

**PEMBUATAN AGEN PENGEMULSI MELALUI
ESTERIFIKASI GLISEROL DENGAN ASAM LAURAT
MENGUNAKAN KATALIS LIPASE YANG
DIIMMOBILISASI DALAM *PERFORATED ROTATING DISC*
*BIOREACTOR***

SKRIPSI

RAKHMAD PRIASMORO

0404060497



**UNIVERSITAS INDONESIA
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK
DEPOK
DESEMBER 2008**

**PEMBUATAN AGEN PENGEMULSI MELALUI
ESTERIFIKASI GLISEROL DENGAN ASAM LAURAT
MENGUNAKAN KATALIS LIPASE YANG
DIIMMOBILISASI DALAM *PERFORATED ROTATING DISC*
*BIOREACTOR***

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana teknik



**RAKHMAD PRIASMORO
0404060497**

**UNIVERSITAS INDONESIA
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK
DEPOK
DESEMBER 2008**

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Rakhmad Priasmoro
NPM : 0404060497
Program Studi : Teknik Kimia
Judul skripsi : Pembuatan Agen Pengemulsi Melalui Esterifikasi Gliserol Dengan Asam Laurat Menggunakan Katalis Lipase yang Diimmobilisasi Dalam *Perforated Rotating Disc Bioreactor*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Heri Hermansyah S.T., M.Eng. ()

Pembimbing II : Tania Surya Utami S.T., M.T. ()

Penguji : Dr.-Ing. Ir. Misti Gozan, MTech. ()

Penguji : Ir. Dianursanti, MT. ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 23 Desember 2008

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

NAMA : Rakhmad Priasmoro

NPM : 0404060497

TANDA TANGAN :

TANGGAL :

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas berkat dan rahmat-Nya tugas skripsi ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Skripsi dengan judul **Pembuatan Agen Pengemulsi Melalui Esterifikasi Gliserol dengan Asam Laurat Menggunakan Katalis Lipase yang Diimmobilisasi Dalam Perforated Rotating Disc Bioreactor (PRDB)** ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan akademis dalam meraih gelar Sarjana Teknik di Program Studi Teknik Kimia Departemen Teknik Gas dan Petrokimia FTUI.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan banyak bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Nana dan Ibu Rita, selaku dosen pembimbing saya dalam tugas ini. Terima kasih atas segala bantuan serta diskusinya.
2. Orang tua dan keluarga atas semua dukungan yang telah diberikan selama ini
3. Broer sebagai teman satu perjuangan yang menanggung beban pikiran yang sama.!!
4. Rafiq_id, Kahartospisan, Cho Cang yang sudah berbaik hati mendownloadin jurnal-jurnal yang saya butuhin (terus posting di kaskus).
5. Ahmed, Aji, Aryo, brur, Danar, Denny, MK, bdul, Ramos, Safri, Teman – teman tarbiyah-ku, atas motivasi dan bimbingannya untuk kembali ke jalan yang benar.

Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan tugas skripsi ini. Untuk ini, saran dan kritik sangat penulis harapkan untuk memperbaiki penulisan di masa yang akan mendatang.

Depok, Desember 2008

Rakhmad Priasmoro

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia , saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Rakhmad Priasmoro
NPM : 0404060497
Program Studi : Teknik Kimia
Departemen : Teknik Kimia
Fakultas : Teknik
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-Exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul.

Produksi Agen Pengemulsi Melalui Esterifikasi Gliserol Dengan Asam Laurat
Menggunakan Katalis Lipase yang Diimmobilisasi Dalam *Perforated Rotating
Disc Bioreactor*

Dengan hak bebas royalti noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal :

Yang menyatakan

(Rakhmad Priasmoro)

ABSTRAK

Nama : Rakhmad Priasmoro
Program Studi : Teknik Kimia
Judul : Pembuatan Agen Pengemulsi Melalui Esterifikasi Gliserol Dengan Asam Laurat Menggunakan Katalis Lipase yang Diimmobilisasi Dalam *Perforated Rotating Disc Bioreactor*.

Reaksi esterifikasi antara gliserol dengan asam laurat dilakukan dengan katalis lipase terimmobilisasi di *perforated rotating disc bioreactor* untuk menghasilkan agen pengemulsi berupa dilaurin.. Hasil analisis dengan tegangan permukaan menunjukkan bahwa putaran piringan optimum didapat pada 400 rpm yang mampu menurunkan tegangan permukaan air hingga 30,75 mN/m. Sedangkan laju alir optimum didapatkan pada laju alir 10 ml/min dengan nilai 30,75 mN/m. Kadar dilaurin pada sampel dengan laju alir 10 ml/min dianalisis dengan GC/MS didapatkan konsentrasi sebesar 32,28 %.

Kata kunci:

Esterifikasi, lipase terimmobilisasi, dilaurin, *Perforated rotating disc bioreactor*, agen pengemulsi.

ABSTRACT

Name : Rakhmad Priasmoro
Program Study : Chemical Engineering
Title : Sintesis of Emulsifier Through Enzymatic Esterification of Glycerol and Lauric Acid by an Immobilised Lipase In a Perforated Rotating Disc Bioreactor.

Esterification between glycerol and lauric acid performed by an immobilized lipase in perforated rotating disc bioreactor to produce emulsifier which is dilaurin. The analysis with surface tension test shows that optimum agitation rate of 400 rpm can decrease the surface tension of water until 30,75 mN/m . and optimum recirculation rate at 10 ml/min can decrease the surface tension of water until 30,75 mN/m. Concentration of dilaurin at recirculation rate 10 ml/min analyzed with GC/MS. The result show that dilaurin concentration 32,28 %.

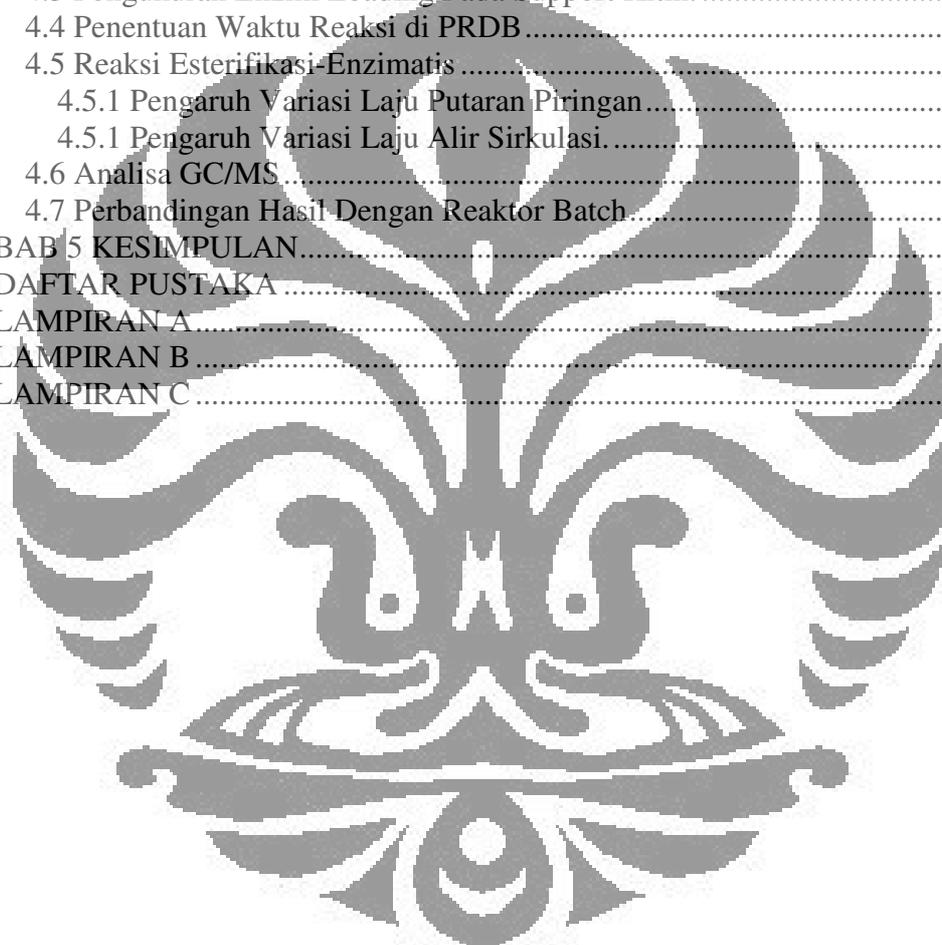
Key words:

Esterification, immobilized lipase, dilaurin, Perforated rotating disc bioreactor, emulsifier.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Batasan Masalah	4
1.5 Sistematika Penulisan	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Minyak Kelapa Sawit.....	6
2.2 Gliserol.....	8
2.3 Asam Laurat.....	9
2.4 Emulsifier.....	10
2.4.1 Tegangan Permukaan.....	11
2.5 Reaksi Esterifikasi.....	14
2.6 Sintesis Digliserida	16
2.6.1. Pengaruh Kandungan Air.....	19
2.6.2. Pengaruh Suhu Reaksi	20
2.6.3. Pengaruh Rasio Molar Asam Lemak/Gliserol	21
2.6.4. Pengaruh Waktu Reaksi	22
2.6.5. Pengaruh <i>Residence Time</i>	23
2.7 Perforated Rotating Disc Bioreactor	23
2.8 Enzim	25
2.8.1 Cara Kerja Enzim.....	26
2.8.2 Klasifikasi Enzim.....	27
2.8.3 Lipase	27
2.9 Immobilisasi Enzim	29
2.9.1 Metode Immobilisasi Enzim	31
2.9.2 Aspek Penting dalam Immobilisasi Enzim	32
2.10 Gas Chromatography/Mass Spectrometry	33
BAB 3 METODE PENELITIAN	36
3.1 Variabel Penelitian.....	37
3.2 Alat dan bahan	37
3.3 Prosedur Penelitian	38
3.3.1 Konstruksi PRDB.....	38

3.3.2 Uji Kebocoran dan Kalibrasi Alat.....	39
3.3.3 Tahap Pembuatan Buffer Fosfat	39
3.3.4 Preparasi immobilisasi enzim	39
3.3.5 Menentukan Konsentrasi Protein Yang Terimmobilisasi	40
3.3.6 Variasi Laju Putaran Piringan.....	41
3.3.7 Variasi Laju Sirkulasi Reaktan	42
3.3.8 Pengukuran Tegangan Permukaan.....	42
3.3.9 Tahap Uji Emulsi	43
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1 Pembuatan Reaktor PRDB.....	44
4.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi Untuk Konsentrasi Lipase.	46
4.3 Pengukuran Enzim Loading Pada Support Kitin.	48
4.4 Penentuan Waktu Reaksi di PRDB.....	48
4.5 Reaksi Esterifikasi-Enzimatis	50
4.5.1 Pengaruh Variasi Laju Putaran Piringan.....	51
4.5.1 Pengaruh Variasi Laju Alir Sirkulasi.....	54
4.6 Analisa GC/MS.....	56
4.7 Perbandingan Hasil Dengan Reaktor Batch.....	57
BAB 5 KESIMPULAN.....	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN A.....	63
LAMPIRAN B.....	65
LAMPIRAN C.....	67

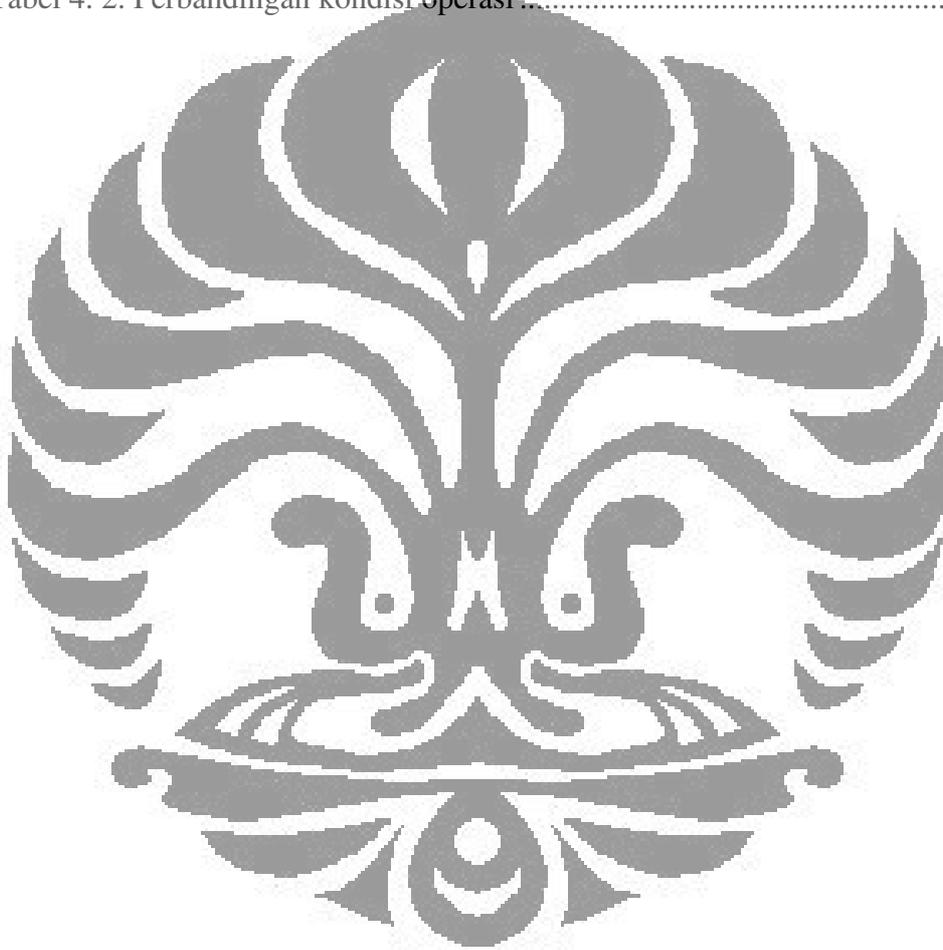


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Struktur Triglicerida	7
Gambar 2. 2. Struktur molekul gliserol	8
Gambar 2. 3. Struktur molekul asam laurat	9
Gambar 2. 4. Metode pengukuran tegangan permukaan metode cincin	13
Gambar 2. 5. Metode pengukuran tegangan permukaan metode plat	14
Gambar 2. 6. Reaksi esterifikasi asam karboksilat dengan alkohol	14
Gambar 2. 7. Reaksi esterifikasi asam etanoat dengan etanol	14
Gambar 2. 8. Tahap pertama reaksi esterifikasi	15
Gambar 2. 9. Tahap kedua reaksi esterifikasi	15
Gambar 2. 10. Tahap ketiga reaksi esterifikasi	15
Gambar 2. 11. Tahap keempat reaksi esterifikasi	15
Gambar 2. 12. Tahap terakhir reaksi esterifikasi	16
Gambar 2. 13. Struktur A.1,2(2,3) digliserida B.1,3 digliserida	16
Gambar 2. 14. Skema reaksi esterifikasi gliserol dengan asam laurat	17
Gambar 2. 15. Pengaruh kondisi vakum terhadap konsentrasi digliserida	19
Gambar 2. 16. Pengaruh suhu reaksi terhadap konsentrasi digliserida	21
Gambar 2. 17. Pengaruh rasio molar terhadap konsentrasi digliserida	22
Gambar 2. 18. Pengaruh waktu reaksi terhadap konsentrasi digliserida	22
Gambar 2. 19. Pengaruh <i>residenc time</i> terhadap konsentrasi digliserida	23
Gambar 2. 20. A. <i>Perforated Rotating Disk Bioreactor</i> B. Piringan	24
Gambar 2. 21. Perbandingan energi aktivasi dengan dan tanpa enzim	25
Gambar 2. 22. Skema cara kerja enzim.	27
Gambar 2. 23. Hubungan antara CF dan NCF dari enzim dengan aplikasinya.	31
Gambar 2. 24. Skema Alat GC/MS	34
Gambar 3. 1. Bagan alir rancangan penelitian	36
Gambar 3. 2. Diagram skematik <i>Perforated Rotating Disc Bioreactor</i>	38
Gambar 4. 1. Diagram Skematik PRDB	45
Gambar 4. 2. Kurva kalibrasi standar protein	47
Gambar 4. 3. Kromatogram reaksi 20 jam PRDB	49
Gambar 4. 4. Kromatogram reaksi 25 jam PRDB	49
Gambar 4. 5. Konsentrasi dilantin vs waktu pada reaktor PRDB	50
Gambar 4. 6. Tegangan permukaan air (variasi Putaran piringan)	53
Gambar 4. 7. Stabilitas emulsi minyak air (variasi putaran piringan)	54
Gambar 4. 8. Tegangan permukaan air (variasi laju alir sirkulasi)	55
Gambar 4. 9. Stabilitas emulsi minyak air (variasi putaran piringan)	56
Gambar 4. 10. Kromatogram sampel dengan laju alir 10 ml/min	57
Gambar 4. 11. perbandingan hasil reaksi antara reaktor batch dan PRDB	58

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1. Komposisi trigliserida dalam minyak kelapa sawit.	7
Tabel 2. 2. Komposisi asam lemak dalam minyak kelapa sawit.....	8
Tabel 2. 3. Sifat-sifat fisik gliserol.....	9
Tabel 2. 4. Sifat-sifat fisik asam laurat	9
Tabel 2. 5. Data kinetika reaksi enzimatis gliserol.	18
Tabel 2. 6. Mikroorganisme penghasil lipase.	29
Tabel 3. 1. Alat dan bahan yang dibutuhkan.....	37
Tabel 4. 1 Gambar alat pada PRDB.....	45
Tabel 4. 2. Perbandingan kondisi operasi.....	58



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Emulsifier yang dapat dihasilkan dari CPO salah satunya adalah digliserida. Digliserida adalah suatu senyawa kimia yang secara alamiah ditemukan dalam jumlah kecil pada sumber minyak dan lemak seperti minyak kelapa sawit. Di dalam tubuh digliserida terbentuk dari hidrolisis trigliserida yang masuk dengan bantuan enzim lipase dari pankreas. Digliserida dapat muncul dalam dua konfigurasi yaitu 1,3 digliserida dan 1,2(2,3) digliserida. Selain mempunyai kegunaan yang luas dalam industri makanan, digliserida juga digunakan pada beberapa industri kosmetik dan farmasi [1].

Digliserida sebagai emulsifier dapat digunakan dalam industri kosmetik maupun makanan. Karena jenis emulsifier ini didapatkan dari sumber nabati (kelapa sawit) diharapkan digliserida dapat menggantikan gelatin yang berasal dari sumber hewani (yang sering menimbulkan polemik tentang masalah halal). Indonesia sebagai negara penghasil minyak kelapa sawit (CPO) terbesar di dunia. Pada tahun 2005, total produksi CPO Indonesia mencapai 17 juta ton [2] dan mengekspor 10 juta ton CPO ke pasar mancanegara (60% dari total produksi) sedangkan sisanya untuk konsumsi dalam negeri (40%). Besarnya ekspor CPO dikarenakan belum berkembangnya industri Hilir pengolahan CPO di Indonesia, industri Hilir di Indonesia sebagian besar diperuntukkan untuk pangan (80%-85%) dan sisanya untuk industri oleokimia (15%-20%) [2]. CPO akan mempunyai nilai tambah jika kita mengembangkan industri oleokimia dasar, yang banyak dibutuhkan pada industri deterjen, sabun, makanan, farmasi, dan kosmetik. Salah satu industri dasar tersebut adalah industri emulsifier yang dapat meningkatkan nilai tambah dari CPO tersebut menjadi sekitar 200% [2]. Oleh karena itu diperlukan suatu proses pengolahan CPO menjadi emulsifier yang selain dapat meningkatkan nilai tambah dari CPO tersebut juga dapat merangsang pertumbuhan industri kosmetik dan makanan di Indonesia.

Dan salah satu keunggulan digliserida dibandingkan dengan lesitin (kacang keledai) adalah ketersediaan bahan baku berupa kelapa sawit yang sangat melimpah di Indonesia dibandingkan dengan kacang kedelai. Minyak kelapa sawit juga lebih mudah terserap dalam kulit dibandingkan dengan produk minyak lainnya [3] sehingga digliserida mempunyai keunggulan jika digunakan sebagai emulsifier pada industri kosmetik seperti krim kecantikan, losion, sampo, lipstik dan lain – lain. Dalam bidang farmasi senyawa ini digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat seperti γ -aminobutyric acid (GABA), chlorambucil, levodihydroxy phenylalanine (L-DOPA), dan bupranolol [4].

Digliserida dapat disintesis secara kimiawi dari lemak dan minyak dengan gliserol dengan suhu yang tinggi (220-260° C) menggunakan katalis inorganik seperti NaOH, KOH, dan Ca(OH)₂ [5], akan tetapi metode ini menghasilkan yield yang rendah dan banyak mengandung impurities berupa hasil reaksi samping dan dari katalis inorganik itu sendiri. Hal ini membuat metode ini tak cocok untuk digunakan dalam skala industri. Ada metode lain dalam mensintesis digliserida yaitu menggunakan enzim sebagai katalis, metode ini mempunyai beberapa keunggulan seperti selektivitas yang baik, kemurnian dan kualitas produk yang lebih baik, suhu reaksi yang rendah (suhu kamar) dan penghilangan penggunaan katalis yang beracun [6].

