

PENENTUAN METODE ANALISIS KOMPOSISI ASAM LEMAK DAN METIL ESTER PADA BIODIESEL DENGAN GC-MS TANPA METILASI

Maharani Dewi Solikhah^{1*}, Fatimah Tresna Pratiwi², Meta Dewi Diaztuti³

^{1,2,3}Balai Rekayasa Desain dan Sistem Teknologi, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi
Gedung 480 Kawasan PUSPIPTEK Tangerang Selatan 15314

*maharani.dewi@bppt.go.id

ABSTRAK

Biodiesel merupakan bahan bakar alternatif untuk mensubstitusi minyak diesel/solar. Selain dapat dibuat dari minyak nabati, biodiesel juga dapat dibuat dari asam lemak, misalnya PFAD (*Palm Fatty Acid Distillate*). Dalam proses pembuatannya, terkadang didapati sampel biodiesel dengan kadar asam lemak yang tinggi akibat asam lemak yang tidak terkonversi menjadi biodiesel. Untuk mengetahui komposisi asam lemak dalam biodiesel tersebut, dilakukan analisis dengan GC-MS. Metode preparasi sampel minyak dengan GC-MS yang umum dilakukan adalah dengan melakukan metilasi terhadap sampel. Namun metode tersebut tidak dapat membedakan metil ester dengan asam lemak yang telah menjadi metil ester. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui metode optimum dalam analisis sampel biodiesel untuk mengetahui komposisi asam lemak dan metil ester yang terkandung di dalamnya secara simultan, tanpa melalui proses metilasi terhadap sampel. Optimasi dilakukan dengan perbandingan penggunaan pelarut sampel yang digunakan yaitu methanol, isopropanol, dan heptane serta metode pemanasan pada GC-MS sehingga diperoleh pemisahan kromatogram yang baik. Dari optimasi metode yang dilakukan, penggunaan pelarut isopropanol dengan metode pemanasan bertahap 5 °C/menit dari suhu 40 – 250 °C pada kolom Stabilwax-DA (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, *polyethylene glycol*) menghasilkan pemisahan kromatogram yang optimal dalam membedakan asam-asam lemak dan metil-metil ester di dalam sampel biodiesel.

Kata kunci: Biodiesel, GC-MS, Asam lemak, Tanpa metilasi

ABSTRACT

Biodiesel is a promising alternative fuel to substitute petroleum diesel oil. It can be produced from vegetable oils and fatty acids such as palm oil or PFAD (Palm Fatty Acid Distillate). In the manufacturing process, biodiesel samples with high levels of fatty acids as a result of unconverted fatty acid might be found. To determine the composition of fatty acids in biodiesel, a GC-MS analysis was conducted. Common method of sample preparation method for GC-MS is to conduct methylation of the lipid sample. But this method cannot distinguish the original methyl ester with the fatty acid converted to methyl esters. The aim of this study is to determine optimum method for GC-MS analysis of fatty acid and methyl ester in biodiesel simultaneously without derivatization. The optimization method was conducted by comparing the use of heptanes, methanol, and isopropanol as the solvent and to determine control parameter and oven program to obtain good separation on the chromatograph. The use of isopropanol as solvent with heating ramp 5 °C/min from 40 – 250 °C using the column of Stabilwax-DA (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm, polyethylene glycol) shows a good peak separation in the chromatograms that can distinguish fatty acids and methyl esters in biodiesel samples.

Keywords : Biodiesel, GC-MS, Fatty acid, Without methylation

PENDAHULUAN

Biodiesel (*fatty acid methyl ester* atau FAME) merupakan bahan bakar alternatif untuk mensubstitusi minyak diesel/solar yang terbuat dari minyak atau lemak nabati ataupun

hewani (Knothe, 2005). Biodiesel dihasilkan melalui reaksi trans-esterifikasi dari minyak atau esterifikasi dari asam lemak. Minyak yang umum digunakan untuk bahan bakar biodiesel antara lain minyak sawit, minyak kelapa,

minyak kedelai, minyak kanola, dan minyak jarak pagar. Selain dapat dibuat dari minyak nabati, biodiesel juga dapat dibuat dari asam lemak, misalnya PFAD (*Palm Fatty Acid Distillate*) yang merupakan produk samping dari pabrik minyak goreng.

