

**PEMANFAATAN BIJI WIJEN SEBAGAI SUMBER
ENZIM LIPASE UNTUK REAKSI ESTERIFIKASI
GLISEROL - ASAM LAURAT PADA PEMBUATAN
AGEN PENGEMULSI**

SKRIPSI

Oleh

WIWIK HANDAYANI

04 04 06 064 Y



**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA
GENAP, 2007/2008**

**PEMANFAATAN BIJI WIJEN SEBAGAI SUMBER
ENZIM LIPASE UNTUK REAKSI ESTERIFIKASI
GLISEROL - ASAM LAURAT PADA PEMBUATAN
AGEN PENGEMULSI**

SKRIPSI

Oleh

WIWIK HANDAYANI

04 04 06 064 Y

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



**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK UNIVERSITAS INDONESIA
GENAP, 2007/2008**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul :

PEMANFAATAN BIJI WIJEN SEBAGAI SUMBER ENZIM LIPASE UNTUK REAKSI ESTERIFIKASI GLISEROL - ASAM LAURAT PADA PEMBUATAN AGEN PENGEMULSI

Yang dibuat untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Kimia Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia, sejauh yang saya ketahui, skripsi ini 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, Juli 2008

Wiwik Handayani

NPM.040406064Y

PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

PEMANFAATAN BIJI WIJEN SEBAGAI SUMBER ENZIM LIPASE UNTUK REAKSI ESTERIFIKASI GLISEROL - ASAM LAURAT PADA PEMBUATAN AGEN PENGEMULSI

Oleh

Wiwik Handayani

040406064Y

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

Depok, Juli 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

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr.Wb

Segala puji dan syukur bagi Allah SWT, Rabb semesta alam - Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, atas segala limpahan berkah dan rahmat -Nya.

Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Rasulullah SAW, uswatun hasanah seluruh manusia.

Alhamdulillah, penulis dapat menyelesaikan makalah skripsi ini tepat waktu setelah sekian lama berjuang dalam pembuatannya. Penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Ibu Tania Surya Utami ST, MT dan Ibu Ir. Rita Arbianti, MSi selaku dosen pembimbing, atas bimbingan, ilmu, diskusi dan nasehatnya dalam pembuatan makalah skripsi ini dalam 6 bulan terakhir. Selain itu, penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu & Bapakku tersayang atas doa dan usaha yang tak mungkin terbalaskan serta kakakku Suhendra yang selalu kusayang atas segala doa, perhatian, dan motivasinya.
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 atas bimbingannya selama di lab yang telah banyak membantu saya dalam melaksanakan penelitian hingga skripsi saya ini dapat selesai dengan baik. Thank you very much.
5. Kang Jajat atas ilmu dan bantuannya, Mas Opik atas pinjaman bukunya, Mang Ijal, Mas Heri, Mas Mugeni, Mas Sri, dan Pak Min atas bantuannya.

6. Kakak iparku, Mba Uyee yang telah memberi banyak masukan dan semangat kepada saya sampai skripsi saya ini selesai dengan baik.
7. Alfaria Rizki, teman satu topik skripsi yang telah sama-sama berjuang demi suksesnya penelitian, terima kasih atas keceriaannya selama di lab, atas mobilnya yang telah banyak membantu dalam mencari bahan-bahan yang diperlukan dan juga untuk uji sampel. Semoga perjuangan kita tidak sia-sia kawan.
8. Teman seperjuangan di dalam satu pembimbing: Desti, Eki, Iras, Moro, dan Dani atas segala bantuan, diskusi, dan keceriaannya selama ini. Kerja kita belum selesai kawan, mari tuntaskan dengan kebersamaan yang selama ini telah terbangun.
9. Seluruh teman satu perjuangan, angkatan 2004, angkatan yang sangat spesial dan unik yang telah memberikan motivasi dan segala bantuannya selama ini. Tetap jaga selalu kebersamaan kita kawan.
10. Dan kepada pihak-pihak lain yang terkait dalam penulisan laporan ini yang belum disebutkan namanya.

Hanya Allah SWT yang dapat membalas amal baik mereka atas segala bantuannya. Semoga Allah SWT mencatat amal kita sebagai amal yang ikhlas. 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.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Depok, Juli 2008

Wiwik Handayani

Wiwik Handayani
NPM 040406064Y
Departemen Teknik Kimia

Dosen Pembimbing:
I. Ir. Rita Arbianti, M.Si.
II. Tania Surya Utami, S.T., MT.

**PEMANFAATAN BIJI WIJEN SEBAGAI SUMBER ENZIM LIPASE
UNTUK REAKSI ESTERIFIKASI GLISEROL - ASAM LAURAT PADA
PEMBUATAN AGEN PENGEMULSI**

ABSTRAK

Wijen (*Sesamum indicum L.*) merupakan komoditas pertanian yang sangat potensial sebagai penghasil minyak nabati yang dibutuhkan dalam industri kosmetik, farmasi, makanan, dan lain-lain. Saat ini kebutuhan wijen terus meningkat, hal ini dibuktikan dengan peluang wijen dalam mendominasi pasar dengan berbagai potensi yang dimilikinya. Salah satu produk diversifikasi wijen yang bernilai ekonomis adalah *Phosphatidylcholine* (PC) yang sering disebut lesitin atau *crude lecithine*. Bahan baku agen pengemulsi yang berasal dari bahan baku nabati memiliki keunggulan tersendiri bila dibandingkan dengan agen pengemulsi yang bahan bakunya berasal dari bahan baku petrokimia.

Reaksi yang terjadi dalam riset ini adalah reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase dari biji wijen (*Sesamum indicum L.*) yang menghasilkan dilaurin. Setelah melalui reaksi esterifikasi-enzimatis ini, dilaurin kemudian disintesis lebih lanjut sehingga menghasilkan lesitin. Dalam reaksi sintesis lesitin, reaksi esterifikasi-enzimatis memegang peranan yang sangat penting. Pada reaksi ini dilakukan variasi perbandingan jumlah mol gliserol dan asam laurat (1:3, 2:3, 3:3, 4:3, dan 5:3), waktu reaksi esterifikasi-enzimatis (12, 15, 18, 21, dan 24 jam), dan persentase berat penambahan wijen terhadap substrat (50%, 60%, 70%, 80%, dan 90%). Dilaurin dihasilkan melalui reaksi esterifikasi-enzimatis yang digunakan sebagai bahan baku lesitin. Kondisi operasi optimum pada reaksi esterifikasi-enzimatis ini jelas akan mempengaruhi dilaurin yang dihasilkan, dimana dilaurin itu sendiri merupakan komponen yang penting dalam agen pengemulsi lesitin.

Dari hasil penelitian reaksi esterifikasi-enzimatis diperoleh kondisi operasi optimum yaitu pada perbandingan jumlah mol gliserol dan asam laurat 3:3, waktu reaksi esterifikasi-enzimatis 18 jam, dan persentase berat penambahan wijen terhadap substrat sebesar 90% dengan nilai penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan agen pengemulsi sebesar 21,6 mN/m dan stabilitas emulsi minyak-air setelah ditambahkan agen pengemulsi sebesar 150,6 detik.

Kata kunci: gliserol, asam laurat, enzim lipase, esterifikasi-enzimatis, dilaurin, lesitin, dan agen pengemulsi.

Wiwik Handayani
NPM 040406064Y
Chemical Engineering Department

Counsellor:
I. Ir. Rita Arbianti, M.Si.
II. Tania Surya Utami, S.T., MT.

**THE USING OF SESAME SEED AS LIPASE ENZYME SOURCE ON
GLYCEROL - LAURIC ACID ESTERIFICATION FOR EMULSIFIER
PRODUCTION**

ABSTRACT

Sesame seed (*Sesamum indicum L.*) is an agricultural commodity which has potential as vegetable oil product that needed with cosmetic, farmacy, food industries, etc. In this time the sesame seed demand increased continually, this thing is proven that the opportunity of sesame seed for dominating market with many potential haven it. One of the sesame seed diversification which has economic value is *Phosphatidylcholine* (PC) which called by lecithine or crude lecithine. If we compared, emulsifier raw material from vegetable oil is better than petrochemical raw material.

The reaction which has occurred in this research is enzymatic esterification reaction between glycerol and lauric acid with lipase catalyzed from sesame seed (*Sesamum indicum L.*) that produces dilaurin. Through this enzymatic esterification, and then dilaurin produce synthesized that produces lesitin. In synthesis reaction variation comparing glycerol mole and lauric acid (1:3, 2:3, 3:3, 4:3, and 5:3), enzymatic esterification reaction time (12, 15, 18, 21, and 24 hour), and the percentage added sesame seed weight to substrate (50%, 60%, 70%, 80%, and 90%). Dilaurin has produced through enzymatic esterification reaction that used a lesitin raw material. The optimum operation condition at enzymatic esterification was influenced. Its dilaurin is important component in lecithine emulsifier.

The enzymatic esterification reaction gets optimum operation condition in comparing glycerol mole and lauric acid is 3:3, the time enzymatic esterification reaction is 18 hour, and the percentage added sesame seed weight to substrate is 90% with value the increasing water surface tension after that emulsifier added is 21,6 mN/m and the oil-water emulsion stability that has added with emulsifier is 150,6 seconds.

Keywords: glycerol, lauric acid, lipase enzyme, esterification-enzimatic, dilaurin, lecithine, and emulsifier.

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	II
PENGESAHAN.....	III
KATA PENGANTAR.....	IV
ABSTRAK.....	VI
ABSTRACT.....	VII
DAFTAR ISI.....	VIII
DAFTAR TABEL.....	XI
DAFTAR GAMBAR.....	XII
DAFTAR LAMPIRAN.....	XIV
DAFTAR SINGKATAN.....	XV
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. LATAR BELAKANG.....	1
1.2. PERUMUSAN MASALAH.....	3
1.3. TUJUAN PENELITIAN.....	3
1.4. BATASAN MASALAH.....	4
1.5. SISTEMATIKA PENULISAN.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. WIJEN (<i>Sesamum indicum L.</i>).....	6
2.2. GLISEROL.....	7
2.3. ASAM LAURAT.....	8
2.4. REAKSI ESTERIFIKASI.....	10
2.4.1. Proses Esterifikasi.....	11
2.4.2. Pembuatan Digliserida Melalui Reaksi Esterifikasi Secara Enzimatis.....	13
2.5. ENZIM LIPASE.....	16

2.6. LESITIN.....	18
2.6.1. Manfaat Lesitin	19
2.6.2. Pembuatan Lesitin.....	20
2.7. AGEN PENGEMULSI (EMULSIFIER).....	23
2.7.1. Tegangan Permukaan (Antar Muka) Suatu Emulsifier.....	25
2.7.2. Stabilitas Emulsi	28
2.7.3. HLB (Hydrophile Lipophile Balance)	29
2.8. HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)	30
2.8.1. Prinsip Dasar HPLC.....	31
2.8.2. Fasa gerak HPLC	31
2.8.3. Profil Kromatogram HPLC.....	32
BAB III METODE PENELITIAN.....	33
3.1. RANCANGAN PENELITIAN	33
3.2. VARIABEL PENELITIAN.....	35
3.3. ALAT DAN BAHAN.....	36
3.3.1. Alat-Alat Penelitian.....	36
3.3.2. Bahan-Bahan Penelitian.....	36
3.4. LOKASI PENELITIAN	37
3.5. RINCIAN KEGIATAN PENELITIAN.....	37
3.5.1. Tahap Pembuatan Buffer Phosphate 0,1 M pH 7,5.....	37
3.5.2. Reaksi Esterifikasi-Enzimatis	38
A. Preparasi Enzim.....	38
B. Reaksi Esterifikasi.....	38
3.5.3. Pembuatan Lesithin.....	40
3.5.4. Analisis Emulsifier.....	40
A. High Performance Liquid Chromatography (HPLC).....	40
B. Pengukuran Penurunan Tegangan Permukaan Air.....	41
C. Kestabilan Emulsi	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1. REAKSI ESTERIFIKASI-ENZIMATIS	43

4.1.1. Pengaruh Perbandingan Mol Reaktan Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi Minyak-Air	44
4.1.2. Pengaruh Waktu Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi Minyak-Air.....	47
4.1.3. Pengaruh Persentase Berat Penambahan Wijen Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi Minyak-Air.....	51
4.1.4. Analisis HPLC	54
4.2. PEMBUATAN LESITIN	55
4.3. ANALISIS DILAURIN HASIL REAKSI HIDROLISIS MINYAK GORENG	57
4.3.1. Penurunan Tegangan Permukaan Air	57
4.3.2. Uji Stabilitas Emulsi Minyak-Air	58
4.3.3. Analisis HPLC	59
4.4. PERBANDINGAN PENURUNAN TEGANGAN PERMUKAAN AIR PADA BERBAGAI METODE PENELITIAN	60
BAB V KESIMPULAN.....	63
DAFTAR PUSTAKA	XVI
LAMPIRAN A.....	1
LAMPIRAN B	2
LAMPIRAN C	5
LAMPIRAN D.....	6
LAMPIRAN E	7
LAMPIRAN F.....	7
LAMPIRAN G.....	8
LAMPIRAN H.....	8

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Klasifikasi Ilmiah Biji wijen (<i>Sesamum indicum</i>)	6
Tabel 2. 2 Komposisi Kimia Biji Wijen Berkulit per 100 gram	7
Tabel 2. 3 Komposisi Asam Lemak Minyak Wijen (%).....	7
Tabel 2. 4 Komposisi Asam Lemak Minyak Wijen (%).....	8
Tabel 2. 5 Jenis-Jenis <i>Emulsifier</i>	20
Tabel 2. 6 Nilai HLB yang dibutuhkan berdasarkan fungsi.....	29
Tabel 3. 1 Alat-alat penelitian.....	36
Tabel 3. 2 Bahan-bahan penelitian.....	37
Tabel 3. 3 Variabel bebas dan terikat.....	39
Tabel 4. 1 Penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan lesitin	56
Tabel 4. 2 Pengukuran stabilitas emulsi minyak-air setelah ditambahkan lesitin. 56	
Tabel 4. 3 Pengukuran Penurunan Tegangan Permukaan Air pada Produk Reaksi Esterifikasi-Enzimatis (Hasil Hidrolisis Minyak Goreng)	57
Tabel 4. 4 Pengukuran Stabilitas Emulsi Minyak-Air pada Produk Reaksi Esterifikasi-Enzimatis (Hasil Hidrolisis Minyak Goreng)	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur kimia gliserol.....	8
Gambar 2. 2 Struktur kimia asam laurat	9
Gambar 2. 3 Mekanisme reaksi esterifikasi	10
Gambar 2. 4 Struktur 1,3 digliserida dan 1,2(2,3) digliserida.....	13
Gambar 2. 5 Mekanisme reaksi esterifikasi gliserol dan asam lemak	14
Gambar 2. 6 Struktur lipase 1,3-gliserida	17
Gambar 2. 7 Proses gliserolisis	17
Gambar 2. 8 Struktur lesitin	19
Gambar 2. 9 Sistem emulsi minyak dalam air	24
Gambar 2. 10 Fenomena tegangan permukaan air sebelum dan sesudah ditambahkan dengan <i>emulsifier</i>	26
Gambar 2. 11 Skema pengukuran tegangan permukaan menggunakan metode cincin	27
Gambar 2. 12 Pengukuran tegangan permukaan dengan menggunakan Metode <i>Wilhelmy Plate</i>	28
Gambar 2. 13 Komponen-komponen dasar pada HPLC.....	31
Gambar 2. 14 Profil Kromatogram HPLC	32
Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian	34
Gambar 3. 2 Diagram Alir Pengolahan Biji Wijen.....	35
Gambar 4. 1 Pengaruh Perbandingan Mol Gliserol dan Mol Asam Laurat Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air (Tegangan permukaan air tanpa penambahan emulsifier sebesar 71,6 mN/m).....	45
Gambar 4. 2 Tahap perhitungan durasi kestabilan emulsi (Anonim, 2008)	46
Gambar 4. 3 Pengaruh Perbandingan Mol Gliserol dan Mol Asam Laurat Terhadap Kemampuan Dilaurin Menstabilkan Emulsi Minyak-Air	

(Nilai stabilitas emulsi minyak-air tanpa penambahan emulsifier sebesar 23 detik).....	47
Gambar 4. 4 Pengaruh Waktu Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air (Tegangan permukaan air tanpa penambahan emulsifier sebesar 71,6 mN/m).....	48
Gambar 4. 5 Pengaruh Waktu Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Terhadap Kemampuan Dilaurin Menstabilkan Emulsi Minyak-Air (Nilai stabilitas emulsi minyak-air tanpa penambahan emulsifier sebesar 23 detik).....	50
Gambar 4. 6 Pengaruh Persen Berat Penambahan Wijen Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air (Tegangan permukaan air tanpa penambahan emulsifier sebesar 71,6 mN/m).....	52
Gambar 4. 7 Pengaruh Persen Berat Penambahan Wijen Terhadap Kemampuan Dilaurin Menstabilkan Emulsi Minyak-Air (Nilai stabilitas emulsi minyak-air tanpa penambahan emulsifier sebesar 23 detik)	53
Gambar 4. 8 Spektra HPLC pada Kondisi Optimum.....	55
Gambar 4. 9 Data Digliserida pada Kondisi Optimum dengan Metode HPLC	55
Gambar 4. 10 Spektra HPLC pada Analisis Digliserida Hasil Reaksi Hidrolisis Minyak Goreng.....	60
Gambar 4. 11 Data Analisis Digliserida Hasil Reaksi Hidrolisis Minyak Goreng dengan Metode HPLC	60
Gambar 4. 12 Kemampuan Digliserida Menurunkan Tegangan Permukaan Air pada Berbagai Metode Penelitian.....	61

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A Pembuatan Buffer Phosphate 0,1 M pH 7,5.....	1
LAMPIRAN B Tabel Hasil Analisis Reaksi Esterifikasi-Enzimatis	2
LAMPIRAN C Skema Alat Penelitian Reaksi Esterifikasi-Enzimatis	5
LAMPIRAN D Peralatan yang Digunakan pada Reaksi Esterifikasi-Enzimatis..	6
LAMPIRAN E Bahan yang Digunakan pada Reaksi Esterifikasi-Enzimatis	7
LAMPIRAN F Hasil Produk pada Reaksi Esterifikasi-Enzimatis (Dilaurin).....	7
LAMPIRAN G Bahan yang Digunakan untuk Pembuatan Lesitin	8
LAMPIRAN H Bahan yang Digunakan untuk Uji Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi.....	8

DAFTAR SINGKATAN

MCFA	<i>Middle Chained Fatty Acid</i>
MAG	<i>Monoacylglycerol</i>
DAG	<i>Diacylglycerol</i>
TAG	<i>Triacylglycerol</i>
ALB	Asam Lemak Bebas
PC	<i>Phosphatidylcholine</i>
LPC	<i>Lysophosphatidylcholine</i>
GPC	<i>Glycerolphosphatidylcholine</i>
W/O	<i>Water in Oil</i>
HLB	<i>Hydrophile Lipophile Balance</i>
O/W	<i>Oil in Water</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
Laboratorium DPK	Laboratorium Dasar Proses Kimia
ML	Monolaurin
DL	Dilaurin
TL	Trilaurin

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Wijen (*Sesamum indicum L.*) merupakan komoditas pertanian yang sangat potensial sebagai penghasil minyak nabati yang dibutuhkan dalam industri kosmetik, farmasi, makanan, dan lain-lain. Wijen mendapat julukan *The Queen of Oil Seeds Crops*, yang mencerminkan bahwa biji wijen memiliki kandungan gizi yang tinggi dan berdampak positif bagi konsumennya (Warintek, 2008). Pengembangan wijen pada ekologi yang sesuai harus mendapatkan dukungan dari berbagai pihak. Berbagai argumen tersebut memperbesar peluang wijen untuk mendominasi pasar dengan berbagai potensi yang dimilikinya. Salah satu pemanfaatan wijen adalah dapat membantu mempercepat reaksi esterifikasi-enzimatis karena biji wijen banyak mengandung lipase (Suhendra, L., dkk, 2006).

Salah satu produk diversifikasi wijen yang bernilai ekonomis adalah *Phosphatidylcholine* (PC) yang sering disebut lesitin atau *crude lecithine*. 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.

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 lipase. Biasanya reaksi ini dilakukan dengan menggunakan enzim lipase *Mucor miehei*. Pada penelitian ini digunakan biji wijen (*Sesamum indicum*

L.) sebagai katalis lipase. Alasan pemilihan katalis dengan menggunakan biji wijen antara lain biji wijen ternyata juga memiliki banyak kandungan lipase sehingga diharapkan dapat menghasilkan dilaurin yang cukup besar seperti pada *Mucor miehei*, selain itu harga lipase komersial yang mahal dan proses yang tersedia efisiensinya masih rendah. Setelah melalui reaksi esterifikasi-enzimatis ini, dilaurin kemudian disintesis lebih lanjut sehingga menghasilkan lesitin.