Secara natural enzim lipase dalam tubuh berfungsi untuk memotong gugus ester dari trigliserida (hidrolisis), akan tetapi lipase juga dapat mengkatalisi reaksi sebaliknya dalam kondisi *microaqueous* yaitu pembentukan gugus ester atau esterifikasi [7]. Berangkat dari hal ini maka dimulailah berbagai percobaan sintesis digliserida dengan metode esterifikasi menggunakan katalis lipase. Berger dkk. [4] telah berhasil memproduksi 1,3 digliserida dengan yield yang tinggi (>80%) dan kuantitas yang besar. Hasil tersebut berasal dari esterifikasi enzimatis gliserol dengan asam lemak bebas dalam pelarut organik (n-heksana, dietil eter, dan tBuOMe) dengan kadar air yang rendah.

Lipase dapat diperoleh dari beberapa spesies mikroorganisme. Karakteristik lipase dari berbagai organisme berbeda-beda, sehingga beberapa jenis lipase dengan asal berbeda jika digunakan untuk reaksi esterifikasi gliserol akan mendapatkan hasil yang berbeda [4]. Berangkat dari kenyataan ini

Kristensen [6] melakukan skrining terhadap enam jenis lipase komersial untuk menghasilkan digliserida melalui reaksi esterifikasi gliserol dengan asam lemak. Hasilnya didapatkan yield digliserida terbaik dihasilkan oleh lipase *Candida antarita* dan lipase *Pseudomonas cepacia*.

Akan tetapi penggunaan lipase sebagai katalis juga memiliki kelemahan yaitu harganya yang mahal, ketidakstabilan, dan ketersediaan dalam jumlah kecil. Dan juga enzim yang terlarut dalam media cair sangat sulit dan mahal untuk memisahkannya dari produk yang dihasilkan [7]. Untuk memecahkan masalah ini dikembangkanlah teknik immobilisasi enzim, suatu teknik dimana enzim ditambahkan ke dalam suatu *support* sehingga enzim tersebut terperangkap dalam *support* tersebut dan tak tercampur dengan larutan reaksi [7]. Dengan mengimmobilisasi enzim dalam suatu *support* maka kita akan mendapatkan keuntungan yaitu kita dapat menggunakan enzim tersebut berulang-ulang [8] dan juga meningkatkan stabilitas enzim pada reaksi, memberi perlindungan enzim dari proteolisis dan turbulensi yang bisa muncul [9].

Pada tahun 1996, Richter dkk [10] mencoba membandingkan antara *packed-column bioreactor* dengan *rotating disk bioreactor* pada reaktor enzim yang diimmobilisasi untuk reaksi oksidasi glukosa. Perbandingan kuantitas dari tipe bioreaktor ini memperlihatkan bahwa *rotating disc reactor* secara signifikan lebih efisien untuk enzim yang diimmobilisasi dan lebih efektif untuk penggunaan biokatalis dengan jumlah yang sangat sedikit dibandingkan dengan *packed-column reactor*. Oliveira dkk [11] menggunakan *perforated rotating disc bioreactor* (PRDB) untuk mengesterifikasi etanol dengan asam oleat menggunakan katalis lipase *Rhizomucor miehei* yang diimmobilisasi pada suatu *support* hidrofob (Accurel EP700) dengan metode adsorpsi. Proses ini berlangsung secara batch dengan dilengkapi suatu *rotary pump* yang berguna untuk mensirkulasi fluida yang bereaksi. Dengan menggunakan reaktor jenis ini oliveira berhasil mendapatkan konversi sampai dengan 57% .

Berangkat dari penjabaran diatas, maka akan dilakukan penelitian mengenai produksi digliserida melalui esterifikasi gliserol dengan asam laurat (sebagai donor asil) menggunakan katalis lipase *Mucor miehei* komersial yang

diimmobilisasi dalam suatu *support*. Dan pada penelitian ini juga akan dibuat sendiri PRDB sebagai tempat terjadinya reaksi esterifikasi.

1.2 Perumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah mengetahui bagaimana pengaruh laju sirkulasi reaktan, dan laju putaran piringan terhadap produksi digliserida.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian yang diajukan dalam skripsi ini adalah untuk mengetahui rasio laju sirkulasi reaktan dan laju pengadukan optimum terhadap produk digliserida sebagai agen pengemulsi.

1.4 Batasan Masalah

Pada Penelitian ini permasalahan dibatasi ke dalam ruang lingkup:

- Bahan baku yang digunakan dalam penelitian adalah gliserol dan asam laurat komersial.
- Enzim yang digunakan adalah enzim lipase *Mucor miehei* komersial yang diimmobilisasi dalam *support* kitin
- Produk yang diamati adalah digliserida dan diamati kemampuannya dalam menurunkan tegangan permukaan air dan kestabilan dalam membentuk emulsi.
- Reaktor yang digunakan adalah *Perforated Rotating Disc Bioreactor* dan berjalan secara tumpak dengan sirkulasi reaktan menggunakan pompa.

1.5 Sistematika Penulisan

Metode Penulisan yang digunakan dalam laporan penelitian ini adalah dengan sistematika sebagai berikut:

BAB I PENDAHULUAN

Terdiri dari latar belakang masalah, rumusan masalah, tujuan penulisan, batasan masalah, dan sistematika penulisan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Menguraikan tentang minyak kelapa sawit, emulsifier, esterifikasi, sintesis digliserida serta faktor-faktor yang mempengaruhi yield digliserida, enzim dan metode immobilisasinya, *Perforated Rotating Disc Bioreactor*, dan analisis GC.

BAB III METODE PENELITIAN

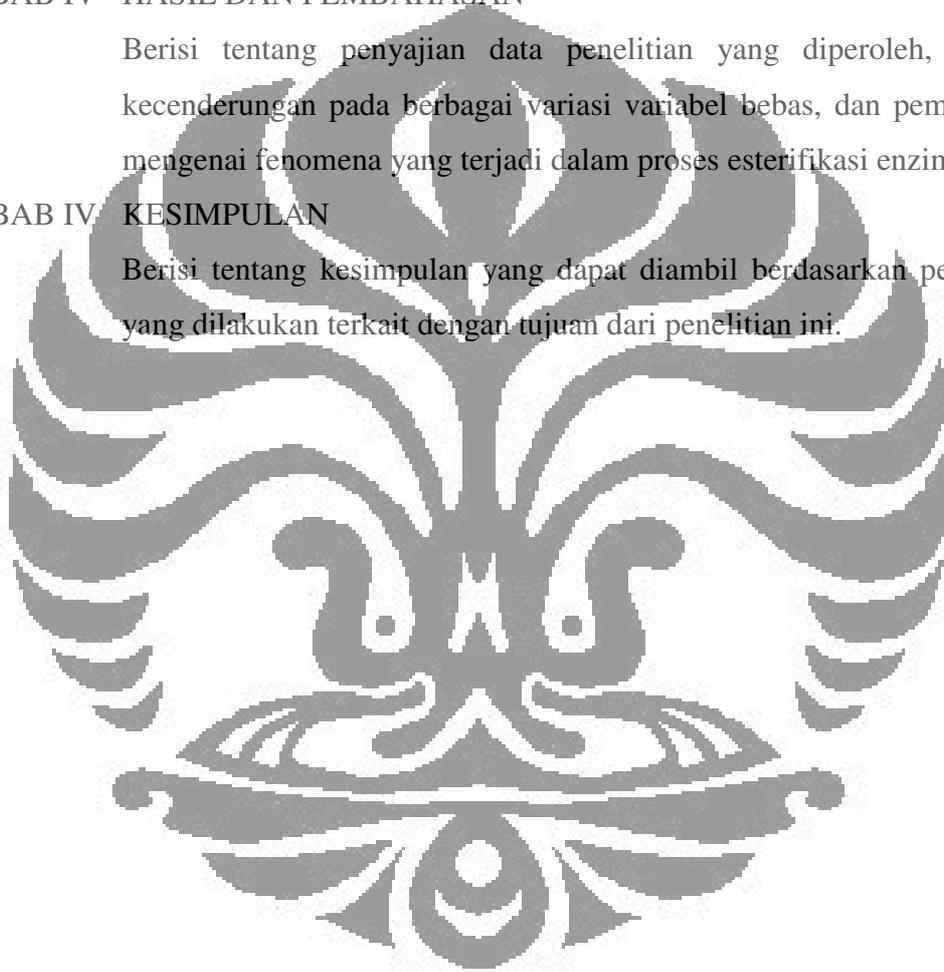
Menjelaskan tahapan penelitian yang dilakukan dari awal sampai akhir.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

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

BAB IV KESIMPULAN

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



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minyak Kelapa Sawit

Kelapa sawit merupakan suatu tumbuhan golongan palma. Taksonomi untuk kelapa sawit adalah [13]

Kingdom : Tumbuhan

Filum : *Magnoliophyta*

Kelas : *Liliopsida*

Ordo : *Arecales*

Family : *Areaceae*

Genus : *Elaeis*

Spesies : *Elaeis guineensis* dan *Elaeis oleifera*

Tanaman yang hidup di daerah tropis dan dataran rendah ini berasal dari Afrika Barat. Bunga dan buahnya berupa tandan, bercabang banyak. Buahnya kecil, bila masak berwarna merah kehitaman. Daging buahnya padat. Daging dan kulit buahnya mengandung minyak yang sering kita sebut dengan minyak kelapa sawit (CPO). Bagian buahnya terdiri atas 4 bagian yaitu:

pericarp : kulit buah berwarna kemerahan.

mesocarp : serabut buah

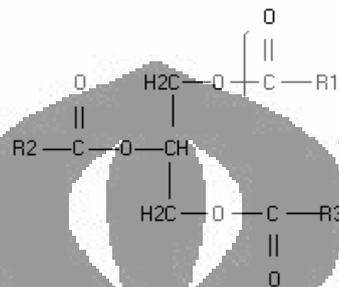
endocarp : cangkang pelindung inti

inti sawit : bagian inti kelapa sawit

Minyak yang dihasilkan dari tumbuhan ini ada dua tipe yaitu *palm oil* dan *palm kernel oil* [14]. *Palm oil* atau minyak kelapa sawit adalah minyak yang diambil dari *mesocarp* kelapa sawit, pada *mesocarp* mengandung kadar minyak 56%. *Palm kernel oil* atau minyak inti sawit adalah minyak yang diambil dari bagian inti sawit, pada bagian inti mengandung kadar minyak sebesar 44%. Minyak inti ini memiliki kualitas yang lebih tinggi daripada *Palm oil* [13] karena dalam minyak inti mengandung asam laurat dalam jumlah yang besar. Minyak yang dihasilkan dari kelapa sawit sebagian besar terdiri dari trigliserida dan

sebagian kecil berupa asam lemak bebas, monogliserida, digliserida, fosfatida, karbohidrat, protein, getah (*gum*) serta zat-zat berwarna.

Unsur terbesar dalam kelapa sawit adalah trigliserida [14] yang merupakan ester dari gliserol dengan tiga molekul asam lemak. Struktur molekulnya yaitu



Gambar 2. 1. Struktur Trigliserida

Bila $R_1 = R_2 = R_3$ atau ketiga asam lemak penyusunnya sama maka trigliserida ini disebut trigliserida sederhana dan apabila salah satu atau lebih asam lemak penyusunnya tidak sama maka disebut trigliserida campuran. Adapun komposisi trigliserida dalam minyak kelapa sawit [15] ialah sebagai berikut.

Tabel 2. 1. Komposisi trigliserida dalam minyak kelapa sawit.

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

Asam lemak merupakan rantai hidrokarbon yang setiap atom karbonnya mengikat satu atau dua atom hidrogen, kecuali atom karbon ujung mengikat tiga

atom hidrogen, sedangkan atom karbon ujung lainnya mengikat gugus karboksil. Jika terdapat ikatan rangkap pada rantai hidrokarbon maka disebut asam lemak tidak jenuh, dan apabila tidak terdapat ikatan rangkap disebut dengan asam lemak jenuh.

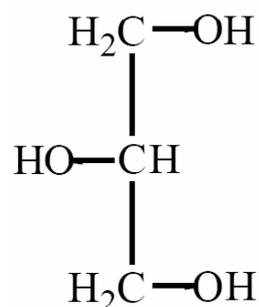
Tiap-tiap minyak nabati memiliki komposisi asam lemak yang khas. Untuk kelapa sawit asam lemak yang paling besar kandungannya yaitu asam palmitat dan asam oleat. Untuk lebih jelas dapat dilihat pada tabel dibawah tentang kandungan asam lemak pada minyak kelapa sawit [16].

Tabel 2. 2. Komposisi asam lemak dalam minyak kelapa sawit

Jenis asam lemak	Komposisi (%)
Asam laurat (C12:0)	0-0,4
Asam miristat (C14:0)	0,6-1,7
Asam palmitat (C16:0)	41,1-47,0
Asam stearat (C18:0)	3,7-5,6
Asam oleat (C18:1)	38,2-43,6
Asam linoleat (C18:2)	6,6-11,9
Asam linolenat (C18:3)	0-0,6

2.2 Gliserol

Gliserol suatu senyawa hidrofilik dengan formula kimia $C_3H_5(OH)_3$ dengan penampilan fisik tak berwarna, tak berbau, dan kental. Gliserol dapat dihasilkan dari transesterifikasi dan hidrolisis minyak nabati seperti minyak kelapa sawit. Gliserol juga didapatkan sebagai hasil samping pembuatan biodiesel. Sekitar 10% dari produk proses pembuatan biodiesel adalah gliserol.



Gambar 2. 2. Struktur molekul gliserol

Tabel dibawah ini menyajikan sifat-sifat fisik dari gliserol.

Tabel 2. 3. Sifat-sifat fisik gliserol

Massa molekul	92.09382 g/mol
Densitas	1.261 g/cm ³
Viskositas	1.5 Pa.s
Titik leleh	18 °C (64.4 °F)
Titik didih	290 °C (554 °F)
Flash point	160 °C

2.3 Asam Laurat

Asam laurat suatu senyawa lipofilik dengan formula kimia C₁₂H₂₄O₂ dengan penampilan fisik warna putih, bau lemah seperti sabun dan berbentuk padat dalam suhu ruang. Asam laurat banyak ditemukan dalam minyak kelapa dan minyak inti kelapa sawit dan diyakini memiliki khasiat antimikroba yang bagus. Asam laurat merupakan salah satu asam lemak jenuh dengan rantai karbon sebanyak 12.

Gambar 2. 3. Struktur molekul asam laurat

Tabel di bawah ini menyajikan sifat-sifat fisik dari asam laurat,

Tabel 2. 4. Sifat-sifat fisik asam laurat

Massa molekul	200.32 g/mol
Densitas	0.88 g/cm ³
Titik leleh	44 °C
Titik didih	225 °C
Viskositas	7.3 mPa.s
Flash point	113 °C

2.4 Emulsifier

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 [17]. Kemampuannya menurunkan tegangan permukaan menjadi hal yang menarik karena *emulsifier* memiliki keajaiban struktur kimia yang mampu menyatukan dua senyawa berbeda polaritasnya. Fenomena campuran air dan minyak yang cenderung berpisah dapat menyatu karena adanya emulsifier. Tetesan-tetesan kecil yang tersebar disebut sebagai fase diskontinu atau fase internal ataupun fase terdispersi. Sedangkan cairan tempat fase internal tersebut terdispersi disebut sebagai fase eksternal. Bila campuran minyak dan air dikocok 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. Contohnya adalah pada pembuatan es krim dan industri makanan lainnya.

Fenomena *emulsifier* ini disebabkan karena *emulsifier* memiliki dua ujung yang berbeda polaritasnya yaitu ujung non polar (lipofilik) dan satunya lagi berupa ujung polar (hidrofilik). Bagian hidrofilik akan berikatan dengan air dan bagian lipofilik akan berikatan dengan minyak [17]. 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)*.

Ukuran relatif bagian hidrofilik dan lipofilik zat pengemulsi menjadi faktor utama yang menentukan perilakunya dalam pengemulsian [17]. Untuk memilih pengemulsi yang cocok untuk pemakaian pada produk pangan olahan tertentu, telah dikembangkan apa yang disebut sistem HLB (*hydrophilic/lipophilic balance* atau neraca hidrofilik/lipofilik). Bila emulsifier tersebut memiliki kecenderungan terikat lebih kuat pada air atau nilai HLB tinggi, dapat membantu

terbentuknya emulsi oil in water (O/W). Contohnya, antara lain es krim. 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.

Senyawa emulsifier selain memberikan fenomena menarik, juga menjadi tantangan bagi industri pangan nasional untuk merancang berbagai produk makanan baru. Dengan pemilihan emulsifier yang tepat, diyakini dapat meningkatkan mutu olahan pangan sekaligus dapat bersaing dengan produk pangan sejenis dari negara-negara maju. Untuk memperbaiki mutu es krim misalnya, peranan emulsifier amat penting pada semua tahap pembuatannya. Tak hanya meningkatkan kekuatan dan stabilitas agglomerasi globula lemak, tapi juga mengendalikannya sehingga dapat mencegah terjadinya oiling out selama tahap pembekuan.

2.4.1 Tegangan Permukaan

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

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

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

Tegangan permukaan (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.

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.

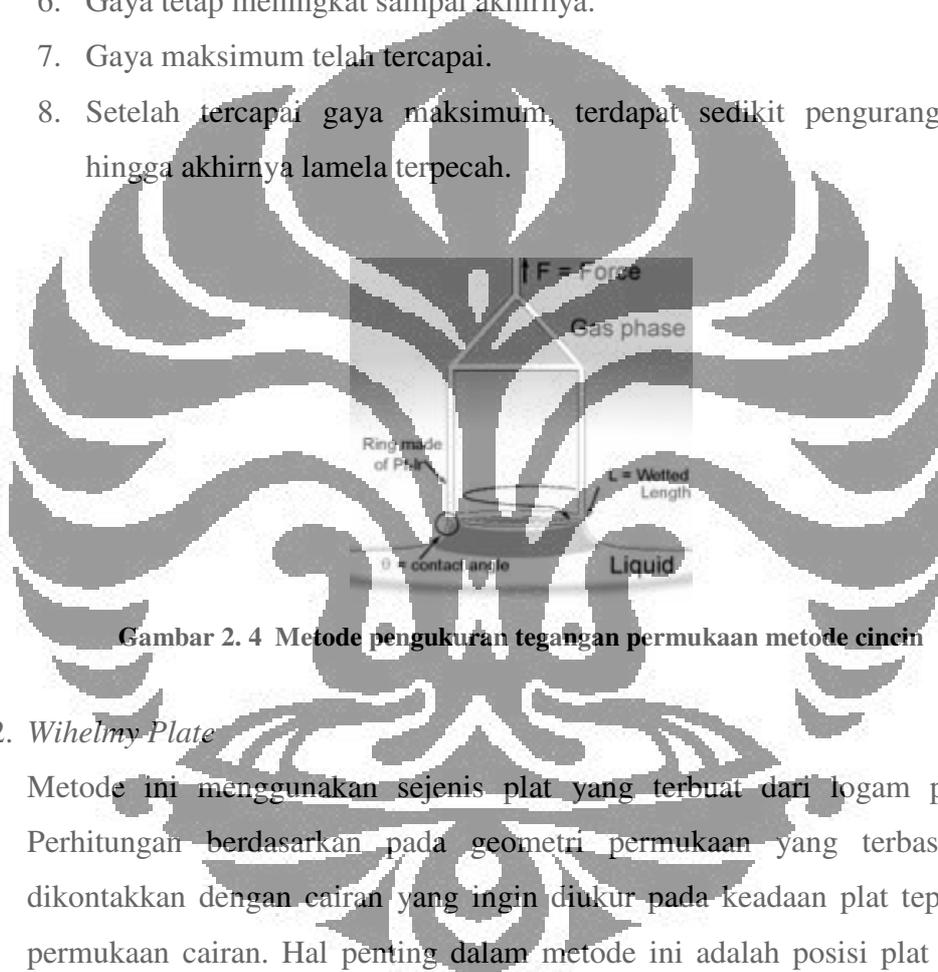
Metode yang digunakan untuk mengukur tegangan permukaan, antara lain:

1. *DuNouy ring*

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

1. Cincin berada di atas permukaan cairan, belum ada gaya yang dihasilkan.
2. Cincin menyentuh permukaan cairan sehingga menghasilkan gaya positif yang tidak signifikan.

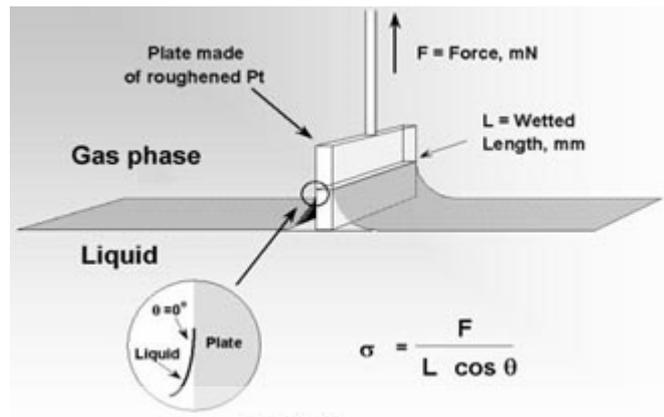
3. Cincin melewati batas permukaan cairan, namun belum berhasil menembus dikarenakan tegangan permukaan yang dimiliki oleh cairan tersebut. Hal ini menghasilkan gaya yang bekerja pada cincin bernilai negatif.
4. Cincin berhasil menembus permukaan sehingga gaya yang bekerja bernilai positif.
5. Saat dinaikkan gaya yang terukur mulai meningkat.
6. Gaya tetap meningkat sampai akhirnya.
7. Gaya maksimum telah tercapai.
8. Setelah tercapai gaya maksimum, terdapat sedikit pengurangan gaya hingga akhirnya lamela terpecah.