Dalam proses pembuatannya, terkadang didapati sampel biodiesel dengan kadar asam lemak yang tinggi akibat asam lemak yang tidak terkonversi menjadi biodiesel. Untuk mengetahui komposisi asam lemak yang belum terkonversi dalam biodiesel tersebut, dilakukan analisis dengan *Gas Chromatography – Mass Spectrophotometry* (GC-MS).

Metode preparasi sampel minyak dengan GC-MS yang umum dilakukan adalah dengan melakukan metilasi terhadap sampel (Christie, 1993) (Christie, 2014). Akan tetapi metode tersebut tidak dapat membedakan metil ester dengan asam lemak yang telah menjadi metil ester sehingga tidak dapat diketahui komposisi asam lemaknya.

Beberapa metode analisa asam lemak tanpa metilasi (*derivatization-free*) telah diteliti (Meng dkk., 2007) (Hua dkk., 2011) (Mizumoto dkk., 2011) (Zhang dkk., 2015). Secara khusus, Zhang dkk. (2015) membahas mengenai analisa asam oleat dan asam-asam lainnya sebagai bahan kimia yang sering digunakan dalam industri pangan dan obat-obatan. Zhang menyarankan penggunaan metanol, etanol, dan isopropanol sebagai pelarut dalam analisa menggunakan GC-FID (*Gas Chromatography - Flame Ionization Detector*) dengan rekomendasi isopropanol sebagai yang terbaik. Sedangkan dalam metode analisa EN 14103 untuk analisa kadar FAME dalam biodiesel dengan GC-FID, pelarut yang disarankan adalah heptan (British Standard, 2003). Oleh karena itu pemilihan pelarut meliputi pelarut heptan, methanol, dan isopropanol.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui metode optimum dalam analisa sampel biodiesel untuk mengetahui komposisi asam lemak dan metil ester yang terkandung di dalamnya, tanpa melalui proses metilasi terhadap sampel.

METODE

1. Alat dan Bahan

Metanol, heptan, dan isopropanol *grade* analisis yang digunakan sebagai pelarut diperoleh dari Merck KGaA, Darmstadt,

Jerman. Zat standard FAME *mix* C4 (*butyric acid methyl ester*) - C24 (*nervoric acid methyl ester*) diperoleh dari Supelco Analytical, Inc., Bellefonte, PA.

Palm Fatty Acid Distillate (PFAD) yang digunakan dalam analisa ini diperoleh dari PT Astra Agro Lestari, Mamuju, Indonesia. Sampel biodiesel diperoleh dari Balai Rekayasa Desain dan Sistem Teknologi BPPT, Tangerang Selatan, Indonesia.

Filter yang digunakan untuk preparasi sampel berupa mikrofilter nilon dengan *housing* polipropilen berukuran 0.2 μm dan diameter 25 mm yang diperoleh dari Whatman GE Healthcare Co., Maidstone, UK.

Kolom yang digunakan adalah Stabilwax-DA (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm , *polyethylene glycol*) yang dilengkapi dengan *hydroguard column* (5 m \times 0,25 mm), masing-masing diperoleh dari Restek Co., Bellefonte, PA.

GC-MS yang digunakan adalah Shimadzu QP2010S (Shimadzu Corp, Kyoto, Jepang). Adapun *carrier gas* yang digunakan adalah helium *grade* GC-MS yang diperoleh dari PT Air Liquide Indonesia, Bekasi, Indonesia.

2. Optimasi metode

Optimasi metode diawali dengan translasi metode yang diperoleh dari literatur (Restek, 2015) dengan menggunakan piranti lunak EZGC (Restek Co., Bellefonte, PA). Translasi ini diperlukan karena terdapat perbedaan diameter kolom dan *carrier gas* yang digunakan dalam percobaan dengan literatur. Optimasi metode dilanjutkan dengan pemilihan pelarut, konsentrasi sampel, dan jumlah yang diinjeksi ke GC-MS.

