

**PENGARUH KONDISI OPERASI DALAM  
REAKSI ESTERIFIKASI-ENZIMATIS GLISEROL  
DENGAN ASAM LAURAT PADA PEMBUATAN  
AGEN PENGEMULSI**

**SKRIPSI**

Oleh

**ALFARIA RIZKI**

**0404060071**



**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA  
GENAP 2008**

**PENGARUH KONDISI OPERASI DALAM  
REAKSI ESTERIFIKASI-ENZIMATIS GLISEROL  
DENGAN ASAM LAURAT PADA PEMBUATAN  
AGEN PENGEMULSI**

**SKRIPSI**

Oleh

**ALFARIA RIZKI**  
**0404060071**



**SKRIPSI INI DIAJUKAN UNTUK MELENGKAPI SEBAGIAN  
PERSYARATAN MENJADI SARJANA TEKNIK**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA  
GENAP 2008**



## **PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI**

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul,

**PENGARUH KONDISI OPERASI DALAM REAKSI ESTERIFIKASI-  
ENZIMATIS GLISEROL DENGAN ASAM LAURAT PADA  
PEMBUATAN AGEN PENGEMULSI**

yang dibuat untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia, sejauh yang saya ketahui bukan merupakan tiruan atau duplikasi dari skripsi yang sudah dipublikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar kesarjanaan di lingkungan Universitas Indonesia maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali bagian yang sumber informasinya dicantumkan sebagaimana mestinya.

Depok, 8 Juli 2008

Alfaria Rizki  
0404060071



## PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

**PENGARUH KONDISI OPERASI DALAM REAKSI ESTERIFIKASI-  
ENZIMATIS GLISEROL DENGAN ASAM LAURAT PADA  
PEMBUATAN AGEN PENGEMULSI**

dibuat untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia dan disetujui untuk diajukan dalam sidang ujian skripsi.

Depok, 26 Juni 2008

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Ir. Rita Arbianti, M.Si

NIP. 131 627 864

Tania Surya Utami, ST, MT

NIP. 132 206 932



## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur bagi Allah SWT, Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, atas segala limpahan berkah dan rahmat-Nya. Alhamdulillah, penulis dapat menyelesaikan makalah skripsi ini tepat waktu. Penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Tania Surya Utami, ST, MT

Ir. Rita Arbianti, M.Si

selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberi pengarahan, diskusi dan bimbingan serta persetujuan sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik. Selain itu, penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Mama dan Papa, orang tua ku tersayang dan kedua adikku, Fifi dan Alif atas semua dukungan yang telah diberikan selama ini.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Widodo W. Purwanto, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI.
3. Seluruh Dosen Departemen Teknik Kimia FTUI atas ilmu yang telah diberikan selama ini.
4. Mas Eko, Pak Min, Kang Jajat, Mas Opik, Mang Ijal, Mas Heri, Mas Mugeni, dan Mas Sri dan atas semua bantuannya selama ini.
5. Wiwik Handayani, teman seperjuangan, teman satu kelompok penelitian. Terima kasih Teman, atas semua motivasi, dukungan serta semangat yang telah diberikan selama ini. Perjuangan kita tidak akan sia-sia.
6. Ira S, Eki, Dani, Moro, dan Desti sebagai teman seperjuangan di dalam satu pembimbing atas segala bantuan, dan diskusi.
7. Esty Maulidyasti, terima kasih atas keceriaanya yang diberikan selama ini. Terima kasih karena telah dengan suka cita menjadi teman dalam suka dan duka.



8. Seluruh teman satu perjuangan, angkatan 2004, angkatan yang sangat spesial dan sangat keren, teman-teman yang sangat aku sayangi, terimakasih telah memberikan motivasi, dukungan dan segala bantuannya selama ini.
9. Dan kepada pihak-pihak lain yang terkait dalam penulisan laporan ini yang belum disebutkan namanya.

Akhir kata, penulis mengakui bahwa makalah skripsi ini belumlah sempurna, baik dari segi isi maupun tata bahasanya. Oleh karena itu, saran dan kritik yang konstruktif sangat penulis harapkan demi perbaikannya.

Depok, 9 Juli 2008

Alfaria Rizki



Alfaria Rizki  
NPM 0404060071  
Departemen Teknik Kimia

Dosen Pembimbing:  
Tania Surya Utami, ST, MT  
Ir. Rita Arbianti, M.Si

**PENGARUH KONDISI OPERASI DALAM REAKSI ESTERIFIKASI-ENZIMATIS GLISEROL DENGAN ASAM LAURAT PADA PEMBUATAN AGEN PENGEMULSI**

**ABSTRAK**

Laju produksi minyak kelapa sawit (*Crude Palm Oil / CPO*) di pasar dunia dalam dua dekade ini terus mengalami peningkatan. Fenomena ini diproyeksikan akan terus terjadi hingga tahun 2020. Salah satu produk diversifikasi CPO yang bernilai ekonomi tinggi adalah fosfatidilkolin yang sering disebut juga sebagai lesitin. Lesitin merupakan suatu agen pengemulsi yang sangat dibutuhkan dalam industri makanan, farmasi, maupun kosmetika.

Untuk dapat bersifat sebagai agen pengemulsi, trigliserida yang terdapat pada CPO diubah menjadi monogliserida dan digliserida. Dalam pembuatan lesitin, diperlukan digliserida yang memiliki rantai asam laurat, yang disebut dengan dilaurin atau *glyceryl dilaurate* melalui reaksi esterifikasi-enzimatis. Reaksi ini berlangsung antara gliserol dengan asam laurat dan katalis enzim lipase. Tujuan dari penelitian ini ialah untuk menentukan kondisi operasi optimum dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase. Reaksi dilakukan pada reaktor batch dengan *magnetic stirrer* pada tekanan atmosferik dan pada temperatur 58°C. Pada reaksi divariasikan waktu reaksi (4 ; 6 ; 9 ; 12 ; 15 ; 24 jam ), perbandingan mol gliserol dengan asam laurat ( 1:3 ; 2:3 ; 3:3 ; 4:3 ; 5:3 ), dan jumlah katalis terhadap substrat ( 0,2% ; 0,4% ; 0,6% ; 0,8% ; 1% ). Produk dianalisis menggunakan GC/MS serta dilakukan uji tegangan permukaan dan uji kestabilan emulsi. Setelah melalui reaksi esterifikasi-enzimatis ini, dilaurin kemudian disintesis lebih lanjut untuk menghasilkan lesitin. Pengetahuan mengenai kondisi operasi optimum pada reaksi esterifikasi-enzimatis jelas akan mempengaruhi dilaurin yang dihasilkan, dimana dilaurin itu sendiri merupakan komponen yang penting dalam pembuatan agen pengemulsi lesitin.

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan waktu reaksi optimum ialah selama 15 jam, perbandingan mol antara gliserol dengan asam laurat optimum ialah 4:3, dan jumlah katalis optimum ialah 1% terhadap berat substrat. Dari analisis menggunakan GC/MS, dapat dibuktikan kandungan produk dilaurin didalam sampel hasil penelitian. Dari uji tegangan permukaan, produk dilaurin tersebut terbukti dapat menurunkan tegangan permukaan air hingga 47 mN/m. Dan berdasarkan uji kestabilan emulsi, produk dilaurin tersebut dapat mengemulsikan campuran minyak dan air selama waktu tertentu.

**Kata kunci : Reaksi Esterifikasi-Enzimatis, CPO, Agen Pengemulsi, Lesitin, Dilaurin, Gliserol-Asam Laurat**



Alfaria Rizki  
NPM 0404060071  
Chemical Engineering Department

Project Supervisor:  
Tania Surya Utami, ST, MT  
Ir. Rita Arbianti, M.Si

**THE EFFECTS OF OPERATION CONDITION IN ESTERIFICATION-ENZYMATIC REACTION BETWEEN GLYCEROL AND LAURIC ACID IN EMULSIFIER SYNTHESIS**

**ABSTRACT**

The flow production of crude palm oil in the world's market in this two decades is increasing. This phenomenon was project still happen until 2002. One of the diversification product of CPO that have economic value is phosphatidilcholine or as people knew as lecithine. Lecithine is an emulsifier that use in food industry, pharmation, or cosmetics.

To be an emulsifier, triglyceride that contain in CPO has to changed as a monoglyceride and diglyceride. In lecithine synthesis, diglyceride that have lauric acid chain (called dilaurin or glyceryl dilaurate) is needed through esterification-enzymatic reaction. This reaction is between glycerol and lauric acid with lipase enzyme as a catalyst. The purpose of this research is to determine optimum operation condition in esterification-enzymatic reaction between glycerol and lauric acid with lipase catalyst. This reaction is work in batch reactor using reflux and magnetic stirrer in atmospheric pressure and temperature of 58°C. The reaction was variated in time (4 ; 6 ; 9 ; 12 ; 15 ; 24 hours), mol ratio of glycerol and lauric acid ( 1:3 ; 2:3 ; 3:3 ; 4:3 ; 5:3 ), and the amounts lipase catalyst of substrate ( 0,2% ; 0,4% ; 0,6% ; 0,8% ; 1% ). GC/MS, surface tension, emulsion stability was used to analyze the product. After esterification-enzymatic reaction, dilaurin is used in lecithine synthesis. The knowledge about optimum operation conditions in esterification-enzymatic reaction will impact the dilaurin that produced absolutely, which dilaurin itself is an important component in lecithine emulsifier synthesis

Based from the result of the research, optimum time reaction is 15 hours, optimum mol ratio of glycerol and lauric acid is 4:3, and optimum amounts lipase catalyst of substrate is 1% (mass). GC/MS proves dilaurin product is contained in sample that produce from the reaction. Surface tension test proves that dilaurin can decrease the surface tension of water until 47 mN/m. And based from emulsion stability test, dilaurin can emulsion oil and water in time given.

**Key words : Esterification-Enzymatic Reaction, CPO, Emulsifier, Lecithine, Dilaurin, Glycerol, Lauric Acid**



## DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	i
PENGESAHAN.....	ii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iii
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 LATAR BELAKANG.....	1
I.2 PERUMUSAN MASALAH.....	2
I.3 TUJUAN PENELITIAN.....	3
I.4 BATASAN MASALAH.....	3
I.5 SISTEMATIKA PENULISAN.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1 CRUDE PALM OIL (CPO).....	5
II.1.1 Trigliserida pada CPO.....	6
II.1.1.1 Asam Lemak.....	6
II.1.1.2 Asam Laurat.....	8
II.1.2 Nontrigliserida pada CPO.....	9
II.2 ESTERIFIKASI.....	9
II.2.1 Proses Esterifikasi-Enzimatis.....	11
II.2.2 Pembuatan Digliserida.....	12
II.3 ENZIM SEBAGAI BIOKATALIS.....	14
II.3.1 Lipase.....	16
II.3.2 Faktor yang Mempengaruhi Aktifitas Lipase.....	18
II.4 LESITIN.....	20
II.4.1 Manfaat Lesitin.....	21
II.4.2 Pembuatan Lesitin.....	22
II.5 AGEN PENGEMULSI.....	23



II.6 TEGANGAN PERMUKAAN (ANTAR MUKA).....	26
II.7 GAS CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY (GC/MS) .....	29
BAB III RANCANGAN PENELITIAN.....	32
III.1 VARIABEL PENELITIAN.....	33
III.2 ALAT DAN BAHAN.....	34
III.3 PROSEDUR PENELITIAN .....	34
III.3.1 Tahap Pembuatan Buffer Phosphate 0,1 M pH 7 .....	34
III.3.2 Tahap Reaksi esterifikasi-enzimatis variasi waktu.....	35
III.3.3 Tahap Reaksi esterifikasi-enzimatis variasi perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat. ....	35
III.3.4 Tahap Reaksi esterifikasi-enzimatis variasi jumlah katalis terhadap substrat.....	36
III.3.5 Tahap Reaksi esterifikasi-enzimatis kondisi optimum .....	37
III.3.6 Tahap Pembuatan Lesitin.....	37
III.3.7 Pengukuran Tegangan Permukaan .....	37
III.3.8 Tahap Uji Emulsi.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	39
IV.1 ANALISIS GC/MS .....	40
IV.2 REAKSI ESTERIFIKASI-ENZIMATIS .....	42
IV.2.1 Pengaruh Waktu dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Gliserol dan Asam Laurat.....	44
IV.2.2 Pengaruh Perbandingan Mol Gliserol dan Asam Laurat dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Gliserol dan Asam Laurat.....	48
IV.2.4 Pengaruh Jumlah Katalis Lipase dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Gliserol dan Asam Laurat.....	50
IV.3 PEMBUATAN LESITIN.....	52
BAB V KESIMPULAN .....	56
DAFTAR PUSTAKA .....	57
LAMPIRAN A .....	60
LAMPIRAN B.....	63
LAMPIRAN C.....	67





## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Komposisi Trigliserida dalam Minyak Kelapa Sawit (Ketaren S., 1986) .....	6
Tabel 2. 2 Sifat Fisik dan Kimis Asam Lemak Bebas [Encyclpd. of Industrial Chem., Vol.6] .....	7
Tabel 2. 3 Mikroba-mikroba penghasil lipase (Pandey,1999) .....	16
Tabel 2. 4 Jenis-jenis agen pengemulsi [ <i>Konvertiert vom Dissertationen Online Team im CCC der Universität Erlangen</i> ] .....	22
Tabel 3. 1 Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian	34
Tabel 4. 1 Uji Kestabilan Emulsi Variasi Waktu.....	67
Tabel 4. 2 Uji Kestabilan Emulsi Variasi Perbandingan Mol antara Gliserol dan Asam Laurat. ....	68
Tabel 4. 3 Uji Kestabilan Emulsi Variasi Jumlah Katalis.....	68



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur trigliserida .....	6
Gambar 2. 2 Struktur kimia asam laurat ( <i>Wikipedia</i> ) .....	8
Gambar 2. 3 Mekanisme reaksi esterifikasi .....	10
Gambar 2. 4 Struktur 1,3 digliserida dan 1,2(2,3) digliserida.....	12
Gambar 2. 5 Mekanisme reaksi esterifikasi gliserol dan asam lemak .....	13
Gambar 2. 6 Struktur lipase 1,3-gliserida (Ward,1985).....	17
Gambar 2. 7 Proses gliserolisis (Hariyadi,2000).....	17
Gambar 2. 8 Struktur lesitin .....	20
Gambar 2. 9 Sistem emulsi minyak dalam air.....	25
Gambar 2. 10 Skema pengukuran tegangan permukaan menggunakan metode cincin (Anonim, 2007) .....	28
Gambar 2. 11 Pengukuran tegangan permukaan dengan menggunakan Metode <i>Wilhelmy Plate</i> (Anonim, 2007).....	28
Gambar 2. 12 Skema Alat GC/MS .....	30
Gambar 3. 1 Alur Sintesis Lesitin dari CPO	32
Gambar 3. 2 Alur Penelitian untuk Mendapatkan Kondisi Optimum dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis .....	33
Gambar 4. 1 Peak Chromatogram sampel Dilaurin t=9 jam	41
Gambar 4. 2 Penurunan Tegangan Permukaan Air (variasi waktu) .....	46
Gambar 4. 3 Stabilitas Emulsi Minyak-Air (variasi waktu).....	47
Gambar 4. 4 Penurunan Tegangan Permukaan Air (variasi perbandingan mol reaktan).....	48
Gambar 4. 5 Stabilitas Emulsi Minyak-Air (variasi perbandingan mol reaktan)..	50
Gambar 4. 6 Pengaruh Jumlah Katalis dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis .....	51
Gambar 4. 7 Stabilitas Emulsi Minyak-Air (variasi jumlah katalis) .....	52
Gambar 4. 8 Tegangan Permukaan Air-Digliserida dari 5 Metode.....	54
Gambar 4. 9 Penurunan Tegangan Permukaan Air-Lesitin .....	55



# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 LATAR BELAKANG

Di pasar dunia, dalam dua dekade terakhir kebutuhan masyarakat terhadap minyak kelapa sawit mentah atau *crude palm oil* (CPO) dan turunannya semakin meningkat, menggeser kedudukan minyak nabati lain, seperti minyak kedelai. Tahun 2005 produksinya mencapai 33.490 ribu ton atau meraih pangsa pasar 23,96 persen. Laju pertumbuhan mencapai 8,44 persen per tahun. Proyeksi pada tahun 2020, permintaan dunia terhadap minyak olahan (agroindustri) kelapa sawit dan turunannya akan meningkat dua kali lipat (Rahmat,2007).

Indonesia sendiri memiliki 5,6 juta hektar lahan kebun sawit dan 11 juta hektar kebun sawit dunia (Suryana,2005). Karena itu peningkatan produksi CPO akan berdampak baik terhadap pendapatan masyarakat Indonesia, khususnya petani kelapa sawit. Hal ini akan tercapai jika peningkatan tersebut disertai dengan upaya peningkatan nilai ekonomis CPO dengan peningkatan daya guna yang menghasilkan produk bernilai ekonomi tinggi.

Salah satu produk diversifikasi CPO yang bernilai ekonomi adalah fosfatidilkolin yang sering disebut lesitin atau *crude lecithin*. Lesitin terdiri dari 60% fosfolipid dan 30% minyak (Kent,2005). Lesitin merupakan suatu agen pengemulsi, yang sangat dibutuhkan dalam industri makanan, farmasi maupun kosmetika. Karena bahan baku agen pengemulsi ini berasal dari bahan baku nabati, maka memiliki keunggulan tersendiri bila dibandingkan agen pengemulsi yang bahan bakunya berasal dari bahan baku petrokimia. Alasannya ialah agen pengemulsi yang terbuat dari bahan baku nabati bersifat mudah terurai secara biologi (*biodegradable*) sehingga lebih aman untuk dikonsumsi. Selain itu, kesinambungan pengadaannya terjamin karena minyak nabati merupakan sumber daya alam yang dapat diperbarui.

Untuk dapat bersifat agen pengemulsi, trigliserida yang merupakan komponen utama penyusun kelapa sawit diubah menjadi monogliserida dan digliserida. Dengan reaksi hidrolisis, trigliserida dipecah menjadi gliserol



(digliserida) dan asam lemak (asam laurat). Dalam pembuatan lesitin, diperlukan digliserida yang memiliki rantai asam laurat, yang disebut dengan dilaurin atau *glyceryl dilaurate* melalui reaksi esterifikasi-enzimatis. Reaksi ini berlangsung antara gliserol dan asam laurat dengan katalis enzim *Mucor miehei* lipase. Setelah melalui reaksi esterifikasi-enzimatis ini, dilaurin kemudian disintesis lebih lanjut sehingga menghasilkan lesitin (Han & Ree, 1998).

Pembuatan lesitin secara enzimatik sudah banyak yang dilaporkan. Pada pembuatan lesitin dengan katalis lipase dalam pelarut etanol, reaksi dilakukan dalam *packed-column bioreactor* dan konversi 95% didapatkan setelah 1180 jam (Sarney et al, 1994).

Pada tahun 1992 Berger dkk. mensintesis digliserida dari hasil esterifikasi gliserol dan asam lemak dengan bantuan enzim lipase yang berasal dari *Rhizomucor miehei*, *Rhizopus delemar*, dan *Chromabacterium viscosum*. Reaksi tersebut berlangsung dalam suhu ruang dan menghasilkan *yield* rata-rata yang cukup tinggi yaitu mencapai >80%. *Yield* paling besar dihasilkan menggunakan lipase yang berasal dari *Rhizomucor Miehei* dimana dihasilkan *yield* konversi digliserida mencapai 85%.

Dalam reaksi pembuatan lesitin, kondisi pada reaksi esterifikasi-enzimatis memegang peranan yang sangat penting. Melalui reaksi ini dihasilkan digliserida yang digunakan sebagai bahan baku lesitin. Terdapat tiga variabel yang dapat divariasikan pada kondisi tersebut, yaitu waktu reaksi, perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat, dan perbandingan antara jumlah substrat dan jumlah katalis (enzim). Pengetahuan mengenai kondisi operasi optimum pada reaksi enzimatik jelas akan mempengaruhi dilaurin yang dihasilkan, dimana dilaurin itu sendiri merupakan komponen yang penting dalam agen pengemulsi lesitin.

## **I.2 PERUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah untuk menentukan kondisi operasi optimum dalam reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase dalam menghasilkan dilaurin yang merupakan komponen penting dalam pembuatan agen pengemulsi lesitin. Agen pengemulsi lesitin ini yang merupakan produk yang digunakan dalam industri makanan, kosmetik, serta farmasi.



### **I.3 TUJUAN PENELITIAN**

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan pengaruh waktu reaksi terhadap dilaurin yang dihasilkan dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat.
2. Menentukan pengaruh perbandingan mol gliserol dan asam laurat terhadap dilaurin yang dihasilkan dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat.
3. Menentukan pengaruh variasi jumlah katalis terhadap dilaurin yang dihasilkan dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat.

### **I.4 BATASAN MASALAH**

Dalam penelitian ini dilakukan beberapa pembatasan yang berupa pembatasan peralatan, komponen dan kondisi operasi keadaan seperti berikut:

1. Penelitian difokuskan pada reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat untuk menghasilkan produk dilaurin.
2. Reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat dilakukan pada reaktor *batch*.
3. Produk digliserida yang digunakan untuk pembuatan lesitin diperoleh dari reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dengan asam laurat dan katalis enzim lipase.
4. Dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dengan asam laurat digunakan katalis enzim *Mucor miehei* lipase.

### **I.5 SISTEMATIKA PENULISAN**

Makalah skripsi ini ditulis berdasarkan sistematika sebagai berikut:

#### **BAB I PENDAHULUAN**

Berisi tentang latar belakang penelitian, rumusan masalah, tujuan penelitian, pembatasan masalah, dan sistematika penulisan skripsi .

#### **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

Bab ini menjelaskan berbagai informasi yang didapatkan dari berbagai pustaka mengenai *Crude Palm Oil* (CPO), esterifikasi, enzim sebagai biokatalis, lesitin, agen pengemulsi, tegangan permukaan, *Gas Chromatography* (GC/MS).