Gambar 2. 4 Metode pengukuran tegangan permukaan metode cincin

2. Wilhelmy Plate

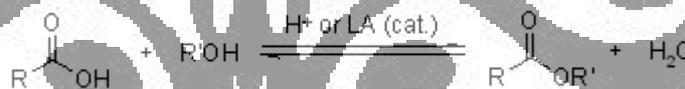
Metode ini menggunakan sejenis plat yang terbuat dari logam platinum. Perhitungan berdasarkan pada geometri permukaan yang terbasahi saat dikontakkan dengan cairan yang ingin diukur pada keadaan plat tepat diatas permukaan cairan. Hal penting dalam metode ini adalah posisi plat terhadap permukaan cairan.



Gambar 2. 5 Metode pengukuran tegangan permukaan metode plat

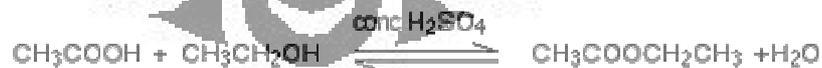
2.5 Reaksi Esterifikasi

Esterifikasi adalah suatu reaksi pembentukan gugus ester, merupakan suatu reaksi ionik, gabungan reaksi adisi dan reaksi penataan ulang/eliminasi [19]. Reaksi tipikal yang dapat menjelaskan mekanisme ini yaitu reaksi esterifikasi asam karboksilat dengan alkohol menghasilkan ester dengan bantuan katalis asam.



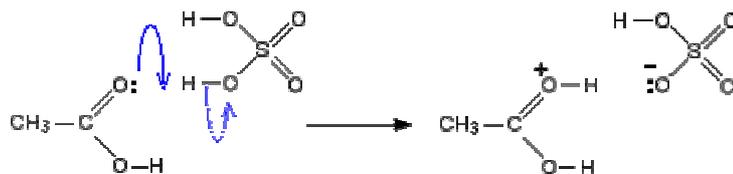
Gambar 2. 6. Reaksi esterifikasi asam karboksilat dengan alkohol.

Mekanisme reaksi ini terdiri dari lima langkah [19], kita ambil contoh pembentukan etil etanoat dengan mereaksikan asam asetat dan etanol dengan bantuan katalis asam sulfat.



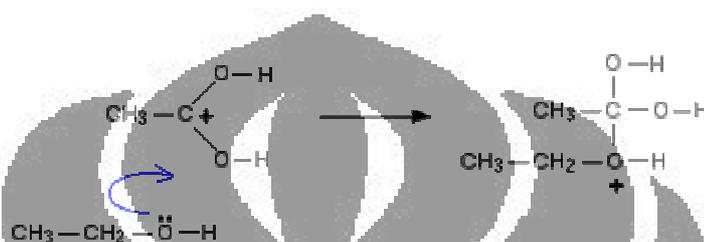
Gambar 2. 7. Reaksi esterifikasi asam etanoat dengan etanol

Langkah pertama, asam asetat menerima proton (ion hidrogen) dari asam sulfat. Proton tersebut lalu berikatan dengan oksigen yang berikatan rangkap dengan karbon. Perpindahan proton ke oksigen membuatnya jadi bermuatan positif.



Gambar 2. 8. Tahap pertama reaksi esterifikasi

Langkah kedua, muatan positif pada atom karbon diserang oleh satu elektron oksigen dari molekul etanol.



Gambar 2. 9. Tahap kedua reaksi esterifikasi

Langkah ketiga, pada fase ini terjadi perpindahan proton (ion hidrogen) dari oksigen terbawah ke atom oksigen lainnya.



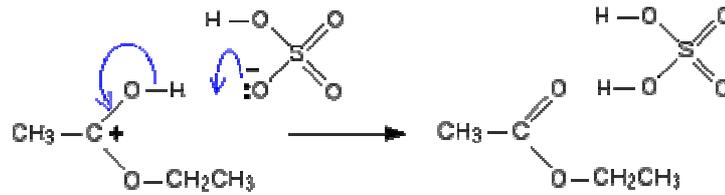
Gambar 2. 10. Tahap ketiga reaksi esterifikasi

Langkah keempat, pada fase ini terbentuk molekul air akibat terputusnya ikatan ion.



Gambar 2. 11. Tahap keempat reaksi esterifikasi

Langkah terakhir, yaitu pemisahan hidrogen dari oksigen oleh reaksi dari ion hidrogen sulfat yang terbentuk pada langkah pertama.

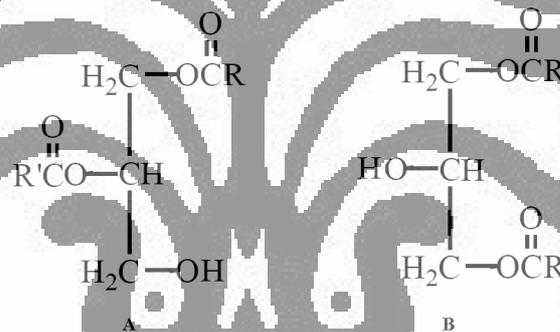


Gambar 2. 12. Tahap terakhir reaksi esterifikasi

Dan terbentuklah ester dan katalis asam sulfat kembali seperti semula.

2.6 Sintesis Digliserida

Digliserida atau digliserida merupakan suatu komponen yang terdiri dari gabungan gliserol (1,2,3-trihidroksiopropana) dan dua asam lemak yang membentuk dua gugus ester. Digliserida secara alamiah ditemukan dalam jumlah kecil pada sumber minyak dan lemak nabati seperti minyak kelapa sawit. Digliserida ini memiliki dua bentuk yaitu 1,3 digliserida dan 1,2(2,3) digliserida.



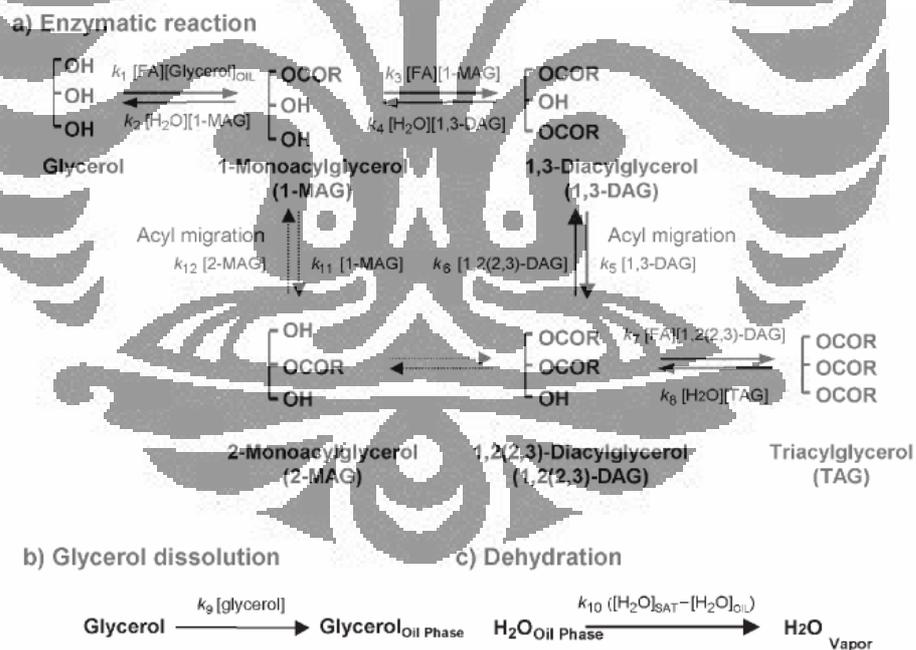
Gambar 2. 13. Struktur A.1,2(2,3) digliserida B.1,3 digliserida

Senyawa ini mempunyai kegunaan yang luas dalam industri makanan, kosmetik, dan farmasi. Campuran digliserida dan monogliserida merupakan emulsifier penting yang luas digunakan pada industri pengolahan makanan. Campuran emulsifier tersebut mempunyai keunggulan yaitu memiliki kestabilan yang bagus dari produk makanan [6]. Sejak tahun 1999, Jepang telah menjual minyak goreng dengan kandungan digliserida mencapai 80% berat (EnovaOil™). Minyak dengan kandungan digliserida yang tinggi dapat menekan konsentrasi trigliserida dalam tubuh, yang berakibat dapat menurunkan berat badan dan lemak didalam tubuh [20]. Dalam bidang farmasi senyawa ini digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat seperti γ -aminobutyric acid (GABA), chlorambucil, levo-dihydroxy phenylalanine (l-DOPA), dan bupranolol [4].

Karena keberadaan senyawa ini di alam sangat kecil maka dimulailah usaha untuk mensintesis digliserida. Dalam mensintesis digliserida ini bisa ditempuh dengan dua jalur yaitu non enzimatis dan enzimatis. Pada jalur non enzimatis reaksi dilakukan menggunakan katalis inorganik seperti natrium, kalium, atau kalsium hidroksida [5]. Sedangkan untuk jalur enzimatis digunakan katalis berupa enzim lipase. Ada tiga metode yang dilaporkan telah berhasil menggunakan lipase untuk mensintesis digliserida [21] yaitu

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

Disini kita akan membahas pembuatan digliserida dengan jalan esterifikasi enzimatis gliserol dengan asam lemak. Keuntungan metode ini yaitu digliserida yang dihasilkan akan menghasilkan profil asam lemak yang seragam [1]. Untuk menjelaskan kinetika reaksi yang terjadi, kita menggunakan skema reaksi seperti dibawah [20].



Gambar 2. 14. Skema reaksi esterifikasi gliserol dengan asam laurat

Pada skema diatas laju pelarutan gliserol ke fasa minyak dan laju pembuangan air dari fasa minyak dimasukkan dalam analisa. Dalam menjelaskan skema diatas diambil beberapa asumsi. Pertama laju pembentukan 2-MAG diabaikan karena enzim yang digunakan memiliki selektifitas yang tinggi pada

posisi *sn*-1 dan *sn*-3. Dan pada kenyataannya produksi 2-mag pada saat percobaan memang sangat kecil. Migrasi asil dari 1-MAG ke 2-MAG akan diabaikan juga karena konstanta kesetimbangan untuk 1-MAG/2-MAG lima kali lebih rendah dibandingkan dengan reaksi-reaksi lainnya.

Umumnya reaksi pada lipase terjadi pada lapisan antara minyak dengan air. Pada reaksi menggunakan enzim immobilisasi, esterifikasi asam lemak dengan gliserol tak terjadi pada fasa gliserol akan tetapi terjadi pada fasa minyak (asam lemak). Reaksi esterifikasi akan tak terjadi jika enzim kontak pertama kali dengan gliserol baru diikuti oleh asam lemak. Akan tetapi jika enzim kontak pertama kali dengan asam lemak lalu diikuti penambahan gliserol, reaksi akan muncul. Pada tahap awal reaksi esterifikasi, larutan substrat terpisah menjadi dua fasa. Sejalan dengan berjalannya reaksi gliserol akan terlarut dalam fasa minyak dan larutan substrat akan menjadi homogen. Karena alasan inilah laju pelarutan gliserol ke fasa minyak dimasukkan pada skema reaksi. Reaksi esterifikasi yang berlangsung akan menghasilkan produk samping berupa air, karena reaksi ini merupakan reaksi bolak-balik maka air akan mempengaruhi kesetimbangan reaksi. Untuk menaikkan yield dari digliserida maka digunakan suatu mekanisme pembuangan air yang tertentu. Dan laju pembuangan air ini dapat diekspresikan dengan perbedaan antara keadaan jenuh dan kandungan air sebenarnya di fasa minyak.

Setelah percobaan tersebut dilakukan akhirnya didapatkan data kinetika reaksi pada suhu 50°C [20] sebagai berikut.

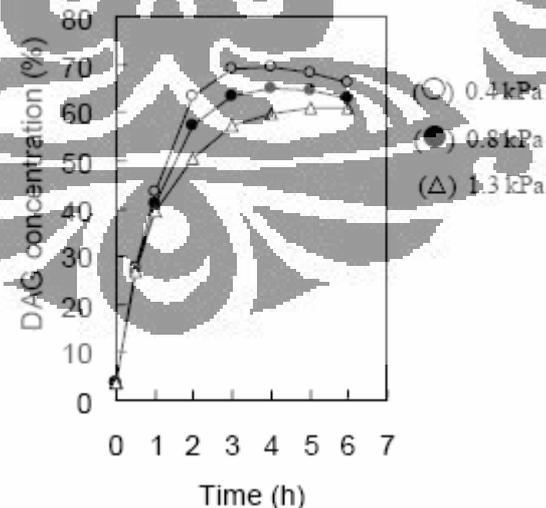
Tabel 2. 5. Data kinetika reaksi enzimatis gliserol.

Konstanta kesetimbangan	$K_1 = k_1/k_2 = 1.87$
	$K_2 = k_3/k_4 = 0.41$
	$K_3 = k_5/k_6 = 0.39$
	$K_4 = k_7/k_8 = 0.64$
	$K_5 = k_{11}/k_{12} = 0.08$
Konstanta laju reaksi	$k_1 = 7.5 \times 10^{-4} \text{ (L/mol/s)}$
	$k_3 = 2.91 \times 10^{-4} \text{ (L/mol/s)}$
	$k_5 = 7.85 \times 10^{-6} \text{ (1/s)}$

	$k_7 = 1.84 \times 10^{-3} \text{ (L/mol/s)}$
	$k_9 = 3.59 \times 10^{-4} \text{ (1/s)}$
	$k_{10} = 1.20 \times 10^{-2} \text{ (1/s)}$

2.6.1. Pengaruh Kandungan Air

Seperti kita lihat pada gambar 2-12, reaksi esterifikasi merupakan reaksi bolak-balik dan karena reaksi ini merupakan kebalikan dari reaksi hidrolisis maka akan dihasilkan pula air sebagai produk sampingnya selain digliserida sebagai produk utama. Kandungan air ini merupakan faktor yang penting dalam reaksi ini karena dapat mempengaruhi laju reaksi dan posisi kesetimbangan untuk reaksi yang diinginkan [21]. Karena kandungan air ini dapat membalikkan kesetimbangan ke arah reaktan maka sangat penting untuk menghilangkan kandungan air pada substrat agar didapatkan yield digliserida yang tinggi dan reaksi terus berjalan ke arah produk. Usaha yang dilakukan agar kandungan air dalam substrat adalah dengan menggunakan kondisi vakum sehingga air yang dihasilkan dapat dibuang. Semakin vakum kondisi reaksi maka akan memperbesar pembuangan air dari substrat dan berimbas kepada makin besarnya konsentrasi digliserida [21]



Gambar 2.15. Pengaruh kondisi vakum terhadap konsentrasi digliserida

Selain menggunakan kondisi vakum, ada cara lain untuk mengontrol kandungan air pada reaksi yaitu menggunakan suatu solven hidrofilik. Percobaan

menggunakan solven ini dilakukan oleh Kim [22] pada reaksi esterifikasi untuk mensintesis lysophosphatidylcholine. Digunakan kosolven organik dimetilformida, dengan menggunakan kosolven ini didapatkan konversi mencapai 90% pada waktu reaksi 7 jam. Dimetilformida dapat menurunkan aktivitas air karena sifat dari hidrofilitiknya yang memungkinkannya untuk dapat merubah aktivitas air pada reaksi. Dimetilformida tidak hanya mengontrol aktivitas air tapi juga dapat menghilangkan air yang terikat pada enzim, efek ini mengubah kesetimbangan termodinamik sehingga menghasilkan lebih banyak digliserida dan meningkatkan aktivitas enzim pada reaksi esterifikasi gliserol dengan asam lemak

2.6.2. Pengaruh Suhu Reaksi

Suhu reaksi dapat mempengaruhi laju reaksi, seiring dengan naiknya suhu maka pada reaksi tersebut mendapat tambahan energi sehingga menyebabkan naiknya laju reaksi. Hal ini sesuai dengan persamaan Arrhenius yang menyatakan bahwa konstanta laju reaksi berbanding eksponensial dengan suhu

$$k_A(T) = Ae^{-E/RT} \quad (1)$$

Dimana : A = faktor preeksponensial

E = energi aktivasi (J/mol)

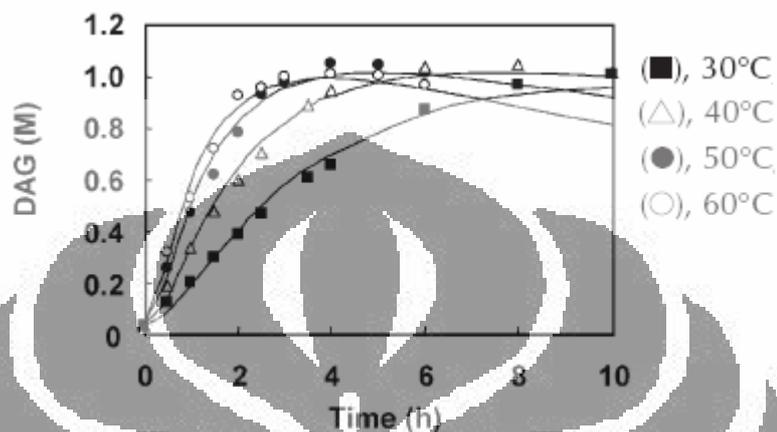
R = Konstanta gas (J/mol K)

T = suhu absolut (K)

Akan tetapi karena reaksi ini menggunakan enzim sebagai katalis maka suhu harus diatur agar mencapai kondisi optimum, hal ini dikarenakan enzim dapat terdenaturasi pada suhu tinggi. Pengaruh suhu reaksi pada sintesis digliserida menggunakan lipase diamati oleh Watanabe [21] pada percobaan itu digunakan empat variasi suhu yaitu 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C pada tekanan 3 mmHg dan rasio molar 2.0.

Walaupun laju reaksi esterifikasi berjalan lebih cepat akan tetapi konsentrasi digliserida tetap konstan pada 1 M dengan yield sebesar 80%. Dan kemurnian digliserida yang dihasilkan akan mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya suhu. Ini dapat dijelaskan bahwa semakin tinggi suhu reaksi maka

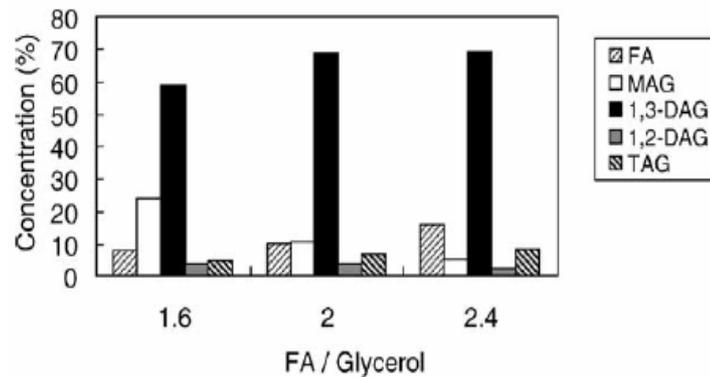
semakin tinggi pula laju pembentukan trigliserida. Pada akhir reaksi terlihat kemurnian digliserida 93, 86, 85, dan 81% pada 30, 40, 50, dan 60°C. Bahkan pada suhu 30°C kemurnian digliserida berada pada keadaan konstan sampai reaksi berakhir.



Gambar 2.16. Pengaruh suhu reaksi terhadap konsentrasi digliserida

2.6.3. Pengaruh Rasio Molar Asam Lemak/Gliserol

Pengaruh rasio molar asam lemak/gliserol pada reaksi esterifikasi dilakukan oleh Watanabe [21], percobaan dilakukan dengan variasi rasio molar 1.6, 2.0, dan 2.4 dengan kondisi operasi tekanan 0.4 kPa, suhu 50°C dengan waktu reaksi tiga jam. hasilnya didapatkan konsentrasi digliserida mencapai 70% saat rasio molar lebih tinggi dari 2.0. dan sekitar 60% saat rasio molar 1.6. Akan tetapi dengan semakin meningkatnya rasio molar maka akan meningkatkan pula konsentrasi trigliserida. hal ini akan mengakibatkan kemurnian dari digliserida menjadi berkurang. Dan terlihat juga bahwa konsentrasi monogliserida akan bertambah seiring dengan menurunnya rasio molar, hal ini bisa dijelaskan bahwa jumlah asam lemaknya tak mencukupi sehingga monogliserida terakumulasi sebagai produk intermediat.

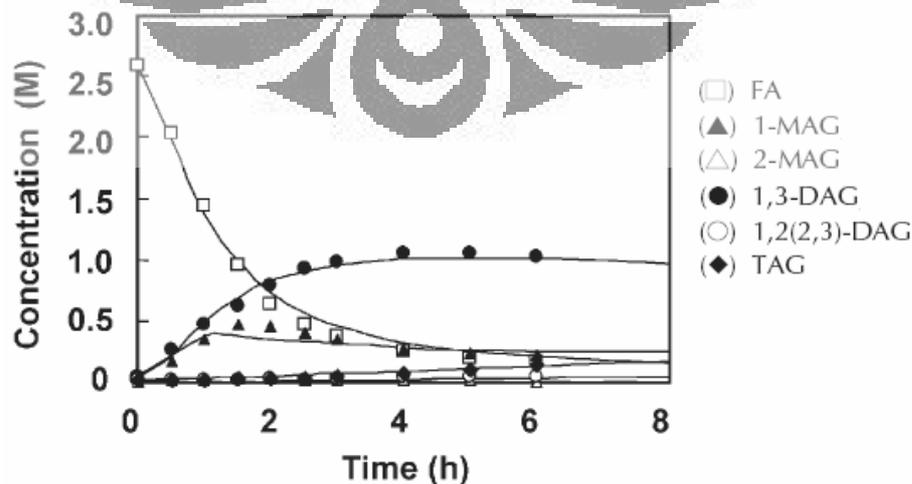


Gambar 2. 17. Pengaruh rasio molar terhadap konsentrasi digliserida.