Preparasi sampel yang dilakukan sebelum injeksi adalah pelarutan dan filtrasi dengan mikrofilter. Pelarut yang dibandingkan adalah heptan, metanol, dan isopropanol dengan konsentrasi 0.5, 1.0, dan 2.0 mg/mL pelarut. Volume injeksi yang dibandingkan adalah 0.1, 0.5, 0.7, dan 0.8 μL . Sampel yang digunakan untuk optimasi adalah PFAD.

Metode dinilai optimum apabila dapat menampilkan *peak* dalam PFAD sesuai dengan referensi dengan intensitas *peak* yang dapat meminimalkan munculnya *ghost peak* atau *peak* asing. Dengan metode optimum yang diperoleh, selanjutnya dilakukan injeksi zat standar FAME Mix C4 - C24 dan sampel

biodiesel yang mengandung asam lemak bebas untuk mengetahui hasilnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari translasi metode menggunakan EZGC, diperoleh parameter analisa dan pemanasan oven seperti terlihat pada Tabel 1. Dari metode oven tersebut diperoleh total waktu analisa selama 62.55 menit per sampel. Parameter tersebut akan digunakan pada pengujian sampel selanjutnya.

Tabel 1. Parameter analisa dan metode pemanasan oven

Deskripsi	Metode
Injeksi	<i>Splitless/250 °C</i>
<i>Carrier gas</i>	Helium (<i>constant flow</i>)
<i>Flow control mode</i>	<i>Linear velocity</i>
<i>Column Flow</i>	2.40 mL/min
<i>Linear Velocity</i>	51.7 cm/sec
Suhu oven	40 °C to 250 °C @ 5 °C/min (hold 20.55 min)

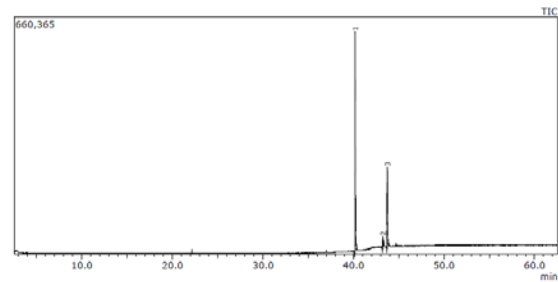
Optimasi konsentrasi sampel pada 0.5, 1.0, dan 2.0 mg/mL dilakukan dengan pelarut heptan, metanol, dan isopropanol pada sampel PFAD. Komponen utama asam lemak penyusun PFAD dibandingkan dengan referensi seperti terdapat pada Tabel 2. Dari tabel tersebut terlihat bahwa komponen terbesar dalam PFAD adalah asam palmitat dan oleat.

Pelarut metanol menunjukkan kromatogram yang lebih baik daripada heptan yang menghasilkan *peak* yang cenderung melebar. Konsentrasi sampel 0.5 mg/mL tidak menunjukkan *peak* karena sampel terlalu encer baik pada injeksi 0.1, 0.5, 0.7, dan 0.8 µL. Oleh karena itu konsentrasi dinaikkan menjadi 1 mg/mL dan 2 mg/mL kemudian dibandingkan.

Tabel 2. Komposisi asam lemak penyusun PFAD (Ping and Yusof, 2009)

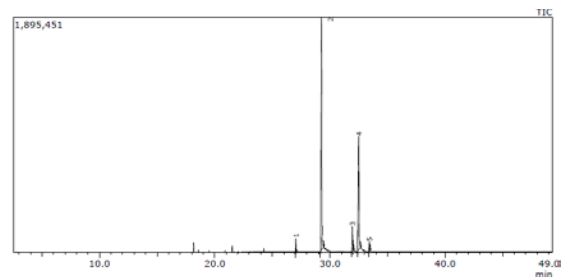
Komponen	Jumlah, % w
Myristat C14:0	0.9 - 1.6
Palmitat C16:0	43.0 - 49.1
Stearat C18:0	4.0 - 4.5
Oleat C18:1	34.7 - 37.2