### BAB III METODOLOGI PENELITIAN

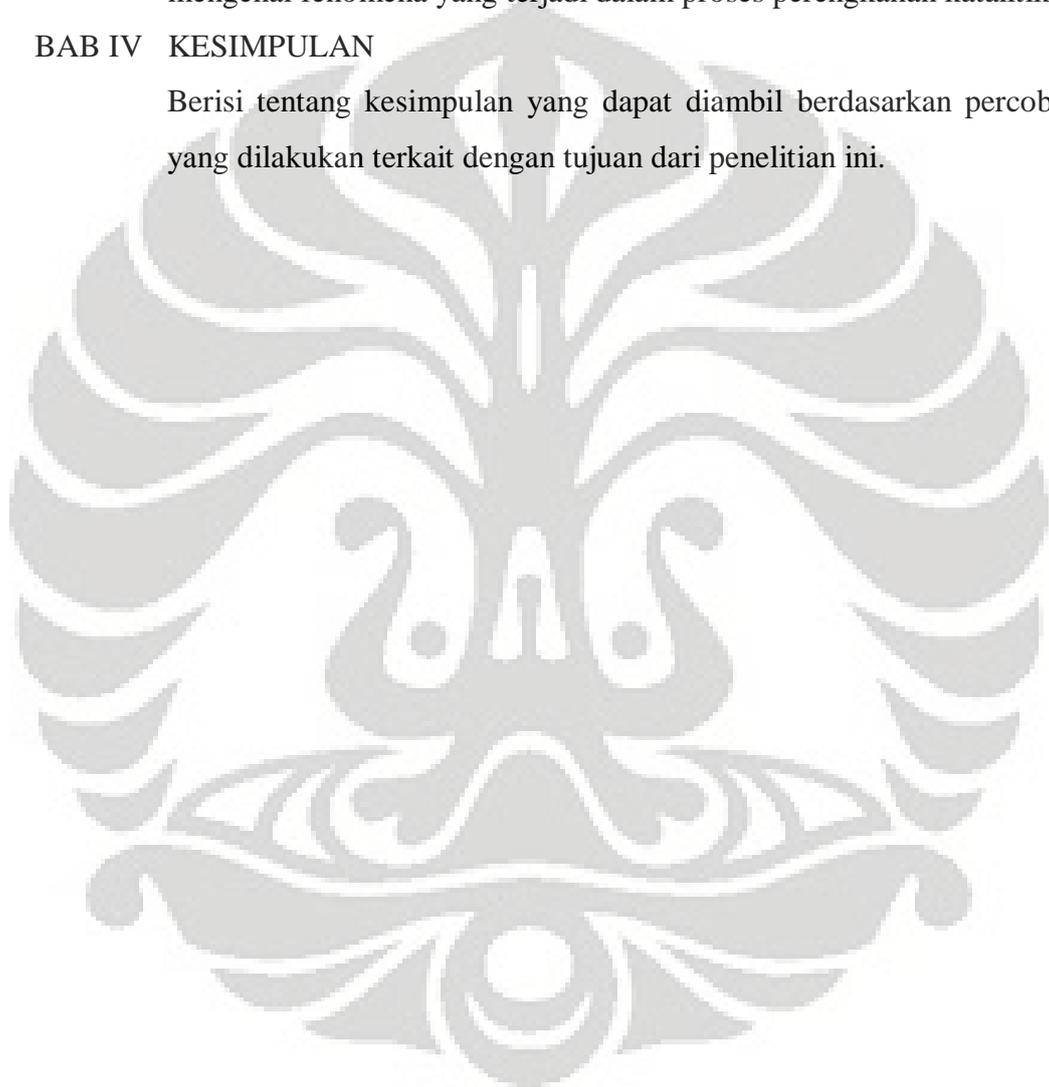
Berisi tentang tahapan-tahapan pelaksanaan penelitian, alat dan bahan yang digunakan, analisa produk, dan pengolahan data.

### BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Berisi tentang penyajian data penelitian yang diperoleh, analisis kecenderungan pada berbagai variasi variabel bebas, dan pembahasan mengenai fenomena yang terjadi dalam proses perengkahan katalitik.

### BAB IV KESIMPULAN

Berisi tentang kesimpulan yang dapat diambil berdasarkan percobaan yang dilakukan terkait dengan tujuan dari penelitian ini.





## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 CRUDE PALM OIL (CPO)

Minyak kelapa sawit sering disebut sebagai CPO yang merupakan singkatan dari *Crude Palm Oil*. Kelapa sawit merupakan *monocotyledoneae* yang termasuk genus *Elaeis*. Genus *Elaeis* terdiri atas dua spesies, yaitu *E. Guineensis* dan *E. Oleifera*. Memiliki nama binomial *Elaeis jacq.* Bunga dan buahnya berupa tandan dan bercabang banyak. Bagian buahnya terdiri atas tiga lapisan yaitu:

1. *Eksokarp* : bagian kulit buah yang berwarna kemerahan dan licin
2. *Mesokarp*: bagian serabut buah
3. *Endokarp* : bagian cangkang pelindung inti

Minyak yang dihasilkan dari spesies *Elaeis* terdiri dari dua tipe. Minyak yang biasa kita sebut *Palm Oil* atau CPO adalah minyak yang diambil dari *mesocarp* kelapa sawit. Minyak ini digunakan terutama untuk tujuan pangan. Tipe kedua adalah *Palm Kernel Oil*, yaitu minyak yang diambil dari bagian *kernel* atau lazim disebut minyak inti sawit. Pengambilan CPO dan minyak inti sawit dari buah kelapa sawit dilakukan dengan ekstraksi. Dalam proses ekstraksi, dari sebuah kelapa sawit dapat dihasilkan 59% CPO dan 4% minyak inti sawit (Pasaribu,2004).

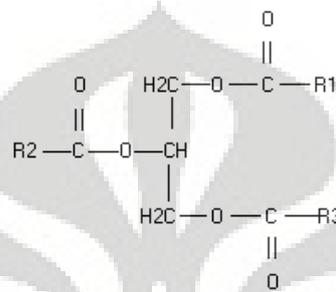
Di dalam buah terdapat inti sawit (*kernel*). Inti sawit merupakan endosperm dan embrio dengan kandungan minyak inti berkualitas tinggi. *Mesokarp* mengandung kadar minyak rata-rata sebanyak 56%, inti mengandung minyak sebesar 44%, dan *endokarp* tidak mengandung minyak (Pasaribu,2004).

CPO seperti umumnya minyak nabati lainnya merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, dengan komponen penyusunnya adalah trigliserida dan nontrigliserida (Suryana,2005).



### II.1.1 Trigliserida pada CPO

Seperti halnya lemak dan minyak lainnya, minyak kelapa sawit terdiri atas trigliserida yang merupakan ester dari gliserol dengan tiga molekul asam lemak dengan struktur molekul (Karmee,2006) seperti ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2. 1 Struktur trigliserida

Bila  $R1 = R2 = R3$  atau ketiga asam lemak penyusunnya sama maka trigliserida ini disebut trigliserida sederhana dan apabila salah satu atau lebih asam lemak penyusunnya tidak sama maka disebut trigliserida campuran. Adapun komposisi trigliserida dalam minyak kelapa sawit ialah sebagai berikut.

Tabel 2. 1 Komposisi Trigliserida dalam Minyak Kelapa Sawit (Ketaren S., 1986)

Trigliserida	Jumlah (%)
<i>Tripalmitin</i>	3 - 5
<i>Dipalmito - Stearin</i>	1 - 3
<i>Oleo - Miristopalmitin</i>	0 - 5
<i>Oleo - Dipalmitin</i>	21 - 43
<i>Oleo - Palmitostearin</i>	10 - 11
<i>Palmito - Diolein</i>	32 - 48
<i>Stearo - Diolein</i>	0 - 6
<i>Linoleo - Diolein</i>	3 - 12

#### II.1.1.1 Asam Lemak

Asam lemak adalah asam karboksilat yang diperoleh dari hidrolisis suatu lemak atau minyak. Hampir semua asam lemak yang terdapat di alam memiliki rantai hidrokarbon panjang dan tidak bercabang dengan jumlah atom karbon yang genap karena asam ini dibiosintesis dari gugus asetil berkarbon dua dalam asetil koenzim A. Asam-asam lemak mempunyai jumlah atom C



genap dari C<sub>2</sub> sampai C<sub>30</sub> dan ditemukan dalam bentuk bebas atau ester dengan gliserol. Rantai hidrokarbon dalam suatu asam lemak dapat bersifat jenuh atau dapat pula bersifat tak jenuh. Asam-asam lemak dengan lebih dari satu ikatan rangkap adalah tidak lazim, terutama dalam minyak nabati. Minyak-minyak ini disebut *polyunsaturates* (Tarigan,2002).

Karakteristik asam lemak yang terkandung dalam minyak kelapa sawit dan minyak inti sawit menunjukkan perbedaan. Asam lemak yang paling banyak terkandung dalam minyak kelapa sawit adalah asam lemak dengan rantai karbon panjang, yaitu C<sub>16</sub>-C<sub>18</sub> (atom karbon 16-18). Sedangkan asam lemak terbanyak dalam minyak inti sawit adalah asam lemak dengan rantai karbon C<sub>12</sub>-C<sub>14</sub> (Ketaren,1986).

Deskripsi singkat untuk sebuah molekul asam lemak adalah dengan menyatakan jumlah atom karbon dan ikatan rangkap yang dimilikinya (misalnya C<sub>18</sub>:0 atau C<sub>18</sub>:1). C<sub>18</sub>:0 berarti rantai karbon dalam asam lemak tersebut terdiri dari 18 atom karbon dan tidak mengandung (nol) ikatan rangkap di dalamnya. Sementara, C<sub>18</sub>:1 menggambarkan rantai karbon 18 dengan satu buah ikatan rangkap di dalamnya. Masing-masing ikatan rangkap dapat berupa konformasi *cis*- maupun *trans*- dan berada pada posisi yang berbeda dilihat dari karbon terminalnya. Karena itu, tidak semua C<sub>18</sub>:1, misalnya, bersifat identik (Fessenden,1990). Contoh asam lemak beserta karakteristik sifat fisiknya dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2. 2 Sifat Fisik dan Kimis Asam Lemak Bebas [Encyclpd. of Industrial Chem., Vol.6]

Nama IUPAC	Komposisi dalam CPO %	Nama Komersil	Rumus Molekul	Berat Molekul	Titik Leleh(°C)	Titik Didih(°C)
Dekanoat	-	As. Kaprat	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	172.27	31.3	270
Dodekanoat	0,1 – 0,3	As. Laurat	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	186.28	44.0	298
Tetradekanoat	1,1 – 2,5	As. Miristat	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	228.38	54.4	191.4
Hexadekanoat	-	As. Asetat	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256.43	62.9	210.6
Heptadekanoat	-	As. Margarat	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270.46	61.3	219.7
Oktadekanoat	3,6 – 4,7	As. Stearat	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284.49	69.6	228.7
(Z)-9-oktadekanoat	30 - 40	As. Oleat	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282.47	13.4	223
(Z,Z)-9,12-oktadekadienoat	7 - 11	As. Linoleat	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	280.45	-5	224
(Z,Z,Z)-9,12,15-oktadekatrienoat	7 - 11	As. Linolenat	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	278.44	-11	245



Penggolongan asam lemak lebih jauh lagi dapat dilakukan dengan esterifikasi, yang menghasilkan metil ester atau etil ester, dan diikuti dengan fraksinasi. Fraksinasi bisa dilakukan dengan kromatografi gas, kromatografi lapisan tipis (*Thin Layer Chromatography*), atau menggunakan spektrofotometer dengan sinar inframerah. Dari penelitian dengan sinar infra merah, diperoleh bahwa ikatan *cis* lebih sering terdapat pada ikatan rangkap dalam asam lemak daripada ikatan *trans*. Isomer *trans* dapat terbentuk dalam keadaan panas hidrogenasi, atau karena katalis lain. Pada umumnya, asam lemak tersebut disebut dengan *trans fatty acid*.

#### II.1.1.2 Asam Laurat

Asam laurat pertama kali ditemukan oleh Marson T. pada biji-bijian *lauraceae* pada tahun 1849. Asam laurat memiliki rumus  $C_{12}H_{24}O_2$ . Adapun struktur kimia dari asam laurat dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2. 2 Struktur kimia asam laurat (*Wikipedia*)

Asam laurat atau asam dodekanoat adalah asam lemak jenuh berantai sedang (Ing. *middle-chained fatty acid*, MCFA) yang tersusun dari 12 atom C. Sumber utama asam lemak ini adalah minyak kelapa, yang dapat mengandung 50% asam laurat, serta minyak biji sawit (*palm kernel oil*). Sumber lain adalah susu sapi.

Asam laurat memiliki titik lebur  $44^{\circ}C$  dan titik didih  $225^{\circ}C$  sehingga pada suhu ruang berwujud padatan berwarna putih, dan mudah mencair jika dipanaskan. Berat molekul  $200,3 \text{ g.mol}^{-1}$ . Asam ini larut dalam pelarut polar, misalnya air, juga larut dalam lemak karena gugus hidrokarbon (metil) di satu ujung dan gugus karboksil di ujung lain (Schuchardt,1997). Perilaku ini dimanfaatkan oleh industri pencuci, misalnya pada sampo. Natrium laurilsulfat adalah turunan yang paling sering dipakai dalam industri sabun dan sampo. Pada industri kosmetik, asam laurat ini berfungsi sebagai pengental, pelembab dan pelembut.



Asam laurat termasuk salah satu asam lemak rantai jenuh (*saturated fatty acid*). Asam laurat memiliki dua belas atom karbon. Hal inilah yang turut menggolongkan asam laurat dalam kategori asam lemak berantai sedang atau *Medium Chain Fatty Acids* (MCFA) (Schuchardt,2002). Selain pada minyak kelapa, kandungan terbesar asam laurat terdapat pada biji-bijian *Lauraceae* dan pada Air Susu Ibu (ASI). Secara luas, asam laurat bebas banyak digunakan dalam pembuatan *defoaming agent*, kosmetik, insektisida dan zat aditif pada makanan.

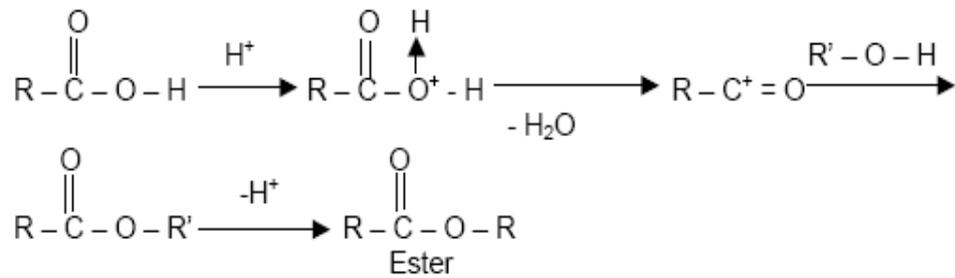
### **II.1.2 Nontrigliserida pada CPO**

Selain trigliserida masih terdapat senyawa nontrigliserida dalam jumlah kecil. Senyawa ini antara lain ialah monogliserida, digliserida, fosfatida, karbohidrat, turunan karbohidrat, protein, beberapa mesin dan bahan-bahan berlendir atau getah (*gum*) serta zat-zat berwarna yang memberikan warna serta rasa dan bau yang tidak diinginkan.

## **II.2 ESTERIFIKASI**

Di alam, ester asam lemak terdapat dalam bentuk ester antara gliserol dengan asam lemak ataupun bentuk ester dengan gugus hidroksilnya yang teresterkan dengan fosfat seperti pada *phospholipid*. Di samping itu terdapat pula ester antara asam lemak dengan alkoholnya yang membentuk monoester. Ester asam lemak dapat dimodifikasi baik untuk bahan makan maupun untuk bahan surfaktan, aditif, detergen dan lain sebagainya. Modifikasi ester asam lemak ini dapat dilakukan dengan menggunakan reaksi esterifikasi.

Esterifikasi merupakan suatu reaksi ionik, gabungan reaksi adisi dan reaksi penataan ulang eliminasi (Tarigan mengutip Davidek,1990).



Gambar 2. 3 Mekanisme reaksi esterifikasi

Esterifikasi asam-asam lemak dengan gliserol telah dikenal sejak 1844 dimana Pelouze dan Getis menggunakan asam butirat. Reaksi esterifikasi kimia sederhana dapat dilakukan pada suhu tinggi tanpa menggunakan katalis dan pada suhu yang lebih rendah dilakukan dengan katalis. Katalis asam seperti benzene dan asam toluenasulfonat (*toluenesulfonic acid*) dianggap akan memberi hasil paling cepat dengan mengeluarkan air yang terbentuk secara azeotrop. Kecepatan reaksi tergantung pada jenis asam dan alkohol yang digunakan (Willis dkk,1998).

Produk ester yang dihasilkan selama esterifikasi tergantung pada perbandingan asam dan alkohol. Untuk gliserida yang diesterifikasi sebagian digunakan jumlah stoikiometri <3:1 antara asam lemak dan gliserol. Produk kasar yang diperoleh merupakan campuran dari asam-asam lemak dan gliserol yang tidak bereaksi, monogliserida, digliserida (1,2- dan 1,3-) dan trigliserida. Asam-asam lemak dapat dikeluarkan dari campuran dengan penyabunan (*saponification*) dan gliserol dihilangkan dengan pencucian dengan larutan garam atau air sehingga akan diperoleh campuran monoasilgliserol, diasilgliserol dan triasilgliserol.

Ada dua metode yang digunakan dalam esterifikasi yaitu proses *batch* dan proses kontinyu. Proses esterifikasi berlangsung pada suhu 200-250°C. Pada reaksi kesetimbangan, air dipindahkan secara kontinyu untuk menghasilkan ester. Esterifikasi proses kontinyu lebih baik daripada proses *batch*. Dengan hasil yang sama, proses kontinyu membutuhkan waktu yang lebih singkat. Proses esterifikasi merupakan proses yang cenderung digunakan dalam produksi ester dari asam lemak spesifik.



Gros dan Feuge melakukan esterifikasi asam laurat dengan gliserol. katalis asam p-TSA pada suhu 100°C dengan asetonitril sebagai zat azeotrop dan lama reaksi 6 jam menghasilkan 70,8% monoasilgliserol, 29,0% diasilgliserol dan 0,2% triasilgliserol yang diperoleh dengan pemisahan kromatografi kolom (Sontag,1982).

## II.2.1 Proses Esterifikasi-Enzimatis

Proses esterifikasi sering pula dilakukan dengan bantuan enzim sebagai katalis dengan tujuan untuk mengoptimalkan atau mempercepat laju reaksi tersebut. Laju reaksi esterifikasi sangat dipengaruhi oleh struktur molekul reaktan dan radikal yang terbentuk dalam senyawa antara. Data tentang laju reaksi serta mekanismenya disusun berdasarkan karakter kinetiknya, sedangkan data tentang perkembangan reaksi dinyatakan sebagai konstanta kesetimbangan. Secara umum laju reaksi esterifikasi mempunyai sifat sebagai berikut:

1. Alkohol primer bereaksi paling cepat, disusul alkohol sekunder, dan paling lambat alkohol tersier.
2. Ikatan rangkap memperlambat reaksi.
3. Asam aromatik (benzoat dan p-toluat) bereaksi lambat, tetapi mempunyai batas konversi yang tinggi.
4. Makin panjang rantai alkohol, cenderung mempercepat reaksi atau tidak terlalu berpengaruh terhadap laju reaksi.

Sistem pemroses yang dirancang untuk menyelesaikan reaksi esterifikasi dikehendaki untuk sedapat mungkin mencapai 100%. Oleh karena itu reaksi esterifikasi merupakan kesetimbangan, maka konversi sempurna tidak mungkin tercapai, dan sesuai informasi yang ada konversi yang dapat dicapai hanya sampai 98%. Nilai konversi yang tinggi dapat dicapai dengan eksese reaktan yang besar.

Esterifikasi secara enzimatis juga dilakukan untuk menghasilkan 1,3 digliserida (Berger dkk,1992). Esterifikasi asam lemak stearat atau palmitat dengan gliserol menggunakan katalis p-TSA dapat menghasilkan 1,3 - digliserida sebanyak 12% yang diperoleh dengan pemurnian secara kristalisasi (Elisabettini dkk,1998). Digliserida akan mengalami isomerisasi dalam pelarut

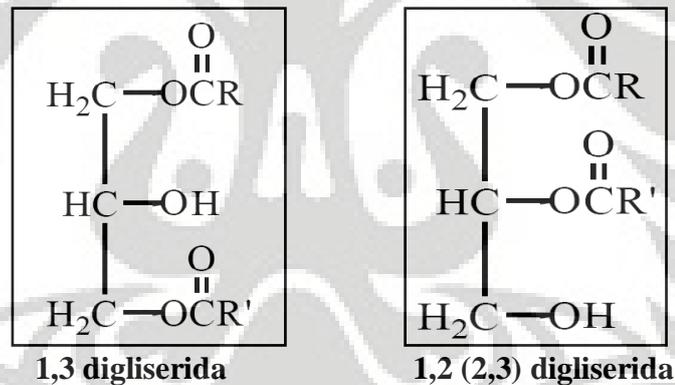


inert atau dalam keadaan kering walaupun pada suhu rendah, sehingga bila akan digunakan dalam suatu sintesa atau untuk penggunaan biosintesa harus secepat mungkin setelah pembuatannya (Christie,1982).

Esterifikasi secara kimia antara asam dan gliserol, alkohol lainnya atau gliserida partial merupakan metode untuk memasukkan (inkorporasi) asam-asam lemak untuk membentuk trigliserida baru (Willis dkk,1998). Secara industri, esterifikasi dengan bantuan enzim telah dilakukan untuk pembuatan trigliserida dan turunannya sebagai pewangi makanan (*flavorings*) dalam parfum (*fragrances*), *plastisizer* dan *agen pengemulsi* (Wiseman,1983).

## II.2.2 Pembuatan Digliserida

Digliserida merupakan suatu komponen yang terdiri dari gabungan gliserol (1,2,3-trihydroxypropane) dan dua asam lemak yang membentuk dua gugus ester. Digliserida ini memiliki dua bentuk 1,3 digliserida dan 1,2(2,3) digliserida (Gambar 2.4).



Gambar 2. 4 Struktur 1,3 digliserida dan 1,2(2,3) digliserida

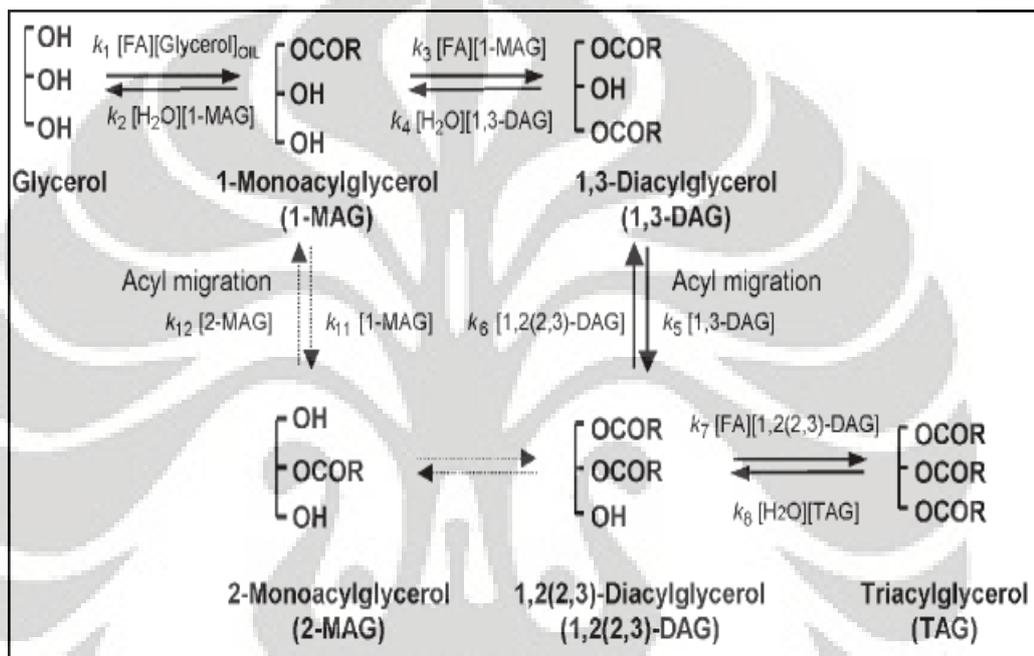
Untuk mendapatkan digliserida ada tiga metode yang dapat dilakukan yaitu:

1. Hidrolisis dari triolein
2. Gliserolisis dari trigliserida
3. Esterifikasi asam lemak dan gliserol

Pada penelitian ini digunakan metode nomor tiga yaitu esterifikasi gliserol dan asam lemak dengan katalis lipase. Hal ini dikarenakan dengan menggunakan metode ini kita mendapatkan digliserida dengan gugus asil



(asam laurat) yang kita kehendaki. Digliserida dengan rantai asam laurat dinamakan dilaurin atau *glyceryl dilaurate*. Reaksi esterifikasi ini merupakan reaksi reversibel yang akan menghasilkan digliserida sebagai produk utama dan air. Terbentuknya air disini dapat mengurangi laju konversi digliserida, karena dengan semakin terakumulasinya air pada reaksi, maka reaksi akan berjalan sebaliknya dan hal ini dapat mengurangi *yield* dari digliserida yang terbentuk. Mekanisme reaksi lebih jelas terlihat pada gambar 2.5.