Pembuatan lesitin secara enzimatik sudah banyak 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). Aktifitas air enzim juga dapat dikontrol dengan menggunakan kopelarut organik. Penelitian untuk sintesis lesitin dengan menggunakan kopelarut organik dimetilformamida yang memimik air pernah dilakukan oleh Kim dan Kim pada tahun 2000 (Kim, dkk, 2000).

Pada tahun 2000 Virto dan Adlercreutz mencoba membandingkan sintesis lesitin dalam sistem tanpa pelarut dengan sistem menggunakan t-butanol sebagai pelarut. Enzim yang digunakan adalah *Candida antartica* lipase B yang dilaporkan tidak spesifik untuk S_{N1} ataupun S_{N2} dari asilgliserol. Reaksi dilakukan dalam reaktor *batch*, dan konversi untuk lesitin didapatkan lebih dari 65% dengan sistem tanpa pelarut, dan 95% dengan pelarut t-butanol (Virto dan Adlercreutz, 2000).

Pada tahun 2006 Lutfi Suhendra, dkk dari Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada telah berhasil melakukan aktifitas hidrolisis dan reaksi esterifikasi enzimatik antara gliserol dan asam oleat dengan enzim lipase dari bahan baku alam yaitu dari lipase ekstrak kecambah biji wijen. Dari hasil penelitian tersebut diperoleh nilai respon hidrolisis kecambah biji wijen mencapai nilai 6 mmol FFA/menit bila dilakukan kombinasi perlakuan yaitu perkecambahan 62,9 jam, perendaman selama 150 menit dan pH sebesar 4,2. Nilai respon esterifikasi kecambah biji wijen sebanyak 7 mmol FFA (inkubasi 24 jam, suhu 50 °C) dengan proses perkecambahan selama 37 jam, perendaman selama 110 menit pada pH 9,4.

Pada penelitian ini, enzim lipase diperoleh dari biji wijen (*Sesamum indicum L.*) yang diolah dengan cara dikeringkan di dalam oven pada suhu 30 -

40⁰C kemudian di blender dan disaring. Untuk memperoleh dilaurin dilakukan reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan enzim lipase dari biji wijen dengan penambahan n-heksana untuk melarutkan asam laurat, selain itu juga ditambahkan buffer fosfat pH 7,5, karena pada kondisi pH tersebut enzim lipase dari biji wijen dapat bertahan hidup. Untuk mencegah penguapan yang terjadi pada n-heksana maka pada reaksi ini dilakukan refluks yang dialiri dengan air es.

Dalam reaksi pembuatan lesitin, kondisi operasi 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 perbandingan mol substrat, waktu reaksi dan persentase berat penambahan wijen. Pengetahuan mengenai kondisi operasi optimum pada reaksi enzimatis jelas akan mempengaruhi dilaurin yang dihasilkan, dimana dilaurin itu sendiri merupakan komponen yang sangat penting dalam pembuatan agen pengemulsi.

1.2. PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pemanfaatan biji wijen sebagai sumber enzim lipase untuk reaksi esterifikasi gliserol-asam laurat pada pembuatan agen pengemulsi.

1.3. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Mengkaji pengaruh perbandingan mol substrat, waktu reaksi, dan persentase berat enzim terhadap kemampuan menurunkan tegangan permukaan air dan stabilitas emulsi pada dilaurin yang dihasilkan dari reaksi esterifikasi-enzimatis.
- Menganalisis perbandingan penurunan tegangan permukaan air dan stabilitas emulsi dilaurin yang dihasilkan dari reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat dengan enzim lipase *Mucor miehei* dengan penurunan tegangan permukaan air dan stabilitas emulsi dilaurin yang

dihasilkan dari reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat dengan enzim lipase dari biji wijen.

- Menganalisis perbandingan aktivitas penurunan tegangan permukaan air dan stabilitas emulsi minyak-air antara hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat murni dengan hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam lemak hasil reaksi hidrolisis minyak goreng.
- Menganalisis kemampuan agen pengemulsi lesitin analog dalam menurunkan tegangan permukaan air dan stabilitas emulsi minyak-air.

1.4. BATASAN MASALAH

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

- Penelitian difokuskan pada reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat untuk menghasilkan produk dilaurin.
- Gliserol dan asam laurat yang digunakan merupakan gliserol dan asam laurat murni dari Merck.
- Reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat dilakukan pada reaktor *batch*.
- Dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dengan asam laurat digunakan katalis enzim lipase dari biji wijen yang telah diolah sendiri.
- Analisis produk dilaurin dilakukan dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).
- Lesitin yang diperoleh berasal dari sintesis dilaurin pada kondisi operasi optimum ditambah asam fosfat dan kolin.

1.5. SISTEMATIKA PENULISAN

Susunan penulisan akan mengacu pada sistematika sebagai berikut:

Bab I : PENDAHULUAN

Berisi latar belakang sebagai dasar penelitian dilakukan, perumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah, dan sistematika penulisan.

Bab II : TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menjelaskan berbagai informasi yang didapatkan dari berbagai pustaka mengenai biji wijen (*Sesamum indicum L.*), reaksi esterifikasi, enzim lipase, lesitin, agen pengemulsi, dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Bab III : METODOLOGI PENELITIAN

Berisi rancangan penelitian, variabel penelitian, peralatan percobaan, bahan percobaan, lokasi penelitian, dan prosedur yang dilakukan dalam penelitian.

BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN

Berisi tentang penyajian data penelitian yang diperoleh, pembahasan mengenai hasil percobaan yang dilakukan serta analisa terhadap hasil-hasil yang didapatkan tersebut.

BAB V : KESIMPULAN

Berisi kesimpulan yang diambil berdasarkan hasil yang diperoleh. Pada kesimpulan ini juga ditentukan apakah tujuan tercapai atau tidak.

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. WIJEN (*Sesamum indicum L.*)

Wijen atau *Sesamum indicum L. syn.*, dan *Sesamum orientalis L.* merupakan salah satu jenis semak semusim yang termasuk dalam famili *Pedaliaceae*. Tanaman ini dibudidayakan sebagai sumber minyak nabati, yang dikenal sebagai minyak wijen, yang diperoleh dari ekstraksi bijinya. Biji wijen mengandung 35% - 63% minyak, gliserida (asam oleat, linoleat, laurat, palmitat, stearat, miristinat.), sesamin, sesamolin, sesamol, lignans, pedaliin, planteose, sitokrom C, protein, prantosa, lipase, vitamin A, vitamin B1, vitamin E, anti oksidan dan alanin atau lignin, serta tidak mengandung kolesterol (Schuster, 1992). Wijen digunakan untuk aneka industri, bahan makanan ringan, dan penghasil minyak makan, serta sebagai bahan baku untuk industri farmasi, plastik, margarin, sabun, kosmetik, pestisida, dan lain-lain. Di Indonesia wijen banyak dikembangkan di Lampung, Jawa Tengah, Jawa Timur, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur dan Sulawesi Selatan. Klasifikasi ilmiah biji wijen dan komposisi kimia biji wijen akan dijelaskan pada Tabel 2.1 dan Tabel 2.2

Tabel 2. 1 Klasifikasi Ilmiah Biji wijen (*Sesamum indicum*)

Wijen
Klasifikasi ilmiah
Regnum: Plantae Divisio: Magnoliophyta Kelas: Magnoliopsida Ordo: Lamiales Familia: Pedaliaceae Genus: <i>Sesamum</i>
Spesies
<ul style="list-style-type: none">• <i>S. indicum</i> L. syn. <i>S. orientalis</i> L.• <i>S. ratiatum</i> Schumach.• <i>S. alabum</i> Thom.

Tabel 2. 2 Komposisi Kimia Biji Wijen Berkulit per 100 gram

No.	Komposisi Kimia	Varietas Putih		Varietas Hitam	
		(1)	(2)	(1)	(2)
1	Air (gr)	8,3	4,9	5,4	5,4
2	Protein (gr)	17,8	22,5	17,8	25
3	Lemak (gr)	48,4	48,1	48	46,5
4	Karbohidrat (gr)	15,5	14,5	15,3	9,1
5	Ca (mg)	1,13	-	-	-
6	P (mg)	614	-	-	-
7	Fe (mg)	9,5	-	-	-
8	Vitamin B1 (μ g)	0,93	0,98		
9	Serat	8,5	6,3	8,3	6,5
10	Abu	1,4	5,3	1,6	6,7

Sumber: (1) Handajani, 2002, (2) Weiss, 1971

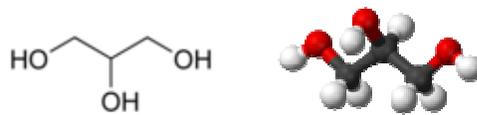
Pada penelitian ini biji wijen tersebut kita manfaatkan sebagai enzim lipase dari bahan baku alam. Karena pada biji wijen tersebut banyak mengandung lipase yang dapat membantu mempercepat reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan enzim lipase. Selain itu alasan pemilihan katalis dengan menggunakan biji wijen adalah harga lipase komersial yang mahal dan proses yang tersedia efisiensinya rendah. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan lipase indigenous yang murah serta proses yang efisien di Indonesia. Berikut ini komposisi asam lemak pada minyak wijen yang telah dilakukan penelitiannya.

Tabel 2. 3 Komposisi Asam Lemak Minyak Wijen (%)

Sumber	C _{18:1} Oleat (Omega 9)	C _{18:2} Linoleat (Omega 6)	C _{18:3} Linolenat	C _{16:0} Palmitat	C _{18:0} Stearat
Sutikno (1996)	45,4	40,4	-	-	-
Katzen (1994)	35,5	35,5	<1	-	-
Handajani (2002)	37,5	49,5	0,67	11,07	-
Morris	43	43	-	9	4
Handajani (2005)	38,4	41,47	-	9,9	4,02
SNI 1995	35 - 50	35 - 50	<1	7 -12	3,5 - 6

2.2. GLISEROL

Gliserol atau dalam struktur kimia biasa disebut dengan glycerine merupakan senyawa yang tidak berwarna, sedikit berbau, dan berbentuk cairan kental yang banyak digunakan dalam bidang farmasi dengan rumus molekul C₃H₅(OH)₃. Berikut ini merupakan struktur kimia pada gliserol.



Gambar 2. 1 Struktur kimia gliserol (Wikipedia, 2008)

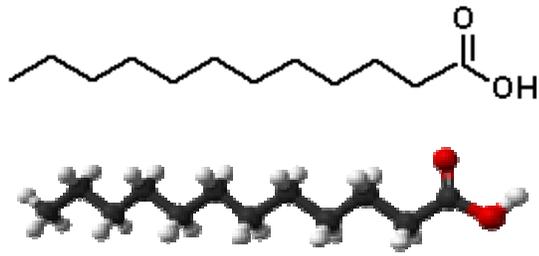
Gliserol memiliki tiga ikatan hidroksil alkohol hidrofilik yang dapat larut dalam air dan bersifat higroskopik. Gliserol memiliki tegangan permukaan sebesar 64,00 mN/m at 20 °C , dan koefisien temperatur sebesar -0,0598 mN/(m K). Gliserol banyak digunakan pada industri makanan dan minuman, sebagai gula pengganti, bahan aditif makanan, bidang kedokteran dan farmasi, sabun, kosmetik, dan lain-lain. Berikut ini merupakan sifat dari gliserol yang dijelaskan pada Tabel 2.4.

Tabel 2. 4 Komposisi Asam Lemak Minyak Wijen (%)

Gliserol	
Nama IUPAC	Propane-1,2,3-triol
Nama lain	<ul style="list-style-type: none"> - Glycerin - Glycerine - propane-1,2,3-triol - 1,2,3-propanetriol - 1,2,3-trihydroxypropane - Glyceritol - Glycyl alcohol
Properties	
Rumus molekul	$C_3H_5(OH)_3$
Berat molekul	92,09382 g/mol
Densitas	1,261 g/cm ³
Titik leleh	18 °C (64.4°F)
Titik didih	290 °C (554°F)
Viskositas	1,5 Pa·s

2.3. 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, 2008)

Asam laurat atau asam dodekanoat merupakan 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). 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.

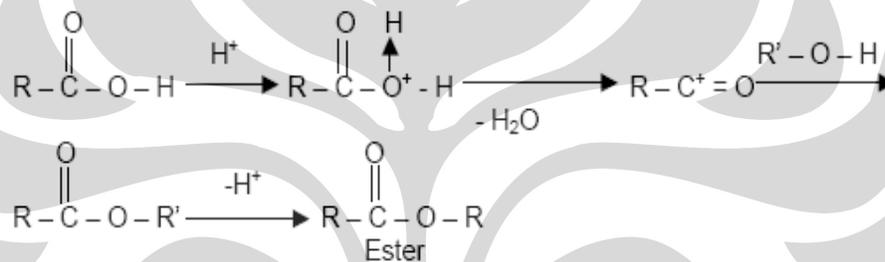
Asam laurat memiliki titik lebur 44°C dan titik didih 225°C sehingga pada suhu ruang berwujud padatan berwarna putih, dan mudah mencair jika dipanaskan. Berat molekul 200,3 g.mol⁻¹. Asam ini larut dalam pelarut polar, misalnya air, juga larut dalam lemak karena gugus hidrokarbon (metil) di satu ujung dan gugus karboksil di ujung lain (Schuchardt,1997). Perilaku ini dimanfaatkan oleh industri pencuci, misalnya pada sampo. Secara luas, asam laurat bebas banyak digunakan dalam pembuatan *defoaming agent*, kosmetik, insektisida dan zat aditif pada makanan. Pada industri kosmetik, asam laurat ini berfungsi sebagai pengental, pelembab dan pelembut.

Asam laurat ternyata memiliki khasiat lain yang terbukti dapat meningkatkan metabolisme tubuh, mengatasi obesitas serta dapat bertindak sebagai antimikrobia pada bakteri dan virus. Asam laurat ternyata juga berkhasiat untuk meningkatkan metabolisme tubuh serta dapat mengatasi problem kegemukan obesitas (Schuchardt,2002). Hal itu disebabkan karena asam laurat yang termasuk ke dalam asam lemak rantai sedang (MCFA). Dalam sistem pencernaan manusia, pencernaan asam lemak berantai sedang memiliki perbedaan cara pengolahan dengan asam lemak berantai panjang.

2.4. REAKSI 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 fosfolipid. 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 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.

Reaksi esterifikasi-enzimatis dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain : suhu, jumlah substrat, kecepatan pengadukan, jumlah katalis, waktu reaksi, dan pH buffer (Yadav dan Lathi, 2005).

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).

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 kimia telah dilakukan untuk pembuatan trigliserida dan turunannya, pewangi makanan (*flavorings*), parfum (*fragrances*), *plastisizer* dan emulsifier (Wiseman,1983).

2.4.1. Proses Esterifikasi

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.

Henkel telah mengembangkan esterifikasi *countercurrent* kontinyu menggunakan kolom reaksi *dodel plate*. Teknologi ini didasarkan pada prinsip reaksi esterifikasi dengan absorpsi simultan *superheated metanol vapor* dan *desorpsi metanol-water mixture*. Reaksi yang dilakukan Henkel menggunakan tekanan sekitar 1000 Kpa dan suhu 240°C. Keuntungan dari proses ini adalah kelebihan metanol dapat dijaga secara nyata pada rasio yang rendah yaitu 1,5:1

molar metanol : asam lemak dibandingkan proses batch dimana rasionya 3-4:1 molar. Metil ester yang melalui proses distilasi tidak memerlukan proses pemurnian. Kelebihan metanol di-*rectified* dan digunakan kembali. Esterifikasi proses kontinyu lebih baik daripada proses *batch*. Dengan hasil yang sama, proses kontinyu membutuhkan waktu yang lebih singkat dengan kelebihan metanol yang lebih rendah. Proses esterifikasi merupakan proses yang cenderung digunakan dalam produksi ester dari asam lemak spesifik.

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 pemrosesan yang dirancang untuk menyelesaikan reaksi esterifikasi ini dikehendaki agar 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 ekse reaktan yang besar.

Proses esterifikasi secara umum harus diketahui untuk dapat mendorong konversi sebesar mungkin. Secara umum ada tiga golongan proses, dan penggolongan ini bergantung kepada volatilitas ester.

Golongan 1. Dengan ester yang sangat mudah menguap, seperti metil format, metil asetat, dan etil format, titik didih ester lebih rendah daripada alkohol, oleh karena itu ester segera dapat dihilangkan dari campuran reaksi. Produksi metil asetat dengan metode distilasi Bachaus merupakan sebuah contoh dari golongan ini. Metanol dan asam asetat diumpankan ke dalam kolom distilasi

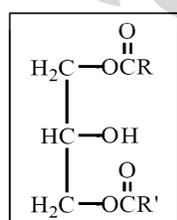
dan ester segera dipisahkan sebagai campuran uap dengan metanol dari bagian atas kolom. Air terakumulasi di dasar tangki dan selanjutnya dibuang. Ester dan alkohol dipisahkan lebih lanjut dalam kolom distilasi yang kedua.

Golongan 2. Ester dengan kemampuan menguap sebaiknya dipisahkan dengan cara menghilangkan air yang terbentuk secara distilasi. Dalam beberapa hal, campuran terner dari alkohol, air, dan ester dapat terbentuk. Kelompok ini layak untuk dipisahkan lebih lanjut: dengan etil asetat, semua bagian ester dipindahkan sebagai campuran uap dengan alkohol dan sebagian air, sedangkan sisa air akan terakumulasi dalam sistem. Dengan butil asetat, semua bagian air dipindahkan ke bagian atas dengan sedikit bagian dari ester dan alkohol, sedangkan sisa ester terakumulasi dalam sistem.

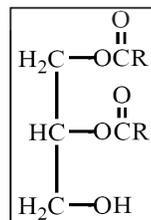
Golongan 3. Dengan ester yang mempunyai volatilitas rendah, beberapa kemungkinan timbul. Dalam hal butil dan amil alkohol, air dipisahkan sebagai campuran biner dengan alkohol. Contoh proses untuk tipe seperti ini adalah pembuatan dibutil ftalat. Untuk menghasilkan ester dari alkohol yang lebih pendek (metil, etil, propil) dibutuhkan penambahan hidrokarbon seperti benzena dan toluene untuk memperbesar air yang terdistilasi dengan alkohol bertitik didih tinggi (benzil, furfural, b-feniletil) suatu cairan tambahan selalu diperlukan untuk menghilangkan kandungan air dari campuran.

2.4.2. Pembuatan Digliserida Melalui Reaksi Esterifikasi Secara Enzimatis

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).



1,3 digliserida



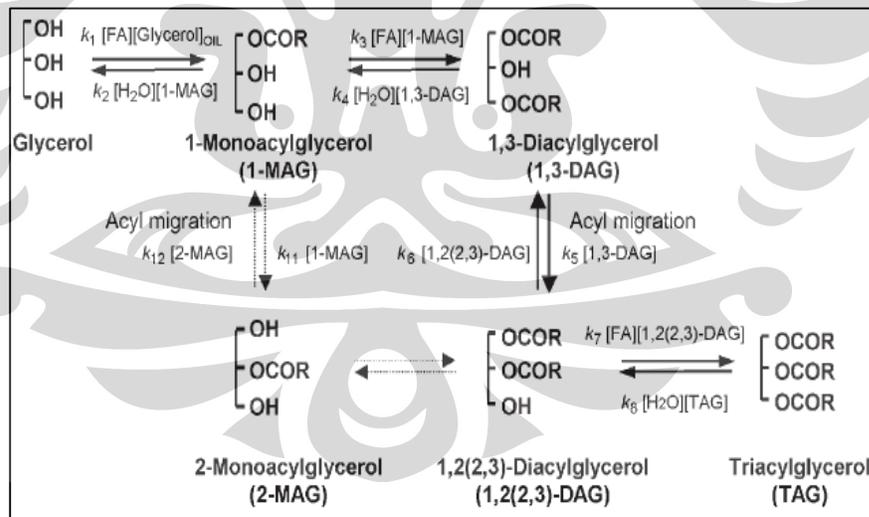
1,2 (2,3) digliserida

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

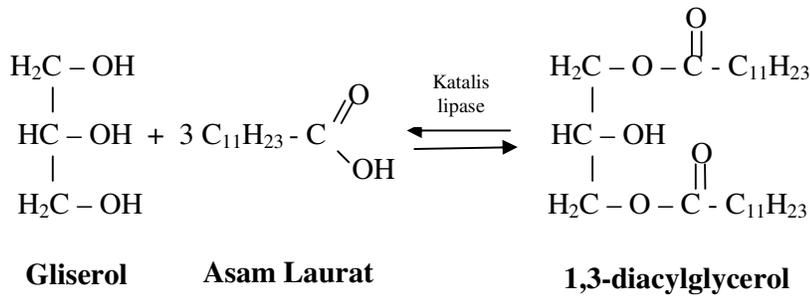
Untuk mendapatkan digliserida ada tiga metode yang dapat dilakukan yaitu:

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. 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 enzimatis ini merupakan reaksi esterifikasi reversibel dengan bantuan katalis lipase untuk mempercepat reaksi tersebut 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. Tetapi pada penelitian ini tidak dilakukan percobaan dari pengaruh air yang terbentuk. Mekanisme reaksi lebih jelas terlihat pada Gambar 2.5 dan persamaan 2.1.