2.6.4. Pengaruh Waktu Reaksi

Karena digliserida merupakan suatu produk intermediat dari reaksi esterifikasi jadi untuk mendapatkan digliserida dengan yield tinggi harus dikontrol seberapa lama reaksi esterifikasi dijalankan. Waktu reaksi harus disesuaikan hingga melebihi waktu pembentukan monogliserida dan jangan juga terlalu lama hingga menyebabkan terbentuknya trigliserida [1]. Pengaruh waktu reaksi pada reaksi esterifikasi diteliti oleh Watanabe [20].

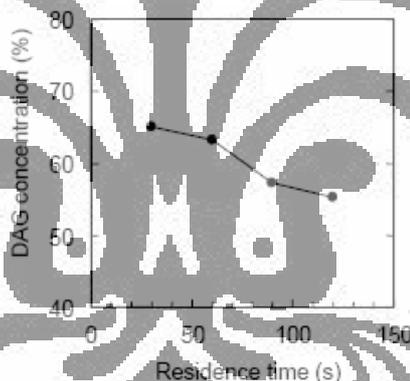
Hasilnya terlihat pada gambar grafik, pada saat pertama reaksi asam lemak terkonsumsi seiring dengan berjalannya waktu. Dan produksi digliserida akan meningkat secara simultan dengan berjalannya waktu dan mencapai nilai maksimum setelah empat jam reaksi dengan konsentrasi 1,05 M. Kemurnian digliserida mencapai 96% pada waktu reaksi 2,5 jam dan menurun dengan perlahan hingga mencapai nilai 92% pada waktu reaksi 4 jam.



Gambar 2. 18. Pengaruh waktu reaksi terhadap konsentrasi digliserida.

2.6.5. Pengaruh *Residence Time*

Watanabe [21] melakukan penelitian terhadap pengaruh *residence time* terhadap yield digliserida melalui reaksi esterifikasi gliserol, reaksi dilakukan dengan menggunakan *packed bed bioreactor*. Percobaan dilakukan dengan kondisi reaksi 50°C, 0.4 kPa, dengan molar rasio asam lemak/gliserol 2.0. Reaksi dijalankan dengan waktu dua jam. Hasil yang diperoleh, dengan makin meningkatnya *residence time* maka konsentrasi digliserida yang dihasilkan makin menurun. Akan tetapi produksi dari trigliserida makin meningkat dengan semakin besarnya *residence time*. Hal ini akan menyebabkan kemurnian dari digliserida akan menurun seiring dengan meningkatnya *residence time*. Kesimpulan dari percobaan ini untuk mendapatkan produksi digliserida yang baik pada *packed bed bioreactor* maka *residence time* harus diset dengan nilai yang sekecil mungkin.



Gambar 2. 19. Pengaruh *residenca time* terhadap konsentrasi digliserida.

2.7 Perforated Rotating Disc Bioreactor

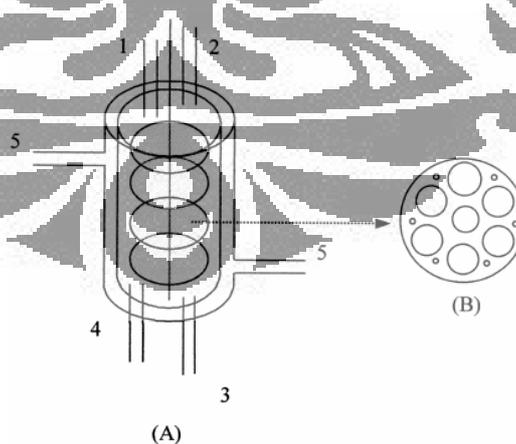
Pada tahun 1996 Da-Cunha [23] berhasil menggunakan *Perforated rotating disc contactor* (PRDC) sebagai peralatan ekstraksi kontinyu untuk protein dan enzim, menggunakan sistem *reversed micellar*. Dengan peralatan ini, laju transfer massa yang tinggi di antara fasa dapat diperoleh, dan memberikan efisiensi pemisahan yang lebih tinggi.

Richter [10], membandingkan antara *packed-column bioreactor* dengan *rotating disk bioreactor* pada reaktor enzim yang diimmobilisasi untuk reaksi

oksidasi glukosa. Perbandingan kuantitas dari tipe bioreaktor ini memperlihatkan bahwa *rotating disc reactor* secara signifikan lebih efisien untuk enzim yang diimmobilisasi dan lebih efektif untuk penggunaan biokatalis dengan jumlah yang sangat sedikit dibandingkan dengan *packed-column reactor*.

Oliveira [11] menggunakan *perforated rotating disc bioreactor* (PRDB) untuk reaksi esterifikasi etanol dengan asam oleat menggunakan katalis lipase *Rhizomucor miehei* yang diimmobilisasi pada suatu *support* hidrofob (Accurel EP700) dengan metode adsorpsi. Proses ini berlangsung secara batch dengan dilengkapi suatu rotary pump yang berguna untuk mensirkulasi fluida yang bereaksi. Dengan menggunakan reaktor jenis ini Oliveira berhasil mendapatkan konversi sampai dengan 57%. Ia menjelaskan bahwa dengan reaktor jenis ini transfer massa antara kedua fasa dapat berjalan lebih besar sehingga *interfacial area* pada reaktan juga semakin besar.

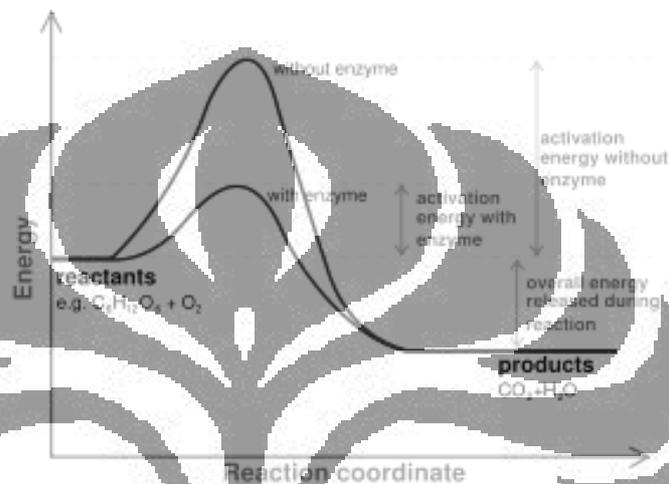
Sarubbo [12] melakukan penelitian untuk menginvestigasi efisiensi dari *perforated rotating disc contactor* berkaitan dengan kondisi operasi dan aspek struktur. Pada penelitiannya dilakukan pengamatan atas efek laju putaran piringan dan laju alir dari reaktan. Dari penjabaran diatas didapatkan bahwa *rotating disc bioreactor* bisa mendapatkan luas kontak yang cukup besar sehingga transfer massa antara kedua reaktan yang bereaksi dalam reaktor tersebut.



Gambar 2. 20. A. Perforated Rotating Disk Bioreactor B. Piringan

2.8 Enzim

Enzim adalah suatu senyawa protein yang dapat mempercepat laju suatu reaksi kimia [24]. Karena sifat enzim yang dapat mempercepat laju reaksi suatu reaksi kimia tanpa ikut bereaksi enzim disebut juga sebagai biokatalis. Seperti kerja katalis yang lain, enzim bekerja dengan menurunkan energi aktivasi suatu reaksi sehingga dapat mempercepat laju reaksi secara dramatis.



Gambar 2. 21. Perbandingan energi aktivasi dengan dan tanpa enzim

Enzim disintesis oleh sel biologi pada semua organisme dan terlibat dalam reaksi kimiawi yang berhubungan dengan metabolisme. Enzim merupakan kumpulan protein dengan ukuran partikel yang beragam. Struktur protein ditentukan oleh susunan asam amino. Molekul enzim terdiri dari dua atau lebih rantai peptida yang tersusun dalam struktur kuartener. Menurut cara kerjanya, enzim dibedakan menjadi 2, yaitu yang bekerja di dalam sel atau intraseluler dan yang bekerja di luar sel atau ekstraseluler. Enzim intraseluler atau endoenzim adalah enzim yang dipakai untuk proses-proses sintesis di dalam sel dan untuk proses penghasilan energi. Enzim ekstraseluler atau eksoenzim berfungsi menghidrolisis senyawa organik dengan berat molekul tinggi menjadi senyawa organik dengan berat molekul yang lebih sederhana, sehingga dapat melalui membran sel dan dapat digunakan sebagai sumber energi.

Dibandingkan dengan katalis inorganik, enzim sebagai katalis mempunyai beberapa kelebihan [6] yaitu :

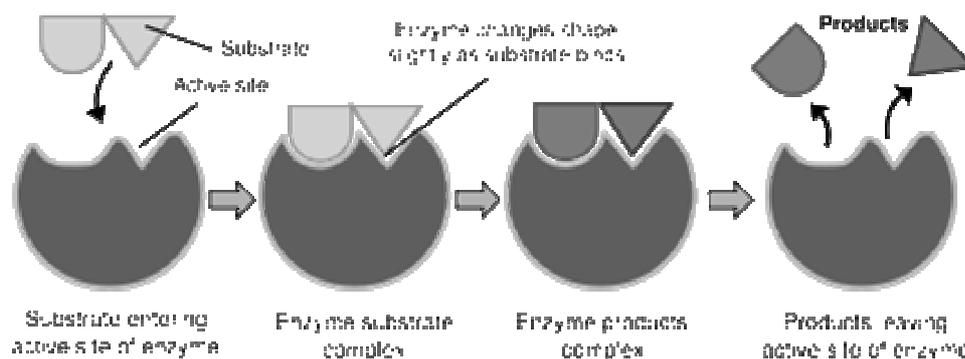
1. Dapat mempercepat reaksi pada suhu dan tekanan ruang
2. Lebih selektif dan efisien dalam mendapatkan produk
3. Didapatkan kemurnian dan kualitas produk yang lebih tinggi
4. Tak beracun dan *biodegradable*

Akan tetapi selain keuntungan tersebut juga ada kekurangan digunakannya enzim sebagai katalis dibandingkan dengan katalis inorganik [7] seperti :

1. Harga enzim yang sangat mahal
2. Ketidak stabilan enzim
3. Ketersediaan enzim yang sangat sedikit
4. Sulit dan mahalnya biaya untuk recovery enzim yang digunakan pada reaksi dalam media cair karena sifat enzim yang larut dalam media cair.

2.8.1 Cara Kerja Enzim

Enzim terkenal akan selektivitasnya yang tinggi, bagaimana selektivitas itu didapat masih menjadi perdebatan. Akan tetapi ada beberapa hipotesis yang dapat menjelaskan tentang selektivitas enzim tersebut, pada tahun 1894 seorang ilmuwan Jerman bernama Emil Fischer mengemukakan model *the lock and key*. Pada model ini dijelaskan bahwa baik substrat maupun enzim memiliki bentuk geometri spesifik yang sangat cocok antara substrat dengan enzim [24], akan tetapi model ini tak dapat menjelaskan stabilisasi pada keadaan transisi yang enzim dapatkan. Pada tahun 1958, Daniel Koshland menyempurnakan model yang dibuat oleh Fischer [25]. Dalam teorinya dijelaskan bahwa karena enzim memiliki struktur yang fleksibel, maka gugus aktifnya akan terus-menerus berubah akibat adanya interaksi antara enzim dengan substrat. Dan hasilnya substrat tersebut tak secara langsung terikat dalam gugus aktif enzim, rantai samping asam amino membuat gugus aktif bergabung dengan posisi substrat yang dapat membuat enzim melakukan fungsinya sebagai katalis. Gugus aktif dari enzim akan terus berubah sampai substrat terikat sempurna.



Gambar 2. 22 Skema cara kerja enzim.

2.8.2 Klasifikasi Enzim

Tiap enzim memiliki sistematika nama yang unik, yang menunjukkan kemampuan enzim tersebut dan diasosiasikan dengan kode empat angka [8]. Angka pertama menunjukkan tipe reaksi yang mampu dikatalisi, dua angka selanjutnya menunjukkan subkelas dan sub-subkelas dari reaksi dan angka keempat menyatakan jenis enzim tersebut. Selain nama sistematika tersebut enzim biasa disebut juga dengan nama trivia. Misalnya lipase memiliki nama sistematika *Triacylglycerol acylhydrolase* dan berasosiasi dengan kode 3.1.1.3. Skema klasifikasi enzyme tersebut dihasilkan oleh *International Commission on Enzyme* pada tahun 1961.

Menurut reaksi kimia yang dikatalisi enzim diklasifikasikan dalam enam kelas utama [24], yaitu :

1. Oksidoreduktase : berperan dalam reaksi oksidasi-reduksi.
2. Transferase : berperan dalam reaksi pemindahan gugus tertentu seperti metil
3. Hidrolase : berperan dalam reaksi hidrolisis.
4. Liase : berperan dalam reaksi adisi.
5. Isomerasi : sebagai katalis reaksi isomerasi.
6. Ligase : mengkatalis reaksi pembentukan ikatan dengan bantuan pemecahan ikatan dalam ATP.

2.8.3 Lipase

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 (pemecahan sel) terlebih dahulu. Jenis-jenis mikroba penghasil lipase dilihat pada tabel 2-6.

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 digliserida, monogliserida, asam lemak bebas, dan gliserol.

Jenis lipase yang mengkatalisis pemecahan ikatan ester trigliserida pada posisi satu atau tiga disebut lipase spesifik 1,3-digliserida. Pemecahan dengan lipase tersebut menghasilkan 1,2-digliserida, monogliserida, gliserol, dan asam lemak bebas. Produk 1,2-digliserida bersifat tidak stabil. Gugus asil pada posisi dua dapat mengalami migrasi ke posisi satu atau tiga sehingga menghasilkan produk 1,3-digliserida. Monogliserida yang di hasilkan berupa 1-monogliserida. Enzim lipase dapat mengkatalisis semua posisi asam lemak pada trigliserida dalam waktu yang lama.

Sifat-sifat lipase tergantung pada substrat dan asal perolehannya. Lipase yang berasal dari mikroba tertentu, mempunyai aktivitas optimum yang berbeda dengan mikroba lipolitik lainnya. Aktivitas lipase dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: pH, suhu, dan waktu. 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.

Tabel 2. 6. Mikroorganisme penghasil lipase.

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

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°C Dan mulai terdenaturasi diatas suhu 45°C.

2.9 Immobilisasi Enzim

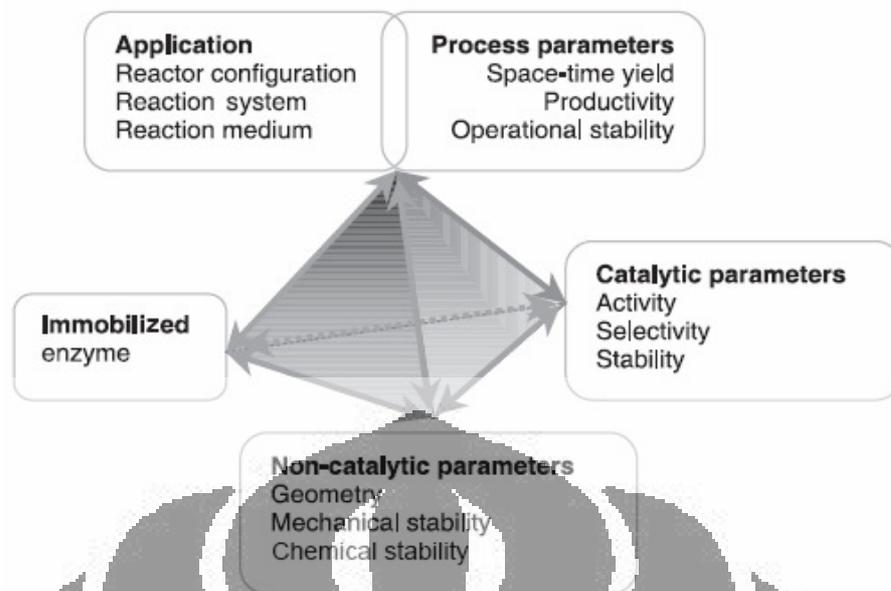
Immobilisasi enzim disini maksudnya adalah menggabungkan suatu enzim dengan suatu matrik padat (*support*) secara fisik, sehingga dapat digunakan secara berulang kali dan secara kontinyu [8]. Teknik ini dikembangkan untuk memperbaiki beberapa kekurangan penggunaan enzim yang telah di sebutkan diatas. Ada beberapa keuntungan jika kita mengimmobilisasi enzim [7] yaitu :

1. Enzim dapat digunakan berulang kali

2. Dapat digunakan pada proses yang kontinyu
3. Meningkatkan kestabilan enzim
4. Produk yang dihasilkan memiliki kemurnian yang lebih tinggi
5. Kontrol yang lebih besar terhadap reaksi enzimatik

Akan tetapi apapun sifat dari enzim tersebut dan bagaimana enzim tersebut dipreparasi, enzim yang diimmobilisasi harus memiliki dua fungsi esensial [26]. Yang pertama *non-catalytic function* (NCF) yang didesain untuk membantu proses pemisahan. NCF ini berkaitan erat dengan sifat fisik dan kimia dari *support* enzim, terutama bentuk geometri dari *immobilized enzyme* seperti bentuk, ukuran, ketebalan dan panjang dari suatu *carier*. Dan yang kedua yaitu *catalytic function* (CF) yang didesain untuk merubah substrat menjadi produk dalam waktu dan tempat yang diinginkan. CF ini berhubungan dengan sifat-sifat katalitik seperti aktivitas, selektivitas, stabilitas, pH dan suhu.

Dalam prakteknya, CF di desain sesuai dengan aktivitas, selektivitas, spesifikasi substrat, dan produktivitas yang diinginkan. Dan juga untuk mendapatkan reaksi samping yang sedikit. Sedangkan kriteria pada NCF, khususnya bentuk geometri, sangat tergantung pada desain dari reaktor (tumpak, CSTR, atau PFR), tipe dari medium reaksi (berair, pelarut organik, atau sistem dua fasa), sistem reaksi (*slurry*, cair-cair, cair-padat, atau padat-padat), dan kondisi proses (ph, suhu, dan tekanan). Tujuan utama dalam mendesain sifat non-katalitik adalah untuk mendapatkan pemisahan yang mudah dari larutan reaksi, fleksibilitas desain reaktor, dan kontrol proses tersebut. Hubungan antara semua itu dapat dilihat pada gambar [26] dibawah ini



Gambar 2. 23. Hubungan antara CF dan NCF dari enzim dengan aplikasinya.

2.9.1 Metode Immobilisasi Enzim

Dalam meng-immobilisasi enzim ada beberapa metode yang dilakukan, mulai dari ikatan kovalen sampai dengan penjebakan secara fisika. Secara umum metode tersebut dapat diklasifikasikan sebagai berikut [8] :

1. Ikatan kovalen dari enzim dengan *support*
2. *Intermolecular cross-linking*, menggunakan reagen multifungsi.
3. Adsorpsi enzim ke dalam *support*
4. Penjebakan enzim ke dalam suatu polimer atau membran semi-permeabel.

1. Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen adalah teknik yang sering digunakan dalam immobilisasi enzim, walaupun tak bagus untuk immobilisasi suatu sel. Enzim dihubungkan secara kovalen ke *support* melalui suatu gugus fungsi di dalam enzim, yang tak berpengaruh terhadap aktivitas katalitik [7]. Gugus fungsi yang sering diinvestigasi adalah amino, karboksil, dan gugus fenol pada *tyrosine*. Ikatan kovalen sering menggunakan *support* inorganik. Jenis enzim seperti *glucose oxidase*, *peroxidase*, *invertase* telah berhasil diimmobilisasi menggunakan teknik ini.

2. Intermolecular Cross-Linking

Enzim diimmobilisasi dengan hadirnya protein inert seperti gelatin, albumin dan kolagen [7]. Contohnya adalah, glutaraldehid yang berinteraksi dengan gugus amino dalam reaksi basa. Sering digunakan dengan alasan biaya rendah, efisiensi dan stabilitas yang tinggi.

3. Adsorpsi

Enzim terimmobilisasi melalui interaksi ionik, adsorpsi, dan desorpsi bergantung pada kemampuan dari perpindahan ion [7]. Keseimbangan dinamis antara enzim yang teradsorpsi dengan *support*nya biasanya disebabkan oleh pH dan kekuatan ionik dari media sekitarnya. Enzim yang biasa diimmobilisasi dengan metode ini contohnya adalah *invertase*, *urease*, *glucose oxidase*, dan *catalase*.

4. Penjebakan Enzim

Metode ini biasa digunakan dalam immobilisasi sel, tetapi tidak untuk enzim. Keterbatasan metode ini untuk mengimmobilisasi enzim adalah adanya kemungkinan kebocoran selama penggunaan yang kontinyu. Biokatalis dijebak dalam suatu polimer alami seperti *seperti agar*, *agarose*, *gelatine*, *alginate* dan *carrageenan* [7]. Akan tetapi ada beberapa polimer sintesis yang dapat digunakan seperti *polyurethane prepolymers* dan *polyacrylamide*.