Gambar 2. 5 Mekanisme reaksi esterifikasi gliserol dan asam lemak

Sudah banyak penelitian yang dilakukan untuk memproduksi digliserida baik melalui jalur enzimatik ataupun non enzimatik. Sonntag (2002) mensintesa digliserida dengan gliserolisis metil ester dengan suhu yang cukup tinggi (220-260° C) ia menggunakan katalis basa seperti natrium, potasium, atau kalsium hidroksida. Hasil yang diperoleh masih dibawah harapan, didapatkan *yield* dan kemurnian produk yang rendah.

Seiring dengan makin berkembangnya teknologi enzim, maka pada tahun 1992 Berger dkk mensintesis digliserida dengan bantuan enzim lipase yang berasal dari *Rhizomucor miehei*, *Rhizopus delemar*, dan *Chromabacterium viscosum*. Reaksi tersebut berlangsung dalam suhu ruang dan menghasilkan *yield* rata-rata yang cukup tinggi yaitu mencapai >80%. Dengan *yield* paling



besar dihasilkan menggunakan lipase yang berasal dari *Rhizomucor miehei* dengan donor asil berasal dari Vinil laurat dimana dihasilkan *yield* konversi digliserida mencapai 85%.

Enzim lipase yang terbukti dapat menjadi katalis reaksi esterifikasi bisa berasal dari berbagai mikroorganisme. Dan jenis-jenis mikroorganisme ini menghasilkan lipase dengan karakteristik yang berbeda untuk reaksi tertentu. Oleh sebab itu pada tahun 2005, Kristensen dkk melakukan *screening* terhadap enam lipase komersial yang tersedia di pasaran lipase tersebut yaitu lipase yang berasal dari *Pseudomonas cepacia*, *P. Fluorences*, *Rhizopus oryzae*, *Candida antartica*, *Thermomyces lanuginosa*, dan *Rhizomucor miehei*. Dari penelitian yang mereka lakukan didapatkan bahwa lipase yang berasal dari *Rhizomucor miehei* dan *Thermomyces lanuginosa* menghasilkan *yield* digliserida yang terbaik.

### II.3 ENZIM SEBAGAI BIODIAGNOSIS

Enzim merupakan protein yang mempunyai fungsi spesifik sebagai katalis yang efektif, mempunyai spesifitas yang tinggi terhadap substrat dan hanya mengkatalisis jenis reaksi tertentu. Di dalam reaksi enzimatik, substrat berikatan dengan konfigurasi tertentu pada lokasi spesifik pada permukaan enzim membentuk kompleks enzim-substrat. Jenis ikatan pada enzim-substrat dapat berupa ikatan ionik, ikatan kovalen atau interaksi hidrofobik antara gugus fungsi substrat dan gugus fungsi aminiasil dari enzim (Cunningham, 1978).

Enzim disintesis oleh sel biologi pada semua organisme dan terlibat dalam reaksi kimiawi yang berhubungan dengan metabolisme. Enzim merupakan kumpulan protein dengan ukuran partikel yang beragam. Struktur protein ditentukan oleh susunan asam amino. Molekul enzim terdiri dari dua atau lebih rantai peptida yang tersusun dalam struktur kuartener.

Enzim dapat diisolasi dari hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme. Dalam skala industri, enzim yang berasal dari mikroorganisme lebih sering digunakan (Kumar, 1983) karena:

- a) Mikroorganisme dapat tumbuh pada berbagai macam substrat, tanpa membutuhkan tempat yang luas seperti halnya tumbuhan.



- b) Pertumbuhan mikroorganisme sangat cepat dibandingkan hewan dan tumbuhan, sehingga enzim dapat diperoleh dalam waktu yang relatif singkat.
- c) Satu kilogram biomassa mikroorganisme sudah dapat menghasilkan 1 g enzim murni, sedangkan materi tumbuhan dan jaringan hewan membutuhkan masing-masing 1000 kg dan 10 kg.
- d) Sistem genetik dari mikroorganisme lebih sederhana dibandingkan hewan dan tumbuhan, sehingga dapat dimanipulasi untuk meningkatkan produksi enzim yang diinginkan.

Penggunaan enzim sebagai biokatalis mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan dengan katalis kimia (Faber, 1992 ; Champe & Harvey, 1994).

- a) Enzim adalah katalis yang efisien, mampu mempercepat reaksi  $10^{10} - 10^{12}$  lebih cepat dibandingkan dengan reaksi non enzimatik dan setiap molekul enzim mampu mengubah 100 – 1000 molekul substrat menjadi produk setiap detik.
- b) Enzim ramah lingkungan.
- c) Enzim bereaksi pada kondisi lunak.

Disamping itu, ada beberapa kelemahan yang perlu diperhatikan oleh pemakai biokatalis, antara lain :

- a) Enzim membutuhkan parameter operasi yang sempit. Perubahan temperatur dan pH hanya dapat dilakukan pada kisaran yang sempit. Perubahan temperatur yang ekstrim dapat menyebabkan deaktivasi protein enzim.
- b) Enzim larut dalam air dan memperlihatkan aktifitas katalitik tertinggi di dalam larutan berair, sehingga perlu dicari kondisi reaksi yang tepat untuk senyawa organik yang sukar larut dalam air.
- c) Enzim cenderung ke fenomena inhibisi.

Enzim intraseluler atau endoenzim adalah enzim yang dipakai untuk proses-proses sintesa di dalam sel dan untuk proses penghasilan energi. Enzim ekstraseluler atau eksoenzim berfungsi menghidrolisis senyawa organik dengan berat molekul tinggi menjadi senyawa organik dengan berat molekul



yang lebih sederhana, sehingga dapat melalui membran sel dan dapat digunakan sebagai materi makanan (Frobisher,1974).

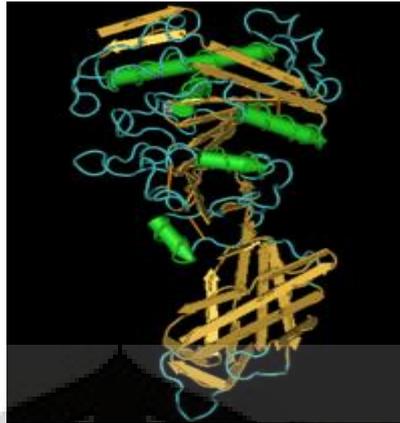
Enzim mikroorganisme yang banyak digunakan dalam industri umumnya merupakan enzim ekstraseluler, karena lebih mudah diisolasi dibandingkan enzim intraseluler. Metode untuk mengisolasi enzim intraseluler lebih rumit karena sel harus dilisiskan terlebih dahulu (Kumar,1983). Jenis-jenis mikroba penghasil lipase dilihat pada Tabel 2.3

Tabel 2. 3 Mikroba-mikroba penghasil lipase (Pandey,1999)

<i>Achromobacter</i> sp.	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Protaminobacter alboblavirus</i>
<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Flavobacterium ferruginem</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
<i>A. calcoaceticus</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Alcaligenes</i> sp.	<i>Glomus versiforme</i>	<i>P. cepacia</i>
<i>A. denitrificans</i>	<i>Hansenula anomala</i>	<i>P. fluorescens</i>
<i>Arthrobacter</i> sp.	<i>Humicola lanuginosa</i>	<i>P. fragi</i>
<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Microthrix parvicella</i>	<i>P. pseudoalcaligenes</i>
<i>A. niger</i>	<i>Mycobacterium chelonae</i>	<i>Rhizopus</i> sp.
<i>A. oryzae</i>	<i>Mucor javanicus</i>	<i>R. arrhizus</i>
<i>Bacillus laterosporus</i>	<i>M. miehei</i>	<i>Rhizomucor miehei</i>
<i>B. sphericus</i>	<i>Neurospora sitophila</i>	<i>R. delemere</i>
<i>B. thermocatenulatus</i>	<i>Nocardia amarae</i>	<i>R. javanicus</i>
<i>B. thiaminolyticus</i>	<i>Penicillium camembertii</i>	<i>R. oligospora</i>
<i>Candida</i> sp.	<i>P. candidum</i>	<i>R. nigricans</i>
<i>C. antarctica</i>	<i>P. citrinum</i>	<i>R. oryzae</i>
<i>C. cylindracea</i>	<i>P. cyclopium</i>	<i>Rhodococcus rubra</i>
<i>C. lipolytica</i>	<i>P. expansum</i>	<i>S. warneri</i>
<i>C. rugosa</i>	<i>P. roquefortii</i>	<i>S. xylosum</i>
<i>C. viscosum</i>	<i>P. simplicissimum</i>	<i>Streptomyces</i> sp.
<i>Chromobacterium</i> sp	<i>P. solitum</i>	<i>Ustilago maydis</i>
<i>Coelomyces</i>	<i>P. urticae</i>	<i>Yarrowia lipolyti</i>

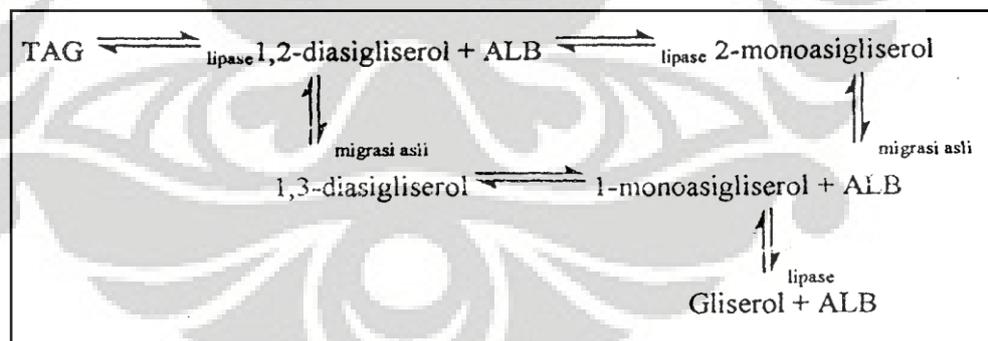
### II.3.1 Lipase

Lipase adalah enzim yang memecah lemak. Nama lain dari lipase adalah asilgliserol hidrolase, triasilgliserol hidrolase atau gliserol ester hidrolase. Lipase yang berasal dari mikroba merupakan enzim yang disekresikan oleh mikroba ke dalam medium pertumbuhannya untuk mencerna lemak atau minyak. Lipase mengkatalisis lemak atau minyak menjadi diasilgliserol, monoasilgliserol, asam lemak bebas, dan gliserol (Macrae,1983).



Gambar 2. 6 Struktur lipase 1,3-gliserida (Ward,1985)

Jenis lipase yang mengkatalisis pemecahan ikatan ester triasilgliserol (TAG) pada posisi satu atau tiga disebut lipase spesifik 1,3-gliserida. Pemecahan dengan lipase tersebut menghasilkan 1,2-diasilgliserol (DAG), monoasilgliserol (MAG), gliserol, dan asam lemak bebas (ALB). Produk 1,2-diasilgliserol bersifat tidak stabil. Gugus asil pada posisi dua dapat mengalami migrasi ke posisi satu atau tiga sehingga menghasilkan produk 1,3-diasilgliserol. Monoasilgliserol (MAG) yang dihasilkan berupa 1(3)-monoasilgliserol. Enzim lipase dapat mengkatalisis semua posisi asam lemak pada TAG dalam waktu yang lama (Hariyadi,2000).



Gambar 2. 7 Proses gliserolisis (Hariyadi,2000)

Spesifitas enzim merupakan ekspresi kemampuan suatu enzim untuk mendiskriminasikan substrat-substratnya berdasarkan pada perbedaan afinitas substrat dalam berasosiasi dengan sisi aktif enzim untuk membentuk kompleks enzim substrat dan akhirnya menghasilkan produk. Enzim lipase dari *Rhizomucor miehei* mempunyai spesifitas asam lemak pada asam laurat yang



mempunyai panjang rantai 12. Hal ini dapat diketahui dari aktifitas esterifikasi tertinggi adalah yang menggunakan laurat sebagai substratnya (Tarigan, 2002)

Awal penelitian tentang lipase mikrobial difokuskan pada pencegahan pembusukan makanan, kemudian dikembangkan untuk mendapatkan lipase industri yang lebih stabil dan murah. Hampir semua lipase yang digunakan dalam industri obat, makanan dan detergen merupakan lipase mikrobial, karena banyak tersedia komersial dan harganya relatif murah.

Terlepas dari arti biologisnya, lipase memainkan peran penting dalam bioteknologi. Sebanyak 15% dari biotransformasi yang dilaporkan, dilakukan dengan biokatalis lipase. Selama dekade terakhir, lipase menjadi enzim yang sangat menarik bagi industri kimia dan farmasi, karena aktifitasnya sebagai biokatalis pada reaksi hidrolisis dan sintesis ester. Okumura et al. (1979) melaporkan bahwa lipase *Aspergillus niger* dan *Rhizopus delemar* menghidrolisis dan membentuk ikatan ester pada ketiga posisi pada gliserol.

Ketertarikan penggunaan biokatalis dalam sintesis organik meningkat dengan cepat. Dalam hal ini, lipase merupakan kelompok enzim yang paling banyak dipelajari. Lipase telah digunakan dalam modifikasi lemak/minyak melalui reaksi transesterifikasi, untuk menemukan senyawa-senyawa baru dengan sifat-sifat yang lebih baik dan untuk meningkatkan bahan baku murah menjadi produk-produk yang lebih berharga. Linko et al. (1998) telah melaporkan bahwa lipase dapat digunakan sebagai biokatalis di dalam produksi senyawa-senyawa *biodegradable* yang bermanfaat, antara lain : esterifikasi antara butanol dan asam oleat untuk produksi 1-butil oleat, transesterifikasi asam-asam lemak dari *rapeseed oil* yang menghasilkan campuran 2-etil-1-heksil ester. Penemuan bahwa lipase juga dapat mengkatalisis sintesis ester, membuka peluang untuk produksi polyester *biodegradable* secara enzimatik.

### II.3.2 Faktor yang Mempengaruhi Aktifitas Lipase

Aktivitas enzim adalah besarnya kemampuan enzim dalam mempercepat reaksi penguraian sumber karbon. Aktivitas enzim dinyatakan dalam unit per ml menit dimana satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah yang menyebabkan perubahan satu mikromol sumber karbon atau satu mikromol



produk yang dihasilkan per menit pada kondisi tertentu (Suhartono,1989). Jadi, satu unit aktifitas enzim lipase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghidrolisis satu mikromol ikatan ester per menu pada kondisi pengujian tertentu.

Sifat-sifat lipase tergantung pada substrat dan asal perolehannya. Lipase yang berasal dari mikroba tertentu, mempunyai aktivitas optimum yang berbeda dengan mikroba lipolitik lainnya. Aktivitas lipase dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: pH, suhu, dan waktu (Pelezar, Chan, 1981). Kestabilan lipase bergantung pada derajat keasaman (pH). Kondisi pH yang jauh dari optimum akan menyebabkan inaktivasi, karena terjadi kerusakan struktur protein enzim. Kondisi pH yang terlalu rendah mengakibatkan ion  $H^+$  akan berikatan dengan  $-NH_2$  membentuk  $-NH_3^+$ . Proses pengikatan tersebut menyebabkan ikatan hidrogen antara atom nitrogen dengan atom hidrogen terputus, sehingga enzim terdenaturasi. Kondisi pH yang tinggi mengakibatkan ion  $-OH$  berikatan dengan atom hidrogen dan gugus  $COOH$  enzim membentuk  $H_2O$ . Hal tersebut mengakibatkan rusaknya ikatan antara atom hidrogen dengan nitrogen atau oksigen, sehingga struktur enzim mengalami kerusakan (Betleheim,1995). Menurut penelitian Kristensen dkk (2005), katalis enzim *Mucor miehei* dapat berfungsi baik pada pH 6,5-7.

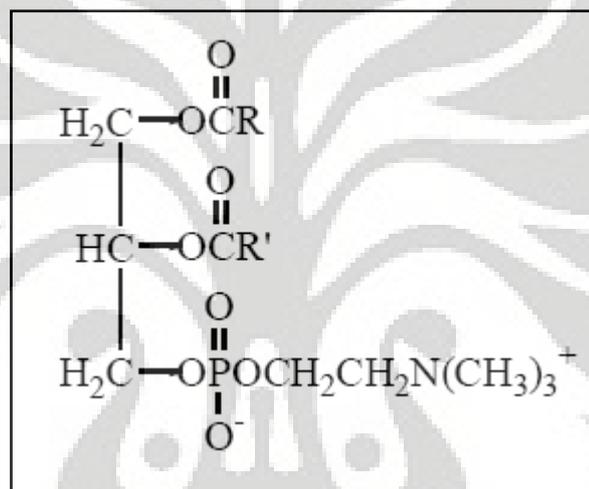
Segel (1993) mengemukakan bahwa secara umum suhu mempunyai hubungan yang nyata dengan aktifitas maksimum enzim. Setiap enzim berfungsi secara optimum pada suhu tertentu. Suhu merupakan faktor yang mempengaruhi laju reaksi enzimatik. Aktifitas enzim biasanya akan bertambah dengan naiknya suhu sampai aktifitas optimumnya tercapai. Kenaikan suhu dalam reaksi enzimatik akan meningkatkan laju reaksi, sehingga jumlah produk yang dihasilkan meningkat. Seiring dengan terjadinya kenaikan suhu, maka akan terjadi peningkatan jumlah energi molekul reaktan sehingga tumbukan antara molekul persatuan waktu lebih produktif. Kenaikan suhu pada batas maksimum akan menyebabkan berkurangnya aktifitas dan pada akhirnya dengan bertambahnya suhu dapat membuat enzim terdenaturasi. Hal ini disebabkan oleh sejumlah ikatan non kovalen yang lemah dan rapuh sehingga jika molekul enzim terlalu banyak menyerap energi, maka struktur



enzim akan berubah konformasinya serta akan terdenaturasi. Hasil penelitian Sumanty (1999) terhadap lipase *Rhizomucor miehei* menunjukkan bahwa derajat sintesis ester yang tertinggi diperoleh pada suhu 60°C.

## II.4 LESITIN

Lesitin memiliki nama lain, yaitu lisofosfatidilkolin (LPC), fosfatidilkolin, atau fosfolipid. Lesitin dengan satu mol asam lemak permol lemak pada posisi *sn*-1, merupakan senyawa kimia yang terdapat dalam tubuh manusia, hewan maupun tumbuhan tingkat tinggi dan rendah, dengan struktur molekul seperti pada gambar 2.8.



Gambar 2. 8 Struktur lesitin

Dalam tubuh makhluk hidup, kandungannya bervariasi 0,1 hingga 0,2% dari berat keseluruhan. Senyawa ini umumnya ditemukan pada selaput sel tumbuhan dan hewan, serta dalam jaringan urat saraf atau otak manusia. Keberadaan lesitin dalam selaput sel menjadikannya bersifat tidak kaku.

Lesitin atau *crude lecithin*, yaitu produk yang terdiri dari 60% fosfolipid dan 30% minyak. Sumber utama lesitin adalah kedelai dan jagung. Selain dari jagung dan kedelai, lesitin juga bisa diperoleh dari biji-biji tumbuhan lainnya. Beberapa yang telah dilaporkan adalah dari biji jambu mete, biji kapas kapuk, biji kacang tanah, biji bunga matahari dan dari buah kelapa sawit. Lesitin banyak digunakan didalam industri makanan, kosmetik, agrokimia, dan di bidang farmasitika. Selain itu *Crude lecithin* atau lesitin komersial merupakan hasil samping yang sangat penting dalam industri



pengolahan minyak makan, karena bahan ini bersifat multiguna dan dapat dimanfaatkan pada berbagai industri makanan.

#### II.4.1 Manfaat Lesitin

Hingga saat ini, banyak manfaat yang ditemukan terkandung dalam lesitin. Lesitin bersifat lipotropik yaitu mendorong pengangkutan asam lemak dari hati ke jaringan tubuh atau meningkatkan pembakaran lemak di hati. Selain itu, lesitin dapat mencegah tertimbunnya lemak secara berlebihan. Di dalam tubuh, senyawa lesitin akan bekerja mengikis timbunan lemak pada dinding pembuluh nadi, yang kemudian larut dalam darah. Lesitin juga mengurangi kandungan kolesterol berlebih dalam darah dengan membantu terjadinya pembentukan HDL (yang terkenal dengan sebutan 'kolesterol baik'). Lesitin dapat memasok kolin pada tubuh dan meningkatkan pembentukan *acetylcholine*, zat untuk kepentingan neurotransmitter pada otak. Karena itu, lesitin diduga dapat membantu meningkatkan kemampuan belajar anak.

Kemampuan lesitin untuk mengurangi lemak disebabkan karena adanya kandungan asam lemak tak jenuh seperti asam linoleat atau omega 6 (sekitar 55%), asam oleat (9,8%), dan asam arakhidonat (5,5%). Molekul asam lemak tak jenuh tersebut berikatan rangkap dan akan mengikat molekul lemak lainnya. Sesudah berikatan dengan lemak lainnya, kemudian akan dibakar di tempat-tempat yang memerlukannya di dalam tubuh sebagai energi.

Lesitin diduga juga mampu mencegah terjadinya penyakit jantung koroner, stroke, dan demensia (penurunan daya ingat karena terhambatnya pasokan oksigen ke otak akibat penyumbatan pembuluh darah) pada penderita hipertensi dan diabetes.

Selain bermanfaat dalam bidang kesehatan, lesitin juga berguna sebagai agen pengemulsi yang bersifat sangat toleran dan non-toksik. Oleh Badan Pengawasan Pangan & Obat, Amerika Serikat (FDA), lesitin diberi status aman atau '*GRAS-status*' ('*Generally Recognised As Safe*'). Senyawa ini dapat digunakan dalam industri makanan, kosmetik, agrokimia, hingga farmasi. Berikut adalah beberapa jenis agen pengemulsi, dengan kandungan lesitin, yang digunakan dalam bidang farmasi.



Tabel 2. 4 Jenis-jenis agen pengemulsi [Konvertiert vom Dissertationen Online Team im CCC der Universität Erlangen]

Proprietary name	Supplier	Composition
Lipoid E75 <sup>®</sup>	Lipoid KG, Ludwigshafen, Germany	72.6% PC, 13.5% PE, 2.6% LPC, 2.3% SPM
Lipoid E80 <sup>®</sup>	Lipoid KG, Ludwigshafen, Germany	77.7% PC, 7.8% PE, 2.5% LPC, 3.0% SPM
Lipoid EPC <sup>®</sup>	Lipoid KG, Ludwigshafen, Germany	98.0% PC, < 0.2% LPC
Lipoid ELPC <sup>®</sup>	Lipoid KG, Ludwigshafen, Germany	0.3% PC, 99.0% LPC
LPC (1-Palmitoyl-LPC)	Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL, USA	> 99 % LPC
Egg- Lysophosphatidylcholine Type I L4129	Sigma Chemicals GmbH, Deisenhofen, Germany	> 99% LPC

Dengan begitu banyaknya sumber dari senyawa lesitin ini yang dapat diperoleh dengan mudah di alam Indonesia dan dengan begitu banyaknya pula manfaat yang dapat diambil dari senyawa ini, maka kita semestinya harus mampu mengembangkan teknologi yang lebih baik untuk mendapatkan senyawa lesitin ini dengan hasil konversi yang lebih baik agar dapat dimanfaatkan pada berbagai industri di negara kita sehingga kita tidak lagi perlu untuk mengimport atau membeli senyawa ini dari negara lain untuk keperluan industri dalam negeri.