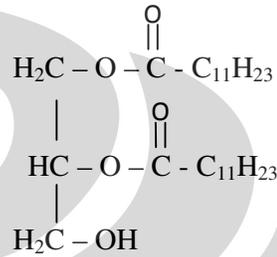


Gambar 2. 5 Mekanisme reaksi esterifikasi gliserol dan asam lemak



+ 3 H₂O
Air

atau



1,2 (2,3) - diacylglycerol (2.1)

Sudah banyak penelitian yang dilakukan untuk memproduksi digliserida baik melalui jalur enzimatik ataupun non enzimatik. Sontag (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

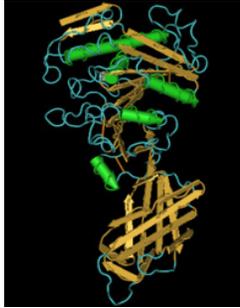
dari *Pseudomonas cepacia*, *P. Fluorences*, *Rhizopus oryzae*, *Candida antartica*, *Thermomyces lanuginosa*, dan *Rhizomucor miehei*. Dari penelitian yang mereka lakukan didapatkan bahwa lipase yang berasal dari *Rhizomucor miehei* dan *Thermomyces lanuginosa* menghasilkan *yield* digliserida yang terbaik.

Tetapi pada tahun 2006 Lutfi Suhendra, dkk dari Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada telah berhasil melakukan reaksi esterifikasi enzimatik antara gliserol dan asam oleat dengan enzim lipase dari bahan baku alam yaitu dari lipase ekstrak kecambah biji wijen. Kemudian saya akan melakukan reaksi esterifikasi enzimatik antara gliserol dan asam laurat dengan enzim lipase dari biji wijen yang telah saya haluskan menjadi serbuk dan telah saya hilangkan kandungan airnya.

2.5. ENZIM LIPASE

Enzim adalah protein yang memiliki aktivitas katalis. Enzim disintesis oleh sel biologi pada semua organisme dan terlibat dalam reaksi kimiawi yang berhubungan dengan metabolisme. Molekul enzim terdiri dari dua atau lebih rantai peptida yang tersusun dalam struktur kuaterner. 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).

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-glisericida (Ward,1985)

Jenis lipase yang mengkatalisis pemecahan ikatan ester triasilgliserol (TAG) pada posisi satu atau tiga disebut lipase spesifik 1,3-glisericida. 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 di hasilkan berupa 1(3)-monoasilgliserol. Enzim lipase dapat mengkatalisis semua posisi asam lemak pada TAG dalam waktu yang lama (Haruyadi,2000).



Gambar 2. 7 Proses gliserolisis (Hariyadi,2000)

Enzim lipase (triacylglycerol acylhydrolases) banyak diproduksi oleh berbagai jenis mikroorganisme baik tunggal maupun bersamaan dengan enzim esterase. Mikroba penghasil lipase antara lain adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Enzim lipase ini digunakan sebagai biokatalis untuk memproduksi asam lemak bebas, gliserol, berbagai ester, sebagian gliserida, dan lemak yang dimodifikasi atau diesterifikasi dari substrat yang murah, seperti minyak kelapa sawit. Produk-produk tersebut secara luas digunakan dalam industri farmasi, kimia dan makanan.

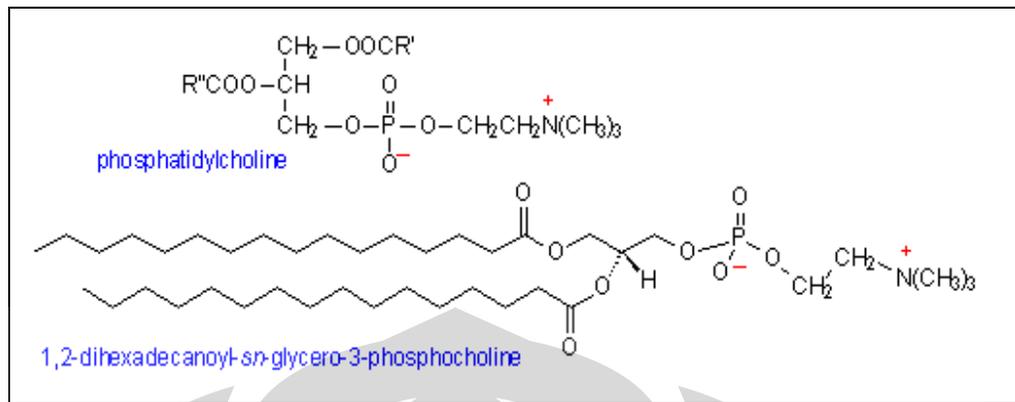
Aktivitas enzim adalah besarnya kemampuan enzim dalam mempercepat reaksi penguraian sumber karbon. Aktivitas enzim dinyatakan dalam unit per ml menit dimana satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah yang menyebabkan perubahan satu mikromol sumber karbon atau satu mikromol produk yang dihasilkan per menit pada kondisi tertentu (Suhartono,1989). Jadi, satu unit aktiviftas 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 dan 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).

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. Enzim pada umumnya mempunyai aktivitas optimum pada suhu $30-40^{\circ}C$ Dan mulai terdenaturasi diatas suhu $45^{\circ}C$ (Lehniger,1982).

2.6. LESITIN

Lesitin memiliki nama lain, yaitu *Phosphatidylcholine* (PC). Lesitin dengan satu mol asam lemak permol lemak pada posisi S_{N1} , 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 dapat disintesis dari kedelai dan jagung dan dari biji-biji tumbuhan lainnya, seperti biji jambu mete, biji kapas-kapuk, biji kacang tanah, biji bunga matahari dan dari CPO.

2.6.1. 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 *choline* 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 (*emulsifier*) 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 *emulsifier*, dengan kandungan lesitin, yang digunakan dalam bidang farmasi.

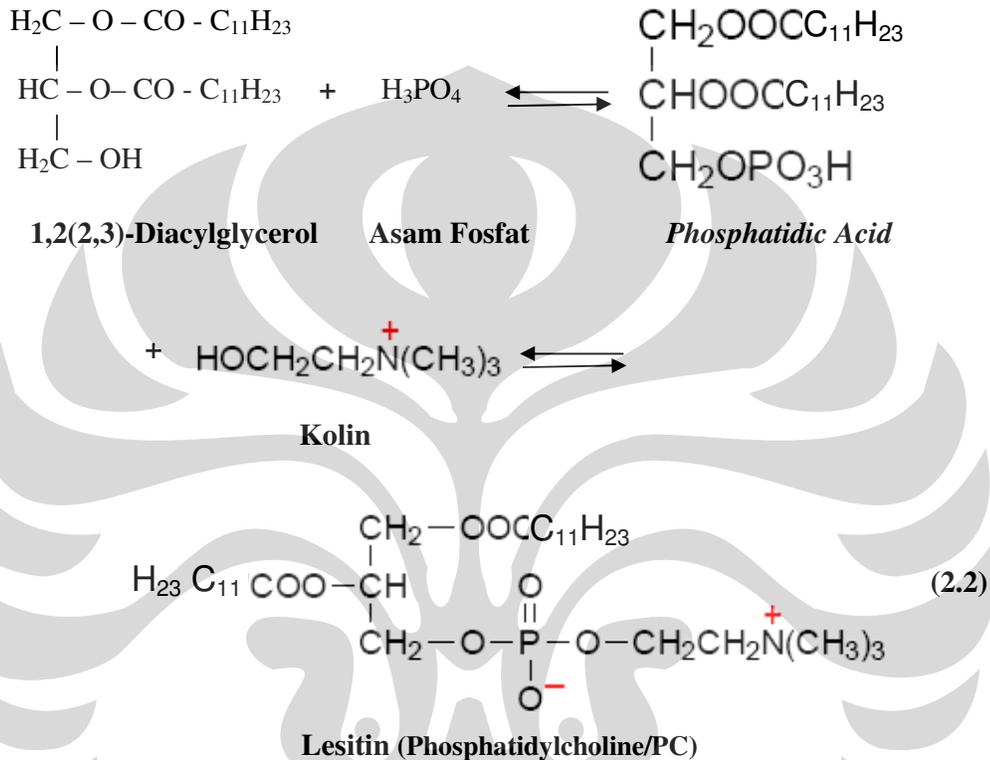
Tabel 2. 5 Jenis-Jenis *Emulsifier* [Konvertiert vom Dissertationen Online Team im CCC der Universität Erlangen]

Proprietary name	Supplier	Composition
Lipoid E75 [®]	Lipoid KG, Ludwigshafen, Germany	72.6% PC, 13.5% PE, 2.6% LPC, 2.3% SPM
Lipoid E80 [®]	Lipoid KG, Ludwigshafen, Germany	77.7% PC, 7.8% PE, 2.5% LPC, 3.0% SPM
Lipoid EPC [®]	Lipoid KG, Ludwigshafen, Germany	98.0% PC, < 0.2% LPC
Lipoid ELPC [®]	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

2.6.2. 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 A₁, fosfolipase A₂, atau lipase. Reaksi esterifikasi dilakukan untuk mendapatkan struktur fosfolipid yang spesifik. Penggunaan

katalis lipase pada reaksi adalah karena katalis lipase spesifik pada posisi S_{N1} dari bagian GPC, dimana posisi S_{N1} biasanya adalah asam lemak jenuh, seperti asam palmitat, dan asam stearat, dan posisi S_{N2} adalah biasanya asam lemak tak jenuh seperti asam lenoleat. Berikut ini persamaan reaksi yang terjadi dalam proses pembuatan lesitin.



Pembuatan lesitin dilakukan dengan menggunakan bio katalis – lipase 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 *hidrat*. Enzim lipase yang digunakan adalah Lypozyme IM-60 maka konversi maksimum untuk lesitin yang diperoleh adalah 36% dengan kontrol aktifitas air sebesar 0,6.

Untuk mengontrol aktifitas air dari reaksi esterifikasi ini juga dapat juga digunakan *solven hidrofilik (water – mimicking solven)*, solven yang sifatnya mirip dengan air, yaitu dimetilformida, seperti yang dilakukan oleh Kim & Kim (1998). Pembuatan lesitin dilakukan dalam reaktor *batch* dengan menggunakan enzim *Mucor miehei* lipase. Konversi yang didapatkan untuk pembuatan lesitin ini sebesar 90% dalam waktu reaksi selama 7 jam dan kontrol aktifitas air 0,22. Karena konversi yang didapatkan jauh lebih baik dengan menggunakan kosolven organik dimetilformida, maka dalam percobaan ini digunakan dimetilformida sebagai *co-solvent*.

Penggunaan dari dimetilformida mempunyai efek positif dan negatif terhadap reaksi pembuatan lesitin ini. Efek positif dari penggunaan dimetilformida ini yaitu dapat mengontrol aktifitas air tetap rendah, sedangkan efek negatifnya ialah dapat mempengaruhi kelarutan GPC. Namun efek negatif dari penggunaan dimetilformida ini jauh lebih kecil bila dibandingkan dengan kemampuan dimetilformida dalam mengatur aktifitas air dalam reaksi, sehingga efek negatif dari dimetilformida ini dapat diabaikan.

Dimetilformida dapat menurunkan aktifitas air karena sifat dari hidrofiliknya yang memungkinkannya untuk dapat merubah aktifitas air pada reaksi. Dimetilformida tidak hanya mengontrol aktifitas air tapi juga dapat menghilangkan air yang terikat pada enzim, efek ini mengubah kesetimbangan termodinamik sehingga menghasilkan lebih banyak lesitin dan meningkatkan aktivitas enzim pada reaksi esterifikasi GPC dengan asam lemak.

Sebenarnya solven hidrofilik seperti dimetilformida adalah solven yang dapat merusak struktur protein dari enzim sehingga dapat menonaktifkan kerja enzim apabila digunakan dalam jumlah yang banyak, makanya *co-solvent* organik

dimetilformida yang digunakan dalam jumlah yang sangat sedikit agar dapat meningkatkan laju reaksi enzimatik dengan meningkatnya fleksibilitas enzim.

Dimetilformida juga berpengaruh pada kelembapan relatif (*relative humidity*) yang diukur pada bagian atas reaktor. Kelembapan relatif merupakan fungsi dari konsentrasi dimetilformida, makin besar konsentrasi dimetilformida maka kelembapan relatif akan semakin kecil, sedangkan kelembapan relatif yang kecil mengindikasikan aktifitas air yang rendah. Sehingga dengan penambahan dimetilformida kedalam reaksi dapat menurunkan kelembapan relatif dan aktifitas air sehingga dapat meningkatkan hasil reaksi.

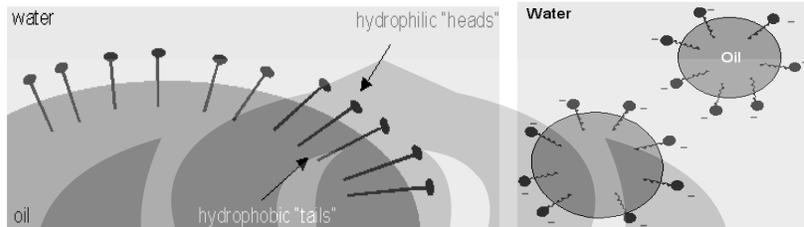
2.7. AGEN PENGEMULSI (*EMULSIFIER*)

Fenomena campuran air dan minyak yang cenderung berpisah dapat menyatu karena keajaiban *emulsifier*. Tetesan-tetesan (*droplets*) kecil yang tersebar disebut sebagai fase diskontinyu atau fase internal ataupun fase terdispersi. Sedangkan cairan tempat fase internal tersebut terdispersi disebut sebagai fase kontinyu 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 *emulsifier* amat dibutuhkan.

Emulsifier 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 *emulsifier* memiliki keajaiban struktur kimia yang mampu menyatukan dua senyawa berbeda polaritasnya (Sibuea, 2003).

Keajaiban fenomena *emulsifier* disebabkan karena *emulsifier* 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

Kehadiran *emulsifier* 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 *emulsifier* yang dapat berfungsi ganda.

Sinergi dari beberapa *emulsifier* 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 emulsifier dengan manfaat ganda. Di samping struktur kimianya yang memiliki gugus hidrofil dan lipofil yang berperan sebagai *emulsifier*, 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.

Dalam uji emulsi dapat dilakukan dengan pengukuran tegangan permukaan, pengukuran tegangan antarmuka, dan stabilitas emulsi pada suatu larutan sebelum diberi *emulsifier* dan setelah larutan diberi *emulsifier*.

2.7.1. Tegangan Permukaan (Antar Muka) Suatu Emulsifier

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

Gaya kohesif bekerja antara molekul-molekul, tarik-menarik satu sama lain membentuk cairan atau padatan. Molekul-molekul saling melekat dan tidak terpisah, sehingga mempertahankan bentuk cair atau padatan tersebut. 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 (γ) 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.

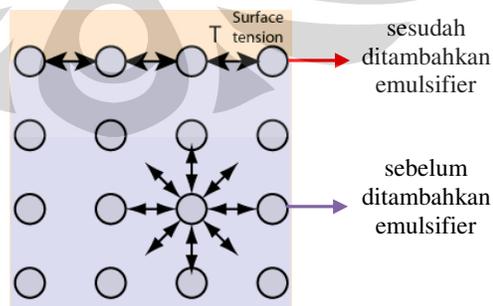
Tingkat penurunan tegangan permukaan oleh senyawa pengemulsi berkisar antara 50 dyne/cm hingga kurang dari 10 dyne/cm jika digunakan pada konsentrasi lebih kecil dari 0,2 persen (Sibuea,2003).

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 *emulsifier*, sebab zat pengemulsi ini dapat menurunkan tegangan antar permukaan dari 22,9 menjadi 3 dyne/cm (Sibuea mengutip Adnan, M.,2000).

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). Berikut ini adalah contoh fenomena yang terjadi pada penurunan tegangan permukaan air sebelum dan sesudah ditambahkan emulsifier.



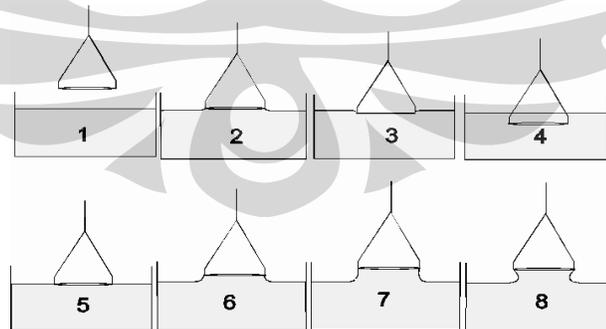
Gambar 2. 10 Fenomena tegangan permukaan air sebelum dan sesudah ditambahkan dengan *emulsifier* (Greene, 2008)

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 di atas permukaan cairan hingga menimbulkan meniscus dari cairan tersebut sampai pada akhirnya, meniscus tersebut pecah. Prosesnya adalah sebagai berikut:

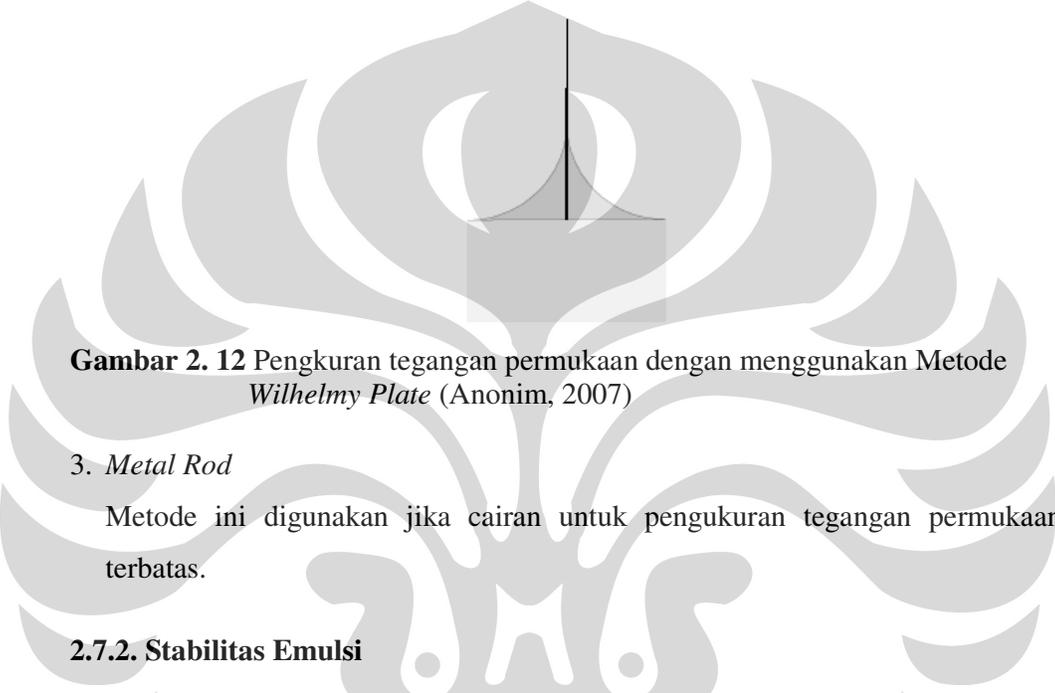
1. Cincin berada di atas permukaan cairan, belum ada gaya yang dihasilkan.
2. Cincin menyentuh permukaan cairan sehingga menghasilkan gaya positif yang tidak signifikan.
3. Cincin melewati batas permukaan cairan, namun belum berhasil menembus dikarenakan tegangan permukaan yang dimiliki oleh cairan tersebut. 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. 11 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. 12 Pengukuran tegangan permukaan dengan menggunakan Metode *Wilhelmy Plate* (Anonim, 2007)

3. *Metal Rod*

Metode ini digunakan jika cairan untuk pengukuran tegangan permukaan terbatas.

2.7.2. Stabilitas Emulsi

Dua zat (dalam fasa cair) saling tidak larut dicampurkan tetapi tidak terpisah secara spontan, dinamakan sebagai emulsi. Beberapa emulsi ada yang terpisah secara cepat, sebagai contoh bila minyak dan air yang dikocok bersama-sama, akan terbentuk butir-butir minyak dalam air kemudian tidak lama dibiarkan maka partikel-partikel minyak akan bergabung lagi dan memisahkan diri dari molekul-molekul air. Emulsi pun ada yang terpisah secara lambat diakibatkan karena kestabilan sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama untuk mencapai kondisi heterogen (terpisah).