2.9.2 Aspek Penting dalam Immobilisasi Enzim

Apapun bentuk fisik dari suatu immobilisasi enzim, ada tiga aspek penting yang harus diperhatikan secara mendetail dalam prosedur immobilisasi [8] yaitu:

- a. Sifat-sifat dari enzim bebas itu sendiri
- b. Tipe dari *support* enzim yang digunakan
- c. Metode aktivasi *support* dan pengikatan enzim

a. Sifat Enzim Bebas

Saat melihat sifat-sifat dari enzim dapat dilihat dari sistematika nama seperti dijelaskan sebelumnya. Dan juga sumber enzim itu didapat, bentuk fisik dari enzim, kemurnian, dan aktivitas katalitik. Aktivitas katalitik merupakan parameter terpenting dalam sudut analitis karena hal itu berkaitan langsung dengan sensitivitas suatu reaksi.

b. Tipe *Support* Enzim

bahan *support* memiliki efek yang sangat penting pada kestabilan enzim dan efisiensi dari immobilisasi enzim. Walaupun sulit untuk memprediksikan *support* mana yang cocok untuk jenis enzim tertentu. Hal yang sangat penting untuk pemilihan material *support* yaitu harus tak terlarut dalam air, mempunyai kapasitas yang tinggi untuk mengikat enzim, inert secara kimiawi, dan stabil secara mekanis. Kapasitas untuk mengikat enzim tergantung pada luas permukaan baik itu internal (porositas) dan eksternal (ukuran tabung atau tempat). Tipe *support* bisa diklasifikasikan menjadi tiga kategori yaitu

1. Hidrofilik biopolimer berasal dari polisakarida alami seperti agarosa, dextran dan selulosa.
2. Lipofilik polimer organik sintesis seperti poliakrilamida, polistirene, dan nilon.
3. Bahan inorganik seperti besi oksida dan gelas berpori.

c. Metode Aktivasi *Support* dan Immobilisasi Enzim Pada *Support*

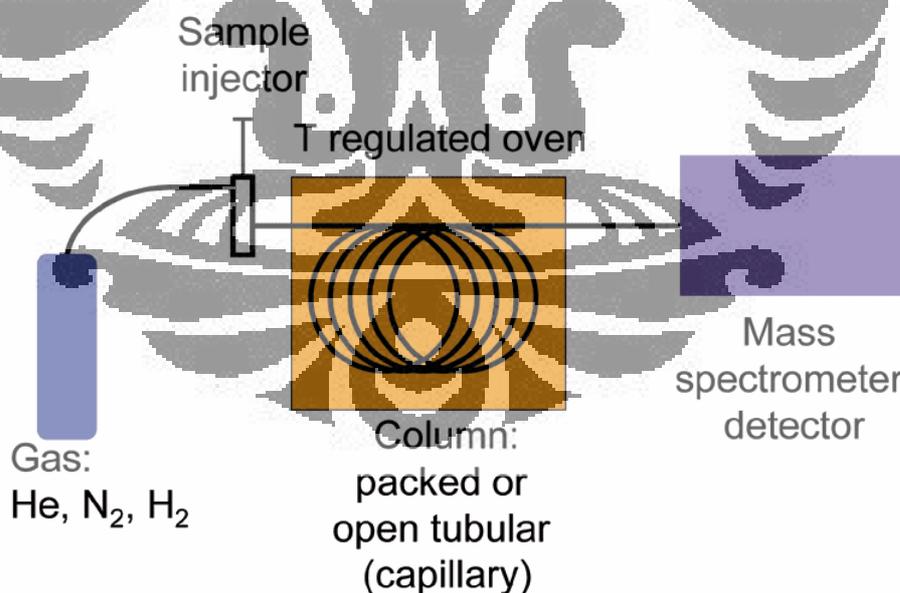
untuk immobilisasi enzim pada *support* telah dijelaskan sebelumnya. Dan untuk aktivasi *support* harus diperhatikan hal-hal seperti sifat enzim bebas, sifat kimia dari *support*, dan kondisi operasi. Contoh untuk polisakarida aktivasi *support* menggunakan reagen seperti sianogen bromida, sianurik klorida, natrium periodat, atau benzoquinone. Untuk poliakrilamida bisa diaktivasi dengan mereaksikan dengan diamine dan untuk *support* inorganik bisa diaktivasi oleh reaksi dengan glutaraldehid.

2.10 Gas Chromatography/Mass Spectrometry

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

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

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



Gambar 2. 24. Skema Alat GC/MS

Prinsip kerja GC/MS dimulai dari sampel yang akan diinjeksikan ke dalam kolom GC di dalam kolom ini terjadi pemisahan senyawa-senyawa yang terdapat

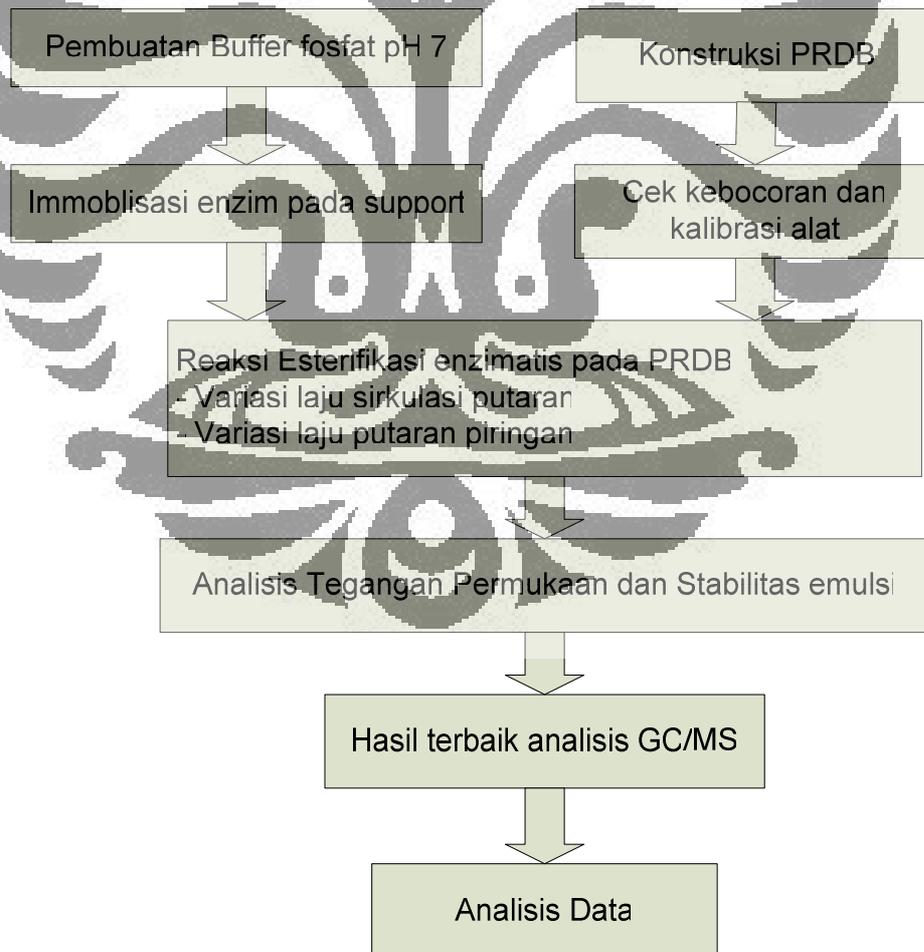
dalam suatu sampel, tiap senyawa akan terpisah-pisah hingga mempunyai waktu retensi yang berbeda-beda. Pada tahap ini telah diketahui puncak-puncak yang muncul dari sampel tersebut akan tetapi belum diketahui senyawa apakah itu. Setelah proses ini masing-masing senyawa akan dianalisa oleh MS untuk diketahui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

BAB 3

METODE PENELITIAN

Secara umum, penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu tahap konstruksi PRDB, preparasi alat dan bahan penelitian, immobilisasi enzim, reaksi esterifikasi pada reaktor PRDB, analisis tegangan permukaan, stabilitas emulsi dan GC/MS, dan analisa data. Sebagian besar penelitian dilakukan di Laboratorium Dasar Proses Kimia (DPK), Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. Analisis sampel dengan GC/MS dilakukan di Laboratorium Forensik Mabes POLRI.

Alur pembuatan produk digliserida dari gliserol dan asam laurat ditunjukkan pada bagan di bawah ini,



Gambar 3. 1. Bagan alir rancangan penelitian.

3.1 Variabel Penelitian

- Variabel tetap atau kondisi operasi yang tidak berubah dalam penelitian ini ialah : pH, suhu, tekanan, dan rasio mol asam laurat dan gliserol.
- Variabel bebas atau kondisi operasi yang diubah pada penelitian ini adalah laju putaran piringan dan laju sirkulasi reaktan.
- Variabel terikat atau parameter yang akan diamati sebagai hasil dari penelitian dalam penelitian ini adalah, tegangan permukaan dan stabilitas emulsi yang dihasilkan dari reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dengan asam laurat dan katalis lipase.

3.2 Alat dan bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan pada penelitian.

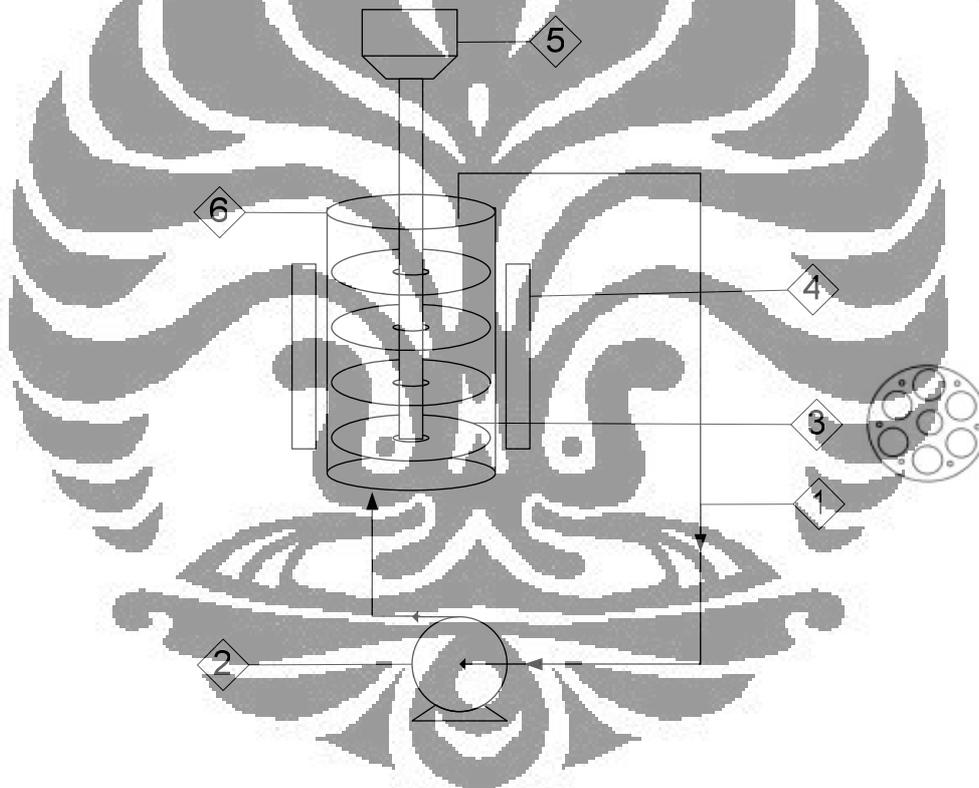
Tabel 3. 1. Alat dan bahan yang dibutuhkan

Peralatan	Bahan-bahan
GC/MS	Asam laurat
Spektrofotometer	<i>Mucor miehei</i> lipase
Stop watch	Kitin
Magnetic stirrer	Aquadés
Hot plate	Gliserol
Shaker	Heksana
Labu erlenmeyer	KH_2PO_4
Gelas ukur	K_2HPO_4
Pipet	Minyak goreng
Mikro pipet	
KRUSS	
Cawan Petri	
Selang air	
Pengukur pH	
Kertas saring	

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Konstruksi PRDB

Tujuan dari langkah ini adalah untuk membuat PRDB sebagai tempat reaksi esterifikasi enzimatis gliserol dengan asam laurat. Dalam penelitian ini dibuat reaktor PRDB dengan volume 110 ml dengan desain awal seperti oliveira [11]. Berupa kolom reaktor terbuat dari stainless steel dengan ketinggian 160 mm dan diameter dalam 30 mm. 4 *perforated disc* dengan diameter masing-masing 30 mm, dibuat 6 lubang dengan diameter 7,5 mm. Dan diselubungi Heater untuk menaikkan dan menjaga suhu sebesar 50°C. Dan peralatan pendukung seperti pompa dirakit seperti pada gambar dibawah.



Gambar 3. 2. Diagram skematik *Perforated Rotating Disc Bioreactor*

Keterangan gambar:

1. Pipa
2. Pompa
3. Piringan berlubang
4. Jaket Reaktor
5. Rotor

6. Reaktor PRDB

3.3.2 Uji Kebocoran dan Kalibrasi Alat

Sebelum alat digunakan dilakukan serangkaian tes untuk menguji kesiapan alat, yaitu :

1. Mencek kebocoran yang mungkin terjadi sambungan pada sistem reaktor dengan cara mengalirkan air pada sistem.
2. Mengkalibrasi putaran piringan pada motor dengan menggunakan tachometer.
3. Mengkalibrasi laju alir pada sistem reaktor dengan mengatur kecepatan pompa peristaltik dan menggunakan gelas ukur untuk mengkalibrasi laju alir.
4. Mencek suhu yang dihasilkan termostat menggunakan termometer.

3.3.3 Tahap Pembuatan Buffer Fosfat

1. Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Yaitu K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , aquades, pengukur pH, gelas ukur dan *beaker glass*.
2. Membuat larutan 0,1 M K_2HPO_4 dan 1 M KH_2PO_4 , masing-masing 500 ml.
3. Mengukur pH larutan 0,1 M K_2HPO_4 dan 1 M KH_2PO_4 .
4. Mengambil sedikit larutan K_2HPO_4 , yaitu 200 ml. Kemudian dilakukan penambahan setiap ml KH_2PO_4 dengan selalu memeriksa pH larutan campuran yang merupakan buffer *fosfat*. Penambahan larutan KH_2PO_4 dihentikan ketika buffer *fosfat* telah mencapai pH 7.

3.3.4 Preparasi immobilisasi enzim

Tujuan dari langkah ini adalah untuk mengimmobilisasi enzim Lipase dalam suatu *support* yaitu kitin. Prosedur Immobilisasi enzim pada penelitian ini mengikuti prosedur immobilisasi enzim oleh Dimas Prabu [27]. Prosedurnya yaitu

1. Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan, yaitu labu erlenmayer 25 ml, magnetic stirrer, mikro pipet, kertas saring, *support* kitin dan enzim lipase.

2. Menambahkan lipase sebanyak 7 mg ke dalam 4 ml buffer fosfat kemudian mengaduknya menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit.
3. Menambahkan 100 mg *support* chitin ke campuran enzim-buffer kemudian dishaker selama 4 jam pada suhu kamar.
4. Memisahkan *support* dengan penyaringan dan pencucian dengan buffer sebanyak dua kali.

3.3.5 Menentukan Konsentrasi Protein Yang Terimmobilisasi

Metode yang digunakan untuk menentukan konsentrasi protein yang terimmobilisasi adalah dengan menggunakan metode lowry. Pertama kita buat kurva kalibrasinya prosedurnya yaitu:

Persiapan Bahan:

1. Membuat larutan Bovine Serum Albumin (BSA) dengan konsentrasi 1 mg/ml
2. Membuat reagen untuk analisis
 - a. Mencampurkan 50 ml larutan Natrium Karbonat 2% berat dengan 50 ml NaOH 0,1 N.
 - b. Mencampurkan 10 ml larutan CuSO₄ 1,56% berat dengan Natrium Potassium Tartarate 2,37% berat
3. Mencampurkan 50 ml reagen a dengan 1 ml reagen b.
4. Menyiapkan reagen Folin 1 N.

Prosedur :

- 1) Membuat BSA dengan konsentrasi yang berbeda dengan melarutkan larutan BSA dengan air. Volume dari setiap tabung reaksi adalah 5 ml. Konsentrasi BSA berkisar antara 0.1 sampai 1 mg/ ml.
- 2) Mengambil 0,2 ml dari setiap tabung ke tabung yang berbeda kemudian menambahkan 2 ml reagen analisis.
- 3) Mengaduk campuran lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit.
- 4) Menambahkan 0,2 ml reagen Folin 1N pada setiap tabung lalu diinkubasi selama 30 menit.
- 5) Mempersiapkan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

- 6) Memplot absorbansi dengan konsentrasi protein untuk mendapatkan kurva kalibrasi.
- 7) Mengecek absorbansi sampel dan menentukan konsentrasi sampel yang tidak diketahui menggunakan kurva kalibrasi.

Lalu untuk menghitung enzim *loading* prosedurnya yaitu:

- 1) Menghitung konsentrasi enzim yang terimmobilisasi dengan rumus:

$$C_E = C_0 - C_t$$

C_E = konsentrasi enzim terimmobilisasi.

C_0 = konsentrasi enzim sebelum immobilisasi.

C_t = Konsentrasi enzim setelah immobilisasi.

- 2) Menghitung enzim *loading* (dalam persen) dengan rumus:

$$\% \text{ loading} = \frac{C_E}{C_0} \times 100\%$$

3.3.6 Variasi Laju Putaran Piringan

1. Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Yaitu gliserol, asam laurat, enzim yang telah diimmobilisasi, buffer fosfat pH 7, n-heksana.
2. Variasi yang akan dilakukan ialah variasi laju putaran piringan 200 rpm, 300 rpm, 400 rpm, 500 rpm, dan 600 rpm.
3. Memakai perbandingan mol gliserol dan asam laurat 1:1.
4. Heksana yang dipakai sebanyak 120 ml.
5. Mengkalibrasi laju alir reaktan menggunakan gelas ukur hingga didapat laju alir 150 ml/min.
6. Melakukan reaksi esterifikasi-enzimatis, yaitu mereaksikan gliserol dan asam laurat dengan bantuan katalis lipase *Mucor miehei* yang telah diimmobilisasi, pada pelarut organik heksana, dan dengan buffer *phosphate* pH 7 empat tetes di dalam PRDB.
7. Mengatur Temperature controller reaktor sehingga suhu reaktor mencapai 50⁰ C
8. Mengatur putaran piringan sesuai dengan variasi yang dikehendaki menggunakan *tachometer*.

3.3.7 Variasi Laju Sirkulasi Reaktan

1. Mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Yaitu gliserol, asam laurat, enzim yang telah diimmobilisasi, buffer fosfat pH 7, n-heksana.
2. Variasi yang akan dilakukan ialah variasi laju sirkulasi 10 ml/min, 25 ml/min, 50 ml/min, 100 ml/min, dan 150 ml/min.
3. Memakai perbandingan mol gliserol dan asam laurat 1 : 1
4. Heksana yang dipakai sebanyak 120 ml.
5. mengkalibrasi laju alir reaktan sesuai dengan variasi yang dikehendaki menggunakan gelas ukur.
6. Melakukan reaksi esterifikasi-enzimatis, yaitu mereaksikan gliserol dan asam laurat dengan bantuan katalis lipase *Mucor miehei* yang telah diimmobilisasi, pada pelarut organik heksana, dan dengan buffer *phosphate* pH 7 empat tetes di dalam PRDB.
7. Mengatur Temperature controller reaktor sehingga suhu reaktor mencapai 50^o C.
8. Mengatur putaran piringan sesuai sebesar 600 rpm menggunakan *Tachometer*.

3.3.8 Pengukuran Tegangan Permukaan

1. Menyiapkan sampel dilaurin yang akan diukur tegangan permukaannya.
2. Sebelum melakukan pengukuran, cincin dan gelas tempat sampel harus dicuci terlebih dahulu. Pencucian yang dilakukan harus benar-benar bersih. Pencucian dilakukan dengan menggunakan alkohol.
3. Masukkan campuran air dan sampel dilaurin kedalam gelas sampel. Jumlah sampel dilaurin yang dimasukkan ialah sebesar 15% dari berat air.
4. Aduk sesaat sebelum diukur tegangan permukaannya.
5. Menurunkan *cross staff* dengan memutar *handweel*, lalu masukkan gelas yang telah berisi sampel kedalamnya .
6. Menyalakan KRUSS. Atur *light pointer* KRUSS pada kondisi 0. Periksa posisi garis di layar berada tepat di tengah garis.

7. Naikkan lagi gelas yang telah berisi cairan dengan memutar *handweel* sampai cincin masuk seluruhnya 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.