#### II.4.2 Pembuatan Lesitin

Lesitin yang banyak digunakan sebagai agen pengemulsi dalam industri makanan, kosmetik, agrokimia, dan farmasi ini dapat dihasilkan dari reaksi esterifikasi *glycerophosphatidylcholine* (GPC) dengan asam lemak bebas yang dikatalis oleh fosfolipase A<sub>1</sub>, fosfolipase A<sub>2</sub>, atau lipase. Reaksi esterifikasi dilakukan untuk mendapatkan struktur fosfolipid yang spesifik. Penggunaan katalis lipase pada reaksi adalah karena katalis lipase spesifik pada posisi sn-1 dari bagian GPC, dimana posisi sn-1 biasanya adalah asam lemak jenuh, seperti asam palmitat, dan asam stearat, dan posisi sn-2 adalah biasanya asam lemak tak jenuh seperti asam lenoleat.



Pembuatan lesitin dilakukan dengan menggunakan bio katalis – lipase yaitu enzim Lypozyme IM (dari *Mucor miehei*) pada reaksi esterifikasi antara turunan gliserofosfolipid dengan asam lemak jenuh. Reaksi esterifikasi dengan katalis lipase ini umumnya berada pada posisi sn-1 dari gugus gliserofosfolipid. Proses ini merupakan reaksi satu tahap dari reaksi esterifikasi dimana hanya ada 2 substrat asam lemak jenuh dan gliserofosfolipid, dengan enzim sebagai katalis.

Reaksi esterifikasi ini merupakan reaksi yang menghasilkan air pada media “*non aqueous*”, dimana asam lemak jenuh terkondensasi dengan gugus OH dari GPC. Pembentukan air dapat dilihat dari mekanisme reaksi esterifikasinya diatas. Oleh karena itu, maka pengontrolan aktifitas air sangat penting untuk membuat reaksi enzimatik *non aqueous* ini dapat berlangsung dengan sempurna. Pengaturan dari aktifitas air ini sangat penting karena apabila selama reaksi terjadi akumulasi air dapat menurunkan aktivitas dari enzim sehingga hasil yang didapatkan juga nantinya akan sedikit.

Han & Ree (1998) melakukan pembuatan lesitin dengan menggunakan sistem *free-solvent* dengan menggunakan reaktor *batch*, dan sebagai pengontrol aktifitas air termodinamik, mereka menggunakan garam *hydrat*. Enzim lipase yang digunakan adalah Lypozyme IM-60 maka konversi maksimum untuk lesitin yang diperoleh adalah 36% dengan kontrol aktifitas air sebesar 0,6.

## II.5 AGEN PENGEMULSI

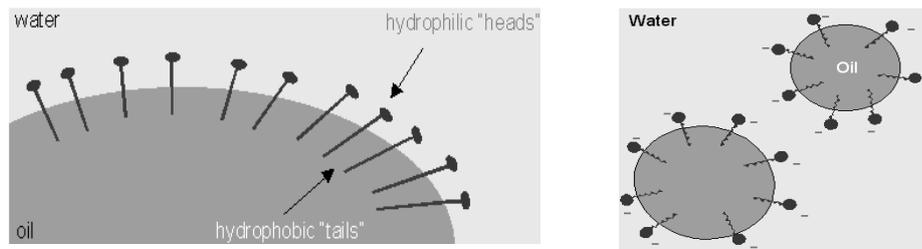
Fenomena campuran air dan minyak yang cenderung berpisah dapat menyatu karena keajaiban agen pengemulsi. Tetesan-tetesan (*droplets*) kecil yang tersebar disebut sebagai fase diskontinu atau fase intenal ataupun fase terdispersi. Sedangkan cairan tempat fase internal tersebut terdispersi disebut sebagai fase kontinu atau fase eksternal. Bila campuran minyak dan air dikocok-memberikan energi mekanik-butiran-butiran minyak terdispersi ke dalam air dan emulsi terbentuk. Namun, tak lama kemudian butiran minyak bergabung kembali karena emulsi yang terbentuk tidak stabil. Guna menjaga kestabilan emulsi-butiran minyak atau air terdispersi secara baik dalam waktu lama-kehadiran agen pengemulsi amat dibutuhkan.



Agen pengemulsi atau zat pengemulsi didefinisikan sebagai senyawa yang mempunyai aktivitas permukaan (*surface-active agents*) sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan (*surface tension*) antara udara-cairan dan cairan-cairan yang terdapat dalam suatu sistem makanan. Kemampuannya menurunkan tegangan permukaan menjadi hal yang menarik karena agen pengemulsi memiliki keajaiban struktur kimia yang mampu menyatukan dua senyawa berbeda polaritasnya. Tingkat penurunan tegangan permukaan oleh senyawa pengemulsi berkisar antara 50 dyne/cm hingga kurang dari 10 dyne/cm jika digunakan pada konsentrasi lebih kecil dari 0,2 persen (Sibuea,2003).

Sejumlah energi dibutuhkan guna membentuk antar permukaan yang baru pada suatu sistem emulsi. Mula-mula suatu cairan didispersikan dengan cara mekanis ke dalam cairan yang lain. Besarnya kerja yang diperlukan untuk membentuk globula-globula yang berbentuk spheris sangat ditentukan oleh besarnya diameter globula tersebut. Contohnya, untuk mendispersi 1 ml minyak olive dengan diameter 5 mikro meter dalam 10 ml air dibutuhkan energi sekitar 274.800 ergs. Namun, jumlah energi ini akan berkurang secara signifikan menjadi hanya 36.000 ergs bila menggunakan agen pengemulsi, sebab zat pengemulsi ini dapat menurunkan tegangan antar permukaan dari 22,9 menjadi 3 dyne/cm (Sibuea mengutip Adnan, M.,2000).

Keajaiban fenomena agen pengemulsi disebabkan karena agen pengemulsi memiliki ujung nonpolar (yang tidak bermuatan dan memiliki afinitas terhadap minyak, disebut lipofilik), dan ujung polar (yang memiliki muatan dan afinitas terhadap air, disebut hidrofilik). Bagian hidrofilik akan berikatan dengan air dan bagian lipofilik akan berikatan dengan minyak. Hal ini akan membantu kedua fasa (minyak dan air) untuk tetap tercampur membentuk emulsi. Emulsi air dan minyak dapat digolongkan menjadi dua. Pertama, yaitu sistem emulsi di mana tetes-tetes minyak terdispersi dalam air dan disebut *oil in water* (O/W). Kedua, yaitu emulsi di mana tetes-tetes air terdispersi dalam minyak dan disebut *water in oil* (W/O).



**Gambar 2. 9 Sistem emulsi minyak dalam air**

Ukuran relatif bagian hidrofilik dan lipofilik zat pengemulsi menjadi faktor utama yang menentukan perilakunya dalam pengemulsian. Untuk memilih pengemulsi yang cocok untuk pemakaian pada produk pangan olahan tertentu, telah dikembangkan apa yang disebut sistem HLB (*hidrofilik/lipofilik balance* atau perimbangan hidrofilik/lipofilik). Bila agen pengemulsi tersebut memiliki kecenderungan terikat lebih kuat pada air atau nilai HLB-nya tinggi, dapat membantu terbentuknya emulsi *oil in water* (O/W). Contohnya, antara lain susu, es krim, dan mayonase. Sebaliknya bila agen pengemulsi memiliki kecenderungan terikat lebih kuat terhadap minyak atau nilai HLB rendah, akan terbentuk emulsi *water in oil* (W/O). Contohnya, antara lain adalah mentega dan margarin.

Kehadiran agen pengemulsi juga menjadi kunci rahasia perancangan berbagai minuman kesehatan yang kini banyak diminati masyarakat. Formulasinya menghadirkan dua tantangan utama, yakni upaya membuat keseragaman dispersi dari nutrisi yang larut dalam lemak, seperti vitamin dan karotenoid pada minuman yang berbasis air. Tahap selanjutnya bagaimana menggabungkan (*incorporation*) rasa jeruk dengan minyak tertentu misalnya, sehingga produknya dapat diterima konsumen. Kedua tantangan ini mendorong ahli pangan mencari jenis agen pengemulsi yang dapat berfungsi ganda.

Sinergi dari beberapa agen pengemulsi untuk menghasilkan nilai HLB yang tepat bisa menghadirkan minuman kesehatan dengan mutu yang baik. Penggunaan vitamin ETPGS 1.000 (*d-alpha-tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate*)- suatu turunan vitamin E yang larut air-memberi solusi yang menghadirkan agen pengemulsi dengan manfaat ganda. Di samping struktur



kimianya yang memiliki gugus hidrofil dan lipofil yang berperan sebagai agen pengemulsi, TPGS juga menjadi sumber vitamin E. Bahkan, bukan itu saja, senyawa-senyawa lipofilik lain seperti vitamin-vitamin yang larut dalam lemak (A, D, E, dan K), karotenoid dan asam lemak omega 3 dapat digandengkan dengan TPGS (Sibuea,2003).

## II.6 TEGANGAN PERMUKAAN (ANTAR MUKA)

Salah satu fungsi dari agen pengemulsi adalah menurunkan tegangan permukaan air secara nyata. Untuk memahami mengapa agen pengemulsi memiliki efek tersebut, perlu diketahui mekanisme tegangan permukaan dan/atau antarmuka.

Gaya kohesif bekerja antara molekul-molekul, tarik-menarik satu sama lain membentuk cairan atau padatan. Molekul-molekul ini saling melekat dan tidak terpisah, sehingga mempertahankan bentuk cair atau padatan tersebut. Molekul yang berada di bagian dalam cairan atau padatan merasakan gaya tarik ini dari molekul-molekul tiap sisi, tetapi molekul yang berada pada permukaan tidak menerima gaya tersebut dari sisi atmosfer (udara).

Semakin rapat molekul, semakin rendah (lebih stabil) tingkat energinya. Jadi, molekul-molekul yang berada pada permukaan berada dalam keadaan tingkat energi tinggi akibat tidak adanya molekul-molekul pada satu sisi. Karena energi bebas yang lebih tinggi pada permukaan inilah sehingga terdapat kecenderungan ilmiah berupa penurunan luas permukaan sedapat mungkin. Itulah sebabnya satu tetes membentuk bulatan, yang merupakan bentuk permukaan terkecil yang paling mungkin terbentuk.

Tegangan permukaan ( $\gamma$ ) berhubungan dengan besarnya gaya kohesif yang bekerja di antara molekul-molekul pada permukaan. Zat-zat yang mempunyai gaya kohesif lebih besar memiliki tegangan permukaan yang lebih besar pula. Air mempunyai tegangan permukaan lebih besar daripada kebanyakan cairan lain karena gaya kohesifnya yang lebih besar akibat adanya ikatan hidrogen. Tegangan permukaan air menurun dengan naiknya suhu.

Dalam hal mekanisme tegangan antarmuka, molekul-molekul pada antarmuka kontak dengan molekul-molekul jenis lain, dan menerima gaya tarik dengan kekuatan yang berbeda dengan molekul-molekul yang berada dalam



masing-masing fasa. Maka tegangan antarmuka terjadi karena molekul-molekul pada antarmuka memiliki energi bebas yang lebih tinggi dibandingkan dengan energi bebas molekul-molekul dalam masing-masing fasa.

Bila dalam air terkandung emulsifier, molekul-molekul emulsifier mengalami orientasi dan teradsorpsi pada permukaan larutan dengan gugus hidrofobik menghadap ke udara. Dengan demikian permukaan larutan tertutupi dengan gugus hidrofobik emulsifier. Seperti telah disebutkan sebelumnya, tegangan permukaan yang disebabkan gaya kohesif cairan (atau padatan) membesar dengan meningkatnya gaya kohesif. Karena gaya kohesif hidrokarbon lebih kecil daripada air, tegangan permukaan larutan air (yang permukaannya tertutupi oleh gugus hidrofobik dari emulsifier) juga lebih kecil daripada air. Itulah sebabnya tegangan permukaan air menurun dengan penambahan emulsifier (Cornils, 2007).

Metode yang digunakan untuk mengukur tegangan permukaan, antara lain:

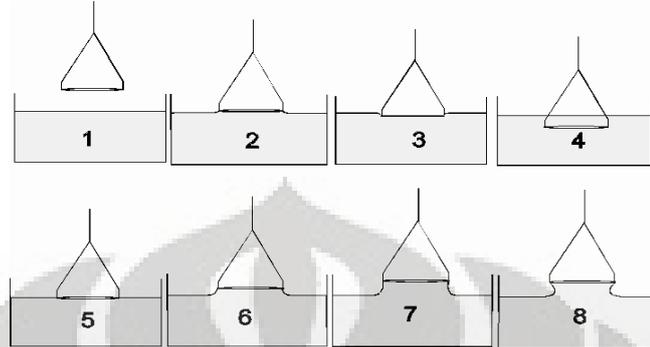
#### 1. *DuNouy ring*

Metode ini menggunakan cincin yang terbuat dari logam platinum yang diinteraksikan dengan permukaan cairan yang ingin diukur. Mula-mula cincin ditenggelamkan di bawah permukaan cairan kemudian cincin tersebut dinaikkan sampai diatas permukaan cairan hingga menimbulkan meniscus dari cairan tersebut sampai pada akhirnya, meniscus tersebut pecah. Prosesnya adalah sebagai berikut:

1. Cincin berada di atas permukaan cairan, belum ada gaya yang dihasilkan.
2. Cincin menyentuh permukaan cairan sehingga menghasilkan gaya positif yang tidak signifikan.
3. Cincin melewati batas permukaan cairan, namun belum berhasil menembus dikarenakan tegangan permukaan yang dimiliki oleh cairan tersebut. Hal ini menghasilkan gaya yang bekerja pada cincin bernilai negatif.
4. Cincin berhasil menembus permukaan sehingga gaya yang bekerja bernilai positif.
5. Saat dinaikkan gaya yang terukur mulai meningkat.
6. Gaya tetap meningkat sampai akhirnya.



7. Gaya maksimum telah tercapai.
8. Setelah tercapai gaya maksimum, terdapat sedikit pengurangan gaya hingga akhirnya lamela terpecah.



**Gambar 2. 10 Skema pengukuran tegangan permukaan menggunakan metode cincin (Anonim, 2007)**

## 2. *Wilhelmy Plate*

Metode ini menggunakan sejenis plat yang terbuat dari logam platinum. Perhitungan berdasarkan pada geometri permukaan yang terbasahi saat dikontakkan dengan cairan yang ingin diukur pada keadaan plat tepat diatas permukaan cairan. Hal penting dalam metode ini adalah posisi plat terhadap permukaan cairan.

**Gambar 2. 11 Pengukuran tegangan permukaan dengan menggunakan Metode *Wilhelmy Plate* (Anonim, 2007)**

## 3. *Metal Rod*

Metode ini digunakan jika cairan untuk pengukuran tegangan permukaan terbatas.

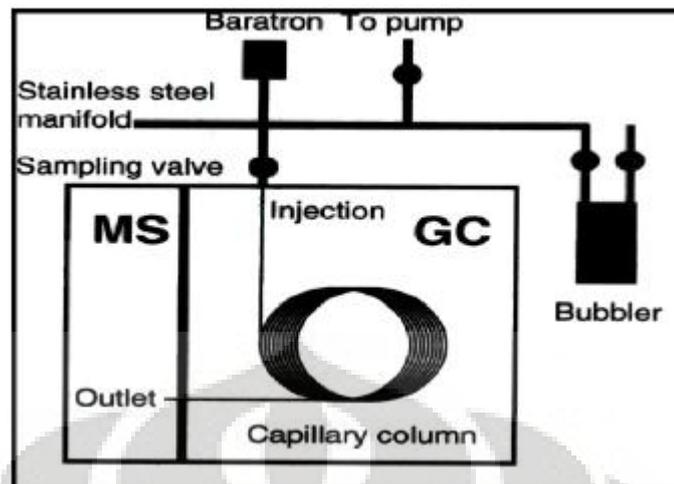


## II.7 GAS CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY (GC/MS)

GC/MS merupakan kombinasi dari kromatografi gas untuk proses pemisahan komponen dan spektrometri massa untuk mendeteksi dan mengidentifikasi komponen dari sampel yang diinjeksikan. Alat ini yang banyak digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif telah ini dikembangkan sejak 1960-an. Dahulu penggunaannya masih terbatas untuk kepentingan laboratorium. Setelah dilengkapi secara komputerisasi, GC/MS saat ini telah dapat disederhanakan pengoperasian instrumen dan dipercepat waktu analisis sampelnya.

Aplikasi sistem GC/MS termasuk untuk deteksi obat-obatan, analisis lingkungan, investigasi ledakan, dan dapat digunakan di bandara guna mendeteksi barang maupun manusia. Metode analisis dilakukan dengan membandingkan konsentrasi massa atom dari spektrum yang dihasilkan. Terdapat dua macam analisis yang mungkin dilakukan, analisis spektrum perbandingan dan analisis spektrum *original*.

Analisis perbandingan membutuhkan perbandingan spektrum hasil dan spektrum literatur untuk melihat kemiripan karakteristik hasil dengan literatur. Analisis *original* menghasilkan puncak dominan yang menandakan total massa dari senyawa yang tidak diketahui. Nilainya dapat digunakan untuk menentukan rumus kimia berbagai macam unsur yang diasumsikan muncul pada senyawa. Pola isotop pada spektrum, dimana tiap unsur memiliki beberapa isotop yang spesifik, dapat digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan berbagai unsur tersebut. Bila rumus kimia sudah sesuai dengan spektrum, maka struktur molekul dan tipe ikatan bisa diidentifikasi. Skema Alat GC/MS dapat dilihat pada Gambar 2.12.



Gambar 2. 12 Skema Alat GC/MS

Prinsip kerja GC/MS dimulai dari senyawa sampel yang akan ditembak oleh arus elektron dan menyebabkan senyawa terpisah menjadi fragmen. Fragmen ini dapat lebih besar atau lebih kecil dari molekul aslinya. Fragmen sebenarnya adalah muatan ion dengan massa tertentu. Massa fragmen jika dibagi muatan disebut perbandingan massa per muatan ( $M/Z$ ).  $M/Z$  biasanya mewakili berat molekul fragmen. Empat elektromagnet (quadropole) akan memfokuskan fragmen melewati celah menuju detektor. Quadropole diprogram oleh komputer untuk hanya mengarahkan fragmen  $M/Z$  tertentu yang melewati celah. Sisanya akan terpental menjauh. Komputer memiliki siklus quadropole untuk  $M/Z$  berbeda hingga semua daerah  $M/Z$  telah terdeteksi. Siklus ini berlangsung berkali-kali per detik. Setiap siklus disebut *scan*. Komputer merekam grafik pada setiap *scan*. Sumbu x mewakili rasio perbandingan  $M/Z$ . Sumbu y mewakili intensitas sinyal untuk setiap fragmen terdeteksi selama *scan*. Grafik ini disebut spektrum massa. Spektrum massa yang dihasilkan oleh senyawa kimia biasanya sama untuk setiap waktu. Oleh karena itu, spektrum massa sangat penting untuk mengidentifikasi senyawa. Komputer GC-MS memiliki literatur spektrum yang bisa digunakan untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang tidak diketahui. Literatur akan membandingkan spektrum massa dari komponen sampel dan membandingkan dengan spektrum massa dari literatur. Hasilnya berupa identifikasi bersama dengan probabilitas kemiripan secara statistik.



Aplikasi pemanfaatan GC/MS antara lain, dapat melacak polutan organik di lingkungan walaupun masih kurang sensitif terhadap pestisida dan herbisida. Dalam bidang forensik dan kriminal, GC/MS dapat digunakan untuk menganalisis partikel dari tubuh manusia sehingga dapat membantu menghubungkan antara tindak kriminal dan pelaku kejahatan. GC/MS juga dapat dimanfaatkan untuk mendeteksi penggunaan narkoba ilegal, serta deteksi alat peledak di bandara. Di bidang obat-obatan, berguna dalam memperkirakan aktivitas metabolik senyawa-senyawa dalam obat.