Emulsi itu sendiri mengandung butir-butir kecil dari salah satu zat. Emulsi yang mengandung butir-butir minyak dalam air disebut dengan *oil-in-water emulsion* (O/W) dan minyak dikatakan sebagai fasa terdispersi sementara air sebagai fasa kontinyu. Emulsi dengan butir-butir air di dalam minyak disebut dengan *water-in-oil emulsion* (W/O). Emulsi minyak dalam air dikatakan baik jika

terdapat butir-butir minyak yang terdispersi secara homogen ke seluruh bagian air (Anonim, 2008).

Agar emulsi yang terbentuk dapat bertahan, maka diperlukan penambahan bahan yang mampu membentuk selaput (film) di sekeliling butiran-butiran yang terdispersi, sehingga mencegah bersatunya kembali butir-butir tersebut. Lamanya waktu suatu emulsi yang telah diberikan emulsifier untuk stabil (bertahan atau tidak terurai kembali) disebut juga dengan stabilitas emulsi (F.G. Winarno, 1997).

2.7.3. HLB (*Hydrophile Lipophile Balance*)

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 *emulsifier* 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 *emulsifier* 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.

HLB merupakan indikasi kelarutan emulsifier dalam suatu larutan. HLB ini yang akan memberikan petunjuk *emulsifier* apa yang harus digunakan untuk produk akhir yang diinginkan. Semakin rendah nilai HLB semakin bersifat lipofilik atau larut dengan minyak. Sebaliknya, semakin tinggi nilai HLB semakin bersifat hidrofilik atau semakin larut dengan air. Tabel 2.6 berikut menunjukkan nilai HLB yang dibutuhkan untuk mencapai fungsinya.

Tabel 2. 6 Nilai HLB yang dibutuhkan berdasarkan fungsi (Toreki, 2008)

Nilai HLB	Fungsi
1.0 – 3.5	Antifoams
3.5 – 8.0	Emulsi air dalam minyak (W/O)
7.0 – 9.0	Wetting agents
8.0 – 16.0	Emulsi minyak dalam air (O/W)
15.0 – 40.0	Solubilizers

2.8. HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

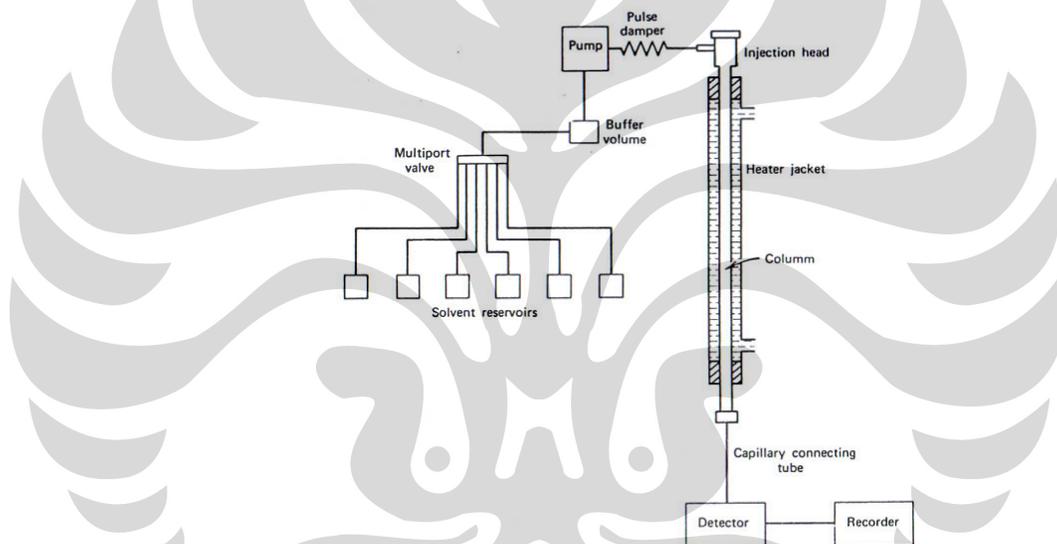
Kromatografi gas (GC) lebih banyak digunakan secara luas sejak pengembangannya karena memiliki kelebihan dalam kecepatan dan kesensitifannya bila dibandingkan dengan kromatografi kolom cair. Walaupun demikian, kromatografi cair memiliki kesempatan yang potensial untuk digunakan secara luas karena sekitar 85% dari senyawa yang dikenal merupakan senyawa yang tidak mudah menguap atau tidak cukup stabil untuk dipisahkan dengan menggunakan kromatografi gas. Pendekatan tradisional dalam kromatografi cair menggunakan kolom dengan diameter yang besar dan laju alir yang kecil dengan menggunakan tekanan pompa yang rendah. Waktu pemisahan dilakukan dalam hitungan jam dan pengumpulan fraksi harus dianalisis secara terpisah, yang tentunya akan menambah lama waktu yang diperlukan untuk menganalisis sampel. Dengan berkembangnya teori tentang kromatografi, terutama dari kromatografi gas, telah menyebabkan perkembangan untuk teknik dan instrumentasi *High Performance Liquid Chromatography*, yang menghasilkan pemisahan dan pengukuran sampel hanya dalam hitungan menit. Keunggulan HPLC dibandingkan kromatografi cair lainnya adalah:

1. Kolom HPLC dapat dipakai berulang kali tanpa diregenerasi.
2. Tercapainya pemisahan yang memuaskan pada kolom.
3. Peralatan HPLC dapat dioperasikan secara otomatis dan kuantitatif.
4. Waktu analisis yang relatif singkat.
5. Untuk keperluan preparatif dapat dilakukan dalam skala besar.

HPLC dapat disamakan dengan GC dalam hal kepekaan dan kemampuannya menghasilkan data kualitatif dan kuantitatif dengan sekali kerja saja. Perbedaannya adalah fasa diam yang terikat pada polimer berpori terdapat pada kolom baja tahan karat yang bergaris tengah kecil, dan fasa gerak cair mengalir akibat tekanan yang besar. Fasa geraknya adalah campuran pelarut yang dapat bercampur. HPLC digunakan terutama untuk golongan senyawa tak atsiri, misalnya terpenoid tinggi, segala jenis senyawa fenol, alkaloid, lipid, dan gula. HPLC berhasil paling baik untuk senyawa yang dapat dideteksi di daerah spektrum UV atau spektrum sinar tampak.

2.8.1. Prinsip Dasar HPLC

Laju distribusi zat terlarut antara fasa stasioner (diam) dan fasa gerak dalam kromatografi cair tradisional secara luas dikontrol oleh laju difusi. Difusi dalam cairan sangat pelan bila dibandingkan dengan difusi dalam gas. Untuk meminimisasi difusi dan waktu yang dibutuhkan untuk pergerakan komponen sampel dari dan menuju daerah interaksi dalam kolom, ada dua kriteria yang harus diperhatikan. Pertama, *packing* harus terbagi dengan baik dan memiliki bentuk yang sangat bulat untuk menghasilkan keseragaman dan densitas *packing* yang optimum. Kedua, fasa cair stasioner sebaiknya dalam bentuk lapisan tipis yang seragam tanpa *pool* yang stagnan.



Gambar 2. 13 Komponen-komponen dasar pada HPLC

2.8.2. Fasa gerak HPLC

Kemampuan HPLC dalam memisahkan banyak senyawa terutama tergantung pada keanekaan fasa gerak atau pelarut gerak. Pada GC, fasa gerak hanya sedikit mempengaruhi pemisahan. Tetapi fasa gerak pada HPLC sangat berpengaruh pada tahanan zat terlarut dan pemisahan komponen dalam campuran. Oleh karena banyak pelarut dapat digunakan di HPLC, sifat utama fasa gerak harus dipertimbangkan.

Distribusi relatif *solute* antara dua fasa ditentukan oleh interaksi antara spesi *solute* dengan tiap fasa. Kekuatan relatif dari interaksi ini ditentukan oleh kepolaran yang dimiliki oleh pelarut (fasa gerak), sampel, dan fasa diam.

Kepolaran pelarut merupakan ukuran kekuatan pelarut atau kemampuan untuk mengelusi suatu senyawa. Jika polaritas dari fasa diam dan fasa gerak hampir sama, maka interaksi *solute* dengan tiap fasa juga mirip, menyebabkan pada interaksi yang lemah. Karenanya, untuk fasa diam yang nonpolar diperlukan fasa gerak yang bersifat polar, dan begitu pula sebaliknya. Sedangkan pada pemisahan *solute* yang sifat kimianya hampir sama, dipilih fasa diam yang sifat kimianya mirip dengan *solute* tersebut. Hambatan *solute* biasanya diubah dengan mengubah polaritas fasa gerak.

2.8.3. Profil Kromatogram HPLC

Kromatogram HPLC merupakan relasi antara tanggapan detektor sebagai ordinat dan waktu sebagai absis pada sistem koordinat Cartesian, di mana titik nol dinyatakan sebagai saat dimulainya injeksi sampel. Sampel yang diinjeksikan menuju kolom analisis tidak langsung secara serempak molekul-molekulnya terkumpul di satu titik. Demikian pula tiap-tiap molekul *solute* akan mengalami hambatan fasa diam di dalam kolom dengan waktu yang berbeda. Oleh sebab itu, semua molekul-molekul *solute* tidak serempak keluar dari kolom. Keluarnya molekul *solute* dari kolom terjadi secara random dan demikian pula respon detektor terhadap *solute* yang keluar dari kolom, yaitu tidak serempak terhadap seluruh molekul. Akibatnya, profil kromatogram akan melebar secara ideal seperti yang terlihat pada kurva Gauss Gambar 2.14.



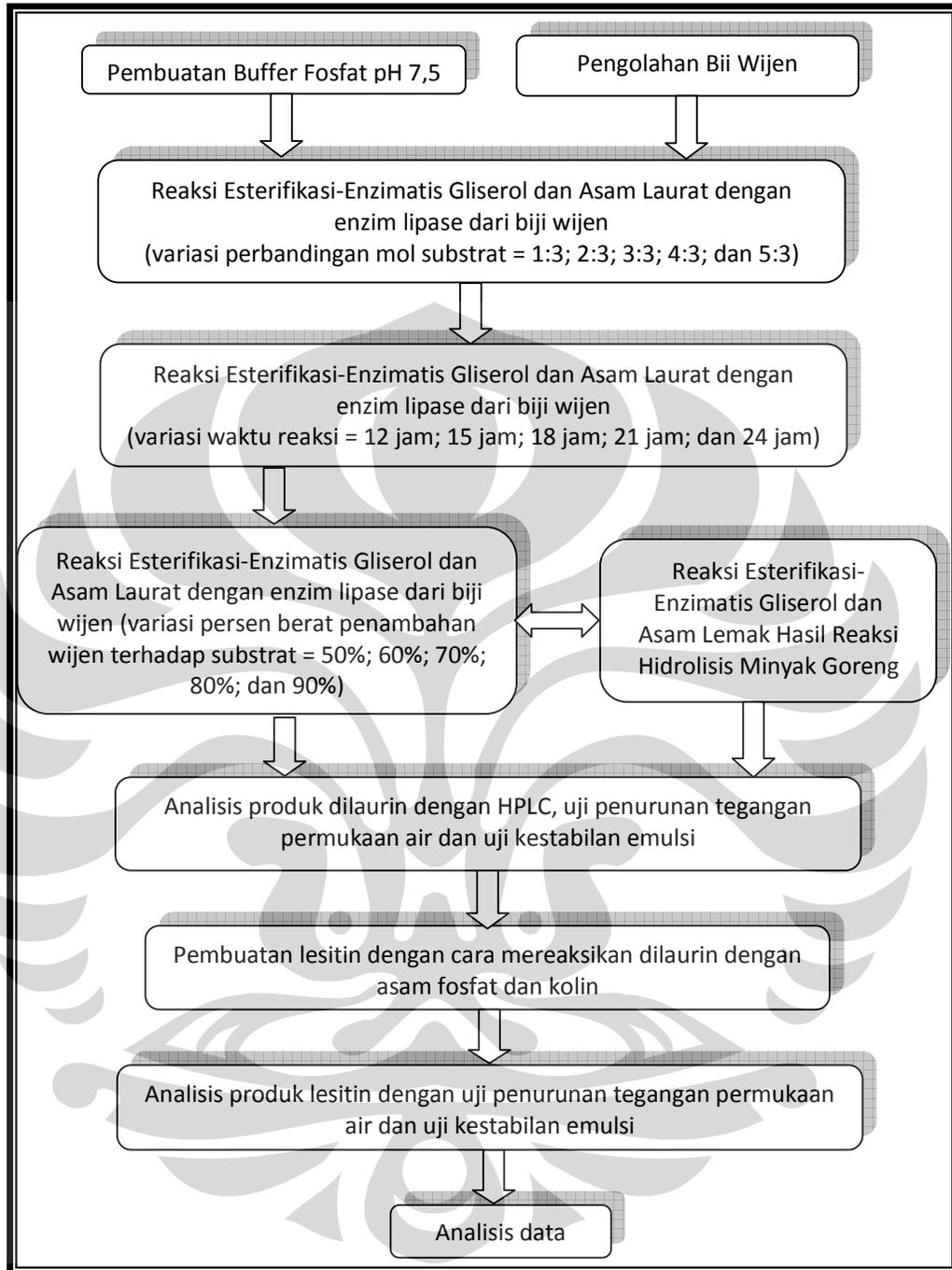
Gambar 2. 14 Profil Kromatogram HPLC

BAB III METODE PENELITIAN

Dalam bab ini akan dibahas rancangan penelitian, variabel penelitian, peralatan dan bahan yang digunakan, lokasi penelitian dan prosedur penelitian. Sebagian besar penelitian dilakukan di Laboratorium Dasar Proses Kimia (DPK), Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, juga untuk melakukan analisis produk dengan pengukuran penurunan tegangan permukaan air, stabilitas emulsi minyak-air. Sedangkan analisis HPLC dilakukan di Laboratorium Puspipstek, Serpong.

3.1. RANCANGAN PENELITIAN

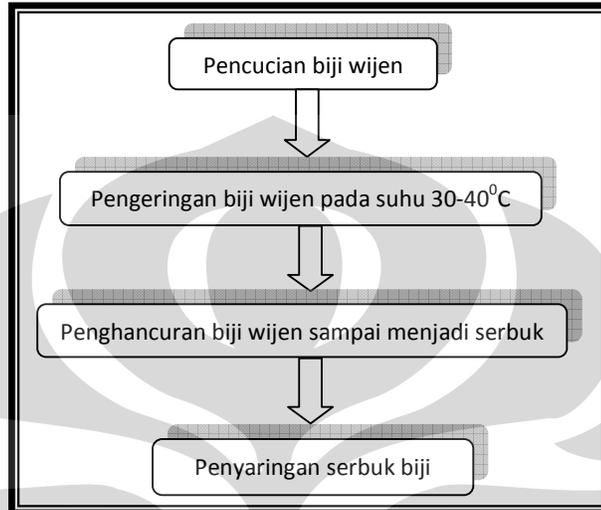
Penelitian ini terdiri atas tahap preparasi alat dan bahan penelitian, pembuatan buffer fosfat pH 7,5, reaksi esterifikasi-enzimatis, analisis produk dilaurin, pembuatan lesitin, analisis produk lesitin, dan pengolahan data. Diagram alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian

Penelitian ini difokuskan pada reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dengan asam laurat dan enzim lipase dari biji wijen (*Sesamum indicum L.*), yaitu mencari kondisi optimum yang diperlukan untuk menghasilkan produk dilaurin. Produk dilaurin inilah yang kemudian digunakan untuk membuat lesitin. Selain itu

kondisi operasi optimum yang diperoleh juga dipergunakan untuk melakukan reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam lemak hasil hidrolisis minyak goreng. Berikut ini ialah bagan alur penelitian yang dilakukan dalam pengolahan biji wijen yang akan digunakan pada reaksi esterifikasi-enzimatis.



Gambar 3. 2 Diagram Alir Pengolahan Biji Wijen

Pada proses pengolahan biji wijen ini pencucian biji wijen menggunakan air distilasi agar biji wijen benar-benar bersih dan steril, setelah itu biji wijen dikeringkan di dalam oven dengan suhu 30-40⁰C agar kandungan air di dalam biji wijen tersebut hilang. Kemudian biji wijen dihancurkan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk dan disaring. Serbuk biji wijen yang telah disaring akan digunakan sebagai enzim lipase pada reaksi esterifikasi-enzimatis.

3.2. VARIABEL PENELITIAN

- Variabel tetap atau kondisi operasi yang tidak berubah dalam penelitian ini ialah : pH, suhu, tekanan, dan kecepatan pengadukan.
- Kondisi operasi yang diubah atau variabel bebas pada penelitian ini adalah perbandingan mol gliserol dan asam laurat, waktu reaksi, dan persentase berat penambahan wijen terhadap substrat.
- Sedangkan parameter yang akan diamati sebagai hasil dari penelitian atau variabel terikat dalam penelitian ini adalah penurunan tegangan permukaan air dan stabilitas emulsi dilaurin yang dihasilkan dari reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat dengan enzim lipase.

3.3. ALAT DAN BAHAN

3.3.1. Alat-Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1 di bawah ini:

Tabel 3. 1 Alat-alat penelitian

NO	ALAT	KEGUNAAN
1.	<i>Hotplate</i>	Sebagai wadah pemanas pada proses reaksi esterifikasi-enzimatis
2.	Pipet tetes	Mengambil zat kimia
3.	Timbangan	Untuk menimbang semua reaktan dan produk
4.	Kondenser	Sebagai refluks proses reaksi esterifikasi-enzimatis agar heksana yang menguap dapat diturunkan titik didihnya
5.	Kaca arloji	Tempat untuk menimbang reaktan
6.	Spatula kaca	Alat untuk mengaduk larutan
7.	Spatula	Alat untuk mengambil bahan dari wadahnya
8.	Tabung reaksi	Tempat untuk menyimpan larutan atau produk cair
9.	<i>Beaker glass</i>	Wadah untuk meletakkan larutan
10.	Corong biasa	Wadah untuk menuangkan larutan ke botol atau tabung reaksi
11.	Labu ukur	Wadah untuk meletakkan larutan buffer phosphate pH 7,5
12.	Gelas ukur	Wadah untuk mengukur larutan yang akan digunakan
13.	Labu <i>erlenmeyer</i>	Wadah untuk bahan-bahan yang akan digunakan pada proses reaksi esterifikasi-enzimatis
14.	pH meter	Mengukur pH pada buffer fosfat
15.	Pompa air aquarium	Untuk mensirkulasi air es pada kondenser
16.	Oven	Alat untuk mengeringkan biji wijen
17.	HPLC	Alat untuk menguji sampel (dilaurin)
18.	Termometer	Alat untuk mengukur suhu reaksi esterifikasi
19.	Cawan petri	Untuk menyimpan serbuk biji wijen yang telah disaring
20.	<i>Magnetic stirrer</i>	Untuk mengaduk reaktan pada reaksi esterifikasi enzimatis
21.	<i>Buchner</i>	Wadah penyaring larutan hasil reaksi esterifikasi enzimatis
22.	Tensiometer	Alat untuk menguji tegangan permukaan

3.3.2. Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.2 di bawah ini:

Tabel 3. 2 Bahan-bahan penelitian

NO	BAHAN	KEGUNAAN
1.	Aquades	Air distilasi untuk membuat larutan
2.	Asam laurat	Reaktan untuk proses esterifikasi-enzimatis
3.	Gliserol	Reaktan untuk proses esterifikasi-enzimatis
4.	Biji wijen	Sebagai enzim lipase untuk reaksi esterifikasi enzimatis
5.	Buffer fosfat pH 7,5	Untuk menjaga kinerja pH enzim lipase dari serbuk biji wijen
6.	n-Heksana	Bahan untuk melarutkan asam laurat pada proses esterifikasi-enzimatis
7.	Asam Fosfat	Bahan untuk membuat lesitin
8.	<i>Choline</i>	Bahan untuk membuat lesitin
9.	Minyak goreng	Bahan untuk uji kestabilan emulsi dan tegangan permukaan antara minyak-air dan antara minyak, air, dan emulsifier
10.	Aluminium foil	Untuk menutup sambungan antara erlenmeyer dengan kondenser agar n-heksana tidak menguap keluar, dan untuk menutup larutan buffer fosfat
11.	Plastik wrap	Untuk menutup sambungan antara erlenmeyer dengan condenser agar n-heksana tidak menguap keluar, untuk menutup rapat serbuk biji wijen yang telah disaring agar tidak terkontaminasi, dan untuk menutup larutan buffer fosfat
12.	Kertas saring	Untuk menyaring larutan hasil reaksi esterifikasi enzimatis
13.	Lakban	Untuk menutup sambungan antara erlenmeyer dengan condenser agar n-heksana tidak menguap keluar

3.4. LOKASI PENELITIAN

- Laboratorium Dasar Proses Kimia (Lab. DPK) Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia, Depok.
- Tempat pengujian HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) di Laboratorium Puspipstek, Serpong.