Linoleat C18:2 8.5 - 9.7



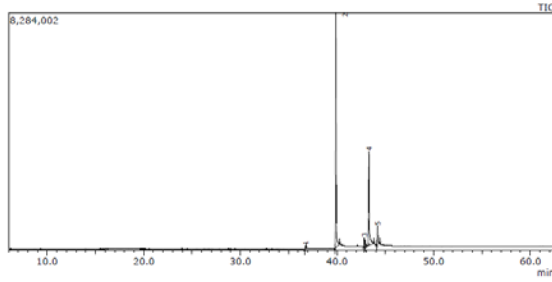
Gambar 1. Hasil analisa GC-MS terhadap PFAD dengan pelarut methanol 1 mg/mL injeksi 0.5 µL

Injeksi 0.1 µL tidak menunjukkan *peak* yang memadai sehingga jumlah injeksi ditingkatkan menjadi 0.5 µL. Gambar 1 menunjukkan hasil analisa GC-MS terhadap PFAD dengan pelarut methanol 1 mg/mL injeksi 0.5 µL. Pada gambar tersebut intensitas *peak* rendah dan hanya nampak 3 *peak*, yaitu asam palmitat, asam stearat, dan asam oleat. Hal ini menunjukkan bahwa sampel masih terlalu encer.

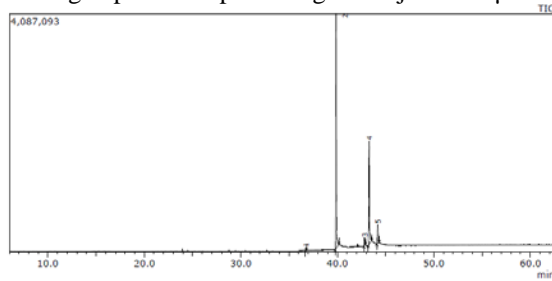


Gambar 2. Hasil analisa GC-MS terhadap PFAD dengan pelarut methanol 2 mg/mL injeksi 0.5 µL

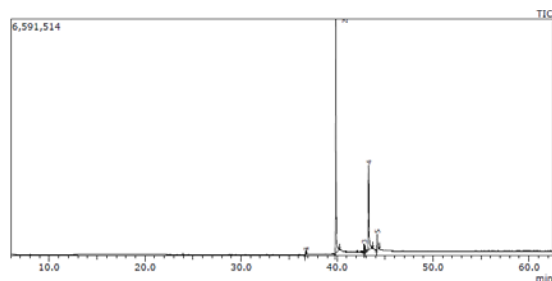
Gambar 2 menunjukkan kromatogram yang dihasilkan oleh analisa sampel dengan pelarut methanol 2 mg/mL dengan injeksi 0.5 µL. Pada gambar tersebut nampak lima *peak* asam lemak akan tetapi terlihat pula *peak* asing selain asam lemak. *Peak* asing ini terlihat karena intensitas *peak* yang masih terlalu rendah yang menyebabkan *peak-peak* kecil menjadi terlihat. Oleh karena itu, jumlah injeksi perlu ditambahkan. Dari perbandingan terhadap injeksi sebanyak 0.7 dan 0.8 µL, pada injeksi 0.8 µL diperoleh intensitas yang optimal dan bersih dari *peak* asing sehingga untuk analisa selanjutnya digunakan jumlah injeksi 0.8 µL.



Gambar 3 Hasil analisa GC-MS terhadap PFAD dengan pelarut heptan 2 mg/mL injeksi 0.8 μ L.



Gambar 4 Hasil analisa GC-MS terhadap PFAD dengan pelarut methanol 2 mg/mL injeksi 0.8 μ L.



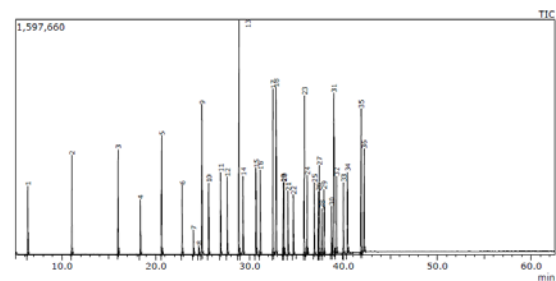
Gambar 5 Hasil analisa GC-MS terhadap PFAD dengan pelarut isopropanol 2 mg/mL injeksi 0.8 μ L.