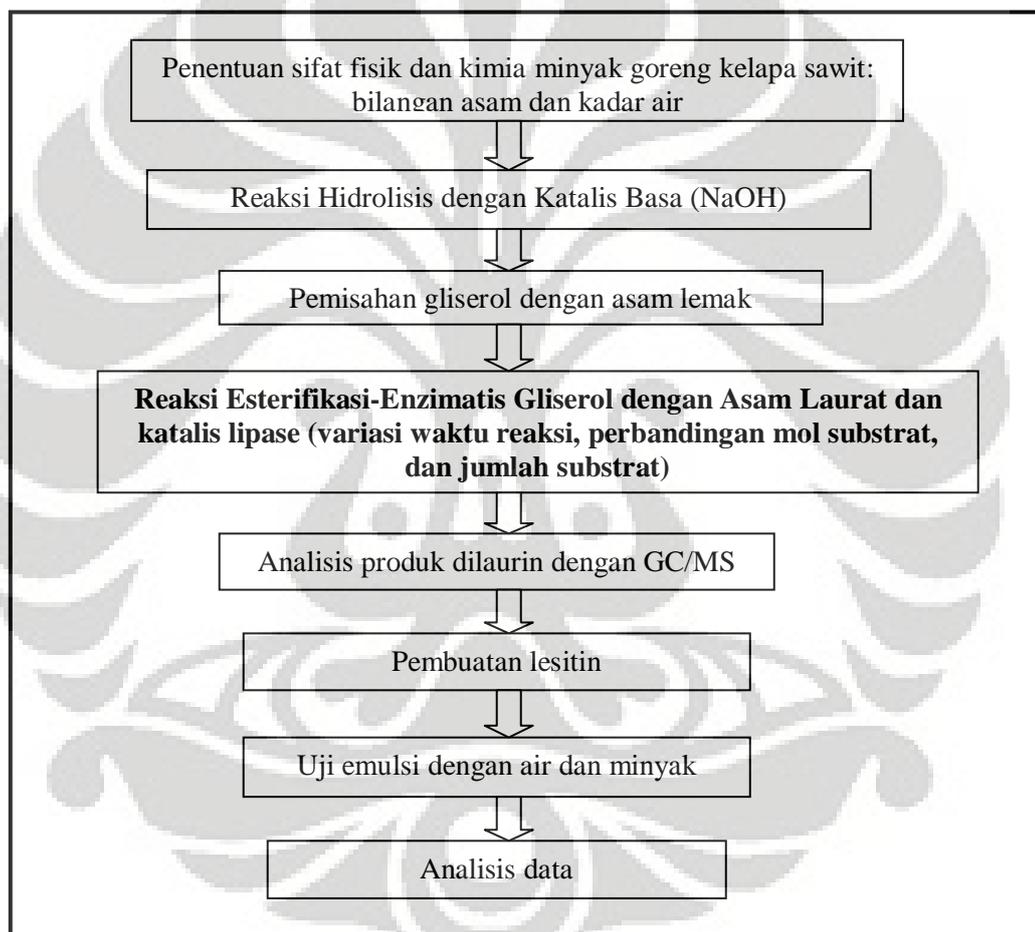




### BAB III

## RANCANGAN PENELITIAN

Secara umum, penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu tahap preparasi alat dan bahan penelitian, pereaksian larutan, uji GC/MC, uji dilaurin, dan analisis data. Alur pembuatan produk lesitin dari CPO ditunjukkan pada bagan di bawah ini,

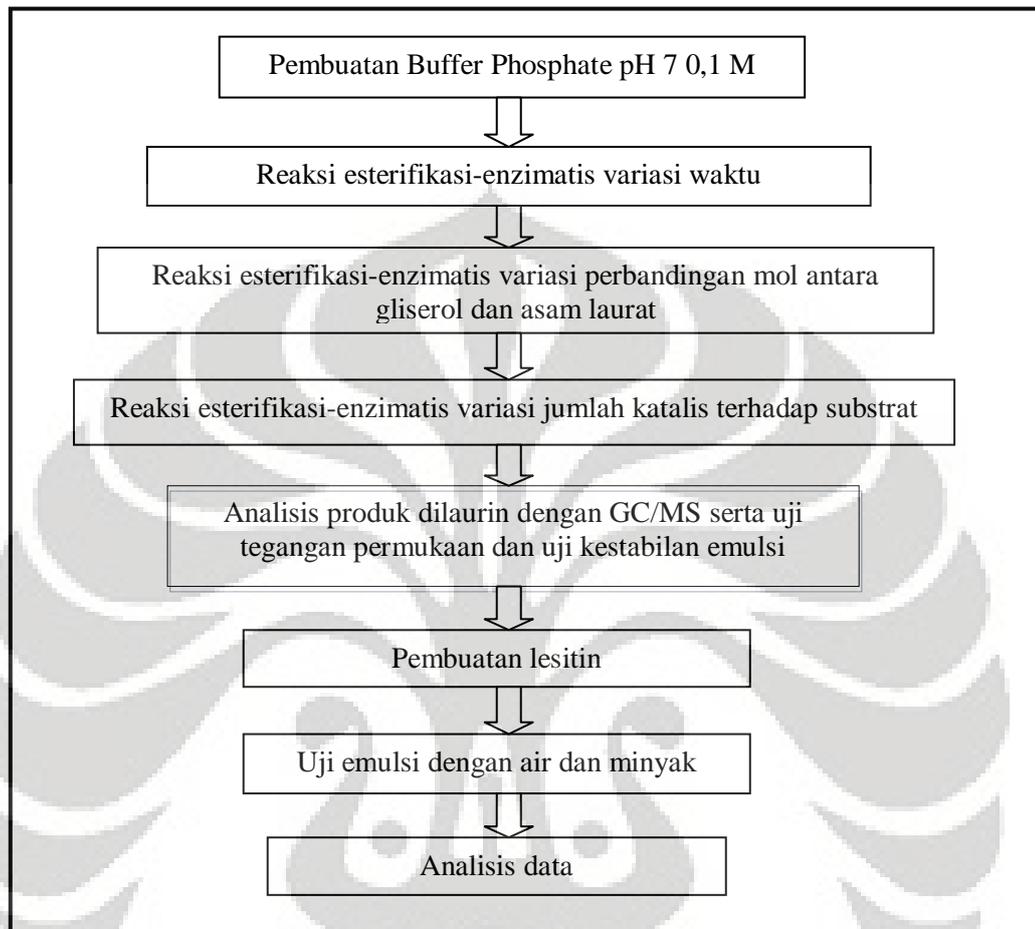


Gambar 3. 1 Alur Sintesis Lesitin dari CPO

Pada penelitian ini difokuskan pada reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dengan asam laurat dan katalis lipase *Mucor miehei*, yaitu mencari kondisi optimum yang diperlukan untuk menghasilkan produk dilaurin. Produk dilaurin inilah yang kemudian digunakan untuk membuat lesitin. Berikut ini ialah bagan



alur penelitian yang dilakukan dalam untuk mencapai tujuan penelitian dalam pembuatan produk lesitin.



**Gambar 3. 2 Alur Penelitian untuk Mendapatkan Kondisi Optimum dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis**

### III.1 VARIABEL PENELITIAN

- Variabel tetap atau kondisi operasi yang tidak berubah dalam penelitian ini ialah : pH, suhu, tekanan, dan kecepatan pengadukan.
- Variabel bebas atau kondisi operasi yang diubah pada penelitian ini adalah waktu reaksi, perbandingan mol gliserol dan asam laurat, dan persentase jumlah katalis terhadap berat substrat.
- Variabel terikat atau parameter yang akan diamati sebagai hasil dari penelitian dalam penelitian ini adalah, *yield* dilaurin yang dihasilkan dari reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dengan asam laurat dan katalis lipase.



## III.2 ALAT DAN BAHAN

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian dapat dilihat pada tabel

3.1.

**Tabel 3. 1 Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian**

Peralatan	Bahan-bahan
1. GC/MS	1. Asam laurat
2. Termometer	2. <i>Mucor miehei</i> lipase
3. <i>Stop watch</i>	3. Fosfat ( $H_3PO_4$ )
4. <i>Magnetic stirrer</i>	4. Kolin
5. <i>Hot plate</i>	5. Aquades
6. Kondenser	6. Gliserol
7. Labu erlenmeyer	7. Heksana
8. <i>Beaker glass</i>	8. $KH_2PO_4$
9. Gelas ukur	9. $K_2HPO_4$
10. Pipet	10. Minyak goreng
11. Pompa air	
12. KRUSS	
13. Cawan Petri	
14. Selang air	
15. Pengukur pH	

## III.3 PROSEDUR PENELITIAN

### III.3.1 Tahap Pembuatan Buffer Phosphate 0,1 M pH 7

Bahan yang perlu dipersiapkan atau dibuat ialah larutan buffer phosphate pH 7. Untuk bahan yang lainnya sudah tersedia, sehingga tidak perlu dibuat lagi.

1. Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Yaitu  $K_2HPO_4$ ,  $KH_2PO_4$ , aquades, pengukur pH, gelas ukur dan *beaker glass*.
2. Membuat larutan 1 M  $K_2HPO_4$  dan 1 M  $KH_2PO_4$ , masing-masing 500 ml.
3. Mencari volume yang diperlukan oleh masing-masing larutan 1 M  $K_2HPO_4$  dan 1 M  $KH_2PO_4$  supaya ketika keduanya dicampurkan, pH buffer yang berbentuk adalah 7. (memakai teori perhitungan).



4. Mengukur pH larutan buffer, apakah telah tepat 7.

### **III.3.2 Tahap Reaksi esterifikasi-enzimatis variasi waktu**

1. Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Yaitu gliserol, asam laurat, katalis *Mucor miehei* lipase, buffer phosphate pH 7, n-heksana, gelas reaksi, kondenser, magnetic stirrer, dan hot plate.
2. Variasi yang pertama dilakukan ialah variasi waktu.
3. Memakai perbandingan gliserol dan asam laurat 1 : 3 (mol).
4. Memakai heksana sebanyak sebanyak 30 ml.
5. Buffer phosphate pH 7 yang dipakai sebanyak 6 tetes.
6. Melakukan reaksi esterifikasi-enzimatis, yaitu mereaksikan gliserol dan asam laurat dengan bantuan katalis lipase *Mucor miehei*, pada pelarut organik heksana, dan dengan buffer phosphate pH 7. Reaksi dilakukan pada suhu 58<sup>0</sup>C, pada tekanan 1 atm.
7. Variasi waktu yang diambil untuk reaksi ialah 4 jam, 6 jam, 9 jam, 12 jam, 15 jam, dan 24 jam.
8. Melakukan analisis GC/MS.
9. Melakukan pengukuran tegangan permukaan dengan metode cincin dan uji emulsi untuk menentukan waktu reaksi optimum dari produk dilaurin yang didapat.

### **III.3.3 Tahap Reaksi esterifikasi-enzimatis variasi perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat.**

1. Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Yaitu gliserol, asam laurat, katalis *Mucor miehei* lipase, buffer phosphate pH 7, n-heksana, gelas reaksi, kondenser, magnetic stirrer, dan hot plate.
2. Variasi yang akan dilakukan ialah variasi perbandingan mol gliserol dan asam laurat.
3. Memakai heksana sebanyak sebanyak 30 ml.
4. Buffer phosphate pH 7 yang dipakai sebanyak 6 tetes.
5. Melakukan reaksi esterifikasi-enzimatis, yaitu mereaksikan gliserol dan asam laurat dengan bantuan katalis lipase *Mucor miehei*, pada



pelarut organik heksana, dan dengan buffer phosphate pH 7. Reaksi dilakukan pada suhu  $58^{\circ}\text{C}$ , pada tekanan 1 atm.

6. Waktu reaksi yang dipakai ialah waktu optimum yang telah didapat pada percobaan sebelumnya.
7. Variasi perbandingan mol yang dilakukan ialah (gliserol:asam laurat) 1 : 3 , 2 : 3 , 3 : 3 , 4 : 3 , dan 5 : 3
10. Melakukan pengukuran tegangan permukaan dengan metode cincin dan uji emulsi untuk menentukan perbandingan mol gliserol dan asam laurat yang optimum dari produk dilaurin yang didapat.

### **III.3.4 Tahap Reaksi esterifikasi-enzimatis variasi jumlah katalis terhadap substrat**

1. Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Yaitu gliserol, asam laurat, katalis *Mucor miehei* lipase, buffer phosphate pH 7, n-heksana, gelas reaksi, kondenser, magnetic stirrer, dan hot plate.
2. Variasi yang akan dilakukan ialah variasi jumlah katalis (dalam persen) terhadap jumlah substrat ( massa gliserol dan asam laurat )
3. Memakai heksana sebanyak sebanyak 30 ml.
4. Buffer phosphate pH 7 yang dipakai sebanyak 6 tetes.
5. Melakukan reaksi esterifikasi-enzimatis, yaitu mereaksikan gliserol dan asam laurat dengan bantuan katalis lipase *Mucor miehei*, pada pelarut organik heksana, dan dengan buffer phosphate pH 7. Reaksi dilakukan pada suhu  $58^{\circ}\text{C}$ , pada tekanan 1 atm.
6. Waktu reaksi yang dipakai ialah waktu optimum yang telah didapat dari percobaan sebelumnya.
7. Perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat yang dipakai ialah perbandingan mol optimum yang telah didapat dari percobaan sebelumnya.
8. Variasi persentase katalis lipase *Mucor miehei* yang akan diambil ialah 0,2% ; 0,4% ; 0,6% ; 0,8% ; 1%
11. Pengukuran tegangan permukaan dengan metode cincin dan uji emulsi untuk menentukan perbandingan mol gliserol dan asam laurat yang optimum dari produk dilaurin yang didapat.



### III.3.5 Tahap Reaksi esterifikasi-enzimatis kondisi optimum

1. Melakukan percobaan (reaksi esterifikasi-enzimatis) seperti pada langkah-langkah percobaan sebelumnya, dengan memakai kondisi optimum (waktu, perbandingan mol, dan persen katalis) dari data yang telah didapatkan.
2. Melakukan analisis pengukuran tegangan permukaan dengan metode cincin serta uji emulsi.

### III.3.6 Tahap Pembuatan Lesitin

1. Menyiapkan bahan-bahan dan peralatan yang diperlukan. Bahan yang harus disiapkan ialah produk dilaurin hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dengan asam laurat dan katalis lipase yang merupakan hasil reaksi dengan kondisi optimum,  $H_3PO_4$  (fosfat), dan kolin.
2. Mereaksikan dilaurin dengan fosfat selama 2 jam.
3. Menambahkan kolin pada larutan dilaurin-fosfat dan mereaksikannya selama 2 jam.
4. Reaksi ini dilakukan pada reaktor *batch* pada suhu ruang dan tekanan atmosfer.
5. Melakukan uji tegangan permukaan.

### III.3.7 Pengukuran Tegangan Permukaan

1. Menyiapkan sampel dilaurin yang akan diukur tegangan permukaannya.
2. Sebelum melakukan pengukuran, cincin dan gelas tempat sampel harus dicuci terlebih dahulu. Pencucian yang dilakukan harus benar-benar bersih. Pencucian dapat dilakukan dengan menggunakan alkohol atau aseton, kemudian dipanaskan.
3. Masukkan campuran air dan sampel dilaurin kedalam gelas sampel. Jumlah sampel dilaurin yang dimasukkan ialah sebesar 15% dari berat air.
4. Aduk sesaat sebelum diukur tegangan permukaannya.
5. Menurunkan *cross staff* dengan memutar *handweel*, lalu masukkan gelas yang telah berisi sampel kedalamnya .



6. Menyalakan KRUSS. Atur *light pointer* KRUSS pada kondisi 0. Periksa posisi garis di layar berada tepat di tengah garis.
7. Naikkan lagi gelas yang telah berisi cairan dengan memutar *handweel* sampai cincin masuk seluruhnya ke dalam cairan.
8. Melakukan pengukuran tegangan permukaan cairan dengan memutar *circuit division*.
9. Apabila posisi *light pointer*-nya berada pada posisi maksimal, maka posisinya diukur lagi dengan memutar micrometer *screw tensionmeter* hingga posisi *light pointer* kembali ke posisi tengah (semula).
10. Mencatat nilai tegangan permukaannya.

### III.3.8 Tahap Uji Emulsi

Uji emulsi dilakukan dengan variasi persen berat sampel lesitin (*agen pengemulsi*) yang ditambahkan. Uji emulsi ini dilakukan dengan sistem w/o (*water in oil*). Dengan metode ini dapat diketahui apakah produk yang didapatkan dapat berfungsi sebagai emulsi. Prosedur yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Mencampurkan minyak dan air dengan perbandingan berat 1:5. Campuran tersebut ditambahkan sampel (yang akan diuji sebagai emulsi) sebanyak 15% berat dan dipanaskan sambil diaduk.
2. Mengocok selama beberapa saat hingga minyak-air terlihat menyatu.
3. Mencatat waktu yang diperlukan oleh sistem minyak-air tersebut untuk kembali terdispersi.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, tujuan yang ingin dicapai ialah untuk mendapatkan kondisi operasi optimum yang diperlukan dalam reaksi esterifikasi-enzimatis untuk menghasilkan produk dilaurin. Produk dilaurin ini sendiri ialah salah satu bahan pembuat lesitin yang merupakan suatu agen pengemulsi yang sering dibutuhkan dalam kehidupan sehari-hari (Han & Ree, 1998). Kondisi optimum yang dicari dalam penelitian ini ialah waktu reaksi, perbandingan mol gliserol dan asam laurat, serta perbandingan jumlah substrat (gliserol dan asam laurat) dengan jumlah katalis enzim. Katalis enzim yang dipakai dalam penelitian ini ialah *Mucor miehei*. Pada bab ini akan dibahas mengenai hasil yang didapat dalam penelitian.

Tahap persiapan alat dan bahan dilakukan untuk memulai penelitian. Alat yang digunakan untuk mereaksikan gliserol dan asam laurat dengan katalis enzim dirancang sedemikian rupa sehingga tercipta kondisi yang diinginkan. Suhu optimum yang diperlukan dalam reaksi esterifikasi-enzimatis dengan bantuan katalis *Mucor miehei* ialah 50°C-60°C (Takaaki Watanabe dkk., 2003). Oleh karena itu, digunakan *hot plate* sebagai pemanas untuk reaksi tersebut. *Stirrer* sebagai pengaduk reaksi tersebut digunakan untuk mempercepat terjadinya reaksi antara gliserol dan asam laurat serta mengoptimalkan kerja katalis.

Sebagai medium reaksi digunakan heksana yang merupakan larutan dengan volatilitas tinggi, terlebih karena titik didih heksana ialah 68°C dan reaksi dilakukan pada suhu 58°C, maka agar jumlah heksana tidak berkurang akibat dari penguapan yang terus menerus, dipasang kondenser yang berfungsi sebagai *reflux*. Air sebagai fluida pendingin yang digunakan dalam kondenser ialah air es. Pemilihan heksana sebagai medium reaksi dikarenakan beberapa hal. Pertama, reaksi dapat berjalan sempurna pada kondisi *microaqueous*. Kedua, heksana merupakan pelarut organik. Heksana merupakan senyawa yang paling baik digunakan sebagai pelarut organik atau medium dalam reaksi esterifikasi menggunakan enzim lipase (Hariyadi, 1996).

Katalis enzim *Mucor miehei* dapat berfungsi baik pada pH 6,5-7 (Kristensen dkk., 2005). Oleh karena itu digunakan buffer *phosphate* pH 7 untuk



mengoptimalkan kerja katalis. Pada penelitian ini dilakukan pembuatan buffer phosphate 0.1 M pH 7. Pembuatan buffer *phosphate* 0,1 M pH 7 dilakukan dengan mencampurkan larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1 M dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1 M. Prosedur pembuatan buffer *phosphate* ini yaitu dengan menggunakan teori persamaan Henderson-Hasselbalch.

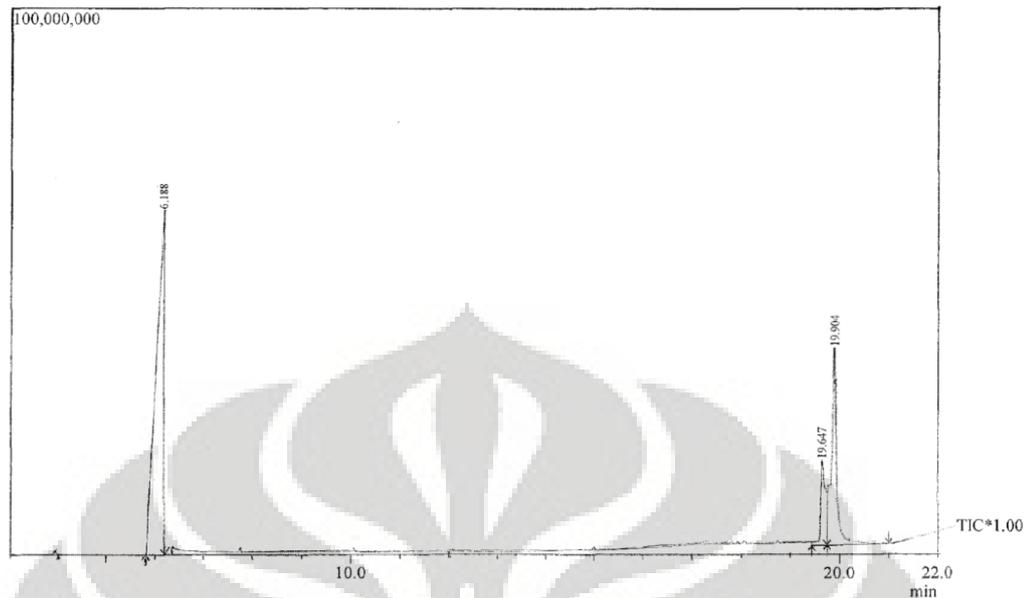
#### IV.1 ANALISIS GC/MS

Untuk memastikan ada tidaknya kandungan dilaurin dari sampel hasil reaksi yang dilakukan, maka dilakukan uji GC/MS. Uji GC/MS dilakukan di Laboratorium Pangan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Ciputat. Melalui uji GC/MS ini dapat diketahui persentase senyawa yang terkandung di dalam larutan sampel hasil reaksi. Dari analisis GC/MS akan terlihat *peak* yang merupakan identitas dari senyawa tertentu.

Pada penelitian Yu-Chih Yeh dikatakan bahwa pada waktu reaksi esterifikasi diatas 6 jam dapat menghasilkan produk dilaurin yang cukup besar (Yeh, 1998). Oleh karena itu, sampel yang diuji dengan menggunakan GC/MS ialah sampel variasi waktu selama 9 jam reaksi. Dari hasil analisis sampel tersebut dikatakan bahwa sampel produk hasil reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase *Mucor miehei* mengandung 23,57 % dilaurin (1,2-*diacylglycerol*,  $\text{C}_{27}\text{H}_{52}\text{O}_5$ ); 9,95 % *Glycerol 2-laurate*, dan 66,48 % *lauric acid*. Dari hasil uji GC/MS tersebut, ternyata dalam penelitian ini dapat dihasilkan produk dilaurin sesuai dengan yang diinginkan. Grafik *Chromatogram* dapat dilihat pada gambar berikut sedangkan untuk *mass spectrum* dari setiap *peak* dapat dilihat pada Lampiran B.



## Chromatogram



**Gambar 4. 1 Peak Chromatogram sampel Dilaurin t=9 jam**

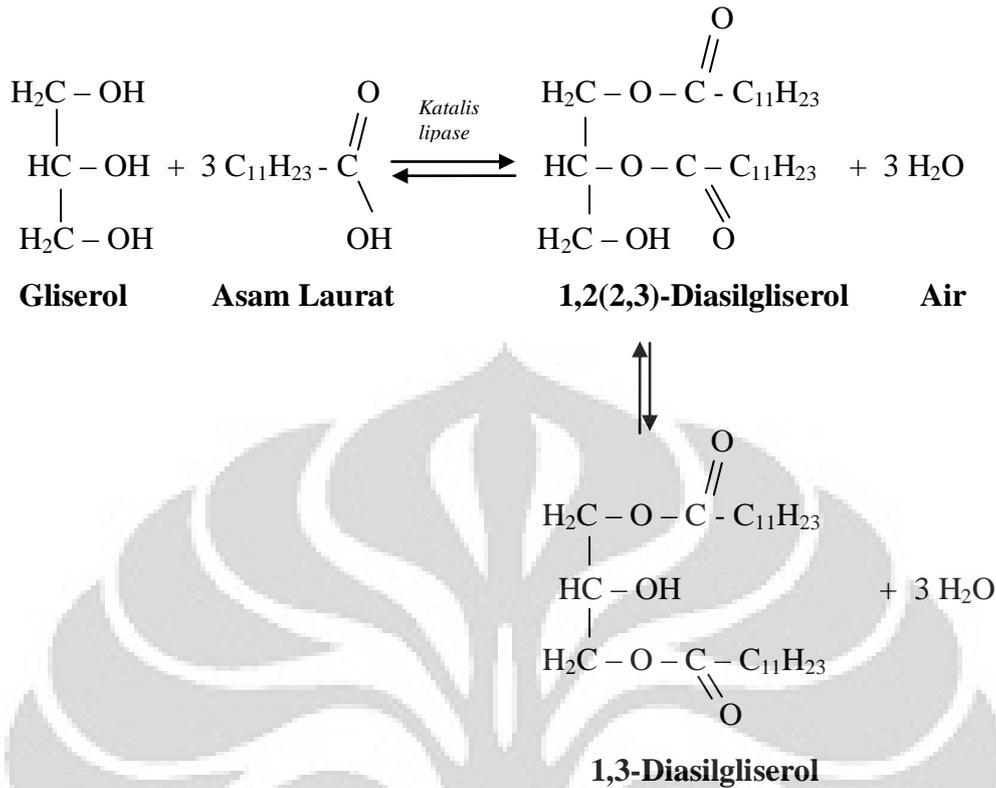
Dari grafik *chromatogram* tersebut terlihat terdapat 3 *peak*. Selain *chromatogram* yang didapatkan pada GC/MS, didapatkan pula data berupa *mass spectrum* dari setiap *peak* yang ada (dapat dilihat pada lampiran). Analisis yang dipakai disini ialah analisis perbandingan, yaitu dibutuhkan perbandingan spektrum hasil dan spektrum literatur untuk melihat kemiripan karakteristik hasil dengan literatur. *Peak* pertama berada pada waktu retensi 6,2 menit mengindikasikan adanya kandungan asam laurat dalam sampel sebesar 66,48%. *Peak* kedua yang berada pada waktu retensi selama 19,65 menit mengindikasikan adanya *glycerol 2-laurate* sebesar 9,95%. *Glycerol 2-laurate* mengindikasikan bahwa reaksi yang terjadi untuk menghasilkan produk yang diinginkan (dilaurin) belum sempurna. Dibutuhkan waktu yang lebih lama (dari 9 jam) untuk dapat mengkonversi secara sempurna sehingga terbentuk produk dilaurin lebih banyak. Sedangkan pada *peak* ketiga yang berada pada waktu retensi 19,9 menit mengindikasikan terdapat kandungan 1,2-Dilaurin ( $C_{27}H_{52}O_5$ ) sebesar 23,57%. 1,2-Dilaurin inilah yang merupakan produk yang ingin dihasilkan dalam penelitian.