3.5. RINCIAN KEGIATAN PENELITIAN

3.5.1. Tahap Pembuatan Buffer Phosphate 0,1 M pH 7,5

Menurut penelitian Abigor dkk (2002) katalis enzim dari biji wijen dapat bekerja dengan baik dan bertahan hidup pada pH 7-7,5. Oleh karena

itu digunakan buffer fosfat pH 7,5 untuk mengoptimalkan kerja enzim. Buffer fosfat pH 7,5 tersebut dibuat dengan mencampurkan larutan KH_2PO_4 0,1 M dan larutan K_2HPO_4 0,1 M sampai membentuk pH 7,5. Kemudian mengukur volume yang dibutuhkan untuk membuat buffer fosfat pH 7,5 tersebut. Sedangkan untuk perhitungan buffer phosphate 0,1 M pH 7,5 dapat dilihat pada lampiran A.

3.5.2. Reaksi Esterifikasi-Enzimatis

Prosedur penelitian ini terdiri dari dua tahap, yaitu preparasi enzim dan reaksi esterifikasi.

A. Preparasi Enzim

1. Mencuci biji wijen dengan air distilasi sampai bersih.
2. Mengeringkan biji wijen tersebut di dalam oven dengan temperatur 30-40°C hingga kandungan air di dalam biji wijen tersebut hilang.
3. Menghancurkan biji wijen dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk, kemudian serbuk biji wijen tersebut kita saring.
4. Serbuk biji wijen yang telah disaring inilah yang akan digunakan sebagai enzim lipase dari bahan baku alam pada reaksi esterifikasi enzimatis.

B. Reaksi Esterifikasi

1. Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Yaitu gliserol, asam laurat, ekstrak enzim lipase dari biji wijen (*Sesamum indicum L.*), buffer phosphate pH 7,5, n-heksana, erlenmeyer, kondenser, *magnetic stirrer*, *hot plate*, dan pompa air.
2. Mencampurkan gliserol dan asam laurat, setelah itu menambahkan biji wijen (60% dari berat substrat) ke dalam larutan campuran tersebut, n-heksana sebanyak 40 mL, dan buffer phosphate pH 7,5 sebanyak 8 tetes.
3. Selanjutnya dilakukan reaksi esterifikasi-enzimatis dalam erlenmeyer yang dihubungkan dengan kondenser yang berfungsi sebagai refluks yang dialiri dengan air es agar n-heksana tidak menguap keluar dan diaduk dengan *magnetic stirrer* dan dipanaskan di atas *hotplate* dengan variasi perbandingan mol substrat, waktu reaksi, dan persentase berat penambahan

wijen yang telah ditentukan. Reaksi ini dilakukan pada suhu 53⁰C dan tekanan 1 atm.

4. Reaksi pertama kali dilakukan dengan variasi perbandingan mol substrat (1:3; 2:3; 3:3; 4:3; dan 5:3).
5. Selanjutnya dengan variasi waktu reaksi (12 jam; 15 jam; 18 jam; 21 jam; dan 24 jam) dan terakhir dengan variasi persentase berat penambahan wijen (50%; 60%; 70%; 80%; dan 90%).
6. Melakukan analisis produk dilaurin yang dihasilkan dengan metode HPLC, pengukuran penurunan tegangan permukaan dengan metode cincin dan uji kestabilan emulsi minyak-air untuk mendapatkan kondisi optimum dari setiap variasi yang dilakukan. (Prosedur dapat dilihat pada sub-sub-bab 3.5.3).

Variabel yang Diamati

Berikut ini adalah variabel bebas dan terikat yang akan digunakan pada penelitian.

Tabel 3. 3 Variabel bebas dan terikat

Variabel Bebas	Variabel Terikat
Perbandingan mol substrat (1:3 ; 2:3 ; 3:3 ; 4:3 ; dan 5:3)	Temperatur (53 ⁰ C) Kecepatan pengadukan (8 rpm) Waktu reaksi esterifikasi (24 jam) Persen berat penambahan wijen (60% dari berat substrat)
Waktu reaksi esterifikasi (12 jam; 15 jam; 18 jam; 21 jam; dan 24 jam)	Temperatur (53 ⁰ C) Jumlah mol gliserol : asam laurat (3:3) Kecepatan pengadukan (8 rpm) Persen berat penambahan wijen (60% dari berat substrat)
Persen berat penambahan wijen terhadap substrat (50 %; 60 %; 70 %; 80 %; dan 90 %)	Temperatur (53 ⁰ C) Jumlah mol gliserol : asam laurat (3:3) Waktu reaksi esterifikasi (18 jam) Kecepatan pengadukan (8 rpm)

Penelitian ini dilakukan secara seri, dimana setiap kondisi optimum yang diperoleh dari variabel bebas yang divariasikan akan digunakan untuk tahap reaksi selanjutnya dalam pembuatan lesitin. Selain itu kondisi operasi optimum yang diperoleh juga dipergunakan untuk melakukan reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam lemak hasil hidrolisis minyak goreng.

3.5.3. Pembuatan Lesithin

Prosedur yang dilakukan dalam pembuatan lesitin ialah sebagai berikut:

1. Menyiapkan bahan-bahan dan peralatan yang diperlukan. Bahan yang harus disiapkan ialah produk dilaurin hasil reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan enzim lipase dari biji wijen, H_3PO_4 (asam fosfat), dan kolin.
2. Mereaksikan dilaurin dengan fosfat selama 2 jam pada suhu ruang dan tekanan 1 atm, setelah 2 jam menambahkan kolin pada reaksi tersebut dan direaksikan kembali selama 2 jam. Reaksi ini dilakukan pada reaktor *batch* (Rossseto,at.al, 2008).
3. Melakukan analisis lesitin dengan uji penurunan tegangan permukaan air dan kestabilan emulsi minyak-air.

3.5.4. Analisis *Emulsifier*

A. *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Prosedur ini digunakan untuk memperoleh pemisahan yang baik dalam waktu yang relatif singkat. Langkah-langkah yang digunakan dalam HPLC adalah sebagai berikut:

1. Menghidupkan pompa yang digunakan untuk mengalirkan pelarut eluen (fasa gerak), detektor, dan rekorder. Mengatur kecepatan pompa aliran pompa yang digunakan, sensitivitas detektor, dan kecepatan rekorder.
2. Menginjeksi sampel yaitu dilaurin ke dalam injektor. Membiarkan fasa gerak melewati kolom selama 5-10 menit.
3. Mengamati rekaman dari respon detektor untuk meyakinkan apakah kolom sudah bersih.
4. Dengan menggunakan *syringe*, menginjeksikan sampel dengan konsentrasi terkecil ke dalam HPLC pada posisi LOAD.
5. Memutar katup pada tempat injeksi dari posisi LOAD ke posisi INJECT secara serentak (bersamaan) sambil menekan tombol RUN pada rekorder.
6. Mengamati kromatogram yang terbaca pada rekorder. Hasil kromatogram yang diperoleh merupakan relasi antara tanggapan detektor sebagai ordinat

dan waktu sebagai absis pada sistem koordinat Cartesian, di mana titik nol dinyatakan sebagai saat dimulainya injeksi sampel.

7. Melakukan analisis kualitatif dengan membandingkan terhadap kromatogram larutan dilaurin standar yang dipakai. Dalam kromatogram, akan diperoleh waktu retensi (t_R) dan waktu tambat untuk pelarut pengembang (t_M).

B. Pengukuran Penurunan Tegangan Permukaan Air

Pengukuran penurunan tegangan permukaan air pada penelitian ini menggunakan metode analisis cincin Pt-Ir yang memiliki spesifikasi alat sebagai berikut:

- Merk: 'Kruss' *Interfacial Tensiometer*.
- Jangkauan pengukuran: + 90 mN/m (+ 90 dyne/cm).
- Akurasi: + 0,1 mN/m.
- Resolusi: 0,0005 mN/m.
- Cincin: Platinum-Iridium, welded, diameter: 20 mm.
- Wadah sampel: diameter = 50 mm, terbuat dari kaca tahan api.
- Volume sampel: 10 - 40 mL.
- Peralatan dilengkapi dengan meja penyeimbang, *measurement read-off*, ekualisasi keseimbangan, dan penjaga keseimbangan cincin.

Pada prosedur kerja ini sampel yang akan di uji ada tiga sampel, sampel pertama hanya berisi aquades yang dijadikan sebagai standarisasi dan sampel kedua berisi aquades yang ditambahkan dengan dilaurin sebanyak 5% dari berat substrat, dan terakhir aquades yang ditambahkan dengan minyak dan dilaurin sebanyak 5% dari berat substrat (yang dikenal dengan sebutan tegangan antar muka). Kemudian sampel tersebut dianalisa secara kuantitatif .

Adapun cara melakukan pengukuran penurunan tegangan permukaan ini adalah sebagai berikut :

1. Menyiapkan sampel dilaurin dan aquadest yang akan di uji penurunan 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 5% dari berat substrat.
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. Memeriksa posisi garis di layar berada tepat di tengah garis.
7. Naikkan lagi gelas yang telah berisi cairan dengan memutar *handweel* sampai cincin masuk seluruhnya kedalam 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.

C. Kestabilan Emulsi

Prosedur yang diperlukan dalam melakukan uji kestabilan emulsi minyak-air adalah sebagai berikut:

1. Mencampurkan aquades (senyawa polar) dan minyak (senyawa nonpolar) ke dalam *erlenmeyer* dengan perbandingan minyak dan air adalah 1 : 4
2. Menambahkan produk dilaurin sebanyak 5% dari berat total *liquid* (Struewing, 1997).
3. Mengaduk campuran tersebut sehingga terbentuk emulsi.
4. Menghitung waktu yang diperlukan sampai terbentuknya emulsi.
5. Menganalisis sampel tersebut secara kuantitatif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan kondisi operasi optimum yang diperlukan dalam reaksi esterifikasi-enzimatis untuk menghasilkan produk dilaurin. Produk dilaurin yang dihasilkan adalah salah satu bahan pembuat lesitin yang merupakan suatu agen pengemulsi yang sering dibutuhkan dalam kehidupan sehari-hari. Kondisi optimum yang dicari dalam penelitian ini ialah perbandingan mol gliserol dan asam laurat, waktu reaksi serta persentase berat penambahan wijen terhadap jumlah substrat.

Pada bagian ini akan ditampilkan data-data hasil penelitian yang dilakukan beserta analisisnya.

4.1. REAKSI ESTERIFIKASI-ENZIMATIS

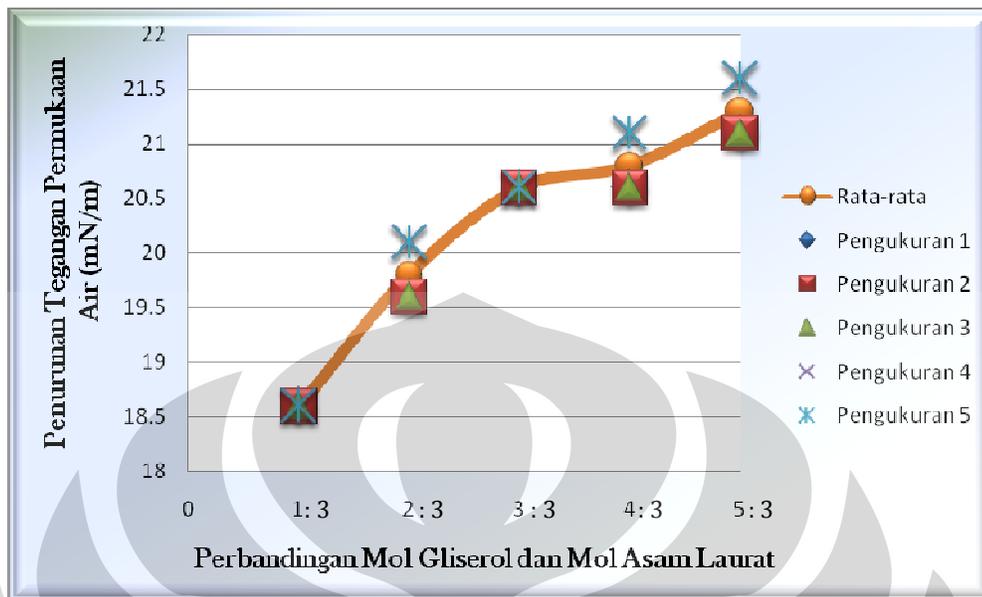
Tahap inti dari penelitian ini ialah pada reaksi esterifikasi-enzimatis. Reaksi yang terjadi pada esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase dapat lihat pada persamaan 2.1. Tahapan penelitian dalam reaksi esterifikasi-enzimatis ini dibagi menjadi tiga bagian untuk menentukan kondisi optimum reaksi esterifikasi. Tahapan tersebut adalah penentuan kondisi optimum pada perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat, selanjutnya kondisi optimum tersebut digunakan untuk mencari kondisi optimum pada waktu reaksi esterifikasi-enzimatis, dan terakhir penentuan kondisi optimum pada persentase berat penambahan wijen terhadap jumlah berat substrat. Karena salah satu dari sifat emulsifier adalah dapat menurunkan tegangan permukaan air dan menstabilkan emulsi minyak dan air, maka penentuan kondisi operasi optimum ini dilakukan dengan dengan uji pengukuran penurunan tegangan permukaan air dan stabilitas emulsi minyak-air.

4.1.1. Pengaruh Perbandingan Mol Reaktan Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi Minyak-Air

Reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase dari biji wijen (*Sesamum indicum L.*) yang pertama kali dilakukan adalah untuk mencari perbandingan mol reaktan optimum yang diperlukan untuk menghasilkan produk dilaurin yang memiliki sifat emulsifier terbaik, penurunan tegangan permukaan air terbesar serta stabilitas emulsi antara minyak dan air baik. Yu-Chih Yeh dan Erdogan Gulari pernah melakukan reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan enzim lipase *Rhizomucor miehei*, dimana diperoleh perbandingan mol gliserol dan asam laurat optimum yaitu 1:3 dengan *yield* maksimum digliserida mendekati 50%. Berdasarkan acuan perbandingan mol gliserol dan asam laurat optimum yang diperoleh maka variasi perbandingan mol gliserol dan asam laurat yang dilakukan ialah 1:3, 2:3, 3:3, 4:3, dan 5:3 (Yeh, 1998).

Berdasarkan manual *Interfacial Tensiometer K8*, didapatkan data tegangan permukaan air tanpa penambahan *emulsifier* pada kondisi suhu 20°C adalah sebesar 71-73 mN/m (Kruss GmbH, 2008). Data tersebut sesuai dengan percobaan pengukuran tegangan permukaan air yang telah dilakukan. Tegangan permukaan air jika tidak ditambahkan dilaurin adalah 71,6 mN/m dengan rincian nilai pengukuran menggunakan tensiometer dapat dilihat pada Lampiran B..

Berikut ini merupakan grafik pengaruh perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat dalam reaksi esterifikasi-enzimatis.



Gambar 4. 1 Pengaruh Perbandingan Mol Gliserol dan Mol Asam Laurat Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air (Tegangan permukaan air tanpa penambahan emulsifier sebesar 71,6 mN/m)

Dari grafik pengaruh perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat dalam reaksi esterifikasi-enzimatis di atas dapat dilihat terjadi penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan dilaurin dari setiap variasi perbandingan mol reaktan yang dilakukan, dimana perbedaan perbandingan mol reaktan yang dilakukan berpengaruh terhadap produk dilaurin yang dihasilkan. Hal ini dapat dilihat dari nilai penurunan tegangan permukaan air dari kelima variasi perbandingan mol reaktan yang dilakukan berkisar antara 18,6 mN/m sampai 21,3 mN/m atau sebesar 25,98% sampai 29,75%. Semakin besar penurunan tegangan permukaan air yang diberi dilaurin, maka semakin baik produk dilaurin tersebut. Karena salah satu dari sifat *emulsifier* adalah dapat menurunkan tegangan permukaan air (Sibuea, 2003). Perbandingan mol optimum ialah ketika penurunan tegangan permukaan air berada pada titik terendah dari lima variasi yang dilakukan. 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*. Penurunan tegangan permukaan yang disebabkan gaya kohesif cairan (atau padatan) membesar dengan meningkatnya

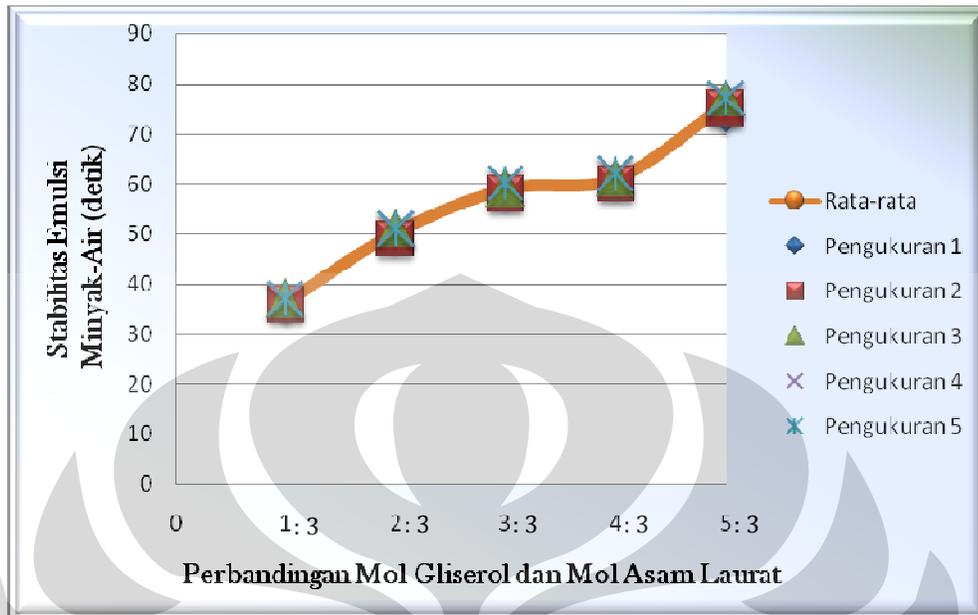
gaya kohesif. Karena gaya kohesif hidrokarbon lebih kecil daripada air, tegangan permukaan air (yang permukaannya tertutupi oleh gugus hidrofobik dari *emulsifier*) juga lebih kecil daripada air. Itulah sebabnya tegangan permukaan air menurun dengan penambahan *emulsifier* (Sibuea, 2003). Pada perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat 3:3, penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan dilaurin sebesar 20,6 mN/m. Sedangkan pada perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat 4:3, penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan emulsifier sebesar 20,8 mN/m. Karena nilai yang dihasilkan tidak terlalu jauh maka dapat disimpulkan bahwa perbandingan mol reaktan optimum adalah 3:3.

Sedangkan pada uji kemampuan larutan hasil reaksi esterifikasi-enzimatis yang berikutnya adalah pengukuran durasi kestabilan emulsi minyak dalam air yang ditambahkan dilaurin. Pada saat dilakukan pengadukan minyak dan air tanpa penambahan *emulsifier* hasil reaksi esterifikasi-enzimatis memerlukan waktu 23 detik, sementara dengan penambahan larutan hasil reaksi esterifikasi-enzimatis tersebut terlihat bahwa campuran minyak dengan air yang tadinya heterogen berubah menjadi homogen. Gambar 4.2 merupakan tahap perhitungan durasi kestabilan emulsi, uji ini dilakukan dengan penambahan dilaurin sebanyak 5% berat (Struewing, 1997).



Gambar 4. 2 Tahap perhitungan durasi kestabilan emulsi (Anonim, 2008)

Durasi yang dibutuhkan dari homogen sampai akhirnya heterogen inilah yang akan diukur dalam uji aktivitas ini. Berikut ini grafik yang menunjukkan hubungan antara perbandingan mol gliserol dan mol asam laurat dengan stabilitas emulsi minyak-air yang ditambahkan dilaurin.



Gambar 4. 3 Pengaruh Perbandingan Mol Gliserol dan Mol Asam Laurat Terhadap Kemampuan Dilaurin Menstabilkan Emulsi Minyak-Air (Nilai stabilitas emulsi minyak-air tanpa penambahan emulsifier sebesar 23 detik)

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa kemampuan menstabilkan emulsi dengan durasi paling besar adalah pada perbandingan jumlah mol gliserol dan asam laurat 5:3 yaitu sebesar 75,8 detik. Kestabilan emulsi antara minyak dan air tanpa penambahan dilaurin adalah sebesar 23 detik. Dengan demikian, larutan tersebut mampu menambahkan durasi kestabilan emulsi sebesar 52,8 detik.