3.3.9 Tahap Uji Emulsi

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

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

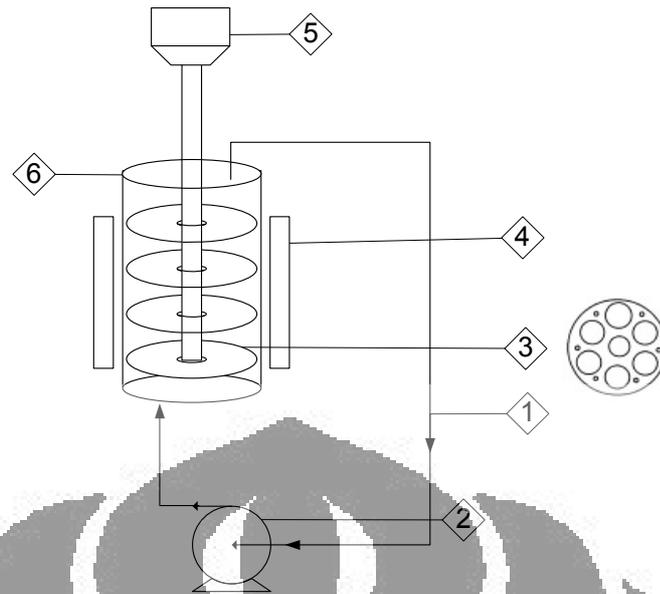
BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, tujuan yang ingin dicapai ialah untuk mendapatkan kondisi operasi optimum yang diperlukan dalam reaksi esterifikasi-enzimatis dengan mengimmobilisasi enzim dalam suport kitin untuk menghasilkan produk dilaurin dalam reaktor PRDB. Produk dilaurin ini sendiri ialah salah satu agen pengemulsi yang potensial digunakan dalam industri makanan. Kondisi optimum yang dicari dalam penelitian ini ialah laju alir sirkulasi aliran pada reaktor dan laju perputaran piringan pada reaktor. Katalis enzim yang dipakai dalam penelitian ini ialah *mucor miehei*. Pada bab ini akan dibahas mengenai hasil yang didapat dalam penelitian.

4.1 Pembuatan Reaktor PRDB

Dalam penelitian ini dibuat reaktor PRDB dengan volume 110 ml dengan desain awal seperti oliveira [11]. Berupa kolom reaktor terbuat dari stainless steel dengan ketinggian 160 mm dan diameter dalam 30 mm. 4 *perforated disc* dengan diameter masing-masing 30 mm, dibuat 6 lubang dengan diameter 7,5 mm. Dan disambung termostat yang dihubungkan dengan *Temperature Controller* untuk menaikkan dan menjaga suhu sebesar 50°C. Dan peralatan pendukung seperti pompa dirakit seperti pada gambar dibawah. Karena reaksi berjalan dengan laju sirkulasi yang dirancang sekecil mungkin, maka pilihan penggunaan pompa jatuh pada pompa peristaltik karena pompa jenis ini memiliki kemampuan untuk mengalirkan fluida cairan dengan laju alir yang cukup kecil. Untuk menghindari lipase meninggalkan PRD *bioreactor* maka dipasang filter pada keluaran.



Gambar 4. 1. Diagram Skematik PRDB

Keterangan :

Nomor	Deskripsi	Ukuran/model
1	Pipa	1/8 inch
2	Pompa	peristaltik
3	Piringan berlubang	d = 30 mm, d lubang = 7,5 mm
4	Jaket reaktor	with Temperature controller
5	Rotor	DC
6	PRD Bioreactor	id = 32 mm ; h = 160 mm

Tabel 4. 1 Gambar alat pada PRDB

Gambar Alat	Keterangan
	<p>Reaktor PRDB diselimuti oleh termostat dilengkapi dengan termokopel.</p>

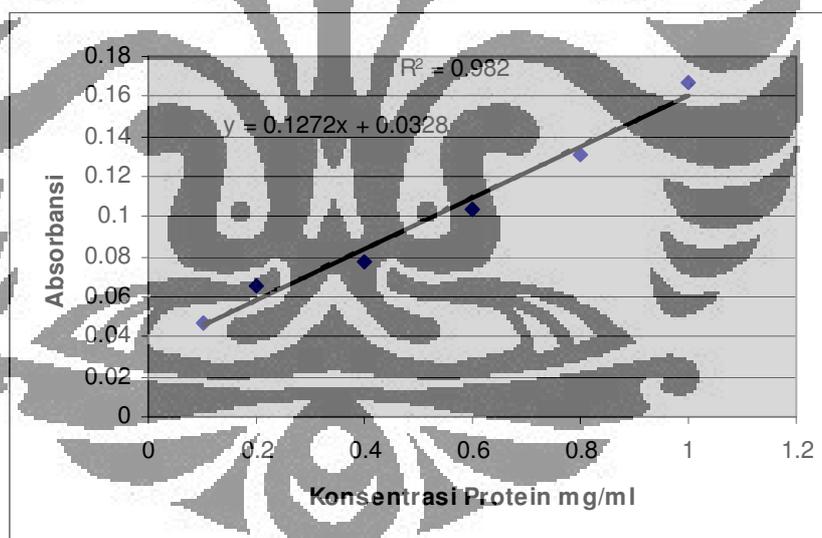
	<p>Temperatur Controller digital</p>
	<p>Motor DC (sebagai pemutar piringan)</p>
	<p>Speed controller digital</p>
	<p>Pompa peristaltik</p>

4.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi Untuk Konsentrasi Lipase.

Pembuatan kurva kalibrasi ini bertujuan untuk mengukur konsentrasi protein dalam larutan. Sampel yang diambil akan diukur menggunakan

spektrofotometer lalu dicatat nilai absorbansinya. Metode yang digunakan adalah metode Lowry. Metode ini didasari pada reaksi biuret antara ikatan peptide dengan Cu pada kondisi yang basa akan menghasilkan Cu^+ , yang mana akan bereaksi dengan reagen folin yang menyebabkan perubahan fisis pada larutan [28]. Perubahan fisis ini berupa perubahan warna larutan dari bening menjadi berwarna biru. Semakin banyak kadar/konsentrasi protein di dalam larutan, warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat.

Sampel protein yang digunakan dalam pembuatan kurva kalibrasi ini adalah BSA (Bovine Serum Albumin) dimana kadar kandungan proteinnya mendekati kemurnian. Sampel BSA dicampurkan kedalam larutan reagen lowry lalu, setelah itu diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Lalu campuran ditambahkan reagen Folin dan dibiarkan dalam suhu ruang selama 30 menit sebelum diukur absorbansinya agar reaksi berjalan hingga maksimal. Konsentrasi protein BSA ini divariasikan dari 0.1-1 mg/ml.



Gambar 4. 2. Kurva kalibrasi standar protein

Dari kurva diatas didapatkan persamaan garis linear $y = 0.1272x + 0.0328$, dimana y merupakan absorbansi dan x adalah konsentrasi protein. Sehingga nantinya untuk mengukur konsentrasi enzim lipase langsung dapat diukur dari absorbansinya.

4.3 Pengukuran Enzim *Loading* Pada *Support* Kitin.

Enzim *loading* dihitung dengan rumus:

$$C_E = C_0 - C_t$$

$$\% \text{ loading} = \frac{C_E}{C_0} \times 100\%$$

dimana:

C_E = konsentrasi enzim ter-immobilisasi (mg/ml)

C_0 = konsentrasi enzim sebelum immobilisasi, $t = 0$ (mg/ml)

C_t = konsentrasi enzim pada waktu t (mg/ml)

Dengan $C_0 = 2,05037$ mg/ml dan $C_t = 1,44526$ mg/ml

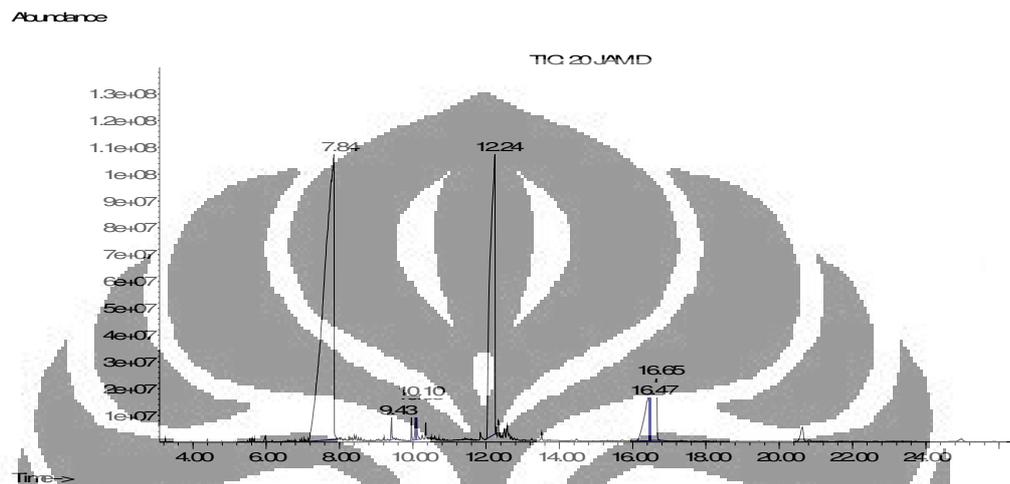
Didapatkan *% loading* sebesar 41,93 %

Dari hasil diatas didapatkan hasil *% loading* lipase terhadap kitin yaitu 41,93 %. Kitin merupakan senyawa organik yang terdiri dari ikatan antara monomernya yang terangkai dengan glukosida pada posisi $\beta(1-4)$. gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon nomor dua adalah gugus asetamina (-NHCOCH₃) sehingga kitin menjadi sebuah polimer berunit N-Asetil glukosamin. Sama seperti kitin, lipase juga tersusun dari struktur kimia organik. Lipase yang terlarut dalam buffer akan teradsorp pada pori kitin seiring dengan teradsorpnnya molekul air pada kitin. Hasil yang masih rendah ini kemungkinan disebabkan teknik immobilisasi yang dilakukan yaitu adsorpsi masih lemah dalam mengimmobilisasi karena pada teknik ini enzim terimmobilisasi pada *support* hanya bergantung pada kemampuan dari perpindahan ion. Dapat diduga bahwa afinitas lipase masih rendah terhadap kitin sehingga penyerapan lipase ke *support* kitin masih rendah yaitu sekitar 41,93 %.

4.4 Penentuan Waktu Reaksi di PRDB

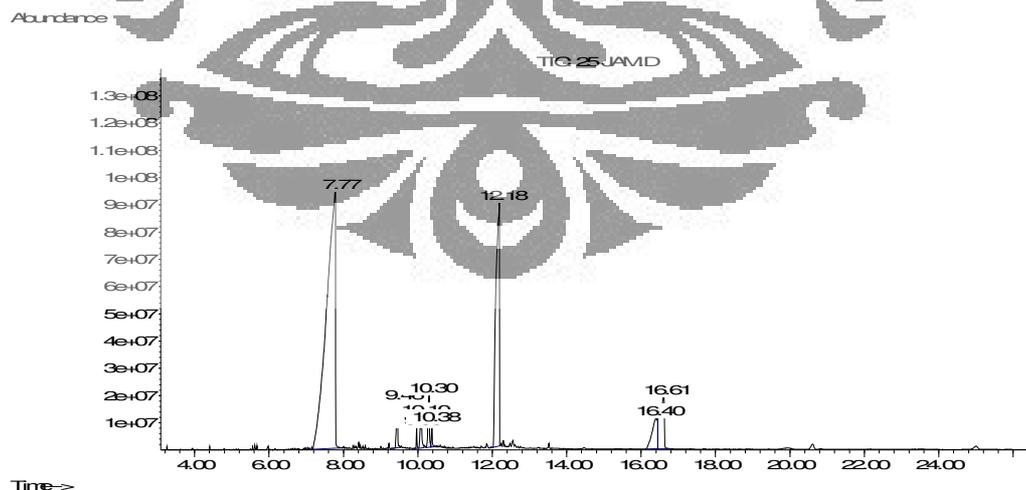
Pada reaksi yang sama telah dilakukan variasi waktu di reaktor *batch* (*erlenmeyer*) oleh Dani Wibowo [29]. Pada percobaan tersebut didapatkan waktu reaksi optimum selama 25 jam. Untuk menentukan waktu reaksi yang dibutuhkan pada reaktor PRDB dilakukan percobaan menggunakan reaktor PRDB dengan mengambil sampel pada waktu 20 jam dan 25 jam. Lalu hasil yang didapatkan

dianalisa dengan GC-MS. Dan sampel waktu hasil konsentrasi yang tertinggi digunakan untuk percobaan selanjutnya. Reaksi dilakukan dengan variabel tetap berupa suhu 50 °C. rasio molar gliserol/asam laurat 1.0. sedangkan putaran piringan pada di reaktor di set pada 200 RPM dengan laju sirkulasi reaktan sebesar 150 ml/menit. Dari hasil GC-MS didapatkan pada waktu 20 jam.



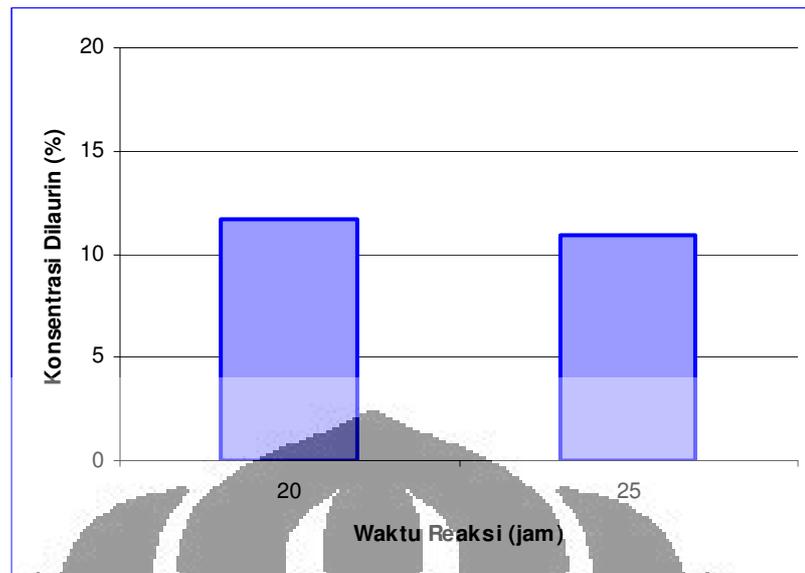
Gambar 4. 3. Kromatogram reaksi 20 jam PRDB

Peak dilaurin terdeteksi pada waktu retensi 16,43-16,65 menit. Dan didapatkan konsentrasi dilaurin sebesar 11,73 %. Dan dari sampel 25 jam di dapatkan kromatogram sebagai berikut.



Gambar 4. 4. Kromatogram reaksi 25 jam PRDB

Peak dilaurin terdeteksi pada waktu retensi 16,4-16.61 menit. Dan di dapatkan konsentrasi dilaurin sebesar 10,9 %. Dan jika kita lihat pada grafik.



Gambar 4. 5. Konsentrasi dilaurin vs waktu pada reaktor PRDB

Dari sini kita lihat terjadi perbedaan antara reaksi di reaktor *batch* dan di PRDB hal ini mungkin disebabkan oleh kurang optimalnya kontak antara gliserol dengan asam Laurat. Sehingga reaktor PRDB ini belum bekerja secara optimal. Untuk mengetahui kondisi optimalnya pada penelitian selanjutnya akan divariasikan laju alir sirkulasi dan putaran piringan yang diharapkan dapat meningkatkan luas kontak antarmuka antara gliserol dan asam laurat dan juga untuk meningkatkan kontak antara reaktan dengan katalis enzim di dalam reaktor.

4.5 Reaksi Esterifikasi-Enzimatis

Tahap inti dari penelitian ini ialah pada percobaan reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dengan asam laurat di dalam reaktor PRDB untuk menghasilkan agen pengemulsi berupa dilaurin. Tahap ini dibagi menjadi dua bagian, yaitu tahapan variasi laju putaran piringan dan. Variasi yang diberikan pada setiap tahap reaksi ialah sebanyak lima variasi. Suhu operasi yang diberikan pada setiap reaksi ialah sebesar 50°C. Suhu optimum bagi lipase *Mucor miehei* untuk dapat berperan sebagai katalis ialah 50°C – 60°C [20]. Suhu reaksi dapat mempengaruhi laju reaksi, seiring dengan naiknya suhu maka pada reaksi tersebut mendapat tambahan energi sehingga menyebabkan naiknya laju reaksi. Hal ini sesuai dengan persamaan Arrhenius yang menyatakan bahwa konstanta laju reaksi berbanding eksponensial dengan suhu reaksi. Akan tetapi karena reaksi ini

menggunakan enzim sebagai katalis maka suhu harus diatur agar mencapai kondisi optimum, hal ini dikarenakan enzim dapat terdenaturasi pada suhu tinggi. Kestabilan lipase bergantung pada derajat keasaman (pH). Kondisi pH yang jauh dari optimum akan menyebabkan inaktivasi, karena terjadi kerusakan struktur protein enzim pH optimum yang dibutuhkan oleh lipase untuk berperan sebagai katalis ialah pada pH 7 [27]. Kondisi pH yang jauh dari optimum akan menyebabkan inaktivasi, karena terjadi kerusakan struktur protein enzim.

Penentuan kondisi optimum ini didapatkan dari uji pengukuran tegangan permukaan serta uji stabilitas emulsi. Dari pengujian ini maka didapatkan kondisi optimum dalam reaksi, yaitu laju putaran piringan optimum dan laju alir sirkulasi optimum. Pengukuran tegangan permukaan dilakukan untuk melihat apakah produk dilaurin yang diperoleh dapat menurunkan tegangan permukaan air. Jika dapat menurunkan tegangan permukaan, maka dianggap produk atau sampel tersebut merupakan suatu agen pengemulsi. Data tegangan permukaan air pada kondisi suhu ruang atau 27°C adalah sebesar 71 mN/m. Data tersebut sesuai dengan percobaan pengukuran tegangan permukaan air yang telah dilakukan. Pengukuran tegangan permukaan dilakukan pada tiap sampel dilaurin yang telah didapatkan pada setiap tahap reaksi. Uji kestabilan emulsi juga dilakukan untuk menguatkan hasil percobaan. Tujuan dari pelaksanaan uji kestabilan emulsi ini ialah untuk melihat apakah sampel dilaurin dapat mengemulsi campuran minyak-air. Data yang diambil pada uji kestabilan emulsi ini adalah waktu yang dibutuhkan sampel dilaurin sebagai agen pengemulsi untuk dapat mengemulsikan campuran minyak-air. Sebagai perbandingan, sebelumnya juga dilakukan uji kestabilan emulsi antara minyak dan air tanpa penambahan sampel agen pengemulsi. Data ini digunakan untuk membandingkan pengaruh yang diberikan dilaurin sebagai agen pengemulsi dalam kestabilan emulsi minyak-air.

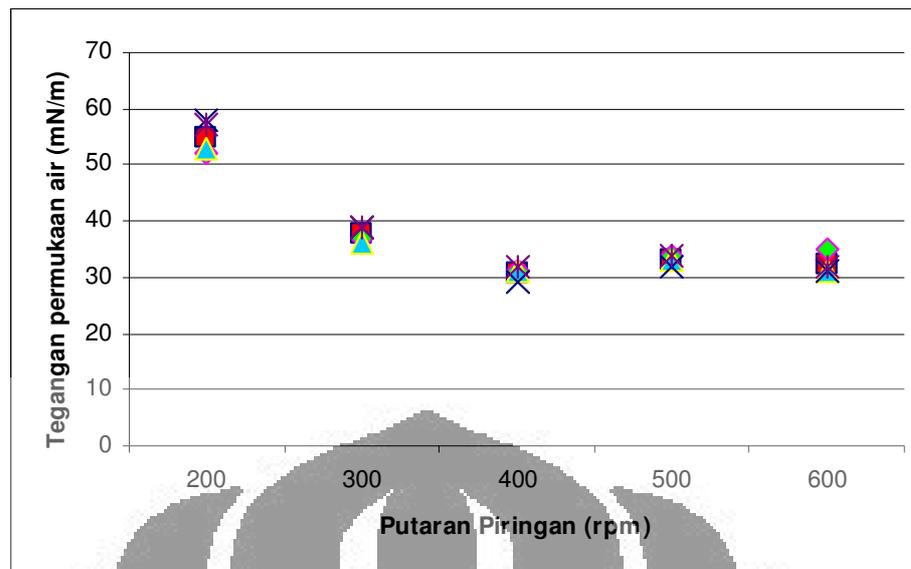
4.5.1 Pengaruh Variasi Laju Putaran Piringan

Reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat dengan katalis lipase *Mucor miehei* yang pertama kali dilakukan adalah untuk mencari laju perputaran piringan untuk menghasilkan produk dilaurin terbanyak. Karena dilaurin merupakan suatu emulsifier maka semakin banyak dilaurin yang dihasilkan dari reaksi esterifikasi-enzimatis, maka semakin besar pula penurunan tegangan

permukaan air yang dihasilkan [30]. Salah satu dari sifat agen pengemulsi adalah dapat menurunkan tegangan permukaan air. Bila dalam air terkandung agen pengemulsi, molekul-molekul agen pengemulsi tersebut mengalami orientasi dan teradsorpsi pada permukaan larutan dengan gugus hidrofobik menghadap ke udara. Dengan demikian permukaan larutan tertutupi dengan gugus hidrofobik agen pengemulsi. Penurunan tegangan permukaan yang disebabkan gaya kohesif cairan (atau padatan) membesar dengan meningkatnya gaya kohesif. Karena gaya kohesif hidrokarbon lebih kecil daripada air, tegangan permukaan larutan air (yang permukaannya tertutupi oleh gugus hidrofobik dari agen pengemulsi) juga lebih kecil daripada air. Itulah sebabnya tegangan permukaan air menurun dengan penambahan agen pengemulsi.

Selain dilihat dari tegangan permukaan. Konsentrasi dilaurin dapat kita lihat juga pada stabilitas emulsi minyak dalam air. Dilaurin memiliki gugus polar yang hidrofilik pada struktur molekulnya, hal ini mengakibatkan dilaurin memiliki kemampuan untuk membentuk emulsi minyak-air tanpa penambahan emulsifier lainnya. 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 [30].