## IV.2 REAKSI ESTERIFIKASI-ENZIMATIS

Tahap inti dari penelitian ini ialah pada percobaan reaksi esterifikasi-enzimatis. Tahap ini dibagi menjadi tiga bagian. Variasi yang diberikan pada setiap tahap reaksi ialah sebanyak lima variasi. Suhu operasi yang diberikan pada setiap reaksi ialah sebesar 58<sup>0</sup>C. Suhu optimum bagi lipase *Mucor miehei* untuk dapat berperan sebagai katalis ialah 50<sup>0</sup>C – 60<sup>0</sup>C (Takaaki Watanabe, 2003). Suhu merupakan faktor yang mempengaruhi laju reaksi enzimatik. Kenaikan suhu dalam reaksi enzimatik akan meningkatkan laju reaksi, sehingga jumlah produk yang dihasilkan meningkat. Kenaikan suhu pada batas maksimum akan menyebabkan enzim terdenaturasi (Segel, 1993). Begitu pula dengan derajat keasaman atau pH yang diberikan pada reaksi. Kestabilan lipase bergantung pada derajat keasaman (pH). pH optimum yang dibutuhkan oleh lipase *Mucor miehei* untuk berperan sebagai katalis ialah pada pH 7 (Kristensen dkk, 2005). Kondisi pH yang jauh dari optimum akan menyebabkan inaktivasi, karena terjadi kerusakan struktur protein enzim (Betleheim, 1995).

Produk 1,2(2,3) diasilgliserol atau dilaurin dapat dihasilkan dari reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase *Mucor miehei* karena katalis lipase *Mucor miehei* ini spesifik pada rantai 1 dan 2. Namun, tak menutup kemungkinan bila produk yang terbentuk ialah 1,3-diasilgliserol (Tarigan, 2002). Produk ini dapat terjadi bila katalis tidak beraktifitas dengan baik. Hasil reaksi samping dari reaksi ini ialah air. Air yang terbentuk dapat menghambat kerja katalis lipase *Mucor miehei* (Tarigan, 2002). Berikut ini ialah reaksi esterifikasi-enzimatis yang terjadi antara gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase dalam menghasilkan produk dilaurin ;



Penentuan kondisi optimum ini didapatkan dari uji pengukuran tegangan permukaan serta uji stabilitas emulsi. Dari pengujian ini maka didapatkan kondisi optimum dalam reaksi esterifikasi-enzimatis antar gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase *Mucor miehei* yaitu waktu reaksi optimum, perbandingan mol gliserol dan asam laurat optimum, dan perbandingan jumlah substrat dan jumlah katalis enzim optimum.

Pengukuran tegangan permukaan dilakukan untuk melihat apakah produk dilaurin yang diperoleh dapat menurunkan tegangan permukaan air. Jika dapat menurunkan tegangan permukaan, maka dianggap produk atau sampel tersebut merupakan suatu agen pengemulsi. Data tegangan permukaan air pada kondisi suhu ruang atau 27°C adalah sebesar 70 mN/m (Sibuea, 2003). Data tersebut sesuai dengan percobaan pengukuran tegangan permukaan air yang telah dilakukan. Pengukuran tegangan permukaan dilakukan pada tiap sampel dilaurin yang telah didapatkan pada setiap tahap reaksi. Untuk mengurangi kesalahan yang mungkin terjadi, pengukuran tegangan permukaan pada setiap sampel dilakukan berulang kali sebanyak tujuh kali, dan data yang diambil ialah rata-rata dari ketujuh data tersebut. Percobaan dikatakan berhasil jika penambahan sampel



dilaurin dapat menurunkan tegangan permukaan air (Sibuea, 2003). Pengukuran tegangan permukaan dilakukan dengan alat pengukur tegangan permukaan. Campuran sampel dilaurin dimasukkan kedalam wadah silinder dengan jumlah sampel dilaurin sebesar 15% dari berat air. Jumlah minimum agen pengemulsi yang diberikan pada larutan sebesar 5% (Sibuea, 2003)..

Uji kestabilan emulsi juga dilakukan untuk menguatkan hasil percobaan. Tujuan dari pelaksanaan uji kestabilan emulsi ini ialah untuk melihat apakah sampel dilaurin dapat mengemulsi campuran minyak-air. Data yang diambil pada uji kestabilan emulsi ini adalah waktu yang dibutuhkan sampel dilaurin sebagai agen pengemulsi untuk dapat mengemulsikan campuran minyak-air. Sebagai perbandingan, sebelumnya juga dilakukan uji kestabilan emulsi antara minyak dan air tanpa penambahan sampel agen pengemulsi. Data ini digunakan untuk membandingkan pengaruh yang diberikan dilaurin sebagai agen pengemulsi dalam kestabilan emulsi minyak-air.

Uji kestabilan emulsi dilakukan dengan sistem emulsi o/w, yaitu *oil in water*, atau sistem emulsi di mana tetes-tetes minyak terdispersi dalam air. Pada percobaan yang dilakukan pada tabung reaksi ini, dari 2,5 ml air diberikan 0,5 ml minyak. Sedangkan sampel dilaurin yang diberikan pada campuran minyak-air tersebut ialah sebanyak 0,3 ml (Nakajima, 2004).

Sampel dilaurin yang merupakan suatu agen pengemulsi diharapkan dapat mengemulsi campuran minyak-air tersebut. Keajaiban fenomena agen pengemulsi disebabkan karena agen pengemulsi memiliki ujung nonpolar (yang tidak bermuatan dan memiliki afinitas terhadap minyak, disebut lipofilik), dan ujung polar (yang memiliki muatan dan afinitas terhadap air, disebut hidrofilik). Bagian hidrofilik akan berikatan dengan air dan bagian lipofilik akan berikatan dengan minyak. Hal ini akan membantu kedua fasa (minyak dan air) untuk tetap tercampur membentuk emulsi (Sibuea,2003).

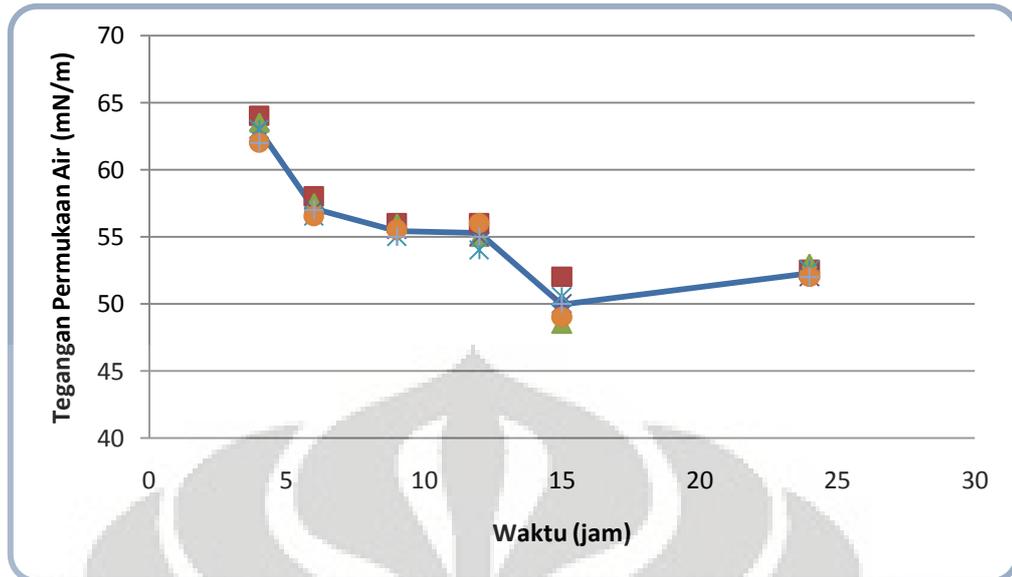
#### **IV.2.1 Pengaruh Waktu dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Gliserol dan Asam Laurat**

Reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase *Mucor miehei* yang pertama kali dilakukan adalah untuk mencari waktu yang diperlukan untuk menghasilkan produk dilaurin terbanyak. Semakin banyak



dilaurin yang dihasilkan dari reaksi esterifikasi-enzimatis, maka semakin besar pula penurunan tegangan permukaan air yang dihasilkan (Nakajima, 2004). Salah satu dari sifat agen pengemulsi adalah dapat menurunkan tegangan permukaan air (Sibuea, 2003). Bila dalam air terkandung agen pengemulsi, molekul-molekul agen pengemulsi tersebut mengalami orientasi dan teradsorpsi pada permukaan larutan dengan gugus hidrofobik menghadap ke udara. Dengan demikian permukaan larutan tertutupi dengan gugus hidrofobik agen pengemulsi. Penurunan tegangan permukaan yang disebabkan gaya kohesif cairan (atau padatan) membesar dengan meningkatnya gaya kohesif. Karena gaya kohesif hidrokarbon lebih kecil daripada air, tegangan permukaan larutan air (yang permukaannya tertutupi oleh gugus hidrofobik dari agen pengemulsi) juga lebih kecil daripada air. Itulah sebabnya tegangan permukaan air menurun dengan penambahan agen pengemulsi (Cornils, 2007).

Variasi waktu yang dilakukan ialah 4 jam, 6 jam, 9 jam, 12 jam, 15 jam, dan 24 jam dengan kondisi yang diberikan pada setiap variasi ialah sama. Persentase katalis yang digunakan terhadap berat substrat (gliserol dan asam laurat) ialah sebesar 1 % dan perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat yang dipakai ialah 1:3 (perbandingan mol stoikiometrik). Berikut ini ialah grafik pengukuran tegangan permukaan air yang diberi sampel dilaurin dari enam variasi waktu yang dilakukan. Pengukuran tegangan permukaan air dilakukan hingga 5 kali untuk mengurangi kesalahan paralaks.



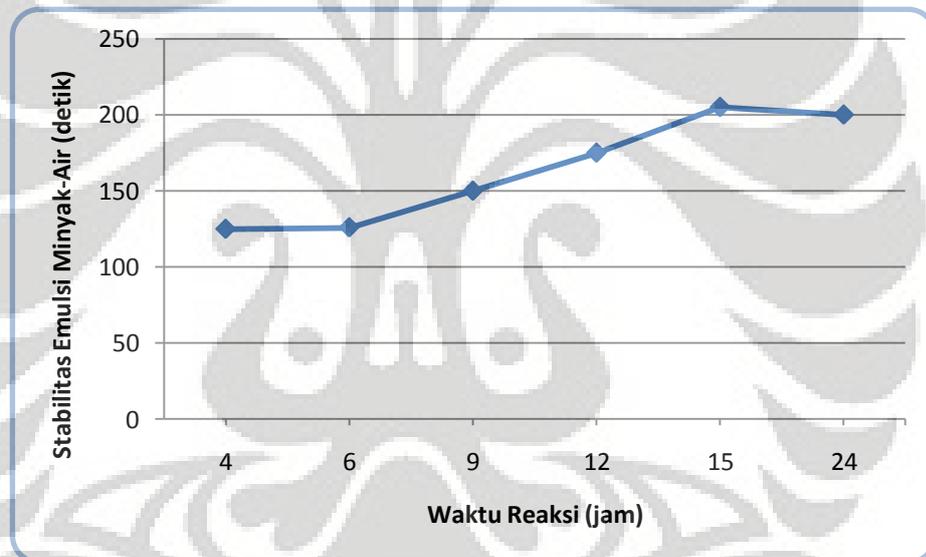
**Gambar 4. 2 Tegangan Permukaan Air-Dilaurin : Variasi Waktu**  
(Keterangan: tegangan permukaan air pada suhu ruang = 70 mN/m)

Terlihat dalam grafik tersebut bahwa dari lama reaksi selama 4 jam hingga 15 jam tegangan permukaan mengalami penurunan terus hingga akhirnya pada reaksi selama 24 jam tegangan permukaan kembali naik. Hal ini diakibatkan dari semakin lama waktu reaksi yang diberikan maka reaksi akan semakin berlangsung sempurna hingga sampai pada titik maksimum dan kemudian untuk waktu yang lebih lama lagi akan terjadi reaksi lain (Roxana Rosu, 1999). Reaksi yang dilakukan selama 24 jam kemungkinan telah terjadi produk lain selain dilaurin yang dimana sifat pengemulsinya telah berkurang. Produk lain tersebut merupakan triasilgliserol. Begitu pula pada produk yang dihasilkan pada waktu reaksi selama 4 jam dimana produk tersebut tidak terlalu dapat menurunkan tegangan permukaan air. Produk yang dihasilkan tersebut kemungkinan ialah monoacilgliserol atau monolaurin dengan jumlah yang tidak banyak. Pada reaksi selama 15 jam tegangan permukaan yang terukur pada air yang diberi dilaurin menunjukkan tegangan permukaan yang paling rendah dari variasi lama waktu reaksi yang lain, sehingga pada waktu inilah yang merupakan waktu reaksi optimum. Hasil yang didapat ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Yu-Chih Yeh. Dalam penelitiannya dikatakan waktu optimum yang digunakan dalam reaksi esterifikasi antara gliserol dan asam laurat untuk



menghasilkan dilaurin dalam jumlah banyak ialah dalam kisaran 9 hingga 18 jam. (Yeh, 1998).

Ketika dilakukan uji kestabilan emulsi, hasil yang didapat dapat menguatkan kesimpulan yang diambil sebelumnya. Ternyata dari uji kestabilan emulsi yang dilakukan pun menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang diberikan oleh sampel dilaurin terhadap kestabilan emulsi campuran minyak-air. Pada uji kestabilan emulsi variasi waktu, (dapat dilihat pada grafik dibawah) terlihat bahwa pada waktu reaksi selama 15 jam, campuran minyak-air dalam sistem o/w (*oil in water*), minyak tersebut mampu terdispersi dalam air dalam waktu yang paling lama diantara waktu reaksi yang lainnya. Ini berarti produk dilaurin yang dihasilkan dalam reaksi esterifikasi-enzimatis merupakan suatu agen pengemulsi.



**Gambar 4.3 Stabilitas Emulsi Minyak-Air (variasi waktu)**

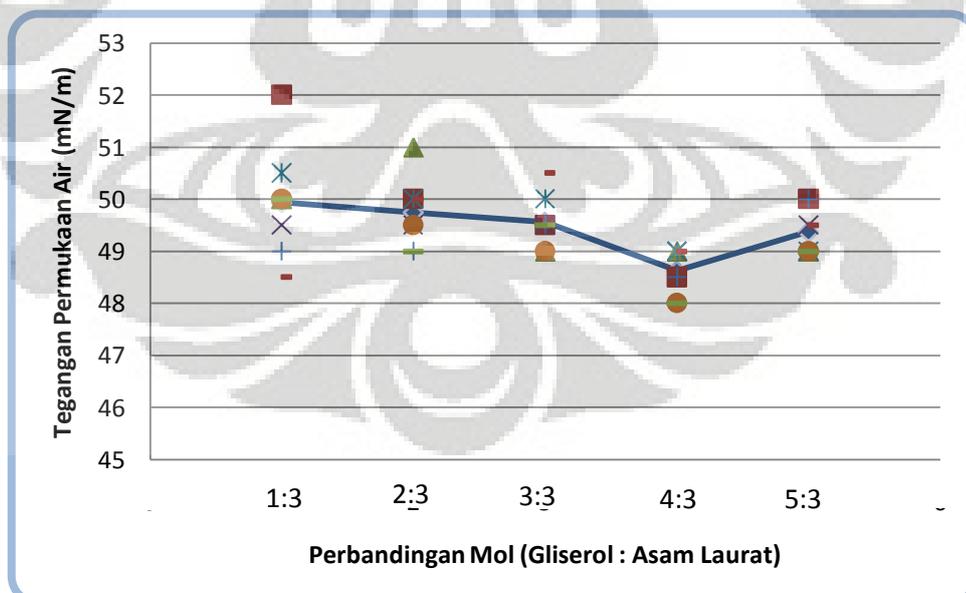
Nilai peningkatan stabilitas emulsi menunjukkan pola yang sama dengan penurunan tegangan permukaan air. Semakin tinggi kemampuan menurunkan tegangan permukaan atau antarmuka maka peningkatan stabilitas emulsi akan semakin tinggi, sebaliknya semakin rendah kemampuan menurunkan tegangan permukaan atau antarmuka maka kemampuan meningkatkan emulsi akan semakin rendah pula (Nakajima, 2004). Data mengenai tegangan permukaan air dan uji emulsi terdapat pada Lampiran C.



#### IV.2.2 Pengaruh Perbandingan Mol Gliserol dan Asam Laurat dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Gliserol dan Asam Laurat

Berdasarkan waktu reaksi optimum yang diperoleh dari tahap reaksi esterifikasi-enzimatis variasi waktu, maka dipakai waktu reaksi selama 15 jam untuk tahap reaksi berikutnya, yaitu variasi perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat. Kondisi reaksi yang lainnya dibuat sama seperti pada reaksi sebelumnya. Pada tahap ini bertujuan untuk mencari nilai optimum perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat dalam reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dan katalis lipase *Mucor miehei*.

Variasi perbandingan mol yang dilakukan antara gliserol dan asam laurat adalah 1:3 ; 2:3 ; 3:3 ; 4:3 ; dan 5:3. Variasi perbandingan mol ini dilakukan karena reaksi esterifikasi-enzimatis yang merupakan reaksi reversibel, sehingga jika jumlah reaktan ditambah maka akan memperbesar jumlah produk (hukum kesetimbangan reaksi reversibel). Berikut ini ialah grafik hasil pengukuran tegangan permukaan air yang diberi sampel dilaurin dari lima variasi perbandingan mol yang dilakukan. Pengukuran tegangan permukaan air dilakukan hingga 6 kali untuk mengurangi kesalahan paralaks.

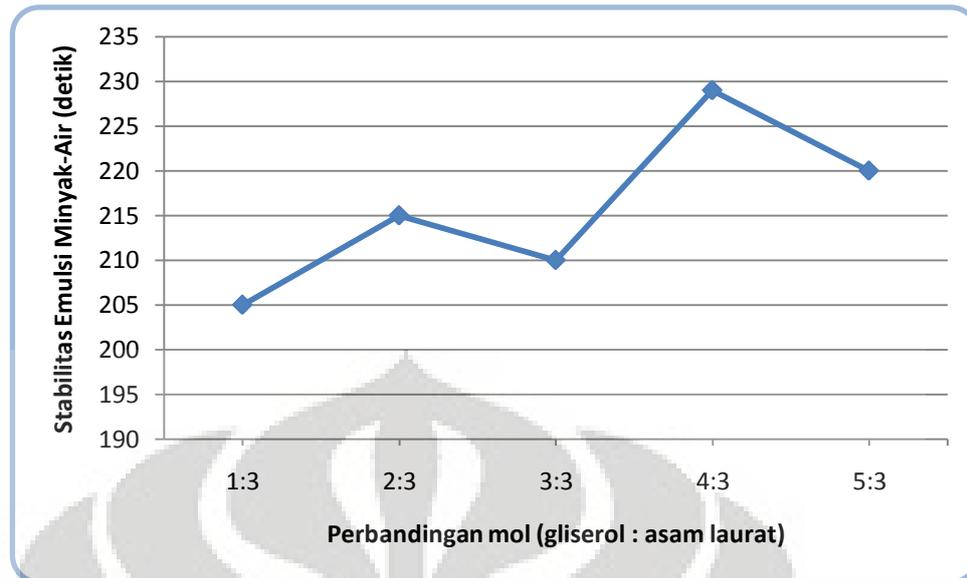


**Gambar 4. 4** Tegangan Permukaan Air : Variasi Perbandingan Mol Reaktan  
(Keterangan: tegangan permukaan air pada suhu ruang = 70 mN/m)



Dari grafik di atas dapat dilihat bahwa tegangan permukaan yang diukur relatif stabil atau perbedaan penurunan tegangan permukaan air tidaklah terlalu besar. Penurunan tegangan permukaan air terjadi pada perbandingan mol gliserol dan asam laurat 1:3 hingga 4:3, kemudian kembali naik pada perbandingan mol 5:3. Hal ini diakibatkan semakin banyak jumlah gliserol yang ditambahkan, maka reaksi esterifikasi-enzimatis yang terjadi akan lebih sempurna. Yu-Chih Yeh, dalam penelitiannya melakukan berbagai variasi perbandingan mol reaktan antara gliserol dan asam laurat ( 10:1; 10:2; 10:4; 10:6; 10:8 dan, 1:1 ). Dikatakan pula bahwa perbandingan mol antara gliserol dan asam lemak dalam reaksi esterifikasi tidak terlalu berpengaruh terhadap produk yang dihasilkan, asalkan perubahan perbandingan mol tersebut berkisar pada perbandingan mol stoikiometriknya yaitu 1 : 3 ( gliserol dan asam laurat). Produk yang dihasilkan dapat mengalami peningkatan hasil jika pada reaksi diberikan kelebihan (*excess*) gliserol (Yeh, 1998). Oleh karena itu, dalam penelitian ini jumlah mol asam laurat yang diberikan dalam reaksi tetap dan yang divariasikan adalah kelebihan gliserolnya. Karena pada hasil percobaan didapatkan pada perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat yang dapat menurunkan tegangan permukaan air adalah 4 : 3, maka pada perbandingan mol inilah yang merupakan kondisi optimumnya.

Ketika dilakukan uji kestabilan emulsi, hasil yang diperoleh dapat menguatkan kesimpulan yang diambil sebelumnya. Pada uji kestabilan emulsi variasi perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat, (dapat dilihat pada gambar di halaman berikutnya) terlihat bahwa pada perbandingan mol gliserol dan asam laurat 4:3, campuran minyak-air dalam sistem o/w (*oil in water*), minyak tersebut mampu terdispersi dalam air dalam waktu yang paling lama diantara waktu reaksi yang lainnya. Mehta dan Shah dalam penelitiannya mengatakan bahwa komposisi dari produk reaksi akan bergantung pada berbagai kondisi operasi, seperti temperatur, waktu, jumlah katalis, serta proporsi dari gliserol dan asam lemak (Shah, 1955). Meskipun begitu, perbedaan tiap variasi gliserol dan asam laurat pada uji kestabilan emulsi ini tidak terlalu besar. Data tegangan permukaan air dan uji emulsinya dapat dilihat pada Lampiran C.