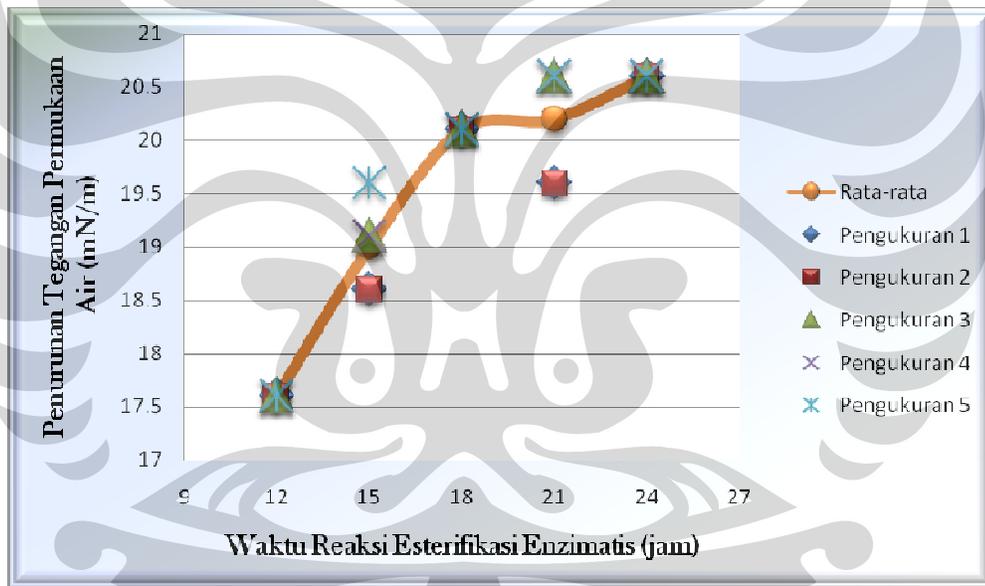
Nilai peningkatan stabilitas emulsi menunjukkan pola yang sama dengan penurunan tegangan permukaan air. Semakin tinggi kemampuan menurunkan tegangan permukaan atau antarmuka maka peningkatan stabilitas emulsi akan semakin tinggi, sebaliknya semakin rendah kemampuan menurunkan tegangan permukaan atau antarmuka maka kemampuan meningkatkan emulsi akan semakin rendah pula (Mele, 2003).

4.1.2. Pengaruh Waktu Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi Minyak-Air

Berdasarkan perbandingan mol reaktan optimum yang diperoleh dari tahap reaksi esterifikasi-enzimatis variasi perbandingan mol reaktan, maka dipakai

perbandingan mol 3:3 untuk tahap reaksi berikutnya, yaitu variasi waktu reaksi esterifikasi-enzimatis dengan kondisi operasi yang sama seperti pada reaksi sebelumnya. Yu-Chih Yeh dan Erdogan Gulari pernah melakukan reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan enzim lipase *Rhizomucor miehei*, dimana diperoleh waktu reaksi optimum yaitu 20 jam dengan *yield* maksimum digliserida mendekati 25%. Berdasarkan acuan tersebut, maka variasi waktu reaksi yang dilakukan pada reaksi esterifikasi enzimatis ini adalah 12 jam, 15 jam, 18 jam, 21 jam, dan 24 jam (Yeh, 1998).

Berikut ini grafik yang memperlihatkan pengaruh antara waktu reaksi dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase dari biji wijen.



Gambar 4. 4 Pengaruh Waktu Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air (Tegangan permukaan air tanpa penambahan emulsifier sebesar 71,6 mN/m)

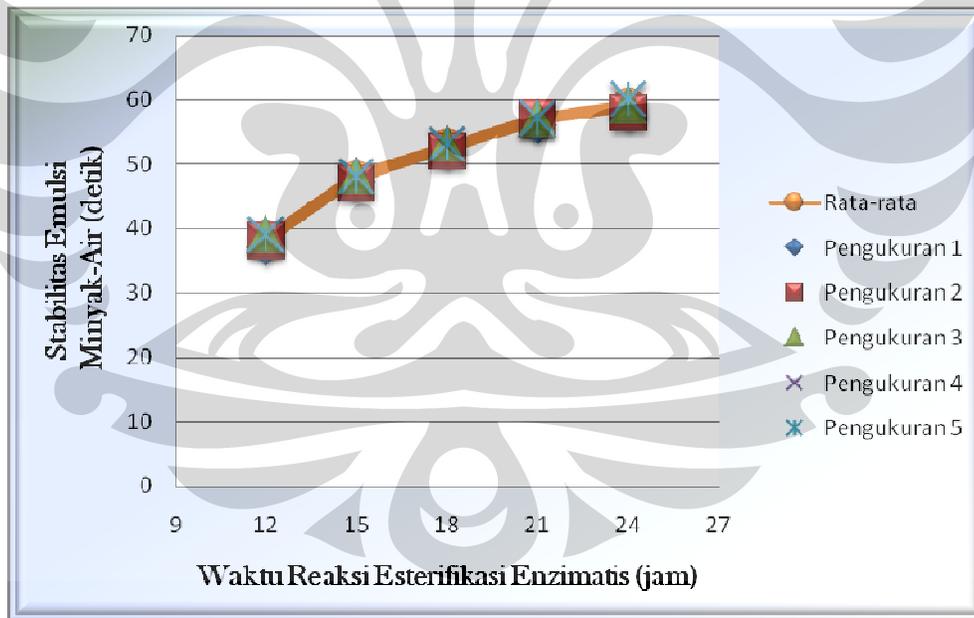
Dapat terlihat pada grafik tersebut bahwa ternyata terdapat pengaruh yang cukup besar dari lama waktu yang diberikan untuk mereaksikan gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase dari biji wijen (*Sesamum indicum L.*) yang merupakan reaksi esterifikasi-enzimatis. Pada waktu reaksi selama 12 jam hingga 24 jam tegangan permukaan mengalami penurunan terus-menerus. Produk dilaurin hasil reaksi selama 12 jam yang ditambahkan ke air, penurunan nilai tegangan

permukaan sebesar 17,6 mN/m. Pada produk dilaurin hasil reaksi selama 24 jam yang ditambahkan ke air, terukur nilai penurunan tegangan permukaan sebesar 20,6 mN/m. Sehingga dapat dilihat terjadi penurunan tegangan permukaan air yang cukup signifikan pada waktu yang semakin lama yaitu sebesar 24,58% sampai 28,77%. Hal ini diakibatkan semakin lama waktu reaksi yang diberikan maka reaksi akan semakin berlangsung sempurna karena aktifitas enzim yang bekerja semakin optimal hingga sampai pada titik maksimum dan kemudian untuk waktu yang lebih lama lagi akan terjadi reaksi lain. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Yeh dan Gulari dilaurin dapat dihasilkan pada waktu reaksi antara 12-20 jam yaitu sebesar 22-25%, jika kurang dari 12 jam maka produk yang dihasilkan hanya berupa monolaurin yaitu sebesar 5-10%, tetapi jika kurang dari 6 jam maka produk yang diinginkan (ML, DL, atau TL) belum terbentuk, jika lebih dari 24 jam maka produk yang dihasilkan dapat berupa trilaurin yaitu mendekati 30% (Yeh, 1998). Untuk mekanisme reaksinya yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 2.5 dan persamaan 2.1.

Semakin besar penurunan tegangan permukaan air yang diberi dilaurin, maka semakin baik produk dilaurin tersebut. Karena salah satu dari sifat *emulsifier* adalah dapat menurunkan tegangan permukaan air (Sibuea, 2003). Tegangan permukaan air terjadi karena gaya kohesif antar molekul yang berada di permukaan. Molekul ini tidak memiliki molekul lain di atasnya sehingga molekul tersebut saling melekat lebih kuat dengan molekul yang ada di sekitarnya. Dengan adanya penambahan *emulsifier*, maka molekul-molekul *emulsifier* mengalami orientasi dan teradsorpsi pada permukaan larutan. Dengan demikian permukaan larutan tertutupi dengan gugus hidrofobik *emulsifier*. Semakin besar gaya kohesif antarmolekul di permukaan, maka akan semakin besar penurunan tegangan permukaannya. Karena gaya kohesif antarmolekul hidrokarbon lebih kecil daripada air, maka tegangan permukaan larutan (yang permukaannya tertutupi oleh gugus hidrofobik dari *emulsifier*) juga lebih kecil daripada air. Oleh karena itulah, tegangan permukaan air menurun dengan penambahan *emulsifier*. Penurunan tegangan permukaan air akan sebanding dengan jumlah *emulsifier* yang ditambahkan. Semakin banyak *emulsifier* yang ditambahkan maka akan semakin besar penurunan tegangan permukaannya (Sibuea, 2003).

Pada reaksi selama 18 jam penurunan tegangan permukaan air yang diberi dilaurin menunjukkan nilai 20,1 mN/m, sedangkan pada reaksi selama 21 jam penurunan tegangan permukaan air yang diberi dilaurin menunjukkan nilai 20,2 mN/m. Karena nilai yang dihasilkan tidak terlalu jauh maka dapat disimpulkan waktu reaksi optimum ialah selama 18 jam.

Uji kemampuan larutan hasil reaksi esterifikasi-enzimatis yang berikutnya adalah pengukuran durasi kestabilan emulsi minyak dalam air. Pada saat dilakukan pengadukan minyak dan air tanpa penambahan larutan hasil reaksi esterifikasi-enzimatis memerlukan waktu 23 detik, sementara dengan penambahan larutan hasil reaksi esterifikasi-enzimatis tersebut terlihat bahwa campuran minyak dengan air yang tadinya heterogen berubah menjadi homogen. Durasi yang dibutuhkan dari homogen sampai akhirnya heterogen inilah yang akan diukur dalam uji aktivitas ini. Berikut ini grafik yang menunjukkan hubungan antara waktu reaksi esterifikasi-enzimatis dengan stabilitas emulsi minyak-air dan dilaurin.



Gambar 4. 5 Pengaruh Waktu Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Terhadap Kemampuan Dilaurin Menstabilkan Emulsi Minyak-Air (Nilai stabilitas emulsi minyak-air tanpa penambahan emulsifier sebesar 23 detik)

Gambar 4.5 menunjukkan bahwa kemampuan menstabilkan emulsi dengan durasi paling besar adalah pada waktu reaksi esterifikasi-enzimatis 24 jam yaitu

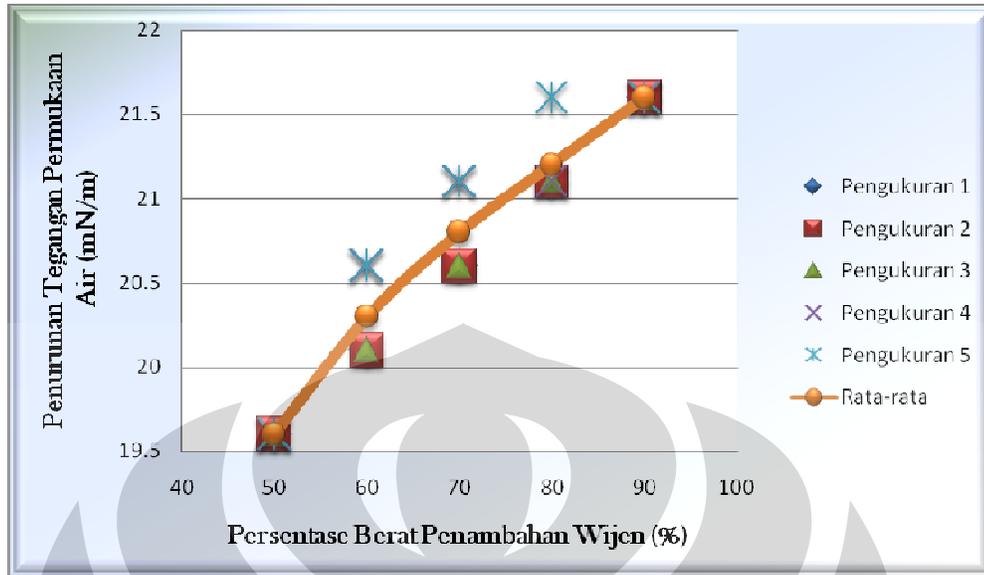
sebesar 59 detik. Kestabilan emulsi antara minyak dan air tanpa penambahan *emulsifier* adalah sebesar 23 detik. Dengan demikian, larutan tersebut mampu menambahkan durasi kestabilan emulsi minyak-air sebesar 36 detik.

Nilai peningkatan stabilitas emulsi menunjukkan pola yang sama dengan penurunan tegangan permukaan air. Hal ini dikarenakan *emulsifier* menurunkan energi permukaan dari antarmuka minyak-air dan juga menurunkan sejumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk permukaan baru dari minyak ataupun air. Gugus hidrofilik akan berinteraksi dengan air sementara gugus hidrofobik (nonpolar) akan mengikat minyak. Semakin besar jumlah *emulsifier* yang ditambahkan dalam suatu emulsi maka akan semakin meningkat kestabilan emulsi. Hal ini dikarenakan semakin banyak gugus hidrofilik yang mengikat molekul air dan juga semakin bertambahnya gugus hidrofobik yang mengikat molekul minyak (Shimada, 2003).

4.1.3. Pengaruh Persentase Berat Penambahan Wijen Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi Minyak-Air

Berdasarkan waktu reaksi dan perbandingan mol reaktan optimum yang didapatkan dari tahap percobaan sebelumnya, maka dipakai waktu reaksi 18 jam dan perbandingan mol gliserol dan asam laurat sebesar 3:3 untuk reaksi esterifikasi-enzimatis tahap selanjutnya, yaitu mencari kondisi optimum dari persentase berat penambahan wijen terhadap jumlah substrat dengan kondisi operasi yang sama seperti pada reaksi sebelumnya. Variasi yang dilakukan pada persen berat penambahan wijen terhadap jumlah substrat dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat adalah 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90%.

Berikut ini merupakan grafik pengaruh persen berat penambahan wijen dalam reaksi esterifikasi-enzimatis terhadap kemampuannya menurunkan tegangan permukaan air.

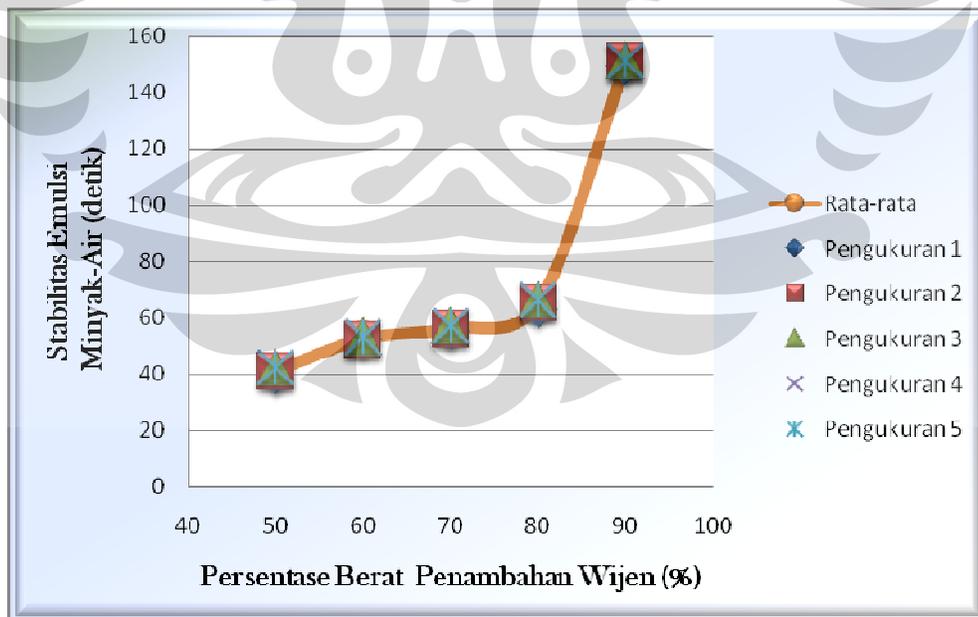


Gambar 4. 6 Pengaruh Persen Berat Penambahan Wijen Terhadap Penurunan Tegangan Permukaan Air (Tegangan permukaan air tanpa penambahan emulsifier sebesar 71,6 mN/m)

Berdasarkan data dari grafik diatas dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan nilai penurunan tegangan permukaan dari setiap variasi persen berat penambahan wijen terhadap jumlah substrat yang dilakukan, dimana persentase berat penambahan wijen mulai dari 50% hingga 90% berat mengalami penurunan tegangan permukaan air secara terus-menerus, namun hal tersebut tidaklah terlalu besar perbedaannya. Sehingga perbedaan perbandingan persentase berat penambahan wijen yang dilakukan tidak terlalu berpengaruh terhadap produk dilaurin yang dihasilkan. Hal ini dapat dilihat dari nilai penurunan tegangan permukaan dari kelima variasi perbandingan persentase berat penambahan wijen yang dilakukan hanya berkisar antara 17,6 mN/m dan 20,6 mN/m. Semakin besar penurunan tegangan permukaan air yang diberi dilaurin, maka semakin baik produk dilaurin tersebut. Karena salah satu dari sifat *emulsifier* adalah dapat menurunkan tegangan permukaan air (Sibuea, 2003). 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*. 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 air (yang permukaannya tertutupi oleh gugus hidrofobik dari *emulsifier*) juga lebih kecil daripada air. Itulah sebabnya tegangan permukaan air menurun dengan penambahan *emulsifier* (Sibuea, 2003). Pada persentase berat penambahan wijen sebanyak 90% penurunan tegangan permukaan yang terukur pada air yang diberi dilaurin menunjukkan nilai 20,6 mN/m. Karena nilai yang dihasilkan pada persentase berat penambahan wijen ini paling besar maka dapat disimpulkan persentase berat penambahan wijen optimum ialah 90%.

Uji kemampuan larutan hasil reaksi esterifikasi-enzimatis yang berikutnya adalah pengukuran durasi kestabilan emulsi minyak dalam air. Pada saat dilakukan pengadukan minyak dan air tanpa penambahan larutan hasil reaksi esterifikasi-enzimatis memerlukan waktu 23 detik, sementara dengan penambahan larutan hasil reaksi esterifikasi-enzimatis tersebut terlihat bahwa campuran minyak dengan air yang tadinya heterogen berubah menjadi homogen. Durasi yang dibutuhkan dari homogen sampai akhirnya heterogen inilah yang akan diukur dalam uji aktivitas ini. Berikut ini adalah Gambar 4.7 yang menjelaskan tentang hubungan antara persentase berat penambahan wijen terhadap jumlah substrat pada stabilitas emulsi minyak-air dan dilaurin.



Gambar 4. 7 Pengaruh Persen Berat Penambahan Wijen Terhadap Kemampuan Dilaurin Menstabilkan Emulsi Minyak-Air (Nilai stabilitas emulsi minyak-air tanpa penambahan emulsifier sebesar 23 detik)

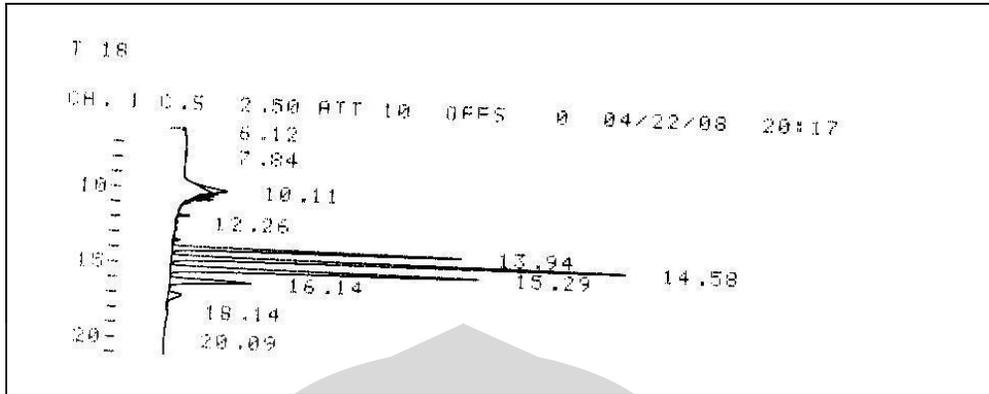
Gambar 4.7 menunjukkan bahwa kemampuan menstabilkan emulsi dengan durasi paling besar adalah pada persentase berat penambahan wijen 90%. Kestabilan emulsi antara minyak dan air tanpa penambahan emulsifier adalah sebesar 23 detik. Sedangkan nilai kestabilan emulsi antara minyak dan air dengan penambahan emulsifier adalah sebesar 150,6 detik. Dengan demikian, larutan tersebut mampu menambahkan durasi kestabilan emulsi sebesar 127,6 detik.

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 (Mele, 2003).

4.1.4. Analisis HPLC

Untuk lebih memastikan ada tidaknya kandungan digliserida dari sampel hasil reaksi yang telah dilakukan, maka dilakukan uji HPLC. Melalui uji HPLC ini dapat diketahui persentase senyawa yang terkandung didalam larutan sampel hasil reaksi. Dari analisis HPLC akan terlihat spektra yang merupakan identitas dari senyawa tertentu.