Variasi waktu yang dilakukan ialah 200 rpm, 300 rpm, 400 rpm, 500 rpm, dan 600 rpm dengan kondisi yang diberikan pada setiap variasi ialah sama. perbandingan mol antara gliserol dan asam laurat yang dipakai ialah 1:1 (didapatkan dari hasil penelitian sebelumnya) dengan suhu reaktor 50 °C dan laju alir sirkulasi sebesar 150 ml/min. Berikut ini ialah grafik pengukuran tegangan permukaan air yang diberi sampel dilaurin dari lima variasi yang dilakukan. Pengukuran tegangan permukaan dilakukan sebanyak empat kali untuk tiap sampel.

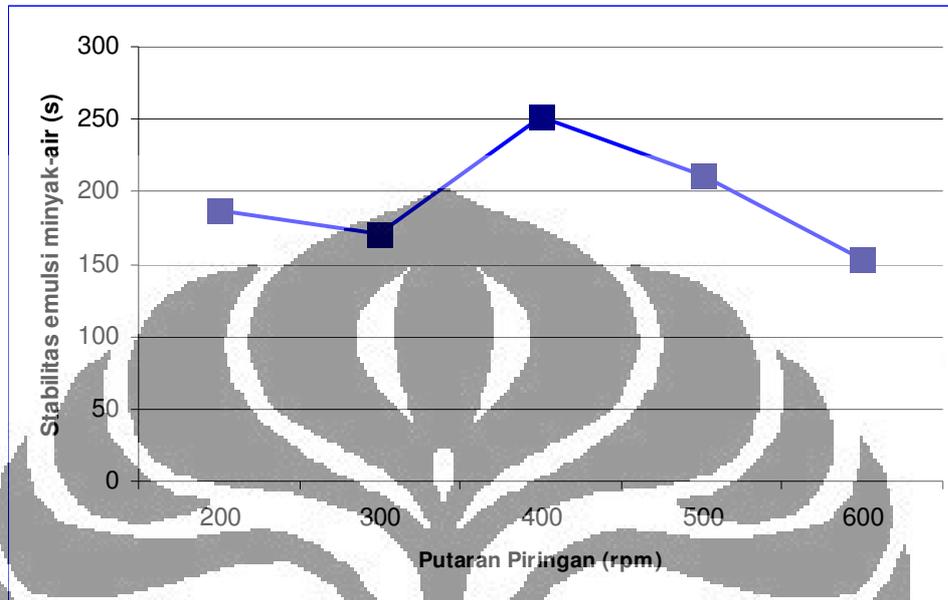


Gambar 4. 6. Tegangan permukaan air (variasi Putaran piringan)

Terlihat dari grafik diatas laju putaran piringan dari 200 rpm sampai 400 rpm tegangan permukaan mengalami penurunan hingga akhirnya naik sedikit sampai putaran 600 rpm. Hal ini diakibatkan dari peningkatan laju perputaran piringan maka terjadi pencampuran yang baik antara gliserol dengan asam laurat. Akan tetapi tak selamanya peningkatan laju putaran meningkatkan produksi dilaurin terlihat dari grafik pada putaran 500 rpm dan 600 rpm nilai tegangan permukaan cenderung stagnan. Hal ini bisa dijelaskan pada putaran yang rendah transfer massa yang terjadi antara dua reaktan tak berlangsung sempurna dan juga luas kontak antarmuka antara gliserol dan asam laurat pada reaktor sangat kecil [11]. Sedangkan jika putaran dinaikkan sampai 600 rpm produksi dilaurin menjadi stabil. Hal ini mungkin disebabkan luas kontak antarmuka antara gliserol dan asam laurat sudah optimum pada putaran sebesar 400 rpm. Sehingga walaupun putaran di naikkan reaksi esterifikasi yang terjadi akan independen terhadap laju putaran piringan.

Ketika dilakukan uji kestabilan emulsi, hasil yang didapat menguatkan kesimpulan yang diambil sebelumnya. Ternyata dari uji kestabilan emulsi yang dilakukan pun menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang diberikan oleh sampel dilaurin terhadap kestabilan emulsi campuran minyak-air. Pada uji kestabilan emulsi variasi laju putaran terlihat pada grafik bahwa kestabilan emulsi pada laju

putaran 400 rpm penambahan pada campuran minyak-air dalam sistem o/w (*oil in water*), minyak tersebut mampu terdispersi dalam air dalam waktu yang paling lama diantara waktu reaksi yang lainnya.

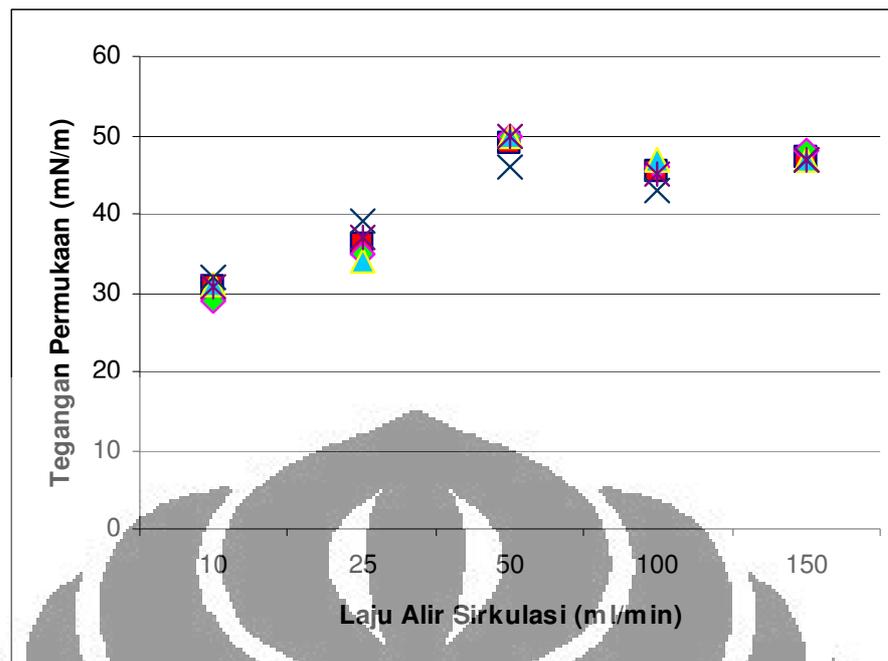


Gambar 4. 7. Stabilitas emulsi minyak air (variasi putaran piringan)

4.5.1 Pengaruh Variasi Laju Alir Sirkulasi.

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui variasi laju sirkulasi pada reaktor terhadap produksi dilaurin sebagai agen pengemulsi. Percobaan dilakukan pada suhu reaktor 50 °C dan rasio mol asam laurat dan gliserol 1:1 sedangkan untuk putaran piringan sebesar 600 rpm.

Variasi laju alir sirkulasi yaitu sebesar 10 ml/min, 25 ml/min, 50 ml/min, 100 ml/min, dan 150 ml/min. Variasi laju alir sirkulasi ini dilakukan karena hal ini berpengaruh dengan waktu tinggal reaktan dalam reaktor. Karena semakin kecil laju alir sirkulasi maka waktu tinggal akan semakin tinggi pula hal ini kemungkinan dapat meningkatkan produksi dilaurin sebagai agen pengemulsi [21]. Berikut ini ialah grafik hasil pengukuran tegangan permukaan air yang diberi sampel dilaurin dari lima variasi laju alir sirkulasi yang dilakukan.

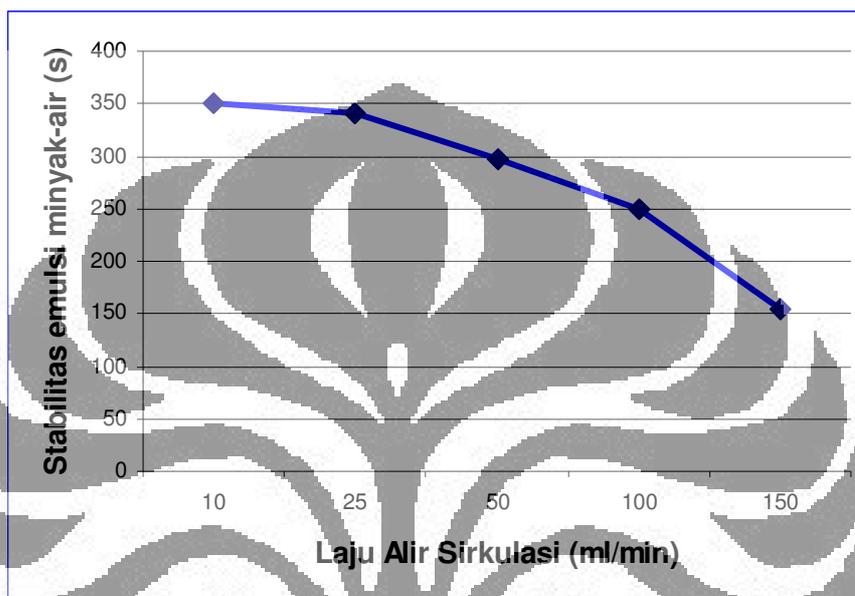


Gambar 4. 8. Tegangan permukaan air (variasi laju alir sirkulasi)

Terlihat dari grafik diatas terlihat adanya kecendrungan penurunan tegangan permukaan seiring dengan makin mengecilnya laju alir sirkulasi. Hasil optimum didapatkan pada laju alir sirkulasi 10 ml/min. Hal ini dapat dijelaskan karena pada laju alir paling kecil tersebut akan meningkatkan waktu tinggal reaktan pada reaktor. Hal ini menyebabkan produksi dilaurin yang meningkat. Hal ini dikarenakan letak katalis enzim lipase terimmobilisasi berada dalam reaktor. Sehingga jika waktu tinggal reaktan dalam reaktor meningkat maka kemungkinan besar kontak antara reaktan dengan katalis akan semakin lama sehingga reaksi dapat berjalan dengan optimum. Oliveira [11] melakukan percobaan dengan hasil konversi sampai 50 % pada laju alir 0,035 ml/min. Pada percobaan kali ini laju alir yang paling kecil yang bisa didapatkan yaitu 10 ml/min hal ini karena pompa peristaltik yang digunakan pada penelitian tak mampu mengalirkan laju alir lebih kecil dari 10 ml/min. Kemungkinan jika laju alir sirkulasi bisa lebih kecil lagi maka produksi dilaurin yang dihasilkan akan lebih besar sehingga nilai tegangan permukaan yang akan didapatkan akan lebih kecil lagi.

Ketika dilakukan uji kestabilan emulsi, hasil yang didapat menguatkan kesimpulan yang diambil sebelumnya. Ternyata dari uji kestabilan emulsi yang dilakukan pun menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang diberikan oleh sampel

dilaurin terhadap kestabilan emulsi campuran minyak-air. Pada uji kestabilan emulsi variasi laju alir sirkulasi terlihat pada grafik terdapat kecenderungan penurunan stabilitas emulsi dalam sistem o/w (*oil in water*) seiring dengan makin meningkatnya laju alir sirkulasi. Dan stabilitas emulsi terbaik didapatkan pada saat laju alir paling kecil yaitu 10 ml/min.

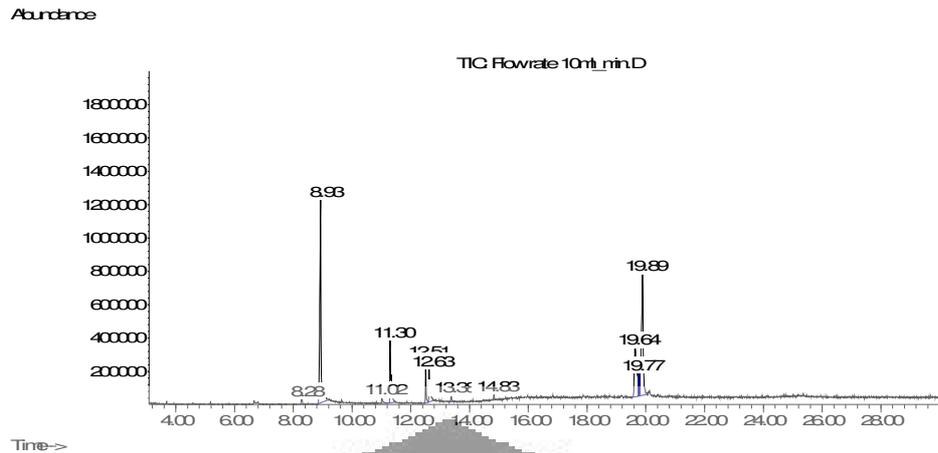


Gambar 4. 9. Stabilitas emulsi minyak air (variasi putaran piringan

4.6 Analisa GC/MS

Untuk memastikan ada tidaknya kandungan dilaurin dari sampel hasil reaksi yang dilakukan, maka dilakukan uji GC/MS. Uji GC/MS dilakukan di Laboratorium Forensik Markas Besar Kepolisian Republik Indonesia, Kebayoran Baru. Melalui uji GC-MS ini dapat diketahui persentase senyawa yang terkandung di dalam larutan sampel hasil reaksi. Dari analisis GC/MS akan terlihat puncak yang merupakan identitas dari senyawa tertentu.

Sampel yang akan diuji yaitu sampel yang memiliki nilai tegangan permukaan yang terkecil dengan tingkat stabilitas emulsi yang tertinggi. Yaitu sampel dengan laju kondisi laju alir sirkulasi 10 ml/menit Didapatkan kromatogram sebagai berikut.



Gambar 4. 10. Kromatogram sampel dengan laju alir 10 ml/min

Dari kromatogram diatas didapatkan puncak dilaurin pada waktu retensi 19,77-19,89 menit. Sedangkan puncak asam laurat pada waktu retensi 8,93 menit. Dari sekian banyak puncak yang muncul hanya kedua puncak ini yang memiliki kualitas kecocokan spektrum massa dengan database sampai lebih dari 80 %. Dari integrasi puncak-puncak tersebut dapat diketahui % luas puncak masing-masing puncak tersebut. Pengukuran konsentrasi dilaurin dapat langsung melihat dari % luas puncak dimana % luas puncak = % konsentrasi senyawa dalam sampel tersebut. Hasilnya adalah:

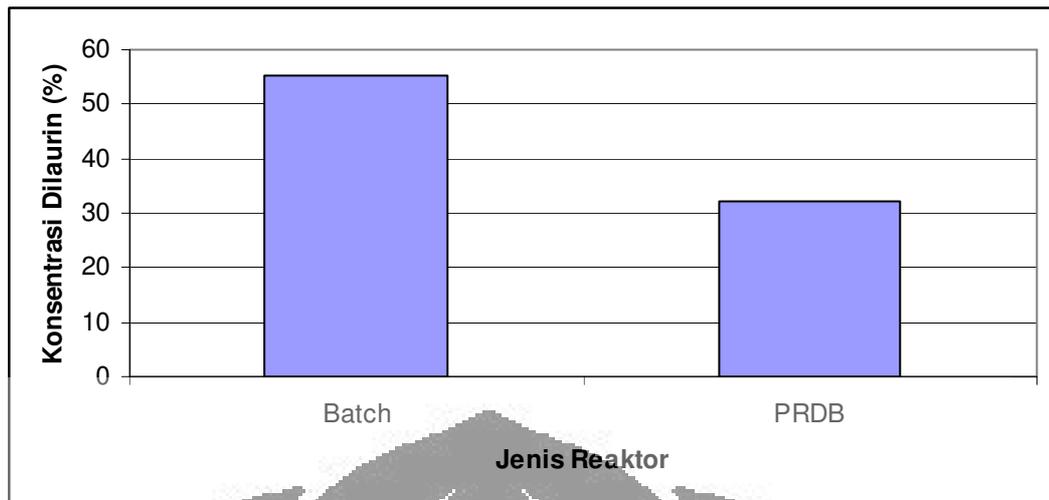
Konsentrasi Asam laurat = 31,9 %

Konsentrasi 1,2 dilaurin = 32,28 %

Masih banyaknya konsentrasi dari asam laurat mengindikasikan bahwa proses konversi belum berjalan secara maksimal. Selain itu didapatkan puncak-puncak lain dengan kualitas kecocokan yang sangat rendah kemungkinan pada reaksi terbentuk monolaurin sehingga reaksi yang berjalan belum sempurna.

4.7 Perbandingan Hasil Dengan Reaktor Batch

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan reaksi esterifikasi enzimatis gliserol dan asam laurat yang sama yang dilakukan dalam reaktor *batch* yang dilakukan dalam erlenmeyer dan dilakukan oleh Dani Wibowo [29]. Berikut ini ialah grafik konsentrasi dilaurin yang didapatkan pada reaktor batch dan pada PRDB.



Gambar 4.11. perbandingan hasil reaksi antara reaktor batch dan PRDB

Kondisi reaksi antara reaktor batch dan PRDB

Tabel 4.2. Perbandingan kondisi operasi

Parameter	Batch	PRDB
Suhu	50 ⁰ C	50 ⁰ C
Waktu reaksi	25 jam	20 jam
Rasio mol as. Laurat/gliseol	1	1
Tempat reaksi	Erlenmeyer	PRDB

Dari grafik diatas terlihat bahwa pada reaksi yang dilakukan dalam reaktor batch didapatkan hasil yang lebih tinggi daripada dalam reaktor PRDB. Hal ini mungkin dikarenakan pada reaktor batch waktu kontak antara enzim dengan reaktan berlangsung lebih sempurna sehingga didapatkan konsentrasi dilaurin yang lebih besar.

BAB 5

KESIMPULAN

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

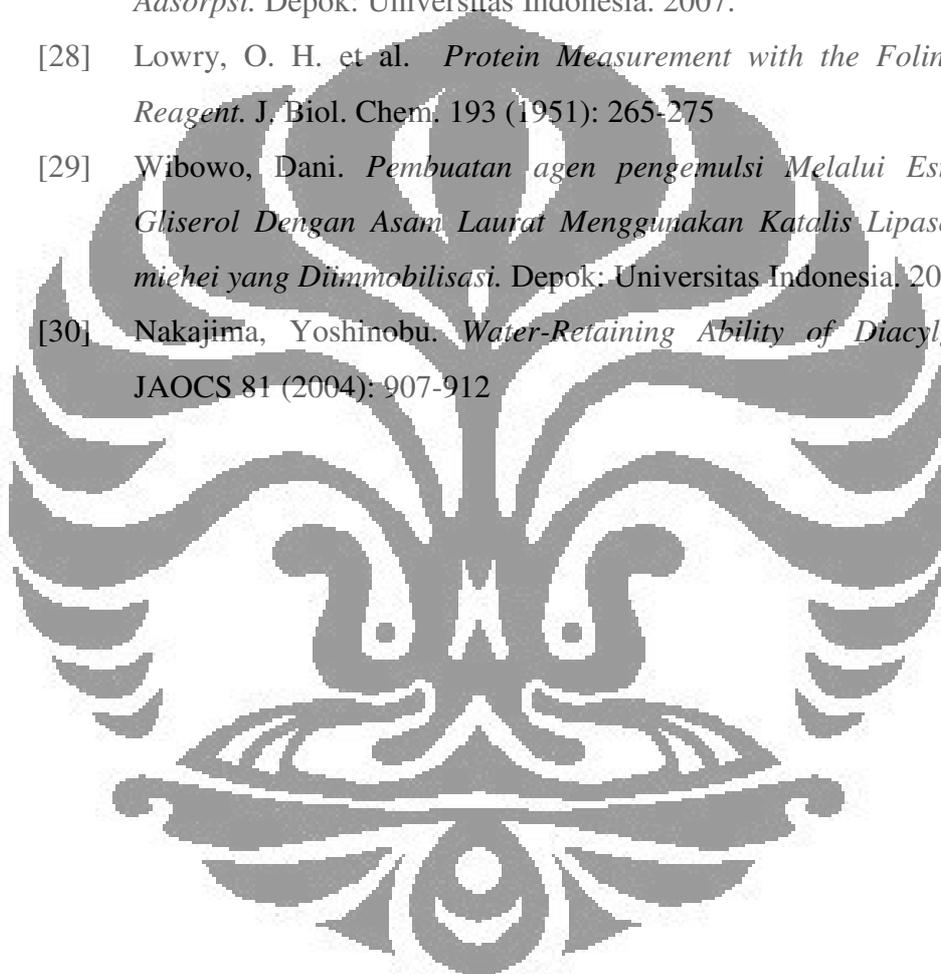
1. produk yang dihasilkan mampu menurunkan tegangan permukaan air dan mampu meningkatkan stabilitas emulsi minyak dalam air. Dimana nilai tegangan permukaan air murni 71 mN/m dan stabilitas emulsi air-minyak (tanpa pengemulsi) 128 detik Sehingga dapat disimpulkan bahwa produk yang dihasilkan memiliki sifat sebagai agen pengemulsi.
2. laju putaran piringan optimum dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat di PRDB ialah 400 rpm. Mampu menurunkan tegangan permukaan air sampai tegangan permukaan air sebesar 30,75 mN/m dan meningkatkan stabilitas emulsi minyak-air sampai 251 detik.
3. laju alir sirkulasi optimum dalam reaksi esterifikasi-enzimatis gliserol dan asam laurat di PRDB ialah 10 ml/min. Mampu menurunkan tegangan permukaan air sampai sebesar 30,75 mN/m dan meningkatkan stabilitas emulsi minyak-air sampai 350 detik.
4. Produk dilaurin yang dihasilkan pada sampel laju alir 10 ml/min memiliki konsentrasi sebesar 32,28 %.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Guo, seng dan Yan Sun. *Solvent-free production of 1,3-diglyceride of CLA: Strategy consideration and protocol design*. Food Chemistry 100 (2007): 1076–1084
- [2] Suryana, A., et al. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Kelapa Sawit di Indonesia*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian Republik Indonesia. 2005.
- [3] Gelder, Jan Willem van. *Greasy Palms: European buyers of Indonesian palm oil*. London: Friends of the earth. 2004.
- [4] Berger, Matthias, et al. *Enzymatic Esterification of Glycerol I. Lipase-Catalyzed Synthesis of Regioisomerically Pure 1,3-sn-Diacylglycerols*. JAOCS 69 (1992): 955–960.
- [5] Sonntag, N.O.V., *Glycerolysis of Fats and Methyl Esters—Status, Review and Critique*. JAOCS 59 (1982): 795A–802A
- [6] Kristensen, J.B., et al. *Diacylglycerol Synthesis by Enzymatic Glycerolysis: Screening of Commercially Available Lipases*. JAOCS 82 (2005): 329-334.
- [7] D'Souza, S.F. *Immobilized Enzymes in Bioprocess*. Style sheet. www.ias.ac.in. (10 Mar. 2007)
- [8] Worsfold, P.J. *Classification and Chemical characteristic of Immobilized Enzymes*. Pure & Appl. Chem. 67 (1995): 597-600
- [9] Riet, K.V., dan J. Tramper. *Basic Bioreactor Design*. New York: MARCEL DEKKER INC. 1991.
- [10] Richter, P., et al. *Immobilized Enzyme Reactors: Diffusion/Convection, Kinetics, and a Comparison of Packed-Column and Rotating Bioreactors for Use in Continuous-Flow Systems*. Analytical Chemistry 68 (1996): 1701-1705
- [11] Oliveira, A.C., et al. *Enzymatic Esterification of Ethanol by an Immobilised Rhizomucor Miehei Lipase in a Perforated Rotating Disc Bioreactor*. Enzyme and Microbial Technology 26 (1999): 446-450