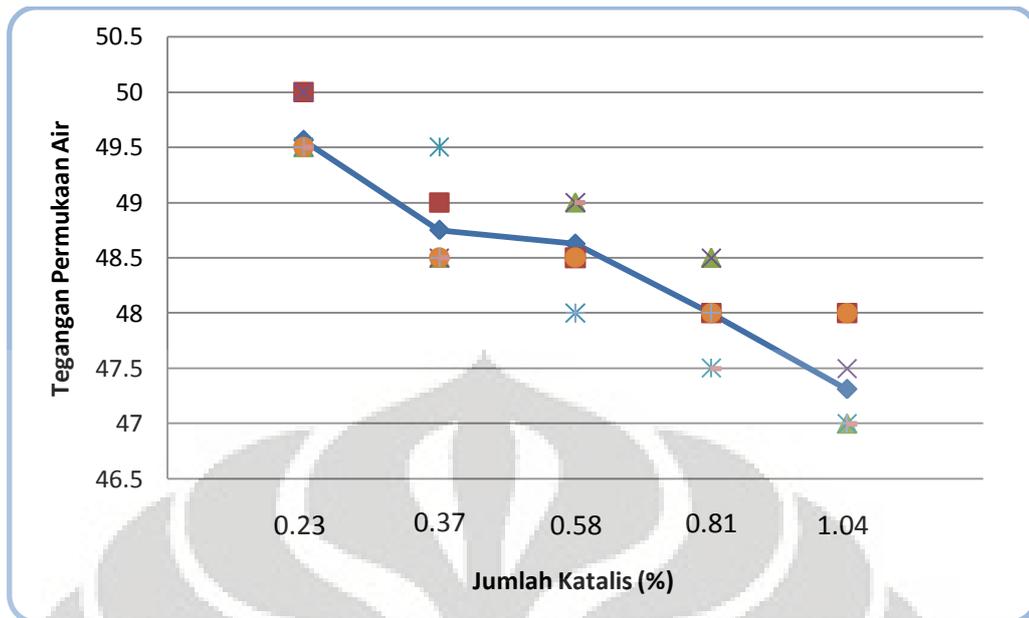


Gambar 4. 5 Stabilitas Emulsi Minyak-Air (variasi perbandingan mol reaktan)

#### IV.2.4 Pengaruh Jumlah Katalis Lipase dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Gliserol dan Asam Laurat

Berdasarkan waktu reaksi optimum dan perbandingan mol gliserol dan asam laurat optimum yang didapatkan dari tahap percobaan sebelumnya, maka dipakai waktu reaksi 15 jam dan perbandingan mol gliserol dan asam laurat sebesar 4:3 untuk reaksi esterifikasi-enzimatis tahap ketiga. Tujuan dari percobaan tahap ini ialah untuk melihat pengaruh terhadap dilaurin yang dihasilkan dari perbedaan jumlah katalis enzim yang diberikan dan mencari nilai persentase katalis terhadap substrat yang optimum.

Perbandingan jumlah substrat dan jumlah katalis enzim lipase yang dipakai pada percobaan ini ialah dengan memakai persentase (berat) jumlah katalis *Mucor miehei* terhadap jumlah substrat (massa gliserol dan asam laurat). Variasi persentase katalis *Mucor miehei* yang dipakai yaitu 0,23% ; 0,37% ; 0,58% ; 0,81% ; dan 1,04 %. Berikut ini ialah grafik penurunan tegangan permukaan air dari masing-masing variasi. Pengukuran tegangan permukaan air dilakukan hingga 5 kali untuk mengurangi kesalahan paralaks.



**Gambar 4. 6 Pengaruh Jumlah Katalis dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis**  
(Keterangan: tegangan permukaan air pada suhu ruang = 70 mN/m)

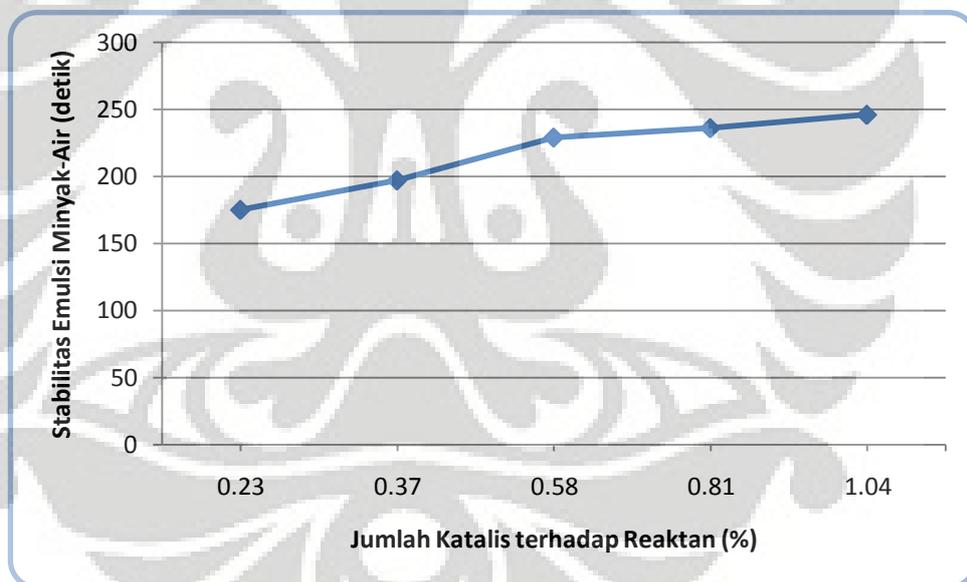
Dari grafik di atas terlihat adanya pengaruh cukup besar yang ditimbulkan dari perbedaan persentase katalis yang dipakai terhadap jumlah substrat. Pada persentase katalis sebesar 0,23%, tegangan permukaan terukur dari air yang diberi sampel ini ialah sebesar 49,56 mN/m. Sedangkan pada persentase katalis sebesar 1,04%, tegangan permukaan yang terukur ialah sebesar 47,31 mN/m. Dapat dilihat pada grafik tersebut bahwa tegangan permukaan terus menurun seiring dengan bertambah besarnya persentase katalis lipase *Mucor miehei*. Hal ini dapat disimpulkan bahwa semakin banyak jumlah katalis yang diberikan maka produk dilaurin tersebut akan semakin banyak, karena dapat menurunkan tegangan permukaan air dengan lebih efektif. Semakin banyak jumlah katalis yang ditambahkan kedalam reaksi esterifikasi, hingga mencapai jumlah optimumnya, maka akan semakin mempercepat reaksi dan mampu menghasilkan produk yang lebih baik, namun ketika jumlah katalis tersebut ditambahkan lagi, produk yang dihasilkan akan tetap jumlahnya (Ardhian, 1998). Pada penelitian ini, didapatkan persentase berat katalis lipase optimum terhadap berat reaktan ialah sebesar 1,04%.

Menurut Novo Nordisk Bioindustrial Ltd. selaku salah satu produsen lipase *Rhizomucor miehei*, jumlah penggunaan lipase pada reaksi esterifikasi ialah



sebesar 5-10% (b/b substrat). Hasil penelitian Ardhian menunjukkan bahwa konsentrasi lipase *Mucor miehei* yang optimal pada reaksi esterifikasi ialah sebesar 2% (b/b substrat). Jika dibandingkan dengan referensi, sebuah agen pengemulsi mampu menurunkan tegangan permukaan hingga 25 mN/m (Ardhian, 1998). Pada jumlah katalis sebesar 5% dari jumlah reaktan, agen pengemulsi dilaurin mampu untuk menurunkan tegangan permukaan hingga nilai 20-30 mN/m (Nakajima, 2004).

Uji kestabilan emulsi juga dilakukan untuk menguatkan hasil percobaan. Pada uji kestabilan emulsi variasi jumlah katalis, (dapat dilihat pada tabel dibawah) terlihat bahwa pada jumlah katalis sebesar 1,08% (terhadap substrat gliserol dan asam laurat), campuran minyak-air dalam sistem o/w (*oil in water*), minyak tersebut mampu terdispersi dalam air dalam waktu yang paling lama diantara waktu reaksi yang lainnya. Data tegangan permukaan air dan uji emulsinya dapat dilihat pada Lampiran C.



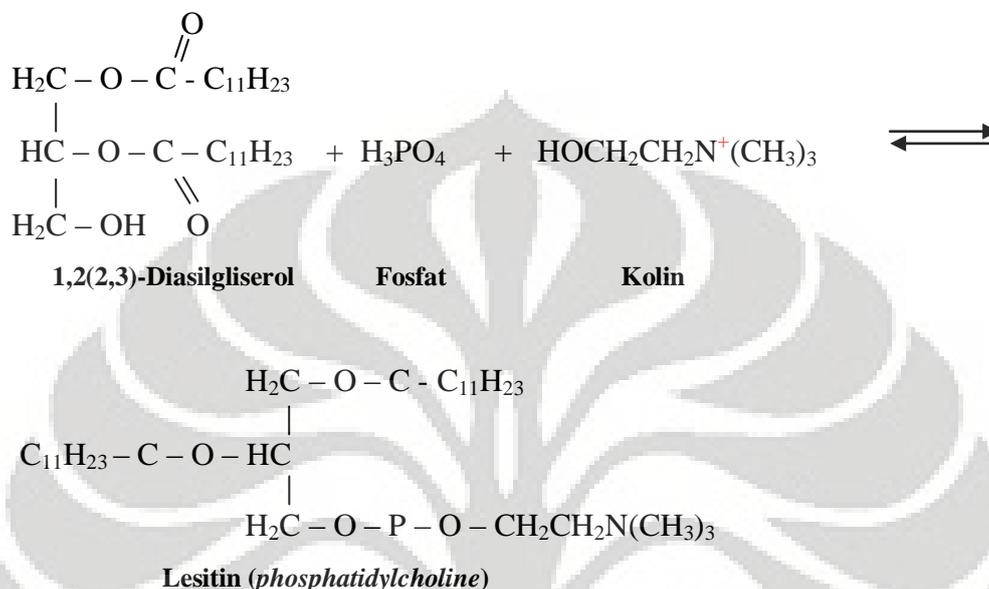
Gambar 4. 7 Stabilitas Emulsi Minyak-Air (variasi jumlah katalis)

#### IV.3 PEMBUATAN LESITIN

Kondisi optimum yang didapatkan dari reaksi yang dilakukan sebelumnya kemudian dipakai untuk menghasilkan produk dilaurin. Namun reaktan yang digunakan dalam reaksi esterifikasi-enzimatis ini menggunakan gliserol dan asam lemak (yang mengandung asam laurat) hasil dari hidrolisis minyak goreng.



Produk dilaurin ini kemudian dipakai untuk membuat atau mensintesis lesitin (*phosphatidylcholine*) yang merupakan produk akhir yang diinginkan dari penelitian ini. Berikut ini ialah reaksi yang terjadi antara dilaurin, kolin dan fosfat dalam menghasilkan lesitin.

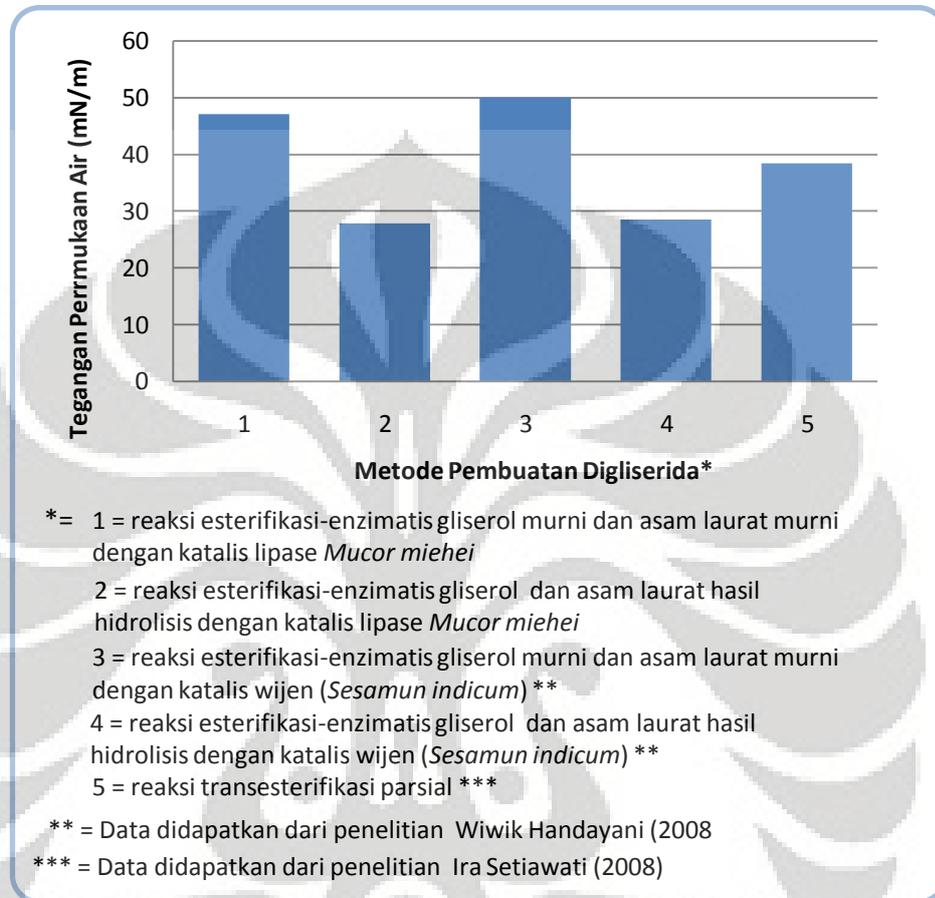


Sebelum dilakukan sintesis lesitin, dilaurin yang akan digunakan (dilaurin yang dihasilkan dari reaktan hasil hidrolisis minyak goreng) dilakukan uji tegangan permukaan untuk memastikan bahwa dilaurin tersebut memiliki sifat sebagai agen pengemulsi (mampu menurunkan tegangan permukaan air). Ternyata, dari uji tegangan permukaan yang dilakukan di LIPI Serpong, didapatkan nilai tegangan permukaan sebesar 27,84 mN/M. Hal ini membuktikan bahwa dilaurin tersebut merupakan suatu agen pengemulsi.

Terdapat beberapa metode untuk menghasilkan digliserida, dan setiap metode ini akan dibandingkan hasil pengukuran tegangan permukaannya pada air. Metode yang akan dibandingkan disini ialah; digliserida hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol murni dan asam laurat murni dengan katalis lipase *Mucor miehei* ; digliserida hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat (hasil hidrolisis minyak goreng) dengan katalis lipase *Mucor miehei* ; digliserida hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol murni dan asam laurat murni dengan katalis wijen (*sesamun indicum*) ; digliserida hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat (hasil hidrolisis minyak goreng) dengan katalis



wijen (*sesamun indicum*); dan digliserida hasil transesterifikasi parsial. Berikut ini ialah grafik tegangan permukaan air yang diberi digliserida pada setiap metode. Data lengkap dapat dilihat pada Lampiran C.



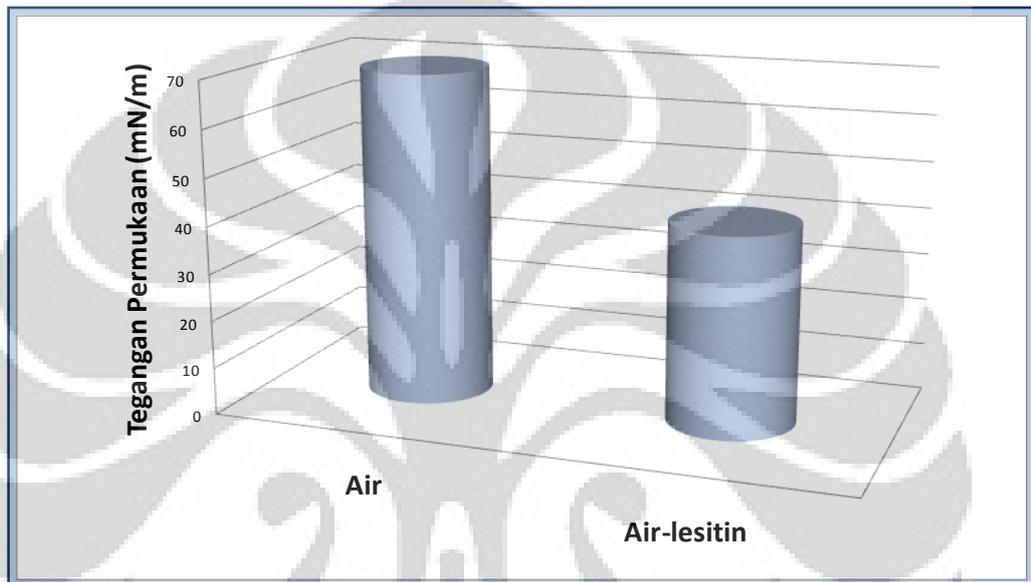
**Gambar 4. 8 Tegangan Permukaan Air-Digliserida dari 5 Metode**

Dari grafik tersebut dapat terlihat perbedaan nilai tegangan permukaan air yang diberi dilaurin pada setiap metode. Berdasarkan grafik, metode yang dapat menghasilkan digliserida terbaik (dapat menurunkan tegangan permukaan air paling besar) ialah reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat, dimana gliserol dan asam laurat yang dipakai ialah hasil dari hidrolisis minyak goreng (hasil penelitian Ira Setiawati, 2008). Digliserida hasil metode inilah yang kemudian dipakai untuk sintesis lesitin.

Lesitin yang diinginkan ini merupakan suatu agen pengemulsi yang merupakan suatu produk komersial (Wikipedia). Reaksi sintesis lesitin dilakukan dalam tekanan atmosferik dengan suhu sebesar 50°C (Han & Ree, 1998). Sampel



lesitin yang didapat ini kemudian dilakukan uji tegangan permukaan. Tujuannya ialah untuk mengetahui apakah sampel lesitin tersebut dapat bersifat sebagai agen pengemulsi. Dari hasil uji tersebut, sampel lesitin tersebut dapat menurunkan tegangan permukaan air sebesar 42,04 mN/m. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa sampel memiliki sifat sebagai agen pengemulsi. Berikut ini ialah grafik penurunan tegangan permukaan air yang diberi agen pengemulsi lesitin.



**Gambar 4. 9 Tegangan Permukaan Air-Lesitin**

Pada grafik tersebut, bar kiri menunjukkan tegangan permukaan air yang terukur pada suhu ruangan ialah sebesar 70 mN/m. Sedangkan bar kanan menunjukkan pengukuran tegangan permukaan air yang diberi agen pengemulsi lesitin. Karena adanya penurunan tegangan permukaan yang cukup besar, maka dapat disimpulkan sampel tersebut (lesitin) merupakan suatu agen pengemulsi.



## BAB V

### KESIMPULAN

Dari percobaan yang telah dilakukan dan hasil-hasil analisis yang didapatkan, maka disimpulkan bahwa:

1. Waktu reaksi optimum dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat ialah selama 15 jam. Tegangan permukaan air sebesar 49,93 mN/m dan stabilitas emulsi minyak-air selama 3 menit 25 detik.
2. Perbandingan mol gliserol dan asam laurat optimum dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat ialah 4:3. Tegangan permukaan air sebesar 48,63 mN/m dan stabilitas emulsi minyak-air selama 3 menit 29 detik.
3. Persentase berat katalis lipase (*Mucor miehei*) terhadap substrat (gliserol dan asam laurat) optimum dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat ialah sebesar 1%. Tegangan permukaan air sebesar 47,3 mN/m dan stabilitas emulsi minyak-air selama 4 menit 6 detik.
4. Sampel yang dihasilkan dari sintesis lesitin merupakan suatu agen pengemulsi karena dapat menurunkan tegangan permukaan air hingga 42,04 mN/m



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, *Kelapa Sawit*, [www.wikipedia.co.id](http://www.wikipedia.co.id). Diakses tanggal 6 Maret 2007.
- Anonim, *Ingin Awet Muda? Minum Sari Kedelai*. [www.infosehat.com/news.php](http://www.infosehat.com/news.php). Diakses tanggal 4 April 2007.
- Anonim, *Phosphatidylcholine and Related Lipids: Structure, Occurrence, Biochemistry, and Analysis*. [www.w3.org](http://www.w3.org). Diakses tanggal 15 Maret 2007.
- Anonim, *Hydrophilic Lipophilic Balance*, [www.en.wikipedia.org](http://www.en.wikipedia.org). Diakses tanggal 29 Mei 2007.
- Anonim, *Emulsion Optimization by Use of Phase Inversion Temperature (PIT)*, [www.zenitech.com](http://www.zenitech.com). Diakses tanggal 29 Mei 2007.
- Ardhian, 1998, *Pemurnian, Karakterisasi dan Studi Esterifikasi Enzim Lipase*. Universitas Airlangga : Surabaya.
- Carneiro-da-Cunha, M.G., et al., 1994, *Recovery of recombinant cutinase with reversed micelles in a continuous perforated disc contactor*, *Biotechnology Technic*, Vol. 8, pp. 413-418.
- Christie, W.W., 1988, *Separation of Molecular Species of Triacylglycerols by High-Performance liquid Chromatography with a Silver Ion Column*, *J. Chromatograph*, pp 454:273-284
- Cornils, Boy, et al. *Introduction to Surfactants*. [http://media.wiley.com/product\\_data/excerpt](http://media.wiley.com/product_data/excerpt) (20 Februari 2007)
- Fessenden, Fessenden, 1990, *Organic Chemistry*, edisi keempat, Brooks Cole Publishing Company, Pacific Grove, California.
- Han, J.J. dan Joon Schick Rhee, 1998, *Effect of Salt Hydrate Pairs for Pater Activity Control on Lipase-catalyzed Synthesis of Lysophospholipids in a Solvent-free System*, *Enzyme and Microbial Technology* 22, pp 158-164.
- Handayani, Wiwik., 2008, *Pemanfaatan Biji Wijen Sebagai Sumber Enzim Lipase Untuk Reaksi Esterifikasi Gliserol dan Asam Laurat Pada Pembuatan Agen Pengemulsi*, Depok : Universitas Indonesia.
- Karmee, S.K., et al., 2006, *Kinetics of Base Catalysed Transesterification of Triglycerides from Pongamia Oil*. *JAOCS* 83, 873–877, No. J11302.