Uji dari HPLC ini hanya dilakukan pada sampel dengan kondisi optimum, dimana kondisi optimum tersebut diperoleh dari hasil pengukuran melalui tegangan permukaan air dan kestabilan emulsi yang ditambahkan dilaurin. Dari hasil analisis sampel tersebut dikatakan bahwa sampel produk hasil reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase dari biji wijen mengandung digliserida sebesar 10,92 % tetapi tidak diketahui jenis digliserida yang dihasilkan karena keterbatasan standar yang dimiliki. Larutan standar yang digunakan untuk pengukuran HPLC ini hanya berupa larutan standar *methyl oleate* (biodiesel), *mono-oleine*, *di-oleine*, dan *tri-oleine*. Berikut ini adalah gambar spektra HPLC dan data yang dihasilkan.



Gambar 4. 8 Spektra HPLC pada Kondisi Optimum

```

D-2500
METHOD: BIODIESEL TAG: 54 CH: 1 04/22/08 20:17
FILE: 3 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 3 CONC: AREA
NO. RT AREA MS/MG NAME
29 7.51 11259 0.003 METH
29 10.92 49271 0.011 DI
40 16.14 1339277 0.135 TRI
TOTAL 1399807 0.149
PEAK RES: 0
SF: 1.000
SAMP-AMT: 1.000

```

Gambar 4. 9 Data Digliserida pada Kondisi Optimum dengan Metode HPLC

4.2. PEMBUATAN LESITIN

Produk dilaurin yang diperoleh pada kondisi operasi optimum selanjutnya digunakan sebagai bahan baku untuk mensintesis lesitin (*phosphatidilcholine*). Lesitin merupakan produk akhir dari penelitian yang dibuat dengan mereaksikan dilaurin dengan asam fosfat selama 2 jam, pada suhu ruang, tekanan 1 atm, dan dilakukan pada reaktor *batch*. Setelah 2 jam, reaksi tersebut ditambahkan kolin dan direaksikan kembali selama 2 jam (Rosseto,at.al, 2008). Lesitin yang diinginkan ini merupakan suatu *emulsifier* berupa suatu produk komersial yang digunakan sebagai agen pengemulsi dalam industri makanan, kosmetik, agrokimia, dan farmasi. Mekanisme reaksi yang terjadi pada proses pembuatan lesitin dapat dilihat pada persamaan 2.2.

Produk lesitin yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan uji penurunan tegangan permukaan air dan stabilitas emulsi minyak-air. Berikut ini adalah Tabel 4.1 tentang penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan lesitin.

Tabel 4. 1 Penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan lesitin

No.	Penurunan Tegangan Permukaan Air Setelah Ditambahkan Lesitin (mN/m)
1.	42,1
2.	41,6
3.	42,9
4.	41,8
5.	41,6
Rata-rata	42

Dari tabel di atas, dapat dilihat bahwa pada uji penurunan tegangan permukaan air yang ditambahkan produk lesitin diperoleh nilai penurunan tegangan permukaan air sebesar 42 mN/m atau sekitar 58,66%. Dimana nilai tegangan permukaan air tanpa penambahan *emulsifier* adalah sebesar 71,6 mN/m. Sehingga dapat disimpulkan bahwa lesitin tersebut merupakan suatu *emulsifier* yang bersifat dapat menurunkan tegangan permukaan air (Wabel, 2008).

Analisis selanjutnya adalah dengan uji stabilitas emulsi minyak-air yang ditambahkan dengan produk lesitin. Berikut ini adalah Tabel 4.2 tentang stabilitas emulsi minyak-air setelah ditambahkan lesitin.

Tabel 4. 2 Pengukuran stabilitas emulsi minyak-air setelah ditambahkan lesitin

No.	Stabilitas Emulsi Minyak-Air Setelah Ditambahkan Lesitin (detik)
1.	166
2.	132
3.	230
4.	353
5.	527
Rata-rata	281,6

Dari Tabel 4.2 dapat kita lihat bahwa pada uji stabilitas emulsi minyak-air setelah ditambahkan lesitin adalah sebesar 281,6 detik. Pada saat dilakukan pengadukan minyak dan air tanpa penambahan lesitin memerlukan waktu 23 detik, sementara dengan penambahan lesitin terlihat bahwa campuran minyak

dengan air yang tadinya heterogen berubah menjadi homogen. Durasi yang dibutuhkan dari homogen sampai akhirnya heterogen inilah yang akan diukur dalam uji aktivitas ini. Dengan demikian, larutan tersebut mampu menambahkan durasi kestabilan emulsi sebesar 258,6 detik.

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 (Mele, 2003).

4.3. ANALISIS DILAURIN HASIL REAKSI HIDROLISIS MINYAK GORENG

Hasil kondisi operasi optimum yang diperoleh, selanjutnya digunakan untuk melakukan reaksi esterifikasi-enzimatis dengan gliserol dan asam lemak yang digunakan diperoleh dari hasil kondisi operasi optimum pada reaksi hidrolisis minyak goreng yang telah dilakukan oleh Ira Setiawati. Dari hasil reaksi tersebut diharapkan menghasilkan suatu digliserida yang diperoleh dari reaksi esterifikasi-enzimatis dengan katalis lipase dari biji wijen. Untuk membuktikan apakah penelitian tersebut berhasil atau tidak, maka dilakukan analisis dengan pengukuran tegangan permukaan air, stabilitas emulsi, dan uji HPLC.

4.3.1. Penurunan Tegangan Permukaan Air

Berikut ini adalah tabel hasil pengukuran tegangan permukaan air terhadap digliserida yang dihasilkan.

Tabel 4. 3 Pengukuran Penurunan Tegangan Permukaan Air pada Produk Reaksi Esterifikasi-Enzimatis (Hasil Hidrolisis Minyak Goreng)

No.	Penurunan Tegangan Permukaan Air – Digliserida (mN/m)
1.	44,6
2.	41,6
3.	43,1
4.	42
5.	40,9
Rata-rata	42,44

Pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa pengukuran penurunan tegangan permukaan dilakukan sebanyak lima kali dengan tujuan untuk meminimalisir kesalahan pada pengukuran tegangan permukaan. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa terjadi penurunan tegangan permukaan air terhadap digliserida yang dihasilkan yakni sebesar 42,44 mN/m atau sekitar 59,27%. Dimana nilai tegangan permukaan air yang telah diukur tanpa penambahan *emulsifier* adalah sebesar 71,6 mN/m. Semakin besar penurunan tegangan permukaan air yang diberi digliserida, maka semakin baik produk digliserida tersebut. Karena salah satu dari sifat *emulsifier* adalah dapat menurunkan tegangan permukaan air (Sibuea, 2003). Tegangan permukaan air terjadi karena gaya kohesif antar molekul yang berada di permukaan. Molekul ini tidak memiliki molekul lain di atasnya sehingga molekul tersebut saling melekat lebih kuat dengan molekul yang ada di sekitarnya. Dengan adanya penambahan *emulsifier*, maka molekul-molekul *emulsifier* mengalami orientasi dan teradsorpsi pada permukaan larutan. Dengan demikian permukaan larutan tertutupi dengan gugus hidrofobik *emulsifier*. Semakin besar gaya kohesif antarmolekul di permukaan, maka akan semakin besar penurunan tegangan permukaannya. Karena gaya kohesif antarmolekul hidrokarbon lebih kecil daripada air, maka tegangan permukaan larutan (yang permukaannya tertutupi oleh gugus hidrofobik dari *emulsifier*) juga lebih kecil daripada air. Oleh karena itulah, tegangan permukaan air menurun dengan penambahan *emulsifier*. Penurunan tegangan permukaan air akan sebanding dengan jumlah *emulsifier* yang ditambahkan. Semakin banyak *emulsifier* yang ditambahkan maka akan semakin besar penurunan tegangan permukaannya (Sibuea, 2003).

4.3.2. Uji Stabilitas Emulsi Minyak-Air

Uji kemampuan digliserida hasil reaksi esterifikasi-enzimatis yang berikutnya adalah pengukuran durasi kestabilan emulsi minyak dalam air. Pada saat dilakukan pengadukan minyak dan air tanpa penambahan larutan hasil reaksi esterifikasi-enzimatis memerlukan waktu 23 detik, sementara dengan penambahan digliserida hasil reaksi esterifikasi-enzimatis tersebut terlihat bahwa campuran minyak dengan air yang tadinya heterogen berubah menjadi homogen. Durasi yang dibutuhkan dari homogen sampai akhirnya heterogen inilah yang akan

diukur dalam uji aktivitas ini. Tabel berikut menunjukkan hasil durasi kemampuan larutan menstabilkan emulsi.

Tabel 4. 4 Pengukuran Stabilitas Emulsi Minyak-Air pada Produk Reaksi Esterifikasi-Enzimatis (Hasil Hidrolisis Minyak Goreng)

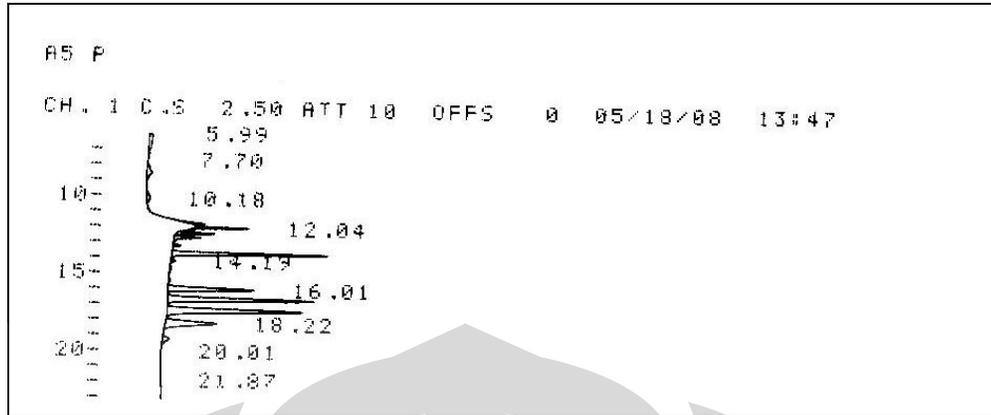
No.	Stabilitas Emulsi Setelah Ditambahkan Digliserida (detik)
1.	51
2.	50.5
3.	50.5
4.	50
5.	50
Rata-rata	50.4

Dapat dilihat pada tabel bahwa stabilitas emulsi minyak-air setelah ditambahkan digliserida adalah sebesar 50,4 detik, sedangkan kestabilan emulsi antara minyak dan air tanpa penambahan digliserida adalah sebesar 23 detik. Dengan demikian, larutan tersebut mampu menambahkan durasi kestabilan emulsi sebesar 27,4 detik.

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 (Mele, 2003).

4.3.3. Analisis HPLC

Aanlisis digliserida selanjutnya adalah pengukuran peak-peak digliserida pada spektra HPLC. Dari hasil analisis sampel tersebut dikatakan bahwa sampel produk hasil reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam lemak hasil hidrolisis minyak goreng yang dikatalisis dengan katalis lipase dari biji wijen mengandung digliserida sebesar 12,68 % tetapi tidak diketahui jenis digliserida yang dihasilkan karena keterbatasan standar yang dimiliki. Larutan standar yang digunakan untuk pengukuran HPLC ini hanya berupa larutan standar *methyl oleate* (biodiesel), *mono-oleine*, *di-oleine*, dan *tri-oleine*. Berikut ini adalah gambar spektra HPLC dan data yang dihasilkan.



Gambar 4. 10 Spektra HPLC pada Analisis Digliserida Hasil Reaksi Hidrolisis Minyak Goreng

D-2500 05/18/08 13:47

METHOD: BIODIESEL TAG: 44 CH: 1

FILE: 3 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 3 CONC: AREA

NO.	RT	AREA	MG/L	BC	NAME
40	8.53	174605	2.809	BB	METH
42	10.18	91547	0.009	BB	MONO
48	12.68	208420	3.118	BB	DI
58	18.22	933156	8.025	BB	TRI
TOTAL		1407728	13.961		

PEAK REJ : 0
SF : 1.000
SAMP-AMT : 1.000
STORAGE FULL

Gambar 4. 11 Data Analisis Digliserida Hasil Reaksi Hidrolisis Minyak Goreng dengan Metode HPLC

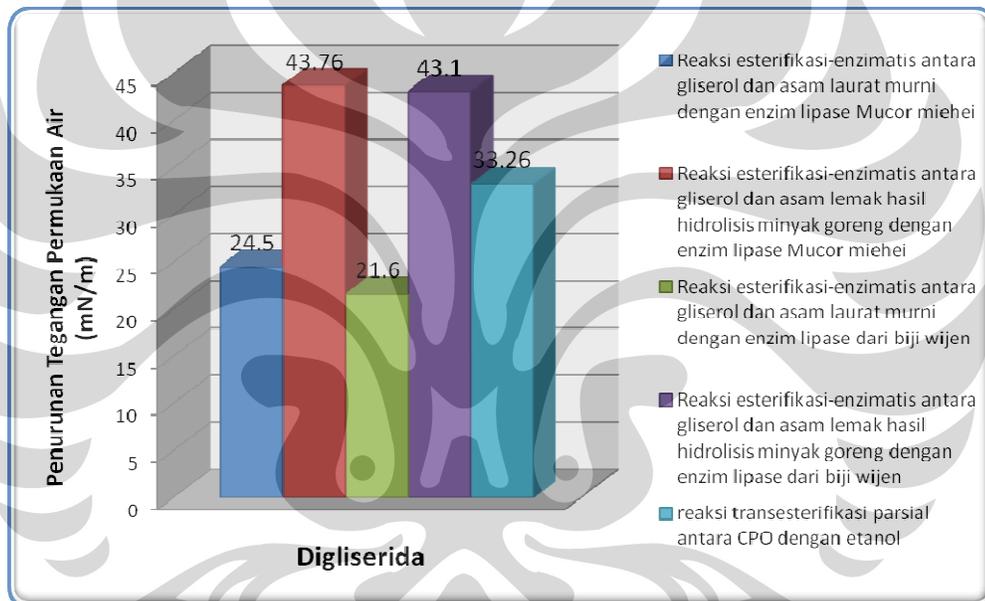
4.4. PERBANDINGAN PENURUNAN TEGANGAN PERMUKAAN AIR PADA BERBAGAI METODE PENELITIAN

Pada sub bab ini dilakukan analisis perbandingan penurunan tegangan permukaan air terhadap digliserida yang dihasilkan dari berbagai metode penelitian. Metode-metode penelitian tersebut antara lain:

- Reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat murni dengan enzim lipase *Mucor miehei* yang telah dilakukan oleh Alfaria Rizki.
- Reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam lemak yang diperoleh dari hidrolisis minyak goreng dengan enzim lipase *Mucor miehei* yang telah dilakukan oleh Alfaria Rizki.

- Reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat murni dengan enzim lipase dari biji wijen.
- Reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam lemak yang diperoleh dari hidrolisis minyak goreng dengan enzim lipase dari biji wijen.
- Reaksi transesterifikasi parsial antara CPO dengan etanol yang telah dilakukan oleh Eki Listya Rini dan Ira Setiawati.

Tujuan analisis ini adalah untuk membandingkan kemampuan digliserida yang dihasilkan dari berbagai metode terhadap kemampuan menurunkan tegangan permukaan air. Berikut ini adalah grafik perbandingan metode-metode penelitian untuk menghasilkan digliserida terhadap penurunan tegangan permukaan air.



Gambar 4. 12 Kemampuan Digliserida Menurunkan Tegangan Permukaan Air pada Berbagai Metode Penelitian

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa nilai penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan digliserida paling besar yaitu pada reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam lemak yang diperoleh dari hidrolisis minyak goreng dengan enzim lipase *Mucor miehei* yang telah dilakukan oleh Alfaria Rizki sebesar 43,76 mN/m atau sekitar 61,12%. Tegangan permukaan air yang telah diukur jika tidak ditambahkan digliserida adalah 71,6 mN/m. Berdasarkan hasil analisis tersebut dapat disimpulkan bahwa metode yang menghasilkan digliserida terbesar dari berbagai metode penelitian adalah pada

reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam lemak yang diperoleh dari hidrolisis minyak goreng dengan enzim lipase *Mucor miehei*.



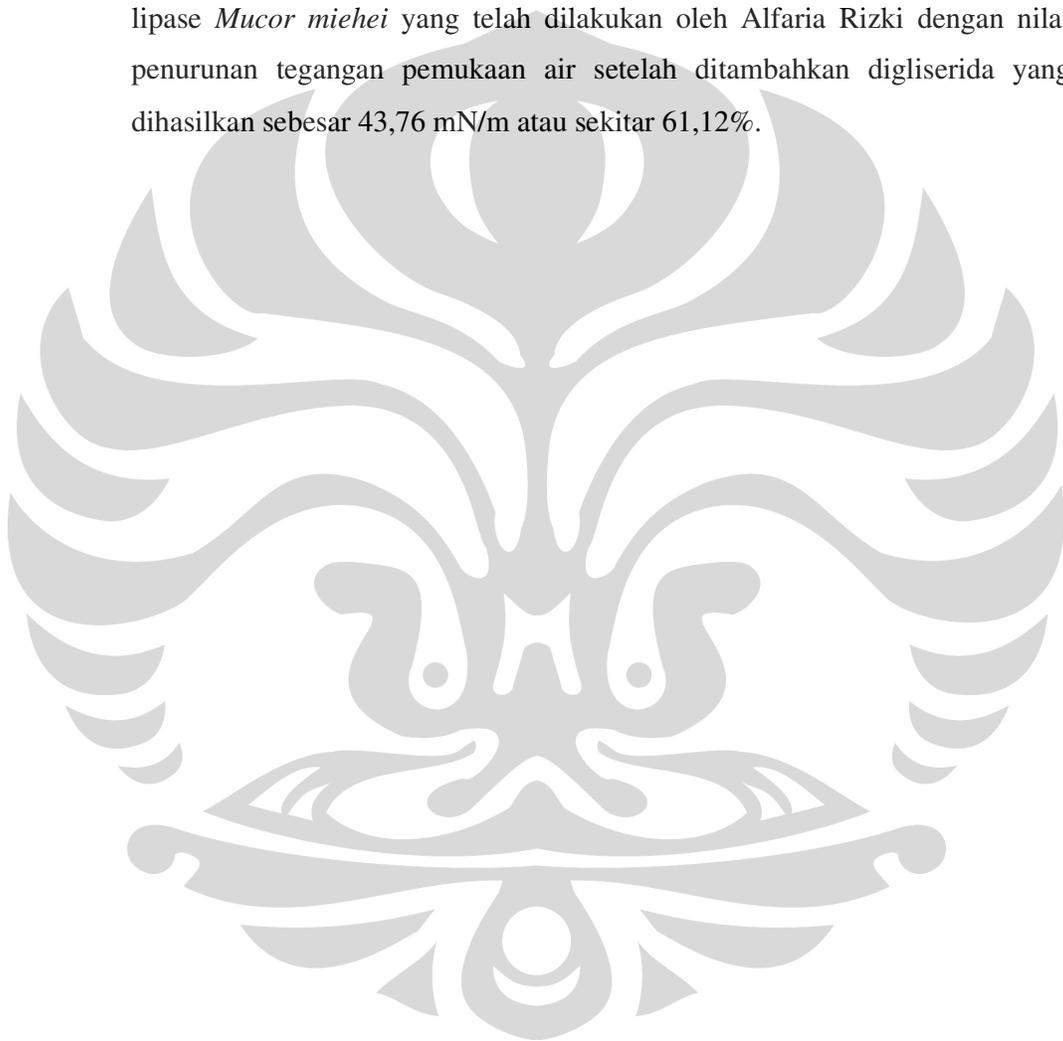
BAB V KESIMPULAN

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

1. Dari hasil penelitian, kondisi operasi optimum untuk reaksi esterifikasi-enzimatis diperoleh pada perbandingan mol gliserol dan mol asam laurat 3:3, waktu reaksi 18 jam, dan persentase berat penambahan wijen terhadap substrat sebesar 90% dengan nilai penurunan tegangan permukaan air sebesar 21,6 mN/m, dan nilai stabilitas emulsi minyak-air sebesar 150,6 detik.
2. Tegangan permukaan air tanpa penambahan emulsifier adalah 71,6 mN/m, sedangkan stabilitas emulsi O/W tanpa penambahan emulsifier sebesar 23 detik.
3. Berdasarkan hasil HPLC, dihasilkan digliserida pada reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam laurat dengan enzim lipase dari biji wijen sebesar 10,92%.
4. Lesitin yang dihasilkan mampu menurunkan tegangan permukaan air sebesar 42 mN/m dan stabilitas emulsi minyak-air sebesar 281,6 detik.
5. Penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan dilaurin dengan menggunakan enzim lipase *Mucor miehei* yang telah dilakukan oleh Alfaria Rizki pada kondisi operasi optimum yaitu sebesar 24,5 mN/m atau sekitar 34,22% dan nilai stabilitas emulsi minyak-air sebesar 226,67 detik, sedangkan penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan dilaurin dengan menggunakan enzim lipase dari biji wijen pada kondisi operasi optimum yaitu sebesar 21,6 mN/m atau sekitar 30,17% dan nilai stabilitas emulsi minyak-air sebesar 150,6 detik.
6. Penurunan tegangan permukaan air pada reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam lemak hasil reaksi hidrolisis minyak goreng yang telah dilakukan oleh Ira Setiawati yaitu sebesar 42,44 mN/m atau sekitar 59,27% dan nilai stabilitas emulsi minyak-air sebesar 50,4 detik, sedangkan

penurunan tegangan permukaan air hasil reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat murni yaitu sebesar 21,6 mN/m atau sekitar 30,17% dan nilai stabilitas emulsi minyak-air sebesar 150,6 detik.

