkan Tabel 3.2 dihasilkan kondisi

optimum, yaitu pada waktu reaksi 1,13 jam, suhu 32,05 °C, jumlah dietanolamina 9,57 mmol, dan enzim 0,12 g dengan perolehan *yield* optimum prediksi sebesar 62,4541% dan persen *yield* aktual sebesar 62,0000%. Hal ini menunjukkan

bahwa tidak terjadi perbedaan yang signifikan antara hasil perhitungan dan eksperimen. Artinya data eksperimen mendekati perhitungan statistiknya.

Tabel 2 Kondisi Optimum Sintesis Alkildietanolamida

No	Waktu (jam)	Suhu (°C)	Dietanolamina (mmol)	Enzim (g)	Hasil prediksi (%)	Disability
1	1,13	32,05	9,57	0,12	62,4541	1,000
2	1,46	32,39	10,76	0,12	60,7151	1,000
3	1,01	31,51	12,58	0,18	54,4957	1,000
4	1,93	33,55	8,35	0,19	53,9638	1,000
5	1,29	36,72	13,11	0,15	53,5542	1,000

4 Kesimpulan

Perbandingan data nilai prediksi dan eksperimen memperlihatkan bahwa data yang diperoleh memiliki korelasi yang baik. Hasil perolehan dengan menggunakan RSM dapat melihat interaksi antar setiap faktor yang berperan dalam kenaikan *yield* pada sintesis alkildietanolamida. Model yang diperoleh dapat digunakan untuk melihat prediksi hasil sintesis alkildietanolamida yang dilakukan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (Dikti) atas dukungan dana penelitian pada skema PDUPT 2019 dan LPPM Universitas Mataram.

Daftar Pustaka/ References

- [1] Swasono AWP., Elvarosa, PD., Masyithah, Z., 2012, Sintesis Surfaktan Alkil Poliglikosida dari Glukosa dan Dodekanol dengan Katalis Asam, *Jurnal Teknik Kimia USU*, 1(1): 1-6.
- [2] Lubis FS., 2018, Karakteristik Senyawa Alkanolamida dari Minak Jarak Costor dan Dietanolamine dengan Katalis KOH, *KONVERSI*, 7(2): 31-36.
- [3] Kurouw S. dan Santoso, B., 2015 Minyak Kelapa sebagai Sumber Asam Lemak Rantai Medium, 1(1): 73-78.
- [4] Gunawan ER., Suhendra, D., Wulandari, BN., dan Kurniawati, L., 2019, Enzymatic Synthesis of Palmitoylethanolamide from Ketapang Kernel Oil, *Journal of Physics*, 1321(2): 1-6.
- [5] Gunawan ER., Suhendra, D., Hidayat, I., dan Kurniawati, L., 2018, Optimization of Alkyldiethanolamide Synthesis from Terminalia cattapa L. Kernel Oil Through Enzymatic Reaction, *Journal Oleo Science*, 67(8): 949-955.
- [6] Suhendra D., Gunawan, ER., Nurita, AD., Komalasari, D., dan Ardianto, T., 2017, Optimization of the Enzymatic Synthesis of Biodiesel from Terminalia cattapa L. Kernel Oil Using Response Surface Methodology, *Journal Oleo Science*, 66(3): 209-215.
- [7] Wahjudi D., 2017, Aplikasi Metode Response Surface Untuk Optimasi Kualitas Warna Minyak Goreng, *Jurnal Keilmuan dan Aplikasi Teknik Industri*, 1(1): 1-11.
- [8] Widhiantari IA., Sandra, Djoyowasito, G., 2019, Perubahan Sifat Fisik Buah Tomat setelah Proses Transportasi, *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian dan Biosistem*, 7(2): 139-147.
- [9] Noviyanti T., Ardiningsih, P., Rahmalia, W., 2012, Pengaruh Temperatur terhadap Aktivitas Enzim Protase dari Daun Sansakng (*Pycnarrhena cauliflora* Diels), *JKK*, 1(1): 31-34.
- [10] Putri, M. F., Padil, dan Yelmida, 2014, Pengaruh Waktu Reaksi dan Penambahan Volume Enzim terhadap Pemurnian Selulosa- α Pelepah Sawit Menggunakan Enzim Xylanase dari *Trichoderma* sp.
- [11] Gunawan, E. R., dan Suhendra, D., 2008, Wax Esters Production By Alcoholysis of Palm Oil Fraction, *Indonesian Journal*, 8(3): 356-362.
- [12] Suhendra, D., Yunus, W. M. Z. W., Harun, M. J., Basri, M., dan Silong, S., 2005, Enzymatic Synthesis of Fatty Hydroxamic Acids from Palm Oil, *Journal of Oleo Science*, 54(1): 33-38.