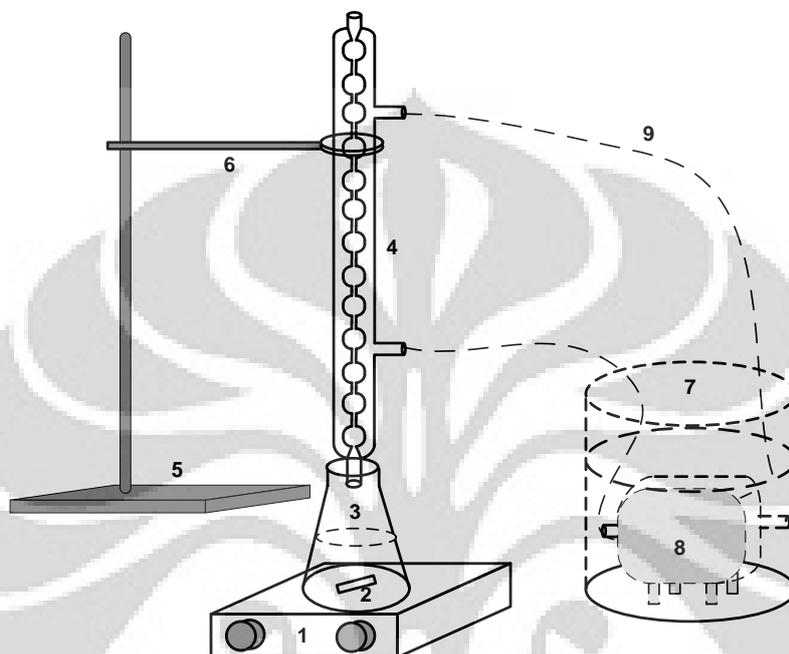
- Kent, C., 2005, *Regulatory enzymes of phosphatidylcholine biosynthesis: a personal perspective. Biochim. Biophys. Acta*, 1733, pp 53-66
- Ketaren, S., 1986, *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*, Jakarta : Universitas Indonesia.
- Kim, J. dan Byung-Gee Kim, 2000, *Lipase-Catalyzed Synthesis of Lysophosphatidylcholine Using Organic Cosolvent for in situ Water Activity Control*, JAOCS, Vol. 77, No. 7, pp 791-797.
- Klibanov, A.M., 1997, *Why are enzymes less active in organic solvents than in water?*, TIBTECH, Vol. 15, pp. 97-101.
- Konvertiert vom Dissertationen Online Team im CCC der Universität Erlangen, *Chapter-1 Introduction: Lecithin-an Agen pengemulsi for Parenteral Use*, [www2.chemie.uni-erlangen.de](http://www2.chemie.uni-erlangen.de). Diakses tanggal 3 April 2007.
- Kristensen, Janni Brogaard., et al., 2005, *Diacylglycerol Synthesis by Enzymatic Glycerolysis: Screening of Commercially Available Lipases*. Biochemistry and Nutrition Group:Denmark
- May, C. Y., 2004, *Transesterification of Palm Oil: Effect of Reaction Parameters*, Journal of Oil Palm Research Vol. 16 No. 2, December 2004, p. 1-1.
- Nakajima, Yoshinobu, 2004, *Water-Retaining Ability of Diacylglycerol*. Kao Corporation, Tokyo : Japan.
- Noureddini, H. dan Zhu, D., 1997, *Kinetics of Transesterification of Soybean Oil*, JAOCS, Vol 74, no.11.
- Pasaribu, N., 2004, *Minyak Buah Kelapa Sawit*, Sumatera Utara: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Rahmat, S., *Prospek Pengembangan Produk Sawit*, [www.Tribun-timur.com](http://www.Tribun-timur.com). Diakses tanggal 6 Maret 2007.
- Richter, P., et al., 1996, *Immobilized Enzyme Reactors. Diffusion/Convection, Kinetics, and a Comparison of Packed-Column and Rotating Bioreactors for Use in Continuous-Flow Systems*, Analytical Chemistry, Vol. 68, No. 10, pp. 1701-1705.



- Rosu, Roxana., et al., 1999, *Enzymatic Synthesis of Symmetrical 1,3-Diacylglycerols by Direct Esterification of Glycerol in Solvent-Free System*. Nagoya University, Nagoya : Japan.
- Sarney, D.B., Giuseppe F. dan Evgeny N.V., 1994, *Lipase-Catalyzed Synthesis of Lysophospholipids in a Continuous Bioreactor*, JAOCS, Vol. 71, No. 1, pp. 93-96.
- Schuchardt, U., et al, 1997, *Transesterification of Vegetable Oil:A Review*, J. Braz. Chem. Soc., Vol. 9, No. 1, 199-210, 1998.
- Setiawati, Ira., 2008, *Asam Propionat Sebagai Displacing Acid pada Reaksi Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit dengan Menggunakan Katalis Asam Sulfat*, Depok : Universitas Indonesia.
- Sibuea, P., 2003, *Agen pengemulsi, Senyawa Ajaib dalam Industri Makanan*. Kompas.
- Shah, T.N. Mehta, 1955, *Glycerolysis of Coconut, Sesame, and Linseed Oils. Fractionation of the Products with Alcohol and Urea*. Nagpur University, Nagpur : India.
- Suryana, A., et al, 2005, *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Kelapa Sawit di Indonesia*, Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian Republik Indonesia.
- Tarigan, J. B., 2002, *Ester Asam Lemak*, Sumatera Utara: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Virto, C. dan Patrick Adlercreutz, 2000, *Lysophosphatidylcholine synthesis with Candida antarctica lipase b (Novozym 435)*, *Enzyme and Microbial Technology* 26, pp. 630-635.
- Watanabe, Takaaki., et al., 2000, *Optimization of Reaction Conditions for the Production of DAG Using Immobilized 1,3-Regiospecific Lipase Lipozyme RM IM..* Kao Corporation: Jepang.
- Yeh, Yu Cih., Erdogan Gulari, 1998 *Enzymatic Glyceride Synthesis in a Foam Reactor*. University of Michigan, Ann Arbor : Michigan.

## LAMPIRAN A

### SKEMA PENELITIAN :



**Keterangan :**

1. Hot Plate;
2. Magnetic Stirrer;
3. Erlenmeyer;
4. Kondenser;
5. Statif;
6. Gagang Statif;
7. Tupper ware;
8. Pompa;
9. Selang

### FOTO-FOTO PENELITIAN :



Beberapa bahan yang dipakai dalam penelitian



**Rangkaian alat yang dipakai dalam penelitian**



**Tensiometer pengukur tegangan permukaan**



**Sampel penelitian**



**Sampel penelitian**

## LAMPIRAN B

### Kondisi operasi Unit GC/MS

GC-2010		GCMS-QP2010	
Column Oven Temp.	150.0 oC	Ion source temp.	250.0 oC
Injection Temp.	280.0 oC	Interface temp.	280.0 oC
Injection mode	Split	Solvent cut time	3.00 min
Flow control mode	Linear velocity	Detector gain mode	Relative
Pressure	100.0 kPa	Detector gain	0.00 kV
Total flow	57.1 mL/min	Threshold	1000
Column flow	1.08 mL/min	[MS Table]	
Linear velocity	39.5 cm/sec	Group	1
Purge flow	2.0 mL/min	Start time	3.00 min
Split ratio	50	End time	27.00 min
High pressure injection	OFF	ACQ mode	Scan
Carrier gas saver	OFF	Interval	0.50 sec
Splitter hold	OFF	Scan speed	1428
Equilibrium time	3 min	Start m/z	45
		End m/z	700
		Sample inlet unit	GC

### Hasil analisis GC/MS dari sampel

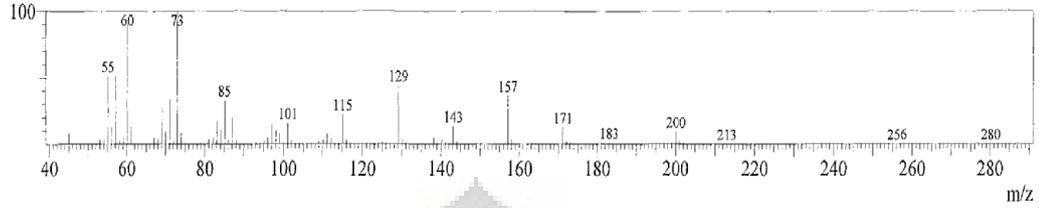
#### Peak Table

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	Name
1	6.188	5.800	6.208	724425307	66.48	62901393	54.82	Lauric acid
2	19.647	19.433	19.750	108430739	9.95	15721915	13.70	Glycerol 2-laurate
3	19.904	19.750	21.008	256852959	23.57	36122470	31.48	C27 H52 O5 (1,2-Dilaurin)
				1089709005	100.00	114745778	100.00	

## Peak teridentifikasi

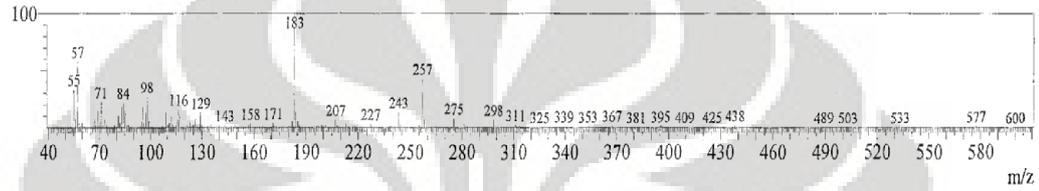
Spectrum

Peak#:1 R.Time:6.2(Scan#:383)  
MassPeaks:146 BasePeak:73(7803768)



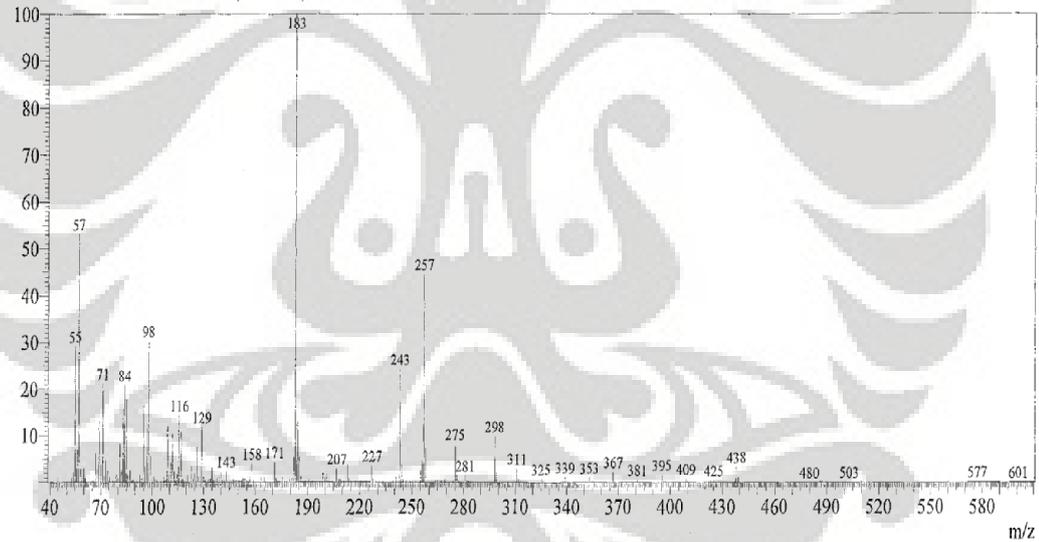
Spectrum

Peak#:2 R.Time:19.7(Scan#:1999)  
MassPeaks:324 BasePeak:183(2299531)



Spectrum

Peak#:3 R.Time:19.9(Scan#:2030)  
MassPeaks:325 BasePeak:183(5239993)



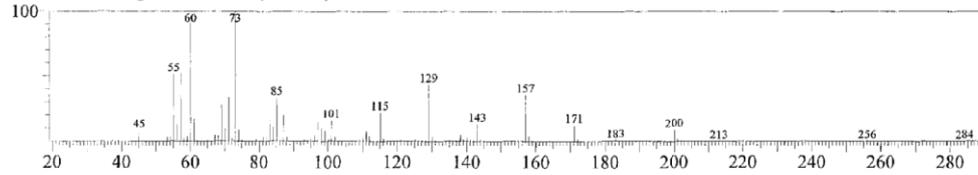
## Peak Library (referensi)

### Library Search

<< Target >>

Line#:1 R.Time:6.183(Scan#:383) MassPeaks:149 BasePeak:73.05(7805371)

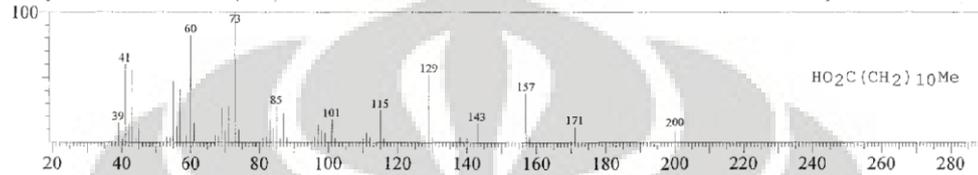
RawMode:Averaged 6.175-6.192(382-384) BG Mode:Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:95895 Library:WILEY7.LIB

SI:97 Formula:C12 H24 O2 CAS:143-7-7 MolWeight:200 RetIndex:0

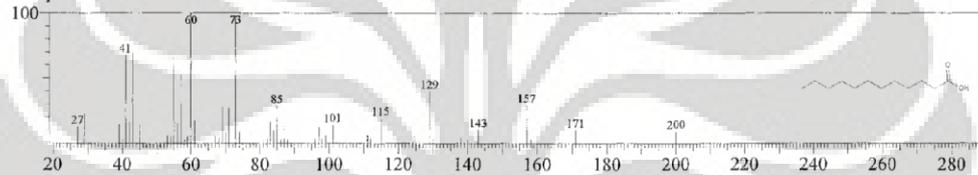
CompName:Dodecanoic acid (CAS) Lauric acid SS Abl \$\$ Neo-fat 12 \$\$ Vulvic acid \$\$ Univol u-314 \$\$ Aliphatic no. 4 \$\$ Neo-fat



Hit#:2 Entry:16285 Library:NIST27.LIB

SI:96 Formula:C12H24O2 CAS:143-7-7 MolWeight:200 RetIndex:0

CompName:Dodecanoic acid

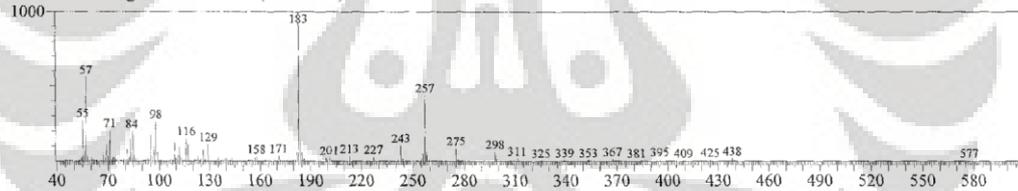


### Spectrum Comparison

Spectrum1 #Data# Dilaurin05.qgd R.Time:19.650(Scan#:1999)

MassPeaks:255 BasePeak:183.10(1000)

RawMode:Averaged 19.642-19.658(1998-2000) BG Mode:Calc. from Peak



Spectrum2 #Library# WILEY7.LIB Entry:184642 Formula:C15 H30 O4 CAS:1678-45-1 MolWeight:274 RetIndex:0

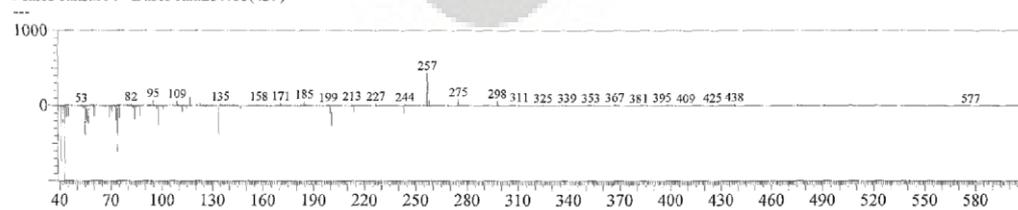
MassPeaks:50 BasePeak:43.00(1000)

CompName:Dodecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester (CAS) 2-Monolaurin \$\$ Laurin, 2-mono- \$\$ .beta.-Monolaurin \$\$ Glycerol 2-



Spectrum3 #Calculation Result#

MassPeaks:264 BasePeak:257.10(439)



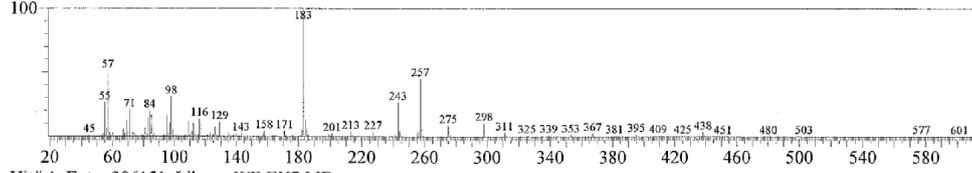
## Peak Library (referensi)

### Library Search

<< Target >>

Line#:1 R.Time:19.908(Scan#:2030) MassPeaks:312 BasePeak:183.10(3743544)

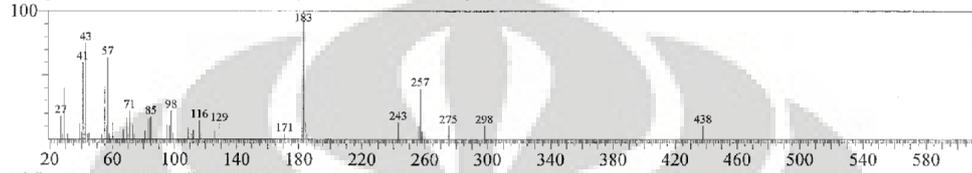
RawMode:Averaged 19.900-19.917(2029-2031) BG Mode:Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:306151 Library:WILEY7.LIB

SI:91 Formula:C27H52O5 CAS:17598-94-6 MolWeight:456 RetIndex:0

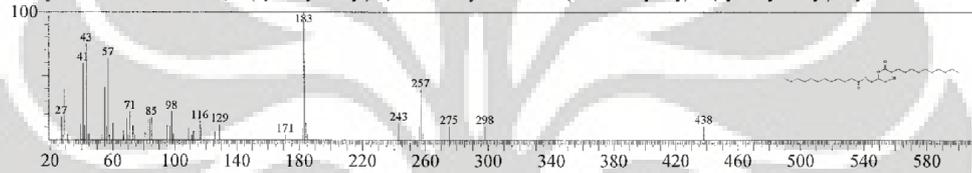
CompName:DODECANOIC ACID, 1-(HYDROXYMETHYL)-1,2-ETHANEDIYL ESTER \$\$



Hit#:2 Entry:137821 Library:NIST147.LIB

SI:91 Formula:C27H52O5 CAS:17598-94-6 MolWeight:456 RetIndex:0

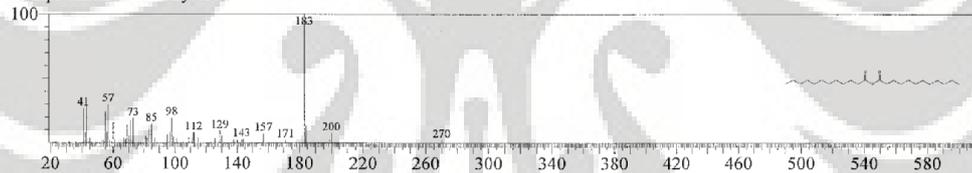
CompName:Dodecanoic acid, 1-(hydroxymethyl)-1,2-ethanediyl ester \$\$ 2-(Dodecanoyloxy)-1-(hydroxymethyl)ethyl laurate # \$\$



Hit#:3 Entry:26234 Library:NIST27.LIB

SI:73 Formula:C24H46O3 CAS:645-66-9 MolWeight:382 RetIndex:0

CompName:Lauric anhydride



## LAMPIRAN C

**Tabel Nilai Tegangan Permukaan dari Variasi Waktu**

4 jam	6 jam	9 jam	12 jam	15 jam	24 jam	
64	58	56	56	52	52.5	(mN/m)
63.5	57.5	56	55	48.5	53	(mN/m)
63	57	55.5	55	50	52	(mN/m)
63	57	55	56	49.5	52	(mN/m)
63	56.5	55	54	50.5	52.5	(mN/m)
62	56.5	55.5	56	49	52	(mN/m)
62	57	55	55	50	52	(mN/m)
<b>62.92857</b>	<b>57.07143</b>	<b>55.42857</b>	<b>55.28571</b>	<b>49.92857</b>	<b>52.28571</b>	<b>(mN/m)</b>

**Tabel Uji Kestabilan Emulsi Variasi Waktu**

T (jam)	Uji Kestabilan Emulsi (menit:detik)
4	2:05
6	2:06
9	2:30
12	2:55
<b>15</b>	<b>3:25</b>
24	3:20

**Tabel Nilai Tegangan Permukaan dari Variasi Perbandingan Mol antara Gliserol dan Asam Laurat**

1:3	2:3	3:3	4:3	5:3	
52	50	49.5	48.5	50	(mN/m)
50	51	49	49	49	(mN/m)
49.5	49.5	49.5	49	49.5	(mN/m)
50.5	50	50	49	49	(mN/m)
50	49.5	49	48	49	(mN/m)
49	49	49.5	48.5	50	(mN/m)
48.5	50	50.5	49	49.5	(mN/m)
50	49	49.5	48	49	(mN/m)
<b>49.9375</b>	<b>49.75</b>	<b>49.5625</b>	<b>48.625</b>	<b>49.375</b>	<b>(mN/m)</b>

**Tabel Uji Kestabilan Emulsi Variasi Perbandingan Mol antara Gliserol dan Asam Laurat**

Rasio mol (gli:laurat)	Uji Kestabilan Emulsi (menit:detik)
1:3	3:25
2:3	3:35
3:3	3:30
<b>4:3</b>	<b>3:49</b>
5:3	3:40

**Tabel Nilai Tegangan Permukaan dari Variasi Jumlah Katalis**

0.23%	0.37%	0.58%	0.81%	1.04%	
50	49	48.5	48	48	(mN/m)
49.5	48.5	49	48.5	47	(mN/m)
50	48.5	49	48.5	47.5	(mN/m)
49	49	49	48	47	(mN/m)
49.5	49.5	48	47.5	47	(mN/m)
49.5	48.5	48.5	48	48	(mN/m)
49.5	48.5	49	47.5	47	(mN/m)
49.5	48.5	48	48	47	(mN/m)
<b>49.5625</b>	<b>48.75</b>	<b>48.625</b>	<b>48</b>	<b>47.3125</b>	<b>(mN/m)</b>

**Tabel Uji Kestabilan Emulsi Variasi Jumlah Katalis**

Katalis (%)	Uji Kestabilan Emulsi (menit:detik)
0.23	2:55
0.37	3:17
0.58	3:49
0.81	3:54
<b>1.04</b>	<b>4:06</b>

**Tabel Tegangan Permukaan Air-Digliserida dari 5 Metode**

1	2	3	4	5
47	28.1	50	27	38.2
47.5	27.8	50	30	38.6
47	27.6	50	28,5	38.2
47	28	50	29,6	38
47	27.7	50	30,7	38.7
47.1	27.84	50	28.5	38.34

**Metode:**

1. digliserida hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol murni dan asam laurat murni dengan katalis lipase *Mucor miehei* ;
2. digliserida hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat (hasil hidrolisis minyak goreng) dengan katalis lipase *Mucor miehei* ;
3. digliserida hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol murni dan asam laurat murni dengan katalis wijen (*sesamun indicum*) ;
4. digliserida hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat (hasil hidrolisis minyak goreng) dengan katalis wijen (*sesamun indicum*); dan
5. digliserida hasil transesterifikasi parsial

**Tabel Tegangan Permukaan Air-Lesitin**

Tegangan Permukaan Air-Lesitin (mN/m)
38.2
38.6
38.2
38
38.7

## LAMPIRAN D

### PEMBUATAN BUFFER PHOSPHATE pH 7 0,1 M

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan buffer phosphate 0.1 M pH 7. Pembuatan buffer *phosphate* 0,1 M pH 7 dilakukan dengan mencampurkan larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1 M dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1 M. Prosedur pembuatan buffer *phosphate* ini yaitu dengan menggunakan teori persamaan Henderson-Hasselbalch.

Perhitungan buffer phosphate pH 7 0,1 M:

Larutan dibuat dengan mencampurkan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1 M dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1 M. Ingin diketahui berapa jumlah volume masing-masingnya.

Diketahui  $K_a \text{H}_2\text{PO}_4^- = 6,3 \times 10^{-8}$

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  sebagai a (asam), dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  sebagai g (garam)

pH yang diinginkan = 7 maka  $\text{H}^+ = 10^{-7}$

$$\text{H}^+ = K_a \times \frac{a}{g \times e}$$

$$10^{-7} = 6,3 \times 10^{-8} \times \frac{a(\text{ml})}{g(\text{ml}) \times 2}$$

$$\frac{a(\text{ml})}{g(\text{ml})} = 3,1746$$

Maka  $a(\text{ml}) = 3,1746 \times g(\text{ml})$

diambil  $g = 5 \text{ ml}$

$$a(\text{ml}) = 15,87 \text{ ml}$$