7. Metode yang menghasilkan digliserida terbesar dari berbagai metode penelitian adalah pada reaksi esterifikasi-enzimatis antara gliserol dan asam lemak yang diperoleh dari hidrolisis minyak goreng dengan enzim lipase *Mucor miehei* yang telah dilakukan oleh Alfaria Rizki dengan nilai penurunan tegangan permukaan air setelah ditambahkan digliserida yang dihasilkan sebesar 43,76 mN/m atau sekitar 61,12%.



DAFTAR PUSTAKA

- Abigor, R.D., P.O.Uadia., T.A. Foglia, M.J, Hass, K. Scott dan B.J. Savary, 2002. Partial and Properties of Lipase from Germaning Seeds of *Jatropha curcas*, L. *J. Am Oil.Chem.Soc.* 79:1123-1126
- Anonim, *Kelapa Sawit*, www.wikipedia.co.id. Diakses tanggal 6 Maret 2007.
- Anonim, *Phosphatidylcholine and Related Lipids: Structure, Occurence, Biochemistry, and Analysis*. www.w3.org. Diakses tanggal 15 Maret 2007.
- Anonim, *Hydrophilic Lipophilic Balance*, www.en.wikipedia.org. Diakses tanggal 29 Mei 2007.
- Anonim, *Emulsion Optimization by Use of Phase Inversion Temperature (PIT)*, www.zenitech.com. Diakses tanggal 29 Mei 2007.
- Anonim, KSV Instruments LTD. *Surface and Interfacial Tension*. www.ksvinc.com/surface_tension1.htm (27 Juni 2007)
- Anonim. 1995. www.protocolonline.com. *How to Make Phosphate Buffer*. (diakses tanggal 17 Mei 2008)
- 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 (20 Februari 2007)
- Fessenden, R.J. dan J.S.Fessenden, 1990, *Organic Chemistry*, edisi keempat, Brooks . Cole Publishing Company, Pacific Grove, California.
- Greene, A.C., dan Cormia R.D. 2008. *Preparation and Cleaning Properties of Environmental Friendly Semi-Solvent Cleaning Agents*. www.cheric.org. Diakses 23 Januari 2008.

- 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.
- Handajani, Sri. 2006. *Potensi Agribisnis Komoditas Wijen*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- 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 Emulsifier for Parenteral Use*, www2.chemie.uni-erlangen.de. Diakses tanggal 3 April 2007.
- L.R, Eki, dkk., 2008, *Pengaruh Rasio Jumlah Reaktan dan Waktu Reaksi Transesterifikasi CPO dengan Etanol pada Pembuatan Emulsifier Lesitin*, Skripsi, Program Sarjana Teknik Kimia FTUI, Depok.
- Marseno, D.W., R. Indarti, dan Y. Ohta, 1988. *A Simplified Methods for Determination of Free Fatty Acids for Soluble and Immobilized Lipase Assay*. Indonesian Food and Nutrition Progress. Vol. 5: 79-83.
- 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.
- Medina, A.Robles., at.al., 1999, *Lipase-Catalyzed Esterification of Glycerol and Polyunsaturated Fatty Acids from Fish and Microalgae Oils*, Journal of Biotechnology, Science Direct, Volume 70, Issues 1-3, 30 April 1999, Pages 379-391.

- Mele, Stefania., Murgia, Sergio., and Monduzzi, Maura., 2003, *Monoolein Based Liquid Crystals to Form Long-term Stable Emulsions*, *Jurnal of Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Science Direct, Volume 228, Issues 1-3, 1 November 2003, Pages 57-63.
- Monteiro, Julieta B., Nascimento, Maria G., and Ninow, Jorge L., 2003. *Lipase-Catalyzed Synthesis of Monoacylglycerol in a Homogeneous System*, *Biotechnology Journals*, Volume 25, Pages 641–644
- 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.
- Pereira, C.C.B., Lisboa, J.S., Silva, M.A.P., Langone, M.A.P, 2005, *Enzymatic Synthesis of Monolaurin*, Poster Presentation 2-55
- Rahmat, S., *Prospek Pengembangan Produk Sawit*, 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.
- Rizki, Alfaria, 2008, *Pengaruh Kondisi Operasi dalam Reaksi Esterifikasi-Enzimatis Gliserol dengan Asam Laurat pada Pembuatan Agen Pengemulsi*, Skripsi, Program Sarjana Teknik Kimia FTUI, Depok.
- Rosseto, Renato., et al, 2008, *Synthesis of Phosphatidylcholine Analogues Derived from Glyceric Acid: A New Class of Biologically Active Phospholipid Compounds*, Department of Chemistry and Biochemistry, California State University, Northridge, Northridge, CA 91330-8262, United States, Elsevier, Science Direct, pp 3500–3503.
- 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.

- SCC (Society Cosmetic Chemists) – Uniqema. *The HLB System*.
http://lotioncrafter.com/pdf/The_HLB_System.pdf (28 Februari 2008)
- Schuchardt, U., et al, 1997, *Transesterification of Vegetable Oil:A Review*, J. Braz. Chem. Soc., Vol. 9, No. 1, 199-210, 1998.
- Schuster, W.H. 1992. *Biji Wijen*. www.ensiklopedia.com. (diakses tanggal 25 Desember 2007)
- Setiawati, Ira, 2008, *Asam Propionat sebagai Displacing Acid pada Reaksi Hidrosis Minyak Kelapa Sawit dengan Menggunakan Katalisis Asam Sulfat*, Skripsi, Program Sarjana Teknik Kimia FTUI, Depok.
- Shimada, Atsuku., dan Ohashi, Kyoto., 2003, *Interfacial and Emulsifying Properties of Diacylglycerol*, Graduate School of Human Life Science, Showa Womens University, Setagaya-ku, Tokyo 154-8533, Japan
- Sibuea, P., 2003, *Emulsifier, Senyawa Ajaib dalam Industri Makanan*. Kompas. (diakses tanggal 10 Februari 2008)
- Struewing, Sharon. 1997. *Low pH skin-treatment composition*, <http://www.patentstorm.us/patents/5654341-description.html>, (29 Mei 2007).
- Suhendra, L., et al., 2006, *Aktivitas Hidrolisis dan Esterifikasi Lipase Ekstrak Kecambah Biji Wijen*, Yogyakarta: Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- 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.
- Toreki, Rob. *The General Chemistry Demo Lab*.
<http://www.ilpi.com/genchem/demo/tension/> (2 Maret 2008)
- Virto, C. dan Patrick Adlercreutz, 2000, *Lysophosphatidylcholine synthesis with Candida antarctica lipase b (Novozym 435)*, *Enzyme and Microbial Technology* 26, pp. 630-635.
- Wabel, Christoph. 2008. *Lecithin - an Emulsifier for Parenteral*.
<http://www.chemie.uni-erlangen.de>. Diakses tanggal 21 Mei 2008

Weiss, A.A. 1971. *Castor, Sesame, and Safflower*. London: Leonard Hill.

Winarno, F.G. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama, 1997.

Yeh, Yu-Chih, dan Gulari, Erdogan., 1998, *Enzymatic Glyceride Synthesis in a Foam Reactor*, Department of Chemical Engineering, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan 48109, *JAACS*, Vol. 75, no. 5.



LAMPIRAN A

Perhitungan Buffer Phosphate 0,1 M pH 7,5

Cara menghitung Buffer Phosphate 0,1M pada pH 7,5 dari larutan K_2HPO_4 0,1 M dan KH_2PO_4 0,1 M

Diketahui :

- K_2HPO_4 (asam) pKas = 7,21
- KH_2PO_4 (garam) pKas = 12,3
- Molaritas K_2HPO_4 = 0,1 M
- Molaritas KH_2PO_4 = 0,1 M
- Mr K_2HPO_4 = 136,09 g/mol
- Mr KH_2PO_4 = 174,18 g/mol

Referensi :
General Lab Technique
www.protocolonline.com

Ditanya :

- Berapa banyak berat K_2HPO_4 dan KH_2PO_4 per 1 L yang diperlukan untuk membuat 0,1M Buffer Phosphate pH 7,5?

Jawab:

Digunakan Persamaan Henderson-Hasselbach (Persamaan H-H) untuk menghitung 0,1M Buffer Phosphate pH 7,5

$$pH = pKas + \log\left(\frac{[K_2HPO_4]}{[KH_2PO_4]}\right)$$

$$7,5 = 7,21 + \log\left(\frac{0,1 - [\text{asam}]}{[\text{asam}]}\right)$$

$$0,29 = \log\left(\frac{0,1 - [\text{asam}]}{[\text{asam}]}\right)$$

$$1,95 = \left(\frac{0,1 - [\text{asam}]}{[\text{asam}]}\right)$$

$$[\text{asam}] = 0,0339 \text{ M} \Rightarrow [\text{garam}] = 0,1 - 0,0339 = 0,0661 \text{ M}$$

Berat KH_2PO_4 yang diperlukan = 174,18 g/mol x 0,0339 mol/L = 5,904702 g / L

Berat K_2HPO_4 yang diperlukan = 136,09 g/mol x 0,0661 mol/L = 8,995549 g / L

Jadi, untuk membuat Buffer Phosphate 0,1 M pada pH 7,5 diperlukan KH_2PO_4 sebanyak 5,904702 g / L dan K_2HPO_4 sebanyak 8,995549 g / L.

LAMPIRAN B

Tabel 1 Pengukuran tegangan permukaan air tanpa penambahan *emulsifier*

Pengukuran ke-	Angka pada Tensiometer (mN/m)
1	70
2	71
3	72
4	72
5	73
Rata-rata	71,6

Tabel 2 Pengukuran Penurunan Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi dengan Menambahkan Dilaurin 5% Berat (Variasi Perbandingan Jumlah Mol Gliserol dan Asam Laurat)

Jenis Pengukuran	Pengukuran ke-	Perbandingan Jumlah Mol Gliserol dan Asam Laurat				
		1:3	2:3	3:3	4:3	5:3
Tegangan Permukaan Air setelah Ditambahkan Dilaurin (mN/m)	1	18.6	19.6	20.6	20.6	21.1
	2	18.6	19.6	20.6	20.6	21.1
	3	18.6	19.6	20.6	20.6	21.1
	4	18.6	20.1	20.6	21.1	21.6
	5	18.6	20.1	20.6	21.1	21.6
	Jumlah	93	99	103	104	106.5
	Rata-rata	18.6	19.8	20.6	20.8	21.3
Stabilitas Emulsi setelah Ditambahkan Dilaurin (detik)	1	35	49	58	60	73
	2	36	49	58	60	75
	3	37	51	59	61	77
	4	37	51	60	62	77
	5	37	51	60	62	77
	Jumlah	182	251	295	305	379
	Rata-rata	36.4	50.2	59	61	75.8

Tabel 3 Pengukuran Penurunan Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi dengan Menambahkan Dilaurin 5% Berat (Variasi Waktu Reaksi Esterifikasi-Enzimatis)

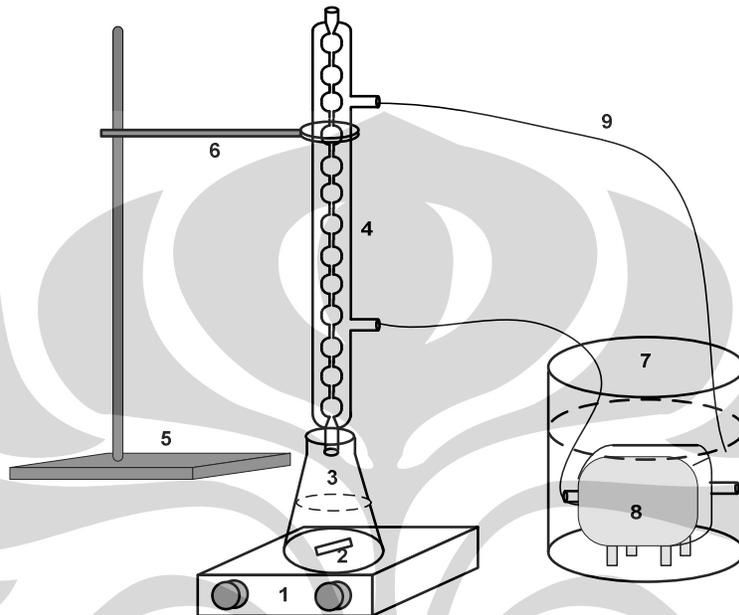
Jenis Pengukuran	Pengukuran ke-	Waktu Reaksi Esterifikasi-Enzimatis (jam)				
		12	15	18	21	24
Tegangan Permukaan Air setelah Ditambahkan Dilaurin (mN/m)	1	17.6	18.6	20.1	19.6	20.6
	2	17.6	18.6	20.1	19.6	20.6
	3	17.6	19.1	20.1	20.6	20.6
	4	17.6	19.1	20.1	20.6	20.6
	5	17.6	19.6	20.1	20.6	20.6
	Jumlah	88	95	100.5	101	103
	Rata-rata	17.6	19	20.1	20.2	20.6
Stabilitas Emulsi setelah Ditambahkan Dilaurin (detik)	1	37	47	52	56	58
	2	38	47	52	57	58
	3	39	48	53	57	59
	4	39	48	53	57	60
	5	39	48	53	57	60
	Jumlah	192	238	263	284	295
	Rata-rata	38.4	47.6	52.6	56.8	59

Tabel 4 Pengukuran Penurunan Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi dengan Menambahkan Dilaurin 5% Berat (Variasi Persen Berat Enzim Terhadap Substrat)

Jenis Pengukuran	Pengukuran ke-	Persentase Berat Wijen Terhadap Substrat (%)				
		50	60	70	80	90
Tegangan Permukaan Air setelah Ditambahkan Dilaurin (mN/m)	1	19.6	20.1	20.6	21.1	21.6
	2	19.6	20.1	20.6	21.1	21.6
	3	19.6	20.1	20.6	21.1	21.6
	4	19.6	20.6	21.1	21.1	21.6
	5	19.6	20.6	21.1	21.6	21.6
	Jumlah	98	101.5	104	106	108
	Rata-rata	19.6	20.3	20.8	21.2	21.6
Stabilitas Emulsi setelah Ditambahkan Dilaurin (detik)	1	39	52	55	63	149
	2	41	52	56	65	151
	3	42	53	57	66	151
	4	42	53	57	66	151
	5	42	53	57	66	151
	Jumlah	206	263	282	326	753
	Rata-rata	41.2	52.6	56.4	65.2	150.6

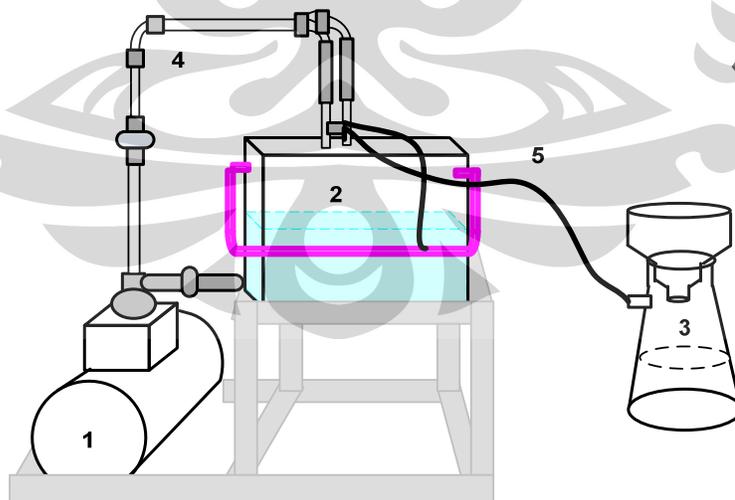
LAMPIRAN C

Skema Alat Penelitian Reaksi Esterifikasi-Enzimatis



Keterangan :

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

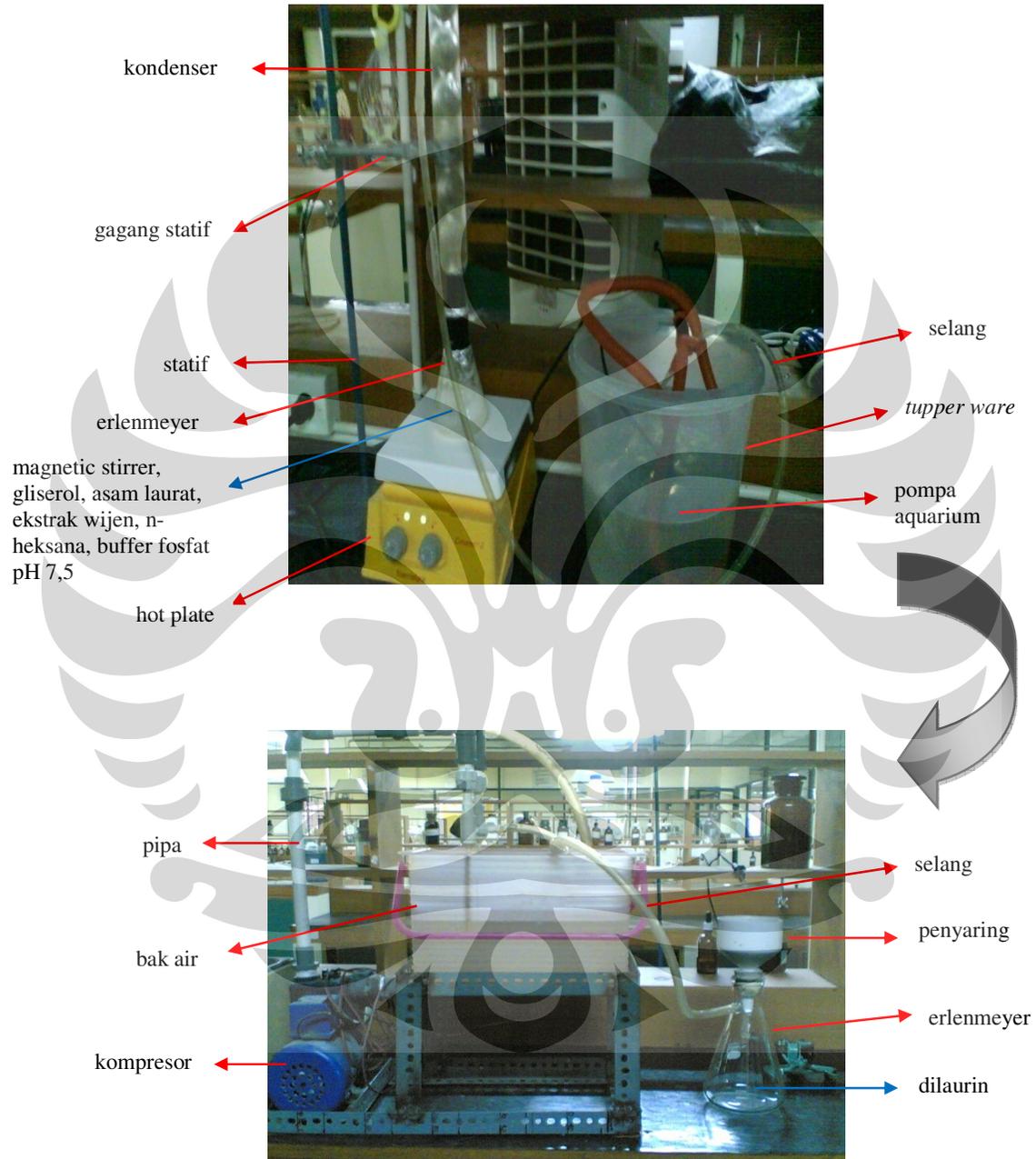


Keterangan :

1. Kompresor; 2. Bak air 3. Buchner; 4. Pipa; 5. Selang

LAMPIRAN D

Peralatan yang Digunakan pada Reaksi Esterifikasi-Enzimatis



LAMPIRAN E

Bahan yang Digunakan pada Reaksi Esterifikasi-Enzimatis



LAMPIRAN F

Hasil Produk pada Reaksi Esterifikasi-Enzimatis (Dilaurin)



LAMPIRAN G

Bahan yang Digunakan untuk Pembuatan Lesitin



LAMPIRAN H

Bahan yang Digunakan untuk Uji Tegangan Permukaan Air dan Stabilitas Emulsi