Kromatogram yang dihasilkan oleh analisa PFAD dengan pelarut heptan 2 mg/mL terdapat pada Gambar 3. Pada gambar tersebut, terlihat 5 buah *peak* asam lemak, yaitu asam miristat, asam palmitat, asam stearat, asam oleat, dan asam linoleat, sesuai dengan referensi pada Tabel 2. Demikian pula pada Gambar 4 yang menggunakan pelarut methanol dan Gambar 5 yang menggunakan pelarut isopropanol, terdapat 5 buah *peak* asam lemak. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa penggunaan konsentrasi 2 mg/mL dengan injeksi 0.8 μ L dapat memberikan hasil kromatogram yang optimal.

Apabila diperbandingkan antara Gambar 3, Gambar 4, dan Gambar 5, terlihat bahwa pelarut isopropanol dapat memisahkan setiap *peak* dengan lebih baik serta tidak terdapat *peak* yang melebar sesuai dengan hasil penelitian Zhang dkk. (2015). Oleh karena itu,

dipilih pelarut isopropanol untuk analisa sampel selanjutnya.

Untuk mengetahui *retention time* metil-metil ester, maka dilakukan analisa terhadap zat standar FAME *mix* C4 - C24 yang hasilnya terlihat pada Gambar 6. Dari Gambar 6 terlihat bahwa masing-masing metil ester dapat terpisah dengan baik dan terbaca dengan jelas identitasnya. Hasil ini digunakan sebagai panduan dalam menentukan metil ester apa saja yang terdapat di dalam sampel. Adapun *retention time* dan jenis metil esternya terdapat pada Tabel 3. Dari tabel tersebut terlihat bahwa metil ester yang muncul dimulai dari Hexanoic acid methyl ester atau C8. Hal ini karena program deteksi MS dimulai sejak menit ke-5 setelah *cut solvent* pada menit ke-5. Akan tetapi dari tabel tersebut telah dapat diketahui *retention time* dari metil-metil ester yang penting dari biodiesel sawit yaitu dari C14:0 (metil miristat) hingga C18:2 (metil linoleat).

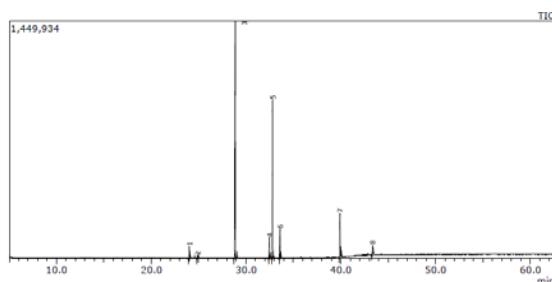


Gambar 6. Hasil analisa GC-MS terhadap zat standar *fatty acid methyl ester (FAME) mix* C4 - C24 dengan pelarut isopropanol 2 mg/mL injeksi 0.8 μ L.

Injeksi sampel biodiesel yang mengandung asam lemak juga dilakukan dengan pelarut isopropanol 2 mg/mL injeksi 0.8 μ L. Kromatogram yang diperoleh terdapat pada Gambar 7. Gambar tersebut menunjukkan bahwa baik *peak* metil ester maupun asam lemak dapat terpisah dan teridentifikasi dengan baik secara bersamaan tanpa melalui metilasi. Adapun persen area dari tiap *peak* terdapat pada Tabel 4. Dari tabel tersebut dapat ditentukan persen area dari metil ester dan asam lemak masing-masing sebesar 89.79% dan 10.21% serta jenis asam lemak yang terdapat di dalamnya yaitu asam palmitat dan asam oleat.

Tabel 3. *Peak Report* dari analisa GC-MS terhadap zat standar FAME mix C4 - C24 dengan pelarut isopropanol.