- [12] Sarubbo, L.A., et al. *Studies of Efficiency in a Perforated Rotating Disc Contactor Using a Polymer-Polymer Aqueous*. Brazilian Journal of Chemical Engineering 22 (2005): 489-493.
- [13] Anonim. *Kelapa sawit*. http://www.id.wikipedia.org/kelapa_sawit, (10 Mar. 2007)
- [14] Pasaribu, N. *Minyak Buah Kelapa Sawit*. Sumatera Utara: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara. 2004.
- [15] Ketaren, S. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta : Universitas Indonesia. 1986.
- [16] May, C. Y. *Transesterification of Palm Oil: Effect of Reaction Parameters.*, Journal of Oil Palm Research 16 (2004).
- [17] Sibuea, P. *Emulsifier, Senyawa Ajaib dalam Industri Makanan*. Style sheet. www.kompas.com, (10 Mar. 2007).
- [18] Tarigan, J. B. *Ester Asam Lemak*. Sumatera Utara: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara. 2002.
- [19] Anonim. *The Mechanism for the Esterification Reaction*. Style sheet. www.chemguide.co.uk. (10 Mar. 2007)
- [20] Watanabe, Takaaki, et al. *Optimization of Reaction Conditions for the Production of DAG Using Immobilized 1,3-Regiospecific Lipase Lipozyme RM IM*. JAOCS 80 (2003): 1201-1207.
- [21] Watanabe, Takaaki, et al. *Diacylglycerol production in a packed bed bioreactor*. Process Biochemistry 40 (2005): 637-643
- [22] Kim, J. dan Byung-Gee Kim, *Lipase-Catalyzed Synthesis of Lysophosphatidylcholine Using Organic Cosolvent for in situ Water Activity Control*. JAOCS 77 (2000): 791-797.
- [23] Carneiro-da-Cunha, M.G. et al. *Recovery of recombinant cutinase with reversed micelles in a continuous perforated disc contactor*. Biotechnology Technic 8 (1994): 413-418
- [24] Anonim. *Enzyme*. Style sheet <http://www.en.wikipedia.org/Enzyme>, (10 Mar. 2007).

- [25] Koshland D. E.. *Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis*. Proc. Natl. Acad. Sci. 44 (1958): 98–104
- [26] Cao, Linqiu. *Carrier-bound Immobilized Enzymes: Principles, Application and Design*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. 2005
- [27] Wibisono, Dimas Prabu. *Reaksi Hidrolisis Minyak Zaitun Menggunakan Lipase nonSpesifik yang Diimmobilisasi dengan Metode Adsorpsi*. Depok: Universitas Indonesia. 2007.
- [28] Lowry, O. H. et al. *Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent*. J. Biol. Chem. 193 (1951): 265-275
- [29] Wibowo, Dani. *Pembuatan agen pengemulsi Melalui Esterifikasi Gliserol Dengan Asam Laurat Menggunakan Katalis Lipase Mucor miehei yang Diimmobilisasi*. Depok: Universitas Indonesia. 2007.
- [30] Nakajima, Yoshinobu. *Water-Retaining Ability of Diacylglycerol*. JAOCS 81 (2004): 907-912



LAMPIRAN A

Foto-Foto Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan



Kitin



Asam laurat



Gliserol dan enzim

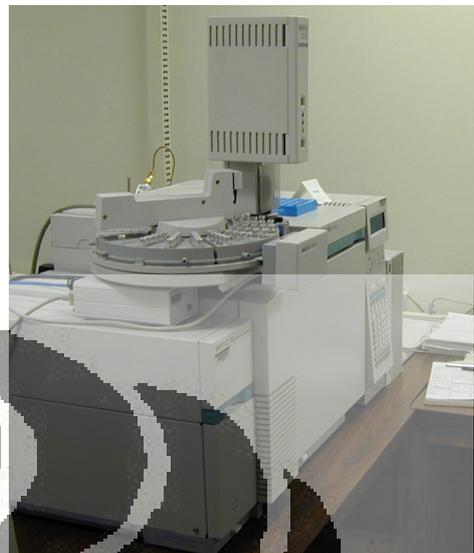


Enzim Terimmobilisasi

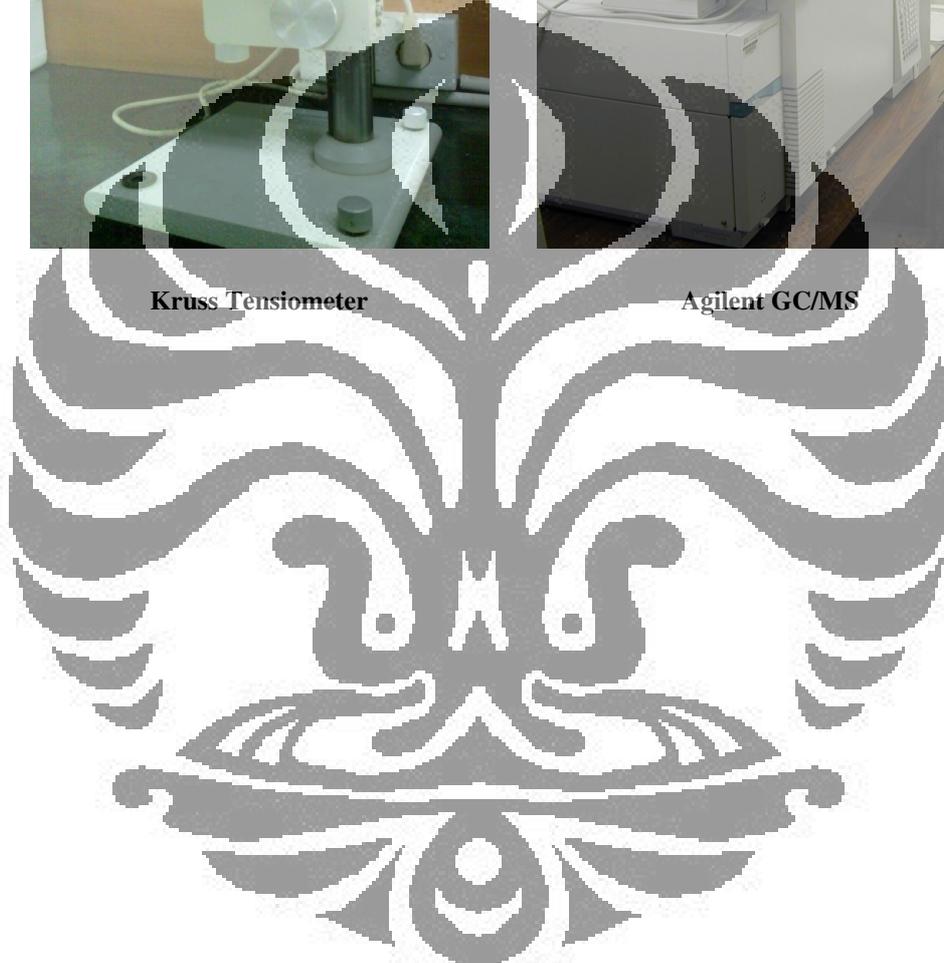
Foto-Foto Alat Analisa



Kruss Tensiometer



Agilent GC/MS



LAMPIRAN B

Data-Data yang Didapatkan Pada Penelitian

Tabel kurva kalibrasi konsentrasi protein

BSA (mg/ml)	absorbansi
0.1	0.047
0.2	0.065
0.4	0.077
0.6	0.104
0.8	0.131
1	0.167

Tabel nilai tegangan permukaan Variasi Laju Putaran Piringan

Air	200 rpm	300 rpm	400 rpm	500 rpm	600 rpm	
73	52	37	31	34	35	mN/m
70	53	36	31	33	31	mN/m
71	58	39	29	32	31	mN/m
71	57	39	32	34	32	mN/m
71.25	55	37.75	30.75	33.25	32.25	mN/m

Tabel Uji Kestabilan Emulsi Variasi Laju Putaran Piringan

Laju Putaran (rpm)	Kestabilan Emulsi (sekon)
200	187
300	171
400	251
500	211
600	154
Air-minyak	128

Tabel nilai tegangan permukaan Variasi Laju Alir Sirkulasi

Air	10 ml/min	25 ml/min	50 ml/min	100 ml/min	150 ml/min	
73	29	35	50	46	48	mN/m
70	31	34	50	47	47	mN/m
71	32	39	46	43	47	mN/m
71	31	40	50	44	46	mN/m
71.25	30.75	37	49	45	47	mN/m

Tabel Uji Kestabilan Emulsi Variasi Laju Alir Sirkulasi

Laju Sirkulasi (rpm)	Kestabilan Emulsi (sekon)
10	350
25	341
50	297
100	249
150	154
Air-minyak	128

LAMPIRAN C

Kondisi Operasi GC/MS

COLUMN

Capillary Column

Model Number: Agilent 19091S-433 (metil polysiloksan)

HP-5MS, 0.25mm * 30m * 0.25um

Max temperature: 350 'C

Nominal length: 30.0 m

Nominal diameter: 250.00 um

Nominal film thickness: 0.25 um

Mode: constant flow

Initial flow: 1.0 mL/min

Nominal init pressure: 6.42 psi

Average velocity: 36 cm/sec

Inlet: Front Inlet

Outlet: MSD

Outlet pressure: vacuum

FRONT INLET

Mode: Split

Initial temp: 290 'C (Off)

Pressure: 6.42 psi (On)

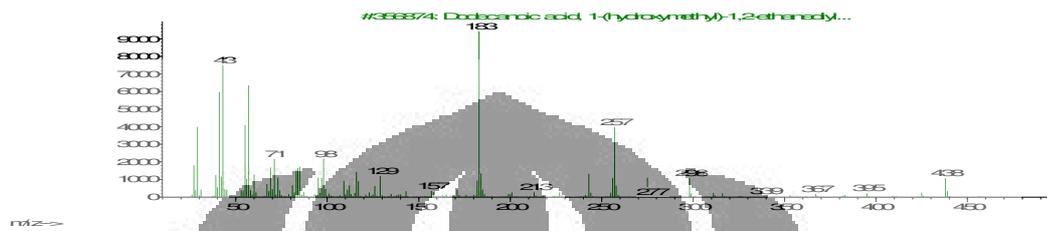
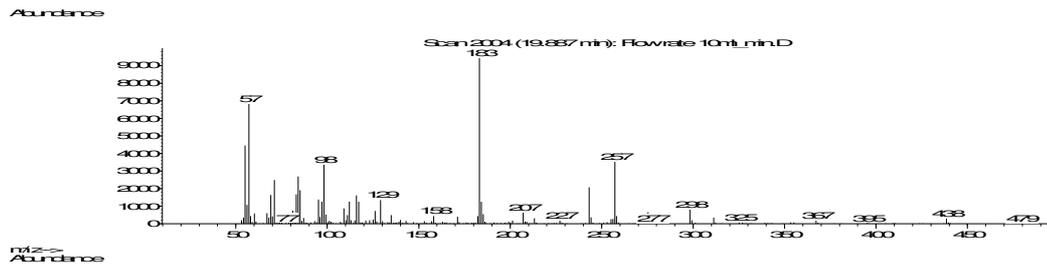
Split ratio: 100:1

Split flow: 99.4 mL/min

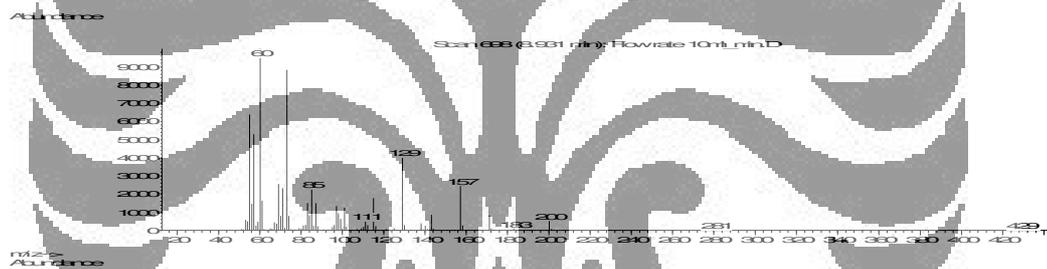
Total flow: 103.3 mL/min

Gas saver: Off

Gas type: Helium



Perbandingan spektrum massa Dilaurin yang didapatkan dengan referensi (hijau).



Perbandingan spektrum massa asam laurat yang didapatkan dengan referensi (hijau).

rteres

Area Percent Report

Data Path : C:\MSDCHEM\1\data\
 Data File : Flow rate 10ml_min.D
 Acq On : 16 Oct 2008 15:36
 Operator : RAKHMAD PRIASMORO
 Sample : Dilaurin
 Misc : SAMPEL 20 JAM
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Integration Parameters: EVENTS.E
 Integrator: ChemStation

Method : D:\PRIASMORO\DATA\KULIAHAN\PENELITIAN\HASIL GC-MS\UMUM.M
 Title :

Signal : TIC

peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	8.277	615	620	633	PV 4	32036	929374	2.58%	0.824%
2	8.931	679	698	732	PV	1159368	35957651	100.00%	31.898%
3	11.020	943	947	963	PV 5	35547	1067003	2.97%	0.947%
4	11.297	963	980	1003	PV 2	359651	10142674	28.21%	8.998%
5	12.505	1117	1124	1134	PV	234105	3852185	10.71%	3.417%
6	12.622	1134	1138	1158	VV	185248	5160928	14.35%	4.578%
7	13.377	1222	1228	1237	PV 6	37537	726959	2.02%	0.645%
8	14.829	1397	1401	1408	BV 2	32641	559115	1.55%	0.496%
9	19.635	1959	1974	1988	PV 3	294373	17943679	49.90%	15.918%
10	19.770	1988	1990	1992	VV 5	138613	3091529	8.60%	2.743%
11	19.887	1992	2004	2027	VV 2	717840	33294913	92.59%	29.536%

Sum of corrected areas: 112726041

UMUM.M Thu Jan 01 23:58:33 2009

Data Path : C:\MSDCHEM\1\data\
 Data File : Flow rate 10ml_min.D
 Acq On : 16 Oct 2008 15:36
 Operator : RAKHMAD PRIASMORO
 Sample : Dilaurin
 Misc : SAMPEL 20 JAM
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\wiley7n.1 Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - EVENTS.E

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	8.28	0.82	C:\Database\wiley7n.1 Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl- Pentasiloxane, dodecamethyl- EICOSAMETHYLCYCLODECASILOXANE \$\$ C yclodecasiioxane, eicosamethyl-	371831 322221 388915	000107-50-6 000141-63-9 018772-36-6	38 37 37
2	8.93	31.90	C:\Database\wiley7n.1 Dodecanoic acid Dodecanoic acid (CAS) \$\$ Lauric acid \$\$ Abl \$\$ Neo-fat 12 \$\$ Vulvic acid \$\$ Univol u-314 \$\$ Aliphatic no . 4 \$\$ Neo-fat 12-43 \$\$ Dodecylic acid \$\$ Ninol aa62 extra \$\$ Laurostearic acid \$\$ n-Dodecanoic acid \$ \$ I-Undecanecarboxylic acid \$\$ Univol U 314 \$\$ Luna Dodecanoic acid (CAS) \$\$ Lauric acid \$\$ Abl \$\$ Neo-fat 12 \$\$ Vulvic acid \$\$ Univol u-314 \$\$ Aliphatic no . 4 \$\$ Neo-fat 12-43 \$\$ Dodecylic acid \$\$ Ninol aa62 extra \$\$ Laurostearic acid \$\$ n-Dodecanoic acid \$ \$ I-Undecanecarboxylic acid \$\$ Univol U 314 \$\$ Luna	115373 115383 115375	000143-07-7 000143-07-7 000143-07-7	96 95 91
3	11.02	0.95	C:\Database\wiley7n.1 Dodecanoyl chloride \$\$ Lauroyl chloride \$\$ n-Dodecanoyl chloride \$\$ Lauric acid, chloride 7-METHYL-6-D3-METHYLTHIOPURINE Dodecanoyl chloride (CAS) \$\$ Lauroyl chloride \$\$ n-Dodecanoyl chloride \$\$ Lauric acid, chloride	141143 85629 141144	000112-16-3 033312-95-7 000112-16-3	38 27 27
4	11.30	9.00	C:\Database\wiley7n.1 methyl 4-oxohexadecanoate Cyclohexanone, 2-propyl- \$\$ 2-Propylcyclohexanone Tridecanedioic acid, diethyl ester	231131 36114 249779	000000-00-0 000094-65-5 015423-05-9	14 11 10
5	12.51	3.42	C:\Database\wiley7n.1 Indolizine, 3-methyl- (CAS) \$\$ 3-METHYL-INDOLIZINE ETHYL-INDOLIZINE Indolizine, 3-methyl- 2,4-Difluorophenol \$\$ Phenol, 2,4-	27434 27435 25971	001761-10-0 001761-10-0 000367-27-1	38 38 35

Page 1

6	12.62	4.58	C:\Database\wiley7n.1 Floxuridine Indan, 1-methyl- Silane, methylenebis(dimethyl- 2,4-Disilapentane, 2,4-dimethyl- \$ Silane, methylenebis@dimethyl-	180559 28351 27713	000050-91-9 000767-58-8 018163-84-3	42 32 28
7	13.38	0.64	C:\Database\wiley7n.1 2,10,10-trimethyl-4-hydroxy-1,11-d idehydro-tricyclo[6.3.0(1,8).0(2,6)]undecane exo-Epoxyde derivative of methyl e ster of 12-hydroxy-13-methylidene- 17-decarboxyl-12,13-dihydroisoagat hic acid \$\$ Spiro[oxirane-2,2'(1'H)-phenanthrene]-1'-carboxylic acid , dodecahydro-3'-hydroxy-4'b,8',8' ,10'a-tetramethyl-, methyl ester, (1'.alpha..2'.bet 1-(3,6,6-Trimethyl-1,6,7,7a-tetra hydrocyclopenta[c]pyran-1-yl)ethano ne	124659 298548 124256	104265-52-3 082528-35-6 054686-01-0	22 22 22
8	14.83	0.50	C:\Database\wiley7n.1 Cyclotrisiloxane, hexamethyl- \$\$ D imethylsiloxane cyclic trimer \$\$ H examethylcyclotrisiloxane Methyl 5-tert-butylthiophene-2-car boxylate Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	146392 111781 146396	000541-05-9 000000-00-0 000541-05-9	14 14 14
9	19.64	15.92	C:\Database\wiley7n.1 Lauric anhydride 5-(N-methyl-N-t-butylaminomethylen e)-2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-di one \$\$ 1,3-Dioxane-4,6-dione, 5-[[(1,1-dimethylethyl)methylamino]met hylene]-2,2-dimethyl- (CAS) Dodecanoic acid, 1-(hydroxymethyl) -1,2-ethanediyl ester	321633 174970 356874	000645-66-9 096994-21-7 017598-94-6	64 53 43
10	19.77	2.74	C:\Database\wiley7n.1 Dodecanoic acid, 1-(hydroxymethyl) -1,2-ethanediyl ester Pyrrolizin-1-thione, 7-propyl- 5-Hydroxy-2-methyl-4-nitroanisole	356874 91127 90835	017598-94-6 000000-00-0 000000-00-0	62 25 25
11	19.89	29.54	C:\Database\wiley7n.1 Dodecanoic acid, 1-(hydroxymethyl) -1,2-ethanediyl ester 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-thiocyanat opyrimidine \$\$ Thiocyanic acid, 2, 6-diamino-1,4-dihydro-4-oxo-5-pyri midinyl ester (CAS) \$\$ Thiocyanic acid, 2,4-diamino-6-hydroxy-5-pyri midinyl ester Lauric anhydride	356874 90656 321633	017598-94-6 022288-75-1 000645-66-9	87 47 45