Retention Time	Nama
6.346	Hexanoic acid, methyl ester
11.047	Octanoic acid, methyl ester
15.977	Decanoic acid, methyl ester
18.341	Undecanoic acid, methyl ester
20.626	Dodecanoic acid, methyl ester
22.804	Tridecanoic acid, methyl ester
24.911	Tetradecanoic acid, methyl ester
25.629	Tetradecenoic acid, methyl ester
26.911	Pentadecanoic acid, methyl ester
27.615	Pentadecenoic acid, methyl ester
28.861	Hexadecanoic acid, methyl ester
29.301	9-Hexadecenoic acid, methyl ester
30.688	Heptadecanoic acid, methyl ester
31.135	Heptadecenoic acid, methyl ester
32.485	Octadecanoic acid, methyl ester
32.816	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester
33.581	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester
33.659	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester
34.673	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester
35.843	Eicosanoic acid, methyl ester
36.142	11-Eicosenoic acid, methyl ester
37.330	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester
37.419	Heneicosanoic acid, methyl ester
38.965	Docosanoic acid, methyl ester
39.270	13-Docosenoic acid, methyl ester
40.434	Tricosanoic acid, methyl ester
41.883	Tetracosanoic acid, methyl ester



Gambar 7. Hasil analisa GC-MS terhadap sampel biodiesel dengan pelarut isopropanol 2 mg/mL injeksi 0.8 µL.

Tabel 4. Hasil analisa GC-MS terhadap sampel biodiesel

No	Nama	%Area
1	Metil miristat	0.37%
2	Metil palmitat	47.43%
3	Metil stearat	3.95%
4	Metil oleat	32.70%
5	Metil linoleat	5.35%
6	Asam palmitat	8.28%
7	Asam oleat	1.93%
		100.00%

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari optimasi metode yang dilakukan, penggunaan pelarut isopropanol dengan metode pemanasan bertahap 5 °C/menit dari suhu 40 – 250 °C pada kolom Stabilwax-DA (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, *polyethylene glycol*) menghasilkan pemisahan kromatogram yang optimal dalam membedakan asam-asam lemak dan metil-metil ester secara simultan di dalam sampel biodiesel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada *Japan Society for Promoting Science* (JSPS) Fellowship Program, JSPS, Jepang dan Program Perekrayaan Teknologi Produksi Biodiesel Sebagai Bahan Bakar Pengganti Solar, BPPT, Indonesia yang telah memberikan dukungan untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Bonnie Tay Yen Ping and Mohtar Yusof, 2009, Characteristic and Properties of Fatty Acid Distillates from Palm Oil, Oil Palm Bulletin, Nov 2009, p.5 – 11.

British Standard, 2003, BS EN 14103 : 2003, Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of ester and linoleic acid methyl ester contents.

Christie, W.W. Mass spectrometry of fatty acid derivatives available online at <http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=39466&navItemNumber=19206> updated Feb 2014 access date 29 September 2015.

- Christie, W.W. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. In: *Advances in Lipid Methodology - Two*, pp. 69-111 (1993) (Ed. W.W. Christie, Oily Press, Dundee).
- Hua, H., Liang, Q., Chen, J., et al., Development of a derivatization – free GC–FID method for evaluation of free fatty acid levels in plasma of diabetic nephro- pathy patients, *Chem.Res.* 27 (4) (2011) 578–583.
- Knothe G. Introduction. In: G. Knothe, J. H. Van Gerpen and J. Krahl editors. *The Biodiesel Handbook*. Champaign, Illinois: AOCS Press 2005. p. 1-3.
- Meng, Z., Wen, D., Sun, D. et al., Rapid determination of C12 – C26 non-derivatized fatty acids in human serum by fast gas chromatography, *J.Sep.Sci.*30 (2007) 1537–1543.
- Mizumoto, M., Shimokita, E., Ona, T., et al., Rapid and direct characterization of total fatty acids in wood by thermo chemolysis – gas chromatography – flame ionization detector/mass spectrometer with tetra butyl ammonium hydroxide, *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 87 (2011)163–167.
- Restek, Fatty Acids (Free) on Stabilwax®-DA (30m, 0.32mm ID, 0.25µm), available on line at http://www.restek.com/chromatogram/view/GC_FF00653 access date 7 April 2015.
- Zhang, H., Wang, Z., Liu, O., Development and validation of a GC–FID method for quantitative analysis of oleic acid and related fatty acids, *Journal of Pharmaceutical Analysis* 5 (2015) 223–230.